

ベンジルアルコールの皮膚透過性についての評価

王 瑞生^{*1}, 柳場由絵^{*1}, 須田 恵^{*2}, 豊岡達士^{*1}

近年、剥離剤を使用して橋梁等の塗膜を除去する作業において、作業者に意識障害、死亡事例を含む複数件の中毒事例が立て続けに発生した。現場で使用されていた剥離剤の主成分であるベンジルアルコール、またはその尿中代謝物である馬尿酸が中毒者の血液、尿中から高濃度で検出されたため、ベンジルアルコールの短時間大量摂取が中毒原因であると考えられている。作業中に剥離剤の噴射でベンジルアルコールを含むエアロゾルが大量に発生するため、吸入と経皮のばく露の両方の可能性が考えられる。一方、ベンジルアルコールの皮膚透過性についての情報、特に定量的な指標や他の物質との比較、さらに体内に吸収された後の動態などは、これまでに情報が極めて不足している。そこで、本研究では、ベンジルアルコールの皮膚透過性を三次元ヒト培養皮膚（3D 皮膚）、ブタ摘出皮膚及び実験動物を用いて評価し、さらに体内に吸収されたあとの動態の特徴を解析した。3D 皮膚での結果、ベンジルアルコールの T25% (h)（添加した試料の 25% が透過した時間値）は、代表的な皮膚吸収性産業化学物質であるジメチルホルムアミドより著しく小さく、皮膚透過性が非常に高いことが示唆された。ブタ摘出皮膚を用いての評価からも同じような結果が得られた。さらにマウスの塗布試験でもベンジルアルコールが迅速に皮膚から吸収され、脳組織における濃度が血液や肝臓よりも高く、塗布後約 1 時間でピーク値に達した。これらの結果から、ベンジルアルコールは皮膚透過性が高く、脳への移動も早いことが判明した。これらの情報はベンジルアルコールに対する有効なばく露対策の策定や中毒予防に有用であると考えられる。

キーワード: ベンジルアルコール、皮膚透過性、三次元ヒト培養皮膚、ブタ摘出皮膚、体内動態。

1. はじめに

橋梁等の塗膜の塗替工事において、剥離剤を浸潤させる湿式で塗膜を除去する工法を利用する例が増加している。近年、塗膜剥離剤使用の作業に従事する労働者らに、意識障害、死亡事例を含む複数件の中毒事例が立て続けに発生した¹⁾。現場で使用されていた剥離剤は、いずれもベンジルアルコール (Benzyl alcohol) を主成分とするものであり、中毒症状を呈した作業者の血液・尿中から高濃度のベンジルアルコールまたはその最終代謝物である馬尿酸 (Hippuric acid) が検出されたため (図 1 の代謝図参照)、ベンジルアルコールの短時間大量摂取が中毒原因であると考えられている²⁾。また、急性毒性情報等をみると、ベンジルアルコールは実験動物 (マウス、ラット等) に対して末梢及び中枢神経毒性の症候や腎臓の組織像異常などが報告されている³⁾。中毒した症例では、意識障害や代謝性アシドーシスが報告されている³⁾。これら毒性情報は、剥離剤取り扱いの災害事例において、剥離剤に含まれていたベンジルアルコールが健康障害に寄与した可能性が高いことを支持するものであると考えられる。

他方、作業者らがどのようにしてベンジルアルコールの大量摂取に至ったかという点は重要である。作業者らはビニールシート等で密閉された作業空間において、呼

吸入保護具や防護服などを装着し噴霧器などで剥離剤を噴射していたとされる。ベンジルアルコールの蒸気圧は 0.09 mmHg (25℃) であり、水の蒸気圧 23.7 mmHg (25℃) と比べると極めて低い。よって、塗料に吹きつけた剥離剤からベンジルアルコールが大量に揮発する可能性が低いと思われる。従って、推定ばく露経路としては、剥離剤を塗料に吹きつける際に発生したベンジルアルコールを含むエアロゾルが、なんらかの理由 (隙間や吸収缶の限度を超えた等) で呼吸用保護具を通過した吸入ばく露、及び防護服の隙間等から侵入浸潤した剥離剤溶液による経皮ばく露が考えられる。ただし、ベンジルアルコールの経皮吸収性について、特にどの程度の透過速度であるか、体内に入ってから動態などは、これまでに情報が極めて不足している。一方、我々の化学物質の経皮吸収に関する先行知見⁴⁾を基に考えると、ベンジルアルコールの物性は、前述の蒸気圧が極めて低いことに加えて、オクタノール/水分分配係数 (log *K_{ow}*) が 1.05 であり、皮膚透過性が高いことが予想される物質である。

