

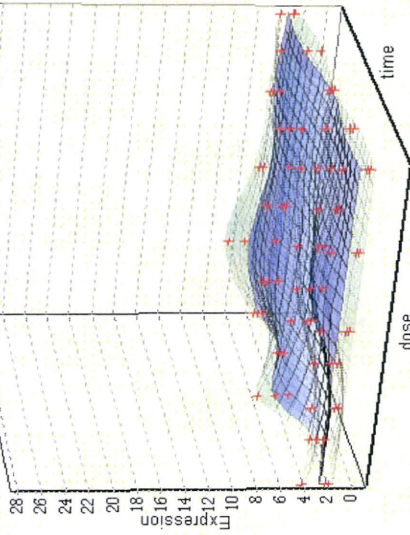
5.係数学習後の補正性能 MAS5/MLANG結果比較



MAS5/MLANGで異なる変動と思われるプロブセットの例 (1456149_at : D11Bwg0517e)

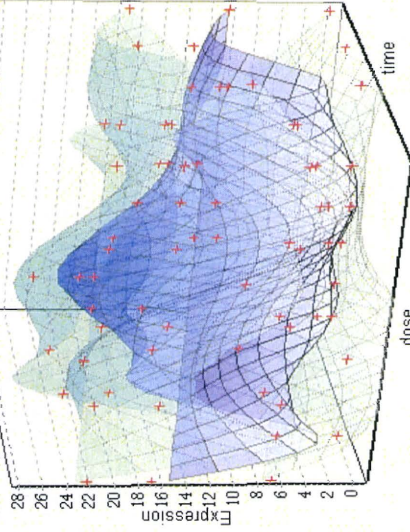
MAS5

TTG020-L_SpNC_1456149_at
D11Bwg0517e
(27/0)



MLANG

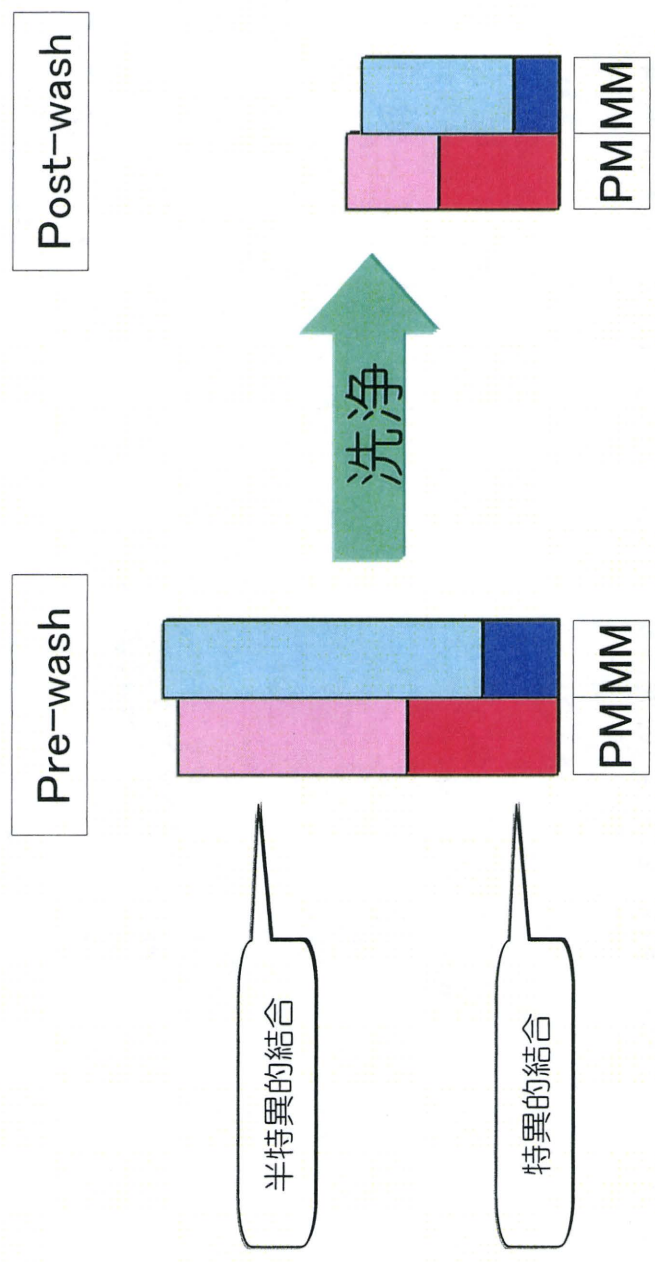
perclin_TTG020-L_456149_at
D11Bwg0517e
(27/0)



MAS5では、3コピー程度の発現で、制御を受けていないようにみえる。MLANGでは、10コピー以上の発現があり、制御を受けた変動と思われる

5.係数学習後の補正性能 MAS5/MLANG結果比較

1456149_at : D11Bwg0517eの結果を導くと想定される現象



MM側に半特異的結合しやすいRNAが存在して、洗浄後にPMとMMが同程度残る場合

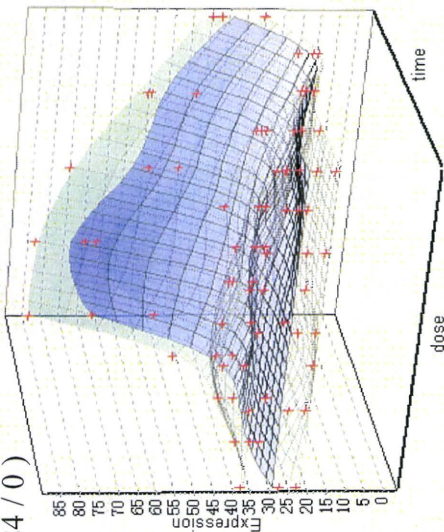
洗浄後に、特異的結合と半特異的結合が同程度量残ると、MAS5では、PM/MMの差異を用いて発現量を計算するので、小さな値を示す。

5. 係数学習後の補正性能 MAS5/MLANG結果比較

MAS5/MLANGで異なる変動と思われるプロープセットの例 (1456125_a_at : Dynll1)

