

Ⅱ. 分担研究報告書

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

化学物質の経気道暴露による毒性評価手法の開発、高度化に関する研究

トキシコゲノミクスに有用な吸入暴露システムの開発・改良

| | | |
|-------|-------|------------------------------|
| 主任研究者 | 小川幸男 | 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 |
| 研究協力者 | 山本雅也 | 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 |
| 研究協力者 | 五十嵐勝秀 | 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 |
| 研究協力者 | 近藤優子 | 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 |
| 研究協力者 | 小野 敦 | 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 |
| 研究協力者 | 安彦行人 | 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 |

研究要旨

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、日常生活に於いて使用、あるいは受動的に暴露される様々な気化性化学物質の安全性確保の為に、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。

具体的な目標として、少数のマウスの肺及び肝臓における遺伝子発現の網羅的なプロファイル生成により室内空気汚染化学物質等の毒性評価を従来の吸入毒性試験に比して、迅速、正確かつ詳細に予測するシステムの開発を目指す。このシステムの開発により、1)吸入毒性評価の効率化(実験期間及び解析時間の短縮)、2)実験動物から人への外挿の正確さの向上、3)毒性発現メカニズムに支えられた包括的な吸入毒性評価(急性毒性、慢性毒性、呼吸器限局性、及び全身性の影響などの統合を含む)、の面で飛躍的な進捗が望める。

殊に、シックハウス症候群に関しては原因物質として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。しかし、従来の動物試験法での症候検出可能濃度とヒトに於いて実際に報告される症候発現濃度には隔たりがあることが指摘される。本研究では、室内空気汚染化学物質等の低濃度吸入暴露方法を確立するとともに、申請者らが先に開発した定量性に優れたトキシコゲノミクス手法をこれに適応し、肺及び肝臓での遺伝子発現量を解析することで、この隔たりを埋めることを検討する。

所有する暴露施設は、非極性のベンゼン等の低濃度吸入暴露が比較的容易に可能であるが、更にこのシステムを改造、極性のホルマリンを含む多くの異なる気化性化学物質にも対応が可能なものとし、急性吸入毒性に関わる極低濃度暴露システムとした上で、急性吸入暴露実験を実施した。このための化学物質の精密な気中への拡散法(発生方法)、希釈などによる吸入チャンバー内の化学物質の濃度コントロール(濃度の安定)、及び吸入チャンバー内の濃度をモニターするための各方法の開発・検討を行った。

急性吸入暴露(2時間単回)実験に際して、ホルムアルデヒド、キシレン及びテトラデカンはバブリング法、アセトアルデヒド、トルエン、ホルムアルデヒド(追加試験)及びスチレンはボンベ入り標準ガスを使用することで暴露期間内の安定した極低濃度ガスが得られ、これらの急性吸入暴露及び肺、肝臓サンプルの採取が終了した。動物を換気回数の少ないチャンバー内に収容した時に、被毛に吸着することで起こるホルムアルデヒド濃度の低下や不均一性は、大量のガスを発生する大型チャンバー用発生機を使用し、大型チャンバー内にサーキュレーターを設置し強力に空気を攪拌することで解消した。テトラデカンは常温における分圧が低いため、高用量群に対し供給ガス量を増やすための、配管を増設することで目的濃度を達成した。

今後更に、シックハウス症候群の原因物質であるフタル酸類、パラジクロルベンゼン等のガスの発生方法等について検討を加え、動物への暴露を行う予定である。

A. 研究目的

本試験は、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に、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。

殊に、シックハウス症候群に関しては原因物質として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。しかし、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、室内空気汚染化学物質等の低濃度吸入暴露方法を確立するとともに、トキシコゲノミクス手法をこれに適応し、肺及び肝臓での遺伝子発現量を解析することで、この隔たりを埋めることを検討する。

現在、横層流型の大型チャンバー(容積3m³、柴田科学、Photo. 1)、縦層流大型チャンバー(容積600L、柴田科学、Photo.2)、及び縦層流小型チャンバー(容積30L、柴田科学、Photo.2)を所有し、非極性のベンゼン等の低濃度吸入暴露が比較的容易に可能となるが、このシステムに変更を加え、極性のホルマリンまで多くの異なる気化性化学物質にも対応が可能なものとし、室内汚染化学物質の濃度指針値を参考に、さらに理論的にも難しいとされている極低濃度暴露のための化学物質の精密な発生方法、希釈などによる吸入チャンバー内の化学物質の濃度コントロール、及び吸入チャンバー内の濃度をモニターするための各方法の開発・検討を行うとともに、マウスに暴露、肝臓及び肺のサンプリングを行い、遺伝子発現解析を提供する。

B. 研究方法

所有する暴露施設のシステムを改修、極性物質まで多くの異なる気化性化学物質にも対応が可能なものとし、急性吸入毒性に関わる極低濃度暴露システムの開発・改良、マウスを用いた2時間の急性吸入暴露実験を実施する。極低濃度暴露のための化学物質の精密な発生方法、希釈などによる吸入チャンバー内の化学物質の濃度コントロール、及び吸入チャンバー内の濃度をモニターするための各方法の開発・検討を行う。

これらの発生方法等の開発・検討結果に基づき吸入チャンバー内の化学物質濃度の測定を行いつつ、雄のC57BL/6CrSlcマウス(12週齢、日本SLC)に2時間の暴露を行い、マウスの肺及び肝臓

サンプルは、2時間の暴露直後(12時)、暴露終了2時間後(14時)、暴露終了6時間後(18時)、暴露終了22時間後(翌日10時)に、1群3匹の4群計48匹から遺伝子発現量解析用に採取する。

動物は雄のC57BL/6CrSlcマウス(日本SLC)を10週齢にて購入、2週間順化飼育後実験に供した。飼育ケージは木製チップを敷いたポリカーボネートケージ(200×300×130mm)を用いて個別飼育し、暴露時には4連の金網ケージ(77×230×120mm)に収容した。なお暴露時は給餌及び給水を行わなかった。動物室内の環境は、室温23±1℃、湿度55±5%、換気は16回/時、明暗サイクルは12時間点灯(8:00~20:00点灯、20:00~8:00消灯)とした。

暴露チャンバーは、大型横層流(容積3m³、柴田科学、Photo. 1)を用い、内部環境は温度23±1℃、湿度55±5%とし換気は650L/分(13回/時)、室内との差圧は-5~-10mmH₂Oとした。外気を空調機により温湿度調整を行い、HEPAフィルター及び活性炭フィルターを通し浄化した換気空気を用い、発生させたガスの希釈を行い暴露チャンバー内へ送気した。

1. ホルムアルデヒド

ホルムアルデヒドは建築用の合板や内装用の接着剤などに多用され、シックハウス症候群において最も重要な原因物質のひとつに挙げられる。このホルムアルデヒドを始めにとりあげ、これによる暴露試験を行った。ホルムアルデヒドの試験を計画するに当たり、マウスへの暴露濃度を、室内汚染化学物質の室内濃度指針値である0.08ppm(100µg/m³)から、低濃度を0.1 ppmとし、公比3で0.3、1.0 ppmと設定した。

ホルムアルデヒドガスの発生法には、パラホルムアルデヒドを加熱、希釈液を加熱した空気と共に加熱したチャンバー内へスプレーする、ホルムアルデヒド希釈液内に空気を送り込みバブリングさせて蒸気を発生させる、市販の標準ガスボンベを用いるなどの方法がある。所有するバブリングによる発生装置(柴田科学、Photo. 1)を用いてガスを発生する方法を採用した。発生装置内タンクへホルムアルデヒド液(37%、和光純薬)を希釈して入れ、これに発生空気を送りバブリングによりガスを発生させ、このガスを希釈空気により希釈を加え、横層流型チャンバー(柴田科学、Photo. 1)内への空調され活性炭を通した清浄な換気空気によりさらに希釈し目的濃度まで低下させ、ステンレス製網ケージ(柴田科学、Photo. 3)内に収容したマウスに2時間暴露した。本研究で以後使用するチャンバーは、横層流型(容積3m³、Photo. 1)とし、

チャンパー内にサーキュレーター(Photo. 3)を設置し強力に空気を攪拌した状態で動物への暴露を行うこととした。

ホルムアルデヒドガスの濃度検知は、発生装置タンク内濃度については検知管(No.91L,ガステック, Photo. 4)、チャンパー内及び動物飼育室内濃度については捕集管(GL-Pak mini AERO DNPH, ジーエルサイエンス, Photo. 5)を用いる方法で測定(ダブルサンプリング)し、チャンパー内濃度の安定性については高感度ホルムアルデヒドガスモニター(FP-250 FLW型、理研計器、Photo. 6)を用い高濃度群について測定した。捕集管を用いる測定法は、定流量ポンプ(1L/分:MPΣ-300(柴田科学)、0.1L/分SP208-1000 Dual (ジーエルサイエンス、Photo. 5)で捕集管へチャンパー内空気を通し、捕集管内に充填されているDNPH(2,4-dinitrophenylhydrazine をコーティングした球状シリカゲルビーズ)にアルデヒドを吸着させ、溶媒(アセトニトリル)で抽出し、液体クロマトグラフを用いてその濃度を測定する、「シックハウス(室内空気汚染)問題に関する検討会」が推奨する方法である。マウスへの120分間の暴露中のチャンパー内空気を捕集した捕集管は、冷蔵で測定機関(財団法人東京顕微鏡院)に送付し、分析を依頼した。

高感度ホルムアルデヒドガスモニター(FP-250 FLW型、理研計器、Photo. 6)は、発色剤を浸透させたテープに試料空気を200ml/分で通過させ、この変色部分を比色することにより、濃度を測定する簡易型測定機である。この機器は測定対象空気濃度により2つのモードを持ち、1ppm以下では30分間(6000ml)、それ以上では1分間(200ml)の空気をテープに透過させ測定を行う機器である。

2. アセトアルデヒド

アセトアルデヒドは建築用の合板や内装用の合成樹脂、接着剤、防腐剤、あるいは香料などに多用されている。

ホルムアルデヒドの発生設備と実験条件を基に、アセトアルデヒドの暴露試験を計画した。アセトアルデヒドのマウスへの暴露濃度を、室内汚染化学物質の室内濃度指針値である0.03 ppm($48 \mu\text{g}/\text{m}^3$)から、低濃度を0.03 ppmとし、公比3で0.1、0.3 ppmと設定した。

