

厚生労働科学研究費補助金  
健康科学総合研究事業

環境中微量化学物質に対する感受性の動物種差、  
個人差の解明に関する研究

平成16年度 総括・分担研究報告書

平成17年3月

主任研究者 加藤 貴彦

## 目 次

I. はじめに .....	1
II. 総括研究報告	
環境中微量化学物質に対する感受性の動物種差、個人差の解明 .....	3
—高精度リスク評価法の開発—	
加藤 貴彦 (宮崎大学 医学部 衛生・公衆衛生学講座)	
III. 分担研究報告	
1. クロルピリフォス、ジクロロベンゼンの薬物動態に関する文献調査 .....	9
加藤 貴彦 (宮崎大学 医学部 衛生・公衆衛生学講座)	
黒田 嘉紀 (宮崎大学 医学部 衛生・公衆衛生学講座)	
樺田 尚樹 (産業医科大学・産業保健学部 保健情報科学講座)	
平野靖史郎 (独立行政法人国立環境研究所 環境研究領域)	
2. 化学物質高感受性集団のスクリーニングのための動物モデルの検討 .....	27
関 直彦 (千葉大学・医学部・機能ゲノム学講座)	
笛田由紀子 (産業医科大学 産業保健学部)	
樺田 尚樹 (産業医科大学 産業保健学部)	
嵐谷 奎一 (産業医科大学 産業保健学部)	
3. 環境中微量化学物質の人への健康影響に関する疫学的研究 .....	31
加藤 貴彦 (宮崎大学 医学部 衛生・公衆衛生学講座)	
黒田 嘉紀 (宮崎大学 医学部 衛生・公衆衛生学講座)	
中尾 裕之 (宮崎大学 医学部 衛生・公衆衛生学講座)	
4. 室内環境中微量化学物質に対する相談回答マニュアルの作成 .....	47
加藤 貴彦 (宮崎大学 医学部 衛生・公衆衛生学講座)	
嵐谷 奎一 (産業医科大学 産業保健学部)	
樺田 尚樹 (産業医科大学 産業保健学部)	

黒田 嘉紀 (宮崎大学 医学部 衛生・公衆衛生学講座)

関 直彦 (千葉大学・医学部・機能ゲノム学講座)

中尾 裕之 (宮崎大学 医学部 衛生・公衆衛生学講座)

平野靖史郎 (独立行政法人国立環境研究所 環境研究領域 室長)

笛田由紀子 (産業医科大学 産業保健学部)

III. 研究成果・関連資料

..... 53

## はじめに

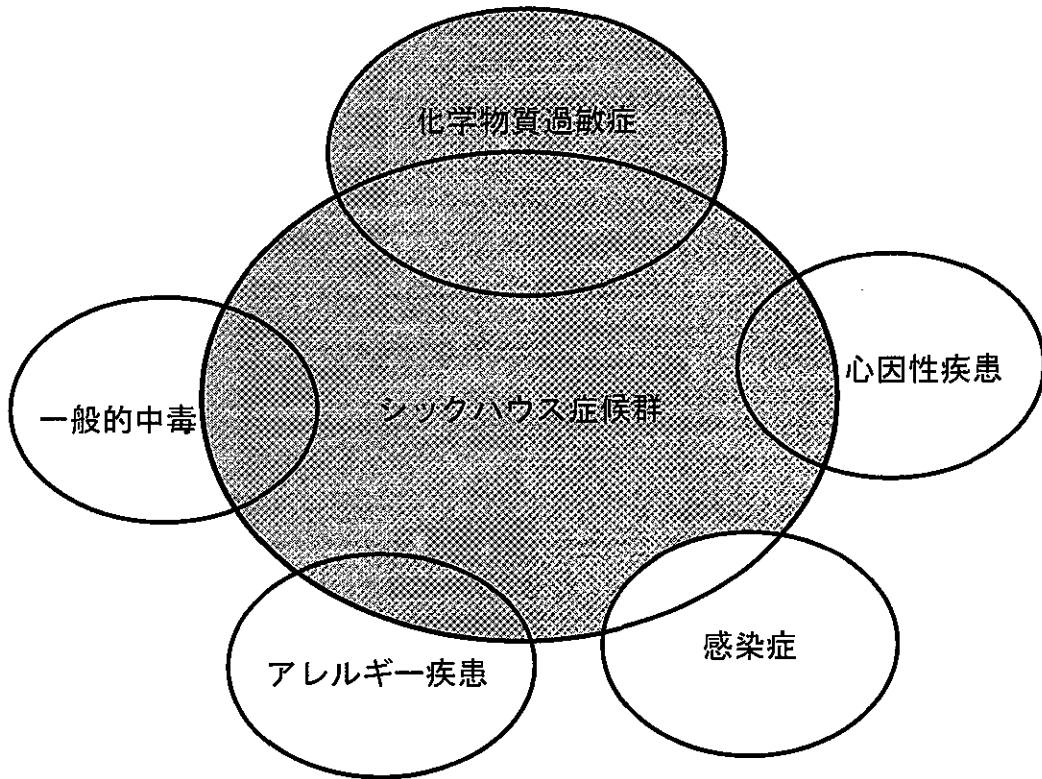
“環境中微量化学物質に対する感受性の動物種差、個人差の解明—高精度リスク評価法の開発—”の研究班がスタートして3年目の最終年度となった。我々の研究班では、“化学物質に強く反応する人々”を“化学物質高感受性集団”(Chemical Hyper susceptible Population: 以下 CHP と略)と定義し、疫学研究と動物実験の2本柱で研究を進めてきた。

その結果、今年度は以下の点が明らかとなった。

- 1) 疫学研究について: 個体の感受性要因の同定を目的としてホルムアルデヒド、アセトアルデヒドの代謝に関与する (aldehyde dehydrogenase, ALDH) 2、グルタチオン S-トランスフェラーゼ (glutathione S-transferase, GST) M1、GSTT1の遺伝子多型を分析した。しかし、いずれの遺伝子多型もCHPの感受性要因としての関連性は認められなかった。
- 2) 動物実験について: 初年度、安定した低濃度ホルムアルデヒド経気道暴露が可能な実験系を立ち上げた。その暴露系を用いて2000ppbホルムアルデヒドをマウスに12週間経気道暴露した。海馬DNAチップを用いて関連チャンネル・受容体や酵素系などを検討したが、我々の実験条件では遺伝子発現に関して暴露の影響は見られなかった。