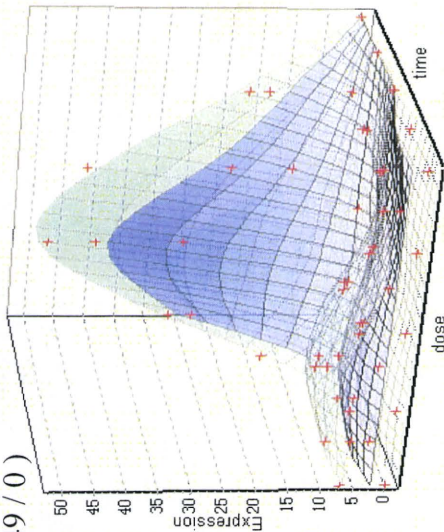
MAS5

TTG020-L_SpNC_40_125_a_at
Dynll1 /// Gm6788
(84 / 0)



MLANG

perclin_TTG020-L_40_125_a_at
Dynll1 /// Gm6788
(49 / 0)



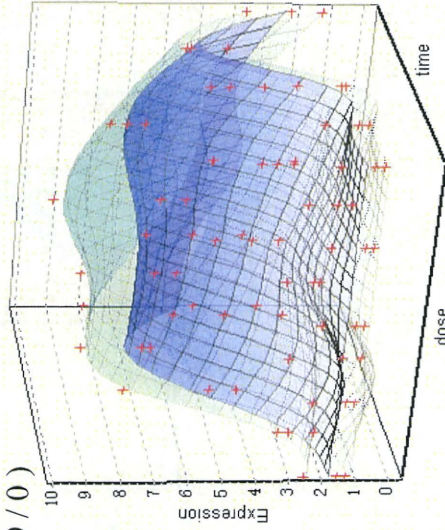
MAS5では、通常30コピー程度の発現があり、24時間で発現しているようにみえる。
MLANGでは、通常発現しておらず、化合物影響として24時間で発現しているとみえる。

5. 係数学習後の補正性能 MAS5/MLANG結果比較

MAS5/MLANGで異なる変動と思われるプロブセットの例 (1452766_at : Tppp)

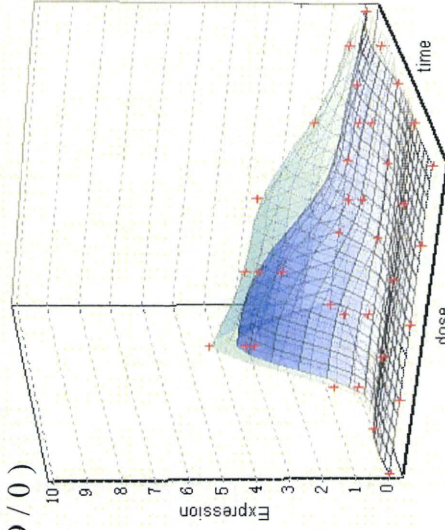
MAS5

TTG020-L_SpNC_102766_at
Tppp
(9/0)



MLANG

perclin_TTG020-L_20110126
Tppp
(9/0)

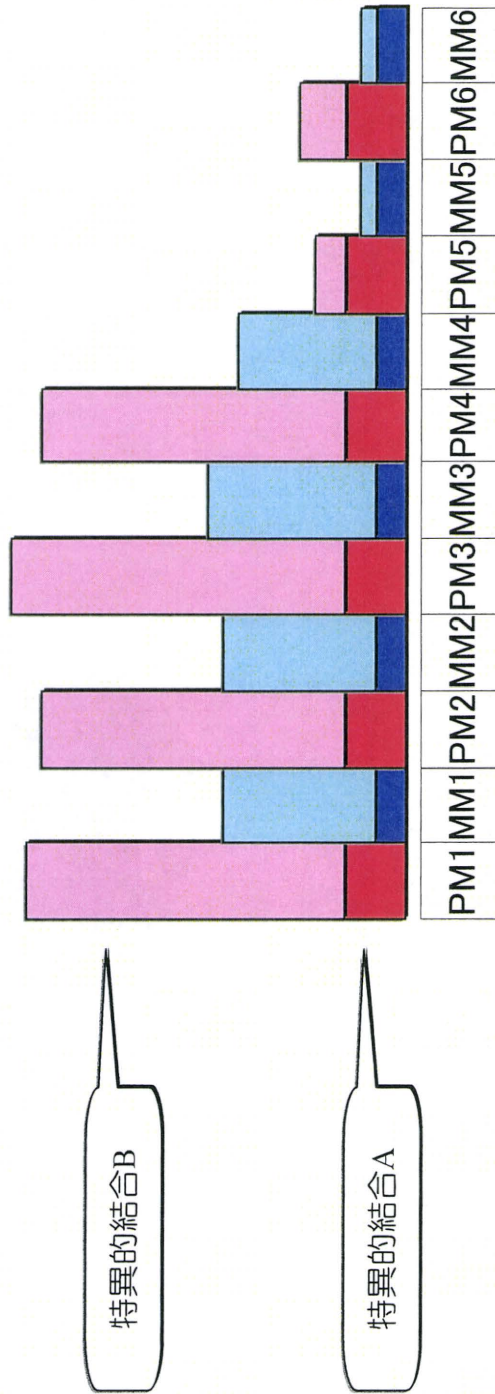


MAS5では、サーカディアンらしき変動をしているとみえる。MLANGでは、通常発現しておらず、化合物影響として8時間で発現しているとみえる。

5. 係数学習後の補正性能 MAS5/MLANG結果比較

1456125_a_at : Dynll1および1452766_at : Tpppの結果を導くと想定される現象

洗浄後プローブセット



スライシングバリエーションが存在する場合

MAS5では、プローブセット内でMedianを用いて発現値を計算するため、多くのプローブを占める発現値に近い値が推定値となる。図の場合には特異的結合Bによる蛍光値が中心である。MLANGでは、学習の結果どちらが中心となるか決定される。

6.まとめ

高発現域

MASSでは、補正できていない飽和状態の遺伝子を補正できた

QPCRと比較し確認した。

低発現域

MASSと発現パターンが異なる遺伝子が多く存在した

半特異的結合による説明が可能か確認した。

残念ながら、MLANGによる推定値とMASSによる推定値のどちらがより真の値に近いかをこれらの推定値だけから判定することは困難である。

今後の課題

真の値に近いならば、遺伝子の特性を示す値が豊富に得られるはずであると考え、多くの実験結果に対してMLANGによる補正を実施し、単に化合物の影響だけでなく、餌、季節、溶媒などの影響が実験結果から抽出可能か確認する。

