

菅野 純、インフォマティクス局面にある Percellome トキシコゲノミクスの食品・食品添加物への適用、第 37 回日本トキシコロジー学会 学術年会 (2010. 6. 16) (沖縄)、口演

北嶋 聡、菅野 純、Percellome 発生トキシコゲノミクスの進捗、第 37 回日本トキシコロジー学会 学術年会 (2010. 6. 16) (沖縄)、口演

種村 健太郎、五十嵐 勝秀、松上 稔子、相崎 健一、北嶋 聡、菅野 純、脳発生-発達期の神経シグナルかく乱による遅発性中枢影響解析-幼若期雄マウスへのイボテン酸投与による脳高次機能障害について-、第 37 回日本トキシコロジー学会 学術年会 (2010. 6. 18) (沖縄)、口演

菅野 純、相崎健一、北嶋 聡、Percellome トキシコゲノミクスの抗がん剤研究への応用、第 69 回日本癌学会学術総会 (2010. 9. 24) (大阪) 口演

Natalia Polouliakh, Jun Kanno, Yukiko Matsuoka, Ken-Ichi Aisaki, Richard Nock, Frank Nielsen, Keigo Oka, Satoshi Kitajima and Hiroaki Kitano, Discovery of Gene Network Regulated by the Toxicity Equivalent Factor of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-Dioxin (TCDD) and 2,3,7,8-Tetrachloroibenzofuran (TCDF) chemicals. the 11th International Conference on System Biology (2010. 10. 11) (Edinburgh, UK) , Poster

相磯成敏、梅田ゆみ、山崎一法、長野嘉介、戸谷忠雄、久保田久代、鷹屋光俊、甲田茂樹、有藤平八郎、福島昭治：ラットに単回強制気管内投与した多層カーボンナノチューブの気管支周囲リンパ組織と縦隔部リンパ節への移行と病理組織変化、2010 年、第 83 回日本産業衛生学

相磯成敏、斎藤美佐江、妹尾英樹、高信健司、梅田ゆみ、戸谷忠雄、長野嘉介、福島昭治：気管内投与した多層カーボンナノチューブの体内動態：2010 年、第 25 発癌病理研究会

浅倉眞澄、長野嘉介、有藤平八郎、福島昭治：多層カーボンナノチューブの培養細胞を用いる小核試験及び細胞形質転換試験、2010 年、第 83 回日本産業衛生学会

浅倉眞澄、長野嘉介、有藤平八郎、福島昭治：多層カーボンナノチューブの遺伝毒性試験および細胞形質転換試験、2010 年、第 39 回日本環境変異原学会

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

菅野 純 (研究分担者) :

特許出願 2010 年 12 月、「競合的ハイブリダイゼーションにおける遺伝子データの補正方法及び補正装置」

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

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

トキシコゲノミクスに有用な吸入暴露システムの開発・改良と吸入暴露

研究分担者 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・室長

研究協力者	北嶋聡	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
	高橋祐次	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
	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
	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、化学物質リスク評価法の基盤整備として、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、定量的、且つ、高精度な吸入毒性評価システムを構築することを目的とする。特にシックハウス症候群の様に、人における被害報告濃度と実験動物の器質変化濃度の乖離が指摘されてきた極低濃度吸入毒性への理論的及び現実的な対応を包含することを目指すものである。

先行3年間研究（厚労科研・化学物質リスク研究事業「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」（H17-化学-一般-003））に於いて、「厚生労働省シックハウス問題に関する検討会」が掲げる13物質の内、ホルマリン、アセトアルデヒドを始めとしてトルエン、キシレン、スチレン、テトラデカンの気化性物質について同検討会・室内指針値付近の極低濃度における暴露実験を実施し、肺及び肝臓の網羅的遺伝子発現変動解析によるデータの蓄積（一化合物につき、単回暴露、反復暴露など3プロトコル、各48匹、肺及び肝の2臓器、延べ6,300万遺伝子発現情報）及び、インフォマティクス解析により低濃度吸入毒性の特性を示唆する生物学的に興味深い所見が得られている。

本研究では、先行研究の成果を踏まえ、上記13物質の内、パラジクロルベンゼンおよび殺虫剤の極低濃度吸入暴露実験の実施と肺を主体とした遺伝子発現解析、データベース構築を推進する。また、本研究はPercellome標準化手法を用いて当毒性部が用意する肝などに関するトキシコゲノミクスデータとの対比を行うことが可能であり、血液を介した全身影響、或いは嗅覚等を介した神経影響等を包括的に評価することが可能となると期待される。これにより、ホルムアルデヒド等によるシックハウス症候群の本態解明と、新規物質への予測体系の整備への端緒となることが期待される。

先行研究で使用した吸入システムを用い、初年度は昇華性化学物質に対応した発生器を製作し、パラジクロルベンゼンの急性吸入暴露実験を実施した。前年度は殺虫剤のクロルピリフォスについて急性吸入暴露実験を実施した。今年度は殺虫剤ダイアジノン及びフェノブカルブについて発生法の検討を行い、動物に暴露した。

フェノブカルブの急性吸入暴露（2時間単回）実験に際しては、加温バブリング式の発生器を各暴露チャンパーに設置、これにより既設の配管設備を殺虫剤で汚染することなくまた暴露期間内の極低濃度ガスが得られ、動物への急性吸入暴露と肺及び肝臓サンプルの採取が終了した。濃度測定は捕集管法を用いることで、当初の目的達成を確認した。また、解析の精度と再現性の向上のために、（株）NTTデータとのマイクロアレイデータ解析技術開発に関する共同委託研究を実施した。

A. 研究目的

シックハウス症候群の様に、人における被害報告濃度と実験動物の器質変化濃度の乖離が指摘されてきた吸入毒性分野、特に極低濃度暴露による影響を考慮した評価法の迅速化、定量化、高精度化、を通して包括的システムとしての確立を目的とする。

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

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ため、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、これを埋めることを検討する。

横層流型の大型チャンバー(容積3m³、柴田科学、Photo. 1)を用いた。これはベンゼン等の気化性の高い物質の低濃度吸入暴露は比較的容易であるが、昇華性化学物質や難揮発性の殺虫剤に対応可能なものとするために、このシステムに変更を加える。また、室内汚染化学物質の濃度指針値を参考に、さらに難し

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、マウスに暴露し肝臓及び肺のサンプリングを行い、遺伝子発現解析に供する。

B. 研究方法

所有する暴露施設のシステムを改修、低揮発性の物質に対しても対応が可能なものとし、極低濃度暴露システムの開発・改良を加え、マウスを用いた2時間の急性吸入暴露実験を実施する。このために、極低濃度暴露のための化学物質の精密なガス発生方法、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検討を行う。

