

験条件の確立”，日本トキシコロジー学会学術年会，2007.

- 13) 廣田衛彦，鈴木美絵，萩野滋延，加賀谷早織，佐々木喜教，板垣宏，相場節也，“細胞表面-SH 基を指標とした感作性試験代替法（SH test）の開発（1）～感作性処理したTHP-1細胞の活性化における細胞表面-SH 基の役割～”，日本トキシコロジー学会学術年会，2007.

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

平成19年度厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）

分担研究報告書

動物実験代替法を用いた安全性評価体制の確立と国際協調に関する研究 ヒト接触皮膚炎評価の見直し

分担研究者 松永佳世子 藤田保健衛生大学医学部皮膚科学講座 教授

研究要旨 本研究は、欧州で2009年より適用される化粧品のそれら成分に対する動物実験禁止、および販売の禁止に対応するため、わが国で販売される新規化粧品や医薬部外品、医薬品等においても対応できるような動物実験代替法（以下、代替法）の開発、バリデーションおよび評価を進め、代替法を組み込んだ安全性評価システムについて検討することを目的としている。分担研究者は、この研究のなかで、皮膚科臨床医として、また日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会の代表として参加し、臨床医の立場から、代替法を組み込んだ安全性評価システムの構築に参加した。平成19年度は情報の収集に当たった。皮膚刺激、皮膚感作性の安全性評価のデータ収集と、その代替法についての情報を収集した。また、欧州5カ国を訪問し化粧品をはじめとする接触皮膚炎の研究実態を調査し、欧州において皮膚科医、化学研究者、化粧品企業の密な連携がなされていることを学び、日本においても同様なネットワーク構築が必要かつ可能であると考えた。

A. 研究目的

欧州で2009年より適用される化粧品のそれら成分に対する動物実験禁止、および販売の禁止に対応するため、わが国で販売される新規化粧品や医薬部外品、医薬品等においても対応できるような動物実験代替法（以下、代替法）の開発、バリデーションおよび評価を進め、代替法を組み込んだ安全性評価システムについて検討する。

分担研究者は皮膚科臨床医、日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会の代表者として、本研究に参加し、代替法の評価を行うとともに、あり方委員会に参加した。動物実験を用いない場合におけるヒト臨床試験のあり方について検討し、必要ならヒト臨床試験方法の検討を行う。

B. 研究方法

平成19年度は、皮膚刺激、皮膚感作性試験に関わる代替法の資料を収集し検討すると同時に、ヒト臨床試験方法の資料収集と再検討を行った。

ヒト皮膚刺激試験の標準化をめざして、日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会皮膚刺激研究グループのメンバーとして、共同研究で、

分担研究者は現在、国際接触皮膚炎研究班（International Contact Dermatitis Research Group:ICDRG）班員である。本研究に関連した化粧品をはじめとする接触皮膚炎の欧州の情報を得るためにICDRGの班員であるフィンランドのKristiina Turjanmaa博士、スウェーデンのMagnus Bruze教授、英国のIan R White教授およびJohn MacFadden博士、ベルギーのAn Goossense教授のクリニックと研究施設

設を訪問した。また、欧州接触皮膚炎学会 (European Society of Contact Dermatitis: ESCD) 理事長の Jean-Pierre Lepoittvin 教授の皮膚化学研究室を訪問し、化粧品に関わる接触皮膚炎の情報を国際的な立場で収集した。

C. 研究結果

1. 皮膚刺激、皮膚感作性試験代替法の資料を収集し、検討を加えた。
2. ヒト皮膚刺激ならびに感作性試験についての資料を収集し検討を加えた。
3. 皮膚刺激物質 24 時間貼布試験と 48 時間貼布試験の比較を行った結果、いずれも差がない結果であった。
4. 欧州においては、パッチテスト試料が市販されて容易に入手できる。接触皮膚炎クリニックに化学分析のできる充実した皮膚科、職業皮膚科が存在する。特にベルギーでは化粧品企業と皮膚科医、化学者が協力して、CDESKPRO というコンピューターによるオンラインシステムを立ち上げており、化粧品の成分の登録、パッチテスト結果の登録、ネガティブリストの公開、パッチテストの支援システムなどが機能しており、アレルゲンの陽性率など、有用なデータがリアルタイムでだせる優れたネットワークを構築していた。

D 考察

皮膚刺激物質の貼布試験は 24 時間、ないしは 48 時間の検査で評価に差がない結果を得たことは、被験者と試験施行者のいずれにも利便性や Quality of life を向上させると考えた。また、この皮膚刺激評価に用いた刺激物質の濃度や基剤も適切であり、今後の陽性コントロールとして使用できる可能性が示唆された。

欧州における化粧品に関わる接触

皮膚炎の研究は、我が国よりはるかに進んでいる。我が国ではごく限られた種類のパッチテスト試料が保険適応された診断薬として入手できるのみで、新たに必要なアレルゲンの開発は医薬品の規格を満たす試験を行う必要があり、採算に合わないため新規製品の開発が不可能な現状であるのに比較し、その研究背景は恵まれた環境であった。

動物実験が廃止された場合には、ヒトのパッチテストが、その安全性評価により汎用されることが推測できる。パッチテスト試料が診断用医薬品の規制のなか、新たな種類のアレルゲンを開発販売することは、多大な経費を必要として企業としては採算が合わない現状を踏まえて、産学官の協力によって、化粧品の成分の登録、パッチテスト試料作成、パッチテスト結果を企業と臨床医、患者の 3 者に役立てるシステム作りが早急な課題である。

E. 結論

皮膚刺激、皮膚感作性試験代替法について検討を加えた。皮膚感作性試験については今後さらなるデータを集積して評価する必要がある。欧州の化粧品アレルゲン登録制度システムと同様なシステムの構築が待たれる。

F. 健康危険情報
なし。

G. 研究発表 (平成 19 年度)
論文発表

- 1) 矢上晶子、松永佳世子：皮膚アレルギーテストの結果をどう活かす

- か？J Visual Dermatol 7:248-263, 2008
- 2) 曾和順子、鈴木加余子、鷺見康子、松永佳世子：口紅、J Visual Dermatol 7:304-306, 2008
- 学会発表
- 1) 佐野晶代、矢上晶子、中川真美子、井上智子、安部正通、稲葉弥寿子、中澤有里、山北高志、鈴木加余子、松永佳世子：化粧品による接触皮膚炎を疑いパッチテストを行った症例2006. 第32回日本化粧品瓦解、東京、2007年6月7-8日
- 2) Matsunaga K: How should we evaluate skin irritancy by human patch test? International Symposium on Contact Dermatitis, The 25th Anniversary of the Korean Contact Dermatitis Research Group, Seoul, Korea, June 14-17, 2007
- 3) 稲葉弥寿子、秋田浩孝、鷺見康子、中澤有里、菅谷直樹、加藤佳美、松永佳世子：ハイドロ器ノン軟膏による色素沈着性接触皮膚炎の1例. 第25回日本美容皮膚科学会、横浜、2007年8月18-19日
- 4) 山田 貴亮、長谷川靖司、赤松浩彦、山本直樹、山口弘毅、石井 泉、松永佳世子、中田 悟：マイクロアレイによる新規感作性マーカーの探索. 第37回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会、名古屋、2007年 12月14-16日
- 5) 佐野晶代、矢上晶子、中川真美子、井上智子、安部正通、稲葉弥寿子、中澤有里、山北高志、鈴木加余子、松永佳世子：2006年に当科で化粧品による接触皮膚炎を疑いパッチテストを行った症例のまとめ. 第37回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会、名古屋、2007年 12月14-16日
- 6) 関東裕美、日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会皮膚刺激研究グループ：皮膚一次刺激性評価としてのクローズドパッチテスト貼布時間の検討、第37回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会、名古屋、2007年 12月14-16日
- H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

