

200941025A

厚生労働科学研究費補助金  
化学物質リスク研究事業

家庭用品に由来する化学物質の  
多経路暴露評価手法の開発に関する研究

平成 21 年度 総括・分担研究年度終了報告書

研究代表者 神野 透人

平成 22 (2010) 年 3 月

## 目 次

### I. 総括研究年度終了報告書

- 家庭用品に由来する化学物質の多経路暴露評価手法の開発に関する研究 . . . 1  
神野 透人

### II. 分担研究年度終了報告書

1. 住宅における室内空気質の調査報告（アルデヒド類、VOC、SVOC） . . . 13  
野崎 淳夫
2. 家庭用品から皮膚表面へと移行する化学物質の定量的・速度論的評価手法 . . . 33  
の開発に関する研究  
伊佐間 和郎、河上 強志
3. 肺吸入率の評価手法の開発に関する研究 . . . 55  
酒井 康行、小森 喜久夫、田中 玄弥
4. 家庭用品から溶出する化学物質の経皮吸収評価手法の開発に関する . . . 67  
研究  
杉林 堅次、藤堂 浩明、鈴木 貴雅
5. 暴露経路依存的な異物代謝予測手法の開発に関する研究 . . . 79  
埴岡 伸光、高原 佑輔、成松 鎮雄
6. 家庭用品に由来する室内環境化学物質の網羅的解析手法の開発に関する . . . 89  
研究—室内環境におけるフタル酸ジエステル類の暴露量評価  
香川（田中）聡子、神野 透人、古川 容子、大田 悠紀子
7. 家庭用品に由来する室内環境化学物質の網羅的解析手法の開発に関する . . . 109  
研究—ハウスダスト中のフタル酸モノエステル類の実態調査  
神野 透人、香川（田中）聡子、古川 容子、大田 悠紀子
8. DART-TOFMS による繊維製品中の難燃剤のスクリーニング . . . 123  
神野 透人、古川 容子、香川（田中）聡子、大田 悠紀子

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

・・・ 131

Ⅳ. 研究成果の刊行物・別刷

# I. 総括研究年度終了報告書

厚生労働科学研究費補助金 (化学物質リスク研究事業)

総括研究年度終了報告書

家庭用品に由来する化学物質の多経路暴露評価手法の開発に関する研究

研究代表者 神野 透人 国立医薬品食品衛生研究所環境衛生化学部第一室長

研究要旨: 本研究ではリスク評価の精度やスループットに決定的な影響を及ぼし得る暴露評価に関して、家庭用品に由来する化学物質の多経路 (経気道、経皮、経口) からの生体への取り込み量を適切に推定するための評価手法開発を目指すとともに、異なる経路で同一の化学物質に暴露した場合の生体影響の等価性についても異物代謝の観点から検討を行った。初年度である平成 21 年度はフタル酸エステル類 Dibutyl Phthalate (DBP)、Benzyl Butyl Phthalate (BBP) 及び Bis(2-ethylhexyl) Phthalate (DEHP) の 3 化合物を主な対象物質として研究を実施した。

その結果、25 家庭の室内空気中及びハウスダスト中のフタル酸エステル類濃度の実態調査から、空気中の DEHP はほぼ全量が粒子状として存在すること、並びにハウスダストを介した DEHP の経口暴露量は食物及び飲料水からの暴露量の約 80% に匹敵する可能性があることを明らかにした。また、リフォーム後に居住者が体調不良を来した家屋の壁装材の小形チャンバー試験からも DBP や DEHP 等 SVOCs の放散を確認した。さらに、ハウスダスト中にはフタル酸エステル類の加水分解により生じる活性代謝物であるモノエステル体が存在することを初めて明らかにした。放散や溶出による家庭用品から室内環境媒体への化学物質移行性の評価手法の開発では、家庭用品を想定した PVC シートを皮膚に直接接触させた場合のフタル酸エステル類の移行を解析し、皮脂等の皮膚状態が重要な要因となることを示唆する結果を得た。また、家庭用品の表面に存在する化学物質を同定するためのスクリーニング法として DART-TOFMS の有用性を明らかにした。一方、暴露経路依存的な化学物質の生体への取込特性の評価手法の開発では、半透膜型培養器を用いるヒト II 型肺胞上皮細胞株の培養系を確立し、BBP の上皮障害性及び透過量の評価を行った。また、ハウスダストを介する経気道暴露モデルとしてシリカ粒子の適用可能性を明らかにした。また、経皮暴露モデルとして Side-by-Side 型拡散セルで DBP の皮膚透過性を検討し、DBP は速やかに加水分解されモノエステル体 (MBP) として皮膚を透過すること、皮膚透過係数から MBP は皮膚内貯留による局所作用と経皮吸収による全身作用を併せ持つ化合物群に分類されることを明らかにした。さらに、フタル酸エステル類の代謝 (加水分解反応) の評価系としてヒトカルボキシルエステラーゼの哺乳動物細胞発現系を確立し、その機能発現を確認した。

これら一連の研究成果により、化学物質の多経路暴露評価法の開発を進める上で必須となる主要な要素手法を確立した。

研究分担者: 野崎 淳夫 (東北文化学園大学大学院教授)、伊佐間 和郎 (国立医薬品食品衛生研究所療品部第二室長)、酒井 康行 (東京大学 生産技術研究所教授)、杉林 堅次 (城西大学薬学部教授)、埴岡 伸光 (岡山大学大学院医歯薬総合研究科准教授)、香川 (田中) 聡子 (国立医薬品食品衛生研究所環境衛生化学部主任研究官)

研究協力者: 河上 強志 (国立医薬品食品衛生研究所 療品部第二室)、小森 喜久夫 (東京大学生産技術研究所)、田中 玄弥 (東京大学生産技術研究所)、藤堂 浩明 (城西大学薬学部)、鈴木 貴雅 (城西大学薬学部)、成松 鎮雄 (岡山大学大学院医歯薬総合研究科)、高原 佑輔 (岡山大学大学院医歯薬総合研究科)、古川 容子 (国立医薬品食品衛生研究所環境衛生化学部)、大田 悠紀子 (国立医薬品食品衛生研究所環境衛生化学部)

## A. 研究目的

EU の REACH 規則 (Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of Chemicals) の制定 (2007.6) や化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律 (化審法) の改正 (2009.5) にみられるように、化学物質の審査・規制や管理等に係る諸制度は従来のハザードベースからリスクベースの評価体系へと大きな転換期を迎えている。

