

200501149B

厚生労働科学研究費補助金  
(化学物質リスク研究事業)

「抗菌加工製品における安全性評価及び  
製品情報の伝達に関する調査研究」

平成15年度～17年度 総合研究報告書

1/2冊

主任研究者 鹿庭 正昭

平成18(2006)年4月

## 目次

1. 総合研究報告書  
「抗菌加工製品における安全性評価及び製品情報の伝達に関する調査研究」…… 1  
鹿庭正昭
2. 研究成果の刊行に関する一覧表 …… 25
3. 研究成果の別刷

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）  
平成 15-17 年度総合研究報告書

抗菌加工製品における安全性評価及び製品情報の伝達に関する調査研究

主任研究者 鹿庭正昭 国立医薬品食品衛生研究所 療品部室長

**研究要旨** 本研究の目的は、家庭用品等に使用される抗菌剤について、(1) 抗菌剤、抗菌加工製品を取り巻く現状の把握、(2) 抗菌剤の優先順位リストの作成、(3) 抗菌加工製品における安全確保のための取り組みを検討することにより、家庭用品に含有される化学物質による健康被害防止の観点からの規制基準設定の要否、事業者自らによる製品の安全性確保レベルの一層の向上に資することである。

(1) 抗菌剤、抗菌加工製品を取り巻く現状把握のための実態調査：バイオサイドの分類及び規制状況・適用法規等の調査、消費者における抗菌加工製品の製品表示に関するアンケート調査、抗菌加工製品における製品情報の伝達手段の実態に関する調査、抗菌剤の使用実態、抗菌加工製品の市販実態に関する調査、(2) 抗菌加工製品による健康被害の発生実態・原因究明に関する調査、抗菌加工製品中の抗菌剤の分析法の検討、(3) 抗菌剤の優先順位リストの作成に向けた毒性試験データの収集・整理、(4) 抗菌剤の毒性（ハザード）評価法：変異原性、皮膚感作性、細胞毒性、生殖・発生毒性、耐性菌の発生、皮膚常在菌に対する影響、(5) 抗菌加工製品における曝露評価法、に関する検討について分担研究を実施した。

(独) 製品評価技術基盤機構・化学物質管理センターによる資料にあるとおり、バイオサイドの定義としては、抗菌剤、殺虫剤、防腐剤等を含めて、欧州連合 (EU) のバイオサイド指令 (1998 年) では 23 群に、経済協力開発機構 (OECD) の規定では 27 群に用途別に分類されている。米国では、バイオサイドとして定義されておらず、農薬も含めて分類されている。一方、日本では、医療用消毒剤、衛生害虫用殺虫剤以外、抗菌剤を含め、法律による管理はほとんど行われていない。抗菌加工製品の業界では、繊維評価技術協議会、抗菌製品技術協議会等の業界団体によって自主基準が作成されている。さらに、その自主基準に沿って、繊維評価技術協議会による「SEK マーク」、抗菌製品技術協議会による「SIAA マーク」等の認証マークの使用が認められている。また、日本環境協会では、医療用途・食品用途の抗菌加工製品に限定して「エコマーク」の審査対象とし、業界団体の自主基準に沿った形で認定基準が作成されている。

消費者における抗菌加工製品の製品表示に関するアンケート調査、メーカー・業界団体への問い合わせ、オンラインデータベース等を用いた情報収集、市販抗菌加工製品の店頭調査および抗菌剤の分析調査、抗菌加工製品によるアレルギー性接触皮膚炎 (ACD) 等の原因究明の取り組み等を実施した。その結果、①抗菌加工製品として、主に繊維製品、プラスチック製品が市販されていた、②衣類、身の回り品、手袋、塗料、接着剤等、種々の家庭用品として、抗菌加工製品が市販されていた、③主要な抗菌剤として、無機系、有機系、天然有機系化合物が使用されていた、④有機系抗菌剤による抗菌加工製品による ACD 事例

が複数発生していたことを確認できた。

その後の検討の結果、①2000年代になって、抗菌加工製品として、主に日用品（プラスチック製品）、繊維製品（失禁ケア用品等）、家電製品では、有機系抗菌剤から無機系あるいは天然有機系抗菌剤への切り替えが一層促進されていた、②天然有機系抗菌剤として使用されていた植物・ハーブの抽出物・エキス・オイルは多成分混合物であるが、それらの成分情報はほとんど明らかにされていなかったこと、③乳幼児用品にも抗菌加工された製品が市販されており、主に天然有機系抗菌剤のキトサンが主に使用されていたことが確認できた。

抗菌加工製品に関する製品情報の伝達に関しては、抗菌剤の化学物質等安全データシート（MSDS）について、①有害性情報として皮膚感作性の強度等が具体的に記載されていない、②実際に発生したアレルギー性接触皮膚炎（ACD）事例情報が具体的に記載されていないという場合が見受けられた。また、製品表示についても、①抗菌剤の成分名が具体的に記載されていない、②有害性情報として皮膚感作性、具体的な健康被害事例の発生実態等が具体的に記載されていない等、抗菌剤・抗菌加工製品に関する有害性情報が製品表示を通じて消費者に十分伝達されていない現状を確認できた。

抗菌剤に関する毒性、毒性（ハザード）評価法に関しては、以下のとおりであった。

(1) 抗菌剤の変異原性に関して、①文献情報等によると、染色体異常試験では約8割が陽性であった、②Ames試験の代替としてマウスリンフォーマ試験が有用であることが確認できた、③定量的構造活性相関（QSAR）による遺伝子突然変異と染色体異常誘発性の評価結果について、かなりの精度でAmes試験及びほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験結果を予測できることが確認できた。

(2) 抗菌剤の皮膚感作性に関して、①in vivo法のモルモットマキシミゼーション（GPMT）法による皮膚感作性試験では、約8割が陽性を示し、強い皮膚感作性物質であった、②抗菌加工製品による主要な健康被害であるACD対策として、in vivo法のGPMT法、in vitro法の非放射性・局所マウスリンパ節増殖法（LLNA法、non RI法）を組み合わせた皮膚感作性評価システムが効率的で、有用であることが確認できた、③GPMT法及びLLNA法による皮膚感作性データをもとにしたQSARによって、化学物質の皮膚感作性が予測できる可能性が示された。

(3) 抗菌剤の細胞毒性に関して、細胞毒性試験では、ほとんどが強い反応性を示し、強い眼刺激性の可能性が示唆された。

(4) 抗菌剤の生殖・発生毒性に関して、催奇形性試験では、1種のみ骨格奇形が認められた。また、抗菌剤の内分泌かく乱性に関して、スクリーニング法により、20種の抗菌剤のうち12種がレセプター活性が陽性であった。

(5) 抗菌剤への長期継続曝露により生じた抵抗性に関して、耐性ではなく、抵抗あるいは馴化によるものであることが確認できた。また、界面活性剤系抗菌剤ではアニオン系とカチオン系を併用すると抗菌活性が阻害される場合があることが確認できた。

(6) 抗菌剤の皮膚常在菌への影響に関して、①靴下（四級アンモニウム塩、樹脂加工）ではATP量が減少しており、抗菌効果とともに、皮膚常在菌に化学的ストレスが生じていたことが確認された。②細菌が死滅する金属濃度でも真菌は生存し、皮膚常在菌のバランスが崩れて真菌症が発現する可能性が示唆された。③抗菌製品によって皮膚常在菌の balan

スを崩す可能性が示唆された。

抗菌加工製品の曝露評価法に関して、無機系抗菌剤及び有機系(天然有機系)について、汗、唾液を介した抗菌加工製品からの抗菌剤の溶出挙動を確認するために、脂溶性の有機系防虫剤(ディルドリン)の汗・唾液への溶出挙動に関する文献情報を参照しながら、汗、唾液の代替溶媒として、水、ヘキサン、JISで規定されている人工汗(酸性、塩基性)、ドイツ工業規格(DIN)で規定されている人工唾液、食品衛生法における食品擬似溶媒の20%エタノール等を用いて溶出試験を実施した。