総論

皮膚アレルギーテストの結果をどう活かすか？

矢上 晶子, 松永 佳世子

本稿では、今回のテーマである皮膚アレルギーテストを、即時型（I型）アレルギーを検索するプリックテストならびにスクラッチテストと、遅延型（IV型）アレルギーを検索するパッチテストに分けて、基本的な手技をより実践的に述べる。

即時型（I型）アレルギー

即時型アレルギーの診断には、図1のフローチャートに示したように詳細な問診に加え、抗原の調製を含めた検査方法の選択、臨床経過を考慮した結果の解釈など、正しい診断を得るためにはさまざまな点に注意することが必要である。

① 即時型アレルギーの検査法

検査項目としては皮膚テスト（プリックテスト、スクラッチテスト、皮内テスト）、抗原特異的IgE抗体測定（CAP-FEIA法、AlaSTAT法、LUMIWARD法など）、ヒスタミン遊離試験、除去試験・負荷試験などがあるが、本稿では *in vivo* 検査である皮膚テストに焦点を当てて説明する。

② 即時型アレルギー検査の実際

皮膚テストが主に行われる疾患を図2にあげた。実際には図3に示すような順序で検査をすすめる。重篤な症状が誘発された症例や乳～小児例に対してはオーブ

ンテストから開始するが、濃度調整を十分に行えばプリックテストから開始しても問題はない。

③ プリックテスト/スクラッチテストの準備と手技

1) プリックテスト

1. 必要な器具の準備（図4）

プリックランセット（EWO CARE AB, Sweden, 日本では（株）ヤヨイ, TEL: 03-3813-5816 で購入できる）（図4）、滅菌生理食塩水（生食）、ヒスタミン二塩酸塩、消毒綿、タイマー、判定板（紅斑から膨疹を区別するためにはツベルクリン反応判定用硝子板がよい）、プリックする部位に貼付するシール、ティッシュペーパー、抗原（図2）などを準備する。

2. 手技

◆ 通常のプリックテストの場合（図5）

検査は前腕屈側で行う。各抗原の間隔は少なくとも3cm以上離して置き、肘から3cm、手首から5cm離す。ランセットはアレルゲンごとに消毒綿で拭き、1人の患者に対し1本を使用する。なお、消毒綿に対してアレルギーや刺激反応を持つ患者に対しては蒸留水を用いる。

◆ Prick to prick test

新鮮な材料を検査に用いる場合は *prick to prick test* を行う。果物（メロン、パイナップル、サクランボなど）

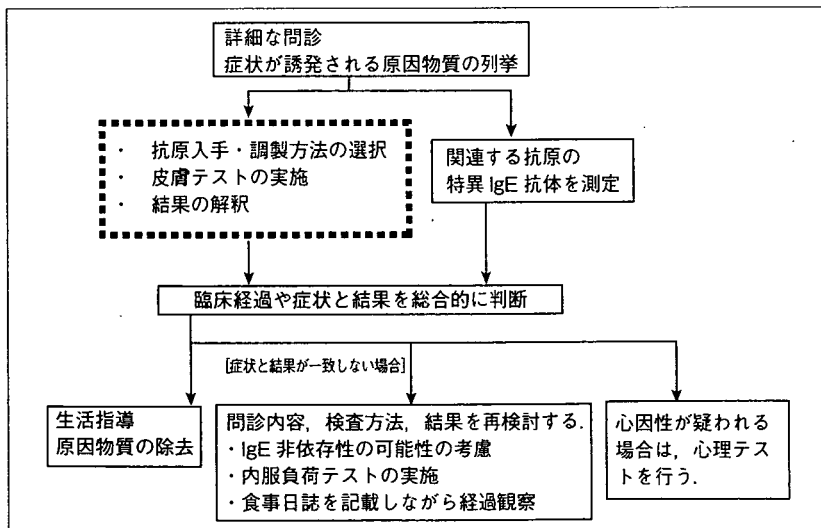


図1 即時型アレルギー診断のフローチャート

食物アレルギー： 臨床症状のある食物を持参（魚介類、卵、小麦など）

Pollen-food allergy syndrome：
臨床症状のある新鮮な果物を持参、
鳥居花粉シリーズ（シラカンバ、ヨモギなど）
も同時に施行

ラテックスアレルギー：
臨床症状が出現した天然ゴムラテックス製品・
果物を持参、ラテックス粗抽出液、
リコンビナント抗原

アレルギー性鼻炎： シラカンバ、ブタクサ、ヨモギなど
花粉症

薬剤アレルギー： 被疑薬および類似する薬剤

アトピー性皮膚炎： ダニ、真菌など

図2 プリックテストの抗原準備

①オープンテスト
・皮膚のない患者前腕屈側にアレルゲンを塗布する。
・アナフィラキシーが誘発された患者に対して行うが、
通常はプリックテストから開始する。

②プリックテスト
・点状の傷をつけアレルゲンを浸透させる。

③スクラッチテスト
・皮膚に出血しない程度の傷をつけてアレルゲンを浸透させる。
・試験者により結果が異なる場合がある。

④即時型皮内テスト
・アレルゲン液 0.02 ml を前腕屈側の皮内に注射する。
・アレルゲンの調製や安全性の確保がむずかしい。

⑤内服負荷テスト
・アレルゲンを少量より実際に内服負荷する。

図3 即時型アレルギー検査の手順
※下方へすすむにつれ、負荷するアレルゲン量が増え、アナフィラキシーを誘発する危険性が高まる。

や野菜に直接プリックランセットを刺し、これを皮膚に垂直に刺す（図6）。

3. プリックテストの判定

15分後に膨疹の直径 mm（最長径とその中点に垂直な径の平均値）を測定する（図7）。対照液は陽性コントロールとしてヒスタミン二塩酸塩：10 mg/ml、陰性コントロールとして生食を用いる（図4）。ヒスタミンの2倍を4+、同等を3+、1/2を2+、1/2より小さく生食より大きいものを1+、生食と同等を（-）と判定する。判定結果2+以上を陽性とする。

