

安全性等に係る非臨床試験、臨床試験の実施に関する検討や評価手法については、「安全性評価ガイドライン（仮称）」として検討すべき事項を取りまとめることとした。

安全性試験の内容については、平成18年7月19日付け事務連絡「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」及び本研究班で議論された内容を取り入れた平成26年11月25日付け事務連絡「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。

下記のような構成とする。

1. 背景
2. 目的
3. 開発の考え方
4. 試験の実施
5. 代替法の利用について
6. 臨床試験についての注意点
7. 安全性に関する資料について
  - (1) 単回投与毒性試験
  - (2) 反復投与毒性試験
  - (3) 遺伝毒性試験
  - (4) がん原性試験
  - (5) 生殖発生毒性試験
  - (6) 局所毒性に関する資料
    - (ア) 皮膚一時刺激性試験
    - (イ) 連続皮膚刺激性試験
    - (ウ) 眼粘膜一時刺激性試験
    - (エ) 連続眼粘膜刺激性試験
    - (オ) 口腔粘膜一時刺激性試験
    - (カ) 口腔粘膜連即刺激性試験
  - (7) 皮膚感作性試験
  - (8) 光安全性試験

(9) 吸収・分布・代謝・排泄試験

(10) 長期投与安全性試験（臨床）

#### 8. その他（検討中）

それぞれの試験は原則、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こととした。臨床試験については次項で述べる。

吸収・分布・代謝・排泄については、実使用時の医薬部外品の適用経路が経皮のものは、原則、経皮吸収についての資料を必要とし、拡散セルを用いた *in vitro* 経皮吸収試験（*in vitro* 皮膚透過試験）による皮膚透過性および／または皮膚角層中濃度の測定を公知で汎用性も高いガイドラインやガイダンスに従って行うこととした。特に、経皮吸収性が高い場合および安全係数があまり大きくない場合などについては必要に応じて分布・代謝・排泄についての資料を、蓄積性が認められるものについては特定の組織や器官への蓄積性について確認した資料を必要とした。

なお、この安全性評価ガイドライン（案）は、今後、厚生労働省から発出する予定となっている。

### 3. 長期投与（安全性）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。しかしロドデノール含有薬用化粧品による白斑発生を予測するには不十分であった。そこで、ヒトにおける長期使用時の安全性を確認することを目的に、医療用医薬品の外用剤に準じた長期安

全性試験について検討した。検討結果については、前述の安全性評価ガイドラインの(10)に組み込む予定である。

試験内容については、新医薬品の安全性評価の指針である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設定することとした。

白斑の発症率については平成 21 年度厚生労働科学研究「白斑の診断基準及び治療指針の確立」による疫学調査、平成 18～20 年の日本皮膚科学会学術委員会による全国調査、ロドデノール含有薬用化粧品の白斑事例を参考にした。発症期間については日本皮膚科学会のホームページを参考にした。ただし、調査の目的や対象によるバイアスがかかっている可能性についても吟味する必要があるとの意見があった。

まず、皮膚科専門医の管理下で臨床試験を構築・実施すべきであるとした。評価ポイント及び観察回数についても同様に皮膚科専門医と相談の上、設定すべきである。

必要な症例数と試験期間については、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、対象となるものが医薬部外品であり、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。また、6 ヶ月間投与して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。

この検討を受けて、平成 26 年 11 月 25 日付け事務連絡「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」が発出された。

また、ロドデノール配合薬用化粧品のシ

リーズ製品、たとえば化粧水、乳液、クリームを複数重ねて使用した場合に、白斑の発症率が高い傾向があるとの報告がある。同一有効成分を含む複数製品の重ね使用やシリーズ品の使用を想定した試験設定を行うべきという意見がある一方で、その困難さも指摘された。

用量設定に当たっては作用メカニズムを考慮して行うべきであり、配合濃度を上げる方法と製品の塗布量を増やす方法について議論がなされ、皮内濃度が両者で同一の場合は塗布量を増やす方法で問題ないとの意見があった。

今後、2. 安全性評価ガイドラインに反映させる予定である。

#### 4. 使用上の注意

ロドデノール配合薬用化粧品による白斑の事例を受けて、厚生労働省は、平成 25 年 8 月 8 日付けで、すべての医薬部外品及び化粧品の製造販売業者に対し、自社製品によると疑われる白斑症例の情報がないか自主点検を行い、必要に応じて国に報告するよう通知した。その結果、平成 26 年 1 月 23 日までに、167 件の白斑の症例が報告され、因果関係の評価が終了した 83 件のうち、製品との因果関係が否定できないとされた症例は 19 例であった。化粧品のみを使用していた症例は 1 例、薬用化粧品（医薬部外品）を使用していた症例（複数の薬用化粧品又は化粧品を併用していた症例を含む）は 18 例であった。本件は、平成 26 年 2 月 12 日に開催された薬事・食品衛生審議会医薬品等安全部会に報告され、因果関係が否定できないとされた症例は、特定の製品・成分に集中しているわけではなく、現時点

で回収等の措置が必要な状況とは言えないとされたが、使用上の注意において、追加の注意喚起が必要かどうか本研究班で検討することとされた。これを受け、本研究班で化粧品等の使用上の注意の記載について検討した。

化粧品の容器、外箱、添付文書等の使用上の注意については、「化粧品の使用上の注意事項の表示自主基準について（昭和53年1月5日付け薬発第2号厚生省薬務局長通知）」により、日本化粧品工業連合会の自主基準が示されており、薬用化粧品（医薬部外品）についても準用することとされている。具体的には、皮膚に適用する化粧品及び薬用化粧品については、その容器又は外箱及び添付文書等に、原則として以下のとおり表示することとされている。

