

### 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曝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

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
	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
	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
	香川 聡子	国立医薬品食品衛生研究所 環境衛生化学部	主任研究官
	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
	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

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．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

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
	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
	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

#### 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

平成 16 年度に研究を行ったトルエンと化学構造が類似したエチルベンゼンをモデルとして、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。

#### Ⅲ－１． ２． 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

MCS への関与などの指摘より代替物質としてのアセトアルデヒドもホルムアルデヒドと同様に発生源、接着剤、防腐剤、フィルム現像液などの使用が増加傾向にある。このような状況下で本年度は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実施した。

### 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 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) 家庭環境中から高頻度に検出され、平成16年度に研究を行ったトルエンと化学構造が類似したエチルベンゼンをモデルとして、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、低用量では体内暴露量に基づいて推測された暴露濃度に近似する。しかし、高用量になると低い値（0.75倍～0.39倍）になり、毒性を過大に評価する可能性があるという結果が得られ、トルエンとは異なっていた。トルエン（平成16年度）およびクロロホルム（平成17年度）をモデルとした検証結果と合わせ、①換算式の有効性は化学物質の種類や用量によって異なること、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0.4倍の差が生じる可能性があることがわかった。
- 2) 換算式による推定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、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。その結果、エチルベンゼンの吸入暴露による吸収率は、低濃度では40%であり経口投与による吸収率と近似していた。しかし、高濃度では22%になり経口投与の約1/2の吸収率になった。従って、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吸収率の差が原因になっていると考えられた。
- 3) トルエンとエチルベンゼンは化学構造が類似しているが、両者の体内暴露量（AUC）、換算式の有効性、吸収率には差があり、化学構造が類似していても体内暴露量（AUC）や換算式の有効性、吸収率が近いとは言えないことがわかった。また、両者の差は主に吸収率の差によって生じると考えられた。従って、経口投与の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ためには、個々の化学物質について経口投与と吸入暴露の吸収率を測定することが必要であると結論された。

#### 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、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、毒性をやや過小に推定するが、その差は1.8倍以内であることがわかった。

また、平成17年度は、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ことがわかった。

また、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。その結果、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。従って、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。さらに、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、腹腔内投与した量の34%から73%が投与後540分までに捕集され、呼気中への排泄量の測定に利用できると考えた。

本年度は、家庭環境中から高頻度に検出され、平成16年度に研究を行ったトルエンと化学構造が類似したエチルベンゼンについて、1) ラットに吸入暴露および経口投与し体内暴露量（血液中のエチルベンゼン濃度）の推移を比較し、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、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、吸収率を推定した。これらの結果をトルエンと比較することによって、類似化学物質間で体内暴露量（AUC）や換算式の有効性、吸収率に相似性が有るか否かを検討した。

## B. 研究方法

### 1. エチルベンゼンの吸入暴露および経口投与による体内暴露量（血液中のエチルベンゼン濃度）の測定

#### (1) 被験物質及び実験動物

被験物質として、(株)和光純薬工業製のエチルベンゼン（純度98%）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 294-368g、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エチルベンゼンを一定温度下 (30℃) 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、平成16年度に実施したトルエンの研究の暴露濃度に合わせ、25、50、100、200ppm (109、217、434、868mg/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70℃、注入口温度は100℃、検出器温度は200℃、試料注入量は1mLとした。その結果、吸入暴露装置内のエチルベンゼ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。エチルベンゼンを各投与用量になるようにコーン油に溶解し、胃ゾンデを使用して単回強制経口投与した (体重1kg当たり10 mL)。投与用量は、平成16年度に実施したトルエンの研究の投与用量に合わせ、25、50、100、200 mg/kg・体重とした。

## (3) エチルベンゼンの血液中濃度の測定方法

### ① 試料の採取

エチルベンゼ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 (Agilent Technologies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 エチルベンゼンの分析

ヘッドスペース (Agilent Technologies社、7694) -GC/MS (Agilent Technologies社、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、オープン温度は120℃、ループ温度は140℃、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J&W DB-1 (0.25 mmφ × 60 m)、キャリアーガスはヘリウムを用い、カラム温度は150℃、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230℃、インターフェイス温度は230℃とした。なお、血液中濃度の定量はエチルベンゼ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エチルベンゼンの体内への吸収率の推定 (エチルベンゼン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)和光純薬工業製のエチルベンゼン(純度98%)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284-375g、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

エチルベンゼン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、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。

#### (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(Agilent Technologies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社、7694)-GC/MS(Agilent Technologies社、5973N)を用いて血液中濃度を測定した。分析条件は前述した(3)エチルベンゼンの血液中濃度の測定方法②エチルベンゼンの分析と同様の条件で測定した。

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

腹腔内投与は、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. エチルベンゼンの吸入暴露および経口投与による体内暴露量(血液中のエチルベンゼン濃度)

##### (1) 吸入暴露の血液中エチルベンゼン濃度

吸入暴露したラットの血液中エチルベンゼン濃度の推移をTable 2とFigure 3に示した。

##### ① 血液中濃度の推移

25ppm群では、血液中濃度は暴露開始から180分で天井値(最高濃度の約90%の濃度)に達し、その後、暴露時間の終了までほぼ一定の濃度で推移し、最高値は0.40 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0.13 µg/mLであった。50ppm群、100ppm群および200ppm群は、血液中濃度の経時の上昇は暴露終了時である360分まで続き、暴露終了後は経時的に濃度が低下した。50ppm群の血液中濃度は、暴露終了時が0.81 µg/mL、暴露終了180分後が0.13 µg/mLであった。100ppm群の血液中濃度は、暴露終了時が1.97 µg/mL、暴露終了180分後が0.30 µg/mLであった。また、200ppm群の血液中濃度は、暴露終了時が4.51 µg/mL、暴露終了180分後が0.38 µg/mLであった。