2) スクラッチテスト（図8）

プリックテストが陰性の場合にはスクラッチテストにす

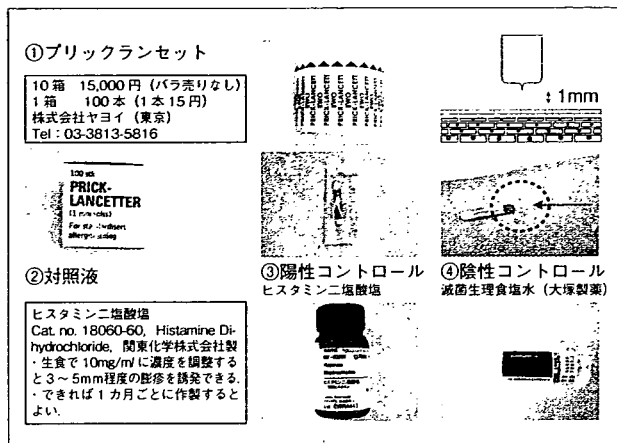


図4 プリックテストに必要なもの

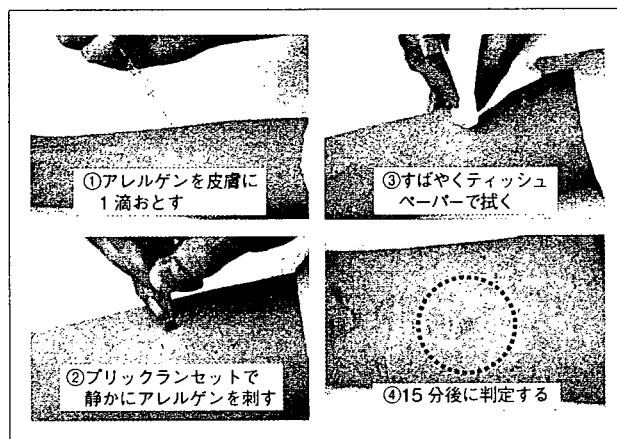


図5 プリックテストの手技

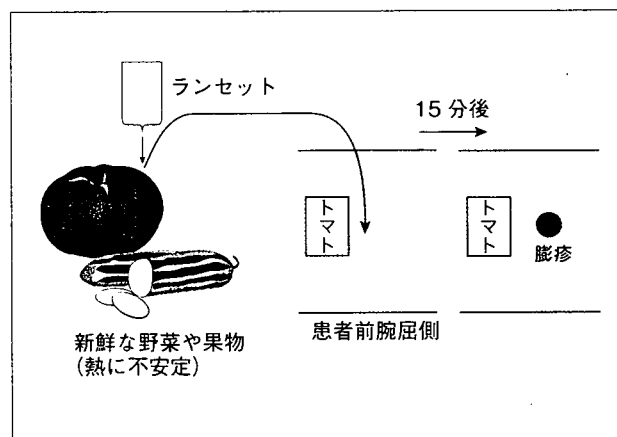


図6 Prick to prick test

すむ。この検査は、患者の前腕屈側にペンでマーキングした後、プリックランセットないしは細い注射針（23G）で、皮膚に対し出血しない程度に5 mmの線状の傷をつける。判定はプリックテストと同様である。

総

皮膚アレルギーテストの結果をどう活かすか？

	SCORE
・ヒスタミンの膨疹の2倍	4+
・ヒスタミンと同等の膨疹	3+
・ヒスタミンの1/2の膨疹	2+
・1/2より小さく、 生食より大きい膨疹	1+
・生食と同等	(-)

15分後に膨疹の直径mm（最長径とその中点に垂直な径の平均値）を測定し、紅斑は判定対象としていない。

判定結果が2+以上を陽性としている。

対照液が入り困難な場合は、3 mm 以上の反応を陽性と判定してもよい。
Dreborg, S. et al. : Allergy 47 : 48, 1993

図7 ブリックテストの判定

- 既往歴を詳しく聞き、全身症状が出現した症例には抗原抽出液の稀釈系列をつくること
- 偽陰性、偽陽性に注意すること
 - (a) 偽陰性を回避するために……………1) 患者に内服薬を中止することを指示すること（抗アレルギー薬は3日間の休薬期間が必要）。
2) 同一部位でくり返しテストをしない。
 - (b) 偽陽性を正しく判断するために……………1) 再テストを行うこと。（主に機械性蕁麻疹など）
2) アレルゲンの調製を工夫すること。
3) 負荷テストを試みること。
- 標準化されていないアレルゲンのテストでは、5名程度のコントロールをとること。
- 常にアナフィラキシー反応のリスクを考慮し、対応できる準備が必要である。緊急時にエピネフリンの筋肉内注射や点滴を行えるように常備しておく。

図9 ブリックテストのこつ

①ブリックランセットもしくは細い針で皮膚に線状の傷をつける（約5mm）

②アレルゲンをのせる

③ティッシュペーパーで拭く

④15分後に判定する

・出血しない程度に傷をつける。
・刺激反応や傷害反応が出現したり、試験者により反応が異なる場合がある。

図8 スクラッチテストの手技

- ① 背部（傍脊椎部）の皮膚病変のない皮膚にアレルゲンを閉鎖貼付する。
- ② 48時間後にパッチテストユニットを除去し、絆創膏による圧迫刺激の影響がなくなる約1時間後に48時間後判定を行う。
- ③ 以降、72時間後、さらに1週間後判定を行う。

・金属アレルゲンの刺激反応とアレルギー反応の鑑別に注意。
・ステロイド主薬、アミノグリコシド系抗生物質の反応のように陽性反応が遅く出現する場合は1週間後判定が必須である。

図10 単純パッチテスト（48時間 closed test）アレルゲンの貼付および判定時間。

④ 結果の解釈

皮膚テストで得られた結果は、臨床経過とこれまでの既往歴なども含めて考慮し解釈しなくてはならない。また、反応が陰性であっても、即座に「アレルギー反応ではない」と判断せず、アレルゲンを正しい濃度で作製し適切に検査したかなどを検証する必要がある。図9にブリックテストのこつをあげた。

⑤ 即時型アレルギーおよびアナフィラキシーへの生活指導

即時型アレルギーと診断した患者への生活指導として、(1) 原因食物の摂取、製品への接触を避けること、(2) 予期せぬ蕁麻疹や呼吸困難に備えて抗ヒスタミン薬・経口ステロイド薬を処方し、常時携帯すること、(3) 食物や薬物によっては交叉反応があることなどを中心に説明する。

注意する点は疾患ごとに異なるため、当科では生活上の注意点を記載した疾患ごとの情報カードを渡している。各疾患に対する具体的な対策については各項目を参照していただきたい。

遅延型アレルギー

① 遅延型アレルギー検査（パッチテスト）の実際

接触皮膚炎に対してパッチテストを行う。

② パッチテストの準備と手技

1) 単純パッチテスト(closed patch test)

背部(傍脊椎部)の皮膚病変のない皮膚に抗原を閉鎖貼付する。抗原準備や手技は図10, 11に示した。

2) オープンテスト, Repeated open application test (ROAT)

染毛剤, パーマ液, 脱毛クリーム, 揮発性の製品は原

① アレルゲンの管理 …… 各シリーズごとに、4℃の冷蔵庫で保管

② 標準アレルゲンのシリーズ …… ジャパニーズスタンダードシリーズ
化粧品アレルゲンシリーズ 歯科材料シリーズ
ステロイド外用薬シリーズ ステロイド主剤シリーズ
シミ、日焼け止めシリーズ など

