

201328070A

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

ロドデノール配合薬用化粧品による白斑症状の
原因究明・再発防止に係る研究

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 川西 徹 国立医薬品食品衛生研究所

平成 26 (2014) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告

- ロドデノール配合薬用化粧品による白斑症状の原因究明・再発防止に係る研究 1
川西 徹

II. 分担（協力）研究報告

1. 群馬大学皮膚科におけるロドデノール誘発性脱色素斑患者の臨床解析 9
石川 治、岸 史子
2. 原因究明に関する調査研究
I. ロドデノールおよび類似化学物質による白斑症状に関する文献調査 13
最上 知子
3. ロドデノール配合化粧品の使用による白斑様症状の病態形成メカニズムに関する研究 . . . 23
カネボウ化粧品
4. 原因究明に関する調査研究 85
II. ロドデノールの細胞毒性に関する研究
秋山 卓美
5. 再発防止に関する研究
秋山 卓美、飯島 正文、川島 眞、杉林 堅次、小島 肇、小野 敦 97

I. 総括研究報告

ロドデノール配合薬用化粧品による白斑症状の原因究明・再発防止に係る研究

研究代表者 川西 徹 国立医薬品食品衛生研究所 所長

4-(4-ヒドロキシフェニル)-2-ブタノール(ロドデノール)配合薬用化粧品の使用者に生じた白斑問題に関して、ロドデノールによる白斑発症機序の解明に係わる調査研究、及び研究結果を踏まえた事故再発防止に向けた対応策を検討した。

1. 発症機序の解明に関わる調査研究：

皮膚科専門外来を受診したロドデノール配合化粧品により白斑を生じたと考えられる患者の約半数は、使用開始 1 年以内に脱色素斑を生じ、脱色素斑部では、表皮内のメラノサイトの消失、真皮上層へのメラニンの滴落に加え、単核球の浸潤が認められた。当該化粧品の使用を中止した患者の 74%に症状の改善が見られたが、複数種別の当該化粧品を併用していた場合は改善が乏しい傾向があった。引き続き患者の経過観察を行うとともに、パッチテストによる白斑への免疫系の関与、および治療法についても検討する。

ロドデノール類似化合物による白斑症状とその機序に関する文献調査、ロドデノール原薬の純度、代謝と細胞毒性についての試験、およびカネボウ化粧品から提供された非臨床試験結果の評価を行った。褐色モルモットへのロドデノール塗布により表皮メラノサイトは著しく減少し、患者の臨床症状と類似の結果が得られることが、カネボウ化粧品の事故後の追試験で示された。ロドデノール原薬の純度はほぼ 100%で、白斑はロドデノールに由来するものと考えられた。ロドデノールは、メラノサイトのチロシナーゼにより細胞毒性のより強い水酸化体に代謝され、この代謝がメラノサイトの細胞死に強く関与することが示唆された。一方で、職業性白斑を起こすことが報告されているフェノール誘導体である 4-*tert*-ブチルフェノール(4-TBP)やヒドロキノンモノベンジルエーテル(MBEH)は、メラノサイトへの直接作用に加え、免疫系を介する二相性の作用がメラノサイト消失をもたらすと考えられている。カネボウ化粧品の報告では、ロドデノールは実験動物での感作性試験はおおむね陰性であったが、免疫系の関与についてはさらなる検討が必要と思われる。

2. 再発防止に向けた対応策の検討：

既存の承認審査・市販後安全対策の方策について整理し、非臨床、臨床及び製造販売後のそれぞれの段階における対応方策を検討した。ロドデノール配合薬用化粧品による白斑問題を教訓に、新有効成分含有薬用化粧品の承認申請時には、医療用医薬品に準じて、臨床試験として皮膚科専門医の管理下のもとで長期安全性試験の実施を求めるとされた。また白斑事故の拡大は、製造販売業者による副作用情報の収集体制の不備及び情報入手後の国への報告等の対応の遅れが要因と考えられ、企業から国への副作用報告制度の強化が必要であり、副作用報告の対象範囲を広げるべきと提言した。製造販売後調査手法の具体的な工夫、製品の添付文書の充実の内容についても提言した。

研究分担者

石川 治 群馬大学大学院医学系研究科教授
最上知子 国立医薬品食品衛生研究所代謝生化学部長
秋山卓美 国立医薬品食品衛生研究所生活衛生化学部室長

研究協力者

岩月 啓 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚科学教授
飯島正文 昭和大学名誉教授
川島 眞 東京女子医科大学皮膚科教授
小島 肇 国立医薬品食品衛生研究所薬理部室長
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
杉林堅次 城西大学薬学部教授

A. 研究目的

4-(4-ヒドロキシフェニル)-2-ブタノール（ロドデノール）を配合した薬用化粧品は、医薬部外品として、平成 18 年 7 月に申請され、薬事・食品衛生審議会化粧品・医薬部外品部会における審議を踏まえ、平成 20 年 1 月に「メラニンの生成を抑え、しみ、そばかすを防ぐ等」の効能効果で承認されたものである。本化粧品を使用後に白斑（肌がまだらに白くなった状態）になったとの報告が寄せられ、平成 25 年 7 月 4 日から製造販売業者が自主回収を実施した。カネボウ化粧品によると、平成 26 年 3 月末までに、1 万 8 千人以上から白斑様症状の申し出があり、約 70 万個の製品を回収している。

ロドデノール配合薬用化粧品による白斑発症問題については、日本皮膚科学会等でも原因究明を進めているところであるが、厚生労働省として再発防止に向けた検討を進める必要があることから、厚生労働科学研究として本事業を行うことにした。本研究では製造販売業者及び関

連学会と連携して、ロドデノールによる白斑発症の原因究明を臨床及び基礎の両面から進める。本研究ではさらに、現状の医薬部外品の承認申請に係る試験方法、製造販売後調査方法、副作用報告制度や適正使用に関する注意喚起の方法などを調査し、再発防止の観点から、新たな医薬部外品の承認審査・製造販売後安全対策の方策を検討することにした。

B. 研究方法

1. 原因究明に関する研究（臨床解析）

ロドデノール含有化粧品による皮膚傷害が報道されて以降に、白斑を主訴として群馬大学医学部附属病院皮膚科外来を受診した新規患者、及びそれ以前に尋常性白斑として通院加療中であった患者でロドデノール含有化粧品の使用歴が確認された患者を解析した。

（倫理面への配慮）

本研究に先立ち、患者には研究内容を説明し、文書による同意（承諾書）を得ている。

2. 原因究明に関する研究（基礎研究）

2-1. ロドデノールおよび類似物質による白斑に関する文献調査

化学物質により誘導される白斑、皮膚脱色素斑形成に関する論文を収集し調査した。また、カネボウ化粧品より提供された非臨床試験に関する報告書「ロドデノール配合化粧品の使用による白斑様症状の病態形成メカニズムに関する研究」（参考資料）も検討した。

