

201236007B

厚生労働科学研究費補助金
化学物質リスク研究事業

家庭用品から放散される揮発性有機化合物の
気道刺激性及び感作性を指標とするリスク評価

平成 22 年度～24 年度 総合研究報告書

研究代表者 香川（田中） 聡子

平成 25（2013）年 3 月

目 次

I. 総合研究報告書	
家庭用品から放散される揮発性有機化合物の気道刺激性及び感作性を 指標とするリスク評価 香川(田中) 聡子	・・・ 1
II. 資料編 – 分担研究 総合研究報告書	
1. 生活環境化学物質の気道刺激性に関する研究	・・・ 14
一ヒト TRP イオンチャネルを活性化する室内環境化学物質の スクリーニング 香川(田中) 聡子、神野 透人、古川 容子、新井 悦恵、岡元 陽子、 真弓 加織、田原 麻衣子	
2. 生活環境化学物質の感作性に関する研究	・・・ 98
五十嵐 良明、小濱 とも子、清水 久美子	
3. 生活環境化学物質の気道刺激・感作のメカニズムに関する研究	・・・ 110
大気中揮発性成分 1,2-ナフトキノンおよび 1,4-ナフトキノンに対する 細胞の防御応答システムに関する研究 熊谷 嘉人、新開 泰弘	
4. 家庭用品から放散する揮発性有機化合物の同定及び暴露評価に関する 研究	・・・ 135
神野 透人、香川(田中) 聡子、古川 容子、田中 研次、岡元 陽子、 真弓 加織	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	・・・ 145
IV. 研究成果の刊行物・別刷	・・・ 146

I. 総合研究報告書

家庭用品から放散される揮発性有機化合物の気道刺激性及び感作性を指標とする
リスク評価

研究代表者 香川(田中) 聡子 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 主任研究官

研究要旨: 本研究は、シックハウス症候群やアレルギー性鼻炎、気管支喘息の発症・増悪要因と考えられる室内環境化学物質として、特に家庭用品から放散される様々な揮発性有機化合物の気道刺激性及び気道感作性を明らかにするとともに、家庭用品からの放散速度を基に算出した推計暴露量を考慮に入れて生活環境中での健康リスクの蓋然性を判定することにより、指針値策定等のリスク管理が必要と考えられる室内空气中の揮発性有機化合物を特定することを目的とする。気道刺激性の *in vitro* 評価法として、化学物質刺激等の侵害受容に關与する Transient Receptor Potential (TRP) イオンチャネルの活性化を指標として、家庭用品から放散される可能性のある化学物質及び室内空气中に存在することが報告されている化学物質を含む揮発性有機化合物を評価した。その結果、3年間で評価した225化合物のうち、50化合物が TRPV1 を、72化合物が TRPA1 を活性化することを明らかにした。なかでも家庭用品から放散することが確認された Butyl acrylate、溶剤として広く使用されシックハウス症候群との因果関係も指摘されている 2-Ethyl-1-hexanol や Texanolをはじめ、可塑剤フタル酸エステル類の加水分解物でハウスダスト中にも存在する Monoethylhexyl phthalate が低い濃度で TRPA1 を活性化することが明らかになった。実際に室内環境中に存在する消毒副生成物や微生物由来揮発性有機化合物も TRP イオンチャネルを活性化することが判明し、これらが、相加・相乗的に感覚神経あるいは気道の刺激を引き起こす可能性がある。皮膚感作性に関する研究では、LLNA:DA 法及び h-CLAT 法を用いて評価した結果、皮膚感作性の観点からリスク管理の必要性は、フマル酸エステルとマレイン酸エステル > アクリル酸エステル、メタクリル酸エステル >> 代替可塑剤・アジピン酸エステルであることが示唆された。気道刺激・感作メカニズムに関する分子毒性学的な研究では、1,2-ナフトキノン (1,2-NQ)、1,4-ナフトキノン (1,4-NQ) に対する抗体を作製し、それぞれの細胞内標的分子を探索して毒性防御のメカニズムを解析した。その結果、1,2-NQ については Nrf2-Keap1 系が、1,4-NQ については HSP90-heat shock factor 1 系が重要な役割を果たしていることを明らかにした。化学物質の放散に関する研究では、一般家庭室内における使用頻度や容積から、室内環境への負荷の大きい家庭用品としてカーテンやカーペットを対象として超小形チャンバー- μ CTE を用いて評価した結果、Cyclohexanone や Toluene、

2-Ethylhexyl acrylate、2-Ethyl-hexanol、TXIB など、我々が実施した室内空気の全国調査において検出される様々な化学物質がこれらの家庭用品から放散されることが明らかになった。評価した製品のなかには、その使用によって室内空気質総揮発性有機化合物の暫定目標値を超える室内汚染が引き起こされる可能性や、シックハウス症候群との因果関係が指摘されている 2-Ethyl-1-hexanol が評価したカーペットから高頻度に放散されることが判明した。さらに、今後、ハウスダスト等を介した暴露が問題となる SVOC についても、Tris(2-chloroisopropyl) phosphate や Bis(2-ethylhexyl) phthalate の放散を定量的に評価できることが明らかになった。

研究分担者: 五十嵐 良明 (国立医薬品食品衛生研究所生活衛生化学部部長)、神野 透人 (国立医薬品食品衛生研究所生活衛生化学部第一室長)、熊谷 嘉人 (筑波大学医学医療系教授)

