

別添1

厚生労働科学研究費補助金

厚生労働科学特別研究事業

化粧品の自主的配合原料の安全性確認に必要とされる  
リスク評価情報の収集に関する研究  
(H24-特別-指定-028)

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小野 敦

平成25(2013)年 3月

目 次

I. 総括研究報告書 (別添3)	
化粧品の自主的配合原料の安全性確認に必要とされる リスク評価情報の収集に関する研究 _____	4
小野 敦	
II. 分担研究報告書 (別添4)	
化粧品原料の毒性情報収集および解析に関する研究 _____	1 3
小野 敦	
添付資料：Hydroquinone の毒性情報 _____	1 8
化粧品原料の体内動態に関する情報収集と解析手法に関する研究 _____	4 7
杉林 堅次	
化粧品原料の皮膚吸収性の評価手法に関する研究 _____	5 7
五十嵐良明	
化粧品原料の遺伝毒性評価手法に関する研究 _____	6 3
本間 正充	
添付資料：トランスジェニックマウスを用いる ハイドロキノンの遺伝子突然変異試験 _____	6 6
全体総括および化粧品原料のリスク評価手法に関する研究 _____	1 0 6
広瀬 明彦	
添付資料：化粧品の安全性評価に関する考え方 _____	1 1 4

# I . 総括研究報告書

平成 24 年度厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）

総括研究報告書

化粧品の自主的配合原料の安全性確認に必要とされるリスク評価情報の収集に関する研究

(H24-特別-指定-028)

研究代表者 小野 敦 国立医薬品食品衛生研究所 総合評価研究室 主任研究官

要旨

本研究では、我が国では化粧品成分として使用されているが、欧米では化粧品への使用が禁止もしくは制限されているハイドロキノン（HQ）について我が国における使用実態で推定されるリスクの定量的評価を行うとともに、得られた成果を基に企業における化粧品の自主的安全性確保に必要な評価指針を提案することを目的とした研究を行った。市販の HQ 含有 4 製品(HQ 1~10%含有)についての定量的リスク評価を行った結果、市販 HQ 含有製品の皮膚への塗布により HQ が明らかに経皮吸収され、その吸収率は製品により大きく異なることが明らかとなった。HQ の反復投与毒性に関しては、発がん性をもっとも感受性の高い指標であった。一方、懸念された *in vivo* 遺伝子突然変異誘発性については陰性であることが示された。慢性暴露による安全性情報の解析により算出された評価値と経皮吸収による血中濃度の比較から、本研究で評価を行った市販 HQ 製品について、現時点では添付文書に示された使用法に従って使用する限りにおいては経皮からの吸収による健康障害リスクについて十分な暴露マージンが確保できると考えられ、直ちに使用禁止等の措置を取るべきリスクは無いと判断された。しかし、製品によっては HQ 水溶液を塗布した場合よりも血中濃度が高くなる可能性が示されたことから、特に高濃度製品については、製品ごとに放出性や皮膚透過性の評価を行うべきであると結論された。さらに、HQ 製品のリスク評価過程を通して得られた化粧品のリスク評価に必要な事項を整理することで、製造販売会社における安全性評価に関する考え方をまとめた。

研究分担者

広瀬 明彦：国立医薬品食品衛生研究所、  
総合評価研究室

杉林 堅次：城西大学薬学部、  
化粧品動態制御学教室

五十嵐良明：国立医薬品食品衛生研究所、  
生活衛生化学部

本間 正充：国立医薬品食品衛生研究所、  
変異遺伝部

研究協力者

平田 睦子：国立医薬品食品衛生研究所、  
総合評価研究室

藤堂 浩明：城西大学薬学部、  
化粧品動態制御学教室

秋山 卓美：国立医薬品食品衛生研究所  
生活衛生化学部

## A. 研究目的

平成 13 年の規制緩和により、化粧品については、欧米との規制制度の調和（ハーモナイゼーション）を実現することを柱としつつ、化粧品基準として配合可能成分（ポジティブリスト）並びに配合禁止・配合制限成分（ネガティブリスト）が規定されているものの、それ以外の原料等については企業の製造物責任を前提とした自主的な安全性評価と管理に従い、商品としての化粧品やその原料化学物質に関して安全性を担保することが求められることになっている。しかし、店頭あるいはインターネットを通じて流通している多数の化粧品やその原料に関する安全性情報が十分に提供されているとは言えない状況である。また、製造物責任制度による抑止力としての健康被害を未然に防止するための効力は、急性影響のように因果関係が即座に明確となる健康影響が現れる場合を除いて、低濃度暴露による慢性影響に対してその効果を得ることは困難である。従って、市場前の安全性情報の収集を十分に行っておくことは、安全性確保の観点からは極めて重要であると考えられる。

本研究では、すでに我が国と欧米においてその取扱いが大きく異なる化粧品原料であり、企業の自主的な使用に任せられている事例としてヒドロキノンをとりあげ、現時点でリスク評価に必要な有害性情報や販売等の現状に合わせて不足していると思われる暴露評価情報等の収集を行うと共に、本物質で懸念されている発がん性に関してトランスジェニック動物を用いた試験による遺伝毒性を明らかにする一方で、化粧品原料料として使用した場合の暴露評価をお

こない、その結果推定されるリスクを定量的に評価する。最終的にはこれらの、リスク評価過程を通して得られたリスク評価に必要な事項を整理することで、製造・販売企業が製品の安全性に最大限配慮するために必要な有害性および暴露評価情報の収集および評価に関する考え方を整理して提案することを目的として研究を行った。

