

動物試験代替法

- **Alternative test = 代替法**
3Rs原則を実現する試験法
- **3Rs principle = 3Rs 原則**
 - 動物を用いる試験を動物を用いない、あるいは系統発生的下位動物を用いる試験法に置換すること(replacement)
 - 使用動物数を削減すること(reduction)
 - 実験動物の苦痛軽減と動物福祉を進めること(refinement)

小島肇博士(国立衛研)提供を改変

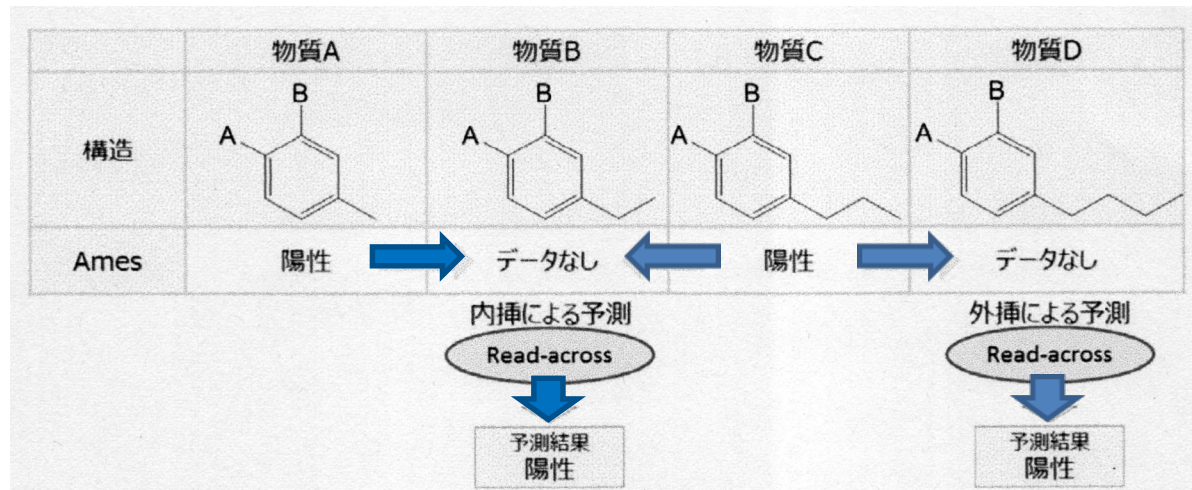
食品添加物関連のリスク評価指針で 言及されている 3Rs 的アプローチ

- 香料 : ばく露量が低いことが想定される ⇒ Threshold of Toxicological Concern(TTC)アプローチ 及び Quantitative Structure-Activity Relationship(QSAR)
- 加工助剤 : ばく露量が低いことが想定される ⇒ TTCアプローチ 及び QSAR
- アレルゲン性試験 : *in vitro* 試験(OECD 442C, 442D, and 442E); 有害性発現経路(AOP)に基づいた組合せ (IATA) による厳密な方法; の組合せ
- 食品添加物酵素のアレルゲン性試験: *in vitro* 理化学的安定性試験 および *in silico* 法 (アミノ酸配列の相同性検索); さらにIgE結合能の検討

リスク評価指針等に導入を図ろうと 検討中の代替法

- 残留農薬等の代謝物や不純物の安全性評価:
 - TTCアプローチ; QSAR; グループ化/read-across *

*化学構造や物理化学的性質の類似性に基づき形成されたグループのなかで、当該エンドポイントの「データがある物質(ソース物質)」の情報を用いて、同一グループ内にある「データがない物質(ターゲット物質)」の情報を予測する方法



動物試験の国際的流れ

- 国際的にも動物試験の施行は3Rsの原則（動物試験代替法）を基盤とすべきとなっている。
- Replacement(置換)、Reduction(削減)の実効は当初、化粧品で本格化した。
- 3Rsの流れは医薬品（ICH）、医療機器（ISO）、化学製品等（REACH）の安全性試験、医学研究（OIE, EU Directive, ILAR Guide, CIOMS）にも拡大している。

小島肇博士(国立衛研)提供を改変

国際規約の内容

- 動物試験およびその代替試験についての国際規約は OECD, ISO, EU, OIE, ILAR, CIOMS 等と言及されており、試験の基本的コンセプトと方法は当該規約に示されている
- しかしそれぞれの組織において作成した国際基準や指針には、具体的な方法は記載されていない
- 現在具体的な動物(実験)試験および代替試験の方法は **OECDの指針が最上流**にあり広く引用されている
 - ICHの医薬品試験方法
 - ISO10993の医療機器試験法
 - 各国の行政庁の指導

