

## I 試験材料

### I-1 被験物質の性状等

#### I-1-1 名称等

名 称 : スチレン(Styrene)

CAS No. : 100-42-5

#### I-1-2 示性式及び分子量

示 性 式 :  $C_6H_5CH = CH_2$

分 子 量 : 104.15

#### I-1-3 物理化学的性状等

性 状 : 無色の液体

沸 点 : 145~146°C

蒸 気 圧 : 0.67kPa (20°C)

比 重 : 0.9059 (20°C)

### I-2 被験物質の使用ロット等

性 状 : 高圧標準ガス (120 L ボンベ、充填量 0.9 Mpa)

標準ガスボンベの濃度 : 150 ppm 相当 (高千穂商事(株) 検査成績書データ)

製 造 元 : 高千穂商事(株)

使用ロット番号 (濃度) (使用期間) :

GMY16814(148 ppm)、GMY16993(148 ppm) (2007/5/30 ~ 2007/5/31)

GMY16994(149 ppm)、GMY16817(149 ppm) (2007/5/31 ~ 2007/6/1)

GMY16810(151 ppm)、GMY16992(151 ppm) (2007/6/1~2007/6/2)

GMY16991(152 ppm)、GMY8006(151 ppm) (2007/6/2~2007/6/3)

GMY8308(153 ppm)、GMY7683(153 ppm) (2007/6/3~2007/6/4)

GMY11683(154 ppm)、GMY7687(153 ppm) (2007/6/4~2007/6/5)

GMY11680(155 ppm)、GMY8675(155 ppm) (2007/6/5~2007/6/6)

保管条件 : 室温で保管 (516 室)

### I-3 被験物質の特性

使用した被験物質の特性は、GC/MS (Agilent Technologies 社製 Agilent Technologies 5973N) を用いて定性した。その結果、スチレンに相当する分子イオンピーク及びフラグメントピーク (文献 1) を確認した (図 1)。

### I-4 試験動物

動物は、日本エスエルシー(株) (静岡県浜松市湖東町 3371 番地の 8) 春野支所の C57BL/6 Cr Slc マウス (SPF) の雄を使用した。

1 日目及び 3 日目解剖動物は、32 匹を 10 週齢 (2007 年 3 月 8~9 日生まれ) で導入し、検疫 (6 日間)、馴化 (1 週間) を実施した後、発育順調で一般状態に異常を認めなかった動物から、体重値の中央値に近い 24 匹 (群構成時体重範囲、24.0~26.2g) を選別し、試験に用いた。7 日目及び暴露終了翌日解剖動物は、37 匹を 9 週齢 (2007 年 3 月 15~16 日生まれ) で導入し、検疫 (6 日間)、馴化 (1 週間) を実施した後、発育順調で一般状態に異常を認めなかった動物から、体重値の中央値に近い 24 匹 (群構成時体重範囲、24.3~27.6g) を選別し、試験に用いた。

## II 試験方法

### II-1 投与

#### II-1-1 投与経路

投与経路は全身暴露による経気道投与とした。

#### II-1-2 被験物質の投与方法

試験動物を収容した吸入チャンバー内に、設定濃度に調整した被験物質を含む空気を送り込み、動物に全身暴露した。

#### II-1-3 投与期間

投与期間は 1 日 22 時間暴露 (50 ppb 群 ; 午後 0 時 30 分から翌日午前 10 時 30 分、150 ppb 群 ; 午後 0 時 15 分から翌日午前 10 時 15 分、500 ppb 群 ; 午後 0 時から翌日午前 10 時) で最長 7 日間とし、暴露開始後 1 日目、3 日目、7 日目及び暴露終了翌日の解剖群を設けた。試験スケジュールを図 2 に示した。

#### II-1-4 投与濃度

投与濃度は、50、150 及び 500 ppb の 3 段階に設定した。なお、対照群は清浄空気による換気のみとした。

#### II-1-5 投与経路、投与期間及び投与濃度の設定理由

投与経路は室内環境での暴露経路に合わせ、全身暴露による経気道投与とした。

投与期間は、継続暴露による影響を検索するため、最長 7 日間とし、暴露開始後 1 日目、3 日目、7 日目及び暴露終了翌日の解剖群を設けた。投与時間は、室内環境での暴露形態 (24 時間) から、動物の飼育作業に要する時間 (2 時間) を差し引いて、1 日 22 時間とした。また、投与時刻は、解剖時間を午前 10 時から 12 時とするため、50 ppb 群は午後 0 時 30 分から翌日午前 10 時 30 分、150 ppb 群は午後 0 時 15 分から翌日午前 10 時 15 分、500 ppb 群は午後 0 時から翌日午前 10 時とした。

投与濃度はスチレンの室内濃度指針値である 50 ppb を考慮して、50、150 及び 500 ppb

の3段階（公比約3）に設定した。

#### II-1-6 被験物質の発生方法と濃度調整

吸入装置のシステムを図3に示した。スチレン標準ガスを吸入チャンバー上部のラインミキサーに供給し、新鮮空気と混合することにより、設定濃度の被験物質を吸入チャンバーに送り込んだ。スチレン標準ガスのラインミキサーへの供給量は、流量計を用いて調節した。