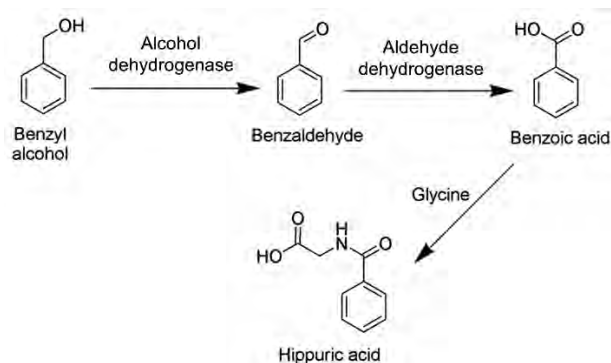


図 1. ベンジルアルコールの代謝

^{*1} 労働安全衛生総合研究所 化学物質情報管理研究センター 有害性評価研究部

^{*2} 労働安全衛生総合研究所 研究推進・国際センター

連絡先: 〒214-8585 川崎市多摩区長尾 6-21-1

労働安全衛生総合研究所 有害性評価研究部 王 瑞生

E-mail: wang@h.jniosh.johas.go.jp

そこで、本研究では、ベンジルアルコールの皮膚透過性を三次元ヒト培養皮膚（3D 皮膚）、ブタ臍出皮膚及び実験動物を用いて検討し、さらに体内に吸収された後の動態の特徴も解析した。得られた結果をベンジルアルコールに対する有効なばく露対策の策定や中毒予防の視点から考察した。

2. 研究方法

1) 三次元ヒト培養皮膚を用いた評価

本プロジェクト研究課題で確立された 3D ヒト培養皮膚を用いた皮膚透過性評価法を用いて、ベンジルアルコールの皮膚透過性評価を行った。3D 培養皮膚は動物臍出皮膚に比べ、構造が比較的簡単のため、透過速度は速いが、均一性に優れており再現性がよく結果が得られるのがメリットである。本実験で使用した 3D ヒト培養皮膚は J-TEC 社製の LabCyte EPI である。皮膚透過性試験はフランツセル法を基本原理とした手法によって実施した。3D 皮膚が入った培養カップ（底面は網状になっている）を PBS（phosphate-buffered saline, リン酸緩衝生理食塩水）が満たされたガラスボトルに差し込み、ドナー相（培養カップ）には ^{14}C 標識されたベンジルアルコール（ $0.1 \mu\text{Ci}$ になるよう PBS に溶解）を添加し、その後、48 時間までに経時的にレセプター相（ボトル）からサンプリングをし、液体シンチレーションカウンターで β 線カウントを計測した。また、サンプリング終了後の皮膚を溶解し、溶解液についても液体シンチレーションカウンターで計測した。皮膚透過率は経時的に採集した試料中の β 線カウントから算出した。なお、各時間ポイントにおいて少なくとも 6 回の測定を行い、平均値を算出した。

2) ブタ臍出皮膚を用いたベンジルアルコールの皮膚透過性評価

ヒト皮膚に近く、皮膚形態や薬物透過性がヒトに近いとされるブタからの臍出皮膚を用いてベンジルアルコールの透過性試験を行った。本研究でユカタンマイクロピッグ（YMP : Yucatan micropig）から採取された皮膚を使用した。YMP から採取され、凍結保存されたスキンセットを日本チャールスリバーから購入し、皮膚は使用するまで -80°C で保存した。凍結された皮膚を室温で自然解凍し、皮下についている脂肪および肉片をはさみで取り除いた後、ヤスリを用いて真皮についた脂肪を除去した。実験方法はガラス製縦型拡散セルを使用し、縦型拡散セルのレセプター相にはカナマイシンを添加した PBS を 32°C に保ち、攪拌した。ブタ臍出皮膚を透過した ^{14}C 標識されたベンジルアルコール（ $0.1 \mu\text{Ci}$ ）をレセプター相の PBS を満たしたボトルに捕集し、経時的なサンプリングし、液体シンチレーションカウンターによる β 線カウントから皮膚透過率を算出した。In vitro 実