雄のC57BL/6CrSlcマウス(12週齢)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2時間の暴露中は給餌及び給水を行わなかった。動物室内の環境は、室温22±3℃、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±2℃、湿度55±5%、明暗サイクルは12時間点灯(8:00～20:00点灯、20:00～8:00消灯)とし換気流量は650L/分(13回/時)、動物室との差圧は-5～-10mmH₂Oとした。暴露チャンバーに供給する換気空気は、外気を空調機により温湿度調整後、HEPAフィルター及び活性炭フィルターを通し浄化した。この換気空気を用いて、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。排気は、空調室に設置した2層の大型の活性炭フィルターを通すことにより浄化した。

尚、ダイアジノン及びフェノブカルブの検討を計画するに際し、両化合物とも分析用の高純度製品を単一ロットで調達すること難しく(商社を通じて世界各国より調達してもバブリングによる発生に最低限度必要な100g程度しか購入できなかった)、従って、一つの化合物を2施設にまたがって実施することが困難となったことから、当方ではフェノブカルブの2時間曝露、長野班員ではダイアジノンの6及び22時間の7日間曝露について検討を行うこととした。

1. 単回暴露試験

フェノブカルブはカーバメート系の殺虫剤でコリンエステラーゼ活性阻害作用を有し、シロアリ防除剤として用いられている。シックハウス症においては、家の床下などに散布されたフェノブカルブが気化し、そのガスによりさまざまな症状を引き起こすといわれて

おり、室内濃度指針値の設定された化学物質の中でも特に重要とされている化合物である。

本物質を用い動物への暴露実験を行うに当たり、国際化学物質安全性カードあるいは化学物質等安全データシート等に記載されている蒸気圧、0.000074 mmHg(20℃)を基に発生するガス濃度の計算を行った。

フェノブカルブは、SIGMA-ALDRICH 社(株)製の純度97.4%(ガスクロ用標準品)を使用した。

フェノブカルブガスの発生は、低揮発性物質用の発生器を使用し(柴田科学、Photo. 3)、フェノブカルブを入れたビンを温浴にて加温するとともに、ゴアテックスチューブを装着したテフロン管からビンの検体液中へ発生空気を送り込み、ゴアテックスチューブからの微細バブリングによりガスを発生させ、これを搬送空気によりビンから出た直後に希釈してチャンバーへ送り込む方法である。フェノブカルブガスを暴露チャンバーへ送気する際には、温浴の湯を用いてこの送気パイプ壁を温めることで、管内に結露することを防いだ。既存の大型発生装置は発生させたガスを各チャンバーへのフローコントローラーを介し、流量を調整して分配するシステムであり、フローメーターの他、金属性の電磁弁、あるいは装置内のテフロン配管内に結露が生じ、発生器や配管内が殺虫剤で汚染される。それを避けるため発生器はL群からH群までの各チャンバーに近接して一台ずつ配置し、発生させたガスはフローメーターや金属性の電磁弁を通過させることなく、温浴の湯で温めたテフロン管を通して各チャンバーの直前の650L/分

の換気送風管ミキサーの直前に合流希釈させる方法を採用した。

フェノブカルブ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3.8 ppbを、最低濃度とし、公比3で12.0、38.0 ppbを目標として設定した。

濃度測定は捕集管(昭和電工、Autoprep PS@Gas、Photo. 2)を用いた。捕集管内のカラムにチャンバー内空気を1ないし2L/分で採気、捕集したフェノブカルブをアセトンで抽出し、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」が推奨する方法である(設定した濃度はガスクロ測定限界以下であり、また捕集管を用いてもガスマススペクトル法を用いるのが最適であると判断された)。L及びM群は2L/分、H群は1L/分で動物に暴露中のチャンバー内及び動物飼育室内の空気を定流量ポンプ(MPΣ-300、柴田科学、Photo. 2)により、120分間捕集管へ通した。捕集管の測定は、機関(財団法人化学物質評価研究機構東京事業所)に委託した。

2. 7日間連続暴露試験

ダイアジノンの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、実施した。

加えて、解析の精度と再現性の向上のために、マイクロアレイデータ解析技術開発研究(マイクロアレイの測定値をプローブ毎に補正し、より高精度の定量測定を行うための技術開発)を委託し、従来、除去不能であった

クロスハイブリダイゼーションによる系統誤差を補正する諸技術の開発・改良を実施した。

(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

1. 単回暴露試験

フェノブカルブは融点が32°C、常温では液体である。国際化学物質安全性カードあるいは化学物質等安全データシートに記載されている蒸気圧は、0.00986 Pa (20°C) (0.000074 mmHg)である。この蒸気圧データを基に、加熱バブリング法によりフェノブカルブを気化させることで一定濃度のフェノブカルブ蒸気を得ることが可能と思われた。

既存の大型発生装置を用いて高温に加熱しガスを発生させた場合、発生装置内の流路、電磁弁、フローメーター、フローコントローラーやテフロン配管内への検体の結露等による付着が考えられる。次検体への移行の際に付着した殺虫剤を除去することが大きな問題となるため、既存の大型発生器を使用しない方法を検討した。クロルピリフォスで用いた個別の過熱バブリング法の発生器の配管部品全てを、新品と交換して用いることとした。

フェノブカルブのマウスへの暴露濃度は、室内汚染化学物質の室内濃度指針値である

3.8ppb ($33 \mu\text{g}/\text{m}^3$) を、最低濃度とし、高濃度を38.0、中間濃度を12.0ppbと設定した。

各暴露群の動物を収容するケージに隣接設置したパイプより2本の捕集管(昭和電工、Autoprep PS@Gas、Photo. 2)へと、定流量ポンプ(MPΣ-300、柴田科学、Photo. 2)を用い、吸入チャンバー内の空気をH群は1L/分、それ以外は2L/分で120分間(或いは、240分間)吸引、捕集管内のフェノブカルブはアセトンで溶出させてガスマススペクトル法により測定した。この捕集管法は、「シックハウス(室内空気汚染)問題に関する検討会」が推奨する方法のひとつである。分析測定は、財団法人化学物質評価研究機構東京事業所に委託した。

初回の濃度測定試験は、発生空気量を5.0L/分とし、発生器の加温温度を60、65、70°C、発生したガスを一次希釈する空気量を1.0L/分としチャンバーの総換気空気650L/分により更に希釈しチャンバーへ供給し、どの程度の濃度が得られるかを試みた。60°Cでは7.8ppb、65°Cでは12.5ppb、70°Cでは17.5ppbが得られ(Fig. 1)、フェノブカルブガスの発生および濃度測定の確認ができ、また目標濃度を達成することが可能であると判断した。

全発生器の温浴温度を80°Cとし、発生空気量を目標濃度3.8ppbのL群を2.0L/分、12ppbのM群を4.0L/分、38ppbH群を13.0L/分で発生させ一次希釈空気1L/分とともに送気、チャンバーの総換気空気650L/分により更に希釈した。濃度はL及びM群は20及び45ppbと高いが、H群は目標値に近い43ppbが得られた(Fig. 2)。

