

培養皮膚モデル LabCyte EPI-MODEL24 を用いた皮膚刺激性試験のバリデーション研究における実験参加施設公募のお知らせ

2008年3月7日

バリデーション委員会 委員長 大森 崇

バリデーション委員会では、「培養皮膚モデル LabCyte EPI-MODEL24 を用いた皮膚刺激性試験のバリデーション実行委員会」を組織して、バリデーション研究を行います。現時点での研究計画は後に示す通りです。皆様のご応募をお待ちしております。

目的 昨年、培養皮膚モデル EPISKIN を用いた皮膚刺激性試験が欧州で動物実験代替法として承認されました。日本製のモデルでも同様の検討および検証を行うため、培養皮膚モデル LabCyte EPI-MODEL24 を用いた皮膚刺激性試験のバリデーション研究を企画しました。

応募施設数：5 施設

応募締め切り：3 月末

応募先：JaCVAM h-kojima@nihs.go.jp (Tel: 03-3700-9874)

応募の際の必要情報：

施設（企業・施設名，担当部署等），所在地住所，連絡担当者氏名（電話番号，メールアドレス，役職），培養皮膚モデルを用いた経験の有無，GLP 対応施設か否か

応募条件（以上の 5 点の条件に対応できる施設となります）

- 1) GHS 基準を指標とした化学物質の皮膚刺激性試験に興味がある
- 2) 20 被験物質を用いた実験を 2 ヶ月間に 3 回繰り返して実施できる
- 3) 培養皮膚モデルの使用経験がある（LabCyte EPI-MODEL24 の使用経験が望ましい）
- 4) 使用キット代半額を負担できる（約 30 万円の予定）
- 5) 以下に示す実行委員会、研修会に参加できる

参加の場合の準備会合予定：

4 月 24 日 第 1 回実行委員会 株式会社 J-TEC（愛知県蒲郡市）各施設代表

5 月 15 および 16 日株式会社 J-TEC（愛知県蒲郡市）で研修会。実験担当者が参加

研究計画と実験の標準作業手順(SOP)の最終決定は第 1 回の実行委員会で行います。現時点での研究計画案は次の通りです。

培養皮膚モデル LabCyte EPI-MODEL24 を用いた皮膚刺激性試験のバリデーション研究計画書（案）

2008年2月22日 作成責任者 小島 肇

0. まえおき

本研究は、日本動物実験代替法学会（以下「本学会」という）バリデーション委員会が実行委員会を組織して行うものである。

研究遂行中に本計画書の内容を変更したときは、その度ごとに改訂日、改訂内容、改訂責任者を本計画書に追記する。

1. 研究目的

本研究の目的は、培養皮膚モデル LabCyte EPI-MODEL24 を用いた皮膚刺激性試験で得られる皮膚刺激性の判定が、複数の施設間でどの程度一致するか（施設間再現性）、EPISKIN で得られた判定結果とどの程度一致するか（代替可能性）、という 2 つの課題への解答を、多施設での実験を通して評価することである。

2. 実行組織

本組織の正式名称を「LabCyte EPI-MODEL24 バリデーション研究実行委員会」とし、連絡等での略称は「LabCyte バリ実行委」とし、本計画書内では単に「本実行委」とする。

本実行委は次の委員で構成する。（確定した時点で委員リストを作成して本計画書に添える。）

- 1) 実験参加施設代表：実験参加施設から各 1 名
- 2) バリデーション委員会委員：若干名
- 3) 技術担当：若干名

実際の委員は、それぞれの組織からの推薦に基づいて本学会バリデーション委員会が決定する。決定の理由及び時点は記録に残すものとする。

研究遂行においては、小島 肇が主任研究者を務める厚生労働科学研究班（H19-医薬一般-003）の協力を得る。

本実行委では以下の役割の担当者を、内部あるいは外部に委嘱し、その氏名を記録しておく。

実行委員長：研究組織と運営・進行を計画通りに行い、最終報告を作成する。

技術研修担当者：技術研修の準備を行い、試験法の内容、SOP、記録用紙等の説明を

行い，実技指導を行う。

被験物質割付担当者：選定された被験物質を各施設に割り付けるための割付デザインを作成し，試料等手配担当者に知らせる。割付の根拠を研究結果が確定して公表されるまで保管する。

