

# 今後の展望と閉会の言葉



国立医薬品食品衛生研究所

小島 肇



# 目次

- 感作性試験代替の現状
- h-CLATのバリデーション研究
- 今後の展望

# 感作性試験代替法の現状

## HUMAN HEALTH SAFETY EVALUATION

### Endpoints

Acute toxicity

Skin and eye irritation

**Skin sensitization**

Repeated dose toxicity

Toxicokinetics

Reproduction toxicity

Mutagenicity/genotoxicity

Additional studies  
(neurotoxicity  
& phototoxicity)

Refinement methods for skin sensitization:  
Murine Local Lymph Node Assay (LLNA)

- refinement test on mice
- no challenge phase
- endpoint : 3H-methylthymidine uptake into lymphocytes in draining lymph nodes
- validated in USA, endorsed by ESAC, EC B.42, OECD 429
- rLLNA : less animals involved
- non-radioactive LLNA approach

# *Acute Contact Dermatitis Test Methods*

Method	Current Status	Lead Action Organization	National Acceptance	International Acceptance
<b>Murine local lymph node assay (LLNA) for skin sensitization</b>	<b>OECD TG 429 (2002) ISO (2002)</b>	<b>complete</b>	<b>OECD TG 429 (2002) ISO (2002)</b>	<b>OECD TG 429 (2002) ISO (2002)</b>
<b>Harmonized performance standards for the LLNA</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Endorsed by ESAC</b></li> <li>- <b>Endorsed by ICCVAM, transmittal of ICCVAM final recommendations to U.S. Federal agencies in progress</b></li> <li>- <b>Update to TG 429 submitted to OECD</b></li> </ul>	<b>NICEATM- ICCVAM; ECVAM; JaCVAM</b>	<b>Harmonized performance standards for the LLNA</b>	
<b>Reduced LLNA (rLLNA)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Endorsed by ICCVAM, transmittal of ICCVAM recommendations to U.S. Federal agencies in progress</b></li> <li>- <b>Update to TG 429 submitted to OECD</b></li> <li>- <b>JaCVAM peer review in progress</b></li> </ul>	<b>NICEATM- ICCVAM/ ECVAM</b>		

# Acute Contact Dermatitis Test Methods

Method	Current Status	Lead Action Organization	National Acceptance	International Acceptance
<b>Nonradioactive LLNA protocol (LLNA: BrdU-Flow Cytometry)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ICCVAM peer review completed, 2009</li> <li>- Data audit and interlaboratory study planned, 2009</li> </ul>	NICEATM-ICCVAM		
<b>Nonradioactive LLNA protocol (LLNA: BrdU-ELISA)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ICCVAM peer review completed, development of final recommendations in progress</li> <li>- Acceptance by Japanese Regulatory Acceptance Board pending</li> <li>- Development of draft OECD test guideline in progress</li> </ul>	JaCVAM (validation study); NICEATM-ICCVAM (international peer review)		
<b>Nonradioactive murine local lymph node assay protocol (LLNA: DA)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ICCVAM peer review completed, development of final ICCVAM recommendations in progress</li> <li>- Development of draft OECD test guideline in progress</li> </ul>	JaCVAM (validation study); NICEATM-ICCVAM (international peer review)	Accepted by Japanese Regulatory Acceptance Board	
<b><i>In vitro</i> skin sensitization assays (h-CLAT; DPRA; MUSST)</b>	Multi-laboratory validation study to start this fall	ECVAM; JaCVAM		

# h-CLATバリデーション研究

# h-CLATシンポジウム

—日本で生まれた感作性試験代替法の概要とその応用—

## プログラム

### 開会の挨拶

1. 試験の原理と概要

2. 具体的試験法

3. 施設間再現性

4. 細胞選択条件

5. 血清選択条件

6. 細胞培養条件

7. 香料の評価

8. 防腐剤の評価

9. 染毛剤の評価

### 閉会の挨拶

大野泰雄(国立医薬品食品衛生研究所)

坂口 斉(花王株式会社)

足利太可雄(株式会社資生堂)

太田尚子(ポーラ化成工業株式会社)

岡本賢二(株式会社カネボウ化粧品)

藺さき子(株式会社資生堂)

中村恒彰(ライオン株式会社)

水野 誠(株式会社コーセー)