研究協力者: 新開 泰弘 (筑波大学医学医療系助教)、古川 容子 (国立医薬品食品衛生研究所生活衛生化学部)、新井 悦恵、田中 研次 (国立医薬品食品衛生研究所生活衛生化学部)、岡元 陽子 (国立医薬品食品衛生研究所生活衛生化学部)、真弓 加織 (国立医薬品食品衛生研究所生活衛生化学部)、田原 麻衣子 (国立医薬品食品衛生研究所生活衛生化学部)、小濱 とも子 (国立医薬品食品衛生研究所生活衛生化学部)、清水 久美子 (国立医薬品食品衛生研究所生活衛生化学部)

A. 研究目的

室内環境中の化学物質が発症の原因あるいは増悪因子となり得る疾病として、いわゆるシックハウス症候群、アレルギー性鼻炎や気管支喘息等の疾病があるが、その発症メカニズムの詳細は十分に解明されていない。本研究では、家庭用品から放散される様々な揮

発性有機化合物について、気道刺激性及び気道感作性を明らかにするとともに、家庭用品からの放散速度から算出した推計暴露量を考慮に入れて生活環境中での健康リスクの蓋然性を判定する。

1997-2002 年に揮発性/準揮発性有機化合物 13 物質に室内濃度指針値、総揮発性有機化合物に暫定目標値が策定された。この先駆的な施策は 2003 年の改正建築基準法の施行を経て、我が国の室内空気質の改善に重要な役割を果たした。しかしながら、指針値策定から 10 年以上が経過した今、この間の代替溶剤等への転換や生活様式の変化を踏まえた揮発性有機化合物暴露の再評価、指針値の追加・見直しの議論が必要な状況であり、シックハウス (室内空気汚染) 問題に関する検討会が平成 24 年 9 月に再開された。

このような背景から、本研究では家庭用品からの化学物質放散をマイクロチャンバー法等の手法により定量化し、経気道暴露濃度/暴露量を推計する。また、有害作用として侵害刺激受容体の活性化による気道刺激性及び呼吸器/皮膚感作性について定量的な評価を実施する。さらに、推計暴露量と有害作用の強度を考慮に入れて生活環境中での健

康リスクを判定し、指針値の策定等によるリスク管理が必要な室内空気中の揮発性有機化合物を特定したプライオリティーリストを作成することを目的とする。

本研究代表者らは、医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室の委託事業として実施した放散試験において、アクリル酸/メタクリル酸エステル類、グリコールエーテル類や脂肪族アルコール類が家庭用品から放散されることを確認している。アクリル酸/メタクリル酸エステル類は現在急速に普及している液晶テレビをはじめ塗料や粘・接着剤、アクリル樹脂等の原料として利用されており、既に呼吸器/皮膚感作性が確認されている化学物質も含まれる。アクリル酸エステルと構造類似性を有するフマル酸エステル類の中には、欧州向けの中国製ソファーに防かび剤として使用されて皮膚障害を生じた化学物質も含まれている。グリコールエーテル類は可塑剤や染料等の溶剤、化粧品基剤として広く使用されており、その中には生殖および発達への影響から、米国環境保護庁において有害物質規制法による「重要新規利用」規則の適用を提案された化学物質も含まれる。脂肪族アルコール類は溶剤や香料として多用されており、シックハウス症候群との因果関係が指摘されている化学物質も含まれる。イソチアゾリン系抗菌剤は冷却ジェル寝具の使用によるアレルギー性接触皮膚炎の原因物質であることが指摘され、この化学物質が室内空気を介して皮膚炎を発症させる事例や、鼻炎や微熱等のシックハウス様症状を示す事例も報告されている。そこで本研究では、家庭用品から放散されるこれら化合物について検討を行った。

B. 研究方法

B-1. 生活環境化学物質の気道刺激性に関する研究

気道刺激性に関しては、これまでに確立された *in vitro* の評価手法がないために、本研究では温度刺激や機械刺激、化学物質刺激の侵害受容に関与する Transient Receptor Potential (TRP) イオンチャネルの活性化を指標とした (Fig. 1)。Table 1 に示す化合物を評価対象として、ヒト TRPA1 及び TRPV1 を安定的に発現する Flp-In 293 細胞株の細胞内 Ca^{2+} 濃度の増加を指標として、活性化の有無と、その活性化様式の濃度依存性を調べた。

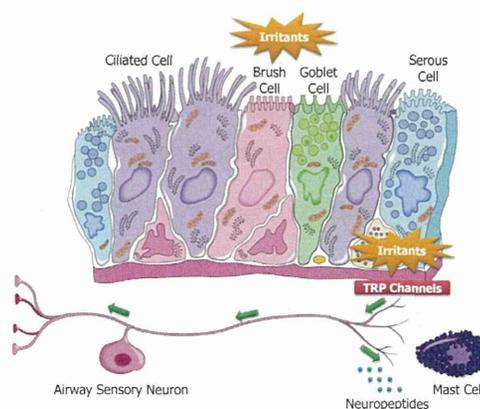


Fig. 1 TRP イオンチャネルを介する気道過敏性亢進のメカニズム

B-2. 生活環境化学物質の感作性に関する研究

気道感作性について現時点で確立した実験動物による評価系が存在しないため、本研究ではマウスを用いるリンパ節反応試験 (LLNA; OECD テストガイドライン 429) と、THP-1 細胞の細胞表面抗原 CD86 及び CD54 の発現強度の増加を指標とする human Cell Line Activation Test (h-CLAT) によってアク

リル酸及びメタクリル酸並びにそのエステル類、フマル酸エステル類及びマレイン酸エステル類、アジピン酸エステル類について評価した。

B-3. 生活環境化学物質の気道刺激・感作のメカニズムに関する研究

大気中に存在する揮発性有機化合物ナフトキノン(NQ) 類をモデル化合物として、標的分子を同定するために、1,2-ナフトキノン(1,2-NQ)、1,4-ナフトキノン(1,4-NQ) に対する抗体を作製し、それぞれの細胞内標的分子を探索して毒性防御のメカニズムを解析した。

