

可の条件を設定するよう規定している。認可を受けた者が下流の水道水源に悪影響を及ぼす可能性のある事象を非意図的に発生させた場合、下流の浄水場の管理者に通報するようにすることを求めている。この部分は 25 人以上に給水する水道に影響を及ぼす可能性が有る場合に適用される。

ニュージーランドでは、Regional Council が今回導入された National Environmental Standard(NES)が水道水源の保護に不十分であると考えられる場合は、Resource Management Act に拠りさらに厳しい規則の導入が可能としている。

(11) その他、環境、化学物質（農薬を含む）に関する規制など

Pesticides (Vertebrate Pest Control) Regulation 1983 では、特定された水源域での Controlled Pesticides の使用が規制されている。また空中散布についても規制されている。

1. 11 スイス

(1) はじめに

水道に関係するスイスの主な連邦政府機関は、環境交通郵政省と内務省である。連邦政府による飲料水に関する基本法として食品法 (Bundesgesetz über Lebensmittel und Gebrauchsgegenstände (Lebensmittelgesetz); LMG) があり、これに基づいて食品日用品規程 (Lebensmittel- und Gebrauchsgegenständeverordnung ; LGV) が定められている。飲料水は、食品日用品規程の中で、湧水及びミネラルウォーターとともに食品の一種として取り扱われている。また、水源保護に関しては水源保護法 (Bundesgesetz über den Schutz der Gewässer; GSchG) があり、これに基づいて水源保護規程 (Gewässerschutzverordnung; GSchV)

が定められている。

なお、スイスにおける水道水の年間供給量は 10 億 8,500 万 m³ で、その内訳は、工業用・営業用が 14.6%、家庭用及び小規模営業用が 65.7%、公共用が 5.3%、水道事業者用が 2.6%、漏水が 11.8%である。また、一人一日当たりの家事用水消費量は 162L である¹⁾。水源の内訳は、地下水が 83% (およそ半量の 43.8%が湧水、残りの 39.2%が井戸水) で、残り 17%は湖沼水である。浄水処理に関しては、浄水処理なしが 38%、単段処理が 33%および複数段処理が 29%である (以上、2003 年データ。文献 1 による)。

(2) 水道水質基準

食品日用品規程に基づく連邦異物添加物規程 (Verordnung des EDI über Fremd- und Inhaltsstoffe in Lebensmitteln (Fremd- und Inhaltsstoffverordnung); FIV) により、飲料水の水質基準が定められている。水質基準値には、健康影響の観点からの限界値 (Grenzwert) と、それ以外の観点からの耐容値 (Toleranzwert) がある。

(3) 消毒

消毒について特に義務付けはされていない。消毒を行っている場合につき、浄水場出口において、遊離塩素<0.1mg/L、二酸化塩素<0.05mg/L、オゾン<0.05mg/L、クロロミン<0.2mg/Lが定められている。

(4) 残留塩素保持

特に定められていない。

(5) 水道水源保護区域の指定又は集水域における立地・土地利用規制

ドイツ等の場合と同様に、水源保護区域の指定による土地利用規制が行われている。

参考文献

1)

<http://www.bafu.admin.ch/wasssernutzungen/02792/02796/02798/index.html?lang=de>

1. 1.2 アメリカ合衆国

インターネットによる調査及び WATERWEEK (AWWA 発行)・「水道技術ジャーナル」(JWRC 発行)等から情報を収集した。

(1) 概要

アメリカにおける水道水質管理制度等の大きな特徴は、連邦あるいは政府機関が法律、基準等を定めるが、定められたものは最低限のゆるい基準である。州ないし地方自治体が独自の判断で更に厳しい基準を設けている例がある。それで、州ないし地方自治体で基準が異なる。水利権は州の水利権管理委員会が管理し、水道事業者は水利権使用の対価として年間使用料を支払う。財団規格の水道用薬品の使用が義務付けされている。

水道事業には主に3種の規制(水質、水量、価格)がかけられている。

(2) 水質規制

連邦法の飲料水安全法(Safe Drinking Water Act SDWA)が基本であり、それに基づきアメリカ環境保護庁(US Environment Protection Agency EPA)が水質基準を定めている。実際の規制活動は、各州の州飲料水監督庁(Primacy Agency)が行う。この他に州健康衛生局、郡水資源局と協力している例もある。

水道水質基準として第1種飲料水規則 National Primary Drinking Water Regulations(健康に関する項目で法的拘束力にある最大許容濃度 MCL と、公衆衛生上維持することが望ましいとされる目標最大許容濃度 MCLG がある。)及び第2種飲料水規則 National Secondary Drinking Water Regulations(感覚的性状

や美容上の影響がある項目で目標値として第2種最大許容濃度 SMCL がある。)がある。

注1:SDWAには水道水質基準の設定のほか未規制の病原生物、規制物質候補リストの化学物質及び消毒副生成物の研究、配水システムでの水質維持、水道水源の保護が含まれる。

注2:EPAの組織として研究開発局(総合的な研究計画を作成・実施)、水局(office of waterの規制的活動)、地方局(地方水道の規制的活動)がある。EPAは水道水長期計画を見直し、施設の老朽化と水源保護に重点を置く。また、水道水の汚染物質の管理として、浄水データベースを2007年に稼動した。

(3) 水量規制

州が主体になり、州法と州高裁の判例から水量規制を行うので、州により若干異なる。

水利権法(Water Law)がある。この法律には利水が中心で、地表水や地下水の利用、環境保全のための排水基準も含まれる。水道事業者は州の水利権管理委員会から水利権を獲得し、その対価として年間使用料を支払う。連邦は州間や他国間(カナダ、メキシコ)との利害調整を行う。

(4) 価格規制

公営水道に議会が関係するので規制なし。民営または官民共同の水道には州の公営事業委員会が経済的規制をしている。2000年時点で85%が公営、15%が民営である。公営水道事業は約24,000で、主に地方自治体、水道委員会の所有である。

(5) 表流水の水質規制

連邦法の水質浄化法(Clean Water Act 1972年制定)が基本である。

CWAの内容は、①水質管理(水の用途、数値と記述式の基準、モニタリング、評価、許容負荷量の計算等) ②下水道整備に対

する補助金制度 ③全国汚濁物質排出削減制度 (National Pollutant Discharge Elimination System NPDES) により、5万以上の排出者 (5万m³/日あるいは全米で事業場数が5万か所か不明) に対して排出許可書を発行する等である。

EPA が全国にわたり規制、政策、指導、CWA の施行をし、そのための資金を確保している。施策の大部分は州または地方レベルで執行する。(例 アトランタのヌーズ川について EPA 第4地方局が水管理計画を作成し、実施した。窒素の水質取引で1997年から2003年の間に30%削減できた。)

流域グループがあり、地方自治体、大学、企業、市民グループと協力して活動している。地方レベルでは、市民が流域管理に参加し、非常に精力的に活動をしている。連邦は技術レベルのトレーニングを行って、流域管理を支援している。排出規制は連邦レベルと州レベルがある。

(6) EPA による水道水長期計画

水道施設の老朽化等に対応するため、持続可能な基盤施設戦略として「水道システムのリスクアセスメント・リスクマネジメントー社会資本推進計画ー」を作成した。4つの柱と4つの横断的なテーマで、公衆衛生の向上、環境の保全、経済発展を目指す。

(7) 薬品

多くの州で水道用薬品は米国衛生財団規格 National Sanitation Foundation International NSF に適合するもの (規格番号 ANSI/NSF 60) を使用することが義務付けられている。

2. 水道における次亜塩素酸ナトリウム溶液の適切な管理に関する研究

大規模水道事業体の調査結果を集計したものを表-1に示し、中小規模水道事業体を表-2に示す。

表-1 大規模水道事業体の状況 (2007.6.11~10.24)

n=22 大規模 水道事業体	次亜塩素酸ナトリウム(薬品)					水道水(浄水)					年間 配水量 (m ³ /日 換算)
	購入 サイクル (日間)	有効塩素 (wt%)	塩素酸 (mg/kg)	臭素酸 (mg/kg)	比重	年間 使用量 (L/日 換算)	塩素 注入率 (ppm)	残留塩素 (mg/L)	塩素酸 (mg/L)	臭素酸 (mg/L)	
最大値	60	13.3	8,922	74	1.15	13104.1	4.2	0.97	0.17	0.004	1,181,900
最小値	2	11.0	511	3	1.11	217.0	0.9	0.40	0.01	0.000	30,190
平均値	12	12.2	4,473	19	1.13	3418.4	1.7	0.77	0.08	0.001	274,338

表-2 中小規模水道事業体の状況 (2007.8.24~9.6)

n=10 中小規模 水道事業体	次亜塩素酸ナトリウム(薬品)					水道水(浄水)					年間 配水量 (m ³ /日 換算)
	購入 サイクル (日間)	有効塩素 (wt%)	塩素酸 (mg/kg)	臭素酸 (mg/kg)	比重	年間 使用量 (L/日 換算)	塩素 注入率 計算値 (ppm)	残留塩素 (mg/L)	塩素酸 (mg/L)	臭素酸 (mg/L)	
最大値	280	12.6	25,000	37	—	234.6	29.0	0.52	1.10	0.005	14,458
最小値	14	7.1	3,700	3	—	1.0	0.3	0.02	0.08	0.000	100
平均値	79	10.0	13,910	18	—	49.5	4.9	0.31	0.35	0.001	3,863

2. 1 次亜塩素酸ナトリウムの管理状況

大規模水道事業体については、購入サイクルが60~2日(平均12日)であったが、30日を超えていたのは1箇所のみで、次亜塩素酸ナトリウムの使用量は、年間値を日平均に換算してみると13,104~217 L/日(平均3,418 L/日)であった。保管中の次亜塩素酸ナトリウムの有効塩素は13.3~11.0%(平均12.2%)で、購入仕様を下回っていたのは7箇所、3割が該当した。塩素酸は8,922~511 mg/kg(平均4,473 mg/kg)、臭素酸が74~3 mg/kg(平均19 mg/kg)であった。購入サイクルと有効塩素濃度との関係を図-1に示す。なお、次亜塩素酸ナトリウムの保管にあたり温度管理を行っていたのは11箇所(25~20℃以下)、5割で、いわゆる暖かい地方に概ね集中していたが、2箇所で購入仕様を下回っていた。