その結果、無機系抗菌剤(銀 Ag、銅 Cu、亜鉛 Zn)では、人工汗(酸性、塩基性)、人工唾液が汗、唾液に代わる溶出溶媒として有用であった。抗菌加工製品からの溶出量では、Agは少なかったのに対して、Cu、Znは多かった。特に、Cuについて、市販製品からの溶出量がエコテックスの基準値 25ppm に近い 20ppm に及ぶ場合が確認された。

有機系抗菌剤(TCC)による抗菌加工繊維製品からの溶出量については、唾液、ヘキサン>20%エタノール>水、人工汗(酸性)、人工汗(塩基性)>人工唾液の順であった。その際、唾液への溶出量はヘキサンと同程度であった。また、有機系抗菌剤(TCMSP)による抗菌加工プラスチック製品からの溶出量については、ヘキサン>20%エタノール>水、人工唾液、人工汗(酸性)、人工汗(塩基性)の順であった。材質については、ポリ塩化ビニル製品のほうがポリウレタン製品よりも溶出量は大きかった。以上のように、有機系抗菌剤では、ヘキサン、20%エタノールのほうが人工汗(酸性、塩基性)、人工唾液よりも溶出溶媒として有用であった。

以上のように、抗菌加工製品からの抗菌剤の溶出挙動は、抗菌剤のタイプ(無機系、有機系・天然有機系)、製品の材質によって変化することが確認できた。したがって、抗菌加工製品の曝露評価法については、抗菌加工製品の材質、使用されている抗菌剤のタイプに沿って、抗菌加工製品の用途に伴う曝露ルートを想定し、汗、唾液を通じた曝露量を的確に把握できるように、ヘキサン、20%エタノール、人工汗、人工唾液等から、適切な溶出溶媒を選択して溶出試験を実施することが重要である。

文献情報、平成 15-17 年度における調査結果等を総合して、「抗菌加工製品に関する曝露評価ガイドライン」(案)、「抗菌加工製品に関する安全確保マニュアル作成の手引き」(案)として検討すべき項目を挙げた。今後、平成 15-17 年度における調査結果をもとに、抗菌剤の毒性(ハザード)評価とともに、抗菌加工製品からの抗菌剤の溶出に伴う曝露評価について、汎用される抗菌剤のタイプ、製品の材質、用途に沿って抗菌加工製品を用いた溶出試験法をさらに改良し、評価法としての精度を向上させることによって、「抗菌加工製品に関する曝露評価ガイドライン」、「抗菌加工製品に関する安全確保マニュアル作成の手引き」の作成に向けた取り組みを効率的に進めていくことに資することができる。

「抗菌加工製品に関する曝露評価ガイドライン」(案)：

- ・抗菌剤:種類(無機系、有機系、天然有機系)、毒性(ハザード:皮膚感作性等)、健康被害(アレルギー性接触皮膚炎等)
- ・抗菌加工製品:用途、材質、曝露ルート(皮膚経由、呼吸器経由、経口)、曝露の程度(使用頻度、使用期間、加工法、加工濃度等)
- ・含有量の測定:抽出法(抽出溶媒、抽出温度、振とう抽出)、クリーンアップ法、定性・定量法(HPLC法等)

・溶出量の測定(溶出試験)：溶出溶媒(20%エタノール)、室温、振とう抽出、液比20倍(試料量:溶出溶媒量=1:20)

「抗菌加工製品に関する安全確保マニュアル作成の手引き」(案)：

- ・業界の自主基準：繊維評価技術協議会(SEKマーク)、抗菌製品技術協議会(SIAAマーク)、日本環境協会(エコマーク)
- ・毒性試験データ(in vivo, in vitro)、健康被害事例(工場労働者、一般消費者：アレルギー性接触皮膚炎等)
- ・化学物質等安全データシート(MSDS)
- ・製品表示：成分表示、使用上の注意、連絡先(製造・販売メーカー名、電話・インターネットアドレス等)
- ・情報源：製品表示、ホームページ(メーカー、業界団体等)

#### 分担研究者

鹿庭正昭	国立医薬品食品衛生研究所	療品部室長
中島晴信	大阪府公衆衛生研究所	生活環境部主任研究員
五十嵐良明	国立医薬品食品衛生研究所	環境衛生化学部室長
林 真	国立医薬品食品衛生研究所	変異遺伝部部長
清水 充	大阪市環境科学衛生研究所	企画調整課研究主任
高鳥浩介	国立医薬品食品衛生研究所	衛生微生物部部長

#### A. 研究目的

本研究の目的は、家庭用品等に使用される抗菌剤について、(1)抗菌剤、抗菌加工製品を取り巻く現状の把握、(2)抗菌剤の優先順位リストの作成、(3)抗菌加工製品における安全確保のための取り組みを検討することにより、家庭用品に含有される化学物質による健康被害防止の観点からの規制基準設定の要否、事業者による製品の安全性確保レベルの一層の向上に資することである。

この目的に沿って、以下の6系列14課題について調査研究を実施する。

(1) 抗菌剤、抗菌加工製品を取り巻く現状把握のための実態調査

- ① バイオサイドの分類及び規制状況・適用法規等の調査
- ② 消費者における抗菌加工製品の製品表示に関するアンケート調査

③ 抗菌加工製品における製品情報の伝達手段の実態に関する調査

④ 抗菌剤の使用実態、抗菌加工製品の市販実態に関する調査

(2) 抗菌加工製品による健康被害の発生実態・原因究明に関する調査、抗菌加工製品中の抗菌剤の分析法の検討

(3) 抗菌剤の優先順位リストの作成に向けた毒性試験データの収集・整理

(4) 抗菌剤の毒性(ハザード)評価法

- ① 変異原性
- ② 皮膚感作性
- ③ 細胞毒性
- ④ 生殖・発生毒性
- ⑤ 耐性菌の発生
- ⑥ 皮膚常在菌に対する影響

(5) 抗菌加工製品における曝露評価法に関する検討

(6)「抗菌加工製品・曝露評価ガイドライン」及び「抗菌加工製品・安全確保マニュアル作成の手引き」の作成に向けた取り組みに関する検討

## B. 研究方法

### 1. バイオサイドの分類及び規制状況・適用法規等の調査：

平成 15 年度では、抗菌剤について、農薬、殺虫剤、防腐剤等と比較しながら、経済協力開発機構 (OECD)、欧州連合 (EU)・米国・日本における法規制・業界の自主基準において、バイオサイドとしてどのように管理されているかを、メーカー・業界団体への問い合わせ、オンラインデータベース等を用いた文献検索等により情報収集を行った。

また、平成 16 年 3 月 17 日より開始された (独) 製品評価技術基盤機構・化学物質管理センターによるバイオサイド検討委員会には、主任研究者の鹿庭が 7 名の委員の一人として参加し、OECD、EU、米国、日本におけるバイオサイドの管理に関する情報の収集・解析が実施された。その委員会において当初に配布された資料「Biocide」(世話人・鈴木裕氏作成) 及び討議内容を引用させていただいた。

### 2. 消費者における抗菌加工製品の製品表示に関するアンケート調査：

平成 15 年度では、抗菌加工製品に対する消費者意識の状況について文献調査を実施した。さらに、抗菌加工製品における製品情報の消費者の理解度に関するアンケート調査を消費生活アドバイザー・コンサルタント協会(「NACS」)、アトピッズ・地球の子ネットワーク(「アトピッズ」)、子どもの健康と環境を守る会(「子ども」)を調査対象として実施した。

### 3. 抗菌加工製品における製品情報の伝

### 達手段の実態に関する調査：

平成 15 年度では、抗菌加工製品について、1995 年以降に東京都内で購入したもの、メーカーより提供されたものをサンプルとし、製品表示の内容を比較・検討した。また、抗菌加工製品、抗菌剤の MSDS については、メーカーに問い合わせ入手し、有害性情報、緊急時の対処法等の記載内容を比較・検討した。

平成 16 年度では、抗菌製品の市販実態を把握するため、抗菌製品の表示調査を継続して行った。家庭用抗菌製品分類表を改訂し、その表に基づいて調査製品を集計した。さらに、抗菌製品に使用されている抗菌剤の使用実態を明らかにするため 3 段階(大・中・細)の抗菌薬剤分類表を新たに作成した。その分類表に従って、製品別の使用薬剤を集計した。

