

表3-24 1,4-ジクロロロベンゼン

危険・有害性項目		分類結果	備考
1	急性毒性(経口)	区分4	ラットのLD50値500mg/kg(HSDB, 2005; RTECS, 2005)に基づき区分4とした。
1	急性毒性(経皮)	区分4	ラットのLD50値>6000mg/kg(HSDB, 2005), 2000mg/kg(RTECS, 2005)に基づくと区分5か区分4に分類されるが、低毒性区分の区分4とした。
1	急性毒性(吸入)	区分3	ラットのLC50値5mg/L/4H(5000mg/m <sup>3</sup> /4H)(RTECS, 2005)に基づき区分3とした。
2	皮膚腐食性/刺激性	分類できない	データなし
3	眼に対する重篤な損傷性/刺激性	区分2A	ヒト眼への刺激、激しい痛み、発赤との記述(PATTY, 2001; HSDB, 2005, ICSC, 2003)から区分2Aとした。
4	呼吸器感作性または皮膚感作性	分類できない	データなし
5	生殖細胞変異原性	区分外	In vivo試験(ほ乳類骨髓細胞を用いる染色体異常試験、ほ乳類肝臓を用いる不定期DNA合成(UDS)試験)及びin vitro試験(Ames test)でnegativeとの記述(EHC 128, 1991)から区分外とした。
6	発がん性	区分2	IARC(1999)においてGroup2B(ヒトに対して発がん性を示す可能性がある), NTP(1987)においてR(ヒト発がん性があると合理的に予測される物質)及びEPIにおいて3(発がん作用を及ぼす可能性がある)に分類されているため区分2とした。
7	生殖毒性	区分2	ラット及びウサギでの生殖毒性試験結果の記述(EHC 128, 1991)から、母動物毒性が示される用量で胎児骨格異常の増加がみられることから区分2とした。
8	特定標的臓器/全身毒性(単回暴露)	区分2(中枢神経系、血液) 区分3(気道刺激性)	ヒトへの中枢神経系、血液への影響との記述(EHC 128, 1991; PATTY, 2001; HSDB, 2005, ICSC, 2003)及び気道刺激との記述(EHC 128, 1991; PATTY, 2001; HSDB, 2005, ICSC, 2003)から区分2(中枢神経系、血液)及び区分3(気道刺激性)とした。
9	特定標的臓器/全身毒性(反復暴露)	区分2(肝臓、腎臓)	ヒトへの肝臓、腎臓への影響との記述(EHC 128, 1991; PATTY, 2001; ICSC, 2003)から区分2(肝臓、腎臓)とした。
10	吸引性呼吸器有害性	分類できない	データなし

表3-25 ヘキサン

危険・有害性項目		分類結果	備考
1	急性毒性(経口)	区分外	ラットLD50値28.7 g/kg(older adult), 32.4 g/kg(young adult male), 15.8 g/kg(14-day-old rat), 0.7 g/kg(newborn)に基づき(EHC 122, 1991)、区分5の5000mg/kgより大であるため区分外とした。
1	急性毒性(経皮)	区分5	ラットのLD50値3g/kgに基づき(EHC 122, 1991)区分5とした。
1	急性毒性(吸入)	区分5	ラットのLC50値135.5mg/L/4H (271040mg/m <sup>3</sup> /1H), 260.5mg/L/4H (260480mg/m <sup>3</sup> /4H) (EHC 122, 1991)及び169.2mg/L/4H (48000ppm/4H) (PATTY, 2001)に基づき区分5とした。
2	皮膚腐食性/刺激性	区分2	ヒト皮膚に対して刺激するとの記述(EHC 122, 1991; ICSC, 2000)から区分2と
3	眼に対する重篤な損傷性/刺激性	区分外	ヒト眼に対して刺激しないとの記述(EHC 122, 1991)から区分外とした。
4	呼吸器感受性または皮膚感受性	分類できない(呼吸器感受性) 区分外(皮膚感受性)	ヒト皮膚の感受性試験で陰性との記述(EHC 122, 1991)及び呼吸器感受性の試験結果はないことから、呼吸器感受性は分類できない及び皮膚感受性は区分外とした。
5	生殖細胞変異原性	区分外	In vivo経世代変異原性試験で影響ないとの記述(EHC 122, 1991)及びin vitro変異原性試験で陰性との記述(PATTY, 2001)から区分外とした。
6	発がん性	区分外	マウス皮膚への塗布実験で発がんしないとの記述(EHC 122, 1991)から区分外とした。
7	生殖毒性	区分2	ラットの投与実験で親と胎児の体重減少、胎児の脳組織と神経発育遅延、親の末梢神経異常との記述(EHC 122, 1991)、動物試験ではヒトの生殖に毒性影響を及ぼす可能性があるとの記述(ICSC, 2000)から区分2とした。
8	特定標的臓器/全身毒性(単回暴露)	区分2(中枢神経系、心臓)	ラット及びマウスでの実験で中枢神経系、心臓に影響を与えるとの記述(EHC 122, 1991; PATTY, 2001)から区分2(中枢神経系、心臓)とした。
9	特定標的臓器/全身毒性(反復暴露)	区分2(中枢神経系)	ヒトへの中枢神経系に影響を与えるとの記述(EHC 122, 1991; ICSC, 2000)から区分2(中枢神経系)とした。
10	吸引性呼吸器有害性	区分1	ヒトで誤嚥により化学性肺炎を起こす旨の記述(ICSC, 2000; HSDB, 2005)より区分1とした。

