

動物実験代替法における国際動向

国立医薬品食品衛生研究所

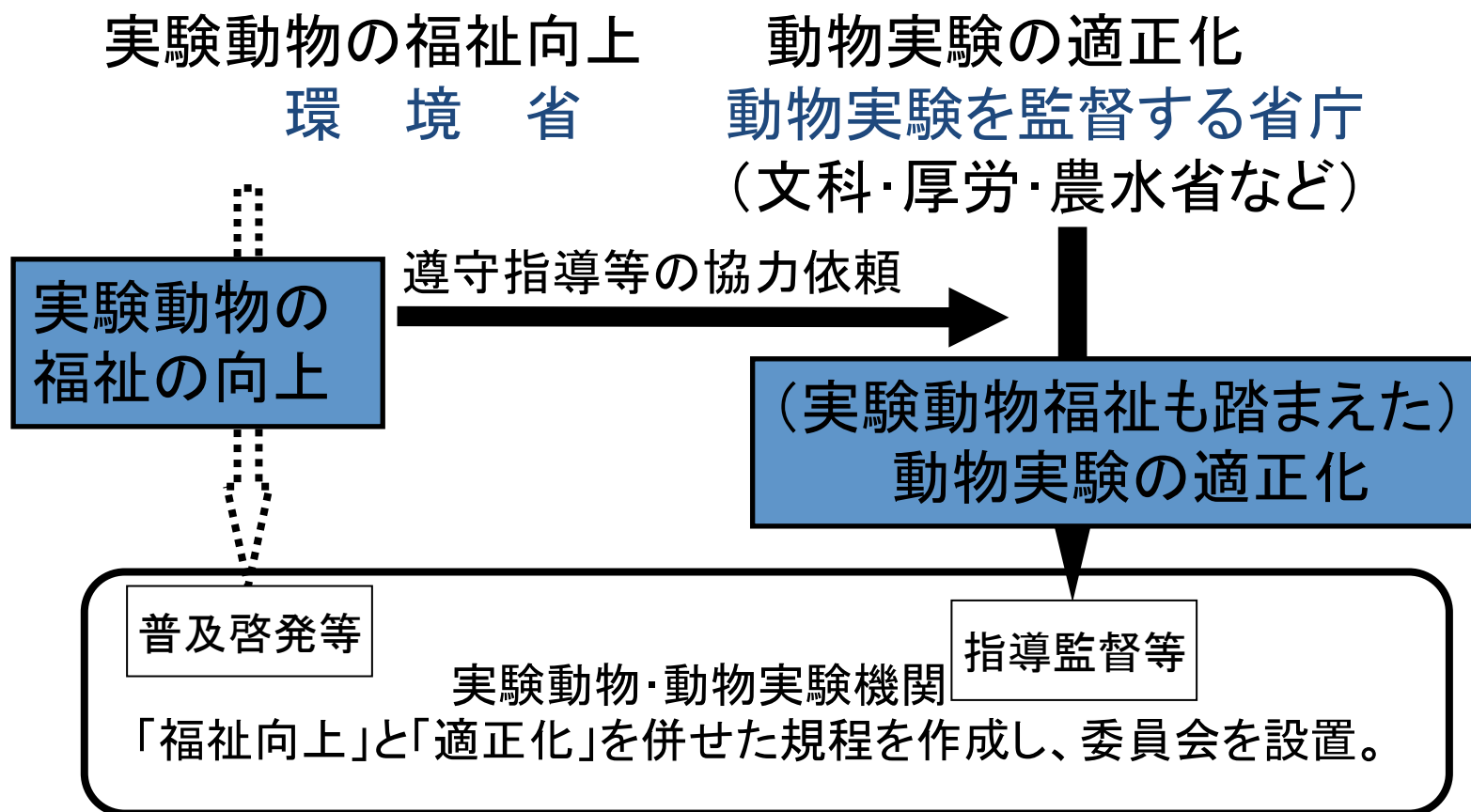
小島 肇



動物愛護と国際協調



「動物の愛護及び管理に関する法律」(動物愛護管理法)が 改定され、平成18年6月1日から施行



実験動物における3Rsの徹底

動物実験の3Rs

(Russel and Burch 1959)

- Replacement

動物を用いない方法に置き換える

(例) *In vitro* エンドトキシン試験法

- Reduction

動物の使用数の削減

(例) 固定用量による単回投与試験

- Refinement

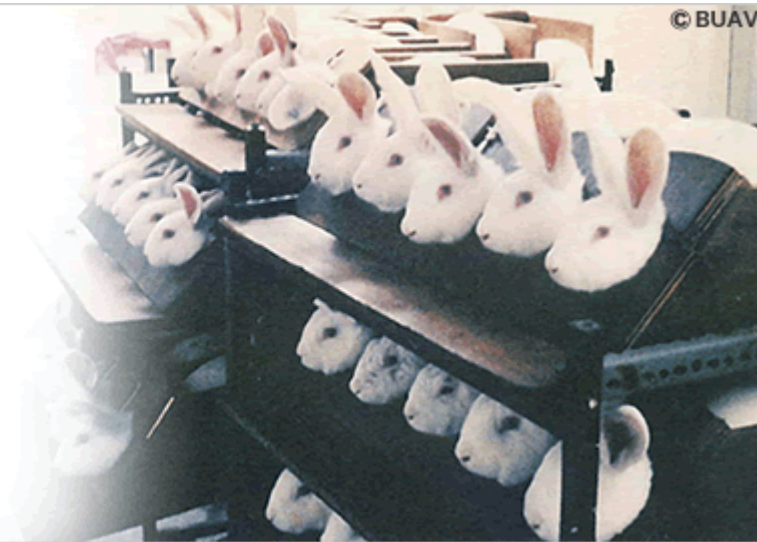
動物使用に伴う苦痛の削減

本当の美しさは、
誰の犠牲も必要としない。

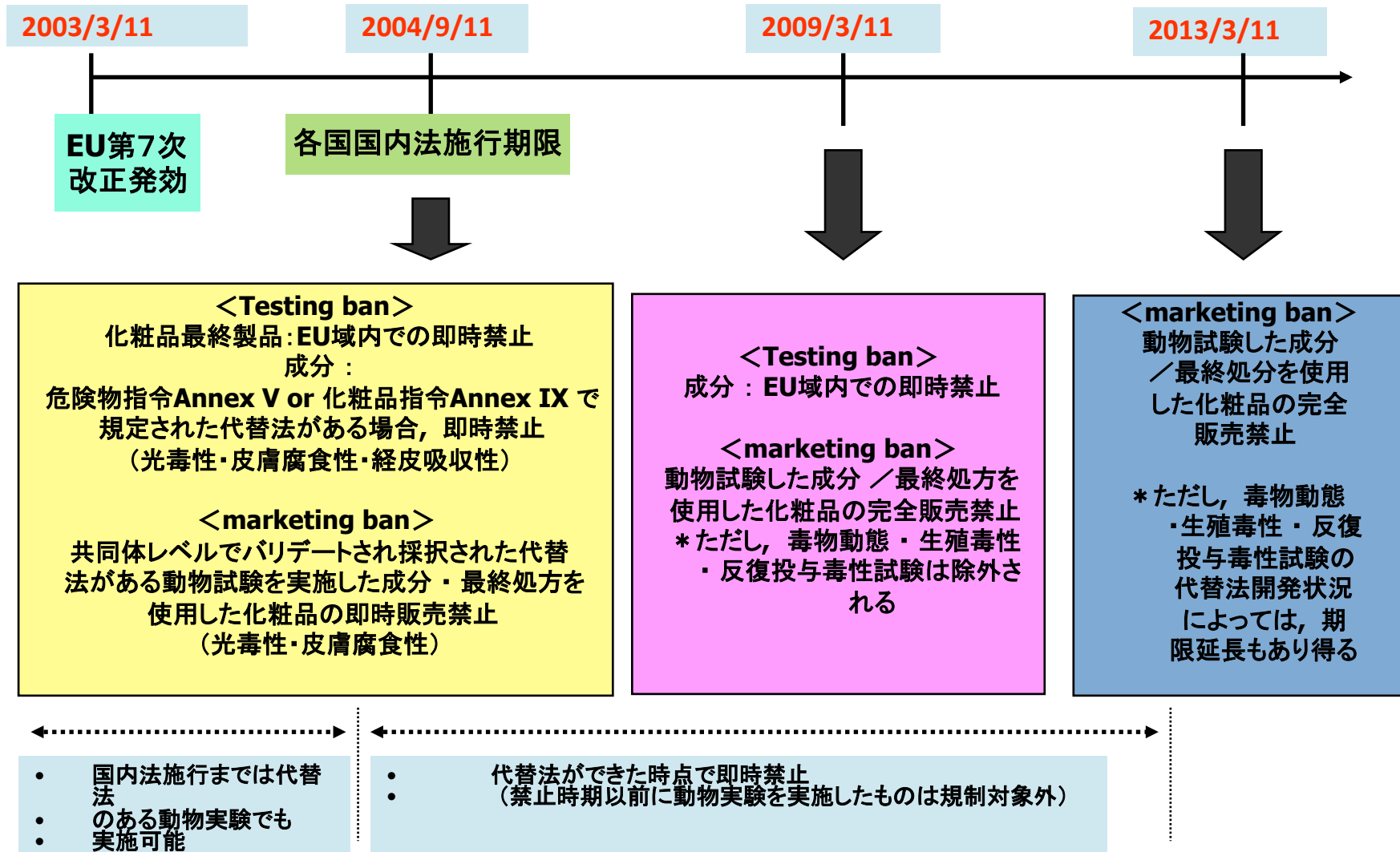
©BUAV

ウサギを救え!