験と同様に、各ポイントは 6 回以上の測定の平均値である。

3) マウスにおける塗布試験

C57BL/6J 雄性マウス（10 週齢）に軽く麻酔を施してから背部の毛をバリカンで刈り、リント布に $20 \mu\text{L}$ のベンジルアルコール（ 21 mg/匹 ）を滴下し、PBS を $80 \mu\text{L}$ 加えたものを医療用の粘着テープ等で固定し、その後はケージ内で放置し、塗布後 0, 0.5, 1, 3, 6, 24 時間と 3 時間塗布後にリント布を外して 21 時間放置した群の試料を採取した。一部のマウスから代謝ケージで尿の収集を行った。

前述した時間において、イソフルランによる麻酔下で解剖を行った。血液、尿、脳、肝臓、腎臓、脂肪組織を採集し、ベンジルアルコールやその代謝物（ベンズアルデヒド、安息香酸、馬尿酸）を GC/MS や LC/MS/MS で定量した。各群（タイムポイント）に 6 匹のマウスが使用された。なお、本実験は動物実験倫理審査委員会の審査承認を受けた上で実施した（承認番号：R03-01）。

3. 評価結果

3D ヒト培養皮膚に添加したベンジルアルコールの透過率曲線を図 2 に示す。ベンジルアルコールの透過率は 24 時以降ほぼプラトーになっており、24 時間以内にほぼ全量が透過していることがわかる。また、近似曲線より $T_{25\%}$ in vitro (h)（添加した試料の 25% が透過した時間値）を求めると約 2 時間であった。

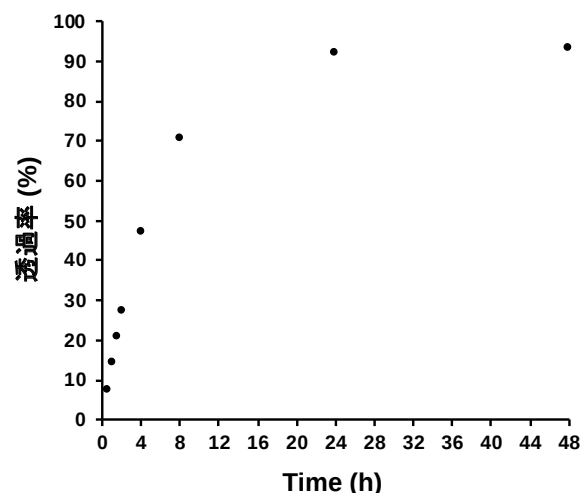


図 2. 3D ヒト培養皮膚におけるベンジルアルコールの経時的透過率

YMP 皮膚に添加したベンジルアルコールの透過率曲線は 3D 培養皮膚の場合とよく似ている。24 時間後以降、透過率はプラトーに達しており、添加後 24 時間までに、添加したほぼ大半が皮膚を透過したことが示唆された（データ示さず）。また、近似曲線より $T_{25\%}$ ex vivo (h) を求めると約 6 時間であった。

マウス塗布試験で塗布したベンジルアルコール量から、リント布及び医療用粘着テープに残留しているベンジルアルコールを差し引いた値により体内に入ったベンジルアルコール総量を推測した。塗布後 30 分、1 時間、3 時間においてそれぞれ約 36%、52%と 63%が吸収された（塗布中の蒸発によるロスは考慮せず）。皮膚の中に留めたベンジルアルコール量は、最初の 30 分時点で最も高く、その後徐々に減少し、24 時間後はごく少量しか残っていなかった。

