

粧工連における代替法を用いた皮膚感作性評価への取り組み

宮澤 正明

日本化粧品工業連合会 感作性試験代替法ワーキンググループ

近年、動物愛護への関心の高まりや欧州での化粧品開発のための動物実験禁止への動きから、動物試験代替法の開発に注目が集まっている。動物を用いない皮膚感作性評価に向けては、感作誘導期で重要な樹状細胞の活性化に着目した *in vitro* 皮膚感作性試験法 human Cell Line Activation Test (h-CLAT)のように、様々な代替法が開発され、そのいくつかは現在、OECD ガイドライン化に向け、ECVAM で評価されている。一方、動物試験で評価する複雑な感作性反応全てを単独の *in vitro* 試験法だけで再現するには限界があるため、異なる作用機序に着目した *in vitro* 試験法を組み合わせた評価体系を構築することが予測精度を向上させるためには重要と考えられる。また、感作性の有無の予測だけでなく、リスクアセスメントの実現に向けて、感作性物質の感作性強度を予測できる評価体系を構築することも期待されている。

そこで、日本化粧品工業連合会（以下、粧工連）では、世界に通ずる皮膚感作性評価体系を構築し、その有用性を世界に発信することを目的に、花王をリーダー、資生堂をサブリーダーとして、粧工連加盟企業 10 社（カネボウ化粧品、コスモステクニカルセンター、コーセー、日本メナード化粧品、富士フィルム、ポーラ化成工業、ライオン、P&G、資生堂、花王）からなるワーキンググループを本年 5 月に発足した。

本ワーキンググループでは、LLNA で評価済みの 18 化合物を新規に選定し、各社が分担して、h-CLAT に加えて、感作性物質の蛋白結合性に着目した *in vitro* 試験法の Direct Peptide Reactivity Assay(DPRA)、樹状細胞のチオール基変化に着目した SH test、酸化ストレス応答に着目した Antioxidant Response Element (ARE) assay を用いて評価を行った。今回の評価結果を各 *in vitro* 試験における既存データセットと組み合わせることで、最大 133 化合物のデータセットを作成した。さらに、各 *in vitro* 試験法を様々な組み合わせた評価体系を構築し、皮膚感作性および感作強度の予測精度を動物データと比較した結果、いずれの評価体系も各 *in vitro* 試験単独評価に比べて良好な結果を示した。

本感作性ワーキンググループの取り組みにより、複数の代替法からなる、種々の皮膚感作性評価体系の有用性が示唆された。また、このような評価体系の構築に関する業界での取り組みは報告例がなく、評価体系を公知化する新しいプロセスを提案できたと考える。

Collaborative project in JCIA for evaluation of skin sensitization using non-animal tests

Masaaki Miyazawa, Ph.D.

Working group for *in vitro* skin sensitization
in Japan Cosmetic Industry Association (JCIA)

With animal welfare and regulatory restrictions on animal testing for cosmetic products, recently, development of alternative tests has been focused. Like human Cell Line Activation Test (h-CLAT), which reflects dendritic cell activation in the induction of skin sensitization, some *in vitro* skin sensitization assays have been prevalidated under the ECVAM to be accepted as the OECD test guideline. On the other hand, a test battery integrated with different *in vitro* tests has been suggested as a better approach than just one *in vitro* test for replacing animal tests. It's also expected that not only skin sensitizing potential but also potency of many chemicals are predicted by a test battery for the risk assessment.

In JCIA, the new working group, where Kao Corporation, SHISEIDO CO., LTD., Kanebo Cosmetics Inc., KOSE Corporation, COSMOS TECHNICAL CENTER CO., LTD., NIPPON MENARD COSMETIC CO., LTD., FUJIFILM Corporation, POLA CHEMICAL INDUSTRIES, INC., LION CORPORATION and P&G Japan K.K. join, has been organized in May 2012 for the development of a practically useful test battery.

In this working group, the 18 chemicals tested by LLNA were newly selected and evaluated with h-CLAT, Direct Peptide Reactivity Assay (DPRA), SH test, and Antioxidant Response Element (ARE) assay. Then, the dataset of 133 chemicals at the maximum was created by combining the existing dataset. Moreover, we developed several types of test batteries to predict the skin sensitizing potential and the relative potency of chemicals with the above *in vitro* tests. Then, all the test batteries indicated the better predictivity compared with each single *in vitro* test.

These data suggested the practical utility of a test battery integrated with different *in vitro* tests for skin sensitization evaluation. Moreover, this is the first report to develop the test batteries based on collaboration of cosmetic industrial companies.