

分担研究報告書

水道における化学物質の毒性、挙動及び低減化に関する研究
—— 毒性情報が不足している物質の毒性試験に係る文献調査及び評価 ——
(毒性情報が不足している物質の毒性評価に係わる文献調査)

主任研究者 眞柄 泰基 北海道大学大学院工学研究科 教授

分担研究者 長谷川 隆一 国立医薬品食品衛生研究所 総合評価研究室長

研究要旨 WHO 飲料水ガイドラインの原案作成の内、日本が担当となった 3 物質について、その健康影響およびガイドライン値部分の原案を作成した。1,4-ジオキサンは遺伝毒性が弱いものの、多臓器発がん性を示すことから、線形多段階モデル法および TDI 法の両者を用いて値を誘導し、両者の値は 54 および 48 $\mu\text{g}/\text{L}$ となり、近似した値であることから、それらを丸めた 50 $\mu\text{g}/\text{L}$ がガイドライン値としては適切であると結論した。エピクロロヒドリンは遺伝毒性があり、発がん性も認められているが、発がんはその最初の曝露部位で生じ、実際には組織障害性に基づく発がんと考えられることから、TDI 法を用いてガイドライン値を誘導し 0.4 $\mu\text{g}/\text{L}$ となった。ヘキサクロロブタジエンは遺伝毒性について結論は出ていないが、腎臓にのみ腫瘍が発現する。また、生殖毒性試験では低用量から母毒性が認められている。そこで、これらの毒性指標に基づいて TDI 法でガイドライン値を誘導するといずれも 6 $\mu\text{g}/\text{L}$ となった。なお、1,4-ジオキサンは今回初めてガイドライン値案作成の対象となった物質、エピクロロヒドリンは新規に根拠となるデータはなく前回と同じガイドライン値、ヘキサクロロブタジエンも新規に根拠となるデータはないもののガイドライン誘導法を変更したため、前回より 10 倍高い値となった。

A. 研究目的

本研究では WHO 飲料水ガイドラインの大幅見直しの一環として日本が原案作成を担当することになった 3 物質、1,4-ジオキサン、エピクロロヒドリンおよびヘキサクロロブタジエンについての毒性情報を調査し、その結果に基づいてガイドライン値の提案を行うためのドキュメントを作成する。

B. 研究方法

本研究を実施するため、広瀬明彦、西川秋

佳、江馬眞、紅林秀雄、小川幸男、山田雅巳の研究協力者とともに関連する毒性情報を収集評価し、提案ガイドラインを設定すると共に、WHO に提出用の文書を英文で作成する。

C. 研究結果

1,4-ジオキサン

吸収・分布・代謝・排泄は比較的迅速である。経口 LD_{50} はげっ歯類で 2,000 mg/kg 以上であり、致死量レベルでの主な毒性発現として、昏睡などの中枢神経系の抑制、胃、肺、肝および腎に

病変が認められる。短期毒性としては肝および腎の細胞変性などが観察され、長期毒性では腎尿細管上皮と肝細胞変性および肝細胞壊死が観察されている。生殖・発生毒性は胎児体重の低下および胸骨分節の化骨遅延が観察された。変異原性は代謝活性化の有無に関わらず、大腸菌の修復系を誘導することなく、サルモネラ菌やマウスリンフォーマ細胞で変異原性を示さなかったが、代謝活性化を受けない状態で CHO 細胞において、姉妹染色体交換のわずかな増加が観察された。発がん性に関しては肝細胞性腫瘍(腺腫および癌)の増加、腹膜中皮腫、皮下線維腫、乳腺線維腺腫、鼻腔腫瘍などの発生が増加した。人への影響としては、高濃度の吸入あるいは経皮曝露により、粘膜刺激や肝臓および腎臓障害を引き起こすが、低濃度に 1 ヶ月から 20 年以上に亘って職業曝露されると推定される 2 つのコホート研究では、1,4-ジオキサン曝露と臨床症状やがんの発生率、死亡率に相関関係は認められていない。

以上の情報に基づいて、1,4-ジオキサンは遺伝毒性が弱いものの、多臓器発がん性を示すことから、線形多段階モデル法および TDI 法の両者を用いて値を誘導した。その結果、両者の値は 54 および 48 ug/L となり、近似した値であることから、それらを丸めた 50 ug/L がガイドライン値としては適切であると結論した。

エピクロロヒドリン

消化管、皮膚および肺から容易に吸収されるが、血中からの減少も速い。その代謝物は主に alpha-chlorohydrin であるが、グルタチオン抱合体ともなり、これが加水分解されシステイン抱合体となり、更に N-アセチル化されたメルカプツール酸等として尿中排泄される。急性曝露により強刺激性を示し、感作性もある。ラットおよびマウスの経口による LD₅₀ は 90 から 260 mg/kg で、死因は中枢神経系への影響による。10 日から 12 週間の経口投与では成長抑制と高

死亡率、腎臓と肝臓重量増加、赤血球数減少、前胃の粘膜増殖と過角化症が見られる。長期毒性としては経口投与では、主に前胃の過形成症が、吸入曝露では鼻腔の激しい炎症性変化、肺の充血と肺炎、腎臓の尿細管の拡張と用量依存的な変性が観察された。生殖・発生毒性としては、雄ラットで精巣毒性が認められているが、雌ラット及びウサギへの影響は見られていない。妊娠動物への強制経口投与では、ラットおよびマウスに母体毒性が、またマウスの胎児体重低下が認められた。変異原性は数種類の細菌に対して代謝活性化されずに変異原性を示す。発がん性としては、飲水投与で前胃腫瘍(乳頭腫および癌)および前胃上皮過形成がみられ、吸入曝露で鼻腔腫瘍(乳頭腫および扁平上皮癌)が発生し、皮下投与で投与局所の肉腫および腺癌が発生した。人への影響としては、曝露局所の刺激性が認められ、吐き気や頭痛などの症状も引き起こすことが知られている。ケーススタディによる調査では、曝露 2 年後まで肝臓や腎臓への障害が残っていることが、報告されている。生殖毒性に関する職業曝露による疫学調査では、曝露による精子や性ホルモンレベルに対する影響は認められていない。

以上の結果、エピクロロヒドリンは遺伝子障害性があり、発がん性も認められているが、発がんはその最初の曝露部位で生じることから、実際には組織障害性に基づく発がんと考えられた。そこで、TDI 法を用いてガイドライン値を誘導すると 0.4 ug/L となる。しかし、用いた不確実係数が 10,000 であること、実務的な定量限界は 30 ug/L のオーダーであることから、ガイドライン値は暫定値とした。

ヘキサクロロブタジエン

消化管から比較的容易に吸収され、肝臓でグルタチオン抱合体となり、胆汁排泄されるが、多くは再吸収され、腸肝循環をしながら糞中排泄される。グルタチオン抱合体は加水分解され