抗菌加工製品について、1995 年以降に東京都内で購入したものと及びメーカーより提供されたものをサンプルとし、製品表示の内容を比較・検討した。また、抗菌剤・抗菌加工製品について、メーカーへの問い合わせ、メーカーホームページの検索等により MSDS を入手し、有害性情報、緊急時の対処法等の記載内容を比較・検討した。消費者アンケート調査の結果も参照した。

### 4. 抗菌剤の使用実態、抗菌加工製品の市販実態に関する調査：

平成 15 年度では、既存のオンラインデータベースの検索、文献等の検索、メーカーへの問い合わせ、大阪府下での店頭調査等により、抗菌剤・抗菌加工製品等の使用実態について調査した。

平成 16 年度では、日用品(プラスチック製品)、繊維製品、家電製品における抗菌剤の使用実態について、文献調査、店頭調査(製品カタログ、製品表示等からの製品情報の収集)等により、1990 年代、2000

年代での製品情報（製品カタログ、製品表示等）を比較した。また、家電製品のうち、電気掃除機（本体フィルタ、紙パック）、エアコン（フィルタ）、空気清浄機（フィルタ）について、店頭調査により、製品カタログ・製品表示等を収集し、比較した。また、失禁ケア用品について、製品カタログ・製品表示・メーカーホームページの検索、メーカーへの問い合わせ等により、抗菌・消臭加工剤の使用実態等を調査した。さらに、天然有機系抗菌剤について、日用品（プラスチック製品）、繊維製品、家電製品、失禁ケア用品等において、どのような有効成分が使用されているか、抗菌加工製品における使用頻度がどの程度かを調査した。

平成 17 年度では、「24 ヶ月未満の乳幼児用品には原則として抗菌加工しないこと」とする SEK マークの基準に対して、どのような抗菌加工された乳幼児用品が市販されているか、どのような有効成分が使用されているかについて店頭調査した。

#### 5. 抗菌加工製品による健康被害の発生実態・原因究明に関する調査、抗菌加工製品中の抗菌剤の分析法の検討：

平成 15 年度では、抗菌加工製品による健康被害の発生実態については、MEDLINE, TOXLINE 等の既存のオンラインデータベースを用いた文献報告等の検索、メーカーへの問い合わせ等により、調査を実施した。さらに、ACD における原因究明では、抗菌加工製品の材質・用途等によってタイプの違う抗菌剤が使用されているため、原因製品にどのような抗菌剤が含まれているかを分析確認するとともに、患者において陽性反応を示すかどうかを確認し、ACD の原因となっていたかどうかを確認するための系統的な原因究明の手順を検討した。

平成 16 年度では、アンケート調査は、消

費生活アドバイザー・コンサルタント協会（「NACS」、東京）、アトピッズ・地球の子ネットワーク（「アトピッズ」、東京）、子どもの健康と環境を守る会（「子ども」、北海道江別市）の 3 つのグループの会員を対象に実施された。また、MEDLINE, TOXLINE 等の既存のオンラインデータベースを用いた文献報告等の検索、メーカーへの問い合わせ等により、調査を実施した。さらに、患者の問診、患者でのパッチテスト、（皮膚科医）、感作動物での皮膚テスト（毒理学）、製品情報（メーカー）、原因製品の化学分析（分析化学者）等、異なる専門分野間での取り組みを進めるためのシステムを確立し、その手順に沿って、健康被害事例について原因究明に取り組んだ。

家庭用品に使用される抗菌剤の一種である有機ヒ素系抗菌剤で抗菌加工された人工皮革椅子によるヒトにおけるアレルギー性接触皮膚炎の症例が報告されている。しかし、有機ヒ素系抗菌剤を含む市販の抗菌剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験では皮膚感作性が確認されなかった。

そこで、抗菌加工製品中の皮膚感作性物質の検索法と実用例への適用に関する研究として、以下の研究を行った。(1) 市販抗菌剤から有機ヒ素系抗菌剤を抽出し、単離した有機ヒ素系抗菌剤に関するモルモットマキシミゼーション法 (GPMT 法) による皮膚感作性試験を行った。(2) 有機ヒ素系抗菌剤を含む 5 種の抗菌剤（有機ヒ素系 1 種、第四アンモニウム塩 2 種、イソチアゾリン系 2 種）に関する質量分析計付き高速液体クロマトグラフ (LC/MS) を用いた検出法を開発し、LC/MS が抗菌剤の簡易スクリーニングに応用できるかを検討した。(3) 抗菌加工製品中の皮膚感作性物質の検索法として、ヒトで皮膚感作性を有する数種の抗菌剤を配合した人工皮革を試作し、GPMT 法による抗菌加工品中の皮膚感作性物質の

検索について検討した。

#### 6. 抗菌剤の優先順位リストの作成のための基礎データの収集：

平成 15 年度では、日本防菌防黴学会から刊行された防菌防黴剤事典－原体編－、Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (RTECS) を参照して、急性毒性、眼及び皮膚刺激性、遺伝毒性、生殖毒性、複合的毒性試験データを収集した。

欧州ではバイオサイド指令に基づいて既存抗菌性物質の調査が行われ、今後とも抗菌剤としての使用を継続する物質については届け出が必要となり、その申請期間が終了した。このうち、木材防腐剤と殺鼠剤として使用される物質は 2004 年 3 月までに化学物質の詳細なデータの提出が求められ、現在は 2005 年 3 月からの第 2 次審査のためのリストが提示されている。

平成 16～17 年度では、この分類に沿いつつ健康リスクの観点から、平成 15 年度における各分担研究者から報告された試験結果と RTECS から抽出した毒性データをまとめ直し、解析した。

#### 7. 抗菌剤の変異原性の整理と評価：

平成 15 年度では、18 種の抗菌剤について細菌を用いる復帰突然変異試験・染色体異常試験を、一部マウスリンフォーマ TK 試験を実施し、遺伝毒性に関する評価を行った。

平成 16 年度では、抗菌剤に関しては、それ自体のもつ効能としての抗菌作用があるため、細菌が対象であると遺伝子突然変異を正しく評価できない場合がある。そこで、ほ乳類培養細胞を用いる突然変異試験系を用いることが試みられており、細菌を用いる復帰突然変異試験が適切に実施できない場合に、マウスリンフォーマ TK 試験を行

うことが考えられる。両試験に関する情報を整理し、抗菌剤に関する遺伝毒性評価の戦略について検討した。

平成 17 年度において、定量的構造活性相関 (QSAR) による変異原性 (遺伝子突然変異と染色体異常誘発性) の評価結果によって、Ames 試験およびほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験結果を予測できるかについて検討を行った。

#### 8. 抗菌剤の皮膚感作性 (モルモットマキシミゼーション法) の整理と評価：

平成 15 年度では、抗菌加工製品中の皮膚感作性物質の検索法として、Nakamura らの多用量・モルモットマキシミゼーション法 (GPMT 法) による皮膚感作性試験の定量的評価法を用いて、20 種の抗菌剤の皮膚感作性について評価した。

平成 16～17 年度では、GPMT 法を用いて感作誘導および惹起反応に関する用量反応性を検討し、陽性反応を示した 17 種の抗菌剤について、局所マウスリンパ節増殖試験 (LLNA) 法を用いて、その感作誘導能について評価し、両者の成績をリスク評価の側面から定量的に比較検討した。

すなわち、皮膚感作性試験法における *in vivo* 法の GPMT 法の代替試験法として、*in vitro* 法の LLNA-BrdU 法、LLNA-DA 法 (ともに non-RI 法) の有用性に関して検討した。

また、これまでに蓄積した GPMT および LLNA による皮膚感作性データをもとに、富士通 ADEMEWORKS Model Builder システムを用いて QSAR による化学物質の皮膚感作性の予測について検討した。

#### 9. 抗菌剤の細胞毒性に関する調査：

平成 15 年度では、24 種の抗菌剤について、細胞毒性試験法としてニュートラルレッド (NR) 法を用いた。細胞生存率を 50% に減少させる添加濃度 (IC50 (μg/ml)) を求