過去3年間研究を実施しかつ関連情報を収集したが、いまだシックハウス症候群、MCS (Multiple Chemical Sensitivity: 多種化学物質過敏状態/化学物質過敏症) の概念・病態や従来の中毒、免疫異常、心理的要因との関係についても整理されているとはいえない。しかし、我々は現時点で得られる情報を整理し、研究班の最終目的である“室内環境中化学物質の健康影響マニュアル”の作成を試みた。今回作成したマニュアル(別冊資料)が、全国の保健所にとってシックハウス相談の一助になれば幸いである。

■: 化学物質高感受性集団 (CHP)



宮崎大学 医学部 衛生・公衆衛生学講座  
加藤 貴彦

厚生科学研究費補助金（健康科学総合研究事業）

（総括）研究報告書

環境中微量化学物質に対する感受性の動物種差、個人差の解明

—高精度リスク評価法の開発—

主任研究者 加藤 貴彦 宮崎大学 医学部 衛生・公衆衛生学 教授

研究要旨 微量化学物質によるとされる病態として中毒、アレルギー疾患、心因反応、多種化学物質過敏状態（MCS）がある。本研究では、化学物質によってこれらの病態を引き起こす人々を“化学物質高感受性集団”（Chemical Hyper susceptible Population: 以下 CHP と略）と定義し、その病態と概念を明らかにし室内環境中化学物質の健康影響マニュアルの作成を最終目的とする。本年度は以下のような研究を実施した。

1) クロルピリフォス、ジクロロベンゼン薬物動態に関する文献調査：

人の分子疫学研究と動物モデルの実験結果を人へ外挿するためには、化学物質の代謝酵素に関する薬物動態学的な情報が不可欠である。本分担研究では、CHP の代表的原因化学物質であるクロルピリフォス、ジクロロベンゼンの物理特性、毒性、薬物動態、種差、個体差に関する情報を収集・整理した。

2) 化学物質高感受性集団のスクリーニングのための動物モデルの検討：

マウスを用いた低濃度ホルムアルデヒド経気道暴露系を確立し、3ヶ月にわたる暴露実験を行った。海馬 DNA チップを用いて関連チャンネル・受容体や酵素系など検討したが、我々の実験条件では遺伝子発現に関して暴露の影響は見られなかった。

3) 環境中微量化学物質の人への健康影響に関する疫学的研究：

CHP の個体感受性要因の同定を目的としてホルムアルデヒド、アセトアルデヒドの代謝に関与する (aldehyde dehydrogenase, ALDH) 2、グルタチオン S-トランスフェラーゼ (glutathione S-transferase, GST) M1、GSTT1 の遺伝子多型を分析した。遺伝子解析を実施した対象数は総計 1028 名である。質問表による調査は、ハイスコア群、ミドルスコア群、ロースコア群の3群に分け、ALDH2、GSTM1、GSTT1 の遺伝子多型の頻度を比較検討した。その結果、3種類の遺伝子多型頻度のいずれについても3種類の質問項目のハイスコア群、ミドルスコア群、ロースコア群の間に有意な差は認められなかった。

4) 3年間の研究結果をもとに、保健所において住民相談に対応する“室内環境中微量化学物質に対する相談回答マニュアル”を作成した（別冊資料）。

#### 分担研究者

黒田 嘉紀・宮崎大学・医学部  
衛生・公衆衛生学講師

中尾 裕之・宮崎大学・医学部  
衛生・公衆衛生学・助手

平野靖史郎・独立行政法人国立環境研究所  
環境研究領域 室長

嵐谷 奎一・産業医科大学 産業保健学部  
教授

樺田 尚樹・産業医科大学 産業保健学部  
助教授

笛田由紀子・産業医科大学産業保健学部  
助手

関 直彦・千葉大学・医学部 助教授

#### 研究協力者

小林 弥生・長寿科学振興財団  
・リサーチレジデント

小宮 康裕・宮崎大学・医学部  
衛生・公衆衛生学講座

中原 愛 ・宮崎大学・医学部  
衛生・公衆衛生学講座

#### A. 研究目的

近年、身近に存在する化学物質の種類が増加やオフィス・住宅の建材の変化・気密性の増加などによって種々な症状を訴える人が増加している。これらの症状は、シックハウス症候群、多種化学物質過敏状態 (MCS) などの名称で呼ばれているが、その概念・病態については十分に解明されておらず、有効な健康影響の指標も見つかっていない。我々は、これら病態を引き起こす人々を“化学物質高感受性集団 (Chemical Hyper susceptible Population: 以下 CHP と略)”と定義し、その病態と概念を検討した。そして、文献調査、動物実験、疫学研究、

によって得られた結果をもとに、保健所における住民や建築業界への指導の際に使用する室内環境中微量化学物質に対する相談回答マニュアルの作成を目的とした。

#### B. 研究方法

研究方法として、動物実験と疫学研究を実施した。また、分子疫学研究の候補遺伝子の選択や動物モデルの実験結果を人へ外挿するためには、化学物質の代謝酵素の薬物動態学的な情報が不可欠である。そこで、加藤、黒田、樺田、平野が分担研究の一つとして、CHP の代表的な原因化学物質であるクロルピリフォス、ジクロロベンゼンの薬物動態に関する情報を整理した。

動物実験については、嵐谷、樺田、笛田、関が行い、疫学研究は、加藤、黒田、中尾が行った。2つの専門家グループがこれらの分担研究を行ったが、相互の研究結果を生かせるように情報交換を頻繁に行い、適宜協力し研究を実施した。また、最終目的である室内環境中化学物質の健康影響マニュアルの作成は班員すべてで作業を行った。