## B. 研究方法

### 化粧原料の毒性情報収集および解析に関する研究

HQ は、化粧品のみでなく化学合成や写真の現像における還元剤や染料や農薬の合成原料等として古くから広く用いられていることから、これまでも国際機関等によるリスク評価が行われている。本研究では、IARC による発がん性評価書（1999 年）及び米国 Cosmetic Ingredient Review 評価書（2009 年）をもとに、以降の最新データを Medline 等により検索し、体内動態や反復投与による毒性情報の収集と解析を行い、得られた結果のうち最も低い用量で毒性が認められた試験では、無毒性量（NOAEL）が求められていなかったことから、ベンチマークドース法によりリスク評価値の算出を行った。

### 化粧品原料の体内動態に関する情報収集と解析手法に関する研究

皮膚に塗布する薬物の安全性を評価するためには、薬物含有製品からの薬物放出性や薬物の皮膚透過性を調査する必要がある。In vitro 放出試験や皮膚透過性試験より得られた値を用いて、拡散モデルや convolution 法などの数学的アプローチよ

り皮膚に適用した薬物の皮内動態や全身循環系移行後の体内動態を予測することが出来る。本研究では、これら試験により HQ 含有製品からの HQ の体内吸収量について検討を行った。検討を行った市販製品のカタログ上の HQ 含量は、HQ1：不明、HQ2：3%、HQ3：10%、HQ4：1%であった。

#### 化粧品原料の皮膚吸収性の評価手法に関する研究

ハイドロキノン水溶液や配合製剤を動物（ラット）に投与後の血中濃度推移の測定のため、市販製品中及びラット血漿中 HQ 濃度の分析系を構築して検討を行った。市販製品については、4.5 倍量のテトラヒドロフランに溶解し、4.5 倍量の水を加えてソニケーションした後に遠心し、上清を水で希釈して UPLC に供した。ラット血漿サンプルについては、5  $\mu$ L を UPLC システムに供した。内径 2.1mm、カラム長 50 mm、粒子径 1.7  $\mu$ m の ODS カラムをカラム温度 40℃で用い、5%メタノールを 0.1 mL/min で流して分離し、HQ の極大吸収波長である 288.5 nm で検出を行い、絶対検量線法により定量した。

#### 化粧品原料の遺伝毒性評価手法に関する研究

HQ の in vivo 遺伝毒性、特に閾値の有無に係わる遺伝子突然変異誘発性を評価するため、OECD ガイドライン (TG488) に従い、トランスジェニックマウス (MutaMouse) を用いた in vivo 遺伝毒性試験を行った。MutaMouse (一群 5~6 匹) に HQ を 0、50、100、200mg/kg を 28 日間経口投与し、3 日後に肝臓、胃での LacZ

の突然変異頻度 (MF) を測定した。陽性対照群には、エチルニトロソウレア (ENU) 100 mg/kg/day 腹腔内投与して同様に MF の測定を行った。

#### 全体総括および化粧品原料のリスク評価手法に関する研究

本研究班の分担研究による成果を基に、定量的有害性情報として感受性の最も高いエンドポイントに基づくベンチマークドースとハイドロキノン含有の化粧品を使用した際の曝露シナリオを想定したハイドロキノンの曝露量を比較することで健康リスクの定量的評価を行った。また、リスク判定結果を考慮して、本物質のように安全性が懸念されている化粧品原料に対して、製造・販売企業が製品の安全性に最大限配慮するために必要な有害性および暴露評価情報の収集および評価に関する考え方をとりまとめた。

#### C. 研究結果

##### 化粧原料の毒性情報収集および解析に関する研究

ハイドロキノン (HQ) について、これまでに報告されている毒性情報のうち、特に体内動態や反復投与による毒性情報の収集と解析を行い、生体内に取り込まれた場合に懸念される健康影響についてのリスク評価を実施するために必要な毒性評価値の算出を行った。HQ 含有製品の皮膚適用により、HQ は体内に吸収されることから、化粧品について一般に評価される皮膚刺激性等の局所作用のみでなく、反復投与毒性や生殖毒性及び発がん性についても評価を行う必要がある。HQ は、生殖発生毒性の懸

念はほとんどないが、発がん性の懸念があることから、そのメカニズムへの遺伝毒性の関与については、in vivo における遺伝子突然変異誘発性の検討が必要と考察された。得られた情報のベンチマークドース解析から HQ の生体内取り込みによる健康リスク評価における毒性評価値として 9.78mg/kg/day を用いることが妥当であると結論された。

#### 化粧品原料の体内動態に関する情報収集と解析手法に関する研究

2%ハイドロキノン水溶液を皮膚適用後の HQ の皮膚透過プロファイルから HQ は角層を透過し、その透過係数は  $1.6 \times 10^{-7}$  cm/s であることが分かった。この結果より、HQ の安全性は、皮膚局所毒性だけでなく、全身毒性についても考える必要があることが示唆された。HQ 含有製剤を皮膚に塗布した後の、HQ 透過率は、HQ の製剤からの放出率と関係していると考えられた。最も高い皮膚透過率を示した HQ2 の透過係数は、2%水溶液よりも高く、本製剤からは HQ が全身循環系へ容易に移行する可能性が示唆された。そこで、HQ2 について実際の使用実態に応じたリスク評価を行うため、皮膚透過性試験から得られた HQ の皮膚透過パラメータを用いて、累積皮膚透過量を計算し、さらに各時間での透過速度を算出した。得られた皮膚透過速度と HQ の消失パラメータより、ヒトでの AUC を計算した。また、本研究班の別の研究により動物試験結果より算出された毒性評価値でのラット血中 HQ の AUC を計算した結果、HQ 9.78 mg/kg/day をラットへ経口投与後の AUC は、6.46 mg/L h と算出された。