##### ② 生物学的半減期

暴露終了後の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25ppm群で60分、50ppm群で45分、100 ppm群で29分、200ppm群で30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、25ppm群：163 $\mu\text{g}\cdot\text{分} / \text{mL}$ 、50ppm群：288 $\mu\text{g}\cdot\text{分} / \text{mL}$ 、100ppm群：685  $\mu\text{g}\cdot\text{分} / \text{mL}$ 、200ppm群：1433  $\mu\text{g}\cdot\text{分} / \text{mL}$ となった。

### (2) 経口投与の血液中エチルベンゼン濃度

経口投与したラットの血液中エチルベンゼン濃度の推移をTable 3とFigure 4に示した。

#### ① 血液中濃度の推移

25 mg/kg群と50 mg/kg群は、エチルベンゼンの血液中濃度が投与後60分まで上昇し、最高値は25mg/kgで0.49 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、50mg/kgで1.86 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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群で0.15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、50 mg/kgで0.22  $\mu\text{g}/\text{mL}$ になった。100mg/kg群は、血液中濃度は投与後180分と360分が最高値（4.26 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）であり、その後、濃度が低下し、投与後540分に0.64 $\mu\text{g}/\text{mL}$ になった。200mg/kg群は、血液中濃度は投与後180分が最高値（9.16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）であり、その後、濃度が低下し、投与後540分に4.92 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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25mg/kg群が265分、50mg/kg群が237分、100mg/kg群が213分、200 mg/kg群が360分以上であった。

### ③ AUC

投与後540分間におけるAUCは、25mg/kg群：156 $\mu\text{g}\cdot\text{分} / \text{mL}$ 、50mg/kg群：509 $\mu\text{g}\cdot\text{分} / \text{mL}$ 、100mg/kg群：1623 $\mu\text{g}\cdot\text{分} / \text{mL}$ 、200mg/kg群：3818 $\mu\text{g}\cdot\text{分} / \text{mL}$ となった。

エチルベンゼンを吸入暴露または経口投与したラットの血液中エチルベンゼン濃度の最高値、最高値に達する時間、生物学的半

減期およびAUC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エチルベンゼンの体内への吸収率の推定

### (1) エチルベンゼンの吸収率

#### ①腹腔内投与による体内暴露量

エチルベンゼンを腹腔内投与したラットの血液中エチルベンゼン濃度の推移をTable 6とFigure 5に示した。

投与後540分間におけるAUCは、25mg/kg群：463 $\mu\text{g}\cdot\text{分} / \text{mL}$ 、50mg/kg群：843 $\mu\text{g}\cdot\text{分} / \text{mL}$ 、100mg/kg群：3323 $\mu\text{g}\cdot\text{分} / \text{mL}$ 、200mg/kg群：7460 $\mu\text{g}\cdot\text{分} / \text{mL}$ であった（Table 6）。

#### ②吸入暴露によるエチルベンゼンの体内への吸収率の推定（Table 7）

25ppm、50ppm、100ppmおよび200ppmのエチルベンゼンを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エチルベンゼン濃度の推移から計算したAUCは、25ppm群：163 $\mu\text{g}\cdot\text{分} / \text{mL}$ 、50ppm群：288 $\mu\text{g}\cdot\text{分} / \text{mL}$ 、100ppm群：685 $\mu\text{g}\cdot\text{分} / \text{mL}$ 、200ppm群：1433 $\mu\text{g}\cdot\text{分} / \text{mL}$ であった。一方、各暴露濃度におけるエチルベンゼ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時間暴露によるエチルベンゼンの推定吸入量は25ppm群：22mg /kg体重、50ppm群：44mg /kg体重、100ppm群：88mg /kg体重、200ppm群：175mg /kg体重となる。これらの用量のエチルベンゼ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、22mg /kg体重は407 $\mu\text{g}\cdot\text{分} / \text{mL}$ 、44mg /kg体重は752 $\mu\text{g}\cdot\text{分} / \text{mL}$ 、88mg /kg体重は2728 $\mu\text{g}\cdot\text{分} / \text{mL}$ 、175 mg /kg体重は6426 $\mu\text{g}\cdot\text{分} / \text{mL}$ 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

この式からエチルベンゼンの吸入暴露による吸収率を求めると、25ppm群：40%、50ppm群：38%、100ppm群：25%、200ppm群：22%となった。

③経口投与によるエチルベンゼンの体内への吸収率の推定 (Table 8)

25mg/kg、50mg/kg、100mg/kgおよび200mg/kgのエチルベンゼンを経口投与したラットの投与後540分間におけるAUCは、25mg/kg群：156 $\mu$ g $\cdot$ 分 / mL、50mg/kg群：509 $\mu$ g $\cdot$ 分 / mL、100mg/kg群：1623 $\mu$ g $\cdot$ 分 / mL、200mg/kg群：3818 $\mu$ g $\cdot$ 分 / mLであった。

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

この式からエチルベンゼンの経口投与による吸収率を求めると、25mg/kg群：34%、50mg/kg群：60%、100mg/kg群：49%、200mg/kg群：51%となった。

## D. 考察

### 1. エチルベンゼン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

血液中のエチルベンゼン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、暴露濃度が25 ppmでは180分で天井値に達し、その後一定になった。これに対し、暴露濃度が50 ppm以上では、暴露終了の360分まで血液中濃度の上昇が続いた。従って、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。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、投与用量が25mg /kg と

