

## 2. ホルムアルデヒド 22 時間/日 x7 日間暴露:

ホルムアルデヒド 1 日 22 時間、7 日間の反復暴露を行った。試験開始に先立ち 22 時間暴露の安定性を確認した。ばっ気法による 6 時間の安定性が確認されていたことを受け、50 倍希釈ホルマリン液の 1 回の発生における安定性を確認するため、22 時間までのチャンバー内ホルムアルデヒド濃度を中濃度群及び高濃度群についてホルムアルデヒドテープモニター (FP250FL、理研計器株式会社)を用いてモニターした。モニターは、5-22 時間とした。その結果、5 時間-22 時間までの濃度平均値は中濃度で  $0.0926 \pm 0.0121$  ppm、高濃度で  $0.385 \pm 0.0121$  ppm と安定な発生が可能であった。以上のことから 50 倍希釈調製したホルマリン液は、高濃度においても 22 時間安定に発生できることが確認でき、1 日ごとに再調製することで、安定な濃度発生ができると考えられた。以上のことから、実試験における発生濃度については、Day 1、3 及び 7 において、発生開始後 1、21 時間後にサンプリングを行い、測定を行った。また、実験前環境(吸入実験室、暴露チャンバー4 台)のホルムアルデヒド濃度を測定(n=2)した。その結果、各濃度群における実測濃度の平均値は、低濃度群: $0.0284 \pm 0.00655$  ppm(設定値 0.03 ppm)、中濃度群: $0.0934 \pm 0.0107$  ppm(設定値 0.1 ppm)及び高濃度群: $0.306 \pm 0.0198$  ppm(設定値 0.3 ppm)であった。また、空気対照群は、 $0.00111 \pm 0.000294$  ppm と低濃度群の 1/25 程度のバックグラウンドが検出された。

今回実験前のチャンバー内濃度は、実験中の空気対照群と比較して、5 倍程度高かった。このことは、チャンバーを含む配管が実験する上で徐々に清浄化された可能性がある。また、昨年、マウス被毛へのホルムアルデヒドの吸着が危惧されたが、その点も理由のひとつと考える。しかしながら、日本化学会誌防災指針、厚生省「住宅建建材ガイドライン」を参考に設定したホルムアルデヒドの暴露が 22 時間/日、7 日間の安定に実施できた。

また、暴露期間中ホルムアルデヒド暴露に依存する一般状態、体重及び肝重量の変化は認められなかった。

ヒスタミン濃度においては、1 日間暴露直後及び 7 日間暴露直後の 2 ポイントにおいてホルムアルデヒド暴露に依存する顕著な変動は見られなかった。

## 3. アセトアルデヒド 6 時間/日 x7 日間暴露:

アセトアルデヒド 1 日 6 時間、7 日間の反復暴露を行った。発生濃度については、Day 1、3 及び 7 において、発生開始後 1、3 及び 5 時間後にサンプリングを行い、実測定を行った。その結果、各濃度群における実測濃度の平均値は、低濃度群: $0.0319 \pm 0.000932$  ppm(設定値 0.03 ppm)、中濃度群: $0.107 \pm 0.0141$  ppm(設定値 0.1 ppm)及び高濃度群: $0.329 \pm 0.00880$  ppm(設定値 0.3 ppm)であった。また、空気対照群は、 $0.00209 \pm 0.000789$  ppm と低濃度群の 1/15 程度のバックグラウンドが検出された。これらの結果から、6 時間/日、7 日間の安定な発生が可能となった。

暴露期間中ホルムアルデヒド暴露に依存する一般状態、体重及び肝重量の変化は認められなかった。

ヒスタミン濃度においては、1 日間暴露直後及び 7 日間暴露直後の 2 ポイントにおいてホルムアルデヒド暴露に依存する顕著な変動は見られなかった。

## 4. アセトアルデヒド 22 時間/日 x7 日間暴露:

アセトアルデヒド 1 日 22 時間、7 日間の反復暴露を行った。発生濃度については、Day 1、3 及び 7 において、発生開始後 1 及び 21 時間後にサンプリングを行い、実測定を行った。また、実験前環境(吸入実験室、暴露チャンバー4 台)のアセトアルデヒド濃度を測定(n=2)した。その結果、日本化学会誌防災指針、厚生省「住宅建建材ガイドライン」を参考に設定したアセトアルデヒドの暴露が 22

時間/日、7日間の安定に実施できた。

今回、22時間暴露と通常の吸入暴露毒性試験の指針にとらわれず、ヒトでのライフサイクルを元として設定している。そのことを考えると今回暴露したマウスから得られる様々な結果は、ホルムアルデヒド及びアセトアルデヒドの極低濃度でのハザード的な評価より、リスク評価的な扱いが可能であるといえる。

#### 5. ヒスタミン濃度測定:

シックハウス症原因 4 物質(ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、トルエン、キシレン)を経口投与した時のマウス血漿中ヒスタミン濃度を酵素免疫測定(ELISA)で定量した。表 5 に結果を示す。その結果、トルエンでわずかに用量依存的なヒスタミンの増加傾向がみられたが、他物質も含めて顕著なヒスタミン変動は見られなかった。

#### D. 結論

実験環境下では、1-2 ppb レベルのホルムアルデヒドが存在した。さらに低濃度暴露を検討する場合、この点が大きな課題となると予想された。

ホルムアルデヒドの発生については、ホルムアルデヒドボンベ及びホルマリン希釈液をばっ気及び希釈することで低濃度(設定濃度 30 ppb)～高濃度群(設定濃度 400 ppb)において6時間/日、7日間または22時間/日、7日間の安定な発生が可能となった。

