

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

ロドデノールによる白斑発症機序の解明に係る調査研究を行い、再発防止策を提案した。

1. 発症機序の解明に係る調査研究

ロドデノール誘発性白斑症例 170 例を、使用部位以外には白斑の拡大のない患者(典型例)と、使用部位以外に脱色素斑を生じ中止後も脱色素斑が新生・拡大する進行性白斑病変を生じた患者(非典型例、遠隔拡大例)とに分類し、患者背景、初診時症状、既往歴、ロドデノール使用中止後の臨床経過像、血液検査及び病理学的検査結果を比較、解析した。非典型例は 29 例認められた。抗甲状腺抗体や抗核抗体の陽性率、メラノファージの有無及びメラノサイトの残存率、CD8 陽性細胞優位の細胞免疫応答像及び細胞浸潤度等は、非典型例、典型例および尋常性白斑例において差はなかった。非典型例では白毛やサットン現象など、免疫学的機序を介するメラノサイトの傷害が示唆される症例が確認され、傷害されたメラノサイトに対する自己免疫異常反応の誘導、あるいはロドデノールが尋常性白斑のトリガーとなる可能性が考察された。

ロドデノールは培養メラノサイトに対しチロシナーゼ活性に依存する毒性を発揮することが報告されている。白斑誘導性の類似化合物と同様に、ロドデノールはチロシナーゼにより反応性の高いオルトキノン体へと代謝され、グルタチオン等の SH 基と反応するとともにタンパクを修飾することが報告されており、本研究班においてもオルトキノン体の生成を防ぐとメラノサイト毒性が低減する知見を得た。メラノサイトは個体差が大きいことから、適切な感受性を有する細胞系の選択が美白剤の安全性評価に重要と考えられた。

2. 再発防止に向けた対応策の検討

薬用化粧品による白斑等の健康被害の再発防止の観点から、医薬部外品の承認審査、製造販売後安全対策における今後の対処方針について検討を行った。昨年度提言を行った副作用報告制度の強化及び製造販売後の安全管理の基準の改正に引き続いて、医薬部外品の承認申請区分の改正、皮膚適用製品を主な対象とした医薬部外品安全性評価ガイドライン(仮称)作成、長期投与(安全性)試験の試験設定、使用上の注意の改訂及び製造販売後調査ガイドラインについて新たに提言を行った。

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

岩月啓氏 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
藤井まき子 昭和薬科大学准教授

A. 研究目的

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「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が、本化粧品を使用後に白斑(肌がまだらに白くなった状態)になったとの健康被害の報告が寄せられ、平成 25 年 7 月以降、製品の自主回収が行われた。本研究では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とともに、再発防止を目的とした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。

ロドデノール誘発性白斑と診断された患者では、ヒドロキノンモノベンジルエーテル(MBEH)など 4-置換フェノール化合物による白斑と同様に、中止後も脱色素斑が新生・拡大する症例や、非使用部位にも脱色素斑が現れる非典型的な症例が散見されることがわかった。そこで、ロドデノール含有化粧品使用中止一年後における色素再生率、治療有効性を調査するとともに、典型例、非典型例、尋常性白斑例の患者背景、症状、既往歴、血液検査、病理学的検査、及び経過に違いがあるのかを明らかにする。

日本皮膚科学会でも、診断方法、治療方法の確立を目的として、病態解明が進められている。ロドデノールの皮膚メラノサイト傷害の機序について、チロシナーゼによる代謝と、チロシナーゼ活性に依存した毒性発現が報告されている。白斑発症との関連について、白斑誘導性 4-置換フェノール類の文献情報を調査するとともに、確認を試みた。

さらに、上記原因究明に関する調査研究結果等を踏まえ、再発防止の観点から、医薬部外品の承

認審査及び製造販売後における安全性に関するデータの収集・解析手法のあり方について提言することを目的とする。

B. 研究方法

1. 原因究明に関する研究(臨床解析)

2014 年 10 月までに、白斑を主訴として群馬大学医学部附属病院皮膚科(機関 G)外来を受診し、ロドデノール誘発性白斑と診断した 70 症例を対象とし、典型例、非典型例に分類し、初診およびロドデノール中止後 1 年(～1 年 3 か月)の経過につき詳細な問診、診察、検査を行い、二群を統計学的に分析した。

岡山大学病院及び関連病院(機関 O)を受診したロドデノール誘発性白斑症例 100 例について、患者背景、症状、既往歴、血液検査、病理学的検査、及び経過を比較、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)