なお、新鮮空気はHEPAフィルターと活性炭フィルターにより濾過して使用した。

#### II-1-7 被験物質濃度の測定

吸入チャンバー内の被験物質濃度は、固相吸着-溶媒抽出法により毎日測定した。

##### (1) 被験物質の捕集方法

サンプリング用ポンプとして高負荷型ミニポンプ(MP-Σ100H、柴田科学製)を用いて、動物を収容したケージの上部に設置した捕集管(ORBO™-100 Adsorbent、SUPELCO製)に吸入チャンバー内の空気を吸引した。サンプリング用ポンプの吸引流量は0.5 L/分とした。捕集時間は、対照群と50 ppb群では暴露時間(暴露開始から暴露停止まで)に合わせ22時間、150 ppb群と500 ppb群では捕集管の破過を考慮して暴露開始から6時間とした。捕集管の暴露1回当たりの使用本数は、対照群は1本、暴露群は各濃度とも3本とした。

##### (2) 捕集管の前処理及び分析条件

捕集管の活性炭(1層及び2層)を取り出し、各々、かつ色バイアルびん(柴田科学製)に入れ、トルエン(和光純薬工業製、∞Pure)2 mLを加え、蓋をしてダイレクトミキサー(サーマル化学産業製)を用いて1時間振とうした。500 ppb群の活性炭1層は、検量線の所定の範囲に入るように段階希釈した。その後、バイアルビン(Agilent Technologies社製2 mL用バイアルビン)に入れ、蓋をしてガスクロマトグラフ(ヒューレットパッカード社製HP5890A)により測定した。

ガスクロマトグラフの分析条件は、カラムはDB-1(0.53 mmφ × 60m)、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100°C、注入口温度は200°C、検出器温度は200°C、試料注入量は1 μLとした。

## II-2 動物管理

### II-2-1 各群の使用動物数

投与群3群及び対照群1群の計4群を設け、各群12匹の動物を用いた。また、暴露開始後1日目、3日目、7日目及び暴露終了翌日の解剖期を設けた。

群 番号	群 名 称	解剖期	雄 使用動物数(動物番号)
0	対 照 群	1 日 目 解 剖	3 匹 (1001~1003)
		3 日 目 解 剖	3 匹 (1004~1006)
		7 日 目 解 剖	3 匹 (1007~1009)
		暴露終了翌日解剖	3 匹 (1010~1012)
1	50 ppb 群	1 日 目 解 剖	3 匹 (1101~1103)
		3 日 目 解 剖	3 匹 (1104~1106)
		7 日 目 解 剖	3 匹 (1107~1109)
		暴露終了翌日解剖	3 匹 (1110~1112)
2	150 ppb 群	1 日 目 解 剖	3 匹 (1201~1203)
		3 日 目 解 剖	3 匹 (1204~1206)
		7 日 目 解 剖	3 匹 (1207~1209)
		暴露終了翌日解剖	3 匹 (1210~1212)
3	500 ppb 群	1 日 目 解 剖	3 匹 (1301~1303)
		3 日 目 解 剖	3 匹 (1304~1306)
		7 日 目 解 剖	3 匹 (1307~1309)
		暴露終了翌日解剖	3 匹 (1310~1312)

## II-2-2 群分け及び個体識別方法

群分けは、投与開始日に行った。供試動物の各群への割り当ては、一般状態及び体重の推移に異常を認めない動物を体重の重い順より各群に 1 匹ずつ割り当て、二巡目からは各群の動物の体重の合計を比較して、小さい群より順に体重の重い動物を割り当てることにより、群間の体重の偏りを小さくする群分け方法（適正層別方式）により実施した。ただし、7 日目及び暴露終了翌日解剖動物は週齢が他の解剖期の動物と異なるため、試験番号 4423 として別途群構成を行った。

動物の個体識別は、検疫期間、馴化期間及び投与期間ともケージに個体識別番号を記したラベルを付すことにより行った。なお、室の扉に試験番号、動物種及び動物番号を表示した。

## II-2-3 飼育条件

### (1) 飼育環境

検疫期間中は検疫室（517 室）で、馴化期間及び投与期間中は、吸入試験室（516 室）の吸入チャンバー内で動物を飼育した。

検疫室、吸入試験室及び吸入チャンバー内の環境条件及び使用したケージを以下に示した。また、吸入チャンバー内環境の実測値を<最低値～最高値>と表1～3に示した。検疫室、吸入試験室及び吸入チャンバー内の環境には、動物の健康状態に影響を与えるような大きな変化は認められなかった。

温度 : 検疫室 ; 23±2℃  
吸入試験室 ; 21±2℃  
吸入チャンバー内 ; 20～24℃ <21.9℃～22.1℃>

湿度 : 検疫室 ; 55±15%  
吸入チャンバー内 ; 30～70% <51.4%～54.1%>

明暗サイクル : 12時間点灯(8:00～20:00) / 12時間消灯(20:00～8:00)

