

木材防腐防虫剤の毒性に関する研究 (第3報)

—急性経口および経皮毒性試験—

井上嘉幸*

Studies on the Toxicity of Wood Preservatives (Report 3)

— Acute Oral and Dermal Toxicity Test —

Yoshiyuki INOUE

1. はじめに

木材防腐防虫剤の安全性評価については、各種の動物試験等が要求される。著者は、木材防腐防虫剤の毒性について、目および皮膚に対する毒性¹⁾、防腐防虫処理木材の安全性²⁾について報告したが、本研究では製剤および原体の急性毒性について検討することにした。動物を用いる安全性試験については、動物愛護団体からの反対運動が世界的な広がりをみせている状況にあり、可能な限り使用動物数を削減し、動物に苦痛を与えないように配慮することが大切である。また、少ない動物を対象として、いかに多くの情報を得るかを考慮して試験方法をデザインするとともに、有効な代替試験方法の開発には積極的に取り組む必要がある。一方、製剤等の安全性を確保する上で必要な動物試験は実施する必要がある。本報では、製剤等の急性経口および経皮毒性について報告する。

2. 実験方法

(1) 供試薬剤

用いた防腐防虫剤は、製剤4種(A~D)、ピレスロイド系として、ペルメトリン、フェンバレート、アレスリン、フェノトリン、有機リン系としてクロルピリホス、ホキシム、共力剤(効力増強剤)としてサフロキサシ、1-ドデシルイミダゾールである。供試薬剤を第1表に示す。

(2) 供試動物

ddy系雄性マウスを生後5~6週令時に1群5匹として用いた。体重は26~32gである。

* (財)北里環境科学センター

(3) 経口投与

製剤AおよびDは油溶性で、落花生油を用いて2倍に希釈し、BおよびCは乳剤のため蒸留水により、Bは10倍に、Cは20倍に希釈した乳濁液を用いた。ピレスロイド系、有機リン系および共力剤は、いずれも1% CMC添加の懸濁液として用いた。投与は金属製胃ゾンデを用いて強制経口投与した。投与量は、マウス体重10g当り0.08~0.2mlである。なお、別に落花生油をマウス体重10g当り0.1~0.2ml投与した。

(4) 経皮投与

経皮投与は、製剤A~Dについて行った。マウス背部の毛を約8cm²除去した部分に、原液またはアセトン希釈液を塗布し、マウス間の接触を防ぐため、個別に飼育した。製剤A、BおよびDは原液を用い、Cはアセトンで2倍に希釈した溶液を用いた。

(5) 観察

投与したのち、1週間症状および生死を観察した。観察は、呼吸不整、自発運動の増加、ふるえ、音・接触刺激に対する敏感か否か、側臥、流涎、死亡時間などについて行った。なお、LD₅₀値は、Litchfield-Wilcoxon法³⁾により算出した。

3. 実験結果

(1) 経口投与(製剤)

製剤の急性経口毒性を求めた結果を第2表に示す。製剤Aについて、7.200mg/kgを投与すると、約5分後から不活発となり、音および接触刺激に対し敏感となり、ついで立毛、眼瞼下垂、流涙、

第1表 供 試 薬 剤

類 別	成 分
製 剤	A ペンタクロルフェノール1%, クロルデン0.5%, 2,3,4,6-テトラクロルフェノール0.5%, トリクロルナフタリン5%, ナフテン酸亜鉛4%, 燈油89%
	B クロルデン40%, 界面活性剤5%, 溶剤55%
	C クロルデン5%, ペンタクロルフェノール1%, 2,3,4,6-テトラクロルフェノール0.5%, <i>p</i> -ジクロルベンゼン10%, 2-クロロ- <i>O</i> -フェニルフェノール5%, 界面活性剤7%, 溶剤71.5%
	D γ -BHC1.5%, クロルデン2%, 燈油96.5%
ピレスロイド系	ペルメトリン (<i>dl-trans</i> : <i>dl-cis</i> , 6:4)
	ペルメトリン (<i>dl-trans</i>)
	ペルメトリン (<i>dl-cis</i>)
	フェンバレレート
	アレスリン
	フェノトリン
有 機 リ ン 系	クロルピリホス
	ホキシム
共 力 剤	サフロキサソ
	1-ドデシルイミダゾール

