

医薬部外品・化粧品に含有される成分の安全性確保に関する研究

研究代表者 手島 玲子 国立医薬品食品衛生研究所 食品部 部長

医薬部外品・化粧品に含有される成分の安全性確保に関する研究を遂行するために、1 主任研究者、7 分担研究者を中心として、10 機関にわたる研究グループを組織した。1) 動物モデルを用いたアレルギー性の解析、2) 医薬部外品等に含まれる成分の網羅的抗原性の解析、3) 国内外のアレルギー事例の調査並びに事後の経過観察、4) 医薬部外品の物性を考慮した成分規格の検討に関する研究を行った。

研究分担者

安達 玲子	国立医薬品食品衛生研究所 代謝生化学部 室長
板垣 康治	北海道文教大学人間科学部 健康栄養学科 教授
五十嵐 良明	国立医薬品食品衛生研究所 環境衛生化学部 部長
伊東 祐二	鹿児島大学理工学研究科 生命化学専攻課程 教授
海老澤 元宏	国立病院機構相模原病院 臨床研究センター 部長
福富 友馬	国立病院機構相模原病院 臨床研究センター 診断・治療薬開発研究室 室長
松永 佳世子	藤田保健衛生大学医学部 皮膚科学 教授

A. 研究目的

いわゆる薬用化粧品として流通している医薬部外品や化粧品(以下「医薬部外品等」という。)には、製品に保湿効果等の特性を持たせるために、小麦、米、コラーゲン、果実といった食品由来の成分や、絹由来の成分が使用されている。薬事法上、医薬部外品及び化粧品は、人体に対する作用が緩和なものされており、その主たる作用のみでなく、使用によって生ずる健康被害についても、人体に対して大きな影響は及ぼさないものと考えられてきていた。

しかしながら、近年、小麦加水分解物(HWP)を含む医薬部外品(茶のしずく石鹸)等使用者による食物依存性運動誘発性アレルギー等の全身性アレルギーの発症など、重大な健康被害が多数報告されており、保健衛生上の重大な課題となっている。この小麦加水分解物による健康被害については、現在のところ、ある特定の小麦加水分解物が原因であると考えられている。

医薬部外品等においては、その原料の成分規格は医薬部外品原料規格などに準拠し、品質の確保が行われている。ただし、注意しなければならない点としては、問題となっている小麦加水分解物(茶のしずく石鹸に使われていたグルパール19S)においても、他の小麦加水分解物とは製造工程が異なり、グルテンを高温(95)で40分間の条件で、部分酸加水分解したものであるものの、最終的には既存の成分規格には適合したものとして流通し、使用されていたことである。すなわち、成分規格には適合していても、製造工程の違いによって重篤なアレルギー反応を惹起するような製品が流通する可能性があるということである。

本研究では、まず小麦加水分解物に注目し、その製造工程の違いによって生じるアレルギー反応の惹起性について、動物モデルによる生体反応の解析と、ファージディスプレイ法による網羅的抗原性解析等を実施し検討を行う。ここから得られた成果を基に、現行の成分規格の改定の検討を

行い、医薬部外品等の安全性の確保を目指す。

また、小麦同様、他の原材料による健康被害の発生も予想されることから、国内外の健康被害の状況を調査の上、小麦加水分解物で得られた知見を基に、アレルギー反応の誘起性や成分規格の改定についての検討を行う。

医薬部外品等ではこれまで重大な健康被害が発生することは考えられていなかったため、詳細な研究は行われておらず、本研究による原因の解析とそれによる成分規格の改善については、医薬部外品等の安全性を高める観点から必要な研究である。