50mg /kgでは60分で天井値に達したのに対し、100mg /kg と200mg /kgでは天井値に達するまでの時間が180分であった。従って、吸入暴露と比較して濃度推移は異なるが、天井値に達するまでの時間と投与用量の関係については、吸入暴露と同様に投与用量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。天井値に達した後、各用量群とも経時的に血液中濃度が減衰したが、200mg /kgの投与用量では他の用量群と比較して減衰が緩やかであった。

#### (2) 血液中濃度の生物学的半減期

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29分から60分の範囲にあった。経口投与では100 mg/kg体重以下の投与用量は213分から265分の範囲にあった。従って、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。さらに、経口投与の200mg /kgの投与用量では、天井値に達した後360分経過しても1/2の天井値まで減衰せず、200mg /kg以上の用量ではエチルベンゼンの100mg /kg以下の投与用量と比較して体内動態が変化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相応して上昇した。

吸入暴露では、暴露濃度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に比較すると2.0倍、4.8倍および11.0倍であった。また、AUCは1.8倍、4.2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、暴露濃度の増加に相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に比較すると3.8倍、8.7倍および18.7倍であった。また、AUCは3.3倍、10.4倍および24.5倍であった。このように、経口投与では血液中濃度の最高値およびAUCとも、投与用量の増加を超える比率で上昇しているようにみえた。そこで、25 mg/kgの値が低すぎるための偶発的な現象である可能性を検討するため、血液中濃度の最高値とAUCの各投与用量間の比を計算すると、50 mg/kg と100 mg/kg間は血液中濃度の最高値が2.3倍、AUCが3.2倍であった。また、100 mg/kg と200 mg/kg間は血液中濃度の最高値が2.2倍、AUCが3.2倍であり、投与用量の比である2倍に近い値であった。従って、経口投与の血液中濃度の最高値およびAUCとも、投与用量の増加にほぼ相応した比率で上昇していると判断した。

#### (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。

経口投与用量×経口投与の吸収率＝吸入暴露濃度×呼吸量×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)。吸収率については、ここでは経口投与の吸収率と吸入暴露の吸収率が等しいと仮定して計算した。その結果、経口投与の25 mg/kg群、50 mg/kg群、100 mg/kg群および200 mg/kg群は、それぞれ、吸入暴露濃度29 ppm、57 ppm、114 ppmおよび228 ppmに変換された (換算計数：1 ppm=4.34 mg/m<sup>3</sup>)。

この値を、今回の実験で得られた体内暴露量を指標として検証した。体内暴露量は、「生体影響が体内暴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」と「血液中

濃度の最高値」の両者を指標とした (Table 5)。

「AUC」を指標とした検証は、各経口投与用量に相当するAUCが得られる暴露濃度を吸入暴露濃度とAUCの関係の表 (Table 4) 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、経口投与用量の25 mg/kg群、50 mg/kg群、100 mg/kg群および200 mg/kg群に相当するAUCが得られる吸入暴露濃度は28 ppm、76 ppm、292 ppmおよび524 ppmであった。換算式から得られた値 (29 ppm、57 ppm、114 ppmおよび228 ppm) を、AUCから推測される暴露濃度と比較すると、25 mg/kg群は1.04倍、50 mg/kg群は0.75倍、100 mg/kg群は0.39倍、200 mg/kg群は0.44倍であり、低用量である25 mg/kg群はよく一致したが、高用量になるに従って低い値 (0.75倍～0.39倍) になると判断された。

「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暴露濃度を吸入暴露濃度と血液中濃度の最高値の関係 (Table 4) 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、経口投与用量の25 mg/kg群、50 mg/kg群、100 mg/kg群および200 mg/kg群に相当する「血液中濃度の最高値」が得られた吸入暴露濃度は31 ppm、95 ppm、190 ppm、406 ppmであった。換算式から得られた値 (29 ppm、57 ppm、114 ppmおよび228 ppm) を、「血液中濃度の最高値」から推測される暴露濃度と比較すると、25 mg/kg群は0.94倍、50 mg/kg群は0.60倍、100 mg/kg群は0.60倍、200 mg/kg群は0.56倍であり、低用量である25 mg/kg群はよく一致したが、高用量では低い値 (0.56倍～0.60倍) になると判断された。

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暴露による生体影響を推定する方法をエチルベンゼンをモデルとして検証した結果、①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低用量では一致するが高用量になると低い値になる、②従って、高用量では毒性を過大に評価する可能性がある、③その値はAUCを指標にした場合には0.75倍～0.39倍であることがわかった。

## 2. 腹腔内投与による体内暴露量との比較によるエチルベンゼンの体内への吸収率の推定

吸入暴露による生体影響を経口投与実験のデータから推定するための換算式は、「経口投与用量×経口投与の吸収率＝吸入暴露濃度×呼吸量×吸入暴露の吸収率」が一般的に用いられており、経口投与での消化管からの吸収率および吸入暴露での呼吸器からの吸収率は換算式の結果を左右する因子となる。しかし、化学物質の体内への吸収率、特に吸入暴露での呼吸器からの吸収率のデータは、入手できないことが多いため、経口投与と吸入暴露の吸収率が等しいと仮定して計算することが多い。今回の検証でも、エチルベンゼンの経口投与と吸入暴露の吸収率が等しいと仮定して計算した。そこで、吸収率の因子が換算式による推定にどの程度関与しているのかを調べるために、吸入暴露と経口投与の大まかな吸収率を推定することを試みた。

腹腔内投与した化学物質は全て体内に入るため、体内に100%吸収されると仮定できる。従って、エチルベンゼンを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と比較することによって、それぞれの投与経路における体内への吸収率を推定できると考えた。