第2表 製剤の急性経口毒性

製剤	投与量 mg/kg	死 亡 数							LD ₅₀ mg/kg	信頼限界 (P=0.05)
		1	2	3	4	5	6	7		
A	3.620	1	1	1	1	1	1	1	4.130	3.500~ 4.870
	4.250	2	3	3	3	3	3	3		
	5.100	4	4	4	4	4	4	4		
	5.950	5	5	5	5	5	5	5		
	7.200	5	5	5	5	5	5	5		
B	1.150	2	2	2	2	2	2	2	1.240	1.050~ 1.460
	1.380	3	3	3	3	3	3	3		
	1.610	5	5	5	5	5	5	5		
	1.960	5	5	5	5	5	5	5		
	2.300	5	5	5	5	5	5	5		
C	460	2	2	2	2	2	2	2	490	400~580
	550	4	4	4	4	4	4	4		
	640	5	5	5	5	5	5	5		
	780	5	5	5	5	5	5	5		
	920	5	5	5	5	5	5	5		
D	4.500	0	0	0	0	0	0	0	6.050	5.355~ 6.840
	5.400	0	1	1	1	1	1	1		
	6.300	3	3	3	3	3	3	3		
	7.650	5	5	5	5	5	5	5		
	9.000	5	5	5	5	5	5	5		

下痢などを生じ、投与後、30分から2時間の間に死亡した。3.620mg/kgでは呼吸不整、自発運動増加から立毛、下痢などを生じ、一例は1日以内で死亡した。製剤Bについて、2.300mg/kg投与すると、20分の間に呼吸不整、流涎、ふるえ、音・接触刺激に対して敏感となり、2時間以内で全例が死亡した。1.150mg/kg投与群では、運動不活発、立毛、流涎などが投与後30分~2時間にわたって認められた。製剤Cについて、920mg/kg投与では自発運動減少、立毛、下痢、全身の震せん、刺激に敏感、時折ケージ内を狂燥的に走り廻り2時間以内に死亡した。460mg/kgでは2例が1日以内で死亡したが、生存マウスは2日後には投与前の状態に回復した。製剤Dについて、9000mg/kgの投与では、投与後5~30分から刺激に敏感、立毛、下痢、眼瞼下垂などが認められた。4.500mg/kgでは、同様の症状が認められたが死亡例はなく、また、落花生油のみを投与した場合には、異常が認められない。

(2) 経皮投与(製剤)

製剤の急性経皮毒性を求めた結果を第3表に示

第3表 製剤の急性経皮毒性

製剤	投与量 mg/kg	死亡数							LD ₅₀ mg/kg	信頼限界 (P=0.05)
		1	2	3	4	5	6	7		
A	85	0	0	0	0	0	0	0	850以上	—
	145	0	0	0	0	0	0	0		
	255	0	0	0	0	0	0	0		
	468	0	0	0	0	0	0	0		
	850	0	0	0	0	0	0	0		
B	1.150	0	0	0	0	0	0	0	2.440	1.880~ 3.160
	1.500	0	0	0	0	0	0	0		
	1.950	0	0	0	1	1	1	1		
	2.530	0	0	0	2	3	3	3		
	3.450	4	4	4	4	4	4	4		
C	460	0	0	0	0	0	0	0	730	600~870
	560	1	1	1	1	1	1	1		
	780	2	3	3	3	3	3	3		
	1.000	5	5	5	5	5	5	5		
	1.380	5	5	5	5	5	5	5		
D	900	0	0	0	0	0	0	0	9.000以上	—
	1.530	0	0	0	0	0	0	0		
	2.700	0	0	0	0	0	0	0		
	4.950	0	0	0	0	0	0	0		
	9.000	0	0	0	0	0	0	0		

す。製剤Aについて、投与後、刺激に敏感、眼瞼下垂などを認めたが、死亡は認められない。製剤Bについて、3.450mg/kgの投与では5分後に運動活発となり、ついで腹這状態を示し、30分後には塗布部を舐めるなどの動作が認められた。1.150mg/kgの投与では死亡がなく、同様の症状が認められた。製剤Cについて、1.380mg/kgの投与では、15分後に眼瞼下垂、流延、側臥、ふるえが認められ、投与後2時間以内に強直性痙れんを呈し全数死亡した。460mg/kgの投与では洗顔、運動増加が認められたが1日後には、ほぼ正常の状態に回復した。製剤Dについて、いずれの投与でも運動増加、音・接触刺激に敏感、眼瞼下垂などが5分後に認められ、30分後には、塗布部を搔く、腹這いなどが認められたが、投与1日後にはほとんど異常が認められない。