#### 化粧品原料の皮膚吸収性の評価手法に関する研究

市販のハイドロキノン(HQ)品をテトラヒドロフランに溶解した後に水を加えて抽出し、ODS カラムを用いた UPLC で定量することにより製品中の HQ を定量した結果、それぞれ 1.0%、3.3%、2.6%、0.3%であった。2 製剤は米国で化粧品として使用できるハイドロキノン含量 (2%) を超えていた。HQ2%水溶液を静脈に単回投与した場合の血漿では、1 分後の血中濃度が最も高く、急速に低下することが観察された。HQ2%水溶液をテープstrippingしたヘアレスラット腹部に塗布した血漿サンプルでは、60 分後の 2.2ppm が最大であった。市販 4 製品を同様にヘアレスラット腹部に塗布した血漿サンプルでは、うち 3 製品では血漿中にハイドロキノンが検出できなかったが、最も皮膚透過性の高い製品である HQ2 を塗布した場合も 60 分後に最大濃度 4.6ppm が検出された。結果として体内動態解析に利用するデータを収集できた。

#### 化粧品原料の遺伝毒性評価手法に関する研究

いずれの被験物質投与群においても死亡例が認められなかったため、200、100 および 50.0 mg/kg/day 投与群の 3 用量の肝臓および腺胃について lacZ assay による遺伝子突然変異頻度評価対象とした。その結果、HQ 投与群の肝臓および胃 (腺胃) のいずれにおいても遺伝子突然変異頻度 (MF) に陰性対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められなかった。尚、200 mg/kg/day 投与群の 1/5 例のみ、肝臓の MF が背景デ

一タの平均 + 3SD をこえていたが、同じ用量群の他の動物においては陰性対照群と大きな差がないことから、クローナル変異により偶発的に増加したものではないかと考えられた。しかしながら、これを結論付けるには遺伝子解析が必要である。陽性対照のエチルニトロソウレア (ENU) 投与群では、肝臓および胃 (腺胃) において陰性対照群と比較して統計学的に有意に遺伝子突然変異を誘発したことから、当該試験が適切な条件下でなされたと判断された。

#### 全体総括および化粧品原料のリスク評価手法に関する研究

本研究班の各研究により得られた知見や毒性評価値を基に定量的リスク評価を行った結果、今回検証に用いた4種の市販ハイドロキノン製品についての経皮吸収量と毒性情報から得られたベンチマークドースとの間には、添付文書に示された使用法に従って使用する限りにおいては、毒性の重篤度 (発がん性) についての不確実性を加味しても HQ の体内への取り込みによる健康リスクに関して十分な暴露マージンを確保できると判断された。しかし、製品によっては10%を越えるような高濃度製品が、今回検討を行った製品以外にも市販されており、さらに製剤処方によりハイドロキノンの吸収性に著しい違いがあることが示されていることから、安全性の懸念がない量で、日常的に使用するためには、高濃度製品については製剤そのものからの吸収速度に応じて使用方法を限定することが望ましいと考えられた。本研究におけるリスク評価過程を通して化粧品のリスク評価に必要な事項を検討することで、製造・販売企業が扱う

製品の安全性を最大限配慮するために、特に安全性に懸念のある物質に必要な安全性評価に関する考え方をまとめた。

#### D. 考察

平成13年の規制緩和により、化粧品については、化粧品基準に示された一部の配合禁止成分や配合制限成分を除く成分については、原則として自由に配合が可能となった。その結果、欧米では使用禁止もしくは制限されている成分を含む製品も既に市場に流通している。一方、化粧品の安全性については、企業の自己責任に委ねられており、各企業には自主的な安全性評価と管理に従って安全性を担保することが求められている。しかしながら、製品販売に先立って検討すべき安全性評価に関する指針等は示されていないことから、その取組は企業により大きく異なると推測される。製造物責任制度による健康被害の未然防止効果は、皮膚刺激のように急性影響として因果関係が明らかに現れる場合には有効であるが、慢性影響に対しての抑止効果を得ることは困難である。

そこで本研究では、第一に化粧品成分及び製品の安全性評価事例として、欧米では化粧品への使用が禁止もしくは制限されている成分であるハイドロキノン (HQ) 含有製品について、定量的リスク評価を行った。HQ が経皮吸収されることは、文献調査の結果からも明らかであったが、本研究において HQ 試薬水溶液及び4種の市販 HQ 含有製品について皮膚透過性を検討した結果、HQ 含有製品の塗布により血漿中に HQ が検出されたことから HQ が明らかに経皮吸収され、さらにその吸収率 (透過率) は製



品により大きく異なり、検討した市販製品のうち最も HQ 吸収率の高い製品では、試薬水溶液よりも高効率に吸収されることが明らかとなった。よって、HQ については、化粧品について一般に評価される皮膚刺激性等の局所作用のみでなく、反復投与毒性や生殖毒性及び発がん性についても評価を行う必要があると考察された。

HQ の反復投与毒性に関しては、文献調査の結果から、発がん性がもっとも感受性の高い指標であることが明らかとなった。一方、HQ の発がんメカニズムにおける遺伝毒性の関与については、本研究で実施した *in vivo* 遺伝子突然変異誘発性において陰性であることが示されたことから、HQ については、染色体異常試験や小核試験等で陽性の結果が報告されているものの閾値を設定した発がん性の評価を行うことが適切であると考えられた。よって、最も低い用量で発がん性（腎尿細管腺腫）が認められたラット 103 週間（5 日/週）強制経口投与試験では、NOAEL が求められていないことからベンチマークドーズ法により求められた  $BMDL_{10}=9.78\text{mg/kg/day}$  を毒性評価値として BMDL と曝露量の比としての MOE (Margin of Exposure) を用いて行うこととした。また、健康リスクの懸念を判断する基準としては、安全側の判断として種差及び個体差に基づく不確実性 ( $100=10 \times 10$ ) に毒性の重篤度に基づく不確実性(10)を追加し MOE:1000 を採用した。

