

workers exposed to formaldehyde)

Ward, J.B., Jr, Hokanson, J.A., Smith, E.R., Chang, L.W., Pereira, M.A.,

Whorton, E.B., Jr & Legator, M.S.

Mutat. Res., 130, 417-424 (1984)

遺伝学的損傷を指摘するためにモニタリングテスト装置を、病院の死体解剖奉仕労働者集団で職業上によるホルムアルデヒド暴露を研究するために使用した。11人の暴露者と11人の似かよったコントロールについて精子数、異常精子形態及び2F体の頻度を評価した。被験者らは性、年齢及びアルコール、タバコやマリファナの常習的使用をつり合わせた。更なる情報として、健康、薬物や他の毒の暴露についても収集した。最初のサンプルとして10人の被験者が4.3ヶ月(1-11ヶ月の範囲)必要とされ、1人は数年間必要とされた。ホルムアルデヒド暴露は、関連性は薄かったが、時間重量平均としては0.61と1.32 ppmの間であった(週での暴露範囲は1時間に3-40 ppm)。暴露及びコントロール被験者は2-3ヶ月間隔で3回試料を取られた。精子形態もB₆C₃F₁マウスにホルマリン100mg/kgの用量で5日間経口投与後に評価された。異常形態の増加は処理マウスでは認められなかった。ヒトにおいて、観察された変異からは暴露及びコントロール群との間には統計的に有意な差は見られなかった。減少した精子数は、暴露群での異常形態の増加及び2F体頻度と相関したが、コントロール群とは相関しなかった。暴露に付随して起こる影響の評価は、マリファナ使用で数が減少しコントロールで薬物使用による異常形態の増加が示唆された。精子への影響は、強烈的急性暴露のマウスで起こらなかったが、職業上での暴露後の集団でもホルムアルデヒドあるいはその代謝物では見られなかった。小さい影響は起こる可能性はある。この研究による影響の欠如は、この暴露量で影響を認めるためには統計的能力が乏しいのかもしれない。

Ⅲ. 室内空气中化学物質の中長期低濃度及び短期高濃度の

吸入毒性評価に関する研究

i) 家庭用品に使用される化学物質のデータベース構築に関する研究

日本バイオアッセイ研究センター 病理検査部 長野 嘉介

ii) 低濃度アセトアルデヒド経気道暴露による生態影響評価

産業医科大学 産業保健部 嵐谷 奎一

i) 家庭空气中化学物質の中長期低濃度及び短期高濃度の吸入毒性評価に関する研究

分担研究者	長野 嘉介	日本バイオアッセイ研究センター	病理検査部長
協力研究者	大西 誠	日本バイオアッセイ研究センター	分析室長
	武 信	日本バイオアッセイ研究センター	分析室長補佐

研究要旨

吸入毒性を経口投与実験のデータから推定するための基礎データを得ることを目的として、塗料溶剤として家庭用品に使用され、空気中への拡散量が多い化学物質であるトルエンについて、吸入曝露と経口投与による体内曝露量の推移を比較した。また、体内曝露量を指標にして、経口投与実験データから吸入曝露による生体影響を推定する換算式の有効性を検証した。雄ラットをトルエンに25、50、100、200 ppmの濃度で6時間、全身吸入曝露、また、トルエンを25、50、100、200 mg/kg体重の用量で単回強制経口投与し、血液中のトルエン濃度をヘッドスペース-GC/MSにより経時的に測定した。その結果、下記のことになった。

- 1) 血液中トルエン濃度の推移は、投与経路及び投与用量により異なる。吸入曝露では、曝露中の血液中濃度は50 ppm以下の曝露では60分から180分で最高値になった後、一定になり、100 ppm以上の曝露では曝露終了時まで血液中濃度の増加が続く。経口投与での血液中濃度は25 mg/kgで60分、50 mg/kg以上の投与では180分で最高値になった後、減衰する。
- 2) 吸入曝露の生物学的半減期（105～166分）は経口投与（30～60分）より短い。
- 3) 体内曝露量（血液中濃度の最高値およびArea Under the Curve）は、経口投与では投与用量の増加に相応して上昇し、吸入曝露では高濃度になると曝露濃度の増加を超える上昇を示す現象がみられる。
- 4) 経口投与の実験データから換算式を用いて吸入曝露による毒性を推定する方法は、呼吸量を561 mL/kg体重・分として換算すると、体内曝露量に基づいて推測された曝露濃度に近似した値が得られた。ただし、高用量ではやや高い値になり、毒性をやや過少に推定するが、その差は1.8倍以内である。

A. 研究目的

家庭用品から室内環境中に放散する化学物質は、主に吸入経路により体内に侵入する。従って、その健康影響評価は吸入曝露実験の結果に基づいて行う必要がある。しかし、化学物質の吸入毒性の情報は少ない。そこで、

情報量の多い経口投与実験のデータを利用して吸入曝露による毒性を推定することができれば、化学物質による生体影響の評価の効率化がはかれる。本研究は、吸入曝露による毒性を経口投与実験のデータから推定するための基礎データを得ることを目的とし

て、塗料の溶剤として家庭用品に大量に使用され、空気中への拡散量が多い物質であるトルエンについて、動物に吸入曝露と経口投与により短期高濃度曝露し、体内曝露量（血液中のトルエン濃度）の推移を比較した。また、経口投与実験データから吸入曝露による生体影響を推定する換算式の有効性を、体内曝露量を指標にして検証した。

B. 研究方法

1) 被験物質及び実験動物

被験物質として、(株)和光純薬工業製のトルエン（純度99.5%）を使用した。

実験動物は、雄ラット(Crj:CD(SD)IGS、SPF、10週齢、体重357-382g、日本チャールス・リバー厚木飼育センター)を3匹/群使用した。

2) 投与方法

① 吸入曝露

被験物質供給装置（(株)柴田科学製）の発生器内に入れたトルエンを一定温度下（35℃）で空気のパブリングにより蒸発させ、冷却管で23℃に下げた後、設定濃度になるように新鮮空気で希釈して、ラットを収容した吸入曝露装置内に送気し全身曝露による吸入曝露を行った（Figure 1）。曝露時間は6時間、単回曝露とした。曝露濃度は産業現場での許容濃度50 ppm（日本産業衛生学会 2004）とその1/2、2倍および4倍、すなわち 25、50、100、200 ppm（96、192、383、766 mg/m³）を設定した。トルエンの曝露濃度は、曝露中の吸入曝露装置内空気を曝露開始から5、60、180および360分後に採気し、ガスクロマトグラフ（ヒューレットパッカード社HP5890A）により測定した。ガスクロマトグラフの分析条件として、カラムはDB-WAX（0.53 mmφ × 5m）、キャリアーガスはヘリウム、検出器はFIDを用い、

カラム温度は50℃、注入口温度は200℃、検出器温度は200℃、試料注入量は1mLとした。その結果、吸入曝露装置内のトルエン濃度は設定濃度に近い値であることを確認した（Table 1）。

② 経口投与

経口投与の方法は、経口投与実験で多用されている強制経口投与とした。トルエンを各用量になるようにコーン油（体重1kg当たり10 mL）に溶解し、胃ゾンデを使用して単回強制経口投与した。投与用量は25、50、100、200 mg/kg・体重とした。

3) トルエンの血液中濃度の測定方法

① 試料の採取

トルエンの血液中濃度測定のための血液を動物の尾静脈よりヘパリンリチウム入り採血管に採血した。吸入曝露群は吸入曝露開始から30、60、180および360分、ならびに吸入曝露終了後30、60および180分で、経口投与群は経口投与後30、60、180、360、390、420および540分で採血した。吸入曝露中のラットからの採血は、採血時に動物の尾を吸入曝露装置から出し、吸入曝露を継続しながら行った（Figure 2）。採血した血液0.2 mLを直ちに蒸留水0.2 mLの入ったヘッドスペース用のバイアルビン（ヒューレットパッカード社10 mL用バイアルビン）に入れ、密栓して分析用試料とした。