B-4. 家庭用品から放散する揮発性有機化合物の同定及び暴露評価に関する研究

一般家庭室内における使用頻度や面積・容積から室内環境への負荷の大きい家庭用品としてカーテン、床用マット、カーペットを評価対象として Micro-Chamber/Thermal Extractor (μ -CTE 250i) と呼ばれる加熱脱着機能を備えた小型 4 連チャンバー装置を用いて、放散される揮発性有機化合物 (VOCs) 及び準揮発性有機化合物 (SVOCs) の定量的な評価手法について検討を行い、加熱脱離-GC/MS による TVOC の定量、デコンボリューション解析による家庭用品から放散される未同定 VOCs の暫定的な同定を行った。

C. 研究結果

C-1. 生活環境化学物質の気道刺激性に関する研究

本研究の成果として、3 年間で評価した 225 化合物のうち、50 化合物が TRPV1 を、

72 化合物が TRPA1 を活性化することを明らかにした (Table1)。まず、アクリル酸/メタクリル酸エステル類については、実際に液晶テレビやパーソナルコンピュータから放散することが確認された Butyl acrylate がヒト TRPA1 を、また、可塑剤/難燃剤として使用されているリン酸トリエステル類の中で、主にポリウレタン発泡材に難燃剤として用いられる Tris(2-chloroisopropyl) phosphate や一般家庭のハウスダスト中からも比較的高濃度で検出される Tris(butoxyethyl) phosphate が TRPV1 及び TRPA1 を活性化することが明らかになった。また、可塑剤として広く用いられている TXIB も活性化の程度は弱いながら、比較的低濃度で TRPV1 を活性化することが判明した。モノテルペン類を含む炭素数 6~10 の直鎖状若しくは分岐鎖状の飽和又は不飽和の脂肪族アルコール類 19 化合物については、1 化合物を除く 18 化合物が両イオンチャンネル或いはいずれかのイオンチャンネルの活性化を引き起こすことが明らかになった。特に、香料成分として洗剤等の家庭用品にも多用される 1-Nonanol や Tetrahydrogeraniol が両イオンチャンネルを比較的低濃度領域で顕著な活性化を引き起こすことが判明した。溶剤としても広く使用されシックハウス症候群との因果関係が指摘されている 2-Ethyl-1-hexanol や Texanol も TRPA1 を活性化することが明らかになった。可塑剤や接着剤、塗料の溶剤や化粧品原料として使用されるグリコール及びグリコールエーテル類 50 化合物中 4 化合物にイオンチャンネルの活性化能が見いだされ、中でも Ethyleneglycol mono 2-ethylhexyl ether 及び Diethyleneglycol mono 2-ethylhexyl ether が

TRPV1 及び TRPA1 の顕著な活性化を引き起こすことが明らかになった。ピレスロイド系薬剤の中にもヒト TRPV1 またはヒト TRPA1 を活性化する薬剤が認められた。

また、実際に室内環境中に存在する消毒副生成物や微生物由来揮発性有機化合物、大気環境汚染物質であるナフトキノン類の中にも比較的low濃度領域でこれらイオンチャンネルを活性化する化学物質が見いだされた。金属化合物のなかで、TRPA1 に対する活性化能を有することが報告されている $ZnCl_2$ 及び $CdCl_2$ 以外に、 $HgCl_2$ 及び CH_3HgCl がヒト TRPA1 を活性化することが示された。最終年度の成果として可塑剤フタル酸エステル類の加水分解物でハウスダスト中にも存在する Monoethylhexyl phthalate が極めて低い濃度で TRPA1 を活性化 (EC_{50} 値: $0.4 \mu M$) することが明らかになったほか、冷却ジェル寝具の使用によるアレルギー性接触皮膚炎の原因物質・イソチアゾリン系防腐剤が TRPA1 を活性化することが明らかになった。

以上の結果から、家庭用品から放散され、また、実際に室内環境中で検出されるこれら化合物が、TRPV1 及び TRPA1 の活性化を介して気道の刺激を引き起こす可能性が考えられる。

C-2. 生活環境化学物質の感作性に関する研究

皮膚感作性に関する研究では、LLNA:DA 法及び h-CLAT 法を用いて評価した試験した。その結果、マレイン酸エステル及びフマル酸エステルはいずれも皮膚感作性を示し、アルキル基が長くなるにつれ強度は弱くなった。同じアルキル基であればフマル酸エステル

の方がマレイン酸エステルよりも感作性は強く、幾可異性体の違いで感作性強度は変化することがわかった。最終年度の成果として、皮膚感作性の観点からリスク管理の必要性を順位付けると、フマル酸エステルとマレイン酸エステルの優先順位が高く、以下アクリル酸エステル、メタクリル酸エステルの順であり、これらに比べて、代替可塑剤として使用されるアジピン酸エステルの優先順位はかなり低いことを示す結果が得られた。