本年度は以下の研究を実施した。

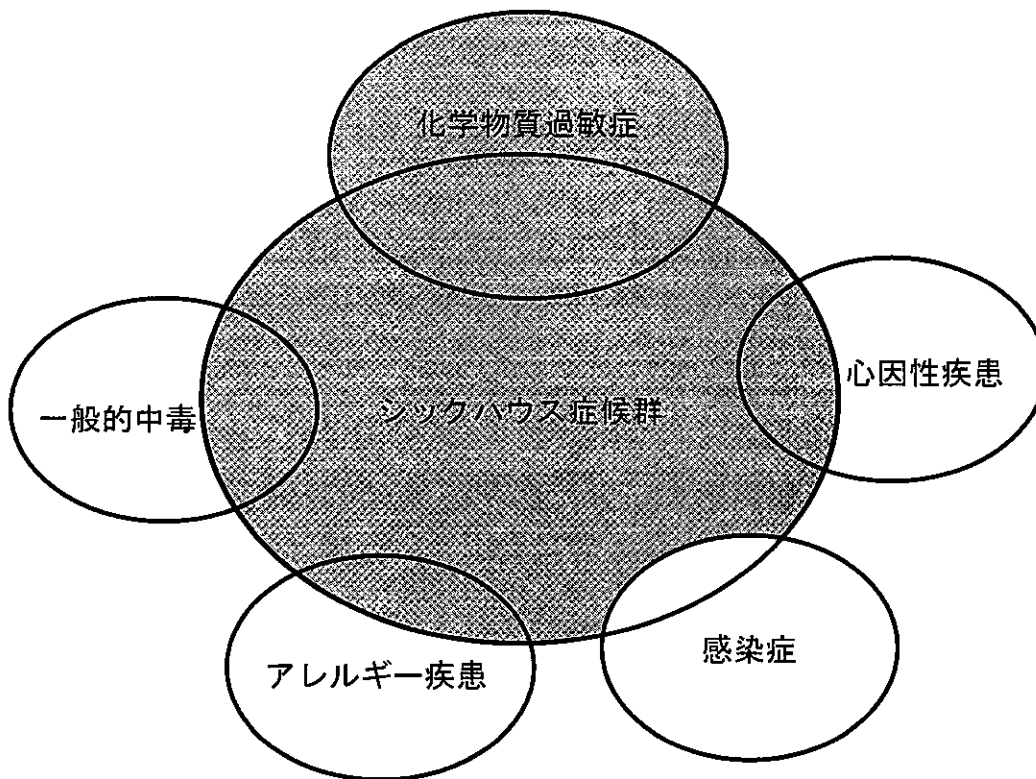
1. シックハウス症候群、MCS の代表的な原因化学物質であるクロルピリフォス、ジクロロベンゼンの物理特性、毒性、薬物動態、種差、個体差に関する情報を文献的に整理した。
2. 動物実験  
初年度開発した微量吸入暴露装置を用い、3ヶ月間の微量暴露実験を行った。中枢神経、特に海馬への影響に関し海馬 DNA チップを用いて遺伝子発現解析を行った。
3. 分子疫学研究  
CHP の個体感受性要因の検索を目的とし

て昨年 15 年度に実施した Quick Environmental Exposure AND Sensitivity Inventory (QEESI) 調査対象者よりゲノム DNA を抽出し、(aldehyde dehydrogenase, ALDH) 2、グルタチオン S-トランスフェラーゼ (glutathione S-transferase, GST) M1、GSTT1 の遺伝子多型に関し分子疫学的な解析を行った。

#### 4. 室内環境中微量化学物質に対する相談回答マニュアルの作成

3 年間の研究成果とその間に得られた知見をもとに、主に医学的な視点から全国の保健所の職員が住民からの各種相談へ対応できる“室内環境中微量化学物質に対する相談回答マニュアル”を作成した。

: 化学物質高感受性集団 (CHP)





## C. 研究結果

### 1. 原因化学物質の薬物動態に関する文献調査

本年度も動物実験としてホルムアルデヒドの微量暴露実験を実施している。動物実験の結果を人へ外挿するためには、CHPの原因化学物質の薬物動態に関する情報が不可欠である。また、化学物質の代謝には遺伝的な個人差も存在し、CHPの一因となっていると考えられる。以上のような理由から、加藤、黒田、樺田、平野は CHP の代表的な原因化学物質であるクロルピリフォス、ジクロロベンゼンの物理特性、毒性、薬物動態、種差、個体差に関する情報を収集・整理した。

### 2. 動物実験

嵐谷、樺田、笛田、関らは、微量吸入暴露装置によりマウスを用いた3ヶ月間の慢性暴露実験(2000ppb)を行った。海馬 DNA チップを用いて関連チャンネル・受容体や酵素系など検討したが、我々の実験条件では遺伝子発現に関して暴露の影響は見られなかった。

### 3. 分子疫学研究

昨年度、加藤、平野、中尾らはCHPの実態把握を目的として、宮崎県内の2つの企業社員(総計2201名:A社1310名、B社891名)を対象としてQuick Environmental Exposure AND Sensitivity Inventory (QEESI)による質問表調査を行った。本年度は同意の得られた調査対象者からゲノムDNAを抽出し、個体の感受性要因の同定を目的としてホルムアルデヒド、アセトアルデヒドの代謝に関与するアセトアルデヒド脱水素酵素(ALDH2)、グルタチオン S-トランスフェラーゼ(glutathione S-transferase, GST) M1、GSTT1の遺伝子多型を分析した。遺伝子解析を実施した対象数は、総計1028名、A社449

名(男性348名、女性101名)、B社579名(男性576名、女性3名)であった。質問表による調査結果を、“症状”、“化学物質暴露”の2つの質問項目はハイスコア群( $\geq 40$ )、ミドルスコア群( $1 \leq$  ,  $< 40$ )、ロースコア(0)群の3群、“その他の化学物質暴露”に関しては、質問項目をハイスコア群( $\geq 25$ )、ミドルスコア群( $1 \leq$  ,  $< 25$ )、ロースコア(0)群の3群に分け、ALDH2、GSTM1、GSTT1の遺伝子多型の頻度を比較検討した。その結果、3種類の遺伝子多型頻度のいずれについても、3種類の質問項目のハイスコア群、ミドルスコア群、ロースコア群のあいだに有意な差は認められなかった。

### 4. 室内環境中微量化学物質に対する相談回答マニュアルの作成

3年間で得られた知見と発表された文献をもとに、保健所において住民相談に対応する“室内環境中微量化学物質に対する相談回答マニュアル”を作成した(別冊成果資料とした)。

## D. 考察

### 1. 原因化学物質の薬物動態に関する文献調査

ホルムアルデヒド、トルエン、キシレン以外にもクロルピリフォス、ジクロロベンゼンは代表的な CHP の原因化学物質と推測される。クロルピリフォスは有機リン系殺虫剤の一つで、昆虫・節足動物に対して効果を示すことから、農業生産以外にも生活環境の建築物敷地、その周囲、芝生といった箇所に防虫駆除剤として使用されてきた。パラジクロロベンゼンは室内においては、防虫剤、防臭剤として広く用いられている。これらの化学物質の代謝には、種差、個人差があることが報告されているが、その詳細については十分に

整理されていない。動物モデルの検討には、種差に関する情報に留意し、その結果をヒトへ外挿していく必要がある。また、化学物質の代謝には遺伝的な個人差が存在し、CHPの一因となっていると考えられる。