2回目の濃度測定試験では、全群の温浴温度はLとM群で70°C、H群で80°C、一次希釈空気量

を1L/分の設定と同じまま、発生空気量を目標濃度3.8ppbのL群のチャンバーには1.2L/分、12ppbには4L/分、38ppbには11.4L/分を送気、チャンバーの総換気空気650L/分により希釈した。濃度は、L群は9.7ppbと目標濃度より高く、M群は7.7ppb、H群は24ppbと低い値となった(Fig. 3)。

これまで本研究で行ってきた物質はおおむね室温レベルの温度でガスの発生が可能であったが、フェノブカルブでは70あるいは80°Cの高い温度で加熱しバブリングしていることから、発生させたガス中に分解物が含有しているかどうかを危惧された。分析の結果、フェノブカルブ分解物等と考えられる2つのピーク(①及び②)が観察され(Fig. 4-1)、ピーク①はフェノブカルブ分解物である2-(1-Methylpropyl)-phenolと推定されたが、ピーク②については特定できなかった。これらの分解物が恒温槽内で生じているかどうかを調べるため、過熱バブリング中の発生用原液を採取し分析したところ、分解物は検出されなかった(Fig. 4-2)ことから、分解物は加温原液中ではなく、ガス化した後に生成されるものと考えられた。バブリング部分に送る発生空気を窒素ガスに代えても空気と同様の分解物が検出された(Fig. 5)。実際に殺虫剤として使用されている温度を想定し、25°Cでフェノブカルブガスを発生させ、分解物が生成されているかどうかを調べた。極めて低濃度となるため、通常は2時間の捕集管サンプリングを24時間行い、分析を行った結果、70あるいは80°Cで発生させていると同様の分解物の生成が確認された(Fig. 6)。この結果から、これら

の分解物は常にフェノブカルブガスと一緒に存在することが判明した。尚、ここで生成された分解物①の2-(1-Methylpropyl)-phenolは、o-sec-ブチルフェノールとも言われ、化審法において第二種監視化学物質とされているものである。

3回目の濃度測定試験では、発生空気量を目標濃度3.8ppbのL群チャンバーには0.55L/分、12ppbのM群には4.0L/分、38ppbのH群には10.1L/分を送気、チャンバーの総換気空気650L/分により希釈した。その結果、濃度はH群では43ppbと高いが、L及びM群では3.2及び10.5ppbとやや低いものの目標濃度に近い値が得られた(Fig. 7)。

4回目の濃度測定試験では、発生空気量を目標濃度3.8ppbのL群チャンバーには0.76L/分、12ppbのM群には4.84L/分、38ppbのH群には9.00L/分を送気、チャンバーの総換気空気650L/分により希釈した。濃度はH群では41.5ppbと高いが、L及びM群では3.1及び11.0ppbとやや低いもののほぼ目標濃度に近い値が得られた(Fig. 9)。

本試験においては、これまでの濃度試験結果を基に流量を決定、L群3.8ppbには0.5L/分、M群12ppbには4.0L/分、H群38ppbには8.0L/分を流入させた。濃度は3.5、12.0、48.5ppbが得られ(Fig. 11)、L群ほど低く、M群は高いがH群は目標濃度が得られた。

フェノブカルブの分析には、残留農薬の分析法として液体クロマトグラフィーあるいは質量分析検出器によるガスクロマトグラフィーを用いたものがある。これらは、個体から有機溶媒へ溶出させて濃度を測定する方法で

ある。本試験においては、ガス体の濃度を測定するため、気体中のフェノブカルブを捕集しその後に溶出させて同様の測定を行うことになる。また1ppb未満の濃度を高感度に検出するには、質量分析を行うことが最適とされており、「シックハウス(室内空気汚染)問題に関する検討会」でも推奨している方法である。

尚、対照群チャンバー内濃度は、ガスマス定量下限値の0.04ppb($\mu\text{g}/\text{m}^3$)未満であり、室内濃度も0.045 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ と定量下限値付近の値であり、実験に影響を及ぼす様な濃度ではなかった。

2. 7日間連続暴露試験

ダイアジノンの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た。室内濃度指針値が0.02ppbであることから、目標濃度を0.02、0.07、0.20ppbと設定し、バブリング法によりガスを発生させ、捕集管法にて濃度を測定した。チャンバー内の濃度は、6時間では0.0215 \pm 0.0010、0.0822 \pm 0.0038、0.2325 \pm 0.0127 ppb、22時間では0.0213 \pm 0.0015、0.0704 \pm 0.0047、0.2131 \pm 0.0107 ppbとほぼ目標濃度を達成し、動物に対する暴露を実施した。

3. マイクロアレイデータ解析技術開発に関する共同開発委託研究：

解析の精度と再現性の向上のために、マイクロアレイデータ解析技術開発研究(MLANG最適化研究、すなわちマイクロアレイの測定

値をプローブ毎に補正し、より高精度の定量測定を行うための技術開発研究)を(株)NTTデータに委託し、従来、除去不能であったクロスハイブリダイゼーションによる系統誤差を補正する諸技術の開発・改良を実施した。

その結果、MLANG補正後のデータを用いても異常中断することなくクラスタリング処理できるようになり、さらに従来は判別の難しかった非発現遺伝子群("ZERO"発現群)を特定・抽出することにも成功した。

D. 考察及び結論

1. 単回暴露試験

室内汚染化学物質の中でも殺虫剤等のような蒸気圧の低い化合物に応用可能な、温浴により加熱してバブリングによりガスを発生させる装置を製作した。フェノブカルブの分解物に関しては、不活性ガスとして窒素を用いてガスを発生させたが、分解物の生成を抑制することができず、実際に使用されている常温環境においても分解物が生成していることが判明し、これらの分解物は常温環境においても常にフェノブカルブと共存しているものと思われる。ヒトが室内で暴露されるのと同じ条件であることに鑑み、これらの分解物の除去は行わずに混合ガスとして暴露した。フェノブカルブの濃度としては、L群は3.5ppbと目標より8%ほど低く、H群は48.5ppbと目標より28%高いが、M群は目標濃度21.0ppbを達成し、用量段階のある濃度で動物に暴露させることができた。

フェノブカルブの濃度の測定法は、捕集管法を選択した。この方法は捕集管内のカラム

に吸着したフェノブカルブをアセトンで抽出し、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」が推奨する方法である。暴露濃度が3.8ppbの極低濃度であり、この方法が最適と考えられた。尚、対照群のチャンバー内濃度は、定量下限値の0.04ppb($0.3\mu\text{g}/\text{m}^3$)未満であり、室内濃度も0.07ppbと定量下限値付近の値であり、実験に影響を及ぼすような濃度ではなかった。

2. 7日間連続暴露試験

ダイアジノンの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て行われた。いずれの試験も、チャンバー内の被験物質濃度は6時間では0.0215、0.0822、0.2325 ppb、22時間では0.0213、0.0704、0.2131 ppbと目標濃度をほぼ達成した。

今後の試験において、室内汚染化学物質として指針値が示されている残りの化学物質のガス化は更に困難と思われ、これらの性状を精査検討した上で発生方法を試みる必要があり、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実験が行えるよう継続して発生法の検討を続けている。