② トルエンの分析

ヘッドスペース（ヒューレットパッカード社HP7694）-GC/MS（ヒューレットパッカード社HP5989B）を用いてトルエンの血液中濃度を測定した。ヘッドスペースの分析条件として、オープン温度は110℃、ループ温度は130℃、バイアル加温時間は10分とした。

GC/MSの分析条件として、カラムはHP Ultra-1（0.2 mmφ × 50 m）、キャリア

一ガスはヘリウムを用い、カラム温度は130℃、流量は1mL/分、注入口温度は200℃、イオン化法はEI、イオン化電圧は70eV、イオン源温度は200℃、インターフェイス温度は200℃とした。なお、血液中濃度の定量はトルエンのフラグメントイオンを示す91m/zのピークによるSIM法により実施した。

4) Area Under the Curve (AUC)

吸入曝露は、曝露中360分間と曝露終了後180分間の計540分間における血液中濃度の測定値と時間の積を計算しAUCとした。経口投与は、投与後540分間における血液中濃度の測定値と時間の積を計算しAUCとした。

(倫理面への配慮)

本研究は、動物愛護の観点から日本バイオアッセイ研究センターの「動物実験に関する指針」に基づき実施した。

C. 研究結果

1) 吸入曝露の血液中トルエン濃度

吸入曝露したラットの血液中トルエン濃度をTable 2とFigure 3に示した。

① 血液中濃度の推移

25 ppm群では、血液中濃度は曝露開始から60分まで経時的に上昇し、その後、曝露時間の終了まで一定の濃度で推移し、最高値は0.47 µg/mLであった。曝露終了後は、経時的に濃度が低下し、180分後には検出されなくなった。50 ppm群では、トルエンの血液中濃度の経時の上昇は曝露開始から180分までみられ、最高値は1.55 µg/mLであった。曝露終了後は、経時的に濃度が低下し、180分後の濃度は0.03 µg/mLであった。100 ppm群と200 ppm群では、血液中濃度の経時の上昇は曝露終了時である360分まで続いた。曝露終了時の

血液中濃度は、100 ppm群で7.32 µg/mL、200 ppm群で13.31 µg/mLであった。曝露終了後は経時的に濃度が低下し、180分後の血液中濃度は100 ppm群で0.59 µg/mL、200 ppm群で2.36 µg/mLであった。

② 生物学的半減期

血液中濃度が曝露終了時の1/2に低下するまでの時間は、グラフ上からみると25 ppm群で22分、50 ppm群で69分、100 ppm群で44分、200 ppm群で57分であった。

③ AUC

曝露期間360分間と曝露終了後180分間の計540分間におけるAUCは、25 ppm群：159 µg/mL・min、50 ppm群：505 µg/mL・min、100 ppm群：2419 µg/mL・min、200 ppm群：4474 µg/mL・minとなった。

2) 経口投与の血液中トルエン濃度

経口投与したラットの血液中トルエン濃度をTable 3とFigure 4に示した。

① 血液中濃度の推移

25 mg/kg群では、血液中濃度は投与後60分で最高値(1.39 µg/mL)になり、その後、濃度が低下し、投与後360分には検出されなくなった。50 mg/kg以上の投与量では、トルエンの血液中濃度は曝露開始から180分まで上昇し、最高値は50 mg/kgで2.74 µg/mL、100 mg/kgで4.24 µg/mL、200 mg/kgで11.39 µg/mLであった。その後、血液中濃度は経時的に低下し、投与後540分の濃度は50 mg/kg群で0.06 µg/mL、100 mg/kg群で0.71 µg/mL、200 mg/kg群で3.94 µg/mLになった。

② 生物学的半減期

血液中濃度が最高値の1/2に低下するまでの時間は、グラフ上からみると25 mg/kg群で150分、25 mg/kg群で105分、100 mg/kg群で160分、200 mg/kg群で166分であった。

③ AUC

投与後540分間におけるAUCは、25 mg/kg群：288 $\mu\text{g/mL}\cdot\text{min}$ 、50 mg/kg群：457 $\mu\text{g/mL}\cdot\text{min}$ 、100 mg/kg群：1399 $\mu\text{g/mL}\cdot\text{min}$ 、200 mg/kg群：3561 $\mu\text{g/mL}\cdot\text{min}$ となった。

D. 考察

1) 血液中濃度の推移

トルエンを吸入曝露および経口投与したラットの血液中トルエン濃度の推移は、投与経路及び投与用量により異なっていた。

吸入曝露では、曝露時間中の血液中濃度は25 ppmの曝露濃度では60分以内、50 ppmの曝露では180分以内に最高値になった後、ほぼ一定の血液中濃度に保たれていた。100 ppm以上の曝露では今回の曝露終了時間である360分まで血液中濃度の増加が続いた。曝露終了後は各群とも経時的に血液中濃度が減衰した。

経口投与では、血液中濃度は山型のカーブを描いた。血液中濃度が最高値になるまでの時間は25 mg/kgで60分、50 mg/kg以上の投与では180分であった。

2) 生物学的半減期

曝露終了時の濃度に対する見かけ上の生物学的半減期は、吸入曝露では25 ppmの曝露で30分以内、50 ppm以上の曝露濃度では約60分であった。経口投与では105～166分であり、吸入曝露における生物学的半減期は経口投与より短いと考えられた。

3) 投与量（曝露濃度、経口投与用量）と体内曝露量の関係

血液中濃度の最高値およびAUCは、経口投与の場合、今回用いた投与用量の範囲内では投与用量の増加に相応して上昇した。これに対し、吸入曝露の場合には、曝

露濃度の増加を超える上昇を示す現象がみられた。

すなわち、経口投与では、投与用量50 mg/kg、100 mg/kgおよび200 mg/kgにおける血液中濃度の最高値は、25 mg/kgと比較すると2.0倍、3.1倍および8.2倍であった。また、AUCは1.6倍、4.9倍および12.4倍であった。従って、血液中濃度の最高値およびAUCは、投与用量間の比である2倍づつに近い上昇を示していると考えられた。

吸入曝露では、曝露濃度50 ppm、100 ppmおよび200 ppmにおける血液中濃度の最高値は、25 ppmと比較すると3.3倍、15.6倍および28.3倍であった。また、AUCは3.2倍、15.2倍および28.1倍であった。従って、血液中濃度の最高値およびAUCは、100 ppm以上の曝露濃度では投与用量の増加を超える上昇があると考えられた。

4) 経口投与実験データを用いた吸入曝露毒性の推定

経口投与の実験データから吸入曝露による毒性を推定する方法は、下記の換算式を用いて経口投与量を吸入曝露量に変換する手法が一般的に採用されている。

吸入曝露濃度 (mg/m^3) = 経口投与用量 (mg/kg 体重・日) \div 呼吸量 (m^3/kg 体重・6時間) \times 経口投与での吸収率 \div 吸入曝露での吸収率

ラットの呼吸量は561 mL/kg体重・分 (0.202 m^3/kg 体重・6時間) を用いて計算した (Long-Evans系ラット、体重110g、Maunderly et al. 1979)。吸収率については、イヌの実験で吸入による肺への取り込み率が91-94%、経口投与では100%と報告されており (IARC 1989)、「経口投与での吸収率 \div 吸入曝露での吸収率」を1とし

て計算した。その結果、経口投与の25 mg/kg群、50 mg/kg群、100 mg/kg群、200 mg/kg群は、それぞれ、吸入曝露濃度32 ppm、65 ppm、129 ppm、258 ppmに変換された。

この値を、今回の実験で得られた体内曝露量を指標として検証した。体内曝露量は、生体影響が体内曝露の総量に依存する場合と生体影響の発現する血液濃度に閾値が存在する場合を想定し、「AUC」および「血液中濃度の最高値」の両者を指標とした (Table 4)。

