

薬用化粧品承認取得における 安全性試験をめぐる問題点

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター
小島 肇夫

1. 国際動向

2003年にEUにおいて、化粧品指令7次改正が公布され、2009年3月に動物実験代替法（以下、代替法と記す）が確立されている試験がある場合には、①EU域内での動物試験の完全禁止、②動物試験した製品、動物試験をした原料を含む製品の販売禁止が決められている¹⁾。さらに、EU委員会は、期限内の開発が困難と判断された試験法の場合には、2013年まで延長するとされている。これらに対応すべく、EUではCOLIPA（欧州化粧品工業会）およびECVAM（欧州代替法検証センター）が共同で試験法の開発、バリデーション研究および第三者評価を進めている。

このような動向に国際的に対応するため、厚生労働省、FDA（米国食品医薬品局）、カナダ厚生省、欧州委員会企業産業総局が2007年9月にブリュッセルで化粧品に関する規制を議論するための会議「化粧品規制協力国際会議」（International Cooperation on Cosmetics Regulations：ICCR）を設立した²⁾。この会議は、国際協力を通じて化粧品の安全性を確保するための情報交換の場となるものである。さらに、ICCRは2008年にワシントンDCで開催された第2回会議において動物実験の3Rs（Reduction, Refinement and Replacement）についての協力を推進するためのワーキンググループの設立を提案した。これを受けて代替試験協力国際会議（ICATM）が2009年4月に設立された。2009年9月には、東京で開催された第3回会議において、規制当局はICATMの活動について報告を受け、ICATMの活動への協力、調整、支援の継続を確認した。

しかし、ICATMは化粧品だけに有用な代替法と評価する訳ではなく、評価された試験法が薬事法で定められているような化粧品や医薬部外品等の安全性評価のための試験法として最適とは限らないことが問題となっている。そこで、化粧品や医薬部外品の安全性評価のために、代替法の有効性と限界を明らかにし、あるいは行政が受け入れる試験法としての妥当性を評価するとともに、動物実験を用いない場合における総合的な医薬部外品の安全性評価の手順・手段について検討する組織を厚生労働科学研究補助金（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）「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：代表研究者 小島肇」の中に組織した。

この組織をあり方検討会と呼び、2007年（平成19年）度に皮膚科医、化粧品業界代表、毒性試験法や代替法の専門家の協力を受けて本会を設立し、さらに詳細な試験法毎の検討を行う分科会を設けた。これらの分科会は、試験法毎に皮膚刺激性、感作性、皮膚透過性・経皮吸収性、眼刺激性、光関連毒性および遺伝毒性の6つである。各委員会のメンバーを表1に示した。まず、これら分科会で議論を進め、この分科会の結論を受け、あり方検討会で議論を行った。

2. あり方検討会および各分科会の活動

あり方検討会では、その活動方針を明確にし、分科会には以下の課題を課した。

- ①動物福祉や動物実験の3Rsを尊重する。
- ②代替法の第三者評価委員会ではない。代替法を取り入れて安全性評価をどう担保するか、代替法の行政的な受け入れを検討する委員会である。
- ③扱うべき代替法はOECD（経済協力開発機構）で認められているか、公的な研究機関にてバリデーション研究が終了し、第三者評価も済んでいるものである。
- ④時間の関係で、国内外で進行している第三者評価を並行して実施する場合もある。

表1 あり方検討会および各分科会委員

表1-1 あり方検討会

分類	氏名	所属
皮膚科医	飯島 正文	昭和大学病院
	松永 佳世子	藤田保健衛生大学医学部皮膚科
専門家	大野 泰雄	国立医薬品食品衛生研究所
	増田 光輝	国立医薬品食品衛生研究所
	小島 肇	国立医薬品食品衛生研究所
	板垣 宏	株式会社 資生堂
業界代表	佐々 吾	株式会社 資生堂
	岡本 裕子	コーセー株式会社
	西山 直宏	花王株式会社
行政	見田 活	医薬品医療機器総合機構
	小野寺 博志	医薬品医療機器総合機構
	鷲田 淳	厚生労働省審査管理課

表1-2 皮膚刺激性試験分科会

分類	氏名	所属
皮膚科医	河合 敬一	河合敬一皮膚科医院
	夏秋 優	兵庫医科大学皮膚科
専門家	寒水 孝司	大阪大学
	杉山 真理子	株式会社 資生堂
業界代表	森 福義	株式会社 ポーラ
	辰見 寿	サンスター株式会社
事務局	小島 肇	国立医薬品食品衛生研究所
	オプザーバー 實川 節子	日本ロレアル株式会社

表1-3 眼刺激性試験分科会

分類	氏名	所属
医師	平野 耕治	藤田保健衛生大学
	島 賢一郎	株式会社 ジャパン・フィジュー・エンジニアリング
専門家	森田 正道	アイリス動物医療センター
	金子 豊蔵	国立医薬品食品衛生研究所
	萩野 滋延	株式会社 資生堂
業界代表	瀬戸 洋一	プロクター・アンド・ギャンブル・ジャパン株式会社
	小島 肇	国立医薬品食品衛生研究所

表1-4 皮膚感作性試験分科会

分類	氏名	所属
皮膚科医	横関 博雄	東京医科歯科大学
	中田 土起文	昭和大学医学部
専門家	大野 泰雄	国立医薬品食品衛生研究所
	金澤 由基子	医薬品医療機器総合機構
業界代表	坂口 育	花王株式会社
	小島 肇	国立医薬品食品衛生研究所

表1-5 光関連毒性試験分科会

分類	氏名	所属
皮膚科医	上出 良一	慈恵会医科大学
	田中 憲徳	(財)食品薬品安全センター
専門家	今井 教安	コーセー株式会社
	荒島 雅樹	株式会社ノエビア
事務局	小島 肇	国立医薬品食品衛生研究所

表1-6 遺伝毒性試験分科会

分類	氏名	所属
専門家	林 真	(財)食品農薬品安全性評価センター
	能美 健彦	国立医薬品食品衛生研究所
	本間 正充	国立医薬品食品衛生研究所
	笠松 俊夫	花王株式会社
業界代表	江幡 真也	ライオン株式会社
	小島 肇	国立医薬品食品衛生研究所

表1-7 経皮吸収・皮膚透過性試験分科会

分類	氏名	所属
専門家	藤井 まき子	昭和薬科大学
	杉林 堅次	城西大薬学部
	上月 裕一	株式会社 資生堂
業界代表	桑原 裕史	カネボウ化粧品株式会社
	小島 肇	国立医薬品食品衛生研究所

⑤代替法を用いる場合の長短所（限界と適用範囲）をまとめると。

⑥分担毎に代替法を用いた医薬部外品（薬用化粧品が対象）の安全性評価のあり方案を作る（必要なら評価フローチャートを作成する）。

以下に、課題をもとに実施された各分科会の活動内容およびその結論を明記する。

2-1. 皮膚刺激性分科会

本分科会では、皮膚一次刺激性の評価に代替法を利用することが可能であるかについて検討した後、代替法を取り入り入れて評価する場合の限界や注視点について議論した。

現在、医薬部外品の製造販売承認申請において、皮膚刺激性の評価項目として「皮膚一次刺激性試験」、「連続皮膚刺激性試験」および「ヒトパッチ試験」が設定されている³⁾。今回の検討においては、ESAC (ECVAM)科学的認証会議)の承認を受けた三次元培養表皮モデルEpiSkin™、EpiDerm™、SIT (EPI-200) およびSkinEthic™ RHEを⁴⁾皮膚一次刺激性を評価する代替法として湖上に上げ、医薬部外品の申請における利用方法について検討した。これらすべてを収載したOECDテストガイドライン案が提案されているため⁵⁾、これらを対象試験法をReconstructed Human Epidermis (RHE)として取り扱った。

