

皮膚感作性評価に向けたディファインドアプローチの活用と展望

ポーラ化成工業株式会社 フロンティアリサーチセンター 西條 拓
日本化粧品工業会 動物実験代替法部会

1. はじめに

皮膚感作は、アレルギー性接触皮膚炎の発症における誘導段階である¹⁾。このアレルギー性接触皮膚炎は、感作物質が皮膚に浸透し免疫系が当該物質を認識・記憶することにより感作が成立し、以後の再曝露時に特異的な細胞性免疫反応が惹起されることによって引き起こされる遅延型 (IV型) 過敏応答で、局所的な皮膚反応として発赤、腫脹、痒痒を特徴とする。このことから皮膚感作性の評価は、化粧品、家庭用品のみならず、医薬部外品など、多様な消費者向け製品の安全性を確保する上で、重要な評価項目である。

従来、皮膚感作性の評価には、モルモットを用いたBuehler法やGuinea Pig Maximization Test法 (OECD TG 406) などの試験が広く利用されてきた²⁾。しかし、動物福祉の観点、倫理的配慮、並びに欧州REACH規則をはじめとする国際的な規制動向により、動物実験代替法の開発とその活用が急速に進展している。

このような潮流の中で登場したのが、ディファインドアプローチ (Defined Approach : DA) である。皮膚感作性のDA (Defined Approach for Skin Sensitization : DASS) は、Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA) の枠組みにおいて、*in chemico*試験、*in vitro*試

験、そして*in silico*ツールなどを組み合わせ、事前に定義されたデータ解釈手順に基づき、皮膚感作性を統合的に評価する方法である。IATAは、構造活性相関、有害性発現経路 (Adverse Outcome Pathway : AOP) に関する知見、ヒトデータ、各種試験結果などを統合して最終的なリスク評価を行うものであり、DAはその中でも、一定の評価戦略と予測モデルが標準化されており、客観的な基準に基づいて皮膚感作性の有無とその強度を評価できる点が特徴である。

DAについては、これまで国内外の行政活用についても議論が進められてきた。2018年に発出された「医薬部外品・化粧品の安全性評価のための複数の皮膚感作性試験代替法を組合わせた評価体系に関するガイダンス」では、感作成立に関与する主要な3つの生物学的イベント (Key Events : KEs) に対応する3つの試験法、すなわちDPRA (Direct Peptide Reactivity Assay)、KeratinoSensTM、h-CLAT (human Cell Line Activation Test)^{3~5)}を組合わせたボトムアップ3 out of 3 (3o3) アプローチが具体的なDAの一例として示されている⁶⁾。3o3は、非感作性的的確な識別から評価を開始するボトムアップ型の判定方式である。

その後、OECDより発出されたガイドライン497には、2 out of 3 (2o3) DA、Integrated Testing Strategy (ITS) v1 DA、及びITSv2 DAの3つの

DAが記載されている⁷⁾。これらは構成する試験法、判定方法、スコアリング基準により特徴づけられ、信頼性の高い評価手法として注目されている。これら3つのDAについては、国内の医薬部外品・化粧品の安全性評価への活用として、2025年に「ディファインドアプローチによる皮膚感作性評価法を医薬部外品・化粧品の安全性評価に活用するためのガイダンス」が発出された⁸⁾。

本稿では、これらのDAの構成要素、判定方法、予測能力や限界、混合物への適用可能性を体系的に概説し、皮膚感作性の次世代リスク評価 (Next Generation Risk Assessment : NGRA) の実現に向けた展望を示す。

2. ディファインドアプローチ (DA) の基本構成

DAは、皮膚感作性の発現機序を踏まえたAOPにおけるKEに基づき構築されている。AOPは、分子レベルでの初期現象 (Molecular Initiating Event : MIE) から一連のKey Events (KEs) を経て有害性発現に至る過程を定義する。皮膚感作性におけるMIEは、低分子化学物質と皮膚タンパク質との結合であり、これがKE1に相当する。これに続き、ケラチノサイトの活性化 (KE2)、樹状細胞の活性化 (KE3) などの生物学的現象が引き起こされる。これらのKEsに対応する試験法として、以下のような*in chemico*試験及び*in vitro*試験が

スコアリングシステムが導入されており、個々の試験結果の単純な足し合わせではなく、統計的または論理的な統合がなされている。

3. ボトムアップ3 out of 3 (3o3) の構成と判定基準

ボトムアップ3o3は、皮膚感作性に関与する3つのKey Events (KEs) すべてを評価対象とするボトムアップ型のDAである。すなわち、DPRA (KE1 : タンパク質との共有結合)、Keratino SensTM (KE2 : ケラチノサイトの活性化)、h-CLAT (KE3 : 樹状細胞の活性化) の3つの試験法をすべて実施し、すべてが陰性であった場合にのみ「感作性なし」と判定される。2018年に発出された「医薬部外品・化粧品の安全性評価のための複数の皮膚感作性試験代替法を組合せた評価体系に関するガイダンス」において、DAの具体的な事例として記載された⁶⁾。

この手法の特徴は、偽陰性のリスクを最小限に抑える点にある。すなわち、1つでも陽性判定が出た場合には、感作性を有する可能性が否定できないため、追加情報に基づいたさらなる評価が求められる。ボトムアップ3o3は感作性の評価に際して保守的な判断基準を採用しているため、感作

感作性物質

感作誘導のKey Events

これ以降の閲覧を希望の場合は、本誌をご購読ください。