

新たな毒性試験の動向調査

佐々木詩織，金子圭一，楠井達典

独)農林水産消費安全技術センター 農薬検査部

EU 等海外では，リスクベースでの精緻な使用時安全性評価が行われており，この評価手法に活用されている皮膚吸収試験について EU および米国における試験方法および要求状況を調査したので，概要を紹介する。

Keywords : 皮膚吸収試験，OECD

結 言

EU 等海外では，作業員曝露量評価モデルを用いて農薬の作業員等の推定曝露量を求め，農薬毎に毒性試験成績から設定した作業員曝露許容量 (Acceptable Operator Exposure Level，以下「AOEL」という.) と比較するなど，リスクベースでの精緻な使用時安全性評価を行っており，現在，我が国においても当該評価手法の導入が検討されているところである。

また，当該評価手法では，農薬の作業員等の経皮曝露量を算出する際に，皮膚吸収試験から求めた皮膚吸収率が用いられている。

これらの状況を踏まえ，皮膚吸収試験について，内容を把握するとともに EU および米国の要求状況を調査した。

1. 皮膚吸収試験の内容および各国での要求状況

1.1. 皮膚吸収試験について

皮膚吸収試験は経皮曝露による安全性評価のための皮膚吸収率を得ることを目的として，2004年4月13日に採択された OECD テストガイドラインである。ラットを用いた *in vivo* 試験，ヒトおよびラットの皮膚を用いた *in vitro* 試験の2種類の試験を採用している。

1.2. 皮膚吸収試験の活用

皮膚吸収試験は①AOEL の評価および②作業員曝露評価において皮膚吸収率を用いるために活用される。

AOEL とは作業員が健康への有害な作用を受けることなく曝露される，有効成分の最大許容量であ

り，単位は作業員の体重 1 kg あたりの化学物質質量 mg である。AOEL は EU で推定曝露量との比較により作業員の安全性評価に用いられており，原則として経口経路の短期間毒性試験 (90 日亜急性毒性，繁殖毒性，催奇形性等) の無毒性量 (以下「NOAEL」という.) をアセスメント係数 100 (種間差 10×個体差 10) で除して算出される。また，経口曝露と経口以外 (経皮および吸入) の曝露に代謝上の差が見られる場合は，各経路の試験に基づき NOAEL が検討される。このような場合，経皮曝露量の推定に皮膚吸収率が必要であるため，皮膚吸収試験が活用される。

EU 等海外では，作業員曝露量評価モデルを使用し，推定曝露量と AOEL を比較し，推定曝露量が AOEL を下回る場合，登録を承認している。作業員曝露量評価モデルのパラメーターの一つに皮膚吸収率があり，散布液調製時および散布時の経皮曝露量を算出するために使用されている。

1.3. 皮膚吸収試験の概要

in vivo 皮膚吸収試験 (OECD TG427) では，1 群 4 匹以上で構成される若齢成獣ラットに，被験物質 (放射性元素で標識することが望ましい。) を 6 または 24 時間曝露し，曝露後，糞，尿，血液および皮膚 (被験物質適用部位および非適用部位) の被験物質質量を測定し，皮膚吸収率を算出する (表 1)。

in vitro 皮膚吸収試験 (OECD TG428) では，1 群 4 例以上で構成される哺乳動物 (ラット等) またはヒトの皮膚をドナーチャンバーおよびレセプターチャンバーから成る拡散セルに配置し (図 1)，被験物質 (放射性元素で標識することが望ましい。) を 24 時間曝露する。曝露後，ドナーチャンバー，

皮膚表面洗淨液，レセプターチャンバー，レセプター液および皮膚の被験物質量を測定し，皮膚吸収率を算出する（表 2）。

表 1. *in vivo* 皮膚吸収試験 (OECD TG427) の概要

試験動物	<ul style="list-style-type: none"> ・通常ラットの若齢成獣を使用 ・試験群は 1 群 4 匹以上
被験物質	<ul style="list-style-type: none"> ・被験物質はヒト等が曝露されるものと同じ物を適用し，放射性同位元素で標識することが望ましい。
投与方法	<ul style="list-style-type: none"> ・被験物質を刈毛したラットの背中に均一に塗布 ・投与量は固体 1～5 mg/cm²，液体 10 μL/cm² (ヒトで起こりうる曝露量に相当) ・曝露期間は 6 または 24 時間(ヒトで想定される曝露時間)
観察，試料採取 吸収率算出	<ul style="list-style-type: none"> ・試験期間中，一般状態の観察 ・被験物質投与～試験終了まで糞尿を採取 ・曝露期間終了時，皮膚表面の被験物質を採取 ・試験終了時，試験動物を屠殺し血液，皮膚(適用部位，非適用部位)を採取 ・採取した試料中の被験物質量を測定し皮膚への吸収率を算出