表3-26 3-メチルヘキサン

危険・有害性項目		分類結果	備考
1	急性毒性(経口)	分類できない	データなし
1	急性毒性(経皮)	分類できない	データなし
1	急性毒性(吸入)	分類できない	データなし
2	皮膚腐食性/刺激性	分類できない	データなし
3	眼に対する重篤な損傷性/刺激性	分類できない	データなし
4	呼吸器感性または皮膚感性	分類できない	データなし
5	生殖細胞変異原性	分類できない	データなし
6	発がん性	分類できない	データなし
7	生殖毒性	分類できない	データなし
8	特定標的臓器/全身毒性(単回暴露)	分類できない	データなし
9	特定標的臓器/全身毒性(反復暴露)	分類できない	データなし
10	吸引性呼吸器有害性	分類できない	データなし

表3-27 シクロヘキサン

危険・有害性項目		分類結果	備考
1	急性毒性(経口)	区分外	ラットのLD50値29820mg/kg(HSDB, 2005)及び12705mg/kg(RTECS, 2004)に基づき、区分5の5000mg/kgより大であるため区分外とした。
1	急性毒性(経皮)	区分5	ウサギのLD50値>2000mg/kgに基づき区分5とした。
1	急性毒性(吸入)	区分4	ラットのLC50値13.9mg/L/4H(IUCLID, 2000)に基づき区分4とした。
2	皮膚腐食性/刺激性	区分3	ヒト皮膚の発赤、軽微な刺激との記述(PATTY, 2001; ICSC, 1994; HSDB, 2005; SITTIG, 2002)から区分3とした。
3	眼に対する重篤な損傷性/刺激性	区分2B	ヒト眼の発赤/軽微な刺激との記述(PATTY, 2001; ICSC, 1994; HSDB, 2005; SITTIG, 2002)から区分2Bとした。
4	呼吸器感受性または皮膚感受性	分類できない	データなし
5	生殖細胞変異原性	区分外	In vivo不定期DNA合成(UDS)試験(PATTY, 2001)及びin vitro Ames test(IUCLID, 2000)で陰性との記述から区分外とした。
6	発がん性	分類できない	データなし
7	生殖毒性	分類できない	データなし
8	特定標的臓器/全身毒性(単回暴露)	区分2(中枢神経系) 区分3(気道刺激性)	ヒトへの中枢神経系への影響及び気道刺激との記述(PATTY, 2001; ICSC, 1994; HSDB, 2005; SITTIG, 2002)から区分2(中枢神経系)、区分3(気道刺激性)とした。
9	特定標的臓器/全身毒性(反復暴露)	区分2(中枢神経系)	動物実験での中枢神経系への影響との記述(RTECS, 2004; HSDB, 2005)からヒト健康に対して有害である可能性があると考え、区分2(中枢神経系)とした。
10	吸引性呼吸器有害性	区分1	ヒトで誤嚥により化学性肺炎を起こす旨の記述(ICSC, 1994; SITTIG, 2002)より区分1とした。

表3-28 2-メチルオクタタン

危険・有害性項目		分類結果	備考
1	急性毒性(経口)	分類できない	データなし
1	急性毒性(経皮)	分類できない	データなし
1	急性毒性(吸入)	分類できない	データなし
2	皮膚腐食性/刺激性	分類できない	データなし
3	眼に対する重篤な損傷性/刺激性	分類できない	データなし
4	呼吸器感性または皮膚感作性	分類できない	データなし
5	生殖細胞変異原性	分類できない	データなし
6	発がん性	分類できない	データなし
7	生殖毒性	分類できない	データなし
8	特定標的臓器/全身毒性(単回暴露)	分類できない	データなし
9	特定標的臓器/全身毒性(反復暴露)	分類できない	データなし
10	吸引性呼吸器有害性	分類できない	データなし

表3-29 3-メチルオクタノール

危険・有害性項目		分類結果	備考
1	急性毒性(経口)	分類できない	データなし
1	急性毒性(経皮)	分類できない	データなし
1	急性毒性(吸入)	分類できない	データなし
2	皮膚腐食性／刺激性	分類できない	データなし
3	眼に対する重篤な損傷性／刺激性	分類できない	データなし
4	呼吸器感受性または皮膚感受性	分類できない	データなし
5	生殖細胞変異原性	分類できない	データなし
6	発がん性	分類できない	データなし
7	生殖毒性	分類できない	データなし
8	特定標的臓器／全身毒性(単回暴露)	分類できない	データなし
9	特定標的臓器／全身毒性(反復暴露)	分類できない	データなし
10	吸引性呼吸器有害性	分類できない	データなし