B. 研究方法

医薬部外品・化粧品に含まれる成分の物性に関する研究並びに総括を手島研究代表者が担当し、医薬部外品・化粧品に含まれる成分による免疫学的反応についての動物モデルに関する研究を安達班員が担当し、医薬部外品等に含まれる成分の網羅的抗原性の解析を伊東班員が担当し、医薬部外品等の国内のアレルギー発症の事例調査並びに事後の経過観察を福富班員が担当し、医薬部外品等の国内のアレルギー発症のアンケート調査を板垣班員が、医薬部外品等の国内外のアレルギー発症事例の文献調査を海老澤班員が担当し、医薬部外品の物性を考慮した成分規格の検討を五十嵐班員が担当し、医薬部外品等によるアレルギー発症例の調査と診断法に関する研究を松永班員が担当した。また、医薬部外品成分等によるアレルギーの実態調査については、北海道内で開業または医療機関に勤務している医師の協力を得た。また、加水分解小麦のゲルクロマトグラフィー等を用いる物性解析で、製品評価技術基盤機構の協力を得、動物モデルを用いる研究の病理解析では、当所病理部の協力を得た。

C. 研究結果 及び D. 考察

[] 医薬部外品・化粧品に含まれる成分の物性に関する研究

医薬部外品・化粧品には米や小麦などの食品を原材料とするものがあるが、これらのうち特定の

食品にアレルギーを持つ患者が当該食品を原材料とする医薬部外品・化粧品等を使用した場合に、アレルギー症状等を引き起こす可能性が指摘されている。近年、加水分解小麦 (HWP) を含有する洗顔石鹸の長期使用により小麦アレルギーを発症する事例が数多く報告され、社会的に大きな問題となった。本研究では、HWP に特徴的に発現するタンパク質の物性に関する研究を行うことを目的とし、(i)加水分解条件が異なる HWP(酸加水分解及びアルカリ加水分解小麦グルテン)を調製し、処理方法の違いがタンパク質の物性に及ぼす影響を分析化学的に評価を行い、(ii)茶のしずく石鹸に使われていた酸加水分解小麦(HWP, グルパール 19S) と 139 例の茶のしずく (HWP) 患者血清で感作されたヒト化マスト (RS-ATL8) 細胞を用いて、EXiLE 法にて細胞の活性化を促すかどうかの検討を行い、診断に使用できるかどうかの評価を行った。

(i)では、HWP の医薬部外品・化粧品の原材料の規格基準策定も指向し、HWP のサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) 分析による分子量測定、及び定量的プロテオーム解析を用いた脱アミド化分析を行った。その結果、分子量に関しては、酸及びアルカリともに加水分解の進行に伴って低分子化が認められ、脱アミド化に関しては、酸及びアルカリともに加水分解の進行に伴って脱アミド化が進行したが、酸加水分解と比較してアルカリ加水分解は脱アミド化の変化が緩やかであった。(ii)では、19S-EXiLE 法と 19S-ELISA 法の比較を ROC 曲線を用いて行ったところ、EXiLE 法は、感度は、ELISA 法より低い、特異度は高く、確定診断に用いることのできる試験であることが示された。

[11] 医薬部外品等に含まれる成分の網羅的抗原性の解析

茶のしずく小麦アレルギーの原因となる IgE 抗体の特性解析を行うため、患者由来の IgE 単鎖 Fv 抗体ライブラリを構築し、グルテンならびにグルパール 19S に対するバイオパンニングによって、疾患の原因と考えられる特異クローンの単離を行った。

得られたクローンの多くは、グルテンに対する結合活性を有するものの、グルパール 19S に対する特異性は示さなかった。グルパール 19S に特異性をもつクローンが得られなかった原因として、目的の抗体遺伝子の存在率が低く、また、バイオパンニングによる濃縮効率が低いことが考えられた。そこで、バイオパンニング前後でのライブラリ中の抗体配列を次世代シーケンサーによって網羅的に解析することで、特異クローンの解析を進めた結果、複数種のグルテン、並びに、グルパール 19S に特異的な IgE 抗体の VH 配列の特定に成功した。

