

厚生労働行政推進調査事業費補助金

**医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス
政策研究事業**

**機能性化粧品成分の個体差等に基づく
安全性評価法の策定に関する研究**

**平成27年度～28年度 総合研究報告書
(H27-医薬-指定-008)**

研究代表者 最上 知子

平成29年3月

目 次

I . 総合研究報告

機能性化粧品成分の個体差等に基づく安全性評価法の策定に関する研究

最上 知子 1

II . 研究成果の刊行に関する一覧表

. 10

機能性化粧品成分の個体差等に基づく安全性評価法の策定に関する研究

研究代表者 最上知子 国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部 主任研究官

ロドデノール配合薬用化粧品による白斑発症に関しては、ロドデノールの代謝とメラノサイト傷害の可能性が示唆されているが、一部の患者では塗布部以外にも白斑が波及する難治性白斑が見いだされ、病態や発症機序は未だ明らかでは無い。本研究では、患者由来組織やモデル動物を用いて発症機序の解明を進め、白斑発症に重大な因子を明らかにし、測定方法を検討することにより、新規美白成分の安全性評価法策定への貢献をめざす。

ロドデノール白斑患者および健常人皮膚検体の解析により、改善例、難治例に関わらず病変辺縁部においてグルタチオン合成酵素の有意な発現低下が認められた。また、ロドデノールのメラノサイトのオートファジー経路への影響、尋常性白斑と異なるメラノサイト形態異常ならびに自己抗体、患者末梢血中のリンパ球の異常、HLA-DA とチロシナーゼの直接会合によるメラニン産生抑制とロドデノールによる増強、皮膚炎や紫外線の影響など、ロドデノール脱色素斑モデルマウスにおいては紫外線の色素再生効果や細胞接着分子の病態への関連の可能性などの知見を得た。これらは発症機序の複数の要因や個体による影響の違いに関与することが考えられる。

安全性評価に関しては、ロドデノールならびに白斑誘導性類似化合物は共通してチロシナーゼによる代謝活性化を受けることに着目し、化合物の代謝活性化をシステイン含有ペプチドとの結合により測定する方法の検討を進めた。またロドデノール代謝物重合体(メラニン)を合成し、強い酸化促進作用を示した。代謝活性化による細胞傷害の可能性について、個体差の大きなメラノサイトの代替としたチロシナーゼ高発現細胞では、化合物によって毒性増強あるいは内因性毒性抑制の異なる結果が得られた。引き続き条件の至適化や測定系の改良を進め、化粧品成分・医薬部外品による新たな健康被害防止につなげる予定である。

研究分担者

石川 治 群馬大学大学院医学系研究科皮膚科学教授
片山一朗 大阪大学大学院医学系研究科皮膚科学教授
鈴木民夫 山形大学大学院医学系研究科皮膚科学教授
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
伊藤祥輔 藤田保健衛生大学医療化学部名誉教授

研究協力者

安田正人 群馬大学大学院医学系研究科皮膚科学助教
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
五十嵐良明 国立医薬品食品衛生研究所生活衛生化学部長

A. 研究目的

ロドデノール配合薬用化粧品による白斑発症

問題に関しては、平成 25-26 年度の厚生労働科学研究「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)のほか、複数の研究組織から、白斑病変部での表皮色素細胞メラノサイトの消失が報告され、ロドデノールのチロシナーゼ代謝による毒性の増強やそれに由来するメラノサイト傷害の機序が提唱されている。白斑患者の多くは使用中により症状の改善がみられるものの、塗布部以外にも白斑が波及する難治性白斑も報告されており、病態形成機序は未だ不明である。

本研究では、基礎・臨床からの原因究明をさらに進める。患者から採取された病変部検体、難治性白斑を呈する患者の検体、尋常性白斑検体、正常人検体を用い、免疫組織学・細胞生物学的、分子機構について解析し、また独自開発したロドデノール白斑モデルマウスを使用して白斑症状の進行の個体差や病態、発症原因を明らかにする。

安全性評価に関しては、ロドデノールをはじめとする白斑誘導性類似化合物は共通してチロシナーゼによる代謝活性化を受けることが知られる。代謝産物オルトキノン是不安定であることから、本研究では[II]SH 基を持つ化合物と反応させて測定する方法の確立を試みた。毒性や抗原性の発現への関わりが予想される代謝活性化によるチオール基の修飾反応を、感作代替試験 Direct Peptide Reactivity Assay (DPRA) 用システイン含有ペプチドとの結合により測定する方法を検討する。

またチロシナーゼによる代謝活性化はメラノサイトの傷害をもたらすことが予想される。[II]ロドデノールの代謝物重合体(メラニン)を合成し、細胞内外での酸化促進作用につき解析を行う。また[III]個体差の大きいメラノサイト代替の細胞モデルを調製し、代謝活性化とメラノサイトの傷害との関わりについて解明を進める。

B. 研究方法

1. 患者由来組織/細胞を用いた原因究明[石川]

これまでの研究でロドデノールによるメラノサイト傷害性にグルタチオンによる抗酸化作用が関与することが示唆されている。そこで本研究では、ロドデノール配合薬用化粧品による白斑病変辺縁部皮膚と健常人の正常皮膚について、グルタチオン合成酵素(GCLC)の発現を免疫組織学的に比較解析する。(倫理面への配慮)本研究は、「世界医師会ヘルシンキ宣言(2013年10月改訂)」、「臨床研究に関する倫理指針(平成20年7月31日全部改正)」を遵守して行う。収集するデータに個人情報は含めず、試料とともに各研究実施機関で適切に連結可能匿名化を行う。外部分析協力機関へは検体と被験者コード番号(検体認識番号)のみ送付され、個人情報が送られることはない。