RHEの特長は、Globally Harmonized System of Classification and Labeling (GHS)における「刺激性 (Category 2)」と「非刺激性 (No-Category)」を識別できることである⁶⁾。GHSによる評価は、ウサギによる4時間暴露の皮膚一次刺激性試験結果にしたがって行われる⁷⁾。しかし、医薬部外品の申請において、皮膚一次刺激性試験に求められているものは、24時間暴露における刺激性強度の把握およびパッチテストを実施する場合の倫理面の情報の取得である。従って、RHEはGHSで「刺激性」に分類される程度の強度に属する情報は得られるものの、暴露時間の違いもあり、ヒトでパッチテスト(24時間閉塞貼付)を安全に実施できることを保証する情報が不足していると考えた。

上記の検討を経て、以下の結論を得た。

「医薬部外品の申請における皮膚一次刺激性評価資料として、現時点

(2009年9月)で推奨されている代替法単独では予測性が十分とは言えない。しかし、評価が可能な場合は、動物愛護の観点から代替法の利用を望ましいとする。動物実験と代替法のどちらを利用するかについての判断は申請者に委ねることにする。ただし、代替法で非刺激性と評価された場合でも、ヒトパッチテストを実施する際には、倫理的に問題がないことが確認されている必要がある。」

2-2. 皮膚感作性試験分科会

現在の医薬部外品の製造販売承認申請において、皮膚感作性試験法としてモルモットを用いるいわゆるMaximization法 (GPMT) あるいはBuehler法が最も広く行われている⁸⁾。また近年マウスを用いる局所リンパ節試験 (Local Lymph Node Assay: LLNA) が代替法の一つとしてOECDガイドラインに収載され (TG429)⁹⁾、化学物質等の安全性評価に用いられるようになってきた。本分科会では、この現状を把握した上でLLNAに関して検討を進めた。

LLNAに関してこれまで報告された多くの論文での評価結果や報告書、さらにOECDテストガイドラインを精査した。その結果、染毛剤などの医薬部外品、香料や防腐剤を含む原料を評価した論文等の報告から、LLNAが医薬部外品の皮膚感作性の有無の判定に有用であると判断した。ただし、LLNAにおいては、マウスの系統により反応性が異なることが報告されており、OECDテストガイドラインにも記載されているCBAマウスで評価することが重要であるとされた。また、用いる溶媒により評価化合物の溶解性は異なり、そのため適切な溶媒を用いないと、感作性の有無だけでなくその強さのランク分類にも影響することが確認された。今後はLLNAで適切な評価結果を得るためにも、上記2点に関して、十分に注意を払う必要があるとされた。

2-3. 眼刺激性分科会

眼刺激性試験として代表的なウサギを用いるDraize試験は、化学物質の眼に対する刺激性を評価することが可能であり、ヒトの眼に対する安全性を担保する試験法として多くの規制当局に受け入れられている¹⁰⁾。一方、この試験法は動物愛護の観点で強い批判を受けており、他の試験法に比べて早い時

期から代替法の開発やバリデーション研究が進められてきた。

本分科会では、まずDraize試験に関する情報の確認を、過去の厚生科学研究報告資料等に基づいて実施した¹¹⁾。その際、*in vivo*で得られる毒性情報と*in vitro*の測定指標との関係、および医薬部外品の眼刺激性を評価するための判断基準等について確認した。また、国内外の眼刺激性試験代替法の研究開発動向を調査し、バリデーション研究や第三者評価の状況から有力と考えられる方法を対象として、その利用の可能性について検討した。その中には、第三者評価は未実施ではあるが、厚生科学研究でバリデーションが終了している細胞毒性試験も含まれている¹¹⁾。

最終的には、2009年9月に、OECDテストガイドラインに採択された2種類の試験法、「ウシ摘出角膜試験」¹²⁾と「ニワトリの摘出眼球試験」¹³⁾における医薬部外品の申請への利用について検討した。その結果、両法は化学物質の腐食性、および強刺激性を確認できるものの、医薬部外品に求められる弱刺激性、無刺激性を確認できる情報が不足しており、医薬部外品の眼刺激性試験として受入れられるためには更なるデータに基づく科学的評価が必要であるとの見解でまとまった。

2-4. 光関連毒性分科会

「光関連毒性」とは、ある化合物が光（主に紫外線）の照射を受けて、毒性を発揮もしくは増強させる現象を言い、主なものとしては、皮膚に刺激作用を起こす「光毒性」、アレルギー性の反応を惹起する「光感作性」そして遺伝毒性を誘発する「光遺伝毒性」が知られている³⁾。

現在、動物を用いない試験法としては、「光毒性」を評価するための3T3ニユートラレットド取り込み法（以下3T3 NRU-PT法という）がOECDテストガイドラインNo.432に記載されている¹⁴⁾。

そこで、本分科会では、3T3 NRU-PT法の医薬部外品の申請への利用について検証した。検証の際には、同試験法のEUにおけるバリデーションに関する論文ならびに、厚生労働科学研究にて同試験法について評価を行った際の結果報告書等を参考にした¹⁵⁾。

その結果、3T3 NRU-PT法は被験物質の光毒性の有無について評価するの

に適した試験法であるが、同時に本試験法についてはいくつかの短所があることも確認し、長短所を理解した上で、適切に用いる必要があるとされた。

なお、光感作性、光遺伝毒性その他の試験法については、適切な試験法が認証されておらず、検討しなかった。

2-5. 遺伝毒性分科会

医薬部外品の遺伝毒性の評価は単一の試験で評価するのではなく、*in vitro*試験と*in vivo*試験からなる複数の試験を組み合わせさせて評価する。このような組み合わせでの評価は、日本と欧州で取り上げる試験法が異なれば、データの相互受け入れに支障となる可能性がある。そこで本分科会では、日本の医薬部外品申請で要求されている遺伝毒性試験の組み合わせと、欧州の化粧品安全性評価の指針で示されている遺伝毒性試験の組み合わせについて状況の違いをまとめ、相互のデータ受け入れの可能性について議論した。

具体的には、日本の医薬部外品の申請で要求されている遺伝毒性試験の組み合わせ³⁾、欧州のSCCP（消費者製品科学委員会：現SCCS）による化粧品原料評価指針（Notes of guidance 6th version）で示されている遺伝毒性試験の組み合わせ（酸化染料を除く）の比較から¹⁶⁾、特に*in vitro*小核試験の日本の受け入れを中心に議論した。日本の指針のベースとなるICH（日米欧医薬品規制調和国際会議）ガイドラインの改訂作業が進行中であり、*in vitro*小核試験がほぼ乳類動物細胞を用いた遺伝毒性試験のひとつとして組み入れられることが提案されている。現行案のまま改訂されれば、*in vitro*試験の組み合わせを日本・欧州間の相互に受け入れることは特に問題ないとされた。

2-6. 経皮吸収・皮膚透過性試験分科会

本分科会では、*in vitro*経皮吸収試験について各種ガイドラインの比較を行っている^{17)~20)}、信頼性や長短所等について議論し、採否の可否を検討した。

*In vivo*条件下では、皮膚（組織）から微少循環系（血管およびリンパ管）に取り込まれた化学物質が体循環区画に移行（吸収）するが、そのような吸収は*in vitro*では評価できない。また、化学物質が表皮に不可逆的に結合することはあるが、これは*in vivo*においては皮膚表面の落屑によって除去される。

この作用が示唆された場合には、別の試験により実証しなければならぬと適用限界を明確にした。

さらに、各種 *in vitro* 試験法についての長短所を議論した。いずれの試験も適用限界を理解した上で、ガイドラインやガイダンスに準拠した正しい試験で行った *in vitro* 試験から、*in vivo* の結果を推定することが可能であると考えられた。正しい方法というのは皮膚の選定、レセプター相の選定、皮膚代謝の有無、試験物質の物性等を十分に考慮することである。適用限界を十分に理解した上で評価すれば、化学物質のリスク評価および効能評価の一つの評価系として十分に活用できるとされた。