めた。

#### 10. 抗菌剤の生殖・発生毒性の整理と評価：

平成15年度では、9種の抗菌剤を妊娠ラットの器官形成期に投与した催奇形性試験について整理および評価を行った。

平成16年度では、抗菌剤の内分泌かく乱性の *in vitro* スクリーニング法による評価を行った。内分泌が未発達な胎児や未熟な幼児、小児では化学物質による内分泌かく乱作用に対する抵抗性が低いと考えられている。特に、胎児や新生児においては、内分泌系の器官の形態に異常や遅滞を来すことにより不可逆的な影響を及ぼす可能性も考えられる。故に、家庭用品に使用される抗菌剤について内分泌かく乱作用を評価することは非常に重要なことである。そこで、本研究では、抗菌剤20化合物について、*in vitro* における内分泌かく乱物質のスクリーニング法であるヒトのエストロゲンレセプター(ER)を用いたER結合試験と組換え酵母を使用したYES試験を行い、その活性を測定し、抗菌剤に関する内分泌かく乱作用についての評価を行った。

#### 11. 抗菌剤・抗菌加工製品による耐性菌の発生に関する評価：

平成15年度では、抗菌剤として、4級アンモニウム塩である塩化ベンザルコニウムおよび塩化ベンゼトニウム、防黴剤として使用されているテトラクロロイソフタロニトリル(TPN)を用いて、真菌に対する長期接触による抗真菌活性の変化を検討した。

平成16年度では、抗菌製品に広く使われている2種の抗菌剤の継続曝露による微生物抵抗性評価を実施した。抗菌剤として2-ブロモ-2-ニトロ-1,3-プロパンジオール(プロノポール)、4-クロロ-m-キシレノール(PCMX)、供試菌株として細菌として

*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, 真菌として *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus niger* IFO 6661を用いた。

平成17年度では、界面活性剤系抗菌剤等を用いて薬剤併用による抗真菌活性評価を実施した。

#### 12. 抗菌剤・抗菌加工製品による皮膚常在菌に対する影響に関する調査、身体の部位別にみた皮膚常在菌の実態調査、抗菌剤・抗菌加工製品の抗菌性の整理と評価：

平成15年度では、抗菌剤・抗菌加工製品による皮膚常在菌に対する影響、身体の部位別にみた皮膚常在菌の実態、抗菌剤・抗菌加工製品の抗菌性について、MEDLINE, TOXLINE等の既存のオンラインデータベースを用いた文献報告等の検索、メーカーへの問い合わせ、自験例での検討結果等により調査した。

平成16年度では、市販抗菌繊維製品の抗菌力評価結果を考察した。抗菌力評価は、新寒天平板法(NAP法)で93製品を、統一試験法(JIS1902)で62製品の評価を行なった。

健常成人男性を対象として、足裏皮膚常在菌の菌数及び菌種の季節変動と、抗菌加工靴下着用による変化を観察した。

作製した標準加工布の抗菌力評価のため、統一試験法(JIS1902)で評価した。皮膚常在菌への影響を観察するため、黄色ブドウ球菌と大腸菌に対する金属濃度と殺菌性の関連を調べた。標準金属イオン液、金属ゼオライト溶出液、金属ゼオライト分散液の発育阻止効果(MIC)を測定した。

#### 13. 抗菌加工製品における曝露評価法の検討：

平成16年度では、人工汗・唾液による無

機系抗菌剤からの金属溶出について検討した。無機系抗菌剤の安全性評価のため、以下の3項目の研究を行った。まず、金属ゼオライト (Ag, Cu, Zn, Cr) を作製し、それら抗菌剤と銀系抗菌剤 AG300 を付着させた標準加工布を作製した。作製した抗菌剤及び加工布からの人工汗・唾液での金属溶出実験を行った。また、市販製品中の高濃度金属検出部位に対しても同様の溶出実験を行った。

平成 16-17 年度では、有機系抗菌剤等における、汗・唾液等を介した抗菌加工製品からの抗菌剤の溶出試験法について検討した。文献調査により、ディルドリンにより防虫加工された羊毛製品の安全性評価の一環として、還流加工法・浸漬加工法によりディルドリンで防虫加工した試作品、市販の防虫加工羊毛製品を検討対象として、汗、唾液、人工汗(酸性、塩基性)等を用いて溶出挙動を検討した結果、すなわち、加工法、溶出溶媒による溶出挙動への影響度を解析した。また、抗菌加工製品からの抗菌剤の溶出挙動を評価するために、ディルドリンに関する検討結果を参照しながら、汗、唾液の代替溶媒として、JIS で規定されている人工汗(酸性、塩基性)、ドイツ工業規格 (DIN) で規定されている人工唾液、食品衛生法で規定されている食品擬似溶媒の 20% エタノール等を用いて溶出試験を実施した。

さらに、抗菌加工試作品に配合する抗菌剤、抗菌加工製品の材質について、実際に健康被害が発生する可能性が高く、健康リスクが高いことを指標にして、抗菌加工試作品の調製を検討した。

#### 14. 「抗菌加工製品に関する曝露評価ガイドライン」、「抗菌加工製品に関する安全確保マニュアル作成の手引き」の作成に向けた取り組みの検討

「抗菌加工製品に関する曝露評価ガイドライン」、「抗菌加工製品に関する安全確

保マニュアル作成の手引き」において取り上げるべき項目について検討した。

### C. 結果と考察

#### 1. バイオサイドの分類及び規制状況・適用法規等の調査：

(独) 製品評価技術基盤機構・化学物質管理センターによる資料にあるとおり、以下のことが確認できた。すなわち、欧州連合 (EU) のバイオサイド指令 (1998 年)、経済協力開発機構 (OECD) の規定では、抗菌剤は、殺虫剤、防腐剤等とともにバイオサイドとして用途別に 23~27 群に分類されている。一方、米国では、バイオサイドという定義はなく、環境保護庁 (EPA) により、抗菌剤、殺虫剤、防腐剤等は農薬も含めた形で規定されている。日本では、EU のバイオサイドの定義に含まれる用途のうち、医療用消毒剤、衛生害虫用殺虫剤以外、抗菌剤を含め、法律による管理は行われていない。

1997 年、「家庭用化学品に関する総合リスク管理の考え方」が策定され、リスク評価をもとにした家庭用品の安全性評価を実施するための自主基準の制定に向けた方針が打ち出された。それをもとに、防水スプレー (1998 年)、芳香・消臭・脱臭・防臭剤 (2000 年)、家庭用カビ取り・防カビ剤 (2002 年) について、「安全確保マニュアル作成の手引き」が作成されている。

また、「生活関連新機能加工製品懇談会報告書 (抗菌加工製品)」 (1998 年 12 月) をもとに抗菌加工製品に関するガイドラインが公表された。その方針に沿って、抗菌防臭加工及び制菌加工された繊維製品については繊維評価技術協議会 (SEK マーク) により、抗菌加工プラスチック製品については抗菌製品技術協議会 (SIAA マーク) により、業界での自主基準が設けられている。日本環境協会 (エコマーク) では、医療用

途及び食品用途の抗菌加工製品に限定してエコマークの審査対象とし、SEK マーク、SIAA マークの自主基準に沿って認定基準が作成されている。

すなわち、抗菌剤の種類について、大分類（無機系、有機系、天然有機系）、中分類（無機系/銀系、有機系/第四アンモニウム塩、天然有機系/ヒバ油等）とともに、可能であれば細分類（具体的な化学名）も製品表示することが求められている。安全性については、試験項目として急性毒性、変異原性、皮膚刺激性に加えて皮膚感作性、細胞毒性が追加された自主基準が作成されている。抗菌性試験法については、業界の自主基準とともに、日本工業規格として繊維製品では JIS-L 1902: 1998、プラスチック製品では JIS-Z 7250: 2000 が制定されており、国際標準規格（ISO）化も進められている。

