

試験報告書

試験番号：N15056-2

表題：テラヘルツのウサギにおける眼刺激性試験

試験結果報告日

2015年03月27日

試験施設の名称および所在地

株式会社 薬物安全性試験センター・吉見研究所

〒355-0166 埼玉県比企郡吉見町黒岩 25-1

1. 表 題

テラヘルツのウサギにおける眼刺激性試験

2. 試験番号

N15056-2

3. 参考ガイドライン

本試験は、「化粧品・医薬部外品製造販売ガイドブック 2011-12」および「化粧品の安全性評価に関する指針 2008」に従って実施した。

4. 試験委託者の名称および所在地

名称： 株式会社 Santa Mineral

所在地： 東京都千代田区三崎町 3-7-12 清話会ビル（〒101-0061）

委託責任者： 太西 るみ子

5. 試験施設の名称および所在地

名称： 株式会社 薬物安全性試験センター・吉見研究所

所在地： 埼玉県比企郡吉見町黒岩 25-1（〒355-0166）

運営管理者： 高橋 寛人

6. 試験責任者の氏名および所属

氏名： 篠田 伸介

所属： 株式会社 薬物安全性試験センター・吉見研究所 第三験室

7. 試験期間

投与日： 2015年03月09日

最終判定日： 2015年03月13日

8. 試験資料の保存

試験報告書作成後3年間とする。保存期間満了後は試験委託者に連絡の上、廃棄とする。

9. 動物の適正使用について

動物の飼育、取り扱いおよび安楽致死は、「動物の愛護及び管理に関する法律」（昭和48年10月1日 法律第105号 最終改正 平成23年8月30日）、「動物の殺処分方法に関する指針」（平成7年7月4日総理府告示第40号 一部改正 平成12年12月1日環境省告示第59号、平成19年11月12日環境省告示第105号）ならびに「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」（平成18年4月28日 環境省告示第88号）および「株式会社薬物安全性試験センター 動物実験倫理規定」（平成20年9月1日、一部改正 平成26年1月6日）に従い、適正に実施した（DSTC 動物実験倫理委員会承認番号: IACUCN15056-2）。

本試験は下記の者の責任において実施されたものであり、本報告書は、その結果を正しく記載したものである。

試験責任者: 篠田伸介

2015年3月27日

I. 要 約

テラヘルツの眼刺激性について検討した。

試験動物として日本白色種ウサギの雌を用い、非洗眼群 3 匹を設けた。

被験物質は液体であり、原液を投与試料とした。

投与試料 0.1 mL を右下眼瞼囊に投与し、上下まぶたを合わせてよく接触させそのまま放置した。刺激性反応の観察は投与 1、3、6、24、48、72 および 96 時間に Draize の判定基準に基づいて行った。

その結果、いずれの観察時においても刺激性反応はみられず、急性眼刺激指数の最大 (I.A.O.I.) は 0 であった。試験期間中、一般状態に異常はみられず、体重も順調な増加量を示した。

以上の結果より、本被験物質の眼刺激評価区分は無刺激 (クラス 0) であった。

Ⅱ. 試験目的

テラヘルツの眼刺激性についてウサギを用いて検討し、安全性を評価した。

Ⅲ. 試験材料および方法

1. 被験物質および試験材料

1) 被験物質

名称： テラヘルツ
別名： テラ・プロテクト（商品名）、500mL、仕様 CA-C-717
性状： 無色透明液体
保管条件： 室温

2) 試験材料（角膜剥離確認用）

- (1) フルオレセインナトリウム（和光一級、和光純薬工業㈱、Lot No. STQ5522）
- (2) 注射用水（日本薬局方、大塚製薬工場㈱、Lot No. K4D76）

2. 試験系

1) 種、系統および微生物学的統御レベル

ウサギ、日本白色種（Kbs：JW）、Healthy

2) 入荷時週齢（体重範囲）、性別および動物数

10 週齢（2.20～2.42 kg）、雌 3 匹

3) 供給源

北山ラベス株式会社 伊那生産場（長野県伊那市手良野口 2185-1）

4) 試験系選択理由

眼刺激性試験に多く使用されているため。

5) 識別方法

油性インキを用いてウサギ耳介内側に直接記入した。なお、検疫および馴化期間中は左側に管理番号、試験実施期間中は右側に動物番号を記入した。また、各ケージには識別ラベルを貼付した。

