日本医療研究開発機構 医薬品等規制調和・評価研究事業 事後評価報告書

公開

I 基本情報

研究開発課題名: (日本語) 医薬品等の含有成分によるアレルギー発症防止のための評価手法開発に関する研究

(英語) Research on the Development of Evaluation Methods for Preventing Allergy Onset Due to Ingredients Contained in Pharmaceuticals and Other Products

研究開発実施期間: 令和3年7月1日～令和6年3月31日

研究開発代表者 氏名: (日本語) 矢上 晶子

(英語) Akiko Yagami

研究開発代表者 所属機関・部署・役職:

(日本語) 学校法人藤田学園 藤田医科大学・医学部総合アレルギー科・教授

(英語) Fujita Health University, Department of Allergology, Professor

II 研究開発の概要

研究開発の成果およびその意義等

和文:

①医薬品等の添加物によるアレルギー発症に関する臨床的情報収集および解析

医薬品等(化粧品、医薬部外品含む)の添加物によるアレルギーは予期せず発生し、社会的問題となることもある。しかしながら、臨床現場での発生や検査・診断の実態はこれまで明らかになっていなかった。そこで、わが国における医薬品等の添加物によるアレルギー発症に関する臨床的情報収集および解析、医薬品等による障害事例の原因抗原解析、ガイドンスに資する情報公開に向けて取り組んだ。

全国調査として、対象となる医薬品等によるアレルギー患者を診療する医師が主に所属する学会(日本アレルギー学会、日本臨床皮膚科医会)の学会員に対して薬剤アレルギー実態調査を行い、さらに一般社団法人SSCI-Net、『薬疹情報』などへの登録例を収集し解析を実施した。過去10年間における医薬品等による即時型・遅延型過敏症事例を対象とした全国規模のアンケート調査(実施期間:2022年1月末～2022年2月28日(最終回答回収日2022年6月30日)、回答機関数:151/5,329施設回答率:2.8%、回答件数:2,917件、うち「医薬品」回答件数:2,341件)を実施し、さらに回答の再調査が必要と判断した事例については再調査(実施期間:2022年6月末～2022年7月31日(回答回収日2022年9月10日)再調査対象回答施設数・件数:42施設・251件返答施設数・回答確認数:40施設・176件)実施し、

それらの結果を解析した。その結果、151 施設 (2.8%) から 2,341 例の症例情報を得た。病型の内訳は、即時型 20.5%、全身遅延型 55.1%、局所遅延型 (接触皮膚炎) 17.2%、固定薬疹 5.7%、他であった。皮膚テスト、DLST 等による原因成分確定例は、即時型 20 件 (カルボキシメチルセルロース、マクロゴール、アセトアミノフェン、他)、全身遅延型 14 件 (アモキシシリン、アセトアミノフェン、他)、局所遅延型 66 件 (フラジオマイシン硫酸塩、塩化ベンザルコニウム、過酸化ベンゾイル、他)、固定薬疹 23 件 (アリルイソプロピルアセチル尿素、他) であった。

即時型アレルギー事例ではカルメロースナトリウム (CMC)、マクロゴール (ポリエチレングリコール、PEG)、アセトアミノフェンが検討や対策が必要な薬剤として抽出された。CMC および PEG (コロナワクチンに使用) は、薬剤以外にも多く使われており診断には皮膚テストが必要であるがコロナワクチンの成分提供は行われず、検査自体が実施できず診断に至っていない症例が多数あることが推察される。また、アセトアミノフェンもまた、コロナ禍で頻用されたが当該薬剤は内服負荷試験を実施しなければ最終診断ができないため潜在的に患者は多いことが推察される。今後、IgE 抗体の関与の有無を同定する *in vitro* 試験の確立が望まれる。固定薬疹の原因成分では、アリルイソプロピルアセチル尿素 (AIAU) による症例登録が多かったが、同成分による固定薬疹は以前より多数報告されてきた。海外ではすでに販売禁止となっているが日本では鎮痛剤等に多用されており、また、第二类医薬品であるために薬剤師からの説明もないため発症者が現在も多いことが推察され、社会的な注意喚起が必要なのではと考える。