一方、中小規模水道事業体は、購入サイクルが280~14日(平均79日)で、30日を超えていたのは6箇所と半数であり、使用量は日平均換算235~1 L/日(平均50 L/日)

であった。保管中の次亜塩素酸ナトリウムの有効塩素は12.6~7.1%(平均10.0%)で、購入仕様を下回っていたのは7箇所、7割が該当した。塩素酸は25,000~3,700 mg/kg(平均13,910 mg/kg)、臭素酸が37~3 mg/kg(平均18 mg/kg)であった。購入サイクルと有効塩素濃度との関係を図-2に示す。なお、次亜塩素酸ナトリウムの保管温度の管理を行っていたのは1箇所(20℃以下)で、ほとんどが行われていなかった。

全体を通して、保管中の次亜塩素酸ナトリウムの中には、有効塩素濃度が購入仕様を下回っているものが多々みられた。中小規模水道事業体は大規模水道事業体よりも、次亜塩素酸ナトリウムの購入サイクルが長く、有効塩素濃度が低く、塩素酸濃度が高い傾向を示している。有効塩素濃度と塩素酸濃度は、納入品質や保管温度の影響を受けるものの、次亜塩素酸ナトリウムの購入サイクル、すなわち、保管日数に影響されるところが大きい。

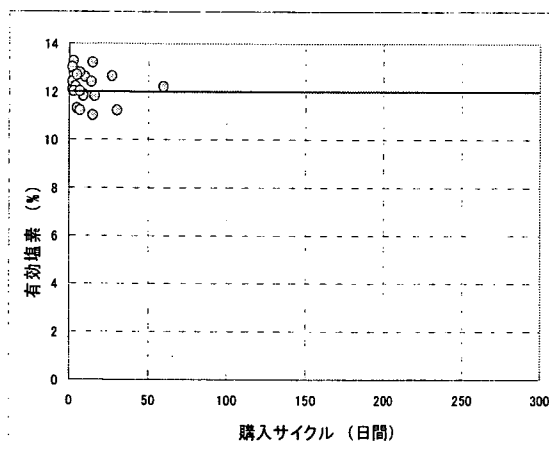


図-1 購入サイクルと有効塩素濃度との関係 (大規模)

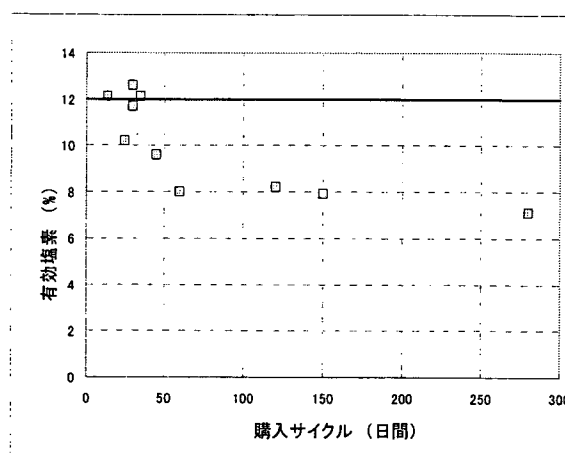


図-2 購入サイクルと有効塩素濃度との関係 (中小規模)

このことは、中小規模水道事業体は、次亜塩素酸ナトリウムの使用量が少なく、保管のしやすさと購入のしにくさも要因になっている。一方、臭素酸は保管による影響を受けないため、大規模水道事業体と中小規模水道事業体とで差がない。

2. 2 次亜塩素酸ナトリウムの状況（有効塩素濃度と塩素酸濃度との関係）

大規模水道事業体の次亜塩素酸ナトリウムの状況を図-3に示し、中小規模水道事業体を図-4に示す。

大規模水道事業体の次亜塩素酸ナトリウムの状況は、有効塩素が13.3~11.0%で、一部を除くと有効塩素12%付近の基準直線（注：有効塩素濃度の減少と塩素酸濃度の上昇との標準的な関係を表す直線）付近に集中(平均12.2%)していた。しかし、有効塩素濃度が購入仕様を下回っていたもの、それに伴うように塩素酸濃度が上昇してい

たものもみられた。有効塩素濃度が最も低かったものは11.0%で、その塩素酸は4,891 mg/kgであった。この次亜塩素酸ナトリウムは、仮に、納入時の有効塩素が12.5%とすると、塩素酸は380 mg/kgと推測できかなり良質のものか、若しくは、納入時において既に有効塩素濃度が仕様を下回っていた可能性がある。一方、塩素酸濃度が最も高かったものは8,922 mg/kgで、その有効塩素は11.3%であり、次亜塩素酸ナトリウムが分解し、塩素酸が生成したものと推察される。

中小規模水道事業体の次亜塩素酸ナトリウムの状況は、有効塩素が12.6~7.1%と、状態の良いものから、長期間保管によって劣化し有効塩素濃度が半減したものと様々であった。それに伴い、塩素酸も3,700~25,000 mg/kgとなっていたものの、ほぼ基準直線上にある。

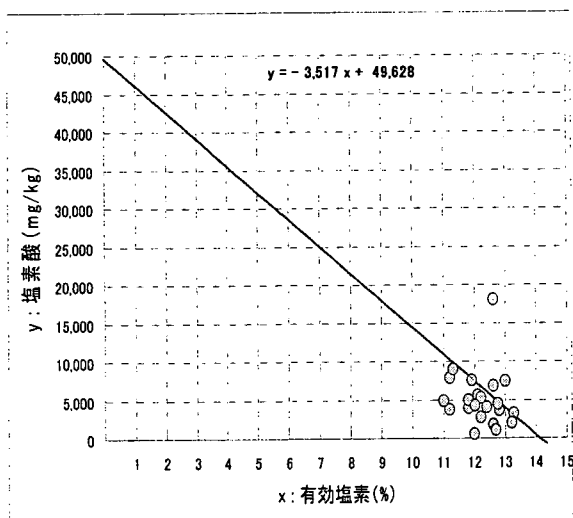


図-3 有効塩素濃度と塩素酸濃度との関係
(大規模)

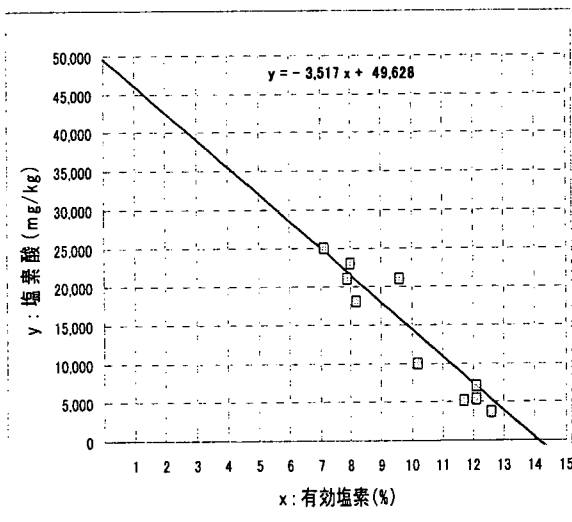


図-4 有効塩素濃度と塩素酸濃度との関係
(中小規模)

いずれの調査結果を見ても、購入仕様が有効塩素12%以上の次亜塩素酸ナトリウムは、基準直線上にのるものといえ、有効塩素濃度と塩素酸濃度との関係は $y =$

$-3.517x + 49,628$ で表わされる。今回の調査の中で、この関係を著しく逸脱したものがあったが、確認したところ、塩素

酸の値が一桁間違っていることが判明した事例(図-3 ○印)もある。

なお、購入仕様が有効塩素 12 %以上の次亜塩素酸ナトリウムは、希釈されても基準直線を原点(0,0)に向けて平行移動(傾きが同一の関係)させたものと同一になる。すなわち、有効塩素の分解と塩素酸の生成は、初期の有効塩素濃度や分解の過程にかかわらず、全て同様の関係にあることが既調査結果で明らかになっている。

2. 3 浄水水質の状況

大規模水道事業体の残留塩素は 0.97~0.40 mg/L(平均 0.77 mg/L)、塩素酸は 0.17~0.01 mg/L(平均 0.08 mg/L)、臭素酸は 0.004~0.000 mg/L(平均 0.001 mg/L)で、水質基準等を逸脱したものはなかった。

また、中小規模水道事業体は、残留塩素は 0.52~0.02 mg/L(平均 0.31 mg/L)、塩素

酸は 1.10~0.08 mg/L(平均 0.35 mg/L)、臭素酸は 0.005~0.000 mg/L(平均 0.001 mg/L)で、残留塩素と塩素酸とに基準等を逸脱しているものがあつた。

以下、項目別に示す。

2. 3. 1 塩素注入率(図-5及び6参照)

大規模水道事業体の塩素注入率は、4.2~0.9 ppm(平均 1.7 ppm)で、表流水を水源とする大きな都市・県における代表的な値といえる。

中小規模水道事業体は 29.0~0.3 ppm(平均 4.9 ppm)と大きな幅となつた。今回の調査では、地下水のアンモニア態窒素の影響を受ける2箇所が 10 ppm以上の注入率となつていたが、この2箇所を除くと塩素注入率は 2.8~0.3 ppm(平均 1.2 ppm)となり、塩素消費量の少ない比較的良好な水源といえる。

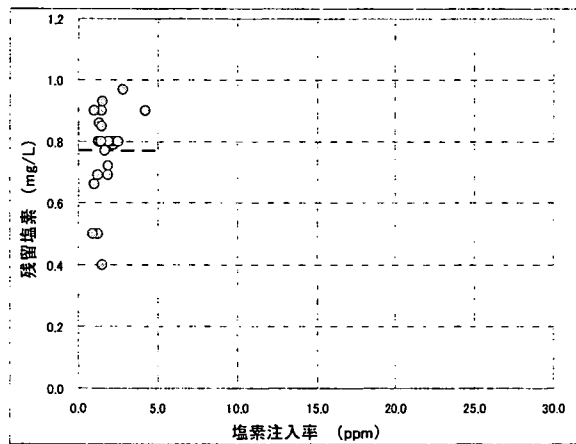


図-5 塩素注入率と残留塩素(大規模)