○ 容器又は外箱に表示する注意事項

お肌に合わないときは、ご使用をおやめください。

○ 添付文書等に表示する注意事項

1 化粧品がお肌に合わないとき、即ち次のような場合には、使用を中止してください。そのまま化粧品類の使用を続けると、症状を悪化させることがありますので、皮膚科専門医等にご相談されることをおすすめします。

(1) 使用中、赤み、はれ、かゆみ、刺激等の異常があらわれた場合

(2) 使用したお肌に、直射日光があたって上記のような異常が現れた場合

2 傷やはれもの、しっしん等、異常のある部位にはお使いにならないでください。

研究班は、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（白斑等）や黒ずみ」を追記すべきであると提言した。また、気付かないうちに白斑が生じていた症例が見られることを踏まえ、肌に異常が生じていないかよく注意して使用するよう注意喚起する必要があるとした。対象製品の範囲については、製品の適用部位及び使用方法等を踏まえ、以下のような範囲とした。

○皮膚に適用する薬用化粧品及び化粧品は、原則として、今回の使用上の注意の改訂の対象とする。

例) 頭髪用化粧品類、化粧水類、クリーム乳液類、パック類、ファンデーション類、白粉打粉類、眉目類化粧品類、化粧用油類、洗顔料類

○以下の製品については、今回の使用上の注意の改訂の対象から除外する。

1) 必ずしも皮膚に直接適用しない化粧品類

例) 爪化粧品類、歯みがき類、香水類、マスカラ

2) 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化粧品類

例) 浴用化粧品類、石けん類、シャンプー、リンス、ボディシャンプー

3) 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化粧品類

例) 口紅、リップクリーム

○洗顔料類については、メイク落としとして因果関係の否定できない白斑の症例が報告されていること、また、その適用部位も考慮し、洗い流す用法の製品ではあるが、今回の使用上の注意の改訂の対象に含めることとする。

上記の提言を受け、「化粧品等の使用上の注意について（平成 26 年 5 月 30 日付け薬食発 0530 第 2 号厚生労働省医薬食品局長通知）」により改訂がなされた。

## 5. 製造販売後調査

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、開発段階で把握できなかった副作用の把握等を目的として、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。期間としては従来から 2 年間と設定している。

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おらず、調査の実施方法も通知等で明確にされているわけではないが、一般用医薬品の製造販売後調査の実施要領として示されている「新一般用医薬品の市販後調査の実施について（昭和 63 年 12 月 26 日付け薬安第 154 号厚生省薬務局安全課長通知）」に準じて、調査が実施されている。

当該通知では、販売店を対象にモニター店を設定し一定の例数を目標に使用者アンケートを実施して副作用の発現頻度を調査する特別調査と、販売店からのいわゆる自発報告により副作用の情報を収集する一般調査を実施することとされている。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。

対面販売が行われている販売店等のルートを利用したきめ細かな情報収集、皮膚科専門医の関与等が重要であり、新医薬部外

品の製造販売後調査の実施方法について、以下のようなガイドラインとすべきとした。

製造販売後副作用調査及びその他文献調査等の安全性に関する調査を行うことにより実施する。

製造販売後副作用調査は、調査予定例数は原則として 1000 例、調査実施予定期間は原則として承認後 2 年間とする。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。

得られた情報を社内に評価委員会を設置し、必要に応じ社外の専門家の意見を聴取して評価する。そして原則として製造販売承認日から 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。

研究班による提言を元にした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。

## 6. 副作用報告

今回のロドデノールによる白斑は、承認審査及び製造販売後調査の段階では把握されていなかった副作用であり、その後の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。

薬事法では、医薬品等の副作用の情報を迅速に把握し必要な安全対策をすることにより、健康被害の拡大を防ぐことを目的として、医薬品等の製造販売業者に、自社製品による副作用等の国への報告を義務付けている。

医薬品、医療機器等の場合、死亡、障害等入院相当以上の重篤な副作用症例の情報を把握した場合、個別に国に報告すること

が義務付けられているが、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。

平成 23 年には、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、医療関係者から医薬部外品又は化粧品による健康被害の情報を入手した場合には、報告書類を社内においてとりまとめ、研究報告として報告するよう通知されたが、法令上は、依然、個別症例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、医薬品等と同様に個別症例の報告を求めるとともに、その範囲については、医薬品等の報告対象である重篤な副作用症例に加え、白斑のような副作用を想定し「治療に要する期間が 30 日以上症例」についても報告対象に含めるべきであると提言した。

この提言を踏まえ、次項で示す通り薬事法施行規則が改正されている。

#### 7. 製造販売後の安全管理の基準 (GVP)

今回のロドデノール配合薬用化粧品による副作用の把握が遅れ健康被害が拡大した一因として、製品の安全性に関する情報が、カネボウ化粧品の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。

「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 (GVP 省令)」において、こうした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おり、製造販売業の許可要件とされているが、医薬部外品・化粧品の

製造販売業者については、国への副作用報告の対象と整合を取る形で、「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、副作用報告の対象範囲の拡大に合わせて、GVP 省令も改正し、医療関係者からの情報や行政機関からの情報等も収集対象として追加するべきであると提言した。

なお、本研究班の意見を踏まえ、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 日から施行された。

#### E. 結論

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。医薬部外品の承認申請区分の変更、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、製造販売後調査ガイドライン及び副作用報告制度と製造販売後の安全管理の基準の強化について提言を行った。