一方、検査法においては、本調査全体の回答率が 2.8%であったことを鑑みると、製薬会社からの試薬の提供の煩雑さ、皮膚テストに対する保険算定料が低いこと、その一方で検査に要するマンパワー等の問題があり、症例があっても検査が実施されず見逃されている症例があると考えるのが妥当ではないかという結論に至る。即時型アレルギー確定例 20 例中、プリックテスト・スクラッチテスト・皮内テスト陽性 11/13 例 (85%)、内服負荷試 4/5 例 (80%) であり、侵襲性の低い検査より開始する検査法は確立されている。一方、アセトアミノフェンは 4 例中 3 例で DLST 陽性と判断されており、今後、IgE の関与を確認する必要がある。全身型の遅延型アレルギーでは、成分確定例は 1,381 例で、検査未実施例が 814 例 (59%)、検査での確定例は 41% (567 例)、原因成分特定例 1% (14 例) であり、検査未実施もしくは検査で陽性が確認できていないが確定例と判断された症例が半数以上を占めていた。検査での確定例のうち、DLST で判断されている症例が 388 例 (68%) を占めていた。原因成分確定例では、皮内やパッチテスト、ROAT での陽性は 5/6 例 (83%) で、DLST は 10/14 例 (71%) であったことより、成分の確定においても DLST が多く実施されていることが明らかとなった。しかしながら、DLST は簡便に実施できるが、薬剤ごとに DLST 最適実施時期があり、さらに、偽陽性、偽陰性が多いことが報告されており、正しく診断できているか、今後も検証していく必要がある。局所遅延型検査での確定診断例が 6 割弱を占め、また、硫酸フラジオマイシン、過酸化ベンゾイルなど以前から報告されている成分が登録されており、パッチテストでの検査方法は確立されていると考えた。固定薬疹では約半数が検査で確定診断されており、そのうち 23 例 (16%) で原因成分が特定され、18 例 (78%) がパッチテストや ROAT で陽性反応が得られており、検査方法は確立されていると考えた。

一般社団法人 SSCI-Net では皮膚テスト施行日が 2016 年 4 月～2021 年 3 月の症例のうち

『医薬品』による症例は 518 件で、遅延型アレルギー 510 件 (アレルギー性接触皮膚炎 493 件、光アレルギー性接触皮膚炎 9 件、その他 8 件)、即時型アレルギー 8 件 (アレルギー性接触蕁麻疹 7 件、経口摂取による即時型アレルギー 1 件) であった。そのうち、最も報告例が多い薬剤は点眼薬 102 件であり、ざ瘡治療薬、ステロイド外用薬が続いた。点眼薬では塩化ベンザルコニウム含有製品が多く、注意、啓発が必要である。薬疹情報 (第 19 版 (1980 年～2020 年)) においては、登録症例数が 100 件を超える薬剤は 17 製品が抽出され、フェノバルビタールやカルバマゼピン、ラモトリギンなど抗不安・抗てんかん剤が

多いことが明らかとなった。

以上、本研究において、薬疹を診療する皮膚科医・アレルギー専門医を対象にわが国における薬剤アレルギーおよび診療に関する実態調査を実施した結果、臨床症状を有していても原因薬剤および原因成分の特定に至る症例が少ないことが再確認され、その原因として成分の特定に至る検査方法が周知および実施できていないこと、その大きな要因として検査に係る保険算定料が低いことから検査が広く実施されていないことが推察された。臨床現場でさらなる検査法の確立や診療の手引き等の作成と共に検査に係る保険算定料の見直しが必要と考える。

さらに、医薬品にも含まれてきたカルミンやコチニール色素による経皮感作事例が登録されたため（自施設および SSCI-Net）、コチニール色素、カルミン酸、カルミンを試薬として購入、調整し、当該患者ら（自・他施設）に検査を実施し確定診断、抗原解析を実施し成果を得た。これらは倫理的配慮に基づき、試薬の購入、調整、配布し、診断に導き、原因抗原の解析を行うことができ、モデルとなる検査法は確立できた（倫理番号：HM24-001）。

ガイダンスに資する情報の公開としては、重篤副作用疾患別対応マニュアル 薬剤による接触皮膚炎 <https://www.mhlw.go.jp/content/11121000/000990339.pdf> の改訂や日本アレルギー学会「皮膚テストの手引き」 https://www.jsaweb.jp/uploads/files/gl_hifutest.pdf に従事し、これらは公開されている。また、日本アレルギー学会総合アレルギー講習会、日本皮膚免疫アレルギー学会パッチテスト・プリックテストハンズオンセミナーに薬剤アレルギーの検査法の実技を取り入れ、医師による薬剤アレルギー検査の推進に努め、さらに本結果を日本アレルギー学会で一般演題として発表した。