3. マイクロアレイデータ解析技術開発に関する共同開発委託研究:

マイクロアレイの測定値をプローブ毎に補正し、より高精度の定量測定を行うための技術開発研究を(株)NTTデータに委託し、その結果、シックハウスレベルの極低濃度暴露

実験において存在が予測される、真の微小変動を呈する遺伝子を、ノイズや非発現のデータから分離することが可能になると考えられ、網羅的遺伝子発現解析技術による気化性化学物質リスク評価において、格段の高感度化・高精度化の実現が期待される。

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する。

国際化学物質安全性カード

<http://www.nihs.go.jp/ICSC/icssj-c/icss0271c.html>

化学物質等安全データシート

<http://www.j-shiyaku.or.jp/home/msds/>

Environmental Health Criteria 131

<http://www.nihs.go.jp/hse/ehc/sum1/ehc131.html>

化学物質の初期リスク評価書

[http://www.safe.nite.go.jp/risk/files/pdf_hyoukasyo/272riskdoc.pdf#search='Bis\(2ethylhexyl\)phthalate'](http://www.safe.nite.go.jp/risk/files/pdf_hyoukasyo/272riskdoc.pdf#search='Bis(2ethylhexyl)phthalate')

JRC EUROPEAN COMMISSION, Institute for Health and Consumer Protection Toxicology and Chemical Substance (TCS), European Chemicals Bureau, I-21027 Ispra (VA) Italy.

[http://ecb.jrc.it/documents/Existing-Chemicals/RISK_ASSESSMENT/SUMMARY/dehpsum042.pdf#search='Bis\(2ethylhexyl\)phthalate'](http://ecb.jrc.it/documents/Existing-Chemicals/RISK_ASSESSMENT/SUMMARY/dehpsum042.pdf#search='Bis(2ethylhexyl)phthalate')

環境省、平成13年度室内空気調査

<http://www.env.go.jp/chemi/end/kentou1402/mat/mat03-2.pdf>

環境省、化学物質ファクトシート-2003年度版

<http://www.mhlw.go.jp/shingi/2005/04/dl/s0419-5e1.pdf>

E. 研究発表

なし

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし



Photo. 1 3m³横層流大型チャンバー(柴田科学)

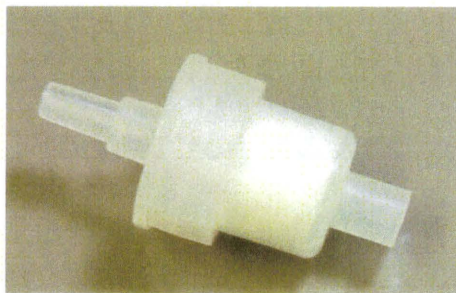


Photo. 2 捕集管(昭和電工、*Autoprep PS@Gas*)



採気用ポンプ
(柴田科学、MPΣ-300)

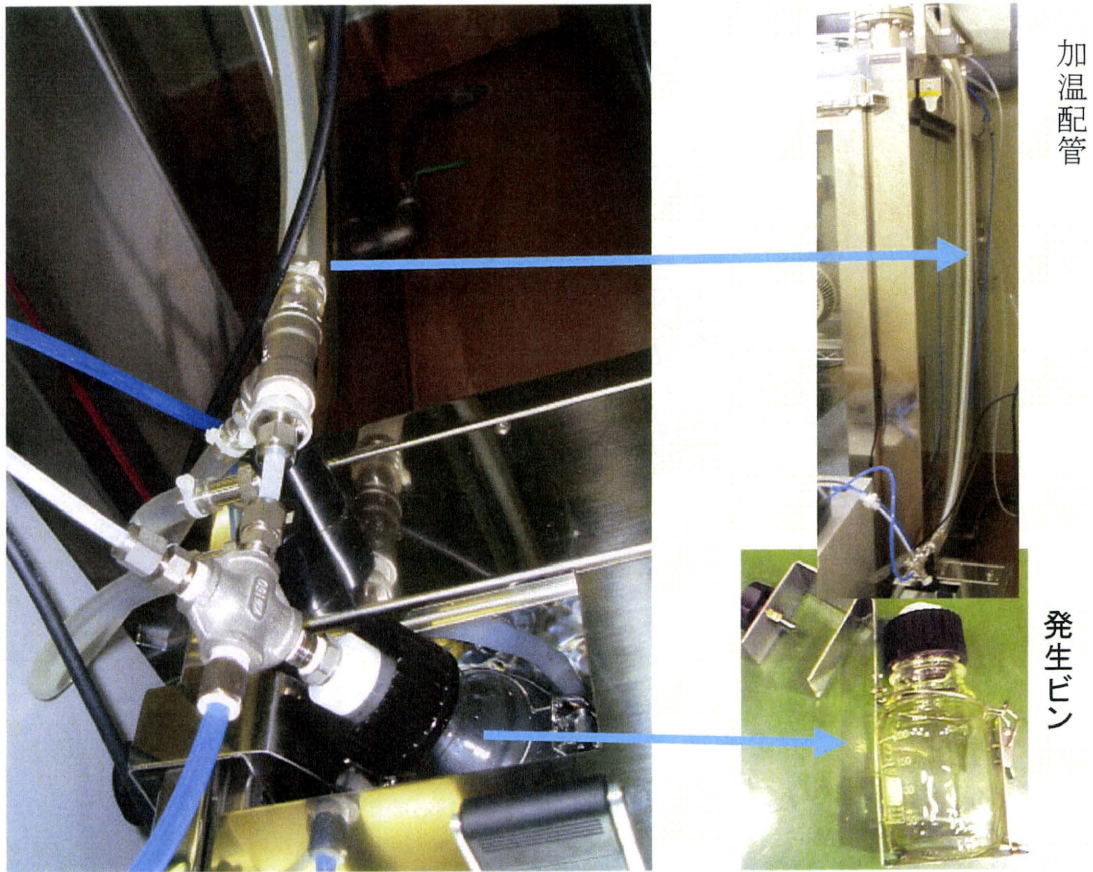


Photo. 3 フェノブカルブガス発生装置(柴田科学)

