

「医薬部外品・化粧品単回投与毒性評価のための複数の安全性データを組み合わせた評価体系に関するガイダンス」パブリックコメント

日付	ご意見	回答
2020/10/16(Fri)	<p>誤植? : p3下から6行 「セチルアルコール」 → 「アセチルアルコール」では? 本文に「食経験」が用いられてますが、医薬部外品、化粧品では慣用なのでしょうか。文献28は「特定保健用食品」についてです、医薬部外品、化粧品は同等の扱いと理解してよろしいのでしょうか。</p>	<p>セチルアルコールは炭素数16の直鎖のアルコールで、分子量分布がある化粧品原料です。したがって、セチルアルコールは誤植ではありません。なお、セチルアルコールはクリーム、乳液などの乳化物の乳化安定助剤として化粧品の領域では一般的に使われています。「食経験」については、化粧品原料の毒性評価にあまり使われてきませんでした。今回は動物試験によらずに経口投与による単回毒性を評価するため、活用可能な安全性情報は活用していくこととしました。食経験は安全性情報の一つであり、食経験があることが開発に必須であるというわけでは無く、活用できる情報があれば安全性情報として活用するという考え方です。食経験をガイダンスに取り入れるに当たり、食経験の定義については新開発食品専門調査会の作成した特定保健用食品の安全性評価に関する基本的考え方(2004)の記載を参考に作成しました。医薬部外品、化粧品の単回投与毒性評価への情報の活用の仕方については、ガイダンスにおいて「食経験に基づいて得たい情報は、生体への単回投与において毒性のないこと、特に神経や心臓に特異的な毒性を発現しないこと、代謝活性化による毒性発現がないことであるため、それを担保できる内容であるかについて情報の質と量(食経験の期間を含む)を評価する。」と記載しており、活用範囲を限定しております。すなわち、特定保健用食品における食経験とは扱いが異なります。</p>
2020/10/23(Fri)	<p>このガイダンスの対象となるのは、部外品添加物で、部外品の主剤とポジティブリストに記載する化粧品成分は対象外になっていますが、一般の化粧品成分がこのガイダンスの対象になるのか否かについては触れられていません。これは、あくまでも申請資料のみを考慮して作成されたガイダンスということなのでしょうか? おそらく、このガイダンスが発出された後で、実際の保証を行う人たちから訊かれると思うので、教えてください。</p>	<p>ポジティブリスト改正手続きを必要とする成分以外の化粧品成分については、単回投与毒性は企業責任の基に確認するため、本ガイダンスの対象としておりません。これらの成分の化粧品への配合は企業責任の基に安全性を確認し行われます。</p>

日付	ご意見	回答
2020/10/28(Wed)	<p>1. マウス3T3細胞を用いたNeutral red release アッセイ(3T3NRR)について、感度は高く陽性を見逃すことはないが偽陽性率も高く毒性を過大評価する可能性がある。懸念の程度に応じて適切な他試薬(ATP, MTT, WST、ハイコンテンツ解析)を用いた細胞毒性評価の推奨についても追記する必要がある。</p>	<p>本試験法は「Neutral red releaseアッセイ」ではなく、「Neutral red uptakeアッセイ」です。Neutral red release アッセイはあらかじめ、Neutral redで細胞を染めておき、被験物質の細胞膜の破壊によって漏出する色素を測定する方法です。それに対し、Neutral red uptakeアッセイは正常な細胞ではNeutral redは細胞内のライソゾームに結合して濃縮され、取り込まれた色素を測定する方法なので、両者は異なっております。次に、「感度は高く陽性を見逃すことはないが、偽陽性率も高く毒性を過大評価する可能性がある」についてはご指摘の通りです。これに関しては、細胞毒性が陽性 (IC50≤2000μg/mL) を示した物質については、この細胞毒性試験では評価できないということで、評価対象外となります。過大評価については、毒性のあるものを無いと評価する偽陰性を出さない試験法とするためにはある程度やむを得ないと考えられます。行政で用いられる試験法は、偽陰性を抑える必要があります。「懸念の程度に応じて適切な他試薬(ATP, MTT, WST、ハイコンテンツ解析)を用いた細胞毒性評価の推奨についても追記する必要がある」については、3T3-NRU試験が適用できない物質を検討するためにハイコンテンツ解析のような手法は有用と考えられますのでガイドランスに記載させていただきました。Appendix1 5-3に「細胞周期、ライソゾームに特異的な影響を与える物質、細胞肥大作用のある物質は、3T3-NRU試験による細胞生存率の結果が（画像解析装置を用いて）細胞数を直接カウントした時の結果に比較して高値を示すという報告があり、該当する物質を同定する時の参考になる」と追記致しました。なお、ATP、MTT、WSTについてはNeutral red uptakeと類似の挙動が報告されております。</p>
	<p>2.毒性メカニズムの観点から3T3NRUの評価に適さないと考えられる化合物の評価についても記載が必要。 細胞周期、細胞肥大、ライソソーム蓄積に影響を与える化合物では細胞数を反映しないこともあるので、IC50値から算出されるLD50は過小評価される可能性があるため注意が必要である。</p>	<p>Appendix1の5-3.偽陰性を示す可能性がある物質には、「本試験法は以下のような毒性発現機序や細胞機能への影響を有する場合は偽陰性が生じることがあるので注意が必要である。(1) 代謝により活性化されて毒性を発現する物質 (2) 神経毒性や心臓毒性等、臓器特異的な作用機序により毒性を発現する物質 (3) ライソゾームへ特異的な影響を与え、その結果、細胞内のNRの挙動（結合や保持等）に影響を与える物質」と記載しましたが、ご意見をいただいたので、(3)については、更に詳しく「細胞周期、ライソゾームに特異的な影響を与える物質、細胞肥大作用のある物質は、3T3-NRU試験による細胞生存率の結果が（画像解析装置を用いて）細胞数を直接カウントした時の結果に比較して高値を示すという報告があり、該当する物質を同定する時の参考になる」と追記致しました。</p>
	<p>3.NRRアッセイは細胞の洗浄操作なども必要なため、細胞内ATP量指標とするホモジニアスでスループット性も高い方法も現実的と考える。</p>	<p>ATP量を指標とする方法は、バリデーション研究と第三者評価（JaCVAMによる評価）が済んでいないため、部外品申請等に用いる場合にはNRUアッセイと同等の扱いというわけには現時点でいかないと考えられます。</p>