本研究結果が広く周知され、薬剤アレルギーの原因成分の同定が広く行われることを期待する。

②医薬品、医薬部外品等によるアレルギー発症の原因物質探索法の開発

医薬品、医薬部外品等によるアレルギー症例は継続的に報告されているが、その防止には原因物質を特定し、患者自身がアレルゲンとの接触を避けることが必要である。一方で、アレルギー発症の原因物質の調査や評価方法の確立は十分に行われておらず、原因物質が特定されていないことも多い。このような背景から、アレルギー原因物質の特定手段として、化学分析の重要性は高い。

医薬品等に含まれるアレルゲンについて、医薬品等からの分離、分析、特定までの試験条件を系統的に構築して化学分析による評価手法を確立するため、令和 3 年度は対象とすべきアレルゲン候補物質の調査を実施した。調査方法は、学術文献検索エンジンを用い、過去 21 年間に公表された医薬品によるアレルギー性接触皮膚炎に関する症例報告から、その原因物質の情報を収集した。その結果、調査対象論文数は 681 報で、そのうち 5 報以上で報告されていた化合物は 24 化合物あり、ステロイド剤等の主成分や貼付剤の添加剤類が含まれていた。調査した論文の一部（46 報）について、原因化合物名、製品種、主成分、添加物、不純物、変化体等の是非およびパッチテストの結果を整理した。また、症例報告が多かった上位 10 化合物について、構造式、分子式、CAS 登録番号、分子量、沸点および水溶解度等の物理化学的性質、並びに交差反応を想定した構造類似化合物の情報も収集した。これらの結果から、令和 4 年度には報告例が多く健康被害が生じる可能性のある物質およびその類似構造化合物群を評価すべき化合物群候補とし、ステロイド剤 15 物質、界面活性剤 9 物質、ロジン関連物質 17 物質、パラフェニレンジアミンおよび類縁化合物の計 21 物質を選定し、液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計 (LC-MS/MS)、探針エレクトロスプレーイオン化法質量分析計、ガスクロマトグラフ-質量分析計 (GC-MS) および液体クロマトグラフ-高分解能質量分析計 (LC-HRMS) を用いた系統的な各化合物群の網羅的評価手法を確立した。令和 5 年度は製品からの系統的なアレルゲンの網羅的分析法の確立として、ロジン関連物質およびヘナ製品中の植物成分によるアレルギー性接触皮膚炎に着目し、実製品の成分分析を行った。その結果、貼付

剤等に使用されるロジン関連物質の組成およびヘナ製品原料植物種の推定に関する情報が得られ、それらはアレルギー症例の原因物質の解明に重要と考えられた。

また、タクロリムス軟膏によるアレルギー性接触皮膚炎の原因調査のため、その添加剤であるトリアセチンの軟膏剤からの抽出法、並びに GC-MS および LC-MS/MS 分析法を検討し、本法を研究班内で実施される添加剤の皮膚透過性試験における定量評価に適用した。

本研究による医薬品、医薬部外品等からの系統的なアレルゲンの網羅的分析法の確立は、アレルゲンの早期特定を可能とし、健康被害が生じる可能性のある物質に関する知見の集積は、医薬品、医薬部外品等が安全に製造、使用されるための情報提供となると期待される。

③接触性に発症したアレルギーに関与する医薬品等の添加物・不純物成分の皮膚吸収性および薬物代謝の物理化学的解析

シャンプー等に添加される保存剤であるメチルイソチアゾリノン (MT) とメチルクロロイソチアゾリノン (MCT) は有害事象の報告が多い。これらの皮膚透過について、共存する界面活性剤の影響を検討した。MT、MCT ともに水溶液からの皮膚透過はほぼ ADMET®Predictor による予測値と一致したが、MT はイオン性界面活性剤の共存により皮膚透過が著しく増大したのに対し、MCT はもともとの透過は高いが、界面活性剤の影響は受けなかった。また、MCT が共存すると MT の透過は高まる傾向がみられ、水溶性の高い MT は単独では皮膚透過が低いものの、共存物質の影響を受けやすいことが明らかとなった。