2-2. ロドデノールの品質及び代謝試験

ロドデノールの純度及び製品中含量を定量した。さらにロドデノールの合成原料であるラズベリーケトン¹の混入量を HPLC または LC/MS で分析した。キラルカラムを用いて、ロドデノールの光学異性体存在比を求めた。これらの化合物についてチロシナーゼの代謝実験を行い、生成物を HPLC または LC/MS で分析した。

3. 再発防止に関する研究

ロドデノール配合薬用化粧品の承認申請時に

提出された資料、現行の医薬部外品の承認申請時に求められる非臨床試験、臨床試験の種類及び方法、製造販売後調査手法、副作用報告制度、製造販売後の安全管理の基準、適正使用に関する注意喚起の方法等を調査し、今後の医薬部外品の安全性確保のあり方について検討した。

C. 研究結果

1. 群馬大学皮膚科におけるロドデノール誘発性脱色素斑患者の臨床解析

研究班員所属施設の 54 例（男性 1 名、女性 53 名。年齢分布は 29 歳から 81 歳、平均 55 歳）について解析した。含有化粧品を 1 年以上使用していた方が 85% で、約半数の患者で使用開始 1 年以内に脱色素斑が出現していた。掻痒感は 44% の患者に、紅斑は 35% の患者に存在した。使用中止後 74% の患者に白斑の改善が見られている。顔面、頸部では色素再生が早く、手背や上肢では色素再生が遅い傾向があった。白斑の面積に関しては、40% の患者で顔面全体に及び、頸部と手背では狭くなる傾向にあった。脱色素斑部の病理所見では、白斑部表皮内のメラノサイトの消失と、真皮上層へのメラニンの滴落、真皮脈管周囲の単核球浸潤がみられた。

2. 基礎からの分析

基礎からの原因究明に関して、①ロドデノール類似化合物による白斑症状について文献情報を調査し、②ロドデノール原薬および製品サンプルの品質、代謝と毒性、③カネボウ化粧品より提供されたロドデノールの非臨床試験結果について評価を行った。

2-1. ロドデノール類似物質による白斑症状に関する文献調査

化学物質により皮膚に白斑/脱色素斑が生じる現象は古くより知られ、1939 年にヒドロキノンモノベンジルエーテル (MBEH) を扱う工場労働者での発症が、引き続き 4-*tert*-ブチルフェノール (4-TBP) などの職業性白斑事例が報告されている。黒色モルモットへの高濃度塗布に

より皮膚色素脱失が確認され、構造活性の検討から、白斑/脱色素斑を誘導する化学物質の代表的なクラスが「パラ位に脂肪族/芳香族側鎖を持つフェノール・カテコール類」と結論されている。

2-1-1. メラノサイト選択的な毒性発現

4-TBP と MBEH は特に顕著な作用を示し、メラノサイトへの直接作用と免疫系を介する二相性の作用によって皮膚のメラニンとメラノサイトが減少・消失する機序が提唱されている。

4-TBP と MBEH のメラノサイトへの直接作用にはメラニン合成系が大きく関わる。4-TBP と MBEH はメラニン合成を阻害するとともにチロシナーゼにより代謝され、活性酸素種 ROS の産生を増加することが確認され、酸化ストレスの増加がメラノサイト選択的な毒性発現に関わると考えられている。

2-1-2. 免疫の誘導

4-TBP と MBEH のメラノサイトに対する毒性は強力ではない (IC₅₀ 値は数百 μM である) ことから、メラノサイトに対する免疫応答が色素脱失作用に大きな役割を持つと予想されている。遅延型アレルギー性に関して、モルモットを使った皮膚感作性試験 GPMT で 4-TBP は陰性、チロシナーゼ代謝物 4-TBC が陽性であった。MBEH はヒトでメラノサイトが存在する部位でパッチテスト陽性を示し、メラノサイトに強く関わる応答が示唆された。

4-TBP と MBEH はチロシナーゼによりカテコール体、オルトキノン体に代謝され、それぞれ SH 基やチロシナーゼへの付加反応性を獲得することから、ハプテン抗原の形成によりハプテン特異的な免疫応答が予想される。また両化合物の場合、白斑は長期間暴露された人の全てには発症せず、化合物に接触した部位以外にも広がることから、メラノサイトに対する自己免疫誘導の可能性も推定されている。(1)アポトーシス、ネクローシスの誘導、(2)メラノサイト抗原の放出、(3)メラノサイト内の小胞体ストレス応答を介する炎症性サイトカイン IL-6・IL-

8の産生など、(自己)免疫誘導につながる報告がなされている。

2-2. ロドデノール原薬・製品の品質面での評価および代謝・毒性

ロドデノールは2位に不斉炭素を持ち、鏡像異性体(R体とS体)が存在しうる。キラルカラムで分離したところピーク面積からR体とS体の存在比がほぼ1:1であることが判明した。また合成原料のラズベリーケトンによる白斑事例が報告されていることから含量を分析したところ、ロドデノールに対しラズベリーケトンの重量比は0.04%以下であり、製品に配合されるロドデノールの純度は非常に高いことがわかった。また、製品へのロドデノール配合量は約2%であることを確認した。

ロドデノールがチロシナーゼおよびメラノサイトによって水酸化体に代謝されること、水酸化体はロドデノールより10倍以上強力な細胞毒性を示すことを確認した。

2-3. カネボウ化粧品による非臨床試験報告

ロドデノールを褐色モルモットに高濃度塗布し、皮膚内色素とメラノサイトの減少が確認された。4-TBPの報告と同様に、ロドデノールによる脱色素斑の回復が観察されている。

ロドデノールのメラノサイトに対する毒性はチロシナーゼ活性に大きく依存しており、ヒトメラノサイトはロドデノール高感受性群と低感受性群に分かれた。しかしROSは検出されなかった。

ロドデノールに感受性の高いメラノサイトにおいても毒性のIC₅₀値は数百μMであった。しかしながらロドデノール処理ケラチノサイトにおいて炎症性サイトカイン産生は認められなかった。また皮膚感作性試験GPMTおよびLLNAにおいてロドデノールは陰性、高感度GPMT改変法であるCCETで疑わしい皮膚反応が認められた。光感作性はAS-AAおよびHaberの両試験で陰性であった。

