



## OECD Test Guideline 442D 収載

### 再構築皮膚モデルを用いたin vitro皮膚感作性試験法: EpiSensA

#### EpiSensA : Epidermal Sensitization Assay

- ◆ 2024年6月にOECD TG 442Dにin vitro代替法 皮膚感作性試験の一つとして収載された試験
- ◆ 皮膚感作性の有害性発現経路（AOP: Adverse Outcome Pathway）のうち、Key Event 2：ケラチノサイトの活性化を評価する試験系
- ◆ 再構築皮膚モデルに検体を直接添加/処置することで、これまで評価が難しいとされてきた難水溶性物質の評価が可能

細胞 : LabCyte EPI-MODEL 24 (J-TEC)

媒体 : AOO・50%EtOH・蒸留水のいずれか  
(最も溶解度が高い媒体を選択)

AOO=Acetone:Olive oil=4:1

処理 : 皮膚モデル上に5 μLの検体を処置し、  
6時間インキュベート

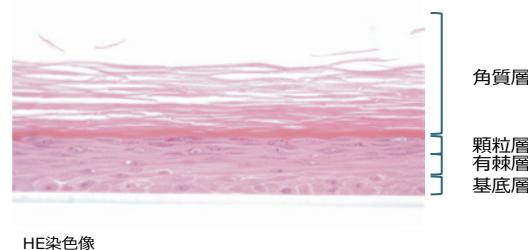
細胞生存率及び遺伝子発現量をRT-PCR  
により測定

評価エンドポイント :

媒体対照と比較していずれかの発現量が  
基準を超える場合、陽性と判断

**ATF3>15-fold, GCLM>2-fold  
DNAJB4>2-fold, IL-8>4-fold**

【LabCyte EPI-MODEL】

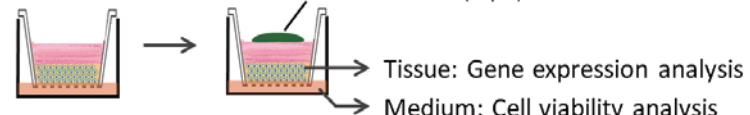


HE染色像

【Outline of Methods】

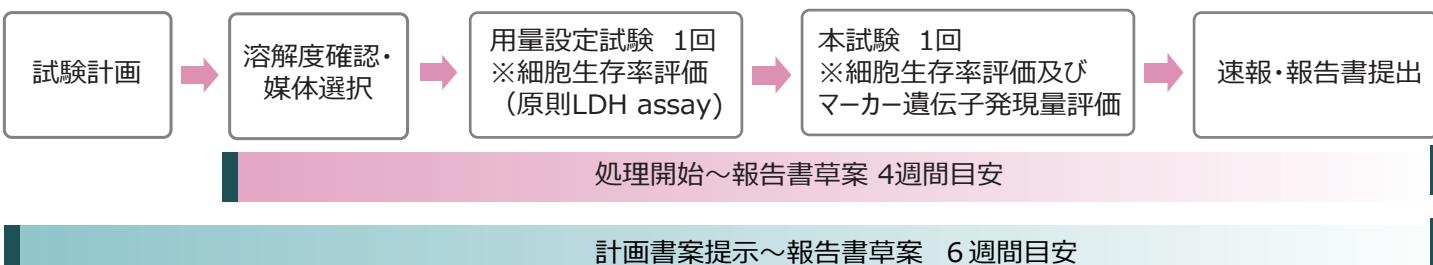
Pre-incubation (over-night)      Topical application (6-h)

Chemical sol. (5 μL)



画像及び図提供：株式会社ジャパン・ティッシュエンジニアリング (J-TEC)

## 試験の流れ



## Axcelleadの強み

- ◆ 信頼性基準適用試験での実施も対応
- ◆ TG497 Defined Approachでの活用を見据えた報告（判定）対応
- ◆ ADRAやh-CLAT含めた総合考察の提供

# EpiSensA バリデーション結果

OECD TG442D掲載のトレーニング化合物にてバリデーションを実施し、9/10化合物で合致を確認。  
Cetrimideの陽性反応はJaCVAMのバリデーション中にも認められており、刺激性影響を含む細胞毒性のわずかな実験間作などが影響した可能性あり。

## In house data

No.	Proficiency substances	Imax value				EpiSensA results for each marker gene				Test Guideline No. 442D			
		Fold induction (cut-off value)				In house validation							
		ATF3 (15-fold)	GCLM (2-fold)	DNAJB4 (2-fold)	IL-8 (4-fold)	ATF3	GCLM	DNAJB4	IL-8	ATF3	GCLM	DNAJB4	IL-8
1	2,4-Dinitrochlorobenzene	56.2	9.4	7.6	7.2	p	p	p	p	p	p	p	p/n
2	p-Phenylenediamine	50.4	23.5	14.3	1.7	p	p	p	n	p/n	p	p	p/n
3	Methyl heptine carbonate (Methyl 2-Octynoate)	350.7	50.0	31.0	20.8	p	p	p	p	p	p	p	p
4	Metol	86.5	34.3	14.2	6.2	p	p	p	p	p	p	p	p/n
5	Abietic acid	261.3	4.2	4.5	104.4	p	p	p	p	p	p	p	p
6	Farnesol	146.4	0.9	3.0	161.2	p	n	p	p	p	p/n	p	p
7	Amyl cinnamic aldehyde	384.3	0.9	2.3	206.9	p	n	p	p	p	n	p	p
8	Cetrimide	5.9	1.4	1.1	5.5	n	n	n	p"	n	n	n	n
9	Lactic acid	2.8	1.2	1.0	1.8	n	n	n	n	n	n	n	n
10	Hexane	1.2	0.9	1.0	1.5	n	n	n	n	n	n	n	n

"Imax value: maximum fold-induction with more than or equal to 80% cell viability"

"p" indicates that the fold-induction of marker gene exceeds the cut-off value with ≥ 80% viability.

"n" indicates that the fold-induction of marker gene doesn't exceed the cut-off value with ≥ 80% viability.

"p/n" means both "p" and "n" are acceptable.

#「Cetrimide」 is known to be relatively difficult to identify as a non sensitizer according to EpiSensA JaCVAM Validation Study Report.

## Axceleadが提供する皮膚感作性関連評価

開発段階に応じて、試験系の選択や組み立てのご相談に対応します

試験項目	Key Event	関連ガイドライン
Epidermal Sensitization Assay (EpiSensA)	Key Event 2	OECD TG442D / OECD TG497
the human Cell Line Activation Test (h-CLAT)	Key Event 3	OECD TG 442E / OECD TG497
Amino acid Derivative Reactivity Assay (ADRA)	Key Event 1	OECD TG442C / OECD TG497
In silico assessment: Derek Nexus	Key Event 4	OECD TG497



東京薬剤部 BIOXグループ  
お問い合わせ : cosfa-biox@cosfa.co.jp  
TEL 03-6841-3458  
<https://www.cosfa.co.jp/business/biox.html>

WEB

