

木材防腐防虫剤の毒性に関する研究 (第1報)

— 目および皮膚に対する刺激性 —

井 上 嘉 幸*

Evaluation of Eye and Dermal Irritancy of Wood Preservatives (Report 1)

Yoshiyuki INOUE

1. はじめに

皮膚は敏感な器官の一つであり、あらゆる代謝機能が営まれ、その病変は体内の生化学的变化を示すバロメーターになりうる。木材防腐防虫剤は、医薬と相違し、直接口から体内に取り込まれる場合は誤飲、自殺のようなときであり、経口毒性は原則的に著しい問題とならないのが一般的である。しるあり防除施工士等にとっては、経皮吸収あるいは呼吸による吸入、皮膚や眼に対する障害が問題になる。本報では木材防腐防虫剤について眼に対する刺激性および皮膚に対する刺激性試験を行ったので、その結果について報告する。

2. 試験方法

従来用いられた有機塩素系薬剤には、皮膚にカ

ブレ様症状および数ヶ月間経過したのち、クロルアクネの症状などが知られている。ここでは、ウサギおよびマウスを用い、眼および皮膚に対する刺激性試験を行い、その結果を考察することにした。

2.1. 供試薬剤

供試薬剤と濃度を第1表に示す。なお、現在、ポリクロルナフタリン、クロルデン、ペンタクロルフェノールおよびテトラクロルフェノールは使用が禁止され用いられていない。

2.2. 懸濁液の調製

薬剤は、0.1%トラカント末を含有する蒸留水に、1%懸濁液として試験を行った。なお、薬剤No. 6 および No. 7 は、原液および10%懸濁液を用いた。

第1表 供試薬剤と濃度

No.	薬 剤	濃 度
1	ナフテン酸亜鉛	1%懸濁液
2	ポリクロルナフタリン	1%懸濁液
3	クロルデン	1%懸濁液
4	ペンタクロルフェノール	1%懸濁液
5	2, 3, 4, 6-テトラクロルフェノール	1%懸濁液
6	ナフテン酸亜鉛8(%), ポリクロルナフタリン5, クロルデン0.5, ペンタクロルフェノール0.9, テトラクロルフェノール0.6, キシレン15, 燈油(1号)70	1%懸濁液, 原液, 10%懸濁液
7	ナフテン酸亜鉛8(%), ポリクロルナフタリン5, クロルデン0.5, 燈油(1号)86.5	1%懸濁液, 原液, 10%懸濁液
8	対照(トラカント末)	0.1%懸濁液

* (財)北里環境科学センター

2.3. 局所刺激試験

局所刺激試験には、粘膜一次刺激試験について眼瞼刺激試験、皮膚一次性刺激試験などがある。木材防腐防虫剤に接触する機会の多いしろあり防除施工士等に発生しやすいのは、眼や皮膚に対する障害である。通常ラット、マウス、ウサギ等を用い、眼に点滴を行ったり、皮膚に塗布したりして症状を観察する方法で、ウサギの目を用いる経済協力開発機構（OECD）の化成品検査法 No. 405、皮膚刺激性を調べる No. 404のほか、多くの方法^{1)~4)}が知られている。飼育は、 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ で行った。

2.3.1. 眼に対する刺激試験

体重約2.5kgの雄性白色ウサギを用い、一群3羽とし、一方の目に0.15ml（3滴）の供試液を1日1回一定時間に点眼し、24時間後に、点眼しない他方の目と比較して刺激性を観察した。判定基準を第2表に示す。なお、ドレーズ法では、体重2.0～3.5kgの白色ウサギを一群3羽とし、0.1mlを結膜に入れる。

2.3.2. 皮膚に対する刺激試験

皮膚に対する刺激試験は、試験動物と人の皮膚の相違である汗腺の有無により大きな影響を受ける。体重約25gの雄マウス（RFVL系）を用い、一群5匹とし、一方の後肢足蹠皮下に0.05mlの供試液（滅菌）を1回注射し、他方の足蹠皮下には注射せず、24時間後に、頸骨脱臼法により斃死させ、距骨関節より切断して注射足の重量と健足の

