

〈化粧品機能評価法ガイドライン〉

ヒト長期投与（安全性）試験の用量設定法ガイドライン

用量設定法ガイドライン検討委員会*

Dose Setting Method Guideline for Human Long-Duration Trials (Safety)

Dose Setting Method Guideline Committee*

1. 緒 言

医薬部外品の承認申請の見直しが行われ、平成29（2017）年4月13日薬生薬審発0413第1号「医薬部外品に関する臨床評価ガイドラインについて」¹⁾が発出された。これは、医薬部外品の製造販売の承認申請時に添付すべき資料として求められる「安全性に関する資料」および「効能又は効果に関する資料」のうち臨床評価に関する資料について、その作成上の留意点等をまとめたものである。

この中で「ヒト試験実施における留意点」の一つとして「ヒト長期投与（安全性）試験」が説明されている。ここには、12か月間100例以上の安全性データを収集し「実際の使用方法から想定され得る皮膚内濃度を考慮した用量設定を行う」という試験デザインが参考として示されている。

また、「ヒト長期投与（安全性）試験は、原則、同製剤の重ね使用^{注1)}や同一の有効成分を含有する化粧水、乳液・クリーム、パック等の同時使用^{注2)}を想定した試験デザインにて実施する必要がある」としている。

しかし、医薬部外品有効成分の皮膚内濃度を正確に測ることは難しく、重ね使用または同時使用をも考慮した実使用時の皮膚内濃度測定法は存在しない。そこで、日本香粧品学会は日本化粧品工業連合会と共同で、実際の使用方法から想定されうる皮膚内濃度を考慮したヒト長期投与（安全性）試験における用量設定の考え方を検討し、化粧品機能評価法ガイドラインの一つとして「ヒト長期投与（安全性）試験の用量設定法ガイドライン」を作成した。

2. ヒト長期投与（安全性）試験の概要

本試験が追加された背景には、4-(4-ヒドロキシフェニル)-2-ブタノール（商品名ロドデノール）配合美白化粧品（医薬部外品）で生じた白斑様症状が、製造販売承認時もしくはPMS（製造販売後調査）で把握することができなかったことがある。

「医薬部外品に関する臨床評価ガイドラインについて」¹⁾に参考として示された試験デザインにおける「12か月間100例以上」は、ICH E1 ガイドラインを参考にしながら、従来の試験や調査では見逃す可能性のある有害事象を事前に察知できる条件として設定されている。さらに、試験期間中の観察・評価を皮膚科専門医が行うことにより、有害事象の予兆を感知し、高い検出感度を有する安全性試験が実施できると考えられる。本試験は、実際の使用方法における長期投与時の安全性を評価することが目的であり、指標として「有効成分の皮膚内濃度」を考慮することが記載されている。

「医薬部外品に関する臨床評価ガイドライン」²⁾ならびに、「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」³⁾に以下の内容が記されている。

2-1. 試験対象²⁾

- (1) 原則、次の①から③までをすべて満たす製剤を対象として、実際の使用方法における長期投与時の安全性を評価する。
 - ①新有効成分含有医薬部外品
 - ②皮膚等に適用される製剤
 - ③日常的に繰り返し使用する製剤
- (2) 既承認有効成分を含有する医薬部外品で以下のい

* 日本香粧品学会事務局
〒162-0801 東京都新宿区山吹町358-5

* Secretariat Office of Japanese Cosmetic Science Society (358-5 Yamabukicho, Shinjyuku-ku, Tokyo 162-0801, Japan)

^{注1)} 重ね使用とは、短時間の間に同製剤を同様の部位に繰り返し使用することであり、例えば、製品を肌を使用して、肌になじんだ後、再度同じ部位に使用することを指す³⁾。

^{注2)} 同時使用とは、同一の有効成分を含有し種類の異なる製品を同様の部位に続けて使用することであり、例えば、同一の有効成分を含有する化粧水、乳液・クリーム、パック等を同様の部位に続けて使用することを指す。同一成分を添加剤として配合する化粧水、乳液・クリーム等の同時使用も想定する必要がある³⁾。

いずれかに該当する場合は必要に応じて実施する。

- ①同一の効果が期待される成分を新たに複数配合する場合
 - ②新たに効能を追加する場合
 - ③経皮吸収性を高める等、より優れた効果を期待した製剤を開発する場合
- (3) 開発時に想定していない使用方法を新たに追加する場合は原則、改めて実施する。
- ただし、開発時に想定していない使用方法を新たに追加する場合であっても、すでに実施されたヒト長期投与（安全性）試験から安全性が担保できる場合や、従来の使用方法と比較して実使用部位における皮膚内濃度が上昇しないと考えられる場合等においては、ヒト長期投与（安全性）試験を省略することは可能である。なお、省略する場合にはその理由を具体的に説明した資料の添付が必要である³⁾。

2-2. 試験方法²⁾

2-2-1. 皮膚科専門医の参画

適切な臨床試験の計画に際しては、皮膚科専門医と相談し、その評価に皮膚科専門医が携わることにより、有害事象の評価を含めて適切な評価が可能となる。

2-2-2. 試験デザイン

参考として、以下の試験デザインが記載されている。

- (1) 試験期間、被験者数
原則、投与期間は12か月、評価対象例数として100例以上の安全性データを収集する。試験開始時点の登録例数は、脱落例数等を考慮し設定する。
- (2) 用量設定
原則、実使用部位で実施し、実際の使用方法から想定され得る皮膚内濃度を考慮した用量設定を行う。
- (3) 評価項目
評価項目（評価基準）及び観察日・回数は試験製剤個々の特徴を踏まえ、皮膚科専門医と相談の上、設定する。
薬理作用、非臨床安全性試験や類似の薬理作用を有する既知の成分の安全性情報等から想定される有害事象があれば、それらを十分に考慮した上で評価項目を設定する。
- (4) 観察・評価
試験期間中、観察・評価は皮膚科専門医が行うこと。
観察日毎に被験者の使用部位の状態を写真で記録し、写真上でも評価を行うこと。

2-2-3. 重ね使用、同時使用の想定

原則、同一製剤の重ね使用や同一の有効成分を含有する化粧水、乳液・クリーム、パック等の同時使用を想定した試験デザインにて実施する必要がある。開発時に想

定していない使用方法を新たに追加する場合には、原則、改めて長期投与（安全性）試験を実施する。

2-2-4. 試験製剤、使用状況の記録

試験製剤については、使用状況を記録として保存し、使用量を把握する必要がある。その際、試験製剤の製造に関わる記録（ロット番号、製造年月日等）も保存する。

2-2-5. 被験者の安全確保

試験製剤による有害事象等が発現した場合に備えて、被験者の安全確保のために適切な医療提供を行うことができる体制を構築しておく必要がある。

2-2-6. 有害事象の記録

光過敏反応等も含めて、種々の有害事象が観察された場合は、その所見に関わる詳細な状況、処置、転帰等を記載しなければならない。

3. 皮膚内有効成分濃度に影響を及ぼす薬用化粧品の使用量

「医薬部外品に関する臨床評価ガイドライン」²⁾に参考として示されたヒト長期投与（安全性）試験デザインでは「実際の使用方法から想定され得る皮膚内濃度を考慮した用量設定を行う」とされている。したがって、ヒト長期投与（安全性）試験を実施する場合には、想定される実際の使用方法が有効成分の皮膚内濃度にどのように影響するのか把握する必要がある。