ロドデノールや白斑誘導性の類似化合物によるメラノサイト選択的毒性とその機序について、文献調査を行った。さらにマウスやヒトのメラノーマ細胞、正常ヒトメラノサイト等を用い、毒性発現とチロシナーゼの関与を検証した。またアスコルビン酸による還元反応を利用し、チロシナーゼ代謝物の変化と細胞毒性との関係を解析した。

3. 再発防止に関する研究

医薬部外品の承認申請時から市販後の安全管理までの各段階を調査し、承認申請区分の細分化、安全性評価法のあり方、長期投与(安全性)試験の方法(症例数、期間等含む)、製造販売後調査方法について検討した。

C. 研究結果

1. 原因究明に関する研究(臨床解析)

1) 機関 G における臨床例

ロドデノール誘発性白斑と診断した 70 症例を

対象とし、使用部位以外には白斑の拡大のない典型例(57例)、使用部位以外に進行性白斑病変を生じた非典型例(13例)に分類し、患者背景、初診時現症、ロドデノール使用中後1年の経過につき臨床的に比較検討した。典型例と非典型例の年齢、化粧品数、使用期間、既往歴に差はなかった。非典型例では完全脱色素斑、紅斑を伴う症例が多かった。抗核抗体、抗甲状腺抗体、IgE等の異常値をもつ症例があるものの、どれも典型例の方が多くみられた。ロドデノールでのパッチテストでは全例が陰性であった。1年後の経過では、顔面頸部は躯幹四肢に比べ色素が再生しやすく、非典型例の顔面頸部でも典型例には劣るものの、8割以上で色素再生傾向がみられた。非典型例の躯幹四肢では拡大増悪例が55.6%を占めていた。その他、非典型例では白毛やサットン現象など、メラノサイトの障害をうかがわせる所見を伴う症例もあった。

活性型ビタミンD3軟膏、タクロリムス含有軟膏外用は外用無しの群と比較し色素再生率の差は出なかった。また、ビタミンC内服、光線療法においても治療効果に有意差は出なかった。(平成26年度分担研究報告書 石川)

2) 機関Oにおける臨床例

ロドデノール誘発性白斑症例100例について、使用部位以外に進行性白斑病変を生じた患者(遠隔拡大例、16例)と、使用部位以外には白斑の拡大のない患者(典型例、84例)とで、患者背景、症状、既往歴、血液検査、病理学的検査、及び経過を比較、解析した。遠隔拡大例の病変部では、尋常性白斑(対照群)と同様に、メラノサイトの減少と毛嚢メラノサイトの消失が見られ、尋常性白斑との鑑別は困難であった。遠隔拡大例には、完全脱色素斑を生じた人数が顕著に多く、ロドデノール化粧品使用中後にも不変または増悪した患者が多かった。化粧品の使用中で脱色素斑の回復治癒傾向はあるが、顔面病変と比べて、遠隔部では治癒傾向が悪かった。抗甲状腺抗体や抗核抗体の陽性率、メラノファージの有無及びメ

ラノサイトの残存率、CD8陽性細胞優位の細胞免疫応答像及び細胞浸潤度等は、非典型例、典型例および尋常性白斑例(対照群)において差はなかった。

プロトピック軟膏が有効というエビデンスは得られなかった。合併症としては、白斑周囲色素増強が問題になっている。

2. 原因究明に関する研究(基礎研究)

パラ位に脂肪族/芳香族側鎖を持つフェノール/カテコール類は、ヒトや実験動物で白斑を誘導する代表的な化学物質として分類され、職業的白斑を起こす4-tertブチルフェノール(4-TBP)やMBEH、抗メラノーマ薬候補4S-CAPやその類縁体NAc-4SCAPやNPr-4S-CAPは、メラノーマ細胞や皮膚のメラノサイトに選択的毒性を発揮することが報告されている。

ロドデノールはこれらの白斑誘導性4-置換フェノール類と同様に、チロシナーゼにより代謝されてオルトキノン体に活性化され、システインやグルタチオンなどのSH化合物に付加反応し、タンパクを修飾することが報告された。(平成26年度分担研究報告書I 最上)