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 毒性部
研究協力者 北嶋 聡、高橋祐次、山本雅也、安彦行人、近藤優子、同毒性部

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の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プロトコール、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。これは、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、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、加熱溶解バブリング法により発生器を製作し、殺虫剤のクロルピリフォス及びフェノブカルブについて急性吸入暴露実験(2時間単回)を実施した。パラジクロルベンゼン、クロルピリフォス及びダイアジノンについては、日本バイオアッセイ研究センターに委託し、一日6及22時間の7日間曝露を実施した。フタル酸ジエチルヘキシルは蒸気圧が低く、目標のガス濃度が得られないため実験を中止した。

パラジクロルベンゼンの急性吸入暴露(2時間単回)実験に際しては、発生器及び発生空気を加温する装置を開発することが出来、これにより暴露期間内の極低濃度ガスが得られ、クロルピリフォス及び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、加温溶解バブリング式の発生器を開発し各暴露チャンバーに設置、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が可能となり、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を達成した。以上、2期にわたる本研究班において、室内濃度指針値が示されている13物質のうち、10物質についての暴露実験を行うことができた。

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、ベンゼン等の気化性の高い物質の低濃度吸入暴露が比較的容易であるが、このシステムに変更を加え、昇華性化学物質や難揮発性の殺虫剤にも対応が可能なものを研究開発し、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、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/6J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/6J(日本チャールスリバー)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 $55 \pm 5\%$ 、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 3m^3 、柴田科学、Photo. 1)を用い、内部環境は温度



Photo. 1 大型横層流暴露チャンバー
(容積 3m^3 、柴田科学)

$23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、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 $650\text{L}/\text{分}$ (13回/時)、室内との差圧は $-5 \sim -10\text{mmHg}_2\text{O}$ とした。暴露チャンバーに供給する空気は、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。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。

1. 単回暴露試験

1) フタル酸ジエチルヘキシル(DEHP)

DEHPは硬いポリ塩化ビニルに柔軟性を与える唯一の化学物質である。DEHPで柔軟性を与えられたプラスチックは、建材、食品容器、及び医器具など多数の製品中に見られる。DEHPはプラスチック中で強固な化学的結合を形成しないので、ある量は外部に漏れ出ることがあり、食品、屋内空気、家庭内のほこり及び医療に関連する様々な物質や用品中で検出されている。

DEHP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、 0.001 kPa (20°C)を基に発生するガス濃度の計算を行った。バブリング法を利用する発生系(柴田科学、Photo. 2)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が可能と思われた。



Photo. 2 バブリング式発生器(柴田科学)
DEHPの Maus 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 7.6 ppb から、低濃度を 7.6 ppb とし、公比3で $25, 76\text{ ppb}$ と目標とした。

DEHPは、和光純薬(株)製の純度 97% を使用した。

上記の極低濃度を測定するため、捕集管法(スペルコ、ORB0-5020、Photo. 3)を用いた。



Photo. 3 捕集管(スペルコ、ORB0-5020)

捕集管法は捕集管内のカラムにチャンバー内空気を流し、捕集したDEHP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。1L/分で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. 4)により、120分間捕集管へ通し、この捕集管を測定機関(財団法人化学物質評価研究機構東京事業所)に送付し、分析を依頼し



た。
Photo. 4 定流量ポンプ(MPΣ-300、柴田科学)

2) パラジクロロベンゼン(p-DCB)

p-DCBは衣類の防虫剤やトイレの芳香剤として家庭において多用されている物質である。これらを使用するタンスやトイレから流出して、家庭の室内を汚染することが知られている。

p-DCB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、170 Pa(20°C)を基に、発生するガス濃度の計算を行った。p-DCBは、和光純薬工業(株)製の純度98.0%を使用した。p-DCBの暴露試験は、蒸気圧の低い昇華性の化合物にも応用可能な多段式の発生器を新たに設計製作し、使用する予定であった。しかし、発生器の能力検査の段階でドア部に漏出が発見されたため、再度点検修理を行うこととした。実際に用いたp-DCB用発生装置は、ガラス瓶と恒温槽を用いて別途製作し(Photo. 5)使用した。高圧空気を二つの流路に分け、一方は温浴を通してp-DCBを入れた温浴中のガラス瓶へ流量計で調整しつつ導入し、もう一方の高圧空気はガラス瓶から出た高濃度のp-DCBを直ちに希釈するため合流させ、この一次希釈したガスをそれぞれの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希釈混合し流入させることで目標濃度が得られ、暴露を行うことが可能と思われた。



Photo. 5 p-DCB用発生装置

p-DCBの Maus 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($240 \mu\text{g}/\text{m}^3$)から、低濃度を0.04ppmとし、公比3で0.12、0.4ppmと設定した。

上記の極低濃度を測定するため、捕集管(活性炭カラム、柴田科学、Photo. 6)を用いる方法を選択した。捕集管法は活性炭カラムにチャンバー内空気を流し、活性炭に捕集した有機ガスを有機溶剤で抽出し、これをガスクロマトグラフで測定する方法で、「シックハウス

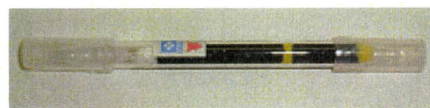


Photo. 6 捕集管(活性炭カラム、柴田科学)

(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。Maus への120分間の暴露中のチャンバー内及び動物飼育室内空気を定流量ポンプ(1L/分:MPΣ-300(柴田科学、Photo. 4))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。

3) クロルピリフォス(CPF)

CPFはシロアリ等の殺虫剤として用いられる有機リン系の農薬である。シックハウス症においては、家の床下に散布されたCPF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最も重要とされていた化合物である。

CPF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、0.0024 Pa (25°C)を基に発生するガス濃度の計算を行った。

CPFは、Tronto Reseach Chemicals社(株)製の純度98% (ガスクロ用標準品)を使用した。

CPFの暴露試験は、蒸気圧の低い昇華性の化合物に応用可能な多段式の発生器を新たに設計製作し、使用した(柴田科学、Photo. 7)。本発生器は、温浴で加温した発生空気を導入し温度管理を行う計画であった。温浴では大きい温度上昇が得られず、ラインヒーターを用いる加温・温度管理を行った。発生器最下段の金属板に、ラインヒーターを取り付け、これに供給する電気量を変えることで温度管理を行った。その金属板より上段の網棚に和紙を敷き、その上部に棚を設けそれにCPFの粉末を散布、下から発生空気が金属板によって加温され、その温風によって昇華させる方