アセトアルデヒド発生法には、ホルムアルデヒド希釈液内に空気を送り込みバブリングさせて蒸気を発生させる方法、市販の標準ガスボンベを用いるなどの方法がある。ホルムアルデヒドの試験で用いた発生法のバブリング方式を用いることで設

備を変更することなく、短期間で試験が行えると考えた。

アセトアルデヒド(99%、MERCK)を0.3%に希釈し、ホルムアルデヒド液と同様横層流型チャンパーの発生装置(柴田科学、Photo. 1)内タンクに投入、バブリングによりガスを発生させ、希釈空気により希釈を加え、横層流型チャンパー(柴田科学)内への換気空気によりさらに希釈することにより目的濃度まで低下させる計画であった。しかし、0.1%に希釈してもアセトアルデヒドガス濃度を低下させることができず、標準ガスボンベを用いる方法を採用することとした。

アセトアルデヒドガスの濃度検知は、発生装置内濃度については検知管(No.92M,ガステック、Photo. 4)、チャンパー内及び動物飼育室内濃度については「シックハウス(室内空気汚染)問題に関する検討会」が推奨する方法である捕集管(GL-Pak mini AERO DNPH、ジーエルサイエンス、Photo. 5)を用いる方法で測定した。マウスへの120分間の暴露中のチャンパー内空気を定流量ポンプ(1L/分:MPΣ-300(柴田科学)、0.1L/分SP208-1000 Dual (ジーエルサイエンス、Photo. 5)で捕集管へ通し、これを冷蔵で測定機関(財団法人東京顕微鏡院)に送付し、分析を依頼した。

高感度ホルムアルデヒドガスモニター(FP-250 FLW型、理研計器、Photo. 6)を用いて、高濃度群についてチャンパー内濃度の安定性の測定を試みた。その結果は、安定性を確認するには使用が可能であるような数値の推移を示したが、捕集管値と比べかなり低い濃度を示していた。本機器は、アセトアルデヒドに対し反応性が悪く信頼性は低いと考えられた。

0.3%希釈液を用いた発生装置内タンクのガス濃度は100ppm以上を示し、0.1%に希釈倍率を上げても、この濃度は100ppm以上を示した。ホルムアルデヒドと異なりアセトアルデヒドは揮発性が高く、希釈倍率を上げてもアセトアルデヒドガス濃度を低下させることができないことが考えられ、また更なる低濃度液にまで希釈することでアセトアルデヒド含有量そのものが低下し、120分間継続してガス発生を行うことが難しいと思われた。解決策として、標準ガスボンベを用いる方法を採用することとした。

新たに標準ガスボンベを用いる流路系を設置し、これに定流量バルブ及び流量計(Photo. 7)を組み込んだ。濃度104ppmのアセトアルデヒド標準ガスボンベを高千穂商事より購入し、これを横層流型チャンパー内へ換気送流させている空調した清浄空気により希釈し流入させた。捕集管により濃度を測定、その濃度データを基にボンベガス

の流量を補正、濃度測定、を繰り返し行い、所定の濃度で暴露が行える流量を検討し、設定濃度を達成した。

3. ホルムアルデヒド(ボンベガス)

通常ホルムアルデヒド液には、ホルムアルデヒドの重合によりパラホルムアルデヒドが生成するのを防止するため、メチルアルコールが添加されている。1.の実験で用いた和光純薬のホルムアルデヒド液(37%)にも、メチルアルコールが7~13%の割合で添加されている。メチルアルコールはシックハウス症候群の原因物質に挙げられてはいないが、劇物に分類され日本産業衛生学会の作業環境管理許容濃度は200ppm(260mg/m³)と設定している物質である。1.の暴露試験において、ガス濃度はホルムアルデヒドを対象に測定しており、メチルアルコールについてはどれだけの濃度で発生し、マウスに暴露されたかは不明であった。ホルムアルデヒドの約1/3量含まれるメチルアルコールの影響を確認するため、メチルアルコールを含まない標準ガスボンベを用いる暴露試験を追加し、行った。

1.のバブリング法で行ったと同じ目標濃度を設定した。すなわち、低濃度を0.1ppmとし、公比3で0.3、1.0ppmと設定した。

濃度約20ppm(20-25ppmの範囲にあるボンベ5本を連結、Photo. 7)のホルムアルデヒド標準ガスボンベを高千穂商事より購入し、これを横層流型チャンバー内へ換気送流させている清浄空気により希釈し流入させた。捕集管により濃度を測定、その濃度データを基にボンベガスの流量を補正し、所定の濃度で暴露が行える流量を検討し、設定濃度を達成した。ホルムアルデヒドガスは、高濃度・高圧力下では重合して濃度が低下するため、ホルムアルデヒド標準ガスボンベとしては約20ppmという低濃度で圧力も低いものしか製造できない。ボンベにより1回120分の暴露に必要なガス量を得るには、5本を連結して同時に流す必要があった。これに対応するため5本のホルムアルデヒド標準ガスボンベ設置場所の確保と5本のボンベを並列に繋ぐ高圧配管を行った。

ホルムアルデヒドガスの濃度検知は、チャンバー内及び動物飼育室内濃度については捕集管(GL-Pak mini AERO DNPH, ジーエルサイエンス, Photo. 5)を用いる方法で測定し、チャンバー内濃度の安定性については高感度ホルムアルデヒドガスモニター(FP-250 FLW型、理研計器, Photo. 6)を用い高濃度群について測定した。マウスへの120分間の暴露中のチャンバー内空気を定流量ポンプ(1L/分:MPΣ-300(柴田科学)、0.1L/分

SP208-1000 Dual (ジーエルサイエンス, Photo. 5)で捕集管(GL-Pak mini AERO DNPH, ジーエルサイエンス, Photo. 5)に通し、これを冷蔵で測定機関(財団法人東京顕微鏡院)に送付し、分析を依頼した。

4. トルエン

トルエンは塗料や、ホルムアルデヒドと同様に接着剤などに用いられている有機溶剤である。トルエンの暴露試験は、アセトアルデヒドガスの暴露試験で新たに設置した標準ガスボンベを利用する流路系を用い、標準ガスボンベを購入し単純に希釈するだけで暴露を行う方法が、最も短期間で実験が可能となり、また安定した濃度が得られると考えた。

トルエンのマウスへの暴露濃度を、室内汚染化学物質の室内濃度指針値である0.07ppm(260μg/m³)から、低濃度を0.07ppmとし、公比3で0.2、0.7ppmと設定した。

濃度203ppmのトルエン標準ガスボンベを高千穂商事より購入し、これを横層流型チャンバー内へ換気送流させている清浄空気により希釈し流入させた。

濃度検知は、捕集管(活性炭カラム, 柴田科学, Photo. 5)を用いる方法で測定した。活性炭カラムに捕集した有機ガスを二硫化炭素で抽出し、これをガスマススペクトルで測定する方法で、「シックハウス(室内空気汚染)問題に関する検討会」が推奨する方法の一つである。マウスへの120分間の暴露中のチャンバー内空気を定流量ポンプ(1L/分:MPΣ-300(柴田科学, Photo. 5)、0.1L/分SP208-1000 Dual (ジーエルサイエンス, Photo. 5)で捕集管へ通し、これを測定機関(財団法人東京顕微鏡院)に送付し、分析を依頼した。動物飼育室内濃度についても捕集管法で測定した。

チャンバー内濃度の安定性はTVOCモニター(FTVR-01、フィガロ技研, Photo. 8)を用い高濃度群について測定した。本モニターは、測定端末において総揮発性有機化合物を酸化した時に発生する微弱電流を測定することにより、その濃度をモニタリングする装置である。チャンバー内の揮発性有機化合物としては、トルエンが圧倒的な量を占め、他の揮発性有機化合物の妨害がないため、正確なモニタリングが可能と考え、本機器を使用した。

1日6時間及び22時間、7日間連続暴露試験は日本バイオアッセイ研究センターに委託し、行った。

5. キシレン

キシレンはトルエンと同様に塗料などの溶剤、ホルムアルデヒドと同様に接着剤などに用いられている有機溶剤である。キシレンはジメチルベンゼンの3種類の異性体オルト、メタ、パラ及びエチルベンゼンの混合剤(混合比率、およそ1:2:1:1)であり、それらの蒸気圧がわずかに異なっている。

これら4種類の蒸気圧に従った比率配合でキシレンのボンベ入りの標準ガス作成を依頼したが、ボンベ圧、内容量ともに少なく、2時間の暴露が不可能なため、バブリング方式を利用する発生系を用い、これにより発生させたガスを希釈して暴露を行った。

濃度検知は、捕集管(活性炭カラム、柴田科学、Photo. 5)を用いる方法で測定した。活性炭カラムに捕集した有機ガスを二硫化炭素で抽出し、これをガスマススペクトルで測定する方法で、「シックハウス(室内空気汚染)問題に関する検討会」が推奨する方法の一つである。120分間のチャンバー内空気を定流量ポンプ(1L/分:MPΣ-300(柴田科学、Photo. 5)、0.1L/分、0.03 L/分:SP208-1000 Dual(ジーエルサイエンス、Photo. 5)で捕集管へ通し、これを測定機関(財団法人東京顕微鏡院)に送付し、分析を依頼した。動物飼育室内濃度についても捕集管法で測定した。

チャンバー内濃度の安定性はTVOCモニター(FTVR-01、フィガロ技研、Photo. 8)を用い低濃度群について測定した。動物飼育室内濃度についても捕集管法で測定した。

キシレンのマウスへの暴露濃度を、室内汚染化学物質の室内濃度指針値である0.20 ppm (870 μg/m³、エチルベンゼンを除いた濃度)から、低濃度を0.20 ppmとし、公比3で0.7、2.0 ppmと設定した。

1日6時間及び22時間、7日間連続暴露試験は日本バイオアッセイ研究センターに委託し、行った。

6. スチレン

スチレンは重合の後に発泡などの加工を施され樹脂の容器などに用いられている素材である。これらの樹脂からスチレンが単離して、室内を汚染することが知られている。スチレンの暴露試験は、アセトアルデヒドガスの暴露試験で新たに設置した標準ガスボンベを利用する流路系を用い、標準ガスボンベを購入し単純に希釈するだけで暴露を行う方法が、最も短期間で実験が可能となり、また安定した濃度が得られると考えた。