評価のための曝露量の比較において本研究では、HQ の血中半減期が極めて早いことを考慮して血中 HQ 濃度の AUC での評価を行った。これにより単純な体内取り込み量のみで評価を行うよりも正確なリスク

判定が可能であると考えられる。結果として今回のリスク判定では、検証した市販製剤をそれぞれの添付文章に従い適正に使用している範囲においては、安全性の懸念の基準である MOE : 1000 を割り込むことはないことが示されたことから、直ちに使用禁止等の措置を取るべきリスクは無いと判断された。しかし、最も吸収率の高かった HQ2 を広範囲に塗布した場合（添付文章では、スポットで使用することになっている）には、MOE:1000 を下回る可能性があり、また、今回検討に用いた市販 4 製品うち、HQ 含量が 10%と表示されていた HQ3 については、HQ 吸収率が低いいため適切な使用方法によれば MOE : 1000 を上回るマージンがあるが、市場では他にも 10%を越えるような高濃度製品が存在すること、さらに製剤処方により、ハイドロキノンの吸収性に大きな違いがあることも示されたことから、安全性の懸念がない量で、日常的に使用するためには、各製剤について吸収速度に応じて、使用方法を限定して使用することが望ましいと考えられた。

さらに本研究では、HQ 製品のリスク評価過程を通して得られた化粧品リスク評価に必要な事項を整理した。骨子としては、化粧品成分について皮膚刺激性や感作性など局所作用のみではなく、従来は十分に評価されていないであろう製品からの経皮吸収性について評価を行い、経皮吸収が認められる場合には、変異原性や反復投与毒性、生殖毒性等についても製品の想定される使用実態に応じて十分なリスク評価をしかるべき専門家の関与のもとに行うべきとするものである。これまで我が国においては、化粧品成分の経皮吸収性については、適当

な試験系が無い等の理由から必ずしも評価を行っていないと想定される。しかし、米国の業界団体である化粧品成分審査委員会（Cosmetic Ingredient Review: CIR）や欧州消費者安全科学委員会（Scientific Committee for Consumer Safety: SCCS）では、具体的な数値は示されていないものの経皮吸収が認められた場合には、生殖発生毒性等の試験が必要とされており、我が国においても化粧品による健康被害防止のため同様の取り組みが必要と考えられる。

本研究では、主に欧米等で安全性上懸念が問題となった物質、もしくは化粧品として使用経験の無い（新規）物質を配合する製品や、既存の成分であっても著しく配合量や成分の物理学的性質を変更した結果、吸収性に影響を与える可能性のある製品を対象とした安全性評価の考え方を示すものであり、欧米の評価機関等において安全性評価が実施済みの成分について安全性が確認された範囲（濃度や用法）で使用するにあたっては、改めて追加試験等による安全性評価の必要はないと考えられる。

今回、国による新たな化粧品規制を念頭に置いたものではなく、各企業による自主管理における化粧品の安全性評価における考え方をとりまとめた。企業において可能な限り本案に従う安全性評価を行うことにより、規制緩和の意義を損なうことなく、消費者の健康被害の防止に寄与するものである。

一方、本案に示す全ての評価を各企業単独で行うには企業規模により限界がある可能性もある。我が国と同様に、化粧品が規制品目ではない米国では、業界団体であるパーソナルケア商品協議会（Personal Care

Products Council: PCPC）が設ける化粧品成分審査委員会（CIR）において成分の安全性評価を行い情報公開している。また、CIR のエキスパートパネルは民間で構成される機関だが、連絡網として FDA や米国消費者連合（Consumer Federation of America : CFA）からも代表者が参加しており、政府機関と連携している。今後、我が国においても、特に我が国のみで使用されている成分については、業界における同様の取り組みについての検討も期待したい。

## E. 結論

我が国で市販されているハイドロキノン（HQ）含有化粧品の使用による HQ の体内吸収によるヒト健康リスク評価を行った。その結果、HQ の反復投与毒性に関しては、発がん性をもっとも感受性の高い指標であったが、発がんメカニズムにおける遺伝子突然変異誘発性に関して陰性であることから閾値を設定した評価が適切であると考えられた。検証に用いた 4 種の市販 HQ 製品からの HQ 経皮吸収量と毒性情報から得られたベンチマークドースとの間には、添付文書に示された使用法に従って使用する限りにおいては、HQ の体内への取り込みによる健康リスクに関して十分な暴露マージンを確保できると判断された。一方、経皮吸収の検討結果から製品により HQ 吸収率に大きな違いがあることが明らかとなった。今回、検討を行った製品以外にも HQ 含有量が 10% を越える高濃度製品が市販されており、安全性の懸念がない量で、日常的に使用するためには、高濃度製品については各製品そのものからの吸収速度に応じて使用方法を限定することが望ましいと考え

られた。本研究におけるリスク評価過程を通して化粧品のリスク評価に必要な事項を検討することで、製造販売会社が扱う製品の安全性を最大限配慮するために、特に安全性に懸念のある物質に関して必要な安全性評価に関する考え方を作成した。欧米等で安全性上懸念が問題となった物質、もしくは化粧品として使用経験の無い（新規）物質を配合する製品や、既存の成分であっても著しく配合量や成分の物理学的性質を変更した結果、吸収性に影響を与える可能性のある製品については、本研究で示す考え方を参考に安全性を検討することが推奨される。

