山陽小野田市立山口東京理科大学 工学部医薬工学科 小島 肇夫

1. 緒言

動物を用いない動物実験代替法（以下、代替法）の研究・開発は、RusselとBurchが実験動物の3Rsを提唱した後¹⁾、1960年代より始まった。1980～1990年代より、Draizeの眼刺激性試験の代替を目指した種々の試験法が開発され、バリデーションが各所にて実施された²⁾。この状況を鑑み、欧米にバリデーションセンターが設置されると、2005年、彼らを中心に経済協力開発機構（OECD）によるガイダンス（GD）34 “ハザードアセスメントのための新規または改定試験法に対するバリデーションと国際的承認に関するガイダンス文書” が成立し、代替法の行政利用が拡大してきた³⁾。2004年以降、種々の代替法がOECDにおいて試験法ガイドライン（TG）となり⁴⁾⁵⁾、ヒト健康にかかわるTGの中で代替法の割合が40%を超えるまでとなった⁶⁾。ただし、多くのTGは、局所毒性試験に限られており、化学品の分類及び表示に関する世界調和システム（GHS）の区分⁷⁾の一部しか使えず、利用範囲が限定的であった。ましてや安全性評価項目のそれぞれに必要な試験法、例えば、トキシコキネティクス、反復投与毒性試験、生殖毒性試験、発がん性試験などの全身毒性試験においては、ほとんど代替法が開発されていない⁶⁾。

この状況を打破するために、2010年代よりOECDは全身毒性試験の代替法を確立する手始めに有害性発現経路（AOP）の確立を積極的の後押ししてきた⁸⁾。AOPをもとに、試験の実施と評価のための戦略的統合方式（IATA）の開発を促し⁹⁾、IATAをもとにしたディファインドアプローチ（定義済総合判定方式：DA）の概念が普及した¹⁰⁾。2020年代にはDAをもとに、皮膚感作性や眼刺激性評価において、*in silico*、*in chemico*及び*in vitro*試験を組み合わせることにより、GHS区分（以下、区分）を可能にした。さらに、これら方式を含む新しいアプローチや方法論（NAMs）^{11~13)}及び次世代のリスク評価（NGRA）¹⁴⁾という概念が欧米を中心に広がり、代替法による毒性評価の事例が報告されている。

2. NAMsの定義

米国の代替法に関する省庁間連絡会議（ICCVAM）¹¹⁾、米国環境保護局（EPA）¹²⁾や米国アカデミー¹³⁾により定義されたNAMsは、化学物質の危険有害性とリスク評価に関する情報提供に使用することができ、動物を用いない方法への置き換え、動物の使用数の削減、動物使用に伴う苦痛の低減（3Rs）を支援するための、あらゆる技術、方法、アプローチ、またはこれらの組み合わせに対する広義の参照語とされている。よって、

■表1 NAMsの利用状況

分野	OECD	ICH	医薬部外品ガイダンス
皮膚感受性	GL497(2025) ^{4) 5)}	なし	あり(2025) ¹⁴⁾
眼刺激性	TG467(2022), TG492B(2022) ^{4) 5)}	なし	なし
皮膚刺激性	IATA(2017) ¹⁶⁾	なし	あり(2021) ¹⁷⁾
光毒性	IATA(2024) ¹⁸⁾	S10(2014) ¹⁹⁾	あり(2022) ²¹⁾
急性毒性	なし	なし	あり(2021) ²⁵⁾
生殖発生毒性	なし	S5(R3)(2021) ²⁷⁾	なし

NAMsには、人工知能 (AI)、High throughput スクリーニング、Omics解析、生体模倣システム (MPS)、オルガノイドなどの新興技術だけでなく、IATAやディファインド アプローチも含まれることになる。

本稿では、表1に示す国際機関と厚生労働省で認められているIATAやディファインド アプローチに限ったNAMsの状況をまとめた。

3. NAMsの事例

3.1. 皮膚感受性

これまで、OECDにて、AOPの主要事象 (KE) に準じた3つの代替法に関するTGが採択されている^{4) 5)}。

- ・ KE1 化学物質とタンパク質の共有結合：Direct Peptide Reactivity Assay (DPRA)、Amino acid Derivative Reactivity Assay (ADRA) 及び kinetic DPRA (kDPRA) (OECD TG 442C)

細胞の活性化：h-CLAT (human Cell Line Activation Test)、U-SENSTM、IL-8 Luc assay 及びGARD[®] skin (OECD TG 442E)

TG442C～442Eの中には、これら方法の単独では皮膚感受性を評価できないとされてきたが、ディファインド アプローチのガイドライン (GL) 497 “Defined Approaches for Skin Sensitization (DASS)” が2021年に発行され^{4) 5)}、NAMsにより皮膚感受性の評価が可能となった。2025年にGL497が改定され、以下の3つのNAMsが示されている。

2o3 DA：感作成立において必須である3つのKE1～KE3 (すなわちDPRA、KeratinSensTM 及びh-CLAT) の*in chemico/in vitro*試験のうち、3つまでの試験を順に実施し、皮膚感受性の有害性 (区分1) を識別する。ただし、2025年の改定で、表2に示すように、TG442C～TG442Eに含まれる同様の試験法も利用できるようになった。

これ以降の閲覧を希望の場合は、本誌をご購読ください。