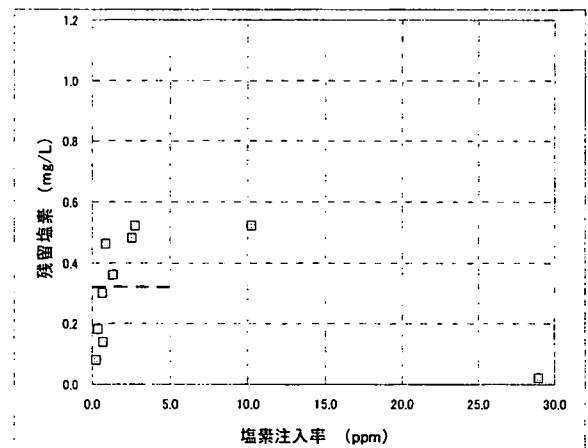


図-6 塩素注入率と残留塩素(中小規模)

2. 3. 2 浄水残留塩素(図-5及び6参照)

大規模水道事業体の浄水残留塩素は、0.97~0.40 mg/L(平均 0.77 mg/L)で、給水栓末端での残留塩素 0.1 mg/L以上を保持するための濃度といえる。水質管理目標設定項目の残留塩素の目標値(1.0 mg/L程度以下)を超えるものはなかった。

中小規模水道事業体は、0.52~0.02 mg/L(平均 0.31 mg/L)で、浄水の段階で 0.1 mg/Lを下回っているのは2箇所であつた。最低値の 0.02 mg/Lを示したのは塩素注入率が最大の事業体である。もう一箇所は 0.08 mg/Lで、塩素注入率が 0.3 ppmと今回の調査で最小注入、かつ最大購入サイクル(280日)の事業体であつた。どちらも

次亜塩素酸ナトリウム制御の難しさを物語っている。この2箇所を除くと、塩素注入率に比例して残留塩素が高くなるという単純な事象である。

2. 3. 3 浄水塩素酸

浄水中の塩素酸濃度は、消毒剤等として用いられる次亜塩素酸ナトリウム中の塩素酸によるところが大きい。このことは、次亜塩素酸ナトリウムの注入量(率)と、次亜塩素酸ナトリウム中の塩素酸含有量とが影響するといつてよい。しかし、次亜塩素酸ナトリウムは分解して塩素酸を生成することから、浄水塩素酸濃度は次亜塩素酸ナトリウムの分解と塩素酸の生成、更には、次亜塩素酸ナトリウム注入量の増と相まって相乗効果的に増加する。

大規模水道事業体における塩素注入率と浄水塩素酸濃度との関係を図-7に、次亜塩素酸ナトリウムの塩素酸含有量と浄水塩素酸濃度との関係を図-8に示す。両図ともに塩素注入率や塩素酸含有量の影響を受けやや右上がりにみえる。

いずれにせよ、浄水中の塩素酸は0.17~0.01 mg/L(平均0.08 mg/L)で、最大でも新たに設定される水質基準値の1/3以下、薬品基準値の1/2以下で問題になるような値ではない。

中小模水道事業体における塩素注入率と浄水塩素酸濃度との関係を図-9に示す。塩素酸は1.10~0.08 mg/L(平均0.35 mg/L)で、新たに設定される水質基準値(0.6mg/L以下)を超えていたのは2箇所、値は1.10 mg/Lと0.96 mg/Lであり、いずれも塩素の注入率(年平均)が10.3及び29.0 ppmと高く、これが大きく影響している。図は、塩素注入率の影響を大きく受け右上がりである。この2箇所を除くと塩素酸は0.49~0.08 mg/L(平均0.18 mg/L)となる。この塩素注入率と浄水塩素酸濃度との関係を図-10に、塩素酸含有量と浄水塩素酸濃度との関係を図3-3.5に示す。大規模水道事業体と比べると、塩素注入率が低い割に塩素酸濃度が高く、塩素酸含有量の影響が大きいことがわかる。

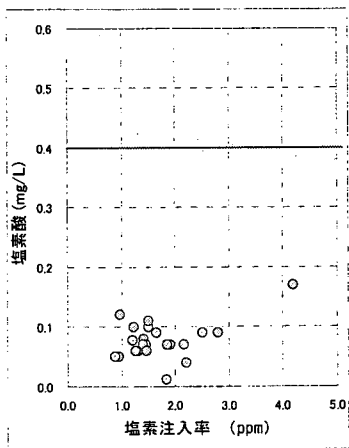


図-7 塩素注入率と浄水塩素酸
(大規模)

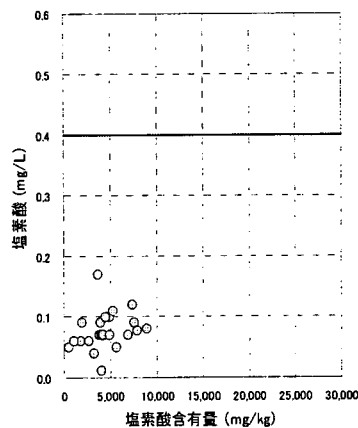


図-8 塩素酸含有量と浄水塩素酸
(大規模)

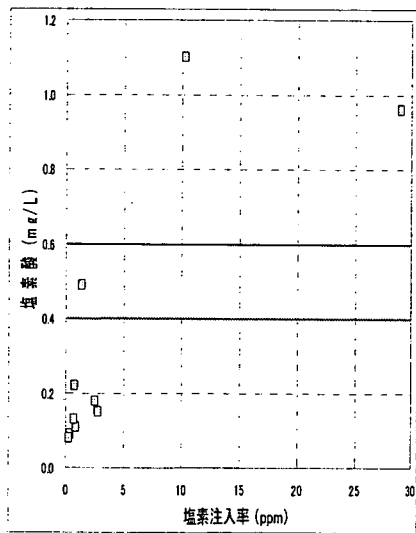


図-9 塩素注入率と浄水
塩素酸（中小規模全て）

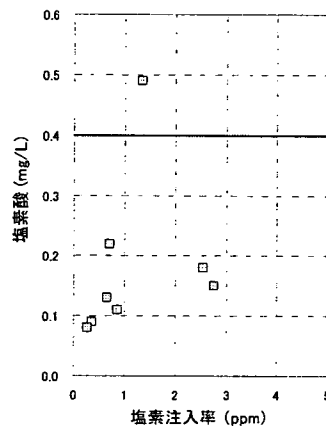


図-10 塩素注入率と浄水
塩素酸（中小規模2箇所抜き）

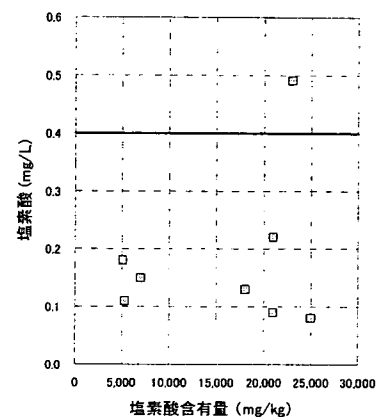


図-11 塩素酸含有量と浄水
塩素酸（中小規模2箇所抜き）

これらのことから、次亜塩素酸ナトリウム中の塩素酸含有量の少ないものを購入すること、次亜塩素酸ナトリウムの分解を抑えること等が浄水中的塩素酸濃度を抑えるための重要な要素といえる。

なお、塩素注入率が極めて高い場合は別途対策を講じる必要がある。

また、次亜塩素酸ナトリウムの注入にあたっては、塩素最大注入率と保管日数・温度の関係（注：保管日数と保管温度に応じて有効塩素濃度が減少するとともに、塩素酸濃度が上昇するので、水道水の塩素酸濃度を基準値以下に抑えるためには、次亜塩素酸ナトリウムの注入率がある一定レベルを超えないように制御する必要がある。）を理解するとともに、自らの浄水処理における塩素の最大注入率を掌握し、次亜塩素酸ナトリウムの購入・保管等の管理を的確に行う必要がある。

2. 3. 4 浄水塩素酸の推定

浄水塩素酸濃度と、次亜塩素酸ナトリウム注入からの計算による推定塩素酸濃度と

の関係を図-12、図-13に示す。大規模水道事業体は次亜塩素酸ナトリウム実注入率から算出し、中小規模水道事業体は年間の次亜塩素酸ナトリウムの注入量と配水量から算出した。

大規模水道事業体の実測値と推定値との関係は、ややバラつきがあった。バラつきが生じた要因として、塩素要求量が時間変動し、次亜塩素酸ナトリウムの注入率もバラついた可能性が考えられる。すなわち、タイムラグによるものと推察される。