#### F. 研究発表

1. 論文発表  
(該当なし)
2. 学会発表  
(該当なし)

#### G. 知的所有権の取得状況

(該当なし)

## Ⅱ. 分担研究報告書

平成 24 年度厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）  
分担研究報告書

化粧品の自主的配合原料の安全性確認に必要とされるリスク評価情報の収集に関する研究  
(H24-特別-指定-028)

化粧品原料の毒性情報収集および解析に関する研究

研究分担者 小野 敦 国立医薬品食品衛生研究所 総合評価研究室 主任研究官  
研究協力者 平田 睦子 国立医薬品食品衛生研究所 総合評価研究室 主任研究官

要旨

本研究では、我が国では化粧品成分として使用されているが、欧米では化粧品への使用が禁止もしくは制限されているハイドロキノン（HQ）について、これまでに報告されている毒性情報のうち、特に体内動態や反復投与による毒性情報の収集と解析を行い、生体内に取り込まれた場合に懸念される健康影響についてのリスク評価を実施するために必要な毒性評価値の算出を行った。HQ 含有製品の皮膚適用により、HQ は体内に吸収されることから、化粧品について一般に評価される皮膚刺激性等の局所作用のみでなく、反復投与毒性や生殖毒性及び発がん性についても評価を行う必要がある。HQ は、生殖発生毒性の懸念はほとんどないが、発がん性の懸念があることから、そのメカニズムへの遺伝毒性の関与については、*in vivo* における遺伝子突然変異誘発性の検討が必要と考察された。得られた情報のベンチマークドース解析から HQ の生体内取り込みによる健康リスク評価における毒性評価値として 9.78mg/kg/day を用いることが妥当であると結論された。

A. 研究目的

HQ は、化粧品のみでなく化学合成や写真の現像における還元剤、染料や農薬の合成原料等として古くから広く用いられていることから、これまでも国際機関等によるリスク評価が行われている。本研究では、HQ についてこれまでに報告されている毒性情報のうち、特に体内動態や反復投与による毒性情報の収集と解析を行い、生体内に取り込まれた場合に懸念される健康影響

についてのリスク評価を実施するために必要な毒性評価値の算出を行った。

B. 研究方法

ハイドロキノンの毒性情報収集

IARC による発がん性評価書（1999 年）及び米国 Cosmetic Ingredient Review 評価書（2009 年）をもとに、以降の最新データを Medline 等により検索し、体内動態や反復投与による毒性情報の収集と解析を行い、

得られた結果より毒性評価値の算出を行った。

#### ベンチマークドースの算出

ラット 103 週間経口投与試験において雄ラットで認められた腎尿細管腺腫発現頻度をもとにベンチマークドース法により NOAEL 相当値とされる BMDL10 値を求めた。ベンチマークドース計算は、米国 EPA から公開されている Benchmark Dose Software(BMDS)を用いてマニュアルに従って行った。

### C. 研究結果

#### ハイドロキノンの毒性情報収集

本研究における調査により得られたハイドロキノン (HQ) の毒性情報の概要を以下に示す。詳細は、添付資料 1 として添付した。

HQ は、消化管から速やかに吸収されるが、皮膚からの吸収は遅い。in vitro 試験の結果、ヒトの角質層を介した吸収速度は、ラットの全層皮膚を介した吸収速度 ( $1.1 \pm 0.65 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ ) の約半分程度であった。

吸収された HQ は、広範な組織に分布するが、蓄積性は低く、ラットを用いた経口投与試験では投与後 24 時間以内に投与量の 80%以上が尿中に排泄された。主要な尿中代謝物は、硫酸及びグルクロン酸抱合体であったが、メルカプツール酸抱合体や非抱合型 HQ も少量検出された。

健康な男性を対象とした試験では、額 ( $25 \text{ cm}^2$ )に $[^{14}\text{C}]$ HQ クリーム (HQ2.5 mg 含有)を塗布し、翌日に洗い流したところ、24 時間以内に投与量の  $37.0 \pm 9.8\%$ 、4 日以内に  $45.3 \pm 11.2\%$ が尿中に排泄され、主要

な尿中代謝物は、グルクロン酸抱合体であった。

反復投与試験では、神経毒性としては、B6C3F1 マウスに 25、50、100、200 もしくは 400 mg/kg の HQ を 13 週間 (5 日/週) 強制経口投与した結果、すべての HQ 投与群の雄及び 100 mg/kg 以上の投与群の雌に嗜眠が観察され、200 mg/kg 以上の投与群では振戦、400 mg/kg 投与群では痙攣も観察された。ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験に於いては、嗜眠や振戦などの神経症状が 64 mg/kg/day 以上で認められ、NOAEL は 20 mg/kg/day であった。

F344/N ラットに 25 もしくは 50 mg/kg の HQ を 103 週間 (5 日/週)強制経口投与した結果、両投与群の雄の体重が低値を示し、すべての群で、尿細管上皮の変性等を特徴とする腎症が観察された。

経皮投与では、F344 ラットの背部 ( $4 \times 6 \text{ cm}$ )に 2、3.5 及び 5%の HQ (水中油型エマルジョンクリーム)を 13 週間 (6 時間/日、5 日/週)閉塞適用した結果、適用部位では皮膚の褐変、褐色斑や鱗状皮膚が観察されたが、投与に関連した病理組織学的変化は観察されなかった。