換気回数 : 検疫室 ; 15～17回/時  
吸入試験室 ; 5～7回/時  
吸入チャンバー内 ; 12±1回/時

圧力 : 吸入チャンバー内 ; 0～-15×10Pa

吸入チャンバー容積 : 1060L

ケージへの動物の収容方法 : 単飼

ケージの材質・形状・寸法等 :

検疫期間 ; ステンレス製2連網ケージ (112(W)×212(D)×120(H) mm/匹)

馴化期間 ; ステンレス製6連網ケージ (95(W)×116(D)×120(H) mm/匹)

投与期間 ; ステンレス製5連網ケージ (100(W)×116(D)×120(H) mm/匹)

## (2) 飼料

飼料は、全飼育期間を通して、オリエンタル酵母工業(株) (千葉工場 : 千葉県千葉市美浜区新港 8-2) の CRF-1 固型飼料 (30KGy<sup>γ</sup>線照射滅菌飼料) を固型飼料給餌器により自由摂取させた。

なお、試験に使用した飼料の栄養成分についてはオリエンタル酵母工業(株)から自社分析データを使用ロットごとに入手し、保管した。飼料中の夾雑物については(財)日本食品分析センター (東京都渋谷区元代々木町 52-1) の分析データを使用ロットごとに入手し、試験計画書に規定した許容基準と照合して異常のないことを確認し、保管した。

## (3) 飲水

飲水は、全飼育期間を通して、市水 (神奈川県秦野市水道局供給) をフィルターろ過した後、紫外線照射し、自動給水装置により自由摂取させた。

なお、飲水は、試験施設として実施している定期サンプリングによる飲水を(財)食品薬品安全センター秦野研究所 (神奈川県秦野市落合 729-5) に依頼して、水道法を参考にして規定した項目について分析し、結果を試験計画書に規定した許容基準と照合して異常のないことを確認し、保管した。

## II-3 観察・検査項目及び方法

### II-3-1 動物の生死及び一般状態の観察

動物の生死の確認及び一般状態の観察を毎日1回行った。

### II-3-2 体重測定

解剖時に体重を測定した。

### II-3-3 病理学的検査

#### (1) 解剖

各解剖期とも午前10時から12時の間に解剖した。

動物は、エーテル麻酔下で腋窩部の切断により放血屠殺した後、病理組織検査と遺伝子発現解析に供する臓器を肝臓、胸腔臓器の順に摘出した。開胸は肝臓の摘出後とし、胸腔臓器の摘出に先立ちRNA *later*® 2.0 mLを気管から肺に注入(18G針付き2.5 mLシリンジを使用)した。摘出した胸腔臓器から気管、食道、心臓、胸腺、肺副葉を外して肺(左肺と右肺)を採取した。解剖・臓器の摘出に際しては、遺伝子発現解析を妨げないように、白衣、マスク及びヘアークャップの着用、動物の被毛や器具の清拭により術者の唾液・汗や毛髪等による汚染及び動物の被毛や消化管内容等による汚染が起きないように配慮した。麻酔からサンプリングの終了までの所要時間は5分以内とした。

#### (2) 剖検

全ての解剖動物について肝臓と肺の肉眼的観察を行った。

#### (3) 臓器重量

全ての解剖動物について、肝臓の湿重量を測定した。

#### (4) 病理組織学的検査

全ての解剖動物の肺と肝臓について、10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液で固定後、パラフィン包埋、薄切、ヘマトキシリン・エオジン染色し、光学顕微鏡で病理組織学的に検査した。

### II-3-4 サンプルの採取

#### (1) 肝臓からのサンプルの採取

全ての解剖動物について、下記の方法により、肝臓から遺伝子発現解析のためのRNA用サンプルを採取するとともに、病理組織検査用サンプルを採取した。

##### (1) -1 RNA用サンプルの採取

生検用トレパン(5mm径)にて肝臓の内側右葉(胆嚢のついている葉)を3カ所打ち抜き、total RNA精製用として別々のチューブ(あらかじめ風袋重量を測定済み)のRNA *later*®に浸漬し、氷上に移した。サンプル採取終了後、4℃に一晩放置後-80℃で凍結保存

した。

#### (1) -2 病理組織検査用サンプルの採取

外側左葉を門脈部で他の葉から切り離し、横軸方向に割入れし、外側左葉以外の葉と共に10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液で固定した。

#### (2) 肺からの採取

全ての解剖動物について、下記の方法により、肺から遺伝子発現解析のためのRNA用サンプルを採取するとともに、病理組織検査用サンプルを採取した。

左肺と右肺をそれぞれ体軸方向に二分割（肺門側と末梢側）した。左肺と右肺の肺門側を病理組織検査用サンプルとし、左肺と右肺の末梢側をRNA用サンプルとした。RNA用サンプルは、胸腔に付けたままで肺にRNA later®に注入を行い、1 mL のRNA later®を入れたサンプルチューブに採取した肺を漬け、解剖中は氷上に置いた。その後、4℃に一晚放置後-80℃で凍結保存した。病理組織検査用サンプルは、薄切面を下にしてろ紙に貼り付けてから、10%中性リン酸緩衝ホルマリン溶液で固定した。