その結果、エチルベンゼンの経口投与による吸収率は、25 mg/kg体重の投与では34%、50 mg/kg体重では60%、100 mg/kg体重では49%、200 mg/kg体重では51%であり、各投与用量間でばらつきはあるが、34%～60%であった。吸入暴露による吸収率は、暴露濃度が25 ppm群では40%、50 ppmでは38%、100 ppmでは25%、200 ppm群では22%であり、暴露濃度25 ppmにおける吸収率が経口投与に近似していたのに対し、50 ppm以上の暴露濃度では

経口投与の約1/2の吸収率になるという結果が得られた。

エチルベンゼンをモデルとした換算式の有効性の検証でも、換算式により得られた値は低用量では体内暴露量（AUC）から推定した値と近似した値が得られたが、高用量では換算式から得られる濃度が低くなる（約0.75倍～0.39倍）という結果が得られており、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可能性が示唆された。

昨年度まで行ったトルエンとクロロホルムについての研究でも、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可能性が示唆された。すなわち、トルエンについては、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。また、換算式の有効性の検証では、換算式により得られた値は低用量では体内暴露量（AUC）から推定した値と近似した値が得られたが、高用量では換算式から得られる濃度がやや高くなる（1.8倍以内）という結果が得られた。クロロホルムについては、吸入暴露による吸収率（10%～32%）は、各濃度とも経口投与による吸収率（30%～54%）に比較して低かった。また、換算式の有効性の検証では、換算式により得られた値は、体内暴露量に基づいて推測された暴露濃度（AUC）に比べ約0.5倍低い値という結果が得られた。

これらの結果は、経口投与の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際に、経口投与と吸入暴露の両者の吸収率を考慮することの重要性を示している。

## 3. トルエンとエチルベンゼンの比較

トルエンとエチルベンゼンの化学構造は類似しており、ベンゼンにメチル基がつくとトルエン、エチル基がつくとエチルベンゼンである。化学構造が類似したトルエンとエチルベンゼンを比較することによって、類似化学物質間で体内暴露量（AUC）や換算式の有効性、吸収

率に相似性が有るか否か検討した。

AUC (Table 9) については、経口投与では各投与用量ともトルエンとエチルベンゼンの間に差がみられなかった。しかし、吸入曝露によるAUCは、曝露濃度が25 ppmでは両者の間に差がみられなかったが、曝露濃度が50 ppm以上ではトルエンに比較してエチルベンゼンのAUCが顕著に低い値であった。

従って、経口投与実験の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 (Table 10) についても、経口投与の投与用量が25 mg/kgではトルエンとエチルベンゼンの間に差がみられなかったが、50 mg/kg以上の投与用量ではトルエンが1.44~1.72倍高かったのに対し、エチルベンゼンは0.39~0.75倍低い値であった。

吸収率については、吸入曝露による吸収率 (Table 11) が高濃度でトルエンに比較してエチルベンゼンが顕著に低かった。従って、高濃度の吸入曝露でトルエンに比較してエチルベンゼンのAUCが低くなった原因は、吸入曝露による吸収率が低いことが大きな要因になっている可能性が示唆された。なお、経口投与の吸収率 (Table 12) はトルエンに比較してエチルベンゼンの方が高い傾向があった。

トルエンとエチルベンゼンは化学構造が類似しているが、両者の体内曝露量 (AUC)、換算式の有効性、吸収率には差があり、トルエンとエチルベンゼンに関しては化学構造が類似していても相似性がみられないと判断した。また、両者の差は主に吸収率の差によって生じると考えられた。従って、経口投与の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ためには、化学構造が類似していても、個々の化学物質について経口投与と吸入曝露の吸収率を測定することが必要であると考えられる。

## E. 結論

本年度の研究の結果、以下の結論を得た。

- 1) エチルベンゼンをモデルとして、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について体

内曝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曝露濃度は、低用量では体内曝露量に基づいて推測された曝露濃度に近似する。しかし、高用量になると低い値 (0.75倍~0.39倍) になり、毒性を過大に評価する可能性がある。

- 2) トルエンをモデルとした検証 (平成16年度) では、換算式を用いて計算した曝露濃度は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になる、ただし、高濃度ではやや高い値 (1.8倍以内) になり毒性を過小に推定するという結果が得られている。また、クロロホルムをモデルとした検証 (平成17年度) では、換算式を用いて計算した曝露濃度は体内曝露量に基づいて推測された曝露濃度に比べ低い値 (約0.5倍) になり、毒性を過大に推定するという結果が得られている。本年のエチルベンゼンをモデルとした結果も、①換算式の有効性は化学物質の種類や用量によって異なること、②吸入曝露による毒性を経口投与実験のデータから換算式によって推定する場合、換算式から得られた値と実際の値の間には約2倍から0.4倍の差が生じる可能性があることを念頭におくことの必要性が示された。
- 3) エチルベンゼンの吸入曝露による吸収率は、低濃度では40%であり経口投与による吸収率と近似していた。しかし、高濃度では22%になり経口投与の約1/2の吸収率になった。従って、換算式から得られる値と体内曝露量からの推測値の差は吸収率の差が原因になっている可能性が示めされた。
- 4) トルエンとエチルベンゼンは化学構造が類似しているが、両者の体内曝露量 (AUC)、換算式の有効性、吸収率には差があり、トルエンとエチルベンゼンに関しては化学構造が類似していても相似性がみられないと判断した。従って、化学構造が類似していても体内曝露量 (AUC) や換算式の有効性、吸収率が近いとは言えない

ことがわかった。また、両者の差は主に吸入率の差によって生じると考えられる。従って、経口投与の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ためには、化学構造が類似していても、個々の化学物質について経口投与と吸入暴露の吸入率を測定することが必要であると結論された。

#### F. 参考文献

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

#### G. 健康危機情報

なし

#### H. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

- 1) 第15回環境化学討論会(仙台; 2006年)、武 信、大西 誠、長野嘉介、山本静護、松島泰次郎、ラットを用いたトルエンの投与濃度・経路による血液中濃度推移の研究、第15回環境化学討論会講演要旨集、p632-633.

