

### 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

日本バイオアッセイ研究センター 病理検査部 長野 嘉介  
産業医科大学 産業保健部 嵐谷 奎一

##### 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

##### 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

#### 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

##### 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

##### 2. 2. TRPV3 受容体の細胞発現系を用いた in vitro スクリーニング系の確立

### 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	
	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	主任研究官

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．吸入による中長期低濃度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
- 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。

i) トルエンの吸入毒性の評価に関する研究

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/m<sup>3</sup>）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

ー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に比較すると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に比較すると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。

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

ラットの呼吸量は561 mL / kg体重・分 (0.202 m<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、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÷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LD<sub>50</sub>値が5 g/kg、吸入曝露によるLC<sub>50</sub>値が13055 ppm(50000 mg/m<sup>3</sup>)と報告されている (IARC 1989)。経口投与のLD<sub>50</sub>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LC<sub>50</sub>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。

#### F. 参考文献

- 1) IARC. 1989. Toluene. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans 47:79-123.
- 2) 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.

- 3) 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

#### 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  
なし

#### 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 <sup>a</sup>	49.1±0.86	99.9±1.84	199±0.50

<sup>a</sup> 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 <sup>a</sup>	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 <sup>b</sup>	159	505	2419	4474

<sup>a</sup> トルエンの血液中濃度 ( $\mu$  g/mL) : 平均値±標準偏差

<sup>b</sup> 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 ( $\mu$  g/mL·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 <sup>a</sup>	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 <sup>b</sup>	288	457	1399	3561

<sup>a</sup> トルエンの血液中濃度 ( $\mu$  g/mL) : 平均値±標準偏差

<sup>b</sup> 経口投与後 540 分間における Area Under the Curve ( $\mu$  g/mL·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