#### 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

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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
杉林堅次、 藤井まき子、 藤堂浩明	<i>In vitro</i> 経皮吸収試験 ( <i>In vitro</i> 皮膚透過試験) 評価報告書	AATEX-JaCVAM	3(2)	55-62	2014



#### IV. 研究成果の刊行物・別刷



## ロドデノール誘発性脱色素斑 Rhododenol induced-leukodermaの臨床

塩見真理子\* 青山 裕美\* 岩月 啓氏\*

### Key words

ロドデノール誘発性脱色素斑, 化学白斑

### はじめに

近年, ロドデノール(以後, RD)を含有した薬用化粧品の使用者に白斑患者が多発し, 2013年7月より製造販売業者による自主回収が行われたことは記憶に新しい. RD誘発性脱色素斑とはRD含有化粧品を使用後, 主に使用部位に生じるさまざまな程度の脱色素斑のことであり, 使用中止により徐々に色素再生がみられることが多い. われわれは2013年にRD含有化粧品を使用した2人に白斑様の色素脱失が生じたことを報告した<sup>1)</sup>.

本邦におけるRD誘発性脱色素斑の患者数は2014年2月25日時点で18,312人, RD含有化粧品のこれまでの使用者は, 推計約34万人とされている(製造販売業者発表). 正確な割合は不明であるが上記の数字よりRD含有化粧品使用者での発症率は約5.4%と推定される. 「RD含有化粧品の安全性に関する特別委員会(以後, 特別委員会)」が日本皮膚科学会に設置され調査を行っている.

### I. 症 状

化粧品使用後に続発するものであるため, 主として顔面, 頸, 手, 前腕に不整形の点状脱色素斑として始まる. これらは拡大, 融合して大小不同の脱色素斑となるが, その間に島嶼状に正常皮膚部が残存し, とくに毛孔を中心とした点状に残ることがある. この症状は毛包からの色素再生の可能性もある(図1, 2). また, 患部の毛髪はまれに

淡色化することがあるが大部分の症例では正常色を呈する.

上記の好発部位のほかに, まれではあるが塗布したとは考えにくい軀幹部, 被髪頭部などにも発生することもある. これら異所性発生を示す症例の病態は尋常性白斑を合併している可能性があり, その病態が興味深い.

臨床症状は脱色素斑が主症状で, 完全脱色素斑や不完全脱色素斑を呈する. 完全脱色素斑とは, ほぼ完全にメラニン色素が消失し, それ以上, 色素消失がみられない脱色素斑をいう. 不完全脱色素斑とは健常部に比べてメラニン色素の低下を認めるが, 完全には消失していない脱色素斑を指す. 診療の手引きでは, 両者の区別は視診で行い, 混在している, 連続している, 時期によって変動すると明記されている<sup>2)</sup>. 実際, 部位によって完全脱色素斑が主体であったり不完全脱色素斑が主体である症例, 初診時は完全脱色素斑であってもものに不完全脱色素斑が主体になる症例もある. また, 肉眼的に完全脱色素斑であってもダーモスコピーで観察すると小さなモザイク状に淡褐色斑が混在するケースもあり, 診断に迷うので視診で判定する. 完全・不完全脱色素斑の占める割合により病型分類されている. 1つは, 完全脱色素斑を主とする病型で完全脱色素斑のみ, もしくは完全脱色素斑が脱色素斑面積全体のうち6割以上を占める(図3). 第2には完全脱色素斑と不完全脱色素斑

\*Shiomi, Mariko/Aoyama, Yumi(准教授)/Iwatsuki, Keiji(教授) 岡山大学医学部皮膚科学教室(〒700-8558 岡山市北区鹿田町2-5-1)



図1 不整形, 大小不同の脱色素斑



図3 完全脱色素斑

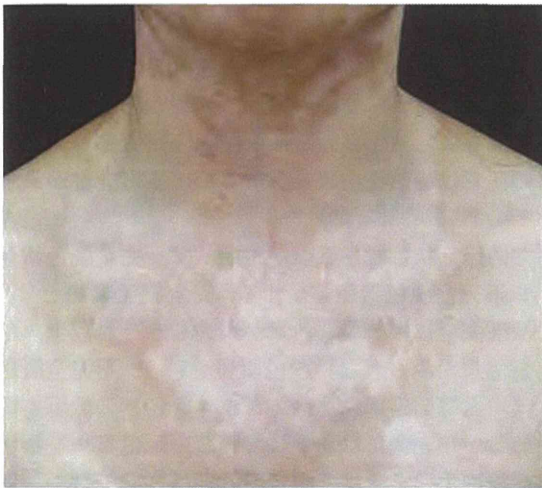


図2 化粧品塗布部に一致した脱色素斑

がほぼ同じ割合で混在するものである。第3は不完全脱色素斑を主とする病型で不完全脱色素斑のみ、もしくは不完全脱色素斑が脱色素斑面積全体のうち6割以上を占めるものである(図4)。また、色素脱失のみならず、脱色素斑の周囲の皮膚に種々の程度に褐色の色素増強を来すことがしばしばある(図5)。この色素増強は化粧品の使用中止後に悪化し、時間経過とともに元の色調に戻っていく症例が多く観察される。

RD誘発性脱色素斑と診断するためにはRD含有化粧品の使用歴があることに加え、RD含有化粧品を使用する前には脱色素斑がなく、使用後に、使用した部位におおむね一致して脱色素斑が生じ