図 3 に各組織におけるベンジルアルコール濃度の経時変化を示した。塗布 30 分において分析した全 5 組織（血液、脳、肝臓、腎臓、脂肪）においてベンジルアルコール濃度が急激に上昇し、脳と血液は特に高かった。1 時間において肝臓以外の各組織中のベンジルアルコール濃度はさらに上昇し、脳と脂肪組織は最も高く、ピークに達した。ベンジルアルコールの脳/血液濃度比は時間によって若干変動があったが、おおよそ 1.3 であり、脳における濃度が血液より高値であった。中間代謝物であるベンズアルデヒドと安息香酸はすべての組織から検出された。安息香酸は皮膚内や血中における濃度が高く、尿を含む他の組織での濃度は低かった。最終代謝物である馬尿酸も各組織から検出され、特に腎臓では濃度が高く、0.5 時間でピークに達した。尿中濃度は他の代謝物より桁違いで高く、0.5～6 時間の曝露時間内においてほぼ一定であった（データ示さず）。

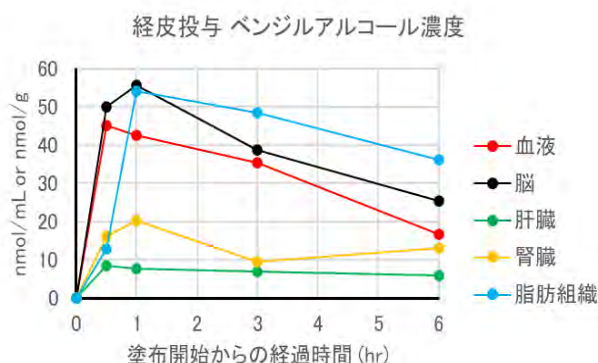


図 3. ベンジルアルコール経皮ばく露後の各組織における濃度変化。マウスの背中皮膚にベンジルアルコールを 0.5, 1, 3 時間塗布し、さらに 3 時間塗布後にも経時的に試料（組織）を採集した。脳、脂肪では 1 時間でピーク値に達した。塗布開始後 24 時間のデータや各平均値の標準偏差値は省略した。

4. 考察

化学物質の皮膚吸収性（皮膚内に化学物質が取り込まれること）は、化学物質の物理化学的特性を基にある程度推測することが可能である。皮膚吸収性に影響を与える代表的なパラメータに物質の分子量と脂溶性があり、一般的に分子量が 500 以上になると、吸収性が低くなり、また、脂溶性の指標となるオクタノール/水分配係数 ($\log K_{ow}$) が 1～4 程度の場合、吸収性が高くなると言われ

ている⁵⁾。ベンジルアルコールは分子量が 108, $\log K_{ow}$ は 1.05 であり、このような物性から、ベンジルアルコールは皮膚吸収性があることが推測される。また、皮膚に吸収された物質が、皮膚を透過し全身循環に入る可能性については（皮膚透過性の高さ）、我々がこれまでに蓄積してきた皮膚透過性のデータとベンジルアルコールの物性に基づき判断すると、ベンジルアルコールは皮膚透過性が高いであろうことが予想された。本研究では、その予想が正しいことが、3D ヒト培養皮膚、動物摘出皮膚及び実験動物の三つの評価系から実証された。まず、3D ヒト培養皮膚においては、これまでに本研究とは別途、約 30 種類の産業化学物質について、その皮膚透過性データを蓄積してきたが、その中でもベンジルアルコールの皮膚透過性の高さは最上位クラスであった。また、YMP 皮膚におけるベンジルアルコールの T 25% ex vivo (h)（添加した試料の 25%が透過した時間値）は約 6 時間であったが、これを別途我々が皮膚透過性を検証した産業化学物質と比較すると、例えば皮膚透過性が高いと言われてきたジメチルホルムアミド（日本産業衛生学会許容濃度勧告：Skin Notation あり）で T25% ex vivo (h)は約 110 時間であり、ベンジルアルコールの皮膚透過性は極めて高いことが判明した。