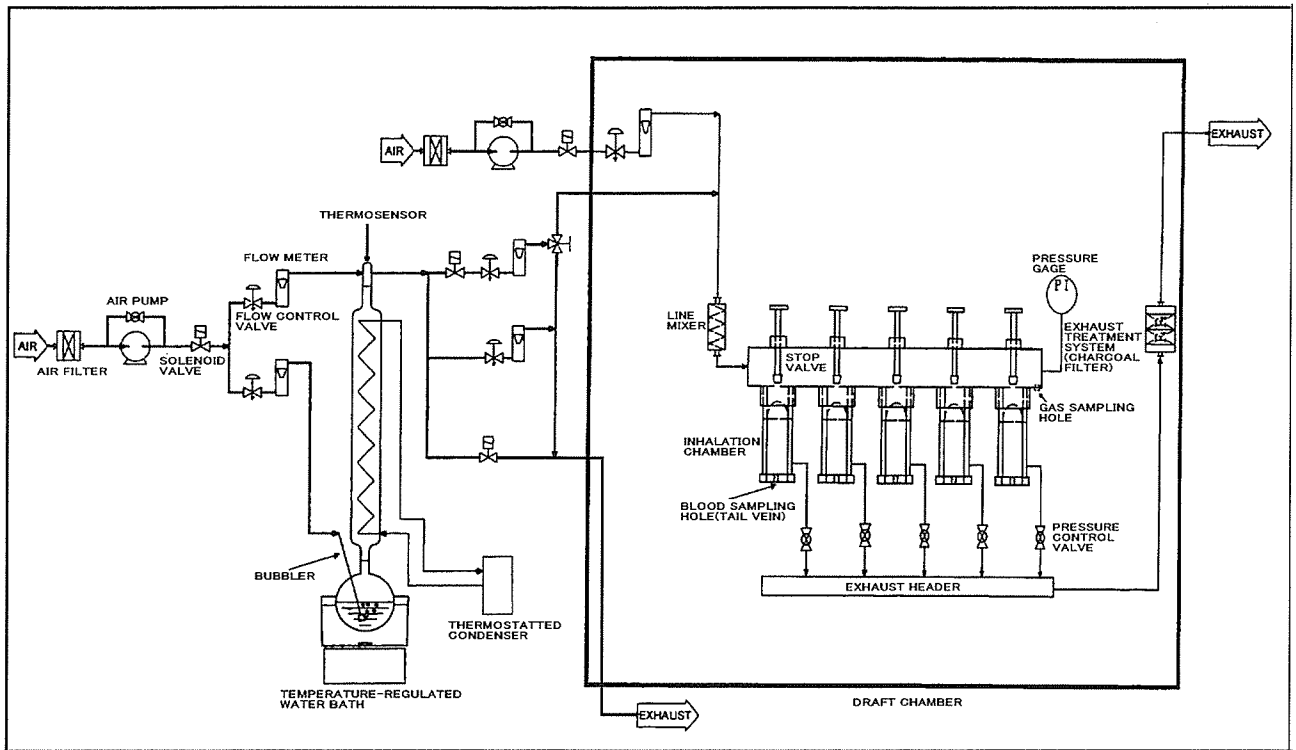


Figure 1. 吸入曝露装置

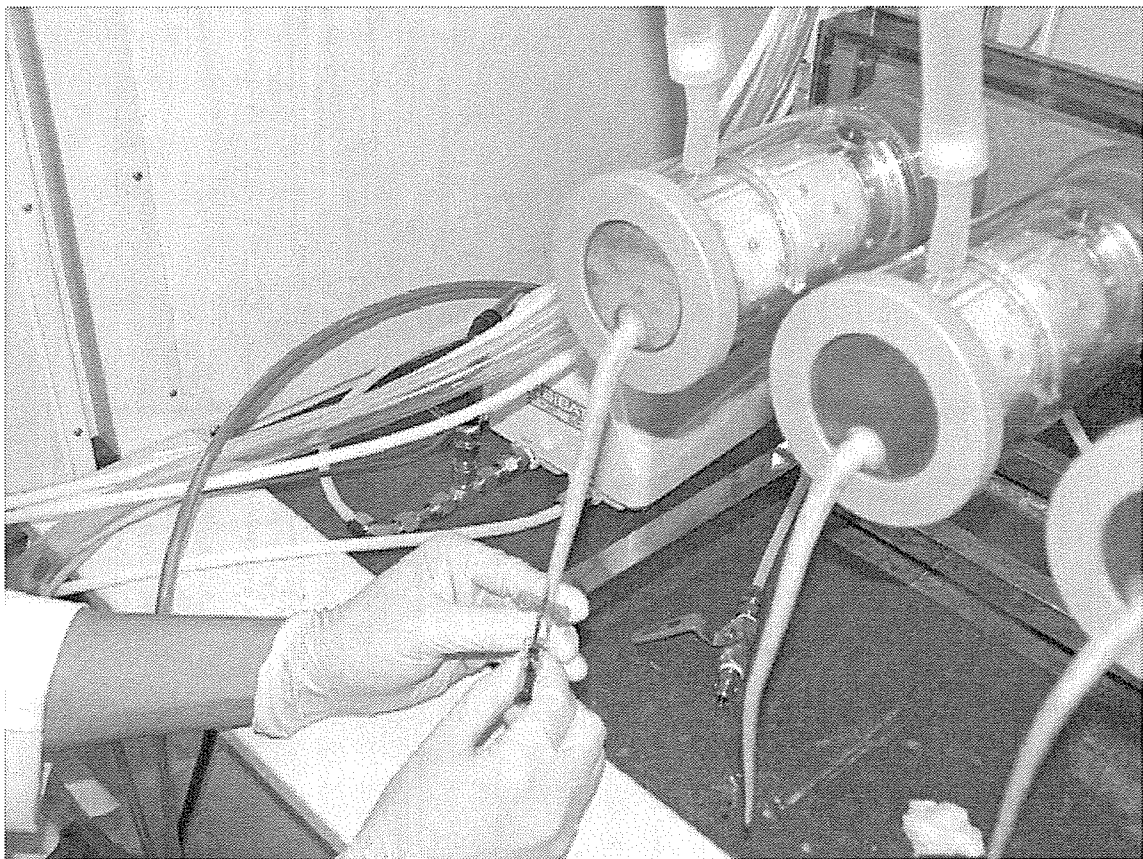