本分担研究では、代謝マップの作成と主要代謝酵素の遺伝子多型について情報を収集した。

## 2. 動物実験

これまでの報告によれば、MCSと診断された患者の中枢神経系関連の症状として、疲労感・頭痛・不安・憂鬱・集中できない・物覚えが悪くなった・いらいら感・めまい等報告されている (Miller CS, Toxicol Ind Health 10, 253-276 (1994); Miller CS, Arch Environ Health 50, 119-129 (1995))。これらの症状から、大脳辺縁系の関与を考え、海馬DNAチップを用いて関連チャンネル・受容体や酵素系など検討したが、我々の実験条件では遺伝子発現に関して暴露の影響は見られなかった。昨年度の電気生理学的アプローチでは、海馬CA1領域の錐体細胞において、刺激-応答曲線とシナプス長期増強を調べたところ、刺激-応答曲線が暴露群で有意に異なる結果が得られた。CHPによる生体影響は、分子生物学的アプローチで取らえられる程の変化ではなく、生理学的なネットワークの変化である可能性が推測される。今後の動物実験では、これまでに報告されている作業仮説をもとに実験デザインを組み、微量暴露の生体影響を多方面から検討することが必要であろう。

## 3. 分子疫学研究

質問表による調査結果を、“症状”、“化学物質暴露”の2つの質問項目はハイスコア群(≥40)、ミドルスコア群(1 ≤ , <40)、ロー

スコア(0)群の3群、“その他の化学物質暴露”に関しては、質問項目をハイスコア群(≥25)、ミドルスコア群(1 ≤ , <25)、ロースコア(0)群の3群に分け、ALDH2、GSTM1、GSTT1の遺伝子多型の頻度を比較検討した。しかし、今回の分析結果でALDH2、GSTM1、GSTT1の遺伝子多型との間に有意な差は認められなかった。すなわち、ハイスコアを示す群において、3つの遺伝子の高感受性と考えられているALDH2\*2ホモタイプ、GSTM1 nullタイプ、GSTT1 nullタイプ保有者が多いという結果は得られなかった。

今後はトルエン、キシレンの代謝に関与するCytochrome P450等の第1相酵素と有機リン系農薬の代謝酵素 Paraoxonase (PON) 1の遺伝子多型に関する分子疫学的解析をすすめていく必要がある。同時に化学物質に対する訴えは中年女性に多いことが報告されており、性別に分けた解析が必要であろう。

## E. 結論

- 1) クロロピリフォス、ジクロロベンゼンの薬物動態について整理した。
- 2) BALB/cの雄マウスを用いた3ヶ月間、2000ppb、ホルムアルデヒド暴露実験を実施した。MCS病態には大脳辺縁系の関与が示唆されている。大脳辺縁系になかで特に重要な部位である海馬のDNAチップを用いて関連チャンネル・受容体や酵素系など検討したが、我々の実験条件では遺伝子発現に関して暴露の影響は見られなかった。
- 3) CHPの個体の感受性要因の同定を目的としてホルムアルデヒド、アセトアルデヒドの代謝に関与するアセトアルデヒド脱水素酵素(ALDH2)、グルタチオン S-トランスフェラーゼ (glutathione S-transferase, GST) M1、

GSTT1の遺伝子多型を分析した。質問表による調査結果は、“症状”、“化学物質暴露”の2つの質問項目はハイスコア群(≥40)、ミドルスコア群(1 ≤ , <40)、ロースコア(0)群の3群、“その他の化学物質暴露”に関しては、質問項目をハイスコア群(≥25)、ミドルスコア群(1 ≤ , <25)、ロースコア(0)群の3群に分け、ALDH2、GSTM1、GSTT1の遺伝子多型の頻度を比較検討した。その結果、3種類の遺伝子多型頻度のいずれについても、3種類の質問項目のハイスコア群、ミドルスコア群、ロースコア群の間に有意な差は認められなかった。

- 4) 3年間の研究結果をもとに、保健所において住民相談に対応する“室内環境中微量化学物質に対する相談回答マニュアル”を作成した(別冊成果資料とした)。

F. 健康危険情報  
なし

G. 研究発表

1. 論文発表:

Munaka M., Kohshi K., Kawamoto T., Takasawa S., Nagata N., Itoh H., Oda S., Katoh T., Genetic polymorphisms of tobacco and alcohol-related metabolizing enzymes and the risk of hepatocellular carcinoma, J. Cancer Res. Clin. Oncol. 129, 355-360 (2003)

Tsukino H., Kuroda Y., Nakao H., Imai H., Inatomi H., Osada Y., Katoh T., Cytochrome P450 (CYP) 1A2, sulfotransferase (SULT) 1A1, and N-acetyltransferase (NAT) 2

polymorphisms and susceptibility to urothelial cancer. J Cancer Res Clin Oncol. 130, 99-106 (2004)

Kobayashi Y., Cui X, Hirano S., Stability of arsenic metabolites, arsenic triglutathione [As(GS)<sub>3</sub>] and methylarsenic diglutathione [CH<sub>3</sub>As(GS)<sub>2</sub>], in rat bile, Toxicology, in press (2005)

著書:

加藤貴彦、室内空気質と健康影響～解説シックハウス症候群、室内空気質健康影響研究会編、2004.

2. 学会発表

第14回日本臨床環境医学会総会で発表予定

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)  
該当せず

厚生科学研究費補助金(健康科学総合研究事業)

分担研究報告書

クロルピリフォス、ジクロロベンゼンの薬物動態に関する文献調査

分担研究者 加藤 貴彦 宮崎大学 医学部 衛生・公衆衛生学 教授  
黒田 嘉紀 宮崎大学 医学部 衛生・公衆衛生学 講師  
樺田 尚樹 産業医科大学・産業保健学部 助教授  
平野靖史郎 独立行政法人国立環境研究所 環境研究領域 室長  
研究協力者 小林 弥生 長寿科学振興財団・リサーチレジデント

研究要旨 我々は、“化学物質高感受性集団”(Chemical Hyper susceptible Population: 以下CHPと略)に関する研究を、1) 動物実験: 微量ホルムアルデヒドによる化学物質過敏症の病態解明・生体指標の発見  
2) 分子疫学的方法: 長期間のトルエン、キシレン暴露者を用いた暴露・ゲノム情報によるヒトの健康リスク評価 という二つアプローチによって進めている。動物実験の結果を人へ外挿するためには、CHPの原因化学物質の薬物動態に関する情報が不可欠である。また、化学物質の代謝には遺伝的な個人差も存在し、CHPの一因となっていると考えられる。以上のような理由から、CHPの代表的な原因化学物質であるクロルピリフォス、ジクロロベンゼンに関する文献上の知見を整理した。