C-3. 生活環境化学物質の気道刺激・感作のメカニズムに関する研究

本研究では、先ず標的分子検索・同定のための、1,2-ナフトキノン (1,2-NQ)、1,4-ナフトキノン (1,4-NQ) に対する特異的抗体の作製に成功した。1,2-NQ については、遺伝子改変マウス (Nrf2 欠損 / Keap1 欠損) より単離した培養細胞を用いて、1,2-NQ に対する毒性防御の細胞応答系として、Nrf2-Keap1 システムが重要な役割を果たしていることを明らかにした (Fig. 2)。1,4-NQ についてはヒト扁平上皮由来 A431 細胞内における標的タンパク質として熱ショックタンパク質 (HSP90, HSC71, HSP70) を含む結合タンパク質を複数同定した。さらに、HSP90 や HSP70 の発現制御にかかわる転写因子 heat shock factor-1 (HSF1) を siRNA の導入によってノックダウンすることにより、1,4-NQ の細胞毒性が増強されることが判明したことから、HSP90-HSF1 系が 1,4-NQ に対する防御応答システムとして重要な役割を果たしていることが示唆された。

Table 1 侵害受容器 TRP イオンチャネルの活性化を指標とした生活環境化学物質の
気道刺激性に関する評価結果

化合物群 括弧内の数字は本研究で評価した化合物数を示す	用途・発生源等	イオンチャネルの活性化 を引き起こした化合物数	
		TRPV1	TRPA1
<家庭用品由来>			
アクリル酸/メタクリル酸エステル類 (14)	塗料や接着剤, アクリル樹脂等の原料	0	2
フマル酸エステル類 (6)	防カビ剤	0	1
アジピン酸エステル類 (3)	可塑剤	0	0
リン酸トリエステル類 (11)	可塑剤/難燃剤	4	3
フタル酸エステル類 (18)	可塑剤	0	8
フタル酸モノエステル類等 (9)	可塑剤加水分解物	1	7
脂肪族アルコール類 (テルペン類を含む) (23)	溶剤, 香料等	18	15
グリコール/グリコールエーテル類 (50)	可塑剤, 接着剤, 塗料の溶剤, 化粧品原料	4	4
ピレスロイド系薬剤等 (24)	殺虫剤	1	4
ネオニコチノイド系薬剤 (7)	殺虫剤	0	0
イソチアゾリン誘導体/サリチル酸エステル類 (7)	防腐剤	3	5
その他 (Texanol, TXIB 等) (3)	溶剤, 可塑剤等	1	1
<室内環境化学物質>			
微生物由来揮発性有機化合物 (17)	カビ, 細菌	7	5
消毒副生成物 (21)	水道, 浴槽水	8	10
ナフトキノン類 (4)	排出ガス	2	3
金属類 (8)	ダスト等	1	4

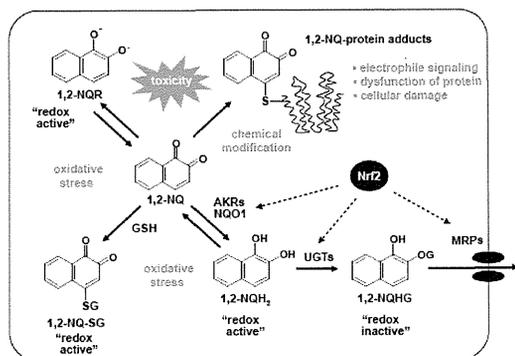


Fig. 2 Role of Nrf2 in the metabolic activation associated with oxidative stress and detoxification of 1,2-NQ

1,2-NQR, semiquinone radical of 1,2-NQ;
 1,2-NQ-SG, GSH adduct of 1,2-NQ;
 1,2-NQH₂, 1,2-dihydroxynaphthalene;
 1,2-NQHG, monoglucuronide of 1,2-NQH₂.

C-4. 家庭用品から放散する揮発性有機化合物の同定及び暴露評価に関する研究

本研究では、 μ CTE (Micro-Chamber/Thermal Extractor) 法による放散試験と GC/TOFMS 測定・デコンボリューション解析を家庭用品に適用し、一般家庭室内における使用頻度や容積から室内環境への負荷の大きい家庭用品としてカーテンやカーペットを対象として評価した結果、Cyclohexanone や Toluene、2-Ethylhexyl acrylate、2-Ethyl-hexanol、TXIB など、我々が実施した室内空気の全国調査において検出される様々な化学物質がこれらの家庭用品から放散されることが明らかになった。化合物群の中には皮膚感作性が疑

われる化合物が含まれており、免疫交差性を考慮した健康影響の評価並びに室内環境における複合的な暴露量の評価を進める必要があると考えられる。調査したカーペット (20 製品) 中 65%の製品については、その使用によって室内空気質 TVOC の暫定目標値を超える室内汚染が引き起こされる可能性が示された。個別 VOC については、シックハウス症候群との因果関係が報告されている 2-Ethyl-1-hexanol や溶剤、香料として使用される脂肪族アルコール類が高頻度に比較的高濃度で放散されることが明らかになった。SVOCs に関しては Tris(2-chloroethyl) phosphate や Dibutyl adipate が放散するカーペットが見いだされ、その放散速度から 1 日当たりそれぞれ 6.7 mg、42 mg 程度の SVOCs 負荷を生じることが推定された。このように、今後、ハウスダスト等を介した暴露が問題となる SVOC についても、放散を定量的に評価できることが明らかになった。

本研究で確立した μ -CTE による SVOC の放散試験法では、ガス態として室内環境中に放散されてそのままの状態、あるいは浮遊粒子状物質に吸着した状態で経気道暴露される可能性の高い Fraction と、製品表面や近傍へ移行した後に Hand-to-Mouth 行動やハウスダストの摂食による経口暴露、並びに直接的な接触による経皮暴露の可能性が高い fraction を分別して推計することが可能である。

今後は、それぞれの経路による暴露シナリオを精緻化することによって、 μ -CTE 放散試験の結果をもとに様々な家庭用品から放散される VOC/SVOC の多経路暴露スクリーニングが可能となることが期待される。