## 2. 消費者における抗菌加工製品の製品表示に関するアンケート調査：

製品表示のうち、使用上の注意、緊急時の対処法、成分表示等について関心が高かった。また、消費者にとって、「理解しやすい（わかりやすい）」、「具体的な」内容であることが最も重要であると指摘されていた。

MSDS については、いずれのグループでも、「知らない」、「見たことがない」という回答が大半であった。MSDS が消費者の目に触れることがいかに少ないかが明らかにされた。

## 3. 抗菌加工製品における製品情報の伝達手段の実態に関する調査：

2000 年以降、「特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の改善の促進に関する法律」（化学物質管理促進法、PRTR 法：環境汚染物質の排出量・移行量登録制度）、

「改正労働安全衛生法」、「毒物・劇物取締法」において、日本で初めて MSDS について法的な規定が設けられた。とともに、ISO 11014: 1994 に沿って JIS-Z 7250: 2000 が制定され、MSDS が化学物質の有害性等の情報源及び情報伝達的手段として規定された。一方、消費者でのアンケート調査の結果、①抗菌加工製品による健康被害として、アレルギー性接触皮膚炎（ACD）が主なものであったが、ほとんど原因はわからないままであったこと、②抗菌加工製品の表示、抗菌剤の MSDS が健康被害防止のための情報提供の手段としてほとんど有効に活用されてこなかったことが確認できた。

抗菌製品の市販実態を把握するため、市販抗菌製品の表示調査を 1991 年から継続して行ってきた。調査製品を分類するため、新たな家庭用抗菌製品分類表を作成・改訂してきた。その分類表に基づいて調査製品を集計した結果、抗菌製品の種類は 1996 年から 3 年間に激増したが、現在は製品の種類がやや減少してきていた。これは台所用品、日用雑貨品等に分類される抗菌製品が減少していたためである。しかし、化学製品、乳幼児用品、ペット用品等の増加がみられ、新たな問題点が浮上してきていた。また、製品表示の使用薬剤の判明率（40% 前後）は余り進歩がなく、相変わらず使用薬剤が不明な商品が多かった。

さらに、抗菌製品に使用されている抗菌剤の使用実態を明らかにするため 3 段階（大・中・細）の抗菌薬剤分類表を新たに作成した。その分類表に従って、製品別の使用薬剤を集計した。製品の種類により使用薬剤は特徴があり、判明割合も異なっていた。天然有機系薬剤使用製品の増加が目立つが、これらの薬剤や含有成分率は明らかでないものが多い。これらの薬剤は、安全性の再評価が必要と考えられる。

消費者アンケート調査の結果、製品表示

のうち、使用上の注意、緊急時の対処法、成分表示等について関心が高かった。また、消費者にとって、「理解しやすい（わかりやすい）」、「具体的な」内容であることが最も重要であると指摘されていた。しかし、有機系抗菌剤については、健康被害の原因となる可能性が高く、より一層注意を要するものであるにもかかわらず、成分名が具体的に表示されていない場合が多かった点が今後の課題といえる。

#### 4. 抗菌剤・抗菌加工製品の使用実態に関する調査：

抗菌剤は、無機系、有機系、天然有機系に大別される。無機系抗菌剤としては、銀、銅、亜鉛等の抗菌性金属をゼオライト、セラミック、シリカゲル等の多孔性無機材料に担持させたものが主に使用されている。最近では、酸化チタンを配合した光活性型の抗菌剤が登場し、注目されている。また、抗菌ステンレスが開発され、電気洗濯機の洗濯槽等の金属部分に使用されている。製品の部位ごとの金属濃度を簡便に測定するために、蛍光X線法による定性分析値とICP発光分析法による定量分析値を比較したところ、蛍光X線法はCu及びZnのスクリーニング法として有効であった。

一方、有機系抗菌剤としては、第四アンモニウム塩化合物等、従来から薬用せっけん、病院等での手指消毒用に殺菌剤として使用されてきたもの等が主に使用されている。また、天然有機系抗菌剤としては、ヒノキチオール、ヒバ油等、種々の植物抽出物あるいは植物成分が使用されている。大阪府下では、1996年以降3年間で激増した後、2002年度では、抗菌加工された台所用品・日用雑貨品では減少し、家庭用化学製品・乳幼児用品・ペット用品では増加してきたことが確認できた。

用途別、タイプ別に解析した結果、1990

年代では、繊維製品では有機系抗菌剤の使用頻度が高く、無機系：有機系がほぼ同程度であったが、日用品、家電製品では無機系が主に使用されていた。2000年代では、繊維製品も含めて3つの製品群ともに、有機系から無機系あるいは天然有機系への切り替えが一層促進されていた。

日用品（プラスチック製品）、繊維製品、失禁ケア用品では、天然有機系抗菌剤として、ヒノキチオール、キトサン、カテキン（緑茶、柿）が有効成分として頻度高く挙げられていた。一方、ヒバ油、ユーカリ油、緑茶エキス等、植物抽出物・ハーブ抽出物（エキス、オイル）等は多成分混合物であり、有効成分名を表示しないまま使用されている場合も多かった。今後、使用実態がほとんど明らかにされていない多成分混合物系の天然有機系抗菌剤については、代表的な含有成分を指標として分析調査を実施し、使用実態、健康リスクの程度を明らかにすることが必要である。

SEKマークの基準では、「24ヶ月未満の乳幼児用品には原則として抗菌加工しないこと」と規定されている。平成17年度に行った店頭調査の結果、29種の抗菌加工された乳幼児用品が確認された。そのうち、半数の製品では抗菌剤名が不明であった。また、12製品に天然有機系抗菌剤のキトサンが使用されていた。SEKマーク製品は1製品（乳幼児用便座カバー）のみで、他の28製品はアウトサイダー製品であった。

#### 5. 抗菌加工製品による健康被害の発生実態・原因究明に関する調査、抗菌加工製品中の抗菌剤の分析法の検討：

無機系抗菌剤は汗に溶けづらいことから、皮膚障害の原因とはなりにくい。銀、酸化チタンについては、ヒトでのパッチテスト陽性例やアレルギー性接触皮膚炎（ACD）事例は、これまで報告されていない。しかし、

抗菌ステンレスの材質成分のニッケル、クロムは代表的な金属アレルギーであり、遅延型（IV型）アレルギーの原因となりうることから、十分注意する必要がある。一方、有機系・天然有機系抗菌剤は汗等によって加工製品から皮膚へ移行しやすく、皮膚障害の原因となりうる。

抗菌剤・抗菌加工製品による健康被害について文献検索を行った結果、1996年までは、有機系抗菌剤との病院内での接触あるいは職業的接触による事例がほとんどで、一般消費者における事例報告は稀であった。

有機系抗菌剤では、イソチアゾリノン系化合物の5-クロロ-2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オン（MCI）と2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オン（MI）の混合物（ケーソンCG）を配合した外国製化粧品、2-n-オクチル-4-イソチアゾリン-3-オン（OIT、ケーソン893）、1,2-ベンズイソチアゾリン-3-オン（BIT）を配合した塗料・接着剤等により、ACD等の皮膚障害が発生していることが報告されていた。

患者の問診、患者でのパッチテスト（皮膚科医）、感作動物での皮膚テスト（毒性学者）、製品情報（メーカー）、原因製品の化学分析（分析化学者）等により、以下のようなACD事例の原因究明を実施し、原因製品一原因化学物質の関連性を明らかにできた：靴用防カビシールに含まれたアルデヒド系抗菌剤の $\alpha$ -プロモシナムアルデヒド（BCA）による事例（1998年）、ビニルレザ製椅子に含まれた有機ヒ素系抗菌剤のオキシピス（フェノキシアルシン）（OBPA）による事例（1997年）、ピリジン系抗菌剤のテトラクロロ（メチルスルホニル）ピリジン（TCMSP）による事例（1998年）、デスクマットに含まれたTCMSPによる事例（2002年）、第四アンモニウム塩化合物（液剤）を用いて洗濯時に抗菌加工した衣類による事例（1999年）、白衣の襟部分に使用された

トリクロロカルバニリド（TCC、別名トリクロカルバン）による事例（2000年）、無圧ふとんの綿製側地に含まれた防ダニ剤のジブチルセバケート（DBS）による事例（2002年）。