化粧品動物実験反対キャンペーン



EU化粧品における動物実験規制



ICH安全性試験ガイドライン

2006年より、見直し

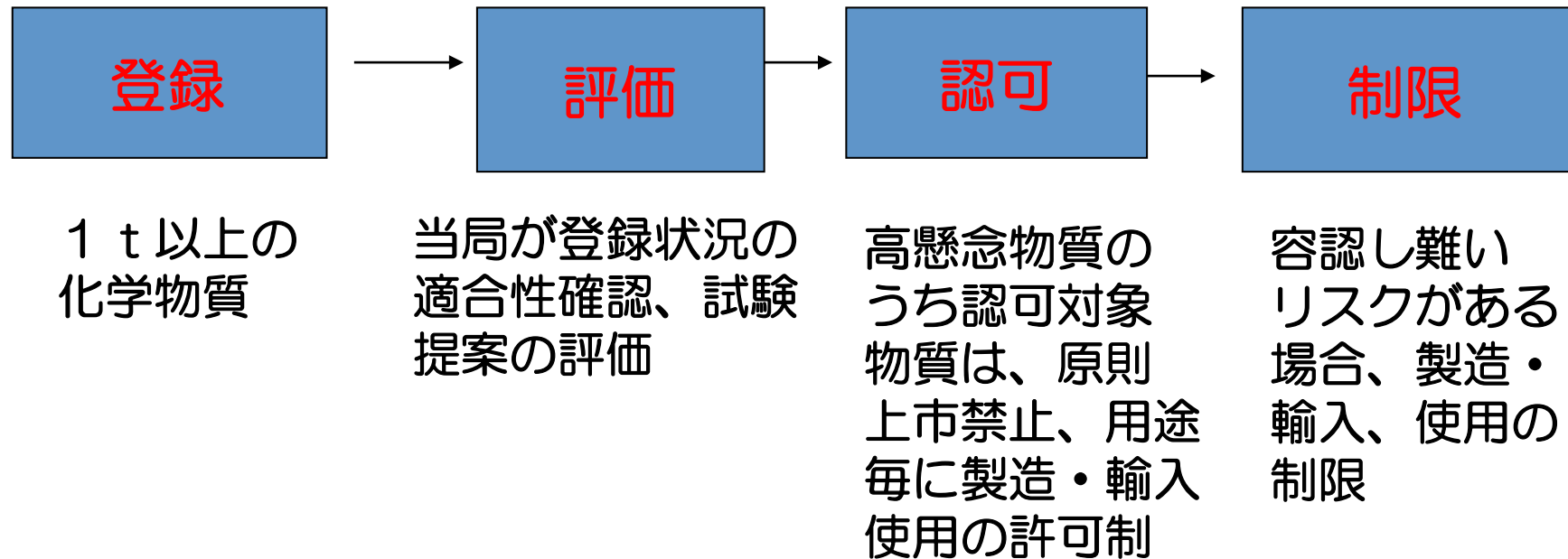
動物実験数削減の可能性もテーマの一つ

各国・地域における規制上の不調和

公衆衛生上の問題

科学技術の進展への対応

REACHの概要



製造／輸入量に応じた有害性情報

番号	試験項目	製造／輸入量(t/年)			
		1-10	10-100	100-1000	1000以上
8.1	皮膚刺激性または皮膚腐食性(in vitro)	○	○	○	○
8.1.1	皮膚刺激性(in vivo)		○	○	○
8.2	眼刺激性 (in vitro)	○	○	○	○
8.2.1	眼刺激性 (in vivo)		○	○	○
8.3	皮膚感作性	○	○	○	○
8.4	遺伝毒性				
8.4.1	エイムス試験	○	○	○	○
8.4.2	染色体異常試験または小核試験(in vitro)		○	○	○
8.4.3	突然変異試験(in vitro)				
8.5	急性毒性試験				
8.5.1	経口	○	○	○	○
8.5.2	吸入		○	○	○
8.5.3	経皮		○	○	○
8.6	反復投与毒性				
8.6.1	短期(28日間)		○	○	○
8.6.2	短期(90日間)			○	○
8.6.3	長期(1年以上)				○
8.6.4	追加試験				○
8.7	生殖毒性試験				
8.7.1	スクリーニング		○	○	○
8.7.2	出生前発生毒性試験			○	○
8.7.3	二世世代繁殖性試験			○	○

APPLY INTEGRATED APPROACHES TO TESTING AND ASSESSMENT

All of the work on alternative methods is undertaken at the OECD with the objective of contributing to more integrated approaches to testing and assessment. In practice, integrated approaches, which take into account the tools outlined above, are used in the OECD Existing Chemicals Programme which generates internationally agreed initial hazard assessments of chemicals.

This practical application of integrated approaches improves their regulatory acceptance and facilitates their implementation into national and regional chemical assessment schemes in OECD member countries.

AVOID DUPLICATION OF TESTING

The OECD **Mutual Acceptance of Data** (MAD) framework has had a major impact on testing practices. MAD guarantees that data generated in the testing of chemicals in an OECD member country, or adhering non-member country, in accordance with OECD Test Guidelines and OECD Principles of Good Laboratory Practice shall be accepted in other member or adhering countries for purposes of chemical assessment and other uses relating to the protection of man and the environment. This proactive framework saves thousands of animals every year and its impact increases as non-OECD economies join the MAD system.

Furthermore, the OECD has developed the **Global Portal to Information on Chemical Substances** (eChemPortal). eChemPortal offers free public access to information on properties of chemicals through a simultaneous search of multiple databases, thereby improving the access to existing test results and reducing the risk of unnecessary testing.

WHERE CAN I FIND OECD TOOLS RELATED TO CHEMICAL SAFETY AND ANIMAL WELFARE ?

(Q)SARs, Grouping of Chemicals and the (Q)SAR Application Toolbox

www.oecd.org/env/existingchemicals/qsar

Test Guidelines, *in vitro* test methods, molecular screening and toxicogenomics

www.oecd.org/env/testguidelines

Integrated Approaches to Testing and Assessment

www.oecd.org/env/existingchemicals

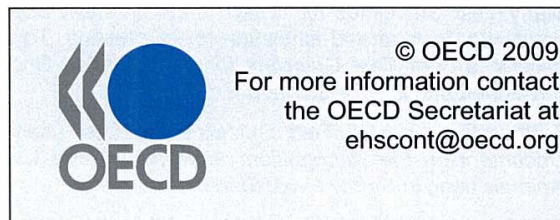
Mutual Acceptance of Data

www.oecd.org/env/glp

Global Portal to Information on Chemical Substances

www.oecd.org/ehs/eChemPortal

© Photos
Getty Images, 2005
KaYann-Fotolia.com



Chemical Safety and Animal Welfare



Progress made
at the OECD



www.oecd.org/env/ehs

最近の動向 (EPAA) (資生堂より借用)

EU化粧品指令

EU化学物質規制 (REACH)