2-7. あり方検討会の結論

以上のような各分科会からの報告を受け、あり方検討会では各分科会の意見に合意し、さらに以下のような提言を行った。

- ①動物福祉や動物実験の 3Rs (Reduction, Refinement and Replacement) は尊重しなければならない。
- ②ただし、医薬部外品の安全性レベルを維持することを前提に、動物実験の要否、代替法の選択を判断すべきである。
- ③代替法は OECD テストガイドラインや公的な機関でバリデーション研究や第三者評価が実施されたものを用いる。

④代替法は、その適用範囲や限界を理解した上で実施されるべきである。

なお、他の利用可能な情報（物性、既存化学物質からの毒性予測、構造活性相関、他の動物実験結果）を用いて、動物実験および代替法で得られた結果を慎重に評価すべきである。

3. 結語

約2年間のあり方検討会において、試験法の行政的な受け入れについて検討するグループを組織し、代替法を積極的に導入しながら、安全性評価の質を維持することを念頭において協議した。動物愛護の点はもちろんのこと、安全性評価の現状について皮膚科医、化粧品業界代表および毒性試験法や代

替法の専門家が同じ場所で意見交換できる仕組みを構築できた。

結果として、JaCVAM（日本代替法検証センター）もホームページや総説で示しているように、現状では使用可能な代替法が少なく^{20)~24)}、代替法の研究・開発に国や業界などから積極的な財政的な支援が必要であることが明らかになった。現在も ICATM との関係の中で多くの代替法が評価されているが²⁰⁾、これらの中から医薬部外品の安全性評価に用いるための公的に認証された代替法の適用範囲と限界を、今後もあり方検討会で今後も審議していくべきであると考えている。

参考文献

- 1) Commission Staff Working Documents : Time tables for the phasing-out of animal testing in the framework of the 7th Amendment to the Cosmetics Directive (Council Directive 76/768/EEC); EN, SEC82004,1210 (2004)
- 2) 厚生労働省 (2009)
- 3) 化粧品・医薬部外品製造販売ガイドブック2008, 薬事日報社, 東京 (2008)
- 4) ECvAM statement <http://ecvam.jrc.cec.eu.int/index.html> (2009)
- 5) OECD draft test guideline, http://www.oecd.org/document/55/0,3343,en_2649_34377_2349687_1_1_1_1_00.html (2009)
- 6) GHS分類, <http://www.env.go.jp/chemi/ghs/kariyaku2/annex08.pdf#search=ghs分類区分> (2009)
- 7) OECD guideline for the testing of chemicals, No. 404, Acute dermal irritation/corrosion, Paris, France (2002)
- 8) OECD guideline for the testing of chemicals, No. 406: Skin sensitisation, Paris, France, (1992)
- 9) OECD guideline for the testing of chemicals, No. 429: Skin sensitization: Local lymph node assay, Paris, France (2002)
- 10) OECD guideline for the testing of chemicals, No. 405, Acute eye irritation/corrosion, Paris, France (2002)
- 11) Ohno, Y., *Frageance Journal*, 27(7), 21~26 (1999)
- 12) OECD draft test guideline for the testing of chemicals, No.427 Bovine corneal opacity and permeability (BCOP) test method for identifying ocular corrosives and severe irritants, Paris, France (2009)

- 13) OECD guideline for the testing of chemicals, No.438 Isolated chicken eye (ICE) test method for identifying ocular corrosives and severe irritants, Paris, France (2009)
- 14) OECD guideline for the testing of chemicals, No. 432: in vitro 3T3 NRU phototoxicity testing, Paris, France (2002)
- 15) 大野泰雄 他, AAATEX, **10** (2), 54~157 (2005)
- 16) SCCP'S notes of guidance for the testing of cosmetic ingredients and their safety evaluation 6TH revision, [http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/docs/sccp_s_04.pdf#search=SCCP guidance](http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/docs/sccp_s_04.pdf#search=SCCP%20guidance) (2006)
- 17) OECD guideline for the testing of chemicals, No. 428: In vitro skin absorption. Paris, France (2002)
- 18) SCCFNP, Guidelines for in vitro methods to assess percutaneous absorption of cosmetic ingredients", in "Notes of Guidance for testing of cosmetic ingredients for their safety evaluation", SCCNFP/0321/00 Final (2000)
- 19) SCCP, [http://www.ciba.com/cosmetic-sccp.pdf#search=SCCP opinion 2006 vitro dermal](http://www.ciba.com/cosmetic-sccp.pdf#search=SCCP%20opinion%202006%20vitro%20dermal) (2006)
- 20) COLIPA, Guidelines for percutaneous absorption, Brussels (1995)
- 21) JaCVAM, <http://jacva.jp/index.html> (2009)
- 22) 小島肇夫, 動物実験代替法の現状と展望, J. Environ Dermatol Cutan Allergol, **3** (1), 1~6 (2009)
- 23) 小島肇夫, 動物実験データなしで新規医薬部外品の申請はどこまで可能か?, BIO INDUSTRY, **26** (8), 42~49 (2009)
- 24) 小島肇夫, 現在の動物実験代替法の状況について, LABIO21, **38**, 17~20 (2009)

第1節 医薬部外品と化粧品

商品の購入方法が小売店からネットショップと多岐に亘る一方、それらに対する安全・安心が高まる昨今、消費期限や配合成分の名称、種類、原産国などを確認して購入する消費者も多くなった。しかし、そのような方々でも、医薬部外品、化粧品、あるいは雑品の違いを認識して購入しておられる方は少ない。まして、企業や小売店のイメージ戦略で購入を決める大多数の消費者が化粧品のようなものを購入する場合、それが医薬部外品、化粧品、あるいは雑品であるかを意識して購入しないと思われる。消費者が安全性にこれらを使用できるよう、雑品についても何らかの規制が必要かもしれない。

本節では、まず医薬部外品、化粧品、雑品を明確に区別した後、それぞれの許認可申請、それに伴う安全性試験に関する資料の必要性について言及する。

医薬部外品、化粧品、あるいは雑品は表1に示すように分類される¹⁾。2001年の薬事法改正により²⁾、それまでの化粧品品質基準および化粧品原料基準が廃止され、新たな化粧品基準が定められた。この化粧品基準では、ポジティブリストとして掲載される防腐剤、紫外線吸収剤およびタール系色素の配合制限、ネガティブリストに掲載されるポジティブリスト以外の配合禁止又は制限成分が示され、これらに違反しなければ企業は自主責任において成分を自由に選択できるようになった。それまでは厚生労働省の許可した成分のみしか配合できなかったが、化粧品の全成分表示が法制化され、特定の成分のみを表示していた指定成分表示もなくなった。

さらに、2005年4月からは、従来の化粧品・医薬部外品の製造と出荷を一緒にしていた製造業が、製造のみを行う製造業と製品を市場に出荷する製造販売業に分離され、製造販売業者が製造販売後の安全性について全面的に責任を負うことになった³⁾。製造販売業を行うためには、製造販売における品質管理、製造販売における製造販売後安全管理の体制を作ることが義務付けられた^{4, 5)}。これらが示すように、化粧品については企業の自主責任が明確になり、より質の高い品質および安全性管理が求められるようになった。

一方、医薬部外品においては規制緩和により多くの品種が増えた。法の改正前は、薬用化粧品、染毛剤、ソフトコンタクトレンズ消毒薬、パーマネント・ウェーブ剤、および浴用剤がこれに分類されていたが、品種が増加した。この医薬部外品に新たな成分を使用する場合には、安全性試験を実施し、承認申請が必要であることには変わりはない^{6, 7)}。このカテゴリーは欧米にはなく、ゆえに日米欧で化粧品と言われる製品は範疇が異なる。

以下に、医薬部外品、化粧品の分類に求められる規制および安全性試験法を図1にまとめた⁶⁻¹²⁾。以後にこれらを詳細に説明していきたい。

表1 医薬品、医薬部外品、化粧品、雑品の薬事的な相違点 ¹⁾改訂

	医薬品	医薬部外品	化粧品	雑品
薬事法による承認	あり ¹⁾	あり ¹⁾	あり ²⁾	なし
規格および試験方法	承認規格 ³⁾	承認規格 ³⁾	社内規格 ²⁾	社内規格 ⁴⁾
安定性の審査	あり	なし ⁵⁾	なし	なし
副作用被害救済制度 ⁶⁾	対象	対象外	対象外	対象外