また、アセトアルデヒドについても、6時間及び22時間/日、7日間の極低濃度(室内濃度指針値 0.03 ppm を含む 0.1 及び 0.3 ppm の 3 濃度)での暴露が可能になった。

各試験における血中ヒスタミン濃度は、空気対照群と比較し、顕著な変動は無かった。

本研究のようなヒトのライフサイクルを模した極低用量の長時間暴露は、今まで行われていなかった。その点から、今回確立した長期吸入暴露法は、シックハウス症候群の解明につながる実験結

果が得られると考える。このことは、国民のみならず、化学物質及び国民の健康を管理する行政においても意義あるものといえる。

#### E. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

なし

#### F. 知的財産所有権の出願、登録状況

##### 1. 特許取得

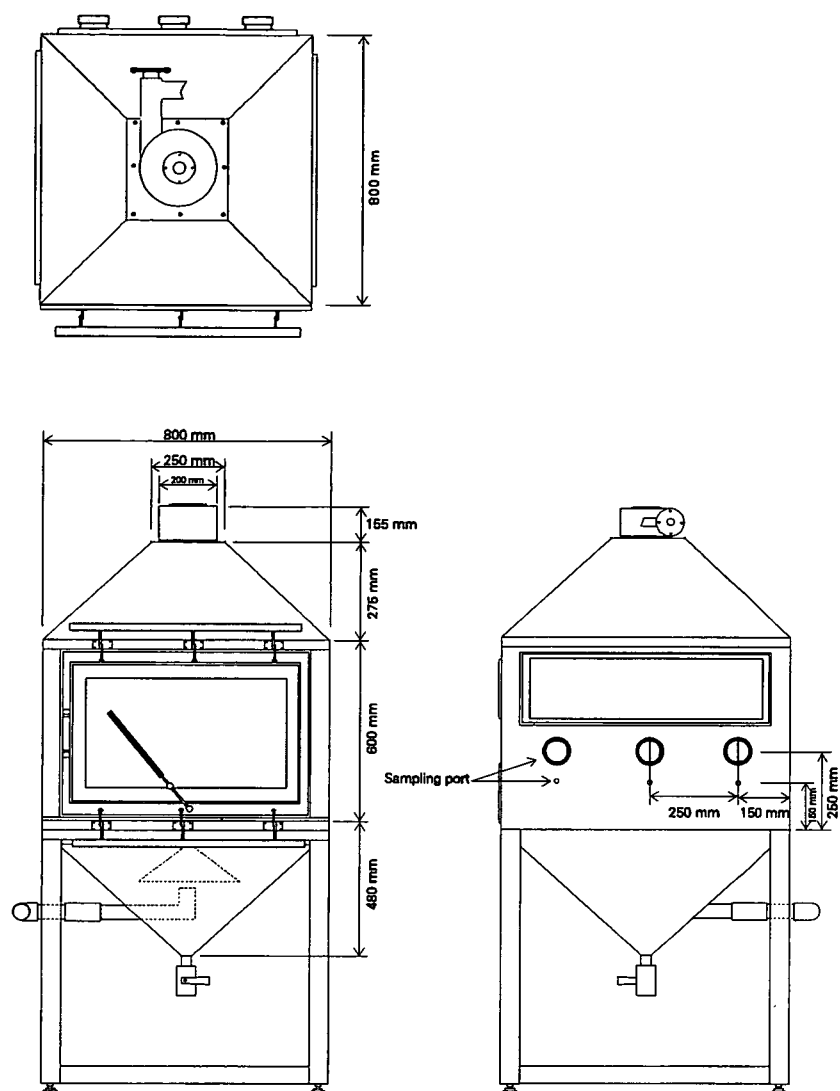
なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし



型 式: 全身暴露型チャンバー(トキワ科学器械株式会社)  
 材 質: ステンレス製 SUS-304(本体)、強化ガラス(観察窓)  
 容 積: 563 L(全容積)  
 動物収容部位: 800 W×800 D×600 H mm(気積 384 L)