試験時の1回使用量は皮膚内濃度に影響する重要な因子であることから、用量設定に際しては実際の使用場面を十分に配慮する必要がある（付録「皮膚内濃度に影響を及ぼす要因」参照）。

なお、薬用化粧品（医薬部外品）は治療を目的とした医薬品とは異なり、用法・用量を規定した使用は認められていない。一般的に、医薬部外品製造販売承認申請書の「用法及び用量」には「適量を皮膚に塗布する」と記載される。また、医薬部外品に添付する文書、容器、被包には、使用者に分かりやすい表現として、「パール1～2粒を目安にお肌になじませてください」「1回の使用量は500円硬貨大くらいの量です」などの使用量の目安や推奨使用方法が記載されている。この点も考慮して用量設定を行う。

3-1. 1回使用量

薬用化粧品（医薬部外品）の1回当たりの使用量は固定的なものではなく、通常メーカーの推奨使用量を参考に、製品の使用性や個人の嗜好性、季節性などから、使用者が各自に最適な使用量を見いだして使用しているのが実情である。試験の使用量は以下の項目を考慮して決定する。

3-1-1. 推奨使用量

効果や使用感などに基づいて、メーカーとして推奨している使用量を明確にする必要がある。

3-1-2. 剤形や製剤物性による使用性

製品の剤形、また、同じ剤形であっても粘度や硬度、“のび”や“とまり”といった使用性が使用量に影響する。

3-1-3. 嗜好性

薬用化粧品（医薬部外品）は嗜好性の高い商品であり、使用習慣としてたっぷり塗布するのが好きな人や少量塗布を好む人がいる。効果への期待から多量使用する人や経済的な理由から少量使用する人など、個人の嗜好や期待が使用量に影響する⁴⁾。

3-1-4. 季節性

日本は高温多湿の夏と低温乾燥の冬があり、製品の使用量も季節により変化する。同じ製品を同じ人が使用しても、夏場は比較的化粧水などのさっぱりした化粧品が多用され、クリームなどのしっとりした化粧品は敬遠されがちである。冬場はこれと逆になる。一年間を通した試験を実施する場合は、季節性に留意する必要がある。

3-1-5. 容器からの吐出量

薬用化粧品（医薬部外品）はその利便性、意匠性のために、ボトル、ジャー、チューブ等いろいろな形態の容器が使用されており、同じ内容物でも使用時に容器から出てくる量が異なってくる。

また、ディスペンサー容器や小分け容器など一定量が吐出される容器の場合は、比較的使用量が安定していると考えられる。

3-1-6. 塗布用具等を使用する場合

コットンやパフなどの塗布用具を使用する場合は、減量値と使用量が同じにはならない。塗布用具等への残量を考慮して実際の使用量を考察する必要がある。

3-1-7. 重ね使用

薬用化粧品（医薬部外品）の重ね使用は、同一箇所にも多量塗布したいけれども1回で塗布が難しい場合に、一度塗布したのちに乾燥時間をおいて再び同じ場所に重ねて使用されることがある（重ね使用）。1回で塗布可能な量は、使用時の外部環境により変動することから、必ずしも毎回重ね使用されるとは限らず、同一量を1回で使用することもありうる。このため、重ね使用の影響は1回使用量の総量として考察することが望ましい。

3-1-8. 特殊な使用法の製品

閉塞使用や加温使用、多量塗布後長時間放置、イオン導入機器併用など、特殊な使用法の製品は、その影響も十分に想定する必要がある。

3-2. 使用頻度

薬用化粧品（医薬部外品）は一日の使用頻度の規定も認められていない。メーカー推奨頻度として朝1回使

用、夜1回使用、朝夜2回使用などが記載されていることもある。しかし、日中用化粧品や夜用化粧品などを除き、一般的には、朝夜2回使用される場合が多い⁴⁾。

3-3. 同時使用

新規有効成分はPMS（製造販売後調査）終了後、製品シリーズに共通有効成分として配合される場合がある。一連の化粧行為として推奨する化粧品類については同時に使用されることを想定しなくてはならない。一般的に、化粧水、乳液、クリーム、美容液などが同時使用される場合が多い。

また、他社を含め当該成分が「有効成分」もしくは「添加剤」としてすでに使用されている場合は、その使用状況について十分に調査し、同時に使用される可能性について精査しなくてはならない。同時使用の可能性については、個々の成分により異なるため、事前に医薬品医療機器総合機構に相談することが望ましい。

4. ヒト長期投与（安全性）試験の用量設定法

4-1. 承認申請処方を用いたヒト長期投与（安全性）試験の用量設定法

製造販売承認申請品を用いて、単独使用のみを想定した試験を行う場合に適用する。

- (1) 試料は承認申請処方製剤（申請有効成分濃度）とする。
- (2) ヒト長期投与（安全性）試験の試験用量は以下のうち総使用量の多いものとする。
 - ①ヒトによる実使用試験で有効性が確認された使用頻度、1回使用量
 - ②製造販売業者が使用者に推奨する使用頻度、1回使用量
- (3) 薬用化粧品（医薬部外品）は重ね使用も含め、使用者の好みや期待感により使用量にばらつきが生じる。また、同一人においても季節の変化に伴い使用量が変化することがある⁴⁾。そのため、推奨使用量より多く使用する可能性があるが、その際には、試験製剤の特性と被験者の化粧行動を十分に考察して試験用量を決定する。
 - ①物理的に塗布可能な量ではなく、一般的な化粧行為として塗布可能な量とする。なお、一般的な化粧行為として、日本化粧品工業連合会が一般的な日本人の化粧品使用量を調査した論文が参考となる^{4) 注3)}。
 - ②被験者の通常使用量との乖離が極端でなく、12か月間化粧行為として継続できる量とする。なお、塗布可能な量が季節により大きく変化する

^{注3)} 塗布可能量の算出に際しては、EUにおける安全性評価ガイダンスであるSCCS (Scientific Committee on Consumer Safety) Notes of guidance⁵⁾は暴露評価に90%タイル値を使用している。また米国EPA (U.S. Environmental Protection Agency Science Policy Council) のGUIDANCE FOR RISK CHARACTERIZATION⁶⁾では90, 95, 98%タイル値が指標として使用されている。

場合は、事前に医薬品医療機器総合機構に相談することが望ましい。

- (4) 推奨使用量より使用量を増やす場合は、その設定用量でも被験者の安全性が確保されていることが前提となる。
- (5) 試験用量が守られない場合は、安全性確認データとしての信頼性が低くなる。設定使用量を厳守するため、ディスペンサー容器や小分け容器などの定量容器を使用することが望ましい。

また、定期的な使用総量の管理を行い、設定使用量に比べ極端に使用量が少ない場合は、脱落例とみなす等の措置が必要である。

4-2. 同時使用を想定したヒト長期投与（安全性）試験の用量設定法

同一成分を有効成分および添加剤として含有する化粧水、乳液・クリーム、パック等の同時使用を想定する場合に適用する。各製剤の試験用量の設定は4-1.(2)～(5)に準じる。