一方、ロドデノール処理メラノサイトでは、小胞体ストレス応答の誘導が認められた。

3. 再発防止策について

既存の承認審査・市販後安全対策の方策について整理し、非臨床、臨床及び製造販売後のそれぞれの段階における対応方を検討した。

3-1. 非臨床試験

申請段階で実施された試験項目で本症例を予期することは困難であった。試験項目の追加の必要性については、原因究明の結果を踏まえる。

3-2. 臨床試験

新有効成分含有薬用化粧品の承認申請時には、臨床試験として、ヒトパッチ試験及び効能・効果に関するヒト使用成績試験の実施を求めている。これに加え、長期安全性試験を皮膚科専門医の管理下で実施するべきで、具体的方法については今後検討することにした。化粧品を重ね塗りする可能性を考慮した臨床試験の用量設定も重要であるとした。

3-3. 製造販売後調査

ロドデノール配合薬用化粧品については、承認後2年間で約1200例の製造販売後調査が実施されたが、調査の中で白斑の症例は確認できなかった。対面販売の実態を利用した製造販売後調査を検討してはどうか、調査に皮膚科専門医が関与すべきとの意見が出された。これを踏まえ、医薬部外品の製造販売後調査の実施方法についてガイドライン等を作成すべきとされた。

3-4. 副作用報告

副作用の情報を迅速に把握し必要な安全対策を取ることで、健康被害の拡大を防ぐことを目的として、副作用等の国への報告が義務付けられている。医薬部外品・化粧品の場合、学術論文や学会報告等の研究報告のみが報告対象とされていた。今回のロドデノールによる白斑は、製造販売業者による副作用情報の収集体制の不備及び情報入手後の国への報告等の対応の遅れも被害拡大の一因と指摘されている。医薬部外品・化粧品について副作用報告制度の強化が必要であるとし、個別症例報告を法令上義務化するとともに、重篤な副作用症例の対象範囲

を拡大することを求めた。

3-5. 製造販売後の安全管理の基準 (GVP)

GVP 省令において製品の安全性に関する情報の収集、検討及びその結果に基づく必要な措置の立案、実施が義務付けられている。医薬部外品・化粧品の製造販売業者については、「学会報告、文献報告その他研究報告に関する情報」及び「その他安全管理情報」のみが収集対象とされていた。研究班は、収集対象として医療関係者からの情報や行政機関からの情報等を追加すべきと意見した。

3-6. 使用上の注意

化粧品の使用上の注意事項の表示として、赤味、はれ、かゆみ、刺激の注意はあるが、白斑を示す皮膚の色の変化については記載がない。この表現を追加すべきとの意見があった。

D. 考察

1. 原因究明に関する検討

1-1. 臨床からの分析

ロドデノールによる白斑が獲得免疫のアレルギー反応を介する場合は掻痒と紅斑を伴うが、細胞毒性によっても二次的に炎症反応が惹起され掻痒と紅斑をきたすことがある。ロドデノールで白斑を生じた患者の中にも掻痒と紅斑を伴う人がおり、鑑別するため6例にパッチテストを実施したが、いずれも陰性であった。今回のロドデノールがどちらの機序を介するかを明らかにするためには、多くの症例での検討が必要と考えられる。

研究班員所属施設における患者については製品の使用中止後74%に改善傾向が認められており、日本皮膚科学会の中間報告とほぼ同じ割合であった。部位による色素再生の早遅の理由は不明である。対象とした症例で治療内容による改善程度に差は見られず、この色素再生は自然経過によるものと推定した。改善が見られない症例に対する治療、あるいは改善を促進する治療を確立することが臨床的には最も重要であ

り、尋常性白斑で行われる皮膚移植も選択肢に入ると思われる。

1-2. 基礎からの分析

1-2-1. 類似化合物による白斑症状事例とその機序

4-TBPやMBEHなどのフェノール/カテコール誘導体は、工場労働での暴露などにより職業性白斑を生じた事例が報告され、黒色モルモットで皮膚色素脱失作用が確認されている。これらのフェノール誘導体の場合、皮膚色素脱失のメカニズムは、メラノサイトへの直接作用と免疫系を介する二相性の作用と考えられている。メラノサイトへの直接作用にはメラニン合成系が大きく関わり、メラニン合成阻害とともにROS産生が確認され、4-TBPやMBEHがチロシナーゼで代謝されて酸化ストレスを増大し細胞を傷害する機序が推定されている。

4-TBPやMBEHのメラノサイト毒性は強力ではなく、免疫応答の誘導が色素脱失に大きく寄与することが予想されている。チロシナーゼ代謝によるハプテン抗原形成によりハプテン特異的な免疫応答が予想される。加えてメラノサイトへの自己免疫の誘導が、発症の個人差、全身性の進行、病変部への細胞障害性T細胞の浸潤などから予測されており、細胞死誘導やチロシナーゼ修飾に伴うメラノソーム抗原の放出など、自己免疫につながる報告がなされている。

1-2-2. ロドデノールの品質および非臨床試験結果とその評価

ロドデノールの合成原料ラズベリーケトンには白斑の事例が報告されているが、ロドデノール原薬での含量は0.04%以下であり、純度に問題は無いことが確認された。

カネボウ化粧品によるロドデノールの非臨床試験においては、褐色モルモットに高濃度塗布し、皮膚メラノサイトと色素の減少が確認された。4-TBPと同様に脱色素斑の回復も観察され、メラノサイトへの直接効果が可逆的であることを示唆している。しかしながら、職業性白斑事

例の代表的な原因物質である 4-TBP や MBEH などの報告とは動物と塗布溶剤が異なる。ロドデノールの色素脱失メカニズムについてもメラノサイトへの直接作用と免疫を介する二相性の作用と想定される。直接作用については、4-TBP や MBEH の場合と同様に、毒性発現にはチロシナーゼによる代謝が重要であり、このことがメラノサイト選択的毒性をもたらすと考えられる。具体的にはロドデノールの毒性は細胞のチロシナーゼ含量に大きく依存し、メラノサイトは感受性の異なる 2 群に分かれるとともに、代謝により生じる水酸化体がより強力な毒性を示していた。一方ロドデノールでは ROS は検出されず、メカニズム解明のためには、4-TBP や MBEH との比較解析が必要と思われる。

ロドデノールの場合もメラノサイトに対する毒性は強力ではなく、色素脱失には免疫応答が大きく寄与することも予想される。感作性・光感作性試験ではロドデノールはおおむね陰性であった。一方、4-TBP や MBEH と同様に免疫増強につながる小胞体ストレス応答が誘導されており、ロドデノールによる免疫誘導の可能性について、さらなる検討が必要と思われる。

