

白斑誘発性化学物質のリスク評価法の開発 ～*in vivo* 検証から *in vitro* のスクリーニングへ～

【本研究のポイント】

- ・症例報告に基づいて、ヒトに白斑を誘発する可能性の高い化学物質 6 種類(positive control)と可能性の低い 3 種類(negative control)を対象としました。
- ・*in vivo* リスク評価システムで、6 種類の positive control の化学物質で白斑が発症し、3 種類の negative control では、白斑は発症しないことを確認しました。
- ・メラノサイトにおける小胞体ストレスの誘導を指標として、6 種類の positive control と 3 種類の negative control の化学物質の白斑誘発リスクを *in vitro* で評価することができました。
- ・本 *in vitro* リスク評価システムにより、美白有効成分の候補となっている化学物質の白斑誘発リスクを、簡便・迅速・低コストで判定できることが期待されます。

白斑誘発性化学物質の*in vitro*スクリーニング 小胞体ストレスの有無が*in vivo*白斑リスク評価結果と一致

ヒト症例報告	<i>in vivo</i> リスク評価	<i>in vitro</i> リスク評価
白斑誘導性 化学物質 6種類	肌の白さ ↑ メラニン量 ↓ 色素細胞数 ↓	 小胞体ストレス(+) 
光線性白斑 誘導化学物質 3種類	肌の白さ ⇨ メラニン量 ⇨ 色素細胞数 ⇨	 小胞体ストレス(-) 

【研究概要】

名古屋大学大学院医学系研究科 環境労働衛生学の田崎啓 講師・加藤昌志 教授 (責任著者)等の研究グループは、白斑を誘発する可能性のある化学物質を *in vitro* で判定する技術を新たに発見しました。

「美白効果を示す化学物質」に対する関心は、地球規模で非常に高いと言えます。一方、美白剤の使用により2万人近い白斑患者が発生し、大きな社会問題となりました。厚生労働省によると、この白斑被害の原因となった化学物質以外にも複数の化学物質が白斑を誘発する疑いがあると報告されています。美白化粧品による白斑の発症を予防するためには、化学物質の白斑誘発リスクを、正確かつ簡易に判定するための評価システムの開発が喫緊課題となっています。

本研究では、症例報告に基づいて、ヒトに白斑を誘発する可能性の高い化学物質 6種類(positive control)と可能性の低い3種類(negative control)を対象としました。まず、*in vivo* リスク評価システムを用いた検討で、6種類の positive control の化学物質で白斑が発症し、3種類の negative control では、白斑は発症しないことを確認しました。次に、メラノサイトにおける小胞体ストレスの誘導を指標として、上記6種類の positive control と3種類の negative control の化学物質の白斑誘発リスクを *in vitro* で評価できることを発見しました。

動物福祉の観点から化粧品等の開発に動物実験を用いることは難しくなっています。本研究において開発した *in vitro* リスク評価システムを用いることにより、美白有効成分の候補となっている化学物質の白斑誘発リスクを、簡便・迅速・低コストで判定できることが期待されます。

本研究成果は、2024年8月1日付『Environmental Pollution』(Online版)に掲載されました。

1. 背景

様々な化学物質がヒトの健康に多大な影響を与える環境要因として知られています。皮膚は化学物質の曝露によって影響を受ける代表的な臓器の一つです。皮膚には日用品や化粧品等に含まれる化学物質をはじめ、様々な化学物質と接触する機会が多く、また、病変が発見されやすいという特徴があります。近年、ロドデノールが配合された美白化粧品の使用による白斑被害が大きな社会問題となりました。この美白化粧品の使用によって白斑を発症した患者数はアジア諸国で約2万人と報告され、これは化学物質によって引き起こされた皮膚疾患の症例数が最も多いものの一つです。白斑とは、皮膚中の色素細胞(メラノサイト)が消失することにより、様々な大きさの脱色素斑が生じる疾患です。ロドデノール白斑患者の皮膚病変部では、メラニンおよびメラノサイトの減少・消失が組織病理学的解析により明らかとなりました。これまでの症例報告ではロドデノール以外にも恒常的に白斑を誘発する化学物質が示唆されています。また、化学物質と紫外線を含む太陽光への同時曝露による光線性白斑の発症を誘発する化学物質に関するヒト症例報告もあります。しかし、これらの化学