動物愛護



3 Rs宣言 : EPAA

2005年11月7日

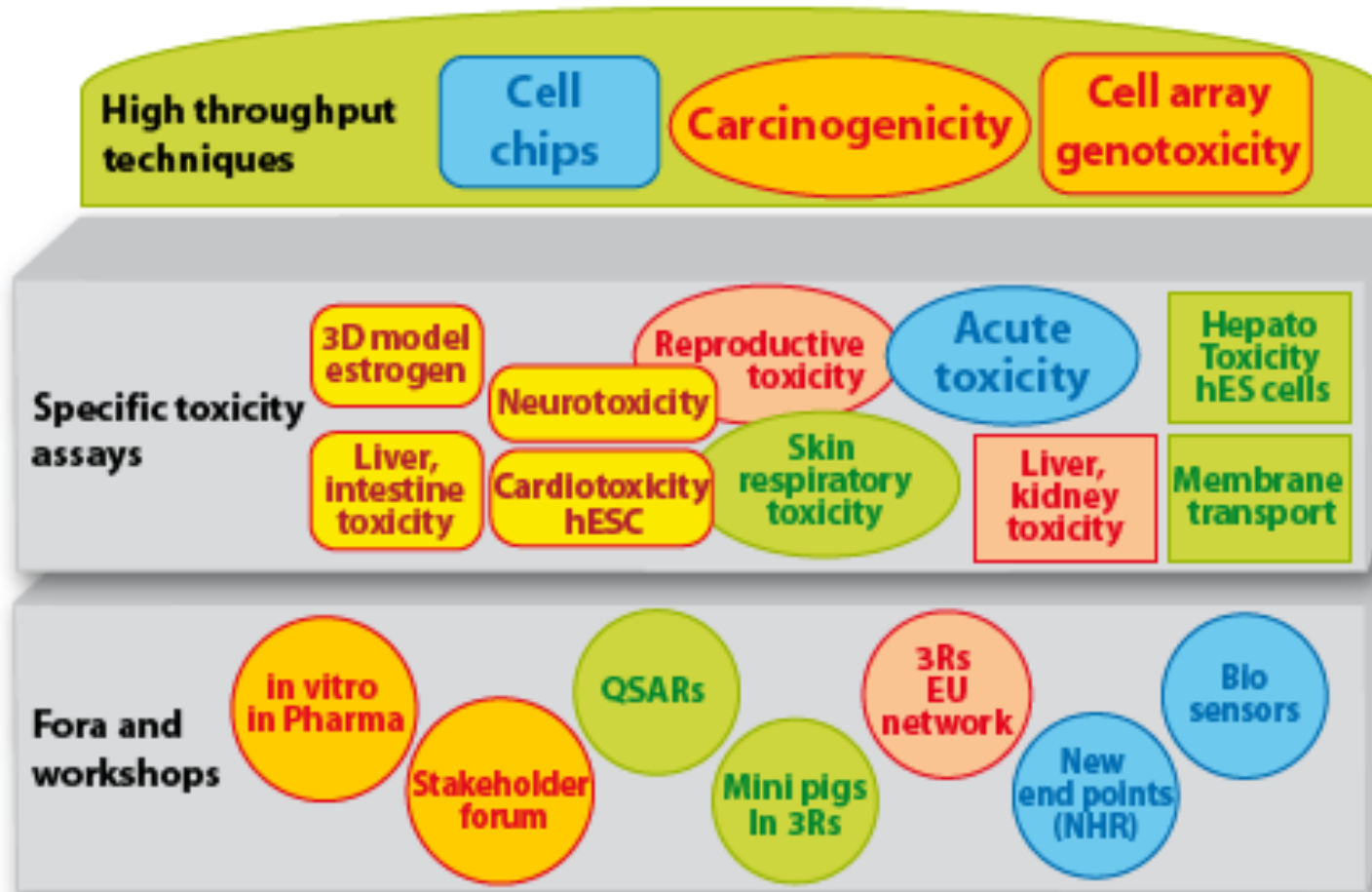
European Partnership for Alternative Approaches to Animal Testing

適切な資金・資源の提供を通して、代替法の開発やバリデーションを加速し、安全性評価のための代替法の行政による承認の迅速化を目指すこと

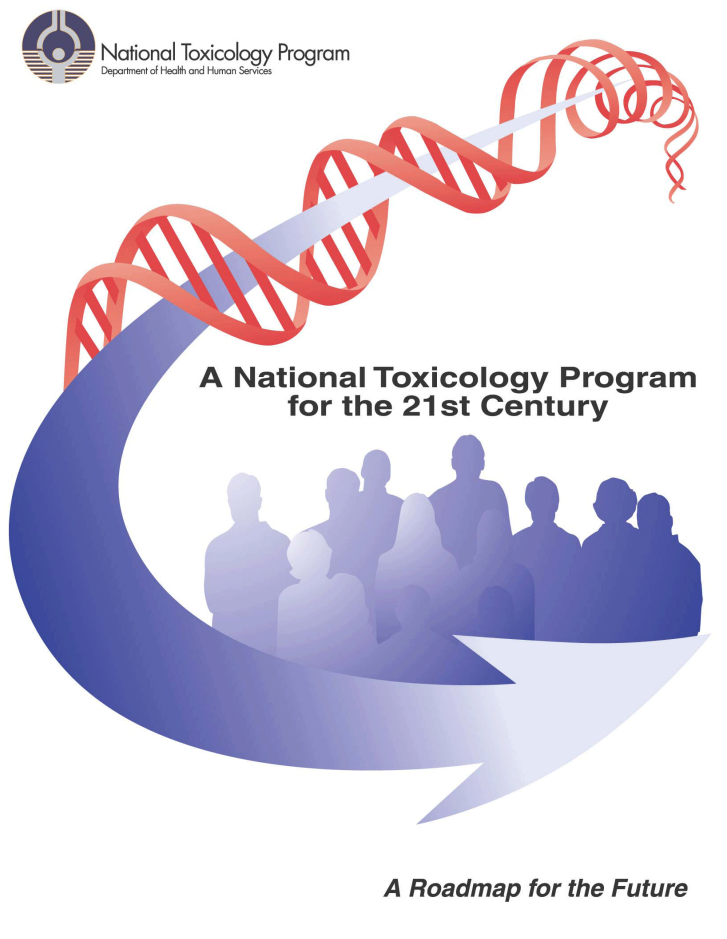
DGs (省庁): Enterprise, Research, Health & Consumer Protection, Environment, Joint Research Centre

産業界: AISE (石鹼洗剤協会)、CEFIC (欧州化学品工業会)、COLIPA (欧州化粧品工業会)、ECPA (欧州農薬工業会)、EFPIA (欧州製薬団体連合会)、EuropaBIO (欧州バイオテクノロジー工業会)、IFAH (欧州動物愛護協会) など7団体 (企業31社)

EU Alternative Testing Strategies Research (FP6)



The NTP Roadmap for the 21st Century



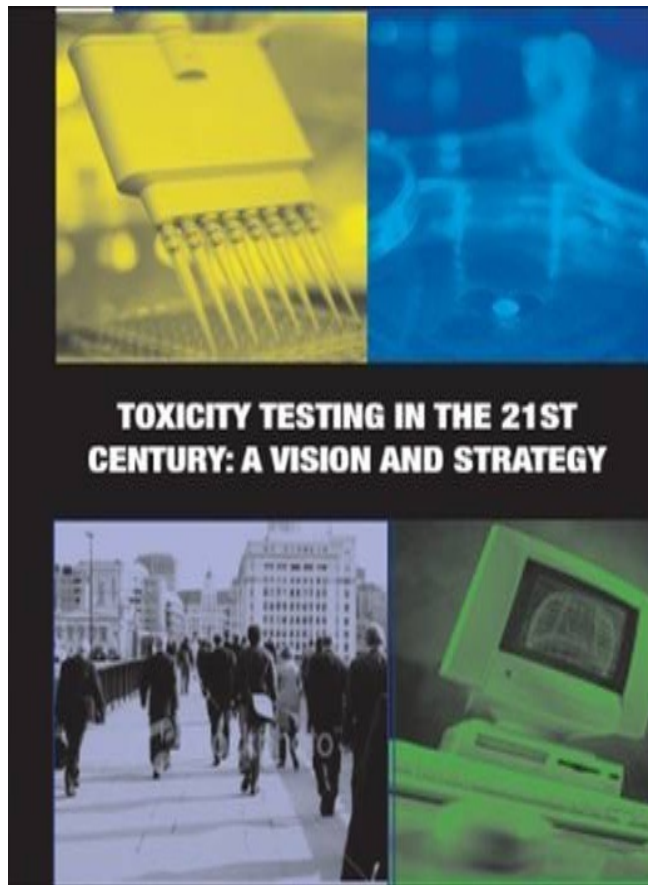
■ Goal 2 of the Roadmap

- *“Develop and validate improved testing methods and, where feasible, ensure that they reduce, refine, or replace the use of animals”*

■ From Page 7

- *“Activities and assays developed under the NTP Roadmap will be done in cooperation and consultation with ICCVAM to maximize their value to regulatory agencies.”*