2. 再発防止に関する検討

医薬部外品・化粧品の副作用による健康被害の再発防止のための対応方策を検討した。ロドデノール配合薬用化粧品については非臨床試験として種々の試験項目が実施されたが、今回の白斑を予期することはできなかった。追加の試験項目を課すことの必要性について引き続き議論することとした。臨床試験として、ヒトパッチ試験及び使用成績試験の実施を求めているが、医薬品外用剤に準じた長期安全性試験を皮膚科専門医の管理下で構築・実施すべきであるとの意見があり、必要な症例数と試験期間について引き続き検討することにした。化粧品は化粧水、乳液、クリームとシリーズアイテムが有り、同一有効成分を含む複数アイテムを重ね塗りする可能性がある。ロドデノールについても複数ア

イテムを使用した人で発症率が高かったと報告されている。こうしたことを考慮した臨床試験の実施方法を策定することも必要と考えた。

医薬部外品・化粧品のうち、特にリスクの高い新有効成分含有医薬部外品については、承認後一定期間の間に一定症例数の製造販売後調査を実施し、安全性に関する情報を収集するよう製造販売業者に求めている。現状、医薬部外品の製造販売後調査は必ずしも承認条件とされていないが、「新一般用医薬品」に準じた調査が行われている。問題となった白斑は現行の調査では見つからず、きめ細かな情報収集への改良が必要と考えられた。皮膚科専門医の調査への関与も有効ではないかと議論している。

製造販売業者による副作用情報の収集体制の不備及び情報入手後の国への報告等の対応の遅れが被害拡大の一因であると指摘されている。平成 23 年に、加水分解コムギ末を含有する薬用石鹸の使用者で、アナフィラキシーを発現した事例が報告されたことを受け、医療関係者から健康被害の情報を入手した場合には、これを社内においてとりまとめ研究報告するよう通知されたが、法令上の報告義務はないままであった。研究班は、医薬部外品・化粧品について副作用報告制度の強化が必要であると考え、個別症例報告を法令上義務化するとともに、白斑を想定し「治療に要する期間が 30 日以上症例」を重篤な副作用に加え報告対象に含めるべきと提言した。また製品の安全性に関する情報が、社内で一元的に扱われていなかったことが指摘されている。副作用報告の対象範囲の拡大に合わせて、医療関係者からの情報や行政機関からの情報等も GVP 上の収集対象として追加すべきであると考えた。これを受けて、平成 26 年 2 月 26 日付けで「薬事法施行規則及び医薬品、医薬部外品、化粧品及び医療機器の製造販売後安全管理の基準に関する省令の一部を改正する省令（平成 26 年厚生労働省令第 13 号）」が公布され、同年 4 月 1 日から施行されることとな

っている。

使用上の注意において、白斑及び周辺組織での色素増強を念頭に、製品の使用を中止すべき症状として、現行の「赤み、はれ、かゆみ、刺激」に加え「色抜けや黒ずみ」を追記する追加の注意喚起が必要とした。また、気付かないうちに白斑が生じていた症例を踏まえ、肌に異常が生じていないかよく注意して使用するような注意喚起が必要とした。

以上、新有効成分含有医薬部外品の安全性評価に係る臨床試験の拡充、製造販売後調査手法の工夫、副作用報告制度及びGVPの強化、製品の使用上の注意の改訂による適正使用に係る情報提供などが、医薬部外品の副作用による健康被害拡大の再発防止に有益な方策ではないかと考えた。安全性評価に係る非臨床試験、臨床試験の実施に関する検討や評価手法について、「安全性評価ガイドライン（仮称）」として取りまとめることも視野に入れ、さらに検討を進める。

E. 結論

ロドデノール配合化粧品により白斑を生じたと考えられる患者の約半数は、使用開始1年以内に脱色素斑を生じ、脱色素斑部では、表皮内のメラノサイトの消失、真皮上層へのメラニンの滴落に加え、単核球の浸潤が認められた。ロドデノール含有化粧品の使用中止後は約70%の患者で色素の回復がみられ、その回復度は上肢や手背に比べて顔面、頸部では早かった。しかし、ロドデノール含有化粧品を併用していた場合は改善に乏しいと考えられた。なお現行の治療の有無で軽快率に著明な差はなく、治療法については今後も検討が必要であった。患者の中には掻痒感や紅斑を伴う人が存在し、白斑症状と免疫系との関係が疑われた。鑑別にはパッチテストが有用と考えており、臨床面からの白斑発症機序の解明に向けた検討を進める。

基礎からの原因究明として、ロドデノール類似物質による白斑の文献情報を収集するとともに、

カネボウ化粧品から提供されたロドデノールの非臨床試験結果の評価を行った。ロドデノールは褐色モルモットのメラノサイトを著しく減少し臨床知見を裏付けるとともに、メラノサイトのチロシナーゼにより代謝されてより強力な細胞毒性を発現した。原薬の純度に問題はなかった。職業性白斑の原因となる代表的なフェノール誘導体4-TBPやMBEHの場合には、メラノサイトへの直接効果に加えて免疫系を介する二相性の作用がメラノサイト消失をもたらす機序が提唱され、チロシナーゼで代謝されることにより、①ROSを産生しメラノサイトを傷害する、②タンパク付加によりハプテン抗原を形成するメカニズムがそれぞれ明らかにされている。ロドデノールの感作性試験はおおむね陰性であったが、小胞体ストレス応答を誘導した。ロドデノールの免疫誘導については、今後の解明が必要と思われる。

医薬部外品の開発から承認審査、製造販売後までの各段階における安全性確保のための現行の枠組みについて整理し、各段階における再発防止のための対策について検討した。副作用報告制度の強化が必要であり、製品販売後も安全管理情報の収集を広く行うことが必要と提言した。今後、医薬部外品の開発段階における前臨床試験及び臨床試験のあり方、実施手法について、「安全性評価ガイドライン（仮称）」として取りまとめる予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

岸 史子, 天野博雄, 茂木精一郎, 石川 治.

当院におけるロドデノール関連脱色素斑患者のまとめ. 第81回日本皮膚科学会群馬

地方会 (2013 年 12 月)

秋山卓美, 清水久美子, 藤巻日出夫, 内野 正,
五十嵐良明. Rhododendrol および
raspberry ketone の細胞毒性発現機構. 日
本薬学会第 134 年会 (2014 年 3 月)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

II. 分担（協力）研究報告

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)

「ロドデノール配合薬用化粧品による白斑症状の原因究明・再発防止に係る研究」

分担研究報告書(平成25年度)

群馬大学皮膚科におけるロドデノール誘発性脱色素斑患者の臨床解析

研究分担者 群馬大学医学部医学系研究科皮膚科学 石川 治

研究協力者 群馬大学医学部附属病院皮膚科 岸 史子

研究要旨:

群馬大学医学部附属病院皮膚科を受診した54例を臨床的に解析した。登録患者は54例(男性1名、女性53名、年齢分布は29歳から81歳、平均55歳)、全員が定期通院し経過観察中である。ロドデノール含有化粧品を1年以上使用していた患者が85%、約半数の患者は使用開始1年以内に脱色素斑が出現していた。痒痒感は44%の、紅斑は35%の患者に存在した。使用中止後74%の患者で白斑の改善が見られている。色素再生は顔面や頸部では早く、手背や上肢では遅い傾向がみられている。白斑の面積に関しては、顔面では40%の患者で顔面全体に及び、頸部と手背では面積が狭くなる傾向にあった。白斑部を病理組織学的に検索した症例(2例)では、いずれも表皮内のメラノサイトの消失と、真皮上層へのメラニンの滴落、真皮脈管周囲の単核球浸潤がみられた。

A. 研究目的

ロドデノール含有化粧品により白斑を生じたと考えられる患者について臨床解析を行い、その特徴を明らかにする。

B. 研究方法(倫理面への配慮)

ロドデノール含有化粧品による皮膚傷害が報道されて以降に、白斑を主訴として群馬大学医学部附属病院皮膚科外来を受診した新規患者およびそれ以前に尋常性白斑として通院加療中であった患者でロドデノール含有化粧品の使用歴が確認された患者を解析対象とした。

本研究に先立ち、患者には研究内容を説明し、文書による同意(承諾書)を得ている。

C. 研究結果

H25年7月～11月に当科のロドデノール誘発性脱色素斑専門外来を受診した患者は54名で、これらの患者を対象として臨床解析した。全患者が定期的に通院しており、現在も経過を観察中である。

- ・性別：男性1名、女性53名
- ・年齢分布：29歳～81歳、平均値55歳、中央値52.5歳
- ・ロドデノール含有化粧品使用歴：3ヶ月以下；6%、3～6ヶ月以下；6%、6～12ヶ月以下；4%、12～24ヶ月以下；33%、24～36ヶ月以下；34%、36ヶ月以上；17%

- ・使用開始から脱色素斑出現までの期間：3ヶ月以下；11%，3～6ヶ月以下；13%，6～12ヶ月以下；24%，12～24ヶ月以下；19%，24～36ヶ月以下；15%，36ヶ月以上；11%，不明；7%
- ・臨床経過概要：改善あり74%；なし26%
顔面・頸部は手背等比べて改善傾向が高かった（図1）。2013年12月の時点では治療の有無による改善率の差はない。



図1. 臨床経過

左：ロドデノール含有化粧品中止1か月後（左），4か月後（右）。

明らかな改善傾向が見られる。

- ・使用部位意外の白斑の有無：あり；9%，なし；91%
- ・痒みの有無：あり；44%，なし；56%
- ・紅斑あり35%；なし65%
- ・使用したロドデノール含有化粧品の種類：1種類；18名（うち改善あり11名），2種類；13名（うち改善あり9名），3種類；7名（うち改善あり3名），4種類；5名（うち改善あり2名），5種類；2名（うち改善あり1名），6種類；3名（うち改善あり2名）
- ・脱色素斑の面積

(人)	顔面	頸部	手背	前腕	上腕
ほぼ全面	9	8	4	1	0
25-50%	14	11	5	3	0
0-25%	1	11	11	15	6

- ・ロドデノールパッチテスト

ロドデノールは日本皮膚科学会のロドデノール含有化粧品の安全性に関する特別委員会が作成した2%ロドデノール液を使用した。6例に実施したが前例陰性であった。

・病理所見（図2）：脱色素斑部では表皮内のメラノサイトの消失，真皮脈管周囲のリンパ球浸潤，真皮へのメラニンの滴落がみられた。色素斑部では表皮基底層のメラニン増強，真皮上層へのメラニンの滴落，真皮脈管周囲へのリンパ球浸潤がみられるが，表皮メラノサイトの消失はみられなかった。

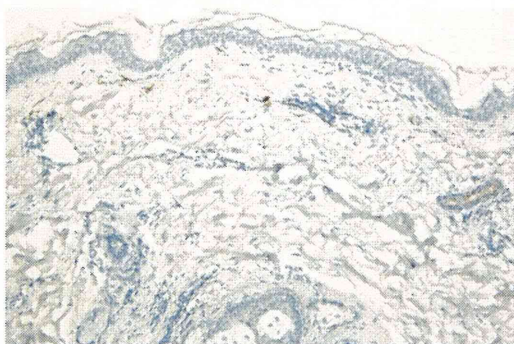


図2. 免疫組織（メラニンA染色）

白斑部では表皮内のメラノサイトが消失している。

D. 考察

最も重要な点は，1. 発症機序，2. 予後，3. 治療である。

発症機序に関しては，アレルギー機序を介さ

ないロドデノールないしその代謝産物による細胞毒性, および獲得性免疫機序を介するアレルギー反応によるものと考えられる. 通常, 後者では瘙癢と紅斑を伴うが, 細胞毒性によっても二次的に炎症反応が惹起され瘙癢や紅斑をきたす可能性もありうる. そこで両者を鑑別するためにはパッチテストが有用である. 今回の検討では 6 例前例がパッチテスト陰性であった. どちらの機序を介するかを明らかにするためには, より多くの症例での検討が必要である.

予後に関しては 74%に認められており, 日本皮膚科学会の中間報告とほぼ同じ改善割合であった. 色素再生は顔面・頸部に比べると手背・上肢では遅い傾向が見られているが, その理由は不明である.

今回対象とした症例では治療内容による改善程度に差は見られず, 色素再生は自然経過によるものと推定した. 問題となるのは改善が見られない症例に対する治療, あるいは改善を促進する治療を確立することである. これら難治例に対しては, 尋常性白斑で行われている皮膚移植 (suction blister 法により正常部から表皮を採取し, 同様に表皮を剥離した白斑部に移植する) が選択肢となるかもしれない.

E. 結論

- ・ロドデノール含有化粧品の使用中止後は約 70%の患者で色素の回復がみられた.
- ・多数のロドデノール含有化粧品を併用していた場合は改善に乏しいと考えられた.
- ・色素回復上肢や手背に比べて顔面, 頸部では早い.
- ・治療の有無で軽快率に差はなく, 治療については今後検討が必要である.