システイン抱合体となり、さらにN-アセチル化されたメルカプツール酸等となり、尿中排泄される。経口 LD₅₀ はラットの雌で 200 ~ 667 mg/kg である。経口および腹腔内投与により腎臓の相対重量の増加、血液尿素窒素の増加、腎尿細管の壊死、尿浸透圧の減少、体重の減少、またラットは雄のみに肝臓に小葉中心性病変が認められた。ラットの 13 週間強制経口投与では、腎近位尿細管の変性、肝臓重量増加、肝実質細胞の細胞質好塩基性の増加が観察された。ラットの 2 年間経口投与では、腎尿細管の過形成と局所の腺腫様の増殖が観察された。生殖・発生毒性としては、不妊、胎児体重低下が認められている。変異原性はサルモネラ菌を用いた復帰突然変異試験では代謝活性化を受けて変異原性を示したが、変異原性を示さない菌株もあった。CHO 細胞では代謝活性化の有無に関わらず、姉妹染色体交換の頻度が上昇したが、染色体異常は誘発されなかった。予測される代謝物は変異原性を示した。発がん性はラットへの 2 年間の混餌投与で、腎尿細管腫瘍（腺腫および腺癌）が発生し、飲水投与で腎発がんの促進も認められた。人への影響としては、間欠的に 4 年間曝露された農業従事者の調査では、高血圧や心筋疾患、神経系疾患、肝臓疾患などの高い発症率が報告されているが、この調査では、ヘキサクロロブタジエン以外の化合物曝露も同様に受けているため、ヘキサクロロブタジエン曝露と各種症状との因果関係は不明である。その他の予備的な調査では、ヘキサクロロブタジエン曝露と胆汁酸の増加に因果関係が認められている。また、ヘキサクロロブタジエン生産従事者の末梢血では、染色体異常の発生頻度の増加が認められているが、従事期間との間には相関関係は認められていない。

以上の結果、ヘキサクロロブタジエンは遺伝毒性について結論は出ていないが、腎臓にのみ腫瘍が発現する。また、生殖毒性試験では低用量から母毒性が認められている。そこで、これ

らの毒性指標に基づいて TDI 法でガイドライン値を誘導するといずれも 6 ug/L となった。

D. 考察

前回の WHO ガイドライン値決定の際に、発がん性物質に TDI 法を適用する場合は、不確実係数の 10 を、反復投与毒性で如何なる毒性も見られない NAOEL に対して用いられていた。しかし、JECFA、JMPR、その他の国際評価委員会等では TDI 等の基準値を算出する際に、発がんの危険性を考慮した不確実係数 10 は、腫瘍性病変に基づいた NOAEL に適用されている。そこで、今回の TDI 誘導に際しても、現在一般に用いられている後者の方法で行った。

このガイドライン値誘導法が受け入れられるのであれば、他の汚染化学物質の評価法とも統一する必要がある。もし、受け入れられないのであれば、非腫瘍性病変の NOAEL に発がんの危険性を考慮した不確実係数 10 を適用して、ジオキサンの場合は新たな TDI 9.6 ug/kg/day から 30 ug/L、ヘキサクロロブタジエンの場合は 0.6 ug/L となる。

E. 結論

ガイドライン値として、ジオキサンでは 50 ug/L、エピクロロヒドリンでは 0.4 ug/L およびヘキサクロロブタジエンでは 6 ug/L を提案する。

F. 研究発表

広瀬明彦、鎌田栄一、西川秋佳、紅林秀雄、江馬眞、安藤正典、黒川雄二、長谷川隆一 (2001) ホルムアルデヒドの経口および吸入曝露による毒性と水道水における安全性の評価。水環境学会誌, 印刷中。

分担研究報告書

水道における化学物質の毒性、挙動及び低減化に関する研究
—— 浄水処理における除去・生成機構の理論的解明に関する研究 ——
(消毒副生成物と病原微生物による健康リスクの管理手法に関する研究)

主任研究者 眞柄 泰基 北海道大学大学院工学研究科 教授
分担研究者 国包 章一 国立公衆衛生院 水道工学部 部長
分担研究者 相澤 貴子 国立公衆衛生院 水道工学部 水質管理室長
分担研究者 安藤 正典 国立医薬品食品衛生研究所 環境衛生化学部 部長
分担研究者 西村 哲治 国立医薬品食品衛生研究所 環境衛生化学部 第三室長
分担研究者 小泉 清 横浜市水道局水質試験所 所長
分担研究者 伊藤 禎彦 京都大学大学院工学研究科 助教授

研究要旨 病原性微生物による健康リスクと消毒副生成物による健康リスクを中心に、水道のリスク管理に関する検討を行う目的で、次の4項目に関する情報収集を行った：(1) 水道水質に関わる健康リスクの類型化、(2) 病原性微生物における健康リスク評価・管理、(3) 消毒副生成物を中心とした有害化学物質の健康リスク評価・管理、(4) 水道水に起因する健康リスクを統合的に管理するための検討の枠組み。情報収集の結果、リスク評価における課題として、有害化学物質のリスク評価手法と比較して病原性微生物のリスク評価手法が十分に確立していないことが挙げられた。病原性微生物のリスク管理に関しては、許容できるリスクの大きさに関する検討や小規模水道施設に関する配慮などが課題である。また、浄水処理だけではなく、水道に関わる全てのシステムのリスク管理は重要な課題である。この管理には HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Point)の手法が導入できる可能性がある。最後に、病原性微生物と消毒副生成物といった特徴の大きく異なる種類のリスク管理を総合的に行う枠組みとして、QOL(生命の質)を考慮した共通の endpoint(影響判定点)を用いてリスク評価・管理を行うという提案や、既存の技術の組み合わせや水道水源管理などによって両方のリスクを効率的に低減することができる可能性についての提案がなされた。

A. 研究目的

水道水質に関する多種多様なリスクの中でも、病原性微生物による健康リスクと消毒副生成物による健康リスクを中心に、水道水のリスク管理に関する検討を行う。消毒作用によりリスクを低減するという性質を持つ微生物リス

クと、消毒を行うことにより生成する消毒副生成物のリスクをそれぞれ評価し、これら性質の異なる2種のリスクを総合的に低減させる管理手法や浄水システムに関する検討を行う。

B. 研究方法

大学・研究所・水道事業体などの研究協力者を含めた分科会を作成し、各研究協力者がそれぞれ水道水のリスク管理に関する知見や見解などについて報告を行った。なお、今年度においては、リスク管理手法に関する分科会全体での提案などは行わず、各研究協力者からの情報を収集することを研究方法の重点においた。

C. 研究結果

各研究協力者の報告内容は、次に述べる4つの種類に分類できる：(1) 水道水質に関わる健康リスクの類型化、(2) 病原性微生物における健康リスク評価・管理、(3) 消毒副生成物を中心とした有害化学物質の健康リスク評価・管理、(4) 水道水に起因する健康リスクを統合的に管理するための検討の枠組み。以下に、各分類における代表的な意見や見解をまとめる。

(1) 水道水質に関わる健康リスクの類型化については、頻度・確実性・原因という3つの側面から類型化することができる。まず、頻度の観点からは突発性の高いリスクと恒常性の高いリスクとがある。水質事故は突発性が高く、恒常性の高いリスクとしては未規制の有害化学物質や病原微生物、あるいは発がん性のある有害化学物質による汚染が考えられる。次に、確実性の観点からは、集団感染や公害のように明らかに多くの被害が起こるような確定的(Deterministic)な事象と、微量化学物質による発がんリスクのように潜在的かつ低い確率で起こる確率的(Stochastic)な事象に分類できる。3つ目として、原因別に考えると水道システムの不全に起因する内因性のリスクと不可抗力的な環境変化(水道原水の水質悪化など)による外因性のリスクとに分類できる。以上の分類を基に考えると、微生物リスクについては突発性が高く確定的な事象である場合が多く、消毒副生成物のリスクについては、恒常性が高く確率的な事象である場合が多い。リスク管理の難しさという観点からみると、微生物