図1 全身暴露チャンバー

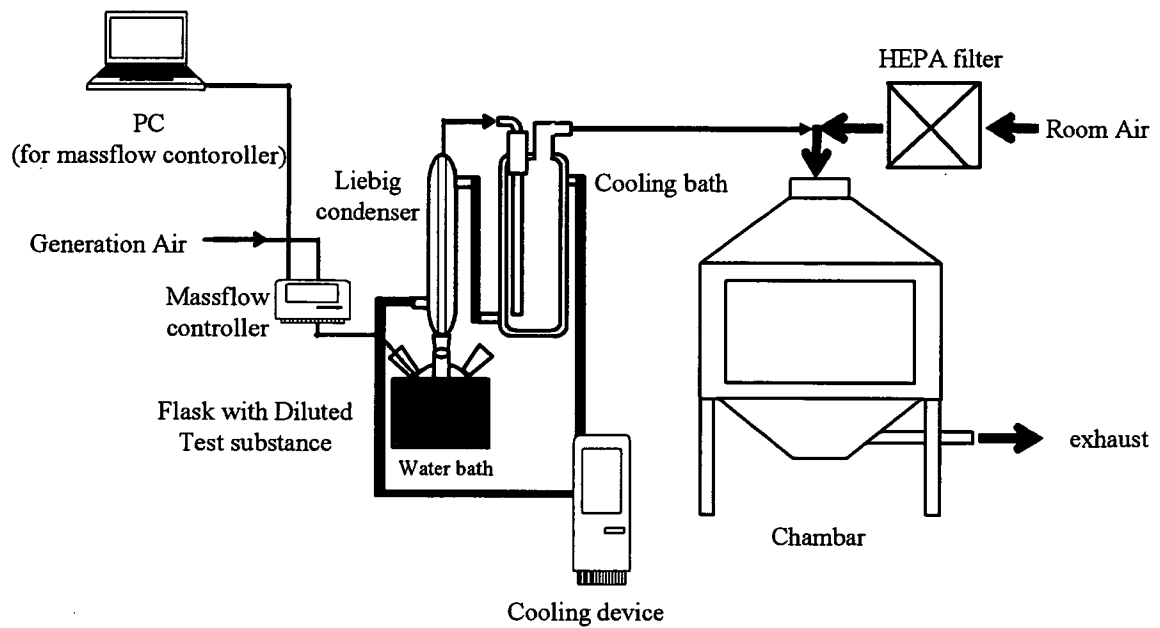


図2 発生概略図 (中・高濃度)

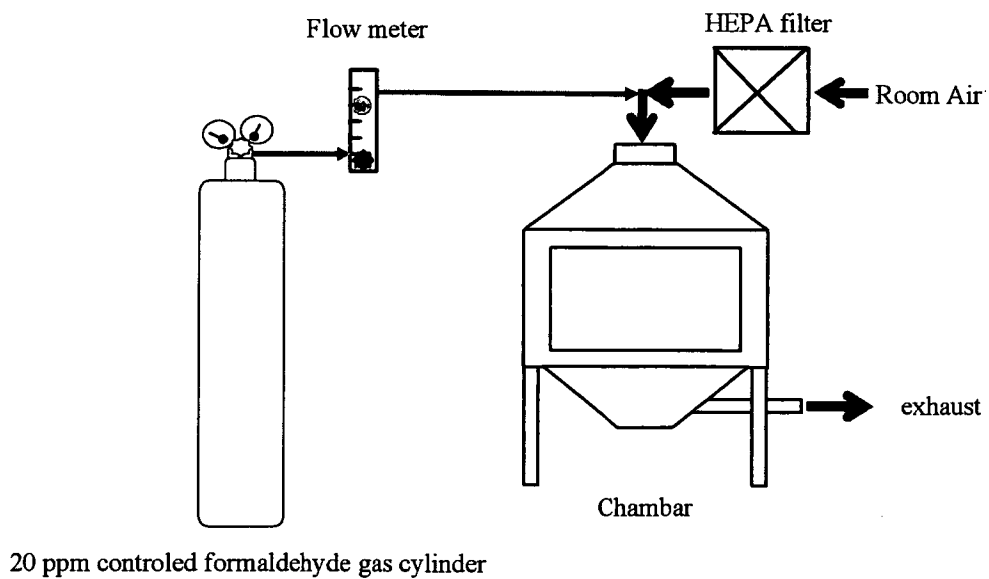
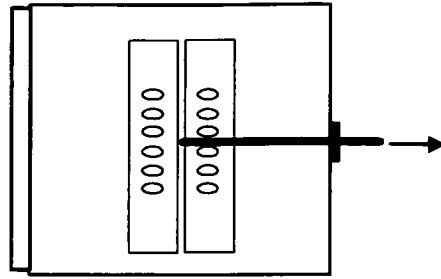


図3 発生概略図 (低濃度)

上部概略図



側部概略図

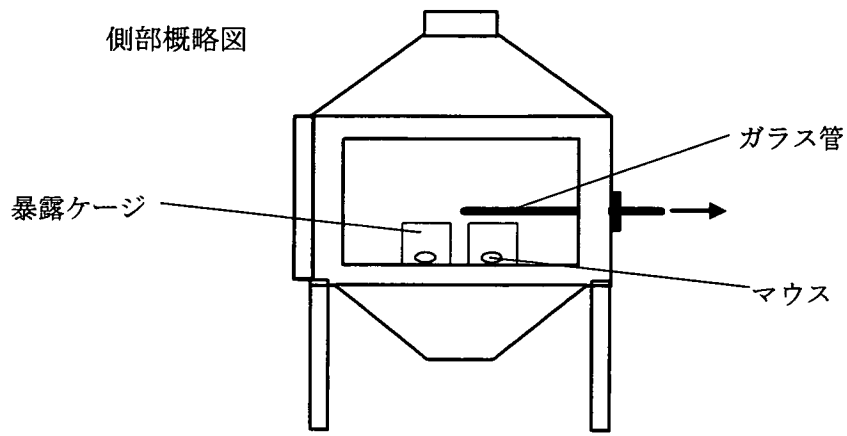
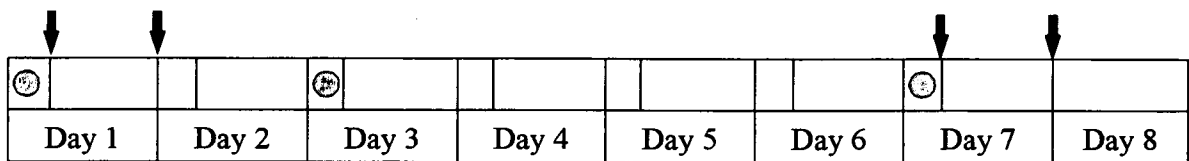


図4 サンプルング位置



□ 被験物質暴露

⊙\* 実測濃度測定

↓ 肝臓、肺及び血液採取

Day 1-暴露開始後6時間(暴露終了直後)、Day 2(Day 1 暴露開始後24時間)