タクロリムス軟膏の後発品において先発品では見られない有害事象が報告されたことから、先発品では使用されておらず、当該後発品で用いられているトリアセチンに着目し、皮膚透過や製剤の状態について検討した。トリアセチンは皮膚中エステルで代謝されるため、正常皮膚ではほとんど皮膚透過は見られなかった。損傷皮膚では、水溶液からの透過は著しく上昇したが、軟膏からは正常皮膚と有意差はなく、軟膏からの放出律速であることが示唆された。放出試験を行ったところ、有害事象が報告されているロットでは同一処方他社製品と比較して、定常状態での放出速度は変わらないものの、初期放出量が高いことが示された。顕微鏡により観察したところ、ワセリン中に微細に分散しているはずのトリアセチンの油滴が合一し、巨大となっており、離液現象もみられた。有害事象にはトリアセチンそのものあるいはタクロリムスを高濃度で含むトリアセチンが直接傷害皮膚に接触したことによるものである可能性が示唆された。

アレルギーの原因物質の特定にはパッチテストが行われるが、その際に用いる基剤についてはあまり検討されていない。3種の物性の異なる蛍光物質を結晶セルローズにより 1000 倍散とした試料を用い、基剤としてワセリン (VA)、流動パラフィン (LP)、水を用いてフィンチャンパーにて皮膚に適用し、皮膚移行量を定量したところ、水溶性で油には溶解しにくいカルボキシフルオレセインナトリウムでは、皮膚移行量は $VA \leq LP \leq 水$ であった。水にも油にも溶解するローダミン 6G では、 $VA \leq LP < 水$ であり、水に溶解する物質では水自体の透過促進作用が影響すると考えられる。一方、油にのみ溶解するナイルレッドでは基剤による差は見られなかった。物質の物性により試験条件を考慮する必要があるため、JP18 収載医薬品と有害事象の報告されている物質の物性を ADMET®Predictor により算出し、一覧表を作成した。

④原因物質の抗原性などに関する解析および評価法の開発

後発品タクロリムス軟膏によるアトピー性皮膚炎 (AD) の増悪例の原因解明を目指し、先発品および後発品軟膏のヒト換算量 (HED) をマウスの頸背部に反復塗布し、それらの感作性を評価した。また、後発品原料のうち、トリアセチンおよびミツロウについても HED およびその 10 倍量についても経皮感作性を評価した。その結果、いずれの軟膏剤においても血清中総 IgE 値への影響は認められなかった。また、ミ

ツロウについても経皮感作性は認められなかったが、トリアセチンについては HED を塗布した群において、全7例中2例に血清中総 IgE 値の上昇が観察された。一方、トリアセチン HED の 10 倍量では影響が認められなかった。従って、当該医薬品および添加物自体には感作性はほとんどないと考えられた。

そこで、AD 様病態を呈する動物モデルを作成し、モデル動物の症状誘発に及ぼす先発品および後発品軟膏を検討した。すなわち、雌性 BALB/c マウスの除毛した頸背部にダニ抗原(Der. f.)あるいはパピンを 10 回反復塗布し、耳介腫脹ならびに血清中総 IgE 値の上昇を伴うモデルマウスを作成した。次いで、本マウスのダニ抗原あるいはパピンを塗布 30 分後にトリアセチン、0.1%タクロリムス⁻、あるいは 4%タクロリムス-トリアセチン溶液を抗原塗布部位に塗布し、耳介腫脹や搔爬行動を観察したが、何ら影響は認められなかった。

これらの結果を受け、ビタミン D3 (VtD3) 誘導体のマウス耳介への反復投与による新規 AD モデルの確立を目指した。既報を改変し、VtD3 誘導体であるカルシトリオールをマウス耳介に週 5 回、2 週間塗布したところ、搔爬行動、血清中 IgE 値の上昇および耳介腫脹を特徴とするモデルを 2 系統のマウス(BALB/c および C57BL/6)において確立することができた。搔爬行動が顕著であった C57BL/6 マウスを選択し、VtD3 誘導体の 1 週間塗布後、2 週間塗布後、2 週間塗布 1 週間後のそれぞれのタイミングで HED 量のトリアセチン、0.1%タクロリムス⁻、あるいは 4%タクロリムス-トリアセチン溶液を耳介に塗布し搔爬行動、耳介腫脹を観察した。その結果、いずれの処置も耳介腫脹には影響を及ぼさなかったが、搔爬行動についてはトリアセチン塗布群において増悪が見られた。一方、タクロリムスをエタノールに溶解したマウスでは増悪作用は見られなかった。