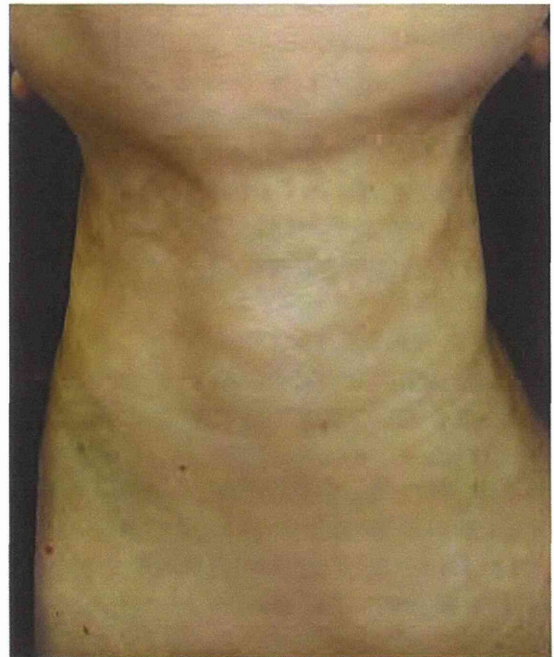


図4 不完全脱色素斑

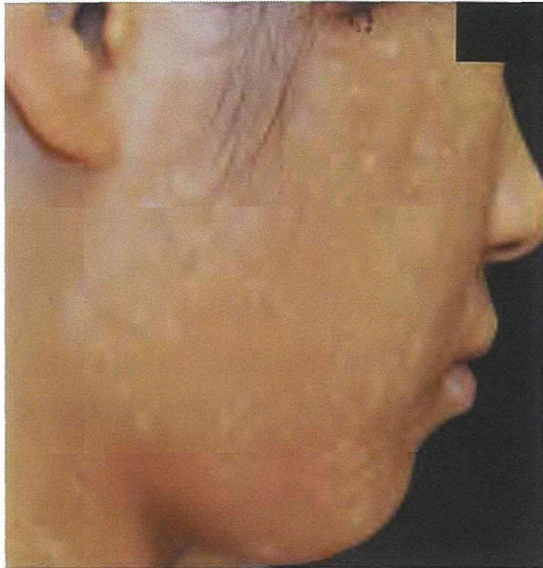


図5 脱色素斑周囲の皮膚色が以前よりも褐色調になった症例

たという病歴に加え、RD含有化粧品使用中止により脱色素斑の拡大が停止する、またはRD含有化粧品使用中止により脱色素斑の少なくとも一部に色素が再生することを確認する(表)<sup>2)</sup>。とくに完全脱色素斑優位型では臨床症状が尋常性白斑と類似しており、鑑別が問題になる。分節型のような特異的な配列の場合は容易に区別できるが、汎発型ではほとんど区別できない。RD含有化粧品使用歴のない白斑症例でも初期には不完全脱色素斑で発症したり、炎症を伴うこともあり区別できない症例が実に多い。詳細な問診と経時的な皮膚の観察が診断には不可欠である。

RD誘発性脱色素斑はすべての年代におこりうる。当科症例では最低年齢24歳から最高年齢88歳まであり、平均年齢は55.3歳であった。性別は化粧品を使用後に発症する特性上、ほとんどが女性である。RD化粧品の使用開始から脱色素斑を発症するまでの期間はわずか1カ月のものから3年以上に及ぶ例もありいろいろであるが多くは1~2年の使用期間を経て発症している。

## II. 病理

病理組織所見はH-E染色ではメラノサイトの減少と消失、基底層部でのメラニン色素の著しい減少、消失が主で、その他真皮浅層に軽度のリンパ球浸潤、血管拡張、浮腫、メラノファージがみられる(図6)。毛包漏斗部にリンパ球浸潤がみられることが多い。

とくに脱色素斑部ではメラノサイトは消失し、真皮にメラノファージが散見される(図7, 8)。色素沈着部では、表皮基底細胞層のメラニンが増加しメラノサイト数には異常がないことが多い。真皮にメラノファージが散見され、メラノファージの有無はRD脱色素斑の特異的な所見ではない。これらの所見は、RD含有化粧品使用歴のない尋常性白斑患者にも共通してみられ、H-E標本で両者を区別することは困難である。

## III. 発生病態

4-(4-ヒドロキシフェニル)-2-ブタノール：RDは、フェノール環をもつメラニン生成抑制剤の一種である(図9)。RDの原料となる4-(4-ヒドロキシフェニル)-2-ブタノール：ラズベリーケトン：香料として広く使用されている物質で、ラズベリーケトン製造工場において色素脱失をきたした症例が報告されている<sup>3)</sup>。ラズベリーケトンは香りが強いため化粧品の主成分には不向きであったので、その誘導体であるRDがメラニン色素抑制剤として開発された。

RDにはチロシナーゼ蛋白質の分解を促進することによるチロシナーゼ活性阻害作用があり、そのため高いメラニン生成抑制効果を示すと考えられている<sup>4)</sup>。

メラニンの生成は、アミノ酸の1つであるチロシンから出発する。チロシンはチロシナーゼによって、ドーパ、次いでドーパからドーパキノンへと変換する。ドーパキノンの代謝産物は互いに重合してメラニンポリマーとなり黒色を呈するユーメラニンとなる。一方、黄色を呈するフェオメラニンはドーパキノンが、非酵素的にシステインと結合してシステイニルドーパとなり、それが重合

表 ロドデノール誘発性脱色素斑 医療者(皮膚科医)向けの診療の手引き(日本皮膚科学会 ロドデノール含有化粧品  
の安全性に関する特別委員会2013年12月12日作成(Ver.6))

別紙2 疾患概念と診断基準, 臨床分類

【疾患概念】

ロドデノール誘発性脱色素斑 Rhododenol induced-leukodermaとはロドデノール含有化粧品を使用後, 主に使用部位に生じるさまざまな程度の脱色素斑. 使用中止により一部あるいは全体に色素再生がみられることが多い.