#### II-3-5 遺伝子発現解析のためのサンプルの保存

肝臓と肺のRNA用サンプルは4℃で一晩保存後、超低温庫（-80℃）で凍結して委託者に返送するまで保存した。

#### II-4 数値処理と統計方法

##### II-4-1 数値の取り扱いと表示

各数値データは、測定機器の精度に合わせて表示した。

吸入チャンバー内の被験物質濃度はppbを単位として測定し、表示した。

体重はgを単位とし、小数点以下第1位まで測定し、表示した。

臓器実重量は、gを単位とし、小数点以下第3位まで測定し、表示した。

なお、各数値データの平均値及び標準偏差は、上記に示す桁数と同様になるよう四捨五入を行い表示した。

### Ⅲ 試験成績

#### Ⅲ-1 吸入チャンバー内の被験物質濃度

吸入チャンバー内の被験物質濃度を表 4 に示した。

吸入チャンバー内の被験物質濃度は、目標暴露濃度 0、50、150 及び 500 ppb に対し、測定値の平均±偏差（最低～最高値）は、 $0\pm 0$  ppb（全期間とも 0 ppb）、 $48\pm 12$ ppb（32 ppb～67 ppb）、 $141\pm 10$  ppb（132 ppb～162 ppb）及び  $482\pm 26$  ppb（456 ppb～523 ppb）であった。

#### Ⅲ-2 動物の生死及び一般状態

全ての動物が、定期解剖時まで生存した。また、いずれの動物も特記すべき一般状態の変化を認めなかった。

#### Ⅲ-3 体重

解剖時の体重を表 5 に示した。

#### Ⅲ-4 病理学的検査

##### Ⅲ-4-1 剖検観察

肺と肝臓の剖検所見を表 6 に示した。

いずれの動物も特記すべき変化を認めなかった。

##### Ⅲ-4-2 臓器重量

肝臓の実重量を表 5 に示した。

##### Ⅲ-4-3 病理組織学的検査

肺と肝臓の病理組織学的検査の結果を表 7 に示した。

いずれの動物も特記すべき変化を認めなかった。

### Ⅳ 遺伝子発現解析のためのサンプルの送付

遺伝子発現解析のための肺及び肝臓の RNA 用サンプルは、2007 年 6 月 11 日に、ドライアイスを入れて下記宛先に送付した。

〒158-8501 東京都世田谷区上用賀 1-18-1

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター

毒性部 五十嵐 勝秀

### 参考文献

- 1) McLafferty FW. 1994. Wiley Registry of Mass Spectral Data, 6th ed. New York: John Wiley and Sons.



表 1 吸入チャンバー内環境の測定結果：温度（22時間暴露）

単位：℃

チャンバー	CH-1	CH-2	CH-3	CH-4
群	対照群	50ppb 群	150ppb 群	500ppb 群
全期間				
平均値	22.1	22.0	22.1	21.9
標準偏差	0.2	0.2	0.2	0.1
日別平均値				
5月30日	22.1	22.1	22.1	22.0
5月31日	22.1	22.0	22.0	21.9
6月1日	22.1	22.0	22.1	21.9
6月2日	22.1	22.0	22.1	21.9
6月3日	22.1	22.0	22.1	22.0
6月4日	22.1	22.0	22.1	21.9
6月5日	22.1	22.0	22.1	21.9
6月6日	22.1	22.0	22.1	21.9
6月7日	22.1	22.0	22.1	21.9

表 2 吸入チャンバー内環境の測定結果：湿度（22時間暴露）

単位：%

チャンバー	CH-1	CH-2	CH-3	CH-4
群	対照群	50ppb 群	150ppb 群	500ppb 群
全期間				
平均値	53.1	52.4	52.0	51.8
標準偏差	0.8	1.2	0.9	1.1
日別平均値				
5月30日	53.3	52.5	52.3	52.1
5月31日	53.5	52.9	52.3	52.0
6月1日	53.0	52.6	52.2	51.9
6月2日	53.0	52.2	52.1	51.9
6月3日	52.7	51.9	51.7	51.4
6月4日	52.9	52.2	51.7	51.6
6月5日	52.8	52.1	51.8	51.7
6月6日	53.1	52.2	51.9	51.6
6月7日	54.1	53.7	52.6	52.4

表 3 吸入チャンバー内環境の測定結果：換気量と換気回数（22時間暴露）

単位：換気量 L/min 換気回数

回/時

チャンバー	CH-1		CH-2		CH-3		CH-4	
群	対照群		50ppb 群		150ppb 群		500ppb 群	
	換気量	換気回数	換気量	換気回数	換気量	換気回数	換気量	換気回数
全期間								
平均值	212.1	12.0	212.5	12.0	212.8	12.0	212.7	12.0
標準偏差	1.1	0.1	1.1	0.1	1.8	0.1	1.8	0.1
日別平均值								
5月30日	212.0	12.0	212.9	12.1	212.4	12.0	212.6	12.0
5月31日	212.2	12.0	212.7	12.0	213.0	12.1	213.1	12.1
6月1日	212.2	12.0	212.8	12.0	212.9	12.1	212.5	12.0
6月2日	211.4	12.0	212.6	12.0	213.0	12.1	213.1	12.1
6月3日	211.7	12.0	212.8	12.0	212.6	12.0	212.7	12.0
6月4日	212.3	12.0	212.9	12.1	212.8	12.0	212.8	12.0
6月5日	212.8	12.0	212.1	12.0	212.9	12.1	212.3	12.0
6月6日	212.4	12.0	211.8	12.0	212.8	12.0	212.6	12.0
6月7日	212.1	12.0	211.8	12.0	212.4	12.0	212.2	12.0

