

1. 試験試料

ビバリーグレンラボラトリーズ株式会社から供与された、プラスチャージ QuSome ローション。

2. 試験目的

EpiSkin 法による皮膚一次刺激性代替法を用い、試験試料の皮膚一次刺激性を評価する。

3. 試験方法

本試験は、R. ROGUET らの報告¹⁾を参照にして実施した。EpiSkin-LMTM (1.07 cm²) を、維持培地にて 24 時間インキュベーションした。次いで 150 µL の試験試料を表皮側から添加し、新しい維持培地にてさらに 18 時間培養した。陰性コントロールとして PBS(+)、刺激性コントロールとして 5 % SDS 水溶液を用いた。培養後、皮膚モデルを PBS(+) にて洗浄して試験試料を完全に除去し、0.3 mg/mL の 3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT) を含有する試験培地 (フェノールレッド未含有) に移し、3 時間培養した。その後、トランスウェルより皮膚モデルをパンチで外し、さらに酸性イソプロパノールに 24 時間浸漬させてブルーホルマザンを抽出した。抽出液の 550 nm における吸光度をマイクロプレートリーダーにて測定した。MTT viability (%) は、陰性コントロール曝露皮膚モデルの吸光度を 100 としたときの百分率で表した。

18 時間培養後の培養液中に分泌された IL-1α の測定は Human IL-1α Quantikine[®] Immunoassay (R&D systems) を用い、キット添付のプロトコールに準じて実施した。

以下、試験試料の皮膚一次刺激性判定基準を Table 1 に示す。

Table 1 皮膚一次刺激性の判定基準

MTT (% viability)	IL-1α ¹⁾ (pg/mL)	分類
≤50 %	-	刺激性
>50 %	≥50 pg/mL	刺激性
>50 %	<50 pg/mL	無刺激性

1) 陰性コントロールの定量値を差し引いた IL-1α 定量値を用いる。

4. 結果および判定

MTT 試験による細胞生存率の結果を Table 2 に、IL-1 α 定量結果を Table 3 に示した。Table 1 に示す判定基準より、プラスチャージ QuSome ローションは無刺激性と判定された (Table 4)。

Table 2 MTT 試験による細胞生存率 (n=3)

試験試料	MTT viability (%)		Raw data (O.D.=550 nm)	
	Mean	S.D.	Mean	S.D.
NC ¹⁾	100.0	4.2	1.137	0.047
PC ²⁾	5.0	0.4	0.057	0.005
プラスチャージ QuSome ローション	100.5	8.7	1.142	0.099

1) 陰性コントロール：PBS(+)

2) 刺激性コントロール：5 % SDS 水溶液

Table 3 IL-1 α 定量値 (n=3)

試験試料	IL-1 α (pg/mL/model) ³⁾		IL-1 α (pg/mL/model) (raw data)	
	Mean	S.D.	Mean	S.D.
NC ¹⁾	-	-	26.3	7.0
PC ²⁾	111.6	16.3	137.9	16.3
プラスチャージ QuSome ローション	24.1	9.7	50.4	9.7

1) 陰性コントロール：PBS(+)

2) 刺激性コントロール：5 % SDS 水溶液

3) NC の定量値を差し引いた皮膚一次刺激性判定用の IL-1 α 定量値

Table 4 皮膚一次刺激性の判定結果

試験試料	判定
プラスチャージ QuSome ローション	無刺激性

5. 備考

本判定結果はあくまでも EpiSkin 法によって類推される判定結果であり、実際の皮膚刺激性とは関連しない可能性もあることに留意が必要である。

参考文献

- 1) R. ROGUET, C. COHEN¹, C. ROBLES, P. COURTELLEMONT, M. TOLLE¹, J. P. GUILLOT and X. POURADIER DUTEIL, An Interlaboratory Study of the Reproducibility and Relevance of Episkin, a Reconstructed Human Epidermis, in the Assessment of Cosmetics Irritancy, *Toxicology in Vitro*, 12 (1998) 295-304.