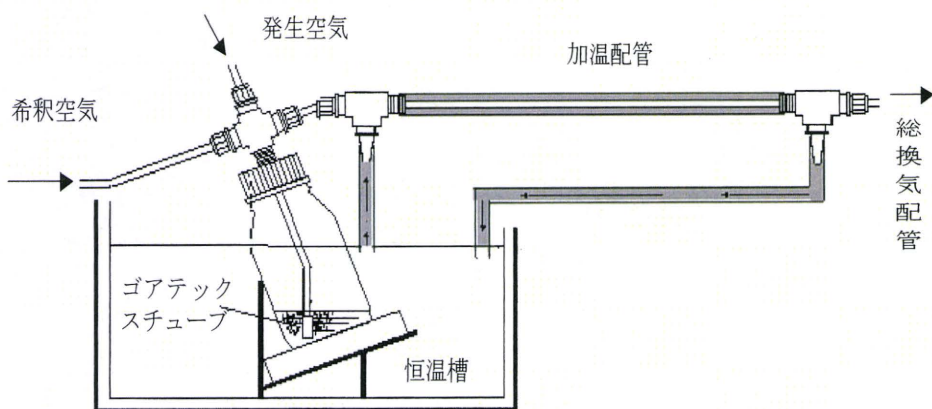


Photo. 4 フェノブカルブガス発生装置と加温配管の略図

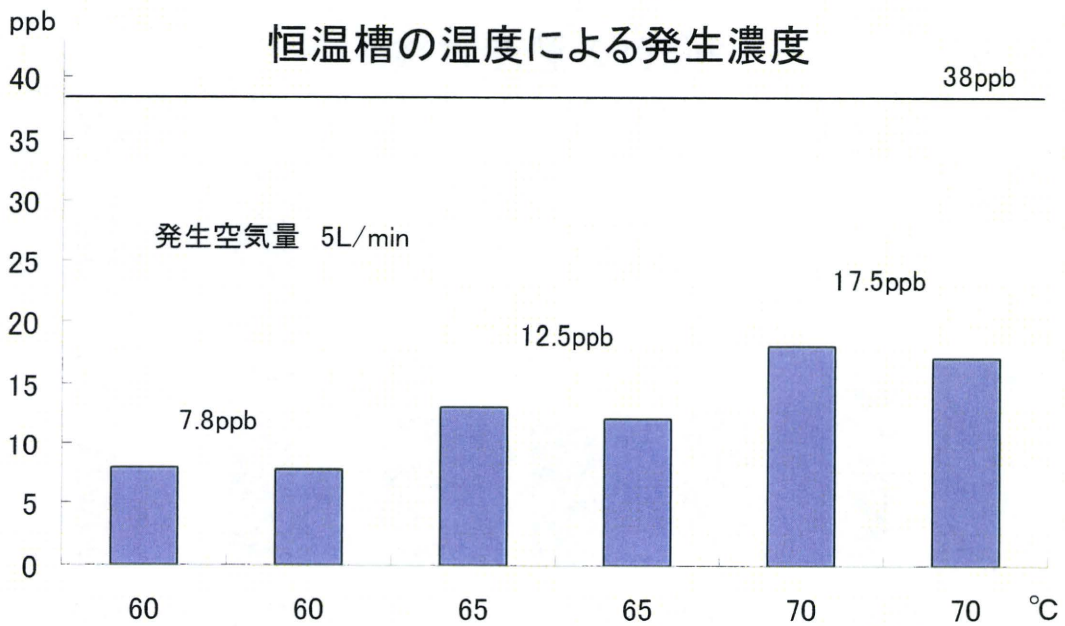


Fig.1 溶融バブリング式で発生させたフェノブカルブガスの発生試験

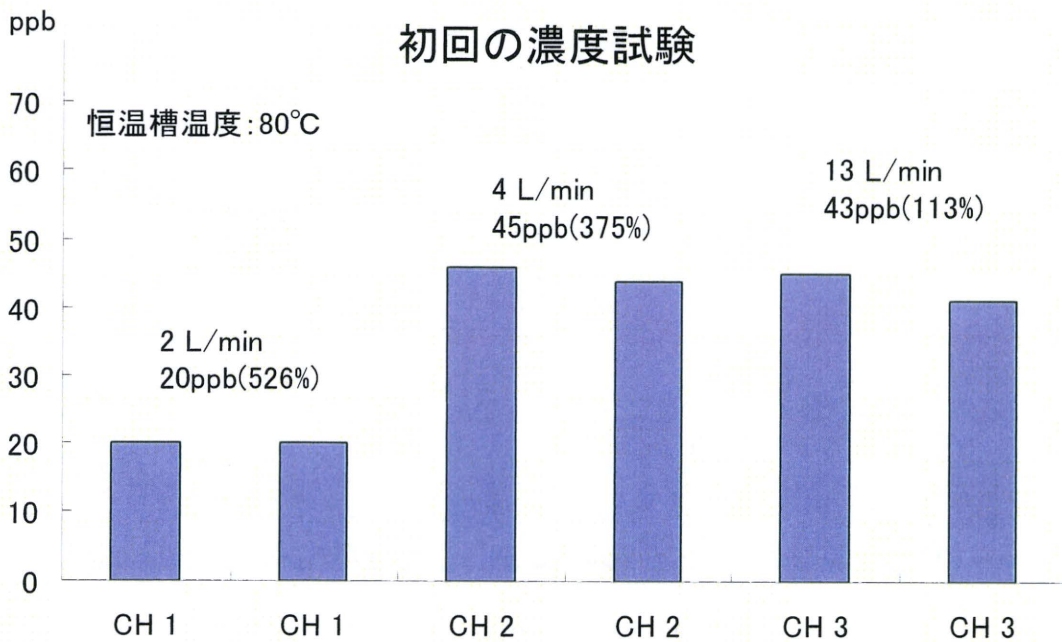


Fig.2 フェノブカルブの初回の濃度試験

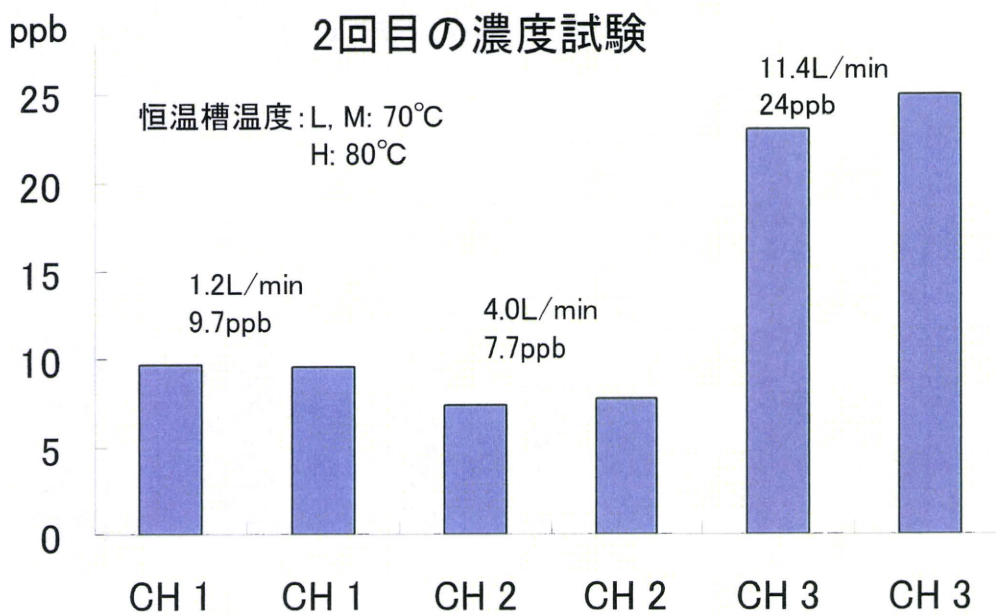


Fig.3 フェノブカルブの2回目の濃度試験

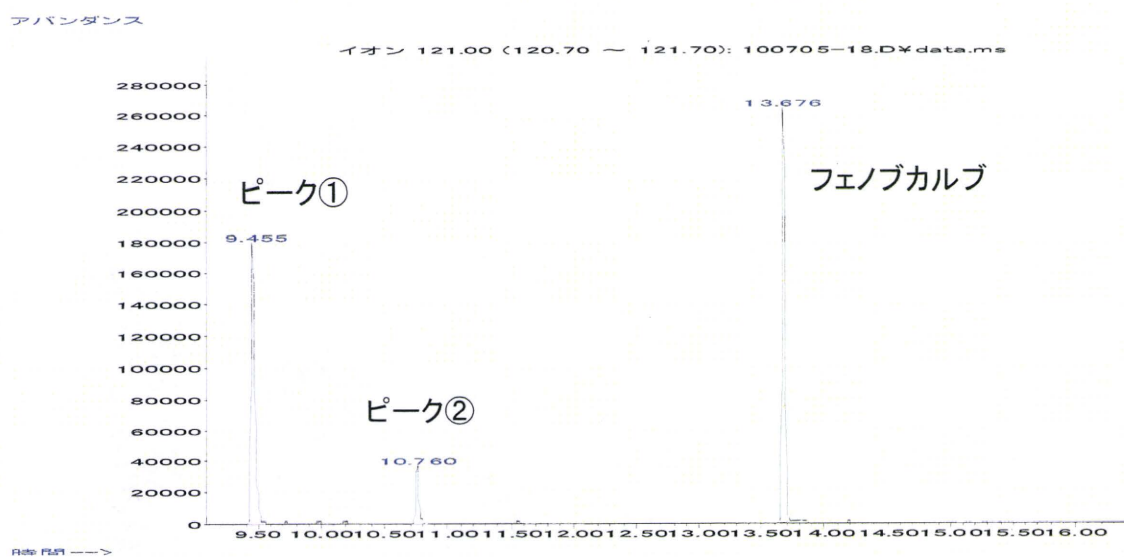


Fig.4-1 L群の濃度分析試料のSIMクロマトグラム

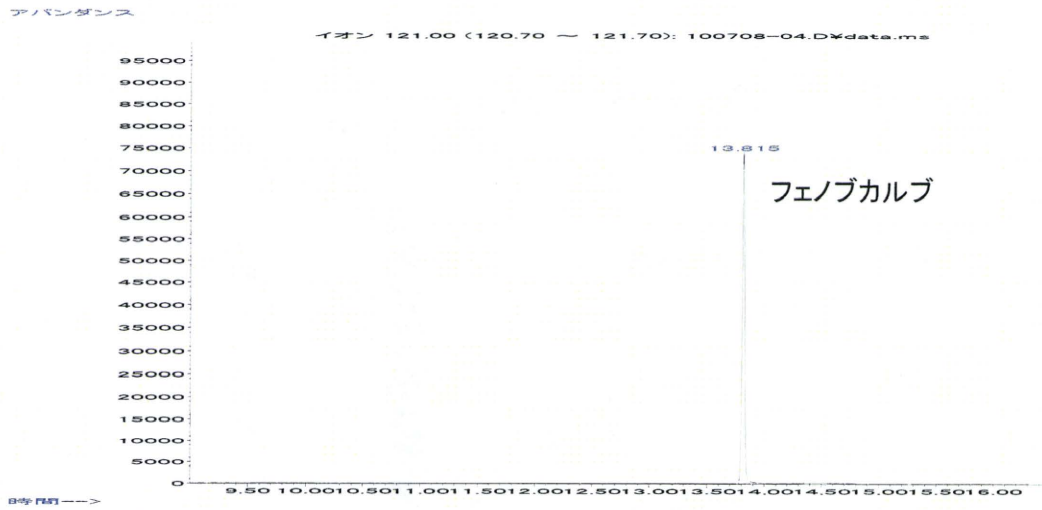


Fig.4-2 原液のクロマトグラム