物質のほとんどについて、白斑誘発能に関する介入研究による検証は不十分でした。

白斑被害を予防するためには、化学物質の白斑誘発能を検証するリスク評価が重要です。ヒトの症例報告の結果のみに基づいて、化学物質の白斑誘発能を検証するのは困難であり、また、ヒト介入研究による化学物質の白斑誘発能の有無を判定するのは倫理的に困難です。本研究グループにより先行して開発された *in vivo* 白斑誘発リスク評価法(Iida *et al.*, *Chemosphere* 2019.)は、ロドデノールおよびロドデノールに類似した化学構造を持つ化学物質のみを評価しているため、さまざまな化学物質の更なる検証による有効性の確認が必要です。さらに、化学物質の白斑誘発能を低コストで迅速に評価できる *in vitro* 白斑誘発リスク評価法の開発が期待されています。

2. 研究成果

本研究では、これまでのヒトの症例報告に基づき、恒常的に白斑を誘発する可能性のあるロドデノールを含む6種類の化学物質と、光線性白斑の発症を誘発する疑いがあるが恒常的な白斑を誘発しない化学物質3種類について調査しました。本研究のすべての *in vivo* および *in vitro* 実験は光による誘発のない条件で行われたため、前者は陽性、後者は陰性になると考えられます。これら9種類の化学物質について、本研究グループが以前開発した *in vivo* 評価システムにより、白斑誘発リスクを検証しました。この *in vivo* 評価システムは、皮膚の白さ、表皮メラニン量、皮膚の色素細胞数を定量評価します。白斑を発症すると、色素細胞数が減少することに伴い、メラニンレベルが減少する結果、皮膚の白さレベルが上昇します。9種類の化学物質についての *in vivo* リスク評価結果は、予想通りロドデノールを含む6種類の化学物質が陽性、光線性白斑の発症を誘発する疑いがある3種類の化学物質が陰性となりました(図1)。これらのことから、*in vivo* 評価システムの有効性が確認できました。また、*in vitro* 白斑誘発リスク評価法の開発のために、6種類の化学物質が positive control、3種類の化学物質が negative control として使用することも確認されました。

in vivo 評価システムはリスク評価に数ヶ月かかることから、より迅速かつ多検体を同時に評価できる *in vitro* 白斑誘発リスク評価法の開発が期待されています。これまでの先行研究で、色素細胞における小胞体ストレスの誘導がロドデノール誘発性