一方、中小規模水道事業体は、ほとんどバラつきがなく一致している。次亜塩素酸ナトリウムの注入率が一定していることが推察できる。

通常の浄水処理における浄水塩素酸濃度は、次亜塩素酸ナトリウムの状態及び注入率とから計算によって推察できることが確認された。

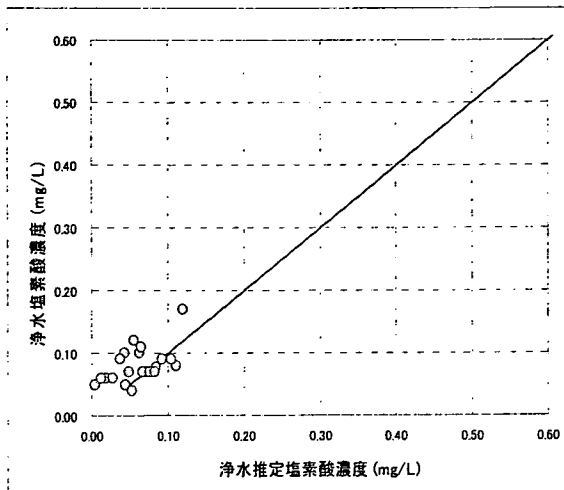


図-1 2 塩素酸濃度の推定と実測（大規模）

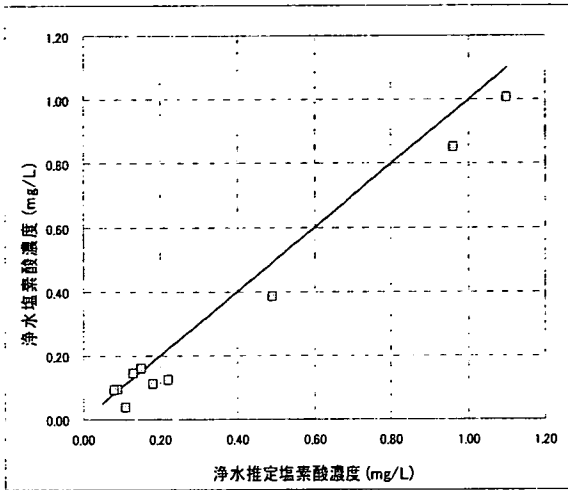


図-1 3 塩素酸濃度の推定と実測（中小規模）

3-5 臭素酸

浄水臭素酸濃度も、次亜塩素酸ナトリウムの注入量と含有量に影響される。しかし、臭素酸は保管によって変化しないため、次亜塩素酸ナトリウムが分解した場合、有効塩素濃度の低下分だけが次亜塩素酸ナトリウムの注入量が増え、その分だけ臭素酸濃度も単純に増加することになる。

浄水臭素酸濃度と、次亜塩素酸ナトリウム中の臭素酸との関係を図-1 4、図-1 5に示す。今回の調査では、塩素注入率の最大が 29ppm であるにもかかわらず、臭素酸の水質基準値 (0.01 mg/L 以下) 及び薬品基準 (0.005 mg/L 以下) を超えた箇所はなかった。

次亜塩素酸ナトリウムの臭素酸含有量は 74~3 mg/kg であったが、最大の 74 mg/kg を除くと、他は概ね 40 mg/kg 以下であった。次亜塩素酸ナトリウム中の臭素酸を低減する技術は、既に多くの製造業者は保有しており、次亜塩素酸ナトリウム注入に伴う浄水臭素酸濃度の更なる低下は可能と考える。

D. 結論

諸外国の水道水質管理制度等につき、ウェブサイト掲載情報のインターネットによる検索を中心に、関連情報を収集・整理した。来年度以降に本格的な調査を行う予定であるが、水道水源の保全に関しては、英国、ドイツ、韓国、ニュージーランド、スイス等、多くの国においてわが国に比べてより踏み込んだ規制的措置が取られていることが示された。今後、関連情報の収集・整理を継続して行うとともに、特に参考とすべき制度については、背景、歴史的経緯、規制内容、違反時の罰則規程、運用状況、波及効果等をできるだけ詳細に調査する予定である。

水道における次亜塩素酸ナトリウム溶液の管理は、大規模事業者ではほぼ良好であったが、中小規模事業者では改善を要する事例がいくつか認められた。次亜塩素酸ナトリウム溶液の有効塩素濃度の減少は保管日数の影響を受けることから、特に購入サイクルが長い事業者においては、有効塩素濃度が購入仕様 (12%以上) を下回っている場合が多々あった。また、浄水中の塩

素酸濃度は、新たに設定される水質基準値 (0.6 mg/L 以下) を 2 箇所が超えていた。

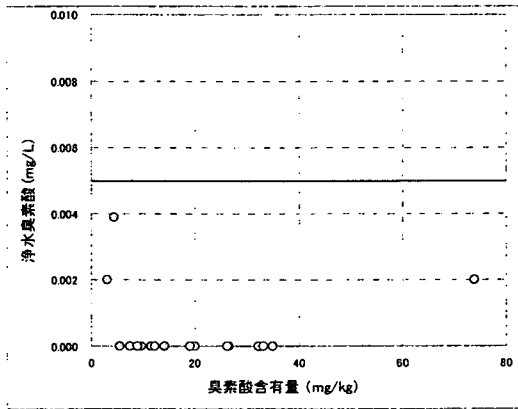


図-14 臭素酸含有量と浄水臭素酸 (大規模)

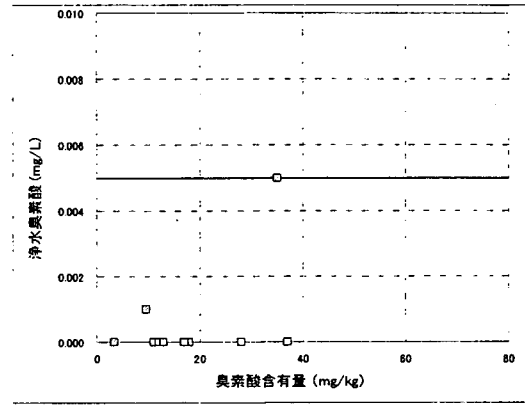


図-15 臭素酸含有量と浄水臭素酸 (中小規模)

いずれの場合も塩素注入率の高さが影響しており、何らかの対策を講じる必要があると考えられた。次亜塩素酸ナトリウム溶液の保管にあたり温度管理を実施しているところは、大規模事業者では 11 箇所 (5 割)、中小規模事業者では 1 箇所 (1 割) にしか過ぎず、管理方法に関する適切な情報が不足していることが一因と推察される。次亜塩素酸ナトリウム溶液の購入にあたっては、注入実態を考慮して不純物の少ないものを選択すること、保管にあ

っては分解を極力抑制するため高温にならない工夫をすることなど、幅広い情報の提供が必要である。

E. 研究発表

なし

F. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

なし

分担研究報告書

「飲料水の水質リスク管理に関する統合的研究」

—リスク評価分科会—

分担研究者	江馬 眞	国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室 室長
分担研究者	長谷川 隆一	国立医薬品食品衛生研究所・医薬安全科学部 部長
分担研究者	広瀬 明彦	国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室 主任研究官

研究の要旨

最新のリスク評価のための毒性情報収集及び安全性評価に関する研究を行った。本年度は、近年その環境汚染濃度の上昇が懸念されている perfluorooctanoic acid (PFOA) 及び perfluorooctane sulfonate (PFOS) の毒性情報収集・整理を行うとともに、WHO において新たに評価対象物質として選択された nitrobenzene について水道水質基準策定の観点から安全性評価手法を検討した。PFOA 及び PFOS については多くの毒性情報を入手することが出来た。ラットを用いた反復投与毒性試験では主に肝臓への影響が報告された。両物質共にペルオキシソーム増殖作用を示すことが知られているが、PPAR α 欠損型マウスやサルを用いた試験の結果から PPAR α を介さないメカニズムの関与が示唆されている。生殖発生毒性に関しては、ラット及びマウスにおいて、外表・内臓奇形、骨格変異、児の生存率低下等が報告されている。ラットを用いた発がん性試験では、PFOA は肝臓、膵臓及び精巣に、PFOS は肝臓及び甲状腺に腫瘍性病変を引き起こすことが明らかになっており、非遺伝毒性メカニズムが関与していると考えられた。Nitrobenzene の毒性評価では、一般毒性及び生殖発生毒性指標の評価をベンチマークドーズ(BMD)手法を用いて行った。一般毒性指標についてはラットを用いた吸入発がん性試験で観察された肝臓病変(塩基性病巣及び海綿状変性)に BMD 手法を適用した結果、BMDL は 1.1 mg/kg/day となり、用量反応性を加味した無毒性量相当値を得ることができた。生殖発生毒性指標については、最も感受性の高い影響(ラット: 新生児の体重低値)について NOAEL が求まっていなかったため、連続値に関する BMD モデルを適用した結果、BMDL は 27 mg/kg/day となり、BMD 手法の有用性が示された。

A. 研究目的

我が国では、平成 15 年に水道水質基準の改訂が行われたが、その後も、食品安全委員会での清涼飲料水規格基準の改正など、水質基準項目に相当する化学物質の健康影響評価が行われている。WHO でも、飲料水水質ガイドライン第 3 版の刊行(2003 年)以後、いくつかの物質について逐次改訂作業(ローリングリビジョン)を行っている。本研究では、これらの評価情報を基本として、さらなる最新知見の収集及び整理を行い、水道水質基準策定の観点

から必要なリスク評価手法の検証を試みる。また、社会的に問題となっている内分泌攪乱物質や環境汚染が問題となっている物質について、毒性情報などを収集し、水質基準策定への適用性などを検討する。

本年度は、近年その環境汚染濃度の上昇が懸念されている perfluorooctanoic acid (PFOA) 及び perfluorooctane sulfonate (PFOS) の毒性情報収集・整理を行うとともに、WHO において新たに評価対象物質として選択された nitrobenzene について水

道水質基準のための健康影響評価値設定の観点から安全性評価手法を検討した。

B. 研究方法

(1) PFOA 及び PFOS の毒性情報収集・整理

近年その環境汚染濃度の上昇が懸念されている PFOA 及び PFOS の毒性情報の収集及び整理を行い、水質基準策定への適用性などを検討した。Medline 及び Toxline を用いて関連文献の検索を行い、さらに、UK COT (2006), US EPA (2005) 及び OECD (2002) の評価文書を基に未公表情報も参考とした。

(2) Nitrobenzene の安全性評価手法の検討

Nitrobenzene の安全性評価のうち、長期暴露による一般毒性 (非発がん性) 指標の評価及び生殖・発生毒性の評価を行った。通常、化学物質の安全性評価では、NOAEL を不確実係数 (Uncertainty Factor; UF) で除して耐容一日摂取量 (Tolerable Daily Intake; TDI) を求めるが、NOAEL は毒性試験で設定した投与量の 1 つであり、NOAEL を用いた評価では、用量反応性やデータのバラツキなどの統計学的要素が考慮されていない。そこで、Crump (1984) が提言したベンチマークドース (Benchmark Dose; BMD) を用いて、BMD Lower-bound Confidence Limit (BMDL) の算出を試みた。モデル選択の際には、Akaike's Information Criteria (AIC) の最も小さい値を中心に反応率 10% 付近の適合性を目視評価し、95% 信頼限界、10% 反応率の BMDL を求めた。

