

もう一つの3R：動物実験代替法

(一財) 食品薬品安全センター 秦野研究所 田中 憲穂

① はじめに

本誌の読者にとって、3Rといえ
ば、循環型の社会構築をめざし、限り
ある地球資源の有効利用を目指して、
Reduce (廃棄物の発生抑制), **Reuse** (再
利用), **Recycle** (再資源化) の3項目
を指標とする活動であることは周知の
とおりである。

この3Rは、筆者の個人的な趣味に
つながるが、ごみおじさんを自称して
手に入れた家具などがラクタの再加工、
最小の材料で最大の空間が可能となる
ドームハウスの建築、ソーラー発電モ
ジュールの設置など、小生の日曜大工
の技術を磨く大変楽しい生活実験的な
領域でもある。

本稿では、筆者の本業とするもう一
つの3R原則、すなわち、実験動物の福
祉に関わる国際的な3Rの現況について
紹介する。本章では2種類の3Rがでて
きて紛らわしいので、前者の3Rは、便
宜的に持続循環型 (Sustainability) 社
会のSをとって3R(S)、と称することに
する。3R(S)は主に物質資源に関する活
動であるのに対し、実験動物の3Rは生
物資源、特にここでは実験動物の福祉
に関わる3Rである。

② もう一つの3Rとは？

ここで紹介するもう一つの3Rである
「**実験動物の福祉に関する3R**」につい

ては、動物実験従事者や、化粧品を使
用されている人はすでによく知っている
かもしれない。なぜなら最近では、動
物実験を実施していない化粧品のセー
ルスを謳う企業があることや、化粧品
企業が安全性確認のために実施する動
物実験に関して、動物愛護の観点から、
動物実験反対を唱える団体のターゲッ
トになっているからである。

この実験動物の福祉にかかげる3R
は、**Reduction** (動物使用の削減)、
Refinement (痛みやストレスに対する配
慮)、**Replacement** (代替法への置き換え)
の3原則となる。3Rの発足は、英国の
W.M.S. Russell と R.L. Burch (1959) に
よって、「人道的な実験技術の原則」と
して公刊され、引き続き、D.Smith (1978)
により、動物実験に関する3原則として
提唱されている運動である。

両方の3R活動の中で共通してかかげ
られているRとして**Reduction** (削減)
がある。Reductionは、3R(S)では廃棄物
の削減であるのに対し、この3Rでは実
験動物の使用数を可能な限り削減するこ
を目標とする活動である。**Refinement**
(痛みやストレス削減) は動物の取り扱
いに関して、例えば、痛みや苦痛を伴う
場合の実験では麻酔薬を処置するなどし
て可能な限り痛みを与えないようにしな
なければならない。また、実験動物にでき
るだけストレスを感じさせないような、

例えば飼育する動物のケージサイズや飼育数、遊具などについても配慮が必要となる。一方、**Replacement (代替法への置き換え)**に関しては、動物実験に置き換わる新たな代替試験法の開発である。別項で示すように、主流になる代替試験法としては培養細胞を用いる試験法が多い。哺乳動物個体を用いる実験に代えて、感度や再現性が良く、予測性の高い簡便な試験系の開発が急がれている。

③ 3R運動の世界的な高まり

化粧品・医薬部外品の安全性試験の中でウサギを用いる眼刺激性試験は、化粧品原料による炎症の有無やその程度を調べるため、ウサギの目に化学物質を直接接触させることにより化学物質の刺激性を試験していたことから、この試験法が欧米の動物愛護団体の標的とされることとなった。1970年代以降、欧州、米国を中心に3Rの運動が急速に高まり、3Rに関連した組織の整備や法律が施行されることとなった。この問題は化粧品のみならず、医薬品、化学物質、農薬などの安全性や開発研究において動物を用いるすべての試験分野と、さらには教育現場での動物の使用に関する問題も見直されることとなった(表1)。