D. 結論

気道刺激性に関しては、家庭用品から放散する可能性のある化合物及び実際に室内空气中で検出される化合物計 225 化合物について TRP イオンチャネルの活性化を指標として評価した。その結果、50 化合物が TRPV1 を、72 化合物が TRPA1 を活性化することを明らかにした (Table 1)。家庭用品からの放散化学物質に関する定量的解析の結果、本研究でイオンチャネルを活性化することが明らかになった溶剤、可塑剤難燃剤などの多くの化合物が、実際に家庭用品から放散されることが確認された。特にシックハウス症候群との因果関係が指摘されている 2-Ethyl-1-hexanol や、溶剤や香料として使用される脂肪族アルコール類が高頻度に比較的高濃度で放散されることが明らかになった。従って、実際に家庭用品から放散されるこれら化合物が TRP イオンチャネルを介した感覚神経あるいは気道の刺激を引き起こす可能性が考えられる。

また、家庭用品からの放散化学物質以外に、微生物由来揮発性有機化合物や消毒複製生物の中にも比較的低濃度でこれ

らイオンチャネルを活性化する化学物質が見いだされた。これら化合物が複数同時に室内を汚染している状況は容易に想定できる。この場合には、TRPV1 又は TRPA1 をターゲットとして相加的及び相乗的な影響が引き起こされることが予想される。

近年、TRP イオンチャネルが気道や皮膚の慢性炎症疾患において極めて重要な役割を果たすことが明らかになりつつある (TRPA1:A Gatekeeper for inflammation, D.M.Bautista et al., *Annual Review of Physiology*, Vol. 75, 2013)。本研究によって得られた結果は、指針値の策定等によるリスク管理が必要な室内空气中の揮発性有機化合物に関するプライオリティリストを作成する上で、また、未だ十分に解明されていないシックハウス症候群や本態性多種化学物質過敏状態の発症メカニズムを明らかにする上でも極めて重要な情報であると考えられる。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

F-1. 論文発表

- 1) Ohkawara, S., Tanaka-Kagawa, T., Furukawa, Y., Nishimura, T. and Jinno, H.: Activation of the Human Transient Receptor Potential Vanilloid Subtype 1 by Essential Oils. *Biol. Pharm. Bull.*, 33,

- 1434-1437, 2010.
- 2) Ohkawara, S., Tanaka-Kagawa, T., Furukawa, Y., Nishimura, T. and Jinno, H.: Development of a SYBR Green Real-time Polymerase Chain Reaction Assay for Quantitative Detection of Human N-methyl-D-aspartate Receptors Subtype 1 Splice Variants. *J. Health Sci.*, 56, 527-533, 2010.
 - 3) Miura, T. and Kumagai, Y.: Immunochemical method to detect proteins that undergo selective modification by 1,2-naphthoquinone derived from naphthalene through metabolic activation. *J. Toxicol. Sci.*, 35, 843-852, 2010.
 - 4) Miura, T., Shinkai, Y., Jiang, HY., Iwamoto, N., Sumi, D., Taguchi, K., Yamamoto, M., Jinno, H., Tanaka-Kagawa, T., Cho, AK. and Kumagai, Y.: Initial response and cellular protection through the Keap1/Nrf2 system during exposure of primary mouse hepatocytes to 1,2-naphthoquinone. *Chem. Res. Toxicol.*, 24, 559-567, 2011.
 - 5) Takayama N, Iwamoto N, Sumi D, Shinkai Y, Tanaka-Kagawa T, Jinno H, Kumagai Y. Peroxiredoxin 6 is a molecular target for 1,2-naphthoquinone, an atmospheric electrophile, in human pulmonary epithelial A549 cells. *J. Toxicol. Sci.* 36, 817-821, 2011.
 - 6) Ohkawara, S., Tanaka-Kagawa, T., Furukawa, Y. and Jinno, H.: Methylglyoxal activates the human transient receptor potential ankyrin 1 channel. *J. Toxicol. Sci.*, 37, 831-835, 2012.
 - 7) Hirose, R., Miura, T., Sha, R., Shinkai, Y., Tanaka-Kagawa, T., Kumagai, Y. : A method for detecting covalent modification of sensor proteins associated with 1,4-naphthoquinone-induced activation of electrophilic signal transduction pathways. *J. Toxicol. Sci.*, 37, 891-898, 2012.
- F-2. 学会発表
- 1) 神野 透人, 古川 容子, 大河原 晋, 西村 哲治, 香川(田中) 聡子: ハロアセトニトリル類によるヒト侵害刺激受容体 TRPA1 及び TRPV1 の活性化. 第 37 回日本トキシコロジー学会学術年会 (2010.6)
 - 2) 香川(田中) 聡子, 古川 容子, 大河原 晋, 西村 哲治, 神野 透人: Microbial Volatile Organic Compounds によるヒト侵害刺激受容体 TRPA1 及び TRPV1 の活性. 第 37 回日本トキシコロジー学会学術年会 (2010.6)
 - 3) 香川(田中) 聡子, 古川 容子, 大河原 晋, 西村 哲治, 神野 透人: 室内環境