スチレンのマウスへの暴露濃度を、室内汚染化学物質の室内濃度指針値である0.05ppm(220 μg/m³)から、低濃度を0.05ppmとし、公比3で0.15、

0.5ppmと設定した。

濃度150ppmのスチレン標準ガスボンベを高千穂商事より購入し、これを横層流型チャンバー内へ換気送流させている清浄空気により希釈し流入させた。

濃度検知は、捕集管(活性炭カラム、柴田科学、Photo. 5)を用いる方法で測定した。活性炭カラムに捕集した有機ガスをトルエンで抽出し、これをガスマススペクトルで測定する方法で、「シックハウス(室内空気汚染)問題に関する検討会」が推奨する方法の一つである。マウスへの120分間の暴露中のチャンバー内空気を定流量ポンプ(1L/分:MPΣ-300(柴田科学、Photo. 5)、0.08L/分SP208-1000 Dual(ジーエルサイエンス、Photo. 5)で捕集管へ通し、これを測定機関(財団法人東京顕微鏡院)に送付し、分析を依頼した。動物飼育室内濃度についても捕集管法で測定した。

チャンバー内濃度の安定性はTVOCモニター(FTVR-01、フィガロ技研、Photo. 8)を用い高濃度群について測定した。

1日6時間及び22時間、7日間連続暴露試験は日本バイオアッセイ研究センターに委託し、行った。

7. テトラデカン

テトラデkanは灯油の成分であり、塗料の溶剤や殺虫剤などに用いられている有機溶剤である。テトラデkanは蒸気圧が低く標準ガスの作成ができないため、バブリング方式を利用する流路系を用い、これにより発生させたガスを希釈して暴露を行うこととした。

テトラデkanは蒸気圧が低いため、バブリング方式を用いる方法を用いても、現在の発生器によっては発生させたガスのチャンバー内への供給量が不足し、目標濃度を達成できない。そのため、発生器から高用量群への配管を2本に増やすことで供給量を増加させることとし、発生器の改造を行った。

テトラデkanのマウスへの暴露濃度を、室内汚染化学物質の室内濃度指針値である0.04ppm(330 μg/m³)から、低濃度を0.04ppmとし、公比3で0.12、0.4ppmと設定した。

濃度検知は、捕集管(活性炭カラム、柴田科学、Photo. 5)を用いる方法で測定した。活性炭カラムに捕集した有機ガスを抽出し、これをガスマススペクトルで測定する方法で、「シックハウス(室内空気汚染)問題に関する検討会」が推奨する方法の一つである。マウスへの120分間の暴露中のチャンバー内空気を定流量ポンプ(1L/分:MPΣ-300(柴田科学、Photo. 5)で捕集管へ通し、これ

を測定機関(財団法人東京顕微鏡院)に送付し、分析を依頼した。動物飼育室内濃度についても捕集管法で測定した。

チャンバー内濃度の安定性はTVOCモニター(FTVR-01、フィガロ技研、Photo. 8)を用い高濃度群について測定した。

(倫理面への配慮)

当所内の動物実験倫理委員会が定めた指針に則り、動物の飼育には適正な居住空間を確保、清潔なケージや器材を使用し、動物に苦痛を与えないため、採血および屠殺処分に際しては麻酔を行うなど、細心の注意を払っている。

C. 研究結果及び考察

1. ホルムアルデヒド

発生方法は、バブリング方式によりホルムアルデヒドガスの低濃度を安定的に得られた。ガスの希釈法では、100倍希釈液をバブリングすることで、小型チャンバーとその発生源のみで目標濃度を達成することが可能であった。しかし、マウス被毛へのガス吸着が濃度低下を引き起こし、小型チャンバーの発生機(柴田科学、Photo. 2)では吸着量を上回るホルムアルデヒドガスの発生は計算上不可能なため、横槽流チャンバーとその発生機(柴田科学、Photo. 1)を用いることとした。さらに、横槽流チャンバー内にサーキュレーター(ボルネード、Photo. 3)を設置し、内部空気を強力に攪拌することで、マウス被毛へのガス吸着による濃度の不均一を解消した。発生流量を4.0L/分とし、目標濃度1.0ppmに対して供給流量3.20L/分、0.3ppmには1.20L/分、0.1ppmには0.56L/分とし、一次希釈流量40L/分及びチャンバー換気流量650L/分で希釈し暴露した。捕集管による濃度は、高濃度の設定濃度1.0ppmに対して0.74ppmと26%低く、低濃度0.1ppmでは0.175ppmと75%高いが、中間濃度0.3ppmは目的値を達成し、公比は約2であった(Fig. 1)。また対照群チャンバー内濃度は 0.0020 ± 0.0000 ppm ($2.67 \pm 0.52 \mu\text{g}/\text{m}^3$)、室内濃度は 0.0035 ± 0.0006 ppm ($4.50 \pm 0.58 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、平均値±標準偏差)と低濃度群の0.175ppmと比し極めて低い濃度であり、一般環境大気濃度 $0.26 \sim 10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (平均値 $3.4 \mu\text{g}/\text{m}^3$) (環境省、2003)と動物室内はほぼ等しく、一般家庭の室内空气中で検出される濃度16~211ppb(平均値50ppb) (国土交通省、2003)を遙かに下回り、実験に影響はないものと考えられた。

高感度ホルムアルデヒドガスモニター値は高濃度で 0.789 ± 0.046 ppm、中間濃度 0.402 ± 0.027 ppm、低濃度 0.197 ± 0.019 ppm(平均値±標準偏

差)であり、一定濃度を安定的に保持し、動物に暴露することができた。

2. アセトアルデヒド

発生方法については、アセトアルデヒド(99%、MERCK)0.3%希釈液を用いたバブリングによる発生装置内タンクのガス濃度は100ppm以上を示し、0.1%に希釈倍率を上げても、この濃度は100ppm以上を示し、ホルムアルデヒドと異なりアセトアルデヒドは揮発性が高く、希釈倍率を上げてもアセトアルデヒドガス濃度を低下させることができないことが考えられた。バブリング法では低濃度が得られないため、標準ガスボンベを用いる方法を採用することとし、ガスの供給システムを変更、ガスボンベ用のマスフローコントローラー及び流量計(Photo. 7)を新たに設置、ボンベガスを希釈することで所定の濃度の暴露が可能となった。高千穂商事から購入した標準ガス濃度は104ppmであった。このガスをチャンバー内の総換気空気650L/分により希釈した。0.3ppm濃度を目標に標準ガス1.9L/分をチャンバー内に送気、高感度ホルムアルデヒドガスモニター(理研計器、Photo. 6)による濃度測定を試みた。高濃度群のモニター値は 0.091 ± 0.011 ppm (平均値±標準偏差、Fig. 2)を示した。2回目に行った濃度測定試験では、設定濃度0.3ppmに対し標準ガスを1.87L/分流した高濃度群の捕集管(GL-Pak mini AERO DNPH, ジーエルサイエンス、Photo 5)測定による濃度は0.237ppmと21.2%低く、設定濃度0.03ppmに対し標準ガスを0.19L/分流した低濃度群の捕集管測定による濃度は0.027ppmと8.3%低く、設定濃度0.1ppmに対し標準ガスを0.63L/分流した中間濃度群は0.094ppmと6%低かった。高濃度群のモニター値は 0.126 ± 0.009 ppm (平均値±標準偏差、Fig. 3)と捕集管測定値0.237ppmとの濃度差が大きかった。3回目の濃度測定時において2.37L/分に増やして流した高濃度群の捕集管測定による濃度は0.286ppmと4.7%低く、設定濃度0.03ppmに対し標準ガスを0.21L/分流した低濃度群の捕集管測定による濃度は0.026ppmと13.3%低く、設定濃度0.1ppmに対し標準ガスを0.67L/分流した中間濃度群は0.089ppmと11%低かった。チャンバー内濃度の安定性を高感度ホルムアルデヒドガスモニターで測定したところ 0.185 ± 0.018 ppm (平均値±標準偏差、Fig. 4)であり、捕集管値0.286ppmとの濃度差が大きかった。4回目の濃度測定試験では、設定濃度0.3ppmに対し標準ガスを2.5L/分流した高濃度群の捕集管測定による濃度は0.323ppmと7.2%高く、設定濃度0.03ppmに対し標準ガスを

0.25L/分 流した低濃度群の捕集管測定による濃度は0.033 ppmと8.3%高く、設定濃度0.1ppmに対し標準ガスを0.76 L/分 流した中間濃度群は0.106 ppmと6%項かった。高濃度群のモニター値は 0.093 ± 0.019 ppm(平均値±標準偏差、Fig. 5)であり、捕集管値0.323 ppmとの濃度差が大きかった。4回行った高感度ホルムアルデヒドガスモニターの測定結果は、安定性を確認するには使用が可能であるような数値の推移を示すが、捕集管値と比べかなり低い濃度を示していた。本機器は、アセトアルデヒドに対し反応性が悪く信頼性は低いと考えられた。

本試験において4回目の濃度試験データを基に、0.03ppmでは0.23L/分、0.1ppmでは0.72L/分、0.3ppmでは2.33L/分に流量を補正し標準ガスを流入させ、得られた捕集管測定濃度は0.028、0.094、0.277ppmであり、6.5~8.7%ほど低い(Fig. 6)目標値に近い一定濃度を安定的に保持し、動物に暴露することができた。また対照群チャンパー内濃度は 0.0020 ± 0.0013 ppm(3.75 ± 2.19 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、平均値±標準偏差)、室内濃度は 0.0040 ± 0.0024 ppm(6.83 ± 4.49 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、平均値±標準偏差)と低濃度群の0.028 ppmと比し低い濃度であり、一般環境大気濃度 $0.23 \sim 7.9$ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (平均値 2.5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)(環境省、2003)と動物室内は同等であり、一般家庭の室内空気中で検出される平均濃度17ppb(国土交通省、2003)を下回り、実験に影響はないものと考えられた。

3. ホルムアルデヒド(ボンベガス)