一方、消費者アンケート調査の結果では、抗菌加工製品によって健康被害を受けた場合にも、ほとんどの場合健康被害の原因はわからないままであったことが示された。なお、無機系あるいは天然有機系抗菌剤による健康被害は見当たらなかった。

抗菌剤のスクリーニング法について、有機ヒ素系抗菌剤をはじめ第4アンモニウム塩2種、イソチアゾリン系化合物2種の計5種の抗菌作用を有する皮膚感作性物質を取り上げ、LC/MSによるスクリーニング法を開発した。さらにピリジン系抗菌剤、トリクロサン、パラベン類等を追加して検討した。その結果、LC/MSを用いる一斉スクリーニング法について、定量分析法としては抽出方法等の詳細な検討が必要であるものの、簡易スクリーニング法として有用であることが確認できた。

有機ヒ素系抗菌剤の皮膚感作性について、有機ヒ素系抗菌剤を含む市販抗菌製剤では、GPMT法により皮膚感作性が確認できなかったが、市販抗菌製剤から単離した有機ヒ素系抗菌剤を用いてGPMT法を実施した結果、有機ヒ素系抗菌剤が弱いながら皮膚感作性を有することが確認できた。弱い皮膚感作性を有する抗菌剤については、抗菌剤を単離し、GPMT法により皮膚反応性の強さを確認することが重要であることが確認できた。

抗菌加工製品の皮膚反応性を確認するために、試作品に使用された抗菌剤で感作させたモルモットを用いて検討した結果、試作抗菌加工試作品（人工皮革）、そのジエチルエーテル抽出物を閉塞貼付することによって皮膚反応性を確認できた。

## 6. 抗菌剤の優先順位リストの作成の

### ための基礎データの収集:

抗菌剤の CAS 番号をもとに、急性毒性、眼及び皮膚刺激性、生殖毒性、遺伝毒性に関して、Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (RTECS) からデータを収集した。急性毒性試験は各物質ともよく実施されており、遺伝毒性試験も多くのデータがそろっていた。生殖毒性試験データがあるものは 5 物質、皮膚または眼刺激性に関しては 4 物質であった。

多くの毒性データが取られているのは p-クロロ-m-キシレノール (PCMX) と 2, 4, 5, 6-テトラクロロイソフタロニトリル (TPN) で、2-ブromo-2-ニトロプロパン-1, 3-ジオール (BNPD)、2-(チオシアノメチルチオ) ベンゾチアゾール (TCMTBT) 及びジクピリチオン (ZPT) も比較的多くの情報が得られる。

一方、N-n-ブチル-1, 2-ベンズイソチアゾリン-3-オン (BBIT)、3-ヨウド-2-プロピニルブチルカーバメート (IPBC)、N-(フルオロジクロロメチルチオ) フタルイミド (FPI)、p-クロロフェニル-3-ヨウドプロパルジルホルミル (CPIP)、1-(ブromo-3-エトキシカルボニルオキシ-1, 2-ジヨウド-1-プロパン (BECDIP) のように RTECS 中には情報がない物質もあった。

### 7. 抗菌剤の変異原性の整理と評価:

遺伝毒性試験として、細菌を用いる復帰突然変異試験、ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験が通常実施されてきた。しかし、抗菌剤等、細菌を死滅させる目的で使用される化学物質の遺伝毒性を評価するために、細菌を用いる復帰突然変異試験ではなく、ほ乳類培養細胞を用いる突然変異試験、特にマウスリンフォーマ TK 試験が有効であることを確認した。

家庭用品の遺伝毒性を評価するための試験として、これまでは細菌を用いる復帰突

然変異試験とほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験が一般的に用いられてきた。抗菌活性を示さない化学物質に関しては、この組み合わせで遺伝毒性は的確に評価出来るものと考えられる。しかし、抗菌剤に関しては、細菌を用いる試験系で、復帰突然変異誘発性を正確に評価できるとは考えがたい。そのため、細菌を用いる復帰突然変異試験の代替法としてマウスリンフォーマ TK 試験が考えられる。これら両試験の結果の一致率に関しては、全体で 63.6%であり、また、より多くのがん原性物質に対して陽性結果を与えることが判明し、ハザード同定法としては適用可能なものと考えられる。家庭用品の抗菌剤を評価する場合にも、標準的な組み合わせにマウスリンフォーマ TK 試験を追加することにより、よりの確な遺伝毒性の評価が可能になる。

また、定量的構造活性相関 (QSAR) による遺伝子突然変異と染色体異常誘発性の評価結果について、かなりの精度で Ames 試験及びほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験の結果を予測できることが確認できた。今後、実際の試験をするための優先順位付け等に活用されることが期待される。

### 8. 抗菌剤の皮膚感作性 (モルモットマキシミゼーション法) の整理と評価:

モルモットマキシミゼーション (GPMT) 法を用いて 22 種の抗菌剤の皮膚感作性を調べたところ 18 種が陽性反応を示した。最低感作誘導濃度は 0.5 ppm から 5,000 ppm の濃度範囲に、最低惹起濃度は 0.5 ppm から 28,300 ppm の濃度範囲であった。惹起反応の用量反応性を検討したところ、惹起濃度の対数値と皮膚反応平均評価点との間に良好な関係性のある回帰直線が得られた。惹起反応の評価に際しては最低惹起濃度のみならず、回帰直線の傾きも考慮することにより、より多くの情報が得られると考え

られた。

GPMT 法を用いて感作誘導及び惹起反応に関する用量反応性を検討し、陽性反応を示した 18 種の抗菌剤について、in vitro 法の非放射性マウスリンパ節増殖法 (LLNA-BrdU 法、non-RI 法) を用いて、その感作誘導能について評価し、両者の成績をリスク評価の側面から定量的に比較検討した。

GPMT 法で陽性であった 18 種のうち 14 種が LLNA-BrdU 法で陽性反応を示した。GPMT 法で求められた各抗菌剤の最低惹起濃度と LLNA で求められた最低誘導濃度を比較したところ、両者には比較的良好な相関がみられ、感作性物質の最低惹起濃度を LLNA-BrdU 法のデータより推定できる可能性が示唆された。

また、LLNA-BrdU 法と同じく in vitro 法の LLNA-DA 法 (non-RI 法、ダイセル法) について検討した。LLNA-DA 法は、皮膚感作性試験法として比較的弱い皮膚感作性物質も評価できることが確認できた。さらに、LLNA-DA 法は LLNA-BrdU 法と同様に、in vitro 法であることから動物愛護の点に配慮した試験法であるとともに、試験に要する経費を低減でき、時間も短縮できるという有用性をもっていることが確認できた。

現在、LLNA 法は、OECD ガイドライン以外では、公的な皮膚感作性試験法として採用されていない。家庭用品に使用される化学物質の皮膚感作性の評価において、LLNA 法を皮膚感作性物質の一次スクリーニング法として活用し、LLNA 法により皮膚感作性が確認された化学物質について GPMT 法により皮膚感作性を最終的に確認するとともに、交叉アレルギー性の確認を行う方法とする皮膚感作性評価システムの構築をめざしている。

以上、多様な化学構造を有する種々の抗菌剤を用いてその感作性を従来からの標準

的試験法である GPMT 法で評価したところ 80% の検体が陽性であった。GPMT 法の実施に当たっては感作誘導および惹起反応の両者の用量反応性を検討することにより感作性の強度の比較が可能になると考えられた。

GPMT 法に比較して簡易な手法である LLNA は、GPMT 法に比較すると感度が落ちるが、得られた結果は定量的であり、また LLNA 法で求められた最低感作誘導濃度から最低惹起濃度を計算で求めうる可能性が示され、スクリーニング法としては有用と考えられた。

皮膚感作性のリスク評価において重要な項目のひとつである類似構造化合物間の交差反応性について、GPMT 法を用いて定量的に評価した。その結果、GPMT 法により類似構造を有するいくつかの抗菌剤間で交差反応性が認められた。また、交差反応の定量的評価により、交差反応物質が親感作物質よりも低濃度で同程度の反応を惹起する場合が認められた。さらに、複数の類似構造物質での反応を調べることにより抗原決定構造に関する知見が得られた。