「AUC」を指標とした検証は、各経口投与用量に相当するAUCが得られる曝露濃度を吸入曝露濃度とAUCの関係のグラフから読み取り、換算式により得られた値と比較した。その結果、25 mg/kg群、50 mg/kg群、100 mg/kg群、200 mg/kg群と同様のAUCが得られる曝露濃度は35 ppm、45 ppm、75 ppm、155 ppmであった。従って、換算式から得られた値 (32 ppm、65 ppm、129 ppm、258 ppm) は、AUCから推測される曝露濃度と比較して、低濃度では一致し、高濃度ではやや高くなるが1.8倍以内の差であると判断された。

「血液中濃度の最高値」を指標とした検証は、各経口投与用量に相当する「血液中濃度の最高値」が得られる曝露濃度を吸入曝露濃度と「血液中濃度の最高値」の関係のグラフから読み取り、換算式により得られた値と比較した。その結果、25 mg/kg群、50 mg/kg群、100 mg/kg群、200 mg/kg群と同様の「血液中濃度の最高値」が得られる曝露濃度は45 ppm、60 ppm、75 ppm、170 ppmであった。従って、換算式から得られた値 (32 ppm、65 ppm、129 ppm、258 ppm) は、「血液中濃度の最高値」から推測される曝露濃度と比較して、低濃度ではやや低くなるが約0.7倍の差であり、中間濃度では一致し、高濃度ではやや高く

なるが1.8倍以内の差であると判断された。

以上のように、換算式を用いて経口投与の実験データから吸入曝露による毒性を推定する方法を検証した結果、体内曝露量に基づいて推測された曝露濃度に近似した値が得られた。ただし、高用量ではやや高い値になり、毒性をやや過少に推定するが、その差は1.8倍以内であることがわかった。

5) トルエンの生体影響に関する報告値による経口投与と吸入曝露実験データの比較

トルエンの急性毒性については、ラットの経口投与によるLD₅₀値が5 g/kg、吸入曝露によるLC₅₀値が13055 ppm(50000 mg/m³)と報告されている (IARC 1989)。経口投与のLD₅₀値5 g/kgは、換算式により変換すると6463 ppmとなり、報告されたLC₅₀値 (13055 ppm) に比べ低く、毒性をやや過大に推定している。しかし、その差は約0.5倍であった。

長期毒性の無毒性量については、ラットを用いた6ヶ月間の経口投与実験で590 mg/kg、24ヶ月間の吸入曝露実験で400 ppmと報告されている (IARC 1989)。経口投与実験の無毒性量590 mg/kgは、換算式により変換すると762 ppmとなり、報告値 (400 ppm) に比べ1.9倍高い値であった。本研究で行った体内曝露量を指標にした検証でも、高投与用量での換算値は約1.8倍高くなり、長期毒性による無毒性量の結果とよく一致した。

E. 結論

トルエンをラットに吸入曝露及び経口投与し、血液中トルエン濃度の推移について検討した結果、以下の結論を得た。

- 1) 血液中トルエン濃度の推移は、投与経路及び投与用量により異なる。
- 2) 吸入曝露の生物学的半減期は経口投与

より短い。

- 3) 体内曝露量（血液中濃度の最高値およびAUC）は、経口投与では投与用量の増加に相応して上昇し、吸入曝露では高濃度になると曝露濃度の増加を超える上昇を示す現象がみられる。
- 4) 経口投与の実験データから換算式を用いて吸入曝露による毒性を推定する方法は、呼吸量を561 mL/kg体重・分として換算すると、体内曝露量に基づいて推測された曝露濃度に近似した値が得られる。ただし、高用量ではやや高い値になり、毒性をやや過少に推定するが、その差は1.8倍以内である。

参考文献

IARC. 1989. Toluene. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans 47:79-123.

Mauderly JL, Tesarek JE, Sifford LJ, Sifford LJ. 1979. Respiratory measurements of unsexed small laboratory mammals using nonbreathing valves. Lab Anim Sci 29: 323-329.

Mauderly JL. 1982. The effect of age on respiratory function of Fischer-344 rats. Experimental Aging Research 8: 31-36.

日本産業衛生学会. 2004. 許容濃度等の勧告(2004年度). 産業衛生学雑誌 46: 124-148

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

Table 1. 吸入曝露装置内のトルエン濃度

吸入曝露群	25ppm 群	50ppm 群	100ppm 群	200ppm 群
	24.9±0.78 ^a	49.1±0.86	99.9±1.84	199±0.50

^a トルエン濃度 (ppm) : 平均値±標準偏差

Table 2. トルエンの血液中濃度 (吸入曝露) および AUC

吸入曝露群	25ppm 群	50ppm 群	100ppm 群	200ppm 群	
曝露中	30 分	0.16±0.14 ^a	0.68±0.09	2.81±0.16	2.90±0.10
	60 分	0.44±0.08	0.84±0.05	3.13±0.44	6.34±0.45
	180 分	0.47±0.06	1.55±0.26	6.00±0.96	10.91±1.75
	360 分	0.43±0.07	1.10±0.03	7.32±0.81	13.31±1.14
曝露後	30 分	0.15±0.05	0.86±0.06	4.03±0.53	8.42±0.84
	60 分	0.01±0.04	0.59±0.01	3.21±0.09	6.43±1.40
	180 分	0±0	0.03±0.01	0.59±0.04	2.36±1.51
	AUC ^b	159	505	2419	4474

^a トルエンの血液中濃度 ($\mu\text{g/mL}$) : 平均値±標準偏差

^b 曝露中 360 分間および曝露終了後 180 分間における Area Under the Curve ($\mu\text{g/mL}\cdot\text{min}$)

Table 3. トルエンの血液中濃度 (経口投与) および AUC

経口投与群	25mg/kg 群	50mg/kg 群	100mg/kg 群	200mg/kg 群
30 分	1.13±0.26 ^a	0.79±0.05	3.74±0.44	4.96±1.86
60 分	1.39±0.63	1.16±0.03	3.82±0.12	6.53±2.00
180 分	1.00±0.01	2.74±0.47	4.24±0.23	11.39±1.30
360 分	0±0	0.39±0.10	1.85±0.91	5.21±2.56
390 分	0±0	0.18±0.07	1.54±0.64	4.60±2.26
420 分	0±0	0.10±0.02	1.10±0.56	3.88±2.24
540 分	0±0	0.06±0.05	0.71±0.40	3.94±2.67
AUC ^b	288	457	1399	3561

^a トルエンの血液中濃度 ($\mu\text{g/mL}$) : 平均値±標準偏差

^b 経口投与後 540 分間における Area Under the Curve ($\mu\text{g/mL}\cdot\text{min}$)

Table 4. 経口投与の吸入曝露への換算式による変換および検証

経口投与用量	吸入曝露濃度 への変換 (A)	AUC による検証		血液中濃度の最大値による検証	
		相当吸入曝露 濃度 (B)	A/B	相当吸入曝露 濃度 (C)	A/C
25mg/kg 群	32ppm	35ppm	0.91	45ppm	0.71
50mg/kg 群	65ppm	45ppm	1.44	60ppm	1.08
100mg/kg 群	129ppm	75ppm	1.72	75ppm	1.72
200mg/kg 群	258ppm	155ppm	1.66	170ppm	1.52