このような小麦アレルギーでの IgE の特性の違いを明らかにすることで、茶のしずく発症の機構、さらには予防に対する展開を図っていくことが可能と思われる。

[III] 医薬部外品・化粧品に含まれる成分による免疫学的反応についての動物モデルに関する研究

これまでに確立したマウス経皮感作試験系を用いて、基原の異なる数種の加水分解コラーゲンの感作性を評価した。その結果、経皮感作は成立せず、能動的全身性アナフィラキシーも誘導されることが示された。また、コムギタンパク質のアルカリ加水分解物の感作性を評価したところ、0.5 時間アルカリ加水分解グルテンにグルパール 19S と同等の感作性が認められ、加水分解の進行(低分子化)に伴い、感作性が減弱することが明らかになった。今後更に検討を重ね、タンパク質加水分解物による経皮感作について、感作性や影響要因の詳細に関する解析を進めることにより、医薬部外品・化粧品等の安全性確保に資する知見を集積できると思われる。

[IV] 医薬部外品等の国内のアレルギー発症のアンケート調査

北海道内の医療機関に勤務する医師、および開業医を対象として、小麦以外の加水分解物が添加された化粧品、医薬部外品によるアレルギー発症に関するアンケート調査を実施した。アンケートは 3995 名の医師に配布し、278 名から回答が得ら

れ回収率は 7.0%であった。小麦以外的小麦加水分解物を添加している化粧品、医薬部外品でのアレルギー発症例については、3 名の医師が症例を経験していた。原因物質などの特定はできなかった。発症例については、アナフィラキシーなど重症化の可能性も示唆された。

食品由来であっても、化粧品や医薬部外品に使用される場合には、アレルギー発症のリスクがあることを、医師を介して、あるいは、国民へ直接、効果的に情報を伝えることが重要であると思われる。

[V] 医薬部外品等による国内外のアレルギー発症事例の文献調査

医薬部外品のうち内服薬による健康被害に関して文献的調査を行うことを目的とした。方法：医薬部外品のうち内服薬によるアレルギー発症事例について、本邦および諸外国における報告事例を過去 10 年(2004～2013 年)にわたり調査を行った。結果：医薬部外品のうち内服薬による副作用報告は本邦においてウコンによる薬疹 4 例の報告が最も多かった。また、漢方に用いられる生薬では、麻黄、茴香(ウイキョウ)、縮砂(シュクシャ)による薬疹でそれぞれ 1 例、甘草によるアナフィラキシーで 1 例の報告を認めた。ビタミンでは、フルスルチアミン(ビタミン B1)による薬疹で 1 例、リン酸リボフラビンナトリウム(ビタミン B2)によるアナフィラキシーショックで 1 例の報告を認めた。諸外国では acetaminophen による蕁麻疹 13 例、アナフィラキシー 3 例の報告が最も多かった。考察：医薬部外品のうち内服薬による健康被害の報告は少ないが、比較的安全と考えられている成分でも健康被害を起こすことがあり、一層注意喚起することが必要であると思われる。

[VI] 医薬部外品等の国内のアレルギー発症事例調査並びに事後の経過観察

茶のしずく石鹼®(悠香)の使用によりその添加成分である加水分解小麦(グルパール 19S®)に経皮経粘膜感作されることによって発症した経口小麦アレルギーの症例の、発症の事後の経過に

ついて明らかにするために観察研究を行った。

本年度は生存時間分析 (Survival analysis) のモデルにより、石鹼使用中止後の経過期間と小麦アレルギー症状との関係について検討した。石鹼使用中止からの時間が経過するほど、略治状態まで改善する患者の割合が増加している傾向が示されているが、石鹼中止後 4-5 年を経過しても略治に至っているものは半数に達していない。現在、略治に至っていない者の臨床症状が、今後間違いなく改善して行くのかどうかも明らかでなく、これらの患者に関しては今後も注意深い経過観察が必要であると考えられた。