当初はタクロリムスそのものに皮膚刺激性があることから、タクロリムスに起因した原因と想定し実験を進めた。その中で、当該医薬品の感作性や刺激性を解析し、最終的には既報を改変して疾患モデルを作成することで、タクロリムスの溶媒として使用された添加剤のトリアセチンによる搔爬行動の増悪作用を見いだすことに成功した。トリアセチンは従来、刺激性の低い原料として化粧品では 2%以下、医薬品では 30%以下程度で使用されている。既報や化粧品原料に関する種々のレポートでは刺激性はほぼ無いと報告されていたが、疾患モデルでの検討は報告されていない。従って、今回が恐らく初めての検討結果であると思われる。

目標として掲げた「最終的にガイドライン策定に寄与する成果を挙げる」という点では不足もあるが、当該医薬品使用時の健康被害の原因がトリアセチンである可能性を示せた点は意義が大きいと考えている。

⑤医薬品等の添加物・不純物成分の抗原性等に関する解析および評価法の開発

医薬品等によるアレルギー発症事例は継続的に報告されているが、その原因成分が特定されていないことも多い。また、原因成分が特定された事例の中には添加物や不純物等が原因であった例もある。このようなアレルギー事例の疫学調査や評価法の検討、アレルゲン解析などはこれまで十分に行われてはおらず、医薬品等によるアレルギー発症事例の防止のためには、実際の事例収集・臨床所見の蓄積に加えて、健康被害が生じる可能性のある成分や感作・発症の条件に関する評価手法の開発が必要となっている。そこで本研究では、医薬品等に含有される、アレルギーを発症させ健康被害に繋がる可能性のある成分に関して、抗原性の解析、及び感作の条件等の評価を、動物モデルを用いて行った。動物モデルとしては、これまでに我々が確立したタンパク質経皮感作性に関する動物モデル試験系を改良しタンパク質以外の物質へも適用した。抗原の 24 時間貼付×4 日間連続/週というサイクルを 4 週繰り返して、経皮感作を行った。この間、血清中の IgE 抗体等を ELISA 法により測定した。感作終了翌日に抗原を腹腔内投与してアナフィラキシー反応を惹起し、アナフィラキシー症状スコアリング等を行った。この試験系において、経皮感作

の可能性が考えられている医薬品添加物のポリエチレングリコール(PEG)等の経皮感作性や共存物質の影響等について検討した。その結果、繰り返し皮膚に貼付することにより経皮的に感作されアレルギー症状が誘発される可能性、及び共存物質が経皮感作に影響を与える可能性が示唆された。一般的に抗原性が低いと考えられている物質でも、繰り返し曝露されることにより感作される可能性を考慮することは重要と考えられる。

英文：

1. Allergies caused by additives in pharmaceuticals, cosmetics, and other products can occur unexpectedly and become a social issue. In response, we conducted a nationwide survey of drug allergies among members of the Japanese Society of Allergology and the Japanese Society of Clinical Dermatology, and analyzed registered cases from organizations such as SSCI-Net and 'YakuShinJoho(Book)'. This survey targeted immediate-type and delayed-type hypersensitivity cases over the past 10 years. The response rate was 2.8% (151 facilities), yielding information on 2,341 cases. The breakdown of cases was as follows: immediate-type 20.5%, generalized delayed-type 55.1%, localized delayed-type 17.2%, and fixed drug eruption 5.7%. Notably, carboxymethylcellulose (CMC), macrogol (PEG), and acetaminophen were identified as requiring measures for immediate-type allergies.

Regarding testing methods, the low response rate suggests that the complexity of obtaining reagents from pharmaceutical companies, the low insurance reimbursement for skin tests, and the manpower required for testing hinder the implementation of these tests. Confirmed diagnosis rates based on test results were 85% for immediate-type allergies, 41% for generalized delayed-type allergies, less than 60% for localized delayed-type allergies, and about half for fixed drug eruptions. Particularly, the drug-induced lymphocyte stimulation test (DLST) is widely used, but issues with false positives and false negatives have been reported, highlighting the need for accurate diagnosis.