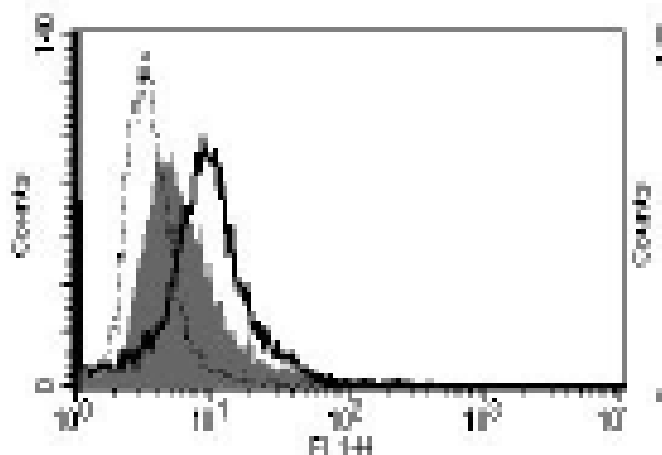
小坂七重(花王株式会社)

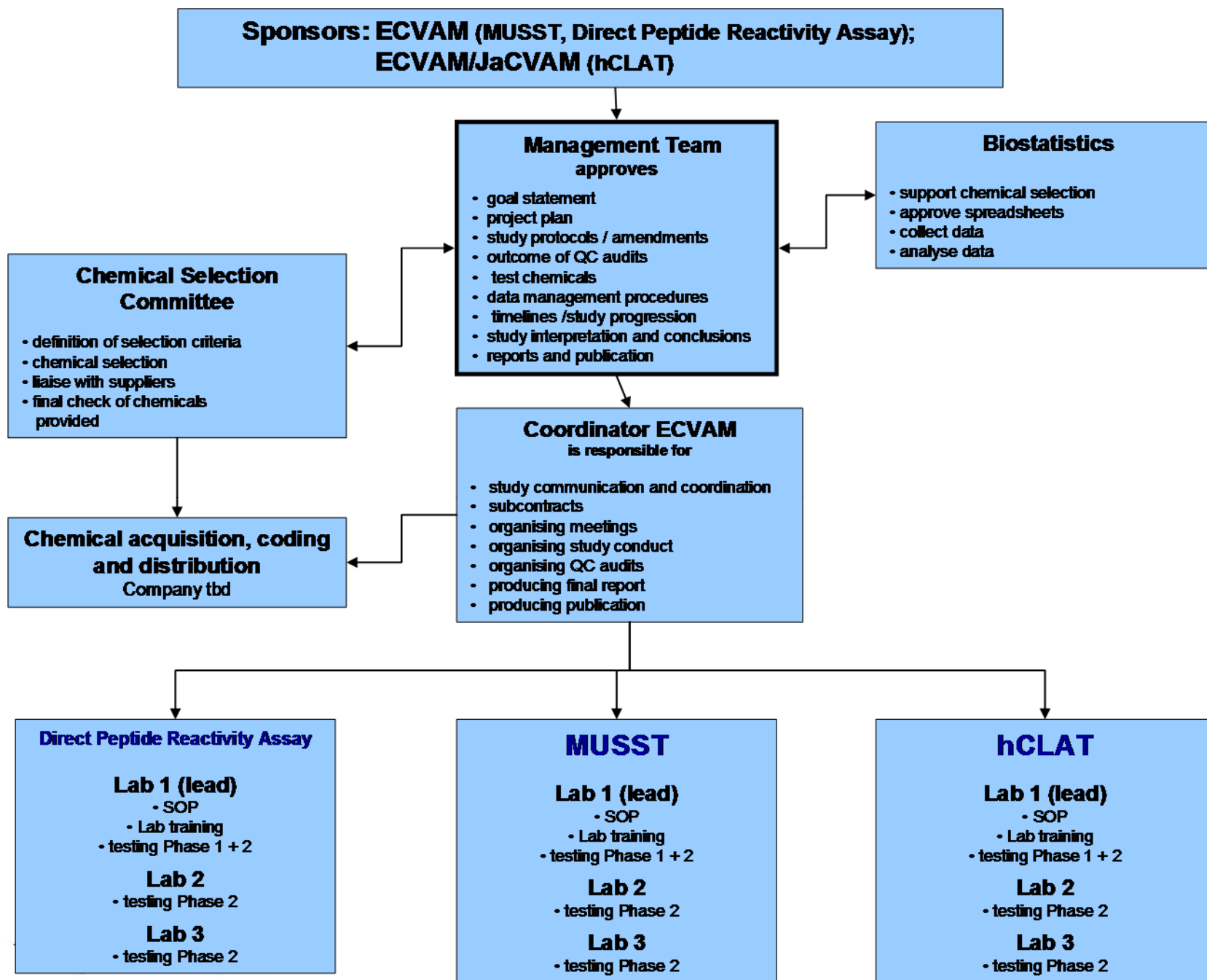
加藤義直(日本メナード化粧品株式会社)