リスクの方がより大きな問題を持っていることが示唆される。

(2) 病原性微生物における健康リスク評価・管理に関しては、クリプトスポリジウム感染のリスクの計算手法に関する報告があった。相模川水系でのクリプトスポリジウム濃度調査結果、降水量分布などを基にモンテカルロシミュレーションにより当水系における年間感染リスクは平均値で 10^{-4} 程度、95%値においては $10^{-2.7}$ 程度になることが計算された。この計算において、浄水20L中にクリプトスポリジウムが1つでも検出された場合に給水を停止するという対応をとると、リスクの95%値において $10^{-3.7}$ 程度までリスクの低減が可能であると計算された。一方、横浜市の例として、クリプトスポリジウムが浄水に混入したことにより全市の水道水が完全に断水した場合の被害総額は1日あたり79億4000万円であるとの計算も報告された。USEPAのグループは水道水の飲用による許容感染リスクとして 10^{-4} を提案しているが、クリプトスポリジウム感染による死亡率が他の病原微生物と比較してきわめて低いことを考えると、この 10^{-4} という許容感染リスクの値が小さすぎるかもしれない。また、微生物は化学物質とは異なり加熱によって死滅することから、現在一般的に使用される飲用水量2L/day/人という値をそのままリスク評価に適用することにも問題がある。

(3) 消毒副生成物を中心とした化学物質の健康リスク評価・管理に関しては、水道統計の90%値あるいは文献等の値を用いて、水道水中の消毒副生成物の発がんリスクおよびADI比を推定した報告があった。報告において、消毒副生成物の中でトリハロメタン類よりハロ酢酸(ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸)の方が発がんリスクが高く見積もられており、ハロ酢酸の制御の方が厳しい対応を迫られていることが示された。また、臭素酸は発がん係数が大きく、国内の実施設における臭素酸濃度でも、 1×10^{-5} を大きく超過する値となっていること

も示された。

(4) 水道水に起因する健康リスクを統合的に管理するための検討の枠組みに関連して、USEPA が用いている QALY (Quality Adjusted Life Year) という尺度についての報告があった。QALY とは、一定期間ごとに 0 から 1 までのウェイトを与えた健康結果の尺度であり、QOL (生命の質) を考慮したリスク評価の尺度と考えることができる。EPA の実施した検討では、方策として (a) 従来型の浄水処理 (凝集+沈殿+砂ろ過+塩素処理) にオゾン処理を付加する方策と (b) AIDs のサブグループに対して給水栓にフィルターを取り付ける方策の 2 つが比較検討されており、費用-便益分析の結果、(a) \$1,532/QALY、(b) \$152/QALY となり、方策 (b) の優位性が示されている。また、浄水システムの技術的な対応として、オゾン処理+粒状活性炭などの高度処理を導入することにより、クリプトスポリジウムを 7-log 程度除去でき、AOC (同化性有機炭素) については従来処理よりも 30% 程度減少できるという報告があった。ただし、現時点においては、オゾン処理による臭素酸生成によって有害化学物質リスクが幾分増加するという傾向がみられる。このことに関しては、上述のような尺度を用いてリスクを比較・管理するという手法も考えられるが、今後の技術改良により、病原性微生物リスクも臭素酸によるリスクも同時に削減することができる可能性もある。

D. 考察

各研究協力者の報告において、まず有害化学物質のリスク評価と比較して病原性微生物のリスク評価の手法が十分に開発されていないことが課題として挙げられる。飲水量の議論に加えて、適切な endpoint (影響判定点) の設定・リスク評価の対象グループをどのように設定するか (免疫不全者のようなサブpopulation への配慮など) に関する議論、低用量域における dose-response モデルの信頼性が低

いことなどは、今後のリスク評価手法の検討において解決しなければならない問題である。さらには、リスク評価に供するための情報が存在しない、あるいは情報が共有されていないという問題もあり、リスク評価に必要なデータベースの構築、また情報公開や情報を共有する (Risk communication) ための社会環境の整備も重要である。

次に、水道における病原微生物のリスク管理については次のようなことが課題として挙げられる。まず、代表的な病原微生物で水道水においてリスクが存在するものに関しては、許容できるリスクの大きさについて検討する必要がある。また、これまでに水道を原因として発生した感染症の集団発生の多くは簡易水道や専用水道などの小規模水道や受水槽などで起こっていることから、小規模施設に対するリスク管理への配慮が重要である。さらには、浄水処理だけではなく、水源・処理・送配水・給水過程における事象を分析し、リスクの同定から管理までを統合的に実施することが必要である。このシステム管理に HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Point) の手法を導入することが活発に論議されている。HACCP の概念は全行程において危害に結びつく可能性をすべて系統的に制御することである。すなわち、リスク評価の手続きにより危害の所在、発生確率および社会に与える影響を評価し (Hazard Analysis)、原料と最終産物の取り扱いを含めた全工程に関する詳細な情報から監視すべきプロセスを決定し (Critical Control Point)、各々の Critical Control Point において危害を排除、予防あるいは許容範囲内におさめるために制御されなければならないパラメータの最大または最小値を定め (Critical Limit)、その監視と制御を行うことで最終産物 (水道水) の安全を保障しようとするシステムである。

また、塩素耐性を持つ原虫汚染により水道水の微生物学的な安全性確保に向けて新たな対

応が求められるところとなったわけであるが、今後とも新たな病原体(変異体)の出現により、その都度監視項目と防除に関する研究が必要となる。水道水汚染の監視と防除に関する研究の重要性は指摘するまでもないが、個別の病原体に対しその都度監視項目に追加していくことは非効率的といえる。クリプトスポリジウムの出現を契機として、今後に向けた病原体と浄水処理における対処法に関してあらたに病原体の分類とその特徴・処理方法が提案されている。

第3に、消毒副生成物のリスク管理に関しては、現在においては、それぞれの物質の濃度に対してリスクを評価しているが、バイオアッセイによる総合的な毒性評価やMXなどの特徴的な物質を用いて消毒副生成物全体のリスク評価・管理を行う手法についても提案されている。

最後に、病原性微生物と消毒副生成物のリスクを統合的に管理する手法に関しては、1つの方法としてQALYを尺度とした評価のように発がんリスクも感染症によるリスクも共通のものさしによって評価することにより、管理する方法が挙げられる。一方、水源をより清浄な所に求める、あるいは、新しい消毒システムの開発や現存のプロセスを組み合わせることにより、消毒副生成物と病原性微生物のリスクを両方とも低減させることができる可能性も十分に考えられる。この場合は、かならずしも両方のリスクの大きさを比較することは必要ではない。ただし、いずれの場合もリスク-便益分析や費用-便益分析などの手法を用いることにより、効率的なリスク管理が行われることが望ましい。

E. 結論

病原性微生物による健康リスクと消毒副生成物による健康リスクを中心に、水道水のリスク管理に関する検討を行う目的で、各研究協力者から現時点におけるリスク評価手法や管理

手法に関する情報を収集した。その結果、消毒副生成物をはじめとする有害化学物質のリスク評価と比較して病原性微生物のリスク評価手法が十分に確立していないことが課題として挙げられた。また、2つの性質の異なるリスクを比較するために共通のものさしによるリスク評価を行うという提案がある一方で、既存の技術の組み合わせや新しいシステムの開発により両方のリスクを低減することができる可能性があることなどが示された。今後は、水道水のリスク評価・管理に関するさらなる情報収集に加えて、これまでに報告された問題点の整理を行うことが重要である。現状のリスク評価・管理における課題を整理・検討した上で、より詳細な病原性微生物リスク評価手法の開発や水道水の総合的なリスク管理手法の確立を目指す。