- 1) 薬事当局へ製造販売承認申請を行い、承認を受ける必要性
- 2) 原則として承認は必要はなく、製造販売を行う品目毎に届出を行う
- 3) 承認により定められる規格で、変更時には再承認が必要
- 4) 社内の独自基準によるもので、いつでも独自に変更可能
- 5) 必須ではないが当局により審査される
- 6) 入院が必要な制度の副作用が生じた際の公的救済制度

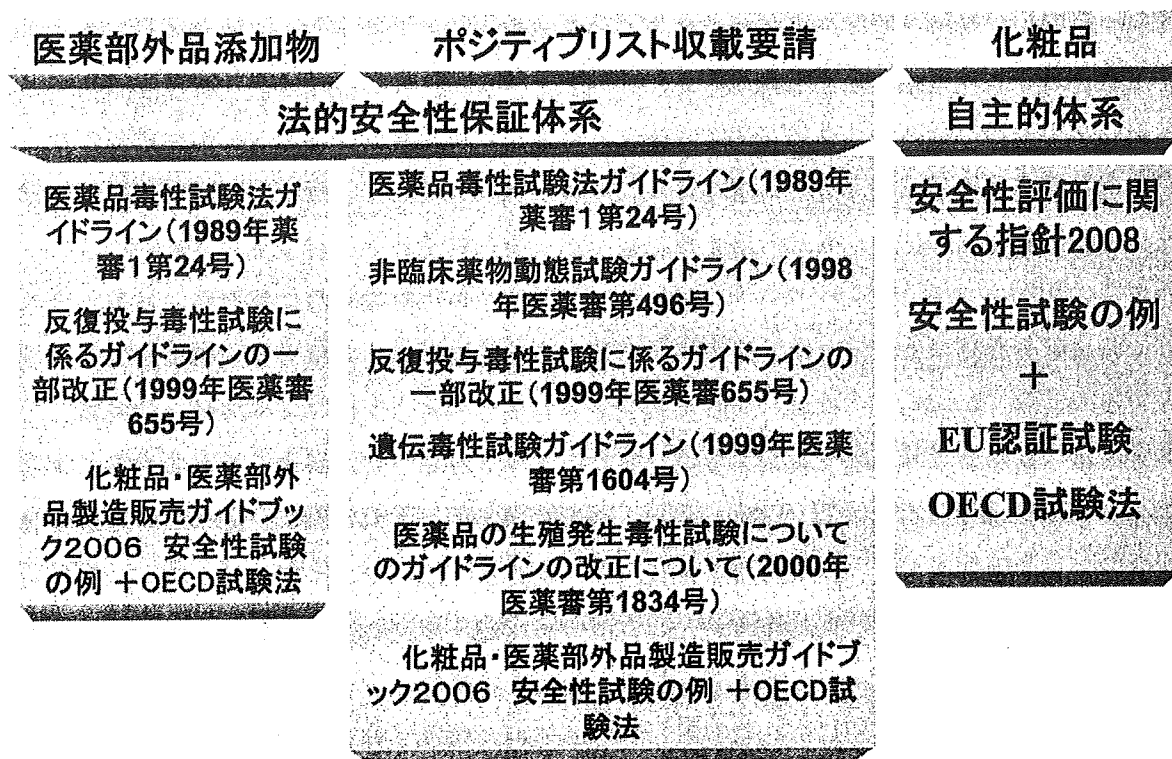


図1 規制および必要な試験法

第1項 医薬部外品

薬事法には、「医薬部外品とは、法律で規定するものと人体に対する作用が緩和なものであって、機械器具等でないものおよびこれらに準じる物で厚生労働大臣の指定するものをいう^{6,7)}。ただし、これらの使用目的のほかに、医薬品で規定されている用途に使用されることも併せて目的とされている物を除く」と記載されている。

1) 法律の規定

- ① 吐きけその他の不快感又は口臭若しくは体臭の防止
- ② あせも、ただれ等の防止
- ③ 脱毛の防止、育毛又は除毛
- ④ 人又は動物の保健のためにするねずみ、はえ、蚊、のみ等の駆除又は防止

2) 厚生労働大臣の指定

- ① 衛生上の用に供されることが目的とされている綿類
- ② 人体に対する作用が緩和なもの

この中で、法律で規定する使用目的のほかに、にきび、肌荒れ、かぶれ、しもやけ等の防止又は皮膚若しくは口腔の殺菌消毒に使用されることもあわせて目的とされている物を薬用化粧品、薬用はみがき類という。

平成11年3月の規制緩和により、15製品群が医薬品から医薬部外品に移行し、一般小売店での販売可能な新規指定医薬部外品ができた。①胃の不快感を改善することが目的とされているもの、②滋養強壮、虚弱体質の改善および栄養補給が目的とされるもの、③すり傷、切り傷、さし傷、かき傷、靴ずれ、創傷面等の消毒又は保護にしようされることが目的とされるもの、④肉體疲労時、中高年期等のビタミン又はカルシウムの補給が目的とされるもの、⑤のどの不快感を改善することが目的であるもの、⑥ひび、あかぎれ、あせも、ただれ、うおのめ、たこ、手足の荒れ、かさつき等を改善することが目的とされるものである。さらに、平成16年7月には、整腸剤や殺菌消毒剤など15品目371品目が医薬品から医薬部外品に移行し、一般小売店での販売が可能な新範囲医薬部外品として取り扱われている。⑦いびき防止剤、⑧カルシウムを主たる有効成分とする保健薬、⑨含嗽薬、⑩健胃薬、⑪口腔咽喉薬、⑫コンタクトレンズ装着薬、⑬殺菌消毒薬、⑭しもやけ・あかぎれ用薬、⑮瀉下薬、⑯消化薬、⑰生薬を主たる有効成分とする保健薬、⑱整腸薬、⑲鼻づまり改善薬、⑳ビタミンを含有する保健薬、㉑健胃薬、消化薬、整腸薬に掲げるもののうち、いずれかに該当するものである。すなわち、法の改正前に医薬部外品として掲げ

られていた、ア)染毛剤、イ)ソフトコンタクトレンズ消毒薬、ウ)パーマネント・ウェーブ剤、エ)浴用剤、オ)薬用化粧品に加えて大きく膨らんだのである。

医薬部外品製剤の効能効果を訴求するためには添加剤が必要であり、医薬品程、効能効果が高くはなくとも、明確な薬効が求められる。また、この添加剤を新規に配合するためには申請資料に安全性試験の結果が求められる。医薬部外品の添加剤および製剤の許認可に求められる安全性試験の一覧を表2に示す^{6, 7)}。項目としては、医薬品に求められる試験種類より少ない。添加剤には、単回投与毒性、皮膚一次刺激性、連続皮膚刺激性、感作性、光毒性、光感作性、眼刺激性、遺伝毒性、パッチテストに加え、慎重に取り扱うべきものについては反復投与毒性に関する資料が求められる。さらに、単回投与毒性、眼刺激性、ヒトパッチについては、原則として当該成分のほかに試験製剤についても試験が求められている。これらは「毒性試験法ガイドライン」および「化粧品・医薬部外品製造販売ガイドブック 2006」安全性試験の例に定められた試験方法に準拠して実施されなければならない⁷⁻¹³⁾。

また、防腐剤又は紫外線吸収剤の場合については、医薬部外品に必要な試験方法に加え、反復投与毒性、生殖発生毒性、吸収・分布・代謝・排泄に関する資料が必要である。これらの添加剤の許認可において、GLPでの試験の実施が望ましいものの、義務付けられている訳ではない。ただし、仮に非GLPで実施された試験であっても、その信頼性を確認するため、申請先である医薬品医療機器総合調査機構より質疑応答は行われる。背景データや試験記録の提出を要求される場合があるなど、GLPの精神に基づいた試験が要求される。ただし、効能効果が緩やかであることから、一つひとつの安全性に求められるものは医薬品と比べて大きく異なる。リスクは限りなくゼロに近くなければならない。なお、申請に係わる医薬部外品の内容に応じて、資料添付が省略できる。ただし、当該資料の添付を省略できる理由を具体的に説明した資料添付が必要である。また、関係文献等からみて医学薬学上公知と認められることなど、添付を省略できる理由を具体的に説明した資料を添付すればよい。