【診断基準】

必須項目

1. ロドデノール含有化粧品を使用していた.  
注)患者申告 購入履歴 回収記録を根拠に判断する.
2. ロドデノール含有化粧品を使用する前には脱色素斑がなく, 使用後, 使用した部位におおむね一致して生じた完全ないし不完全脱色素斑がある.

小項目

1. 使用中止により(必須項目2. の)脱色素斑の拡大が使用中止後およそ1カ月以内に停止した.
2. 使用中により(必須項目2. の)脱色素斑の少なくとも一部に色素が再生した.  
注)写真や診療録, ダーモスコピー所見などの記録を参照し, 医師が視診により重症度判定基準を用いて判定する.

参考項目

1. 脱色素斑出現前に紅斑などの炎症症状の先行をみる場合がある.
2. 脱色素斑の程度は一様ではなくむらがあり, 辺縁不整の場合が多い.
3. 複数のロドデノール含有化粧品を併用した場合や繰り返し塗布した部位に発症しやすい.

除外診断

Vogt-小柳-原田病, サットン母斑, 感染症(痛風, 梅毒, Hansen病, HIV)に伴う白斑, 単純性枇糠疹, 老人性白斑, 尋常性白斑, 他の原因による炎症後脱色素斑, 薬剤性の白斑黒皮症, 職業性白斑, まだら症, Waardenburg症候群, 結節性硬化症などの先天性色素異常症などを除外する.

判定

必須項目2項目と小項目の少なくとも1項目を満たす場合は確実例とする.

必須項目2項目を満たすが, 小項目の1, 2ともに満たさない場合はその時点では疑い例とする.

疑い例については引き続き注意深く色素再生の有無を経過観察することが望ましい.

注)このような症例には, 尋常性白斑の合併例, 誘発例が含まれる可能性がある. しかし, 臨床像および病理学的所見から尋常性白斑とロドデノール誘発性脱色素斑を鑑別することは困難な場合があり, 診断には細心の注意が必要である.

【臨床分類】

- ①完全脱色素斑優位型  
完全脱色素斑のみ, もしくは完全脱色素斑優位(脱色素斑面積全体のうち6割以上が完全脱色素斑)
- ②完全・不完全脱色素斑混合型  
完全脱色素斑と不完全脱色素斑優位がほぼ同じ割合で混在する
- ③不完全脱色素斑優位型  
不完全脱色素斑のみ, もしくは不完全脱色素斑(脱色素斑面積全体のうち6割以上が不完全脱色素斑)

したものである<sup>5)</sup>.

RDはチロシンに類似した構造をもち, チロシナーゼの活性中心に結合する. そのためチロシンがチロシナーゼによりメラニン生合成系に入る経路を拮抗阻害し, メラニン生成反応を抑制する. メラノーマ細胞を用いたメラニン生成抑制を検討

した結果より, RDのIC<sub>50</sub>は5.0 μg/mlで, 他のメラニン生成抑制剤アルブチン(55 μg/ml)やコウジ酸(120 μg/ml)に比べて低い濃度でメラニン生成を抑制できることがわかる. さらにRDは, チロシナーゼの分解を促進する. これらの作用は可逆性で, 化粧品の使用を中止すればチロシナーゼ拮

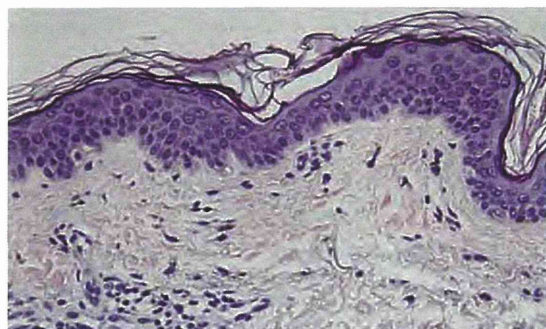


図6 明細胞の減少，真皮浅層血管周囲の軽度のリンパ球浸潤(H-E染色，×40)



図7 正常部。基底層部にメラノサイトを認める (Fontana-Masson染色，×40)。

抗阻害作用によるRDによるメラニン産生抑制作用は消失すると考えられている。さらに本事例の発生後に原因究明の一貫として検討された一連の研究結果から，RDはチロシナーゼの基質となり代謝された結果生じる代謝産物がメラノサイトに対する細胞毒性を有し，その毒性はチロシナーゼ活性依存性であることが明らかになりつつある。臨床症例で白斑部のメラノサイトが減少していることを考え合わせるとRDにより患者皮膚のメラノサイトの細胞障害が誘導されていると考察できる。日本皮膚科学会RD含有化粧品安全性に関する特別委員会による一次調査票のまとめでは，2011年から2013年の月別発症例数が7月，8月で増