③ パッチテストユニット
当科では Scanpor tape (Norgesplaster, Norway: 大正製薬) 上に Finn Chamber[®] (Epitest, Finland) がついているユニットを用いている。他にもパッチテスト用絆創膏 (鳥居薬品・東京) が販売されている。





図 11 パッチテストの抗原準備

肘に 1 日 2 回アレルゲンを反応が出現するまで、あるいは反応が出現しなくても 5 日間は連続して塗布し、紅斑、浮腫、丘疹がないか判定する。もし反応がなければ、接触皮膚炎をおこした部位に同様の方法でアレルゲンを塗布する。

【適応疾患】
・アトピー性皮膚炎などにおいて背部に湿疹病変があり、パッチテストが困難な場合

・使用可能な製品のスクリーニング

・パッチテストの反応が疑陽性の場合



ただし、一度に 2 種しか検査ができない。

図 13 その他のパッチテスト: ROAT (Repeated open application test)

・染毛剤、パーマ液、脱毛クリーム、揮発性の製品は原液のままオープンテストを行う。

・試料を直径 20 mm の円に単純塗布し、20 分から 30 分後に膨疹反応の有無を判定し、その後、48 時間、72 時間後に判定する。

ヘナエキス配合
男女兼用

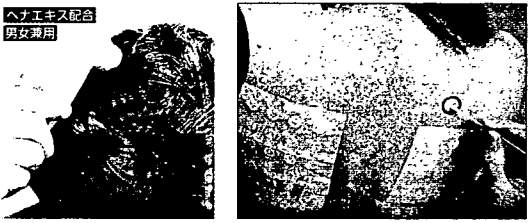


図 12 その他のパッチテスト: オープンテスト

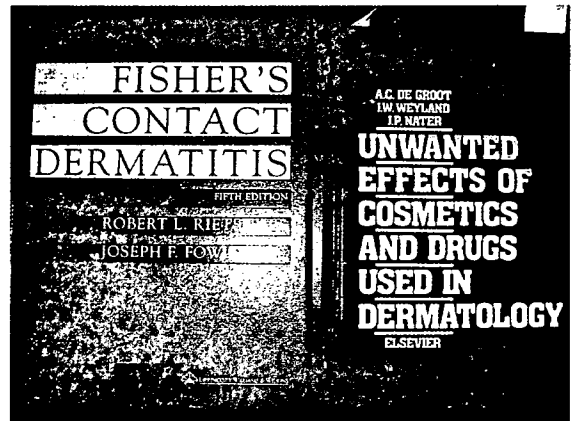


図 14 参考図書例 (左: Fisher's Contact Dermatitis 5th ed, Lippincott Williams & Wilkins, 右: Unwanted Effects of Cosmetics and Drugs used in Dermatology, Elsevier Science)

液のままオープンテストを行う (図 12)。その他のパッチテスト方法として ROAT を図 13 に示した。

③ アレルゲンの入手方法

代表的なパッチテスト用アレルゲンは数社から市販されており、本邦で入手できるものは以下のとおりである。

Brial (Germany) のアレルゲンは海外技術交易 (TEL: 03-3275-3461) より入手可能である。また、国産のアレルゲンは、鳥居薬品株式会社にて入手可能である。入手できない製品の成分などは、Contact Dermatitis などの本や参考文献 (図 14) により適切な稀釈方法や濃度を確認し作成するが、安全が確認できないものについては感作させてしまう可能性などの危険性があるため貼付しない。

④ 各抗原の稀釈と貼付方法

ここでは代表的な抗原について簡単に図 15, 16 に示

した。詳細については各項を参照していただきたい。

⑤ 貼付前の注意点

パッチテストを行う前に、患者には以下の注意点を説明する。

- (1) パッチテストを行うことで感作をおこす可能性があること。
- (2) 患者の湿疹病変を再燃させることがあること。
- (3) 反応が強くと、アレルゲンの貼付部位に水疱などが出現することがあること。
- (4) パッチテスト後に色素沈着や色素脱失を来すことがあること。

当科では上記の事柄を詳しく説明し同意を得たうえで、検査を開始している。

⑥ 判定基準

判定基準は 2 通り (国際接触皮膚炎研究会: ICDRG

総論

皮膚アレルギーテストの結果をどう活かすか？

① 外用薬, 点眼液, 食品, 衣類などの場合
直接 Finn Chamber にアレルゲンを載せる。

② シャンプー, 石鹸, 洗顔料など水溶性の製品の場合

a. 一般名, 商品名, 販売会社名, LOT 番号などを判定用紙に記載する。

b. それぞれの製品を 1%水溶液に調製し, 丸くかたどられた濾紙を水溶液に浸す。

Ex) 固形石鹸 → 削って → 微温湯で溶かして 1%水溶液を作成する。 → 濾紙

c. Finn Chamber のアルミ板にあらかじめ白色ワセリンを薄く塗り, その上に水溶液を含んだ濾紙をのせる。

図 15 持参品のパッチテスト方法

① 農薬
ワセリン, 水ないしは親水ワセリンに使用濃度, 10 倍稀釈濃度で混ぜて貼付する。

② 消毒薬
使用濃度で貼付する。刺激性のあるものは使用濃度でのオープンテストを行う。
使用テストも有用である。

③ 金属
ヤスリで削りワセリンに混ぜて貼付する。

④ 植物
花びら, 葉, 茎に分けてすり潰して貼付する。しかし, さくら草は強い感作性を持つのですり潰した後水で 10 倍に稀釈して貼付する。刺激性のある植物は 10%水溶液またはエタノール, アセトンで抽出液を作る。

図 16 その他持参品の稀釈方法と貼付方法

基準と本邦基準) がある。アレルギーの判定には ICDRG 基準が適しているが, 刺激反応を含めて判定する場合には本邦基準が適している (図 17)。

⑦ パッチテスト反応の解釈と注意点

パッチテストで得られた陽性反応をそのまま「陽性」と判断してはいけない。陽性反応を正しく解釈するためには, (1) 接触または使用歴を確認し, 現在の皮膚炎の原因か, 増悪因子かを明らかにする, (2) 今回接触した物質でなければ過去の皮膚炎の既往を十分に問診し, 以前の皮膚炎の原因か, 増悪因子かを明らかにする, (3) さらに, これまでの皮膚炎とは関係のない交叉反応である可能性を考慮する, といったことなどを検討することが大切である。

一方, パッチテストが陰性であっても, 即座にアレルギー反応ではないと判断せず, アレルゲンを正しい濃度

で適切に貼付したかなどを検証するとよい。さらに, とくに強い陽性反応を呈したアレルゲンの近傍で非特異的に陽性反応が惹起されることがあり, これを excited skin syndrome とよぶ。この反応は多感作や交叉反応の判定と識別することが困難であるため, パッチテストの判定でもっとも注意を要する。