表 4 吸入チャンバー内の被験物質濃度（22時間暴露）

単位：

ppb

	対照群	50ppb群	150ppb群	500ppb群
5月30日午後0時から5月31日午前10時	0	67	162	523
5月31日午後0時から6月1日午前10時	0	55	144	500
6月1日午後0時から6月2日午前10時	0	56	137	501
6月2日午後0時から6月3日午前10時	0	42	137	475
6月3日午後0時から6月4日午前10時	0	32	134	459
6月4日午後0時から6月5日午前10時	0	38	132	461
6月5日午後0時から6月6日午前10時	0	44	138	456
平均濃度	0	48	141	482
標準偏差	0	12	10	26

表 5 解剖時体重及び肝臓重量 (22時間暴露)

1 日目解剖

群	動物番号	解剖時体重(g)	肝臓重量(g)
対照群	1001	26.1	1.419
	1002	25.8	1.437
	1003	24.0	1.302
50ppb 群	1101	25.2	1.345
	1102	25.4	1.580
	1103	24.2	1.269
150ppb 群	1201	25.3	1.169
	1202	26.0	1.440
	1203	27.3	1.024
500ppb 群	1301	25.8	1.400
	1302	25.0	1.400
	1303	24.3	1.299

3 日目解剖

群	動物番号	解剖時体重(g)	肝臓重量(g)
対照群	1004	20.9	0.860
	1005	22.1	0.987
	1006	25.9	1.665
50ppb 群	1104	23.3	0.907
	1105	25.0	1.581
	1106	22.3	0.944
150ppb 群	1204	24.6	1.294
	1205	23.8	1.375
	1206	21.2	0.943
500ppb 群	1304	25.7	1.416
	1305	22.7	1.150
	1306	25.6	1.386

## 7 日目解剖

群	動物番号	解剖時体重(g)	肝臓重量(g)
対照群	1007	29.4	1.782
	1008	25.7	1.486
	1009	29.1	1.711
50ppb 群	1107	25.6	1.349
	1108	26.7	1.502
	1109	26.8	1.519
150ppb 群	1207	26.1	1.479
	1208	26.8	1.591
	1209	25.4	1.372
500ppb 群	1307	28.4	1.775
	1308	24.8	1.414
	1309	26.5	1.065

## 暴露終了翌日解剖

群	動物番号	解剖時体重(g)	肝臓重量(g)
対照群	1010	25.5	1.276
	1011	25.9	1.474
	1012	25.2	1.492
50ppb 群	1110	27.1	1.610
	1111	23.6	1.033
	1112	25.8	1.399
150ppb 群	1210	27.4	1.640
	1211	26.2	1.475
	1212	26.1	1.613
500ppb 群	1310	26.3	1.563
	1311	26.9	1.609
	1312	28.7	1.707

表 6 剖検所見 (22時間暴露)

1 日目解剖

群	動物番号	肺	肝臓
対照群	1001	著変なし	著変なし
	1002	著変なし	著変なし
	1003	著変なし	著変なし
50ppb 群	1101	著変なし	著変なし
	1102	著変なし	著変なし
	1103	著変なし	著変なし
150ppb 群	1201	著変なし	著変なし
	1202	著変なし	著変なし
	1203	著変なし	著変なし
500ppb 群	1301	著変なし	著変なし
	1302	著変なし	著変なし
	1303	著変なし	著変なし

3 日目解剖

群	動物番号	肺	肝臓
対照群	1004	著変なし	著変なし
	1005	著変なし	著変なし
	1006	著変なし	著変なし
50ppb 群	1104	著変なし	著変なし
	1105	著変なし	著変なし
	1106	著変なし	著変なし
150ppb 群	1204	著変なし	著変なし
	1205	著変なし	著変なし
	1206	著変なし	著変なし
500ppb 群	1304	著変なし	著変なし
	1305	著変なし	著変なし
	1306	著変なし	著変なし

## 7 日目解剖

群	動物番号	肺	肝臓
対照群	1007	著変なし	著変なし
	1008	著変なし	著変なし
	1009	著変なし	著変なし
50ppb 群	1107	著変なし	著変なし
	1108	著変なし	著変なし
	1109	著変なし	著変なし
150ppb 群	1207	著変なし	著変なし
	1208	著変なし	著変なし
	1209	著変なし	著変なし
500ppb 群	1307	著変なし	著変なし
	1308	著変なし	著変なし
	1309	著変なし	著変なし

## 暴露終了翌日解剖

群	動物番号	肺	肝臓
対照群	1010	著変なし	著変なし
	1011	著変なし	著変なし
	1012	著変なし	著変なし
50ppb 群	1110	著変なし	著変なし
	1111	著変なし	著変なし
	1112	著変なし	著変なし
150ppb 群	1210	著変なし	著変なし
	1211	著変なし	著変なし
	1212	著変なし	著変なし
500ppb 群	1310	著変なし	著変なし
	1311	著変なし	著変なし
	1312	著変なし	著変なし