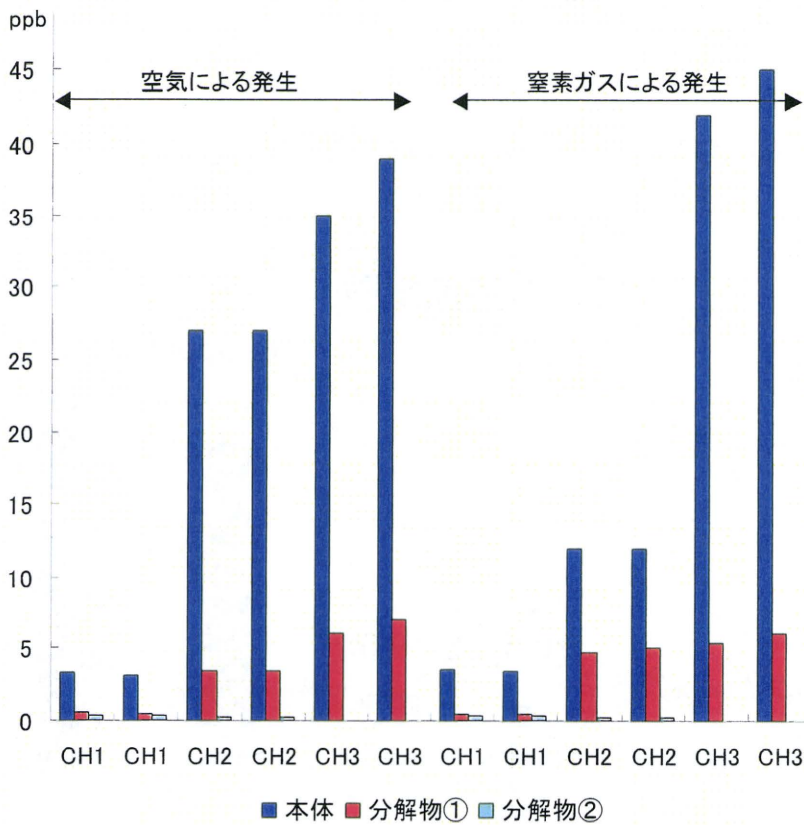


Fig.5 フェノブカルブの空気と窒素ガスを用いた分解物の発生比較

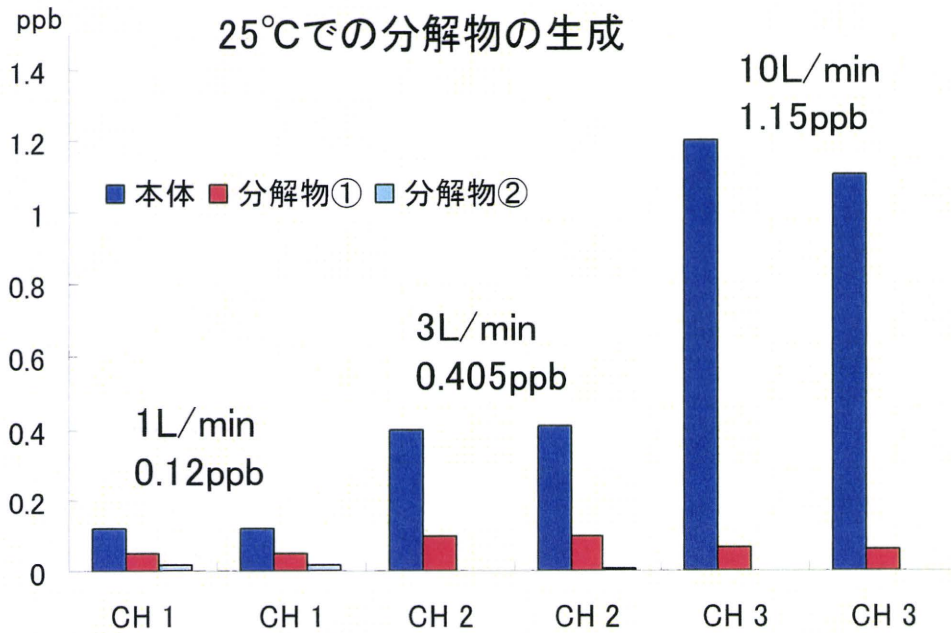


Fig.6 25°Cの時のフェノカルブ分解物生成確認試験

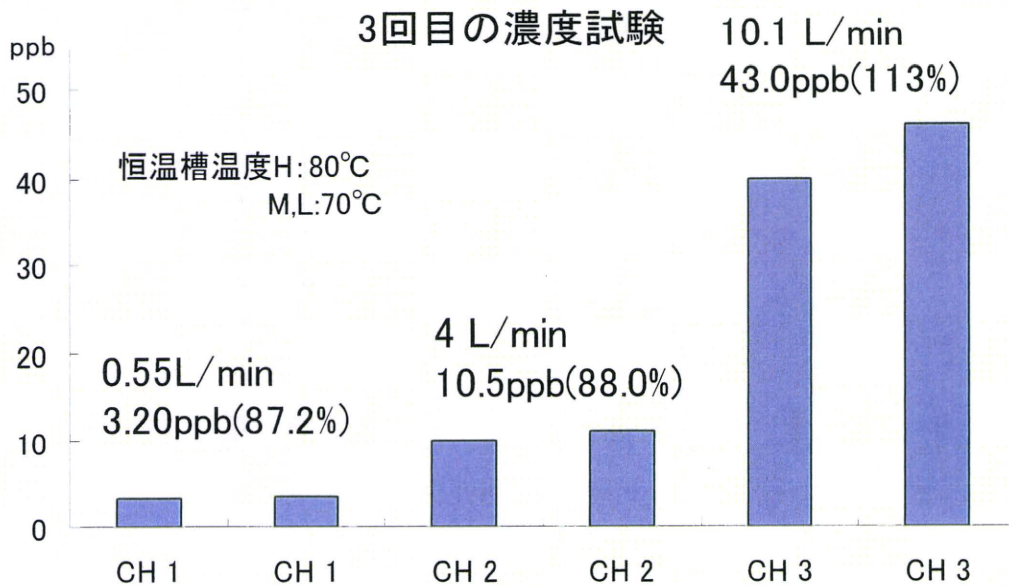


Fig.7 フェノカルブの3回目の濃度試験

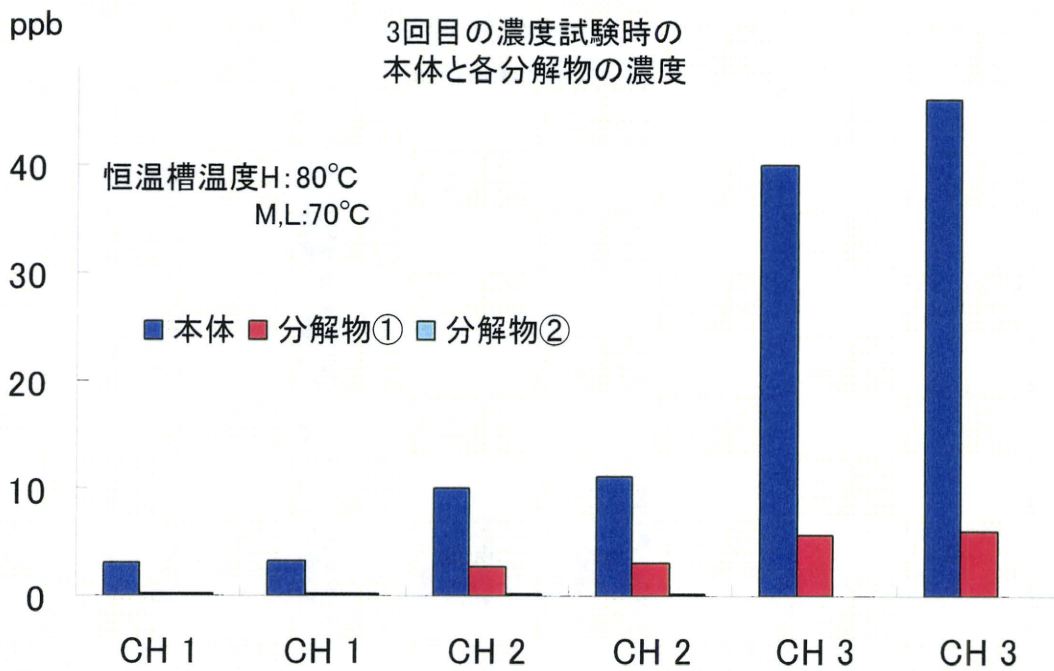


Fig.8 フェノブカルブの3回目の分解物濃度

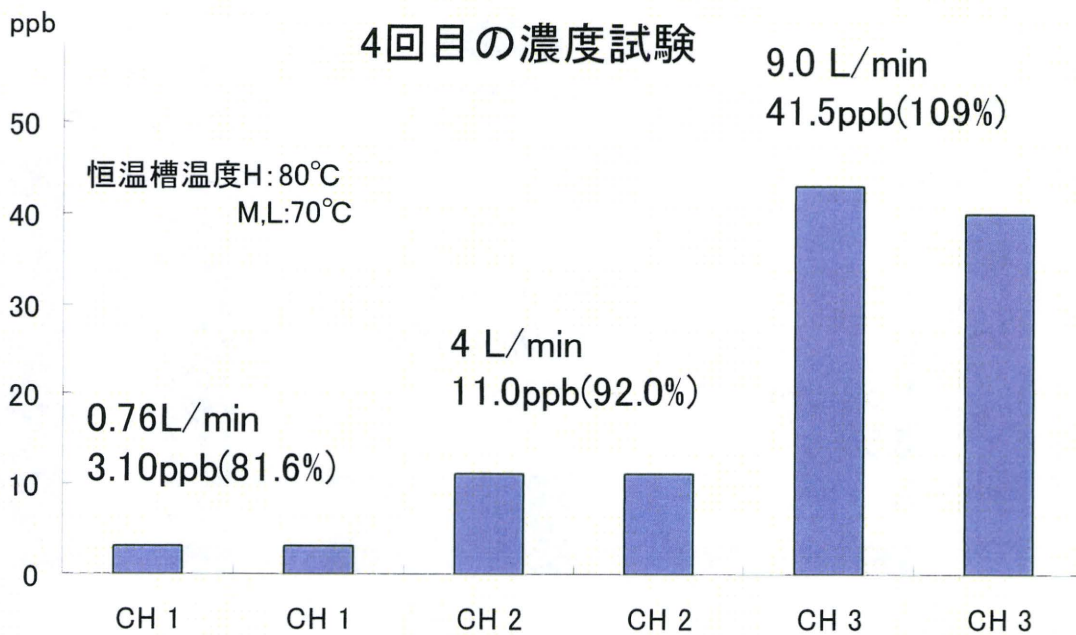


Fig.9 フェノブカルブの4回目の濃度試験

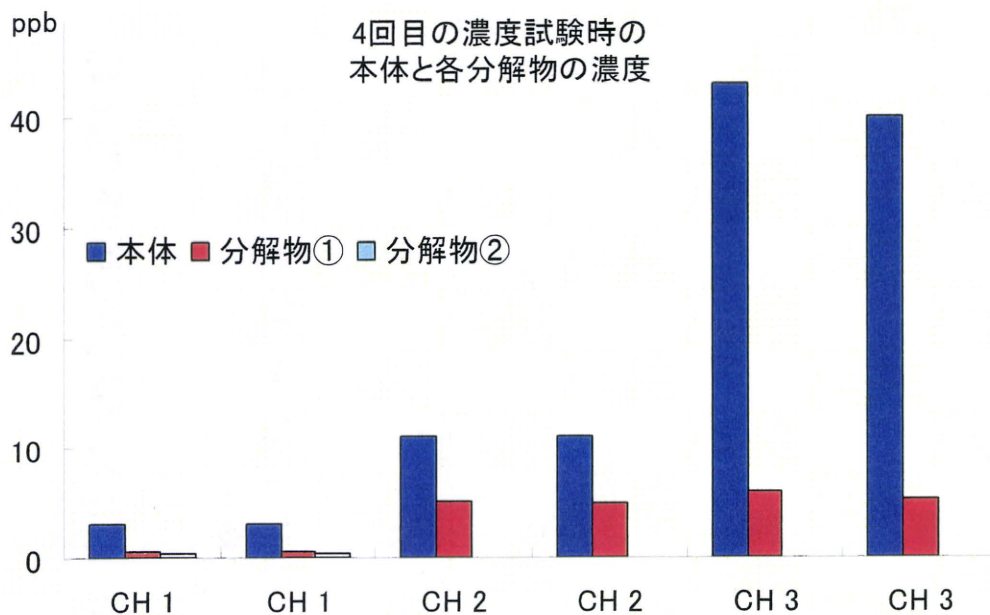


Fig.10 フェノブカルブの4回目の分解物濃度