リスクがハザードと暴露量の積として表されることから明らかなように、暴露評価の精度はリスク評価に決定的な影響を及ぼす。したがって、評価体系の円滑な移行のためには、暴露評価の精度やスループットの向上が重要な課題となっている。また、ハザードに関する情報は国際的に共有することが可能であるのに対し、化学物質の暴露に関し

ては生活習慣が大きな要因となるため、それぞれの国独自の取り組みが必要不可欠である。このような観点からも暴露シナリオの確立を含む一連の暴露評価手法の開発が喫緊の課題であると言えよう。

化学物質の人への暴露に関与する重要な環境媒体としては、大気、水道水、食品等を挙げることができる。これらの環境媒体に関しては、永年にわたる行政施策の成果として、媒体中の化学物質濃度を継続的かつ広範に調査するための全国規模の体制が構築されている。一方で、人は1日のおよそ2/3以上を「室内」で過ごすとされているものの、室内空気やハウスダスト等の媒体を介する室内環境中での化学物質暴露に関してはデータの蓄積が不十分であり、その収集体制も脆弱と言わざるを得ないのが実情である。

このような背景から、本研究ではリスク評価の精度やスループットに決定的な影響を及ぼし得る暴露評価に関して、家庭用品に由来する化学物質の多経路 (経気道、経皮、経口) から生体への取り込み量を適切に推定するための一連の評価手法開発を目指すとともに、異なる経路で同一の化学物質に暴露した場合の生体影響の等価性についても異物代謝の観点から研究を進めることとした。

初年度である平成 21 年度は、REACH 規則の高懸念物質 (SVHC; Substances of Very High Concern) 候補リスト (2008.10)、さらに ANNEX XIV 認可対象物質の候補リストに収載 (2009.6) されたフタル酸エステル類 Dibutyl Phthalate、Benzyl Butyl Phthalate 及び Bis(2-ethylhexyl) Phthalate の 3 化合物を主な対象物質として検討を行った。

## B. 研究方法

### B-1 家庭用品から放散する化学物質の定量的・速度論的評価手法の開発に関する研究

室内空気質の調査: リフォーム後に居住者が体調不良を生じた東京都内の 2 階建て住宅の台所と居間で室内空気をサンプリングし、アルデヒド類 (2 物質)、VOC (50 物質)、SVOC (フタル酸エステル類 14 物質) を測定した。

チャンバー実験: 上記の調査対象住宅で実際に使用されていた壁装材を 374 mm x 374 mm のサイズに裁断して試験片とし、東北化学園大学内の空気環境実験室に設置された容積 65 L の小形チャンバーを用いてフタル酸エステル類 14 物質の放散を評価した。

### B-2 家庭用品から汗・唾液で溶出する化学物質の定量的・速度論的評価手法の開発に関する研究

PVC シートの作製: フタル酸エステルを添加した PVC シートを 175℃の温度条件でテストロールにて作製した。PVC ポリマー及び安定剤には一般工業用の S-1003、AC-255 (Ba-Zn 系液状) をそれぞれ用いた。作製した PVC シートの厚さ及びフタル酸エステル濃度の均一性を確認した後に皮膚移行試験に用いた。

皮膚への移行試験: 本試験の実施に当たって、予め国立医薬品食品衛生研究所倫理委員会の承認を得た。一定面積 (2.25 cm<sup>2</sup>; 1.5 cm x 1.5 cm; シート重量約 83 mg) に裁断した PVC シートを被験者の前腕内側部分の皮膚に張付けて接触させ、その上に帯状のシリコンマットを重ねてサージカルテープで固定した。一定時間後に PVC シート接触部分の皮膚表面をエタノールを含ませた清浄綿棒

で拭き取り、皮膚表面に移行したフタル酸エステルをサンプリングした。

### B-3 家庭用品から放散する化学物質の吸入率評価手法の開発に関する研究

液中培養した A549 細胞に対するフタル酸エステル類の細胞毒性: ジエステル体 3 化合物 (DEHP、DBP、BBP) とそのカルボキシルエステラーゼ代謝産物であるモノエステル体 Mono-2-ethylhexyl Phthalate (MEHP)、Monobutyl Phthalate (MBP)、Monobenzyl Phthalate (MBzP) を対象物質とした。マルチウェルプレートで培養した肺胞由来ガン細胞株 A549 細胞 (肺胞の II 型上皮細胞と類似) にフタル酸エステルを暴露し、48 時間後の細胞生存率を基に肺障害性を評価した。

半透膜型培養器を用いた上皮障害性・透過量の評価: A549 細胞を 12 穴の半透膜型培養器で培養し、モデル肺胞上皮を作製した。膜上面側 (肺胞内腔側) に BBP を 0.1-10 mM の濃度で暴露し、48 時間後の細胞生存率並びに BBP 透過量を測定した。

吸着担体としてのシリカ粒子の評価: ハウスダストのモデル物質としてシリカ粒子 (扶桑化学工業株式会社; SP-1B) の適用可能性について検討を行った。粒子密度 0.03-3.00 mg/cm<sup>2</sup> でシリカ粒子を細胞に暴露し、生存率を基に許容される最大微粒子負荷面密度を決定した。

### B-4 家庭用品から溶出する化学物質の経皮吸収率評価手法の開発に関する研究

DBP 及び MBP の皮膚内代謝試験: 動物の飼育及び実験は城西大学動物実験管理委員会の承諾を得た後、「城西大学動物実験規定 (平成 21 年 4 月)」に従い、動物福祉・愛護の精神に基づいて実験を行った。

DBP 及び MBP (40  $\mu\text{M}$ ) をヘアレスラット腹部皮膚から調製した皮膚ホモジネートとともにインキュベートし、残存量の経時的な変化を測定した。また、カルボキシルエステラーゼによる代謝を確認するために、エステラーゼの阻害剤であるフルオロリン酸ジイソプロピル (DFP) を添加して同様の実験を行った。

DBP 及び MBP の皮膚透過実験: ヘアレスラットの腹部から摘出した正常皮膚及び損傷皮膚を想定して角層を除去した Stripped Skin を PBS または DFP 溶液中で予め 30 分間インキュベートした後に Side-by-Side 型拡散セルにセットし、表皮側に添加した DBP 及び MBP の透過性を測定した。