表 7 病理組織所見 (22時間暴露)

1 日目解剖

群	動物番号	肺	肝臓
対照群	1001	著変なし	著変なし
	1002	著変なし	著変なし
	1003	著変なし	著変なし
50ppb 群	1101	著変なし	著変なし
	1102	著変なし	著変なし
	1103	著変なし	著変なし
150ppb 群	1201	著変なし	著変なし
	1202	著変なし	著変なし
	1203	著変なし	著変なし
500ppb 群	1301	著変なし	著変なし
	1302	著変なし	著変なし
	1303	著変なし	著変なし

3 日目解剖

群	動物番号	肺	肝臓
対照群	1004	著変なし	著変なし
	1005	著変なし	著変なし
	1006	著変なし	著変なし
50ppb 群	1104	著変なし	著変なし
	1105	著変なし	著変なし
	1106	著変なし	著変なし
150ppb 群	1204	著変なし	著変なし
	1205	著変なし	著変なし
	1206	著変なし	著変なし
500ppb 群	1304	著変なし	著変なし
	1305	著変なし	著変なし
	1306	著変なし	著変なし

## 7日目解剖

群	動物番号	肺	肝臓
対照群	1007	著変なし	著変なし
	1008	著変なし	著変なし
	1009	著変なし	著変なし
50ppb 群	1107	著変なし	著変なし
	1108	著変なし	著変なし
	1109	著変なし	著変なし
150ppb 群	1207	著変なし	著変なし
	1208	著変なし	著変なし
	1209	著変なし	著変なし
500ppb 群	1307	著変なし	著変なし
	1308	著変なし	著変なし
	1309	著変なし	著変なし

## 暴露終了翌日解剖

群	動物番号	肺	肝臓
対照群	1010	著変なし	著変なし
	1011	著変なし	著変なし
	1012	著変なし	著変なし
50ppb 群	1110	著変なし	著変なし
	1111	著変なし	著変なし
	1112	著変なし	著変なし
150ppb 群	1210	著変なし	著変なし
	1211	著変なし	著変なし
	1212	著変なし	著変なし
500ppb 群	1310	著変なし	著変なし
	1311	著変なし	著変なし
	1312	著変なし	著変なし