Photo. 7 多段式昇華性ガス発生器(柴田科学)

法である。発生器の出口には、一次希釈空気の速い流れで作られる陰圧によりCPFのガスが発生器内から吸引されるようイジェクターを取り付け、これにより発生器内の圧力を軽減することとした。

CPF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0.07 ppbから、低濃度を0.07 ppbとし、公比3で0.2、0.7 ppbと目標として設定した。

上記の極低濃度を目標とし、濃度測定は捕集管(昭和電工、Autoprep PS@Gas、Photo. 8)



Photo. 8 捕集管
(昭和電工、Autoprep PS@Gas)

を用いた。捕集管法は捕集管内のカラムにチャンパー内空気を流し、捕集したCPF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。他に固相ディスクを用いたGC-FPD分析法もあるが、この0.07 ppbという濃度を2時間の採気で測定する方法としては、捕集管を用いたガスマススペクトル法が最適と判断した。1L/分で暴露中のチャンパ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. 4)により、120分間捕集管へ通し、この捕集管を測定機関(財団法人化学物質評価研究機構東京事業所)に送付し、ガスマススペクトル分析を依頼した。しかし、発生器内においても目的のガス濃度が得られず、蒸気圧データは他の資料(0.00266 Pa (25°C) 農薬登録申請資料)でも大きく変わらないことから、この容器内での蒸気圧に達する時間が遅いため暴露に用いる濃度まで到達しないものと考えられた。

暴露濃度を得るため、溶解バブリング方式を採用することとし、また既存のバブリング式発生器内を農薬で汚染させないため、発生させたガスを650L/分の換気送風管のミキサ

一の直前に送気する方法を新たに開発した。CPFを入れたビンを温浴にて加温溶解するとともに、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換気送風管へ接続したパイプへ送り込む方法である(Photo. 9-1, 2)。CPFガスを送気する際には、温浴の湯を用いてこのパイプ周囲を温めることで、配管内に

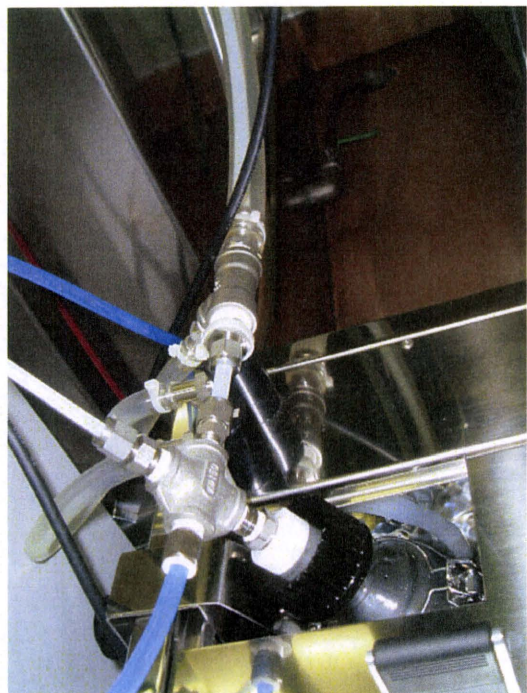


Photo. 9-1 溶解バブリング式発生器



Photo. 9-2 溶解バブリング式発生器
(柴田科学)

結晶ができるのを防いだ。L群からH群までの各チャンバーの隣にこれらの発生器を3台配置することで、配管の距離を短くした。

4) フェノブカルブ

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た。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重要視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、製品安全データシート等に記載されている蒸気圧、0.000074 mmHg (20°C) 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. 9)、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びん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周囲を温めることで、配管内に結露するのを防いだ。既存の大型発生装置を用いた場合、一つのビンで発生させたガスを各群用へのフローコントローラーにより流量を増減させて分配するシステムであり、フローメーターや金属性の電磁弁、あるいは装置内のテフロン配管内に結露が生じ、発生器や配管内を殺虫剤で汚染してしまう。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の隣に一台ずつ置き、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から、低濃度を3.8 ppbとし、公比3で12.0、38.0 ppbと目標として設定した。

上記の極低濃度を目標とし、濃度測定は捕集管(昭和電工、Autoprep PS@Gas、Photo. 8)を用いた。捕集管法での濃度測定は、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で直接測定できるものではなく、また捕集管を用いても最終的にはガスマススペクトルで測定する方法しか選択肢はなく、3.8 ppbという濃度を2時間の採気で測定する方法としては、捕集管を用いたガスマススペクトル法が最適と判断した。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. 4)により、120分間捕集管へ通し、この捕集管を測定機関(財団法人化学物質評価研究機構東京事業所)に送付し、ガスマススペクトル分析を依頼した。

2. 7日間連続暴露試験

p-DCB、テトラデカン、CPF及びダイアジノンの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、行った。

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パブリック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。

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

1) フタル酸ジエチルヘキシル(DEHP)

DEHPは融点が-50℃、沸点が385℃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、0.001 kPa (20℃)(0.008mmHg)である。この蒸気圧データを基に、発生器タンク内に投入した温度20℃におけるDEHP気中濃度は7.5ppmと想定され、加熱バブリング法によりDEHPを気化させ一定濃度のDEHP蒸気を得ることが可能と判断した。

DEHPは、和光純薬工業(株)製の純度97.0%(和光純薬工業(株)測定値、試薬特級)を使用した。目標の暴露チャンバー内濃度を得るため、タンク内のDEHP濃度を7.5ppmと予測し、発生器内へ送り込む空気流量を11 L/分に設定、暴露チャンバーへ供給する流量を7.6 ppbには0.8 L/分、25 ppbには2.4 L/分、76 ppbには7.9 L/分とした。吸入チャンバー内の濃度は、定流量ポンプ(MPΣ-300、柴田科学、Photo. 4)を用い、動物を収容するケージに隣接設置したパイプより捕集管(スペルコ、ORB0-5020、Photo. 3)へと吸入チャンバー内の空気を120分間吸引し、分析測定した。捕集管は、測定機関(財団法人化学物質評価研究機構東京事業所)に送付し、分析を依頼した。捕集管法はカラムにチャンバー内空気を流し捕集した有機ガスを有機溶剤で抽出し、これを