2. 機能性化粧品成分の個体差による影響因子の分子解析[片山]

培養メラノサイトへのロドデノールの分子学的な影響を測定すると同時に患者皮膚生検サンプルや血液を用いてメラノサイトやリンパ球サブセット、自己抗体を解析する。また紫外線がメラノサイトの機能、メラニン産生へ与える影響を検討した。(倫理面への配慮)ロドデノール誘発性脱色素斑または尋常性白斑患者に於けるHLA・末梢血リンパ球・皮膚局所の免疫解析(大阪大学医学部附属病院・研究倫理審査委員会13421-2承認済み)に基づき患者より同意書を取得の上研究を進めている。

3. 日本人モデルマウスを使用したロドデノール誘発性脱色素斑に関する研究[鈴木]

脱色素斑を発症した患者、および健常人より皮膚片を採取し、その皮膚片からメラノサイトとケラチノサイトをそれぞれ培養し、この培養細胞を使用して感受性や免疫応答に関わる分子の発現等を解析する。日本人モデルマウスは、國貞隆弘博士(岐阜大教授)との共同研究により作成したhk14-SCF Tgマウスで、体幹の色素沈着が日本人に近い系統を選択しヘアレス化した。皮膚色は日

本人に近く、表皮基底層メラノサイト数はヒト表皮にとほぼ同様である。本マウスを使用してロドデノール誘発性脱色素斑の再現実験を行い、効率的に脱色素斑を発症する条件を確立し、病態解明を行った。(倫理面への配慮) 患者の試料を集めるために倫理委員会に研究計画を申請して、承認を得ている。また、動物実験に関しては本学の動物実験委員会により、承認されている。

4. 安全性評価[III]:代謝活性化評価法 [秋山]

4-置換フェノール類のチロシナーゼによる代謝とシステイン含有ペプチドとの反応について、測定条件を検討した。4 置換フェノールに対応するカテコールを DPRA 用システイン含有ペプチド(DPRA(Cys))と25 でインキュベートし、ODS カラムを用いてトリフルオロ酢酸含有アセトニトリル溶液を移動相とした LC/MS によって分析した。また、4 置換フェノールを DPRA(Cys)およびマッシュルーム由来チロシナーゼと混合して、25 でインキュベートした。反応液を酢酸酸性にして反応を止め、同様に LC/MS によって分析した。

5. 安全性評価[III]:代謝物の解析 [伊藤]

ロドデノール(RD)に由来するメラニンによる細胞内抗酸化剤の酸化的枯渇を通常のメラニンと比較検討した。RD-ユーメラニン(RD-EM)およびDopa-ユーメラニン(Dopa-EM)はRDあるいはDopaをチロシナーゼで4時間酸化し、RD-フェオメラニン(RD-PM)およびDopa-フェオメラニン(Dopa-PM)の場合はシステイン共存下で反応し調製した。引き続きグルタチオン、システイン、アスコルビン酸、あるいはNADHと反応させ、抗酸化物質の残存量はHPLC法にて定量した。また、酸化により生成した酸化型グルタチオンおよびシスチンも合わせて定量した。

6. 安全性評価[I]:細胞評価法 [最上]

ロドデノールおよび白斑誘導性類似化合物の細胞毒性発現におけるチロシナーゼ代謝の役割を、

B16メラノーマ細胞のチロシナーゼをdiBucAMP処理で誘導、siRNA ノックダウン、阻害剤フェニルチオウレア処理により変え、293T細胞にヒトチロシナーゼを強制発現し解析した。ヒトチロシナーゼを用いた代謝試験に利用するために、膜貫通領域を欠く可溶性ヒトチロシナーゼの発現・精製法を検討した。

C. 研究結果

1. 患者由来組織/細胞を用いた原因究明[石川・安田]

ロドデノールによるメラノサイト傷害性にグルタチオンによる抗酸化作用が関与することが示唆されている。そこでグルタチオン合成酵素(GCLC)について免疫組織学的に解析した。ロドデノールによる白斑を生じた症例のうち、改善23例、難治17例の白斑病変辺縁部と尋常性白斑2例、正常皮膚10例に対し、抗GCLC抗体、抗MART-1抗体で染色し、MART-1あたりのGCLCシグナルを定量した。その結果、改善例病変辺縁部0.602、難治例0.646に対し正常皮膚1.16 ($P<0.01$)で、改善例、難治例に関わらず病変辺縁部において有意にGCLCの発現が低下していた。

2. 機能性化粧品成分の個体差による影響因子の分子解析[片山]

本研究ではロドデノールによりメラノサイトのオートファジー経路が活性化すること、逆にオートファジーが抑制された状態で細胞死を誘導しやすい事を明らかにした。さらに患者皮膚組織の解析より形態的なメラノサイト異常・メラニンの滴落を見いだした。また患者末梢血中のリンパ球の異常を見出した。さらに、尋常性白斑で甲状腺抗体、MCHR-1、TYRP2に対する自己抗体を認めた。ロドデノール白斑では上記自己抗体は認めなかった。HLA-DRとチロシナーゼの直接会合がメラニン産生を抑制する機序を見出した。ロドデノールはさらにその効果を増強した。皮膚炎