- (1) 試料は承認申請処方製剤（申請有効成分濃度）および同時使用を想定する各製剤（有効成分の場合は申請製剤と同一の有効成分濃度、添加剤の場合は添加剤濃度）とする。
- (2) 同時使用を想定する試験試料を製造販売業者が推奨する順番ですべて同時使用する。また、想定する試験試料の製造販売業者が複数にわたる場合は、事前に医薬品医療機器総合機構に相談することが望ましい。

4-3. 皮膚内濃度が高濃度となる条件で実施するヒト長期投与（安全性）試験の用量設定法

あらかじめ皮膚内濃度が高濃度となる条件でヒト長期投与（安全性）試験を実施することにより、皮膚内濃度が低い製剤処方のヒト長期投与（安全性）試験を省略することができる。

皮膚内濃度を高くするため、有効成分の物理化学的特性や想定される毒性等を考慮し、長期間使用における皮膚内濃度の挙動を考察した上で最適な方法を選択する。

- (1) 有効成分の皮膚内濃度が高くなる剤形、製剤処方を使用する。
- (2) 製剤中の有効成分濃度を高くする。
- (3) 重ね使用など、1回使用量を多くする。

なお、製剤中の有効成分濃度ならびに総使用量を増やす場合には各毒性の安全マージンに十分に配慮しなくてはならない。

（付録「皮膚内濃度に影響を及ぼす要因」参照）

5. ヒト長期投与（安全性）試験の省略

新有効成分含有医薬部外品を承認申請するにあたり、剤形ごとにヒト長期投与（安全性）試験を実施すること

は、開発スピード低下や開発コスト上昇につながり、消費者への新たな価値提供や企業の経済活動に支障が生じる可能性が高い。また、すでに実施されたヒト長期投与（安全性）試験から安全性が担保できる場合や、従来の使用方法と比較して実使用部位における皮膚内濃度が上昇しないと考えられる場合等においては、ヒト長期投与（安全性）試験を省略することは可能であるとされている³⁾。

そこで「すでに実施した他の試験試料のヒト長期投与（安全性）試験結果」もしくは「あらかじめ皮膚内濃度が高濃度となる条件で実施したヒト長期投与（安全性）試験結果」を用い、新たな承認申請品の有効成分の皮膚内濃度がこれと同等以下であることを説明することにより試験を省略することができる。

5-1. 処方比較によるヒト長期投与（安全性）試験の省略

すでに実施したヒト長期投与（安全性）試験に用いた処方（以下「既実施処方」）と承認申請処方を比較して、既実施処方品での皮膚内濃度が承認申請処方品での皮膚内濃度と同等もしくは上回ることが処方比較から説明できる場合は試験を省略できる。

- (1) 両処方の基剤処方が同一または軽微な差で、既実施処方の有効成分濃度が承認申請処方品よりも高い場合
- (2) 両処方の基剤処方が軽微な差で、既実施処方の有効成分濃度が承認申請処方品と同等の場合
- (3) 軽微な差については、個々の製品ごとの特徴等を踏まえ承認審査で判断されることになる。なお、「局所皮膚適用製剤（半固形製剤及び貼付剤）の処方変更のための生物学的同等性試験ガイドライン⁷⁾」で示されている処方変更水準等も一つの参考となる。

5-2. 皮膚内濃度比較確認試験によるヒト長期投与（安全性）試験の省略

附則「皮膚内濃度比較確認試験法」を参考に、「承認申請処方製剤」の皮膚内濃度が「すでにヒト長期投与（安全性）試験を実施した処方製剤」と同等、もしくは低くなることを、皮膚内濃度比較確認試験を実施し、その結果から説明できる場合は試験を省略できる^{8,9)}。

6. ま と め

「ヒト長期投与（安全性）試験の用量設定法ガイドライン」は、医薬部外品製造販売承認申請書に添付すべき資料作成を想定したものであるが、有効成分の皮膚内濃度は、有効成分の物理化学的特性、基剤との相溶性、皮膚透過性などの要因や配合製剤の使用方法等により変化する。そのため、すべてのケースを網羅しているわけではない。また、厚生労働省においても個々の試験デザインの妥当性は承認審査において行うものとしている。

実際の承認申請用のヒト長期投与（安全性）試験を実施する場合は、本ガイドラインを参考にしつつ、個々の有効成分や製品特性を考慮した上で、それぞれに最適な方法を医薬品医療機器総合機構と確認しながら進めることを推奨する。

参考文献

- 1) 平成29年4月13日薬生薬審発0413第1号「医薬部外品に関する臨床評価ガイドラインについて」。
- 2) 平成29年4月13日薬生薬審発0413第1号別添「医薬部外品に関する臨床評価ガイドライン」3. ヒト試験実施における留意点(2)ヒト長期投与（安全性）試験。
- 3) 平成30年3月29日事務連絡別添「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」。
- 4) Yamaguchi, M., Araki, D., Kanamori, T., Okiyama, Y., Seto, H., Uda, M., Usami, M., Yamamoto, Y., Masunaga, T., Sasa, H.: Actual consumption amount of personal care products reflecting Japanese cosmetic habits. *J. Toxicol. Sci.*, 42: 797–814, 2017.
- 5) The SCCS Notes of Guidance for the Testing of Cosmetic Ingredients and their Safety Evaluation, 9th revision (SCCS/1564/15).
- 6) GUIDANCE FOR RISK CHARACTERIZATION U.S. Environmental Protection Agency Science Policy Council February, 1995.
- 7) 平成22年11月1日薬食審査発1101第1号「局所皮膚適用製剤（半固形製剤及び貼付剤）の処方変更のための生物学的同等性試験ガイドラインについて」。
- 8) 用量設定法ガイドライン検討委員会：藤堂浩明，足立浩章，今井教安，上中麻規子，内田崇志，大谷道輝，澤田美月，成田昌稔，西島貴史，野村宜史，宮坂美行，畑尾正人，増永卓司，山口雅彦，佐々 齊，知久真巳，川田裕三，古屋律子，藤井まき子：無限用量にて適用した種々剤形からのイソプロピルメチルフェノールの皮膚透過性と皮膚内濃度の関係について ―ヒト長期投与（安全性）試験の用量設定法ガイドライン策定のための検証結果 その1―。香粧会誌，43: 99–108, 2019.
- 9) 用量設定法ガイドライン検討委員会：藤堂浩明，足立浩章，今井教安，上中麻規子，内田崇志，大谷道輝，澤田美月，成田昌稔，西島貴史，野村宜史，宮坂美行，畑尾正人，増永卓司，山口雅彦，佐々 齊，知久真巳，川田裕三，古屋律子，藤井まき子：無限用量にて適用した種々剤形からのカフェインの皮膚透過性と皮膚内濃度の関係について ―ヒト長期投与（安全性）試験の用量設定法ガイドライン策定のための検証結果 その2―。香粧会誌，43: 183–190, 2019.