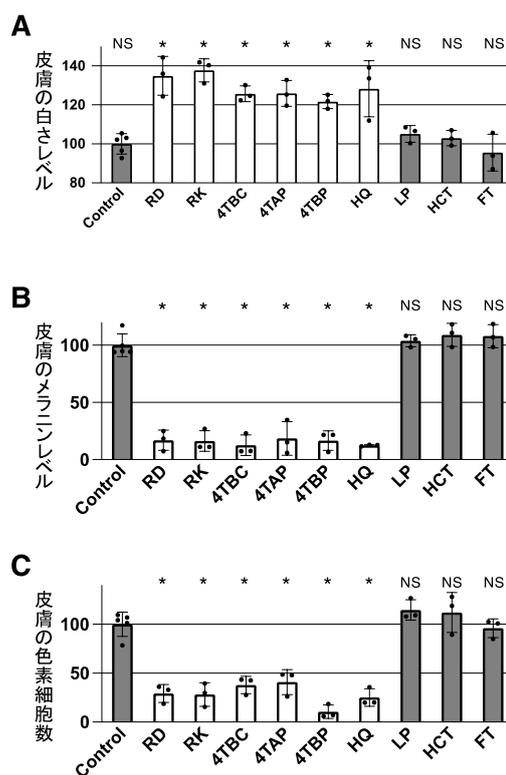


図1. *in vivo* リスク評価結果

の白斑の原因の一つであることが *in vitro* で示唆されています。そこで、本研究で *in vivo* 評価をした化学物質9種類について、メラノサイトにおける小胞体ストレス誘導の有無を *in vitro* で調査しました。小胞体ストレス誘導の有無は、小胞体ストレスが誘発されると蛍光タンパク質が発現するセンサープラスミドを色素細胞に導入して評価しました。まず、色素細胞に小胞体ストレス誘導剤であるツニカマイシンおよびロドデノールを曝露したところ、蛍光タンパク質の発現が認められました(図 2 上段)。続いて、*in vivo* 評価をした化学物質9種類について評価したところ、6種類の positive control では小胞体ストレスが誘発されること、3種類の negative control では小胞体ストレスが誘発されないことが確認されました(図 2 下段)。したがって、*in vitro* での色素細胞における小胞体ストレスの有無が *in vivo* リスク評価結果と一致することが明らかになりました。

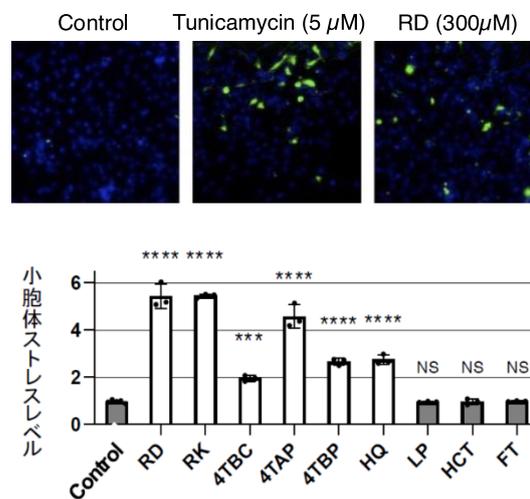


図 2. *in vitro* リスク評価結果

3. 今後の展開

症例報告はヒトに白斑を引き起こす化学物質を同定するために非常に有用な情報です。一方で、そのような症例報告の存在は、白斑を引き起こす化学物質を含む日用品や化粧品が実用化される前段階において、その化学物質の有害性評価が不十分であることも同時に示しています。ロドデノール白斑の後にも美白化粧品の巨大な市場が続いていることを考慮すると、信頼性の高いリスク評価システムの開発が不可欠です。本研究により、*in vivo* 白斑リスク評価法の有効性に加え、新たな *in vitro* 白斑リスク評価法の開発は、皮膚疾患を引き起こす環境要因(化学物質)を特定するという点で非常に意義があります。さらに、化粧品や日用品に含まれる化学物質の白斑誘発リスクを簡便・迅速・低コストで評価できることが期待されます。

4. 支援・謝辞

本研究は、科研費(19H01147, 17KT0033, 23H03147, 23K27837, 22K10508, 22K0145)の支援のもとで行われたものです。

【論文情報】

雑誌名: Environmental Pollution

論文タイトル: Progression from *in vivo* validation to *in vitro* screening in hazard assessment for leukoderma-inducible chemicals

著者名・所属名:

Akira Tazaki ^{a,b,c,†}, Delgama A. S. M. Nishadhi ^{a,c,†}, Ao Li^{a,c}, Lanyue Zhang ^a,
Than Hitke Maw ^{a,c}, Lisa Kondo-Ida ^{a,d}, Kiyoshi Yanagisawa ^d,
Masashi Kato ^{a,b,c,*}

^a Department of Occupational and Environmental Health, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Japan. ^b Activities of the Institute of Innovation for Future Society of Nagoya University. ^c Voluntary Body for International Health Care in Universities, Aichi, Japan. ^d Department of Molecular and Cancer Medicine, Faculty of Pharmacy, Meijo University, Nagoya, Japan.

DOI: [10.1016/j.envpol.2024.124508](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.124508)

English ver.

https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Env_240806en.pdf