#### I. 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. 吸入チャンバー内のエチルベンゼン濃度

吸入暴露群	25ppm 群	50ppm 群	100ppm 群	200ppm 群
	24.8±0.33 <sup>a</sup>	49.9±0.63	100.1±0.70	200.9±1.79

a: エチルベンゼン濃度 (ppm) : 平均値±標準偏差

Table 2. エチルベンゼンを吸入暴露したラットの血液中エチルベンゼン濃度および AUC

吸入暴露群	25ppm 群	50ppm 群	100ppm 群	200ppm 群
30 分	0.28±0.02 <sup>a</sup>	0.46±0.03	0.94±0.07	1.74±0.38
暴露中 60 分	0.35±0.02	0.52±0.02	1.37±0.26	2.28±0.45
180 分	0.37±0.02	0.71±0.06	1.66±0.11	3.39±0.56
360 分	0.40±0.02	0.81±0.08	1.97±0.28	4.51±1.58
30 分	0.29±0.01	0.54±0.13	0.94±0.07	2.26±0.82
暴露後 60 分	0.19±0.01	0.26±0.12	0.69±0.01	1.83±0.41
180 分	0.13±0.01	0.13±0.02	0.30±0.02	0.38±0.13
AUC <sup>b</sup>	163	288	685	1433

a: エチルベンゼンの血液中濃度 (μg/mL) : 平均値±標準偏差

b: 暴露中 360 分間および暴露終了後 180 分間における Area Under the Curve (μg 分/mL)

Table 3. エチルベンゼンを経口投与したラットの血液中エチルベンゼン濃度および AUC

経口投与群	25mg/kg 群	50mg/kg 群	100mg/kg 群	200mg/kg 群
30 分	0.40±0.02 <sup>a</sup>	0.99±0.34	3.97±1.76	3.74±1.39
60 分	0.49±0.11	1.86±0.52	2.97±0.17	6.19±3.24
180 分	0.39±0.05	1.49±0.61	4.26±0.62	9.16±1.20
360 分	0.21±0.08	0.63±0.34	4.26±2.04	8.75±2.16
390 分	0.17±0.03	0.37±0.09	2.25±1.31	5.49±0.80
420 分	0.17±0.04	0.35±0.13	1.18±0.13	6.52±1.74
540 分	0.15±0.03	0.22±0.05	0.64±0.29	4.92±2.19
AUC <sup>b</sup>	156	509	1623	3818

a: エチルベンゼンの血液中濃度 (μg/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 (μg・分/mL)

Table 4. エチルベンゼンを吸入暴露または経口投与したラットの血液中エチルベンゼン濃度

		最高値 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	最高値に達する時間 (分) *1	半減期 (分) *2	AUC ( $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ ) *3
吸入暴露	25ppm	0.41	180	60	163
	50ppm	0.81	$\geq 360$	45	288
	100ppm	1.97	$\geq 360$	29	685
	200ppm	4.51	$\geq 360$	30	1433
経口投与	25mg/kg 体重	0.49	60	265	156
	50mg/kg 体重	1.86	60	237	509
	100mg/kg 体重	4.26	180-360	213	1623
	200mg/kg 体重	9.16	180	$\geq 360$	3818

\*1：吸入暴露は最高濃度の90%以上の濃度に達する時間

\*2：経口投与（最大値から1/2になる時間）、吸入暴露（暴露終了時から1/2になる時間）

\*3：540分間（投与開始から血液中濃度測定終了までの時間）におけるAUC

Table 5. エチルベンゼンの経口投与の吸入暴露への換算式による変換および検証

経口投与用量	吸入暴露濃度 への変換 (A)	AUCによる検証		血液中濃度の最高値による検証	
		相当吸入暴露 濃度 (B)	A/B	相当吸入暴露 濃度 (C)	A/C
25mg/kg 群	29ppm	28ppm	1.04	31ppm	0.94
50mg/kg 群	57ppm	76ppm	0.75	95ppm	0.60
100mg/kg 群	114ppm	292ppm	0.39	190ppm	0.60
200mg/kg 群	228ppm	524ppm	0.44	406ppm	0.56

(A) 換算式により得た暴露濃度

(B) 経口投与用量に相当するAUC値となる吸入暴露濃度

(C) 経口投与用量に相当する血液中濃度の最大値となる吸入暴露濃度

A/B：換算式により得た吸入暴露濃度 / 経口投与用量に相当するAUC値となる吸入暴露濃度

A/C：換算式により得た吸入暴露濃度 / 経口投与用量に相当する血液中濃度の最大値となる吸入暴露濃度

Table 6. エチルベンゼンを腹腔内に投与したラットの血液中エチルベンゼン濃度および AUC

腹腔投与群	25mg/kg 群	50mg/kg 群	100mg/kg 群	200mg/kg 群
30 分	0.70±0.11 <sup>a</sup>	1.05±0.21	4.43±0.72	8.13±0.99
60 分	1.03±0.11	1.28±0.41	5.87±1.18	10.06±4.70
180 分	1.43±0.56	2.93±0.64	10.13±0.80	16.30±4.97
360 分	0.66±0.04	1.23±0.27	4.82±0.20	17.79±3.34
390 分	0.63±0.23	1.13±0.29	5.96±1.60	15.45±1.52
420 分	0.52±0.21	1.01±0.04	4.99±1.47	15.51±0.97
540 分	0.38±0.12	0.61±0.07	2.86±0.89	8.69±1.71
AUC <sup>b</sup>	463	843	3323	7460

a: エチルベンゼンの血液中濃度 (μg/mL) : 平均値±標準偏差

b: 腹腔投与後 540 分間における Area Under the Curve (μg・分 / mL)