小島 肇(国立医薬品食品衛生研究所)

# Validated 2009-2011: Skin sensitization

Method	h-CLAT using THP-1 cells
Type	Formal
Developer	Kao & Shiseido
Coordinator	ECVAM & JaCVAM
Support	ECVAM & MHLW
Labs.	Three or four (International)
Chemicals	?
Start	2010



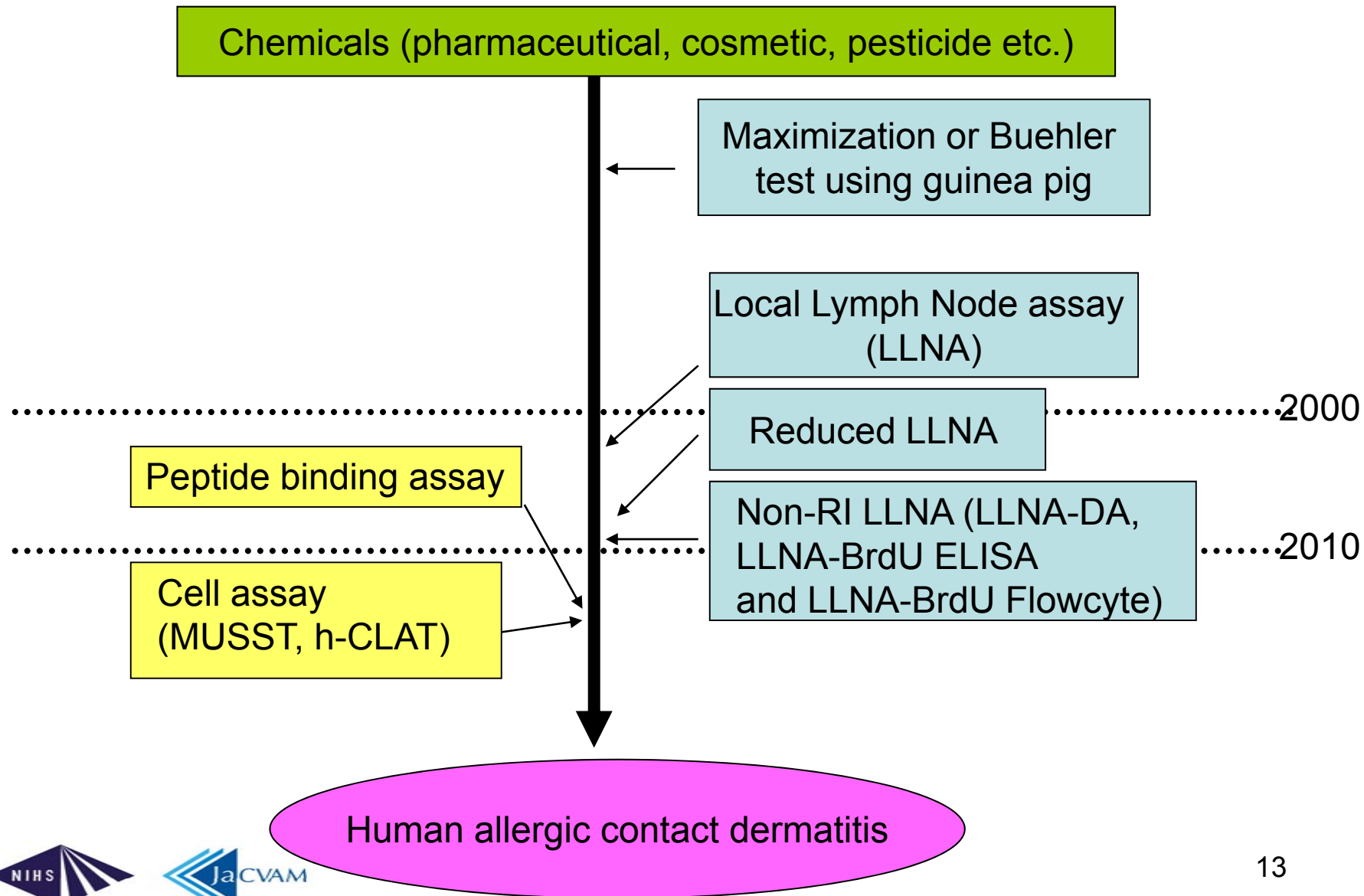


## バリデーシヨンの進捗

- ECVAMの主催するバリデーシヨン実行委員会において、h-CLATを含む3試験法のバリデーシヨンの研究計画について議論。
- 3回の会議を経て、実験スケジュール、被験物質数、被験物質の種類、繰り返しの回数等が決定。
- 来年7月からプレバリデーシヨン開始。