A. 研究目的

身近に存在する化学物質の種類増加やオフィス・住宅の建材の変化・気密性の増加などによって種々な症状を訴える人が増加している。これらの健康障害を与える代表的な化学物質として、昨年度整理したホルムアルデヒド、トルエン、キシレン以外に白蟻防除剤のクロルピリフォス、防虫剤のパラジクロロベンゼンがあり、室内濃度の基準値が示されている。しかし、クロルピリフォス、ジクロロベンゼンの薬物動態学的な知見、特に代謝マップに関する情報は十分に整理されていない。そこで本分担研究では、クロルピリフォス、ジクロロベンゼンの物理化学的特性、毒性、薬物動態、種差、個

体差に関して文献的に検索した。

B. 研究方法

クロルピリフォス、ジクロロベンゼンの物理化学的特性、毒性、代謝経路、代謝酵素の遺伝子多型を文献、インターネット上の情報を中心に収集した。

(倫理面への配慮)

文献レビューのため、倫理的な問題はない。

C. 研究結果 & D. 考察

CHPの原因とされる化学物質であるクロルピリフォス、(パラ)ジクロロベンゼンの物理化

学的特性、毒性、代謝マップ、代謝酵素の遺伝子多型の検索・知見整理

## (1) クロルピリフォス

### (1-1) 用途

クロルピリフォスは有機リン系殺虫剤の一つで、トウモロコシ・大豆・牧草・落花生・果樹等の多くの農業生産において農薬として使用されていた。また、シロアリ、ゴキブリ、ノミ、アリといった 250 を超える種類の昆虫・節足動物に対して効果を示すことから、農業生産以外にも生活環境の建築物敷地、その周囲、芝生、公園の森林、植え込みといった箇所に防虫駆除剤として使用された。昆虫類の越冬卵に対しても効果を発揮する。アメリカ国内だけでも 16 種以上の農業用殺虫剤が市販され、農業外目的での使用を含めると 60 種近くの製品が市場に供給された。

2000 年 6 月、EPA(米環境保護局) は環境保護の立場、あるいは子供達への毒性を考慮して 2001 年内までにクロルピリフォスの国内使用を停止すると発表した(2000 年 6 月 8 日 EPA 発表)。日本においては 2000 年 12 月に厚生省(当時)のシックハウス(室内空気汚染)問題に関する検討会によって指針値が策定された(2000 年 12 月 22 日発表)。2002 年の建築基準法改訂によって、2003 年 7 月建材への使用は禁止となった。

### (1-2) 毒性

#### (1) 一般毒性

ラット、マウス、ヒトを含めたホ乳類に共通する毒性はコリンエステラーゼ(以下 ChE)阻害である。暴露濃度が高くなるにつれて血漿、赤血球、脳の順に ChE の活性が低下する。致死毒性の多くはこの ChE 阻害作用によるものであると考えられている。

マウスへの 14~56mg/kg bw/day、2 週間の混餌投与で振戦、眼球運動遅延、眼球混濁、うずくまり、流涙、体重減少、食餌量減少が投与量に関連してみられる。8 割のラットで血漿 ChE 活性が有意に低下し、約半数に赤血球 ChE 活性の低下、脳 ChE 活性低下が見られた。

ラットに 1.4~150mg/kg bw のクロルピリフォス経口投与においても同様に、血漿と赤血球の ChE が阻害され、最高用量のとき脳 ChE 活性が阻害された。マウスと類似した行動障害、他覚所見が認められ、雌ラットよりも雄ラットで毒性が強く現れる傾向があった。血中 GOT、GPT の上昇、肝臓に小葉中心性壊死と単球有意の炎症、精巣精管壊死、腎系球体の暗色調の腫脹、壊死が見られた。

ヒトでの暴露事故の症例報告によると、消化器症状として嘔吐、下痢、腹痛、呼吸器には肺水腫、呼吸困難、気道分泌物増加、循環器症状として血圧上昇、徐脈、不整脈、中枢神経症状として意識障害、痙攣、運動障害が認められる。これらの症状はアセチルコリン過剰蓄積が起こすムスカリン、ニコチン作用によるものである。その他に声帯の機能不全、腱反射消失、知覚障害、水頭症等が報告されている。

### (2) 変異原性

クロルピリフォスの Ames 試験結果は *S.typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 株において S9 mix 有無に関わらず陰性であった。クロルピリフォスを腹腔内、経口、経皮投与したマウスからの骨髓細胞を調べると、腹腔内・経口投与において微小核(micronuclei)、多核赤血球の出現率が増加し変異原性が疑われた。マウス脾臓初代培養細胞での姉妹染色体交換をみた研究ではクロルピリフォス 4  $\mu$ g/ml 投与で交換の増加を来し、

変異原性をもつと結論している。

### (3) 癌原性

ラットの2年間のバイオアッセイでは 0.05 ~10mg/kg/day の混餌投与においても赤血球および脳 ChE 低下を来したが、腫瘍発生の有意な上昇は観察されていない。

#### (1-3) 代謝系

脊椎動物では、クロルピリフォスの代謝は肝細胞内で行われ、複数の CYP が関与していると考えられている。ヒトのリンパ芽球に発現させた研究では、CYP1A2、2B6、2C9、2C19、2D6、3A4 がクロルピリフォスの代謝に関与していた。クロルピリフォスは、肝ミクロゾームの CYP によって約3倍以上高いコリンエステラーゼ抑制作用をもつクロルピリフォスオクソンへ代謝される。この酸化反応の中間体として phosphooxythiiran が考えられている。中間体 phosphooxythiiran から chlorpyrifos-oxon に代謝される経路は脱硫黄化と呼ばれ、ヒトにおいては CYP2B6 が強い活性を示す。肝以外では、paraoxonase が生体内のクロルピリフォスオクソンの加水分解に関わっている。

代謝に関与する酵素について述べる。CYP1A2 は肝臓で主に発現されており、食事・環境中の芳香族アミン、ヘテロサイクリックアミンの N-水酸化を触媒することによって、癌原性物質を活性化する酵素である。CYP1A2 遺伝子は第 15 番染色体に位置し、現在まで 13 の遺伝子多型が報告されている。そのなかで酵素活性に影響を及ぼすと考えられている遺伝子多型は 2 つあり、酵素活性を減少させるといわれている CYP1A2\*1C と、喫煙による酵素誘導によって発現量が多くなるといわれている CYP1A2\*1F がある。

CYP2B6 は、肝および肺、消化管に存在し、7-ベンゾイルオキシゾルフィンの代謝活性を持

つ。これまでに、少なくとも 8 つの遺伝子多型が発見されているが、機能との関連性については研究中である。

CYP2C9 は臨床的に重要な薬剤であるワーファリン、フェニトインや芳香族炭化水素の代謝に関与し、これまでに多数の研究者によって cDNA が単離されている。このなかで、コドン 144 残基目 (Arg から Cys への置換) と 359 残基目のアミノ酸 (Ile から Leu への置換) の多型が白人でそれぞれ約 10% 存在し、酵素活性へ影響を与える置換として重要だと考えられている。