#### B-5 暴露経路依存的な異物代謝予測手法の開発に関する研究

内在性カルボキシルエステラーゼ (CES) の mRNA 発現量及び酵素活性の測定: HepG2、HEK293、Caco2 及び COS7 細胞から Total RNA を抽出し、それぞれの Total RNA 試料中の CES1、CES2 及び CES3 mRNA 量を RT-PCR 法により半定量に解析した。内在性 CES 酵素活性の測定では、HEK293 あるいは COS-7 細胞の S9 画分を調製し、*p*-Nitrophenyl Acetate (100  $\mu\text{M}$ ) を基質として加水分解活性を測定した。

ヒト CES1、CES2 及び CES3 の発現: HEK293 細胞に、pcDNA-DEST40/CES1、pcDNA-DEST40/CES2 または pcDNA-DEST40/CES3 をトランスフェクションし、ヒト CESs を一過性に発現させた。細胞の S9 画分を SDS-PAGE で分離し、ウエスタンブロット分析により CES タンパク質発現量を測定した。

#### B-6 家庭用品に由来する室内環境化学物質

の網羅的解析手法の開発に関する研究

##### 1) 室内環境におけるフタル酸ジエステル類の暴露量評価

ハウスダスト中のフタル酸エステル類の定量: 25 家庭 (関東近郊) の寝室及び居間のハウスダスト並びに室内空気を採取した。シリカ繊維円筒濾紙を装着したテフロン/ステンレス製ダスト採取管を家庭用掃除機に接続し、寝室及び居間の床・棚からほぼ同じ面積を吸引してハウスダストを採取した。振動ふるいで分級し、63  $\mu\text{m}$  以下の画分に含まれるフタル酸エステル類を GC/MS で定量した。室内空気中のフタル酸エステル類の定量: ハウスダスト採取前あるいは掃除機による採取後 6 時間以上を経過した後に室内空気のサンプリングを行った。居間及び寝室の空気を 40 mL/min の流速で 8 時間吸引し、粒子状のフタル酸エステル類を石英フィルターで、ガス状のフタル酸エステル類を Tenax TA 吸着管で捕集した。定量は加熱脱離-GC/MS で行った。

##### 2) ハウスダスト中のフタル酸モノエステル類に関する実態調査

前述のフタル酸ジエステル類と同様の方法で、21 軒の一般家庭の寝室及び居間でハウスダストを採取した。振動ふるいで分級し、63  $\mu\text{m}$  以下の画分に含まれる 3 種類のモノエステル類 MBP、MBzP 及び MEHP 量を UPLC/MS/MS (ESI ネガティブモード; MRM 測定) で定量した。

##### 3) DART-TOFMS による繊維製品中の難燃剤のスクリーニング

市販のカーテン 30 製品 (素材難燃 5 製品及び後加工難燃 18 製品を含む) について、ペニングイオン化を利用した大気圧イオン化法である DART-TOFMS による測定を行っ

た。適宜裁断した繊維製品試料を DART イオン源にかざし、ネガティブモードで精密質量数を測定した。臭素系難燃剤 Hexabromocyclododecane (HBCD) の[M+Br]<sup>-</sup>に相当する特徴的な一群のイオンから HBCD の有無を判定した。

### C. 研究結果

#### C-1 家庭用品から放散する化学物質の定量的・速度論的評価手法の開発に関する研究

リフォーム後に居住者が体調不良を生じた家屋の室内空気測定結果では、アルデヒド類と VOCs については厚生労働省の室内濃度指針値を超える濃度で検出された化合物は Styrene (居間; 311  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) のみであった。一方、SVOCs では台所で数種のフタル酸エステル類が極めて低い濃度 (0.01 - 0.03  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) で検出されたものの、DBP 及び DEHP は不検出であった。

調査対象住宅で実際に使用されていた壁装材について小形チャンバーを用いてフタル酸エステル類 14 物質の放散量をチャンバー内空气中濃度から評価した結果、Dimethyl Phthalate、DBP 及び DEHP の発生が確認され、発生量はそれぞれ 0.02、0.009、0.019  $\mu\text{g}/\text{h}$  で

あった。

#### C-2 家庭用品から汗・唾液で溶出する化学物質の定量的・速度論的評価手法の開発に関する研究

練り時間、ロール温度等の条件を最適化して、DEHP、DBP 及び DINP を単独もしくは混合して含有する PVC シートを作製し、実際の含有量を GC/MS で測定して値付けを行った後に皮膚への移行試験に使用した。まず、28% DEHP-PVC シートを用いて、皮膚への移行量に対する接触時間 (2-30 分) の影響を検討した結果、接触時間依存的な移行量の変化は認められなかった。さらに、皮膚との接触を長時間 (60-360 分) 行った場合でも短時間の試験時と同様に接触時間に応じた移行量の変化は認められなかった。

次に、皮膚への移行量について個人差の有無を検討するために、別の被験者 (被験者 B) に対して同様の試験を行った。被験者 A に比べて移行量が全体的に低い傾向が認められ、皮膚表面の環境条件、特に皮脂量が関係しているものと考えられた。

フタル酸エステル含有率の異なる PVC シート (公称値 15、28、37%) を用いて、移行量の含有率依存性について検討した結果 (図 1)、何れのフタル酸エステルについても 15%

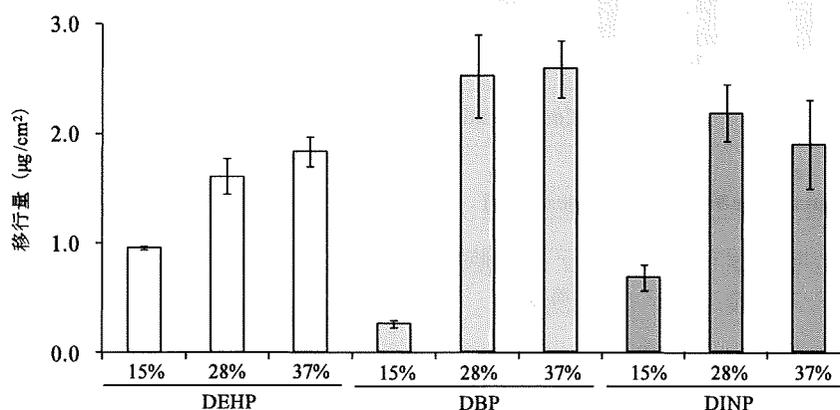


図 1 ポリ塩化ビニルシートからのフタル酸エステル類の皮膚表面への移行 (被験者 A; 接触時間: 30 分; 平均値  $\pm$  標準偏差 (n=3) を示した)