Figure 2. 吸入曝露中のラットからの採血

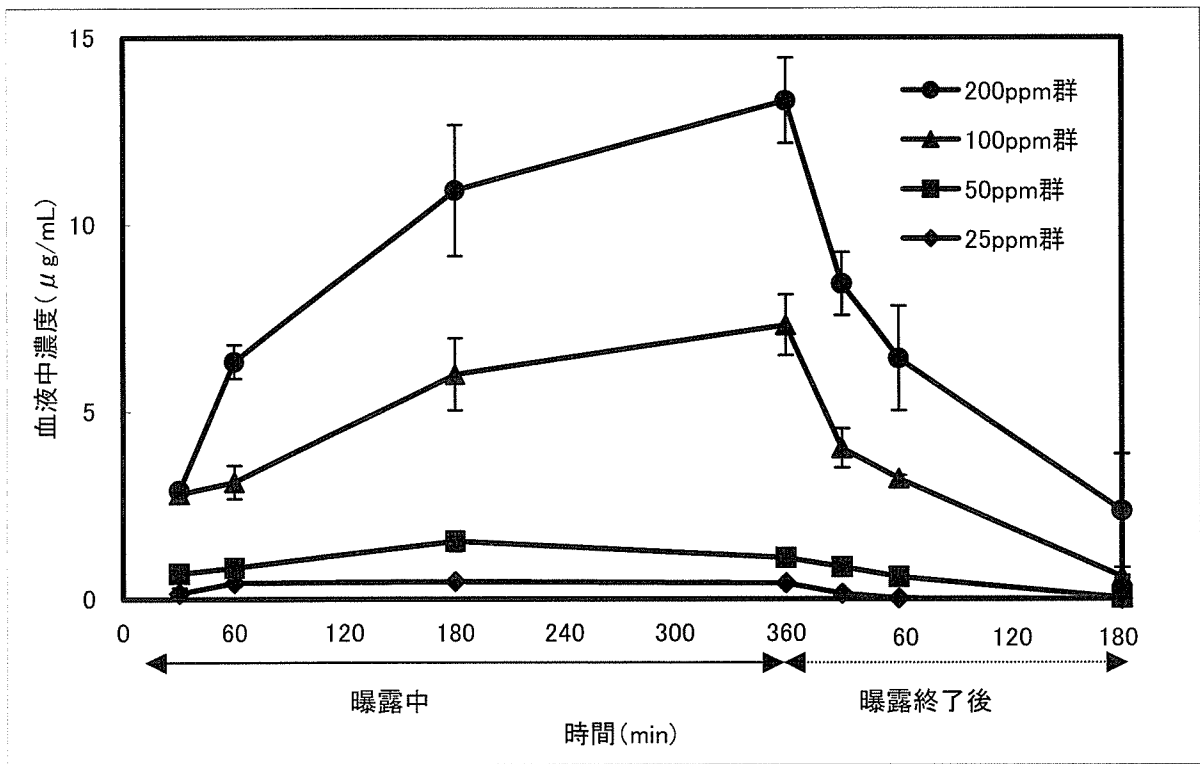


Figure 3. トルエンの血液中濃度(吸入曝露群)