CYP2C19 は、抗てんかん薬である S-メフェニトインの代謝欠損に関する研究から遺伝的個人差があることが明らかにされた。白人では 2% が代謝遅延型 (Poor Metabolizer: PM) である。この多型には人種差が存在し、日本人における欠損型の頻度は 15% である。ヒト肝には CYP2C19 よりもはるかに含量が多い CYP2C9 が存在し、S-メフェニトイン代謝欠損を補っていると考えられる。薬剤としては、オメプラゾール、イミプラミンの代謝に関与している。

CYP2D6 は、デブリスロキシン、スバルテインの代謝酵素として知られ、現在までに临床上重要な 50 種類以上の三環系抗うつ剤、循環器系薬剤の代謝を特異的に触媒することが明らかとなっている。白人では 6~10% のヒトが代謝遅延型 (Poor Metabolizer: PM) を示すが、日本人では約 0.8% と著しい人種差が存在する。CYP2D6 はニトロサミンの一種である 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butano ne (NNK) の代謝活性化に関与することから、PM は肺癌の発癌リスクが低いという報告がある。最近、代謝能が PM よりは高いが、通常代謝能を示すタイプに比べると活性が低い中間型 (J 型) が見いだされ、日本人の約 30% が

このタイプのホモまたはヘテロ型であることが報告されている。この中間型と疾患との関連性についての研究報告はない。

パラオキシキナーゼ (Paraoxonase) は、コドン 192 番目の遺伝子多型があり、Arg、Gln の 2 分子種が知られている。地下鉄サリン事件の原因であったサリンに対する加水分解能は、Gln のホモ接合対保有者が Arg のホモ接合体保有者と比較し、約 10 倍高いことが報告された。また、Yamazaki らは、サリン代謝活性の低い Arg アリールの保有者が日本人では 66% を占め、米国人 31% フランス人 24% と比較し、低活性型が多いことを報告している。

## (2) ジクロロベンゼン

### (2-1) 用途

クロロベンゼンはベンゼンを鉄粉、塩化第二鉄、ヨウ素、塩化アルミニウムなどの触媒の存在で塩素化して得られる。同時に生成するジクロロベンゼンとは分留によって分けられる。オルトジクロロベンゼンは有機溶剤およびグリースの洗浄剤、殺虫剤、消毒剤、伝導熱媒体 (150 ~ 260°C) などに、メタジクロロベンゼンは有機溶媒、農薬・染料・顔料・医薬品などの中間体などに、パラジクロロベンゼンは染料中間物、殺虫剤、有機合成、調剤、防臭剤、農薬などに用いられる。

### (2-2) 毒性

オルトジクロロベンゼンは毒性が強く、健常皮膚からも吸収される。急性中毒は高濃度暴露では、中枢神経抑制作用を示し、中毒性肝炎および腎炎の発生に注意を要する。皮膚接触時は刺激が強く、原液 15 分以下接触でも痛みを生じる。蒸気は粘膜刺激作用があり、眼、鼻、咽頭へ作用するが、局所刺激は通常一時的であり、1 週間以内に消失する。経口摂取時は、吐気、

嘔吐、下痢などの症状を呈し、中毒性肝炎や腎炎も起こす。

メタジクロロベンゼンは皮膚吸収性があり、血液中のヘモグロビンと結びつきメトヘモグロビンを形成する。蒸気は粘膜および皮膚刺激性がある。

パラジクロロベンゼンは急性中毒の場合、中枢神経系の抑制作用があり、頭痛、めまい、アルコール中毒様の興奮、全身倦怠などを起こす。気中濃度 15~30ppm では臭気を感じる。80~160ppm では大部分の人が眼、鼻に痛みを感じる。160ppm 以上では耐えられない状態となる。皮膚接触による刺激は軽度であるが、経口摂取時には、嘔気、嘔吐、下痢、腹痛などの症状を示す。

### (2-3) 代謝

オルトジクロロベンゼンをウサギに経口投与した実験によると、主な代謝産物は 3,4-ジクロロフェノールであり、投与翌日にグルクロン酸および硫酸結合して尿中に排泄される。その他、2,3-ジクロロフェノール、4,5-ジクロロカテコール、3,4-ジクロロフェニルメルカプツール酸などが産出され、メルカプツール酸形成が毒性発揮に大いに関与するといわれる。<sup>14</sup>C で標識したオルトジクロロベンゼンは SD 及び F344 ラットの肝臓によってグルクロン酸抱合体、硫酸抱合体、グルタチオン/システイン抱合体に代謝される。オルトジクロロベンゼンはラット及びヒトの CYP2E1、CYP1A2 によって代謝されることが報告されている。

メタジクロロベンゼンをウサギに経口投与した実験によると、主な代謝産物は 2,4-ジクロロフェノールであり、グルクロン酸およびエーテル硫酸を抱合して 24% 以上が尿中に排泄される。排泄のピークは投与の翌日である。その他の代謝産物として、2,4-ジクロロフェニルメ

ルカプツール酸、3,5-ジクロロフェノール、3,5-ジクロロカテコールなどが認められている。

パラジクロロベンゼンは経口および吸入ではよく吸収されるが、皮膚からの吸収はほとんど問題にならない。ヒトの場合、吸入暴露によって主に血液、脂肪組織、母乳中への分布が確認されている。また、雄ラットに 200mg/kg 単回投与した実験では、ほとんどが脂肪組織に分布し、他に腎臓および肝臓にわずかな量、血液、肺、心臓及び脳中にごく微量検出され、さらに脂肪組織以外の全組織では 48 時間以内に消失する。しかし脂肪組織では、120 時間後まで分布することが確認されている。代謝はヒト、および動物ともにグルクロン酸あるいは硫酸抱合され、2,5-ジクロロフェノールで、グルクロン酸およびエーテル硫酸抱合されて投与後 2 日間で排泄される。その他、2,5-ジクロロキノールなどを生じるが、メルカプツール酸は生成されない。

グルクロン酸抱合、硫酸抱合に関する代謝個人差について述べる。グルクロン酸転移酵素の活性が著しく低い個体は、クリグラー・ナジャー (Crigler-Najjar) 症候群を示し、ビリルビン抱合ができなため核黄疸を起こす。一方、ジルベール (Gilbert) 症候群はビリルビン抱合能が低い、黄疸には至らない個体にみられ、白人の約 6% がこれに相当する。ジルベール症候群の患者では、アセトアミノフェンなどのグルクロン酸抱合能が低下している。