では他と比較して移行量が少ない傾向がみられたが、28%と37%の間ではほとんど差異は認められなかった。

### C-3 家庭用品から放散する化学物質の吸入率評価手法の開発に関する研究

まず、液中培養した A549 細胞に対するフタル酸エステル類の細胞毒性について検討を行った結果、何れの化合物についても mM オーダーの高い濃度領域でのみ生存率の低下がみられた。モノエステルとジエステルの毒性を比較すると、BBP および DBP についてはモノ体の方が低い毒性を示したのに対し、MEHP はジエステル DEHP よりも強い毒性を示した。次に、半透膜型培養器を用いて BBP の上皮障害性及び透過量の評価を行った。上皮障害性については単層培養の場合とほぼ同等であった。また、肺胞上皮上面に添加した BBP の上皮下面 (体内側) への透過量を測定した結果、濃度依存的な透過量の増加が認められたが、何れの濃度においても膜下の BBP 濃度は 1/10 から 1/100 程度であった (図 2)。

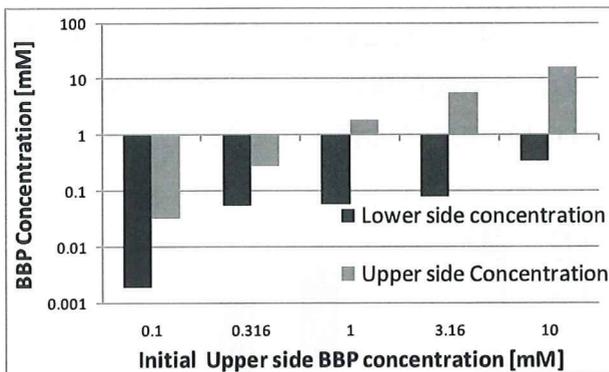


図 2 半透膜型培養器を用いたモデル肺胞上皮におけるフタル酸エステルの透過性

本研究では、透過率評価用の新規デバイスの開発、並びに埃を介する経気道暴露モデルに必要となる吸着担体として、平均径 1 μm の

シリカ粒子の適用可能性についても検討を行った。粒子密度 0.03-3.00 mg/cm<sup>2</sup> でシリカ粒子を A549 細胞に暴露した結果、高密度では物理的要因によると考えられる顕著な生存率の低下がみられたが、0.1 mg/cm<sup>2</sup> 以下の範囲で吸着担体として利用可能であることが明らかになった。

### C-4 家庭用品から溶出する化学物質の経皮吸収率評価手法の開発に関する研究

皮膚ホモジネートとともにインキュベートすると DBP は経時的に減少し、モノエステル体 MBuP の増加が認められた。この加水分解反応は DFP で阻害されたことから、皮膚内エステラーゼが関与する反応であることが示唆された。

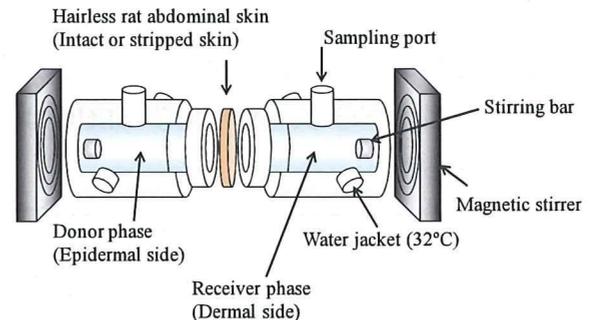


図 3 Side-by-side 型拡散セルによる皮膚透過性評価システム

図 3 に示した Side-by-Side 型拡散セルを用いて、DBP の Intact Skin または Stripped Skin 透過性について検討を行った。その結果、レシーバー中にはモノエステル体のみが検出され、透過量に対する皮膚損傷の影響は認められなかった。また、DFP 共存下では DBP、MBuP の何れもレシーバー中では検出されず、皮膚中にモノエステル体とジエステル体の両者が混在した。したがって、経皮暴露した DBP は皮膚内で速やかに加水分解され、

モノエステル体として皮膚を透過することが明らかになった。

#### C-5 暴露経路依存的な異物代謝予測手法の開発に関する研究

CES 発現系の構築に最も適した哺乳動物細胞を選択するために、HepG2、HEK293、Caco2 及び COS7 細胞について内在性 CES mRNA 発現量及び酵素活性の観点から検討を行った。その結果、HepG2 及び Caco2 細胞では複数の CES 分子種の mRNA 発現が認められたのに対し、HEK293 細胞では CES2 mRNA のみが発現していることが明らかになった。さらに、HEK293 細胞 S9 画分の p-NPA に対するエステラーゼ活性を測定した結果、HEK293 細胞のエステラーゼ活性は (16 nmol/min/mg protein) であり、Pooled Human Liver Microsome の活性と比較して顕著に低いことが明らかになった。これらの結果から、本研究では HEK293 細胞を用いて CES1、CES2 及び CES3 の発現系を構築することとした。

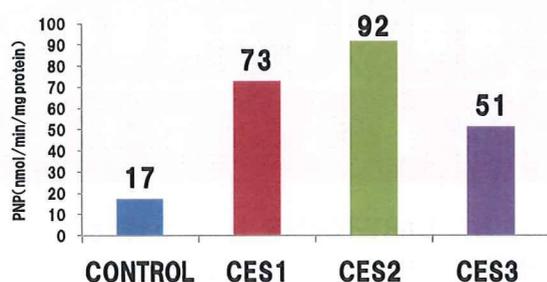


図 4 リコンビナント CES1、CES2 及び CES3 酵素のエステラーゼ活性

ヒト CES cDNAs をトランスフェクションした HEK293 細胞の CES タンパク質発現量を S9 画分のウエスタンブロット分析により測定した。また、p-NPA に対するエステラーゼ活性は、CES1、CES2 及び CES3 のどれもコ

