

**Short Time Exposure (STE)試験法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、花王株式会社より提案された眼刺激性試験代替法として期待される培養細胞を用いた Short Time Exposure (STE)試験の「バリデーション研究実行委員会」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。

多数の施設で実際に SIRC 細胞を用いた細胞毒性試験を行うことが必要です。この研究に関心があり、共同研究者としてこの試験法の実験を行っていただく施設を求めています。積極的に参加を申し出て下さるようお願いいたします。

応募締め切り：2008年3月21日

応募先： 京都大学 大森 崇

e-mail: omori@pbh.med.kyoto-u.ac.jp (Tel: 075-753-4482)

参加施設の条件：

- ・ SIRC 細胞を用いた細胞毒性試験の経験がある
- ・ ドレイズ眼刺激性試験の代替法の開発に関心がある
- ・ 研究の参加にあたり、施設あたり 20 万円程度の負担が可能である

参加施設の選定：

研究予算の関係上、4～6 施設での研究を想定しております。参加希望施設が多かった場合にはバリデーション委員会を選定させていただきますのでご了承ください。4月4日までには結果をお知らせいたします。

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）、GLP 対応施設か否か

参加の場合の準備会合予定：4月中に第1回実行委員会を開催する予定です。

試験方法に関する問い合わせ：花王株式会社 高橋 豊

e-mail: takahashi.yutaka@kao.co.jp (0285-68-7446)

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

眼刺激性代替法 STE 試験に関するバリデーション 研究計画(案)

目次

1. 研究目的
2. 研究組織
3. 研究内容
4. 研究成果
5. 研究費用
6. 試験実施作業量
7. 研究実施スケジュール

1. 研究目的

原料の眼刺激性評価に関しては、これまで主にウサギを用いたドレイズ試験が行なわれてきたが、近年動物愛護の関心が高まり、動物を用いない試験法の開発が積極的に進められてきた。また、EU 域内では 2003 年 3 月に化粧品に関する法律 (EU 化粧品指令第 7 次改正) が公布され、2009 年には、眼刺激性試験禁止などが定められている。しかしながら、OECD に認められた眼刺激性評価代替法はまだ無い。そのため OECD のテストガイドラインとなる *in vitro* 眼刺激性試験の確立をめざして SIRC 細胞を用いた Short Time Exposure (STE) 試験のバリデーションを実施する。

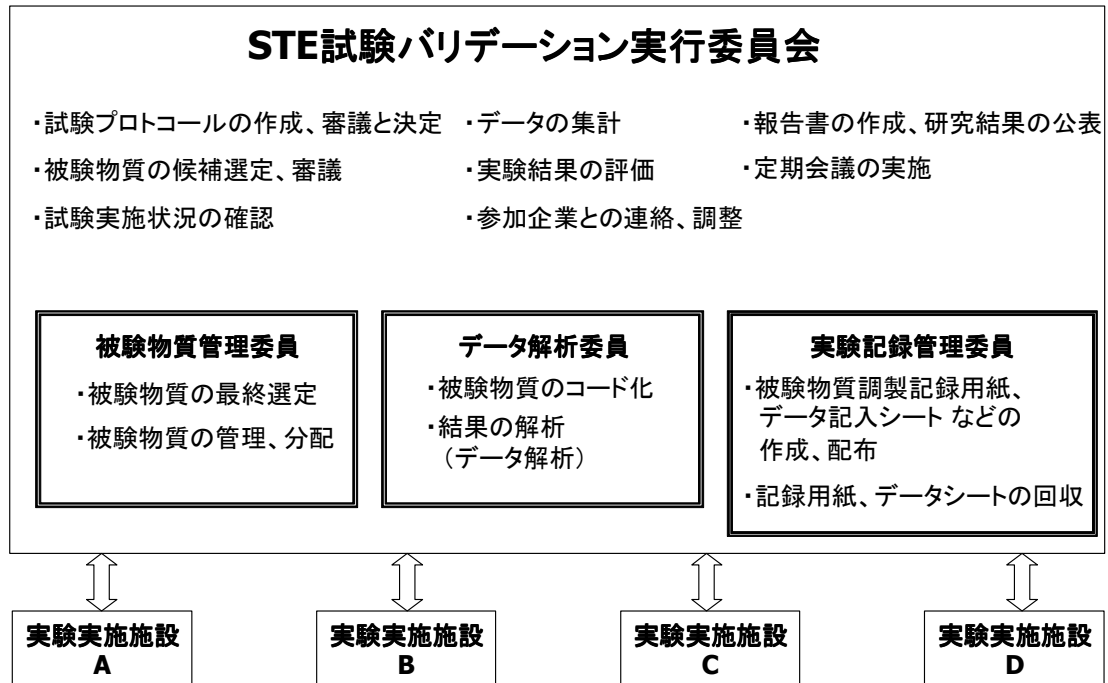
本バリデーションでは、STE 試験法の技術易習得性、施設間再現性ならびに予測性 (ドレイズ試験による評価結果との一致性) を評価し、STE 試験の眼刺激性代替法としての有用性を検証する。

1. 試験プロトコールに従って標準物質 3 化合物の評価を行い、試験の技術易習得性の確認を行う。
2. バリデーション参加企業で同じ盲検試料を試験実施し、施設間再現性と予測性 (ドレイズ試験による評価結果との一致性) を評価する。

2. 研究組織

STE 試験バリデーションを進めるにあたり、本バリデーション研究を科学的に妥当なものにするため、また本バリデーションが支障なく円滑に実施できるように図 1 に示すような STE 試験バリデーション実行組織を立ち上げる。