表3-30 2-メチルヘキサン

危険・有害性項目	分類結果	備考
1 急性毒性(経口)	分類できない	データなし
1 急性毒性(経皮)	分類できない	データなし
1 急性毒性(吸入)	分類できない	データなし
2 皮膚腐食性/刺激性	分類できない	データなし
3 眼に対する重篤な損傷性/刺激性	分類できない	データなし
4 呼吸器感受性または皮膚感受性	分類できない	データなし
5 生殖細胞変異原性	分類できない	データなし
6 発がん性	分類できない	データなし
7 生殖毒性	分類できない	データなし
8 特定標的臓器/全身毒性(単回暴露)	区分2(中枢神経系)	ヒト及びラットの中枢神経系への影響との記述(ICSC, 2002; RTECS, 2004)から区分2(中枢神経系)とした。
9 特定標的臓器/全身毒性(反復暴露)	分類できない	データなし
10 吸引性呼吸器有害性	区分1	ヒトで誤嚥により化学性肺炎を起こす旨の記述(ICSC, 2002)より区分1とした。

表3-31 酢酸ブチル

危険・有害性項目	分類結果	備考
1 急性毒性(経口)	区分外	ラットのLD50値14130mg/kg(HSDB, 2005), 13100mg/kg(IUCLID, 2000), 10768mg/kg(RTECS, 2005)に基づき、区分5の5000mg/kgより大であるため区分外とした。
1 急性毒性(経皮)	区分外	ウサギのLD50値>17600mg/kg, >14100mg/kg(IUCLID, 2000)に基づき、区分5の5000mg/kgより大であるため区分外とした。
1 急性毒性(吸入)	区分2	ラットのLC50値160ppm/4H(HSDB, 2005), 9.6mg/L/4H(IUCLID, 2000), 390ppm/4H(RTECS, 2005)に基づくと、区分2か区分3に分類されるが低毒性区分の区分2とした。
2 皮膚腐食性/刺激性	区分3	ヒト及びウサギ皮膚を軽度刺激するとの記述(HSDB, 2005; IUCLID, 2000; RTECS, 2005)から区分3とした。
3 眼に対する重篤な損傷性/刺激性	区分2A	ヒト眼の発赤/痛み、眼を刺激するとの記述(PATTY, 2001; ICSC, 2003; HSDB, 2005)から区分2Aとした。
4 呼吸器感受性または皮膚感受性	分類できない(呼吸器感受性) 区分外(皮膚感受性)	ヒト皮膚のPatch-testでnot sensitizingとの記述(IUCLID, 2000)から皮膚感受性は区分外とし、呼吸器感受性は分類できないとした。
5 生殖細胞変異原性	分類できない	In vivo変異原性試験はなくin vitro変異原性試験(Ames test)は陰性であるとの記述(HSDB, 2005)からデータ不足により分類できないとした。
6 発がん性	分類できない	データなし
7 生殖毒性	区分2	ラット及びウサギの投与実験で親や胎児に生殖毒性を示すとの記述(PATTY, 2001)から、ヒトに対する生殖/発生毒性が疑われると考え区分2とした。
8 特定標的臓器/全身毒性(単回暴露)	区分2(中枢神経系) 区分3(気道刺激性)	ヒトの中枢神経系への影響及び気道刺激との記述(PATTY, 2001; ICSC, 2003; SITTI, 2002)から区分2(中枢神経系)及び区分3(気道刺激性)とした。
9 特定標的臓器/全身毒性(反復暴露)	区分2(中枢神経系)	ヒトの中枢神経系に影響を与えるとの記述(PATTY, 2001; HSDB, 2005; SITTI, 2002)から区分2(中枢神経系)とした。
10 吸引性呼吸器有害性	分類できない	データなし

表 4 揮発性有機化合物のGHS分類

化合物名	急性毒性 (経口)	急性毒性 (経皮)	急性毒性 (吸入)	皮膚腐食性/ 刺激性	眼に対する重 大な損傷性/ 刺激性	呼吸器感作性ま たは皮膚感作性	生殖細胞変異 原性	発がん性	生体毒性	特定標的臓器/全身毒 性(単回暴露)	特定標的臓器/全身毒 性(反復暴露)	吸引性呼吸器 有害性
アセトン	区分外	区分外	区分外	区分外	区分2 B	区分外(皮膚感作 性)	区分外	区分外	分類できない	区分2 (中枢神経系、 腎臓)	区分2 (血液)	分類できない
トルエン	区分5	区分外	区分外	区分2	区分2 A	分類できない	区分外	区分外	区分2	区分2 (中枢神経系、 肺臓)	区分1 (中枢神経系、 脳、腎臓)	分類できない
リモネン	区分5	区分外	分類できない	区分3	区分2 B	区分1 (皮膚感作 性)	区分外	区分外	区分外	区分2 (肝臓)	区分2 (肝臓、腎臓)	分類できない
ノナン	分類できない	分類できない	区分4	区分3	区分2 B	分類できない	分類できない	分類できない	分類できない	区分2 (中枢神経系、 肺臓)	区分2 (肝臓、内分泌系)	区分1
デカン	区分外	区分5	区分3	区分3	区分2 B	分類できない	分類できない	区分外	分類できない	区分2 (中枢神経系)	区分2 (肝臓、血液)	区分1
ウンデカン	分類できない	分類できない	区分3	区分3	区分2 B	分類できない	分類できない	分類できない	分類できない	区分3 (気道刺激性)	区分2 (脳)	分類できない
ドデカン	分類できない	分類できない	区分2	区分3	区分2 B	分類できない	分類できない	分類できない	分類できない	区分2 (肺臓)	分類できない	分類できない
イソプロピルアル コール	区分5	区分外	区分外	区分外	区分2 A	区分1 (皮膚感作 性)	区分外	区分外	区分外	区分2 (肝臓、腎臓)	区分2 (血液、腎臓)	分類できない
オクタノ	分類できない	分類できない	区分外	区分3	区分2 B	分類できない	分類できない	分類できない	分類できない	区分2 (中枢神経系) 区分3 (気道刺激性)	区分2 (肝臓)	区分1
1,2,4-トリメチル ベンゼン	区分5	区分5	区分3	区分2	区分2 B	区分外(皮膚感作 性)	分類できない	分類できない	分類できない	区分2 (中枢神経系)	区分2 (中枢神経系、血 液、肝臓、腎臓)	区分1
エチルベンゼン	区分5	区分外	区分3	区分2	区分2 B	分類できない	区分外	区分2	区分外	区分2 (中枢神経系) 区分3 (気道刺激性)	区分2 (肝臓、呼吸器系)	区分1
酢酸エチル	区分外	分類できない	区分4	分類できない	区分2 B	分類できない	分類できない	分類できない	分類できない	区分2 (肺臓、中枢神 経系、肝臓)	区分2 (肝臓、腎臓、 脳、神経系、感覚器官)	分類できない
p-キシレン	区分5	分類できない	区分4	区分3	区分2 B	分類できない	区分外	区分外	区分2	区分2 (中枢神経系) 区分3 (気道刺激性)	区分2 (中枢神経系、内 臓機能)	区分1
m-キシレン	区分5	区分外	区分5	区分2	区分2 A	分類できない	区分外	区分外	区分2	区分2 (中枢神経系)	区分2 (中枢神経系)	区分1
トリデカン	区分外	区分5	区分1	区分3	区分2 B	分類できない	分類できない	区分外	分類できない	区分3 (気道刺激性)	分類できない	区分2
ヘプタン	区分5	区分5	区分外	分類できない	区分2 B	分類できない	分類できない	区分外	分類できない	区分2 (中枢神経系) 区分3 (気道刺激性)	区分2 (中枢神経系、肝 臓)	区分1