重量を測定し、つぎの式から薬剤による腫張率を求めた。距骨は足根骨のうち、最も高位の骨であり、また、頸椎脱臼は、マウスの後頭部を押え、尾をやや上方に向け一気に引いて脱臼、死亡させた。

$$\frac{\text{注射足の平均重量}}{\text{健足の平均重量}} \times 100 = \text{薬剤による腫張率}(\%) \cdots (1)$$

なお、トラカント末0.1%を懸濁させた蒸留水を注射した場合の腫張率を基準とした場合の薬剤による腫張率を求めた。

3. 試験結果

3.1. 眼に対する刺激試験

試験結果を第3表に示す。1%懸濁液の刺激の強さは、クロルデンが最も大きく、ペンタクロルフエノールとテトラクロルフエノールは同様でこれにつぎ、ついでポリクロルナフタリンとなり、ナフテン酸亜鉛は最も弱い。薬剤 No. 6 と No. 7 の比較について、No. 6 より No. 7 の方が刺激が大きい。この理由については薬剤間に拮抗作用があるためか、キシレンによるためか明らかではない。

3.2. 皮膚に対する刺激試験

連続塗布試験はモルモット、ウサギ等を用い、累積的な作用が皮膚に発生することを予知する試験である。ここでは、マウスの足蹠注射による腫張を第4表に示す。1%懸濁液の刺激の強さは、ナフテン酸亜鉛が大きく、ついでポリクロルナフタリン、クロルデン、クロルフエノール類の順に弱くなった。なお、マウスの一対の健足重量差は約2%であり、本実験に支障のないことを確かめた。

4. 考 察

ドレイズ試験は、J. H. Draize により考案された刺激性試験でウサギの眼および皮膚を用い、局所に適用される。眼粘膜に0.1ml（100mg）点眼する方法に、ドレイズ法⁵⁾、EPA⁶⁾、Federal Register⁷⁾などがある。皮膚刺激性には、ドレイズ法ではなく、皮下注射による方法を試みた。この方法は、薬剤が皮膚を透過したと仮定したときの刺激を調べたものである。なお、刺激性試験に

第2表 眼に対する刺激の判定基準

判定	症 状	係数
—	変化が認められない	0
±	弱い眼瞼の腫張または粘膜充血（軽度の炎症）のいずれかが認められる	1
+	弱い眼瞼の腫張と粘膜の充血が認められる	2
++	眼瞼の腫張が強く、目を半開し、かつ、粘膜充血が強く、目やにを生ずる場合がある	3
+++	眼瞼の腫張が強く、目を閉じ、かつ、粘膜充血が極めて著しく、目やにを生ずる場合がある	4

第3表 眼に対する刺激試験結果

薬剤 No.	濃 度 (%)	ウサギ No.	経 過 日 数						判 定
			1	2	3	4	5	6	
1	1	1	—	±	—	—	—	—	4
		2	±	—	—	—	—	—	
		3	±	±	—	—	—	—	
2	1	1	—	—	—	±	—	—	7
		2	±	—	±	+	±	—	
		3	—	—	—	—	—	±	
3	1	1	—	—	±	±	+	+	17
		2	—	—	±	+	±	+	
		3	—	—	±	±	+	+	
4	1	1	—	—	—	±	—	—	9
		2	±	—	±	—	—	—	
		3	—	—	—	+	+	+	
5	1	1	—	—	—	±	—	—	9
		2	±	—	±	—	—	—	
		3	—	—	—	+	+	+	
6	1	1	—	—	±	±	±	±	12
		2	±	±	±	±	±	±	
		3	—	—	—	—	±	±	
	原液	1	+	+	+	+	+	+	59
		2	+	+	+	+	+	+	
		3	+	+	+	+	+	+	
	10	1	—	±	+	+	+	+	40
		2	±	±	+	+	+	+	
		3	—	±	+	+	+	+	
7	1	1	—	±	—	±	+	+	16
		2	±	±	±	—	±	±	
		3	—	—	±	—	+	+	
	原液	1	+	+	+	+	+	+	62
		2	+	+	+	+	+	+	
		3	+	+	+	+	+	+	
	10	1	±	+	+	+	+	+	46
		2	±	±	+	+	+	+	
		3	±	±	+	+	+	+	
8	0.1	1	—	—	—	—	—	—	0
		2	—	—	—	—	—	—	
		3	—	—	—	—	—	—	