図1 STE試験バリデーション実行組織



・ STE試験実施、試験法の技術易習得性、施設内再現性を確認

2-1. STE 試験バリデーション実行委員会

STE 試験バリデーション実行委員会は、日本動物実験代替法学会バリデーション委員、統計学者、実験実施施設代表者から構成され、研究計画、試験プロトコルの草稿作成及び評価する被験物質案を作成し、それらの審議、決定を行う。

また実験実施状況の確認、実験結果の評価、参加企業との連絡、調整などバリデーションに関する運用管理を行う。

2-2. 実行委員長

実行委員会の委員長(実行委員長)は、STE 試験バリデーション実行委員会から選出され、研究計画、試験プロトコルの草稿作成及び評価する被験物質案を作成し、それらの審議、決定を行うための定期的な委員会を開催する。バリデーションに関する運用管理の責任者である。

2-3. 被験物質管理委員

被験物質管理委員は、STE 試験バリデーション実行委員会から選出され、被験物質の最終選定案を作成し、実行委員長とともにバリデーションに使用される被験物質を最終選考する。被験物質管理委員は被験物質を盲検試料とするためデータ解析委員に依頼しコード化を行い、実験実施施設への分配を行う。

2-4. データ解析委員

データ解析委員は、STE 試験バリデーション実行委員会から選出され、被験物質管理委員の依頼を受け、第三者的立場から被験物質のコード化や得られたデータの解析を行う。本バリデーションにおける統計学的処理に関する作業を担当する。

2-5. 実験記録管理委員

実験記録管理委員は、STE 試験バリデーション実行委員会から選出され、実験に関わる被験物質調製記録用紙、データ記入シートなど各用紙を作成し、実験実施施設へ配布する。また、実験実施後の記入済み用紙、データ記入シートなどの回収を行う。記入モレ、記載不備などについては指摘し、改善を依頼する。

2-6. 実験実施責任者

実験実施責任者は、実験実施施設から1名ずつ選出され、STE 試験バリデーション実行委員も兼ねる。実験実施責任者、あるいは実験実施責任者の下で実験担当者が試験プロトコルに従い、実験を実施する。バリデーションで得られたデータ、各記録用紙などの報告を行う。

3. 研究内容

STE 試験法の技術易習得性、施設間再現性を評価し、STE 試験の眼刺激性代替法としての有用性を検証する。

1. 試験プロトコルに従って標準物質 3 化合物の評価を行い、試験の技術易習得の確認を行う。
2. バリデーション参加施設で同じ盲検試料の実験を実施し、施設間再現性と予測性(ドレイズ試験による評価結果との一致性)を評価する。

3-1. 参加施設

公募により募集する。

3-2. 被験物質

本バリデーションでは、実行委員委員長と被験物質管理委員において最終選考された被験物質約 20 化合物について評価を行う。被験物質は盲検試料としてコード化したものを使用する。

3-3. 研究期間

本バリデーションによる研究実施期間は、2008 年 4 月より 2009 年 3 月までの 1 年とする。

4. 研究成果

- ① STE 試験バリデーションによって科学的妥当性のある、技術易習得や施設間再現性、予測性に関する検証データを得て JaCVAM での peer review を受けるための報告書を提出する。
- ② STE 試験バリデーションによって科学的妥当性のある、技術易習得や施設間再現性、予測性に関する検証データを得て研究論文としてまとめ共同発表する。

5. 研究費用

1 施設あたりの実験実施用材料費は、フラスコ、プレートなどの消耗品、細胞、血清、培地、試薬費用など合わせて約 200,000 円。

6. 実験実施作業量

STE 試験のバリデーションを行うにあたり、実験実施にかかるおおよその作業時間をひとつの例として表 1 に示す。実験は、1 週間に月曜日、火曜日、金曜日の 3 日、実験に必要な細胞の継代作業は、月曜日、木曜日となる。日によって作業にかかる時間は一定ではないが、1 週間で約 10 時間の作業量となる。

表 1 STE 試験にかかるおおよその作業時間(例)

作業項目	月曜日	火曜日	木曜日	金曜日
細胞継代	30分	-	30分	-
前培養(プレート播種)	30分	-	30分	-
試料調製、3化合物、2濃度、2プレート	1時間30分	1時間30分	-	1時間30分
試験、1プレートあたり3化合物評価	20分	20分	-	20分
吸光度測定操作	40分	40分	-	40分
計	3時間30分	2時間30分	1時間	2時間30分

7. 研究実施スケジュール

STE 試験バリデーション実施についておおよその実施スケジュールを表 2 に示す。

表 2 STE 試験バリデーション実施スケジュール

期日	項目
2008年 3月	実験実施施設の公募 参加施設の選出 委員の選出
4月	STE 試験実行委員会立ち上げ 実行委員長、被験物質管理委員、データ解析委員、実験記録管理委員の選出と承認 研究計画案の審議、決定、読み合わせ 試験プロトコルの審議、決定 被験物質の選定案作成
5月	実行委員会の開催 試験プロトコルの読み合わせ STE 試験研修会 実行委員会委員長と被験物質管理委員による被験物質の最終選考 被験物質のコード化、配布(盲検試料、標準物質、陽性対照)
6月	陽性物質を用いた試験法の習得 (実行委員会が審査)
7月	実行委員会の開催 標準物質を用いた技術習得確認

8月	盲検試料のコード開示
9月	実行委員会の開催
10月	結果のまとめ、報告
11月	実行委員会の開催 報告書の草稿作成、審議、決定