(3) 経口投与(原体)

経口投与による化合物の急性毒性を示すと第4表のとおりである。ペルメトリンは、*dl*-トランス体の方が *dl*-シス体より低毒性である。ピレス

ロイド系の場合には、投与後30分までに立毛、横転、流延などが認められ、その中毒症状は、呼吸麻痺をきたし、全身の震さんが特徴的で、死亡例は1日以内に現われたが、生存例は投与後1日以内に、ほぼ正常な状態に回復した。第4表に示す薬剤ではクロルピリホスの毒性が最も強く、フェノトリン(*d*-トランス体)の毒性が最も弱い。共力剤について、1-ドデシルイミダゾールはサフロキササンより毒性が強く、サフロキササン投与群には、ほとんど異常が認められない。なお、有機リン系およびピレスロイド系に、サフロキササンまたは1-ドデシルイミダゾールを1:5の割合で添加(投与量は有機リン系またはピレスロイド系として同量)すると、いずれも毒性の増加することが明らかになった。

4. 考 察

一般に動物は木材防腐防虫剤を体内に攝取すると、それに応じた生体反応を起こす。その反応の質や大きさはある程度まで動物の種、性、齢、攝取条件で定まる。生体反応のうち、最も重大なものは死亡であり、反応の出現率は死亡率である。半数致死量あるいは50%致死量は、LD₅₀で表わされ、これを求めるには動物に激しい苦痛を与える。したがって、実験に使う動物数は、なるべく減らす必要がある。また、LD₅₀は死亡率の指標または毒性の指標としては十分でなく、飼育条件等によって変化する値である。そのためLD₅₀として、概略の致死量が求められればよく、また、毒性の指標としてはLD₅₀ではなくLD₁₀あるいはLD₅の方が実際面でよいという指摘もある。この値の方が実際に応用しやすく、動物に与える苦痛が小さいという指摘である。LD₅₀は、それほど精度よく求めなければならないものではない。そこで本研究では一群5匹として木材防腐防虫剤の急性毒性を検討した。原体および製剤について、固体と液体の毒性の程度は第5表⁵⁾のとおりである。また、製剤の毒性は、つぎのとおりである。

$$\frac{\text{原体の LD}_{50}(\text{mg/kg}) \cdot 100}{\text{製剤中の原体の含有量}(\%)} = \text{製剤の LD}_{50}(\text{mg/kg})$$

混合剤中の他の成分の影響を無視して、製剤Bについて第2表よりクロルデンのLD₅₀を求める

第4表 経口投与による化合物の急性毒性

区 分	薬 剤	投 与 量 mg/kg	死 亡 数							死亡数 / 供試数	
			1	2	3	4	5	6	7		日
ピレスロイド系	ペルメトリン (dl-トランス:dl-シス, 6:4)	750	1	1	1	1	1	1	1	1	1 / 5
		1,500	1	2	2	2	2	2	2	2	2 / 5
		3,000	4	4	4	5	5	5	5	5	5 / 5
	ペルメトリン (dl-トランス)	300	0	0	0	0	0	0	0	0	0 / 5
		600	0	0	0	0	0	0	0	0	0 / 5
	ペルメトリン (dl-シス)	300	0	0	0	0	0	0	0	0	0 / 5
		600	3	3	3	3	3	3	3	3	3 / 5
		1,500	5	5	5	5	5	5	5	5	5 / 5
	フェンバレレート	300	0	0	0	0	0	0	0	0	0 / 5
		750	0	0	0	0	0	0	0	0	0 / 5
		1,500	0	0	0	0	0	0	0	0	0 / 5
	アレスリン	300	1	1	2	2	2	2	2	2	2 / 5
		400	2	2	2	2	2	2	2	2	2 / 5
		600	3	3	3	3	3	3	3	3	3 / 5
900		4	4	4	4	4	4	4	4	4 / 5	
1,200		4	4	4	4	5	5	5	5	5 / 5	
1,400		5	5	5	5	5	5	5	5	5 / 5	
フェノトリン (d-トランス)	1,000	0	0	0	0	0	0	0	0	0 / 5	
	3,000	0	0	0	0	0	0	0	0	0 / 5	
有 機 リ ン 系	クロルピリホス	37.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0 / 5
		75	0	1	1	1	1	1	1	1	1 / 5
		150	2	4	5	5	5	5	5	5	5 / 5
		300	5	5	5	5	5	5	5	5	5 / 5
	ホキシム	750	0	0	0	0	0	0	0	0	0 / 5
		1,500	0	0	0	0	0	0	0	0	0 / 5
		3,000	0	0	1	1	1	1	1	1	1 / 5
共 力 剤	サフロキサソ	540	0	0	0	0	0	0	0	0	0 / 5
		900	0	0	0	0	0	0	0	0	0 / 5
		1,500	0	0	0	0	0	0	0	0	0 / 5
	1-ドデシルイミダゾール	540	0	0	0	0	0	0	0	0	0 / 5
		900	2	2	2	2	2	2	2	2	2 / 5
		1,500	5	5	5	5	5	5	5	5	5 / 5