F. 健康危険情報 (総括研究報告書にまとめて記入)

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

岸 史子 天野博雄 茂木精一郎 石川 治.
当院におけるロドデノール関連脱色素斑患者のまとめ. 第 81 回日本皮膚科学会群馬地方会
2013.12. 19 前橋

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

原因究明に関する調査研究

I. ロドデノールおよび類似化学物質による白斑症状に関する文献調査

研究分担者 最上(西巻)知子 国立医薬品食品衛生研究所 代謝生化学部 部長

研究要旨

ヒトや実験動物に白斑様症状を誘導する化学物質について文献調査を行った。皮膚に白斑/色素脱失を引き起こす化学物質の代表的なクラスが「パラ位に脂肪族/芳香族側鎖を持つフェノール・カテコール類」であることが報告されている。職業的白斑の原因物質として知られる 4-tert-ブチルフェノール(4-TBP)やヒドロキノンモノベンジルエーテル(MBEH)は特に顕著な作用を示し、皮膚のメラノサイトを選択的に傷害する直接効果に加え、免疫を介する二相性の作用がメラノサイト消失をもたらすと考えられている。4-TBP や MBEH については、チロシナーゼで代謝されることにより活性酸素種 ROS を産生する直接作用に加え、代謝物が自殺基質として SH 基やチロシナーゼに付加する反応性を獲得すること、細胞死の誘導やメラノサイト抗原の放出など、ハプテン抗原形成による免疫応答や自己免疫誘導につながる作用が報告されており、個人差の大きい白斑発症との関連が推定されている。

カネボウ化粧品よりロドデノールの非臨床試験に関する報告書が提供され、褐色モルモットを用いてロドデノールの皮膚色素脱失作用が示されるとともに、皮膚感作性や光感作性はおおむね陰性の結果が示された。メラノサイトに対してロドデノールはチロシナーゼ活性に大きく依存する毒性を発揮し、メラノサイト選択性が示唆されるとともに、ヒトメラノサイトはロドデノール高感受性群と低感受性群に分かれた。免疫系の関与については今後の解明が望まれる。

A. 研究目的

ロドデノール含有化粧品の使用者に生じた白斑症状の原因究明のために、類似化合物による白斑の事例およびそのメカニズムについて、文献調査を行った。また、カネボウ化粧品より提供された非臨床試験に関する報告書「ロドデノール配合化粧品の使用による白斑様症状の病態形成メカニズムに関する研究」(参考資料)について評価を行った。

B. 研究方法

化学物質により誘導される白斑、皮膚脱色素斑形成に関する論文を、vitiligo、depigmentation、phenol、chemical leukoderma 等を検索語として探索した。内

容の検討にあたっては論文の被引用数も参考とした。また上記カネボウ化粧品より提供された非臨床試験に関する報告書との比較検討を行った。

C. 研究結果

1. 化学物質による白斑・脱色素斑症例

化学物質に接触したり暴露されたりすることにより皮膚に白斑/脱色素斑が生じる現象は古くから知られており、最初の報告は 1939 年に遡る。ゴム手袋に含まれるヒドロキノンモノベンジルエーテル(モノベンゼン, MBEH)に暴露された工場労働者 48 人中 25 人に白斑が発症し、ヒトおよび黒色モルモットの皮膚に塗布すると色素脱失が起こったことが紹介されている

(Cummings and Nordlund, 1995)。1977年には英国で4-tert-ブチルフェノール(4-TBP)を扱う工場労働者198人のうち54人に発症した事例がLancetに報告されている(James *et al*, 1977)。このような職業性白斑は特にフェノール誘導体に大量暴露された工場労働者に高頻度に発生しており、動物実験を含めた詳細な文献調査に基づき、皮膚のメラノサイトを選択的に減少、あるいは消失させて白斑・脱色素斑形成を誘導する化学物質の代表的なクラスが「パラ位に脂肪族/芳香族側鎖を持つフェノール・カテコール類」であることが報告されている(Cummings and Nordlund, 1995; Boissy and Manga, 2004) (図1)。置換基の側鎖が長いノニルフェノールやオクチルフェノールを扱う工場労働者には白斑は認められないが異論もある(James *et al*, 1977)。

白斑の原因とされる多くの化合物は主に接触した場所のみ局所的な色素脱失を起こすが、化合物によっては白斑は暴露された場所から離れた場所にも広がる。4-TBP および MBEH は特に顕著な作用を有しており、作用機構の研究が進められている。

2. 化学物質による実験動物での皮膚色素脱失

職業性白斑がはじめて報告された MBEH が皮膚色素脱失を起こすことは、黒色モルモットを使って確認されている(Peck and Sobotka, 1941)。MBEH を5ヶ月間混餌投与しても外皮に影響は認められなかったが、皮膚に50%軟膏あるいはエーテル溶液を塗布すると数週間から数ヶ月で色素が消失した。

4-TBP およびそのチロシナーゼによる代謝産物4-tert-ブチルカテコール(4-TBC)についても黒色モルモットを用いて検討され、4-TBP および 4-TBC の10%DMSOあるいはプロピレングリコール溶液を3週間毎日皮膚に塗布すると強力な色素脱失が生じた。色素低下は3ヶ月までに回復したことが報告されている(Gellin *et al*, 1970)。

アルキル置換カテコール類の脱色素作用についても、黒色モルモットを用いて構造活性相関が検討されている。1~10%含有のクリームを皮膚に1ヶ月間

塗布すると、4-イソプロピルカテコールに最も強力な色素脱失効果が認められ、適用部位の皮膚からはメラノサイトや色素顆粒が消失した。この報告では脱色素化合物に分類されるメルカプトアミン類も評価し、N-(2-メルカプトエチル)-ジメチルアミンに弱い効果を認めている(Bleehen *et al*, 1968)。

3. メラノサイト選択的な毒性発現—チロシナーゼによる代謝と酸化ストレス仮説

4-TBP および MBEH はチロシナーゼを阻害しメラニン合成を低下するとともに、メラノサイトを選択的に傷害することにより皮膚色素脱失が誘導される機序が考えられている。これらの化合物は *in vitro* で皮膚角化細胞(ケラノチサイト)よりメラノサイトに高い毒性を示す(Yang *et al*, 2000; Hariharan *et al*, 2010)。

皮膚色素であるメラニンチロシナーゼを初発酵素とする複数の過程を経て合成される(図2)。4-TBP および MBEH はメラニン前駆体であるチロシンに似た構造を持ち、チロシナーゼを阻害するが(Yang *et al*, 1999; van den Boorn *et al*, 2011)、チロシナーゼにより代謝されてメラノサイト選択的な毒性を発現する機序が提唱されている。

チロシンがチロシナーゼによりドーパを経てドーパキノンに転換されると同様に(図2)、4-TBP もチロシナーゼにより4-tert-ブチルカテコール(4-TBC)、続いてオルトキノン体である tert-ブチル-o-ベンゾキノンに代謝される(図3左)。これに伴い、セミキノンフリーラジカルやパーオキシド、活性酸素種 ROS 産生が促進され細胞を傷害する機序が提唱され(Boissy and Manga, 2004)、実際に4-TBP 処理メラノサイトでは ROS 産生が促進することが示されている(Manga *et al*, 2006)。同様にオルトキノン体に代謝される MBEH (図3右)も、メラノサイトでは ROS 産生を増加する(van den Boorn *et al*, 2011)。

