

化妆品安全性评价在保障化妆品质量和消费者使用安全方面具有重要的意义。随着 3R 理念的发展与科学技术的进步，越来越多的替代方法经过验证后被应用到化妆品局部毒性的预测中。我国正努力推进化妆品安全评价中替代方法的研究、验证、技术转化及法规采纳工作。中国食品药品检定研究院（NIFDC）作为国家药品监督管理局（NMPA）的技术支撑单位，担负着开展化妆品替代验证/转化及研究的责任。通过验证/转化的替代方法，将公开征求意见，之后将通过中检院提交给化妆品标准专家委员会审评。通过化妆品标准专家委员会的工作程序后，可被纳入《化妆品安全技术规范（STSC）》中作为毒理学检验方法，并由国家药监局发布。本文梳理了国际上安全评估的替代方法的现状，并对中国化妆品安全性评价政策进行了介绍。

1959 年，英国科学家首次提出了科学研究中动物福利与动物保护的 3R 原则（即减少、优化与替代）(Russell and Burch, 1959)。随着科学技术的持续发展，人们已将细胞及分子技术逐步引入到毒理学研究之中。随着新的体外技术如体外重建组织器官、计算毒理学及其他检验方法的研发，体外技术逐渐替代了传统的动物实验。近年来非动物检测方法的需求越来越大，特别是在化妆品安全性评价方面。除了科学及动物福利方面的考虑，在监管层面替代方法也具有重要意义。

随着欧盟及其他一些国家在化妆品领域中施行动物实验禁令，使用非动物检测手段开展化妆品的安全风险评估已成为全世界的目标。替代方法的研发需考虑到准确性、敏感性、经济性等多种优势，如何遵循 3R 原则是首先需要考虑的最重要的问题。

本文从如下机构的官方网站收集整理化妆品相关的替代方法验证情况并汇总于表 1 中：包括美国替代方法验证机构间协调委员会（ICCVAM）、动物替代试验欧盟联合参考实验室（EURL-ECVAM）、日本替代方法验证中心（JaCVAM）、韩国替代方法验证中心（KoCVAM）和经济合作与发展组织（OECD）化学品安全评估指南。表 1 还同时列出了已纳入我国《化妆品安全技术规范》的替代方法。《化妆品安全技术规范》的毒理学检测方法中本身包含 3 种体外方法，2016 年后，又新增 6 个替代方法。这些方法涵盖了皮肤刺激/腐蚀性、眼刺激/腐蚀性、皮肤致敏性、光毒性和遗传毒性，这些都是化妆品安全评价中最基本最重要的毒理学终点。

## 中国化妆品监管框架

早在 1989 年，国务院颁布了《化妆品卫生监督条例》，标志着化妆品的监督管理进入了我国法律体系。2008 年，化妆品的监管职能从原卫生部转移到了原国家食品药品监督管理局（SFDA）。