C. 研究結果

(1) PFOA 及び PFOS の毒性情報収集・整理

Perfluorooctanoic acid (PFOA)

急性毒性

Ammonium perfluorooctanoate (APFO; 容易に加水分解され PFOA となる) について多くの報告がある。ラット及びマウスを用いた急性経口毒性試験では、LD₅₀ はそれぞれ 540 mg/kg 及び 457 mg/kg と報告されている (Griffith et al., 1980; National Technical Information)。雄ラットを 4 時間吸入暴露させた試

験 (380~5700 mg/m³) では、すべての暴露群で死亡が見られ、LC₅₀ は 980 mg/m³ と算出された (Kennedy, 1985)。経皮 LD₅₀ は雄ラットでは 7000 mg/kg、雌ラットでは >7500 mg/kg と報告されている (Kennedy, 1985)。

反復投与毒性

雌雄の Ch-R CD ラットに 10、30、100、300、1000 ppm の APFO (雄: 0.56、1.72、5.64、17.9、63.5 mg/kg/day; 雌: 0.74、2.3、7.7、22.36、76.47 mg/kg/day) を 13 週間混餌投与した結果、300 ppm 以上の投与群の雄で体重増加抑制がみられた (Goldenthal, 1978a)。さらに、300 ppm 以上の投与群の雄及び 1000 ppm 投与群の雌において、相対肝重量の増加が認められ、雄では 100 ppm 以上の投与群で肝細胞肥大、30 ppm 以上の投与群で肝細胞壊死が観察された。

Sprague-Dawley ラットの雄に、1、10、30 及び 100 ppm の APFO (0.06、0.64、1.94、6.50 mg/kg/day) を 13 週間混餌投与した結果、100 ppm 投与群では投与 1 週間後より体重の低値が認められた (Perkins et al., 2004)。投与 4、7 及び 13 週間後に剖検を行った結果、30 ppm 以上の投与群で相対肝重量の増加が認められた。10 ppm 投与群では、投与 4 週間後のみに、これらの変化が認められた。病理組織学検査の結果、投与 4 週間後より 10 ppm 以上の投与群において肝細胞肥大が観察されたが、この変化には投与期間に依存した発現頻度及び重篤度の増加は認められなかった。体重の低値及び肝臓への影響は、8 週間の回復期間終了時には認められなかった。

雌雄のアカゲザルに 3、10、30、100 mg/kg/day の APFO を 90 日間強制経口投与した結果、30 mg/kg 以上の投与群で顔面腫脹、嘔吐、活動低下などの一般状態の変化及び体重低値が観察され、100 mg/kg 投与群では全例 (雄雌各 2 例)、30 mg/kg 投与群では雄 1/2 例及び雌 2/2 例が死亡した (Goldenthal, 1978b)。10 mg/kg 投与群では 1/4 例が食欲不振となり、顔面蒼白及び腫脹などが観察され、3 mg/kg 投与群においても、時折、軟便、下痢、嘔吐が観察された。病理組織学検査では、30 mg/kg

以上の投与群で、骨髄の細胞数低下、脾臓のリンパ濾胞萎縮、リンパ節のリンパ濾胞萎縮、副腎の慢性脂質枯渇が観察された。

雄のカニクイザルを用いた26週間経口(カプセル)投与試験(APFO: 3、10、30 mg/kg/day)では、最高用量群において、体重減少などが観察されたことから12日目に投与を中止し、投与量を20 mg/kg/dayに減量して22日目から投与を再開した(Butenhoff et al., 2002)。しかし、その後も体重が低値を示し、投与29日目に1/6匹が瀕死となったため屠殺した。この1例には肝細胞変性、壊死、空胞化などが認められた。別の3例についても、顕著な体重低下等が認められたことから、投与43~81日目に投与を中止した。26週間の投与終了時には、体重低値、血中トリグリセリドの増加、遊離トリヨードサイロニン(T3)及び総T3レベルの低下、相対肝重量の増加が認められた。3 mg/kg投与群では、投与137日目に1/4例が瀕死状態となったため、屠殺した。この1例では、相対肝重量が20/30 mg/kgと同程度に増加していたが、肝臓に病理組織学的変化は認められなかった。

生殖発生毒性

Sprague-Dawleyラットを用いた2世代試験(1、3、10、30 mg/kg/dayのAPFOを強制経口投与)では、F0世代において3 mg/kg以上の投与群の雄で体重増加抑制が認められた(Butenhoff et al., 2004a)。30 mg/kg投与群では、児の体重低値や生存率の軽度な低下、亀頭包皮分離及び陰嚢開口の軽度の遅れが認められた。F1世代では、生殖・発生パラメータに影響はみられなかった。

Sprague-Dawleyラットの妊娠6~15日目に0.05、1.5、5、150 mg/kg/dayのAPFOを強制経口投与した結果、150 mg/kg投与群において、運動失調及び体重増加抑制が観察され、3/22例が死亡した(Gortner, 1981)。150 mg/kg投与群では、胸骨分節欠損をもつ胎児の割合が増加した。同様にして妊娠Sprague-Dawleyラットに100 mg/kg/dayのAPFOを投与した試験では、胎児の外表、骨格及び内臓検査の結果には影響はみられなかった。(Staples et al., 1984)。

CD-1マウスの妊娠1~17日目に1、3、5、10、20、40 mg/kg/dayのAPFOを強制経口投与した結果、用量依存的な体重増加抑制が認められた(Lau et al., 2006)。5 mg/kg以上の投与群で全胚吸収の発現率が増加し、40 mg/kg投与群では全例で全胚吸収が認められた。20 mg/kg投与群では生存胎児数の減少及び胎児重量の低下が観察された。胎児検査の結果、尾や脚のねじれや彎曲(5 mg/kg以上)、小心症、前肢・後肢の基節骨及び上後頭骨の骨化遅延(10 mg/kg以上)、泉門の拡大、胸骨分節、尾椎、中手骨、中足骨、頭蓋冠及び舌骨の骨化遅延(20 mg/kg投与群)の発現率増加が観察された。同様にして投与を行い、自然分娩させた試験では、3 mg/kg以上の投与群で分娩遅延及び児の体重増加抑制、5 mg/kg以上の投与群で死産及び新生児死亡率の増加、眼瞼開裂の遅れが認められた。20 mg/kg投与群では、亀頭包皮分離、陰嚢開口及び発情開始時期の遅れがみられたが、一方で、1~10 mg/kg投与群では亀頭包皮分離の早期化が認められた。

New Zealandウサギの妊娠6~18日目に1.5、5、50 mg/kg/dayのPFOA(未公表資料のため投与物質の詳細不明)を強制経口投与した結果、50 mg/kg投与群で母体重増加抑制が認められ、過剰肋骨の発現率が増加した(Gortner, 1982)。

遺伝毒性

APFO及びPFOAのナトリウム塩(Na-PFOA)はネズミチフス菌及び大腸菌を用いた復帰突然変異試験(Griffith et al., 1980; Lawlor, 1995, 1996; Litton Bionetics, Inc., 1978a)、ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験(Murli, 1996d; NOTOX, 2000)において陰性結果を示した。一方、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞を用いた染色体異常試験では、代謝活性化系の非存在下では陰性結果が得られたが、代謝活性化系の存在下では細胞毒性が認められる高濃度群において染色体異常の誘発が認められた(Murli, 1996a, 1996b)。最近、ヒト肝臓がん由来のHepG2細胞を用いた試験において、PFOAが用量依存的なDNA損傷及び小核誘発作

用を示したことが報告されている (Yao et al., 2005)。マウスに APFO もしくは Na-PFOA を経口投与した *in vivo* 小核試験では小核誘発作用 (骨髄) は認められていない (Murli, 1995, 1996c)。

発がん性

雌雄の Sprague-Dawley ラットに 0, 30, 300 ppm の APFO (雄: 0, 1.3, 14.2 mg/kg/day; 雌: 0, 1.6, 16.1 mg/kg/day) を 2 年間混餌投与した結果、各群の 0/50, 2/50, 7/50 例の精巣にライディッヒ細胞腺腫が観察された (Sibinski, 1987)。雄の Sprague-Dawley ラットに 300 ppm の APFO (13.6 mg/kg/day) を 2 年間混餌投与した試験では、肝細胞腺腫 (発現率: APFO 投与群 10/76, 対照群: 2/80)、精巣のライディッヒ細胞腺腫 (8/76, 0/80)、膵臓の腺房細胞腺腫 (7/76, 0/80) の増加が認められた。なお、上述の雌雄ラットを用いた 2 年間混餌試験では、肝細胞腺腫や腺房細胞腺腫は見られなかったものの、各群の雄 6/50, 2/50, 10/50 例に肝細胞がんがみられ、さらに 0/50, 5/50, 6/50 例の肝臓に過形成性結節が観察された (Sibinski, 1987)。また、保存標本の再検査により 300 ppm 投与群の膵臓に腺房細胞の過形成が認められたことが報告されている (Frame et al., 2003)。

体内動態 (トキシコキネティクス)

ラットを用いた試験において、PFOA は消化管から容易に吸収され、代謝されずに、主として尿中に排泄されることが明らかになっている (Gibson et al., 1979; Kemper, 2003; Vanden Heuvel et al., 1991)。吸収後は肝臓及び腎臓への高い分布が認められた (Gibson et al., 1980; Kemper, 2003)。血中半減期は雄で 115~277 時間、雌では 1.9~16.2 時間と顕著な性差が認められた (Gibson et al., 1979; Kemper, 2003; Kudo et al., 2002)。PFOA は腸肝循環されることが報告されており (Johnson et al., 1984)、また、尿中排泄には有機アニオントランスポーターが関与していることが明らかになっている (Hanhjarvi et al., 1982; Kudo et al., 2002)。PFOA のトキシコキネティクスには顕著な種差があることが知られており、血中半減期はウサギで約 4 時間 (Johnson, 1995)、イヌで 202~473 時間 (Hanhjarvi et al., 1988)、カニ