F. 研究発表

Mari ASAMI: Estimation and Control of Health Risk due to Drinking Water Quality: Disinfection and Disinfection By-products, in 'Probabilistic Safety Assessment and Management Vol. 1', pp.581-588, Ed. S. Kondo and K. Furuta, Universal Academy Press, Tokyo, 2000

Mari ASAMI, Takako AIZAWA, Shoichi KUNIKANE, Yasumoto MAGARA: Assessment and Control of Health Risk Attributable to Drinking Water, The 9th Japan-Korean Symposium on Water Environment, pp.61-67, October 16-17, Toyohashi, Japan, 2000

Sasaki, T.: Microbial risk management during drinking water treatment system of the Hanshin Water Supply Authority, CREST Workshop on Integrated Water Quality Management, - The 4th Japan-

Netherlands Workshop – , Oct. 9-11, 2000
Hokkaido Kiroro Resort, Japan, pp. 135-148,
2000

I. 毒性情報が不足している物質の毒性評価に係わる文献調査

分担研究者	長谷川隆一	国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室長
研究協力者	広瀬 明彦	国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室 主任研究官
研究協力者	西川 秋佳	国立医薬品食品衛生研究所・病理部室長
研究協力者	江馬 眞	国立医薬品食品衛生研究所大阪支所 生物試験部室長
研究協力者	紅林 秀雄	国立医薬品食品衛生研究所・薬理部室長
研究協力者	小川 幸男	国立医薬品食品衛生研究所・毒性部 主任研究官
研究協力者	山田 雅巳	国立医薬品食品衛生研究所・変異遺伝部 主任研究官

はじめに

WHO 飲料水ガイドラインでは 1992 年の改定において、94 項目の基準値を設定し、その後中間見直しが行われたが、今回は 10 年後の大幅見直しとして日本は 3 物質のガイドライン原案を作成することとなった。本分担研究ではこの 3 物質、1,4-ジオキサン（以下ジオキサン）、エピクロロヒドリン（以下 ECH）およびヘキサクロブタジエン（以下 HCBd）についての毒性情報を再調査し、その結果に基づいてガイドライン値の提案を行うためのドキュメントを作成した。以下に内容の要約を研究結果として記し、ドキュメントの英文原案（健康影響および提案ガイドライン値）は添付資料の 1、2 および 3 とする。

1. ジオキサン

1.1 吸収・分布・代謝・排泄

ジオキサンは消化管から容易に吸収され、ラットで用量 1,000 mg/kg でも 95 %以上が吸収された。皮膚からは 3.5 時間で 3 %が吸収された。また、ラットでは呼気からもよく吸収されるが、ヒトでは吸収率は落ちる。吸収されたジオキサンは血液、肝、腎、肺、脾臓、大腸、筋肉に広く分布した。ほとんどは β -hydroxyethoxyacetic acid に代謝され、尿中に排泄される。低用量で排泄は速いが、ある用量を越えると代謝が飽和するため排泄も遅くなる。ラットでは i.v. 投与で 30 mg/kg を越えると代謝が飽和し、血中濃度では 100 μ g/ml で飽和する。（ヒトでは PBPK モデルより $K_m = 3$ mg/L、 $V_{max} = 6.35$ mg/kg/hr）

1.2 一般毒性

急性毒性

経口 LD₅₀ はマウスで 5,900 mg/kg、ラットで 5,400 から 7,300 mg/kg、モルモットで 3,300 から 4,000 mg/kg、ウサギで 2,000 mg/kg である。吸入 LC₅₀ はマウスで 37 g/m³、ラットで 46 g/m³、経皮 LD₅₀ はウサギで 7,600mg/kg である。実験動物の致死量レベルでの主な毒性発現として、昏睡などの中枢神経系の抑制、胃、肺、肝および腎に病変が認められた。

短期毒性

ラットおよびマウスへの 67 日間 7,230 および 9,812 mg/kg/day の経口投与では死亡が見られ、長期生存例では肝および腎の細胞変性などが観察された。11 週間のラットへの経口投与では、1,000 mg/kg/day で肝臓に相対重量の増加と組織変化が観察された。

長期毒性

ラットの 716 日間飲水投与では、10,000 ppm 群で体重増加の抑制、生存率の低下、摂水量の減少が見られ、1,000 ppm 以上では、腎尿細管上皮と肝細胞変性および肝細胞壊死が観察され、NOAEL は 100 ppm (雄; 9.6 mg/kg/day, 雌; 19 mg/kg/day)であった。ラットの 104 週間飲水投与では、雄の 200 ppm (16-21 mg/kg/day)群から肝臓に海綿症の軽度の増加が観察された。しかし、ラットの 2 年間(7 hr/day, 5 day/week)、400 mg/m³ (105 mg/kg/day)の吸入曝露では病変は観察されなかった。

1. 3 生殖・発生毒性

258, 516 または 1,033 mg/kg/day のジオキサンをラットの妊娠 5-14 日に強制経口投与したところ、1,033 mg/kg/day で投与期間中の妊娠ラットの摂餌量減少がみられた。1,033 mg/kg/day までの投与では胎児の生存率および奇形胎児の発現頻度に投与の影響は認められなかったが、1,033 mg/kg/day で胎児体重の低下および胸骨分節の化骨遅延が観察された。これらの結果から、生殖発生毒性の NOAEL は 516 mg/kg/day となる。

1. 4 変異原性

ジオキサンは代謝活性化の有無に関わらず、大腸菌の修復系を誘導することはなく、サルモネラ菌やマウスリンフォーマ細胞で変異原性を示さなかった。代謝活性化を受けない状態で CHO 細胞において、姉妹染色体交換のわずかな増加が観察されたものの、染色体異常は誘発しなかった。BALB/3T3 細胞で形態的な形質転換を生じるという報告があった。ラット経口投与で肝細胞に DNA 鎖切断を生じたが、DNA への直接の結合は検出されなかった。マウス骨髄の小核の誘発はマウスの系統によって異なる結果になったことから、総合的に系統特異的な弱い染色体異常誘発性の可能性が示唆された。

1. 5 発がん性

ラットへの 104 週間の飲水投与で、中用量 (81 mg/kg/day) 以上の群に肝細胞性腫瘍 (腺腫および癌) の増加がみられたことから、経口投与での発がん性の NOAEL は低用量 (16 mg/kg/day) となる。また、ラットへの高用量長期飲水投与で、肝腫瘍以外にも腹膜中皮腫、皮下線維腫、乳腺線維腺腫、鼻腔腫瘍などの発生が増加し、マウスへの高用量長期飲水投与でも肝腫瘍の発生が増加した。なお、ラットへの強制経口投与で肝発がんを、マウスへの腹腔内投与および皮膚塗布で肺、皮膚などの発がんを促進した。

1. 6 ヒトへの影響

高濃度 (50 ppm 以上) の吸入あるいは経皮曝露により、粘膜刺激や肝臓および腎臓障害を引き起こすことが知られている。一方、低濃度 (0.006~17 ppm) のジオキサンに 1 ヶ月から 20 年以上に亘って職業曝露されていると推定される 2 つのコホート研究では、ジオキサン曝露と臨床症状やがんの発生率、死亡率に相関関係は認められていない。また、デンマークにおける 19,000 例のジオキサンを扱う工場に従事していたヒトに対する疫学的調査で、肝臓がんの有意な発生率の増加を示す報告があ

るが、ジオキサンの定量的な曝露量や他の発がん物質に対する曝露状況は不明である。

1. 7 ガイドライン値

ジオキサンは肝および鼻腔腫瘍を、さらに、高用量では腹腔、皮膚、乳腺にも腫瘍を誘発する。しかし、疫学調査では明確な結果が得られておらず、IARC ではヒトに対して発がんの可能性のある Group 2B に分類している。