附則 「皮膚内濃度比較確認試験法」

1. はじめに

ヒト長期投与（安全性）試験における用量設定は皮膚内濃度を考慮し、その試験デザインは同製剤の重ね使用や同一有効成分を含有する化粧水、乳液・クリーム、パック等（同一成分を添加剤として含有する製剤も含む）の同時使用も想定して策定する必要がある。実際の使用方法における安全性を担保するため、このヒト長期投与（安全性）試験時の有効成分の皮膚内濃度は、承認申請処方製剤のそれと同等以上にしなければならない。また、すでに承認済みの有効成分を、先に承認された処方製剤とは異なる処方製剤に配合して新たに申請する場合には、その有効成分の皮膚内濃度は、承認済みまたはヒト長期投与（安全性）試験実施済みの処方製剤のそれと同等以下でなくてはならない。ここでは皮膚を透過する有効成分の皮膚内濃度を比較するための考え方とその確認方法を提案する。

2. 皮膚内濃度比較の考え方

2-1. 皮膚内濃度の比較は皮膚透過試験により評価できる

一般的に、化粧品使用後の皮膚内有効成分濃度を直接測定するにはさまざまな制約があり、測定値のばらつきも無視することができない。一方、皮膚透過試験は同じ条件で実施しやすく、また、適切な条件を設定することによりばらつきを抑えられやすいことから、結果の頑健性も高いと考えられる。また、無限用量系（後述）では

皮膚透過量の大小は皮膚内濃度の大小と一致する（付録「3. 無限用量系と有限用量系の皮膚内濃度比較」参照）ことが知られている。処方比較によるヒト長期投与（安全性）試験の省略に資する評価を考慮する場合、皮膚内の正確な濃度を求めなくても、複数製剤間における皮膚透過量の大小が分かれば、その目的を達成することができると考えられる。以上のことから、皮膚内濃度の比較は、皮膚透過試験による比較にて評価可能であると考えた。

2-2. 皮膚透過試験は *in vitro* 試験を基本とする

化粧品開発を取り巻く昨今の社会情勢を考慮すると、皮膚に塗布した処方製剤の有効成分の皮膚内濃度を測定する手段として、動物実験を行うことは困難である。また、ヒトを被験対象として生体組織採取検査等の侵襲性の高い手法も存在するが、被験者の負担を考慮すると、実際に行うには難易度は高い。一方、*in vitro* 皮膚透過試験法は皮膚からの目的成分の抽出・定量の際の作業性やハイスループット性に優れている。また、異なる処方製剤における皮膚内濃度の相対的な比較は、*in vitro* 皮膚透過試験でも十分可能である。これらのことを考慮して、皮膚透過試験は *in vitro* 試験にて行うことを基本と考えた。

2-3. 試験用皮膚膜はヒト皮膚を推奨する

動物試料を用いる試験に対する昨今の社会的な考え方を考慮し、透過試験の皮膚膜にはヒト皮膚を用いること

を推奨する。ヒト皮膚はアメリカ・フランスから一般流通しているものを入手することが可能である。ドナーによる個体差・部位差を考慮し、一度の試験で使用する皮膚は、同一ドナー・同一部位の皮膚を使用する必要がある。ヒト皮膚以外の皮膚膜を使用する場合は、ヒト皮膚との相関性について文献などを引用して言及する必要がある。

2-4. 比較試験は無限用量系を推奨する

実際の使用量を考慮する有限用量系は、一般的に、均一に塗布することが難しく、また、皮膚への塗布量が少ないため、それに伴い皮膚内へ移行する有効成分量も少なくなる。そのため、結果のばらつきが大きくなってしまい、皮膚内濃度の相対比較が困難になることがある。無限用量系の皮膚透過試験であれば、透過量の大小と皮膚内濃度の大小が一致し、実験環境の影響や塗布量のばらつきを抑えられるなどの優位性もある。また、適用量が極めて少ない場合を除き、皮膚透過量および皮膚内濃度は有効成分濃度および処方に依存することから、無限用量系が妥当である。したがって、ヒト長期投与（安全性）試験に用いる処方製剤と承認申請処方製剤を試験試料とした無限用量系における皮膚透過試験を同時に実施し、その透過量を比較することにより、二つの処方製剤における有効成分の皮膚内濃度の大小を判断することを推奨する。

2-5. 有効成分を化粧水、乳液など複数剤形による展開を予定している場合の試験の考え方

同一の有効成分を含む製品が異なる剤形で存在し（同一の有効成分を含む化粧水、乳液、クリームなどの発売が予定されている等）、一度の化粧行動において同時使用が予想される場合には、有効成分の皮膚内濃度が最大になる条件でヒト長期投与（安全性）試験を実施する必要がある。

同時使用した場合の皮膚内濃度は単一の製品を使用したときの皮膚内濃度と異なることが考えられるため、各製品単品での皮膚内濃度だけでなく、同時使用を考慮した製品混合物についても皮膚内濃度を測定し、有効成分の皮膚内濃度が最大になる条件を提示する必要がある。無限用量系では実使用に即した重ね塗りはできないので、同時使用が予想される製品の使用比率に応じて混合した製品混合物を無限用量系にて適用する。

なお、有効成分と同一の成分を添加剤として含有している場合もあるので、同時使用を考える場合は、添加剤についても考慮する必要がある。

3. *In vitro* 皮膚透過試験

皮膚内濃度比較の考え方で述べたように、ヒトを被験対象として有効成分の皮膚内濃度を直接、正確に測定するのは難しいことが多いため、有効成分の皮膚内濃度の大小は、皮膚透過性の大小を比較することにより推定し、その結果をもって、ヒト長期投与（安全性）試験の省略の判断に資するものとする。以下に *in vitro* 皮膚透過試験の概要を示す。

なお、以下に記した諸条件は、絶対的なものではなく、対象とする有効成分の性質などを考慮して、適宜変更が必要になることもある。また、本試験方法の適用が難しい場合、より適切に皮膚内濃度を評価可能な方法がある場合は、別の方法を用いることも可能である。

3-1. 試験ガイドライン／ガイダンス

本試験を実施するに当たっては、下記ガイドライン／ガイダンスが参考になる。ただし、試料適用量は本試験と異なっているので注意すること。

- ・ OECD Test Guideline 428 (2004). Skin Absorption: *In Vitro* Method.
- ・ Scientific Committee on Consumer Safety. Basic Criteria for the *in Vitro* Assessment of Dermal Absorption of Cosmetic Ingredients (SCCS/1358/10).
- ・ *In vitro* 皮膚透過試験 (*In vitro* 経皮吸収試験) を化粧品・医薬部外品の安全性評価に資するためのガイダンスについて (薬生薬審発 1115 第 1 号, 平成 28 年 11 月 15 日)

3-2. 試験試料

比較を行いたい製剤を試験試料とする。複数製剤の混合物を試験試料として用いる場合は、*in vitro* 皮膚透過試験を実施している期間の安定性が確保されていることを確認した上で採用する。

3-3. 皮膚膜^{注1)}

ダーマトーム処理されたヒト皮膚（皮膚厚：約 0.5 mm）を用いることが望ましい。使用するヒト皮膚は、同一ドナーの同一部位でそろえる。使用に当たっては、目視、電気抵抗値、経皮水分蒸散量（TEWL）などを指標として、皮膚膜の integrity を確認し、試験実施に適切なものを使用しなければならない^{注2)}。また、各試験試料への割付を行う際にも、皮膚膜の integrity を考慮

^{注1)} 皮膚膜の解凍および水和：皮膚の解凍は室温 15 分程度を目安として行う。皮膚の水和は、拡散セルに皮膚を挟み込んだ状態でセルの上側（表皮側）に生理食塩液（あるいは等張リン酸緩衝液）を加え、30 分～1 時間程度なじませる。解凍および水和後に余剰の水分が皮膚に付着している場合、ろ紙や綿棒等により取り除く。この時、皮膚に損傷を与えないよう丁寧に作業する。