ガスマスで測定する方法で、「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。測定した室内空気及び各チャンバー内の濃度は、全てブランクと同じであり、検出限界以下であった。さらに、蒸気圧に基づいた計算上の濃度が、発生タンク内において得られていることを確認するため、発生器内濃度を捕集管により測定した。しかし、発生器内で測定したDEHPの濃度はブランクと同じ、検出限界以下であった。そこで再度、蒸気圧を記載している文献の調査を行ったところ、環境保健クライテリア 131には、 0.00086 Pa 、化学物質の初期リスク評価書には $3.04 \times 10^{-5} \text{ Pa}$ (20°C)、JRC EUROPEAN COMMISSION のリスク評価書には 0.000034 Pa (20°C) と記載されており、蒸気圧は当初の計算に用いた値より千分の一以下と低く、発生器からガス濃度が得られないことから、これらの値が正しいものと思われた。

この文献値及び発生器内濃度の測定結果から、DEHPの蒸気圧は、目標のガス濃度が得られるほど高くないため、実験を中止した。DEHPによる暴露を行うには、ミストを発生させる方法で行う必要があり、そのためのミスト発生器と縦流チャンバーを設置する必要があり、本研究班のガス体による動物への暴露試験のスキームには不相当と判断した。

2) パラジクロルベンゼン(p-DCB)

パラジクロルベンゼンは融点が 53°C 、沸点が 174°C 常温では固体の昇華性物質である。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、 170 Pa (20°C)である。

p-DCBの発生方法は、加熱溶解させ蒸気を得る方法と固体に空気を噴きつけて昇華させる方法がある。本実験の目標濃度は、極低濃度であるため、加熱溶解により高濃度のガスを発生させた場合、希釈倍率を高めなければならず、希釈空気の脈流だけで濃度が不安定となり、本実験には不向きと考えられた。本実験では、必要な低濃度が安定的に得られる固体のまま昇華させる方法で検討した。

室内汚染化学物質の中でも農薬に類するような、多くの蒸気圧の低い昇華性の化合物に応用可能な多段式の発生器を新たに設計、製作した。昇華性化学物質の表面積を大きく、また温度を上げることによりガス圧も上昇する。この方法で設計し、蒸気圧が小さい物質であっても、暴露濃度がppbオーダーの低濃度であれば、目標濃度での動物に対する暴露が可能になると思われた。狭いスペースで化合物の表面積を大きくするため多くの棚を設置、その下部から緩やかに加温した発生空気を送気する形状で製作した(柴田科学、Photo. 7)。しかし、これらの物質はガス体から容易に結晶化し、温度の低い流路や金属性の電磁弁などに付着し流路を詰まらせ、濃度コントロールを不安定にする。これを解消するため、発生器で得られた高濃度のガスをすぐに大量の希釈空気により一次希釈をかけ、濃度を大きく下げた後各チャンバーへ分配供給するシステムを考え、製作した。

p-DCBの暴露試験は、この発生器(柴田科学、Photo. 7)を用いて行う予定であった。しかし、能力検査の段階でこのドア部に漏出が発見されたため、再度点検修理を行うこととした。p-DCB用発生装置を別途製作し使用した(Photo. 5)。高圧空気を二つの流路に分け、片方は温浴を通して温度を上げ流量計で調整しつつ、p-DCBを入れたガラス瓶内へ導入した。この発生瓶も温浴中に浸漬した。もう一方の高圧空気は、流量計で調整しつつ発生瓶から出た高濃度のp-DCBを直ちに希釈するため、この流路へ合流させた。この一次希釈したガスを各チャンバーへ供給する流量計により分配し、それぞれの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混合し流入させた。

p-DCB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 0.04 ppm ($240 \mu\text{g}/\text{m}^3$)から、低濃度を 0.04 ppm とし、公比3で 0.12 、 0.4 ppm と設定した。

吸入チャンバー内の濃度は、定流量ポンプ(MPΣ-300、柴田科学、Photo. 4)を用い、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(活性炭カラム、柴田科学、

Photo. 6)へと吸入チャンバー内の空気を120分間吸引し、これを分析した。捕集管はカラムにチャンバー内空気を流し捕集した有機ガスを有機溶剤で抽出し、これをガスクロマトグラフで測定する方法で、「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。捕集管は測定機関(財団法人東京顕微鏡院)に送付し、分析を依頼した。

p-DCBの暴露期間中の濃度安定性は、所有するFIDガスクロマトグラフを用いる場合、数ppmが測定限界であり、本設定濃度は検知限界以下の濃度であり、またTVOCモニター(フィガロ技研、FTVR-01)はp-DCBに反応しないため、安定性の確認はできなかった。

初回の濃度測定試験は、発生空気の加温温度を30℃、発生空気量を0.7L/分、発生したガスを一次希釈する空気量を15L/分とし、この条件での発生ビン内濃度を600ppmと予測し、この希釈ガスを設定濃度0.04ppmのチャンバーには1.0L/分、0.12ppmには2.9L/分、0.4ppmには9.7L/分を送気し、チャンバーの総換気空気650L/分により更に希釈し供給した。各チャンバーから1L/分で120L採気した捕集管による測定濃度は0.023、0.068、0.223 ppmと目標より約40%低いのが、加温温度や供給量などを上げることによって濃度を上げることが可能と判断した(Fig. 1)。

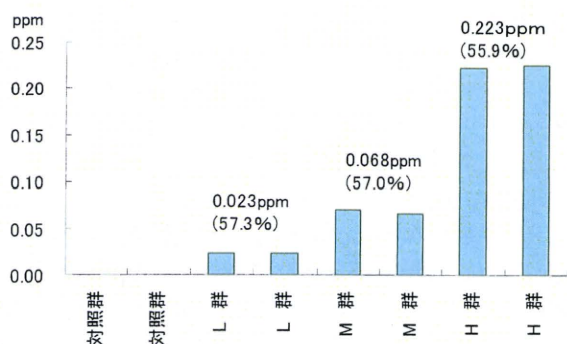


Fig. 1 初回の濃度測定試験測定値

2回目の濃度測定試験では、発生空気の加温温度を40℃に上げ、発生空気量を1.0L/分に

増やし、発生したガスを一次希釈する空気量は15L/分、このガスを設定濃度0.04ppmのチャンバーには1.0L/分、0.12ppmには2.9L/分、0.4ppmには10.0L/分と増加送気し、チャンバーの総換気空気650L/分により更に希釈し供給した。各チャンバーから1L/分で120L採気した捕集管による測定濃度は0.034、0.099、0.308 ppmと目標より約20%低いのが、初回より20%改善された(Fig. 2)。