4-TBP の代謝により生じる酸化ストレスにより、遺伝的に弱いメラノサイト、例えば細胞内のラジカルスカベンジ系に欠陥を持つような細胞が傷害される可能性が想定されている。白斑症(vitiligo)の患者では表

皮メラノサイトにおける過酸化水素レベルが高いことが知られており (Dell'anna and Picardo, 2006)、また白斑患者由来のメラノサイトは培地にカタラーゼを添加すると 4-TBP による細胞毒性が低減することから (Manga *et al.*, 2006)、白斑発症には酸化ストレスに対するメラノサイトの耐性/感受性が大きく関わっており、4-TBP による酸化ストレスの増加が発症の引き金になる可能性が推定されている (Manga *et al.*, 2006; Boissy and Manga, 2004)。

4-TBP や MBEH の細胞毒性は細胞のチロシナーゼレベルとは一致しないが、メラニン合成系とは密接に関わることが報告されている。チロシナーゼを欠損するメラノサイトにおいても 4-TBP の細胞毒性は認められ、チロシナーゼを過剰発現しても変わらない (Yang *et al.*, 2000)。4-TBP の細胞毒性は、むしろチロシナーゼ関連タンパク質 1 (TYRP1) を過剰発現すると増強されることから、TYRP1 の関与が示唆されている (Boissy and Manga, 2004; Manga *et al.*, 2006)。TYRP1 はメラニン合成の下流においてインドールキノン産生に関わる酵素である。

MBEH の細胞毒性もチロシナーゼ活性とは相関せず、細胞にチロシナーゼを過剰発現させても MBEH 感受性は変わらなかった (van den Boorn, 2011)。細胞内のメラニン量と MBEH 感受性は逆相関する報告もなされ、MBEH はメラニン合成系発現を促進し、メラニン合成が酸化ストレスに対して保護的に働くことが感受性に影響する可能性が推定されている (Hariharan *et al.*, 2010)。

4. 皮膚感作性

4-TBP の白斑形成に遅延型アレルギーに関わる可能性について、モルモットを使った感作性試験 GPMT (Guinea Pig Maximization Test) が行われた。4-TBP の感作性は認められなかったが、4-TBP のチロシナーゼ代謝で生じる 4-TBC は強力な感作性と 4-TBP との交差反応性を示した (Zimerson *et al.*, 1999)。

MBEH については、ヒト (健常人) でパッチテストを行うと陽性は 1.2%であったが、皮膚色素過剰症患者

に 2~6 ヶ月塗布すると 13%の人に感作性を示し、皮膚炎を発症した (Lerner and Fitzpatrick, 1953)。白斑症の患者に塗布すると有色部に皮膚炎を発症し、パッチテストでメラノサイトが存在する部位にのみ炎症を起こすことが報告されている (Nordlund *et al.*, 1985)。

5. 免疫系の関与

MBEH や 4-TBP の毒性はそれほど強くなく、いずれも IC50 は数百 μM のレベルである。また白斑発症には個人差が大きいことから、発症には免疫系が関与することが推定されている。まず、(1)4-TBP がメラノサイトにアポトーシスを誘導する感受性が、樹状細胞とのコミュニケーションにより増大することが報告されている (Kroll *et al.*, 2005)。また、(2)MBEH および 4-TBP はメラノサイト生存率に大きく影響しない濃度 (250 および 300 μM) で小胞体ストレス応答 (unfolded protein response: UPR) を誘導し、免疫応答増強につながるサイトカイン IL-6・IL-8 産生を誘導することが報告されている (Toosi *et al.*, 2012)。

また、(3)MBEH や 4-TBP はチロシナーゼで活性代謝物に代謝され、ハプテン抗原となり得るタンパク付加体を形成することが明らかにされている。メラニン生合成経路において、チロシンがチロシナーゼによりドーパを経て産生されるドーパキノンは、分子内のアミノ基が付加してインドールに環化し、あるいはシステインの SH 基と Michael 付加反応し、それぞれユウメラニン、フェオメラニンへと合成される (図 2)。4-TBP もチロシナーゼにより 4-tert-ブチルカテコール、続いてオルトキノン体である tert-ブチル-o-ベンゾキノンに代謝され、グルタチオンやタンパクの SH 基に Michael 付加する反応性を獲得する (Thornerby-Andersson *et al.*, 2000) (図 3 左)。MBEH も同様にオルトキノン体 4-ベンゾキシ-1,2-ベンゾキノンに代謝され、SH 基と付加反応する (Manini *et al.*, 2009) (図 3)、あるいはチロシナーゼの SH 基とも反応し、酵素を不可逆的に阻害してメラニン合成を低下する (van den Boorn *et al.*, 2011a)。このようなタンパク修飾体がハプテン抗原として提示され、ハプテン特異的な免疫応

答が誘導される機序が提唱されている (Becker and Schrama, 2011)。

6. 化学物質による自己免疫の誘導

白斑には様々な病因の疾患が含まれるが、頻度の高い尋常性白斑については、自己免疫性の疾患と考えられている。環境要因や生理的要因が引き金となって局所的なメラノサイトの死をもたらし、メラノサイト抗原が提示され、自己免疫応答を引き起こす。その結果、メラノサイトの破壊は全身に、離れた場所にも起こるとする説が広く受け入れられている (Manga and Orlow, 2012; Passeron and Ortonne, 2012)。実際に白斑患者の皮膚脱色部位には T 細胞が浸潤していることが知られている (Le Poole *et al*, 2004)。

職業性白斑の事例においても、白斑は 4-TBP や MBEH に長期間暴露された人全てには発症せず、また化合物に接触した部位以外にも広がることから、化学物質が引き金となって自己免疫が誘導され、メラノサイトが破壊される機序が推定されている (Boissy and Manga, 2004)。

MBEH は尋常性白斑の患者において、脱色素斑を目立たなくする目的で正常な皮膚を脱色素する薬として FDA に認可されている。MBEH を塗布した直後の脱色は局所に起こるが、数ヶ月後には予期せぬ場所に起こる場合が知られている。脱色素部位の皮膚には CD8 陽性の細胞障害性 T 細胞が浸潤していたことから、メラノサイトが特異的に攻撃される自己免疫応答が示唆されている (Becker and Schrama, 2011; van den Boorn *et al*, 2011b)。MBEH を皮膚に塗布するとメラノサイトへの自己免疫応答を誘導することは、メラノーマを移植したマウスで確認されている (van den Boorn *et al*, 2010)。