小島肇博士(国立衛研)提供を改変

非動物による化学物質の健康影響評価試験OECD テストガイドライン(2021) その1

Class	Test methods
皮膚腐食性試験	<i>In vitro</i> Skin Corrosion: Transcutaneous Electrical Resistance Test Method (TER) :TG430
	<i>In vitro</i> Skin Corrosion: Reconstructed Human Epidermis (RHE) test method :TG431
	CORROSITEX Skin Corrosivity Test :TG435
皮膚刺激性試験	<i>In vitro</i> Reconstructed Human Epidermis (RhE) Test methods, EpiDerm, EPISKIN, SkinEthic, LabCyte EPI-Model: TG439
光毒性試験	3T3 NRU Phototoxicity Test :TG432
	ROS(Reactive Oxygen Species) Assay for Photoreactivity: TG495
	<i>In vitro</i> Phototoxicity: Reconstructed Human Epidermis Phototoxicity test Method : TG498
眼刺激性試験	Bovine Corneal Opacity and Permeability Test Method for Identifying i) Chemicals Inducing Serious Eye Damage and ii) Chemicals Not Requiring Classification for Eye Irritation or Serious Eye Damage: TG437
	Isolated Chicken Eye Test Method for Identifying i) Chemicals Inducing Serious Eye Damage and ii) Chemicals Not Requiring Classification for Eye Irritation or Serious Eye Damage: TG438
	Fluorescein Leakage Test Method for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants: TG460
	Short Time Exposure In Vitro Test Method for Identifying i) Chemicals Inducing Serious Eye Damage and ii) Chemicals Not Requiring Classification for Eye Irritation or Serious Eye Damage: TG491
	Reconstructed human Cornea-like Epithelium (RhCE) test method for identifying chemicals not requiring classification and labelling for eye irritation or serious eye damage :TG492
	Vitrigel-Eye Irritancy Test Method for Identifying Chemicals Not Requiring Classification and Labelling for Eye Irritation or Serious Eye Damage: TG494
	In vitro Macromolecular Test Method for Identifying Chemicals Inducing Serious Eye Damage and Chemicals Not Requiring Classification for Eye Irritation or Serious Eye Damage :TG496

非動物による化学物質健康影響評価試験OECD テストガイドライン(2021) その2

Class	Test methods
皮膚感作性試験	<i>In chemico</i> Skin Sensitisation: TG442C
	<i>In vitro</i> Skin Sensitisation: TG442D
	<i>In vitro</i> Skin Sensitisation: TG442E
	Guideline on Defined Approaches for Skin Sensitisation : TG497
内分泌かく乱物質スクリーニング	Performance-Based Test Guideline for Stably Transfected Transactivation In Vitro Assays to Detect Estrogen Receptor Agonists and Antagonists : TG455
	H295R Steroidogenesis Assay : TG456
	Stably Transfected Human Androgen Receptor Transcriptional Activation Assay for Detection of Androgenic Agonist and Antagonist Activity of Chemicals: TG458
	Performance-Based Test Guideline for Human Recombinant Estrogen Receptor (hrER) In Vitro Assays to Detect Chemicals with ER Binding Affinity : TG493
遺伝毒性試験	Bacterial Reverse Mutation Test : TG471
	<i>In vitro</i> Mammalian Chromosome Aberration Test : TG473
	<i>In Vitro</i> Mammalian Cell Gene Mutation Tests using the Hprt and xprt genes : TG476
	<i>In vitro</i> Micronucleus Test : TG487
	<i>In Vitro</i> Mammalian Cell Gene Mutation Tests Using the Thymidine Kinase Gene : TG490
皮膚吸収試験	Skin Absorption: <i>In vitro</i> Method : TG428

食品規制における安全性評価代替試験の 受け入れにおけるハードル

- 安全性評価のために受け入れ可能な試験は標準化され、信頼性が確保されている必要がある
→ バリデートされている試験法は限られている
- 代替試験によって既存の動物試験と同等以上の評価が可能である必要がある → メカニズムに応じた試験の組合せが必要だが、その考え方は研究途上である
- 現在の規制は動物試験結果を基準に作られており、必ずしも動物によらない代替試験に適合しない場合が少なくない