⑧ 診断

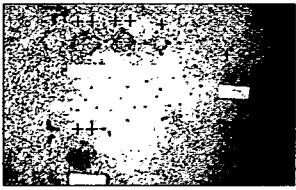

アレルギー性接触皮膚炎を診断する際には, 発症経過, 臨床症状, パッチテストの結果を考慮して診断を行う。

⑨ 患者への説明

患者へは, 1 週間後判定時にパッチテストの結果を説明する。交叉反応するアレルゲンがある場合にはこれらも説明し, 接触しないように注意する (図 18)。陽性反応を呈したアレルゲンが今回の皮膚炎と関連があったかを再度確認する。

本邦基準	反応	ICDRG 基準	反応
	刺激反応も含めて判定できる		アレルギーの判定に適している
-	反応なし	-	反応なし
±	軽度の紅斑	+?	紅斑のみ
+	紅斑	+	紅斑+浸潤, 丘疹
++	紅斑+浮腫, 丘疹	++	紅斑+浸潤+丘疹+小水疱
+++	紅斑+浮腫+丘疹+小水疱	+++	大水疱
++++	大水疱	IR	刺激反応
		NT	施行せず

ICDRG (国際接触皮膚炎研究班)

ICDRG 基準
 +: 紅斑+浸潤, 丘疹
 面積の50%は浮腫
 あるいは浸潤を認める紅斑

図 17 パッチテストの判定基準

持参品については陰性の製品を報告し、今後の生活に役立てていただく(図 18)。持参品が陽性の場合、その製品の成分による再パッチテストが必要となることを説明し、準備をすすめる。また、代替品がある製品についてはそれらを紹介し、接触を回避するための防御対策についても指導する。もし、職業性の接触皮膚炎の場合には、患者の職場にパッチテストの結果を報告し、職場の異動を勧める。

接触皮膚炎についてより多くの情報を入手したい場合は日本接触皮膚炎学会のホームページが便利である(<http://www.fujita-hu.ac.jp/JSCD/>)。

おわりに

本稿では、実践的な皮膚テストの手技について述べた。個々の疾患については本誌の各項目を参考にさせていただければ幸いである。

JS-5

**ジ・ビ・デー・イブ・ラックラバー・ミックス
(PPD black rubber mix)**

あなたは、PPD black rubber mix にアレルギーです。この化学物質はゴム製造過程で使用される添加剤(酸化防止剤)であり、その構成成分のなかでも特にPPDが強い感作力を持っています。主な含有製品としては、黒または灰色のゴム製品(黒いゴムのグローブ、手袋、靴底、ウレタン、シューズ、靴材、靴底、靴の縫製のための糊等の文用部)、140レーターの手すりなど、酸化防止剤、紫外線防止剤、郵便通筒などがあります。ヘアダイの成分のPPDと交叉反応することがあります。

(1997年3月31日作成)
 藤田保健衛生大学皮膚科 鶴田京子

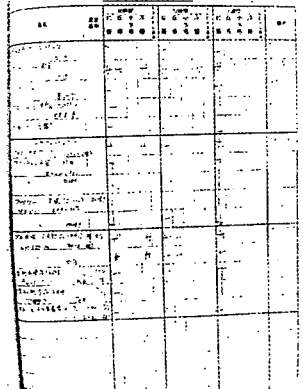


図 18 (左) アレルゲン説明カード、(右) 持参品結果一覧

Key words

皮膚アレルギーテスト, ブリックテスト, パッチテスト

矢上 晶子 Yagami, Akiko

* 国立成育医療センター研究所 免疫アレルギー研究部 /
 藤田保健衛生大学医学部皮膚科
 * 〒 157-8535 東京都世田谷区大蔵 2-10-1
 E-mail: ayagami@nch.go.jp

松永 佳世子 Matsunaga, Kayoko

藤田保健衛生大学医学部皮膚科
 〒 470-1192 豊明市沓掛町田楽ヶ窪 1-98

case 15 PART.2 遅延型アレルギー ①アレルギー性接触皮膚炎

口紅



48歳、女性。1999年10月初診
口唇に鱗屑を付着する紅斑があり、一部で亀裂を認める。

症例

症例：48歳、女性。

既往歴：四肢、耳介の接触皮膚炎（詳細不明）、アレルギー性鼻炎。

現病歴：約10年前より、同一化粧品メーカーの口紅を使用していた。約1年前より、口唇に痒みを伴う皮疹が出現し、近医にて外用治療を受けたが、増悪と軽快をくり返すため、当院を受診した。

検査方法（パッチテスト方法）

患者が持参した口紅、ファンデーション、化粧水、乳液、保湿液は、そのまま貼付し、同時に化粧品に関連したアレルゲン20種も貼付した。陰性コントロールは白色ワセリンとした。Finn chamber[®] (Epitest Ltd Oy, Finland) on Scanpor[®] tape (Alpharma AS, Norway)を用いて、患者の背中に試料を48時間閉鎖貼付した。ユニット除去1時間後に48時間判定を行い、その後光アレルギーをスクリーニングするためにUVA 6 J/cm²を照射し、その24時間後に72時間判定を行った。また1週間判定も行った。判定はICDRG基準に基

づき、72時間または1週間後に+以上を陽性とした。

結果およびそれらの解釈

3種類の口紅とエステルガム(2% pet.)に陽性反応を認め(表1)、口紅による接触皮膚炎と診断した。

原因物質の成分を用いたパッチテスト

メーカーより口紅の成分の提供を受け、成分パッチテストを行った。口紅AあるいはBの成分27種と、口紅Cの成分25種は分けて提供を受けた。各成分のパッチテスト貼付濃度は、成書¹⁾に基づき、成書に記載のない成分は製品の配合濃度を参考に決定した。口紅A、Bの成分では、リンゴ酸ジイソステアリル(30% pet.)、エステルガム・ミリスチン酸オクチルドデシル混合(0.1% pet., 1% pet.)に陽性であった。口紅Cの成分では、リンゴ酸ジイソステアリル(30% pet.)に陽性であった。その他の成分は、陰性であった(表2)。

以上の結果より、リンゴ酸ジイソステアリルおよびエステルガムが原因アレルゲンと考えた。ミリスチン酸オクチルドデシルは、単独の成分として提供が得られなかったため、原因アレルゲンであるか否かは不明である。

スクリーニングパッチテスト陽性所見 (72時間判定)

3種類の口紅 (口紅 A, B, C), およびエステルガム 2%pet. が陽性であった.