試料等手配担当者：割付デザインと SOP に従って試料を調製し，コード化して実験参加施設に，関連する機材と共に送付する。割付表，コード表を研究結果が確定して公表されるまで保管する。

実験担当者：(具体的人名は，参加施設から提案) 技術研修を受け，試料等手配担当者から送付された試料等を用いて，SOP に従った実験を行い，実験結果をデータ解析担当者に送付する。

データ解析担当者：必要なデータクリーニングを行い，データベースを固定し，データ解析を行う。中間報告会では，解析結果をまとめて報告する。

3. 培養皮膚モデル LabCyte EPI-MODEL24 を用いた皮膚刺激性試験の実験手順

LabCyte EPI-MODEL24 の開発者が用意している説明は，資料 1「培養皮膚モデル LabCyte EPI-MODEL24 を用いた皮膚刺激性試験プロトコール」の通りである。

実験担当者は，これに基づいて本実行委で作成した資料 2「培養皮膚モデル LabCyte EPI-MODEL24 を用いた皮膚刺激性試験 SOP」を用いて，本実行委が用意した試料と指定した機材を用いて，培養皮膚モデル LabCyte EPI-MODEL24 を用いた皮膚刺激性試験による評価実験を行う。

4. 研究日程

本学会バリデーション委員会は 2008 年 3 月末までに研究計画書を確定し，委員会を発足させ，以後の研究遂行を本実行委に委任する。

本実行委は 2008 年 3 月末までに参加施設を公募し，実験参加施設代表者としての委員を決定する。

本実行委は 2008 年 5 月末までに技術研修を実施する。

実験担当者は，2008 年 6 月末までに各施設で予備実験を行い，本研究計画書及び，実験 SOP の改訂についての意見を提出する。本実行委はこれらの意見に基づいて，SOP の改訂を行う。さらに，委員となる参加施設代表者を確定する。

実験担当者は 2008 年 7 月末より実験を開始し，2008 年 9 月末までに実験結果をデータ解析担当者に報告する。

本実行委は 2008 年 11 月に中間報告会を開催する。

本実行委は 2009 年 1 月末までに報告書をまとめ，最終報告会を開催し，最終報告書を本学会バリデーション委員会に提出する。

5. 実験参加施設

実験参加施設は、次の条件を満たすものとする。

- (1) 培養皮膚モデルを用いた実験を実施した実績があり、原則として、LabCyte EPI-MODEL24 を使用した経験がある
- (2) 本実行委に本学会会員を施設代表として参加させる。
- (3) 実験において施設に求められる機材（測定器）を用意できる。
- (4) 実験担当者に技術研修を受けさせる。

6. 被験物質

被験物質選定担当者は EPISKIN performance standard のリストから、既知データに基づいて、皮膚刺激性が弱度，中度，強度のものが含まれるように，被験物質を選定し，選定結果を被験物質割付担当者に知らせる。被験物質割付担当者は割付のデザインを作成し，試料等手配担当者に知らせる。試料等手配担当者は被験物質割付担当者のデザインに基づいて，実験担当者に被験物質が何であるかわからないようにコード化して，関連試料と共に実験参加施設に送付する。

7. 被験物質の実験参加施設への割付

本実行委は，表 1 に概念的に示すように，被験候補物質の内の 2 物質を標準被験物質とし，標準被験物質を全参加施設に割り付ける。その他の被験物質は，被験物質割付担当者が実験参加施設の規模・能力に応じて割り付ける。被験物質コードと実験参加施設への割付，被験物質溶液の配布は，試料等手配担当者が行ってその記録を管理する。

表 1 被験物質の割付方針の概念図

	参加施設 A	参加施設 B	参加施設 C	...
標準被験物質 1	○	○	○	○
標準被験物質 2	○	○	○	○
被験物質 3	○			
被験物質 4	○			
被験物質 5		○		
被験物質 6		○		
被験物質 7			○	
被験物質 8			○	
...				