や紫外線の影響でロドデノールがメラノサイト毒性以下の濃度でメラノサイトに負の影響を及ぼす可能性が考えられた。これらの影響にはロドデノールのNF- κ B抑制経路が関与する可能性が考えられた。

3. 日本人モデルマウスを使用したロドデノール誘発性脱色素斑に関する研究[鈴木]

患者およびボランティアからの生検標本を使用して免疫組織化学的な解析を行い、ストレス応答に関する分子の発現を解析した。その結果、患者群では、グルタチオン合成系の遺伝子発現誘導が健常人に比べ、低下している結果が得られた。

日本人皮膚モデルマウス背部に2週間ロドデノール溶液を外用し、メラニンの消失、表皮基底層のメラノサイトの減少・消失が認められ、患者所見とほぼ同様のまだら様脱色素斑を作成した。本モデルでチロシナーゼ活性がないアルビノマウスでは、表皮メラノサイトの減少は認められず、チロシナーゼ依存性の作用が *in vivo* の系で明らかにされた。タクロリムス軟膏の治療効果は確認できなかったが、紫外線 UVB 照射により色素再生がより増強されていることが確認できた。

引き続きモデルマウスの解析を行い、白斑形成、ならびに色素再生に細胞接着分子がかかわっていること、また、紫外線と VitD3 軟膏は色素再生増強作用があること、色素再生が認められた部位にも認められない白斑部もメラノサイトの遊走は認められた。

4. 安全性評価:代謝活性化評価法 [秋山]

ロドデノールを含め白斑誘導性類似化合物はチロシナーゼによる代謝活性化が知られている。Rhododendrol (RD) 及び raspberry ketone (RK) のカテコールは DPRA(Cys)と結合した。また、RD をチロシナーゼ共存下 DPRA(Cys)と反応させるとRDおよびDPRA(Cys)のピークが減少し、ペプチドのシステイン基が付加したカテコールが

生成した。RK, hydroquinone monobenzyl ether 及び 4-tert-butylphenol は、チロシナーゼ共存下にRDと同様にペプチドが結合したカテコールを生成することが示唆された。設定した反応条件においてRD及びRKはいずれも経時的に減少した。

5. 安全性評価:代謝物の解析[伊藤]

チロシナーゼ代謝物の重合により生じるロドデノール(RD)-EM は Dopa-PM とほぼ同速度でグルタチオンおよびシステインを酸化した。生成物の大半は酸化型グルタチオンおよびシステインであった。また、同時に H₂O₂ の産生が確認された。RD-PM および Dopa-EM の酸化活性は、RD-EM、Dopa-PM の2分の1程度であった(図1)。RD-EM は、アスコルビン酸およびNADHについても効率よく酸化した。

6. 安全性評価:細胞評価法 [最上]

白斑誘導性4-置換フェノール類(ロドデノールやモノベンジルエーテルヒドロキノン(MBEH)、4-ter-ブチルフェノール(4-TBP)、4-SCAP など)はチロシナーゼにより代謝活性化される。代謝産物によるメラノサイト傷害仮説を検証するために、個体差の大きなメラノサイトの代替細胞調製を検討した。B16メラノーマ細胞では、チロシナーゼ発現量を cAMP で発現誘導、フェニルチオウレア阻害、siRNA ノックダウンし変化させたが、白斑誘導性フェノール類による細胞毒性にチロシナーゼ依存性は観察されなかった。一方、293T 細胞にヒトチロシナーゼを高発現すると、4-SCAP の細胞毒性が顕著に増強された。しかしながら、チロシナーゼ阻害剤であるロドデノールや4-TBP、MBEHは内在性チロシン代謝による毒性発現をむしろ抑制する効果を示すことが判明した。

代謝活性化試験において、マッシュルームチロシナーゼに替えてヒトチロシナーゼを用いるために、可溶性酵素の調製を検討した。ヒトチロシ

ナーゼの膜貫通領域を欠きシグナルペプチドを含むアミノ酸残基 1-456 を GS リンカーで His タグと結合し、293T 細胞に発現させた。分泌される活性を維持した可溶性ヒトチロシナーゼを簡易に精製する方法を確立した。

D. 考察

1. 患者由来組織/細胞を用いた原因究明[石川]

グルタチオン合成酵素(GCLC)の発現低下は、グルタチオン合成能の低下を意味する。ロドデノールによる白斑を生じた症例では改善例、難治例に限らず、GCLC 発現が低下しており、また、発症後 1 年以上経った検体でも低下していることから、患者は元々 GCLC の発現が低いために、抗酸化作用が弱く、ロドデノールによるメラノサイト傷害を受けやすい個体であったことが推測される。今後さらに検体数を増やし、解析を進める予定である。

2. 機能性化粧品成分の個体差による影響因子の分子解析[片山]

ロドデノール誘発白斑では今まで知られている細胞毒性以外にメラノサイトのオートファジーの状態が関与する事が考えられた。また、通常の尋常性白斑と異なるメラノサイト異常や免疫学的な機構の関与が疑われた。さらにメラノサイトに対するロドデノールの毒性が紫外線で増強する可能性が明らかとなり、紫外線ストレスへの反応性の個人差が、発症率に影響している可能性が考えられた。

3. 日本人モデルマウスを使用したロドデノール誘発性脱色素斑に関する研究[鈴木]

