

ヒト皮膚モデル（3次元皮膚モデル EPISKIN）を用いた  
皮膚刺激性試験代替法の評価会議報告書

JaCVAM 評価会議

平成 22 年（2010 年）3 月 4 日  
平成 23 年（2011 年）4 月 20 日改定

JaCVAM 評価会議

井上 達 (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)  
田中憲穂 (食品薬品安全センター 秦野研究所)  
吉田武美 (昭和大学薬学部)  
横関博雄 (東京医科歯科大学)  
吉村 功 (東京理科大学)  
中村和市 (日本製薬工業協会)  
岡本裕子 (日本化粧品工業連合会)  
大島健幸 (日本化学工業協会)  
小野寺博志 (医薬品医療機器総合機構)  
見田 活 (医薬品医療機器総合機構)  
吉田 緑 (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 病理部)  
五十嵐良明 (国立医薬品食品衛生研究所 環境衛生化学部)

任期：平成 21 年 1 月 1 日～平成 22 年 3 月 31 日

西川秋佳 (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)  
田中憲穂 (食品薬品安全センター 秦野研究所)  
吉田武美 (昭和大学薬学部)  
横関博雄 (東京医科歯科大学)  
吉村 功 (東京理科大学)  
渡部一人 (日本製薬工業協会)  
岡本裕子 (日本化粧品工業連合会)  
大島健幸 (日本化学工業協会)  
小野寺博志 (医薬品医療機器総合機構)  
小笠原弘道 (医薬品医療機器総合機構)  
吉田 緑 (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 病理部)  
五十嵐良明 (国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部)  
長谷川隆一 (独立行政法人 製品評価技術基盤機構)  
浅野哲秀 (元日東電工株式会社)

任期：平成 22 年 4 月 1 日～平成 24 年 3 月 31 日

オブザーバー：JaCVAM 運営委員

大野泰雄 (国立医薬品食品衛生研究所)  
増田光輝 (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)  
小島 肇 (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)  
秋田正治 (日本動物実験代替法学会)  
柴辻正喜 (厚生労働省 医薬食品局 審査管理課 化学物質安全対策室)  
実国慎一 (経済産業省 製造産業局 化学物質安全対策室)

任期：平成 21 年 1 月 1 日～平成 22 年 3 月 31 日

大野泰雄 (国立医薬品食品衛生研究所)

関野祐子（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）  
増田光輝（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）  
小島 肇（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）  
秋田正治（日本動物実験代替法学会）  
柴辻正喜（厚生労働省 医薬食品局 審査管理課 化学物質安全対策室）  
実国慎一（経済産業省 製造産業局 化学物質安全対策室）

任期：平成 22 年 4 月 1 日～平成 23 年 4 月 30 日

以上

ヒト皮膚モデル（3次元皮膚モデル EPISKIN）を用いた皮膚刺激性試験代替法について、第三者評価委員会からの報告を受け<sup>1)</sup>、以下の8項目について審議した。7項目までは OECD ガイダンス文書 No. 34 に示された検討項目である<sup>2)</sup>。なお、本動物実験代替法の利用にあたっては、適用範囲を十分に配慮した上で使用されるべきである。

#### < 審議内容 >

1. 検討対象の試験法とその妥当性を示すデータは、透明で独立な評価を受けているか。

当該試験法は、ヒト皮膚モデル（3次元皮膚モデル EPISKIN）を用いた *in vitro* 皮膚刺激性試験法であり、ウサギ皮膚刺激性を予測あるいは Draize 皮膚刺激性試験\*を代替するものである。

当該試験法は、欧州代替法バリデーションセンター（ECVAM）科学諮問委員会の非理事会メンバー（ESAC）によって評価され、“ヒト皮膚モデルを用いた *in vitro* 皮膚刺激性試験法の承認に関する ESAC の statement”として公表されている。その内容は、OECD GD34 の原則に準拠され、適切なものである。

以上より、透明で独立した評価がなされていると判断できる。

\*（OECD TG 404 および EU 危険物指令 67/548/EEC の付属 Annex V に記載の試験法 B.4）

2. 当該試験法で得られるデータは、対象毒性を十分に評価あるいは予測できるものであるか。データは、当該試験法と従来の試験法の、代替法としての繋がりを示しているか。あるいは（同時に）そのデータは、当該試験法と、対象としているあるいはモデルとしている動物種についての影響との繋がりを示しているか。