遺伝毒性は弱い、多臓器に発がん性を示したことから、最初に発がんのリスクについて線形多段階モデルを用いて計算した。最も発現率の高い鼻腔腫瘍と肝腫瘍について、体表面積修正なしでの 10^5 の生涯発がんリスクを引き起こす飲料水中の濃度は 54 および 88 $\mu\text{g/L}$ となる。一方、低用量曝露ではヒトで遺伝毒性が発現しないと仮定し、TDI 法を適用した。非腫瘍毒性指標ではラットの飲水試験の NOAEL 9.6 mg/kg/day から不確実係数 100 を用いて TDI が 96 $\mu\text{g/kg/day}$ 、腫瘍毒性指標の場合はラットの飲水試験の NOAEL 16 mg/kg/day から不確実係数 100 に加えて非遺伝障害性発がんに対して不確実係数 10 を用いて TDI が 16 $\mu\text{g/kg/day}$ となる。この低い方の腫瘍毒性指標に基づく TDI に配分率 10% を適用すると、48 $\mu\text{g/L}$ となる。

2 つの異なった方法を用いて得られた値 54 および 48 $\mu\text{g/L}$ が近似した値であることから、それらを丸めた 50 $\mu\text{g/L}$ がガイドライン値としては適切であると考えられる。

2. エピクロロヒドリン (ECH)

2. 1 吸収・分布・代謝・排泄

ECH は消化管、皮膚および肺から容易に吸収されるが、血中からの減少も速い。マウスに ECH 200 mg/kg を経口投与した場合、ECH の血中最高濃度 (C_{\max}) は 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 、その到達時間 (T_{\max}) は 5 分および血中半減期 ($t_{1/2}$) は 5 分であったが、その代謝物 α -chlorohydrin の C_{\max} は 84 $\mu\text{g/mL}$ 、 T_{\max} は 10 分および $t_{1/2}$ は 63 分であった。ECH は epoxide hydratase により α -chlorohydrin となるが、これが尿中排泄される割合はラットに ECH 6-10 mg/kg で経口投与した場合 72 時間で数%と少なく、さらに酸化分解されて二酸化炭素として呼気中排泄される割合 (18-38%) が多い。また ECH は肝臓でグルタチオン抱合化し、これが加水分解されシステイン抱合体となり、更に N-アセチル化されたメルカプツール酸等として尿中排泄される割合は 72 時間で 40-50% と多いが、糞中排泄 (3-4%) は少ない。

2. 2 一般毒性

急性毒性

ECH は急性曝露により強刺激性を示し、感作性もある。ラットおよびマウスの経口による LD_{50} は 90 から 260 mg/kg で、死因は中枢神経系への影響による。

短期毒性

ラットへの 10 日から 12 週間の経口投与では成長抑制と高死亡率、腎臓と肝臓重量増加、赤血球数減少、前胃の粘膜増殖と過角化症が見られ、90 日間の経口投与では最大耐量は 45 mg/kg/day である。

長期毒性

ラットへの 104 週間の経口投与では、2 および 10 mg/kg/day で呼吸困難、体重の減少、白血球の減

少および前胃の過形成症等を伴った用量依存的な死亡率の増加が見られた。この低用量の 1.43 mg/kg/day (2 mg/kg/day で 5 days/week)は LOAEL である。38 および 114 mg/m³ の生涯吸入曝露では上記に加え、鼻腔の激しい炎症性変化、肺の充血と肺炎、腎臓の尿細管の拡張と用量依存的な変性が観察された。

2. 3 生殖・発生毒性

雄ラットへの投与では、25 mg/kg/day 以上の単回経口投与で異常精子数の増加、10 週間の 25 ppm 以上の吸入曝露後に交配した無処置雌ラットの着床数の減少、交配前 21 日間の強制経口投与実験で 12.5 mg/kg/day 以上で精子運動性および遊泳パターンに対する悪影響が観察され、50 mg/kg/day では交配雌は妊娠に至らなかった。しかし、雄ウサギの精子および生殖能力に対する影響、交配前雌ラットへの投与による生殖能力に対する影響は観察されなかった。妊娠動物への強制経口投与では、160 mg/kg/day でラットおよびマウスに母体毒性が、120 mg/kg/day でマウスの胎児体重低下が認められた。これらの結果から、生殖発生毒性の LOAEL は 12.5 mg/kg/day となる。

2. 4 変異原性

ECH は数種類の細菌に対して代謝活性化されずに変異原性を示した。哺乳類細胞では、*in vitro* で染色体異常、遺伝子突然変異、姉妹染色体交換を引き起こしたが、マウス小核試験では陰性であった。出芽酵母では DNA 損傷、遺伝子変換、組換え、異数性を、分裂酵母と赤パンカビでは遺伝子突然変異をそれぞれ誘発した。ショウジョウバエの伴性劣性致死突然変異試験では変異原性を示し、DNA 単鎖切断も誘発した。

2. 5 発がん性

ラットへの 81 週間の飲水投与で、中用量 (39 mg/kg/day) 以上の群に前胃腫瘍 (乳頭腫および癌) が発生したが、低用量 (18 mg/kg/day) 群には前胃上皮過形成のみがみられた。また、ラットへの 2 年間の強制経口投与 (週 5 回) で、低用量 (2 mg/kg/day) 以上の群に前胃扁平上皮癌が発生した。以上の結果から、経口投与での発がん性の LOAEL は 1.43 mg/kg/day となる。なお、ラットへの吸入曝露で鼻腔腫瘍 (乳頭腫および扁平上皮癌) が発生し、マウスへの皮下投与で投与局所の肉腫および腺癌が発生した。

2. 6 ヒトへの影響

急性毒性としては、曝露局所の刺激性が認められ、吐き気や頭痛などの症状も引き起こすことが知られている。Case study による調査では、曝露 2 年後まで肝臓や腎臓への障害が残っていることが、報告されている。

職業曝露による疫学調査では、心疾患や肺がん、白血病の発生などとの因果関係が多数研究されているが、結果は一定せずヒトでの発がん性について結論は得られていない。肺がんに対しては、発がんリスクが逆に下がるという報告もある。しかし、最近の ³²P ポストラベリング法による解析では、職業曝露者の白血球中に DNA 付加体が検出されている。

生殖毒性に関する職業曝露による疫学調査では、ECH 曝露による精子や性ホルモンレベルに対する影響は認められていない。

2. 7 暫定ガイドライン値

ECH の主な毒性は局所刺激性と中枢神経障害である。また、経口投与では前胃の腫瘍を吸入曝露では鼻腔扁平細胞がんを誘発し、遺伝毒性は *in vitro* および *in vivo* とともに陽性である。ただし、疫学調査の結果は統一した見解が得られていない。IARC ではヒトに対して発がんの蓋然性のある Group 2A に分類している。

一方、経口摂取でも吸入曝露でもラットの精子に影響が見られ、生殖毒性の LOAEL は 12.5 mg/kg/day である。しかし、この変化はラットでの皮下投与やマウスおよびウサギでは認められていない。従って、精子への影響については結論が出ていない。

ECH は遺伝毒性を有する発がん物質であるが、その高い刺激性と最初の曝露部位で腫瘍が発現していることから、線形多段階モデルを適用することは適切ではない。そこで、ラットの長期投与試験の LOAEL 1.43 mg/kg/day に不確実係数 10,000 (種差、個体差で 100, NOAEL の代わりに LOAEL を用いたことで 10、前胃腫瘍が発現したことに対して 10) を用い、TDI は 0.143 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ となる。これに配分率 10% を適用すると暫定的ガイドライン値は 0.4 $\mu\text{g}/\text{L}$ となる。実務的な定量限界は 30 $\mu\text{g}/\text{L}$ のオーダーであるが、飲料水中の濃度は水と接触する製品中の ECH 含量規格を定めることによって制御できる。