[VII] 医薬部外品等によるアレルギー発症例の診断法に関する研究

近年、加水分解コムギ、グルパール 19S を含有した石鹼使用者に小麦アレルギー患者が多発し、社会問題化した。症例の約半数は、小麦製品摂取後にアナフィラキシー症状を示す重症例であった。分担研究者は日本アレルギー学会「化粧品中のタンパク加水分解物の安全性に関する特別委員会」委員長として、全国の症例の疫学調査を行い ELISA 法による特異 IgE 抗体の測定を施行した。その結果、2014 年 2 月 20 日時点、確実例は 2107 例で、女性 2020 例 (95.9%)、男性 87 例 (4.1%) であった。年齢は 1 歳 (男児) から 93 歳 (女性)、平均 45.8 歳で、多くは 20 代から 60 代の女性であった。登録患者の都道府県別陽性症例数は、福岡県が第 1 位で 296 例、次いで北海道 123 例、東京都 123 例、第 4 位は大阪府 118 例、広島県 109 例であった。登録数は 2012 年 8 月をピークに徐々に減少しているが、出荷石鹼個数と報告症例数をみるとなお、登録されていない症例もあることが推測される。

化粧品に含まれた加水分解蛋白による全身性の食物アレルギーは、加水分解コムギ以外にも起こり得る。分担研究者の施設では、化粧品に含まれた豆乳成分や、加水分解卵白などによる全身性の食物アレルギー症例を経験している。化粧品中のグルパール 19S 以外の小麦由来成分またはその他のタンパク成分によるアレルギーに関する

緊急疫学調査も実施し、その後の詳細な症例情報の平成 26 年 3 月時点における登録数は、19 以外の加水分解コムギ末における健康被害が疑われる症例は 3 例、コムギタンパク質以外の化粧品に含まれる成分における健康被害が疑われる症例は 10 例であった。

[VIII] 医薬部外品の物性を考慮した成分規格の検討

特定の洗顔石けんの使用者に、小麦摂取による即時型アレルギーを発症する症例が増加し、大きな社会問題となった。本アレルギーは、石鹼に配合されていたグルパール 19S という成分によって引き起こされた事がわかった。グルパール 19S は、医薬部外品原料規格で加水分解コムギ末として収載されており、製品にもその名称で記載される。製造会社によると、現在の医薬部外品原料規格の試験法で規定される品質に関して逸脱はなかったという。他の分担研究者による昨年度までの研究で、加水分解コムギ末の製造法によって強いアレルギー性物質が生成するような物性変化が生じていることがわかった。小麦のような食品成分が経皮、経粘膜的に感作すること自体、想定されなかったことではあるが、現状の規格ではこのような健康障害を防止できなかったことが明らかになった。本研究では、加水分解コムギ末によるこのような健康被害の再発防止のため、これまでの研究班の結果をもとに、医薬部外品原料規格の改訂案を策定することとした。原材料グルテンの加水分解により短時間で一時的に分子量が増加し強い感作性を引き起こすこと、加水分解時間を長くすると分子量が減少し約 10,000 以下になったものでは感作性が認められなかったことから、この分子量をもとにした品質規格とその試験法を追加することとした。サイズ排除クロマトグラフィーを試験法として、分子量約 12,000 のチトクロム C を指標に、これ以下の分子量のものが一定量以上含まれることとした規格と試験法を追加することを提案した。

E. 結論

[I] 医薬部外品・化粧品に含まれる成分の物性に関する研究

加水分解条件が異なる HWP として、酸加水分解グルテン及びアルカリ加水分解グルテンを調製し、処理方法の違いがタンパク質の物性に及ぼす影響を分析化学的に評価した。分子量に関しては、酸及びアルカリともに加水分解の進行に伴って低分子化が認められた。脱アミド化に関しては、酸及びアルカリともに加水分解の進行に伴って脱アミド化が進行したが、酸加水分解と比較してアルカリ加水分解は脱アミド化の変化が緩やかであった。