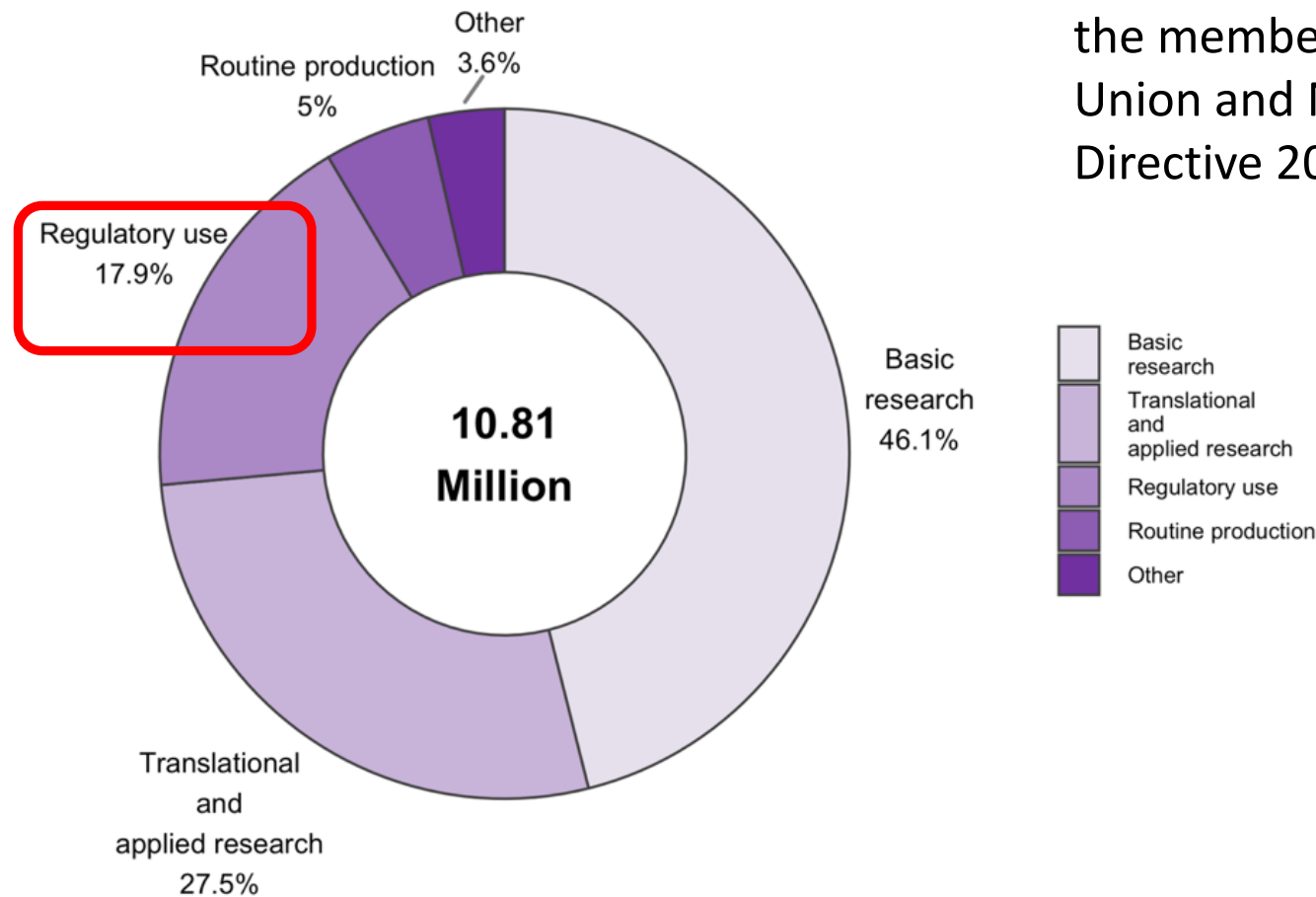
日本における実験動物の使用数＊

年 動物種	2004	2007	2010	2013	2016	2019
マウス	6,268,959	4,296,075	4,210,375	3,962,028	3,200,802	2,986,775
ラット	2,555,886	1,936,437	1,647,856	1,220,645	899,394	644,628
モルモット	305,525	242,251	162,037	101,042	69,146	53,666
ウサギ	122,061	101,705	90,104	59,803	45,341	33,381
イヌ	12,759	12,376	8,326	6,440	4,754	3,435
サル	2,248	3,462	3,032	2,966	3,261	2,320
豚	1,358	1,301	1,613	2,806	3,199	5,085
鳥類	17,293	25,700	22,524	9,601	4,846	1,689