ロドデノール感受性は、グルタチオン合成系の遺伝子発現が関わっていることが示唆された。

ロドデノール脱色素斑モデルマウスを使用した本研究により紫外線や VitD3 軟膏は、ロドデノール白斑に対して有効な治療法になりうることが示された。

4. 安全性評価:代謝活性化評価法[秋山]

ロドデノール様の白斑症例が知られる 4-置換フェノール類はチロシナーゼによりオルトキノン体に代謝されることが報告されていることから、化合物のチロシナーゼによる代謝活性化と白斑発症との関わりが強く示唆される。反応性が高く極めて不安定で直接の測定が困難なオルトキノン体が SH 基と反応する性質を利用し、オルトキノン体への代謝活性化を評価する方法を検討することとした。さらに SH 基として OECD 感作性試験代替法 TG442C Direct Peptide Reactivity Assay(DPRA)において使用されるヘプタペプチド DPRA(Cys)を用いることにより、感作試験との共役も可能となる。白斑症例の原因物質として報告がある 4-置換フェノールはいずれもチロシナーゼ共存下でオルトキノン体に酸化され、ペプチドの SH 基が付加したカテコールを生成したと考えられ、検出法としての一部の条件の一部が満たされた。

5. 安全性評価:代謝物の解析 [伊藤]

ロドデノール(RD)はチロシナーゼにより酸化されて、細胞傷害性の高いオルトキノンを生産する。オルトキンは極めて高い反応性を持ち、グルタチオン、システインなどの非タンパク性 SH 化合物のみならず、タンパク中のシステイン残基とも反応し、付加体を形成する。これが RD によるメラノサイト傷害性の主要な機序と考えられる。しかし、B16 メラノーマを用いた実験では、上記の代謝に加え、RD 由来のメラニンが産生することが確認されている。一方、天然のフェオメラニンは強い酸化促進作用を持つことが近年明らかにされた。そこで今回、RD-EM および RD-PM を調製し、その酸化促進作用を調べた。その結果、RD-EM の酸化促進作用は、フェオメラニンに匹敵することが分かった。

6. 安全性評価:細胞評価 [最上]

白斑誘導性フェノール類は共通してチロシナーゼによりオルトキノン体に代謝されることが、この代謝活性化がメラノサイト傷害をもたらす機構が想定されている。この仮説を検証するために、個体差

の大きいヒトメラノサイトに代替する細胞モデルとしてメラノーマ細胞のチロシナーゼ発現量の改変、ヒトチロシナーゼ強制発現 293T 細胞を検討した。しかしながら、*in vitro* では全くチロシナーゼ依存の毒性増強は認められなかった。予想通りチロシナーゼによる細胞毒性増強が観察されたのは 293T 細胞において 4-SCAP のみであった。同細胞において、ロドデノール、4-TBP、MBEH ではむしろ内因性チロシン代謝による毒性を抑制する「チロシナーゼ阻害作用」が観察された。各化合物のチロシナーゼの基質になりやすさ/阻害作用のバランスの違いが異なる結果をもたらしたと推定している。293T 細胞と異なりメラノサイトでは、チロシナーゼは下流のメラニン合成酵素とともにメラノソームに局在する。白斑誘導性化合物の毒性発現にはメラノソームや下流経路が役割を有する可能性、あるいは細胞毒性以外のエンドポイントが白斑と相関する可能性など、今後検討の必要があると考えている。

E. 結論

ロドデノール白斑の発症機序解明のため、患者検体とロドデノール脱色素斑モデルマウスの試料を使い、多面的に病態解明を行った。症例におけるグルタチオン合成酵素の低下、ロドデノールの個体による影響の違いに関与すると考えられる分子機構・免疫異常が明らかになった。白斑発症機構は単一の要因では説明がつかないことから、各研究のさらなる展開が望まれる。

安全性評価法の確立に向け、白斑誘導性化合物のチロシナーゼによる代謝活性化をシス테인含有ペプチドとの結合反応により測定する方法を検討した。また代謝物の酸化促進作用を解析し、モデル細胞を構築し、代謝活性化による細胞傷害仮説の検証を試みた。今後さらに改良を進め、新たな健康被害防止につなげる予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

最上(西巻)知子. 化学物質による白斑 - 職業性白斑の機序とロドデノール白斑 - . *Bull Natl Inst Health Sci.* 2015; 133, 13-20

Tanimura, K., Jin, H., Suenaga, T., Morikami, S., Arase, N., Kishida, K., Hirayasu, K., Kohyama, M., Ebina, Y., Yasuda, S., Horita, T., Takasugi, K., Ohmura, K., Yamamoto, K., Katayama, I., Sasazuki, T., Lanier, L. L., Atsumi, T., Yamada, H. and Arase, H.: 2015. β 2-glycoprotein I / HLA class II complexes are novel autoantigens in antiphospholipid syndrome. *Blood.* 125: 2835-2844.

Eleftheriadou V, Thomas K, van Geel N, Hamzavi I, Lim H, Suzuki T, Katayama I, et al.: Vitiligo Global Issues Consensus Group: Developing core outcome set for vitiligo clinical trials: international e-Delphi consensus. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2015; 28(3): 363-9.

Yang L, Yang F, Wataya-Kaneda M, Tanemura A, Tsuruta D, Katayama I: 4-(4-Hydroxyphenyl)-2-butanol (rhododendrol) activates the autophagy-lysosome pathway in melanocytes: Insights into the mechanisms of rhododendrol-induced leukoderma. *J Dermatol Sci.* 2015; 77(3): 182-5.