Day 7-暴露開始後6時間(暴露終了直後)、Day 8(Day 7 暴露開始後24時間)

図5 試験デザイン

表1 分析条件

カラム	: L-column ODS 4.6 mm I.D. ×150 mm (財)化学物質評価研究機構)
移動相	: アセトニトリル/水 = 60/40 (v/v)
流量	: 1.0 mL/分
カラム温度	: 40°C
検出器	: UV-VIS 検出器 L-7405((株)日立製作所)
波長	: 360 nm
検出値	: ピーク高さ
試料注入量	: 10 μL

表2 実験環境濃度

条件	ホルムアルデヒド濃度 (ppb)
1. 部屋及び場所別濃度	
①屋外	2.00
②吸入実験室	
・室内	1.61
・アイソレーションラック (動物無)	1.89
・アイソレーションラック (マウス飼育)	1.95
③分析室	3.41
2. 換気流量変化におけるチャンバー内濃度	
①換気流量 100L/分	27.3
②換気流量 200L/分	14.0
③換気流量 300L/分	9.13
*換気条件: 15分換気	
3. チャンバー別換気後濃度	
①チャンバー1	4.95
②チャンバー2	4.25
③チャンバー3	9.08
④チャンバー4	9.13
*換気条件: 300 L/分, 15分	
4. 活性炭フィルターの影響	
①HEPA フィルターのみ	9.08
②室内吸気 HEPA フィルター前に 活性炭フィルターを設置	9.83
*チャンバー3 使用、換気条件: 300 L/分, 15分	

表3 ホルムアルデヒド濃度と人体への影響の関係

ホルムアルデヒド濃度	人体への影響
0.03 ppm (30 ppb)	目、鼻、のどに対する刺激を感じないレベル
0.08 ppm (80 ppb)	かすかに臭いを感じる
0.13~0.45 ppm (130~450 ppb)	目への刺激が始まる
0.5 ppm (500 ppb)	臭気のため不快感が起こる
2~3 ppm (2,000~3,000 ppb)	鼻やのどに刺激が加わる
4~5 ppm (4,000~5,000 ppb)	催涙が起こる
10 ppm 以上 (10,000 ppb 以上)	正常な呼吸が困難になる濃度影響

参考：日本化学会誌防災指針、厚生省「住宅建建材ガイドライン」

表4 発生濃度安定性

発生時間(h)	低濃度群		中濃度群		高濃度群	
	設定濃度：30 ppb	設定濃度：30 ppb	設定濃度：80 ppb	設定濃度：80 ppb	設定濃度：400 ppb	設定濃度：400 ppb
	動物無	動物有	動物無	動物有	動物無	動物有
0.5	20.8	-	76.1	-	437	-
1	30.2	36.4	74.7	-	437	411
3	22.7	35.7	-	-	-	472
6	-	32.0	-	-	-	510
平均	24.6	34.7	75.4	-	437	464

-：未測定

単位：ppb

動物有：マウス 12 匹収容

表5 ヒスタミン測定

単位:ng/mL

対照群	ホルムアルデヒド	アセトアルデヒド	トルエン	キシレン
H <sub>2</sub> O 34.8	3 mg/kg 44.4	3 mg/kg 24.3	10 mg/kg 36.1	10 mg/kg 32.1
Oil 37.9	30 mg/kg 26.9	30 mg/kg 26.7	100 mg/kg 48.1	100 mg/kg 36.2
	150 mg/kg <sup>1)</sup> 49.0	300 mg/kg 37.6	1000 mg/kg 59.7	1000 mg/kg 36.4
異常無し	300 mg/kg で死亡 30 mg/kg 以上で自 発運動低下、呼吸 数減少	30 mg/kg 以上で 自発運動低下、 呼吸数減少 300 mg/kg で腹 臥	異常無し	異常無し

The histamine values are means of each animal per group (n=2)

1) n=1



暴露 (Ex.)		1	2	3	4	5	6	7		
臓器採取 (遺伝解析)		↑		↑				↑	↑	
血液採取 (ヒスタミン)		↑						↑		
Day	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5	Day 6	Day 7	Day 8	Day 9	