ントロール細胞の 3.0-5.4 倍高い活性を示すことが明らかになった (図 4)。

#### C-6 家庭用品に由来する室内環境化学物質の網羅的解析手法の開発に関する研究

##### 1) 室内環境におけるフタル酸ジエステル類の暴露量評価

ハウスダストを採取した 25 家庭のうちの 1 家庭では分析に要する充分量のハウスダストが得られなかったため、残りの 24 家庭について測定、解析を行った。その結果、ハウスダスト中濃度の中央値及び最大値はそれぞれ DBP ; 0.014 mg/g Dust、0.12 mg/g Dust、BBP ; 0.0011mg/g Dust、0.017 mg/g Dust、DEHP ; 0.86 mg/g Dust、5.3 mg/g Dust であった。一方、24 家庭の居間及び寝室計 48 室の室内空気中のフタル酸エステル類濃度を測定した結果、DBP の中央値は 0.10  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  (ガス状)、0.31 $\mu\text{g}/\text{m}^3$  (粒子状)、最大値は 0.61 $\mu\text{g}/\text{m}^3$  (ガス状)、0.99 $\mu\text{g}/\text{m}^3$  (粒子状)であった。DEHP に関してはそのほとんどが粒子状で存在し、中央値は 0.16 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、最大値は 1.05 $\mu\text{g}/\text{m}^3$  であった。BBP はガス状及び粒子状いずれも定量下限値未満であった。

本研究の調査結果を基に、成人 (体重 50 kg) の呼吸量を 20  $\text{m}^3/\text{day}$ 、ハウスダストに関してはオランダ国立公衆衛生・環境研究所 RIVM の報告書で採用されている 50 mg/day を用いて 1 日当たりの暴露量を推計した。その結果、DBP の媒体ごとの暴露量は、ハウスダスト 5  $\mu\text{g}/\text{day}$ 、室内空気 24  $\mu\text{g}/\text{day}$ 、飲料水 140  $\mu\text{g}/\text{day}$ 、食物 58  $\mu\text{g}/\text{day}$  であった。同様に DEHP の暴露量は、ハウスダスト 265  $\mu\text{g}/\text{day}$ 、室内空気 12  $\mu\text{g}/\text{day}$ 、飲料水 26  $\mu\text{g}/\text{day}$ 、食物 320  $\mu\text{g}/\text{day}$  であった。このように、DBP に関しては 1 日の推定暴露量のほとんどが

食物及び飲料水を介したものであるのに対して、DEHP については食物及び飲料水による暴露の約 80%に相当する量をハウスダストから暴露する可能性があることが明らかになった。

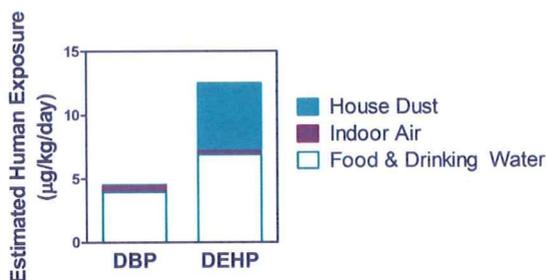


図 5 ハウスダストを考慮したフタル酸エステル類の暴露評価

## 2) ハウスダスト中のフタル酸モノエステル類に関する実態調査

生体影響という観点から、一般に Phthalate の加水分解反応は”代謝的な活性化反応”であると考えられ、同様の反応が室内環境中でも生じる可能性が指摘されている。そこで、室内環境中でのモノエステル体の存在実態を明らかにする目的で、21 家庭の居室で採取したハウスダスト中のフタル酸モノエステル類を UPLC/MS/MS で測定した。その結果、MBuP 及び MEHP がそれぞれ ND - 14 µg/g Dust (中央値 1.7 µg/g Dust)、1.2 - 44 µg/g Dust (中央値 8.9 µg/g Dust) の濃度範囲で検出され、MBzP については不検出であった。一方、ジエステル体 DBP 及び DEHP の濃度範囲はそれぞれ 0.004 - 0.072 mg/g Dust (中央値 0.020 mg/g Dust)、0.14 - 8.4 mg/g Dust (中央値 0.81 mg/g dust) であり、DBP ではジエステル体の 0 - 81% (中央値 9.7%)、DEHP では 0.20 - 6.0% (中央値 0.80%) に相当する量のモノエステル体がハウスダスト中に存在す

ることが明らかになった。

## 3) DART-TOFMS による繊維製品中の難燃剤のスクリーニング

家庭用品中に含まれる化学物質の簡易スクリーニング法の確立を目的として、DART-TOFMS によるカーテン中の臭素系難燃剤 HBCD の測定方法について検討を行った。市販のカーテン 30 製品について測定を行った結果、後加工の防災カーテン 18 製中 12 製品で HBCD の [M+Br]<sup>-</sup>イオンに相当する 7 個の臭素原子を含む化合物に特徴的な安定同位体パターンが観察され、HBCD が使用されていることが確認された。また、ある種のリン系難燃剤についても DART-TOFMS による定性的な構造推定が可能であり、家庭用品中の化学物質の簡便・迅速なスクリーニング法として極めて有用であると考えられる。



図 6 DART-TOFMS による繊維製品中 HBCD のスクリーニング結果

## D. 考察

本研究では、家庭用品に由来する様々な化学物質について主要な暴露経路及び暴露量の予測手法を確立することを目的として、1) 放散や溶出による家庭用品から室内環境媒体への化学物質移行性の評価手法の開発、並びに 2) 暴露経路依存的な化学物質の生体へ

の取込特性の評価手法について、室内環境中の代表的な半揮発性有機化合物 (SVOCs) であるフタル酸エステル類を対象物質として検討を行った。

本研究で香川らが実施した室内環境媒体中濃度の実態調査の結果 (中央値) では、ハウスダスト中の DBP は 0.014 mg/g Dust、室内空気中のガス状 DBP は 0.10  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、粒子状が 0.31  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  であったのに対し、ハウスダスト中の DEHP は 0.86 mg/g Dust、室内空気中ではガス状は不検出、粒子状は 0.16  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  であった。この調査結果は、室内環境中での SVOCs の暴露媒体としてハウスダストを考慮する必要があること、また経気道暴露に関しては粒子状物質が極めて重要な役割を果たしていることを示している。前者については、製品評価技術基盤機構 (NITE) が取り纏めた化学物質の初期リスク評価書 (No.11 フタル酸ジ-n-ブチル及び No.7 フタル酸ビス(2-エチルヘキシル)) で採用されている食物及び飲料水からの摂取量に、本研究で得られた室内空気並びにハウスダスト由来のフタル酸エステル類暴露量 (95 パーセントイル値) を考慮に入れて再解析した結果、DBP に関しては 1 日推定摂取量のほとんどが食物及び飲料水を介した暴露によるのに対して、DEHP については食物及び飲料水を暴露媒体として摂取する量の約 80%に相当する量をハウスダストから摂取する可能性があることが明らかになった。NITE では「化学物質のリスク評価およびリスク評価手法の開発プロジェクト」(NEDO 事業) で作成した 150 物質の初期リスク評価書を公開しているが、これらの物質についてもハウスダストを介する暴露の寄与を今後精査する必要があると考えられる。また、後者の粒子状