発生方法については、ボンベ入りのホルムアルデヒド標準ガスを希釈する方式で追加の暴露試験を行った。購入した標準ガス濃度は約20ppm(20~25ppmの範囲にあるボンベ5本を連結、Photo. 7)であった。このガスをチャンパー内の総換気空気650L/分により希釈した。1.と同じ濃度条件を目標とし、低濃度を0.1、0.3、1.0 ppmと設定した。動物の存在による濃度低下を想定し、1.と同じ方法で濃度設定試験を行った。ボンベ5本のホルムアルデヒド標準ガス濃度は21.5、21.8、23.0、22.4、22.0ppm、平均で22.14ppmであった。総換気流量650L/分でこれを希釈し、所定濃度にするには各チャンパーに0.1ppmでは2.94 L/分、0.3ppmでは8.81 L/分、1.0ppmでは29.36 L/分を流入させた。1.0ppm群チャンパーにおいて測定した高感度ホルムアルデヒドガスモニター(理研計器、Photo. 6)値では平均濃度 0.696 ± 0.074 ppm(平均値±標準偏差、Fig. 7)と極めて安定した濃度推移を示し、捕集管(GL-Pak mini AERO DNPH, ジーエルサイエンス、Photo. 5)による濃度は

0.957ppmとほぼ目標に近い値を示した。0.3ppm目標では捕集管による濃度は0.265、0.1 ppm目標では0.077ppmと設定濃度が下がるに従い、測定濃度も目標より離れる傾向があった。本試験においては、この濃度の低下傾向を補正するため、1.0 ppmでは5%、0.3ppmでは12%、0.1 ppmでは24%流量を増加させることとした。本試験用の5本のホルムアルデヒド標準ガス濃度は22.9、24.1、23.8、22.4、23.5ppm、平均で23.34ppmであった。総換気流量650L/分でこれを希釈し、上記の補正を行い所定濃度にするには各チャンパーに0.1ppmでは3.63 L/分、0.3ppmでは9.47 L/分、1.0ppmでは29.10 L/分を流入させた。1.0ppm群チャンパーにおいて1ppm以上のモードで測定したガスモニターは全期間を通して検出限界以下を示したが、捕集管による濃度は1.017ppm、0.3ppm目標では捕集管による濃度は0.291、0.1 ppm目標では0.107ppm(Fig. 8)とほぼ目標に近い値を示した。本試験において高感度ホルムアルデヒドガスモニターにより測定した高濃度群の濃度は、1ppmを僅かに越えており、1ppm以下モードで測定するとスケールオーバーとなり、1ppm以上のモードで測定すると検出限界以下となったものと解釈された。しかし、濃度設定試験において安定した濃度推移であり、捕集管測定濃度は目標値に極めて近い値を示しており、一定濃度を安定的に保持し、動物に暴露することができた。また対照群チャンパー内濃度は 0.0038 ± 0.0005 ppm(4.50 ± 0.58 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、平均値±標準偏差)、室内濃度は 0.0043 ± 0.0005 ppm(5.25 ± 0.50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、平均値±標準偏差)と低濃度群の0.107ppmと比し極めて低い濃度であり、一般環境大気濃度は $0.26 \sim 10$ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (平均値 3.4 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)(環境省、2003)と動物室内は同等であり、一般家庭の室内空気中で検出される濃度16~21ppb(平均値50ppb)(国土交通省、2003)を遙かに下回り、実験に影響はないものと考えられた。

4. トルエン

発生方法については、ボンベ入りのトルエン標準ガスを希釈する方式で暴露を行った。高千穂商事から購入した標準ガスの濃度は203ppmであった。このガスをチャンパー内の総換気空気650L/分により希釈した。

トルエンのマウスへの暴露濃度を、室内汚染化学物質の室内濃度指針値である0.07ppm(260 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)から、低濃度を0.07ppmとし、中・高用量を0.2、0.7ppmと設定した。このガスをチャンパー内の総換気空気650L/分により希釈した。初回の濃度測定試験では、設定濃度0.7ppmに対し標準ガ

スを2.18L/分 流した高濃度群の捕集管(活性炭カラム, 柴田科学, Photo. 5)測定による濃度は0.532 ppmと24.1%低く、設定濃度0.07 ppmに対し標準ガスを0.22 L/分 流した低濃度群の捕集管測定による濃度は0.059 ppmと16.4%低く、設定濃度0.2ppmに対し標準ガスを0.62 L/分 流した中間濃度群は0.169 ppmと15.5%低かった。この試験における高濃度群をTVOCモニター(FTVR-01、フィガロ技研, Photo. 8)で測定した値は $1220.7 \pm 17.7 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (平均値±標準偏差, Fig. 9)と一定濃度を安定的に保持した。2回目の濃度測定試験では、設定濃度0.7ppmに対し標準ガスを2.87L/分 流した高濃度群の捕集管測定による濃度は0.722 ppmと3.1%高く、設定濃度0.07 ppmに対し標準ガスを0.26 L/分 流した低濃度群の捕集管測定による濃度は0.080 ppmと14.3%高く、設定濃度0.2ppmに対し標準ガスを0.73 L/分 流した中間濃度群は0.217 ppmと8.5%高かった。この試験における高濃度群をTVOCモニターで測定した値は $2388.5 \pm 102.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (平均値±標準偏差, Fig. 10)と一定濃度を安定的に保持した。本試験においては、上記2回の濃度試験結果を基に流量を補正し、0.7ppm には2.87L/分、0.2ppmには0.69L/分、0.07ppmには0.24L/分を流入させ、0.7ppm群チャンバーにおいて測定したTVOCモニター値では平均濃度 $2745.7 \pm 196.3 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (平均値±標準偏差, Fig.11)と極めて安定した濃度推移を示し、捕集管による濃度は0.663ppmであった。中間濃度は 0.183ppm、低濃度は0.063ppm (Fig.12)と各群でおよそ5~10%低かったが、一定濃度を安定的に保持し、動物に暴露することができた。また対照群チャンバー内濃度は $0.0050 \pm 0.0037 \text{ ppm}$ ($19.00 \pm 13.83 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、平均値±標準偏差)、室内濃度は $0.0038 \pm 0.0010 \text{ ppm}$ ($14.25 \pm 3.77 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、平均値±標準偏差)で低濃度群の0.061ppmと比し低い濃度であり、一般環境大気最大濃度 $85 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (環境省, 2003)であり対照群チャンバーや室内は低く、一般家庭の室内空気中で検出される平均濃度17ppb (国土交通省, 2003)をさらに下回り、影響はないものと考えられた。

1日6時間及び22時間、7日間連続暴露試験は日本バイオアッセイ研究センターに委託し、行った。詳細は委託研究報告 I) 及び II) を参照。

5. キシレン

一般的に有機溶剤として使用されているキシレンは、ジメチルベンゼンの3種類の異性体o-(オルト)、m-(メタ)、p-(パラ)及びエチルベンゼンの混合剤で、その混合比率は製造時の原材料や製造条

件で異なるがおよそ1:2:1:1である。これらの蒸気圧は、6.62、8.29、8.75、9.51mmHg(25℃)と異なっているが、温度や圧力の条件が一定であれば恒に同一の割合で気化する。キシレンのボンベ入りの標準ガスを用いて暴露試験を行うには、これら4種類を蒸気圧に従った割合で混合したガスを用いて行うことが、室内における実際のヒトが暴露される状態に近いものと考え、ボンベ入りの標準ガス作成を依頼した。しかし、ボンベ圧を高めることができず、ボンベガス1本で5分間程度の暴露しかできない少ない内容量(480L)のため、ボンベ入りガスの使用を断念し、ホルムアルデヒドガスの暴露で使用したバブリング式の発生器(柴田科学, Photo 1)を用いることとした。タンク内の発生ガス濃度を、検知管(123、ガステック, Photo. 4)発生、濃度測定を行い目標値に近い濃度をチャンバー内で作ることが可能となった。発生器における温度条件を固定することにより、恒に同じオルト、メタ、パラ及びエチルベンゼンの混合割合のガスを得ることが可能である。キシレンの暴露濃度は、室内汚染化学物質の室内濃度指針値(エチルベンゼンを含まない濃度)である0.20 ppm ($870 \mu\text{g}/\text{m}^3$)から、低濃度を0.20 ppmとし、中・高用量を0.7、2.0 ppmと設定した。

初回の濃度設定試験では発生流量を0.8L/分に設定し、0.20 ppmには0.55L/分、0.7 ppmには1.80L/分、2.0 ppmには5.50L/分を供給した。0.2ppm群チャンバーにおいて測定したTVOCモニター(FTVR-01、フィガロ技研, Photo. 8)値では $7857.7 \pm 111.0 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (平均値±標準偏差, Fig.13)安定した濃度推移を示したが、捕集管(活性炭カラム, 柴田科学, Photo 5)による濃度は0.059ppmと低い濃度であった。2回目の濃度設定試験では発生流量を2.8L/分に設定し、0.20 ppmには0.39L/分、0.7 ppmには1.04L/分、2.0 ppmには4.41L/分を供給した。0.2ppm群チャンバーにおいて測定したTVOCモニター値では $2292.0 \pm 65.7 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (平均値±標準偏差, Fig.14)と安定した濃度推移を示したが、捕集管による濃度は0.20 ppm群で0.175ppmとやや低く、0.7 ppm群は0.375ppm、2.0 ppm群は1.116ppmと低かった。3回目の濃度設定試験では発生流量を2.8L/分のまま、0.20 ppmには0.44L/分、0.7 ppmには1.94L/分、2.0 ppmには7.90L/分を供給した。0.2ppm群チャンバーにおいて測定したTVOCモニター値では $3748.1 \pm 233.7 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (平均値±標準偏差, Fig.15)と安定した濃度推移を示し、捕集管による濃度は0.20 ppm群は0.207 ppm、0.7 ppm群は0.938ppm、2.0 ppm群は2.884ppmであった。

この濃度試験の結果からさらに流量に補正を

加え0.20 ppmには0.42L/分、0.7 ppmには1.45L/分、2.0 ppmには5.48L/分を供給した。0.2ppm群チャンバーにおいて測定したTVOCモニター値では $2826.6 \pm 63.4 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (平均値±標準偏差、Fig.16)と安定した濃度推移を示し、捕集管による濃度は0.20 ppm群は0.193 ppm、0.7 ppm群は0.717ppm、2.0 ppm群は1.859ppmであった。