Tanemura A, Yang L, Yang F, Nagata Y, Wataya-Kaneda M, Fukai K, Tsuruta D, Ohe R, Yamakawa M, Suzuki T, Katayama I: An immune pathological and ultrastructural skin analysis for rhododendrol-induced leukoderma patients. *J Dermatol Sci.* 2015; 77(3): 185-8.

Nishioka M, Tanemura A, Yang L, Tanaka A, Arase N, Katayama I: Possible involvement of CCR4+CD8+ T cells and elevated serum CCL22 and CCL17 in Patients with Rhododendrol-induced Leukoderma. *J Dermatol Sci.* 2015; 77(3): 188-90.

Nishigori C, Aoyama Y, Ito A, Suzuki K, Suzuki T, Tanemura A, Ito M, Katayama I, Oiso N, Kogahashi Y, Sugiura S, Fukai K, Funasaka Y, Yamashita T, Matsunaga K: Guide for medical professionals (i.e., dermatologists) for the management of Rhododendrol-induced leukoderma. *J Dermatol.* 2015; 42(2): 113-28.

Wataya-Kaneda M, Tanaka M, Yang L, Yang F, Tsuruta D, Nakamura A, Matsumoto S, Hamasaki T,

Tanemura A, Katayama I: Clinical and Histologic Analysis of the Efficacy of Topical Rapamycin Therapy Against Hypomelanotic Macules in Tuberculous Sclerosis Complex. *JAMA Dermatol.* 2015; 151(7): 722-30.

Matsumura S, Terao M, Murota H, Katayama I : Th2 cytokines enhance TrkA expression, upregulate proliferation, and downregulate differentiation of keratinocytes. *J Dermatol Sci.* 2015; 78(3): 215-23.
Namiki T, Yaguchi T, Nakamura K, Valencia JC, Coelho SG, Yin L, Kawaguchi M, Vieira WD, Kaneko Y, Tanemura A, Katayama I, Yokozeki H, Kawakami Y, Hearing VJ : NUA2 Amplification Coupled with PTEN Deficiency Promotes Melanoma Development via CDK Activation. *Cancer Res.* 2015; 75(13): 2708-15.

Tanaka M, Yang L, Wataya-Kaneda M, Suzuki T, Okamura K, Hozumi Y, Yang F, Katayama I : Case of Hermansky-Pudlak syndrome 1 in a Japanese infant. *J Dermatol.* 2015; 42(9): 906-7.

ロドデノール含有化粧品の安全性に関する特別委員会,伊藤 明子, 青山 裕美, 鈴木 加余子, 鈴木 民夫, 種村 篤, 錦織 千佳子, 伊藤 雅章, 片山 一朗, 伊藤 祥輔, 大磯 直毅, 深井 和吉, 船坂 陽子, 山下 利春, 松永 佳世子: ロドデノール誘発性脱色素斑症例における三次全国疫学調査結果. *日本皮膚科学会雑誌* 2015; 125No. 13.

Hirayasu K, Saito F, Suenaga T, Shida K, Arase N, Oikawa K, Yamaoka T, Murota H, Chibana H, Nakagawa I, Kubori T, Nagai H, Nakamaru Y, Katayama I, Colonna M, Arase H: Microbially cleaved immunoglobulins are sensed by the innate immune receptor LILRA2. *Nat Microbiol.* 2016;1(6):16054.

Terao M, Itoi S, Matsumura S, Yang L, Murota H, Katayama I:Local Glucocorticoid Activation by 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase 1 in Keratinocytes: The Role in Hapten-Induced Dermatitis.*Am J Pathol.* 2016;186(6):1499-510.

Shindo S, Murota H, Katayama I:Possible association of pigmentary demarcation line with cervical conization and contraceptives.*J Dermatol.* 2016;43(12):1444-5.

Arase N, Yang L, Tanemura A, Yang F, Suenaga T, Arase H, Katayama I:The effect of rhododendrol inhibition of NF- κ B on melanocytes in the presence

of tyrosinase.*J Dermatol Sci.* 2016;83(2):157-9.

Itoi-Ochi S, Terao M, Murota H, Katayama I:Local corticosterone activation by 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 1 in keratinocytes: the role in narrow-band UVB-induced dermatitis. *Dermatoendocrinol.* 2016;8(1):e1119958.

Tokumasu R, Yamaga K, Yamazaki Y, Murota H, Suzuki K, Tamura A, Bando K, Furuta Y, Katayama I, Tsukita S:Dose-dependent role of claudin-1 in vivo in orchestrating features of atopic dermatitis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016;113(28):E4061-8.

Terao M, Katayama I:Local cortisol / corticosterone activation in skin physiology and pathology.*J Dermatol Sci.* 2016;84(1):11-6.

Tanaka A, Ikinaga K, Kiyohara E, Tanemura A, Wataya-Kaneda M, Fujimura R, Mizui M, Isaka Y, Katayama I: Critical renal adverse event induced by nivolumab therapy in a stage IV melanoma patient. *J Dermatol.* 2016

Abe Y, et al:Rhododendrol-induced leukoderma in a mouse model mimicking Japanese skin. *J Dermatol Sci.* 81(1): 35-43 (2016)

Hayashi M, et al: A novel three dimensional imaging method for the measurement of area in vitiligo and chemical leukoderma. *J Dermatol Sci.* 84(2):219-221 (2016)

Okamura K, et al: Microsatellite polymorphism located immediately upstream of the phosphatidylinositol glycan, class K gene (PIGK) affects its expression, which correlates with tyrosinase activity in human melanocytes. *J Dermatol Sci.* 85(2):131-134 (2017)

Gan EY, et al: Repigmentation in vitiligo: position paper of the Vitiligo Global Issues Consensus Conference. *Pigment Cell Melanoma Res.* 30(1):28-40 (2017)

Ito S., Okura M, Wakamatsu K, Yamashita T. The potent pro-oxidant activity of rhododendrol-eumelanin induces cysteine depletion in B16 melanoma cells. *Pigment Cell Melanoma Res.* 30, 63-67, 2016.