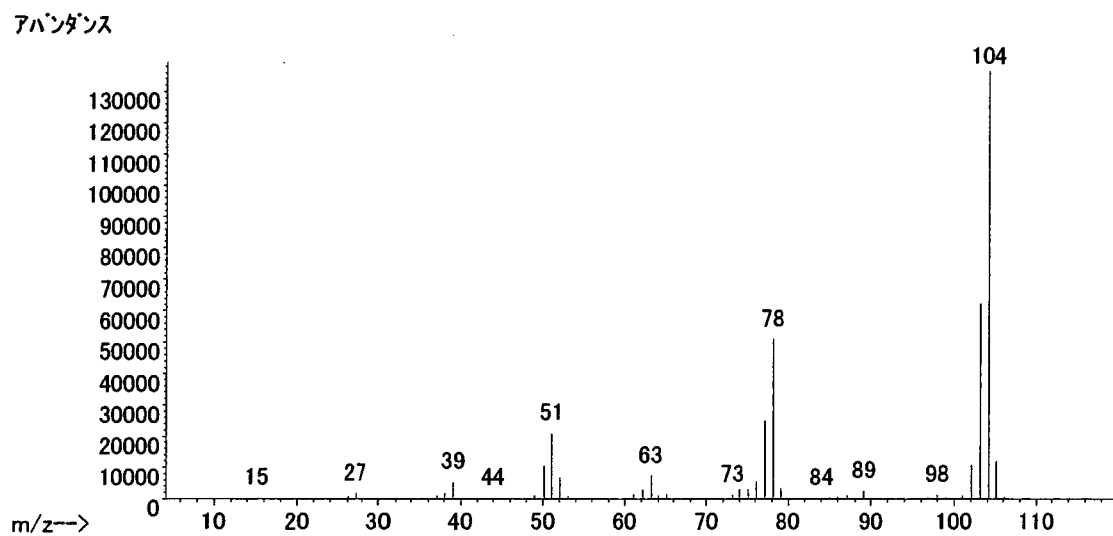


図 1-1 被験物質のマススペクトル

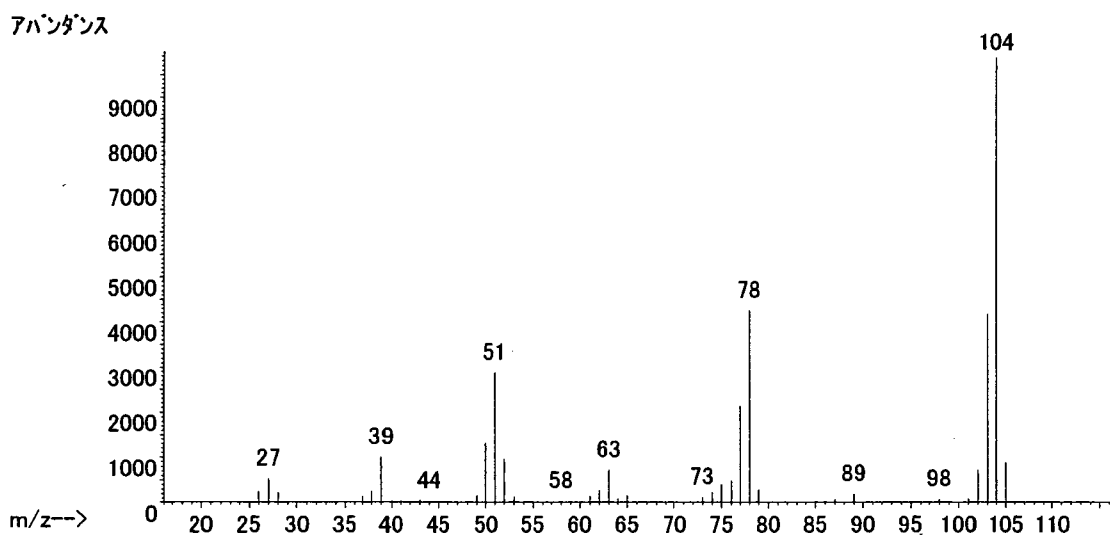


図 1-2 スチレンのマススペクトル (文献1)

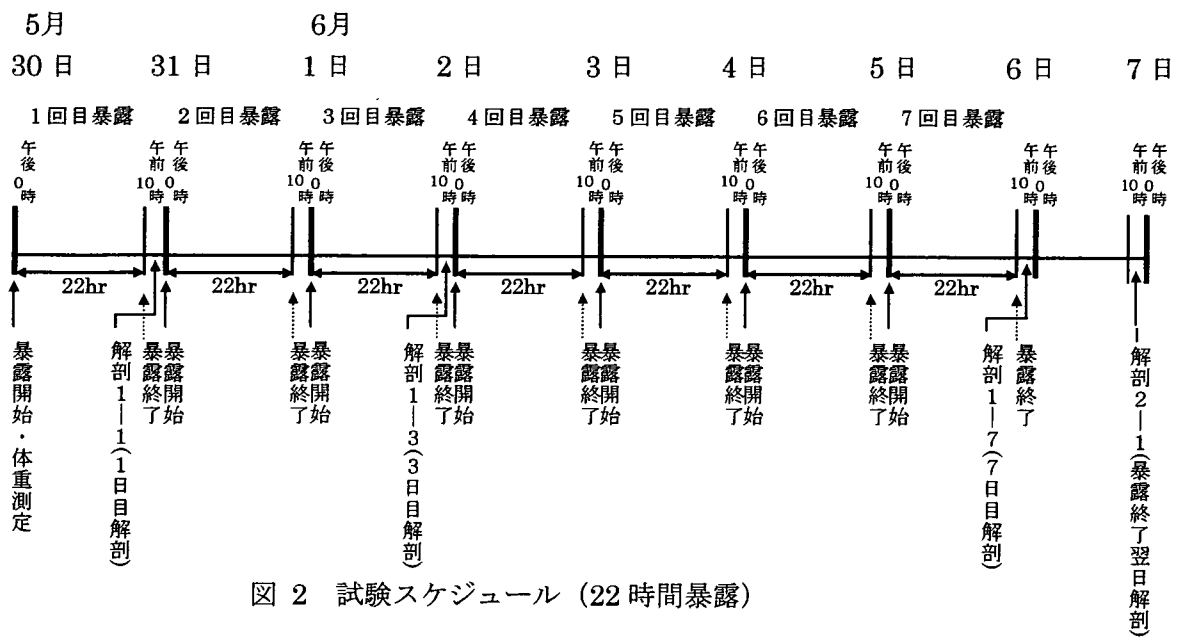


図 2 試験スケジュール (22 時間暴露)