これまでに蓄積した GPMT 法及び LLNA 法による皮膚感作性データをもとに、コンピュータによる QSAR による化学物質の皮膚感作性の予測について検討した。その結果、感作性の有無を予測する判別分析および感作性強度を定量的に予測する線形重回帰分析ともに限られたサンプル数の範囲では良好な成績が得られた。また、抽出された化合物パラメータのなかで negative partial charge は LLNA 法での感作性発現の予測に特に重要であった。

#### 9. 抗菌剤の細胞毒性の整理と評価 :

ニュートラルレッド (NR) 細胞毒性試験法を用いて、抗菌剤が細胞の生存率を 50% に減少する濃度 (IC50 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )) を求め、この値をもとに細胞毒性強度をランクづけた。

また、NR法でのIC50値はドレイズ法によるウサギ眼刺激性と相関があることが知られている。IC50値の幅を3段階に分け、それぞれの眼刺激性の誘発危険性を評価した。24種類の抗菌剤について試験したところ、試験したほとんどの物質がstrongと判定され、製品から溶出した場合、眼刺激性を有する可能性が高いことが予想された。

そのうち、最も細胞毒性が強いものはジンクピリチオン(ZPT)であった。2,4,5,6-テトラクロロフタロニトリル(TPN)、2,3,5,6-テトラクロロ-4-(メチルスルホニル)ピリジン(TCMSP)、1-ブromo-3-エトキシカルボニル-1,2-ジヨウド-1-プロペン(BECDIP)もIC50値は2.0以下で、強い細胞毒性を示した。一方、2-(チオシアノメチルチオ)ベンゾチアゾール(TCMTBT)、3,4,4'-トリクロロカルバニリド(TCC、別名トリクロサン)の細胞毒性は弱かった。

#### 10. 抗菌剤の生殖・発生毒性の整理と評価:

抗菌剤9種中1種(ジンクピリチオン、ZPT)にラット胎児に骨格奇形を誘発する可能性が示唆された。これらの抗菌剤の妊娠動物に対するNOEL(無毒性量)は2.7 mg/kgから300 mg/kgの投与量の範囲であった。また、抗菌剤のラット胎児に対するNOELも2.7 mg/kgから300 mg/kgの投与量の範囲であった。しかし、妊娠動物に対するNOEL/胎児に対するNOEL比(A/D比)はいずれも1以下であった。

内分泌系が未発達な胎児や未熟な幼児、小児では化学物質による内分泌かく乱作用に対する抵抗性が低いと考えられている。特に、胎児や新生児においては、内分泌系の器官の形成に異常や遅滞を来すことにより不可逆的な影響を及ぼす可能性も考えられる。そのため、家庭用品に使用される抗菌剤について内分泌かく乱作用を評価することは非常に

重要なことである。

抗菌剤20化合物について、*in vitro*における内分泌かく乱作用のスクリーニング法であるヒトのエストロゲンレセプター(ER)を用いたER結合試験と組換え酵母を使用したYES試験を行い、その活性を測定し、抗菌剤に関する内分泌かく乱作用についての評価を行った。その結果、今回採用したER結合試験およびYES試験により家庭用品に使用される抗菌剤の内分泌かく乱作用(エストロゲン作用)に関する評価が可能であることがわかった。本研究でヒトestrogen receptor  $\alpha$ を使用したER結合試験により陽性と判断された抗菌剤は12種であった。YES試験において、ラット肝S9による代謝活性化を行わない条件で陽性と判断された抗菌剤は1種、疑陽性が1種であった。また、代謝活性化を行った場合は前述の2種はその活性に変化はなかったが、さらに1種が陽性と判断された。以上のように20種の抗菌剤のなかには陽性を示すものがあることが確認できた。

次に、エストロゲン作用に関する*in vitro*における1次スクリーニング試験法で陽性であった11種の抗菌剤について*in vivo*におけるスクリーニング試験法である幼若ラットを用いた子宮肥大試験を実施し、内分泌かく乱作用の有無やその程度を調べた。その結果、そのうちの2種(PCMX、HO)において、幼若ラットに経口投与投与すると子宮重量が増加したものがあつた。すなわち、今回採用した幼若ラットを用いた子宮肥大試験により家庭用品に使用される抗菌剤の内分泌かく乱作用(エストロゲン作用)に関する評価が可能であることがわかった

#### 11. 抗菌剤・抗菌加工製品による耐性菌の発生に関する評価:

*in vitro*試験において、抗菌剤の第四アンモニウム塩とは異なり、抗黴剤のTPNで

は真菌の発育の最高濃度は継代とともに上昇した。すなわち、抗黴剤では真菌が抵抗性を獲得することが示唆された。

日常的に使用される抗菌剤である抗菌剤の2-ブromo-2-ニトロ-1,3-プロパンジオール(ブロンポール)、4-クロロ-m-キシレノール(PCMX)について、微生物として細菌2種 *E. coli*, *S. aureus* と真菌2種 *niger*, *Candida albicans* を用いて抗菌剤の継代曝露したところ、細菌では30代ほど継代したところ著しくはないが抵抗性を示した。真菌でも継代後期になり抵抗性を認めた。この現象は第四アンモニウム塩でも確認された。その抵抗性が遺伝的変化の耐性獲得によるものか、細胞形質による馴化かを確認するために抗菌剤無処理に戻し、再度抗菌剤処理を行ったところ、馴化であることがわかった。

薬剤併用による抗真菌活性評価について、5種真菌 (*Aspergillus niger* ATCC 6275, *Aureobasidium pullulans* H 2827, *Cladosporium sphaerospermum* M # 729-1, *Fusarium oxysporum* M # 646-1, *Penicillium frequentans* KA-3) に対して、カチオン系界面活性剤の塩化ベンザルコニウム (BC)、グアニジン系薬剤のグルコン酸クロルヘキサジン (GC)、イミダール系薬剤のチアベンダゾール (TBZ)、アニオン系界面活性剤のラウリル硫酸ナトリウム (SLS) を使用して検討した。その結果、界面活性剤系抗菌剤では、アニオン系とカチオン系は拮抗することが確認できた。界面活性剤についてはその化学的特性を十分理解したうえで薬剤を併用することが重要である。

12. 抗菌剤・抗菌加工製品による皮膚常在菌に対する影響に関する調査、身体の部位別にみた皮膚常在菌の実態調査、抗菌剤・抗菌加工製品の抗菌性の整理と評

価：

大阪府公衆衛生研究所により、抗菌性試験において、皮膚常在菌のほうが病原性細菌よりも抗菌加工製品の影響をより強く受けていたことが確認された。また、世田谷区消費者カレッジ上級コース消費者問題研究グループにより、抗菌加工繊維製品の着用試験において、皮膚常在菌への影響をアデノシン三リン酸 (ATP) 量の変化で追跡したところ、靴下 (四級アンモニウム塩、樹脂加工) では ATP 量が減少しており、抗菌効果とともに、皮膚常在菌に化学的ストレスが生じていたことが確認された。抗菌加工製品について、実際の使用状況下において、抗菌性のチェックとともに、皮膚常在菌にどの程度の影響を及ぼし得るのかを消費者に知らせていく必要がある。

健常成人男性を対象として、足裏皮膚常在菌の菌数及び菌種の季節変動と、抗菌加工靴下着用による変化を観察した。明らかな季節変動は見られず、加工靴下着用での変化もなかった。足裏から採取された好気性菌は70~100%が *St* 属 (耐塩性菌) であった。優勢菌 (採取できた菌の50%以上を占める菌種) として3種の菌が確認できた。*St* 属菌3種 (*S. aureus* と足裏より採取した皮膚常在菌) と *K. pneumoniae* の4種の菌を用いて、市販靴下の抗菌力評価を行った。その結果、抗菌靴下に対しては、*St* 属3種の菌は、菌間での感受性の違いは有るものの、*K. pneumoniae* と比べると感受性が高いことが確認できた。