遺伝毒性試験では、in vitro 試験系においては、マウスリンフォーマ試験、染色体異常試験、小核試験等において、in vivo 試験系では染色体異常試験、小核試験等で陽性の結果が得られている。一方、復帰突然変異試験では、酸化的変異原物質に感受性の高い TA104 株でのみ陽性の報告があるが、この結果については活性酸素種の関与が示唆されている。

発がん性に関しては、ラット経口投与 (25 及び 50mg/kg) による腎尿細管腺腫及びマ

ウス経口投与 (50 及び 100mg/kg) による肝細胞腫瘍 (主に腺腫) の発現頻度上昇の報告 (いずれも 103 週間投与) がある。二段階発がん試験においてはプロモーション作用 (食道、肝臓、腎臓) が認められるものの、イニシエーション作用 (皮膚) は示されていない。一方、ヒトにおいては評価に値する報告例はなく、IARC ではグループ 3 に分類されている。

F344 ラット雄で観察された尿細管腺腫の発生メカニズムとして、腎毒性性のグルタチオン抱合体による慢性進行性腎症の悪化により腫瘍性病変が生じた可能性が考えられており、F344 ラットでは SD ラットよりも多くのグルタチオン代謝物を生成することが示されている。ヒトではグルタチオン抱合体の生成はラットに比べて少なく、PBPK モデルを用いた解析により、ヒトが 5%HQ 水溶液に両手を 2 時間浸した後の多置換グルタチオン抱合体類の血中濃度・時間曲線下面積 (AUC) は NOEL 相当量 (20 mg/kg) の HQ を経口投与したラットよりも桁違いに低い (およそ 10 万分の 1) と計算されている。

生殖発生毒性に関しては、ウサギにおける催奇形性試験で軽微な骨格奇形が、ラットにおいては性周期障害や胎児吸収率の増加等が認められているが、いずれも比較的高用量 (100mg/kg 以上) の HQ を投与した試験で観察されたもので、親動物において毒性が認められない用量では生殖発生毒性は認められていない。ウサギ催奇形性試験における NOAEL は 75 mg/kg/day であった。

アジア、ラテンアメリカ及びアフリカ系の人々において、HQ を含む美白製品の長

期使用 (6 ヶ月以上) に関連した外因性組織褐変症が報告されており、HQ の tyrosinase や homogentistic acid oxidase への影響による色素沈着によると考えられている。

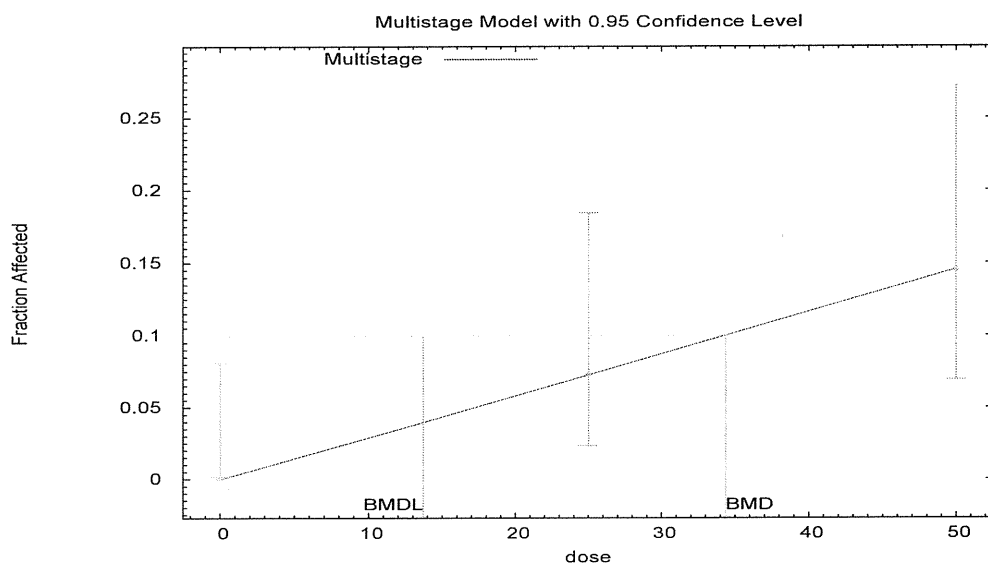
#### ベンチマークドースの算出

文献調査の結果、最も低い用量で認められた毒性は、NTP で実施されたラット 103 週間経口投与試験において最低用量の 25mg/kg から雄ラットで認められた腎臓における障害とともに尿細管腺腫の発現頻度上昇が認められており、無毒性量は求められていない。そこで、当該試験で認められた尿細管腺腫発現率についてベンチマークドース法により、NOAEL 相当量として BMDL10 値の計算を行った。計算に用いた値を表 1 に示した。

表 1 ラット 103 週投与試験において雄ラットに認められた腎尿細管腺腫の発現頻度

Dose (mg/kg)	0	25	50
Adenoma	0	4	8
No. of animal	55	55	55

BMDS において、非連続データで使用可能な全てのモデル (Gamma, Logistic, LogLogistic, LogProbit, Multistage, Multistage-Cancer, Probit, Weibull, Quantal-Linear) での解析を行った結果、全てのモデルでフィッティングに成功した。Multistage モデルで restriction なしで計算した結果が、最も低い BMDL10 値 13.7mg/kg となった。解析結果のプロットを図 1 に示した。解析に用いた試験は、週 5 日投与であるため、週 7 日に平均した 9.78mg/kg/day がベンチマークドースによる評価値として求められた。