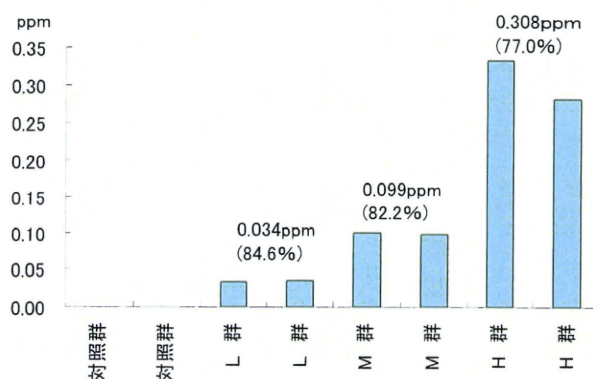


Fig. 2 2回目の濃度測定試験測定値

3回目の濃度測定試験では、発生空気の加温温度を60℃に上げ、他は2回目と同じ条件で行った。各チャンバーから1L/分で120L採気した捕集管による測定濃度は0.030、0.093、0.324 ppmと目標より約20%低く、2回目とあまり差がなく、発生空気の温度を上げることは濃度の大きな上昇を見込めないことが判明した。

4回目の濃度測定試験では、発生空気の加温温度は60℃とし、発生空気量を2.0L/分に増やし、新たにp-DCBを入れた発生ビンに40℃の恒温層へ浸漬した。一次希釈空気を15L/分とし、発生した2.0L/分のガスを希釈し、設定濃度0.04ppmのチャンバーには1.0L/分、0.12ppmには2.9L/分、0.4ppmには10.0L/分を送気し、チャンバーの総換気空気650L/分により更に希釈し供給した。各チャンバーから1L/分で120L採気した捕集管による測定濃度は0.087、0.242、0.979 ppmと目標の約200%と飛躍的に

上昇し、発生ビンに40℃の恒温層へ浸漬することが濃度を大きく上昇させる大きな要因であることが判明した。

5回目の濃度測定試験では、発生空気の加温温度を60℃、発生空気量を2.0L/分、発生ビンの加温温度40℃、一次希釈空気量を15L/分の4回目の設定と同じまま、ガスを設定濃度0.04ppmのチャンバーには0.46L/分、0.12ppmには1.44L/分、0.4ppmには4.1L/分を送気、チャンバーの総換気空気650L/分により希釈し供給した。各チャンバーから1L/分で120L採気した捕集管による測定濃度は0.051、0.178、0.547 ppmと設定濃度より3~4割ほど高いが、供給量を少し落とすことでほぼ目標濃度が得られるものと判断した。

本試験においては、上記の濃度試験結果を基に流量を減少させ、0.04ppmには0.36L/分、0.12ppmには0.97L/分、0.4ppmには2.99L/分を流入させた。各チャンバーから1L/分で120L採気した捕集管による測定濃度は0.032、0.100、0.344 ppmと目標より15から20%ほど低い、ほぼ設定濃度が得られた(Fig. 3)。

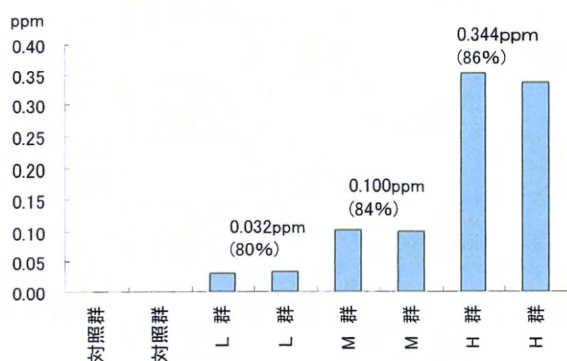


Fig. 3 動物に暴露したp-DCB濃度

対照群チャンバー内濃度及び室内濃度は0.0003 ppm ($2 \mu\text{g}/\text{m}^3$) 以下で低濃度群の0.04ppmと比し低い濃度であり、一般環境大気最大濃度 $14.0 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (環境省、2003)であり対照群チャンバーや室内は低く、調査対象の一般家庭の室内空気中で検出される平均濃度 $0.12\text{mg}/\text{m}^3$ (環境省、2003)を大きく下回り、影響はないものと考えられた。

3) クロルピリフォス(CPF)

クロルピリフォス(CPF)はシロアリ等の殺虫剤として用いられる有機リン系の農薬である。シックハウス症においては、家の床下に散布されたCPF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最も重要とされていた化合物である。

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、0.0024 Pa (25℃)を基に発生するガス濃度の計算を行った。

CPFは、Tronto Reseach Chemicals社(株)製の純度98% (ガスクロ用標準品)を使用した。

CPFの暴露試験は、蒸気圧の低い昇華性の化合物に応用可能な多段式の発生器を新たに設計製作し、使用することを検討した(柴田科学、Photo. 7)。本発生器は、温浴で加温した発生空気を導入し温度管理を行う計画であった。温浴では大きい温度上昇が得られず、ラインヒーターを用いる加温・温度管理を行った。発生器最下段の金属板に、ラインヒーターを取り付け、これに供給する電気量を変えることで温度管理を行った。その金属板の上の網棚に和紙を敷き、その上部に棚を設けそれにCPFの粉末を散布、下からの発生空気が金属板によって加温され、その空気によって昇華させる方法である。発生器の出口に、一次希釈空気の速い流れで作られる陰圧によりCPFのガスが発生器内から吸引されるようイジェクターを取り付け、これにより発生器内の圧力を軽減することとした。

CPF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0.07 ppbから、低濃度を0.07 ppbとし、公比3で0.2、0.7 ppbと目標として設定した。