SVOCs の経気道暴露に関しては、肺での吸収をモデル化する際に、ガス状の揮発性有機化合物 (VOCs) で重要なパラメーターとなる血液/空気分配係数のみではなく、粒子状物質からの溶出と肺上皮での透過を考慮する必要がある。このような観点から、本研究では酒井らが透過率評価用の新規デバイスの開発し、さらにダストのモデルとしてシリカ粒子が利用可能であることを示した。次年度以降も引き続き透過率評価法の確立を進め、細胞膜透過・代謝を考慮した肺胞上皮透過の数理モデルの構築を行う予定である。

一方、経皮への移行に関して、伊佐間らが可塑剤添加量既知の PVC シートを作製し、家庭用品と皮膚の直接的な接触を想定した暴露形態で皮膚への移行を検討した。その結果、フタル酸エステル類の含有率によって PVC シートから皮膚表面への移行傾向に差異が認められることが明らかになった。また、皮脂等の皮膚の状態も重要な要因となることを示唆する結果が得られた。今後、皮脂量・組成を測定し移行量あるいは移行速度に及ぼす影響を明らかにすることで、家庭用品への直接的な接触や子供に特徴的な Crawling による経皮暴露での皮膚移行性の評価手法を確立できるものと考えられる。また、経皮暴露については、杉林らが皮膚透過係数に基づいた化学物質の生体影響様式の分類を提案している。すなわち、約  $1 \times 10^{-9}$  cm/s の角層落屑速度以下の皮膚透過係数を示す物質については経皮的な体内への吸収はほとんどない (Type A) と考え、角層落屑速度よりも透過係数が大きい化学物質については、皮膚内への透過・貯留による皮膚刺激性 (Type B)、さらに大きな透過性を示す物質については刺激性に加えて体内への吸収

による全身的な作用も考慮する必要がある (Type C)、という分類方法である。Side-by-Side型拡散セルでDBPのヘアレスラット皮膚透過性を検討した結果、DBPは速やかに加水分解されてMBPとして皮膚を透過すること、MBPの透過係数はIntact Skinで約 $2.0 \times 10^{-7}$ 、Stripped Skinで約 $3.5 \times 10^{-6}$  cm/sであり、Type Cに分類されることが明らかになった。

上述した酒井らの経気道暴露モデル、杉林らの経皮暴露モデルでの結果から、フタル酸エステル類の生体への取り込みにはエステラーゼによる加水分解が大きな影響を及ぼすことが明らかになった。この加水分解反応に関しては、本研究において埴岡らがヒトカルボキシルエステラーゼ発現系を用いた検討を進めている。本年度は内因性エステラーゼ活性による妨害の少ない哺乳動物発現系の選択を行い、さらにフタル酸エステル加水分解活性の測定に必要な諸条件の最適化を完了した。次年度以降、この反応に関与する酵素の特定と速度論的な解析を行うことにより、加水分解反応の暴露経路依存性のみならず、一塩基多型等の遺伝的な要因あるいは環境要因等による酵素発現量の差異に起因する感受性の個体差についても重要な知見が得られると期待される。

#### E. 健康危険情報

なし

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) 伊佐間和郎:家庭用品に使用される化学物質による重大製品事故 (平成 19

年度及び 20 年度) .*国立衛研報*, **127**, 69-73, 2009.

- 2) 伊佐間和郎,河上強志,土屋利江,松岡厚子:キャピラリー電気泳動法による家庭用品塗膜の鉛溶出量調査.*生活衛生*, **54**, 27-32, 2010.
- 3) 河上強志,伊佐間和郎,中島晴信,大嶋智子,土屋利江,松岡厚子:ガスクロマトグラフィー質量分析法による水性塗料及び水性接着剤中の有機スズ化合物の分析.*薬学雑誌*, **130**, 223-235, 2010.

#### 2. 学会発表

- 1) 神野透人,古川容子,大田悠紀子,香川(田中)聡子,西村哲治:ハウスダスト中のフタル酸モノエステル類.フォーラム 2009 : 衛生薬学・環境トキシコロジー,2009年11月.
- 2) 香川(田中)聡子,古川容子,大田悠紀子,神野透人,西村哲治:室内空気及びハウスダスト中のフタル酸エステル類.フォーラム 2009 : 衛生薬学・環境トキシコロジー,2009年11月.
- 3) 神野透人,古川容子,大田悠紀子,香川(田中)聡子,西村哲治:フタル酸モノエステル類による室内汚染ーハウスダストを介する暴露についてー.平成21年度室内環境学会総会・研究発表会,2009年12月.
- 4) 香川(田中)聡子,古川容子,大田悠紀子,神野透人,西村哲治:ハウスダスト及び室内空気中のフタル酸エステル類の実態調査.平成21年度室内環境学会総会・研究発表会,2009年12月.
- 5) 古川容子,香川(田中)聡子,大田悠紀