医薬部外品の許認可は添加剤だけでなく、製剤もその対象であり、承認時に定められた規格を、変更する際には再承認が必要である。よって、新規医薬部外品の製剤に使われる成分の使用経験がない場合、この成分も承認申請を経なければいけない。この成分とは、添加剤と違い、医薬部外品の効能効果を訴求できないものである。各企業が使用感の向上のためや乳化の過程で処方構成に必須と判断した新規成分や、企業のイメージ戦略の一環として他社との差別化のために独自に配合される成分が該当すると思われる。これまで各メーカーが化粧品の配合成分として使用していたものであっても、医薬部外品に配合する場合、許認可が必要となり、成分の分析結果や安全性試験結果が求められる。製剤とは発売後も微生物汚染対策や使用感、安定性の改善などで微妙に添加剤の種類や量を変えていくべきものである。本来なら、化粧品では自主責任の範疇にあ

たる成分である。あえて、申請資料を提出させ続けることに意味があるかは疑問である。製剤の安全性を担保するために必要ないとは言わないが、化粧品の配合成分は染毛剤やパーマント・ウェーブ剤を除いて、各成分がその効能効果や毒性を顕著に増強させないことを前提に処方されており、添加剤以外の成分を変更する毎に申請しなければいけない現状には疑問を感じ得ない。業界が進めている医薬部外品の全成分表示が普及した暁には不要ではないかと考えている。

表 2 医薬部外品新添加剤の安全性資料

試験項目	添加物	製品
1 単回投与毒性	○	△注 1)
2 皮膚一次刺激性	○	
3 連続皮膚刺激性	○	
4 皮膚感作性	○	
5 光毒性	○注 2)	
6 光感作性	○注 3)	
7 眼刺激性	○	△注 4)
8 遺伝毒性	○	
9 ヒトパッチ	○	○

*毒性についてより慎重に扱う必要があるものについては反復投与毒性試験等の資料が必要である。

注 1) 経口投与における概略の致死量が 2g/kg 以下の場合には、製剤についても実施すること。ただし、配合量等から考慮して安全と推定される場合には省略できる。

注 2), 注 3) 紫外外部吸収スペクトル(290-400nm)の範囲で吸収極大が認められない場合には省略できるが、280-450nmの範囲で吸収極大の有無を確認すること。

注 4) 角膜、虹彩の刺激反応が認められた場合または粘膜に使用されることがある製剤で、眼に入る可能性のあるものについては、製剤でも試験を実施すること。なお、最大配合濃度ではこれらの反応が認められないことを確認すれば、製剤についての試験は省略してよい。

第2項 化粧品

薬事法には、「化粧品とは、人の身体を清潔にし、美化し、魅力を増し、容貌を変え、又は皮膚若しくは毛髪をすこやかに保つために、身体に塗擦、散布その他これらに類似する方法で使用されることが目的とされている物で、人体に対する作用が緩和なものをいう⁶⁾」と記されている。

前述したように、ポジティブリストとして掲載される防腐剤、紫外線吸収剤およびタール系色素の配合制限、ネガティブリストに掲載されるポジティブリスト以外の配合禁止又は制限成分が示され、これらに違反しなければ企業は自主責任において成分を自由に選択できるようになった。新規成分の許認可申請をする必要はないが、新たな成分をポジティブリストに掲載するためには、医薬部外品以上の定められた安全性試験を実施し、改正を厚生労働省に要請しなければならない。

その場合には、表3に示すような単回投与毒性、皮膚一次刺激性、連続皮膚刺激性、感作性、光毒性、光感作性、眼刺激性、遺伝毒性、パッチテストに加え、反復投与毒性、生殖発生毒性、吸収・分布・代謝・排泄に関する資料が求められる。これらは「毒性試験法ガイドライン」、各種の毒性試験ガイドラインおよび「化粧品・医薬部外品製造販売ガイドブック 2006」安全性試験の例に定められた試験方法に準拠して実施しなければならない⁷⁻¹³⁾。さらに、単回投与毒性、眼刺激性、ヒトパッチについては、原則として当該成分のほかに試験製剤についても試験が求められている。

表3 ポジティブリスト収載要領

No.	資料の範囲
1	単回投与毒性に関する資料 ^{注1)}
2	反復投与毒性に関する資料
3	生殖発生毒性に関する資料
4	皮膚一次刺激性に関する資料
5	連続皮膚刺激性に関する資料
6	感作性に関する資料
7	光毒性に関する資料 ^{注2)}
8	光感作性に関する資料 ^{注3)}
9	眼刺激性に関する資料 ^{注4)}
10	遺伝毒性に関する資料
11	ヒトパッチに関する資料
12	吸収・分布・代謝・排泄に関する資料

注1) 当該成分の経口LD50値が2g/kg以下の場合には、製剤についても実施すること。ただし、配合量等から考慮して安全と推定される場合には省略できる。

注2)、注3) 吸光度測定によって紫外部に吸収がない場合には省略できる。

注4) 角膜、虹彩の刺激反応が認められた場合または粘膜に使用されることがある商品に配合する場合には、試験製剤についても実施すること。

しかし、その他配合成分の安全性評価は企業姿勢の問題であり公にはされない。新規成分を頻繁に開発している企業もあれば、長い使用経験のある成分のみで処方構築する場合もあるので安全性担保の必要性も明確ではない。ある会社は膨大な試験法を実施しているかもしれないし、一方の会社は何も試験をしていないかもしれない。最終的には、消費者にトラブルが多発し、消費者や保健所、皮膚科医、消費者保護団体からのクレームを受け、回収(行政命令だけでなく、自主も含む)、行政への届出、または皮膚トラブル例が報道されない限りは、全成分表示のみとそれに伴う情報開示請求のみが安全性評価の手掛かりである。2001年の規制緩和により黒皮症事件¹⁴⁾の再来を危惧する皮膚科医もおられた。しかし、化粧品にとって大きな範疇を占める接触皮膚刺激性および感作性等を中心に試験法が整備されてきたこともあり、2001年以降皮膚トラブルの増加は見られていない¹⁵⁻¹⁷⁾。なお、化粧品の安全性を担保する試験法として、日本化粧品工業連合会 安全性部会が「化粧品の安全性評価に関する指針 2008」をまとめている¹⁸⁾。主な試験法は表2に示す医薬部外品添加剤で要求される試験法に準じている。

第3項 雑品

雑品とは、薬事上の承認を受けていない製品である。化粧品の範疇にも入らず、医薬品や医薬部外品の効能もうたっていない場合には雑品扱いとなる。施設の届出も必要なく、それぞれの協会が作成する自主基準に必ずしも従う必要はない。たとえば、足用スプレーに関して「足のむくみがとれる」と表現すれば医薬品扱いであるが、「足がスッキリする」という表現すると雑品扱いである。クリームでも本来はスキンケア用に作られたとしても、何も表示がなければ雑品扱いとなる¹⁹⁾。

ただし、カラーコンタクトのトラブル²⁰⁾など、消費者の誤った使用法や製造会社の知識不足などからトラブルを起こしやすい商品でもある。今後、消費者庁などの厳しい監視や規制が必要な分野かもしれない。