Table 7. エチルベンゼンの吸入暴露での吸収率の推定

吸入暴露			吸入暴露の推定吸入量を腹腔投与したと仮定した場合の AUC の期待値 (C)	吸入暴露の吸収率 (A)/(C)
暴露濃度	AUC (A)	推定吸入量 (B)		
25ppm	163	22mg /kg	407	40%
50ppm	288	44mg /kg	752	38%
100ppm	685	88mg /kg	2728	25%
200ppm	1433	175mg /kg	6426	22%

(A) : 暴露中 360 分間、暴露終了後 180 分間、計 540 分間の AUC (μg・分 / mL)

(B) : エチルベンゼンの換算係数を 4.34 mg/m<sup>3</sup> : 1 ppm、ラットの呼吸量を 561 mL / kg 体重・分 (Maunderly et al. 1979) として計算

(C) : 投与後 540 分間の AUC (μg・分 / mL)

Table 8. エチルベンゼンの経口投与での吸収率の推定

投与用量	AUC		経口投与の吸収率 (A)/(B)
	経口投与(A)	腹腔内投与 (B)	
25mg /kg 体重	156	463	34%
50mg /kg 体重	509	843	60%
100mg /kg 体重	1623	3323	49%
200mg /kg 体重	3818	7460	51%

(A) ,(B) : 投与後 540 分間の AUC (μg・分 / mL)



Table 9. トルエンとエチルベンゼンの比較 (AUC)

		AUC (μg・分 /mL) *1	
		トルエン	エチルベンゼン
吸入暴露	25ppm	159	163
	50ppm	505	288
	100ppm	2419	685
	200ppm	4474	1433
経口投与	25mg/kg 体重	288	156
	50mg/kg 体重	457	509
	100mg/kg 体重	1399	1623
	200mg/kg 体重	3561	3818

\*1 : 540 分間 (投与開始から血液中濃度測定終了までの時間) における AUC

Table 10. トルエンとエチルベンゼンの比較

(経口投与の吸入暴露への換算式による変換および AUC による検証)

経口投与用量	トルエン			エチルベンゼン		
	AUC による検証			AUC による検証		
	吸入暴露濃度 への変換 (A)	相当吸入暴露 濃度 (B)	A/B	吸入暴露濃度 への変換 (A)	相当吸入暴露 濃度 (B)	A/B
25mg/kg 群	32ppm	35ppm	0.91	29ppm	28ppm	1.04
50mg/kg 群	65ppm	45ppm	1.44	57ppm	76ppm	0.75
100mg/kg 群	129ppm	75ppm	1.72	114ppm	292ppm	0.39
200mg/kg 群	258ppm	155ppm	1.66	228ppm	524ppm	0.44

(A) 換算式により得た暴露濃度

(B) 経口投与用量に相当する AUC 値となる吸入暴露濃度

A/B : 換算式により得た吸入暴露濃度 / 経口投与用量に相当する AUC 値となる吸入暴露濃度

Table 11. トルエンとエチルベンゼンの比較(吸入暴露での吸収率の推定)

暴露濃度	トルエン	エチルベンゼン
25ppm	20%	40%
50ppm	29%	38%
100ppm	62%	25%
200ppm	59%	22%

Table 12. トルエンとエチルベンゼンの比較(経口投与での吸収率の推定)

投与用量	トルエン	エチルベンゼン
25 mg /kg 体重	28%	34%
50 mg /kg 体重	19%	60%
100 mg /kg 体重	27%	49%
200 mg /kg 体重	38%	51%