- 子,神野透人,西村哲治:DART-TOFMSによる繊維製品中の難燃剤のスクリーニング.平成21年度室内環境学会総会・研究発表会,2009年12月.
- 6) 伊佐間和郎,河上強志,土屋利江,松岡厚子:鉛含有金属製品の溶出試験方法の比較.第46回全国衛生化学技術協議会年会,盛岡,2009年11月.
- 7) 伊佐間和郎:家庭用品に使用される化学物質による重大製品事故.第46回全国衛生化学技術協議会年会,盛岡,2009年11月.
- 8) 河上強志,伊佐間和郎,中島晴信,土屋利江,松岡厚子:繊維製品中に含有するアゾ染料由来の芳香族アミン類の実態調査.第46回全国衛生化学技術協議会年会,盛岡,2009年11月.
- 9) 河上強志,伊佐間和郎,大嶋智子,中島晴信,土屋利江,松岡厚子:水性塗料ならびに接着剤中の有機スズ化合物の分析.第46回全国衛生化学技術協議会年会,盛岡,2009年11月.
- 10) 松岡厚子,児玉幸夫,吉田 緑,中嶋富士雄,伊佐間和郎,松田良枝,西川秋佳:家庭用品に使用されるナノ材料の安全性評価,第46回全国衛生化学技術協議会年会,盛岡,2009年11月.
- 11) 伊佐間和郎,河上強志,土屋利江,松岡厚子:キャピラリー電気泳動法による家庭用品塗膜の鉛溶出量調査,日本薬学会第130年会,岡山,2010年3月.
- 12) 河上強志,伊佐間和郎,中島晴信,土屋利江,松岡厚子:繊維製品中に含有されるアゾ染料由来の芳香族アミン類の試買調査.日本薬学会第130年会,岡山,2010年3月.
- 13) 松岡厚子,児玉幸夫,吉田 緑,中嶋富士雄,伊佐間和郎,西川秋佳:ナノシリカおよびナノ銀の安全性評価.日本薬学会第130年会,岡山,2010年3月.
- 14) 鈴木貴雅,中田圭一,石井 宏,藤堂浩明,神野秀人,杉林堅次:家庭内化学物質の定量的経皮暴露評価,日本薬学会第130年会,岡山,2010年3月.

G.知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む)

G.1 特許取得

なし

G.2 実用新案登録

なし

## Ⅱ. 分担研究年度終了報告書

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）  
分担研究年度終了報告書

家庭用品に由来する化学物質の多経路暴露評価手法の開発に関する研究

住宅における室内空気質の調査報告(アルデヒド類、VOC、SVOC)

研究分担者 野崎 淳夫 東北文化学園大学大学院 健康社会システム研究科 教授

研究要旨：本研究では、1)実測調査により、一般住宅におけるアルデヒド類、揮発性有機化合物(VOC)、半揮発性有機化合物(SVOC)の室内濃度を把握し、2)チェンバー実験により、同住宅に使用されている壁装材の SVOC 発生量を定量的に明らかにすることを目的とした。

実測調査の結果、Formaldehyde、Acetaldehyde や複数種の VOC が検出されたが、一部の物質を除いて問題となる濃度ではなかった。また、Styrene において、厚生労働省が定める濃度指針値を超過する室があった。室内空気中から数種類のフタル酸エステル類の発生が示された。

チェンバー実験の結果、壁装材設置時のチェンバー内空気から Di-methyl phthalate が検出された。同物質は実測調査においても検出されており、測定した壁装材がフタル酸エステル類の発生源と考えられる。また、フタル酸エステル類の他にも多くの物質が検出されているため、別の発生源が存在する可能性もある。壁装材から発生が示された Di-n-butyl phthalate と Di-2-ethylhexyl phthalate は、実測調査においては検出されなかった。

#### A. 研究目的

本研究では、1)実測調査により、一般住宅におけるアルデヒド類、揮発性有機化合物(以下、VOC)、半揮発性有機化合物(以下、SVOC)の室内濃度を把握し、2)チェンバー実験により、同住宅に使用されている壁装材の SVOC 発生量を定量的に明らかにすることを目的とした。

測定対象住宅は、東京都 N 区にある 2 階建ての一般住宅である。

測定対象室は写真-1～6 に示す、キッチンとリビングとした。測定の様子を写真-7～10 に示す。

#### 1.2 居住者について

本測定住宅において、居住者（男性）は住宅改善を行った後、体調不良を自覚するようになった。これらの体調不良に関連する疾病の既往歴はなく、医学的検査の結果、「肺に疾患がある」と診断された。原因は不明であるが、担当医師から

#### B. 実測調査

##### 1. 調査の概要

##### 1.1 測定対象住宅

は VOC、SVOC による影響が指摘されていた。

### 1.3 測定対象物質

本研究では、アルデヒド類(2 物質)、VOC(50 物質)、SVOC(フタル酸エステル類: 14 物質)を測定対象とした。各室の測定対象物質を表-1、測定対象としたアルデヒド類、VOC、SVOC をそれぞれ表-2~4 示す。

### 1.4 捕集・分析方法及び装置

#### (1)アルデヒド類

固相捕集-溶媒抽出-高速液体クロマトグラフ(以下、HPLC)法

##### a. 捕集装置

・アルデヒド類捕集管(Waters 社製、Model: Sep-pak Xposure Sampler)

・定流量ポンプ(SIBATA 社製、Model: MP-Σ30)

・積算流量計(SINAGAWA 社製、Model: DC-1A)

##### b. 分析装置

・HPLC(HITACH 社製、Model: L-7000 シリーズ)

#### (2)VOC

固相捕集-加熱脱離-ガスクロマトグラフ/質量分析(以下、GC/MS)法

##### a. 捕集装置

・VOC 捕集管(Supelco 社製、Model: Air-toxics)

・定流量ポンプ(SIBATA 社製、Model: MP-Σ30)

・積算流量計(SINAGAWA 社製、Model: DC-1A)

##### b. 分析装置

・加熱脱着装置(以下、ATD) (Perkin Elmer 社製、Model: Turbo matrix ATD)

・GC/MS(Perkin Elmer 社製、Model: Clarus500)

#### (3)SVOC

固相捕集-溶媒抽出-GC/MS 法

##### a. 捕集装置

・SVOC 捕集管(ジーエルサイエンス社製、Model: AERO LE Cartridge SDB400)

・定流量ポンプ(ジーエルサイエンス社製、Model: SP208-10L)

##### b. 分析装置

・GC/MS(Perkin Elmer 社製、Model: Turbo Mass Gold)

## 2. 調査結果

### 2.1 室内アルデヒド類濃度

室内アルデヒド類濃度を図-1 に示す。

実測調査の結果、キッチンの室中央、壁面近傍の Formaldehyde 濃度は、それぞれ 47.6、38.9[ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ]であった。

また、キッチンの室中央、壁面近傍の Acetaldehyde 濃度は、それぞれ 26.6、26.1[ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ]であった。