# 今後の展望

# Transition from guinea pig to in vitro to detect human allergic contact dermatitis



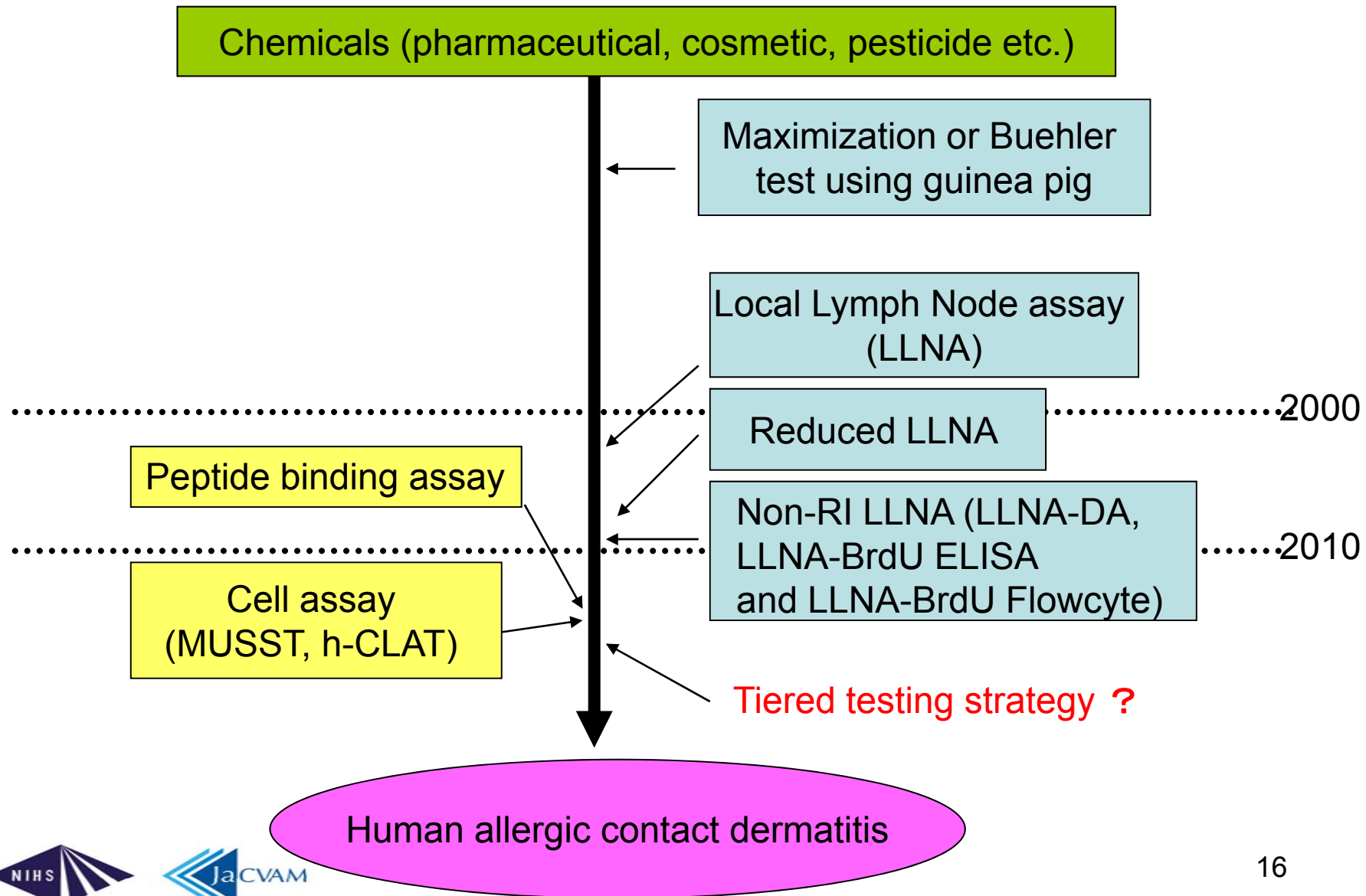
# h-CLAT(プレ)バリデーションの今後

- バリデーション研究は、プレバリデーションで transfeability および プロトコールの 確定を行った後、施設間再現性および予測性を評価する本バリデーションに進む。→開発者はプロトコールを過信してはいけない。時にはデータベースが無駄になることもある。
- バリデーション研究が簡単に終わった例は少ない。
- プレバリデーションを繰り返して、プロトコールをもむ段階が必要である。→一回で終わることは稀である。
- バリデーションが終了しても、良い結果となるかはわからない。
- さらに、その後、第三者評価で不可となる場合もある。→過度に期待を掛けてはいけない。

# 国際バリデーションの現状

- 国際的なバリデーション・第三者評価では、参加者間のコンセンサスを取るために時間が掛かる。予定通りに行くことではないと割り切る必要がある。
- 今後開発される代替法は、疑陰性をださないというOECDの基本的な方針に従い、プロトコルの改良がなされたり、tiered testing strategyの一部となる可能性が高い。
- h-CLATは第二段階のスクリーニング法として位置付けられる可能性が高い。





























































# Transition from guinea pig to in vitro to detect human allergic contact dermatitis



# お願い

- まずはLLNAの社内標準化を進めて頂きたい。
- 今後10年間は、GPMTまたはLLNAが絶対必要となる。特にLLNA(変法を含む)は必須と考えるべきである。
- h-CLATの補足検討がまだまだ必要である。
- Peptide binding assayへの理解も重要である。
- *In vitro*のみに期待し過ぎてはいけない。感作性のような複雑な生体反応を*in vitro*で見られるのか、客観的に考えて欲しいとの意見も多い。

## Update on JaCVAM (15.June / 2009 updated)

Classification	Test name	Validation study	Peer review	Regulatory acceptance	Recommendation to government	OECD	Collaboration
							
01 Corrosivity test	(1)Reconstructed human tissue test made in Japan: Vitrolife-Skin	Feb-09 	Jun-08 	Jun-08 	Aug-08 	Guideline No.431 	JSAAE
02 Phototoxicity test	(1)3T3-NRU	BfR 	Nov-04 			Guideline No.432 	