上記の極低濃度を目標とし、濃度測定は捕集管(昭和電工、Autoprep PS@Gas、Photo. 8)を用いた。捕集管法は捕集管内のカラムにチャンバー内空気を流し、捕集したCPF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。他に固相ディスクを用いたGC-FPD分析法もあるが、この0.07 ppbという濃度を2時間の採気で測定する方法としては、捕集管を用いたガスマススペクトル法が最適と判断した。1L/分で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. 4)により、120分間捕集管へ通し、この捕集管を測定機関(財団法人化学物質評価研究機構東京事業所)に送付し、ガスマススペクトル分析を依頼した。しかし、発生器内においても所定のガス濃度が得られず、蒸気圧データは他の資料(0.00266 Pa (25°C) 農薬登録申請資料)でも大きく変わらないことから、一定容器内での所定の蒸気圧に達する時間が遅いため暴露に用いる濃度まで到達しないものと考えられた。

暴露濃度を得るため、溶解バブリング方式を採用することとし、また既存の発生器内を農薬で汚染させないため、発生させたガスを650L/分の換気送風管のミキサーの直前に送気する方法を新たに採用した。CPFを入れたビンを温浴にて加温溶解するとともに、中へ発生空気を送り込みバブリングでガスを発生させ、これを搬送空気によりビンから出た直後に希釈して換気送風管へ接続したパイプへ送り込む方法である(Photo. 9)。CPFガスを送気する際には、温浴の湯を用いてこのパイプ周囲を温めることで、配管内に結晶ができるのを防いだ。L群からH群までの各チャンバーの隣にこれらの発生器を3台配置することで、配管の距離を短くした。

発生器の温浴温度を60°Cとし、発生空気量を2.4L/分、一次希釈空気を1.0L/分とした。これによるH群チャンバーから1L/分で120分間採気した捕集管(昭和電工、Autoprep PS@Gas, Photo. 8)の測定濃度は1.55ppbであった。CPFガスの発生と、目標暴露濃度が達成できることが確認された。

発生器の温浴温度を60°Cとし、発生空気量を目標濃度0.07ppbのL群チャンバーには0.11L/分、0.02ppbのM群には0.31L/分、0.7ppbのH群には1.08L/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。各チャンバーから1L/分で120分間採気した捕集管による測定濃度は0.087、0.068、0.690ppbとM群は低いが、L及びH群は目標値に近い濃度が得られた(Fig. 4)。

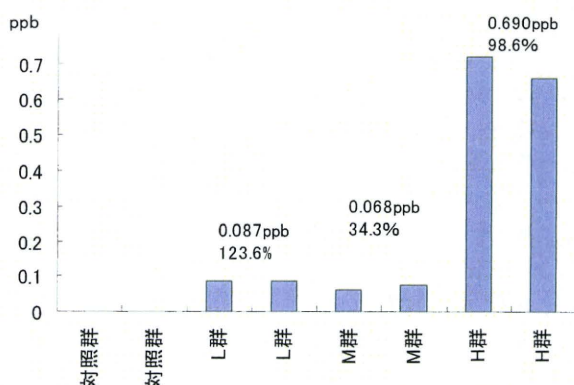


Fig. 4 CPFガスの初回の濃度試験値

2回目の濃度測定試験では、全群の温浴温度は60°C、一次希釈空気量を1L/分の設定と同じまま、発生空気量を設定濃度0.07ppbのチャンバーには0.09L/分、0.2ppbには0.91L/分、0.7ppbには1.09L/分を送気、チャンバーの総換気空気650L/分により希釈した。各チャンバーから1L/分で120分採気した捕集管による測定濃度は0.0965、2.45、1.15ppbと目標濃度より高く、特にM群の値が大きく跳ね上がった。

3回目の濃度測定試験では、発生空気量を目標濃度0.07ppbのチャンバーには0.06L/分、0.2ppbには0.23L/分、0.7ppbには0.66L/分を送気、チャンバーの総換気空気650L/分により希釈した。各チャンバーから1L/分で120分採気した捕集管による測定濃度は0.0445、0.0895、0.475ppbと目標濃度より低く、特にM群の値が大きく低下した。

4回目の濃度測定試験では、発生空気量を目標濃度0.07ppbのチャンバーには0.09L/分、0.2ppbには0.50L/分、0.7ppbには0.90L/分を

送気、チャンバーの総換気空気650L/分により希釈した。各チャンバーから1L/分で120分採気した捕集管による測定濃度は0.027、0.0885、0.57ppbと目標濃度より低く、やはりM群の値が低かった。

5回目の濃度測定試験では、発生空気量を各群とも3段階に漸増させ目標濃度0.07ppbのL群チャンバーは0.09、0.10、0.11L/分、0.2ppb M群は0.50、0.70、0.90L/分、0.7ppb H群は1.00、1.10、1.20L/分を2時間ずつ送気、チャンバーの総換気空気650L/分により希釈した。各チャンバーから1L/分で120分採気した捕集管による測定濃度は L群では0.018、0.0295、0.052ppbであった。M群では0.046、0.115、0.495ppbであった。H群では0.515、0.810、1.025ppbであった。

本試験においては、5回目の濃度試験結果を基に流量を決定、L群0.07ppbには0.12L/分、M群0.2ppbには0.75L/分、H群0.7ppbには1.08L/分を流入させた。各チャンバーから1L/分で120分採気した捕集管による測定濃度は0.051、0.240、0.710ppbが得られ(Fig. 5)、L群は27%ほど低く、M群は20%高いがH群はほぼ目標の濃度が得られた。

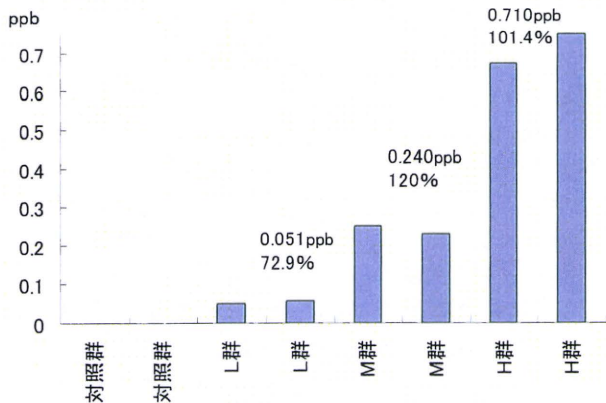


Fig. 5 動物へ暴露した実測値

対照群チャンバー内濃度及び室内濃度は、定量下限値の0.006 ppb(0.09 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)以下であり、今回の試験において環境中の濃度は定量下限値を下回り、環境からの影響はないことが確認された。