同室における Formaldehyde と Acetaldehyde については、厚生労働省により定められた室内濃度指針値を超過しなかった。

### 2.2 室内 VOC 濃度

室内 VOC 濃度(TVOC 換算値)を図-2、表-5 に示す。

実測調査の結果、キッチンの室中央、壁面近傍の VOC 濃度(TVOC 換算値<sup>注</sup>)は、それぞれ 1078、1019[ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ]であった。

また、リビングの室中央、カーペット内部の VOC 濃度(TVOC 換算値)は、それぞれ 1368、802[ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ]であった。

キッチン室中央における VOC 濃度を表-5、図-3 に示す。

キッチン室中央において最も高い濃度を示した物質は、Ethanolであり、その室内濃度は862[ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ]である。また、比較的高い濃度を示した物質は、Toluene、o-Xyleneであり、その室内濃度はそれぞれ73.3、46.8[ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ]であった。

本調査の結果、Toluene、Xyleneについては厚生労働省により定められた室内濃度指針値を超過しなかった。

キッチン壁面近傍におけるVOC濃度を表-5、図-4に示す。

キッチン壁面近傍において、最も高い濃度を示した物質は、Ethanolであり、その室内濃度は838[ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ]である。比較的高い濃度を示した物質は、Toluene、o-Xyleneであり、その室内濃度はそれぞれ57.7、25.0[ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ]であった。

本調査の結果、Toluene、Xyleneについては厚生労働省により定められた室内濃度指針値を超過しなかった。

リビング室中央におけるVOC濃度を表-5、図-5に示す。

リビング室中央において、最も高い濃度を示した物質は、Ethanolであり、その室内濃度は553[ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ]である。比較的高い濃度を示した物質は、Styrene、Ethylbenzene、Tolueneであり、その室内濃度はそれぞれ311、230、172[ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ]であった。

本調査の結果、Styreneのみが厚生労働省により定められた室内濃度指針値を超過していた。

厚生労働省により定められた室内濃度指針値は、それぞれ220、3800、870[ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ]であり、Styreneのみ指針値を超過していた。

リビングカーペット内部におけるVOC

濃度を表-5、図-6に示す。

リビングカーペット内部において、最も高い濃度を示した物質は、Ethanolであり、その室内濃度は693[ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ]である。比較的高い濃度を示した物質は、Tolueneであり、その室内濃度は57.7[ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ]であった。

本調査の結果、Toluene、Xyleneについては厚生労働省により定められた室内濃度指針値を超過しなかった。

TVOCに占めるVOC族毎の割合を図-7に示す。

全てのポイントにおいて、TVOCに占めるAlcohol族の割合が最も大きい。

中でもEthanolがTVOCに占める割合は、キッチン室中央、キッチン壁面近傍、リビング室中央、リビングカーペット内部で、それぞれ80.0、82.2、40.4、86.4[%]である。

### 2.3 室内SVOC濃度

キッチン室中央におけるSVOC濃度を図-8に示す。

キッチン室中央において検出された物質は、Di-methyl phthalate、Di-ethyl phthalate、Di-isopropyl phthalate、Di-n-propyl phthalate、Di-isobutyl phthalate、Dihexyl phthalate、Di-butylbenzyl phthalateであり、濃度はそれぞれ0.01~0.03[ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ]の範囲にあり、非常に低い値であった。

厚生労働省により室内濃度指針値が定められているDi-n-butyl phthalateとDi-2-ethylhexyl phthalateは検出されなかった。

### 3. 考察

Formaldehyde、Acetaldehydeについては、厚生労働省により定められた室内濃度指針値を超過するケースは見られず、特に問題にならない値であるといえる。

室内 VOC 濃度(TVOC 換算値)は、802～1368[ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ]の範囲にあった。

また、全てのポイントにおいて、TVOC 濃度の大部分を Ethanol が占めており、当該物質を差し引けば問題とならない値であり、Ethanol の発生源除去により、より良好な室内空気環境となる。

また、リビング室中央においては、Ethanol の他、Toluene、Ethylbenzene、Styrene の発生が示された。Styrene 濃度は厚生労働省の室内濃度指針値を超過していた。

室内空気中から数種類のフタル酸エステル類が検出されたが、厚生労働省により室内濃度指針値が定められている Di-n-butyl phthalate と Di-2-ethylhexyl phthalate は検出されず、また、発生が示された物質の室内濃度は低い値であった。

## C. チェンバー実験

### 1. 実験の概要

#### 1.1 測定対象物質

本実験では、SVOC(フタル酸エステル類:14 物質)を測定対象とした。測定対象物質を表-4 に示す。

#### 1.2 試験片

本試験片は、前項における測定対象住宅の壁装材である。

この壁装材においては、1)本来、床材として使用されるべき塩ビ系建材 (P-タイル) が壁面に使用されており、また 2)その表面には粘性のある物質が付着していた。

試験片を採取した理由は、表面の粘着性物質が汚染物質発生源として疑われたためである。

そこで、壁装材を小型チェンバーへ設置するため、374×374[mm]のサイズに切断加

工し、試験片とした。なお、本試験片では JIS 基準に定められているように裏面、端部は被覆していない。

また、参考までに壁装材に使用された塩ビ系建材の製品安全データシート(以下、MSDS)を建材メーカーより取り寄せたが、その内容を表-6 に示す。

### 1.3 実験装置

実験装置の概要を図-9 に示す。

本実験では、東北文化学園大学内の空気環境実験室に設置された小形チェンバー(気積：65[L])を用いた。チェンバー内は、ある一定の環境条件に制御できる。

チェンバー内の環境条件は、JIS 基準に基づき、温度：28±1[°C]、相対湿度：50±5[%]、気流速度：0.2～0.3[m/s]に制御した。

### 1.4 捕集・分析方法及び装置

「B. 実測調査 1. 調査方法 1.4 捕集・分析方法及び装置 (3)SVOC」と同様。

#### 1.5 実験手順

①チェンバーを洗浄し、十分に乾燥させる。

②チェンバー内をある一定の環境条件に制御し、8 時間後のチェンバー内空気を SVOC 捕集管に捕集する。

③チェンバー内に試験片を設置し、8 時間後のチェンバー内空気を捕集する。

④SVOC 捕集管に捕集された SVOC を溶媒により抽出する。

⑤GC/MS を用いて、試料の定性・定量分析を行う。

## 2. 実験結果

壁装材設置時におけるチェンバー内 SVOC 濃度を測定し、その濃度実測値と換気量の関係から発生量を算出した。求められた壁装材の SVOC 発生量を図-10 に示す。