Ito S., Hinoshita M, Suzuki E, Ojika M, Wakamatsu K. Tyrosinase-catalyzed oxidation of the leukoderma-inducing raspberry ketone produces

(E)-4-(3-oxo-1-butenyl)-1,2-benzoquinone: Implications for melanocyte toxicity. *Chem. Res. Toxicol.* 30, 859-868, 2017.

2. 学会発表

Yang L, Wataya-Kaneda M, Tanaka M, Yang F, Tanemura A, Tateishi C, Tsuruta D, Ishii M, Katayama I. Silencing of tuberous sclerosis complex (TSC) 2 via siRNA causes reduction of autophagy and impairment of melanogenesis in cultured human skin epidermal melanocytes: implication for a potential mechanism of hypopigmented macules in tuberous sclerosis complex: 2015 World Congress of Dermatology, Vancouver, Canada (2015. 6.8-6.13)

Yang L, Yang F, Wataya-Kaneda M, Katayama I: Disruption of the autophagy-lysosome pathway is involved in hypopigmented macules in patients with tuberous sclerosis complex: The 40th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology. (2015.12.11-13)

Yang F, Yang L, Tanemura A, Itoi S, Wataya-Kaneda M, Katayama I : Dynamic visualization of dendritic cells in the skin from patients with vitiligo or rhododendrol-induced leukoderma: 14th International Workshop on Langerhans Cells (2015.11.7 京都)

Okamura K, Ohe R, Abe Y, Ueki M, Hozumi Y, Tamiya G, Matsunaga K, Yamakawa M, Suzuki T: Immunohistopathological analysis of frizzled-4-positive immature melanocytes from hair follicles of patients with Rhododendrol-induced leukoderma. *J Dermatol Sci* 80: 156-158, (2015).

Abe Y, Okamura K, Kawaguchi M, Hozumi Y, Aoki H, Kunisada T, Ito S, Wakamatsu K, Matsunaga K, Suzuki T: Rhododendrol-induced leukoderma in a mouse model mimicking Japanese skin. *J Dermatol Sci.* 81(1):35-43 (2016)

阿部優子、鈴木民夫 教育講演「白斑:ロドデノール誘発性脱色素斑 up to date!」病態解明その3 動物モデルからわかったこと第 114 回日本皮膚科学会総会 横浜 2015.5.29-31

Okamura K, Abe Y, Yoshizawa J, Ohe R, Yamakawa M, Hozumi Y, Suzuki T “Histopathological investigation on patients with Rhododendrol-induced leukoderma” The 23rd World Congress of Dermatology, Vancouver, Canada, June8-13, 2015

T. Suzuki “Rhododendrol-induced leukoderma”The 23rd World Congress of Dermatology, Vancouver, Canada, June8-13, 2015

阿部優子、岡村賢、穂積豊、田宮元、鈴木民夫”ロドデノール誘発性脱色素斑の病態:動物モデルと遺伝子解析”第 26 回日本色素細胞学会学術大会 札幌 2015.11.14-15

Okamura K, Ohe R, Abe Y, Ueki M, Hozumi Y, Tamiya G, Matsunaga K, Yamakawa M, Suzuki T “Immunohistopathological analysis immature melanocytes from hair follicles of patients with Rhododendrol-induced leukoderma” 第 40 回日本研究皮膚科学会 2015.12. 11-13

Katayama I, Yang L, Yang F, Kotobuki Y, Murota H, Tanemura A, Wataya-Kaneda M:Breakdown of skin homeostasis in the pathogenesis of autoimmune vitiligo. The 7th Annual Meeting of Korean Society of Vitiligo The 1st Meeting of East Asia Vitiligo Association. Korea (2016.4.16)

楊飛、金田眞理、室田浩之、小野慧美、楊伶俐、片山一朗:The mechansim of diminishing sweating in patients with tuberous sclerosos. 第 43 回 皮膚かたち研究会 東京 (2016.6.19)

荒瀬規子 種村篤 楊伶俐 楊飛 西岡めぐみ 高橋彩 片山一朗:ロドデノール白斑発症機構の解析 第 27 回日本色素細胞学会シンポジウム 岐阜(2016.11.12-13)

Tanemura A, Tanaka A, Yang F, Wataya-Kaneda M, Katayama I, Oiso N. Leukoderma lesion in extra-mammary paget’s disease. Vitiligo International Symposium, Rome (2016.12.2-3)

Yang F, Yang L, Tanemura A, Wataya-Kaneda M, Katayama I. Patients with vitiligo or rhododendrol-induced leukoderma. Vitiligo International Symposium, Rome (2016.12.2-3)

Katayama I, Takahashi A, Yang F, Yang L, Arase N, Tanemura A, Kaneda M. Mast cell activation promotes possible transient hypermelanosis of the perilesional skin in phododendronol-induced-leukoderma. Vitiligo International Symposium, Rome (2016.12.2-3)