3. ヘキサクロロブタジエン (HCB D)

3. 1 吸収・分布・代謝・排泄

HCB D は消化管から比較的容易に吸収され、肝臓でグルタチオン抱合体となり、胆汁排泄されるが、多くは再吸収され、腸肝循環をしながら糞中排泄される割合(50-70%)が高い。グルタチオン抱合体は加水分解されシステイン抱合体(PCBD-Cys) となり、さらにNアセチル化されたメルカプツール酸(PCBD-Nac)等となり、一部(7-11%)は尿中排泄される。ラット、マウスに HCB D 50 mg/kg 以下で経口投与した場合 72 時間で約 80% は体外に排泄されるが、約 10% は体内に残留する。PCBD-Cys が腎臓の β -lyase で加水分解されて生ずる親電子的化合物チオケテンが高分子結合し腎障害を起こすと考えられている。また、PCBD-Nac がミクロソーム P 450 で代謝されてできる親電子的 PCBD-Nac sulfoxide も毒性を示すと考えられている。

3. 2 一般毒性

急性毒性

経口 LD₅₀ はラットの雌で 200~400 mg/kg、雄で 504~667 mg/kg である。経口および腹腔内投与により腎臓の相対重量の増加、血液尿素窒素の増加、腎尿細管の壊死、尿浸透圧の減少、体重の減少、またラットは雄のみに肝臓に小葉中心性病変が認められた。ウサギの経皮 LD₅₀ は 0.72 mL/kg (8 hr 後) で適用部位の皮膚の壊死が起こった。

短期毒性

ラットの 13 週間強制経口投与では、腎臓の相対重量が雌雄の 6.3 および 15.6 mg/kg 群で増加し、雌の 2.5, 6.3 および 15.6 mg/kg 群と雄の 6.3 および 15.6 mg/kg 群で近位尿細管の変性、肝臓重量増加、肝実質細胞の細胞質好塩基性化の増加が観察された。

長期毒性

ラットの2年間経口投与では、雄の20 mg/kg/dayで腎臓の相対および絶対重量が増加し、2および20 mg/kg/dayで腎尿細管の過形成と局所の腺腫様の増殖が観察され、NOAELは、0.2 mg/kg/dayであった。

3. 3 生殖・発生毒性

雌雄ラットの交配前90日から児の離乳まで0.2, 2.0または20 mg/kg/dayで混餌投与したところ、繁殖に対する影響は観察されなかったが、2.0 mg/kg/day以上で親動物の体重および摂餌量の減少、雄親ラット腎に病理組織学的変化が観察された。雌ラットの交配前4週から児の18週齢まで混餌投与したところ、1,500 ppmでは妊娠動物は得られず、150 ppmでは児の体重増加抑制がみられた。妊娠ラットへの投与では、10 mg/kg/dayの腹腔内投与で内臓奇形の頻度上昇がみられ、15 ppmまでの吸入曝露では催奇形性はみられなかったが、15 ppmで胎児体重低下が観察された。これらの結果から、生殖発生毒性のNOAELは0.2 mg/kg/dayとなる。

3. 4 変異原性

HCBDはサルモネラ菌を用いた復帰突然変異試験では代謝活性化を受けて変異原性を示した。予測される代謝物も変異原性を示した。しかし、変異原性を示さない菌株もあった。前進突然変異試験では、代謝を受けない条件でより顕著に突然変異の誘発が観察された。ショウジョウバエの伴性劣性致死突然変異試験では突然変異を誘発しなかった、CHO細胞では代謝活性化の有無に関わらず、姉妹染色体交換の頻度が上昇したが、染色体異常は誘発されなかった。

3. 5 発がん性

ラットへの2年間の混餌投与で、高用量(20 mg/kg/day)群に腎尿細管腫瘍(腺腫および腺癌)が発生したが、中用量(2 mg/kg/day)群以下には腎腫瘍は認められなかったことから、経口投与での発がん性のNOAELは2 mg/kg/dayとなる。なお、ラットへの飲水投与で腎発がんを促進したが、マウスへの腹腔内投与または皮膚塗布では肺または皮膚の発がんを修飾しなかった。

3. 6 ヒトへの影響

ヒトに対しては、限定された情報しか報告されていない。

間欠的に4年間曝露された農業従事者の調査では、高血圧や心筋疾患、神経系疾患、肝臓疾患などの高い発症率が報告されているが、この調査では、HCDB以外の化合物曝露も同様に受けているため、HCDB曝露と各種症状との因果関係は不明である。

予備的な調査では、HCDB曝露と胆汁酸の増加に因果関係が認められている。また、HCDB生産従事者の末梢血では、染色体異常の発生頻度の増加が認められているが、従事期間との間には相関関係は認められていない。

3. 7 ガイドライン値

HCBDは長期の経口摂取により腎腫瘍が発症する。HCDBの遺伝毒性は陽性と陰性の両方の結果があるが、各種の代謝物の遺伝毒性は陽性である。IARCではヒトに対して発がん性があるとは分類できないGroup 3としている。低用量では生殖・発生毒性は見られていない。

HCDB の代謝や毒性発現情報からガイドライン値の算出は TDI 法が最も適切であると考えられる。非腫瘍毒性指標については、ラットの長期混餌投与試験およびラットの生殖試験での母毒性からの NOAEL 0.2 mg/kg/day から種差、個体差の不確実係数 100 を用い、TDI は 2 µg/kg/day となる。一方、腫瘍毒性指標については、ラットの長期混餌投与試験で腎腫瘍の発現に基づく NOAEL 2 mg/kg/day から、不確実係数を種差、個体差の 100 に加え、発がんの限定的証拠と代謝物の遺伝毒性から 10 を採用し、総合 1,000 を用いて TDI は 2 µg/kg/day となる。したがって、ガイドライン値はこの TDI に 10% の配分率を適用して 6 µg/L となる。

4. 考察

前回のガイドライン値決定は、対象物質をいくつかの分野に分類し、それぞれに専門家会議がもたれ、担当国の作成したガイドライン案について討議された。その際、発がん性物質に関する取り扱い、すなわち、TDI 法を用いてガイドライン値を誘導する場合の不確実係数 (UF) の 10 は、反復投与毒性で如何なる毒性も見られない NOAEL に対して用いられていた。例えば、発がん性試験などの長期試験で非腫瘍性病変に基づいた NOAEL X mg/kg/day と、腫瘍性病変に基づいて NOAEL Y mg/kg/day が得られたとき、NOAEL X mg/kg/day に発がんの危険性を考慮した不確実係数 10 を適用して TDI を誘導していた。また、吸入曝露では腫瘍が発現するものの、経口摂取では腫瘍の発現がないときでも経口 NOAEL に発がんの危険性を考慮した不確実係数 10 を適用して TDI を誘導していた。しかし、JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives)、JMPR (Joint FAO/WHO Meeting of Pesticide Residue)、その他の国際評価委員会等では TDI 等の基準値を算出する際に、発がんの危険性を考慮した不確実係数 10 は、腫瘍性病変に基づいた NOAEL に適用されている。そこで、今回の TDI 誘導に際しても、現在一般に用いられている後者の方法で行った。

