

## 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  $\mu$ L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

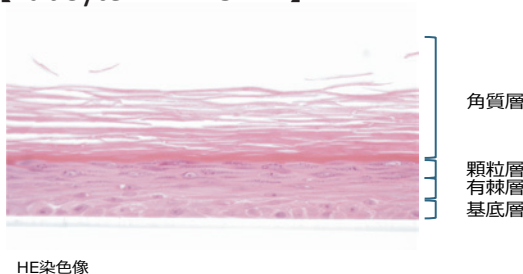
評価エンドポイント :

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】

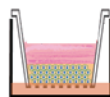


#### 【Outline of Methods】

Pre-incubation  
(over-night)

Topical application (6-h)

Chemical sol. (5  $\mu$ L)

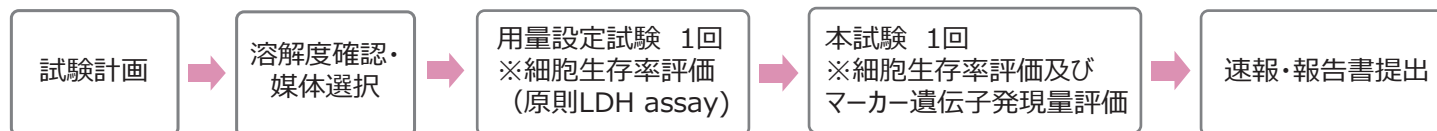


Tissue: Gene expression analysis

Medium: Cell viability analysis

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



処理開始～報告書草案 4週間目安

計画書案提示～報告書草案 6週間目安

## Axcelead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							
		Fold induction (cut-off value)				In house validation				Test Guideline No. 442D			
		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 <sup>#</sup>	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  $\geq 80\%$  viability.

"n" indicates that the fold-induction of marker gene doesn't exceed the cut-off value with  $\geq 80\%$  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

岩瀬コスファ株式会社

東京薬粧部 BIOXグループ  
お問合せ: cosfa-biox@cosfa.co.jp  
TEL 03-6841-3458  
<https://www.cosfa.co.jp/business/biox.html>

WEB



Axcelead Drug Discovery Partners株式会社

<https://www.axcelead.com/>

WEB



YouTube



ADDP\_0023J\_202510