第5表 危険性の類別

類 別	LD ₅₀ (mg/kg), ラット			
	経 口		経 皮	
	固 体	液 体	固 体	液 体
Ia. 著しく危険	5以下	20以下	10以下	40以下
Ib. 危険性が大	5~50	20~200	10~100	40~400
II. 危険性が中程度	50~500	200~2,000	100~1,000	400~4,000
III. 危険性が小	500以上	2,000以上	1,000以上	4,000以上

と、経口では496mg/kg、経皮では976mg/kgが得られる。製剤ではCの毒性が最も大きく、ついでB、A、Dの順に毒性が低下した。Bは20倍希釈、Cは10倍希釈で使用するため実用濃度におけるLD₅₀を求めると第6表のとおりである。第6表に示すとおり、木材防腐防虫剤は、LD₅₀の値⁹⁾が、第5表に示す経口投与で2,000mg/kg以上、経皮投与で4,000mg/kg以上となり、安全性が高いと考察

第6表 実用濃度における毒性

製剤	経口 LD ₅₀ (mg/kg)	経皮 LD ₅₀ (mg/kg)
A	4,130	850以上
B	24,800	48,800
C	4,900	7,300
D	6,050	9,000以上

される。なお、死亡は、一般に1～2日までに認められ、それ以上の日数が経過すると生存した。製剤について、配合割合が異なる製剤、剤型は同じであるが補助剤が著しく異なる製剤、剤型が異なる製剤等については、安全性および効果に関する試験が必要と考えられる。

5. 要 約

木材防腐防虫剤の急性毒性について、製剤4種を用い経口および経皮毒性試験を行い、また、原体10種の経口毒性を試験した。供試動物には、マウスを用い投与後一週間観察した。実用濃度における経口投与のLD₅₀は4種の製剤について4,000mg/kg以上となり、また、油溶性製剤のLD₅₀は1,000mg/kg以上で毒性は小さいと考察される。配合割合が異なる製剤、剤型は同じであるが、補助剤が著しく異なる製剤、剤型が異なる製剤等については、安全性に関する試験が必要と考えられる。ペルメトリンは、*dl*-トランス体の方が、*dl*-シス体より低い毒性を示した。また、1-ドデシルイミダゾールは、サフロキササンより強い毒性を示した。共力剤について、毒性に係る共力作用についても明らかにする必要がある

文 献

- 1) 井上嘉幸 (1991) 家屋害虫, (14): 69-74
- 2) 井上嘉幸 (1993) 家屋害虫, (15): 1-13

- 3) 吉村功・大橋靖雄編：毒性試験データの統計解析, 140pp. (1992) 地人書院
- 4) 渡辺徹・堀内茂友編：毒性試験法ガイドライン, GLP 基準, 64pp. (1989) 地人書院
- 5) The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification 1988-1989, 1-39 (1988)
- 6) Guidelines on good labelling practice for pesticides : Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome 1985

Summary

Some of wood preservatives can be injurious also to man and domestic animals if misused or wrongly applied. It is important that all users of wood preservatives should maintain the highest standards of hygiene, and carefully observe any regulations concerning health and safety in their use.

The acute toxicity of the technical compound and on its formulations was studied by using experimental animals. The acute oral and dermal toxicity to the mice were examined using mainly wood preservatives. Five mice were used and the observation period were one week. General signs of all mice in each group were observed daily. The LD₅₀ value was a statistical estimate by using Litchfield-Wileoxon's method of the number of mg of toxicant per Kg of body weight required to kill 50 % of a population of test mice. In practice, the majority of wood preservatives used in this experiments were placed in a class indicating a lower hazard.

(Kitasato Research Center of Environmental Science)