Toxicity Testing in the 21st Century: A Vision and a Strategy

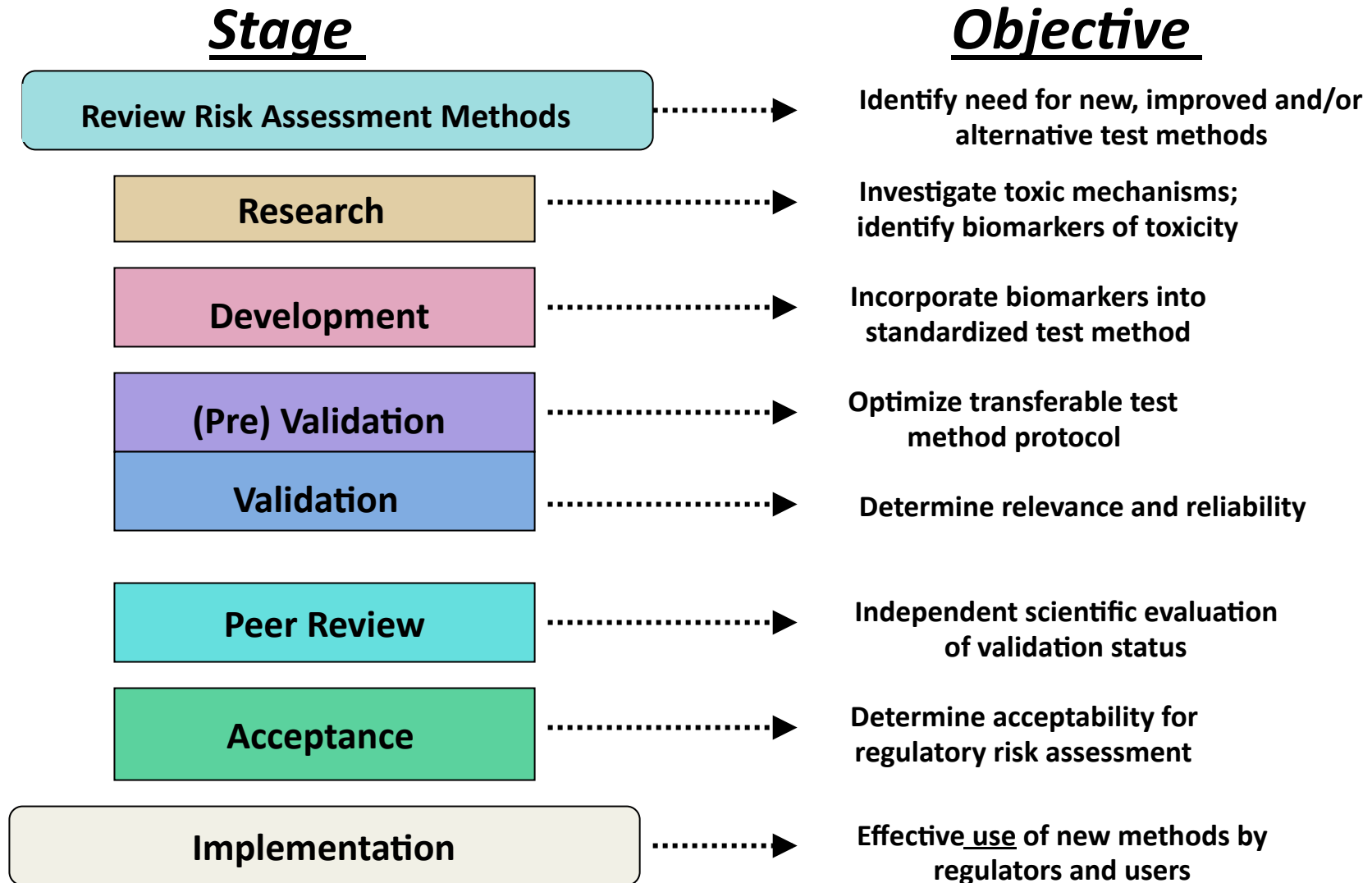


■ From NAS Report:

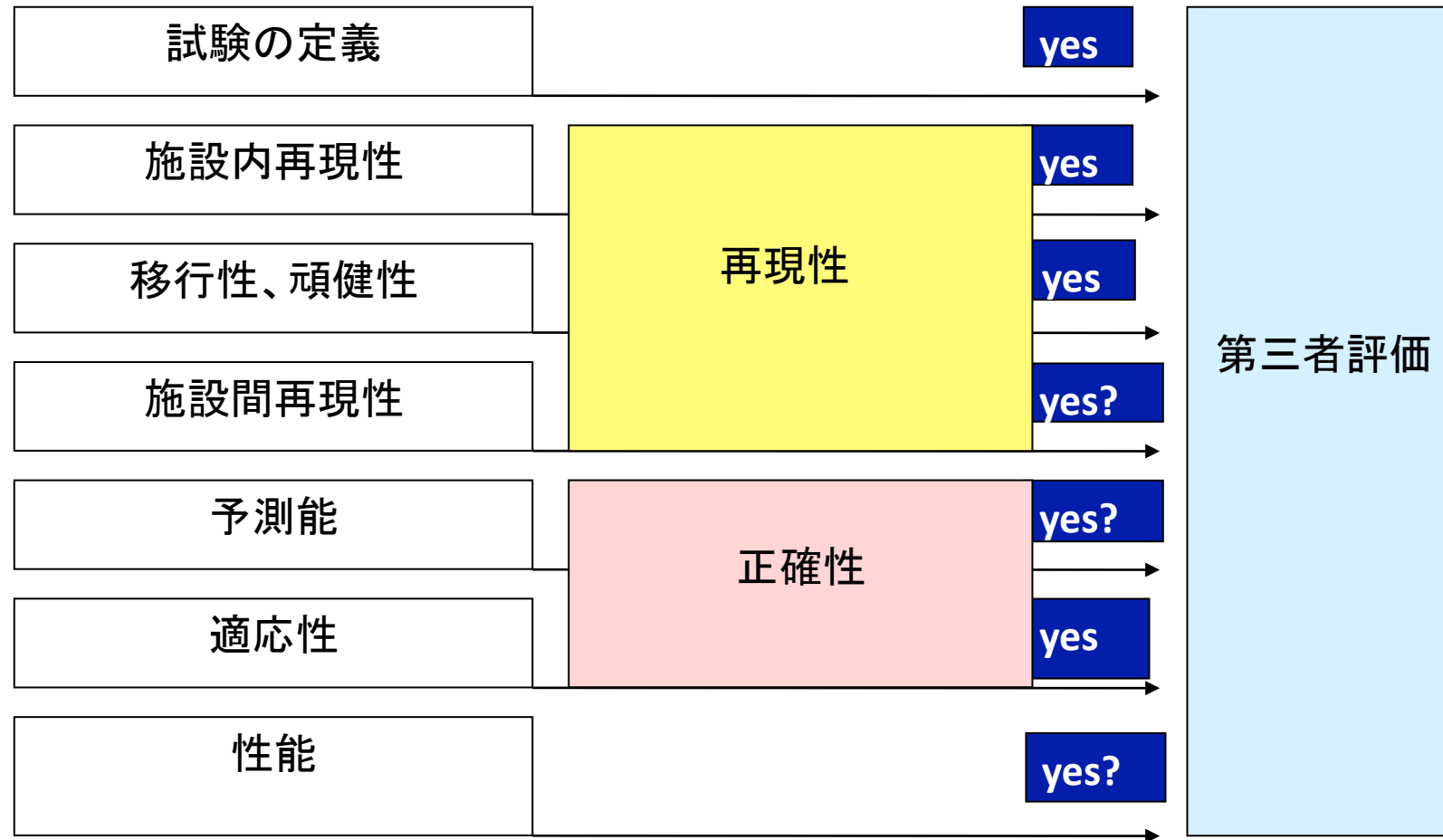
- *“The use of a comprehensive array of in vitro tests to identify relevant biologic perturbations with cellular and molecular systems based on human biology could eventually eliminate the need for whole-animal testing and provide a stronger mechanistically based approach for environmental decision-making.”*

試験法の公定化とJaCVAM

Test Method Evolution and Translation Process: Concept to Implementation



バリデーションの検討項目*



*from Thomas Hartung, ECVAM, 2003

試験法の公定化への誤解

ーバリデーションー

- 1) バリデーションとは、共同研究でも、トレーニングの場でもない。試験法の技術移転、施設内および施設間の再現性、必要なら既存試験との予測性を確認するものである。
- 2) プロトコルが固まるまでは、プレバリデーションであり、バリデーションとは呼ばない。
- 3) in houseの使用だけなら、バリデーションは不要。蓄積データがあればよい。バリデーションを実施し、行政的な受入れを考慮するならば、被験物質はコード化して用いる。
- 4) バリデーション実行委員会を組織して、化学物質の専門家や統計の専門家、その分野の専門家と協議しながら進める。
- 5) バリデーション終了後には、第三者評価を受けねばならない。

バリデーション研究や第三者評価はなぜ必要か？

1. 一研究室が開発した方法が、どこでも同じ結果とならない。これにより、重大な安全性上のミスを犯すかもしれない。
2. 試験法に匠の技はいらない。一定のレベルにある研究者なら世界中どこでもできる方法が望ましい。
3. 特に、代替法の場合、誤用により大きな健康被害をもたらす可能性が高い。

動物実験代替法の 開発・研究による利点

- 現行の安全性試験と比較して、70%以上の削減になり、3Rに寄与する
- 試験のコスト、時間の削減につながる
- 新しい試験法が増えることにより、試験選択の幅が広がる
- メカニズムベースのリスク アセスメントが可能になる

試験法の公定化への誤解 —ガイドライン—

- 研究者の興味でなく、試験法のニーズ、これまでである試験法をどう代替するかが鍵である。
- 行政的に認められていない分野の試験法を作るには、社会的な必要性や国際的なコンセンサスが必要である。
- In houseの試験法が汎用され、その必要性が増したものがガイドラインとして推挙される。
- 動物実験依存型からin vitro toxicologyへの発想の転換が必要である。