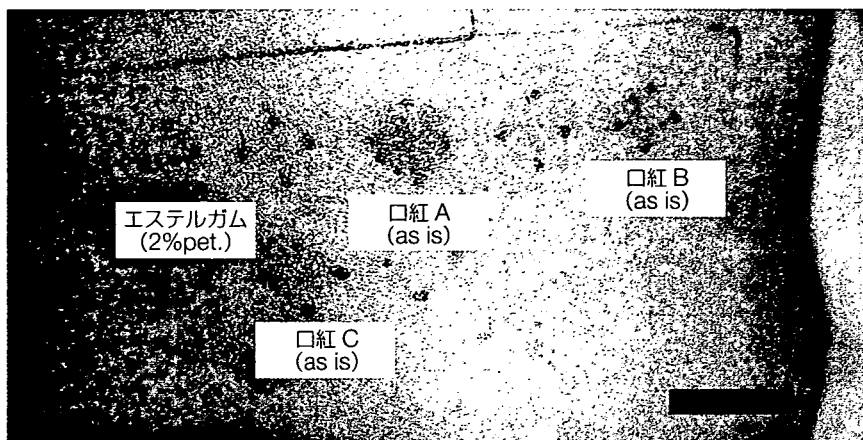


表1 スクリーニングパッチテスト結果

試料	濃度 / 基剤	48 時間	72 時間	1 週間
口紅 A	as is	+?	++	++
口紅 B	as is	-	+	+
口紅 C	as is	-	+	+
エステルガム	2%pet.	+?	+	+

(ICDRG 基準)

口紅 A, B の成分パッチテスト陽性所見 (1週間判定)

リンゴ酸ジイソステアリル (30%pet.), エステルガム・ミリスチン酸オクチルドデシル混合 (1%pet.) が陽性であった.

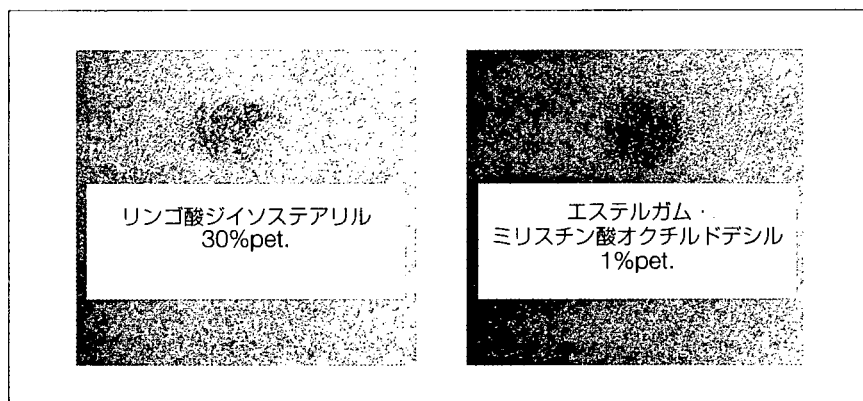


表2 成分パッチテスト結果

試料	濃度 / 基剤	48 時間	72 時間	1 週間	
口紅 A・B	リンゴ酸ジイソステアリル	30%pet.	-	+	+
	エステルガム・ミリスチン酸オクチルドデシル	1%pet.	-	+	++
	//	0.1%pet.	-	+	+
	そのほかの成分		-	-	-
口紅 C	リンゴ酸ジイソステアリル	30%pet.	-	+	++
	そのほかの成分		-	-	-

(ICDRG 基準)

case 15 口紅



軽快時の臨床所見

軽度の色素斑を残し、症状は軽快している。

生活指導

口紅の主な成分は油性基剤、着色料、香料、酸化防止剤である。油性基剤として、ヒマシ油が汎用されていたが、ヒマシ油に含まれるリシノール酸が感作性を有することが報告された²⁾。そこで、ヒマシ油の代替原料として、合成分岐脂肪酸エステルが使用されるようになった²⁾。

リンゴ酸ジイソステアリルは、イソステアリルアルコールとリンゴ酸のジエステルであり、口紅のようなスティック状製品、ファンデーション、クリームなどに使用される³⁾。これまでに、口紅、リップクリームなどに含まれたリンゴ酸ジイソステアリルによる接触皮膚炎が報告されている⁴⁾。

エステルガムは、主にアビエチン酸のトリグリセリドで構成される⁵⁾。膜の耐水性を強化するために、ニスやラッカーなどに配合され、また、チューインガムの基剤として用いられている⁵⁾。口紅にはつやだし成分として配合されており⁶⁾、これまでに、口紅⁶⁾、ファンデーション、プラスター剤、絆創膏などに含まれるエステルガムによる接触皮膚炎が報告されている⁷⁾。

本症例は、ステロイド外用薬にて加療後、リンゴ酸ジイソステアリル、エステルガムを含まない口紅の使用を指導したところ、軽度の色素斑を残し症状は軽快し、再発を認めていない。

2001年から日本では、化粧品は全成分表示になっているため⁸⁾、原因アレルゲンを確定できた場合は、成分表示を確認し、化粧品を選択することが可能である。代替品を安全に選択するために、成分パッチテストは有用であると考えた。

本例は第25回日本接触皮膚炎学会総会・学術大会(2000年、名古屋市)において報告した。

文献

- 1) De Groot AC: Patch testing: Test concentrations and vehicles for 3700 chemicals, 2nd ed., Elsevier Science, Netherlands, 1994
- 2) 関永博人ほか: 香粧会誌 16: 1, 1992
- 3) 光井武夫ほか: 新化粧品学 第2版, 南山堂, 東京, p.144, 2001
- 4) Sugiura M et al: Environ Dermatol 8: 6, 2001
- 5) (財)日本公定書協会編: 化粧品原料基準 第2版 注解 I, 薬事日報社, 東京, p.123, 1984
- 6) 荻野泰子ほか: 皮膚 31 (増6): 180, 1989
- 7) 日本接触皮膚炎学会研究班: 皮膚 33 (増11): 177, 1991
- 8) 光井武夫ほか: 新化粧品学 第2版, 南山堂, 東京, p.331, 2001

Key words

口紅, リンゴ酸ジイソステアリル, エステルガム

曾和 順子 Sowa, Junko

大阪市立大学大学院医学研究科皮膚病態学
〒545-8585 大阪市阿倍野区旭町1-4-3
E-mail: jsowa@med.osaka-cu.ac.jp

鈴木 加余子 Suzuki, Kayoko

刈谷豊田総合病院皮膚科
〒448-8505 刈谷市住吉町5-15

鷺見 康子 Washimi, Yasuko

藤田保健衛生大学医学部皮膚科
〒470-1192 豊明市沓掛町田楽ヶ窪1-98

松永 佳世子 Matsunaga, Kayoko

藤田保健衛生大学医学部皮膚科

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
小島肇夫	感作性・刺激性試験		現場レベルでの皮膚測定・評価～トラブル事例・対策～	サイエンス&テクノロジー	東京	2007	268-273
小島肇夫	皮膚刺激性試験について		最新動物実験代替法	技術情報協会	東京	2007	63-71
小島肇夫	皮膚腐食性試験について		最新動物実験代替法	技術情報協会	東京	2007	75-84
小島肇夫	バリデーションについて		最新動物実験代替法	技術情報協会	東京	2007	267-273
小島肇夫	皮膚一次刺激性評価法		機能性化粧品素材開発のためのin vitro／細胞／組織培養評価法ハンドブック	シーエムシー出版	東京	2007	308-314
小島肇夫	代替法国際動向から見た新技術導入の可能性		動物実験代替法のためのバイオマテリアル・デバイス	シーエムシー出版	東京	2007	1-5