参考文献

- 1) 薬事的な観点から見た消毒薬の選択方法、Y's Letter、2(36)、1-3(2008)
- 2) 厚生省医薬安全局長：化粧品規制緩和に係わる薬事法施行規則の一部改正等について(2000年医薬発第990号)
- 3) 厚生労働省：薬事法および採血および供血あっせん業取締法の一部を改正する法律について(2002年厚生労働省発医薬第0731011号)
- 4) 医薬品、医薬部外品、化粧品および医療機器の品質管理の基準に関する省令(2004年厚生労働省令第136号)
- 5) 医薬品、医薬部外品、化粧品および医療機器の製造販売後安全管理の基準に関する省令(2004年厚生労働省令第135号)
- 6) 化粧品・医薬部外品製造販売ガイドブック2006、薬事日報社、東京(2006)
- 7) 厚生労働省医薬食品局審査管理課：医薬部外品の製造販売承認申請及び化粧品基準改正要請に添付する資料に関する質疑応答集(Q&A)について(2006)
- 8) 医薬品毒性試験法ガイドライン(1989年薬審1第24号)
- 9) 非臨床薬物動態試験ガイドライン(1998年医薬審第496号)
- 10) 反復投与毒性試験に係るガイドラインの一部改正(1999年医薬審655号)
- 11) 遺伝毒性試験ガイドライン(1999年医薬審第1604号)
- 12) 医薬品の生殖発生毒性試験についてのガイドラインの改正について(2000年医薬審第1834号)
- 13) ポジティブリストの収載要領について(2001年医薬審発第325号)

- 14) 小塚雄民：女子顔面黒皮症－その研究の軌跡、日本化粧品技術者協会、15,5-(1981)
- 15) 伊藤正俊：医薬ジャーナル、36(12)、3271-(2000)
- 16) 東京都生活文化局消費生活部：化粧品類の安全性当に関する調査(2007)
- 17) 松永佳世子：パッチテストによる皮膚一次刺激性評価 共同研究委員会、第38回皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会 総会学術大会共同研究シンポジウム(2008)
- 18) 日本化粧品工業連合会：化粧品の安全性評価に関する指針 2008、薬事日報社、東京(2008)
- 19) 医薬品・健康食品・化粧品・医療用具・健康器具編 Q&A：http://www.yakujihou.com/2006/05/post_61.html(2009)
- 20) 厚生労働省：www.whlw.go.jp/wp/siesaku/ia/20/dl/09/pdf(2009)

込むことは難しいが、総合的な免疫機能としての変化が検出できる。アレルギー試験としては、皮膚感作性試験としてモルモットマキシミゼーション試験 (Guinea Pig maximization test : GPMT)、マウスでの局所リンパ節アッセイ (local lymph node assay, LLNA) のバリデーションが行われ、ヒトでの皮膚感作性と相関があることが示されている⁴⁾。異常免疫亢進や自己免疫の試験は確立されたものがないが、マウスまたはラットでの膝窩リンパ節アッセイ (popliteal lymph node assay : PLNA) で検出できる場合があることが示されている⁵⁾。呼吸器のアナフィラキシー反応の検出にはモルモットを用いた活動性全身アナフィラキシー (active systemic anaphylaxis, ASA) が検討されていたが、ヒトでの薬物アレルギーのデータと相関を取った報告がなく、試験系として確立していない。

e. バイオ医薬品の免疫毒性評価 バイオ医薬品の中でもサイトカインや抗体医薬品では免疫系に作用することが多く、免疫毒性の評価が必要になることが多い。また、作用の種特異性が高い場合があり、用いる動物種を考慮する必要がある。一般的にはサルで毒性評価が行われることが多いが、ヒト細胞を用いた培養系も用いられる。シグナリング抗体、ADCC抗体の医薬品によるサイトカイン産生、放出による毒性の評価はサルを含めて実験動物では評価することが難しく、ヒト細胞を用いた培養系で評価することが検討されている。

バイオ医薬品はバイオ医薬品自体に対する免疫が誘導されるかどうかの免疫原性も問題となるが、ヒトタンパク質の場合は実験動物では免疫が誘導され、ヒトでの免疫原性を実験動物で評価することは難しい。そこでヒト細胞 (末梢血単核球など) を用いた培養系で免疫原性を評価する系が検討されている。この系では、抗原提示細胞である樹状細胞などの活性化を指標としたり、T細胞への抗原提示後のT細胞の活性化を指標としている。 [井上智彰]

文 献

- 1) Akira, S., Uematsu, S., and Takeuchi, O. (2006) : Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*, 124, 783-801.
- 2) Weaver, J. L., Tsutsui, N., Hisada, S., Vidal, J.-M., Spanhaak, S., Sawada, J., Hasting, K. L., van der Laan, J. W., van Loveren, H., Kawabata, T. T., Sims, J., Durham,

S. K., Fueki, O., Matula, T. I., Kusunoki, H., Ulrich, P., Nakamura, K. (2005) : Meeting report, Development of the ICH guidelines for immunotoxicology evaluation of pharmaceuticals using a survey of industry practices. *J. Immunotoxicology*, 2, 171-180.

- 3) Descotes, J. (2005) : Immunotoxicology. Role in the safety assessment of drugs. *Drug Safety*, 28, 127-136.
- 4) Haneke, K. E., Tice, R. R., Carson, B. L., Margolin, B. H. and Stokes, W. S. (2001) : ICCVAM evaluation of the murine local lymph node assay. III. Data analyses completed by the National Toxicology Program Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods. *Regulatory Toxicol. Pharmacol.*, 34, 274-286.
- 5) Guillaume, R. and Descotes, J. (2005) : Popliteal lymph node assay : Factors and perspectives. *J. Appl. Toxicol.*, 25, 451-458.

6.9 皮膚・粘膜毒性

哺乳動物の表面を構成し、日常的に外部からの物理的・化学的障害および生物外敵にさらされる皮膚や粘膜 (眼粘膜, 口腔粘膜, 膣粘膜など) は、生体機能を保持する防御器官として重要な役割を果たしている。

皮膚・粘膜への化学物質の影響を考えるうえで、皮膚毒性・粘膜毒性物質の把握や評価法の理解は重要である。本稿ではまず、皮膚の構造と機能、皮膚透過性・経皮吸収について概説した後、皮膚毒性の種類、代表的な毒性物質、その評価法について触れ、引き続いて粘膜毒性についても同様に代表的な毒性物質、その評価法について触れることとした。

6.9.1 皮膚毒性

a. 皮膚の構造と機能¹⁻³⁾ 皮膚は主に3つの組織に大別される (図6.9.1)。表皮, 真皮, 皮下組織である。表皮は0.06~0.2mmの厚さで体内組織を守っており、最下層から最表層に向かって基底層, 有棘層, 顆粒層, 角質層と呼ばれる。真皮の厚さは表皮の9倍あり、基底膜によって分離されている。主にコラーゲンなどの細胞外マトリックスからなる真皮と皮下組織は脂肪細胞で隔てられており、皮下組織にはこの細胞の産生する脂肪組織が豊富にあり、血管, リンパ管および神経線維が分布している。

これらの組織が、外界からの物理化学的な刺激への保護機構として作用し、体温や水分の調節、免疫応答、ホルモン、代謝などの生体の恒常性維持に寄

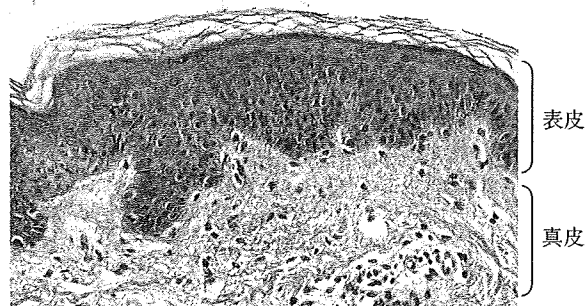


図6.9.1 皮膚の病理像

与している。ただし、内因性の障害あるいは別箇所での広範囲の外因性の障害により症状が現れることもある。

b. 皮膚透過性・経皮吸収^{4~11)} 経皮吸収試験は本来、皮膚透過後に吸収された薬剤の体内移行や代謝、排泄までを評価する試験であり、関連医薬品や農薬などのリスク評価には避けて通れない方法である。経皮吸収 (percutaneous absorption) という言葉が皮膚透過性 (skin permeation) と混同されて用いられている現状を考慮して、まず、皮膚透過性、次に全身循環系に吸収された量を測定する経皮吸収、それぞれの方法の実施上の留意点についてまとめてみた。