誤解を解いておかねばならないこと

国立医薬品食品衛生研究所

安全性生物試験研究センター

薬理部

新規試験法評価室

JaCVAM

JaCVAMは活動であり、
組織ではありません

- OECDテストガイドライン対応
- ヒト細胞・組織の安定供給
- 化粧品・医薬部外品規制
- *In vitro* toxicology に関する研究
- 局方の改訂

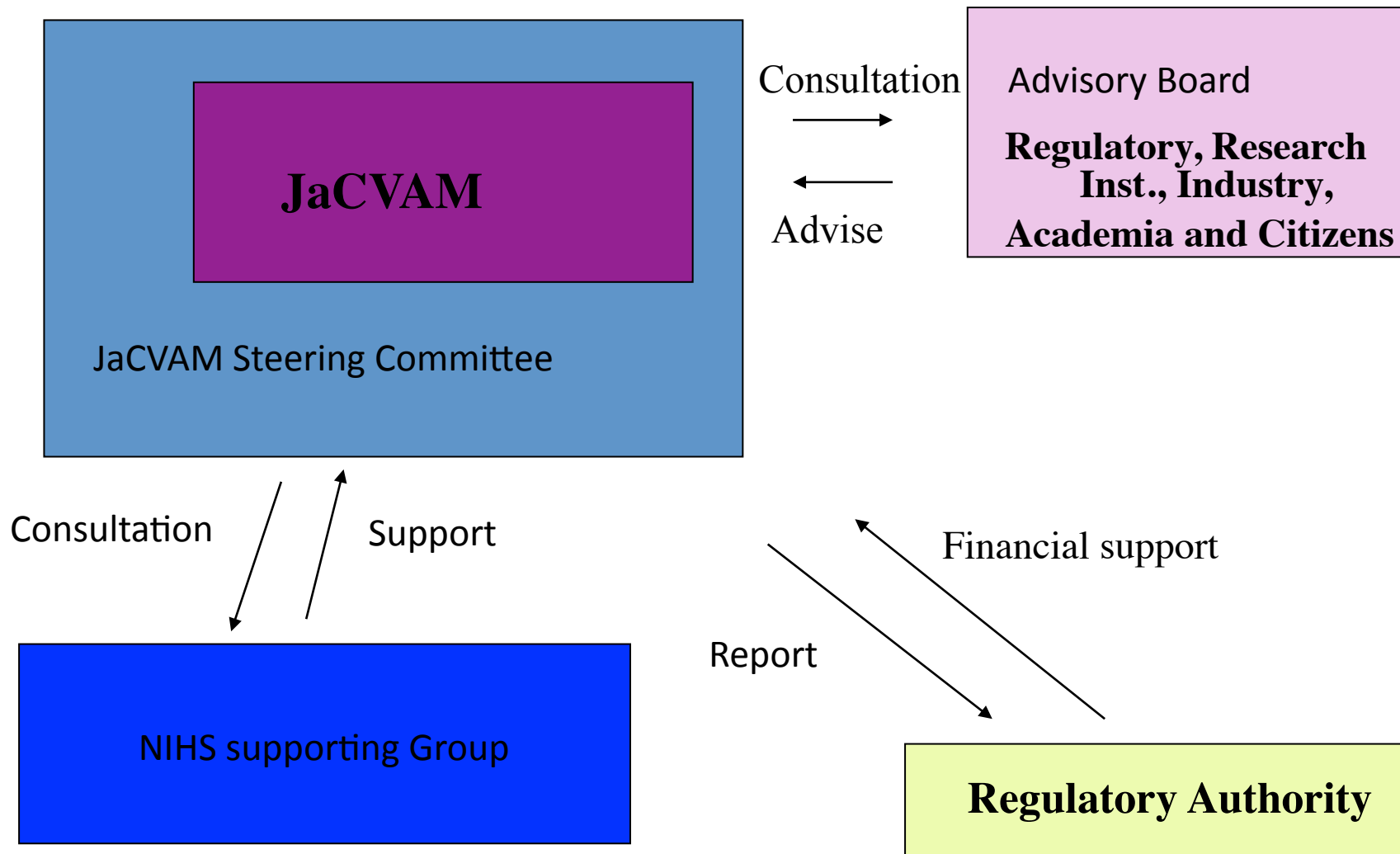
JaCVAM活動とは？

JaCVAM活動は、国立医薬品食品衛生研究所（国立衛研と記す） 安全性生物試験研究センター 薬理部 新規試験法評価室の業務として、国立衛研組織関係法令集第五十一条の六に定める「新規試験法評価室においては、業務関連物質の安全性に係る試験法の研究および評価に関することをつかさどる」のうち、業務関連物質の安全性に係る試験法の評価に関することとする。

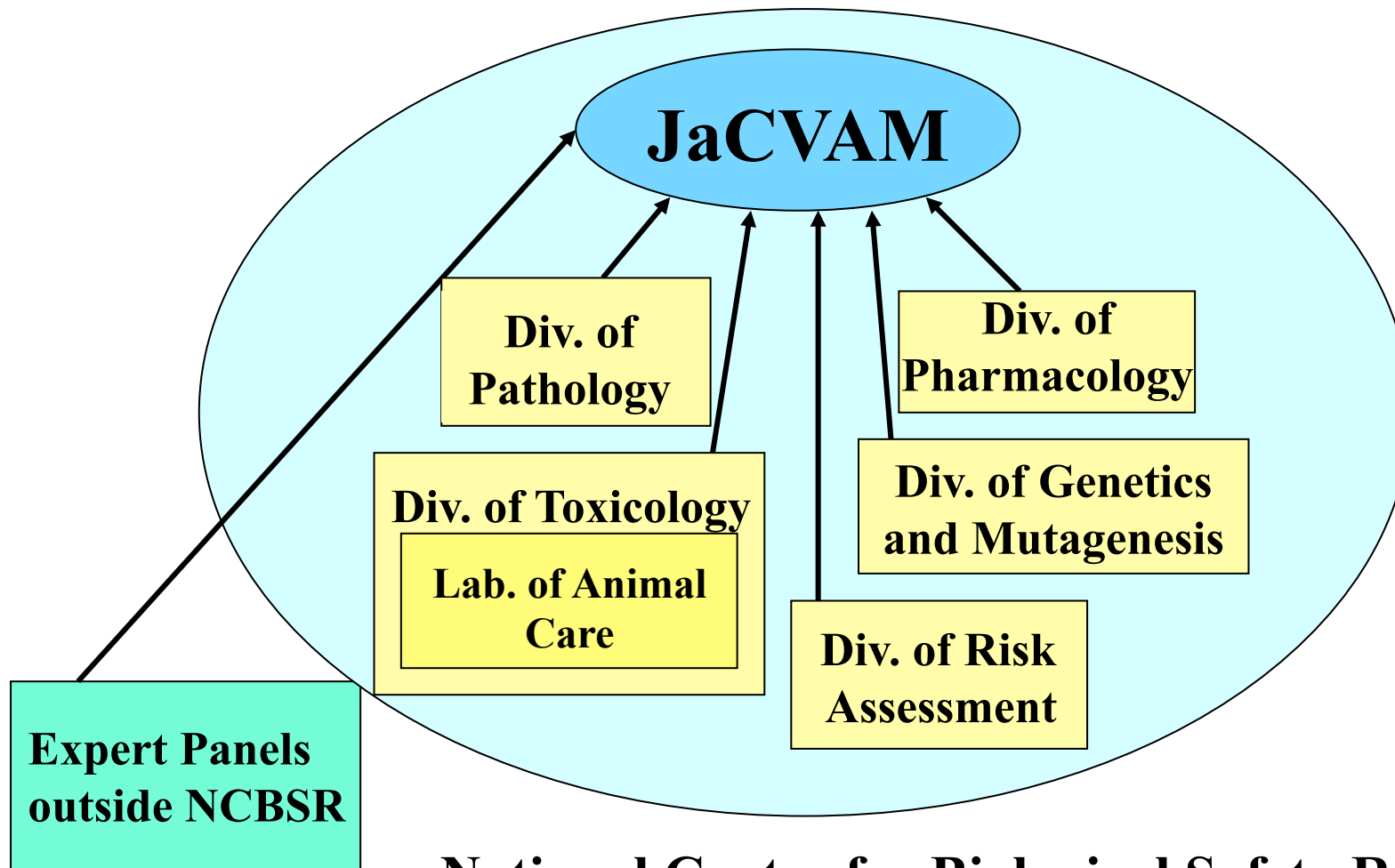
JaCVAMの設立目的

- 医薬品等化学物質の安全性および有効性試験にかかわる動物実験の3Rs (Reduction、Refinement、Replacement) の促進
- 国際協調を重視した新規動物実験代替法の公定化