^{注2)} 皮膚膜の integrity：電気抵抗値は、皮膚の水和中すなわちセルの上側（表皮側）に生理食塩液（あるいは等張リン酸緩衝液）を加えた状態で測定する。測定終了後は、綿棒等を使ってセルや皮膚表面に残存する水分をよく拭き取る。この時、皮膚に損傷を与えないよう丁寧に作業する。一方、TEWL は水和の影響が大きいため、水和前に測定することが好ましい。安定した値を得るためには、皮膚を拡散セルに固定し、レセプター液を入れた後、水和前に測定するのが良い。Integrity の測定で異常値を示す皮膚は試験に供しない。

し、偏りのないようにする必要がある^{注3)}。

3-4. *In vitro* 皮膚透過試験装置

固定型拡散セル（フランツ型拡散セルなど）を用いることが望ましい。

3-5. セル数および適用までの操作

試験に供するセル数は各試験試料5セル以上とすることが望ましい。レセプター液は、基本的には生理食塩液または等張リン酸緩衝液を用いることとするが、被験有効成分の特性を考慮して、必要に応じて界面活性剤や有機溶媒等を溶解させたものなどを使用しても良い^{注4)}。試験は、いわゆる無限量系にて行い、適用量はおおむね $500 \mu\text{l}/\text{cm}^2$ とする。皮膚表面は $32 \pm 1^\circ\text{C}$ となるように制御する。

3-6. 分析試料の採取

試験試料を塗布後、経時的にレセプター液をサンプリングして測定サンプルとする。

3-7. 有効成分の測定

測定サンプルとしたレセプター液について、HPLC等、被験有効成分に適した分析方法にて測定する。

3-8. 評価

レセプター液中の被験有効成分量は、サンプリング時間ごとに単位面積あたりの透過量 ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) として表し、時間と透過量の関係をプロットする（透過プロファイル）。各試験試料について、皮膚透過性の順序を確認する。

4. 試験実施の具体例^{注5)}

4-1. 目的

有効成分 A を含有する化粧水、乳液、クリーム、混合製剤を用いた *in vitro* 皮膚透過試験を行い、4 製剤における有効成分 A の皮膚透過量の差、順序を確認する。

4-2. 方法

4-2-1. 試験試料

試験試料は化粧水、乳液、クリーム、混合製剤の4製剤とする。混合製剤は化粧水：乳液：クリーム＝7：4：2の比率（容量比）で用時混合したものとした。この混合比率は、化粧品の使用量調査結果¹⁾に基づいて決定した。混合製剤については、混合後の製剤が見た目上均一になり、かつ実験中に分離等の変化が起らないように混合した。

4-2-2. 皮膚膜

アメリカ B 社よりダーマトーム処理された凍結ヒト皮膚（皮膚厚：約0.5 mm）を購入した。入手した皮膚は、試験に供するまで約 -20°C 中に保管した。皮膚膜を *in vitro* 皮膚透過試験装置（フランツ型拡散セル）に固定後、電気抵抗値および TEWL を測定し、皮膚膜の integrity を評価した。

4-2-3. セル数および適用までの操作

試験に供するセル数は各試験試料あたり5セルとした。レセプター液は、生理食塩液に1% Brij O20 を溶解させたものを使用した。TEWL 測定（integrity 評価）は、皮膚膜をセルにセッティングし、約15分間静置した後に測定した。その後、30分～1時間程度、生理食塩液にて皮膚表面を水和させた。この間に電気抵抗値測定（integrity 評価）を実施した。試験試料は、全群ともに過剰量かつ揮発を防ぐための閉塞環境による適用とし（いわゆる無限量系）、適用量はおおむね $500 \mu\text{l}/\text{cm}^2$ とした。試験試料の適用後、アルミ箔を被せ、さらに、その上からパラフィルムで覆い、閉塞環境とした。皮膚表面は $32 \pm 1^\circ\text{C}$ となるように制御した。

4-2-4. レセプター液のサンプリング

レセプター液を経時的にサンプリングして測定サンプルとした。サンプリング時間は、適用後1, 2, 4, 6, 8, 24時間の6点とした。

4-2-5. 測定

測定サンプルとしたレセプター液中の有効成分 A を、HPLCにて測定した。

4-3. 評価

レセプター液中の被験有効成分量は、サンプリング時間ごとに単位面積あたりの透過量 ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) として表し、時間と透過量の関係をプロットした（透過プロファイル）。化粧水、乳液、クリーム、混合製剤について、皮膚透過性の順序を確認した。

4-4. 結果・考察

有効成分 A の皮膚透過量は化粧水で最も高く、ついで乳液、クリームの順であり、今回、同時に測定した皮膚内濃度の順と一致していた。また、混合製剤の皮膚透過量は、化粧水の透過量よりも低下していた。本検討により、無限量系にて *in vitro* 皮膚透過試験結果から、皮膚内濃度の大小関係を把握することが可能であると考えられた。なお、詳細は2019年6月発行の日本香粧品学会誌の「報告」に報告した²⁾。

^{注3)} 皮膚 integrity を参考にした試料の割り付け：適用開始前に、測定した電気抵抗値を参考にして皮膚に試験試料を割り付けることが望ましい。これにより、試験試料ごとの皮膚の偏りが防げ、データのばらつきを抑えることができる。

^{注4)} レセプター液の選定：レセプター液は、有効成分の溶解性等を考慮して決定する。界面活性剤等を使用する場合、その溶解量を多くすると皮膚の integrity に影響を与えることがあるため、考慮して選択する必要がある。

^{注5)} 試験実施の具体例：ここに示す具体例は、本ガイドライン附則の理解を深めるために示した一例であり、申請の際に必要なとされる絶対的な試験条件を示すものではない。

参考文献

- 1) Yamaguchi, M., Araki, D., Kanamori, T., Okiyama, Y., Seto, H., Uda, M., Usami, M., Yamamoto, Y., Masunaga, T., Sasa, H.: Actual consumption amount of personal care products reflecting Japanese cosmetic habits. *J. Toxicol. Sci.*, 42: 797–814, 2017.
- 2) 用量設定法ガイドライン検討委員会: 藤堂浩明, 足立浩

章, 今井教安, 上中麻規子, 内田崇志, 大谷道輝, 澤田美月, 成田昌稔, 西島貴史, 野村宜史, 宮坂美行, 畑尾正人, 増永卓司, 山口雅彦, 佐々 齊, 知久真巳, 川田裕三, 古屋律子, 藤井まき子: 無限用量にて適用した種々剤形からのイソプロピルメチルフェノールの皮膚透過性と皮膚内濃度の関係について — ヒト長期投与 (安全性) 試験の用量設定法ガイドライン策定のための検証結果 その1—. 香粧会誌, 43: 99–108, 2019.