硫酸抱合は、第 1 相酵素によって水酸化された芳香族アミン、ヘテロサイクリックアミンの代謝に関与する酵素群である。この分子種のなかで、ST1A3 は、N-水酸化体癌原性アミンの代謝に関与し、肝臓、大腸で主に発現している。Ozawa らは、213 残基目のアミノ酸が Arg から His への置換、223 残基目のアミノ酸が Met

から Val へ置換した二つの遺伝子多型を発見した。これまでの研究で、日本人においてのこれら対立遺伝子の頻度は、213 残基目の Arg タイプが 83.2%、His タイプが 16.8% であり、His タイプが Arg タイプと比較し熱に対して不安定であることが明らかとなっている。一方、223 残基目のアミノ酸が Val タイプである日本人は見つかっていない。肝臓において、ST1A3 は、NAT2 とともに癌原性アミンの代謝に深く関わっており、発癌との関連性が検討されている。

#### E. 結論

CHP の代表的な原因化学物質であるクロルピリフォス、ジクロロベンゼンの用途、毒性、薬物動態学的な情報を文献的に整理した。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表：なし

著書：環境化学物質の代謝とその周辺、荻野景規、小栗一太監修、2003 年

##### 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）

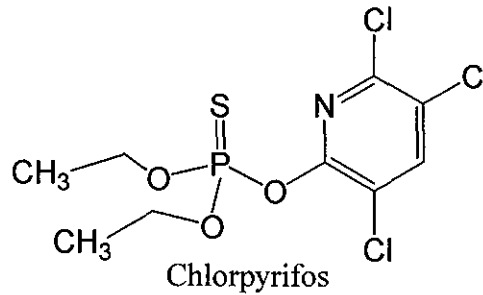
該当せず



## クロルピリフォス Chlorpyrifos

### 物理化学的特性

分子構造



- 一般名[1] Chlorpyrifos, クロルピリフォス  
化学名[1] O,O-diethyl O-(3,5,6-trichloro-2-pyridyl)phosphorothioic acid ester chlorpyrifos  
CAS No. 2921-88-2  
分子式 C<sub>9</sub> H<sub>11</sub> Cl<sub>3</sub> N O<sub>3</sub> P S  
分子量[1] 350.59  
外観[1] 無色の結晶  
融点[1] 42 - 43.5 °C  
蒸気圧[1] 0.0000187 mm Hg (25 °C)  
水溶性[1] 2 mg/L 以下 (25 °C)  
log Pow (オクタノール/水分配係数)[1] 4.96

### 用途

クロルピリフォス(以下 CPS)は有機リン系殺虫剤の一つで、トウモロコシ・大豆・牧草・落花生・果樹等の多くの農業生産において農薬として使用されていた。シロアリ、ゴキブリ、ノミ、アリといった 250 を超える種類の昆虫・節足動物に対して効果を示すことから、農業生産以外にも生活環境の建築物敷地、その周囲、芝生、公園の森林、植え込みといった箇所に防虫駆除剤として使用された。昆虫類の越冬卵に対しても効果を発揮する。アメリカ国内だけでも 16 種以上の農業用殺虫剤が市販され、農業外目的での使用を含めると 60 種近くの製品が市場に供給された [2]。

2000 年 6 月、EPA(米環境保護庁) は環境保護の立場、あるいは子供達への毒性を考慮して 2001 年内までに CPS の国内使用を停止すると発表した(2000 年 6 月 8 日 EPA 発表)。日本においては 2000 年 12 月に厚生省(当時)のシックハウス(室内空気汚染)問題に関する検討会によって指針値が策定された(2000 年 12 月 22 日発表) [3, 4, 5]。2002 年の建築基準法改訂によって、2003 年 7 月

建材への使用は禁止となった。

### ヒトへの暴露経路

農業生産物に散布されることから、農産物食品を介した経口摂取があげられる。国内ではハウレン草・セリなどの冷凍輸入野菜からの基準値を超えた検出が報道され社会的に大きな話題となった。2001年以降の輸入野菜の検査で最高 2.5ppm の検出があった。規制の行われていない国からの農業生産物輸入が問題となった [4]。

食品を介した経口摂取の他には、建築物への使用による建材中の残留 CPS のヒトへの経皮・吸入経路がある。CPS はシックハウス症候群の原因物質として挙げられている。

職業性の暴露としては、農業分野における作業従事者の農薬散布中の吸入、接触による暴露経路がある。また、シロアリ駆除作業においては、薬剤散布が床下や狭所で行われることが多いことから、屋外での散布よりも暴露濃度が高まることが予想される [6]。

### ヒトへの暴露基準値

WHO/FAO 一日摂取許容量 ADI 0.01mg/kg bw : Acceptable Daily Intake for Man

ACGIH TWA 0.2 mg / m<sup>3</sup>(skin)(1989-1990),A4 : 発癌性物質として分類できない物質

OSHA Final Limit: PEL-TWA 0.2 mg/ m<sup>3</sup>

水道法 ゴルフ場使用農薬にかかる水道水の水質目標 0.004 mg/L以下であること

厚生省室内空気濃度指針値 1 μg/m<sup>3</sup>、小児では 0.1 μg/m<sup>3</sup> (平成 12 年)

食品衛生法 0.01 ppm 以下

毒物及び劇物取締法 劇物

PRTR 法種別 第一種指定化学物質 (1-188)

建築基準法 建材への使用禁止

### 毒性

#### (1) 一般毒性

表 1 にヒトおよび実験動物における致死毒性評価の結果を示す [1]。

ラット、マウス、ヒトを含めた哺乳類に共通する毒性はコリンエステラーゼ(以下 ChE)阻害である。暴露濃度が高くなるにつれて血漿、赤血球、脳の順に ChE の活性が低下する。致死毒性の多くはこの ChE 阻害作用によるものであると考えられている [7]。

マウスへの 14~56mg/kg bw/day、2 週間の混餌投与で振戦、眼球運動遅延、眼球混濁、うずくまり、流涙、体重減少、食餌量減少が投与量に関連してみられる。8 割のラットで血漿 ChE 活性が有意に低下し、約半数に赤血球 ChE 活性の低下、脳 ChE 活性低下が見られた [8, 9]。

ラットに 1.4~150mg/kg bw の CPS 経口投与においても同様に、血漿と赤血球の ChE が阻害され、最高用量のとき脳 ChE 活性が阻害された。マウスと類似した行動障害、他覚所見が認められ、雌ラットよりも雄ラットで毒性が強くと現れる傾向があった。血中 GOT、GPT の上昇、肝臓に小