(A) 換算式により得た曝露濃度

(B) 経口投与に相当する AUC 値となる曝露濃度

(C) 経口投与に相当する血液中濃度の最大値となる曝露濃度

A/B : 換算式により得た曝露濃度 / 経口投与に相当する AUC 値となる曝露濃度

A/C : 換算式により得た曝露濃度 / 経口投与に相当する血液中濃度の最大値となる曝露濃度

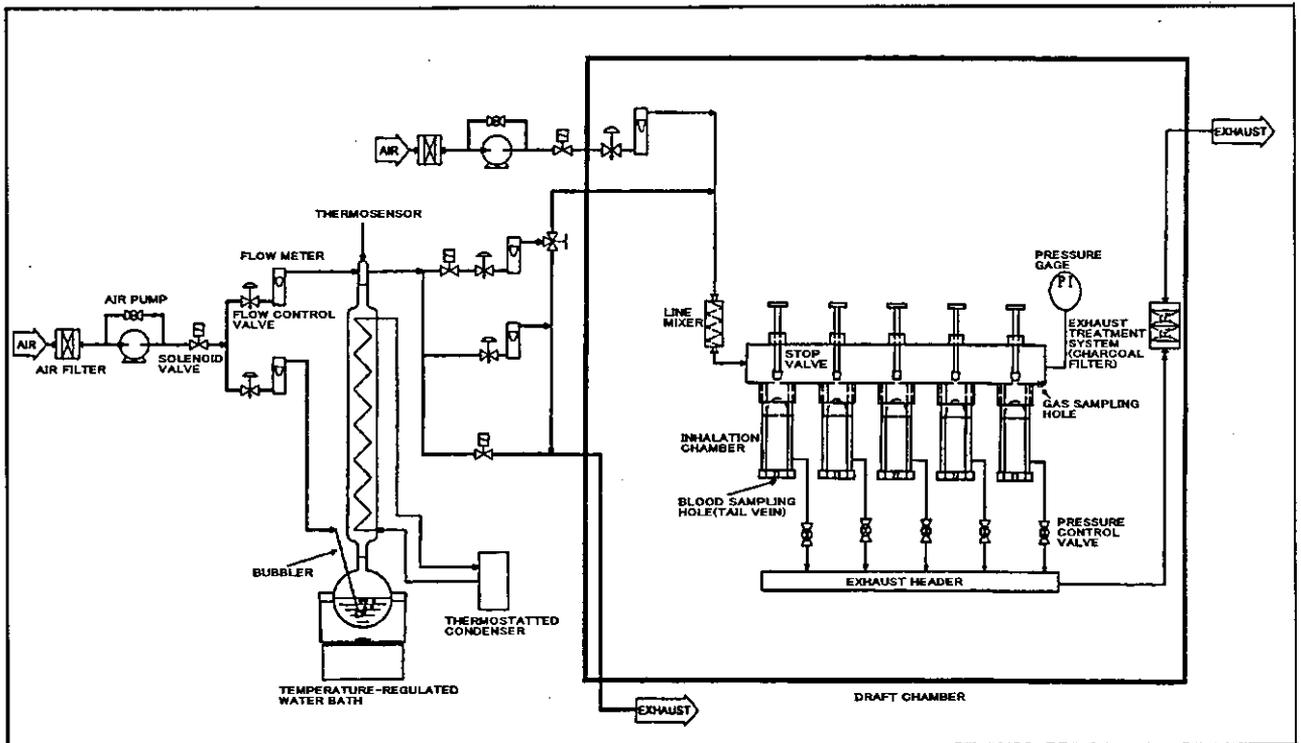


Figure 1. 吸入曝露装置

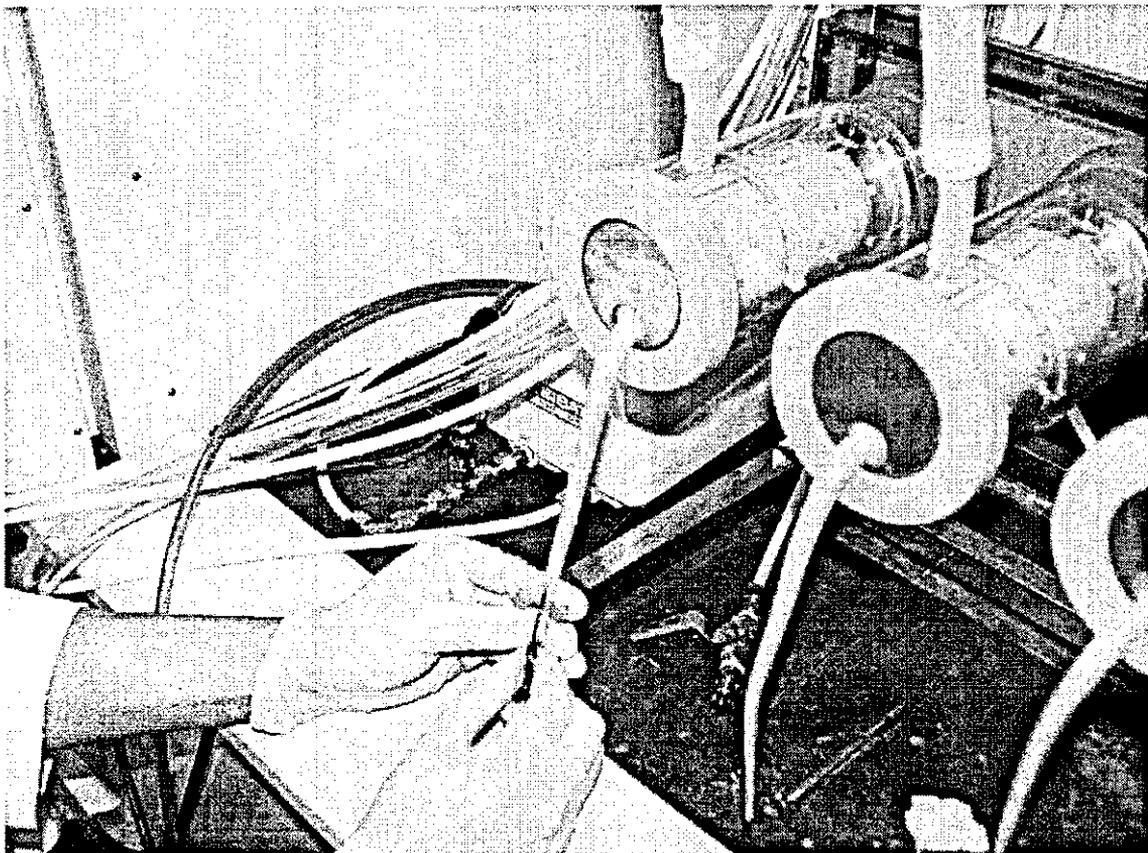


Figure 2. 吸入曝露中のラットからの採血

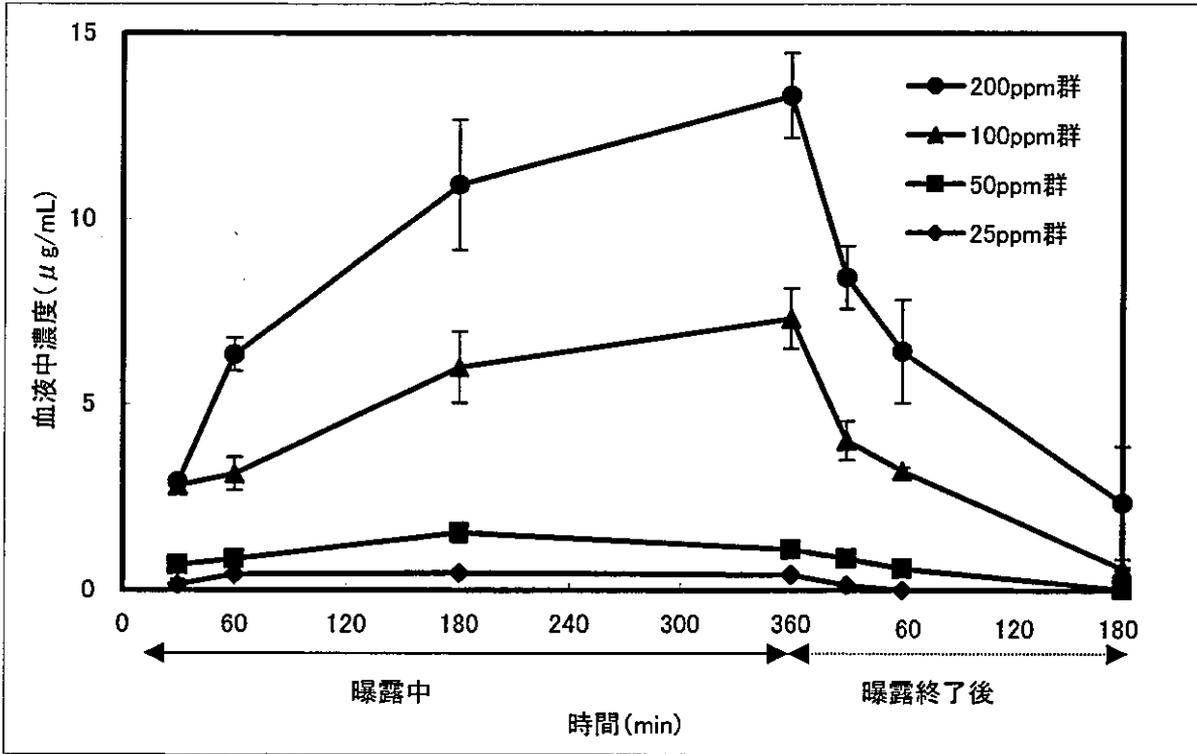


Figure 3. トルエンの血液中濃度(吸入曝露群)

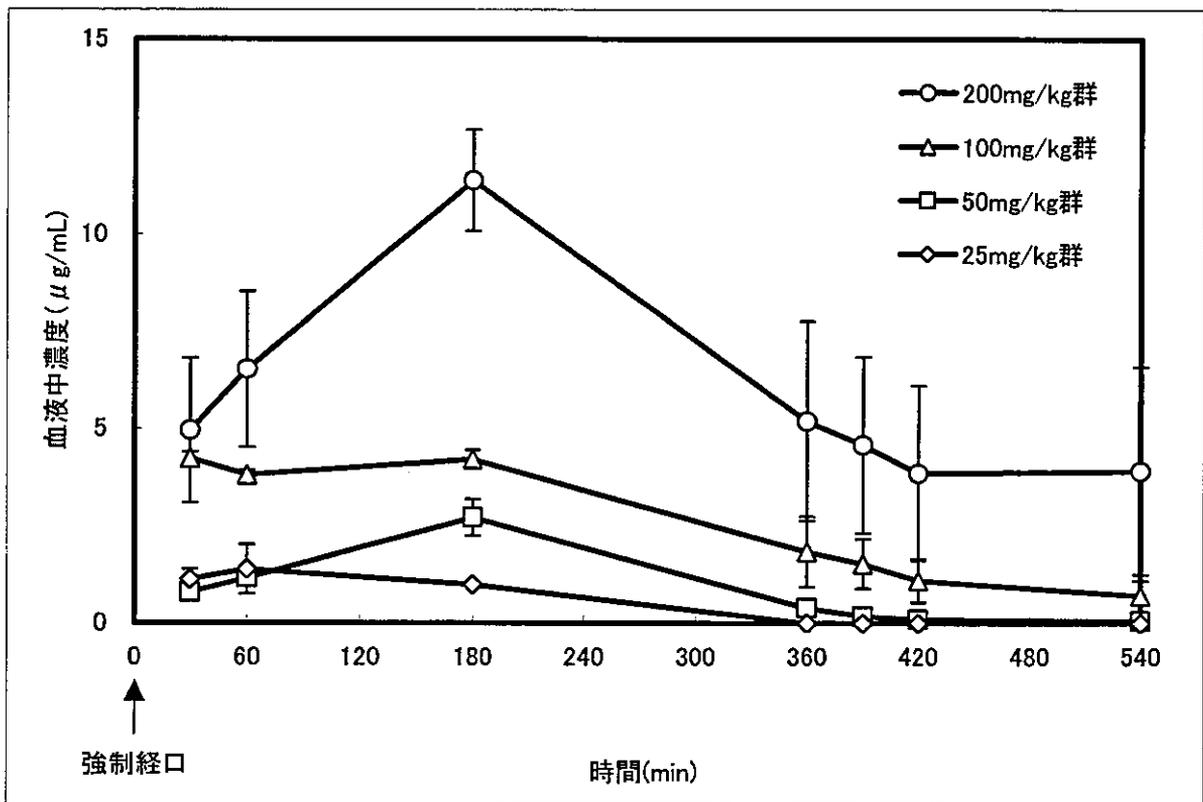


Figure 4. トルエンの血液中濃度(経口投与群)

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

ii) 低濃度アセトアルデヒド経気道曝露による生体影響評価

分担研究者 嵐谷奎一 産業医科大学 産業保健学部 教授
研究協力者 櫻田尚樹 産業医科大学 産業保健学部 助教授

研究要旨：化学物質過敏症の原因物質のひとつとして懸念されているホルムアルデヒド同様にアルデヒド類の一種で人体への曝露も比較的大きいと予想されるアセトアルデヒドの曝露実験系の確立を目指した。その結果、ガス拡散管法を用いた経気道曝露装置を確立できた。また、生体内曝露指標としてのアセトアルデヒド-ヘモグロビン付加体の測定法も確立できた。

A. 研究目的

平成 15 年 2 月現在でケミカルアブストラクトに登録されている化学物質は 2110 万種を超え、毎日約 4100 種が新規に登録されているように近年みのまわり生活環境中の化学物質の種類増加は著しい。さらにオフィスや住宅の建材の変化・気密性の増加なども加わり、種々の症状を訴える人が増加し、シックビルディング症候群あるいは化学物質過敏症（以下 MCS）という概念が提唱され、その対応が緊急に迫られている。一方で MCS に関しては概念・病態は解明されておらず、定義もいくつもあるなどコンセンサスが得られていない部分が多く問題が残されている。