わが国では大学の研究者を中心として、日本動物実験代替法学会が設立(1988年)され(www.asas.or.jp/jsaae/)、研究者間での意見交換や学術研究の公開の場が設けられ、雑誌(AATEX: Alternatives to Animal Testing and Experimentation)の発行や年大会の開催が活発に行われて

表1 国際的な3R関連機関の設立

| | | |
|------|----|---|
| 1959 | 英 | W.M.S. Russell と R.L. Burch(1959)による、3Rの提唱 |
| 1969 | 英 | FRAME 設立：医学分野での代替法推進組織 |
| 1971 | EC | EC評議会が代替法データベース構築、政府レベル基金設立 |
| 1973 | 日 | 動物の保護および管理に関する法律、(1999)に見直し動物愛護法へ |
| 1981 | 米 | CAAT 設立：ジョンス・ホプキンス大学代替法センター |
| 1985 | EC | ERGATT 設立：代替法研究団体 |
| 1986 | EC | EC加盟国へ3Rの法制化を要請 |
| 1988 | 日 | 代替法研究会設立(菅原、渡辺ら) |
| 1989 | 独 | ZEBET 設立：ドイツ動物実験代替法評価センター |
| 1990 | 日 | 日本動物実験代替法学会設立 |
| 1992 | EU | ECVAM 設立：ヨーロッパ代替法評価センター |
| 1994 | 米 | ICCVAM 設立：米国外代替法評価センター、NICEATM 設立：代替毒性手法の評価のためのNTP(国家毒性プログラム)省庁センター |
| 1999 | 伊 | ボローニャ宣言により3Rを再確認 |
| 2005 | 日 | 改正「動物の保護および管理に関する法律」において3Rを盛り込む |
| 2005 | 日 | JaCVAM(日本動物実験代替法検証センター)を国立医薬品食品衛生研究所に設置 |

いる。また、2005年には日本においても国立医薬品食品衛生研究所にJaCVAM(Japanese Center for the Validation of Alternative Methods: 日本動物実験代替法検証センター)が設置された。JaCVAMは、医薬品等化学物質の安全性および有効性試験に関わる動物実験の3Rを促進すること、さらには、わが国で開発された新規の動物実験代替法を、国際協力の下で公定化することが大きな役割である。すでにJaCVAMから日本発の多くの試験法がOECD(経済協力開発機構)のガイドライン案として提案さ

れ、審議されている (www.jacvam.jp/)。

④ 化粧品と医薬部外品の安全性試験と代替試験法

わが国では海外で化粧品として分類されているものの中で、日焼け止め製品や薬用せっけんは医薬部外品（薬用化粧品）として分類されており、医薬品並みの安全性試験が義務づけられている。ただし、OECDなどにより採用された代替試験法がある場合は、その試験法に従った試験成績であれば差支えない（2006年7月）とされている。表2に示すように、化粧品に関しては業界（JCIA：日本化粧品工業連合会）の定めた安全性評価指針に従って試験が実施される。EUのごとく動物実験全面禁止となれば、代替試験法を適用しなければならないが、すべての試験で完全に代替試験法が完成しているわけではな

いので、なんととしてでも代替試験法の開発を急がねばならない。

⑤ 化粧品業界における動物実験規制

化粧品における動物実験の規制に先進的で最も動物愛護運動の盛んなEUでは、2004年頃より段階的に、化粧品の原材料や最終製品についての動物実験が禁止となった。最終的に2013年3月には、動物実験を実施したすべての原料、原料を含む加工品と最終製品の販売と輸入が完全禁止となり、EUに輸出している国内メーカーでも対応している。業界の対応例として、資生堂は2010年に「化粧品の成分の動物実験廃止を目指す」ことに絡み、動物愛護団体の代表を含む有識者や学術関係者を集めた円卓会議を設け議論を深めた。動物実験を廃止するには、安全性を保障する体制を確立することが重要であるが、