### 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

#### 1. 吸入による低濃度長期及び高濃度短期の暴露における健康影響評価に関する研究

##### 1. 1. 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

日本バイオアッセイ研究センター 病理検査部 長野 嘉介

##### 1. 2. 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

#### 2. 免疫、神経、生理学あるいは生化学に関連する

##### 新たな毒性評価指標による影響に関する研究

##### 2. 1. 家庭用品中化学物質による過敏症の発現機構に関する研究

武蔵野大学 薬学部 薬学研究所 環境化学研究室 安藤 正典

国立医薬品食品衛生研究所 環境衛生化学部 神野 透人

### 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

分担研究者	安藤 正典	武蔵野大学 薬学部 薬学研究所	環境化学研究室	教授
	長野 嘉介	日本バイオアッセイ研究センター	試験管理部長 (兼) 病理検査部長	
	嵐谷 奎一	産業医科大学 産業保健部	教授	
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	
	内山 茂久	千葉大学 工学部	非常勤講師	
	樽田 尚樹	産業医科大学 産業保健部	助教授	
	吉田 安宏	産業医科大学 医学部	講師	
	笛田由紀子	産業医科大学 産業保健部	助手	
	大河原 晋	武蔵野大学 薬学部 薬学研究所	環境化学研究室	助手
	神野 透人	国立医薬品食品衛生研究所	環境衛生化学部	室長
	香川 聡子	国立医薬品食品衛生研究所	環境衛生化学部	技術補助員

家庭用品中に含有する化学物質の吸入毒性の情報は極めて少ないので、家庭用品で用いられる化学物質のうち、昨年度までの研究の情報を基にプライオリティ上位の化学物質について、吸入毒性試験を実施することとした。

本課題では、

- Ⅲ－１．吸入による低濃度長期および高濃度短期の暴露における健康影響評価に関する研究
- Ⅲ－２．免疫、神経、生理学あるいは生化学に関連する新たな毒性評価指標による影響に関する研究

について検討した。

### Ⅲ－１． １． 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 試験管理部長  
(兼) 病理検査部長

協力研究者 内山 茂久 千葉大学 工学部 非常勤講師

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

- 1) 家庭環境中から検出されるクロロホルムをモデルとして、経口投与実験のデータから吸入暴露による生体影響を推定する換算式の有効性について体内暴露量を指標にして検証した。その結果、換算式を用いて計算した暴露濃度は体内暴露量に基づいて推測された暴露濃度に比べ約0.5倍低い値になり、毒性を過大に評価する可能性があることがわかった。トルエン（平成16年度）およびクロロホルムをモデルとした検証結果から、①化学物質の種類によって換算式の有効性が異なること、②換算式から得られた値と実際の値の間には約2倍から0.5倍の差が生じる可能性があるがわかった。
- 2) 換算式における経口投与と吸入暴露の吸収率の要因について検討するため、トルエンとクロロホルムについて、吸収率が100%と仮定できる腹腔内投与の体内暴露量を測定し、吸入暴露と経口投与による体内暴露量と比較した。トルエンの吸入暴露による吸収率は、低濃度では経口投与の吸収率に近似し、高濃度では経口投与の約2倍であった。これに対し、クロロホルムの吸入暴露による吸収率（10%～32%）は、各用量とも経口投与による吸収率（30%～54%）に比較して低かった。換算式から得られる値と体内暴露量からの推測値の差は投与経路間の吸収率の差が原因であることが示唆され、換算式の使用に際して吸収率を考慮することの重要性が示された。
- 3) 呼気への化学物質の排泄量を測定するため、吸入実験装置に簡単な改良を加えた装置を作製した。トルエンをラットに腹腔内投与してこの方法の有効性を調べた結果、投与後540分までに腹腔内投与した量の34%から73%が捕集され、呼気中への排泄量の測定に利用できると考えた。