クイザルで 482~782 時間 (Butenhoff et al., 2004b) と報告されている。

ヒトの健康への影響

フッ素化学工場の労働者、PFOA 汚染地域の住民及び一般住民を対象とした疫学調査の報告があった (Alexander, 2001; Apelberg et al., 2007; Dupont, 2003; Emmett et al., 2006; Fei et al., 2007; Gilliland et al., 1993; Olsen et al., 1998, 2000, 2003, 2007a, 2007b; Sakr et al., 2007)。フッ素化学工場の労働者を対象とした調査では、血中 PFOA 濃度と血中コレステロール、トリグリセリド、GOT、T3 レベルの間に正の相関関係が、また、血中 HDL、遊離チロキシン (T4) レベル、総ビリルビンとの間に負の相関関係が認められたとの報告があるが、これらの関連性を否定する結果も報告されている。一方、最近、一般住民を対象にして実施された試験では、妊婦の血中や臍帯血中 PFOA 濃度と出生児の体重や頭囲長の間には負の相関関係が認められた。フッ素化学工場の退職者を対象としておよそ 5 年間に定期的に採血を行い、血清中 PFOA 濃度を測定した結果、PFOA の排出半減期は 3.8 年と実験動物に比べて長かった。

Perfluorooctane sulfonate (PFOS)

急性毒性

雌雄の CD ラットを用いた急性経口毒性試験では、雄の LD₅₀ は 233 mg/kg、雌の LD₅₀ は 271 mg/kg と報告された (Dean et al., 1978)。雌雄の Sprague Dawley ラットを PFOS (K 塩、ダスト) に 1 時間吸入暴露させた試験では、LC₅₀ は 5.2 mg/L と算出されている (Rusch et al., 1979)。

反復投与毒性

雌雄の Sprague-Dawley ラットに 30, 100, 300, 1000, 3000 ppm の PFOS (K 塩: 2, 6, 18, 60, 200 mg/kg/day) を 90 日間混餌投与した結果、300 ppm 以上の投与群の全例及び 100 ppm 投与群の雄 3/5 例、雌 2/5 例が死亡した (Goldenthal et al., 1978d)。30 及び 100 ppm 投与群では体重が低値を示した。100 ppm 投与群では赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値及び白血球数の減少、肝臓及び腎臓の相対重量の増加が認められ、30 ppm 群では雌で相対肝

重量の増加がみられた。病理組織学検査では、すべての投与群の肝臓において、肝細胞の肥大と限局性の壊死が観察されたが、この変化は雌より雄で顕著であった。

雌雄の Sprague-Dawley ラットに 0.5、2、5、20 ppm の PFOS (K 塩は、雄: 0.015~0.057、0.064~0.23、0.15~0.57、0.64~2.21 mg/kg/day、雌: 0.015~0.052、0.073~0.22、0.19~0.56、0.84~2.15 mg/kg/day) を 2 年間混餌投与した結果、雄の肝臓において、嚢胞様変性 (0.5 ppm 以上)、肝細胞肥大 (2 ppm 以上)、肝細胞の空胞化 (5 ppm 以上)、肝細胞内の好酸性顆粒や色素沈着、壊死 (20 ppm 投与群) の発現頻度の増加が認められた (Seacat et al., 2003; Thomford, 2002)。雌の肝臓では、肝細胞肥大や好酸性顆粒、色素沈着したマクロファージの浸潤 (5 ppm 以上)、肝細胞の色素沈着や壊死、リンパ組織球浸潤の発現頻度の増加が認められた (20 ppm 投与群) (腫瘍性病変については発がん性⁷の項参照)。

アカゲザル (各群雌雄 2 匹) に 0.5、1.5、4.5 mg/kg/day の PFOS (K 塩) を 90 日間強制経口投与した結果、4.5 mg/kg 投与群では、嘔吐、活動低下、痙攣等の一般状態の変化や体重の低下が観察され、投与 5~7 週目に全例が死亡もしくは瀕死状態となった (Goldenthal et al., 1978c)。これらの動物では、投与 30 日目に血清コレステロール及び ALP の低下が認められており、副腎にび漫性の脂肪枯渇、膵臓に酵素原顆粒の減少を伴う外分泌細胞のび漫性萎縮、気管支腺に漿液細胞の顆粒減少を伴うび漫性萎縮が観察された。0.5 及び 1.5 mg/kg 投与群では下痢や食欲不振などの消化器系への影響や活動低下が時折みられ、さらに 1.5 mg/kg 投与群では投与期間の終わり頃に全身性の振戦がみられた。1.5 mg/kg 投与群の雌では血清 ALP 活性及びカリウムレベルの低下がみられ、さらに、同投与群の雌 1 例では血清コレステロールの顕著な低下が認められた。

カニクイザル (各群雌雄各 4~6 匹) に 0.03、0.15、0.75 mg/kg/day の PFOS (K 塩) を 6 ヶ月間強制経口投与した結果、0.75 mg/kg 投与群では雄 1

例が投与 23 週目に死亡し、さらに、雄 1 例が投与 26 週目に瀕死状態となったため屠殺した (Seacat et al., 2002)。0.75 mg/kg 投与群の生存動物には体重増加抑制がみられ、投与終了時には血清コレステロール値及び HDL の顕著な低下がみられた。HDL の低下は 0.15 mg/kg 投与群の雌でも認められた。さらに、0.75 mg/kg 投与群の雄では血清総ビリルビン低下、血清胆汁酸濃度の増加、血清エストロジオールレベルの低下がみられた。雌雄とも、用量依存的な血清 T3 レベルの低下及び甲状腺刺激ホルモンレベルの増加が認められたが、T4 レベルに変化は見られなかった。剖検時には 0.75 mg/kg 投与群の雌雄に相対肝重量の増加が認められ、小葉中心性の空胞化、肥大及び胆汁うっ滞が観察された。1 年間の回復期間終了時には、投与終了に観察された変化は認められなかった。

生殖発生毒性

Sprague-Dawley ラットに 0.1、0.4、1.6、3.2 mg/kg/day の PFOS (K 塩) を強制経口投与した 2 世代試験では、F0 世代において、1.6 mg/kg 以上の投与群で体重低値が認められた (Luebker et al., 2005)。3.2 mg/kg 投与群では、着床数の低下、妊娠期間の短縮、出生児数及び出生児重量の低下がみられ、生後 2 日までにすべての児が死亡した。1.6 mg/kg 投与群では、出生児の体重及び生存率の低下、体重増加抑制、耳介展開、眼瞼開裂、面上及び空中正向反射の発現時期の遅延が認められた。眼瞼開裂の遅れは 0.4 mg/kg 投与群でも観察された。F1 世代 (0.1 及び 0.4 mg/kg のみ) では、0.4 mg/kg 投与群で児の軽度な体重増加抑制のみが認められた。

Sprague-Dawley ラットの妊娠 6~15 日目に 1、5、10 mg/kg/day の PFOS (K 塩) を強制経口投与した結果、10 mg/kg 投与群において妊娠 12~20 日目に母体重が低値を示し、眼の水晶体の奇形の発生頻度の増加が認められた (Gortner, 1980)。Wetzel (1983) により同様の方法で実施された催奇形性試験ではより顕著な影響が報告されている。5 mg/kg 以上の投与群では、円背位、食欲不振、血性陰排泄物などが観察され、妊娠 17 日目に 10 mg/kg 投与群の 2/25 例が死亡した。5 mg/kg 以上の投与群

では母体重増加抑制及び胎児重量の低下が認められ、10 mg/kg 投与群では口蓋裂、皮下浮腫、停留睾丸、肋骨及び胸骨分節の変異、頭蓋骨、胸帯、胸郭、脊椎、腰帯、四肢などの骨化遅延の発現頻度が増加した。なお、この試験では、Gortner (1980) により報告された目の水晶体の奇形は観察されなかった。Sprague-Dawley ラットの妊娠 2~20 日目に 1、2、3、5、10 mg/kg/day の PFOS (K 塩) を強制経口投与した結果、2 mg/kg 以上の投与群で体重増加抑制が認められた (Thibodeaux et al., 2003)。10 mg/kg 投与群では、胎児重量の低下、口蓋裂、胸骨異常及び全身性浮腫の発現頻度の増加が認められた。自然分娩させた結果、2 mg/kg 以上の投与群で児の生存率が低下し、特に 5 および 10 mg/kg 投与群では 95% 以上の児が出生日に死亡した (Lau et al., 2003)。2 および 3 mg/kg 投与群では体重が出生後 9 日まで低値を示し、眼瞼開裂の遅れがみられた。

CD-1 マウスの妊娠 1~17 日目に 1、5、10、15、20 mg/kg/day の PFOS (K 塩) を強制経口投与した結果、20 mg/kg 投与群で母体重増加抑制及び生存胎児数の低下が見られ、10 及び 15 mg/kg 投与群では胎児重量の低下が認められた (Thibodeaux et al., 2003)。さらに、5 mg/kg 以上の投与群で胸骨異常、10 mg/kg 以上の投与群で右心房肥大、15 mg/kg 以上の投与群で口蓋裂、20 mg/kg 投与群で心室中隔欠損の発生率の増加がみられた。自然分娩させたところ、10 mg/kg 以上の投与群で児の生存率が低下し、特に 15 及び 20 mg/kg 投与群では児のほとんどが出生後 24 時間以内に死亡した (Lau et al., 2003)。さらに、すべての投与群で眼瞼開裂の遅延がみられた。