Organization of JaCVAM

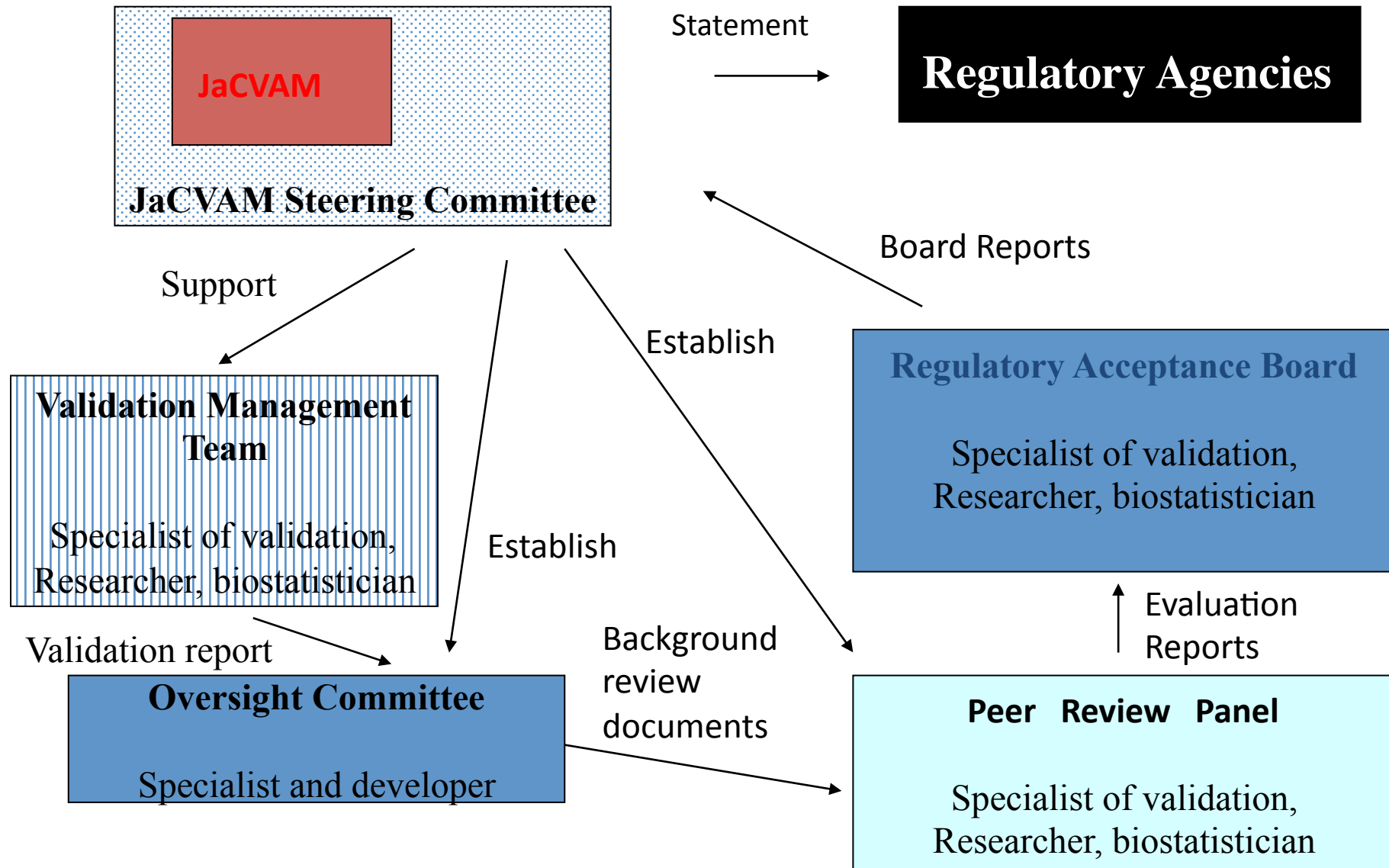


NIHS Supporting Group



**National Center for Biological Safety Research
(NCBSR)**

Framework for Peer Review and Regulatory Acceptance of Alternative Methods



国立衛研内のJaCVAM協力者（敬称略）

- 運営委員会 大野副所長、西川センター長、関野部長
- 評価会議 西川センター長、吉田（病理）、五十嵐（生活衛生）
- 評価委員会 大野副所長、中澤・簾内（薬理）、高橋・金子（毒性）、鹿庭（医療機器）、手島（代謝生化学）
- バリデーション委員会
菅野（毒性）、小野（評価室）、本間（変異遺伝）、森田（安全情報）

OECDテストガイドラインと国際バリ レーション



OECD Test guideline (TG) on animal testing 3Rs accepted since 2001 1/2

Method	International Acceptance
CORROSITEX Skin Corrosivity Test	OECD TG 435 (2006)
EpiSkin Skin Corrosivity Test	OECD TG 431 (2004)
EpiDerm Skin Corrosivity Test	OECD TG 431 (2004)
SkinEthic RHE Skin Corrosivity Test	OECD TG 431 (2004)
EST-1000 Skin Corrosivity Test	OECD TG 431 (2004)
Rat TER Skin Corrosivity Test	OECD TG 431 (2004)
<i>In vitro</i> reconstructed human epidermis test methods EpiDerm, EPISKIN, SkinEthic RHE	OECD WNT March 2010.
3T3 NRU Phototoxicity Test	OECD TG 432 (2004)
Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) Test Method	OECD TG 437 (2009)
Isolated Chicken Eye (ICE) Test Method	OECD TG 438 (2009)

OECD Test guideline (TG) on animal testing 3Rs accepted since 2001 2/2

Method	International Acceptance
Updated Murine local lymph node assay (LLNA) for skin sensitization (20% reduction)	OECD TG 429 (updated) OECD WNT, March 2010
Reduced LLNA (rLLNA)	OECD TG 429 (updated) OECD WNT, March 2010
Nonradioactive LLNA protocol, LLNA: BrdU-ELISA	OECD TG 442B OECD WNT March 2010.
Nonradioactive LLNA protocol, LLNA:DA	OECD TG 442B OECD WNT March 2010.
Up and Down Procedure (UDP)	OECD TG 425 (2001)
<i>In vitro</i> micronucleus test	Finalisation of draft OECD TG
Fixed Dose Procedure (FDP)	OECD TG 420 (2001)
Acute Toxic Class Method (ATC)	OECD TG 423 (2001)
Inhalation toxicity - acute toxic class method	OECD TG 436 (2009)
<u>Stably transfected human estrogen receptor-α transcriptional activation assay for detection of estrogenic agonist-activity of chemicals</u>	<u>OECD TG 455(2009)</u>

JaCVAMが成立に関与したOECDテストガイドライン

JaCVAMが主導

- **No. 442a: Skin Sensitisation: Local Lymph Node Assay Non-RI method (LLNA:DA)**
- **No. 442b: Skin Sensitisation: Local Lymph Node Assay Non-RI method (LLNA:BrdU-ELISA)**
- **No.455:The Stable Transfected Human Estrogen Receptor-alpha Transcriptional Activation Assay for Detection of Estrogenic Agonist-Activity of Chemicals**

JaCVAMが支援

- **No. 429: Updated Skin Sensitisation: Local Lymph Node Assay**
- **No. 437 Bovine Corneal Opacity and permeability Test Methods for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants**
- **No. 438 Isolated Chicken Eye Test Methods for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants**
- **No. 439 In vitro skin Irritation assay**

2010年成立予定

JaCVAM 評価会議によって認証された試験法

- ◆ **The Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) Test Method for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants**
- ◆ **The Isolated Chicken Eye (ICE) for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants**
- ◆ **Skin sensitization assay, LLNA : DA**
- ◆ **Skin sensitization assay, LLNA : BrdU-ELISA**
- ◆ ***In vitro* skin irritation testing: EPISKIN**
- ◆ ***In vitro* skin corrosion testing: Vitrolife-Skin, EpiDerm**

JaCVAM statement
on *in vitro* ocular toxicity test methods for identifying ocular corrosive and severe irritants: Bovine Corneal Opacity and Permeability Test Method

At the meeting concerning the above method, held on 19 December 2009 at the National Institute of Health Sciences (NIHS), Tokyo, Japan, the members of the Japanese Center for the Validation of Alternative Methods (JaCVAM) Regulatory Acceptance Board [1] unanimously endorsed the following statement:

Following the review of the results of the ICCVAM (Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods, USA) Background Review Document and Evaluation Report, it is concluded that the ***in vitro* ocular toxicity test methods: Bovine Corneal Opacity and Permeability Test Method** can be used for identifying ocular corrosive and severe irritants.

The JaCVAM Regulatory Acceptance Board has been regularly kept informed of the progress of the study, and this endorsement is based on an assessment of various documents, including, in particular, the report on the results from the study, and also on the evaluation supported by JSAAE of the study prepared for the JaCVAM ad hoc peer review panel.