This survey has clarified the actual situation of allergies caused by additives in pharmaceuticals and the challenges in testing methods. Moving forward, it is necessary to establish testing methods, create clinical practice guidelines, and revise the insurance reimbursement rates for these tests. Additionally, allergies caused by carmine and cochineal dyes were also investigated, and antigen analysis was conducted, yielding results. These findings have been published, promoting drug allergy testing among physicians.

We hope that the results of this study will be widely disseminated and that the identification of causative components of drug allergies will become more prevalent.

2. The objective of this study was to establish an evaluation method to systematically conditions for the separation, analysis, and identification of allergens contained in pharmaceuticals. In the first year, candidate allergens to be analyzed were investigated. In the second year, steroids, surfactants, rosin-related substances, paraphenylenediamine and analogous compounds were selected as candidate compound groups to be evaluated, and a systematic method for comprehensive evaluation of each compound group was established using liquid chromatograph-tandem mass spectrometer, probe electrospray ionization mass spectrometer, gas chromatograph-mass spectrometer, and liquid chromatograph-high resolution mass spectrometer. In the third year, we focused on allergic contact dermatitis caused by rosin-related substances

and plant components in henna products, and conducted survey of actual products to establish a method for systematic and exhaustive evaluation of allergens from products. It is expected to provide information for early identification of allergens and safe manufacturing and use of products.

3. The skin permeation of methylisothiazolinone (MT) and methylchloroisothiazolinone (MCT), preservatives added to cosmetics, was investigated. The skin permeation of MT was significantly increased by the coexistence of ionic surfactant, whereas that of MCT was not affected by surfactant.

Since adverse events were reported in a generic formulation of tacrolimus ointment, we focused on triacetin, which is used only in the generic formulation. Damaged skin permeation study suggesting that release from the ointment was rate-limiting step. Oil droplets of triacetin in the vaseline merged and became huge, and that there was also a separation phenomenon. It was suggested that the adverse events may have been caused by direct contact of triacetin itself with the injured skin.

The amount of skin transfer of three fluorescent substances having different physicochemical property was different among vehicle, vacelin, liquid paraffine or water when they were applied with Finn chamber. It is necessary to consider the test conditions depending on the physical properties of the substance,

4. To elucidate the causes of atopic dermatitis (AD) exacerbation by generic tacrolimus ointment, we evaluated the sensitizing potential of both the generic and original formulations in mice. Results showed no significant effects on serum IgE levels for any ointments or beeswax. However, triacetin at HED caused elevated IgE levels in some mice. An animal model mimicking AD showed that neither the original nor the generic ointment affected ear swelling or scratching behavior. A novel AD model using a vitamin D3 derivative, calcitriol, demonstrated increased scratching with triacetin but not with tacrolimus. This study concluded that triacetin, used as a tacrolimus solvent, exacerbates scratching behavior, suggesting it as a potential cause of health issues in generic medications.

Initially, it was thought that tacrolimus might cause skin irritation. However, after analyzing the drug's properties and modifying disease models, we found that triacetin, used as a tacrolimus solvent, was responsible for exacerbating scratching behavior. Triacetin, considered a low-irritant ingredient, had not been evaluated in disease models before this study. Despite some gaps in guideline formulation, this study is significant in identifying triacetin as a potential health issue in generic medications.

5. In this study, we used animal model to analyze the antigenicity and evaluate the conditions for sensitization of ingredients contained in pharmaceuticals and other products that may cause allergic reactions and lead to health problems. The animal model used in this study was that for protein dermal sensitization, which we have established in the past, and was applied to substances other than proteins. In this test system, we examined the dermal sensitization potential of polyethylene glycol (PEG), a pharmaceutical additive that is considered to have the potential to cause dermal sensitization, and the effects of coexisting substances on dermal sensitization. The results suggest the possibility that repeated application of PEG to the

skin may induce dermal sensitization and allergic symptoms, and that coexisting substances may affect dermal sensitization. It is important to consider the possibility that even substances that are generally considered to have low antigenicity may cause dermal sensitization through repeated exposure.