本試験においては、流量に補正を加え0.20 ppmには0.44L/分、0.7 ppmには1.42L/分、2.0 ppmには5.90L/分を供給した。0.2ppm群チャンバーにおいて測定したTVOCモニター値では $3275.9 \pm 299.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (平均値±標準偏差、Fig.17)と安定した濃度推移を示し、捕集管による濃度は0.20 ppm群は0.161 ppm、0.7 ppm群は0.569 ppm、2.0 ppm群は1.918 ppmであった。本試験で暴露したガス中の各成分比は、*o*-キシレンを1とすると*m*-キシレンと*p*-キシレンを加えたものは3.62、エチルベンゼンが1.18であった(Fig.18)。従い、エチルベンゼンを除いたキシレン濃度としては、0.2ppm群は0.128ppm、0.7 ppm群は0.453ppm、2.0 ppm群は1.527 ppmとなる。また、繰り返し行った濃度試験におけるガス中の各成分比の平均は、*o*-キシレンを1とすると*m*-キシレンと*p*-キシレンは3.55、エチルベンゼンが1.16(Fig.19)と大きな差はなかった。

対照群チャンバー内キシレン濃度は $0.0012 \pm 0.0007 \text{ ppm}$ ($5.420 \pm 3.372 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、平均値±標準偏差)、室内濃度は $0.0020 \pm 0.0008 \text{ ppm}$ ($8.190 \pm 3.811 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、平均値±標準偏差)と低濃度群の0.207ppmと比し低い濃度であり、一般環境大気での最大濃度 $44.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (*o*-,*m*-,*p*-の合計)(環境省、2003)を動物室内は遙かに下回り、一般家庭の室内空气中で検出される平均濃度5ppb(国土交通省、2003)を下回る濃度であり、影響はないものと考えられた。

1日6時間及び22時間、7日間連続暴露試験は日本バイオアッセイ研究センターに委託し、行った。詳細は委託研究報告Ⅲ)及びⅣ)を参照。

6. スチレン

発生方法については、ボンベ入りのスチレン標準ガスを希釈する方式で暴露を行った。高千穂商事から購入した標準ガスの濃度は150ppmであった。このガスをチャンバー内の総換気空気650L/分により希釈し、暴露した。

スチレンのマウスへの暴露濃度を、室内汚染化学物質の室内濃度指針値である0.05ppm($220 \mu\text{g}/\text{m}^3$)から、低濃度を0.05ppmとし、中・高用量を0.15、0.5ppmと設定した。このガスをチャンバー内の総換気空気650L/分により希釈した。初回の濃

度測定試験では、設定濃度0.5ppmに対し標準ガスを2.17L/分 流した高濃度群の捕集管(活性炭カラム、柴田科学、Photo. 5)測定による濃度は0.326 ppmと35%低く、設定濃度0.05ppmに対し標準ガスを0.22 L/分 流した低濃度群の捕集管測定による濃度は0.036 ppmと28%低く、設定濃度0.15ppmに対し標準ガスを0.65 L/分 流した中間濃度群は0.081 ppmと46%低かった。この試験における低濃度群をTVOCモニター(FTVR-01、フィガロ技研、Photo. 8)で測定した値は $362.7 \pm 28.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (平均値±標準偏差、Fig.20)と一定濃度を安定的に保持した。2回目の濃度測定試験では、設定濃度0.5ppmに対し標準ガスを3.33L/分 流した高濃度群の捕集管測定による濃度は0.645 ppmと29%高く、設定濃度0.05 ppmに対し標準ガスを0.29 L/分流した低濃度群の捕集管測定による濃度は0.055 ppmと10%高く、設定濃度0.15ppmに対し標準ガスを1.20 L/分 流した中間濃度群は0.187 ppmと25%高かった。この試験における低濃度群をTVOCモニターで測定した値は $581.4 \pm 132.8 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (平均値±標準偏差、Fig.21)と一定濃度を安定的に保持した。3回目の濃度測定試験では、設定濃度0.5ppmに対し標準ガスを2.65L/分 流した高濃度群の捕集管測定による濃度は0.404 ppmと19%低く、設定濃度0.05 ppmに対し標準ガスを0.27 L/分流した低濃度群の捕集管測定による濃度は0.043 ppmと14%低く、設定濃度0.15ppmに対し標準ガスを0.99 L/分流した中間濃度群は0.138 ppmと8%低かった。この試験における低濃度群をTVOCモニターで測定した値は $428.7 \pm 21.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (平均値±標準偏差、Fig.22)と一定濃度を安定的に保持した。

本試験においては、上記3回の濃度試験結果を基に流量を補正し、0.5ppm には3.37L/分、0.15ppmには1.10L/分、0.05ppmには0.32L/分を流入させ、0.05ppm群チャンバーにおいて測定したTVOCモニター値では平均濃度 $5726 \pm 520 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (平均値±標準偏差、Fig.23)と安定した濃度推移を示し、捕集管による濃度は0.035 ppmであった。中間濃度は0.128ppm、高濃度は0.738ppm(Fig.22)で48%高く、低濃度で30%、中濃度で15%程度低かったが、一定濃度を安定的に保持し、動物に暴露することができた。濃度試験と本試験の間で、テトラデカン実験用に発生器の改修工事を行った。この時、ボンベガスの高濃度と低濃度の配管を誤って接続したため、濃度試験を行った成果を正確に反映できず、結果として目標濃度を上回る高濃度、下回る低濃度となった。また対照群チャンバー内濃度及び室内濃度は0.0004 ppm($1.76 \mu\text{g}/\text{m}^3$)以下、で低濃度群の

0.035ppmと比し低い濃度であり、一般環境大気最大濃度 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (環境省、2003)であり対照群チャンパーや室内は低く影響はないものと考えられた。

1日6時間及び22時間、7日間連続暴露試験は日本バイオアッセイ研究センターに委託し、行った。詳細は委託研究報告V)及びVI)を参照。

7. テトラデカン

テトラデカンは蒸気圧が低く、現在の流路系においては、バブリング方式によって発生させたガスのチャンパー内への供給量が不足し、高濃度の0.4ppmを達成できない。そのため、高用量群の配管を2本に増やすことでガスの供給量を増加させることとし、バブリング式発生器の改造を行った(Photo. 9)。

テトラデカンのマウスへの暴露濃度を、室内汚染化学物質の室内濃度指針値である0.04ppm($330\mu\text{g}/\text{m}^3$)から、低濃度を0.04ppmとし、公比3で0.12、0.4ppmと設定した。

発生器で作成したガスをチャンパー内の総換気空気650L/分により希釈した。初回の濃度測定試験では、設定濃度0.4ppmに対し55L/分 流した高濃度群の捕集管(活性炭カラム、柴田科学、Photo. 5)測定による濃度は0.119 ppmと70%低く、設定濃度0.04 ppmに対し8.3L/分 流した低濃度群の捕集管測定による濃度は0.037 ppmと6.7%低く、設定濃度0.12ppmに対しガスを25 L/分 流した中間濃度群は0.0357 ppmと70%低かった。この試験における高濃度群をTVOCモニター(FTVR-01、フィガロ技研、Photo. 8)で測定した値は $1316.4 \pm 102.9\mu\text{g}/\text{m}^3$ (平均値 \pm 標準偏差、Fig. 25)と一定濃度を安定的に保持した。2回目の濃度測定試験では、設定濃度0.4ppmに対しガスを最大供給量である83L/分 流した高濃度群の捕集管測定による濃度は0.179 ppmと55%低く、設定濃度0.04 ppmに対しガスを8.3 L/分 流した低濃度群の捕集管測定による濃度は0.043 ppmと7.0%高く、設定濃度0.12ppmに対しガスを25 L/分 流した中間濃度群は0.046 ppmと62%低かった。この試験における高濃度群をTVOCモニターで測定した値は $1715.5 \pm 129.4\mu\text{g}/\text{m}^3$ (平均値 \pm 標準偏差、Fig. 26)と一定濃度を安定的に保持した。中濃度と低濃度が同程度の濃度を示したため、2回目と同じ供給量条件でTVOCモニターを用いて各チャンパー内濃度の差を測定した。その結果、低濃度は 112.75 ± 16.54 、中濃度は 264.00 ± 12.15 、高濃度が $863.73 \pm 43.79\mu\text{g}/\text{m}^3$ (比1:2.34:7.66) (Fig. 27)と供給流量比(1:3:10)とは異なるものの、明らかに流量比に近い差を示し

た。捕集管によるサンプリング流量を、当初の高濃度0.08L/分、中濃度0.15L/分から両者とも1.0L/分へと増やし、3回目の濃度測定試験を行った。設定濃度0.4ppmに対しガスを61L/分 に減少させて流した高濃度群の捕集管測定による濃度は0.246 ppmと38%低く、設定濃度0.04 ppmに対し標準ガスを5.8 L/分 流した低濃度群の捕集管測定による濃度は0.025 ppmと37%低く、設定濃度0.12ppmに対しガスを23.5 L/分 流した中間濃度群は0.076 ppmと37%低く、各濃度群での低下割合がほぼ等しく、供給流量を増加させることで、目標値を得ることが可能と思われた。この試験における高濃度群をTVOCモニターで測定した値は $443.3 \pm 15.9\mu\text{g}/\text{m}^3$ (平均値 \pm 標準偏差、Fig. 28)と一定濃度を安定的に保持した。4回目の濃度測定試験では、設定濃度0.4ppmに対しガスを82L/分 流した高濃度群の捕集管測定による濃度は0.383 ppmと4%低く、設定濃度0.04 ppmに対しガスを9.3 L/分 流した低濃度群の捕集管測定による濃度は0.044 ppmと10%高く、設定濃度0.12ppmに対しガスを28 L/分 流した中間濃度群は0.112 ppmと7%低かった。この試験における高濃度群をTVOCモニターで測定した値は $515.2 \pm 10.4\mu\text{g}/\text{m}^3$ (平均値 \pm 標準偏差、Fig. 29)と一定濃度を安定的に保持した。