- 化学物質による TRP イオンチャネルの活性化. 第 19 回日本臨床環境医学会学術集会 (2010.7)
- 4) 神野 透人, 香川(田中) 聡子, 古川 容子, 西村 哲治: 計算化学による半揮発性有機化合物の室内環境動態予測に関する研究. フォーラム 2010: 衛生薬学・環境トキシコロジー (2010.9)
 - 5) 大河原 晋, 香川(田中) 聡子, 古川 容子, 西村 哲治, 神野 透人: ナフトキノン及びフェナントラキノンによる侵害受容器 TRP イオンチャネルの活性化. フォーラム 2010: 衛生薬学・環境トキシコロジー (2010.9)
 - 6) 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 古川 容子, 埴岡 伸光, 西村 哲治, 成松 鎮雄, 神野 透人: リン酸エステル系可塑剤・難燃剤の TRP イオンチャネルに対する影響. フォーラム 2010: 衛生薬学・環境トキシコロジー (2010.9)
 - 7) 神野 透人, 香川(田中) 聡子, 古川 容子, 西村 哲治: フラックス発生量測定法による大形木製家具から放散されるアルデヒド類の定量的評価手法に関する研究. 第 47 回全国衛生化学技術協議会年会 (2010.11)
 - 8) 神野 透人, 香川(田中) 聡子, 古川 容子, 西村 哲治: フラックス発生量測定法による大形木製家具から放散される VOC の定量的評価手法に関する研究. 第 47 回全国衛生化学技術協議会年会 (2010.11)
 - 9) 古川 容子, 香川(田中)聡子, 神野 透人, 西村 哲治: 繊維製品中の難燃剤の DART-TOFMS を用いた迅速スクリーニング法の開発. 第 47 回全国衛生化学技術協議会年会 (2010.11)
 - 10) 香川(田中) 聡子, 古川 容子, 神野 透人, 西村 哲治: 大形チャンバー法を用いた大形木製家具からのアルデヒド類及び VOC の放散に関する研究. 第 47 回全国衛生化学技術協議会年会 (2010.11)
 - 11) Jinno H., Furukawa Y., Tanaka-Kagawa T. and Nishimura T.: Screening of Flame Retardants in Textiles by DART-TOFMS. The 2nd Korea-Japan Symposium on Environmental Chemistry (2010.11)
 - 12) Tanaka-Kagawa T. Jinno H., Furukawa Y. and Nishimura T.: Field Survey on the Phthalates in House Dust and Residential Air. The 2nd Korea-Japan Symposium on Environmental Chemistry (2010.11)
 - 13) 神野 透人, 香川(田中) 聡子, 古川 容子, 西村 哲治: 大形家具から放散されるアルデヒド類及び揮発性有機化合物のフラックス発生量測定法による予測. 平成 22 年度室内環境学会学術大会 (2010.12)
 - 14) 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 古川 容子, 西村 哲治, 神野 透人: TXIB 及び Texanol によるヒト侵害刺激受容器 TRP イオンチャネルの活性化. 平成 22 年度室内環境学会学術大会

- (2010.12)
- 15) 古川 容子, 香川(田中) 聡子, 田中 研次, 神野 透人, 西村 哲治: 機能カーテンから放散される揮発性有機化合物—GC/TOFMS による網羅的解析. 平成 22 年度室内環境学会学術大会 (2010.12)
- 16) 神野 透人, 香川(田中) 聡子, 古川 容子, 西村 哲治: 家庭用品からの準揮発性有機化合物の放散に関する研究. 日本薬学会第 131 年会 (2011.3)
- 17) 香川(田中) 聡子, 古川 容子, 大河原 晋, 西村 哲治, 神野 透人: 室内環境化学物質 Texanol 及び TXIB によるヒト侵害刺激受容器 TRP イオンチャネルの活性化. 日本薬学会第 131 年会 (2011.3)
- 18) 成田 一輝, 千葉 弘太郎, 中森 俊輔, 香川(田中) 聡子, 神野 透人, 小林 義典: ストレス誘発性冷えモデルに対する Capsiate の冷え改善効果. 日本薬学会第 131 年会 (2011.3)
- 19) Shinkai, Y., Kumagai, Y., Kimura, T., Yamamoto, C., Yamamoto M., Jinno, H., Tanaka-Kagawa, T. and Kaji, T.: The Keap1-Nrf2 system regulates metallothionein expression and protects vascular endothelial cells from cadmium cytotoxicity. Society of Toxicology 50th Annual Meeting (2011.3)
- 20) Jinno, H., Ohkawara, S., Furukawa, Y., Nishimura, T., Tanaka-Kagawa, T.: Activation of nociceptive transient receptor potential channels by phosphate ester flame retardants/plasticizers, *Indoor Air* 2011 (2011.6)
- 21) Tanaka-Kagawa, T., Ohkawara, S., Furukawa, Y., Nishimura, T., and Hideto, J.: Activation of nociceptive transient receptor potential channels by texanol and TXIB, *Indoor Air* 2011 (2011.6)
- 22) 神野 透人, 古川 容子, 大河原 晋, 西村 哲治, 香川(田中) 聡子: アクリル酸エステル類及びメタクリル酸エステル類によるヒト侵害刺激受容体 TRPA1 及び TRPV1 の活性化, 第 38 回日本トキシコロジー学会学術年会 (2011.7)
- 23) 香川(田中) 聡子, 古川 容子, 大河原 晋, 西村 哲治, 神野 透人: 重金属類によるヒト侵害刺激受容体 TRPA1 及び TRPV1 の活性化, 第 38 回日本トキシコロジー学会学術年会 (2011.7)
- 24) 千葉 弘太郎, 中森 俊輔, 小林 義典, 香川(田中) 聡子, 神野 透人: TRPV1 に対する大黄 anthraquinone 誘導体の活性評価, 日本生薬学会第 58 回年会 (2011.9)
- 25) 神野 透人, 大河原 晋, 西村 哲治, 香川(田中) 聡子: 室内環境化学物質による気道刺激性に関する研究・脂肪族アルコール類, フォーラム 2011 衛生薬学・環境トキシコロジー(2011.10)