われわれは、これまでに環境省の「本態性多種化学物質過敏状態の調査研究」の一環で「モデル動物を利用した非アレルギー性の過敏状態の発症機序の検討」を分担実施し、その中で MCS の原因物質として最も懸念されているホルムアルデヒドについてマウスを用いた低濃度経気道曝露実験を実施して来た。その結果、低濃度においても中枢神経系に対する刺激、視床下部-下垂体軸に対するストレス反応やそれらに基づくと思われる不安行動の誘発などが

観察された。

本研究では、ホルムアルデヒドの代替物質としての使用が増加傾向にあるアセトアルデヒドについて、低濃度経気道曝露実験系を確立し、その生態影響を評価することを試み、初年度は、曝露系の確立を目指した。

B. 研究方法

(1) 吸入曝露装置

吸入曝露実験装置の概略図（図 1）を示す。装置はアセトアルデヒドのガス発生装置と、曝露チャンバーとから構成されている。

アセトアルデヒドガスの発生には、ディフュージョンチューブ法（ガス拡散管法）を用いた動的ガス発生法によった（図 1）。ガス拡散速度は拡散管の断面積に比例し、長さに反比例する。今回ガス拡散管（ディフュージョンチューブ）としては、内径 15mm、高さ 18 cm のガラス製容器を用いた (3)。これを低温恒温槽（4℃）(2) に設置し、一定流量の空気を送気して一定濃度のガスの発生を得た。

曝露チャンバー（容積 100L）(4) はステンレス製で、下部に尿・糞を廃棄処理するための容器 (5, 6) が取り付けられている。また、チャンバ

一側面には、内部の空気をサンプリングするためのガス採取口が取り付けられている。このチャンバーの下部よりポンプ(7)を用いて空気を排気することにより、チャンバー上部から室内空気を希釈空気として導入した。アセトアルデヒドガスを含む空気は、チャンバー上部のT字型の配管部の側面から導入され、希釈空気と混合してチャンバー内に入れた。