Hajime Kojima,
Director,
JaCVAM,
National Centre for Biological Safety and Research (NCBSR)
NIHS,
Tokyo



Tohru Inoue,
Director,
NCBSR,
NIHS,
Tokyo

JaCVAM peer review実施中

- SIRC assay for eye irritation testing
- MATREX assay for eye irritation testing
- LabCyte assay for skin irritation testing (with OECD)
- Lumi-cell assay for endocrine disruptor screening (with ICCVAM)
- SHE & 3T3 assays for cell transformation assay (with ECVAM)
- In vitro pyrogenicity testing
- *In vitro* cytotoxicity test methods for estimating starting doses for acute oral systemic toxicity tests

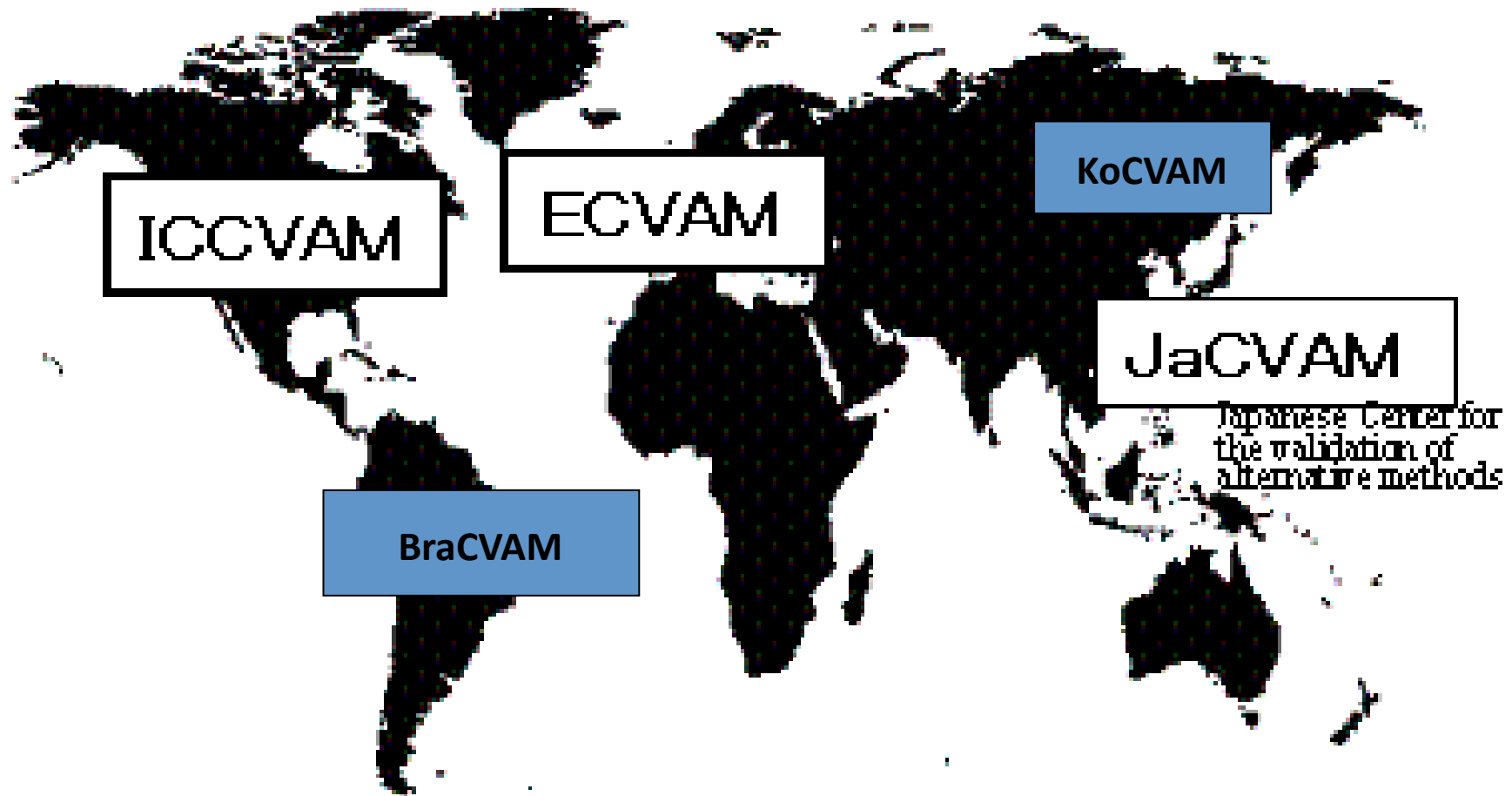
JaCVAMが実験に参加している国際バリデーション研究

試験法	終了予定時期	実行委員長	参加施設	目標
遺伝毒性試験 <i>in vivo</i> コメットアッセイ	2011年秋	宇野芳文(田辺三菱製薬株式会社)	14施設(内、日本からは4施設)	OECDテストガイドライン
遺伝毒性試験 <i>in vitro</i> コメットアッセイ	不明	本間正充(国立医薬品食品衛生研究所)	7施設(内、日本からは1施設)	OECDテストガイドライン
発癌性試験スクリーニング Bhas 形質転換試験	2010年10月	林 真(安評センター)	3施設(すべて国内)	OECDテストガイドライン
内分泌かく乱試験スクリーニング STTA-antagonistアッセイ	2011年3月	小野 敦(国立医薬品食品衛生研究所)	3施設(内、日本から2施設)	OECDテストガイドライン
内分泌かく乱試験スクリーニング CCIアッセイ	2010年12月	William Stokes (NICEATM/NIEHS)	3施設(内、日本から1施設)	OECDテストガイドライン
皮膚刺激性試験 LabCyte EPI-MOEDL	2010年12月	小島 肇(国立医薬品食品衛生研究所)	3施設(すべて国内)	OECDテストガイドライン
眼刺激性試験 STE法	2010年12月	小島 肇(国立医薬品食品衛生研究所)	3施設(すべて国内)	未定
光毒性試験 ROSアッセイ	2011年10月	小島 肇(国立医薬品食品衛生研究所)	未定(すべて国内)	ICHガイドライン
皮膚感作性試験 h-CLAT	2011年	David Basketter(UK)	4施設(内、2施設)	EU認証

その他の国際バリデーション

Method	
Tiered testing strategy to predict phototoxicity (3T3 NRU PT and reconstructed human epidermis models)	ECVAM
Four cell function-based <i>in vitro</i> assays - Cytosensor Microphysiometer® (CM) - Fluorescein leakage (FL)	ECVAM; NICEATM-ICCVAM
Human reconstructed tissue models - EpiOcular - SkinEthic HCE	ECVAM; JaCVAM, NICEATM-ICCVAM, and Health Canada VMT liaisons
Nonradioactive LLNA protocol (LLNA: BrdU-Flow Cytometry)	NICEATM-ICCVAM
<i>In vitro</i> skin sensitization assays (h-CLAT; DPRA; MUSST)	ECVAM; JaCVAM, NICEATM-ICCVAM VMT liaison members
<i>In vitro</i> hepatic biotransformation enzyme induction	ECVAM
MELN® estrogen receptor transcriptional activation assay: agonist and antagonist protocols	ECVAM/ICCVAM/JaCVAM
Genotoxicity assays in 3D skin models	ECVAM
<i>In vitro</i> hepatic biotransformation – CYP induction – Hepa RG and cryopreserved human hepatocytes	ECVAM/ICCVAM/JaCVAM