594

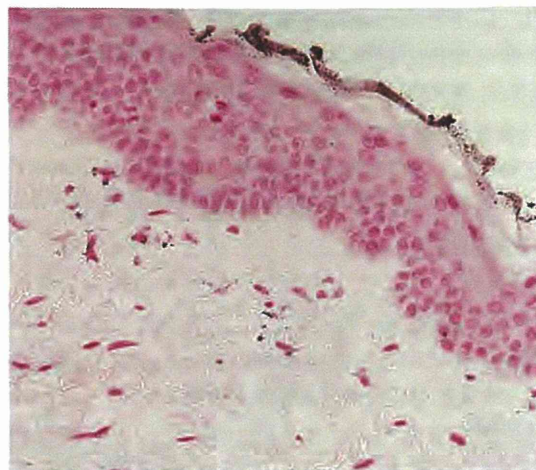


図8 脱色素斑部。病変部ではメラノサイトは認めない(Fontana-Masson染色，×40)。

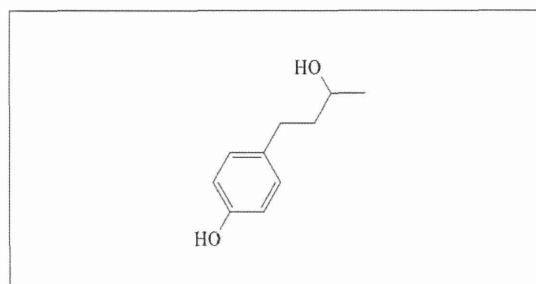


図9 4-(4-ヒドロキシフェニル)-2-ブタノール：ロデノールの構造式

加していた。その理由として製品の使用頻度が高まる以外に，紫外線量が増える夏季はメラノサイトのチロシナーゼ活性が高くなっているため細胞毒性を有するRD代謝産物がより多く生成され，メラノサイトが障害され，結果として白斑が生じやすかったと考えられる。

またRD脱色素斑症例の病変部の表皮付近や毛包漏斗部に，尋常性白斑と同様のCD4陽性T細胞や，CD8陽性T細胞の浸潤が観察される。これはRD，またその代謝産物に反応するT細胞がメラノサイトを攻撃することでメラノサイトのアポトーシスを誘導した可能性も考えられる。個体間でRDやその代謝産物からのストレスに対するメラノサイトの防御能力に差があるために，RD化粧品使用者のうち一部にのみ脱色素斑が生じたので

はないかと推察される。

脱色素斑の発生には掻痒、発赤等の炎症症状が先行することがあるが、炎症症状を認めないことも少なくない。自験例では炎症症状の先行を認めたものは41% (75例中31例)であった。

パッチテストで使用したRD含有化粧品や2% RDで陽性反応が出ることもある。特別委員会が行ったパイロット調査では2% RDでの全体の陽性率は17.5%であった(103例中18例で陽性)。このうち炎症症状があった症例でのパッチテスト陽性率は23% (61人中14例)であり、炎症症状のない症例での陽性率は10.8% (37例中4例)であった。疫学的なデータからは感作が成立していることと臨床症状の重症度には関連はなく、白斑形成機序における抗原特異的T細胞の直接的な関与は低いと考えられる。むしろ皮膚炎を生じた症例ではバリアが低下するのでRDの組織移行が二次的に促進された可能性がありうる。

本症がRDまたはその代謝産物の化学的または薬理学的作用により発症していることは疑いの余地がないが、自験例では95例中8例でRD塗布部位ではない遠隔部位にも白斑がみられ、2例で進行性の白斑がみられる症例があった。いずれも顔面の脱色素斑は典型的で使用中で回復しているのでRD脱色素斑に尋常性白斑を誘導した可能性がある。RDによるメラノサイトの細胞障害によりT

細胞による自己免疫性の誘導が示唆され大変興味深い。

#### IV. 治療

RD誘発性脱色素斑はRD含有化粧品使用中後数カ月で回復を認めることが多い。自験例では78.9% (38例中30例)で中止後平均4.4カ月後には脱色素斑面積が軽快していた。このように自然軽快することが多いため、特別委員会では当該化粧品を中止したうえで遮光をしっかりと行い、無治療で経過観察をすることを第一選択としている<sup>1)</sup>。特別委員会委員ならびに協力委員の施設における二次調査の結果、当該化粧品中止以外の治療法として、ステロイド、ビタミンD<sub>3</sub>、タクロリムスなどの外用療法、ビタミンC、ビタミンE、トラネキサム酸、抗アレルギー薬などの内服治療、紫外線治療などがあったが、個々の症例における治療効果はさまざまであり、有効性の評価は今後の検討課題である。

#### <文 献>

- 1) 塩見真理子ほか：姫路赤十字病院誌 37：5, 2013
- 2) 日本皮膚科学会 ロドデノール含有化粧品の安全性に関する特別委員会：日皮会誌 124：285, 2014
- 3) Fukuda, Y. et al. : J Occupa Health 40, 118, 1998
- 4) 佐々木 稔ほか：フレグランスジャーナル 39：37, 2011
- 5) 富田 靖ほか：標準皮膚科学 第10版. 医学書院, 東京, p.13, 2013

## *In vitro*経皮吸収試験 (*In vitro*皮膚透過試験) 評価報告書

杉林 堅次<sup>1</sup>, 藤井 まき子<sup>2</sup>, 藤堂 浩明<sup>1</sup>

<sup>1</sup>城西大学, <sup>2</sup>昭和薬科大学



## ***In vitro*経皮吸収試験 (*In vitro*皮膚透過試験) 評価報告書**

杉林 堅次<sup>1</sup>, 藤井 まき子<sup>2</sup>, 藤堂 浩明<sup>1</sup>

<sup>1</sup>城西大学, <sup>2</sup>昭和薬科大学

### 要旨

欧米では安全性評価における経皮吸収試験や皮膚透過性は *in vitro* 試験が中心である。本委員会においては各種 *in vitro* 皮膚透過試験法の長短所を議論してきたが、いずれの試験も適用限界を理解し、実施する上での問題点を考慮しながら実施する必要があることを提言したい。但し、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* 試験結果から *in vivo* 挙動を推定することは可能であると思われる。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したものである。