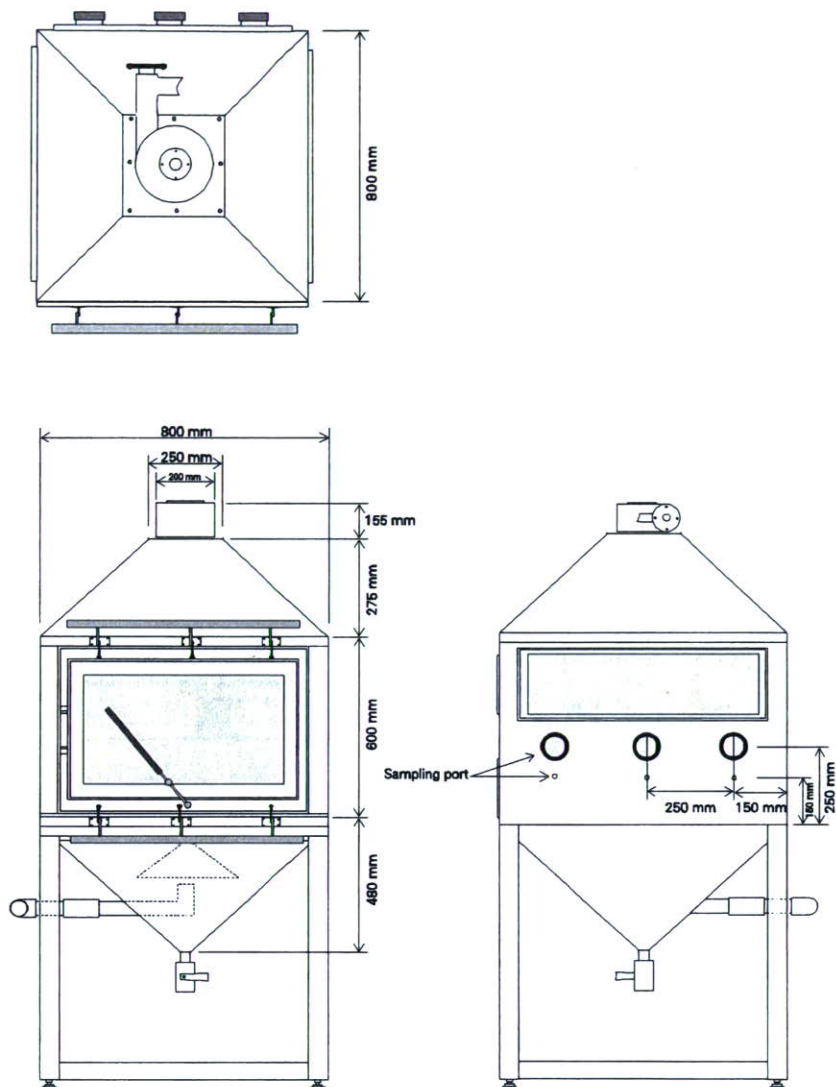
■ : 被験物質暴露

図6 試験デザイン (22 時間/日、7 時間)

暴露 (Ex.)		1		2		3		4		5		6		7	
臓器採取 (遺伝解析)		↑	↑		↑									↑	
血液採取 (ヒスタミン)		↑	↑									↑	↑		
Day	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5	Day 6	Day 7	Day 8							

■ : 被験物質暴露

図7 試験デザイン (6 時間/日、7 時間)



型 式：全身暴露型チャンバー(トキワ科学器械株式会社)  
 材 質：ステンレス製 SUS-304(本体)、強化ガラス(観察窓)  
 容 積：563 L(全容積)  
 動物収容部位：800 W×800 D×600 H mm(気積 384 L)

図 8 全身暴露チャンバー

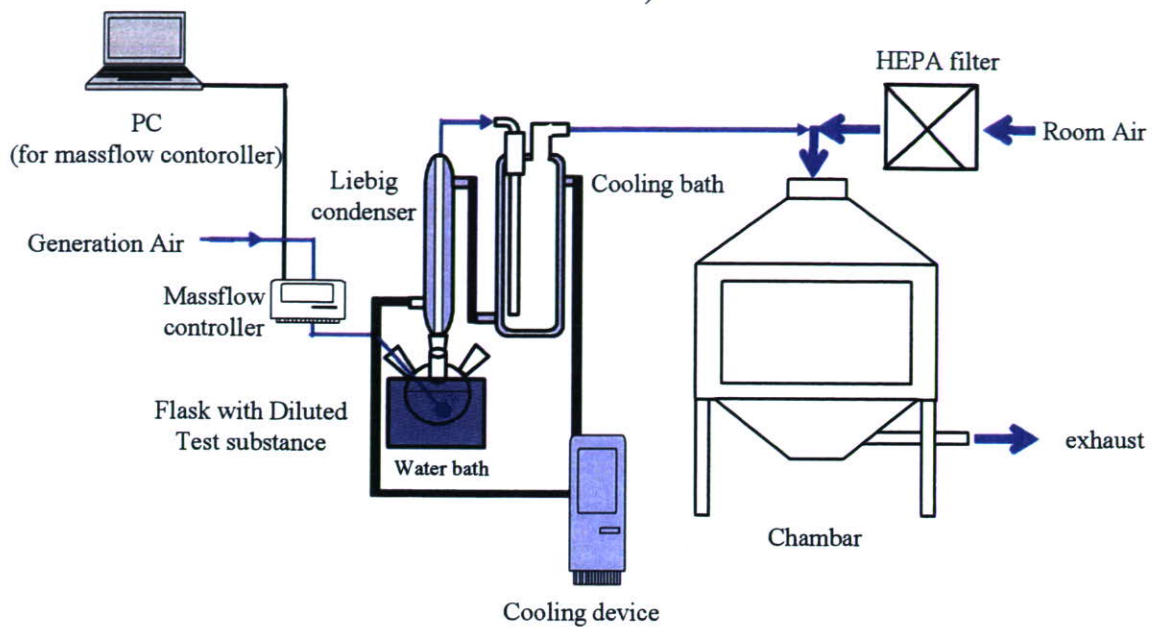


図9 発生概略図 (ホルムアルデヒド)