マウスへの皮膚塗布後にベンジルアルコールは迅速に体内に吸収されることが判明した。これは 3D 人工皮膚やブタ摘出皮膚での実験結果と一致している。さらに脳への移動は早く、脳内における濃度も血液や肝臓などよりも高いことが判明した。脳内高濃度の発生機序は、ベンジルアルコールの能動輸送は排除できないが、その物理化学的特徴 ($\log K_{ow}$ 値、など)と密接に関係していると思われる。一方で、塗膜剥離剤中毒事例では中枢神経障害の症状がよく観察されている。ベンジルアルコールばく露後の脳内における動態は中枢神経障害の発生と密接に関係する可能性があり、その詳細はさらに検討する必要がある。

ベンジルアルコールの経皮ばく露と毒性影響について考えてみる。動物摘出皮膚における化学物質の透過時間は、実際の経皮ばく露において、物質が皮膚を透過し全身循環に入るまでの時間に近いと考えられている。本研究で求めた YMP 皮膚におけるベンジルアルコールの 25%透過時間 (T25% ex vivo) は 6 時間であったが、この値はベンジルアルコールを添加した皮膚有効面積約 1.6 cm² に、ベンジルアルコール分散液が薄く行き渡った状態における値である。健康で標準的な体型の日本人成人男性（身長 170.5 cm, 体重 59.4 kg）の体表面積は約 16,850 cm² であるとする報告⁶⁾があり、例えば、体表面積の約 5%にあたる 800 cm²（両手 [手首より先] の体表面積に相当）が 1.5 g 分の剥離剤（ベンジルアルコール含有率約 35%）にばく露したと仮定すると、計算上ではあるが、数分程度でベンジルアルコールを経皮的に約 500 mg 摂取することになる。この量は毒性兆候を引き起こすベンジルアルコールの最小量に相当する可能性が高い⁷⁾。

剥離剤中毒事例の一部を日本救急医学会雑誌に 2018 年に発表した伊藤ら²⁾の見解では、当時ベンジルアルコールの皮膚透過性に関するデータが存在しなかったこともあり、剥離剤の中毒影響について、経皮ばく露による可能性は考えにくいと考察されているところであるが、本研究で新たに得られた結果から判断すると、ベンジルアルコールの皮膚透過性は極めて高いものであり、また脳などの組織への移動が非常に早く、現時点では実現場におけるばく露量は不明なものの、ベンジルアルコールの経皮ばく露によって急性毒性影響が生じた可能性は十分にあると考えられる。現場事業者においては、皮膚透過性が高い物質を扱っているという意識を持つと同時に、経皮ばく露に対する徹底した防護措置が必須であると考えられる。

参 考 文 献

- 1) 厚生労働省労働基準局安全衛生部化学物質対策課(2020), 基安化発 0817 第 1 号: 剥離剤を使用した塗料の剥離作業における労働災害防止について, 令和 2 年 8 月 17 日. <https://www.mhlw.go.jp/hourei/doc/tsuchi/T200917K0010.pdf>.
- 2) 伊藤史生, 山田栄里, 糟谷美由紀, 高橋 攻, 大江恭司, 奈女良 昭 (2018), 塗膜剥離剤の吸入により急性ベンジルアルコール中毒を来した 1 例. 日救急医学会誌. 29, 254-259.
- 3) Hartwig A, MAK Commission (2018), Benzyl alcohol: MAK Value Documentation 2017. DOI: 10.1002/3527600418.mb10051kske6318.
- 4) 豊岡達士, 柏木裕呂樹, 柳場由絵, 馬場本絵未, 後藤裕子, 祁 永剛, 王 瑞生, 甲田茂樹 (2022), 産業化学物質の皮膚吸収性等と物理化学的特徴の関係に関する検討, 第 95 回日本産業衛生学会, Vol.64, 臨時増刊号, p.479.
- 5) 押坂勇志, 藤堂浩明, 杉林堅次 (2012), 皮膚に浸透する物質の物理化学的パラメータを用いた有効性・安全性評価. 薬学雑誌, 132, 1237-1243.
- 6) 蔵澄美仁ら (1994), 日本人の体表面に関する研究. Jpn. J. Biometeor. 31 (1):5-29.
- 7) JOALAS Journal of Allergy. (St. Louis, MO) V.1-47, 1929-71. <https://www.drugfuture.com/toxic/q25-q514.html>