8. 試料の準備

試料等手配担当者は，皮膚刺激性の強度に応じて各被験物質を各実験参加施設に関連試料と共に実験参加施設に送付する。

9. 経費

本学会バリデーション委員会委員以外の旅費は実験参加施設等の自弁とする。

本実行委が送付するもの以外の、実験器具・消耗品の費用は、各実験参加施設が負担する。ただし、LabCyte EPI-MODEL24 購入の費用は半額を J-TEC が負担する。

10. 技術研修と予備実験

技術研修は、2008 年 5 月 15-16 日に、株式会社 J-TEC（愛知県蒲郡市）で実施する。実験担当者は、この技術研修を受けなければならない。

技術研修を終わった実験担当者は、自施設で溶媒及び陽性対照物質について予備実験を行い、結果をデータ解析担当者に送付する。

データ解析担当者は、送付されたデータを速やかに検討し、全体の結果を本実行委に報告する。実行委員長は、報告結果を検討し、本実験に進むことについての結論を出し、実験参加施設に通知する。実行委員長が計画変更の必要があると判断したとき、実行委員長は直ちに実行委員会を招集し、計画変更を審議し、滞りない進行を図るものとする。

11. データ管理

実験担当者は、以下の記録・結果を所定の記録用紙に記録する。

- (1) 被験物質、溶媒、陽性対照物質溶液の調製記録
- (2) 被験物質使用記録
- (3) LabCyte EPI-MODEL24 の入荷、管理に関する記録
- (4) 被験物質の適用記録
- (5) 使用試薬、キットの使用に関する記録
- (6) 吸光度測定結果

実験担当者または実験参加施設代表者は、記録用紙の情報を所定の電子ファイル（データシート）に転載し、データシート、および記録用紙のコピーをデータ解析担当者に送付する。記入要領は技術研修会で担当者が説明する。

12. データ解析

データ解析担当者はデータの内容についての疑問を各実験者に問い合わせ、クリーニングを行った後に、基本データベースを作成する。データベースには、前節で求められている記録のうち、実験結果の理解に必要なことを全て含める。

データ解析担当者は、研究の目的に沿ったデータ解析を行う。解析では、次の 2 つを主解析とする。

- (1) 被験物質の吸光度による施設間ばらつきの評価
- (2) 過去の生体での実験結果との比較における、感度・特異度・一致度の評価

データ解析担当者は、データ解析の結果を中間報告会及び最終報告会で報告する。

本実行委の委員長は、各施設から送られてきた GLP 準拠の記録のコピー、データベース、データ解析結果等を、バリデーション研究の成果が社会的に承認されたと、本学

会バリデーション委員会が判断するまで保管する。

13. 中間報告会

データベースが固定され、一通りのデータ解析ができた段階で、実行委員長は、固定されたデータの確認と解析結果の検討を行うために、本実行委の委員と実験担当者が参加する中間報告会を開催する。

14. 結果の公表

実行委員長は、中間報告会の討論結果をふまえた最終報告書を作成し、最終報告会を開催する。

実行委員長は最終報告書を本学会バリデーション委員会に提出する。

本実行委は、研究結果を厚生労働科学研究班報告書、学会報告、学術論文として公表する。公表の際の著者名と報告書作成担当者については、本実行委で決定する。

15. 各種問い合わせ先

実験内容と SOP：加藤雅一「masakazu_katoh@jpte.co.jp」

被験物質，試料，共通消耗品：小島肇「h-kojima@nihs.go.jp」

データシートとその送付：寒水孝司「sozu@medstat.med.osaka-u.ac.jp」

その他一般事項：大森崇「omori@pbh.med.kyoto-u.ac.jp」

以上