New Zealand white ウサギの妊娠 7~20 日に 0.1、1、2.5、3.75 mg/kg/day の PFOS を強制経口投与した結果、2.5 mg/kg 投与群の 1/22 例及び 3.75 mg/kg 投与群の 10/22 例が妊娠 22~28 日に流産し、1 mg/kg 以上の投与群で体重増加抑制がみられた (Case et al., 2001)。2.5 mg/kg 以上の投与群では、胎児重量の低下がみられ、さらに、胸骨分節や舌骨、中手骨、恥骨に軽度な骨化遅延が観察された。

遺伝毒性

PFOS (K 塩) は、ネズミチフス菌、大腸菌及び酵母菌を用いた復帰突然変異試験 (Litton Bionetics Inc., 1978b; Mecchi, 1999)、ヒト全血培養リンパ球を用いた染色体異常試験 (Murli, 1999)、ラット肝培養細胞を用いた不定期 DNA 合成試験 (Cifone, 1999)、マウスを用いた *in vivo* 小核試験 (強制経口投与、骨髄) (Murli, 1996e) において陰性結果を示した。

発がん性

雌雄の Sprague-Dawley ラットに 0、0.5、2、5、20 ppm の PFOS (K 塩、雄: 0、0.015~0.057、0.064~0.23、0.15~0.57、0.64~2.21 mg/kg/day、雌: 0、0.015~0.052、0.073~0.22、0.19~0.56、0.84~2.15 mg/kg/day) を 2 年間混餌投与した結果、各群の雄 0/60、3/50、3/50、1/50、7/60 例、雌 0/60、1/50、1/49、1/50、5/60 例に肝細胞腺腫がみられ、さらに、雌では 20 ppm 群の 1/60 例に肝細胞がんが観察された (Seacat et al., 2003; Thomford, 2002)。甲状腺では、20 ppm 投与群の雌 1/60 例及び 5 ppm 群の雌 2/50 例に濾胞細胞腺腫が、また、5 ppm 投与群の雌 1/50 例に濾胞細胞がんが観察された。PFOS (K 塩、20 ppm) を 52 週間混餌投与した後、52 週間投与を行わずに観察を続けた回復群では、肝臓に腫瘍発生率の増加は認められなかったが、甲状腺では雄の 9/39 例に濾胞細胞腺腫、1/39 例に濾胞細胞がんが観察された。

体内動態 (トキシコキネティクス)

ラットを用いた試験の結果から、PFOS は消化管から容易に吸収され、主として尿中に排泄されると考えられている (Johnson et al., 1979a、1979b)。PFOS は腸肝循環されることが報告されており (Johnson et al., 1984)、吸収後は肝臓への高い分布が認められている (Johnson et al., 1979b)。血中半減期は、雄ラットでは 179 時間と報告されている (Johnson et al., 1979a) のに対し、カニクイザルでは 110~202 日 (Noker et al., 2003a、2003b; Seacat et al., 2002) と、顕著な種差が認められた。

ヒトの健康への影響

フッ素化学工場の労働者及び一般住民を対象とした疫学調査の報告があった (Alexander et al., 2003、

2007; Apelberg et al., 2007; Fei et al., 2007; Grice et al., 2007; Inoue et al., 2004; Olsen et al., 2003, 2004, 2007a)。フッ素化学工場の労働者を対象とした調査では、PFOS 暴露と良性大腸ポリープ、胆管障害、急性胆嚢症/胆石症、膀胱炎、尿路感染症のリスクとの関連性が示されているが、この調査では血中 PFOS 濃度測定は実施されていない。一方、血中 PFOA 濃度を測定した調査では、血中コレステロール、トリグリセリド、T3 レベル増加との関連性が示されている。最近、一般の妊婦を対象にして実施された調査では、臍帯血中 PFOA 濃度と出生児の体重や頭囲長の間に関係が認められたことが報告されている。フッ素化学工場の退職者を対象としておよそ 5 年間に定期的に採血を行い、血清中 PFOS 濃度を測定した結果、PFOS の排出半減期は 5.4 年と実験動物に比べて長かった。

(2) Nitrobenzene の安全性評価手法の検討 一般毒性 (非発がん毒性) 指標の評価

Nitrobenzene の反復投与毒性はメトヘモグロビンが関わる溶血性貧血、肝臓及び腎臓の病理組織学的変化及び精巣毒性であるが (Kawashima et al., 1995; NTP, 1983; 下ら, 1994)、経口暴露評価のための長期毒性試験はない。しかし、短期経口試験と短期・長期吸入試験の毒性発現に共通性があるため、ラットを用いた吸入暴露発がん性試験 (Cattley et al., 1994) の非発がん毒性指標を用いて経口暴露による安全性評価を行うことが出来ると判断した。Nitrobenzene のラットでの吸入暴露量を経口摂取量に変換するため、1 日の空気の吸入量を 0.29 m^3 、消化管からの吸収率を 1、体重を 350 g とした。

F-344 ラットを用いた nitrobenzene の発がん性試験の結果の中から、非発がん毒性評価指標として適切と考えられるものは、雄ラットでは肝の塩基性病巣、小葉中心性肝肥大、海綿状変性及び腎尿管細管過形成、雌ラットでは肝の塩基性病巣及び海綿状変性であった。これらの 6 つの毒性指標について US EPA の BMDS Version 1.4.1 の Dichotomous 法を用いて BMDL の算出を試みた。Gamma Multi-Hit, Probit, Log-Logistic 及び Weibull モデルを

用いたところ、AIC 及び BMDL は 4 つのモデル共にほぼ同じ値となった。Weibull による計算値を表 1 に示す。このうち、値の小さい 3 つの病変 (雄での肝障害) について用量反応曲線及び BMD、BMDL を Fig. 1, 2, 3 に示した。肝塩基性病巣に関しては実測値といくらかのズレが生じているが、いずれのモデルを用いても同様の結果であった。これらの結果から、nitrobenzene の非発がん毒性指標の BMDL は、塩基性病巣及び海綿状変性に対する BMDL から、 1.1 mg/kg/day を採用することとした。なお、表 1 には、比較のためにそれぞれの毒性指標の NOAEL を記載したが、一つの場合を除いて、いずれも BMDL の方が高い値を示した。

生殖発生毒性指標の評価

最も感受性の高い指標は、ラットを用いた OECD の反復毒性・生殖発生毒性併合試験で観察された雄児の生後 4 日目の体重減少であった (Mitsumori et al., 1994)。この変化について、Linear、Polynomial 及び Power モデルを用いて BMDL を計算した (US EPA Continuous 法)。入力データは各群の平均体重、標準偏差、及び総児数であるが、総児数については雌雄を分けた記載 (又は雌雄比) がなかったため、雌雄同数として計算した。Fig 4 には雄児の生後 4 日の体重変化に Polynomial モデルを適応させた結果を示す。表 2 に示したように、いずれのモデルを用いた場合でも、雌雄共に 30 mg/kg/day またはそれをやや切る程度であり、 30 mg/kg/day がほぼ NOAEL に相当する値であると考えられた (表 2)。

D. 考察

PFOA 及び PFOS に関しては多くの毒性情報が入手することができた。反復投与毒性に関しては、ラットにおいて PFOA については 0.64 mg/kg/day 、PFOS については 0.015 mg/kg/day という低用量から肝臓への影響が報告されている。両物質ともペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 (Peroxisome proliferator activated receptor: PPAR) α を活性化し、ペルオキシソーム増殖作用を示すことが報告されている (Berthiaume et al., 2002; Ikeda

et al., 1985; Perkins et al., 2004; Sohlenius et al., 1993; Vanden Heuvel et al., 2006) ことから、PFOA 及び PFOS の肝臓への影響は PPAR α を介したメカニズムによって引き起こされた可能性が示唆される。しかし、ラットへの PFOS の 14 週間混餌投与では、5 ppm 以上の投与群で肝臓の病理組織学変化が観察されたにもかかわらず、肝臓のペルミトイル CoA 酸化酵素活性の増加は 20 ppm 投与群でさえも認められなかった (Seacat et al., 2003)。また、PPAR α 欠損型 Sv/129 マウスに PFOA を 7 日間混餌投与した試験では、野生型マウスと同程度の肝臓重量の増加が認められたことが報告されている (Yang et al., 2002)。さらに、カンクイザルを用いた PFOA 及び PFOS の 6 ヶ月投与試験においても肝臓の病理組織変化や肝毒性を示唆する変化が観察されたこと (Butenhoff et al., 2002; Seacat et al., 2002) を考慮すると、PFOA 及び PFOS による肝毒性には PPAR α を介さないメカニズムが関与している可能性が考えられる。

ラットを用いた発がん性試験では、肝細胞腺腫に加え、PFOA は膵臓及び精巣、PFOS は甲状腺にも腫瘍性病変を引き起こすことが明らかになった。両物質共に、Ames 試験、*in vitro* 染色体異常試験及び *in vivo* 小核試験で陰性結果を示している。最近、HepG2 細胞を用いた試験において PFOA が小核誘発及び DNA 損傷を引き起こしたと報告されたが、PFOA を添加した HepG2 細胞では用量依存的な活性酸素種及び 8-ヒドロキシデオキシグアノシンの増加が認められた (Yao et al., 2005) ことから、HepG2 細胞で観察された PFOA の遺伝毒性は、細胞内の活性酸素種によって引き起こされた二次的な影響と考えられる。従って、PFOA 及び PFOS の発がん作用には非遺伝毒性メカニズムが関与していると考えられる。

PFOA の生殖発生毒性については、ラットで観察された変化は 30 mg/kg/day 投与による新生児の体重及び生存率の低下と性成熟遅延のみであったのに対し、マウスでは、全胚吸収、死産、内臓及び外表奇形、骨化遅延などが報告され、特に児の体重増加抑制は 3 mg/kg/day という低い用量から

認められた。PFOS に関しては、出生児数及び児の生存率の低下、内臓奇形、骨格変異、生後発達遅延などがラット (0.4 mg/kg/day) 及びマウス (1.0 mg/kg/day) で共通して報告されている。最近、Abbot ら (2007) は、PFOA 投与による児の生存率低下、体重増加抑制及び眼瞼開裂の遅れが PPAR α 欠損型マウスでは観察されなかったことを報告しており、マウスで観察された PFOA の生殖発生毒性をそのままヒトに外挿することは出来ないと考えられている。PFOS の生殖発生毒性についても PPAR α を介したメカニズムが関与している可能性があり、更なる検討が必要である。