2009年のVAMの動向

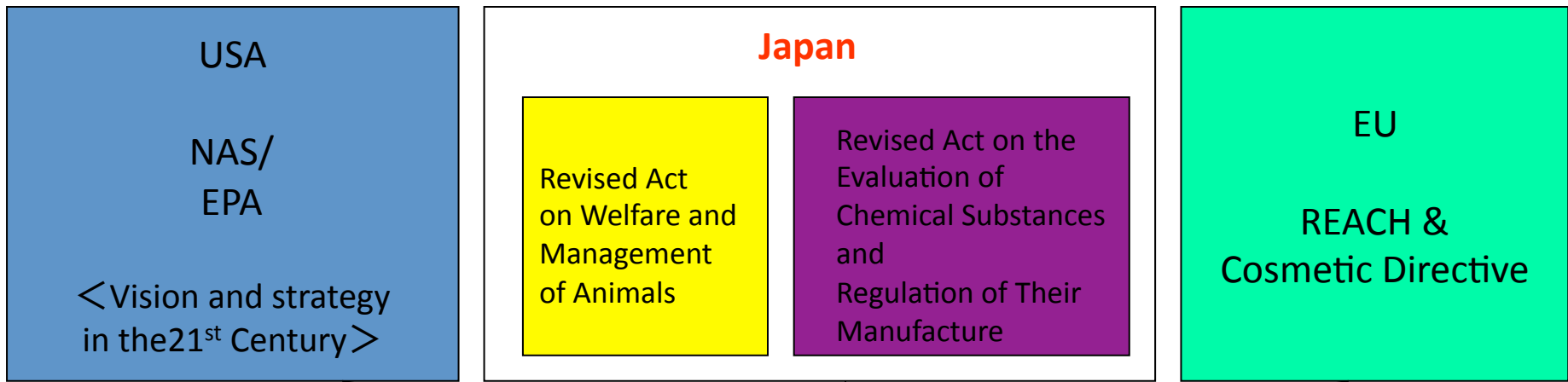


代替法センターの比較

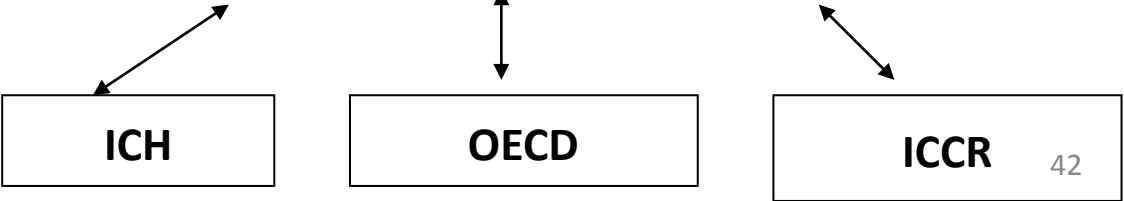
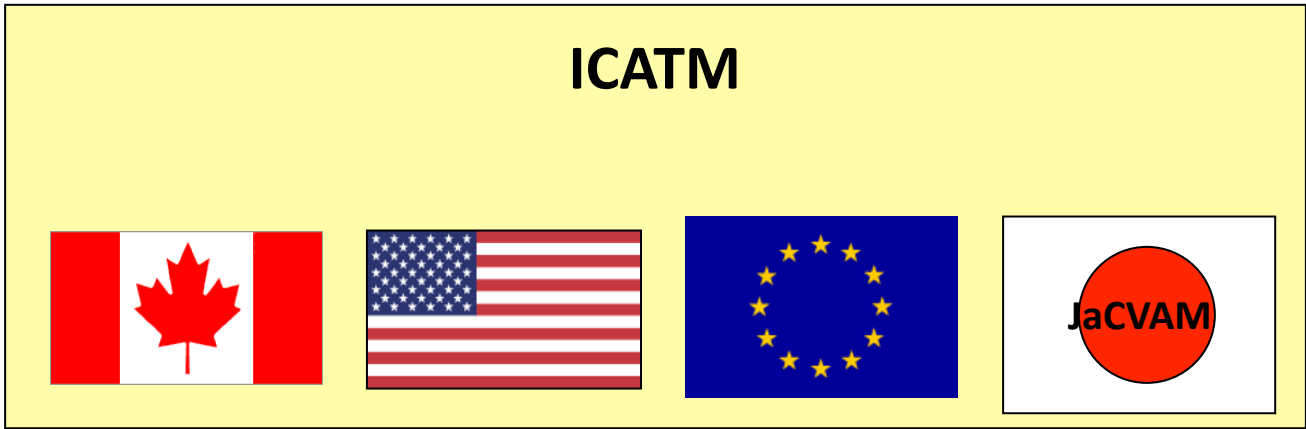
	組織母体	組織関連法律	OECD	医薬品・化粧品規制
ECVAM	EU DG Joint Research Center, Institute for Health and Consumer Protection	<i>Directive 86/609/EEC</i>	EC	EC
NICATM	ICCVAM	ICCVAM act法	EPA	FDA
JaCVAM	国立衛研 新規試験法評価室を中心とする任意団体活動	なし	厚生労働省・ 経済産業省・ 農林水産省・ 環境省	厚生労働省・ 医薬品医療機器総合機構

International Cooperation on Alternative Test Methods (ICATM)



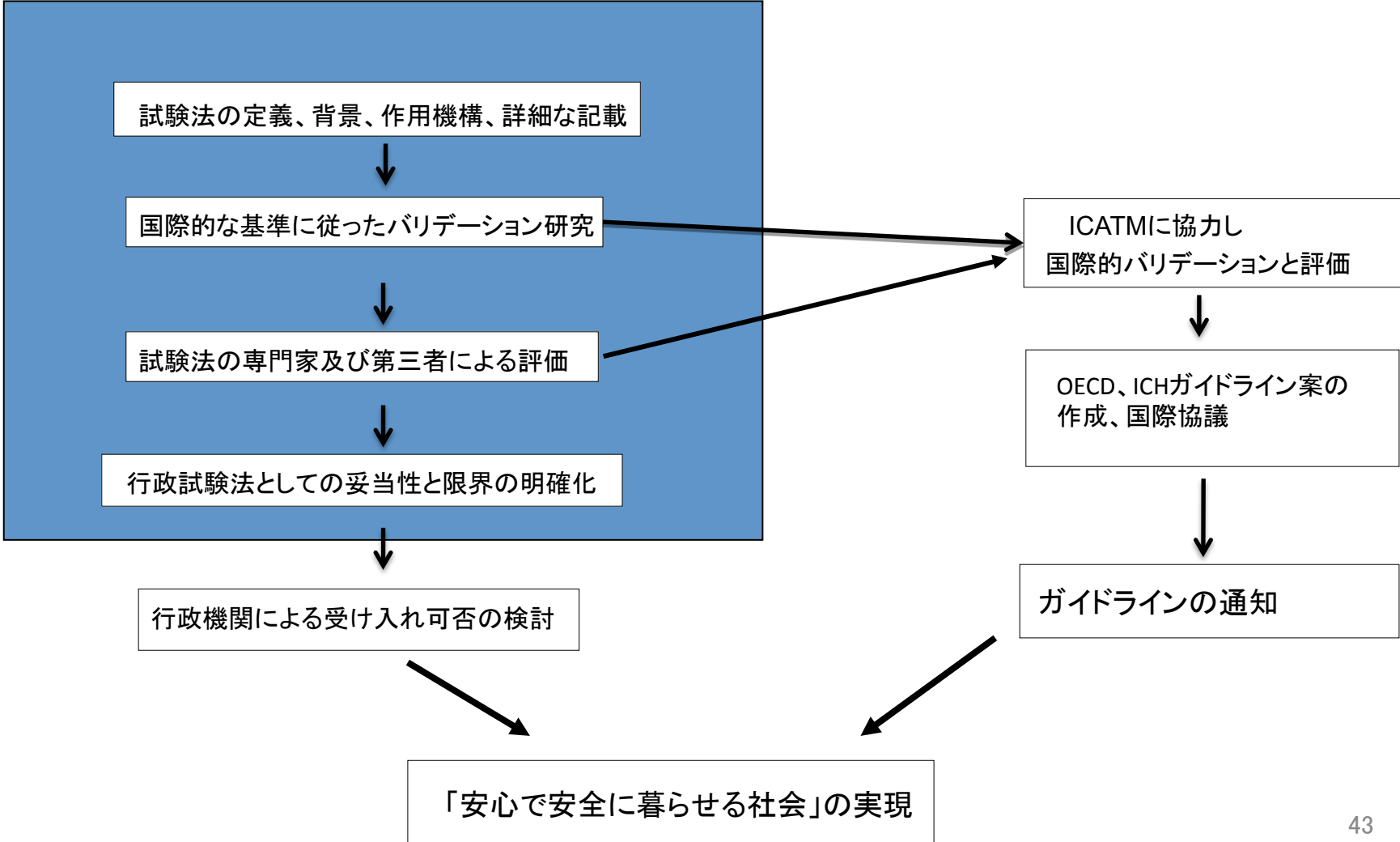


Utilization of Alternative to Animal Testing



国際的な試験法公定化の動向

OECDが決めた試験法公定化のルール
(このルールに従わないとガイドラインにならない)



ICATMとの共同研究を通して 何を得るか？

- 日本で開発された試験法のうち、10試験を5年間でOECDに申請する。
- そのうち、1/3～1/2をOECDガイドラインとして成立させる。
- 欧米で開発された試験法についても、我が国の国益をそぐわない範囲で成立に協力する。

JaCVAMの問題点と対策

1. JaCVAMは公的な機関ではない。ボランティアによる活動である⇒公的な組織の要求
2. 厚生労働省がさらに5年間限定の予算(年間1400万円)をつけた研究活動である
3. 厚生労働省の管轄⇒他省庁に参画を促す
4. 限られた狭い協力者⇒多くの業界団体、学会への協力要請
5. ICATMの中での戦略を厚労省が示さない。

JaCVAM Activities

Home > JaCVAM Activities > [Update on JaCVAM](#)

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† 	Nov-08 	on going 		Draft test guideline 	ECVAM
	(2)Reconstructed human tissue test made in Japan	May-09 					JSAAE



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 methods through international collaboration.

the 3Rs in animal experiments—Reduction (of animal use)

御静聴ありがとうございました

Refinement (to lessen pain or distress and to improve animal well-being)
Replacement (of an animal test with one that uses non-animal systems or phylo-genetically
lower species)
(OECD GD34)

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