MBEH などの化学物質が自己免疫応答を誘導するメカニズムとして、(1) MBEH によるメラノサイトの死が抗原提示を促進する可能性が提唱されている (Hariharan *et al*, 2011)。また、(2) 上述した MBEH 代謝物のチロシナーゼ修飾に伴い、メラノサイト抗原を含むエクソソームがメラノサイトから放出されること

が報告されている (van den Boorn *et al*, 2011a)。

7. カネボウ化粧品による非臨床試験報告書の概要

ロドデノール (4-(4-ヒドロキシフェニル)-2-ブタノール) の皮膚色素脱失作用については、褐色モルモットの皮膚に 30% (50% エタノール) 溶液を 1 日 3 回塗布し、確認されている。開始 17~21 日で皮膚の高度白色化、31~98 日の時点で皮膚基底部のメラノサイトや表皮全体のメラニン顆粒の減少が認められた。また塗布休止 31~52 日での回復が報告されている (カネボウ化粧品報告書 2-1-1)。

ロドデノールのメラノサイト生存率に及ぼす影響については、チロシナーゼ活性に大きく依存する結果が得られている。メラノサイトのロドデノール感受性は細胞のラインにより大きく異なっており、13 ラインの IC₅₀ 値は 0.14~0.54mM と 5.54~6.8mM の二群に分かれ、前者はチロシナーゼ活性が高く、後者は低い傾向が認められた。同一ラインのメラノサイトにおいてチロシナーゼを siRNA ノックダウンで 50% 低下させた場合には IC₅₀ 値は 0.052mM から 5.9mM に増加した。チロシナーゼ阻害剤 (フェニルチオウレア) によっても毒性が低減された。またチロシナーゼ代謝産物と想定されるロドデノールの水酸化体 4-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-2-ブタノールの 2 種のメラノサイトラインに対する IC₅₀ 値はそれぞれ、0.19mM、<0.1mM とロドデノールの 6.6mM、7.3mM に比較して低いことから、ロドデノールの細胞毒性の発現にはチロシナーゼが大きく関わることを示されている。ロドデノール (~1mM) による ROS の産生は認められていない。一方、表皮角化細胞に対する細胞毒性は 1mM 以下では認められなかった (カネボウ化粧品報告書 2-2, 2-3-1, 2-3-2)。

免疫応答の関与について、ロドデノール処理ケラチノサイトにおいて炎症性サイトカイン産生は認められなかった。またロドデノールの皮膚感作性については GPMT および LLNA (Local Lymph Node Assay) 試験では認められなかった (カネボウ化粧品報告書 2-2-1)。CCET (Cumulative Contact Enhancement

Test)では高濃度群で疑わしい皮膚反応が認められ、連続した閉鎖貼付の影響が示唆されている。光感作性評価については AS-AA (Adjuvant-Strip-AA) および Harber の両試験で陰性であった。なおマウスを使用する LLNA 以外の試験では褐色モルモットが使用されている。(カネボウ化粧品報告書 2-1-2)。

ロドデノールはメラノサイトの小胞体ストレス応答を誘導し、eIF2 α のリン酸化と炎症性サイトカイン IL-8 の遺伝子発現を誘導した。またこれらの応答はチロシナーゼ阻害により抑制されることが示されている(カネボウ化粧品報告書 2-3-3)。

8. 本研究班におけるロドデノール代謝・毒性試験

本研究班において協力研究者秋山は、ロドデノールの水酸化体 4-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-2-ブタノールがチロシナーゼ(マッシュルーム)およびヒトメラノサイトにより産生されること(図 2)、ロドデノールに比較し水酸化体はより強い細胞毒性を示すことを明らかにしている(分担研究報告書 II)。

D. 考察

1. 類似化学物質による白斑/脱色素斑形成の機序

化学物質による白斑については毒性学の教科書において、チロシンに似た構造を持つフェノール化合物が皮膚の色素低下・脱失を起こす事例が紹介されている(Casarett & Doull's, Toxicology: The Basic Science of Poisons 8th Edition, pp851-852)。また皮膚科専門誌の総説においても、ヒトや実験動物で皮膚脱色素作用を示す代表的な化学物質が「パラ位に脂肪族/芳香族側鎖を持つフェノール/カテコール類」に分類され(Cummings and Nordlund, 1995; Boissy and Manga, 2004)、研究の対象は米国では臨床で用いられる MBEH と、強力な職業性白斑の事例が知られる 4-TBP についてのメカニズムの解明にある。

4-TBP と MBEH による皮膚色素脱失の場合は、メラノサイトへの直接作用と免疫系を介する作用との二相性であると考えられている(Becker and Schrama, 2011)。直接の色素脱失にはメラニン合成系が毒性

発現に大きく関わる。4-TBP と MBEH はメラニン合成を阻害するとともにチロシナーゼにより代謝されて ROS を増加することが確認され、酸化ストレス増加がメラノサイト選択的な毒性発現をもたらすと考えられている。

しかしながら 4-TBP と MBEH の毒性は強力ではなく、また細胞選択性も高くはない(Becker and Schrama, 2011)。そこで、免疫応答やメラノサイトに対する自己免疫誘導が色素脱失作用に大きな役割を持つことが推定されている(Passeron and Ortonne, 2012; Toosi *et al*, 2012)。MBEH の事例では全身性の進行、病変部に細胞障害性 T 細胞が浸潤、発症の個人差など、(尋常性)白斑患者と同様の症状から、メラノサイトに対する自己免疫の誘導が推定されている(Manga and Orlow, 2012)。

フェノール誘導体により化合物への免疫/自己免疫が誘導/増強される機序として、(1) 4-TBP・MBEH 修飾によるチロシナーゼハプテン抗原形成(Thornerby-Andersson *et al*, 2000; van den Boorn *et al*, 2011a)とメラノサイト抗原の放出(van den Boorn *et al*, 2011b; Becker and Schrama, 2011)、(2)ネクローシス/アポトーシスによるメラノサイトの死と樹状細胞による増強(Kroll *et al*, 2005)、(3)小胞体ストレス応答を介する炎症性サイトカイン産生促進が提唱されているが(Passeron and Ortonne, 2012)、完全な証明にはまだ不十分であり、今後の展開が期待される。

職業性白斑の事例において、遺伝的な要因が感受性の違い/個人差をもたらすと考えられている(Boissy and Manga, 2004)。白斑疾患は自己免疫の引き金を引くことにより発症するとする説が受け入れられており、化学物質は引き金となる環境要因のひとつと解釈されている(Manga and Orlow, 2012; Passeron and Ortonne, 2012)。尋常性白斑に関連が見いだされた遺伝子の多型、また MHC (HLA) クラス I の解析が、化学物質による白斑発症の原因究明の手がかりになる可能性も大きいと考えている。

2. カネボウ化粧品による非臨床試験「ロドデノール