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
大野泰雄	動物福祉と動物実験代替法への考慮の必要性について	Biophilia	3	4-5	2007
大野泰雄	動物実験代替法の国際動向	Fragrance Journal	10	20-28	2007
大野泰雄	WC6（第6回国際動物実験代替法会議）を終えて	日本動物実験代替法学会News Letter.	34	2-4	2007
大野泰雄	Assessment of the human Cell Line Activation Test (h-CLAT) for Skin Sensitization; Results of the First Japanese Inter-laboratory Study	AATEX	13 (1)	27-35	2008

板垣 宏	細胞表面-SH基を指標とした感作性試験代替法 (SH test)	Fragrance Journal	10	49-54	2007
大森崇 小島肇夫	Validation studies on an alternative endpoint for the local lymph node assay (LLNA-DA): Importance of study management	WC6	Proceedings	429-432	2008
松永佳世子	皮膚アレルギーテストの結果をどう活かすか?	Visual Dermatology	7	258-263	2008
松永佳世子	口紅	Visual Dermatology	7	304-306	2008
小島肇夫	日本における動物実験代替法の開発動向	Fragrance Journal	10	29-34	2007
小島肇夫	動物実験代替法のバリデーション	COSMETIC STAGE	8	54-56	2007
小島肇夫	急がれる動物実験代替法の開発-皮膚モデルの現状	New Drug Discovery	23	4	2007
小島肇夫	動物実験代替法の現状と展望	日本薬理学会会誌	130	505-509	2008
小島肇夫	EUにおける動物実験代替法の現況とREACH対策	日皮協ジャーナル	30 (2)	156-162	2008
小島肇夫	皮膚感作性試験代替法の現状	Visual Dermatology	7 (3)	328-331	2008
小島肇夫	Perspectives on validation and regulatory acceptance of animal alternative testings in Japan	P&G Actives Risk Communication	2 (1)	1-4	2008
小島肇夫	JaCVAM: An organization supporting the validation and peer review of new alternative to animal testing	WC6	Proceedings	483-485	2008
小島肇夫	Validation of human skin models for skin corrosivity tests in Japan	AATEX	13	36-44	2008
小島肇夫、松永佳世子	アレルギー-VSトキシコロジー	皮膚アレルギーの旅	7 (1)	1-7	2008

第22章 感作性・刺激性試験／安全性評価のトラブル時の対応

国立医薬品食品衛生研究所 小島 肇夫

1. トラブル発覚までの経路

感作性・刺激性という皮膚トラブルが発生しやすい製品は、化粧品や医薬品が多いと考えられる。これらのトラブルの発覚に至るまでにはいろいろな経路がある。主に思いっくだけでも、以下のものが挙げられる。

- 1) ホームページやメール、電話、手紙などによるお客様からの苦情
- 2) 本社、支店などの営業担当者へお客様または営業店からの直接的な苦情
- 3) 医療機関からの連絡
- 4) 保健所、中毒センター、消費者センターなどの公的機関からの連絡
- 5) マスコミからの問い合わせ、または報道

2. トラブルへの対処

2.1 トラブルの把握

いつ、どこで、誰が、どのように(トラブルが通常使用で起こったのか、誤使用で起こったのか)、使用時の皮膚の状態、その健康被害がどの程度であったかで対応も異なろう。ともかく、子供に重篤な被害が生じたとか、アナフィラキシーショックなどを含め生命の危険性がある場合には、被害者には早急に医療機関を受診して頂き、治療をお願いしなければならない。再発防止のため、販売中止および回収、原因究明を早急を実施すべきである。

それ以外の場合では、被害者には早めに医療機関を受診して頂くようにお勧めすべきである。皮膚トラブルによる痛みやかゆみなどを軽減して頂かねばならない。症状が中々改善しない場合もあるので、ともかく疑われる製品の使用を止めて頂くべきである。トラブル報告を受けた企業は、通常、1件だけの緊急性のない皮膚トラブル発覚では紫外線、物理的刺激などの別の要因や持病のアトピー素因、蕁麻疹が悪化したことによる場合もあり、状況把握に留める場合が多い。数件、そのような症例が発覚して、品質、処方成分や容器などの製品の不備に気づくことになる。その場合の対策としては、ともかく、安全性に自信がある製品であり、かつこれまで何もトラブルがなかったとしても、自社製品に皮膚トラブルが起こりうる可能性を十分に頭に入れ、原因究明および製品の改善、場合によっては販売中止および回収のために真摯

に対応すべきである。

2.2 お客様からの苦情への対応

被害者であるお客様の所に、すぐに営業担当者を向かわせて、誠意ある態度で接しさせることである。次に状況を詳しくお聞きするとともに、その症状の改善のために誠意を尽くさせることである。その地域毎に日頃から接触皮膚炎に詳しい皮膚科医を把握しておき、すぐにその病院を紹介し、一日でも早く症状を改善して頂くべきである。治療費の問題や、精神的な保障については本章の趣旨から外れることからここでは述べないでおく。さらにお客様の要望によっては、企画担当者、処方を担当責任者や安全性の担当責任者をご説明に伺う必要もでてこよう。この場合も、誠意ある態度で接することを忘れてはならない。本社や研究所から来た偉い方々でありお高く留まっているという意識で見られることが多いので、感情的な苦言を受けても冷静に頭を低く接しなければならない。一方、品質、安全性を担保すべき担当者がすべきことは、症状発覚までの経緯を詳しく聞き取る、原因となった製品を引き取る、持ち帰って官能評価を行う、自社分析または受託機関に分析を依頼する、症状を再現できるか試してみるなどで原因を探るべきである。その製品に関して所有する分析、安全性、工場における生産記録などすべての記録を調べる必要もあろう。昨今、簡単に動物実験を行って成分に関する原因を探ることができにくくなりつつある。その場合にはある程度の動物実験代替法(通常、安全性を評価している試験管外試験、例えば培養細胞や培養皮膚モデルの利用や、マウスを用いる方法であるが、Local Lymph node assay等)を用いて評価することをまずお勧めする。動物実験代替法というものは、強く反応が出すぎるきらいはあるが、既存製品と比較しながら試験を行うと差が明確になる場合もありうる。次にその結果を参考に、ボランティアに重篤な健康障害を起こす可能性が低いと判断した場合には、予知的パッチテストや使用状況を再現した試験などで試してみることが重要である。

2.3 医療機関への対応

一方、医療機関からのトラブル報告については、製品に非があるないに関わらず、社会を騒がしたことは確かなので、真摯な態度で接し、原因追求に協力を願い出ることが肝要である。被害者である患者様の同意が得られたならば、担当医に診断パッチテストのために処方成分を送付して、パッチテストの実施をお願いする。患者様の皮膚状態などにより、必ずしも原因を追究できるわけではないが、ともかく、倫理的問題さえクリアできれば診断パッチテストを実施しておくべきである。その際に問題となるのは、製品に記された成分をすべてお送りするのか、あるいはキャリーオーバーのような表側に現れていない成分までお送りするのか、担当