Arase N, Tanemura A, Yang L, Jin H, Nishioka M,

Yang F, Aoyama Y, Suenaga T, Arase H, Katayama I. Immunological analysis of the patients with vitiligo vulgaris and rhododendrol-induced leukoderma. 第 41 回日本研究皮膚科学会総会 仙台 (2016.12.9-11)

谷田佳世、その他:眼皮膚白皮症 2 型(OCA2)の 1 例、宮城地方会第 373 回例会、宮城県建設産業会館、2016 年 3 月 5 日

鈴木民夫:日本人の皮膚色決定にかかわる遺伝子、北海道地方会第 405 回例会、ホテルロイトン札幌、2016 年 3 月 19 日

Rhododendrol-induced leukoderma in a mouse model mimicking Japanese skin: Tamio Suzuki, Yuko Abe, Ken Okamura, Masakazu Kawaguchi, Yutaka Hozumi, Hitomi Aoki, Takahiro Kunisada, Shosuke Ito, Kazumasa Wakamatsu, Kayoko Matsunaga, 1st meeting of the East-Asia Vitiligo Association. Severance Hospital, Seoul, Korea, April 16, 2016

Rhododendrol-induced leukoderma analyzed with a model mouse: Tamio Suzuki, Yuko Abe, Ken Okamura, Yutaka Hozumi, Hitomi Aoki, Takahiro Kunisada, Shosuke Ito, Kazumasa Wakamatsu:

VITILIGO INTERNATIONAL SYMPOSIUM 2016, the hotel NH Vittorio Veneto, Roma, Dec. 2-3, 2016

秋山卓美, 清水久美子, 伊藤祥輔, 内野正, 最上(西巻) 知子, 五十嵐良明: Rhododendrol のシステイン含有ペプチドへのチロシナーゼ依存的な結合. 第 43 回日本毒性学会学術年会(2016 年 7 月)

秋山卓美, 清水久美子, 富田由花, 伊藤祥輔, 最上(西巻) 知子, 五十嵐良明: Rhododendrol 及び構造類似化合物の Cys 含有ペプチドへのチロシナーゼ依存的な結合. 日本薬学会第 137 年会 (2017 年 3 月)

伊藤祥輔, 黄倉真恵, 若松一雅, 山下利春. ロドデノールユーメラニンは強い酸化促進作用をもつ. 第 27 回日本色素細胞学会. 平成 28 年 11 月 12 日. 岐阜

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得、2. 実用新案登録、3. その他
なし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
片山一朗 種村篤	尋常性白斑の診断と治療	伊藤祥輔 柴原茂樹 錦織千佳子	色素細胞	慶応義塾 大学出版 会	東京都港 区三田	2015	262-275
鈴木民夫	尋常性白斑	福井次矢ら	今日の治療指 針2017私はこ う治療してい ます	医学書院	東京	2017	1226
鈴木民夫	母斑細胞母斑	渡辺晋一ら	皮膚疾患最新 の治療2017 2018	南江堂	東京	2017	241-242

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
最上(西巻)知子	化学物質による白斑 - 職業性 白斑の機序とロドデノール白斑 -	<i>Bull Natl Inst Health Sci.</i>	133	13-20	2015
Tanimura, K., Jin, H, Suenaga, T., Morikami, S., Arase, N., Kishida, K., Hirayasu, K., Kohyama, M., Ebina, Y., Yasuda, S., Horita, T., Takasugi, K., Ohmura, K., Yamamoto, K., Katayama, I., Sasazuki, T., Lanier. L. L., Atsumi, T., Yamada, H. and Arase, H.	β 2-glycoprotein I / HLA class II complexes are novel autoantigens in antiphospholipid syndrome.	<i>Blood</i>	125	2835- 2844	2015
Eleftheriadou V, Thomas K, van Geel N, Hamzavi I, Lim H, Suzuki T, Katayama I, et al.	Vitiligo Global Issues Consensus Group: Developing core outcome set for vitiligo clinical trials: international e-Delphi consensus.	<i>Pigment Cell Melanoma Res.</i>	28(3)	363-369	2015
Yang L, Yang F, Wataya-Kaneda M, Tanemura A, Tsuruta D, Katayama I.	4-(4-Hydroxyphenyl)-2-butanol (rhododendrol) activates the autophagy-lysosome pathway in melanocytes: Insights into the mechanisms of rhododendrol-induced leukoderma.	<i>J Dermatol Sci.</i>	77(3)	182-185	2015
Tanemura A, Yang L, Yang F, Nagata Y, Wataya-Kaneda M, Fukai K, Tsuruta D, Ohe R, Yamakawa M, Suzuki T, Katayama I.	An immune pathological and ultrastructural skin analysis for rhododendrol-induced leukoderma patients.	<i>J Dermatol Sci.</i>	77(3)	185-188	2015