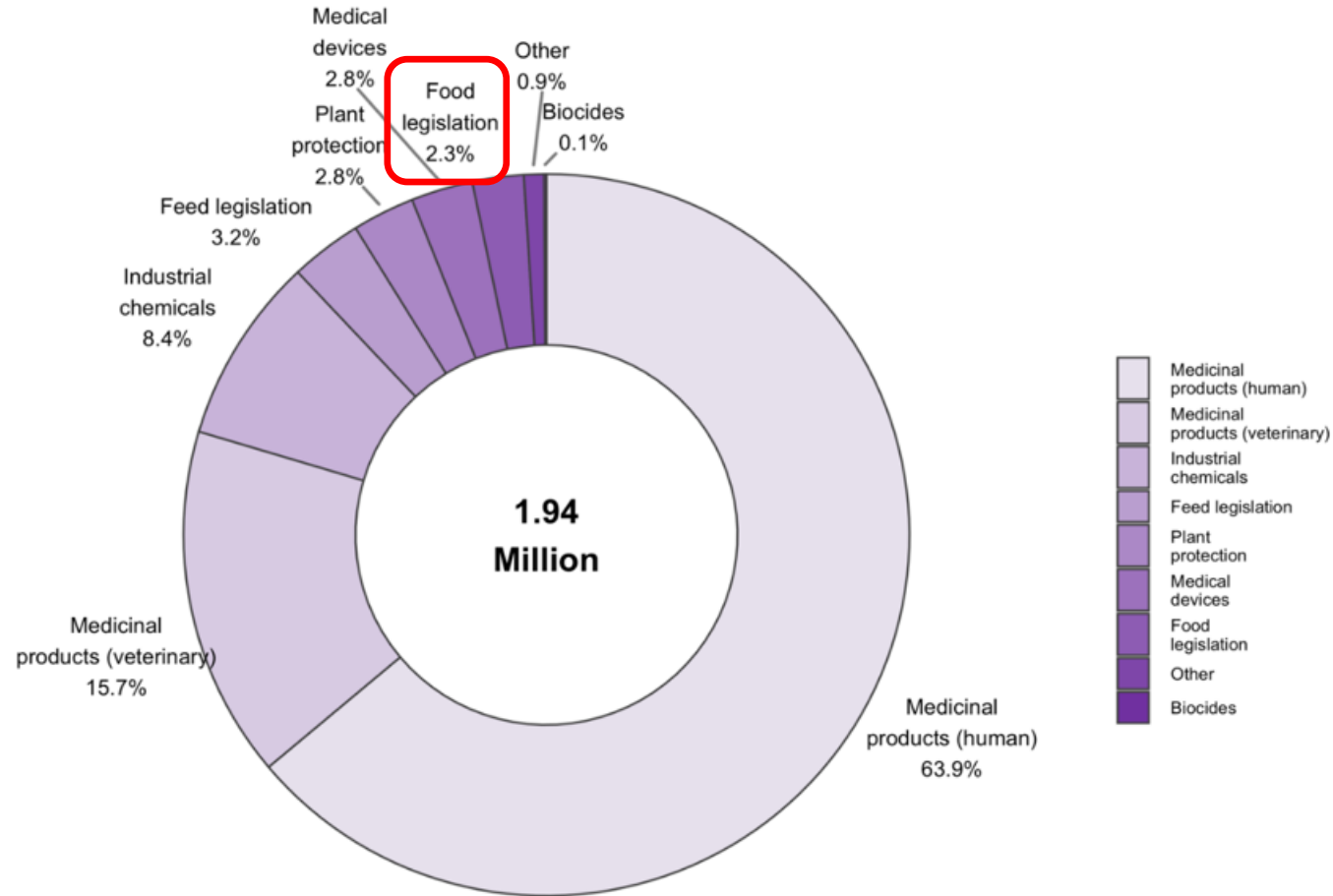
＊公益社団法人日本実験動物協会による「実験動物の年間総販売数調査」に基づく

Uses of animals in research and testing in 2018 within EU and Norway

Source: Report on the statistics on the use of animals for scientific purposes in the member states of the European Union and Norway in 2018 under Directive 2010/63/EU



Regulatory uses by type of legislation in 2018 within EU and Norway



Source: Report on the statistics on the use of animals for scientific purposes in the member states of the European Union and Norway in 2018 under Directive 2010/63/EU