6) 検疫・馴化

検疫・馴化期間： 7 日間
一般状態： 1 日 1 回観察
体重測定： 動物入荷日、入荷翌日および検疫終了日に行った。

7) 投与開始時週齢

11 週齢

8) 飼育環境

飼育室名： 2号棟2号室

温度： 設定値 23°C（許容範囲：20.0～26.0°C）

相対湿度： 設定値 50%（許容範囲：30.0～70.0%）

換気回数： 12回／時間

照明： 12時間（6:00～18:00）／日

ケージ： アルミ製ケージ（W350×D550×H350 mm、(株)夏目製作所）

架台： ステンレス製自動水洗架台（(株)夏目製作所）

給餌器： バスケット型ステンレス製給餌器

収容： 1ケージに1匹ずつ収容した。

飼料： 固型飼料ラボ RG-RO（日本農産工業(株)）を 150 g/day の制限給餌とした。

飲水： 町営水道水を 5 μm カートリッジフィルターに通過させたものを自動給水装置により自由に摂取させた。

9) 飼料の分析

日本農産工業(株)が一般財団法人東京顕微鏡院 食と環境の科学センターに委託して分析した結果（年3回）を入手し、適正なものであることを確認した。

10) 飲水の分析

社団法人埼玉県環境検査研究協会に依頼し、水道法水質基準（1回／年）および浄水水質検査（1回／月）を行い、適正なものであることを確認した。

11) 清掃および消毒

飼育室は両性界面活性型殺菌消毒剤を用いて、休日を除く毎日清掃および消毒した。

3. 試験方法

1) 群構成および動物数（動物番号）

非洗眼群：3匹（動物番号1、2、3）

2) 投与濃度の設定理由

被験物質そのものの刺激性を確認するために原液とした。

3) 投与試料の調製法

被験物質の原液を、そのまま投与試料として試験に供した。

4) 投与方法

右下眼瞼結膜嚢に、投与試料を 0.1 mL 投与し、上下まぶたを約 1 秒間合わせてよく接触させ、そのまま放置した。

5) 判定方法

投与 1、3、6、24、48、72 および 96 時間に Draize の判定基準に基づいて判定を行い、急性眼刺激指数を求め、その最大値 (I.A.O.I.) から下記に示した KAY&CALANDRA の眼刺激評価基準¹⁾により、刺激性を評価した。24 時間後に 2%フルオレセインナトリウム水溶液を 1 滴投与し、10 秒後に約 100 mL の微温水で洗眼後、剥離部の面積を角膜混濁と同じ基準で判定した。

6) 判定基準

下記に示した Draize 法の判定基準に基づいて行った。

部位	眼反応の程度	評点
1.角膜	(A)混濁の程度（最も濃い領域を判定する）	
	透明、混濁なし	0
	散在性および慢性の混濁、虹彩ははっきり認める	1
	半透明で容易に識別可能、虹彩はやや不明瞭	2
	乳濁、虹彩紋理認めず、瞳孔の大きさをやと認める	3
	白濁、虹彩は認めない	4
	(B)該当する角膜混濁部の面積（S）	
	$0 < S \leq 1/4$	1
	$1/4 < S \leq 1/2$	2
	$1/2 < S \leq 3/4$	3
	$3/4 < S \leq 4/4$	4
2.虹彩	(C)正常	0
	正常以上のひだ、うっ血、腫脹、角膜周囲充血 （いずれか1つ、または組合せ）、多少とも対光反射あり	1
	対光反応なし、出血、著しい組織崩壊（いずれか1つ）	2
3.結膜	(D)結膜の発赤（眼瞼結膜および眼球結膜）	
	血管は正常	0
	正常より明らかに血管は充血	1
	び慢性、深紅色で個々の血管は識別しにくい	2
	び慢性の牛肉様の赤色	3
	(E)結膜の浮腫	
	腫脹なし	0
	正常よりいく分腫脹（瞬膜を含む）	1
	明らかな腫脹、眼瞼が少し外反	2
	腫脹、眼瞼が半分閉じる	3
	腫脹、眼瞼が半分以上閉じる	4
	(F)分泌物	
	分泌物認められない	0
	正常より少し多い	1
	分泌物があり、眼瞼とそのすぐ近くの毛を濡らしている	2
	分泌物があり、眼瞼と毛の周囲のかなりの部分 を濡らしている	3

$$\text{合計評点} = A \times B \times 5 + C \times 5 + (D + E + F) \times 2$$

7) 評価方法

判定時間ごとに個々の動物に対する合計評点を算出し、その平均(急性眼刺激指数)を求めた。急性眼刺激指数の最大値 (I.A.O.I.)から下記に示した KAY & CALANDRA の眼刺激評価基準により刺激性を評価した。