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nishioka M, Tanemura A, Yang L, Tanaka A, Arase N, Katayama I	Possible involvement of CCR4+CD8+ T cells and elevated serum CCL22 and CCL17 in Patients with Rhododenol-induced Leukoderma.	<i>J Dermatol Sci.</i>	77(3)	188-190	2015
Nishigori C, Aoyama Y, Ito A, Suzuki K, Suzuki T, Tanemura A, Ito M, Katayama I, Oiso N, Kagohashi Y, Sugiura S, Fukai K, Funasaka Y, Yamashita T, Matsunaga K	Guide for medical professionals (i.e., dermatologists) for the management of Rhododenol-induced leukoderma.	<i>J Dermatol.</i>	42(2)	113-128.	2015
Wataya-Kaneda M, Tanaka M, Yang L, Yang F, Tsuruta D, Nakamura A, Matsumoto S, Hamasaki T, Tanemura A, Katayama I	Clinical and Histologic Analysis of the Efficacy of Topical Rapamycin Therapy Against Hypomelanotic Macules in Tuberous Sclerosis Complex.	<i>JAMA Dermatol.</i>	151(7)	722-730	2015
Matsumura S, Terao M, Murota H, Katayama I	Th2 cytokines enhance TrkA expression, upregulate proliferation, and downregulate differentiation of keratinocytes.	<i>J Dermatol Sci.</i>	78(3)	215-23	2015
Namiki T, Yaguchi T, Nakamura K, Valencia JC, Coelho SG, Yin L, Kawaguchi M, Vieira WD, Kaneko Y, Tanemura A, Katayama I, Yokozeiki H, Kawakami Y, Hearing VJ	NUAK2 Amplification Coupled with PTEN Deficiency Promotes Melanoma Development via CDK Activation.	<i>Cancer Res.</i>	75(13)	2708-2715	2015
Tanaka M, Yang L, Wataya-Kaneda M, Suzuki T, Okamura K, Hozumi Y, Yang F, Katayama I	Case of Hermansky-Pudlak syndrome 1 in a Japanese infant.	<i>J Dermatol.</i>	42(9)	906-907	2015
ロドデノール含有化粧品の安全性に関する特別委員会, 伊藤 明子, 青山 裕美, 鈴木 加余子, 鈴木 民夫, 種村 篤, 錦織 千佳子, 伊藤 雅章, 片山 一郎, 伊藤 祥輔, 大磯 直毅, 深井 和吉, 船坂 陽子, 山下 利春, 松永 佳世子	ロドデノール誘発性脱色素斑症例における三次全国疫学調査結果.	日本皮膚科学会雑誌	125 No.13		2015

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Okamura K, Ohe R, Abe Y, Ueki M, Hozumi Y, Tamiya G, Matsunaga K, Yamakawa M, Suzuki T	Immunohistopathological analysis of frizzled-4-positive immature melanocytes from hair follicles of patients with Rhododenol-induced leukoderma.	<i>J Dermatol Sci.</i>	80	156-158	2015
Abe Y, Okamura K, Kawaguchi M, Hozumi Y, Aoki H, Kunisada T, Ito S, Wakamatsu K, Matsunaga K, Suzuki T	Rhododenol-induced leukoderma in a mouse model mimicking Japanese skin.	<i>J Dermatol Sci.</i>	81	35-43	2016
Ito S., Okura M, Wakamatsu K, Yamashita T.	The potent pro-oxidant activity of rhododen-drol-eumelanin induces cysteine depletion in B16 melanoma cells.	<i>Pigment Cell Melanoma Res.</i>	30,	63-67	2016
Ito S., Hinoshita M, Suzuki E, Ojika M, Wakamatsu K.	Tyrosinase-catalyzed oxidation of the leukoder-ma-inducing raspberry ketone produces (E)-4-(3-oxo-1-butenyl)-1,2-benzoquinone: Implications for melanocyte toxicity.	<i>Chem. Res. Toxicol.</i>	30	859-868	2017
片山 一郎	6色素性白斑 尋常性白斑 皮膚疾患ペディア	日本医師会雑誌	145 特別号 (2)	167-8	2016
片山 一郎	COLUMN 尋常性白斑診療ガイドライン 皮膚疾患ペディア	日本医師会雑誌	145 特別号 (2)	16+B5	2016
片山 一郎	尋常性白斑の治療ガイドライン	<i>MB Derma</i>	239	1-9	2016
片山 一郎	編集企画 白斑治療の最前線	<i>MB Derma</i>		229	2016
楊 伶俐、金田 眞理、種村 篤、片山 一郎	白斑の新しい病因論	<i>MB Derma</i>		239	2016
Abe Y, Okamura K, Kawaguchi M, Hozumi Y, Aoki H, Kunisada T, Ito S, Wakamatsu K, Matsunaga K, Suzuki T	Rhododenol-induced leukoderma in a mouse model mimicking Japanese skin.	<i>J Dermatol Sci.</i>	8	35-43	2016
Okamura K, Araki Y, Abe Y, Shigyou A, Fujiyama T, Baba A, Kanekura T, Chinen Y, Kono M, Niizeki H, Tsubota A, Konno T, Hozumi Y, Suzuki T	Genetic analyses of oculocutaneous albinism types 2 and 4 with eight novel mutations.	<i>J Dermatol Sci.</i>	8	140-142	2016

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Okamura K, Abe Y, Araki Y, Hozumi Y, Kawaguchi M, Suzuki T	Behavior of melanocytes and keratinocytes in reticulate acropigmentation of Kitamura.	<i>Pigment Cell Melanoma Res.</i>	29	243-246	2016
Okamura K, Hayashi M, Abe Y, Araki Y, Hozumi Y, Suzuki T	Microsatellite polymorphism located immediately upstream of the phosphatidylinositol glycan, class K gene (PIGK) affects its expression, which correlates with tyrosinase activity in human melanocytes.	<i>J Dermatol Sci.</i>	In press		2017