表2 ガイドラインに定める医薬部外品と化粧品の安全性試験

| 医薬部外品 | 化粧品 | 代替試験法 |
|----------------------|--------------|-----------------------|
| 薬審1第24号 医薬審発第325号 | JCIA 安全性評価指針 | 代替試験法の有無 |
| 単回投与毒性 | 単回投与毒性 | なし(動物削減法あり) |
| 反復投与毒性 | — | なし |
| 生殖発生毒性 | — | なし |
| 皮膚一時刺激性 | 皮膚一時刺激性 | <i>in vitro</i> 皮膚刺激性 |
| 連続皮膚刺激性 | 連続皮膚刺激性 | なし |
| 皮膚感作性 | 皮膚感作性 | LLNA (DA, BrdU) 法 |
| 光毒性 | 光毒性 | NR-PT 法 |
| 光感作性 | 光感作性 | なし |
| 眼刺激性 | 眼刺激性 | BCOP 法 |
| 遺伝毒性 | 遺伝毒性試験 | Ames、染色体 |
| ヒトバッチテスト | ヒトバッチテスト | ヒト (40例以上) |
| 吸収、分布、代謝、排せつ | — | なし |

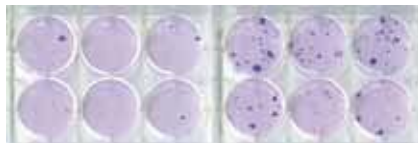
資生堂は業界の中でもいち早く皮膚感作性試験の代替法としてh-CLAT試験などを開発しOECDに提案している。社内では生物を用いない毒性予測と代替試験法の利用やヒトによるパッチ・テストを組み合わせた新安全保障体制を確立して、動物実験に頼らない安全性保障のシステムを構築し、2013年に社内外での動物実験を廃止した。現時点で国内数社がすでに動物実験を廃止していると聞く。他企業での3Rへの貢献の例として、マンダムでは代替試験法とその基礎研究に代替法学会を通じて支援し、(公財) コスメトロジー研究振興財団(コーセー)では、化粧品分野での安全性を含む基礎研究の推進に大きな支援を行っている。

⑥ 代替試験法の開発

3R原則のうちReplacement(代替法開発)は、動物試験をなくす(減らす)最重要課題と考えられる。毒性予測の流れとして、第一に、生物試験を実施する前段階として、これまで実施された動物を用いる毒性試験のデータベースから、その化学構造と毒性発現の関係により構築された構造活性相関モデルに基づいた毒性発現の予測をする。次に、培養細胞を用いた試験系を組み合わせた代替試験法により、その毒性予測をする。この場合、メカニズムの異なる物質に対応するため、いくつかの試験法を組み合わせる毒性発現の予測性を高めることが重要である。

例えば、発がん性に関しては、原因物質として遺伝毒性発がん物質と非遺

形質転換試験による発がん性物質の検出



無処理の細胞 発癌剤MCA処理 (1mg/mL)

伝毒性発がん物質があることから、それぞれを検出できる試験を実施する必要がある。エームス試験は微生物を用いた突然変異の検出系であり、染色体異常試験は培養細胞で染色体異常を起こす試験系である。一方、Bhas 42細胞は、非遺伝毒性物質を検出することができる試験で、それぞれ3種の試験系を実施することで発がん物質の検出を高めることができる。

化学物質による皮膚アレルギー物質を検出するためのモルモットを用いた皮膚感作性試験に関しても、化学物質によってその反応性が多様であることから、そのメカニズムに基づきさまざまな培養細胞を用いた試験系(h-CLAT, Keratinosens, DPR, IL-8など)が開発されつつある。このようにさまざまな試験系の開発が進められており、有望な系に関しては、OECDのガイドラインやガイダンスとして申請が行われている(www.jacvam.jp/)。

⑦ おわりに

今回はもう一つの3Rと称して、動物実験分野での3R原則のあらましについて紹介したが、この分野では動物試験に代わる新しい代替試験法の開発が望まれており、継続して3R原則の徹底と研究の促進を図る必要がある。