付録 「皮膚内濃度に影響を及ぼす要因」

化粧品等の安全性にかかわる生きた表皮・真皮内の有効成分濃度 (以下, 皮膚内濃度) を実際の試験下において測定できれば, その試験の妥当性を明確にすることができるが, 現在の測定技術では非侵襲的に皮膚内濃度を測定することは難しい。そのため, Fick の拡散則を用いたシミュレーションが行われている。

経皮吸収型製剤として用いられる場合の有効成分の皮膚移行, 経皮吸収についてはさまざまな成書があるので, それを基本とし, 薬用化粧品として適用する場合の特殊性を考慮する部分について解説する。

1. 皮膚適用製剤からの皮膚透過の基本 (無限用量系)

皮膚に適用された製剤中の有効成分は投与直後から角層を透過して徐々に皮膚内に流入し, やがて血中へ移行 (排泄) されていく。有効成分が十分な量であり, 製剤の変化がないとき (いわゆる無限用量系) は, やがて定常状態となり, 血中への移行速度や皮膚内濃度はある一定の値をとる。

皮膚を均一な1層膜とみなした場合, 単位面積当たりの皮膚透過速度 J と定常状態の皮膚内濃度 C_{ss} は以下の式で表される。

$$J = KDC_v / L = PC_v$$

$$C_{ss} = KC_v / 2$$

有効成分配合濃度 C_v , 皮膚／製剤間の分配係数 K , 皮膚拡散係数 D , 皮膚実効厚さ L , 透過係数 $P = KD/L$

したがって, 定常状態の皮膚内の有効成分濃度 C_{ss} は有効成分配合濃度 C_v と皮膚／製剤間の分配係数 K , に影響される。なお, 拡散係数 D は, 定常状態に達する時間には影響するが, 皮膚内濃度には影響しない (Fig. 1-1)。

1-1. 製剤中の有効成分配合濃度 C_v

同一製剤の場合, 有効成分が製剤中に溶解状態で存在する場合, 皮膚内濃度は製剤中濃度に比例する。また, 有効成分配合濃度が製剤への溶解度を超え, 一部の有効成分が懸濁状態となっている場合は, 製剤中の溶解濃度は溶解度となり, それ以上の増大は見られない。この場合は有効成分配合濃度と皮膚内濃度に比例関係は見られない (Fig. 1-2)。

1-2. 皮膚／製剤間の分配係数 K

有効成分の皮膚に対する溶解度と基剤に対する溶解度により分配係数が決まる。有効成分の皮膚に対する溶解度は有効成分に固有のものであることから, 有効成分の製剤に対する溶解度により分配係数が変化する。分配係

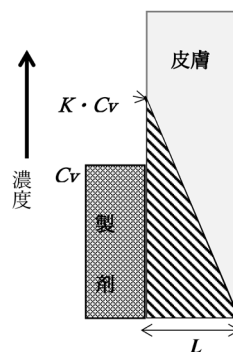


Fig. 1-1. 定常状態における皮膚内濃度 (無限用量系). 皮膚表面の有効成分濃度 C は製剤中濃度 C_v と皮膚／製剤間の分配係数 K の積で表される。定常状態では濃度勾配が図のように直線的な傾きとなるので, 定常状態の皮膚内濃度 C_{ss} は $KC_v/2$ と表される。

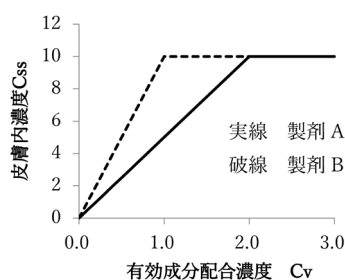


Fig. 1-2. 有効成分配合濃度と皮膚内濃度の関係. 同じ製剤の場合, 有効成分配合濃度に比例して皮膚内濃度は上昇し, 溶解度以上では一定となる。この比例係数が分配係数 K である。製剤 A では, 有効成分の溶解度が 2.0 であるので, 配合濃度が 2.0 以下では配合濃度と皮膚内濃度は比例しているが, 2.0 以上では変わらない。製剤 B は有効成分の溶解度が 1.0 である。製剤が異なっても製剤中に薬物が飽和しているときは皮膚内でも薬物は飽和状態となるので, 製剤 B では配合濃度 1.0 で製剤 A の 2.0 と同じ皮膚内濃度を示す。製剤 A と B を比較すると配合濃度が同じであっても皮膚内濃度は異なる。例えば配合濃度 1.0 では, 製剤 A に比べ B では皮膚内濃度は 2 倍となる。

数が高いほど、皮膚内濃度は高くなる (Fig. 1-2, 3)。

2. 長期連用試験において皮膚内濃度に影響すると考えられる因子（有限用量系）

長期連用試験においては実使用に近い形で使用をするので、適用後、有効成分の皮膚への移行に伴い製剤中の有効成分濃度が減少する可能性が高い（有限用量系）。また、製剤中の揮発成分の蒸散など、さまざまな変化が起こり、有効成分の皮膚内濃度はたいへん複雑な変化を示すと考えられる。このような場合の皮膚内の有効成分濃度に製剤処方や適用方法がどのように影響するかについて示す。

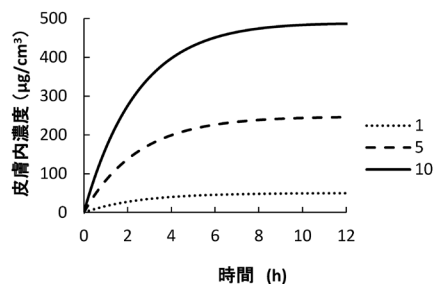


Fig. 1-3. 分配係数 K の皮膚内濃度に与える影響。有効成分配合濃度が同一で分配係数 K が 1～10 と異なる製剤を用いた場合、定常状態に達すると皮膚内濃度は一定となり、その値は分配係数に比例して高くなる。

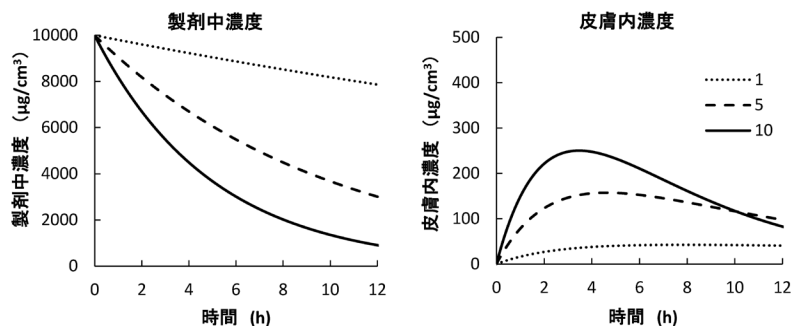


Fig. 2-1. 有効成分の皮膚移行に伴う製剤中濃度の低下と皮膚内濃度の変化。適用量を $5 \text{ mg}/\text{cm}^2$ 、 K が 1～10 と異なる製剤を用いた場合、皮膚移行が速い $K=10$ の場合は製剤中濃度の低下が著しく、皮膚内濃度はピークを示すが、 $K=1$ の場合は製剤中濃度の低下が小さく、無限系に近いほぼ一定の皮膚内濃度となる。

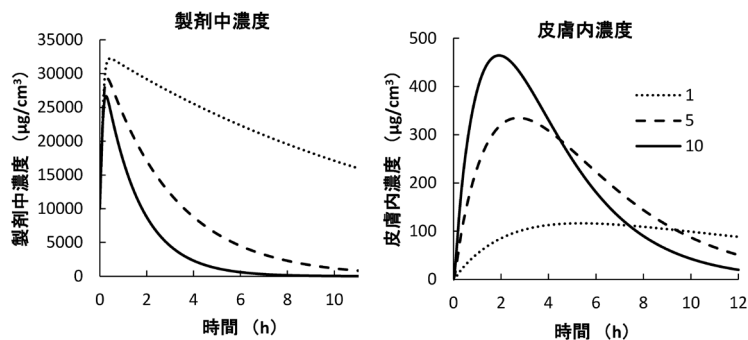


Fig. 2-2. 製剤中揮発成分の揮散による有効成分の濃縮の影響。適用量を $5 \text{ mg}/\text{cm}^2$ 、 K が 1～10 と異なる製剤を用いた場合、揮発成分の揮散により、0.3 時間で 30% まで濃縮するが、分配係数は変化しないとき、濃縮により製剤中濃度が高くなるため、皮膚内濃度が上昇する。