21:03 07/25 2012

図1 ベンチマークドース解析結果プロット

#### D. 考察

調査の結果から、ハイドロキノン (HQ) 含有製品の皮膚適用により HQ が経皮吸収され体内に取り込まれることは明らかである。HQ の体内からの消失は早いですが、吸収速度が遅いため、血中濃度推移は吸収律速となり、化粧品として皮膚に添加した場合には、経口投与によるよりも長時間にわたって HQ が体内循環する可能性が示唆される。報告されているバイオアベイラビリティは、40～50%程度であるが、製剤では基材の成分によりバイオアベイラビリティが向上する可能性もあり、生体内取り込みされた場合の毒性についての評価が必要であると考察された。

経口投与による反復投与毒性試験では、高用量において振戦や痙攣など中枢作用が認められ、低用量では腎臓や肝臓等に毒性が認められている。経口投与による一般毒

性についての無毒性量 (NOAEL) は求められていないが、これまでに報告されている最低毒性量 (LOAEL) は、25mg/kg (週5日投与) であった。経皮投与試験では、適用部位における皮膚障害以外には、投与に関連した病理組織学的変化は認められていない。また、生殖発生毒性については、親動物で毒性の認められない用量では、毒性変化は認められていない。

一方、発がん性に関しては、マウスにおける肝細胞腫瘍やラットにおける腎尿細管細胞腫瘍の発現頻度上昇が報告されているが、ヒトにおける発がんを示唆する報告例はない。遺伝毒性試験においては、*in vitro*、*in vivo*において染色体異常を引き起こすことは明らかではあるが、復帰突然変異試験においては、酸化変異原物質に感受性の高い TA104 株における陽性の報告以外は陰性であり、特に *in vivo* における遺伝子突



然変異誘発性については、追加検討が必要と考察された。

得られた情報より、HQ の生体内取り込みによる毒性評価値としては、一般毒性における最小の LOAEL 値=25mg/kg (週 5 日投与) を 7 日間平均した 17.9mg/kg/day にさらに無毒性量が求められていないことから不確実性係数として 3 で除した 5.95mg/kg/day が求められた。

一方、発がん性に関しては、最も低用量で腫瘍発現頻度が認められたラット 103 週間経口投与試験における腎尿細管腺腫発現頻度をもとにベンチマークドース法により BMDL10=9.78mg/kg/day が求められ、上記の LOAEL 値から求めた NOAEL 相当値と同程度の値であることからベンチマークドース法による解析結果の妥当性を支持する結果と考察される。以降のリスク評価においては、毒性の重篤度を考慮して、追加の不確実性係数 10 を追加した上でベンチマークドース法による 9.78mg/kg/day を評価値として用いることが適切であると考察された。

#### E. 結論

ハイドロキノン (HQ) 含有製品の皮膚適用により、HQ は体内に吸収されることから、化粧品について一般に評価される皮膚刺激性等の局所作用のみでなく、反復投与毒性や生殖毒性及び発がん性についても評価を行う必要がある。HQ は、生殖発生毒性の懸念は低い、発がん性の懸念が示されている。正確なリスク評価を行うためには、発がんメカニズムへの遺伝毒性の関与について、*in vivo* 遺伝子突然変異誘発性の有無を明らかにする必要がある。得られた

情報及びラットで認められた腎尿細管腺腫発現率のベンチマークドース解析から HQ の生体内取り込みによる健康リスク評価における毒性評価値として 9.78mg/kg/day を用いることが妥当であると結論された。

#### F. 研究発表

1. 論文発表  
(該当なし)
2. 学会発表  
(該当なし)

#### G. 知的所有権の取得状況

(該当なし)

添付資料：Hydroquinone の毒性情報

## Hydroquinone の毒性情報

### 目 次

1.	体内動態 .....	2
2.	反復投与毒性 .....	6
3.	遺伝毒性 .....	8
4.	発がん性 .....	13
5.	生殖発生毒性 .....	16
6.	ヒトの健康への影響.....	17
7.	その他の毒性関連情報.....	18
8.	まとめ .....	19
9.	参考文献 .....	20

## 1. 体内動態

ラット及びヒトにおけるhydroquinone (HQ)の推定代謝経路を図1に示す (Cosmetic Ingredient Review 2009)。主な代謝経路は、グルクロン酸抱合及び硫酸抱合である。1,4-Benzoquinoneへの酸化の過程でモノグルタチオン抱合体もしくはポリグルタチオン抱合体を形成する活性代謝物を生じ、このグルタチオン抱合体がげっ歯類で観察される腎毒性及び腎腫瘍の要因物質と考えられている。

### In vitroデータ

ヒトの角質層を介した $[^{14}\text{C}]$ HQ (5%水溶液)の経皮吸収速度は $0.52 \pm 0.13 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ であり、この結果から、HQの浸透速度は「遅い」と分類された (Barber et al. 1995)。ラットの全層皮膚を介した吸収速度は $1.1 \pm 0.65 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ であり、ヒトの角質層のおよそ2倍速かった。一方、ヒトの皮膚 (fresh viable skin)を用いた試験では、 $[^{14}\text{C}]$ HQ (2%クリーム)のバイオアベイラビリティは43.3%と算出されている (Wester et al. 1998)。添加量の28.5%がHQとして、また、10.8%がbenzoquinoneとして回収され、シトクロムオキシダーゼの代謝阻害剤であるsodium azideの前添加により、benzoquinoneの回収量が4.1%に低下した。