#### 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暴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暴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、吸入暴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実施した。平成16年度は、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、ラットに吸入暴露および経口投与し、体内暴露量（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暴露による生体影響を推定するのに用いられている換算式の有効性を、体内暴露量を指標にして検証した。その結果、下記の結論を得た。

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) 吸入暴露の生物学的半減期は経口投与より短い。

3) 体内暴露量（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、吸入暴露では高濃度になると暴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暴露による毒性を推定する方法は、ラットの呼吸量を561 mL/kg体重・分として換算すると、体内暴露量に基づいて推測された暴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。

本年度は、1) 水道水の塩素消毒の副産物として生成され、家庭環境中から検出されるクロロホルムについて、ラットに吸入暴露および経口投与し体内暴露量（血液中のクロロホルム濃度）の推移を比較することにより、経口投与実験データから吸入暴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。また、2) 換算式に使用される消化管および呼吸器からの

吸収率の要因について検討するために、トルエンとクロロホルムについて、吸収率が100%と仮定できる腹腔内投与の体内暴露量を測定し、吸入暴露と経口投与による体内暴露量と比較した。さらに、3) 体内に侵入した化学物質の呼気中への排泄量を測定する方法の開発を行った。

## B. 研究方法

### 1. クロロホルムの吸入暴露および経口投与による体内暴露量（血液中のクロロホルム濃度）の測定

#### (1) 被験物質及び実験動物

被験物質として、(株)和光純薬工業製のクロロホルム（純度99%以上）を使用した。

実験動物は、雄ラット（CrI:CD(SD)、旧称CrI:CD(SD)IGS、SPF、10週齢、体重344-367g、日本チャールス・リバー厚木飼育センター）を5匹/群使用した。

#### (2) 投与方法

##### ① 吸入暴露

被験物質供給装置（(株)柴田科学製）の発生器内に入れたクロロホルムを一定温度下（30℃）で空気のバ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チャンバー内に送気し、全身暴露による吸入暴露を行った（Figure 1）。暴露時間は6時間、単回暴露とした。暴露濃度は、クロロホルムの血液中濃度の測定限界を考慮して、50、100、200、400ppm（244、488、976、1952 mg/m<sup>3</sup>）とした。暴露中の吸入チャンバー内の空気を15分毎に採気し、ガスクロマトグラフ（Agilent Technologies 6890）により気中濃度を測定した。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°C、注入口温度は200°C、検出器温度は200°C、試料注入量は1mLとした。その結果、吸入暴露装置内のクロロホルム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。クロロホルムを各投与「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12.5、25、50、100 mg/kg・体重とした。

## (3) クロロホルムの血液中濃度の測定方法

### ① 試料の採取

クロロホルム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。吸入暴露群は吸入暴露開始から30、60、180および360分、ならびに吸入暴露終了後30、60および180分、経口投与群は経口投与後30、60、180、360、390、420および540分に採血した。吸入暴露中のラットからの採血は、採血時に動物の尾を吸入暴露装置から出し、吸入暴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 クロロホルムの分析

ヘッドスペース (Agilent Technologies 7694) -GC/MS (Agilent Technologies 5973N) を用いてクロロホルム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、オーブン温度は80°C、ループ温度は130°C、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)、キャリアーガスはヘリウムを用い、カラム温度は80°C、流量は1mL/分、注入口温度は200°C、イオン化法はEI、イオン化電圧は70eV、イオン源温度は230°C、インターフェイス温度は230°Cとした。なお、血液中濃度の定量はクロロホルムのフラグメントイオンを示す83m/zのピークによるSIM法により実施した。

### (4) Area Under the Curve (AUC)

吸入暴露は、暴露中360分間と暴露終了後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。

## 2. 腹腔内投与による体内暴露量との比較によるトルエンとクロロホルムの体内への吸収率の推定 (トルエンとクロロホルムの腹腔内投与による体内暴露量の測定)

腹腔内投与した化学物質は体内にその100%が吸収されると仮定できる。そこで、腹腔内投与した時の体内暴露量を測定し、経口投与や吸入暴露した時の体内暴露量 (血液中の化学物質の濃度) と比較することによって、経口投与や吸入暴露した化学物質の体内への吸収率を推定した。

### (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%) と(株)和光純薬工業製のクロロホルム (純度99%以上) を使用した。

実験動物は、雄ラット (CrI:CD(SD)、旧称CrI:CD(SD)IGS)、SPF、10週齢、体重350-370g、日本チャールス・リバー厚木飼育センター) を5匹/群使用した。

### (2) 投与方法

トルエン、クロロホルムとも、各投与用量になるようにコーン油 (体重1kg当たり10 mL) に溶解し、腹腔内に単回注射した。投

与用量は経口投与の投与用量に合わせ、トルエンは25、50、100、200 mg/kg・体重、クロロホルムは12.5、25、50、100 mg/kg・体重とした。

### (3) 血液中濃度の測定方法

#### ① 試料の採取

血液中濃度測定のための血液を投与後30、60、180、360、390、420および540分に動物の尾静脈よりヘパリンリチウム入り採血管に採取した。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 分析