- 皮膚刺激性は、皮膚表面への直接投与による可逆的な皮膚の炎症反応を引き起こす性質である。
- 皮膚刺激反応は、刺激物質が、皮膚角質層に吸収され拡散し、下層の細胞に影響を与えるため生じる。
- EPISKIN は、角質層の下に表皮細胞を持つ表皮モデルであり、被験物質曝露後に接触した表皮細胞の生存率を指標としている。
- 起炎性サイトカイン（IL-1 $\alpha$ ）を測定することで炎症反応を確認している。
- よって当該試験法で得られるデータは、動物を使用した Draize 皮膚刺激性試験法と類似した反応を測定したものであり、従来の試験法との繋がりを示している。

3. 当該試験法は、ハザードあるいはリスク、あるいはその両方を評価するのに有用であるか。

当該試験法は、化学物質の皮膚刺激性を識別する目的で用いられる皮膚刺激性試験法として有用である。化学物質の皮膚刺激性識別に用いられる皮膚刺激性試験法\*の結果を予測できる。

ハザードを評価できる種々の分子構造、置換基、物理化学的性質を持つもの 58 物質が評価され、判定識別一致率（中央値による）は、49 種（49/58 : 84.5%）であった。

よって、提供されているデータから、当該試験法は暴露された物質のハザードを評価するのに有用である。

\*OECD TG 404 および、EU 危険物指令 67/548/EEC の付属 Annex V に記載の試験法 B.4

4. 当該試験法とその妥当性を示すデータは、その試験法で安全性を保証しようとする、行政上のプ

プログラムあるいは関係官庁が対象としている化学物質や製品を、十分広く対象としたものとなっているか。当該試験法が適用できる条件及び適用できない条件が明確であるか。

当該試験法で検討されている被験物質には、Chemicals Selection Sub-committee(CSSC)によって58種が選択され、その内訳は、EU分類では、R38表示物質25種、no labelが33種、GHS分類では、Irritant 13種、Mild irritant 17種、non-irritant 28種、EU-GHS分類では、R38-Iが13種、R38-MIが12種、no label-MIが5種、no label-NIが28種である。

適用限界として、MTT還元法であるから、着色による影響や還元物質による妨害等を受ける。

これらの被験物質には、種々の分子構造、置換基、物理化学的性質が含まれているが、製品の用途が明確でない。したがって、行政上のプログラムあるいは関係官庁が対象としている適用範囲は不明確である。

5. 当該試験法は、プロトコルの微細な変更に対して十分頑健で、適切な訓練経験を持つ担当者と適切な設備のある施設において、技術習得が容易なものであるか。

3施設による結果が、すべて一致した物質数は50種(50/58:86.2%)であり、施設間再現性に問題はなく、技術の易移転性は良好である。

プロトコルが定められていて、試験成立条件を満たす限りで頑健である。

当該試験法は通常の培養設備と培養技術で可能である。MTT色素を添加培養後専用パンチでくり抜く技術は、訓練が必要である。

6. 当該試験法は、時間的経費的に有用性があり、行政上で用いられやすいものであるか。

当該試験法の試験実施に費やす時間は前培養を含めて3日間と短時間で実施できるので、時間的には有用性がある。

ヒト皮膚モデルの価格は12well/約10万円である。

7. 当該試験法は、従来の試験法と比べて、科学的・倫理的・経済的に、新しい試験法あるいは改訂試験法であることが正当化されているか。

- 炎症反応の再現を確認しているので、科学的に妥当である。
- 動物を使用せず、動物福祉面から代替法として妥当である。
- 日本では、入手に時間がかかり、購入後に長期間保存はできない難点がある。
- 市販品であり、製造方法の変更や安定供給については注意が必要であるが、改良試験法(代替)として正当化されうる。

8. 安全性評価のための行政的資料として、受け入れ可能な試験法であるか。

本試験法は、化学物質の4時間適用による皮膚刺激性を評価する方法である。その範囲において、行政的な利用は可能である。

医薬部外品、化粧品に必要とされている24時間適用による皮膚刺激性への応用可能性については評価されていない。

以上の審議の結果、JaCVAM評価会議は、次のように結論した。

ヒト皮膚モデル(3次元皮膚モデル EPISKIN)を用いた皮膚刺激性試験代替法は、倫理的に優れた試

験法であり、適切な利用条件下で適用するならば、化学物質一般の皮膚に対する刺激性を科学的に評価可能である。

#### 参考文献

- 1) ヒト皮膚モデルを用いた皮膚刺激性試験代替法の第三者評価報告書
- 2) OECD (2005) OECD Series on testing and assessment Number 34, Guidance document on the validation and international acceptance of new or updated test methods for hazard assessment, ENJ/JM/MONO(2005) 14