1) 皮膚透過性試験 皮膚透過性を評価するにあたり、重要な項目を表6.9.1に列記した。これらは局所皮膚的適用製剤の後発医薬品のための生物学的同等性試験ガイドライン¹²⁾の中の、皮膚薬物動態学的試験、残存量試験にも記載されている。

①皮膚透過部位：皮膚透過は最外層の厚さに依存しているので、どの部位を実験に用いるかで結果が異なる。一般的に動物では腹側部または背部が実験に用いられる。ヒトでは上腕内側部や腹部、背部、顔面が使われる。足底部や手のひらは透過性が低い。吸収は表皮から真皮へと至る経皮吸収と付属器官からの吸収に分かれる。毛孔や汗腺は高分子やイオン性物質の透過性が高いが、毛孔や汗線は皮膚全体の0.1%を占めるにすぎない。皮膚付属器官を介する低分子の拡散速度は角質実質部より10倍ほど高い。一方、脂溶性が高く、分子量が小さい薬剤は皮膚への拡散性が大きく、ほとんどの薬剤は受動拡散される。このように、ほとんどの物質の透過経路は角質上層部にあり、部位およびその厚さに影響を

表6.9.1 皮膚透過性・経皮吸収の評価に必要な情報

パラメーター	
被験物質	純度 分子量
溶媒	η-オクタノール/水分配係数
	溶媒の種類、または処方構成
	溶解性
	揮発性
チャンバー	経皮吸収促進剤の有無
	pH
	種類
レセプター	レセプター液の循環の有無
	溶液の種類
皮膚	被験物質の溶解性
	種、系統
	年齢、性別
	部位
	温度
適用	保管状態 (温度、期間、損傷の有無)
	調整方法 (厚さ、洗浄、ストリッピング方法)
	適用面積
	適用量/cm ²
	適用期間
サンプリング	閉塞性の有無
	回数
	時間
	量
	ドナー側の残存量
	皮膚中の量
	洗浄液中の量

受ける。

②種差、性差、匹数：ラットが一般的で、ヘアレス動物を用いる場合も多い。モルモットやブタおよびサルは皮膚透過性はヒトのそれに似ており、ラットやウサギは透過しやすい。この点を考慮して実験系を組まなければならない。性差のデータは不明である。匹数は4匹以上が必要と考えられる。

③適用方法および皮膚損傷の有無：動物を用いる場合には、薬剤をなめないようにカラーをつけたり、ケージにつかないようにランドセルのようなチャンバーを装着させたりする。チャンバーの適用状態も吸収に大きな影響を及ぼす。損傷皮膚では経皮吸収が高くなる。乾燥した皮膚や、脱脂したり、テープストリッピングした後の皮膚に薬剤を適用する方法が、ケースバイケースで利用される。閉塞貼布が開放塗布よりも吸収が高い。

毛刈も重要な問題であり、ヘアレス動物を用いるならともかく、ラットやモルモットを用いる場合には剃毛か刈毛かの状態で結果が異なってくる。さらに、損傷部位があれば吸収に影響を及ぼし、ばらつきの原因になる可能性が高い。

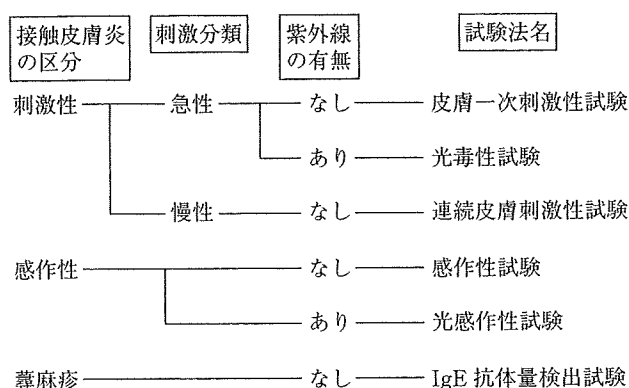


図6.9.2 接触皮膚炎を予知する試験法

④物性：「①皮膚透過部位」でも触れたが、皮膚からの吸収には脂溶性、イオン化、分子量、溶媒などの影響が大きい。皮膚透過性は n -オクタノール/水分配係数が大きいほど高くなる。ニトログリセリンなどは脂溶性で、分子量が小さく、経皮吸収がきわめて高い。このような薬剤の物性を考慮に入れた実験系の構築が重要である。

溶媒による溶解度も大きな影響因子である。溶解度限界近辺の薬剤を適用すれば、皮膚透過性は最大となる。それ以上に可溶化剤を加えても、溶解度が加えた薬剤量を上回ると経皮吸収は減少するので、可溶化剤による皮膚透過性の増加はみられない。

⑤試験環境：有機物は化学物質の透過性や吸収を増大させる。したがって、pHは大きな変動因子である。局所温度が室温であれば大差はないが、より低温では吸収は少なく、高温では大きくなる。エステティックサロンで使われている温熱法がこの原理を利用している。湿度も同様に、低温での吸収は少なく、適度な高湿度では大きくなる。

公的な *in vitro* ガイドラインとして、OECD^{13, 14)}、COLIPA (The European Cosmetic Toiletry and Perfumery Association; 欧州化粧品香料協会)¹⁵⁾、SCCP (Scientific Committee on Consumer Products; 消費者製品科学委員会)¹⁶⁾、EU¹⁷⁾、EPA (U.S. Environmental Protection Agency; 米国環境保護庁)^{18, 19)}、ECVAM (European Center for the Validation of Alternative Methods; 欧州代替法評価センター)²⁰⁾、WHO²¹⁾ からガイドラインやガイドダンス、提案がなされている。SCCP基準は、OECDガイドライン428¹³⁾を受け、ヒトまたはブタの摘出皮膚が推奨され、他の動物の使用は認めてい

ない。

2) 経皮吸収試験 経皮吸収試験の影響因子を表6.9.1に示すとともに、試験法の注意点をまとめてみた。

①皮膚、血、尿、糞中の被験物質濃度測定：一般的な経皮吸収においては、被験物質は皮膚(角質層、表皮、真皮)を経て、血液を介して各臓器に運ばれる。皮膚で結合、代謝、排泄される場合もあるが、体内に分布し、代謝、排泄される。

これを明らかにするため、OECDガイドライン427¹⁴⁾では、あらかじめ設定された皮膚領域に適当なチャンバーを用いて、適量を適切な時間(6または24時間)適用した後、被験物質の吸収・分布・代謝・排泄を調べるため、代謝ケージを用いて皮膚、血、尿、糞中(場合によっては呼気)、残存物の被験物質濃度が正確な回収率になるように要求している。これを全身循環系で確認するためには、放射線同位元素で標識した被験物質を用い、放射活性比が $100 \pm 10\%$ となるようにしなければならない。経時的に採血して観察を行う場合もある。

これらの内容は局所皮膚の適用製剤の後発医薬品のための生物学的同等性試験ガイドライン¹¹⁾の中の、残存量試験、薬物動態学的試験にも記載されている。

②その他：放射線同位元素で標識した被験物質を用い、適切な時間適用された薬剤の吸収・分布を経時的に病理標本を作製して確認する全身オートグラフィ法、微小透析プローブの半透膜を介して被験物質を連続的に回収するマイクロダイアリシス法(microdialysis)、ディスク状の寒天ゲルを麻酔下あるいは覚醒下のラット腹部の真皮と皮下組織の間に埋め込み、移行量を測定する方法がある。

c. 皮膚毒性の種類、物質、検出法^{22~32)} 化学物質の皮膚毒性は経皮毒性と局所毒性に分類される。前者は皮膚に暴露された化学物質が吸収されたために示す全身毒性である。一方、後者は化学物質が暴露された皮膚の局所傷害である。