(2) 曝露濃度評価

チャンバー内曝露濃度は、検知管法および化学分析により評価した。すなわち2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH)を含浸したシリカゲルカラム (Waters Sep-Pak XPoSure™ Aldehyde Sampler) に気中アセトアルデヒドを捕集し、アセトニトリルで溶出後、逆相型カラムを用いる高速液体クロマトグラフィーにて分離・定量を行った(図2)。DNPHとアルデヒド類の反応過程を図2に示す。また、曝露中の濃度変化を、ホルムアルデメーター (JMS, 東京) を用いて連続モニタリングを実施した。ホルムアルデメーターは、本来ホルムアルデヒドを測定する装置であるが、アセトアルデヒドにも交差反応を示し、今回の実験では、チャンバー内化学物質としてはアセトアルデヒドだけが占める状態にあるため、相対的な濃度の評価は可能であった。

(3) バイオロジカルモニタリング

次年度以降、マウスを用いた曝露実験を行うに当たって、生体内曝露指標としてアセトアルデヒド-ヘモグロビン付加体を測定することを想定し、その測定系の確立を試みた。

すなわちヘパリン加採血し、遠心分離をすることによって血漿と赤血球層を分離し、赤血球層は生食で三回洗浄後、蒸留水と四塩化炭素を加えて溶血及びdebrisの除去を行った。これを高速遠心分離し、上層をエッペンドルフチューブに分注した (=A液)。

Cyclohexan-1,3-dione を含む反応試薬と上記のA液あるいはその希釈液と反応させ誘導体を形成し、HPLCで分離・定量した(図6)。

アルデヒド類と Cyclohexan-1,3-dione との誘導体測定は HITACHI L-7485 の装置で、カラム Wakosil-(II)5C18 (250mm × 0.4mm, I.D.)、移動相は水/アセトニトリル = 60/40 (v/v)、検出は励起波長が 370nm、測定蛍光波長は 450 nm で行った。同時にヘモグロビン濃度をシアンメトヘモグロビン法 (和光純薬、ヘモグロビン-テストワコー) を用いて測定した。

C. 研究結果

アセトアルデヒド曝露:

曝露チャンバー内のアセトアルデヒドは、DNPH シリカゲルカラムに吸着後 HPLC で図3に示すように単一ピークとして分離定量できた。

上段はアルデヒド類-DNPH 誘導体の標準物質、下段は実際のチャンバー内空気捕集サンプルのクロマトグラムを示している。

アセトアルデヒドの蒸気圧は温度により変化するため、温度と理論上の蒸気圧の関係は図4の曲線に示すとおりである。ガス拡散管をセットする恒温槽の温度のみを変えて発生するチャンバー内濃度を測定したところ図4中の●印で示すように変化し、比較的理論値に近い変化を示した。

次に、曝露時間中のチャンバー内の濃度変化をホルムアルデメーターを用いて連続測定して評価した。図5に示すように、曝露開始10数分で目標濃度に達し安定した濃度を維持し、曝露中止後は速やかに低下し、約10分でバックグラウンドレベルにすることが確認された(図5)。この時のチャンバー内濃度は定常状態に達したときの実測値で 8ppm であった。

バイオロジカルモニタリング:

マウス血液を用いて、生体内曝露指標として

のアセトアルデヒド-ヘモグロビン付加体の測定法の確立を試みた。その結果、図6に示すような明確なピークを分離定量することが可能となった。アセトアルデヒドは、赤血球により取り込まれ、ヒトおよびヒビのエタノール摂取後には、*in vivo*(生体内)において、その細胞内濃度は血漿の10倍にもなり得ることが報告されている。経気道曝露においても生体内曝露指標として有用と考えられる。

D. 考察

今回、10ppm前後の低濃度アセトアルデヒドの吸入曝露実験系を確立することが出来た。また、生体内曝露指標としてのアセトアルデヒド-ヘモグロビン付加体の測定法も確立できた。次年度以降はこの曝露系を用いて実際にマウスの曝露実験を進めていく予定である。

今回、本研究の一環としてアセトアルデヒド曝露による生態影響を評価することを計画した。アセトアルデヒドに関しては、平成14年1月22日、「シックハウス(室内空気汚染)問題に関する検討会」において、室内空気汚染に係るガイドラインとして、新たにアセトアルデヒドの室内濃度指針値に係る検討結果がとりまとめられ、以下のように報告された。

その概要は、現在の知見においては、アセトアルデヒドの発がん性を示唆する証拠は、極めて高濃度の曝露群を設定した一部の動物実験に限られている。また、ヒトでの調査においても発がん性を明確に示唆する証拠は得られておらず、IARC(国際がん研究機関)における発がん性の分類においてもアセトアルデヒドは「2B」に分類されており、アセトアルデヒドがヒトに対する発がん性を明確に有するものではないとされていることなどを勘案し、アセトアルデヒドの指針値の策定には、閾値のある発がん性以外の毒性を指標とし、耐容一日摂取量を求める方法で算出することが適当と判断された。

その上で、アセトアルデヒドについては、ラ

ットに対する経気道曝露に関する知見から、鼻腔嗅覚上皮に影響を及ぼさないと考えられる無毒性量を基に算出し、室内濃度指針値を $48\mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.03ppm)と設定された。

すなわち、ラットに4週間の経気道曝露を行った実験で求められた無影響量(no-observed-effect level:NOEL) = $270\text{mg}/\text{m}^3$ を用いて耐容濃度を求めることとされた。

またNOEL = $270\text{mg}/\text{m}^3$ として耐容濃度を計算するに当たり、不確実係数としては、種差10、個体間差10の他、遺伝子障害性の懸念があること、当該試験が4週間という比較的短い試験系であること、動物を用いた発がん性試験で上皮の過形成及び化生など刺激による発がんが生じていることなどを考慮してさらに10をかけることとし、合計で1000を用いることとされた。

また、当該試験は1日6時間(加重平均)、週5日投与であることから1日24時間、週7日に換算すると、アセトアルデヒドの室内濃度指針値は、 $270\text{mg}/\text{m}^3 \times 1/1000 \times 6/24 \times 5/7 = 48\mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.03ppm)と決定された。

なお、作業環境中の許容限度としては、ACGIHのTLV-CEILINGとして $45\text{mg}/\text{m}^3$ (25ppm)、日本産業衛生学会の最大許容濃度として $90\text{mg}/\text{m}^3$ (50ppm)が勧告されている。

アセトアルデヒド(CH_3CHO)の一般的な性状として、分子量44.05、刺激臭のある液体もしくは気体であり、沸点20.2度と低いため揮発性が高い。

用途あるいは発生源としては、接着剤、防腐剤、フィルム現像液など、あるいは喫煙による産生や、飲酒によるエタノールの中間代謝物として人そのものからの発生もある。大多数の人々のアセトアルデヒドへの曝露は、このアルコール飲料の摂取によるものである。エタノールはアルコール脱水素酵素(デヒドロゲナーゼ)(ADH)によりアセトアルデヒドに代謝される。さらにアセトアルデヒドは主にアセトアルデヒド脱水素酵素(ALDH)2によって酢酸と水に分解

されるが、日本人を含む東洋人の約半数にはこのALDH2活性の欠損している遺伝子多型が知られている。

アセトアルデヒドの人への健康影響としては、上記飲酒時のいわゆる二日酔いの原因物質の一つとして知られる。また蒸気は目、鼻、のどに刺激がある。目に侵入すると結膜炎や目のかすみを起こす。長期間の直接接触により発赤、皮膚炎を起こすことがある。高濃度蒸気の吸入による中毒症状として、麻酔作用、意識混濁、気管支炎、肺浮腫等があり、初期症状は慢性アルコール中毒に似ている。