ヘッドスペース (Agilent Technologies 7694) -GC/MS (Agilent Technologies 5973N) を用いて血液中濃度を測定した。分析条件はトルエン(平成16年度報告書)、クロロホルムとも吸入暴露と経口投与による体内暴露量と同様の条件で測定した。

### (4) Area Under the Curve (AUC)

トルエン、クロロホルムとも、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。

## 3 化学物質の呼気中への排泄量を測定する方法の開発

### (1) 動物の呼気を採取する装置の試作

通常、吸入暴露装置は動物に化学物質を吸入暴露するために使用している。逆に、化学物質を投与した動物を吸入チャンバーに収容し、吸入チャンバー内の空気を分析すれば、呼気中へ排泄された化学物質の量を簡便に測定できると考えた。そこで、吸入暴露による体内暴露量の測定に使用した吸入暴露装置に下記の改良を行ない、化学物質の呼気中への排泄量を測定する装置 (Figure 3) を試作した。

#### ① チャンバー内の空気中の化学物質を捕集するためのガス捕集管の装着

動物を個別別に収容した吸入チャンバーからの各排気管に異径ホースジョイントを付け、ガス捕集管の太さに合わせて内径5mmのシリコンチューブを接続した。このシリコンチューブに捕集剤を充填したガス捕集管を装着した。

#### ② 吸入チャンバー内の空気をガス捕集管に集めるために、排気管の末端に排気用のエアーポンプ (SIBATA、SIP-32L) を設置した。また、空気の流量を確認できるように、ガス捕集管とエアーポンプの間に流量計 (1 L/分用) を設置した。

### (2) 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 (Cr1:CD(SD)、旧称Cr1:CD(SD) IGS、SPF、10週齢、体重350-370g、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。

### (3) 投与方法

投与方法は、被験物質が完全に体内に入り、かつ、呼気以外の経路で吸入チャンバー内への被験物質の飛散が起こりにくい方法として、腹腔内投与を選択した。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、腹腔内に単回注射した。投与用量は経口投与の投与用量に合わせ25、50、100、200 mg/kg・体重とした。

### (4) 呼気の採取

トルエンを腹腔内投与したラットを、投与直後に排気管にガス捕集管 (ORBO TM-32、SUPELCO) を装着した吸入チャンバーに収容した。ガス捕集管は、動物の吸入チャンバーへの収容後、30分、60分、180分、360分目に交換し、投与直後から30分、30分から60分、60分から180分、180分から360分、および360分から540分における吸入チャン

バー内の空気を1 L/分の流速でガス捕集管に通した。

#### (5) 呼気中のトルエン量の分析

ガス捕集管から充填剤を10 mlの遠沈管に取り出し、2 mlの二硫化炭素を加え、1分間振とうした後、20分間超音波洗浄を行った。24時間放置してから、遠心分離(3000 rpm, 30 min)した後、上澄みを濾過した。この液を二硫化炭素で10倍に希釈した後、GC/MSに注入した。GC/MSの分析条件を付表 1に示した。トルエン量の分析は、内山茂久協力研究者に依頼した。

#### (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. クロロホルムの吸入暴露および経口投与による体内暴露量（血液中のクロロホルム濃度）

##### (1) 吸入暴露の血液中クロロホルム濃度

吸入暴露したラットの血液中クロロホルム濃度の推移をTable 2とFigure 4に示した。

##### ① 血液中濃度の推移

50 ppm群では、血液中濃度は暴露開始から30分で天井値（最高濃度の90%以上の濃度）に達し、その後、暴露時間の終了まで一定の濃度で推移し、最高値は1.66 µg/mLであった。暴露終了後は、経時的に濃度が低下し、180分後の濃度は0.22 µg/mLであった。100 ppm群では、トルエンの血液中濃度の経時的上昇は暴露開始から60分までみられ、最高値は2.15 µg/mLであった。暴露終了から180分後の濃度は0.82 µg/mLであった。200 ppm群では、血液中濃度の経時的上昇は暴露開始から180分までみられ、その後、暴露時間

の終了まで一定の濃度で推移し、最高値は6.92 µg/mLであった。暴露終了後は、経時的に濃度が低下し、180分後の濃度は1.21 µg/mLであった。400 ppm群では、血液中濃度の経時的上昇は暴露終了時である360分まで続き、暴露終了時の血液中濃度は、17.95 µg/mLであった。暴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0.64 µg/mLであった。

##### ② 生物学的半減期

血液中濃度が暴露終了時の1/2に低下するまでの時間は、グラフ上からみると50 ppm群で90分、100 ppm群で21分、200 ppm群で51分、400 ppm群で39分であった。

##### ③ AUC

暴露期間360分間と暴露終了後180分間の計540分間におけるAUCは、50 ppm群：705 µg・分 / mL、100 ppm群：844 µg・分 / mL、200 ppm群：2585 µg・分 / mL、400 ppm群：5228 µg・分 / mLとなった。