Nitrobenzene の安全性評価では、ラット吸入発がん性試験における非発がん指標を解析した結果、雄ラットの肝での変化が最も感受性が高く、また用量依存性も認められた。このうち、塩基性病巣に関しては 10% 追加頻度付近の実験結果に適合したモデルは得られなかったが、海綿状変性については良く適合しており、両指標共に BMDL は 1.1 mg/kg/day となったため、この値を採用した。暴露濃度からの変換値に基づいて NOAEL を設定すれば、0.74 又は 3.70 mg/kg/day 以外の値を採用することは出来ないことから、BMD アプローチを用いることは非常に有用性が高いと考えられる。OECD 併合試験では新生児雄ラットの生後 4 日目の体重が有意に低下しており、NOAEL が求まっていなかった。そこで、連続値に関する BMD モデルを適用した結果、有意差が示された 20 mg/kg/day よりも高い値の 27 mg/kg/day が BMDL となった。文献では詳細は不明であるが、27 mg/kg/day を NOAEL 相当と判断しても問題はないようである。

以上のように、設定投与量の一つを NOAEL とするよりも BMD 手法を用いて BMDL を求めた方が TDI の算出にはより適切であると考えられる。また、実験的に NOAEL が求められなかった場合でも BMDL を求め、その適切さを示すことが出来れば、BMD 手法は結果の評価に有用な手段となる。

E. 結論

PFOA 及び PFOS については多くの毒性情報を入力することが出来た。ラットを用いた反復投与毒性試験では主に肝臓への影響が報告された。両物質共にペルオキシソーム増殖作用を示すことが知られているが、PPAR α 欠損型マウスやサルを用いた試験の結果から PPAR α を介さないメカニズムの関与が示唆されている。生殖発生毒性に関しては、ラット及びマウスにおいて、外表・内臓奇形、骨格変異、児の生存率低下等が報告されている。ラットを用いた発がん性試験では、PFOA は肝臓、膵臓及び精巣に、PFOS は肝臓及び甲状腺に腫瘍性病変を引き起こすことが明らかになっており、非遺伝毒性メカニズムが関与していると考えられた。

Nitrobenzen の安全性評価ではラットの吸入発がん性試験における非発がん指標に BMD 手法を適用した結果、雄ラット肝の塩基性病巣並びに海綿状変性について、BMDL は 1.1 mg/kg/day となり、BMD 手法の高い有用性が示された。また、OECD 併合試験における新生児雄ラットの生後 4 日目の体重減少に関して NOAEL が求まっていなかったため、連続値に関する BMD モデルを適用した結果、有意差が示された 20 mg/kg/day よりも高い値の 27 mg/kg/day が BMDL となり、この値は NOAEL 相当と判断できると考えられた。

F. 参考文献

- Abbott BD, Wolf CJ, Schmid JE, Das KP, Zehr RD, Helfant L, Nakayama S, Lindstrom AB, Strynar MJ, Lau C. (2007) Perfluorooctanoic acid induced developmental toxicity in the mouse is dependent on expression of peroxisome proliferator activated receptor-alpha. *Toxicol Sci*, **98**, 571-581.
- Alexander BH. (2001) Mortality study of workers employed at the 3M Cottage Grove facility. Final Report. Division of Environmental and Occupational Health, School of Public Health, University of Minnesota. US EPA AR226-1030a018.
- Alexander BH, Olsen GW, Burriss JM, Mandel JH, Mandel JS. (2003) Mortality of employees of a perfluorooctanesulphonyl fluoride manufacturing facility. *Occup Environ Med*, **60**, 722-729.
- Alexander BH, Olsen GW. (2007) Bladder cancer in perfluorooctanesulphonyl fluoride manufacturing workers. *Ann Epidemiol*, **17**, 471-478.
- Apelberg BJ, Witter FR, Herbstman JB, Calafat AM, Halden RU, Needham LL, Goldman LR. (2007) Cord serum concentrations of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) in relation to weight and size at birth. *Environ Health Perspect*, **115**, 1670-1676.
- Berthiaume J, Wallace KB. (2002) Perfluorooctanoate, perfluorooctanesulfonate, and N-ethyl perfluorooctanesulfonamido ethanol; peroxisome proliferation and mitochondrial biogenesis. *Toxicol Lett*, **129**, 23-32.
- Butenhoff J, Costa G, Elcombe C, Farrar D, Hansen K, Iwai H, Jung R, Kennedy G Jr, Lieder P, Olsen G, Thomford P. (2002) Toxicity of ammonium perfluorooctanoate in male cynomolgus monkeys after oral dosing for 6 months. *Toxicol Sci*, **69**, 244-257.
- Butenhoff JL, Kennedy GL Jr, Frame SR, O'Connor JC, York RG. (2004a) The reproductive toxicology of ammonium perfluorooctanoate (APFO) in the rat. *Toxicology*, **196**, 95-116.
- Butenhoff JL, Kennedy GL Jr, Hinderliter PM, Lieder PH, Jung R, Hansen KJ, Gorman GS, Noker PE, Thomford PJ. (2004b) Pharmacokinetics of perfluorooctanoate in cynomolgus monkeys. *Toxicol Sci*, **82**, 394-406.
- Case MT, York RG, Christian MS. (2001) Rat and rabbit oral developmental toxicology studies with two perfluorinated compounds. *Int J Toxicol*, **20**, 101-109.
- Cattley RC, Everitt JI, Gross EA, Moss OR, Hamm TE Jr, Popp JA (1994) Carcinogenicity and toxicity of inhaled nitrobenzene in B6C3F1 mice and F344 and CD rats. *Fundam Appl Toxicol*, **22**, 328-340.
- Cifone MA. (1999) Unscheduled DNA synthesis in rat liver primary cell cultures with PFOS. Covance study

- No. 20780-0-447. Covance Laboratories Inc. US EPA AR226-0132.
- Crump KS (1984) A new method for determining allowable daily intakes. *Fundam Appl Toxicol*, 4, 854-871.
- Dean WP, Jessup DC, Thompson G, Romig G, Powell D. (1978) Fluorad fluorochemical surfactant FC-95 acute oral toxicity (LD50) study in rats. Study No. 137-083. International Research and Development Corporation.
- Dupont. (2003) Epidemiology surveillance report: Cancer incidence for Washington works site 1959-2001. All-cause mortality for the Washington Works site 1957-2000. US EPA AR226-1307-6.
- Emmett EA, Zhang H, Shofer FS, Freeman D, Rodway NV, Desai C, Shaw LM. (2006) Community exposure to perfluorooctanoate: relationships between serum levels and certain health parameters. *J Occup Environ Med*, 48, 771-779.
- Fei C, McLaughlin JK, Tarone RE, Olsen J. (2007) Perfluorinated chemicals and fetal growth: a study within the Danish National Birth Cohort. *Environ Health Perspect*, 115, 1677-1682.
- Gibson SJ, Johnson JD. (1979) Absorption of FC-143-14C in rats after a single oral dose. Riker Laboratories, Inc., Subsidiary of 3M, St. Paul, Minnesota.
- Gibson SJ, Johnson JD. (1980) Extent and route of excretion and tissue distribution of total carbon-14 in male and female rats after a single I.V. dose of FC-143-14C. Riker Laboratories, Inc., Subsidiary of 3M, St. Paul, MN.
- Gilliland FD, Mandel JS. (1993) Mortality among employees of a perfluorooctanoic acid production plant. *J Occup Med*, 35, 950-954.
- Goldenthal EI. (1978a) Final report: Ninety day subacute rat toxicity study on Fluorad® Fluorochemical FC-143. International Research and Development Corporation, Study No. 137-089, 3M Reference No. T-3141, US EPA AR226-0441.
- Goldenthal EI. (1978b) Final report, ninety day subacute rhesus monkey toxicity study. International Research and Development Corporation, Study No. 137-090. US EPA AR226-0447.
- Goldenthal EI, Jessup DC, Geil RG, Mehring JS. (1978c) Ninety-day subacute rhesus monkey toxicity study. Study No. 137-092, International Research and Development Corporation, US EPA AR226-0137.
- Goldenthal EI, Jessup DC, Geil RG, Mehring JS. (1978d) Ninety day subacute rat toxicity study. Study No. 137-085. International Research and Development Corporation. US EPA AR226-0139, AR226-0255.
- Gortner EG. (1981) Oral teratology study of T-2998 CoC in rats. Riker Laboratories, Inc. Study No. 0681TR0110. US EPA AR-226-0463.
- Gortner EG. (1982) Oral teratology study of T-3141 CoC in rabbits. Riker Laboratories, Inc. Study No. 0681TB0398. US EPA AR-226-0465.
- Grice MM, Alexander BH, Hoffbeck R, Kampa DM. (2007) Self-reported medical conditions in perfluorooctanesulfonyl fluoride manufacturing workers. *J Occup Environ Med*, 49, 722-729.
- Griffith FD, Long JE. (1980) Animal toxicity studies with ammonium perfluorooctanoate. *Am Ind Hyg Assoc J*, 41, 576-583.
- Hanhijarvi H, Ophaug RH, Singer L. (1982) The sex-related difference in perfluorooctanoate excretion in the rat. *Proc Soc Exp Biol Med*, 171, 50-55.
- Hanhijarvi H, Ylinen M, Haaranen T, Nevalainen T. (1988) A proposed species difference in the renal excretion of perfluoro octanoic acid in the beagle dog and rat. In: Beynen, A.C. and H.A. Solleveld (Eds.): New developments in biosciences: Their implications for laboratory animal science. The third symposium of the federation of european laboratory animal science associations, Amsterdam, Netherlands. June 1-5, 1987.
- Ikeda T, Aiba K, Fukuda K, Tanaka M. (1985) The induction of peroxisome proliferation in rat liver by perfluorinated fatty acids, metabolically inert