オルトキノン体は活性酸素種ROS産生を介して毒性発現に関わる可能性が推定されている。オルトキノン体は極めて不安定であるが、本研究において、アスコルビン酸共存下でチロシナーゼ反応を行うとロドデノールカテコール体まで還元されること、アスコルビン酸添加培養でオルトキノンの生成を防ぐと、ロドデノールカテコール体の細胞毒性が低減されることを見いだした。(平成26年度分担研究報告書II 秋山)

ロドデノールは、メラノサイトやメラノーマ細胞に対してチロシナーゼ活性に依存する毒性を示すことが報告され、「チロシナーゼによる細胞毒性の増強」がメラノサイト選択的傷害性を介して白斑発症と強く関わる可能性が推定された。そこで本研究班において「チロシナーゼによるメラノサイト毒性の増強」の検証を試みたが、ヒトメラノサイトは細胞ロットによりロドデノール感受性に大きな差が

あることが報告されており、ロドデノール高感受性メラノサイトは入手できなかった。メラノーマ細胞の利用を検討したところ、ヒト HMV-II、マウス B16 メラノーマ、B16 4A5 細胞の感受性は高くはなく、HMV-II ではチロシナーゼ依存性は、阻害剤 siRNA ノックダウンのどちらによっても認められなかった。

4-TBP や MBEH , 4-SCAP 誘導体はメラノサイトへの直接作用に加えて、免疫応答の誘導も白斑形成に寄与することが知られている。MBEH 塗布部への細胞傷害性 T 細胞の浸潤が報告され、MBEH 暴露メラノーマ細胞による T 細胞応答の活性化が *in vitro* で示されている。NPr-4-SCAP の場合もマウスにおいて、CD8 陽性 T 細胞を介してメラノーマの増殖を抑制すること、皮膚に白斑を誘導することが報告されている。

ロドデノールの場合も 4-TBP や MBEH と同様にチロシナーゼ代謝によりタンパク結合能を獲得することが報告されており、ハプテン抗原形成の可能性が示された。(平成 26 年度分担研究報告書 I 最上)

3. 再発防止策について

非臨床、臨床及び製造販売後のそれぞれの段階において安全性を担保するよう対応方策を検討した。

1) 医薬部外品の承認申請区分の変更

既承認品と新規申請品との同一性の範囲を明確にし、有効成分、新規添加物、効能効果、含量等相違部分によって細分化することが必要として、新たな区分とその区分において添付すべき資料の範囲を決定した(具体的区分内容等については秋山の分担報告を参照)。

2) 安全性評価ガイドライン案

皮膚適用に係る新規医薬部外品の承認申請時に実施すべき試験等を内容とする安全性評価ガイドラインの作成を開始した。非臨床試験としては、平成 18 年事務連絡「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」、及

び平成 26 年事務連絡「医薬部外品の製造販売承認申請に関する質疑応答集 (Q & A) について」の新添加物の吸収・分布・代謝・排泄、光安全性等に関する考え方を取り込むこととした。原則、医薬品毒性試験法ガイドライン、遺伝毒性試験ガイドライン、がん原性試験に関するガイドライン、OECD ガイドライン等の公的に確立された試験法に従って実施する内容とすることを決定した (骨子については秋山の分担報告を参照)。

3) 長期投与 (安全性) 試験

ロドデノールを配合した薬用化粧品による白斑問題の経験を踏まえ、新有効成分含有薬用化粧品の承認申請時に実施すべき臨床試験内容について、ICH E1 ガイドラインを参考にし、白斑の発症率と発症期間を考慮して提案した。皮膚科専門医の管理下で臨床試験を構築、実施、判断することとした。収集症例数は 100 例以上 (12 か月) とし、6 ヶ月間で得られた成績をもって医薬部外品の承認申請が可能とし、その場合 12 ヶ月間使用の成績を承認前に追加提出することとした。またこの試験については、2)安全性評価ガイドラインの一部に組み込む予定である。

4) 使用上の注意

昨年度は「赤み、はれ、かゆみ、刺激」に加え「色抜け (白斑等) や黒ずみ」を追記すべきである、と提言を行った。引き続き本年度は、この改訂の対象範囲を、皮膚に適用する薬用化粧品及び化粧品全般 (ただし、必ずしも皮膚に直接適用しないもの、洗い流す用法で用いられ、皮膚への接触時間が短く、白斑の発症が想定しにくいもの、使用部位が唇に限定され、美白を目的とした成分を配合していないものを除く) と決定し、提言した。