比較的高濃度曝露時のこれらの影響はこれまでも報告されてきた。しかし、シックビルディング症候群あるいはMCSという概念を想定しての曝露実験はあまり実施されてきていない。そこで、本研究では次年度以降、これまでに行われてきたよりはるかに低い曝露濃度による経気道曝露実験を実施し、免疫学的パラメーターの推移や中枢神経系の刺激の有無などについて包括的に検討を加えていく予定である。

E. 結論

アセトアルデヒドの曝露実験系をガス拡散管法を用いて、また、生体内曝露指標としてのアセトアルデヒド-ヘモグロビン付加体の測定法を確立できた。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

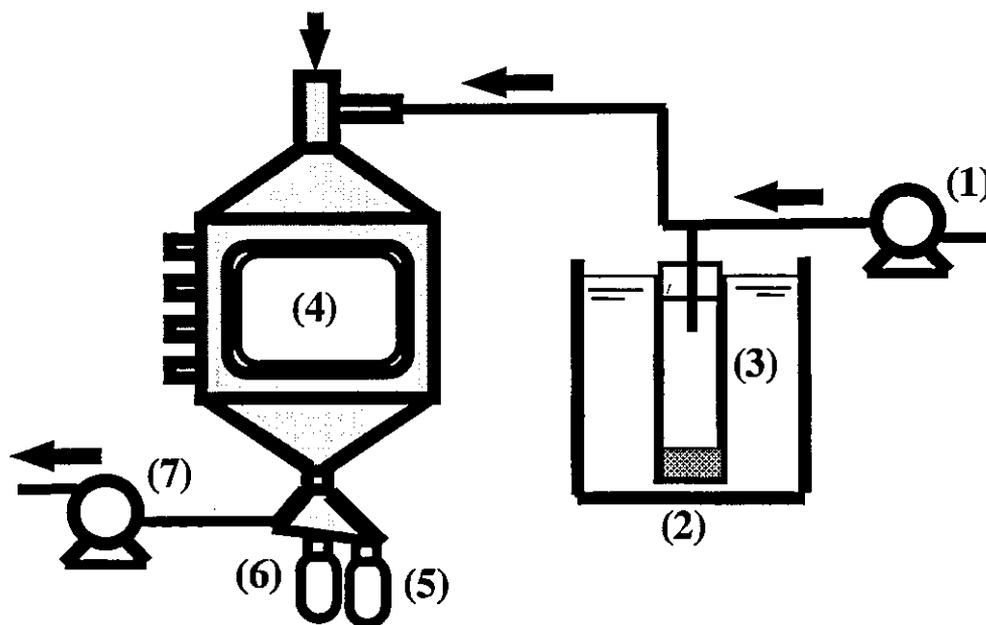
2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図1 アセトアルデヒド吸入曝露装置の概略図



(1)ミニポンプ (2)恒温槽 (3)アセトアルデヒド発生器 (4)チャンバー
 (5)尿採取瓶 (6)糞採取瓶 (7)ポンプ

図2 HPLCによる気中濃度の測定

反応試薬：2,4-Dinitrophenyl hydrazine Hydrochloride (DNPH)

HPLC条件：Wakosil-(II)5C18

測定波長360nm,

移動相：0.2M酢酸／アセトニトリル
 =35／65

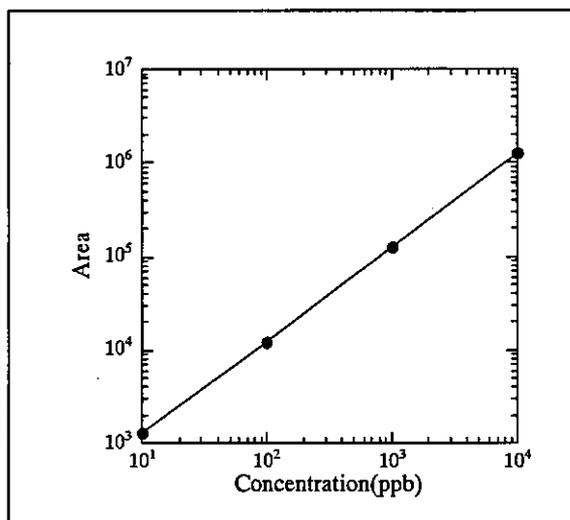
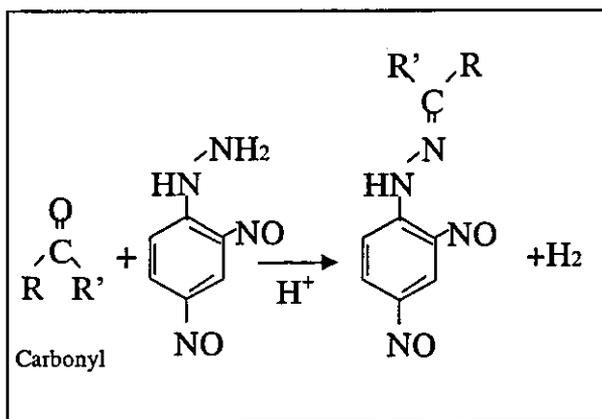
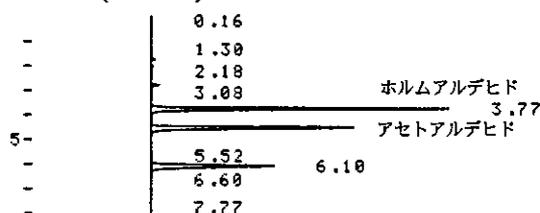