	(2)Yeast growth inhibition phototoxicity assay and the red blood cell photohemolysis assay	Jan-09 	May-09 	on going 			JSAAE
03 Skin sensitization test	(1)LLNA-DA	Jun-07 	Feb-08 	Oct-08 	Nov-08 		JSAAE
	(2)LLNA-BrdU	Aug-08 	Feb-09 	on going 			JSAAE
	(3)h-CLAT	start in 2009 					
	(4)LLNA						
	(5)rLLNA	ECVAM, ICCVAM 	start in 2009 				ICCVAM
04 Skin irritation test	(1)Reconstructed human tissue test	ECVAMで 	Nov-08 	on going 		Draft test guideline 	ECVAM
	(2)Reconstructed human tissue test made in Japan	May-09 					JSAAE
05 Ocular irritation	(1)BCOP, ICE	ECVAM, ICCVAM 	Mar-09 	on going 		Guideline 	

日本語

English

Google

Search

☐ www ☒ jaovam.jp

About JaCVAM



Update on JaCVAM



Academic activities

Submission of Alternative  
Methods to JaCVAM

International Cooperation

**Policy and Mission:** JaCVAM's policy and mission is to promote the 3Rs in animal experiments for the evaluation of chemical substance safety in Japan and establish guidelines for new alternative experimental

# 御清聴ありがとうございました。

## News

- 📧【NEW】news texts dummy texts news texts dummy texts  
news texts dummy texts(2009.7.16)
- 📧news texts dummy texts news texts (2009.7.3)
- 📧news texts dummy texts news texts dummy texts news  
texts dummy texts (2009.7.3)

## Contents

- 📧About JaCVAM
  - Message from JaCVAM / Policy and Mission of JaCVAM /
  - Organization of JaCVAM / Glossary /
  - Proposal for Engagement Rules
- 📧JaCVAM Activities

JaCVAMワークショップへの参加ありがとうございました。

来年、第4回ワークショップでまたお会いできる日を楽しみにしております。