表 2. *in vitro* 皮膚吸収試験 (OECD TG428) の概要

試験試料	<ul style="list-style-type: none"> ・哺乳動物(ラット等)またはヒトの皮膚を使用 ・皮膚試料は 1 群 4 例以上
被験物質	<ul style="list-style-type: none"> ・被験物質はヒト等が曝露されるものと同じ物を適用し，放射性同位元素で標識することが望ましい。 ・被験物質の代表的な製剤については，ヒトで現実により得ると想定される曝露濃度範囲を含む複数の濃度を用いる。
投与方法	<ul style="list-style-type: none"> ・被験物質を皮膚試料に均一に塗布 ・投与量は固体 1～5 mg/cm²，液体 10 μL/cm² (ヒトで起こりうる曝露量に相当) ・皮膚はドナーチャンバーとレセプターチャンバーから成る拡散セルに配置 ・曝露期間は最大 24 時間(ヒトで想定される曝露時間)
観察，試料採取 吸収率算出	<ul style="list-style-type: none"> ・曝露期間終了時，皮膚表面の被験物質を採取 ・試験終了時，ドナーチャンバー，皮膚表面洗淨液，レセプターチャンバー，レセプター液，皮膚中の被験物質の量を測定し皮膚への吸収率を算出

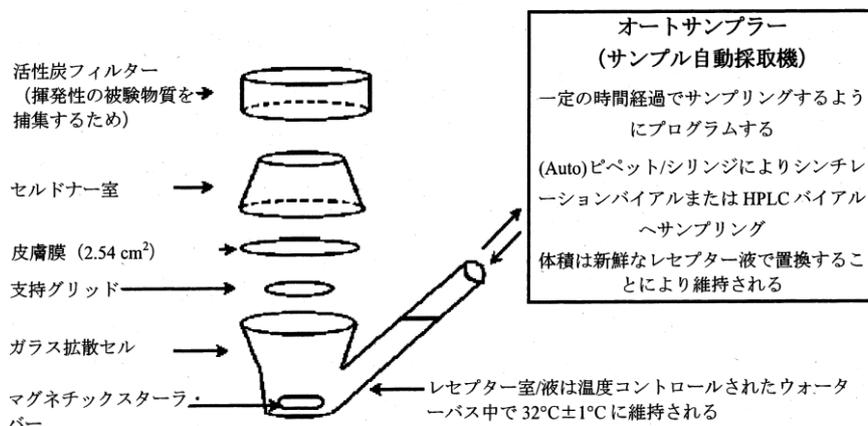


図 1. *in vitro* 皮膚吸収試験用拡散セルのデザイン例 (OECD TG428 より抜粋)

1.4. EU および米国における皮膚吸収試験の要求状況

EU では、製剤を用いた *in vitro* および *in vivo* の 2 試験を要求しており、1.3 で詳述した OECD テストガイドラインに準拠して試験が実施されていた。

一方、米国では、条件付きで原体または製剤を用いた *in vivo* 試験のみ要求しており、OECD テストガイドラインと異なる米国独自のガイドラインに準拠して試験が実施されていた(表 3)。また、*in vitro* 試験法は不確実性の観点から要求していなかった。

表 3. OECD および米国における *in vivo* 皮膚吸収試験の比較

	OECD	米国
動物種	通常ラット, 他の動物も可	ラットのみ
試験群	1 群 4 匹以上	1 群 24 匹(1 用量×6 曝露期間)
用量設定	特に定めていない	最低 3 用量, 推奨 4 用量
最高用量	5 mg/cm ² (固体)	1 mg/cm ²
曝露期間	通常 6 または 24 時間	最低 1, 10, 24 時間 通常 0.5, 1, 2, 4, 10, 24 時間

おわりに

EU および米国における皮膚吸収試験の要求状況および内容を把握した。皮膚吸収試験は作業量曝露量評価において、経皮曝露量の推定に必要なパラメーターである皮膚吸収率を得るために有用な試験であると考えられた。

参考文献

- 1) OECD GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS Skin Absorption : *in vivo* Method
- 2) OECD GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS Skin Absorption : *in vitro* Method
- 3) EPA Health Effects Test Guidelines OPPTS 870.7600 Dermal Penetration