ヒトの肝臓ミクロソームによるHQのグルクロン酸抱合速度は、個々のサンプル間でおおよそ3倍の変動が見られたものの、ラットより速く、マウスよりやや遅かった (Seaton et al. 1995)。Poetら (Poet et al. 2004)は、F344ラット及びヒトの培養肝細胞を用いて、HQからモノグルタチオン抱合体への変換やその後の解毒過程における代謝速度定数を求めた。その結果、ラット及びヒト共に、主要な代謝経路はグルクロン酸抱合であり、その最大反応速度と固有クリアランスはヒトの肝細胞の方が高かった。モノグルタチオン抱合体からメルカプツール酸への代謝能についても、ヒトの肝細胞の方が高かった。

HQは、酵素的及び非酵素的に非常に反応性の高い1,4-benzoquinoneに変換される。この酸化反応に関与する主な酵素は、myeloperoxidaseであり、この酵素は、phenolやその他の一部のphenol類によって活性化される (Subrahmanyam et al. 1991)。この反応には、ミクロソームのシトクロムP450が関与している可能性もある (Hill et al. 1993)。HQの1,4-benzoquinoneへの変換は、銅(II)イオンにより強力に促進され、この過程には、過酸化水素やその他の活性酸素種が関与していると考えられている (Eyer 1991; Li and Trush 1993; Rao 1991)。

### In vivoデータ

雄のSprague-Dawleyラットに $[^{14}\text{C}]$ HQを経口投与した試験では、投与方法 (単回強制経口投与、反復強制経口投与もしくは混餌投与)に関わらず放射能のほとんどすべてが尿中に排泄された (Divincenzo et al. 1984)。糞中排泄量は6%未満であった。主要な尿中代謝物は、硫酸及びグルクロン酸抱合体であったが、非抱合型HQも少量検出された。雄のWistarラットに経口投与した試験でも同様な結果が得られている (Saito and Takeichi 1995)。彼らは、HQが広範な組織に分布することを明らかにした。

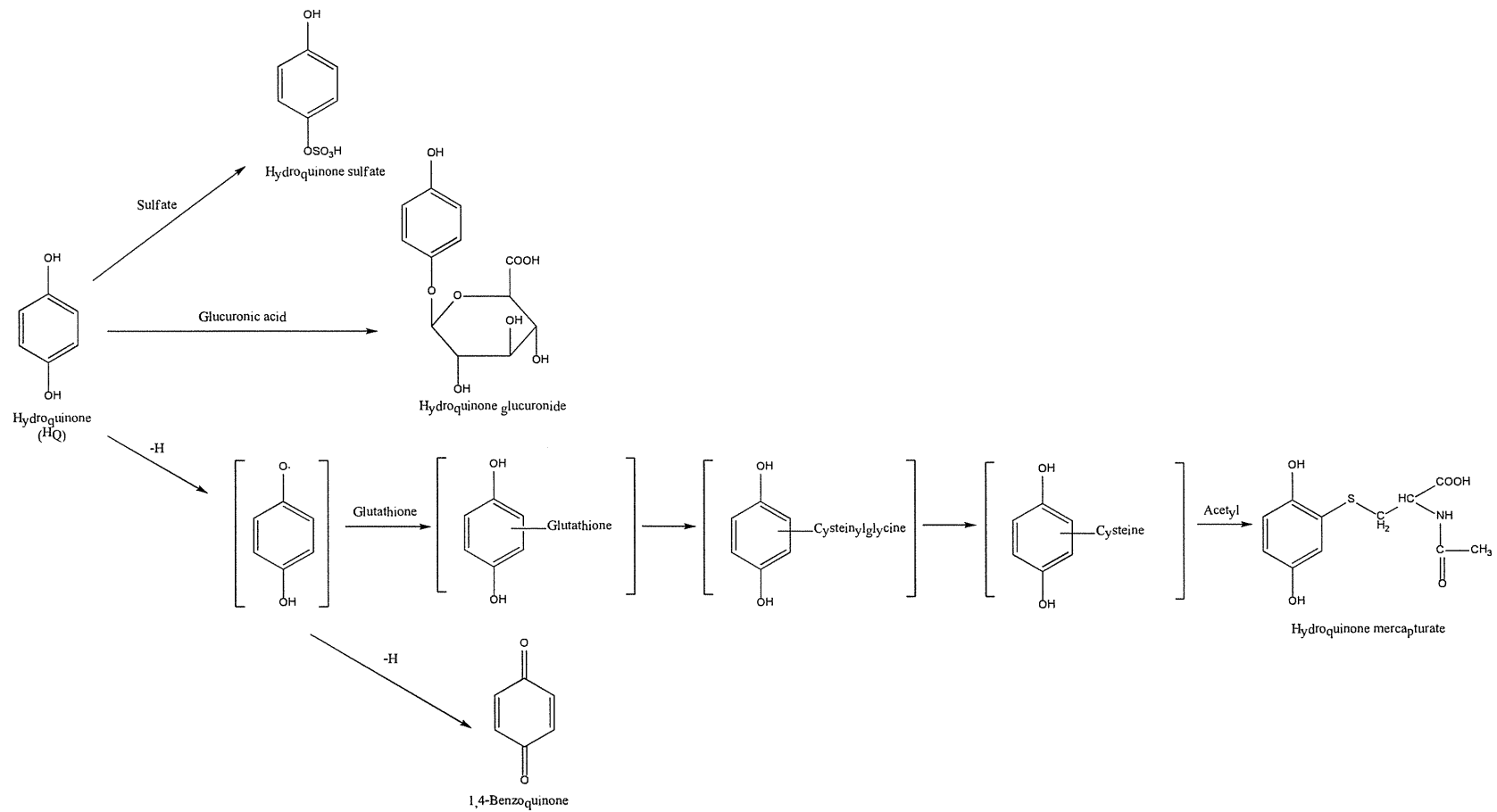


図1. Hydroquinone (HQ)の推定代謝経路