皮膚常在菌への影響を観察するため、4種の細菌 (黄色ブドウ球菌、大腸菌、*Staphylococcus epidermidis*、*Propionibacterium acnes*) と3種の真菌 (カンジダ、白癬菌、黒カビ) に対する金属濃度と殺菌性の関連を調べた。各濃度の金属 (Ag, Cu, Zn, Cr) を水溶液、人工汗 (酸性)、人工汗 (塩基性)、人工唾液に溶解し、

最小発育阻止濃度 (MIC) 及び最小殺菌濃度 (MBC) を測定した。その結果、菌種 (細菌及び真菌) 及び金属種・溶液によって各々違いはあるものの、総じて真菌類の方が高濃度の金属溶液中で生存していた。つまり、細菌が死滅する金属濃度でも真菌は生存し、皮膚常在菌のバランスが崩れて真菌症が発現する可能性が示唆された。

市販抗菌繊維製品の抗菌力評価結果を考察した。新寒天平板法 (NAP 法) で 93 製品を、統一試験法 (JIS1902) で 62 製品の抗菌力評価を行なった。抗菌力は有機系や無機系薬剤使用製品のほうが強く、天然有機系薬剤使用の製品は弱い傾向を示した。双方の評価法で、皮膚常在菌の中で好気性菌の大半を占める *Staphylococcus* 属 (*St* 属) に属するグラム陽性菌、*S. aureus* が一番抗菌製品の影響を受けやすい事が分かった。つまり、抗菌加工製品によって皮膚常在菌のバランスを崩す可能性が示唆された。

作製した無機系抗菌剤加工布の抗菌力評価を統一試験法で行なった。Cu 及び Ag (Agゼオライト、AG300) 加工布の抗菌力が、*S. aureus* 及び *K.pneumoniae* に対して高かった。*S. aureus* に対しては Zn 加工布も抗菌効果を示した。

### 13. 抗菌加工製品における曝露評価法の検討：

平成 16 年度において、人工汗・人工唾液による無機系抗菌剤からの金属溶出について検討した結果、標準加工布及び市販製品ともに Cu、Zn の溶出量が多かった。Ag の溶出は標準加工布、市販製品ともに少なかった。また、Cr の溶出は殆ど見られなかった。人工唾液での溶出試験の結果、抗菌靴下から Cu の EKOTEX 基準値である 25ppm に近い 20ppm の Cu が溶出した。

平成 16 年度において、有機系抗菌剤等における、汗・唾液等を介した抗菌加工製品

からの抗菌剤の溶出試験法について検討した。文献調査の結果、脂溶性化合物の防虫加工剤 (ディルドリン) で防虫加工された繊維製品における溶出試験の結果、溶出量は唾液>汗>水=人工汗 (塩基性) =人工汗 (酸性) の順であった。すなわち、唾液が汗よりも溶出力が大きいこと、また人工汗 (酸性、塩基性)、水ではほとんど溶出力に差がなく、いずれも汗や唾液の代替溶媒としては不適であるとされた。また、防虫加工繊維製品の表面に付着した防虫剤 (ディルドリン) はヘキサンで振とう抽出することにより測定でき、防虫剤の製品からの溶出しやすさの指標となる事が確認されていた。

したがって、抗菌加工製品からの抗菌剤の溶出しやすさの指標として、ヘキサン抽出量を測定することとした。また、抗菌加工製品を用いた溶出試験の溶出溶媒 (候補) としては、JIS で規定されている人工汗 (酸性、塩基性)、ドイツ工業規格 (DIN) で規定されている人工唾液とともに、食品衛生法で脂溶性食品用擬似溶媒として採用されている 20%エタノールを用いることとした。

平成 17 年度において、有機系抗菌剤の TCC により抗菌加工された繊維製品 (綿、ウール) について、抗菌加工繊維製品からの TCC の溶出量は、ヘキサン>20%エタノール>水、人工汗 (酸性)、人工汗 (塩基性) >人工唾液、4%酢酸の順であった。ヘキサン抽出では製品や条件による差があるものの、水系溶媒よりは溶出量が多かった。同時に試験した唾液と比較すると、ヘキサン、20%エタノール溶液での溶出量の方が近い値を示した。タンパク成分として牛血清アルブミン (BSA) を添加して試験した結果、BSA 濃度が増加するにつれて TCC 溶出量は増加したが、添加量が 1%未満で唾液と同レベルの溶出量を示した。

抗菌加工プラスチック製品については、

実際に ACD の原因となったことが報告されている有機系抗菌剤の TCMSF を配合した試作品を調製した。材質として、使用頻度が高いポリ塩化ビニル (PVC)、ポリウレタン (PU) の 2 種とした。抗菌加工方法として、PVC、ポリウレタンのベース部分に抗菌剤を練り込み、最表面をアクリル系あるいはウレタン系表面処理液で表面処理し、シート状の試作品 (PVC レザー、PU レザー) とした。

溶出試験の結果、いずれの溶出溶媒においても、PVC レザーが PU レザーより溶出量が多かった。すなわち、PVC レザーでは、ヘキサソール (181  $\mu\text{g/g}$ ) > 20%エタノール (26) > 水 (16)、人工唾液 (12)、人工汗 (酸性) (10)、人工汗 (塩基性) (6)、の順であった。一方、PU レザーでは、ヘキサソール (16  $\mu\text{g/g}$ ) > 20%エタノール (2) で、水、人工唾液、人工汗 (酸性)、人工汗 (塩基性) はいずれも 1  $\mu\text{g/g}$  以下であった。

以上のように、抗菌加工製品からの抗菌剤の溶出挙動は、抗菌剤のタイプ、製品の材質によって変動する可能性が確認できた。したがって、抗菌加工製品の曝露評価法として、抗菌加工製品の材質、使用されている抗菌剤のタイプに注目しつつ、抗菌加工製品の用途に伴う曝露ルートを想定し、汗、唾液を通じた曝露量を的確に把握できるように、適切な溶出溶媒を用いて溶出試験を実施することが必要であることが確認できた。

#### 14. 「抗菌加工製品に関する曝露評価ガイドライン」、「抗菌加工製品に関する安全確保マニュアル作成の手引き」の作成に向けた取り組みの検討

文献情報、平成 15-17 年度における調査結果等を総合して、「抗菌加工製品に関する曝露評価ガイドライン」(案)、「抗菌加工製品に関する安全確保マニュアル作成の手引き」(案)として検討すべき項目を挙げ

た。

「抗菌加工製品に関する曝露評価ガイドライン」(案)：

- ・抗菌剤：種類 (無機系、有機系、天然有機系)、毒性 (ハザード：皮膚感作性等)、健康被害 (アレルギー性接触皮膚炎等)
- ・抗菌加工製品：用途、材質、曝露ルート (皮膚経由、呼吸器経由、経口)、曝露の程度 (使用頻度、使用期間、加工法、加工濃度等)
- ・含有量の測定：抽出法 (抽出溶媒、抽出温度、振とう抽出)、クリーンアップ法、定性・定量法 (HPLC 法等)
- ・溶出量の測定 (溶出試験)：溶出溶媒 (20%エタノール)、室温、振とう抽出、液比 20 倍 (試料量：溶出溶媒量=1:20)

「抗菌加工製品に関する安全確保マニュアル作成の手引き」(案)：

- ・業界の自主基準：繊維評価技術協議会 (SEK マーク)、抗菌製品技術協議会 (SIAA マーク)、日本環境協会 (エコマーク)
- ・毒性試験データ (in vivo, in vitro)、健康被害事例 (工場労働者、一般消費者：アレルギー性接触皮膚炎等)
- ・化学物質等安全データシート (MSDS)
- ・製品表示：成分表示、使用上の注意、連絡先 (製造・販売メーカー名、電話・インターネットアドレス等)
- ・情報源：製品表示、ホームページ (メーカー、業界団体等)

#### D. 結論

(独) 製品評価技術基盤機構・化学物質管理センターの資料にあるとおり、以下のことが確認できた。すなわち、国内における抗菌剤を含めてバイオサイドの管理方法について、欧米と同等レベルの管理を求められる可能性が大きくなっている。バイオサイドの範囲・定義を明確にするとともに、バイオサイド (有効成分) と製品について、