局所毒性の分類方法を図6.9.2にまとめた^{33, 34)}。接触皮膚炎と総称される。このほかに、化学物質によって引き起こされる蕁麻疹、瘡瘍、色素沈着異常などが皮膚毒性といわれる。これら进行评估する試験法は多岐にわたるが、以降には汎用されている方法のみを示す。

表6.9.2 代表的な皮膚腐食性物質

物質名
アンモニア、一酸化カルシウム、クロリン、エチレンオキシド、塩化水素、フッ化水素、過酸化水素、臭化メチル、酸化窒素、リン、フェノール、水酸化ナトリウム、ジイソシアン酸トルエン

表6.9.3 主な光毒性物質

分類	物質名
フロクマリン系 多環芳香族炭化水素 薬剤	8-メトキシソラレン、5-メトキシソラレン、トリメトキシソラレン アントラセン、フルオロアントラセン、アクリジン、フェナントレン ジメチルクロルテトラサイクリン、スルファニルアミド、ナリジクス酸、フェノチアジン、クロロチアジド、クロルプロマジン、ペノキサプロフェン、アミルジメチルアミノベンゼン酸、ポリフィリン誘導体
染料	エオジン、アクリジンオレンジ

1) 腐食性³⁵⁾ 化学物質の直接的な作用により、皮膚は不可逆的な傷害を受ける。これが腐食性と呼ばれる。代表的な腐食性物質は、表6.9.2に示す強酸、強アルカリ性物質などである。これらの評価する試験法として、OECDに定められていた動物試験が廃止され、*in vitro*の3試験法がガイドライン化されている^{36~38)}。腐食性ではないが、強い皮膚刺激性（可逆的な皮膚反応）の予測も代替法により可能である。

2) 皮膚一次刺激性^{39~45)} 従来から、ウサギやモルモットなどの動物を用いる皮膚一次刺激性試験が汎用されてきた。OECDガイドラインにも掲載され⁴⁶⁾、簡便で、感度がヒトよりも高いとされている。動物愛護運動の盛り上がりを受け、この方法をなくすため、ECVAMを中心に培養皮膚モデルを用いた試験法のバリデーション研究が実施され、EUでの認証を経てOECDガイドライン案の検討が進んでいる⁴⁷⁾。日本でも培養皮膚を用いたバリデーション研究や専門家による第三者評価が実施されている。さらなる皮膚刺激性の確認のためにはヒトパッチを導入すべきである。ただし、ヒトの皮膚刺激性そのものがばらつきの大きいものであることを認識して、トラブルを起こさないような対処に心掛けるべきである。また、とくに中～弱程度の刺激性は判定者により大きな差が生じるため、判定者の教育が重要である^{48~51)}。

3) 慢性皮膚刺激性^{42, 43, 52)} 動物の皮膚は皮脂がヒトとケタ違いに多く、水溶性物質は皮膚になじみにくい。一方、油性物質を使用すると累積刺激性を起こしやすい。とくに、基剤として汎用する白

色ワセリンでも連続皮膚刺激性を起こしやすい。つまり、偽陽性が出やすい試験法である。臨床的には、ヒト繰り返し塗布試験または使用試験が妥当であろう。これらの方法により、規模によっては少数の方でしかみられない、弱い刺激性やTEWL（水分蒸散量）の低下や、健常人でも季節や体調の変わり目で起こすステinging（ひりひり、ぴりぴり感）のような肌荒れを評価できる^{53, 54)}。

4) 光毒性^{55~59)} 主な光毒性物質を表6.9.3に示す。従来から、ウサギやモルモットなどの動物を用いる光毒性試験が汎用されてきた。簡便で、感度がヒトよりも高いとされている。動物愛護運動の盛り上がりを受け、この方法をなくすため、OECDガイドラインに示されるBalb 3T3細胞を用いた試験法が汎用されている⁶⁰⁾。紫外線照射にソーラーシミュレーターを用いるなど、従来の試験法の短所も改善されている。本試験法を用いれば、光毒性の有害性の同定は可能であるが、一方で偽陽性が多く出る欠点も抱えている。

5) 感作性^{61~68)} 接触アレルギー性皮膚炎を引き起こす物質を表6.9.4に示す。医薬品、香料、防腐剤など多数の物質が報告されており、さらに類似構造による交差反応まで考慮しなければいけない。ただし、臨床で報告されている発現頻度の高い物質が必ずしも感作性が高い物質とは限らない。接触アレルギー性皮膚炎は原因物質の感作性強度だけでは説明がつかず、暴露頻度、暴露条件などに左右されやすい。したがって、試験法を選択する場合には、リスク評価が重要な要件となる。

代表的な試験法としては、モルモットを用いる試

表6.9.4 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

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, ベ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, 2-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	<i>p</i> -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, ポリオキシソルピ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, グルコン酸クロルヘキシジン, <i>p</i> -オキシ安息香酸エステル (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

表6.9.5 光感作性物質

分類	物質名
抗菌剤, 抗真菌剤	スルファニルアミド, フェンチクロル
殺菌剤	TCSA (3, 3', 4', 5'-テトラクロロサリチルアニリド), 3, 5, 4'-トリプロモサリチルアニリド
香料	6-メチルクマリン, ムスクアンブレット
紫外線吸収剤	オキシベンゾン, <i>t</i> -ブチル-4-メトキシジベンゾイルメタン, <i>p</i> -メトキシケイ皮酸2-エチルヘキシル
薬剤	ケトプロフェン, スプロフェン, ピロキシカム, フェノチアジン, クロルプロマジン, プロメタジン, ジフェンヒドラミン, クロロチアジド, フロセミド, クロルプロバミド, トルブタミド

験方法⁶⁹⁾, とくにフロイトの完全アジュバントを用いる Maxinization 法, アジュバントと被験物質の混合物を皮内投与できるように調整できない場合に用いるアジュバントパッチ法, およびアジュバントを用いない方法として Buehler 法が汎用されてきた。しかし, 昨今の動物愛護運動の流れを受け, OECD ガイドラインに示されるマウスを用いた局所リンパ節アッセイ (local lymph node assay, LLNA) の利用が増えている⁷⁰⁾。従来のモルモットを用いた試験法やヒトの試験法との相関性が高いとされている。この試験法を用いれば, 感作性の有害性の同定は可能である。ただし, ラジオアイソトープ (RI) を用いなければならない, どここの施設でも可能な試験法ではない。そこで, RI を用いない代替法として, ATP 測定を指標とした LLNA-DA や放射線標識したチミジンの代わりに 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) の取り込みを指標とした LLNA-BrdU が日本において開発されている。

これら方法が確立されたとしても, マウスを用いることには代わりがない。そこで, さらなる *in vitro* 試験として, 感作性物質とペプチド中のアミノ酸の結合による構造変化を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で調べるペプチド結合試験やヒト

リンパ球由来細胞株が発現する表面抗原の変化を指標とした試験法の研究・開発が進んでいる。

ただし, これら試験法は LLNA でも述べたように, 有害性の同定には有用であるが, リスク評価には適さないので, モルモットを用いる方法などの試験法との併用が重要となろう。

6) 光感作性^{71, 72)} 表6.9.5に主な光感作性物質を示している。臨床的に光毒性と光感作性物質が重複している場合が多く, 明確な線引きができていない。

この評価には, モルモットを用いた試験法が汎用されてきた。ただし, OECD や EU で定められた公的な試験法はなく, 代替法としてバリデーション, 評価が進行中の試験法はない。

7) 蕁麻疹⁷³⁾ 肥満細胞からのヒスタミンおよび血管性ペプチドの放出による急速な血管透過性の増加により, 痒みを伴い, 一過性の膨疹や紅斑などの症状が起こる I 型即時性過敏反応である。化学物質に暴露された皮膚局所で, 暴露後数分から1時間以内に起こる。鼻炎, 結膜炎, 喘息, まれにアナフィラキシーショックを引き起こす場合があり, 注意が必要である。IgE とアレルゲンの結合を介しての免疫反応では, 表6.9.4にも示す物質のほか, 天然ゴム製品に残存するラテックスタンパクに関与した