ジオキサンの毒性評価はすでに平成 10 年度の研究調査で行ったが、さらにその後の情報も入手し、ガイドライン値の誘導を行った。ジオキサンの遺伝毒性は弱いと考えられ、本来は TDI 法で誘導される場所であるが、多臓器に腫瘍を誘発したことから、遺伝毒性発がん物質の様相を呈した。そこで、TDI 法と発がんリスクモデルの両手法を用いて解析した。その結果、非腫瘍性病変に対する TDI は 96 µg/kg/day、腫瘍性病変に対する TDI は 16 µg/kg/day となり、ガイドライン値は低い方の TDI から 48 µg/L となる。一方、 10^{-5} の発がんリスクでの飲料水中の濃度を各腫瘍発現頻度について線形多段モデルで計算すると、最も低い値が 54 µg/L となる。結果として、両値が非常に近似したことから、数字を丸めた 50 µg/L をガイドライン提案値とした。この値は全ての毒性指標を考慮したものであり、適切な値であると考えられる。

ECH については、遺伝毒性を有する発がん物質であるが、発がんはその最初の曝露部位で生じることから、実際には組織障害性に基づく発がんと考えられる。前回のガイドライン値設定に当たっては、こうした毒性発現状況から TDI 法が適切とされた。今回の検討でも新たな動物実験データはなく、前回の TDI 法の適用が適切であると判断した。新しい疫学調査の資料を追加したが、ヒトでの発がん性について明確に結論できるデータは得られていない。なお、TDI 誘導の際に適用した不確実係数が 10,000 であること、実務的な定量限界はガイドライン値を大きく上回ることから、このガイドライン値を暫定とすることは適切であると考えられる。

HCBD についても、前回以降にガイドライン値誘導に関わる新しい情報はない。HCBD の遺伝毒性について必ずしも結論が得られていないが、ラットの最高用量でのみ腫瘍が見られること、2 段階発がん試験でプロモーション作用が見られたことから、TDI 法を用いるのが適切であると考えられる。

今回の TDI 誘導では非腫瘍性病変に基づく TDI は、腎障害および生殖毒性からいずれも 2 µg/kg/day が、腫瘍病変に基づく TDI も同様に 2 µg/kg/day となり、ガイドライン値案は 6 µg/L となった。この値は前回の 0.6 µg/L に比べて 10 倍高い値である。これは非腫瘍性病変である腎過形成等に基づく NOAEL から TDI を誘導する際に発がんの危険性を考慮した不確実係数 10 を適用しなかった結果である。この評価法は農薬や食品添加物の分野でも用いられていることから、現時点では国際的に受け入れられる方法であると思われる。

最後に、今回の提案ガイドライン値は発がん性に関する TDI の誘導法が前回と異なっていることから、これが受け入れられるのであれば、他の汚染化学物質の評価法とも統一する必要がある。もし、受け入れられないのであれば、非腫瘍性病変の NOAEL に発がんの危険性を考慮した不確実係数 10 を適用して、ジオキサンの場合は新たな TDI 9.6 µg/kg/day から 30 µg/L、HCBd の場合は 0.6 µg/L となる。

誌上発表（平成 12 年度）

1. 広瀬明彦、鎌田栄一、西川秋佳、紅林秀雄、江馬 眞、安藤正典、黒川雄二、長谷川隆一（2001）ホルムアルデヒドの経口および吸入暴露による毒性と水道水における安全性の評価. 水環境学会誌, 24(5), 308-316.

4. Kinetics and metabolism in laboratory animals and humans

1,4-Dioxane is well absorbed via oral and inhalation routes. In rats, greater than 95 % is taken up from the gastrointestinal tract following administration up to 1,000 mg/kg BW (Young et al., 1977 & 1978). Complete absorption was indicated in rats with inhalation compared to a maximum of 80 % in humans following exposure to 50 ppm (180 mg/m³) for 6 hr. Uptake (on a mg/kg BW basis) is approximately 5-8 times greater in rats than humans.

No data are available for dermal uptake for 1,4-dioxane in humans, although around 3 % of applied 1,4-dioxane was absorbed over a 24 hr period in non-human primates under non-occluded conditions (Marzulli et al., 1981). *In vitro* human skin studies indicate that 3.2 % of an applied dose passes through excised skin with occlusion and 0.3 % under non-occluded conditions. The high volatility of 1,4-dioxane is likely to account for these differences (ECETOC, 1983).

Animal studies have shown that 1,4-dioxane is distributed to the blood, liver, kidney, spleen, lung, colon and skeletal muscle with selective uptake in liver and kidney (DeRosa et al., 1996; Mikheev et al., 1990). Covalent binding was found to be significantly higher in the liver, spleen and colon than in other tissues. Physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) modeling by Reitz et al. (1990) predicted that the AUC-liver values for humans would be lower than those for rats or mice continuously exposed to low concentrations of 1,4-dioxane in air or water. Metabolic rate constants developed for rats in a PBPK model were $K_m=29.4$ mg/L and $V_{max}=13.7$ mg/kg BW/hr (Reitz et al., 1990). Those for humans were $K_m=3.0$ mg/L and $V_{max}=6.35$ mg/kg BW/hr.

The main metabolite in animals and humans is β -hydroxyethoxyacetic acid (HEAA). Other metabolites determined in animal studies include 1,4-dioxan-2-one, β -hydroxyethoxyacetaldehyde, diethylene glycol, oxalic acids and CO₂. Unchanged 1,4-dioxane is excreted in the urine and expired air (DeRosa et al., 1996).

Young et al. (1978) demonstrated the pharmacokinetics of 1,4-dioxane in rats to be dose dependent. Oral doses of 10, 100 and 1000 mg/kg BW [¹⁴C]-1,4-dioxane to rats resulted in around 99, 85 and 75 % of radiolabeled metabolites in urine and around 0.5, 5 and 25 % in expired air as 1,4-dioxane, respectively. Excretion in feces (1-2 %) and expired CO₂ (2-3 %) were not affected by the dosage. With low oral or intravenous doses of 3 and 10 mg/kg BW, elimination of 1,4-dioxane from plasma was linear with a half-life of 1.1 hr, whereas above 30 mg/kg BW, plasma clearance was characterized by non-linear kinetics. Because pulmonary and renal clearance rates were not significantly different between low and high doses, saturation is thought to be associated with biotransformation rather than elimination. The authors estimated that metabolism of 1,4-dioxane in rats is saturated at plasma levels above 100 mg/mL.

Inhalation exposure of rats to 50 ppm 1,4-dioxane for 6 hr resulted in around 99 % being excreted as HEAA (Young et al., 1977). At the end of the exposure, the elimination half-life of 1,4-dioxane from plasma was 59 min. The excretion half-life of HEAA was 2.7 hr and its renal clearance was 121 mL/min. Renal clearance of 1,4-dioxane was 0.34 mL/min, compared with a metabolic clearance of 75 ml/min. Steady state plasma levels on inhalation at 50 ppm were similar in humans and rats with levels of 10 mg/mL and 7.3 mg/mL respectively. Simulation of repeated daily exposure to 50 ppm for 8 hr/day indicated that 1,4-dioxane would never accumulate to concentrations above those attained after a single 8 hr exposure.

In summary, 1,4-dioxane is rapidly absorbed and metabolized, and does not accumulate in the body, but the metabolism to HEAA is dose-dependent, becoming saturated at high doses.