また、19S-EXiLE 法を用いた研究に関しては、19S-ELISA 法に対して特異度では優れることが判明した。19S-EXiLE 法は、抗体の濃度検査だけではなく、抗体の機能の測定も行えることに特徴があり、ヒト好塩基球活性化試験(BAT)と同様に用いることも可能であると思われ、BAT と本試験の比較を行うことも重要と思われた。

[II] 医薬部外品等に含まれる成分の網羅的抗原性の解析

IgE 抗体ライブラリを使ったバイオパンニングと組み合わせられた次世代シーケンサーによる網羅的解析手法は、アレルギーの原因となる IgE 抗体配列の同定の上で、極めて有用であり、本法によって、小麦アレルギーの原因となる IgE のクローン配列が特定された。

[III] 医薬部外品・化粧品に含まれる成分による免疫学的反応についての動物モデルに関する研究

これまでに確立したマウス経皮感作試験系を用いて、基原の異なる数種の加水分解コラーゲンの感作性を評価した。その結果、経皮感作は成立せず、能動的全身性アナフィラキシーも誘導されないことが示された。また、コムギタンパク質のアルカリ加水分解物の感作性を評価したところ、0.5 時間アルカリ加水分解グルテンにグルパール 19S と同等の感作性が認められ、加水分解の進行

(低分子化)に伴い、感作性が減弱することが明らかになった。

[IV] 医薬部外品等の国内のアレルギー発症のアンケート調査

・小麦以外の食品由来の加水分解物を添加している化粧品、医薬部外品でのアレルギー発症例は確認されたが、非常に少なかった。しかし、発症した場合、アナフィラキシーなど重症化する可能性があるため、注意が必要である。

・食品由来であっても、化粧品や医薬部外品に使用される場合には、アレルギー発症のリスクがあることを医師を介して、あるいは、国民へ直接、効果的に情報を伝えることが重要である。

[V] 医薬部外品等による国内外のアレルギー発症事例の文献調査

医薬部外品のうち内用剤は、外用剤と比べて健康被害の報告は少なかった。しかし、比較的 안전と考えられている成分でも健康被害を起こすことがあり、一層注意喚起することが必要である。

[VI] 医薬部外品等の国内のアレルギー発症事例調査並びに事後の経過観察

小麦加水分解物(HWP)-WDEIA 群は、その小麦アレルギー感作ルートを反映して、眼瞼腫脹や鼻炎症状、顔面の腫脹など顔面や粘膜のアレルギー症状を認める症例が大半であった。また、通常的小麦アレルギー(CO-WDEIA)群では -5 グリアジン-IgE 抗体価の経年変化は認められなかったが、HWP-WDEIA 群においては石鹼使用中止後、全例において小麦、グルテン特異的 IgE 抗体価の減少傾向を認めた。ただし、症状改善の程度に個人差が存在することも同時に示唆され、今後の長期にわたる経過観察が必要であることが示された。

[VII] 医薬部外品等によるアレルギー発症例の診断法に関する研究

石鹼に含まれた加水分解コムギのグルパール 19S による即時型コムギアレルギーは全国で 2107 例の登録があった。登録数は 2012 年 8 月をピー

クに徐々に減少しているが、まだ、登録されていない症例もあることが推測された。

化粧品中のグルパール 19S 以外の小麦由来成分またはその他のタンパク成分によるアレルギーに関する調査も実施している。

[VIII] 医薬部外品の物性を考慮した成分規格の検討

加水分解コムギ末による健康被害の再発防止のため、これまでの研究の結果をもとにして、医薬部外品原料規格の改訂案を策定した。原材料グルテンの加水分解により短時間で一時的に分子量が増加し強い感作性を引き起こすこと、加水分解時間を長くすると分子量が減少し、感作性が認められなかったことから、分子量をもとにした品質規格とその試験法を追加することとした。定量性のあるサイズ排除クロマトグラフィーを試験法とし、分子量約 12,000 のチトクロム C を指標に、これ以下の分子量のものが一定量以上含まれるとする規格及び試験法を追加することを提案ができた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

個別の研究報告書に記載済み。

H. 知的財産権の登録

なし