4) フェノブカルブ

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。

発生器は、クロルピリフォスで用いた過熱バブリング法で用いたものを、クロルピリフォスの発生ビン及びガスが通過した配管及び部品全てを廃棄し、新たな部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を、室内汚染化学物質の室内濃度指針値である3.8ppb(33 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)から、低濃度を3.8ppbとし、高濃度を38.0、中間濃度を12.0ppbと設定した。

吸入チャンバー内の濃度は、定流量ポンプ(MP Σ -300、柴田科学、Photo. 4)を用い、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. 8)へと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分間吸引、捕集管内のフェノブカルブをアセトンで溶出させてガスマススペクトル法により濃度を測定した。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。捕集管は測定機関(財団法人化学物質評価研究機構東京事業所)に送付し、分析測定を依頼した。

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。2.0L/分で120分間採気した捕集管による測定で、60°Cでは7.8ppb、65°Cでは12.5ppb、70°Cでは17.5ppbが得られ、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。各チャンバーから2.0あるいは1.0L/分で120分間採気した捕集管による測定濃度は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。

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。各チャンバーから2L/分で240分採気した捕集管による測定濃度は、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。

フェノブカルブでは80°Cという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、ガスマススペクトル分析における周囲のピークを確認した。そ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. 6)、これらピークのマスマスペクトル及び保持時間から、ピーク①はフェノブカルブの分解物である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

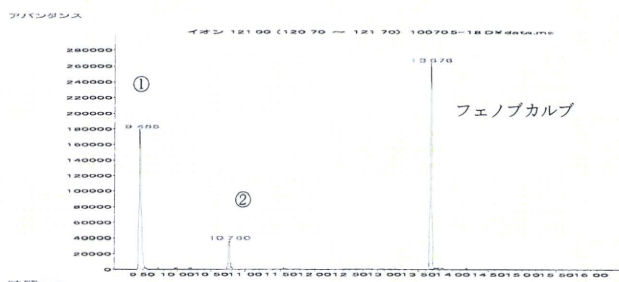


Fig. 6 ガスマススペクトル分析結果

らの分解物が恒温槽内で発生しているものかどうかを調べるため、過熱バブリングしている発生器内原液を採取し分析したが分解物は検出されなかった。分解物は加温ではなくガス化した後に生成されるものと考えられ、バ

ブリング部分に送る発生空気をボンベから窒素ガスに代え、これらの分解物がなくなるかどうかを調べた。しかし、窒素ガスにより発生させても空気と同様の分解物が検出された。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。ガス濃度が極めて低くなるため、通常は2時間の捕集管サンプリングを24時間まで延長して行い、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. 7)。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わかった。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。

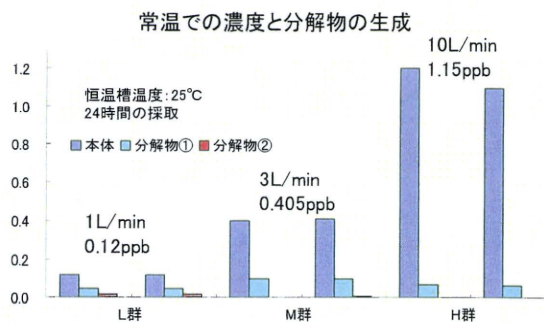


Fig. 7 25°Cでフェノブカルブガスを発生させた時の本体と分解物濃度

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。各チャンバーから240分採気した捕集管による測定濃度は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。

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。各チャンバーから240分採気した捕集管測定濃度は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。

本試験においては、これまでの濃度試験結果を基に発生流量を設定し、L群3.8ppbには0.5L/分、M群12ppbには4.0L/分、H群38ppbには8.0L/分とした。各チャンバーから240Lあるいは120L採気した捕集管による測定濃度は3.5、12.0、48.5ppbが得られ(Fig. 8)、L群は8%ほど低く、H群は28%高いがM群は目標濃度を達成し、動物に対し暴露できた。

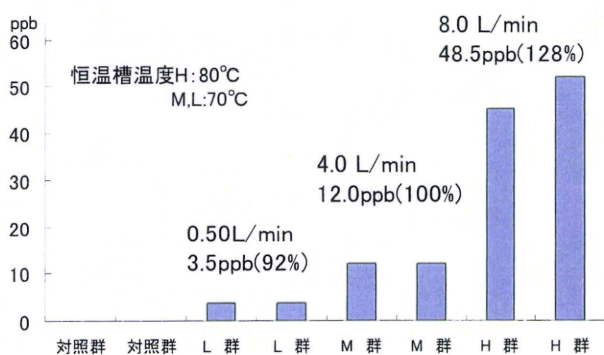


Fig. 8 動物へ暴露したフェノブカルブの実測値

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。

対照群チャンバー内濃度は、ガスマスの定量下限値の0.04ppb未満、室内濃度は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

p-DCBの1日6時間及び22時間、7日間連続暴露試験は本試験と同様の発生源加温による発生法、捕集管を用いる濃度測定方法を用い日本バイオアッセイ研究センターに委託した。6時間のチャンバー内被験物質濃度は、0.0389、0.119、0.387ppm、22時間では0.0401、0.120、0.401ppmと目標濃度を達成し、動物に対し暴露を実施した。

テトラデカンの1日6時間及び22時間、7日間連続暴露試験は前年度の試験と同様バブリングによる発生法、捕集管を用いる濃度測定方法を用い日本バイオアッセイ研究センターに委託した。6時間のチャンバー内被験物質濃度は、0.0390、0.123、0.422ppm、22時間では0.0458、0.123、0.383ppmと目標濃度を達成し、動物に対する暴露を実施した。

クロルピリフォスの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。6時間のチャンバー内被験物質濃度は、0.069、0.237、0.649 ppb、22時間では0.070、0.247、0.750 ppbと目標濃度を達成し、動物に対する暴露を実施した。

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。6時間のチャンバー内濃度は、0.0215、0.0822、0.2325ppb、22時間では0.0213、0.0704、0.2131ppb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