5. Effects on laboratory animals and *in vitro* test systems

5.1 Acute exposure

Oral LD₅₀ values are in the range of 5,400 to 7,300 mg/kg BW in rats, 5,900 mg/kg BW in mice, from 3,300 to 4,000 mg/kg BW in guinea pigs and 2,000 mg/kg BW in rabbits (DeRosa et al., 1996). LC₅₀ on inhalation for 2 hr was found to be 46 g/m³ in rats and 37 g/m³ in mice (RTECS, 2000). Dermal LD₅₀ in rabbits was 7,600 mg/kg BW, although there were no equivalent toxicological effects in Wistar rats treated the 8,300 mg/kg BW (DeRosa et al., 1996). The main acute effects at near lethal doses in experimental animals (rats, mice, guinea pigs, rabbits or dogs) are CNS depression (narcosis etc.) and severe gastric, pulmonary, hepatic and renal lesions (DeRosa et al., 1996).

5.2 Short-term exposure

Administration of 50,000 ppm 1,4-dioxane (equivalent to 7,230 and 9,812 mg/kg BW/day in rats and mice, respectively) in drinking water for 67 days resulted in death of both rats and mice (Fairley et al, 1934). Histological examination of surviving animals revealed severe hepatic and renal lesions (cellular degeneration etc.). Male SD rats administered 0, 10, or 1,000 mg/kg BW/day 1,4-dioxane in drinking water for 11 weeks (Stott et al., 1981) demonstrated increased relative liver weight and a minimal degree of liver lesion at 1,000 mg/kg BW/day, but not at 10 mg/kg BW/day.

5.3 Long-term exposure

Sherman rats of both sexes received 100, 1,000 or 10,000 ppm 1,4-dioxane in their drinking water for 716 days (Kociba et al., 1974). The 10,000 ppm group exhibited decrease in

body weight gain, survival rate and water consumption. Other histopathological data for animals receiving 1,000 and 10,000 ppm pointed to renal tubular epithelial and hepatocellular degeneration and necrosis. The NOAEL was 100 ppm (male; 9.6 mg/kg BW/day, female; 19 mg/kg BW/day). In F344/DuCrj rats receiving 200, 1,000 or 5,000 ppm in drinking water for 104 weeks, slight increase of liver spongiosis hepatitis was detected at 200 ppm (equivalent to 16-21 mg/kg BW/day) in males (Yamazaki et al., 1994).

In Wistar rats inhaling 400 mg/m³ (equivalent to 105 mg/kg BW/day) of 1,4-dioxane vapor for 2 years (7 hr/day, 5 day/week), no changes related to the chemical exposure were evident on microscopic examination (Torkelson et al. 1974).

5.4 Reproductive toxicity, embryotoxicity, and teratogenicity

SD rats were given 1,4-dioxane at 0.25, 0.5, or 1.0 mL/kg BW/day (258, 516, or 1,033 mg/kg BW/day) by gavage on days 5-14 of pregnancy (sperm = day 0) (Giavini et al., 1985). Maternal toxicity, as evidenced by reduced food consumption during the administration period, was observed at 1.0 mL/kg BW/day. No adverse effects on numbers of implantations, live fetuses, or post-implantation loss and on incidence of fetuses with malformations were detected. Decreased weight of fetuses and delayed ossification of the sternbrae occurred at 1.0 mL/kg BW/day. These findings indicate that the NOAEL for reproductive and developmental toxicity is 516 mg/kg BW/day based on the decreases in maternal food consumption and fetal weight and delayed ossification.

5.5 Mutagenicity and related end-points

1,4-Dioxane, with or without metabolic activation, did not induce differential DNA repair in *Escherichia coli* K-12 uvrB/recA (Hellmér & Bolcsfoldi, 1992) and was not mutagenic in *Salmonella typhimurium* (Stott et al., 1981; Haworth et al., 1983; Khudoley, 1987) or in L5178Y mouse lymphoma cells (McGregor et al., 1991). In Chinese hamster ovary (CHO) cells, it did not produce chromosomal aberrations, although it did cause a slight increase in sister chromatid exchange in the absence of metabolic activation (Galloway et al., 1987). It has also been reported to cause morphological transformation of BALB/c 3T3 mouse cells (Sheu et al., 1988).

Oral administration of 1,4-dioxane to rats caused DNA strand breaks in liver cells (Kitchin & Brown, 1990). However, no covalent DNA binding was detected in rat liver (Stott et al., 1981). No induction of unscheduled DNA synthesis was observed in rat hepatocytes after either *in vivo* treatment or *in vitro* cell treatment with 1,4-dioxane, even when the animals has previously been exposed to 10,000 ppm 1,4-dioxane for 1 week (Goldsworthy et al., 1991). In the same study, no induction of unscheduled DNA synthesis in rat nasal epithelial cells was observed (Goldsworthy et

al., 1991).

Of three studies on the induction of bone-marrow micronuclei, one was negative with male C57BL/6 and CBA mice (Tinwell & Ashby, 1994) and one was inconclusive with B6C3F1 males (McFee et al., 1994), while the third gave a clear positive result for male and female C57BL/6 mice and a negative result for male BALB/c mice (Mirkova, 1994), suggesting overall possible weak, strain-specific clastogenic activity.

5.6 Carcinogenicity

In the long-term drinking water study in rats conducted by Kociba et al. (1974), hepatocellular carcinomas, cholangiomas and nasal squamous cell carcinomas were only observed in the 10,000 ppm group. The NOAEL for carcinogenicity in this study was 1,000 ppm (male; 94 mg/kg BW/day, female; 148 mg/kg BW/day).

Osborne-Mendel rats and mice were administered 1,4-dioxane in their drinking water for 110 and 90 weeks, respectively (NCI, 1978). The doses in the rat study were equivalent to 0, 240, or 530 mg/kg BW/day for males and 0, 350, or 640 mg/kg BW/day for females. Incidences of nasal cavity squamous cell carcinomas were significantly increased in male rats (0/33, 12/25 and 16/33 in the control, low-dose and high-dose groups) and in female rats (0/34, 10/35 and 8/35 in the control, low-dose and high-dose groups). Treated females also demonstrated a statistically significant elevation of liver adenomas in a dose-dependent manner. In the mouse study, the administered doses were equivalent to 0, 720, or 830 mg/kg BW/day for males and 0, 380, or 860 mg/kg BW/day for females. Increased combined incidences of liver carcinomas and adenomas were observed dose-dependently in males (2/49, 18/50 and 24/47 in the control, low-dose and high-dose groups) and in females (0/50, 12/48 and 29/37 in the control, low-dose and high-dose groups).

Crj: BDF1 mice of both sexes administered 1,4-dioxane at 500, 2,000 or 8,000 ppm in drinking water for 104 weeks showed increased incidences of combined hepatocellular adenomas and carcinomas; 22/50, 36/50, 45/50 and 44/50 in the control, low-dose, mid-dose and high-dose groups for males; 4/50, 36/50, 50/50 and 47/50 for females (Yamazaki et al., 1994). One nasal cavity tumour occurred in a high-dose female. Thus a NOAEL for hepatocellular tumours could not be driven. The LOAEL for all tumors was 500 ppm (66-77 mg/kg BW/day).

F344/ DuCrj rats of both sexes administered 1,4-dioxane at 200, 1,000 or 5,000 ppm in drinking water for 104 weeks showed increased incidences of combined hepatocellular adenomas and carcinomas; 0/50, 2/50, 4/50 and 38/50 in the control, low-dose, mid-dose and high-dose groups for males; 1/50, 0/50, 5/50 and 48/50 for females (Yamazaki et al., 1994). Peritoneal mesotheliomas, subcutaneous fibromas, mammary fibroadenomas, nasal cavity tumours and