については、病理検査、毒性発現のメカニズムなども検討が必要である。

被験物質の眼刺激性を皮膚刺激性により予測できるか否かについては、多くの報告がある。たと

えば、Smith⁸⁾、Gad⁹⁾は皮膚刺激物質は強い眼刺激性を示すことを報告している。

ウサギの目を用いるドレイズ試験は、これに代る試験方法が検討され、角膜、網膜の培養によっ

第4表 腫 張 率

薬 剤 No.	濃 度 (%)	マウス No.	腫張率 (%)	平均腫 張 率 (%)	補正腫 張 率 (%)	薬 剤 No.	濃 度 (%)	マウス No.	腫張率 (%)	平均腫 張 率 (%)	補正腫 張 率 (%)
1	1	1	144	149	137	6	1	26	143	144	132
		2	143					27	132		
		3	158					28	159		
		4	148					29	140		
		5	155					30	144		
2	1	6	125	127	115		10	31	152	190	178
		7	129					32	198		
		8	123					33	206		
		9	135					34	200		
		10	125					35	195		
3	1	11	122	118	106	7	1	36	121	120	108
		12	117					37	118		
		13	113					38	121		
		14	124					39	129		
		15	117					40	108		
4	1	16	112	117	105		10	41	176	180	168
		17	132					42	165		
		18	106					43	201		
		19	119					44	189		
		20	117					45	169		
5	1	21	116	116	104	8	0.1	46	112	112	100
		22	113					47	103		
		23	121					48	115		
		24	113					49	109		
		25	117					50	120		

て置き代えることができる可能性が示唆されている。皮膚試験¹⁰⁾としては、白色ウサギを用い塗布後一定時間（4～72時間）経過したのち観察し、紅斑と痂皮形成、浮腫形成などの皮膚反応を調べ、判定基準（0～4）によって評価する方法が用いられている。なお、皮膚刺激性について、皮膚表面のレプリカを顕微鏡で観察する方法¹¹⁾もある。

汗腺の発達はヒトではよく汗をかくが、一般にマウス、ラットなどは汗腺の発達が乏しい。マウス、ラットは体部に唾液を塗りつけて、その蒸発熱により体熱放散をはかっている。

ナフテン酸亜鉛は眼に対し、経過日数の増加によって刺激が消失した。ペンタクロルフェノールおよび2, 3, 4, 6-テトラクロルフェノールは予想したほどの眼に対する強い刺激が認められな

第5表 腫張率と目に対する刺激値の比

No.	1	2	3	4	5	6	7
比	34.25	17.43	6.29	11.67	11.56	11.0	6.75
						4.45	3.65

い。クロルデンは眼に対する刺激は著しいが、皮膚に対する刺激が小さかった。腫張率と目に対する刺激の比を第4表に示す。

第4表によれば、ナフテン酸亜鉛は比が大きいですが、クロルデンを含有すると小さくなり、また、ポリクロルフェノール類では10に近い値を示した。薬剤の皮膚透過性が異なるため、これについての検討が必要である。別にハートレイ系モル

モットの背中の毛を電気バリカンで刈り、脱毛クリームで毛を除去したのち、内径 1 cm, 厚さ 2 mm のプラスチック管をシアノアクリレート系の接着剤でつけ、その中に処理木粉 (10~20メッシュ) を詰め、皮膚に対する刺激性を調べたが、刺激が小さく、良好な結果は得られなかった。なお、処理材で箱をつくり、その中でマウスを 2 年間飼育して、皮膚毒性および吸入毒性を調べたが、これについては別に発表する予定である。

5. 結 論

木材防腐防虫剤の刺激性について、ウサギを用い、眼に対する刺激試験とマウスを用い、皮膚に対する刺激試験を行った。マウスの足蹠腫張による方法は経皮吸収を同一と仮定しているため、皮膚に塗布等を行う場合と相違する。