本委員会で評価した 4 資料がいずれも公知で、欧米では一般的に用いられている試験法であることを鑑みると、適用限界を十分に理解した上で *in vitro* 試験結果を評価すれば、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。

## **Evaluation report on *the in vitro* skin absorption tests**

**Kenji Sugibayashi<sup>1</sup>, Makiko Fujii<sup>2</sup>, Hiroaki Todo<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University

<sup>2</sup>Showa Pharmaceutical University

### Summary

*In vitro* skin absorption tests are used primarily in Europe and the Americas for assessing the safety of chemicals for transdermal absorption and skin permeability. A JaCVAM (Japanese Center for the Validation of Alternative Methods (JaCVAM) editorial committee on the skin absorption assessment discussed the advantages and disadvantages of several methods of *in vitro* skin absorption tests and concluded that these tests should be applied only after understanding the limits of their application and giving proper consideration to problematic points of testing. The committee concluded that it is possible to predict *in vivo* profiles from *in vitro* results that are performed with a proper understanding of the limits of applicability and in strict accordance with applicable guidelines and guidance. The expression “strict accordance” refers to having a thorough understanding of all test parameters, including selection of skin for testing, selection of receptors, recognizing the presence or absence of dermal metabolism, and the properties of test chemicals.

The four documents that we evaluated during this study meeting are well-known and these test methods are generally used in both Europe and the Americas. Thus, *in vitro* skin absorption testing is a useful method for assessing the risks and the efficacy of chemicals, when used with a understanding its limitations.

1. 目的

化粧品や医薬部外品の安全性評価のために用いられている *in vitro* 経皮吸収試験 (*in vitro* 皮膚透過試験)に関する各種ガイドラインを比較し、信頼性や長短所等について議論し、採否の可否を検討する。

2. 検討した資料の名称とその理由

- ・SCCP (Scientific Committee on Consumer Safety) opinion on basic criteria for the *in vitro* assessment of dermal absorption of cosmetic ingredients (2006)<sup>1)</sup>.
- ・OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) test guideline for the testing of chemicals, TG428, skin absorption: *In vitro* method (2004)<sup>2)</sup>.
- ・Colipa (European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association) regulatory, Guidelines for percutaneous absorption / penetration (1997)<sup>3)</sup>.
- ・WHO (World Health Organization), Environmental Health Criteria 235, Dermal Absorption (2006)<sup>4)</sup>.

いずれの評価法もガイドライン、ガイダンスとして公知のものであり、汎用性も高いために検討した。

3. 試験法の概要(手順など)

表 1 参照

4. 試験法として採用の可否

いずれの試験も科学的、倫理的にも評価するには十分である。但し、各試験の適用限界と実施する上での問題点を考慮する必要がある。

4-1 *In vitro* 経皮吸収試験 (*in vitro* 皮膚透過試験)の適用限界とガイドラインにそって実施する上での問題点

4-1-1 経皮吸収試験結果の具体的な利用法の記載

化粧品原料の経皮吸収試験の目的は、実使用条件においてヒト全身循環系に入る可能性がある被験物質の質的および(あるいは)量的な情報を得ることである。特に後者は、個々の物質についての反復投与毒性試験の無毒性量 (NOAEL: No observable adverse

effect level)とともに、安全係数 (MOS: Margin Of Safety)を算出する上で必要である (SCCP/0970/06)<sup>1)</sup>。

OECD TG 428<sup>2)</sup> は記載なし。

化粧品成分の試験および安全性評価に関する SCCP ガイダンス第 6 版<sup>3)</sup>に記載されている安全係数の求め方と注意点を表 2 に示す。

4-1-2 *In vitro* 経皮吸収試験 (*in vitro* 皮膚透過試験)の適用限界

*In vivo* 条件下では、微小循環系(血管およびリンパ管)が化合物を皮膚組織から体循環コンパートメントへ運んでいる(吸収、absorption)。*In vitro* の条件下では、そのような吸収過程は評価できない (SCCP/0970/06)<sup>1)</sup>。

表皮は絶えず増殖、分化、落屑を繰り返しており、一日当たり約一層分の角質細胞層が取り除かれている。局所適用した場合、*in vitro* 試験における皮膚上、特に角層や毛嚢脂腺で検出された異物は、*in vivo* においては、それぞれ落屑あるいは皮脂分泌により取り除かれる。*In vitro* ではこれらの過程を再現できないので、*in vitro* 系での最終的な表皮(角層)中濃度は、*in vivo* レベルと比較して高くなる (SCCP/0970/06)<sup>1)</sup>。

試験化合物が表皮の組織に不可逆的に結合することがあるが、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。この現象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ない (SCCP/0970/06)<sup>1)</sup>。

試験化合物は、拡散セルに装着された皮膚サンプルの上に、適切な製剤を用いて適用されなければならない (SCCP/0970/06)<sup>1)</sup>。単純溶媒系でなく製剤での実施が不可欠である。

表 1-1 ガイドラインの比較 (in vitro 経皮吸収試験)