なお、角層機能を低下させるような一般的な経皮吸収促進剤を用いない化粧品類では、角層中拡散係数 D は有効成分固有であり、また、皮膚内に入った有効成分透過係数 P についても、製剤の影響は小さいと考えられる。有限用量系では定常状態は得られないので、皮膚内濃度は角層を通して生きた表皮真皮へ移行してくる有効成分量から消失していく有効成分量を差し引き、皮膚体積で除することによって得た結果をグラフとして示す。

有効成分の皮膚移行性、皮膚透過性は有効成分自身の性質により異なる。本シミュレーションでは、比較的皮膚を透過しやすい物質を想定した。特に断わりがない限り、角層中拡散係数 $D=1.0 \times 10^{-4} \text{ cm}^2/\text{h}$ 、生きた表皮・真皮中透過係数 $P=0.02 \text{ cm}/\text{h}$ 、製剤中初期濃度 1%（すべて溶解）とした。

2-1. 製剤処方の影響

2-1-1. 皮膚移行に伴う製剤中有効成分濃度の変化

製剤中の有効成分濃度は、皮膚内への移行とともに減少する。その結果、製剤中有効成分濃度に比例する皮膚移行速度が徐々に減少し、皮膚内からの消失速度との関係で、皮膚内濃度はピークを示し、その後、減少する。ただし、皮膚移行が遅い場合には製剤中の有効成分濃度の減少が小さく、ほぼ一定の皮膚内濃度を保つ (Fig. 2-1)。

2-1-2. 製剤中の揮発成分揮散の影響

化粧品中には水をはじめとする揮発成分が多く含まれる。水などは比較的短時間に蒸散するため、製剤中の有効成分の濃縮が起こる場合が考えられる (Fig. 2-2)。

また、揮発成分の揮散により、組成が変化し、分配係数が変化する可能性がある。例えば、グリセリンのような揮発しにくい保湿成分が多く配合された製剤では、水よりもグリセリンに対する溶解度が高い有効成分

は、水の揮発に伴い分配係数が低下する可能性もある (Fig. 2-3)。

2-1-3. 有効成分の配合濃度の影響

有効成分の製剤中配合濃度が違う場合や、長期連用試験で製剤中有効成分濃度を高くして実施することがある。

有限系においても、製剤中有効成分が溶解している場合は、有効成分濃度が高くなると、皮膚内濃度のピークは濃度に比例して高くなる (Fig. 2-4)。

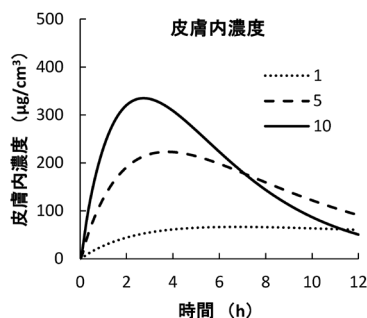


Fig. 2-3. 製剤中揮発成分の揮散による有効成分の濃縮とそれに伴う分配係数変化の影響. Fig. 2-2 と同様の濃縮が起こり、有効成分の溶解度が高い成分が残ったため、分配係数が1/2と変化したとき、製剤中濃度の上昇により皮膚内濃度は上昇するが、分配係数が低下するため、上昇の程度は Fig. 2-2 に比べて小さい。

2-2. 適用方法の影響

2-2-1. 適用量の影響

適用量は有効成分皮膚移行に伴う製剤中濃度の低下に影響する。適用量が多いほうが製剤中濃度の低下が緩和される。皮膚移行が遅い場合、もともと製剤中濃度低下の影響が小さいため、適用量を増加させても皮膚内濃度はほとんど変わらない。一方、皮膚移行が早い場合は、適用量の増加に伴い製剤中濃度の低下が緩和されるため、皮膚内濃度のピークは高くなる。ただし、適用量を2倍にしても皮膚内濃度の最高値が2倍になるわけではない (Fig. 2-5)。

2-2-2. 重ね使用の影響

適用量を増やして塗布が難しい場合は、短時間の乾燥時間を設けて2度塗りすることによりおおむね2倍量の

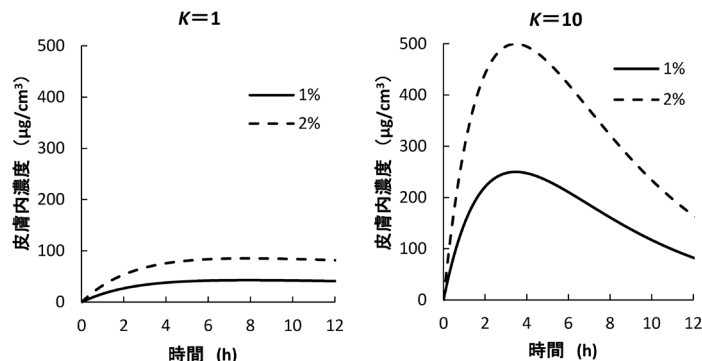


Fig. 2-4. 有効成分の配合濃度の皮膚内濃度に与える影響. 適用量を 5 mg/cm^2 、分配係数 K が1(左)と10(右)の場合. 濃縮なしの場合. 濃縮があっても同様。

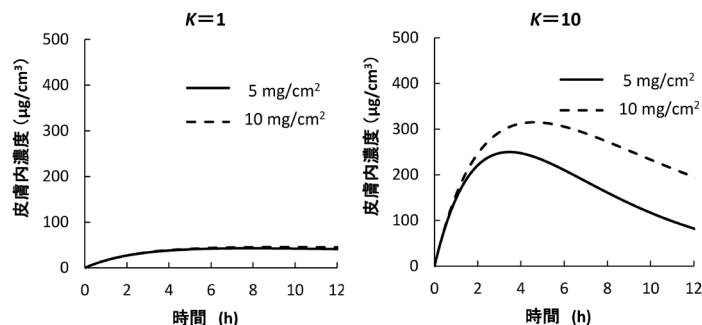


Fig. 2-5. 製剤適用量の皮膚内濃度に与える影響. K が1(左)と10(右)の場合. 濃縮なしの場合. 濃縮があっても同様. 皮膚移行が遅い $K=1$ では適用量の影響はほとんどない. 皮膚移行が速い $K=10$ において、適用量を2倍にしても最高皮膚内濃度は約1.3倍である。