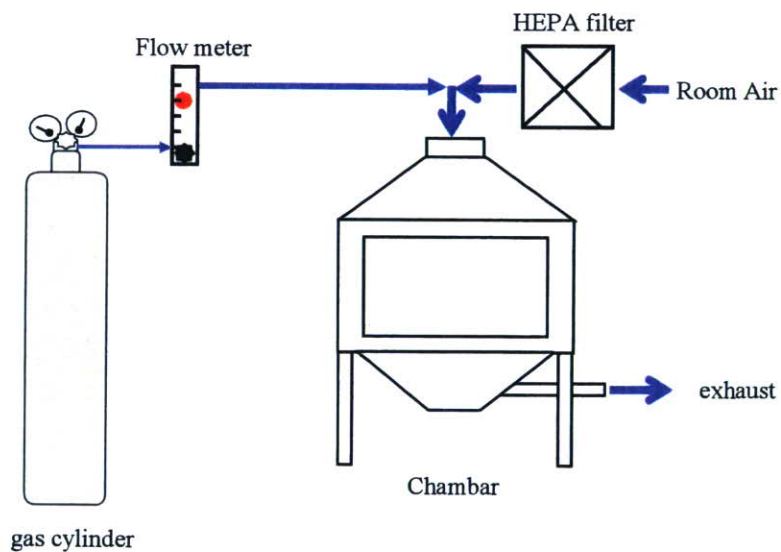
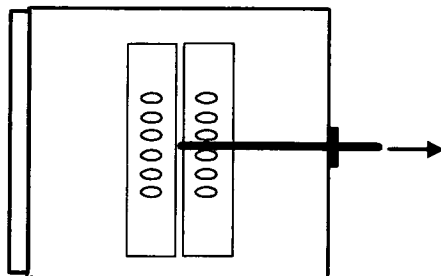


図10 発生概略図 (アセトアルデヒド)

上部概略図



側部概略図

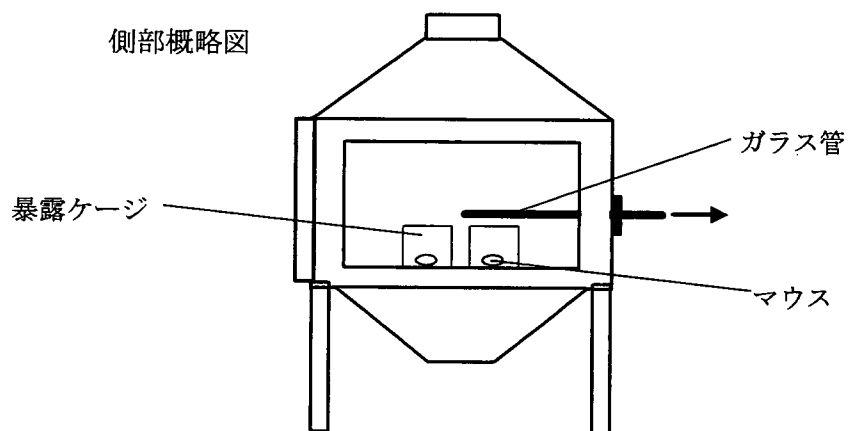


図 11 サンプリング位置

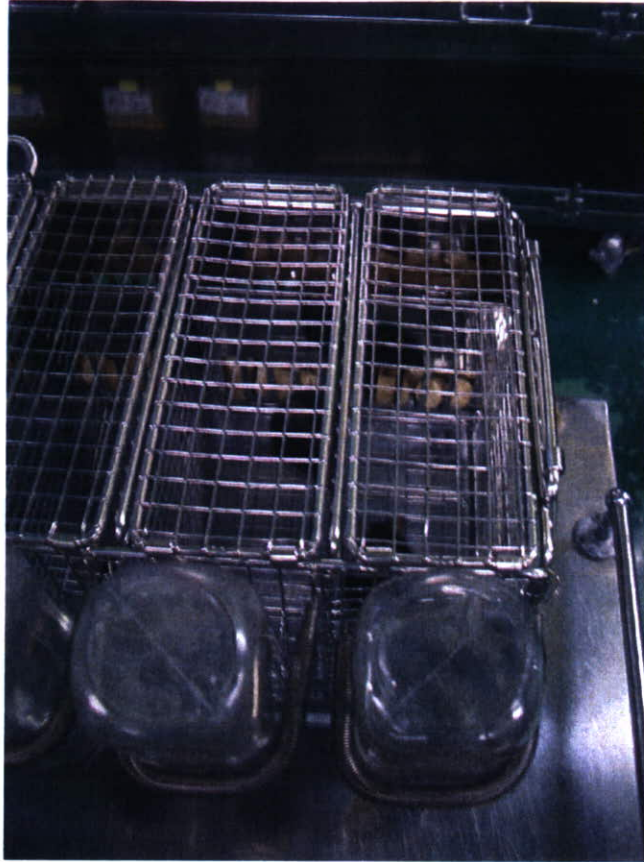


图 12 暴露环境

表 6 実験前環境濃度

条件	被験物質濃度 (ppm)
1. ホルムアルデヒド：22 時間/日、7 日間暴露試験	
①吸入実験室	0.00318
②チャンバー1	0.00505
③チャンバー2	0.00866
④チャンバー3	0.00556
⑤チャンバー4	0.00518
2. アセトアルデヒド：6 時間/日、7 日間暴露試験	
①吸入実験室	0.00117
②チャンバー1	0.000721
③チャンバー2	0.000344
④チャンバー3	0.000377
⑤チャンバー4	0.000151
3. アセトアルデヒド：22 時間/日、7 日間暴露試験	
①吸入実験室	0.000477
②チャンバー1	0.000770
③チャンバー2	0.000606
④チャンバー3	0.000860
⑤チャンバー4	0.000477
n=2 平均値記載	

表7 実測暴露濃度 (ホルムアルデヒド: 22時間/日、7日間暴露)