表 1：化妆品主要替代方法的现状

| 毒理学领域/终点 | 方法  | OECD             | ICCVAM | ECVAM | JaCVAM                  | KoCVAM               | STSC                 |
|----------|---|------------------|--------|-------|-------------------------|----------------------|----------------------|
| 眼刺激/腐蚀性  | 牛角膜渗透性和通透性试验方法是用于鉴定：i) 引起严重眼损伤的化学品；ii) 不需要对眼刺激或严重眼损伤进行分类的化学品 (BCOP)   | TG 437<br>2017   | ✓      | ✓     | ✓                       | ✓                    |                      |
|          | 荧光素渗漏试验，是用于鉴定眼部腐蚀物和严重刺激物的检验方法 (FL)  | TG 460<br>2017   | ✓      | ✓     | ✓                       |                      |                      |
|          | 体外短时暴露法适用于鉴定：i) 导致严重眼损伤的化学物质、ii) 不需要对眼刺激或严重眼损伤进行分类的化学品(STE)   | TG 491<br>2018   | ✓      | ✓     | ✓                       | ✓                    | ✓                    |
|          | 重建角膜模型试验 (RbCE)，是针对不需要对眼刺激或重度眼损伤进行分类和标记的化学品进行鉴定的试验方法 (EpiOcular, SkinEthic, LabCyte CORNEA MODEL24 EIT, MCTT HCE) | TG 492<br>2019   | ✓      | ✓     | ✓                       | ✓                    |                      |
|          | 胶原蛋白凝胶-眼部刺激试验(Vitrigel-EIT)   | TG 494<br>2019   | ✓      | ✓     | ✓                       |                      |                      |
| 皮肤腐蚀/刺激  | 离体皮肤腐蚀性：大鼠经皮电阻试验法 (TER)   | TG 430<br>2015   | ✓      | ✓     | 正在进行                    |                      | ✓                    |
|          | 体外皮肤腐蚀性：重组人表皮模型试验方法 (RHE) (Episkin, EpiDerm, SkinEthic, epiCS)  | TG 431<br>2016   | ✓      | ✓     | ✓<br>(正在进行 LabCyte EPI) |                      |                      |
|          | 体外皮肤刺激性：重组人表皮模型试验方法 (Episkin, EpiDerm, SkinEthic, LabCyte, EPI-MODEL24)   | TG 439<br>2015   | ✓      | ✓     | ✓                       | ✓                    |                      |
| 皮肤致敏性    | 皮肤致敏性：局部淋巴结试验 LLNA；DA   | TG 442A<br>2010  | ✓      | ✓     | ✓                       | ✓                    | ✓                    |
|          | 皮肤致敏性：局部淋巴结试验 LLNA；BrdU-ELISA 或 LLNA-FCM  | TG 442B<br>2019  | ✓      | ✓     | ✓                       | ✓                    | ✓<br>( BrdU-E LISA ) |
|          | 化学皮肤致敏性：直接肽反应分析 (DPRA, ADRA)  | TG 442C<br>2019  | ✓      | ✓     | ✓                       | ✓                    | ✓( DPRA )            |
|          | 体外皮肤致敏性：ARE-Nrf2/ARE-Nrf2 荧光素酶报告基因检测法 ( KeratinoSens, Lu-Sens )   | TG 442D<br>2019  | ✓      | ✓     | ✓<br>(Keratino Sens)    | ✓<br>(Keratino Sens) |                      |
|          | 体外皮肤致敏性，针对 AOP 通路中树突细胞激活的关键事件 /h-CLAT, U-SENS, IL-8   | TG 442E<br>2018  | ✓      | ✓     | ✓                       | ✓                    |                      |
|          | 体外皮肤致敏性：Sens-IS   | 工作计划<br>( 2016 ) |        |       | 正在进行                    |                      |                      |
|          | 体外皮肤致敏性：Genomic 过敏原快速检测 ( GARDskin, GARDproteny )   | 工作计划<br>( 2016 ) |        |       | 正在进行                    |                      |                      |
| 皮肤光毒性    | 体外 3T3 NRU 光毒性检验  | TG 432<br>2019   | ✓      | ✓     | ✓                       | ✓                    | ✓                    |
|          | 活性氧检测 ( ROS )   | TG 495<br>2019   | ✓      | ✓     | ✓                       |                      |                      |

| 毒理学领域/<br>终点            | 方法                               | OECD           | ICCVAM | ECVAM | JaCVAM | KoCVAM | STSC |
|-------------------------|----------------------------------|----------------|--------|-------|--------|--------|------|
| 遗传毒性/<br>致癌、致畸、<br>致突变性 | 体外哺乳动物细胞微核试验                     | TG 487<br>2016 | ✓      | ✓     | ✓      |        |      |
|                         | 体外哺乳动物染色体畸变试验                    | TG 473<br>2016 | ✓      | ✓     | ✓      |        | ✓    |
|                         | 体外哺乳动物细胞基因突变试验：胸苷<br>激酶基因        | TG 490<br>2016 | ✓      | ✓     | ✓      |        | ✓    |
|                         | 体外哺乳动物细胞基因突变试验：Hprt<br>和 xprt 基因 | TG 476<br>2016 | ✓      | ✓     | ✓      |        | ✓    |
|                         | 体外微核：重组人表皮模型试验                   | -              |        | 正在进行  |        |        |      |
|                         | 离体叙利亚仓鼠细胞体外转化试验<br>(SHE CTAs)    | GD 214<br>2015 |        | ✓     | 正在进行   |        |      |
|                         | Bhas 42 细胞体外转化试验 (CTA)           | GD 231<br>2016 |        | ✓     | 正在进行   |        |      |

注：“✓”代表该方法已被验证和/或接受

经过了一系列机构改革（2013年，原国家食药局进一步成为原国家食药总局）和多项化妆品法规和标准的制修订，现在化妆品的监管工作由国家药品监督管理局负责。原国家食药总局修订的化妆品监督管理条例于2015年第一次公开征求意见，并列入2019年度立法计划。