#### (2) 経口投与の血液中クロロホルム濃度

経口投与したラットの血液中クロロホルム濃度の推移をTable 3とFigure 5に示した。

##### ① 血液中濃度の推移

12.5 mg/kg群では、血液中濃度は投与後30分で最高値（2.08 µg/mL）になり、その後、濃度が低下し、投与後540分では0.22 µg/mLになった。25 mg/kg群と50 mg/kg群は、トルエンの血液中濃度は投与後60分まで上昇し、最高値は25 mg/kgで4.18 µg/mL、50 mg/kgで6.86 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25 mg/kg群、50 mg/kgとも0.23 µg/mLになった。100 mg/kg群では、血液中濃度は投与後15分が最高値（16.63 µg/mL）であり、その後、濃度が低下し、投与後540分に0.37 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12.5 mg/kg群が80分、25 mg/kg群と50 mg/kg群が84分、100 mg/kg群が119分であった。

## ③ AUC

投与後540分間におけるAUCは、12.5 mg/kg群：284  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ 、25 mg/kg群：698  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ 、50 mg/kg群：1221  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ 、100 mg/kg群：2501  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ となった。

クロロホルムを吸入暴露または経口投与したラットの血液中クロロホルム濃度の推移、生物学的半減期およびをTable 4に一覧して記載した。また、換算式の検証結果をTable 5に示した。

## 2. 腹腔内投与による体内暴露量との比較によるトルエンとクロロホルムの体内への吸収率の推定

### (1) トルエンの吸収率

#### ①腹腔内投与による体内暴露量

トルエンを腹腔内投与したラットの血液中トルエン濃度の推移をTable 6とFigure 6に示した。

投与後540分間におけるAUCは、25 mg/kg群：1022  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ 、50 mg/kg群：2360  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ 、100 mg/kg群：5202  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ 、200 mg/kg群：9491  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ であった (Table 6)。

#### ②吸入暴露によるトルエンの体内への吸収率の推定 (Table 7)

25 ppm、50 ppm、100 ppmおよび200 ppmのトルエンを6時間吸入暴露したラットの暴露期間360分間と暴露終了後180分間の計540分間における血液中トルエン濃度の推移から計算したAUCは、25 ppm群：159  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ 、50 ppm群：505

$\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ 、100 ppm群：2419  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ 、200 ppm群：4474  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ であった (平成16年度報告書)。一方、各暴露濃度におけるトルエンの呼吸による吸入量をラットの体重1kg当りの呼吸量 (561 mL/kg体重・分、Maunderly et al. 1979) から計算すると、6時間暴露によるトルエンの推定吸入量は25 ppm群：19 mg/kg体重、50 ppm群：39 mg/kg体重、100 ppm群：77 mg/kg体重、200 ppm群：155 mg/kg体重となる。これらの用量のトルエンを腹腔投与したと仮定した場合のAUCの期待値を腹腔内投与によるAUCの実測値 (Table 6) から求めると、19 mg/kg体重は777  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ 、39 mg/kg体重は1771  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ 、77 mg/kg体重は3893  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ 、155 mg/kg体重は7561  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ となる。

各暴露濃度における吸入暴露による体内への吸収率を、次式から計算した。

吸入暴露による吸収率 = 吸入暴露でのAUCの実測値 / 腹腔投与したと仮定した場合のAUCの期待値

この式からトルエンの吸入暴露による吸収率を求めると、25 ppm群：20%、50 ppm群：29%、100 ppm群：62%、200 ppm群：59%となった。

#### ③経口投与によるトルエンの体内への吸収率の推定 (Table 8)

25 mg/kg、50 mg/kg、100 mg/kgおよび200 mg/kgのトルエンを経口投与したラットの投与後540分間におけるAUCは、25 mg/kg群：288  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ 、50 mg/kg群：457  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ 、100 mg/kg群：1399  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ 、200 mg/kg群：3561  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ であった (平成16年度報告書)。

各投与用量における経口投与による体内への吸収率を、次式から計算した。

経口投与による吸収率 =

経口投与のAUC／腹腔投与のAUC  
この式からトルエンの経口投与による吸収率を求めると、25 mg/kg群：28%、50 mg/kg群：19%、100 mg/kg群：27%、200 mg/kg群：38%となった。

## (2) クロロホルムの吸収率

### ①腹腔内投与による体内暴露量

クロロホルムを腹腔内投与したラットの血液中クロロホルム濃度の推移をTable 9とFigure 7に示した。

投与後540分間におけるAUCは、12.5 mg/kg群：603  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ 、25 mg/kg群：1346  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ 、50 mg/kg群：2250  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ 、100 mg/kg群：8402  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ であった (Table 9)。

### ②吸入暴露によるクロロホルムの体内への吸収率の推定 (Table 10)

50 ppm、100 ppm、200 ppmおよび400 ppmのクロロホルムを6時間吸入暴露したラットの暴露期間360分間と暴露終了後180分間の計540分間における血液中クロロホルム濃度の推移から計算したAUCは、50 ppm群：705  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ 、100 ppm群：844  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ 、200 ppm群：2585  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ 、400 ppm群：5228  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ であった (Table 2)。一方、各暴露濃度におけるクロロホルムの呼吸による吸入量をラットの体重1kg当りの呼吸量 (561 mL/kg体重・分、Maunderly et al. 1979) から計算すると、6時間暴露によるクロロホルムの推定吸入量は50 ppm群：49 mg/kg体重、100 ppm群：99 mg/kg体重、200 ppm群：197 mg/kg体重、400 ppm群：394 mg/kg体重となる。これらの用量のクロロホルムを腹腔投与したと仮定した場合のAUCの期待値を腹腔内投与によるAUCの実測値 (Table 9) から求めると、49 mg/kg体重は2225  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ 、99 mg/kg体重は8353  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ となる。197

mg/kg体重と394 mg/kgは、腹腔内投与の最大用量を超えているため計算を行わなかった。各暴露濃度における吸入暴露による体内への吸収率を、次式から計算した。