本試験において、上記の濃度試験結果を基に、0.4ppm には最大供給量である83L/分、0.12ppm には28.5L/分、0.04ppmには8.4L/分の発生ガスを流入させた。設定濃度0.4ppmでは0.378ppm、0.12ppmでは0.110ppm、0.04ppmでは0.040ppmとほぼ目標に近い濃度で動物に暴露を行うことができた。この試験における高濃度群をTVOCモニターで測定した値は $446.2 \pm 37.5\mu\text{g}/\text{m}^3$ (平均値 \pm 標準偏差、Fig. 30)と一定濃度を安定的に保持した。また対照群チャンパー内濃度は $0.0005 \pm 0.0001\text{ppm}$ ($4.11 \pm 0.94\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、平均値 \pm 標準偏差)、室内濃度は $0.0006 \pm 0.0002\text{ppm}$ ($5.00 \pm 1.53\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、平均値 \pm 標準偏差)で低濃度群の0.04ppmと比し2桁低い濃度で影響はないものと考えられた。

D. 結論

ホルムアルデヒドはバブリング法によって安定したガス濃度が得られ、動物を換気回数の少ないチャンパー内に収容した時に、被毛に吸着することで起こる濃度の低下や不均一は、大量のガスを発生する大型チャンパー及びその発生機を使用し、サーキュレーターをチャンパー内に設置し強力に空気を攪拌することで解消した。

ホルムアルデヒドのバブリング法による暴露の

高濃度は0.74ppm、中間濃度は0.3ppm、低濃度は0.175ppm、公比は約2であった。

アセトアルデヒドの標準ガスボンベを用いた暴露の高濃度は0.277ppm、中間濃度は0.094ppm、低濃度は0.028ppm、公比は約3であった。

ホルムアルデヒドの標準ガスボンベを用いた追加試験における暴露の高濃度は1.017ppm、中間濃度は0.291 ppm、低濃度は0.107ppm、公比は約3であった。

トルエンの標準ガスボンベを用いた暴露の高濃度は0.643ppm、中間濃度は 0.177ppm、低濃度は0.061ppm、公比は約3であり、いずれも安定的に動物に暴露することができた。

キシレンのバブリング法による暴露の高濃度は1.918 ppm、中間濃度は0.569 ppm、低濃度は0.161 ppm、公比は約3であり、いずれも安定的に動物に暴露することができた。暴露したガス中の各成分比は、*o*-キシレンを1とすると*m*-キシレンと*p*-キシレンを加えたものは3.62、エチルベンゼンが1.18で、エチルベンゼンを除いたキシレン濃度としては、低濃度は0.128ppm、中間濃度は0.453ppm、高濃度は1.527 ppmであった。

スチレンの標準ガスボンベを用いた暴露の高濃度は0.738ppm、中間濃度は0.128ppm、低濃度は0.035 ppm、目標値より高濃度は高く、低濃度は低くなったが、いずれも安定的に動物に暴露することができた。

テトラデカンのバブリング法による暴露の高濃度は0.383 ppm、中間濃度群は0.112 ppm、低濃度は0.044 ppm、公比は約3であり、いずれも安定的に動物に暴露することができた。

動物室内の各物質の濃度は、ホルムアルデヒド(実験1と3を集計)が 3.875 ± 0.641 ppb($4.875 \pm 0.641 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、平均値±標準偏差)、アセトアルデヒドは 4.000 ± 2.366 ppb($6.833 \pm 4.490 \mu\text{g}/\text{m}^3$)、トルエンは 3.750 ± 0.957 ppb($14.250 \pm 3.775 \mu\text{g}/\text{m}^3$)、キシレンは 2.000 ± 0.848 ppb($8.190 \pm 3.811 \mu\text{g}/\text{m}^3$)、対照群チャンバー内の各物質の濃度は、ホルムアルデヒドが 2.700 ± 0.949 ppb($3.400 \pm 1.075 \mu\text{g}/\text{m}^3$)、アセトアルデヒドは 2.000 ± 1.309 ppb ($3.750 \pm 2.187 \mu\text{g}/\text{m}^3$)、トルエンは 5.000 ± 3.688 ppb ($19.000 \pm 13.828 \mu\text{g}/\text{m}^3$)、キシレンは 1.180 ± 0.700 ppb($5.420 \pm 3.372 \mu\text{g}/\text{m}^3$)と各物質で設定した暴露低濃度とは1桁以上低い値であった。一方、ホルムアルデヒドの一般環境大気濃度は $0.26 \sim 10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (平均値 $3.4 \mu\text{g}/\text{m}^3$) (環境省、2003)と動物室内は同等であり、一般家庭の室内空気中で検出される濃度16～211ppb(平均値50ppb) (国土交通省、2003)を遙かに下回っていた。アセトアルデヒドについては、一

般環境大気濃度 $0.23 \sim 7.9 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (平均値 $2.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$) (環境省、2003)と動物室内は同等であり、一般家庭の室内空気中で検出される平均濃度17ppb (国土交通省、2003)を下回っていた。トルエンは、一般環境大気での最大濃度が $85 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (環境省、2003) であり対照群チャンバーや室内濃度はこれより低く、一般家庭の室内空気中で検出される平均濃度17ppb (国土交通省、2003)をさらに下回っていた。キシレンは、一般環境大気での最大濃度 $44.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (*o*-,*m*-,*p*-の合計)(環境省、2003)と動物室内は遙かに下回り、一般家庭の室内空気中で検出される平均濃度5ppb (国土交通省、2003)を若干下回っていた。動物室あるいはチャンバー内へ大気中から導入する換気空気は、 HEPA フィルターにより微細な粉塵や細菌を、活性炭フィルターにより多くの化学物質を除去するよう設計されている。従い、外気からのホルムアルデヒド等のガスの導入は無いかあるいは極めて少ないものと思われ、また動物室内では一般家庭のような室内の建材や設備からのガスの発生も少なく、対照群チャンバー及び動物室内の濃度は一般環境大気よりも相対的に低く保たれていた。対照群チャンバー及び動物室内のこれらガス等の濃度をさらに低くするためには、動物室内装やチャンバー設備を含めた建築物を、素材を含めた全体を吟味し有機溶剤や接着剤などガスの発生源を持たない物で新たに作り直す必要があるが、それでも完全にゼロにまですることは困難と思われる。

本実験においては、最低暴露濃度と対照群チャンバー及び動物室内のこれらガス等の濃度の差が1桁以上あることから、遺伝子発現実験に関して解析が不能になるような大きな影響は与えていないものと考えている。

アセトアルデヒド、トルエン及びキシレンは、ホルムアルデヒドのように動物への吸着によると思われる濃度低下は現れなかった。ホルムアルデヒド、キシレン及びテトラデカンのバブリング法は、安定した濃度のガスを発生供給が可能であったが、ボンベ入りの標準ガスを用いたアセトアルデヒド、トルエン及びスチレンは、さらに安定したガス濃度を得ることができ、低濃度ガスを暴露するには最適な方法と思われた。

ホルムアルデヒドガスはボンベ内へ圧力を加えて充填することにより、重合し濃度低下を起こす、キシレンガスは圧力を加えると液化するなど、化学物質の性質によっては暴露に十分な容積がボンベ内に充填できない。今後シックハウス症候群の原因物質を中心に暴露試験を行う予定であるが、これらの化学物質はボンベを用いて暴露でき

ないため、その物理化学的性状を精査検討した上で様々な発生方法を試みてゆく必要がある。パラジクロルベンゼンを始めとして昇華性の物質についての発生法を検討し、シックハウス症候群の原因といわれる全ての物質についての吸入暴露実験が行える体制を整えるべく、継続して検討を続けている。

本研究は、国の内外を問わずこれまで行われたことがなく、シックハウス症候群の発症解明につながる貴重な実験結果が得られることにより、国民のみならずその健康保持を担う行政においても意義の大きいものと考ええる。

(環境省、2003)

環境省環境保健部環境安全課、「平成14年度地方公共団体等における有害大気汚染物質のモニタリング調査結果(表7)」(2003)

http://www.env.go.jp/air/osen/monitoring/mon_h14/hyo_07.html

(国土交通省、2003)

国土交通省住宅局住宅生産課「平成14年度室内空気中の化学物質の実態調査の結果について」(2003)

<http://www.mlit.go.jp/kisha/kisha03/07/071219.html>

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

1) 書籍

なし

2) 雑誌

菅野純、北嶋聡、相崎健一、五十嵐勝秀、中津則之、高木篤也、小川幸男、児玉幸夫、Percellome Project による毒性トランスクリプトミクスの新しい試み、細胞工学、26,1: 71-77, 2007

2. 学会発表

菅野純、相崎健一、中津則之、北嶋聡、児玉幸夫、小川幸男、Percellome Toxicogenomics for the Development of Mechanism-based Predictive Toxicology 第66回日本癌学会総会、シンポジウム「がん創薬におけるイノベーション」2007年10月3日、横浜、口演

Jun Kanno, Ken-ichi Aisaki, Katsuhide Igarashi, Noriyuki Nakatsu, Satoshi Kitajima, Yukio Kodama, Yukio Ogawa, PERCELLOME TOXICOGENOMICS PROJECT FOR MECHANISM BASED PREDICTIVE TOXICOLOGY: AN APPROACH TO MINIMISING TOXICITY IN DRUG DEVELOPMENT. The 1st Asia Pacific Regional Meeting (APISXX) of International Society for the Study of Xenobiotics (ISSX), December 3-6, 2007

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

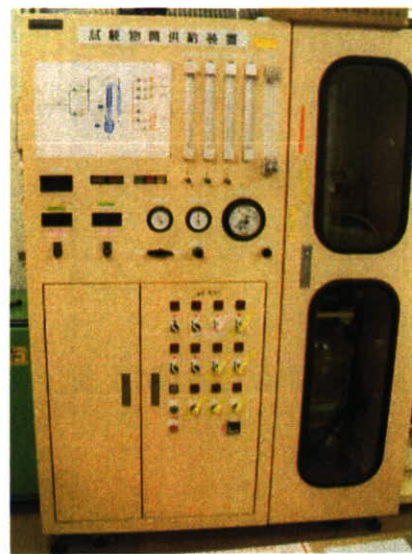


Photo. 1 3m³横層流大型チャンバー及びその発生装置(柴田科学)