図3 アルデヒド類DNPH誘導体のクロマトグラム

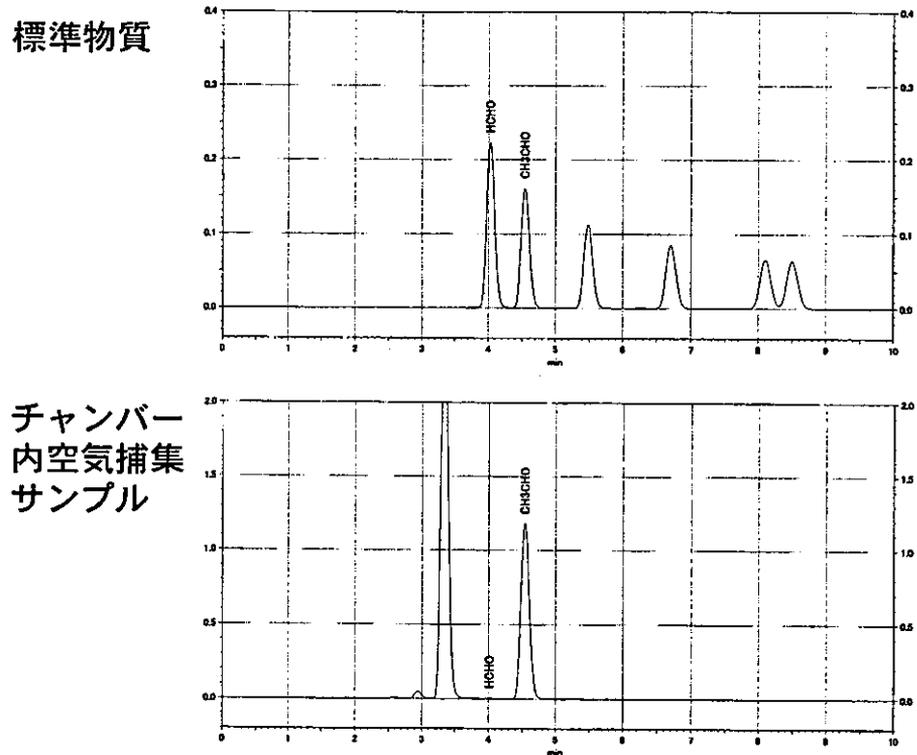


図4 蒸気圧理論値と曝露チャンバー濃度

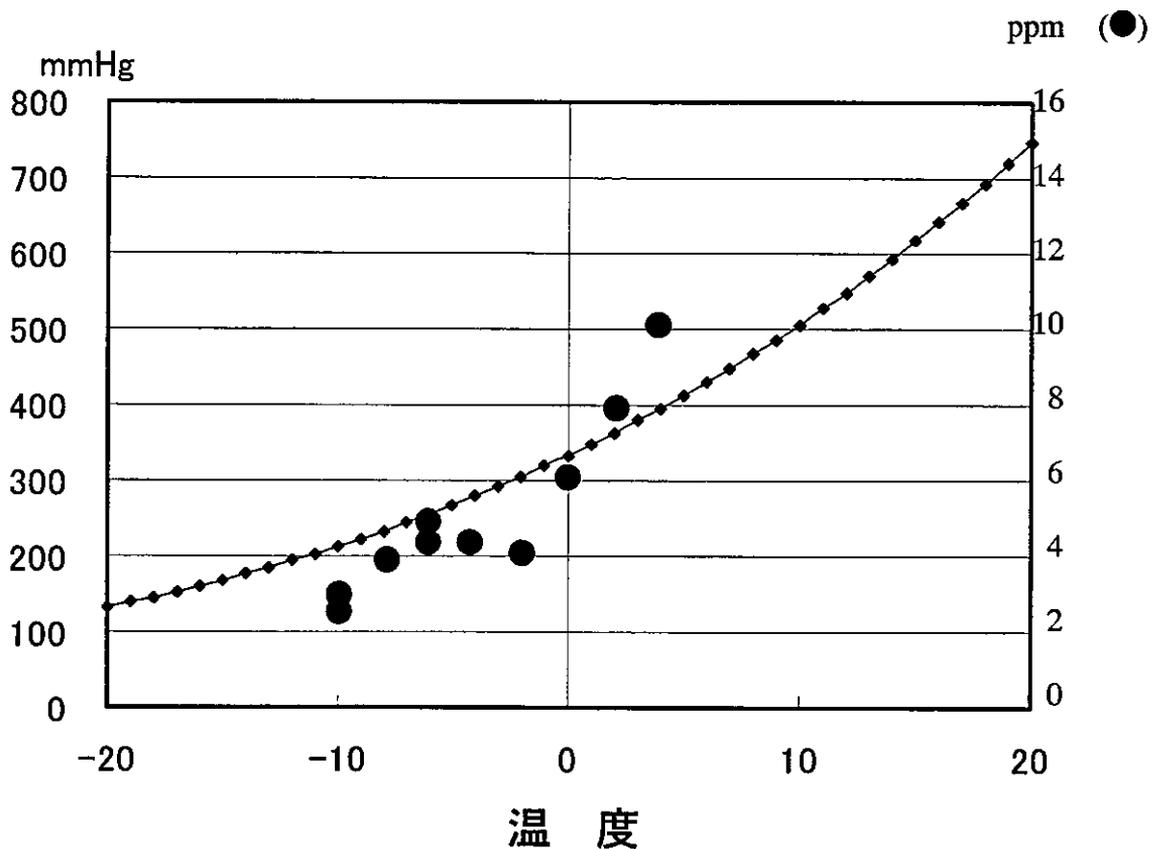


図5 チャンバー内濃度の経時変化

相対濃度

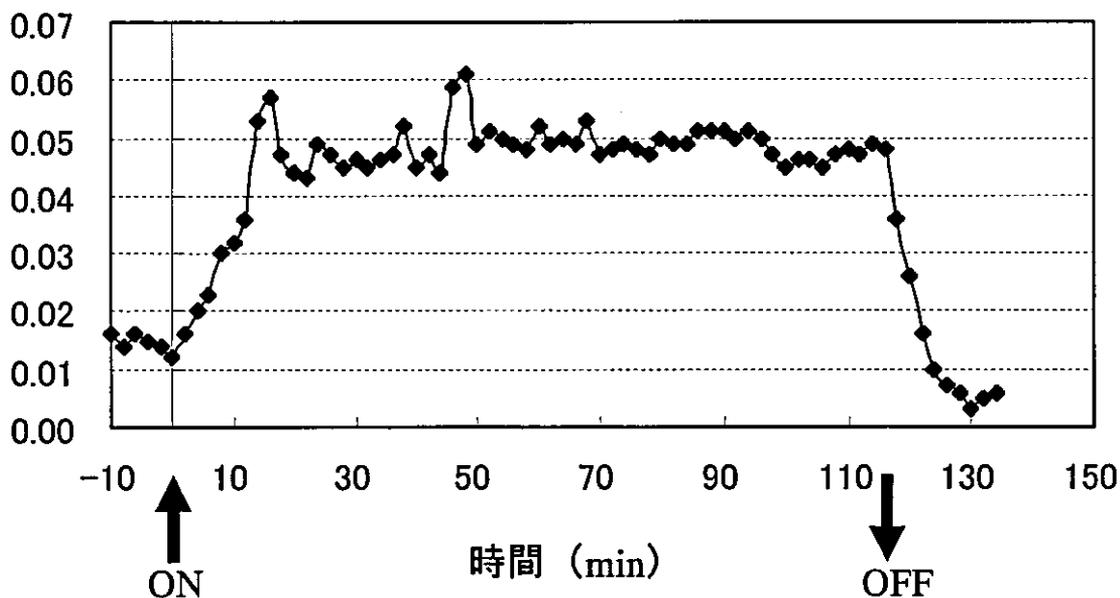


図6 HPLCによるヘモグロビン付加体の測定

- ヘパリン採血
- 生食で洗浄、CCl₄添加遠心してdebris除去
- 水を加え、溶血させ試料とした。

●Petersonら(1987)の方法に従い測定。

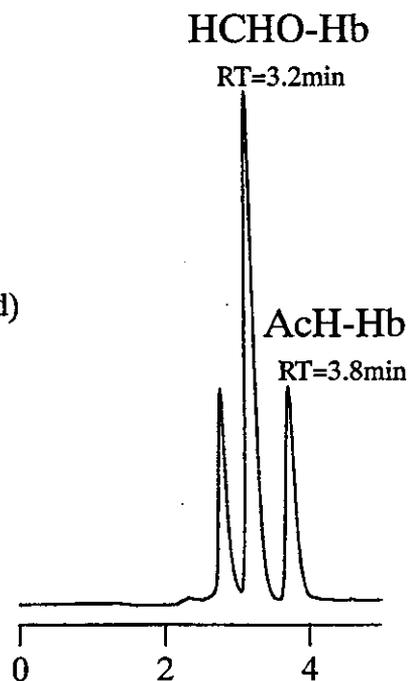
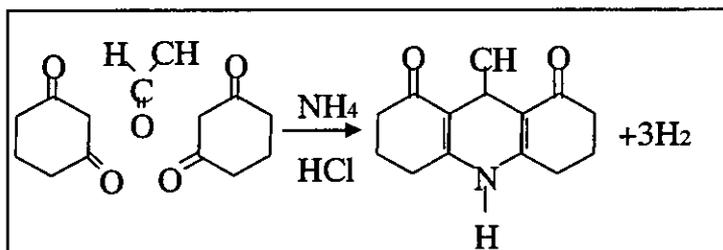
反応試薬：cyclohexane-1,3-dione 40mg
酢酸アンモニウム10g
濃塩酸 3.2 ml
水 30 ml

試料：反応試薬=1:1で混合、90℃、15分

HPLC条件：Wakosil-(II)5C18 (150mm x 4.6 mm, i.d)

励起波長370nm, 測定蛍光波長450nm

移動相：水：アセトニトリル=70：30



IV. 家庭用品由来化学物質の暴露のシナリオの作成と

推計モデルの開発に関する研究

i) 浴室における家庭用品中化学物質の暴露に関する研究

国立医薬品食品衛生研究所 環境衛生化学部 神野 透人

ii) 大学施設における揮発性有機化合物に関する研究

武蔵野大学 薬学部 薬学研究所 環境化学研究室 安藤 正典