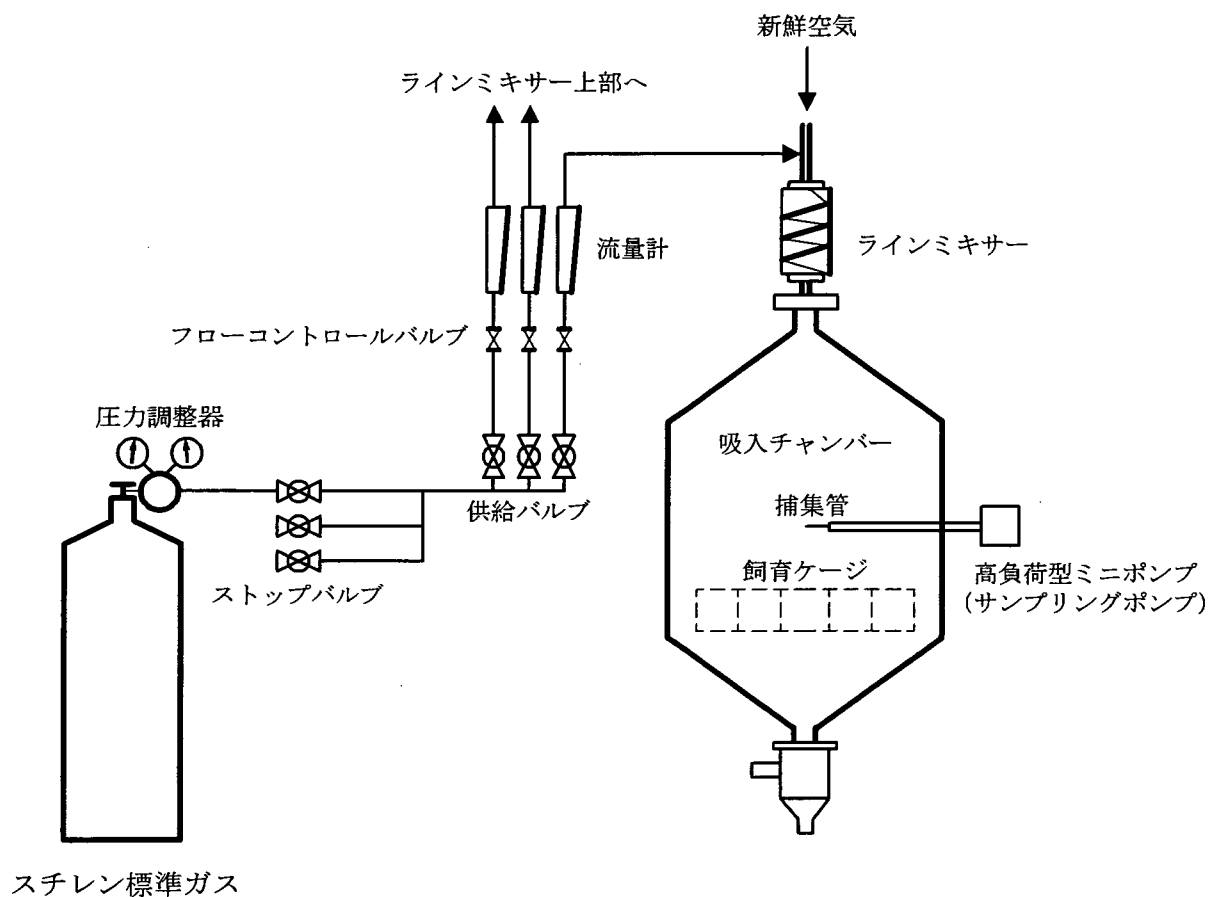


図 3 吸入装置のシステム

厚生労働科学研究費補助金(化学物質リスク研究事業)

分担研究報告書

吸入暴露による網羅的遺伝子発現データの解析による

吸入暴露評価と経口暴露の比較研究

分担研究者 菅野 純

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 毒性部 部長

研究要旨

本研究は、化学物質の経気道暴露による肺と肝臓に於ける遺伝子発現変化を経口暴露によるデータと比較しつつ解析し、経気道暴露による毒性評価手法の開発、高度化に寄与する知見を得ることを目的としている。本年度はトルエン(指針値0.07ppm、暴露目標値0.07、0.20、0.70ppm)、キシレン(指針値0.20ppm、暴露目標値0.20、0.70、2.0ppm)、スチレン(指針値0.05ppm、暴露目標値0.05、0.15、0.50ppm)の、経気道暴露(4用量にて、2時間暴露(2、4、8、24時間後)、6時間/日×7日間暴露(6、22、70、166時間後)、22時間/日×7日間暴露(22、70、166、190時間後))のマウス肺、肝臓の網羅的遺伝子発現データを解析した。酸化ストレス応答、アポトーシス、CYPなどの遺伝子機能カテゴリーに分類された複数の遺伝子リストを検討した結果、キシレンにおいて最も顕著に、酸化ストレス反応に関わる遺伝子群の発現が上昇していることが示された。これらの反応は連日暴露により、減弱する傾向があった。スチレンに於いても酸化ストレス反応関連遺伝子の発現上昇が弱いながらも認められ、キシレンとは逆に連日暴露により、時間、容量依存的な応答が明瞭となることが示された。トルエンでは発現変化はほとんど認められなかった。これらの結果は、シックハウスレベルの低用量暴露に於いても、網羅的遺伝子発現解析手法により化学物質の低濃度経気道暴露によって生じる生体反応変化を予測することが可能であることを示すものである。

A. 研究目的

本研究は、気化性化学物質の吸入によるリスク評価の基盤整備としてのトキシコゲノミクスとして、網羅的遺伝子発現プロファイリングを基にしたインフォマティクス技術の構築を通して、日常生活に於いて暴露される様々な気化性化学物質の安全性確保の為の、毒性発現メカニズムに基づいた、より迅速且つ正確・精密な吸入毒性評価システムを作成することを目的として実施するものであ

る。

シックハウス症候群の原因物質とされるホルムアルデヒド等の13物質に対して室内濃度指針値が設定されているが、従来の動物試験での症候検出可能濃度とヒトに於いて報告される症候発現濃度には隔たりがある。本研究では、この隔たりを埋める基盤としてのトキシコゲノミクス手法の適用に関する検討を進める。