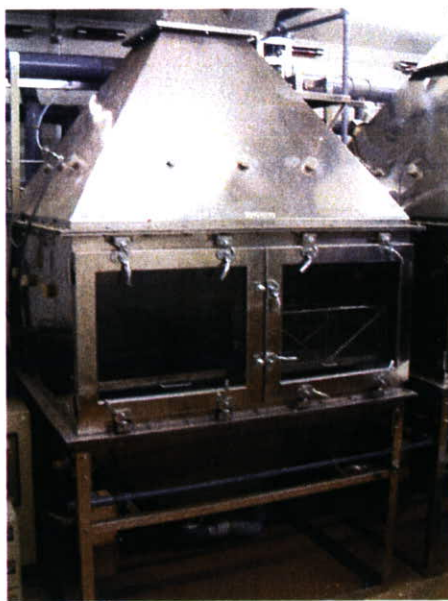


Photo. 2 縦層流600L大型 及び 30L小型チャンバー(柴田科学)

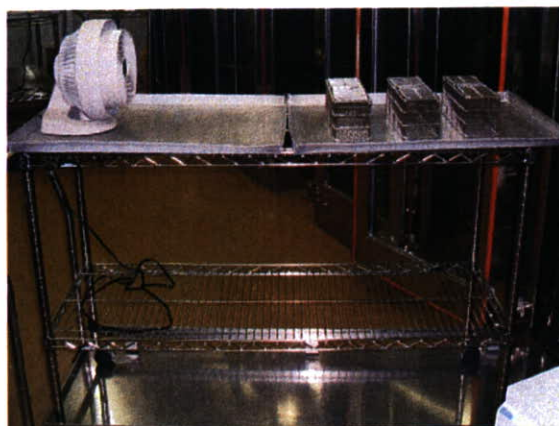


Photo. 3 チャンバー内空気攪拌用サーキュレーター(ボルネード)及び暴露ケージ(柴田科学)を載せた架台

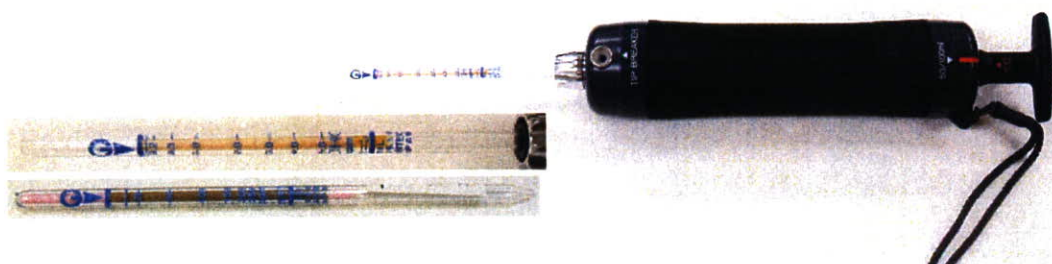


Photo. 4 検知管(No.91L, No123)及び同採気用ポンプ(ガステック)



Photo. 5 DNPB捕集管
(ジーエルサイエンス)
活性炭捕集管(柴田科学)、

捕集管採気用ポンプ
SP208-100 Dual
(ジーエルサイエンス)

MPΣ-300
(柴田科学)



Photo. 6 高感度ホルムアルデヒドガスモニター FP-250 FLW
(理研計器)



Photo. 7 ホルムアルデヒド標準ガスボンベ (高千穂商事)
5本の連結配管とボンベ用に新設した流量計(柴田科学)



Photo. 8 TVOC(総揮発性有機化合物)モニター FTVR-01
(フィガロ技研)

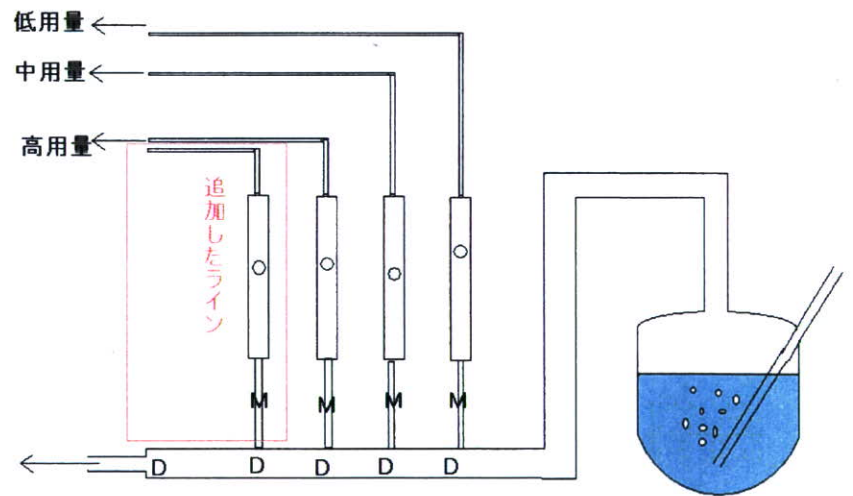
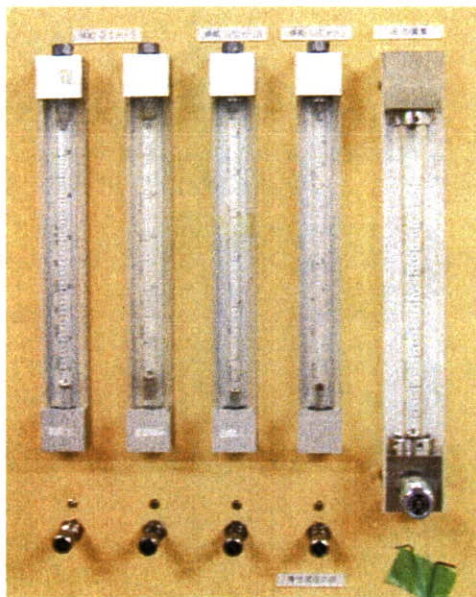