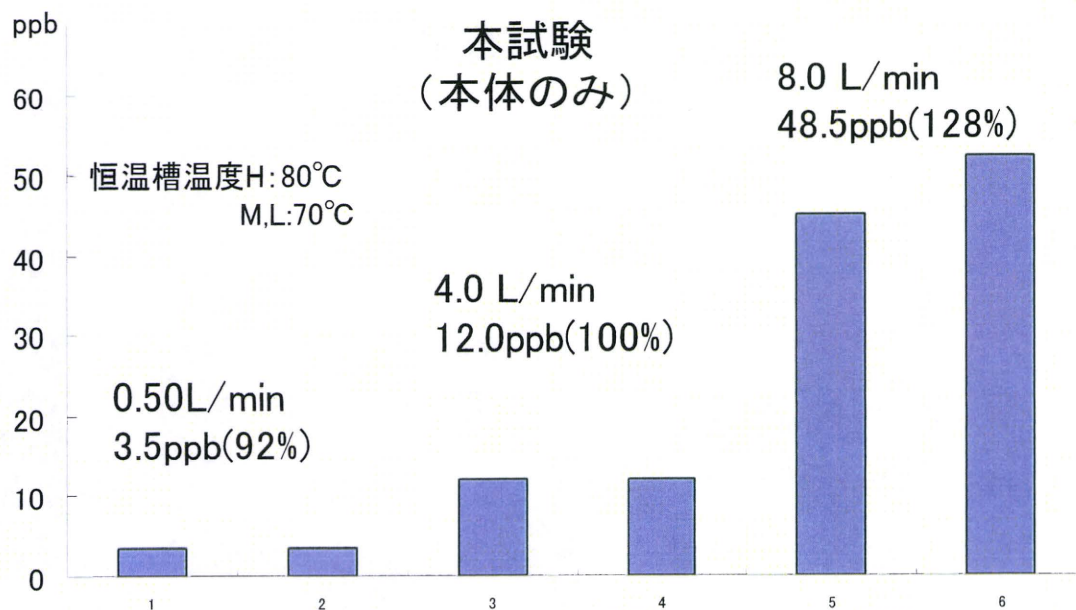


Fig.11 フェノブカルブの本試験濃度

委託研究報告書

I) ダイアジノンのマウスを用いた極低濃度暴露試験

報告書

(6時間/日、7日間暴露)

試験番号 : 0762

CAS No. 333-41-5

中央労働災害防止協会

日本バイオアッセイ研究センター

要約

化学物質の極低濃度暴露による生体影響検出の技術開発を目的として、生活環境中の濃度に即した極低濃度のダイアジンを C57BL/6J 雄マウスに 6 時間/日、7 日間全身暴露（経気道投与）し、遺伝子発現解析用の肺及び肝臓組織を採取した。

本試験は、被験物質投与群 3 群と対照群 1 群の計 4 群の構成で、各群 12 匹、合計 48 匹のマウスを用いた。暴露濃度は、0.02、0.07 及び 0.2 ppb とした。対照群は清浄空気による換気のみとした。吸入チャンバー内の被験物質濃度は、固相吸着-溶媒抽出法により測定した。1 回目暴露終了時、並びに暴露開始後 1 日目、3 日目及び 7 日目に各群 3 匹の動物を解剖し、肺と肝臓から遺伝子発現解析のための RNA 用サンプルを採取するとともに、病理組織学的検査用サンプルを採取した。

吸入チャンバー内の被験物質濃度は、目標暴露濃度 0.02、0.07 及び 0.2 ppb に対し、測定値の平均±標準偏差（最低～最高値）は、それぞれ 0.022 ± 0.001 ppb (0.018 ppb～0.025 ppb)、 0.082 ± 0.003 ppb (0.073 ppb～0.091 ppb) 及び 0.233 ± 0.013 ppb (0.187 ppb～0.258 ppb)であった。

剖検と病理組織学的検査では、全動物とも肺及び肝臓に特記すべき所見を認めなかった。遺伝子発現解析のための RNA 用サンプルは試験委託者に送付した。