- 26) 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 西村 哲治、神野 透人：室内環境化学物質による気道刺激性に関する研究・グリコールエーテル類, フォーラム 2011 衛生薬学・環境トキシコロジー (2011.10)
- 27) 広瀬 玲子, 三浦 高, 新開 泰弘, 香川(田中) 聡子、神野 透人, 熊谷 嘉人：大気親電子物質 1,4-ナフトキノンによるタンパク質の化学修飾を検出する免疫化学的手法の開発, 衛生薬学・環境トキシコロジー (2011.10)
- 28) 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 西村 哲治, 神野 透人：気道刺激性を有する室内環境化学物質の探索 -TRP イオンチャネルの活性化を指標としたスクリーニング-, 平成 23 年度室内環境学会学術大会 (2011.12)
- 29) 岡元 陽子、香川(田中) 聡子、田中 研次、新井 悦恵、古川 容子、神野 透人、西村 哲治：家庭用品から放散する準揮発性有機化合物のスクリーニング試験に関する研究 -. 平成 23 年度室内環境学会学術大会, 2011 年 12 月.
- 30) 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 西村 哲治, 神野 透人：テルペン類酸化生成物によるヒト侵害受容器 TRP イオンチャネルの活性化, 日本薬学会第 132 年会 (2012.3) .
- 31) 池田 香, 香川(田中) 聡子, 神野 透人, 小林 義典：紫根による侵害受容体 TRPA1 の活性化に関する研究, 第 37 回日本香粧品学会 (2012.6) .
- 32) Tanaka-Kagawa T, Okamoto Y, Jinno H: Screening of volatile and semi-volatile organic compounds, Healthy Buildings 2012 (2012.7).
- 33) 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 神野 透人：フタル酸エステル類及びその加水分解生成物による TRPV1 及び TRPA1 の活性化, 第 39 回日本毒性学会学術年会 (2012.7) .
- 34) Jinno H, Ohkawara H, Tanaka-Kagawa T: Activation of nociceptive transient receptor potential channels by phthalates, The 6th International Congress of Asian Society of Toxicology (2012.7).
- 35) 香川(田中)聡子, 岡元陽子, 五十嵐良明, 神野透人：室内空气中総揮発性有機化合物の構成成分に関する研究, フォーラム 2012：衛生薬学・環境トキシコロジー (2012.10).
- 36) 五十嵐良明, 内野 正, 西村哲治：家庭用品から放散するアクリル酸エステル類及びメタクリル酸エステル類の感作性評価, フォーラム 2012：衛生薬学・環境トキシコロジー (2012.10).
- 37) 香川 (田中) 聡子, 岡元陽子, 神野透人, 五十嵐良明：家庭用品から放散される揮発性有機化合物に関する研究—放散試験としてのサンプリングバッグ法の適応可能性について—, 第 49 回全国衛生化学技術協議会年会

(2012.11).

- 38) 岡元陽子, 香川(田中)聡子, 五十嵐良明, 神野透人: 室内空気中 VOC 構成成分のクラスター分析, 平成 24 年度室内環境学会学術大会 (2012.12)
- 39) 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 岡元陽子, 五十嵐良明, 神野透人: フタル酸エステル類の気道刺激性に関する研究, 平成 24 年度室内環境学会学術大会 (2012.12)
- 40) 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 岡元陽子, 五十嵐良明, 神野透人: イソチアゾリン系抗菌剤によるヒト侵害受容器 TRP イオンチャネルの活性化, 日本薬学会第 133 年会 (2013.3) .

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. 資料編 - 分担研究 総合研究報告書

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 総合研究報告書

家庭用品から放散される揮発性有機化合物の気道刺激性及び感作性を指標とする
リスク評価

生活環境化学物質の気道刺激性に関する研究

—ヒト TRP イオンチャンネルを活性化する室内環境化学物質のスクリーニング—

研究代表者 香川(田中) 聡子 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 主任研究官
研究分担者 神野 透人 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 第一室長
研究協力者 古川 容子 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 第一室
研究協力者 新井 悦恵 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 第一室
研究協力者 岡元 陽子 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 第一室
研究協力者 真弓 加織 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 第一室
研究協力者 田原 麻衣子 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 第一室

研究要旨：本研究は、シックハウス症候群やアレルギー性鼻炎、気管支喘息の発症・増悪要因と考えられる室内環境化学物質として、特に家庭用品から放散される様々な揮発性有機化合物の気道刺激性及び気道感作性を明らかにするとともに、家庭用品からの放散速度を基に算出した推計暴露量を考慮に入れて生活環境中での健康リスクの蓋然性を判定することにより、指針値策定等のリスク管理が必要と考えられる室内空気中の揮発性有機化合物を特定することを目的とする。気道刺激性の *in vitro* 評価法として、化学物質刺激等の侵害受容に関与する Transient Receptor Potential (TRP) イオンチャンネルの活性化を指標として、家庭用品から放散される可能性のある化学物質及び室内空気中に存在することが報告されている化合物を含む揮発性有機化合物を評価した。その結果、3年間で評価した 225 化合物のうち、50 化合物が TRPV1 を、72 化合物が TRPA1 を活性化することを明らかにした。イオンチャンネルを活性化することが明らかになった化合物として、実際に液晶テレビやパーソナルコンピューターから放散することが確認された Butyl acrylate がヒト TRPA1 を、また、可塑剤/難燃剤として使用されているリン酸トリエステル類の中で、主にポリウレタン発泡材に難燃剤として用いられる Tris(2-chloroisopropyl) phosphate や一般家庭のハ