5) 製造販売後調査

新医薬部外品の製造販売後調査の実施方法を取り決めた。調査例数は原則として 1000 例、実施期間は原則として承認後 2 年間とする。本調査はモニター店による副作用頻度調査又はアンケートの製品添付等による調査により実施するこ

とする。得られた情報は社内評価委員会、必要に応じ社外の専門家の意見を聴取して評価、1年毎に調査結果を医薬品医療機器総合機構に報告することとして提言した。

D. 考察

1. 原因究明に関する検討（臨床解析）

ロドデノール誘発性白斑症例における脱色素斑の臨床所見、色素再生過程には多様性が存在する。当初、外用中止により自然に色素は回復すると考えられていたが、脱色素斑が拡大する症例もあった（遠隔拡大例、非典型例）。こうした患者は完全脱色素斑、紅斑を伴う症例が多く、白毛、サットン現象を呈する症例もあった。遠隔拡大例の白斑部ではメラノサイトの減少、消失がみられるが、非塗布部においてもメラノサイトの変性や消失が認められた。このことは、ロドデノール代謝産物によりメラノサイトが傷害され、傷害されたメラノサイトに対する自己免疫異常反応が誘導された可能性、ロドデノールが尋常性白斑のトリガーになっている可能性を示唆する。

種々の外用剤及びチロシナーゼ阻害活性を有するビタミン C 製剤内服は、治療法として有効とはいえなかった。日本皮膚科学会の二次調査報告では光線療法が 66% で有効とあるが、個々の症例の重症度に差があり重症な症例ほど加療率が高いため、統計学的に単純比較することは難しいと思われる。合併症として白斑周囲色素増強が問題になっている。非典型例をはじめとする多くの患者が QOL を著しく損なわれており、白斑拡大への懸念や治癒見込に対する不安を募らせている。尋常性白斑を、ロドデノール誘導白斑から除外することが示されているが、臨床上で両者の区別が難しく、ロドデノールが尋常性白斑を誘発させた可能性も考えられた。今後は、ロドデノール誘発性皮膚障害の重症度、臨床経過と病型によって救済の重み付けをするとともに、病因究明と有効な治療法の確立が急務であると考えられる。

2. 原因究明に関する検討（基礎研究）

ロドデノール、ならびに職業的白斑を起こす 4-TBP や MBEH、抗メラノーマ薬候補 4-SCAP などの 4-（アルキル/アリル）置換フェノール類は、チロシンに類似した構造を有し、チロシンと同様にチロシナーゼにより代謝されてオルトキノンを生じることが報告されている。生成するオルトキノンは、活性酸素種 ROS の産生に関わり、グルタチオンとの反応等による細胞内レドックスバランスの変化、タンパク修飾により、直接または間接的に毒性発現に関わる可能性が示唆されている。アスコルビン酸の共存下ではロドデノールカテコール体の毒性が減弱した。アスコルビン酸はオルトキノンをカテコール体に還元していることから、細胞毒性はオルトキノンを引き起こしていることが間接的に示唆された。アスコルビン酸添加法は、オルトキノンのような化学的安定性が悪い代謝酸化物の細胞活性への寄与を調べるのに有用な方法と考えられた。

活性代謝物オルトキノンの生成は、細胞への毒性発現の直接の増強、あるいは免疫応答を介して、白斑発症に強く関わることで推定される。そのメカニズムの解明には、感受性が高く、入手の容易な細胞系が必要となる。ヒトメラノサイトはロット間の差（個人差）が大きいことから、その代替かつ安定に供給される細胞として、メラノーマ細胞が注目される。今後、ロドデノールや 4-置換フェノール類に対する感受性、チロシナーゼによる代謝活性化等の能力を比較検討し、適切な細胞系を選択する必要がある。白斑発症に強く関連する因子を明らかにし、その評価系が確立できれば、チロシナーゼによる代謝活性化測定法の確立とともに、美白剤の安全性評価法の策定に貢献できると考えられる。

4-TBP や MBEH、4-SCAP 誘導体はメラノサイトへの直接作用に加えて、免疫応答の誘導も白斑形成に寄与することが知られている。ロドデノールもチロシナーゼ代謝によりハプテン抗原を形成し得る。メラノサイト傷害に起因する自己免疫を含め、ロドデノールの免疫誘導の可能性につ