Exp. group	Day	Sampling point (hour)	Actual concentration (ppm)	Mean	±S. D.
Air control	1	1	0.00127	0.00121	
		21	0.00115	± 0.0000849	
	3	1	0.00151	0.00134	0.00111
		21	0.00116	± 0.000247	± 0.000294
	7	1	0.000948	0.000796	
		21	0.000645	± 0.000214	
0.03 ppm	1	1	0.0215	0.0204	
		21	0.0193	± 0.00156	
	3	1	0.0356	0.0332	0.0284
		21	0.0308	± 0.00339	± 0.00655
	7	1	0.0334	0.0316	
		21	0.0297	± 0.00262	
0.1 ppm	1	1	0.0834	0.0834	
		21	0.0833	±0.0000707	
	3	1	0.100	0.106	0.0934
		21	0.111	± 0.00778	± 0.0107
	7	1	0.0891	0.0912	
		21	0.0933	± 0.00300	
0.3 ppm	1	1	0.321	0.320	
		21	0.318	± 0.00212	
	3	1	0.280	0.302	0.306
		21	0.323	± 0.0304	± 0.0198
	7	1	0.313	0.298	
		21	0.282	± 0.0219	

表 8 実測暴露濃度 (アセトアルデヒド : 6 時間/日、7 日間暴露)

Exp. group	Day	Sampling point (hour)	Actual concentration (ppm)	Mean $\pm$ S. D.	
Air control	1	1	0.00222	0.00285 $\pm$ 0.000567	0.00209 $\pm$ 0.000789
		3	0.00332		
		5	0.00301		
	3	1	0.000797	0.00143 $\pm$ 0.000546	
		3	0.00170		
		5	0.00178		
	7	1	0.00133	0.00198 $\pm$ 0.000567	
		3	0.00237		
		5	0.00224		
0.03 ppm	1	1	0.0314	0.0319 $\pm$ 0.000954	0.0319 $\pm$ 0.000932
		3	0.0313		
		5	0.0330		
	3	1	0.0310	0.0324 $\pm$ 0.00131	
		3	0.0336		
		5	0.0325		
	7	1	0.0317	0.0316 $\pm$ 0.000611	
		3	0.0321		
		5	0.0309		
0.1 ppm	1	1	0.123	0.124 $\pm$ 0.00230	0.107 $\pm$ 0.0141
		3	0.127		
		5	0.123		
	3	1	0.0874	0.0978 $\pm$ 0.00906	
		3	0.102		
		5	0.104		
	7	1	0.0993	0.0976 $\pm$ 0.00188	
		3	0.0980		
		5	0.0956		
0.3 ppm	1	1	0.315	0.328 $\pm$ 0.0135	0.329 $\pm$ 0.00880
		3	0.342		
		5	0.327		
	3	1	0.322	0.332 $\pm$ 0.00872	
		3	0.338		
		5	0.336		
	7	1	0.322	0.326 $\pm$ 0.00458	
		3	0.331		
		5	0.325		



表9 体重推移 (ホルムアルデヒド: 22時間/日、7日間暴露)

Exp. Group	Number of animals	Exposure				(day)
		-1	1	3	7	
Air control	12	27.0 ± 1.5	26.6 ± 1.3	25.5 ± 1.4 (9)	26.5 ± 0.8 (6)	
0.03 ppm	12	26.8 ± 1.8	26.3 ± 1.6	24.6 ± 1.8 (9)	25.0 ± 1.5 (6)	
0.1 ppm	12	27.0 ± 1.3	26.8 ± 1.2	25.8 ± 1.2 (9)	25.0 ± 1.5 (6)	
0.3 ppm	12	26.8 ± 1.3	26.7 ± 1.5	25.5 ± 1.4 (9)	25.0 ± 1.5 (6)	

Mean ±

S. D.

Figure(s) in parentheses indicate number of animals used for mean calculation.

表10 体重推移 (アセトアルデヒド: 6時間/日、7日間暴露)

Exp. Group	Number of animals	Exposure				(day)
		-1	1	3	7	
Air control	12	26.8 ± 0.9	26.9 ± 0.9	26.7 ± 1.3 (6)	27.9 ± 1.1 (3)	
0.03 ppm	12	26.7 ± 0.9	26.5 ± 1.0	26.6 ± 0.7 (6)	27.0 ± 0.8 (3)	
0.1 ppm	12	26.6 ± 0.9	26.6 ± 1.0	26.0 ± 1.4 (6)	26.8 ± 1.5 (3)	
0.3 ppm	12	26.6 ± 1.2	26.2 ± 1.3	26.0 ± 1.1 (6)	27.7 ± 0.7 (3)	

Mean ±

S. D.

Figure(s) in parentheses indicate number of animals used for mean calculation.

表 11 肝重量及び最終体重 (ホルムアルデヒド : 22 時間/日、7 日間暴露)

Exp. Group	Day (Exposure period of day )	Liver (g/100g)	Liver (g)	Body weight (g)
Air control	2 (1)	5.208 ± 0.104	1.366 ± 0.058	26.2 ± 1.2 (3) <sup>a)</sup>
	4 (3)	5.114 ± 0.264	1.328 ± 0.167	25.9 ± 2.0 (3)
	8 (7)	5.640 ± 0.262	1.511 ± 0.051	26.8 ± 0.4 (3)
	9 (7)	5.664 ± 0.116	1.519 ± 0.041	26.8 ± 0.9 (3)
0.03 ppm	2 (1)	5.987 ± 0.527	1.553 ± 0.154	25.9 ± 0.7 (3)
	4 (3)	5.257 ± 0.258	1.339 ± 0.145	25.4 ± 1.5 (3)
	8 (7)	5.175 ± 0.969	1.283 ± 0.177	25.0 ± 1.4 (3)
	9 (7)	5.639 ± 0.339	1.467 ± 0.124	26.0 ± 1.2 (3)
0.1 ppm	2 (1)	5.863 ± 0.437	1.578 ± 0.133	26.9 ± 0.5 (3)
	4 (3)	5.442 ± 0.079	1.444 ± 0.050	26.5 ± 0.8 (3)
	8 (7)	5.490 ± 0.272	1.354 ± 0.116	24.6 ± 1.1 (3)
	9 (7)	3.966 ± 0.653	1.007 ± 0.165	25.4 ± 2.0 (3)
0.3 ppm	2 (1)	5.560 ± 0.404	1.458 ± 0.172	26.2 ± 1.2 (3)
	4 (3)	5.229 ± 0.209	1.370 ± 0.136	26.2 ± 1.6 (3)
	8 (7)	5.364 ± 0.096	1.365 ± 0.111	25.4 ± 1.8 (3)
	9 (7)	5.312 ± 0.214	1.363 ± 0.114	25.6 ± 1.3 (3)