医とコンセンサスをよく取ることである。さらに、もっとも重要な問題は、処方配合濃度を開示できない場合において、成分のみをそのまま送付せず、ある程度の濃度で調整した成分を送付すべきことである。私の聞いたところによると、pH調整剤である水酸化カリウムをそのままお送りして、担当医がそれをほとんど薄めずに貼付して皮膚傷害を起こしてしまった例もあるようである。このような事故を起こさないためには、配合成分濃度を開示すべきであるが、全成分表示に加え、処方を丸裸にすることは企業秘密に関わる。できないならば、処方配合成分の5～10倍で皮膚刺激性を起こさない濃度に溶媒あるいは分散媒を用い、雑菌汚染による皮膚障害も配慮して調整すべきである。溶媒中で固まってしまう成分においては、貼付時の適用方法を記載した注意事項を添付して診断パッチの際にミスが起こりにくいような配慮をすべきである。また、香料や染毛剤のように、アレルギー反応の可能性が高い成分に関しては、情報を添付し、まず開放塗布試験から実施して頂くことも肝要である。できれば、診断パッチテストの際には、日本接触皮膚炎・皮膚アレルギー学会が推奨するアレルゲンの貼付も同時にお願ひできれば、患者様のアレルゲン同定に寄与しやすいと考えている。

2.4 公的機関、マスコミへの対応

公的機関、マスコミからの問い合わせについては、製品に非があるないに関わらず、社会を騒がしたことは確かなので、真摯な態度で接し、原因を明らかにすると明言した後、できるだけ早急に原因追求を進めるべきである。場合によっては、経験に基づく助言を受けることも必要となろう。そして、原因が明らかになった暁には、問い合わせを受けた先に原因究明の結果や再発はないように改善した点などを報告して、誠意を尽くすことが肝要であろう。

3. 安全性評価の経緯

ひと昔前の黒皮症事件以来¹⁾、化粧品会社は、安全性試験の専門家の協力を得て、新規化粧品原料の安全性評価ガイドライン(案)を作成し²⁾、安全性の確保に務めてきた。現在では、表1に示すように多くの既知のアレルゲン(アレルギー性接触皮膚炎、アレルギー性接触蕁麻疹誘起物質)も明確になっているし、構造活性相関ソフトも販売されており、純粋な成分であれば、ある程度はその感作性や刺激性を予測できる時代である。分析技術も進歩し、不純物でさえ、明確にしやすい時代となっている。

表 1 アレルギー性接触皮膚炎、アレルギー性接触蕁麻疹の原因となる主な化学物質^{3,4)}

分類	物質名
医薬品類	ネオマイシン、スルホンアミド、ベンゾカイン
金属	ニッケル、クロム、コバルト、金、水銀
植物成分	ペルーバルサム、ロジン、ペンタデシルカテコール、アビエチン酸
殺虫剤	ヘキサクロロフェン、チロメサール
工業薬品	ホルムアルデヒド、エポキシレジン、芳香族アミン、硫化テトラメチルチラウム、2,4-ジニトロベンゼン、メルカプトベンゾチアゾール、ジフェニルフグアジニン、エチレンジアミン
医薬部外品	p-フェニレンジアミン
化粧品	香料、色素
外用剤添加剤	ラノリン、ラノリンアルコール、セタノール、ステアリルアルコール、プロピレングリコール、ポリオキシエチレングリコール、ポリオキシソルビタン脂肪酸エステル、ミツロウ、1,3-ブチレングリコール、亜硫酸塩類、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、グルクロン酸クロルヘキシジン、パラベン、ベンジルアルコール、メントール、ゼラチン、エタノール、安息香酸

法規の改正もあり、ここ数年で業界内におけるリスク評価の考え方も大きく変わった。全成分表示による化粧品の届出免除という規制緩和およびPL法の導入を経て⁵⁾、企業による自己責任の考え方が定着しつつある⁶⁾。一方、平成17年4月に実施となった薬事法の改正により、医薬品、医薬部外品、化粧品、医療機器の製造、輸入が許可・認可制度に変わった。これに伴い、品質管理、製造販売後の安全管理の責任は製造販売業者が主体的に行うことになり、GVP (Good Vigilance Practice: 市販後安全管理) およびGQP (Good Quality Practice: 製造の品質保障管理) が制度化され⁷⁾、業界の対応事項がより厳しくなった。厚生労働省のHPによると⁸⁾、化粧品や医薬部外品による重篤な皮膚障害も増加しておらず、表2に示すように、2004年～2006年の3年間、年間23件ほどの回収で推移している。海外では許可されているが、日本では使用できないホルマリン関連防腐剤などの使用による回収は残るであろうが、昨今の化粧品または医薬部外品の皮膚トラブルは起こりにくくなっている状況には違いない。皮膚科医と研究者の連携で、昨今もK社の抗菌デスクマットが回収となるなど⁹⁾、抗菌剤による文具、日用品のトラブル検出システムもできつつある。

ただし、2009年までに動物実験を用いた化粧製品を販売できない、原料の試験を実施できないというEU 7次改正に従うため¹⁰⁾、欧州化粧品工業会 (COLIPA) で検討が進んでいる。国際協調や海外での製造販売、海外ブランドの進出が進んでいる昨今、日本においても安全性は

かりでなく、有用性評価でさえ、動物実験を用いず代替法を利用せざるを得ない状況である。代替法の開発は、安全性のレベルを下げないことが大前提であるが、試験管内試験のみで本当に安全性を担保できるのか不安が無い訳ではない。また、動物実験を安全性評価に使えなくなるからといって、ヒトの試験を安易に行って良いことではない。ヒト試験で安全性を評価することは倫理的には許されない場合が多い。ヒト試験実施の際には、施設毎に計画を倫理委員会に答申しなければならず、試験実施の際にはインフォームドコンセンサスが必要など、ヒト試験実施には厳しいハードルが待っている。バリデーションや第三者の専門家で評価され、公的に認められた動物実験代替法で安全性のスクリーニングを行い、ヒトによる確認試験を確実に行うというスタイルが今後の安全性評価に望まれることになろう。

表2 2004年～2006年における化粧品および医薬部外品の回収数⁶⁾

年	回収数		
	総数*	化粧品	医薬部外品
2004	24	19	5
2005	24	23	1
2006	23	17	6

*：その製品の使用等が、一時的な若しくは医学的に治癒可能な健康被害の原因となるか又は重篤な健康被害のおそれはまず考えられない状況であるクラスⅡの数を示す。ちなみに、クラスⅠ：重篤な健康被害又は死亡の原因となりうる状況にあたる製品はなかった。

4. まとめ

上記した規制やシステム、そしてマスコミの厳しい目から、現代は、種々のトラブルに早急に対応しなければならない時代になっている。場合によっては、販売中止および回収もありうる。さらに、原因究明も早急かつ正確に行うべく尽力しなければならない。ただ、原因究明も容易にできるかは別問題である。被害者の肌質、皮膚状態が一定ではないことに加え、心理面、経済的な面も絡む社会的な問題でもあり、科学的に原因究明できるものばかりではない。仮にそうであったとしても、我々研究者に求められることは、自社製品にトラブルが起こりうる可能性を十分に頭に入れ、原因究明および製品の改善のために真摯に対応することにつきる。