いて、今後の解明が必要と考えられる。

3. 再発防止に関する検討

医薬部外品の承認の審査にあたっては、特に、安全性、作用緩和な範囲内の有効性及び品質を評価することが重要である。昨年度の研究班における検討を踏まえ、申請時の添付資料の範囲を定めるとともに、従来の5つの申請区分から細分化して、新たに11の申請区分を設けることが決められた。新たな区分は医薬食品局長通知として発出されている。

ロドデノールは新有効成分含有医薬部外品であり、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が実施されていたが、今回の健康被害を予見することができなかった。昨年度の研究班における検討を踏まえ、長期投与（安全性）試験について具体的な症例数と期間を示し皮膚科専門医の管理下で実施するべきとした。ICH E1 ガイドラインでは300～600例（6か月）を対象症例数と定められているが、本件については医薬部外品であり、かつ皮膚科専門医の管理下で実施されることから、当初の設定としては収集症例数を100例以上（12か月）とした。使用方法を考慮した臨床試験の用量設定について議論があり、塗布量と皮膚中濃度との関係が重要であることが確認された。

新医薬部外品の製造販売後調査の実施方法について検討を行った。きめ細かな情報収集を行うべきであるとし、得られた情報を社内外で十分に評価し報告する体制作り重要であることが確認された。検討を元に製造販売後調査ガイドラインが厚生労働省から発出される予定となっている。さらに、医薬部外品の開発段階における前臨床試験方法の拡充を目的に、臨床長期安全性試験の内容も組み込んだ「安全性評価ガイドライン（仮称）」を作成することとしており、その方針を決定した。ただし実施すべき試験項目の検討は終了したが、研究期間内には中味を詳細につめるまでには至らなかった。引き続き、本研究班メンバーを中心

に in vitro 試験の利用や皮膚透過性試験など具体的な内容について取りまとめ、厚生労働省に報告する予定である。

E. 結論

ロドデノール誘発性白斑症例を経過観察したところ、化粧品の使用中止後も脱色素斑が新生・拡大したり、非使用部位に脱色素斑が現れる症例が存在したりすることがわかった。これらの例では白毛やサットン現象なども認められた。こうした症例の完全脱色素斑は、傷害されたメラノサイトに対する自己免疫異常反応が誘導された可能性、及びロドデノールが尋常性白斑のトリガーになっている可能性が示唆された。

ロドデノールのメラノサイトへの毒性はチロシナーゼ活性に依存し、代謝されてSH付加反応性のオルトキノン体を生成することが要因と推定されていたが、今回、オルトキノン体をカテコール体に還元するアスコルビン酸の添加が細胞毒性を抑制し、オルトキノン体と細胞毒性の関わりを示唆する知見を得た。

薬用化粧品による白斑等の健康被害の再発防止の観点から、医薬部外品の承認申請区分の改正、皮膚適用に係る医薬部外品安全性評価ガイドライン（仮称）作成、長期投与（安全性）試験の試験設定、使用上の注意の改訂及び製造販売後調査ガイドラインについて新たに提言を行った。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

塩見真理子、青山裕美、岩月啓氏・ロドデノール誘発性脱色素斑 Rhododenol-induced leukoderma の臨床・皮膚病診療, 36, 590-595 (2014).

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)

土岐清香, 岸 史子, 天野博雄, 茂木精一郎, 石川 治. 当科におけるロドデノール関連脱色素斑患者の追跡調査. 第86回日本皮膚科学会群馬地方会(2015年3月)

塩見真理子, 青山裕美, 岩月啓氏. 遠隔部位に脱色素斑を生じたロドデノール誘発性脱色素斑症例12例の検討. 第113回日本皮膚科学会総会(2014年5月)

塩見真理子, 木村麻耶, 山崎 修, 青山裕美, 岩月啓氏, 井上雅子, 鈴木規弘, 山田 琢, 片山治子. 岡山大学と関連病院におけるメラニン産生抑制剤使用後に発症した白斑症例16例の検討. 日本皮膚科学会岡山地方会第260回例会(平成25年9月)

秋山卓美, 清水久美子, 藤巻日出夫, 内野 正, 最上(西巻)知子, 五十嵐良明. ロドデノールの代謝とメラノサイトに対する細胞毒性. 第41回日本毒性学会学術年会(2014年7月)

Akiyama, T., Shimizu, K., Fujimaki, H., Uchino, T., Nishimaki-Mogami, T., Ikarashi, Y. Metabolic oxidation of rhododendrol and enhanced cytotoxicity in melanocytes. SOT2015 (2015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