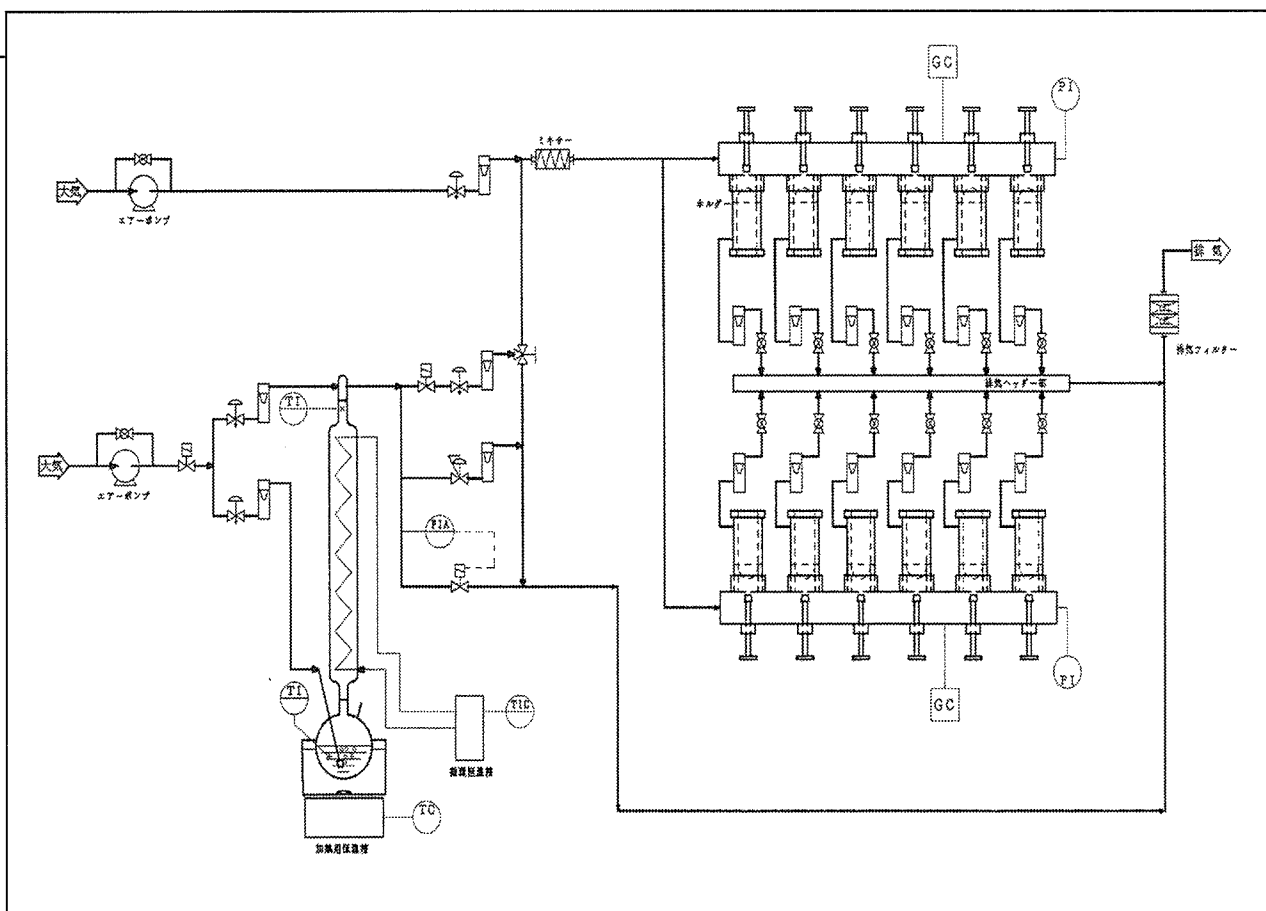


Figure 1. 吸入暴露装置

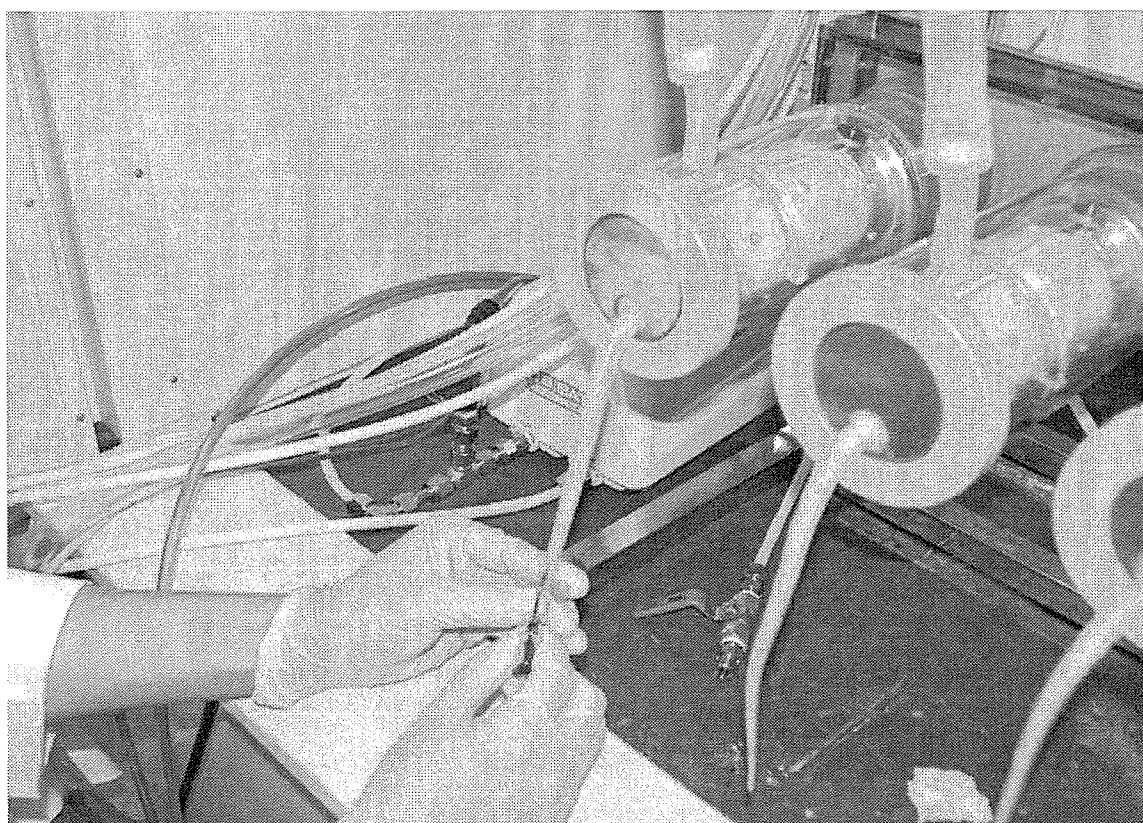


Figure 2. 吸入暴露中のラットからの採血

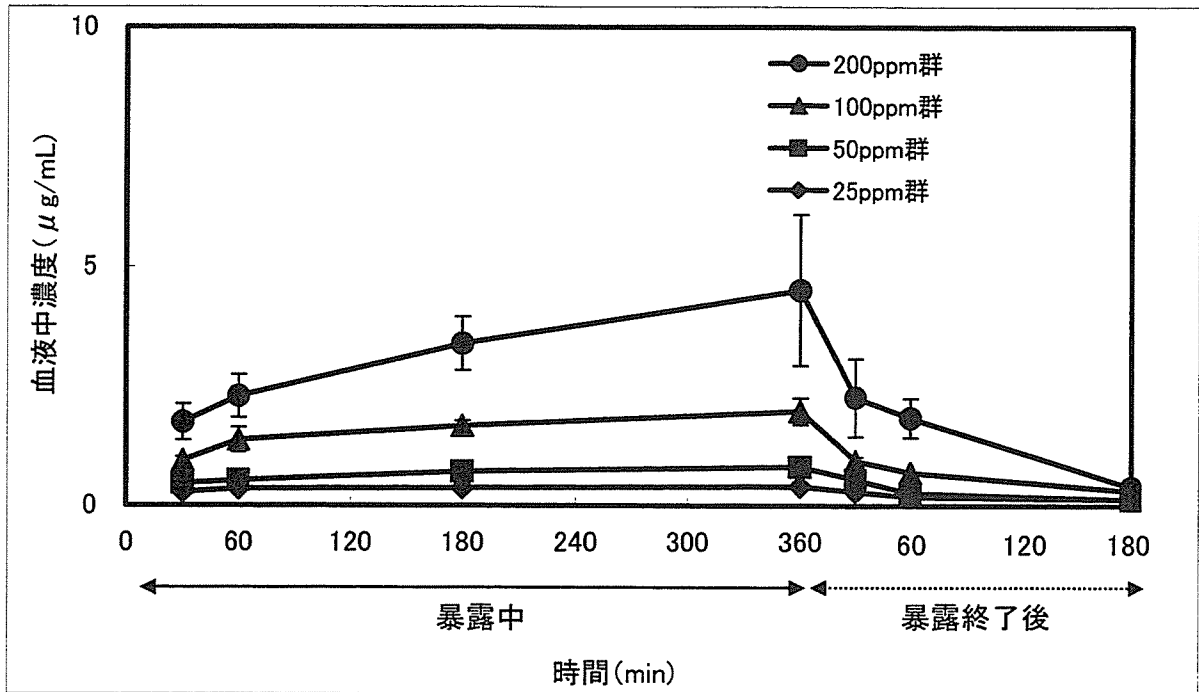