ナフテン酸銅の眼に対する刺激性は弱い、皮下注射をすると皮膚刺激は著しい。クロルデンは眼に対して刺激が強いが、皮下注射では刺激が小さい。ポリクロルフェノール類では、眼と皮膚に対する刺激がほぼ一致した。

混合製剤 No. 6 および No. 7 の刺激性は、相乗または相加作用により刺激が強くなったと考えられ、市販製剤のように溶剤 (キシレン、燈油等)、防腐防虫剤等を含有すると、単一原体に比較して刺激が強くなると推察され、製剤の安全性について十分な検討が必要である。

文 献

- 1) 白須泰彦・松岡 理編 (1981) 新しい毒性試験と安全性の評価, 440, ソフトサイエンス社.
- 2) 白須泰彦・吐山豊秋編 (1980) 毒性試験ハンドブック, 292, 297, (株)フジ・テクノシステム.
- 3) 渡辺 徹・堀内茂友編 (1989) 毒性試験法ガイドライン GLP 基準, 159, 160, 地人書館.
- 4) 白須泰彦・吐山豊秋編 (1985) 新毒性試験法—方法と評価—, 375, 395, (株)エル・アイ・シー
- 5) Draize, J. H. (1959) The appraisal of chemicals in foods, drugs and cosmetics, Association of food and drug officials of the United States, Austin, Tex. 49.
- 6) EPA (1978) Environmental protection agency proposed guidelines for pesticide registration ; Hazard evaluation : Humans and domestic animals

(Primary eye irritation study) , 43 FR 37336 ; 899.

- 7) Federal Register (1972) Hazardous substances, Test for eye irritants, 37(83) : 8534.
- 8) Smith, H. F., *et al* (1962) Am. Indust. Hyg. Assoc. J., 23, 95.
- 9) Gad, S. C., *et al* (1986) J. Toxicol.-Cut, & Ocular Toxicol, 5, 195.
- 10) 白須泰彦・吐山豊秋編 (1980) 毒性試験ハンドブック, 293 (株)フジ・テクノシステム.
- 11) 河合敬一他 (1992) : 日皮会誌, 102, 1411.

Summary

Wood preservatives in sufficient quantity or concentration are potentially capable of causing irritation or corrosion for eye and skin. The damage created depends upon the nature of chemicals contained in wood preservatives. Volatile organic solvent are widely used to dissolve other ingredients. However, certain chemicals are harmful even in small amounts to eye and skin. Some compounds may be absorbed through the skin. Except for the acute oral, dermal and inhalation toxicity tests, eye and dermal irritation tests are very important. The eye is commonly injured by a variety of chemicals that enter it accidentally or maliciously when wood is treated with wood preservatives by various kinds of treating process. Also, the skin has many functions which may be injured by chemicals. Recently, allergic contact dermatitis caused by termite control chemicals have increasingly been important.

In this paper, acute eye and dermal irritation and corrosion tests of wood preservatives were carried out using male mouse and rabbit. Standard operating procedures for the feeding, handling and care of mice and rabbits were used. The numbers of the animals are 3 for rabbit and 5 for mouse. In each chemicals. Suspensions of ingredients using 0.1% powder tragacanth as suspending agent were applied for both eye and dermal tests. In the case of eye irritation test, 3 drops of 1% suspension of chemicals were ap-

plied to rabbit eye for eye drop. Scale for scoring ocular lesions by Draize was applied in the local irritation test. Swelling effect was examined after subcutaneous injection of suspension to planta pedis of mouse.

swelling index =

$$\frac{\text{Weight of ankle at 24 hours after injection of chemicals}}{\text{Weight of ankle of control}} \times 100$$

The results obtained were as follows :

- 1) In the case of zinc naphthenate, very slight erythema (barely perceptible) were observed.

- 2) Formulation of wood preservatives showed severe erythema and edema.

- 3) Subcutaneous injection of suspension of chemicals was used for dermal test using 0.1% powder tragacanth using mouse.

Chlordan and polychlorophenols showed rather weak swelling effect comparing to zinc naphthenate.

(Kitasato Research Center of Environmental Science)