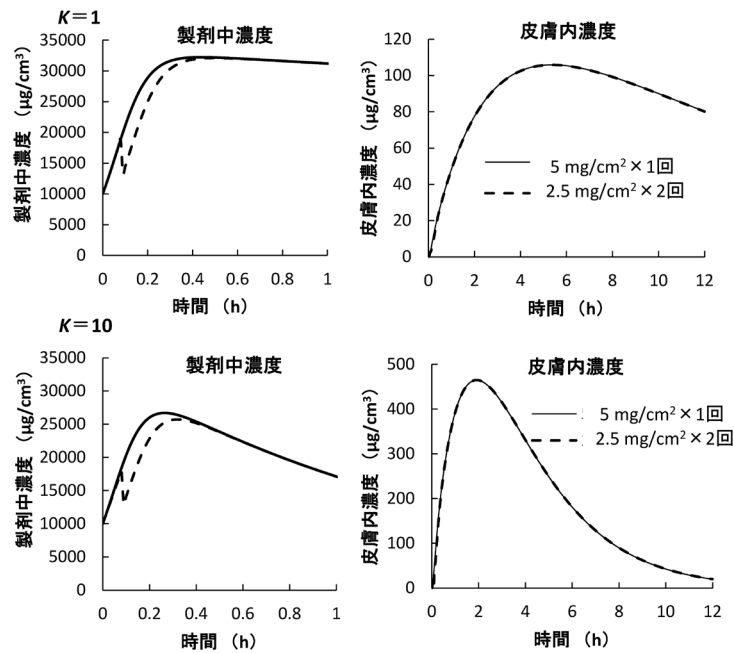


Fig. 2-6. 重ね使用の製剤中濃度と皮膚内濃度に与える影響. $5 \text{ mg}/\text{cm}^2$ を1回で適用した場合と $2.5 \text{ mg}/\text{cm}^2$ を5分の間隔で2回適用した場合 (上 $K=1$; 下 $K=10$). 20分で30%まで濃縮するが、分配係数は変化しない場合. 揮発成分の蒸散により有効成分濃度が上昇するが、2回目の塗布でいったん濃度は低下する. 製剤中濃度は30分以内に同等となり、皮膚内濃度は変わらない.

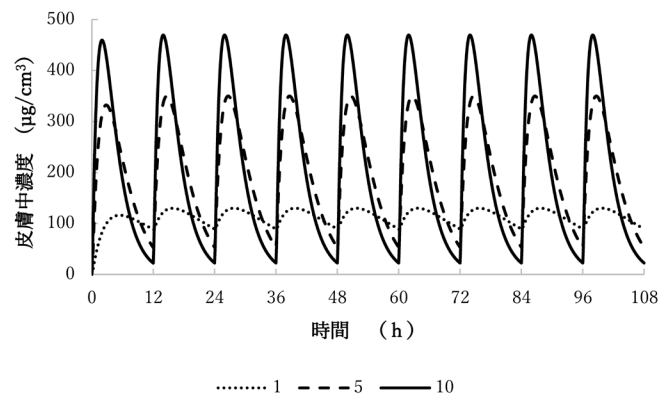


Fig. 2-7. 12時間ごとに繰り返し適用をしたときの皮膚内濃度の変化 (Fig. 2-2の条件).

塗布が可能となる。乾燥による有効成分の皮膚分配係数の変化が認められない場合、総塗布量が同じであれば、1回塗布と2回に分けて塗布した場合の皮膚内濃度はほぼ同等である (Fig. 2-6)。

2-2-3. 繰り返し投与

原則として、前回塗布分は洗顔等により皮膚上には残存しない状態で繰り返し適用される。角層中に有効成分が残存している場合には、角層透過に要する遅延時間がなくなるが、累積による皮膚内濃度上昇はほとんど見られない。ただし、本シミュレーションと異なり、生きた表皮・真皮中からの消失速度が小さい有効成分では繰り返し適用により皮膚内濃度が上昇することがある。その場合においても無限用量系の定常状態の皮膚内濃度を超えることはない (Fig. 2-7)。

3. 無限量系と有限用量系の皮膚内濃度比較

製剤中の有効成分濃度が変化しない無限量系の実験では、定常状態が得られるため、皮膚中濃度は一定となり、累積皮膚透過量は直線を示す。無限量系は、実験条件に左右されにくく再現性が高い方法であり、皮膚透過速度と皮膚内濃度の間には相関性が見られる (Fig. 3-1)。

一方、有限用量系では、適用製剤中の有効成分量が少ないことから製剤中の有効成分濃度が減少して、皮膚内濃度は定常状態が得られずに時間とともに変化する。このため、皮膚内濃度を把握するためには時間ごとの皮膚内濃度を測定しなければならない。また、累積皮膚透過量も低く、測定しにくい。これらから、有限用量系による製剤の比較は難しい (Fig. 3-2)。

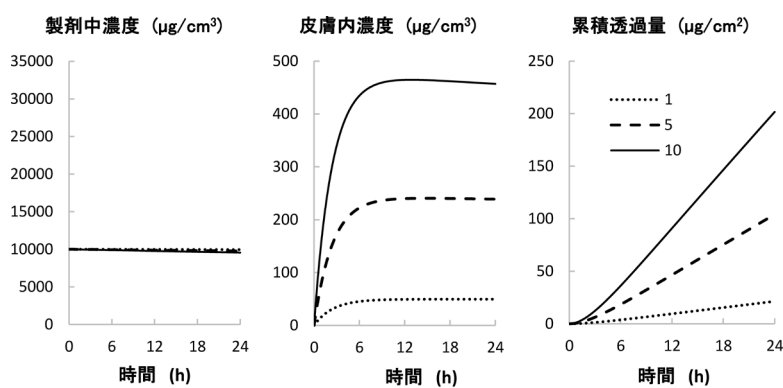


Fig. 3-1. 無限系での製剤中濃度変化と累積皮膚透過量および皮膚内濃度. 適用量; $0.5 \text{ ml}/\text{cm}^2$, K が1~10 と異なる製剤を用いた場合.

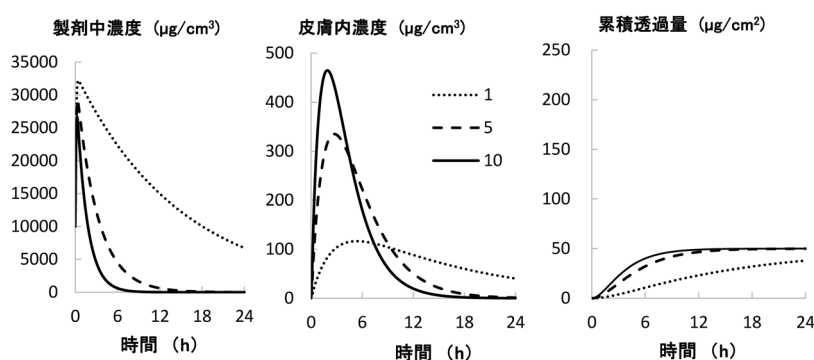


Fig. 3-2. 有限系での製剤中濃度変化と累積皮膚透過量および皮膚内濃度. 適用量; $5 \text{ mg}/\text{cm}^2$, K が1~10 と異なる製剤を用いた場合. 揮発成分の揮散がある場合 (Fig. 2-2 と同じ条件).

なお、有限用量系では2. で述べたようにさまざまな要因により皮膚内濃度が変化するが、適用製剤による皮膚内濃度の順は原則として無限用量系と同様となる (Fig. 2-1~3 参照)。ただし、濃縮の効果 (濃縮率、分配

係数の変化) が著しく異なる製剤を比較する場合は、逆転が起こる可能性があるので、処方の違いも考慮することが必要である。