2010年，原国家食品药品监管局将安全风险评估概念引入到化妆品内可能存在的安全风险物质的管理之中，标志着安全风险评估成为我国化妆品监管的科学方法之一。2013年，原国家食品药品监督管理总局发布《关于调整化妆品注册备案管理有关事宜的通告》，明确指出，国产非特殊用途化妆品“风险评估结果能够充分确认产品安全性的，可免于产品的相关毒理学试验。”这极大促进了既能确保化妆品安全又能减少毒理学检测的安全风险评估方法的使用。2015年，原国家食品药品监管总局发布了《化妆品安全风险评估指南》（征求

意见稿），对化妆品安全风险评估工作给予监管和指导。2016年，3T3NRU光毒性检测方法被纳入《化妆品安全技术规范》中，这一里程碑式的事件标志着动物替代方法正式进入了我国的化妆品标准体系中。

## 替代方法研发中的挑战与问题

随着全球越来越多的体外检测方法得到官方机构的验证和认可，我国也逐步推进替代方法的研究和验证。在遵循3R原则的基础上，我国鼓励替代方法在化妆品安全评价中的研究和应用。但我们在替代方法的研发方面，仍然面对着很多挑战和问题。

OECD安全评估指南中的替代方法，是针对单一化学物质及具有明确组分浓度的混合物进行检测而设计的。据作者粗略估计，我国《化妆品已使用原料目录》中的8783种原料之中，有三分之一是组分和浓度不确定的动植物提取物。此类原料较为复杂，而化妆品成品往往是几十种原料的复杂混合物。成品的物理形态、特性和颜色都可能会影响替代方法的检测结果。

鉴于中国对化妆品成品的检验要求以及中国化妆品原料组分的独有特征，需要对替代方法进行进一步研发和改良，并进行验证，不可简单地加以翻译采用。

另外，某些替代方法所需的特殊细胞系、组织模型和仪器设备的进口也面临一些问题。例如，经 OECD 验证的重组人类皮肤、角膜模型目前仅可由海外供货商生产，长途运往我国之后无法保持其生物活性。目前，牛角膜渗透性通透性检测方法（BCOP）的检测仪器在我国仅有一家代理商供货，价格高得令人望而却步。此外，部分用于皮肤致敏性体外检测的细胞系还没有正式引进到中国（有时是因为中国不是 OECD 成员国，采购细胞系时遇到障碍），某些致敏性检测方法涉及专利性，检测服务不对外开放。上述所有因素都减缓并影响了替代试验的推广和认可，某些情况更与方法研发者的意愿背道而驰（研发者希望推广方法）。

### 替代方法的发展

国家药监局已经组织开展了多个验证项目，以验证眼刺激/腐蚀性、皮肤刺激/腐蚀性、皮肤致敏性、光毒性和遗传毒性的替代方法。3T3NRU 光毒性和 TER 皮肤腐蚀性试验这两项检验均是针对化妆品原料检测，现已被纳入技术规范。我国将继续深入研究适合我国化妆品特点和化妆品行业需求的相关替代方法。中检院每年在其官方网站上面向社会公开征集《化妆品安全技术规范》制修订的建议（通常在年中发布通知）。

我国始终坚持遵循 3R 原则，积极推进化妆品安全风险评估的应用。来自注册检验机构、科研院所、第三方检验机构和行业的诸多利益相关方，均在实验室内积极建立替代检测方法。化妆品安全性评价是建立在强有力的技术支持和先进的产业发展基础之上的。我国化妆品行业以中小企业（SME）为主，技术和经济能力相对薄弱。为帮助推广和应用关于替代方法和 3R 原则的知识，中检院自 2013 年起每年与美国体外科学研究院（IIVS）联合举办一期体外检验技术的操作培训。中检院也多次组织有关化妆品动物替代方法的国际研讨会。

尽管面临许多挑战，我国化妆品监管部门在改进和践行化妆品安全风险评估和应用替代检验方法方面仍然取得了长足的进步。目前，中检院已成立了专门的化妆品替代工作组，负责研究及验证化妆品替代检验方法，该工作组的职能类似于国际上的“替代方法验证中心”（CVAM），工作组聚焦在化妆品领域的研究和应用。相信工作组在化妆品安全性评价中，能从科学、法规认可和行业需求等多个角度起到促进和推动发展的作用。