<KAY & CALANDRA の眼刺激評価基準>

最大平均値	スコアの持続性	評価区分	クラス
0 以上 0.5 未満	・ 平均値 24hours=0	無刺激	0
	・ 平均値 24hours>0	實際上無刺激	1
0.5 以上 2.5 未満	・ 平均値 24hours=0	實際上無刺激	1
	・ 平均値 24hours>0	最小の刺激	2
2.5 以上 15 未満	・ 平均値 48hours=0	最小の刺激	2
	・ 平均値 48hours>0	軽度の刺激	3
15 以上 25 未満	・ 平均値 96hours=0	軽度の刺激	3
	・ 平均値 96hours>0	中等度の刺激	4
25 以上 50 未満 (平均値が 7 日目に 20 以下で)			
	・ 半数より多くの個体が 7 日目に 10 以下	中等度の刺激	4
	・ 半数より多くの個体が 7 日目に 10 より大きい いが 7 日目に 30 をこえる個体はなし	中等度の刺激	4
	・ 半数より多くの個体が 7 日目に 10 より大きく、 かついずれかの個体が 30 をこえる	強度の刺激	5
	・ 平均値が 7 日目で 20 をこえる	強度の刺激	5
50 以上 80 未満 (平均値が 7 日目に 40 以下で)			
	・ 半数より多くの個体が 7 日目に 30 以下	強度の刺激	5
	・ 半数より多くの個体が 7 日目に 30 より大きい いが 7 日目に 60 をこえる個体はなし	強度の刺激	5
	・ 半数より多くの個体が 7 日目に 30 より大きく、 かついずれかの個体が 60 をこえる	きわめて強度の刺激	6
	・ 平均値が 7 日目で 40 をこえる	きわめて強度の刺激	6
80 以上 100 未満 (平均値が 7 日目に 80 以下で)			
	・ 半数より多くの個体が 7 日目に 60 以下	きわめて強度の刺激	6
	・ 半数より多くの個体が 7 日目に 60 より大きい いが 7 日目に 100 をこえる個体はなし	きわめて強度の刺激	6
	・ 半数より多くの個体が 7 日目に 60 より大きく、 かついずれかの個体が 100 をこえる	最大の刺激	7
	・ 平均値が 7 日目で 80 をこえる	最大の刺激	7
100 以上 110 以下			
	・ 平均値が 7 日目で 80 以下	きわめて強度の刺激	6
	・ 平均値が 7 日目で 80 をこえ、半数より多くの 個体が 7 日目に 60 以下	きわめて強度の刺激	6
	・ 平均値が 7 日目で 80 をこえ、半数より多くの 個体が 7 日目に 60 より大きい	最大の刺激	7

8) 一般状態の観察および体重測定

試験期間中の一般状態を毎日1回確認した。また、体重測定は投与日と最終判定日に行った。

9) 実験終了後の動物処理

麻酔剤（ペントバルビタールナトリウム）の過剰投与により安楽殺した。

IV. 試験結果および結論

1. 眼所見

刺激性評点の集計を表1、個体別を表2に示した。また、投与1時間後の反応を写真1に示した。いずれの観察時においても刺激性反応はみられず、I.A.O.I.は0であった。

2. 体重および一般状態

試験結果を表3に示した。

観察期間中の一般状態に異常はみられず、体重も順調な増加がみられた。

V. 考察および結論

試験動物として日本白色種ウサギの雌を用い、非洗眼群3匹を設けた。

被験物質は液体であり、原液を投与試料とした。

投与試料0.1 mLを右下眼瞼嚢に投与し、刺激性反応の観察は投与1、3、6、24、48、72および96時間に Draize の判定基準に基づいて行った。

その結果、いずれの観察時においても刺激性反応はみられず、I.A.O.I.は0であった。試験期間中、一般状態に異常はみられず、体重も順調な増加量を示した。

以上の結果より、本被験物質の眼刺激評価区分は無刺激（クラス0）であった。

< 参考文献 >

- 1) J.H.Kay and J.C.Calandra : Interpretation of Eye Irritation Tests, Journal of The Society of Cosmetic Chemists, 13, 281-289,(1962).