Figure 3. エチルベンゼンを吸入暴露したラットの血液中エチルベンゼン濃度の推移

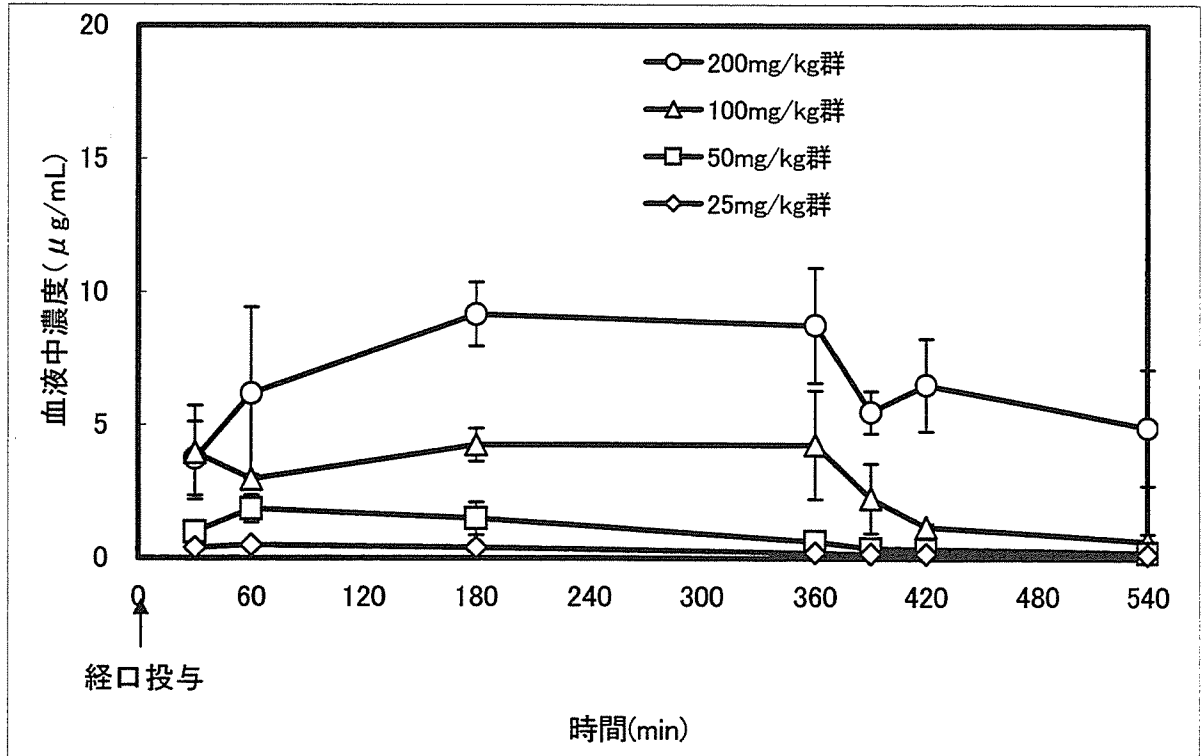


Figure 4. エチルベンゼンを経口投与したラットの血液中エチルベンゼン濃度の推移