吸入暴露による吸収率 = 吸入暴露でのAUCの実測値／腹腔投与したと仮定した場合のAUCの期待値

この式からクロロホルムの吸入暴露による吸収率を求めると、50 ppm群：32%、100 ppm群：10%となった。

### ③経口投与によるクロロホルムの体内への吸収率の推定 (Table 11)

12.5 mg/kg、25 mg/kg、50 mg/kgおよび100 mg/kgのクロロホルムを経口投与したラットの投与後540分間におけるAUCは、12.5 mg/kg群：284  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ 、25 mg/kg群：698  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ 、50 mg/kg群：1221  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ 、100 mg/kg群：2501  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ 、であった (Table 3)。

各投与用量における経口投与による体内への吸収率を、次式から推定した。

経口投与による吸収率 = 経口投与のAUC／腹腔投与のAUC

この式からクロロホルムの経口投与による吸収率を求めると、12.5 mg/kg群：47%、25 mg/kg群：52%、50 mg/kg群：54%、100 mg/kg群：30%となった。

## 3. トルエンの呼気中への排泄量

トルエンを腹腔内投与したラットを収容した吸入チャンバー内の空気から捕集されたトルエン量の推移をTable 12に示した。各投与量とも0-30分の捕集空気からトルエンが検出された。1分間当りに換算したトルエンの捕集量の推移は投与用量によって異なっていた。25 mg/kg群は、投与後180分まで高い値で推移した後、減少した。50 mg/kg群は、投与後360分まで高い値で推移した後、減少した。100 mg

/kg群と200 mg /kg群は時間経過による減少はゆるやかであり、捕集を終了した360分から540分の捕集時間でも高い値のトルエンが検出された。0分から540分までの総捕集量は、投与用量に対応して増加した。腹腔内投与したトルエンの呼気中からの捕集率を、次式から計算した。

$$\text{捕集率 (\%)} = \frac{\text{総捕集量}}{\text{投与用量}} \times 100$$

捕集率は、25 mg /kg群が34%、50 mg /kg群が46%、100 mg /kg群が42%、200 mg /kg群が73%であった。

#### D. 考察

##### 1. クロロホルムの吸入暴露と経口投与による体内暴露量の比較による換算式の有効性の検証

###### (1) 血液中濃度の推移

血液中のクロロホルムの濃度推移は投与経路と投与用量により異なっていた。

吸入暴露は、200 ppm以上の暴露濃度では血液中濃度が天井値に達した後、暴露終了までほぼ一定の血液中濃度のまま推移した。天井値に達するまでの時間は、暴露濃度が25 ppmでは30分、50 ppmでは60分、100 ppmでは180分であり、暴露濃度が高くなるほど天井値に達するまでの時間が長くなると考えられた。400 ppmの濃度では暴露終了時まで血液中濃度の上昇が続いた。暴露終了後は、各濃度群とも経時的に血液中濃度が減衰した。

経口投与では、各投与用量とも投与後60分以内に最高値に達し、その後、時間の経過に伴って減少した。

###### (2) 生物学的半減期

暴露終了時の濃度に対する見かけ上の生物学的半減期は、吸入暴露では暴露濃度によりばらつきが大きく、21分から90分の範囲にあった。

経口投与では、50 mg/kg体重以下の投与用量は80分から84分であったのに対し、100 mg/kg体重は119分であり、投与用量が高くなると半減期が延長することが示唆された。

###### (3) 投与量（暴露濃度、経口投与用量）と体内暴露量の関係

血液中濃度の最高値およびAUCは、吸入暴露、経口投与とも、今回用いた投与用量の範囲内では投与用量の増加に対応して上昇した。

吸入暴露では、暴露濃度100 ppm、200 ppmおよび400 ppmにおける血液中濃度の最高値は、50 ppmに比較すると1.3倍、4.2倍および10.8倍であった。また、AUCは1.2倍、3.7倍および7.4倍であった。従って、血液中濃度の最高値およびAUCとも、100 ppmの結果は低いものの、暴露濃度の増加に対応した比率で上昇すると考えられる。

経口投与では、投与用量25 mg/kg、50 mg/kgおよび100 mg/kgにおける血液中濃度の最高値は、12.5 mg/kgに比較すると2.0倍、3.3倍および8.0倍であった。また、AUCは2.5倍、4.3倍および8.8倍であった。従って、血液中濃度の最高値およびAUCとも、投与用量の増加に対応した比率で上昇すると考えられる。

###### (4) 経口投与実験データを用いた吸入暴露毒性の推定

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

$$\text{経口投与用量} \times \text{経口投与の吸収率} = \text{吸入暴露濃度} \times \text{呼吸量} \times$$

吸入暴露の吸収率

ラットの呼吸量は561 mL / kg体重・分 (0.202 m<sup>3</sup>/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)。トルエンの吸収率