表1 テラヘルツ 0.1 mL投与、非洗眼の刺激性評点 (集計)

動物番号	判 定 時 間						
	1	3	6	24	48	72	96
1	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0
平均	0	0	0	0	0	0	0
I.A.O.I.	0						

表2 テラヘルツ 0.1 mL投与、非洗眼の刺激性評点 (個別別)

動物番号 性	判定項目	判 定 時 間						
		1	3	6	24	48	72	96
1 雌	角膜 (A) 混濁度	0	0	0	0	0	0	0
	(B) 混濁部面積	0	0	0	0	0	0	0
	剥離部面積	-	-	-	0	-	-	-
	虹彩 (C)	0	0	0	0	0	0	0
	結膜 (D) 発赤	0	0	0	0	0	0	0
	(E) 浮腫	0	0	0	0	0	0	0
(F) 分泌物	0	0	0	0	0	0	0	
2 雌	角膜 (A) 混濁度	0	0	0	0	0	0	0
	(B) 混濁部面積	0	0	0	0	0	0	0
	剥離部面積	-	-	-	0	-	-	-
	虹彩 (C)	0	0	0	0	0	0	0
	結膜 (D) 発赤	0	0	0	0	0	0	0
	(E) 浮腫	0	0	0	0	0	0	0
(F) 分泌物	0	0	0	0	0	0	0	
3 雌	角膜 (A) 混濁度	0	0	0	0	0	0	0
	(B) 混濁部面積	0	0	0	0	0	0	0
	剥離部面積	-	-	-	0	-	-	-
	虹彩 (C)	0	0	0	0	0	0	0
	結膜 (D) 発赤	0	0	0	0	0	0	0
	(E) 浮腫	0	0	0	0	0	0	0
(F) 分泌物	0	0	0	0	0	0	0	

-: 判定せず

表3 体重および一般状態

動物番号	体重 (kg)		一般状態				
	投与日	最終判定日 (4日後)	投与日	1日後	2日後	3日後	4日後
1	2.61	2.71	-	-	-	-	-
2	2.59	2.65	-	-	-	-	-
3	2.52	2.61	-	-	-	-	-

-: 異常なし

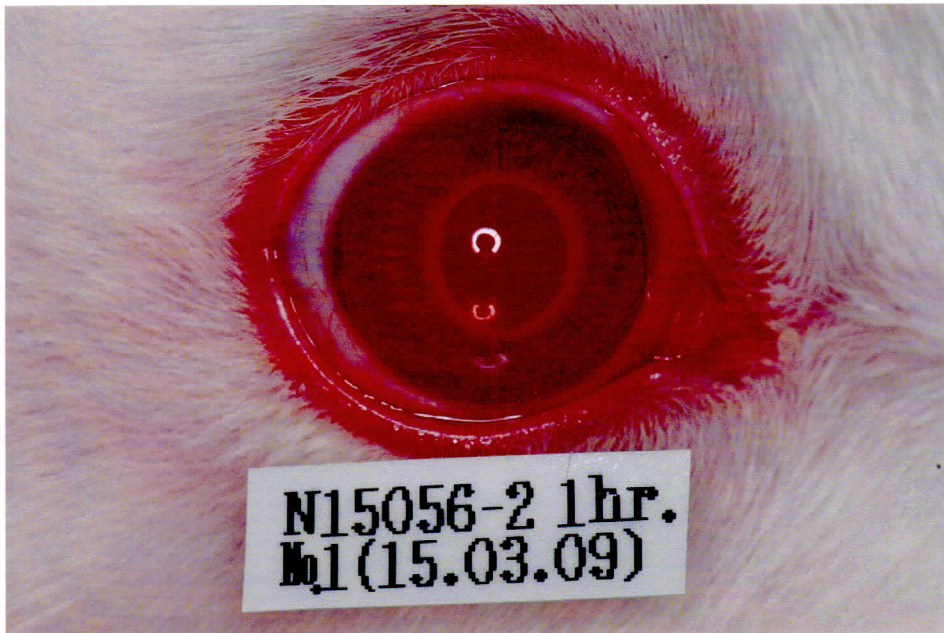


写真1 非洗眼群 動物番号1 投与1時間後
角膜混濁：0 角膜面積：0 虹彩：0
結膜発赤：0 結膜浮腫：0 分泌物：0