

評価会議報告書

眼刺激性試験代替法 SIRC-CVS:TEA 法

JaCVAM 評価会議

令和3年(2021年)5月13日

JaCVAM 評価会議

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/済生会宇都宮病院) :
座長

板垣 宏 (ITACS コンサルティング) *

中村 りこ (独立行政法人 製品評価技術基盤機構)

西村 次平 (独立行政法人 医薬品医療機器総合機構)

平林 容子 (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)

松本 一彦 (名古屋市立大学大学院)

* : 最終的な結論には関与しなかった。

任期 : 令和2年4月1日～令和4年3月31日

略語

CVS: Crystal Violet Staining

GHS: Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals

JaCVAM: Japanese Center for the Validation of Alternative Methods

OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development

SIRC: Statens Seruminstitut Rabbit Cornea

TEA: Triethanolamine

TG: Test Guideline

UN: United Nations

JaCVAM 評価会議は、眼刺激性試験資料編纂委員会により作成された「眼刺激性試験代替法 SIRC-CVS:TEA 法評価報告書¹⁾」をもとに本試験法の科学的妥当性、社会的および行政的な受け入れについて検討した。

1. 試験法の定義

名称： 眼刺激性試験代替法 SIRC-CVS:TEA 法

代替する対象毒性試験：ウサギを用いた急性眼刺激性／腐食性 (Acute Eye Irritation/Corrosion) を評価する Draize 法 (OECD TG405)²⁾

試験法の概略： 本試験法は、ウサギ角膜由来細胞 (SIRC 細胞) を用いて、クリスタルバイオレット (CVS) が細胞膜を透過して生体高分子を染色する性質を利用した細胞毒性を測定する試験法である。本試験法は、トリエタノールアミン (TEA) を比較対照物質として、ボトムアップ方式³⁾で国際連合化学品の分類および表示に関する世界調和システム (UN GHS) 区分に該当しない化学物質を検出することができる方法である SIRC-CVS:TEA 法として改定された⁴⁾。

試験法の科学的妥当性：

眼に異物が入った場合、眼の刺激は、神経等の特定の受容体に作用する場合を除き、一般に結膜や角膜の細胞傷害から始まる。Draize 法における眼刺激性の程度の判定は、主に角膜の初期傷害の程度に大きく影響され、それは角膜上皮細胞の壊死の程度と相関関係にある^{5,6)}。本試験法は、SIRC 細胞を用いて、CVS による細胞生存率を指標として被験物質の眼刺激性を評価する試験法である。これらのことから、本試験法はウサギを用いる眼刺激性試験の代替法として科学的妥当性がある。

SIRC-CVS:TEA 法については、リードラボとは異なる 3 施設において 116 の化学物質を用いたバリデーション研究が行われた⁷⁾。その結果、本試験法は、施設内および施設間再現性についてバリデーション実行委員会が定めた基準を満たした。また、ボトムアップ方式で UN GHS 区分に該当しない化学物質の予測性評価において、バリデーション実行委員会は適用除外物質の設定によっては偽陰性率が低くなると結論した。しかし、JaCVAM の第三者評価⁸⁾では、適用除外物質の設定により、偽陰性率は低くなるものの、除外物質の設定に科学的な根拠が乏しく、UN GHS 区分に該当しない化学物質を検出する方法として相応しくないと結論された。JaCVAM 眼刺激性試験資料編纂委員会は、これらの資料を用いて本試験法を評価しており、第三者評価⁹⁾と同様の見解を示している¹⁾。

2. 目的とする物質又は製品の毒性を評価する試験法としての、社会的受け入れ性および行政上の利用の可能性

社会的受け入れ性：

本試験法は化学物質の SIRC 細胞に対する細胞生存率を指標に用いて眼刺激性を評価す

る試験法であり、生きた動物を用いないという点で、3Rs の精神に合致している。また、本試験法は安価であり、短時間で実施でき、特殊な機材や試薬を必要とせず、必要な手技も複雑なものではない。したがって、基本的な細胞培養の技術と設備を有する施設であれば実施可能であり、技術移転性は高く、再現性も高い方法である。以上より、本試験法の社会的受け入れ性は高い。

行政上の利用性：

予測性評価において、適用除外物質の設定に科学的な根拠が乏しいことから、本試験法は化学物質による眼刺激性をボトムアップ方式において UN GHS 区分に該当しない物質を検出する方法として、行政的に用いることは適切ではないと考える。

引用文献

- 1) JaCVAM 眼刺激性代替法資料編纂委員会：評価報告書 SIRC-CVS:TEA 法(2021年5月6日)
- 2) OECD (2012). Test Guideline for Testing of Chemicals (No.405): Acute Eye Irritation/Corrosion.
- 3) Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.
- 4) Scott L, Eskes C, Hoffmann S, Adriaens E, Alepée N, Bufo M, Clothier R, Facchini D, Faller C, Guest R, Harbell J, Hartung T, Kamp H, Varlet B L, Meloni M, McNamee P, Osborne R, Pape W, Pfannenbecker U, Prinsen M, Seaman C, Spielmann H, Stokes W, Trouba K, Berghe CV, Goethem FV, Vassallo M, Vinardell P, and Zuang V. A proposed eye irritation testing strategy to reduce and replace *in vivo* studies using Bottom-Up and Top-Down approaches. *Toxicology In Vitro* 2010;24, 1-9.
- 5) Hagino S, Okazaki Y, Kitagaki M and Itagaki H. Further verification of an *in vitro* tier system for the identification of cosmetic ingredients that are not ocular irritants. *Altern Lab Anim.* 2010;38, 139-152.
- 6) 大野泰雄. 眼刺激性試験代替法のバリデーション. *組織培養.* 1996;22(6), 211-217.
- 7) Jester JV, Li L, Molai A and Maurer JK. Extent of initial corneal injury as a basis for alternative eye irritation tests. *Toxicology in Vitro.* 2001;15, 115-130.
- 8) Validation Study for the Statens Seruminstitut Rabbit Cornea-Crystal Violet Staining Cytotoxicity Test 1 Method with Triethanolamine (SIRC-CVS:TEA Test Method) as an Alternative to Eye Irritation Test-Study Report Version 8.9 (2019)
- 9) SIRC-CVS Test Method: Report of the Peer Review Panel on a JaCVAM coordinated study programme addressing the validation status of the SIRC-CVS test method for the prospective identification of eye irritating substances (2019)