ウスダスト中からも比較的高濃度で検出される Tris(butoxyethyl) phosphate が TRPV1 及び TRPA1 を活性化することが明らかになった。また、可塑剤として広く用いられている TXIB も活性化の程度は弱いながら、比較的低濃度で TRPV1 を活性化することが判明した。可塑剤フタル酸エステル類に関しては、ハウスダスト中で極めて高濃度で検出される Bis(2-ethylhexyl) phthalate にイオンチャネルの活性化能は認められなかったが、その加水分解物でハウスダスト中に検出される Monoethylhexyl phthalate が TRPA1 を活性化することが明らかになった。溶剤としても広く使用されシックハウス症候群との因果関係が指摘されている 2-Ethyl-1-hexanol や Texanol も TRPA1 を活性化することが明らかになった。また、実際に室内環境中に存在する消毒副生成物や微生物由来揮発性有機化合物も TRP を活性化することが判明し、これらが、相加・相乗的に感覚神経あるいは気道の刺激を引き起こす可能性がある。可塑剤や接着剤、塗料の溶剤や化粧品原料として使用されるグリコールエーテル類、香料成分として洗剤等の家庭用品にも多用される 1-Nonanol や Tetrahydrogeraniol が両イオンチャネルを比較的低濃度領域で顕著な活性化を引き起こすことが判明した。また、シックハウス症候群との関連が指摘されている 2-Ethyl-1-hexanol が TRPA1 を顕著に活性化し、その EC₅₀ 値は約 170 μM であることが明らかになった。これまでに、塗料中に含まれる殺菌・防腐剤イソチアゾリン誘導体が室内空気を介して皮膚炎を発症させる事例や、鼻炎や微熱等のシックハウス様症状を示す事例も報告されていることから、これらの化学物質が、TRPV1 及び TRPA1 の活性化を介して気道過敏の亢進等を引き起こしている可能性も考えられる。以上の結果から、家庭用品から放散され、また、実際に室内環境中で検出されるこれら化合物が、TRPV1 及び TRPA1 の活性化を介して気道の刺激を引き起こす可能性が考えられる。

A. 研究目的

室内環境中の化学物質が発症の原因あるいは増悪因子となり得る疾病として、いわゆるシックハウス症候群や化学物質過敏症の他に、アレルギー性鼻炎や気管支喘息、アトピー性皮膚炎等の疾病がある。これらの疾病への関与が疑われる典型的な化学物質として1999年に室内濃度指針値が策定されたホルムアルデヒドが

挙げられるが、その他の室内環境化学物質について特に経気道暴露による免疫毒性の観点からリスク評価を行った例は極めて限られている。そこで、本研究では、家庭用品から放散される様々な揮発性有機化合物について、気道刺激性の有無や濃度依存性を明らかにすることを目的とする。

気道刺激性に関しては、これまでに確

立された *in vitro* の評価手法がないために、本研究では Transient Receptor Potential (TRP) イオンチャネルの活性化を指標とする。TRP イオンチャネルは末梢神経などに発現し、温度刺激や機械刺激、化学物質刺激の侵害受容に関与する一群の 6 回膜貫通型陽イオンチャネルである。最近の研究で、TRP イオンチャネルサブファミリーの一つである TRPA1 は、ホルムアルデヒド、アクロレイン、パラベン類、ニコチンなど多様な生活環境化学物質によって活性化され¹⁾、気管支喘息における気道の炎症及び過反応性に重要な役割を果たすことが動物実験によって明らかにされている (Fig. 1)^{2,3)}。本研究では樹立したヒト TRPV1 及び TRPA1 発現細胞株を用いてハイスループットアッセイ系を構築し、3 年間の研究期間内に延べ 150 化合物についてスクリーニング試験を実施することを目標とした。

本研究代表者らは、医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室の委託事業として実施した放散試験において、アクリル酸/メタクリル酸エステル類、グリコールエーテル類や脂肪族アルコール類が家庭用品から放散されることを確認している。アクリル酸/メタクリル酸エステル類は現在急速に普及している液晶テレビをはじめ塗料や粘・接着剤、アクリル樹脂等の原料として利用されており、既に呼吸器/皮膚感作性が確認されている化学物質も含まれる。アクリル酸エステルと構造類

似性を有するフマル酸エステル類の中には、欧州向けの中国製ソファに防かび剤として使用されて皮膚障害を生じた化学物質も含まれている。グリコールエーテル類は可塑剤や染料等の溶剤、化粧品基剤として広く使用されており、その中には生殖および発達への影響から、米国環境保護庁において有害規制法による「重要新規利用」規則の適用を提案された化学物質も含まれる。脂肪族アルコール類は溶剤や香料として多用されており、シックハウス症候群との因果関係が指摘されている化学物質も含まれる。イソチアゾリン系抗菌剤は冷却ジェル寝具の使用によるアレルギー性接触皮膚炎の原因物質であることが指摘され、この化学物質が室内空気を介して皮膚炎を発症させる事例や、鼻炎や微熱等のシックハウス様症状を示す事例も報告されている。本研究では、家庭用品から放散される可能性のある化学物質及び室内空気中に存在することが報告されている化学物質を含む 225 化合物について評価した。

B. 研究方法

B-1. ヒト TRPV1 及び TRPA1 安定発現細胞株の樹立

ヒト後根神経節 Total RNA より RT-PCR によって増幅した hTRPV1 及び hTRPA1 cDNA を pENTR/D-TOPO Vector にクローニングした。先ず、得られた pENTR/hTRPV1、pENTR/hTRPA1 から Gateway LR