葉中心性壊死と単球有意の炎症、精巣精管壊死、腎系球体の暗色調の腫脹、壊死が見られた[10]。

ヒトでの暴露事故の症例報告によると、消化器症状として嘔吐、下痢、腹痛、呼吸器には肺水腫、呼吸困難、気道分泌物増加、循環器症状として血圧上昇、徐脈、不整脈、中枢神経症状として意識障害、痙攣、運動障害が認められる。これらの症状はアセチルコリン過剰蓄積が起こすムスカリン、ニコチン作用によるものである [11]。その他に声帯の機能不全、腱反射消失、知覚障害、水頭症等が報告されている [2]。

### (2) 変異原性

CPS の Ames 試験結果は *S.typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 株において S9 mix 有無に関わらず陰性であった [2, 12]。CPS を腹腔内、経口、経皮投与したマウスからの骨髄細胞を調べると、腹腔内・経口投与において微小核(micronuclei)、多核赤血球の出現率が増加し変異原性が疑われた [13]。マウス脾臓初代培養細胞での姉妹染色体交換をみた研究では CPS 4  $\mu$ g/ml 投与で交換の増加を来し、変異原性をもつと結論している [14]。

### (3) 癌原性

ラットの2年間のバイオアッセイでは 0.05~10mg/kg/day の混餌投与においても赤血球および脳 ChE 低下を来したが、腫瘍発生の有意な上昇は観察されていない [15]。

## 体内動態

ほ乳類では CPS は経口投与で比較的急速に吸収され、殆どが代謝産物として尿中に排出される。体内蓄積は非常に少ないと考えられている。

ヒトについての報告がある。6人のボランティアに CPS を 0.5mg/kg の経口投与、0.5、5.0mg/kg 真皮内投与を行った。血中 ChE は 12~14 時間後に投与前の 15%まで低下した。24 時間後から徐々に回復をはじめ、2 week 後には回復した。0.5、5.0mg/kg 真皮内投与では、血中 ChE は 20%の低下程度に治まり、5 日後には回復している。赤血球 ChE の低下は顕著ではなかった。投与後、尿中には TCP 単体は検出されなかった。平均 TCP 濃度は経口で 6 時間後に最高値 0.93  $\mu$ g/ml、真皮内投与は 24 時間後に最高値 0.063  $\mu$ g/ml となり、それ以降は急速に減少し半減期 27 時間で血液中・尿中から消失した。経口投与のうち 70%が TCP として尿中に回収された [16]。

## 代謝

脊椎動物では、クロルピリフォスの代謝は肝細胞内で行われ、複数の CYP が関与していると考えられている。ヒトのリンパ芽球に発現させた研究では、CYP1A2、2B6、2C9、2C19、2D6、3A4 がクロルピリフォスの代謝に関与していた [17]。クロルピリフォスは、肝ミクロゾームの CYP によって約 3 倍以上高いコリンエステラーゼ抑制作用をもつクロルピリフォスオクソンへ代謝される。この酸化反応の中間体として phosphooxythiiran が考えられている。中間体 phosphooxythiiran から chlorpyrifos-oxon に代謝される経路は脱硫黄化と呼ばれ、ヒトにおいては CYP2B6 が強い活性を示す [17, 18]。肝以外では、paraoxonase が生体内のクロルピリフォスオクソンの加水分解に関わっている [19]。

代謝に関与する酵素について述べる。CYP1A2は肝臓で主に発現されており、食事・環境中の芳香族アミン、ヘテロサイクリックアミンのN-水酸化を触媒することによって、癌原性物質を活性化する酵素である。CYP1A2遺伝子は第15番染色体に位置し、現在まで13の遺伝子多型が報告されている。そのなかで酵素活性に影響を及ぼすと考えられている遺伝子多型は2つあり、酵素活性を減少させるといわれているCYP1A2\*1Cと、喫煙による酵素誘導によって発現量が多くなるといわれているCYP1A2\*1Fがある [20, 21, 22, 23]。

CYP2B6は、肝および肺、消化管に存在し、7-ベンゾイルオキシゾルフィンの代謝活性を持つ。これまでに、少なくとも8つの遺伝子多型が発見されているが、機能との関連性については研究中である [24]。

CYP2C9は臨床的に重要な薬剤であるワーファリン、フェニトインや芳香族炭化水素の代謝に関与し、これまでに多数の研究者によってcDNAが単離されている。このなかで、コドン144残基目(ArgからCysへの置換)と359残基目のアミノ酸(IleからLeuへの置換)の多型が白人でそれぞれ約10%存在し、酵素活性へ影響を与える置換として重要だと考えられている [25, 26]。

CYP2C19は、抗てんかん薬であるS-メフェニトインの代謝欠損に関する研究から遺伝的個人差があることが明らかにされた。白人では2%が代謝遅延型(Poor Metabolizer: PM)である。この多型には人種差が存在し、日本人における欠損型の頻度は15%である [27]。ヒト肝にはCYP2C19よりもはるかに含量が多いCYP2C9が存在し、S-メフェニトイン代謝欠損を補っていると考えられる。薬剤としては、オメプラゾール、イミプラミンの代謝に関与している。

CYP2D6は、デブリンソキン、スパルテインの代謝酵素として知られ、現在までに临床上重要な50種類以上の三環系抗うつ剤、循環器系薬剤の代謝を特異的に触媒することが明らかとなっている [28]。白人では6~10%のヒトが代謝遅延型(Poor Metabolizer: PM)を示すが、日本人では約0.8%と著しい人種差が存在する。

CYP2D6はニトロサミンの一種である4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK)の代謝活性化に関与することから、PMは肺癌の発癌リスクが低いという報告がある [29]。最近、代謝能がPMよりは高いが、通常代謝能を示すタイプに比べると活性が低い中間型(J型)が見いだされ、日本人の約30%がこのタイプのホモまたはヘテロ型であることが報告されている [30]。この中間型と疾患との関連性についての研究報告はない。

パラオキシキナーゼ(Paraoxonase)は、コドン192番目の遺伝子多型があり、Arg、Glnの2分子種が知られている。地下鉄サリン事件の原因であったサリンに対する加水分解能は、Glnのホモ接合対保有者がArgのホモ接合体保有者と比較し、約10倍高いことが報告された [31]。また、Yamazakiらは、サリン代謝活性の低いArgアレルの保有者が日本人では66%を占め、米国人31% フランス人24%と比較し、低活性型が多いことを報告している [32]。