Mean ± S. D.

a) : Figure(s) in parentheses indicate number of animals used for mean calculation.

表 12 肝重量及び最終体重 (アセトアルデヒド : 6 時間/日、7 日間暴露)

Exp. Group	Day (Exposure period of day )	Liver (g/100g)	Liver(g)	Body weight(g)
Air control	1 (1)	4.007 ± 0.614	0.994 ± 0.152	24.8 ± 0.6 (3) <sup>a)</sup>
	2 (1)	5.651 ± 0.038	1.488 ± 0.054	26.3 ± 1.1 (3)
	4 (3)	5.647 ± 0.191	1.499 ± 0.015	26.6 ± 0.8 (3)
	8 (7)	5.347 ± 0.355	1.491 ± 0.088	27.9 ± 0.8 (3)
0.03 ppm	1 (1)	5.066 ± 0.618	1.281 ± 0.175	25.3 ± 1.1 (3)
	2 (1)	5.488 ± 0.568	1.396 ± 0.198	25.4 ± 1.1 (3)
	4 (3)	4.972 ± 1.098	1.330 ± 0.331	26.6 ± 1.5 (3)
	8 (7)	5.236 ± 0.101	1.407 ± 0.055	26.9 ± 0.9 (3)
0.1 ppm	1 (1)	4.676 ± 0.160	1.156 ± 0.086	24.7 ± 1.0 (3)
	2 (1)	5.464 ± 0.601	1.447 ± 0.258	26.4 ± 1.9 (3)
	4 (3)	5.330 ± 0.027	1.389 ± 0.065	26.1 ± 1.3 (3)
	8 (7)	5.006 ± 0.166	1.304 ± 0.139	26.0 ± 1.9 (3)
0.3 ppm	1 (1)	4.098 ± 0.589	1.005 ± 0.127	24.6 ± 0.5 (3)
	2 (1)	5.213 ± 0.424	1.307 ± 0.185	25.0 ± 1.9 (3)
	4 (3)	5.551 ± 0.368	1.392 ± 0.072	25.1 ± 0.8 (3)
	8 (7)	5.346 ± 0.224	1.479 ± 0.117	27.6 ± 1.0 (3)

Mean ± S.D.

a) : Figure(s) in parentheses indicate number of animals used for mean calculation.

## 別添 5

## 研究成果の刊行に関する一覧表

## 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nakamura T, Imai Y, Matsumoto T, Sato S, Takeuchi K, Igarashi K, Harada Y, Azuma Y, Krust A, Yamamoto Y, Nishina H, Takeda S, Takayanagi H, Metzger D, Kanno J, Takaoka K, Martin TJ, Chambon P, Kato S.	Estrogen prevents bone loss via estrogen receptor alpha and induction of Fas ligand in osteoclasts.	Cell	130	811 - 823	2007
Kato Y, Ikushiro S, Takiguchi R, Haraguchi K, Koga N, Uchida S, Sakaki T, Yamada S, Kanno J, Degawa M.	A novel mechanism for polychlorinated biphenyl-induced decrease in serum thyroxine level in rats.	Drug Metab Dispos	35	1949 - 1955	2007
Vom Saal FS, Akingbemi BT, Belcher SM, Birnbaum LS, Crain DA, Eriksen M, Farabollini F, Guillette LJ Jr, Hauser R, Heindel JJ, Ho SM, Hunt PA, Iguchi T, Jobling S, Kanno J, Keri RA, Knudsen KE, Laufer H, Leblanc GA, Marcus M, McLachlan JA, Myers JP, Nadal A, Newbold RR, Olea N, Prins GS, Richter CA, Rubin BS, Sonnenschein C, Soto AM, Talsness CE, Vandenberg JG, Vandenberg LN, Walser-Kuntz DR, Watson CS, Welshons WV, Wetherill Y, Zoeller RT	Chapel Hill bisphenol A expert panel consensus statement: Integration of mechanisms, effects in animals and potential to impact human health at current levels of exposure	Reprod Toxicol	24	131 - 138	2007
Morimoto M, Sasaki N, Oginuma M, Kiso M, Igarashi K, Aizaki K, Kanno J, Saga Y	The negative regulation of Mesp2 by mouse Ripply2 is required to establish the rostro-caudal patterning within a somite.	Development	134	1561 - 1539	2007
Baniasadi S, Chairoungdua A, Iribe Y, Kanai Y, Endou H, Aisaki K, Igarashi K, Kanno J	Gene expression profiles in T24 human bladder carcinoma cells by inhibiting an L-type amino acid transporter, LAT1.	Arch Pharm Res	30	444 - 452	2007