Guideline		SCCP (2006.3)	OECD (TG428, 2004.4)	Colipa (1999)
拡散セル		Flow through/Static cell (選択は化合物次第)	Flow through/Static cell (有限系:開放, 無限系:閉塞)	チャンバー(ドナー, レセプター)で皮膚を挟んだもの. セルの選択は薬剤による.
レセプター液		親水性: 生食, 緩衝生食液 脂溶性: アルブミン, 可溶化剤/乳化剤の添加は可	・対象物質が溶解すること ・皮膚に影響を与えないこと ・代謝試験では皮膚能を維持すること	親水性: 生食液, 緩衝生食液 脂溶性: アルブミン, 可溶化剤を含む液
皮膚膜	種	○ヒト/ブタ, ×げっ歯類 (△培養皮膚/再構成皮膚)	ヒト/動物 (ヒトの場合は倫理下で)	記載なし (Std protocol ではヒト, ブタ, ラット)
	部位	ヒト: 腹, 脚, 胸囲 ブタ: 腹, 胸, 背, 側, 耳	記載なし	記載なし
	皮膚厚	ヒト: ○ 200-500 μm △ 500-1,000 μm (表皮膜は過大評価の恐れ) ブタ: 500-1,000 μm でもOK	○ 表皮膜 (酵素/熱処理) / 剥離皮膚 (200-400 μm) △ full-thickness skin × >1mm	○ whole, split-thickness (< 1 mm とすること)
Integrity test		必須: <sup>3</sup> H <sub>2</sub> O, カフェイン, ショ糖, TER, TEWL	必須: 方法については記載なし	必須: <sup>3</sup> H <sub>2</sub> O, TEWL など
被験物質		RI 体は大規模ロット (Cold 体) とは若干異なる特徴を示す	RI ラベル化が理想的 標準処方で1 濃度以上	-
適用量		固形/半固形: 2-5 mg/cm <sup>2</sup> 液体: ~10 μL/cm <sup>2</sup>	固形: 1-5 mg/cm <sup>2</sup> 液体: ~10 μL/cm <sup>2</sup>	実使用で (consumer use)
n 数 (/1 サンプル)		> 6 (3ドナー×2 以上)	最低4	-

表 1-2 ガイドラインの比較 (in vitro 経皮吸収試験)

Guideline	SCCP (2006.3)	OECD (TG428, 2004.4)	Colipa (1999)
皮膚表面温度	32 ± 1 °C	32 ± 1 °C (湿度は 30-70 %)	30-32 °C
適用時間	24 時間 (越える場合は皮膚状態に注意)	・一般的には 24 時間 (対象物質の透過性による) ・適用途中でサクリック'を実施 (透過ア'リアルを图示する)	24 時間
測定部位	・皮膚表面 ・角層 ・表皮 (角層を除く) ・真皮 ・レセプター液	・ドナーチャンバー ・皮膚表面 ・皮膚 ・レセプター液 場合によっては, 塗布部位, 塗布外部 (セル密着部位), 角層, 表皮, 真皮に分ける.	・皮膚表面 ・角層 ・表皮 (角層を除く) ・真皮 ・レセプター液
回収率	100 ± 15 % (逸脱なら調査/説明)	RI 使用時の目標は, 100 ± 10 % (逸脱なら理由を記載)	100 ± 15 %
算出値	絶対量 (μg/cm <sup>2</sup> ) 吸収率 (% of dose)	有限系の場合: 皮膚表面量, 皮膚内量, レセプター液の速度および量あるいはパーセンテージ. 無限系の場合: 透過係数を算出. パーセンテージは必要ない.	絶対量 (μg/cm <sup>2</sup> ) 吸収率 (% of dose)

表 2 安全係数 (Margin of Safety: MOS) <sup>5)</sup>

化粧品成分の安全性評価の最終段階であるリスクの評価では、不確実性の要因が適用される。化粧品の場合、この要因は安全係数 (MOS) と呼ばれる。一般に、MOS は最小無影響量 (無毒性量) (NO(A)EL) を、想定される化粧品成分の全身暴露量 (Systemic Exposure Dosage: SED) で除すことによって

$$\text{MOS} = \frac{\text{NO(A)EL}}{\text{SED}}$$

として計算できる。MOS 値は試験動物群から平均的なヒトへ、次に平均的なヒトから感受性の高いグループへと外挿するのに用いられる。一般に、ある物質が安全に使用できると宣言するためには MOS は 100 以上でなければならないとされている。

SED の計算は、予想される最高濃度に基づく一定時間の生物学的利用能の絶対量 ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) に基づくことが望ましいが、経皮吸収率に基づいて行うこともできる。後者の場合、得られる数値は皮膚に適用される用量に依存する。このとき、評価する濃度が低いほど経皮吸収率は高くなる可能性があることから、予想される最低濃度を含まなければならない。

OECD ガイドライン 428<sup>7)</sup> (経皮吸収: *in vitro* 法) に従い、*in vitro* 試験では、固体で通常 1~5  $\text{mg}/\text{cm}^2$ 、液体で最高 10  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$  というヒトへの暴露をシミュレートした適用量を使用しなければならない。

試験物質の適用量が 2  $\text{mg}/\text{cm}^2$  未満の *in vitro* 試験を実施することは技術的に不可能であるが、通常皮膚に適用される化粧品量は実使用条件下で 1  $\text{mg}/\text{cm}^2$  に満たないことが経験から示されている。したがって、*in vitro* 試験では実使用条件を上回る量が適用され、試験用量の経皮吸収率%を SED の計算に使用すると、全身暴露量が過小評価されることになる。したがって、経皮吸収をパーセンテージで表す場合には、*in vitro* 試験から得られた吸収量も実使用条件下で適用した用量のパーセンテージで表す必要がある。これは実使用条件下で適用する製剤の既定量と、表に示す製品種類の皮膚表面積 (SSA) の既定値 (6-2 項参照) の比によって推定することができる。

以上のように、化学物質の経皮吸収がどのように記載報告されているかによって、SED の計算方法には 2 種類あると結論づけられる。