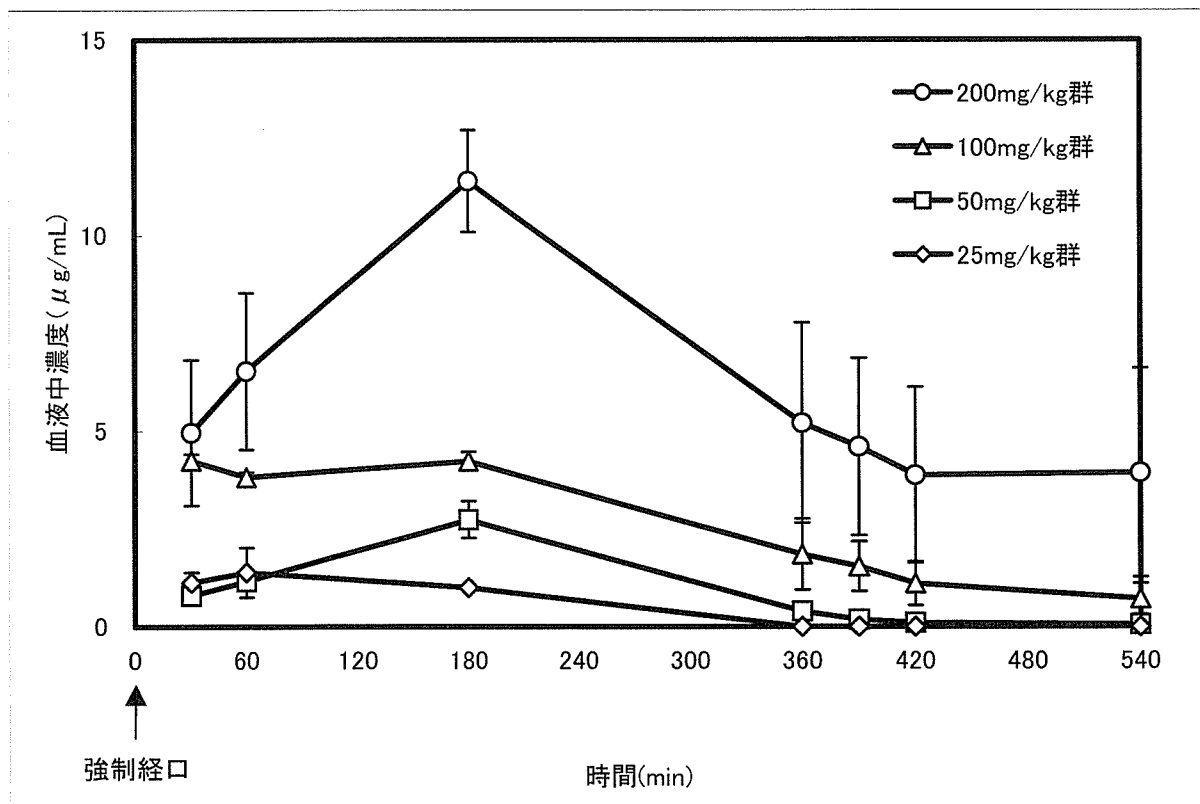


Figure 4. トルエンの血液中濃度(経口投与群)

ii) トルエンとクロロホルムの吸入毒性の評価の違いに関する研究

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ことがわかった。
- 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対応して上昇し、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℃、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、オープン温度は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

クロホルムは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  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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  $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。100 ppm群では、トルエンの血液中濃度の経時の上昇は暴露開始から60分までみられ、最高値は2.15  $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。暴露終了から180分後の濃度は0.82  $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。200 ppm群では、血液中濃度の経時の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  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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  $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。400 ppm群では、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、暴露終了時の血液中濃度は、17.95  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ 、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  $\mu\text{g}\cdot\text{分}/\text{mL}$ 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  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）になり、その後、濃度が低下し、投与後540分では0.22  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、50 mg/kgで6.86  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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、50 mg/kgとも0.23  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）であり、その後、濃度が低下し、投与後540分に0.37  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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な

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)。トルエンの吸収率については、経口投与では吸収がよいと報告されているが (IARC 1999)、吸入暴露での