Photo. 9 増設配管した流量計(柴田科学) と 流路略図

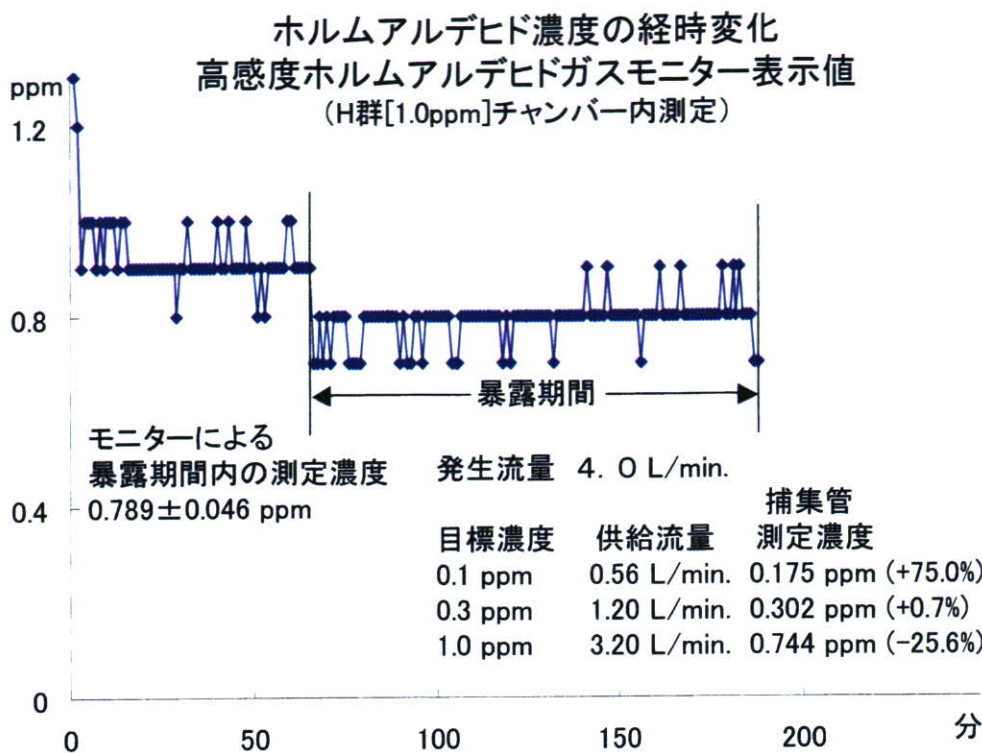


Fig. 1 高感度ホルムアルデヒドガスモニターを使用して測定した、高用量チャンバー内のホルムアルデヒド濃度推移

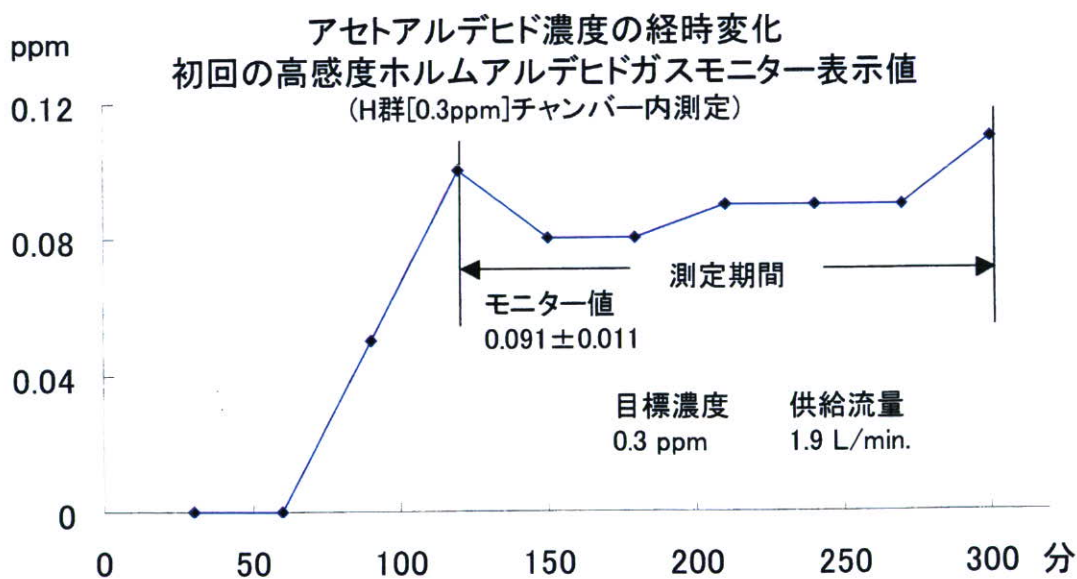


Fig. 2 高感度ホルムアルデヒドガスモニターを使用して測定した、初回の高用量チャンバー内のアセトアルデヒド濃度推移

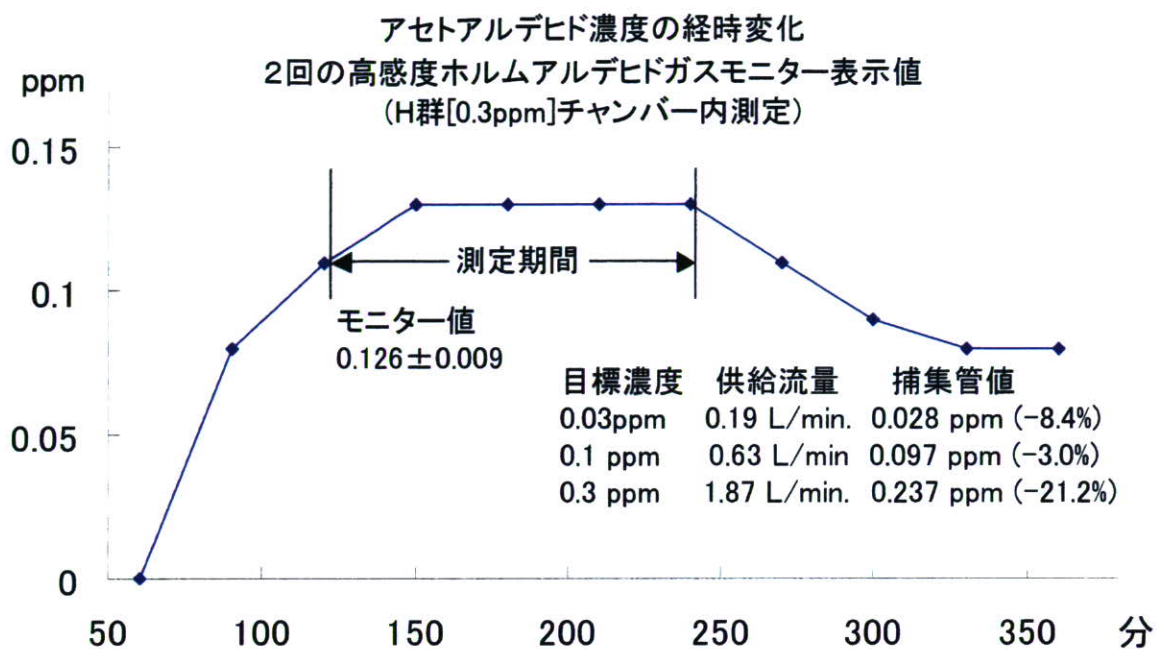


Fig. 3 高感度ホルムアルデヒドガスモニターを使用して測定した、2回目の高用量チャンバー内のアセトアルデヒド濃度推移

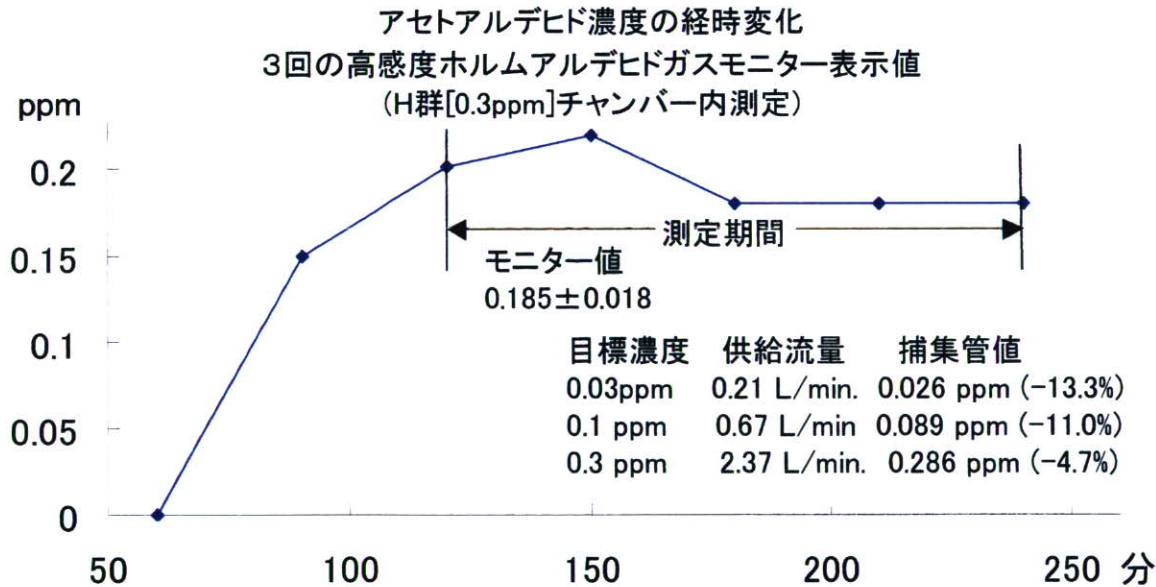


Fig. 4 高感度ホルムアルデヒドガスモニターを使用して測定した、3回目の高用量チャンバー内のアセトアルデヒド濃度推移

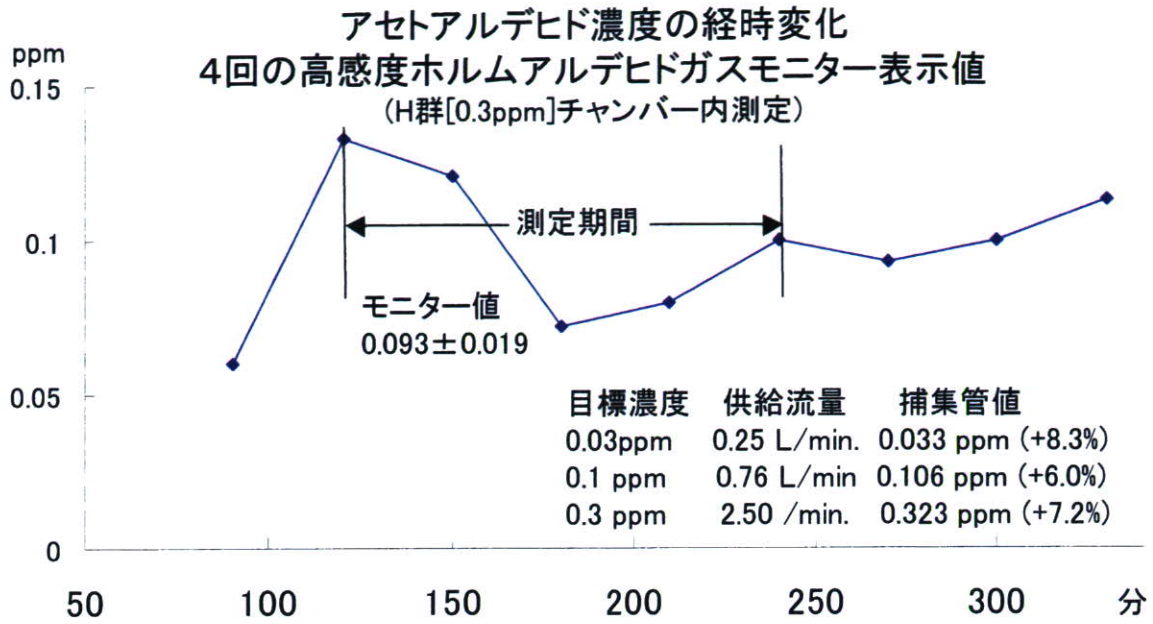


Fig. 5 高感度ホルムアルデヒドガスモニターを使用して測定した、4回目の高用量チャンバー内のアセトアルデヒド濃度推移

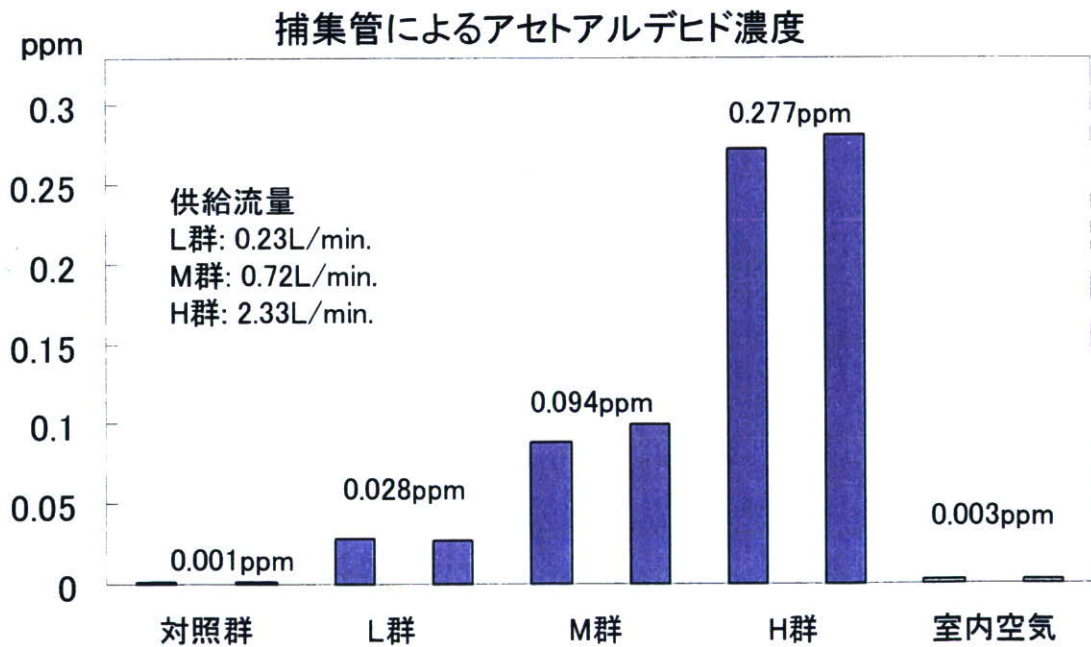


Fig. 6 5回目 (本試験)の捕集管によるアセトアルデヒド濃度