

## A. 研究目的

日常生活で暴露される様々な化学物質の毒性評価は、概ね実験動物における毒性所見を人に外挿することで実施されている。しかし、気化性化学物質の吸入毒性の内、シックハウス症候群については、人における被害報告濃度と、従来の実験動物で検出可能な器質変化濃度の乖離が甚だしく、現行の実験動物の吸入毒性指標(器質的障害)を人へ外挿することは困難である。この問題に対し、先行研究「シックハウス症候群レベルの暴露を考慮した吸入毒性評価系に関する研究」(厚生労働省・化学物質リスク研究事業)では、「厚生労働省シックハウス問題に関する検討会」が掲げる物質について、器質的变化が誘発される以前の段階(時間的及び濃度的)での遺伝発現変動を網羅的に評価可能なPercellome トキシコゲノミクスを極低濃度暴露時の肺及び肝に適用した結果、病態の惹起或いは生体防御の発動を示唆する影響を高感度に捕捉することができた。

この成果を踏まえ、本研究は、第一に極低濃度下での比較的長期暴露時(28日間)の肺を電子顕微鏡等により高精度に解析し、暴露による有害性を実証し、先行研究の遺伝子発現変動データの予見性を確認すること、第二にシックハウス症候群等において通常の検査からは病因が特定されない「不定愁訴」の分子実態を把握すること、を目的とする。

本分担研究では、雄性マウスを対象とした極低濃度吸入暴露実験を、第一の目的に向けて、形態観察のための長期暴露実験、すなわち22時間/日×28日間反復暴露のプロトコールにより、加えて第二の目的に向けて、先行研究での暴露条件である6時間/日×7日間反復暴露及び22時間/日×7日間反復暴露の2種類のプロトコールにより実施する。平成23年度はホルムアルデヒド(指針値: 0.08 ppm)について室内濃度指針

値を考慮し、0.1、0.3及び1.0 ppmを目標暴露濃度として、平成23年度はキシレン(混合キシレン)(指針値: 0.2ppm)について室内濃度指針値を考慮し、0.2、0.7及び2.0 ppmを目標暴露濃度として、平成25年度はパラジクロロベンゼン(指針値: 0.04 ppm)について室内濃度指針値を考慮し、0.04、0.12及び0.40 ppmを目標暴露濃度として極低濃度吸入暴露を実施した。

## B. 研究方法

B-1:ホルムアルデヒド

B-1-1: 被験物質

ホルムアルデヒド(formaldehyde; 分子量: 30.03, CAS No.: 50-00-0、別名: メタナル、オキシメタン、酸化メチレン)は、下記の試薬を使用した。

製造元: 和光純薬工業株式会社

試薬名: ホルムアルデヒド液

カタログ番号: 064-00406

ロット番号: DCR2374

ホルムアルデヒド濃度 :37% (メタノールを7.4%含有、ギ酸含量0.04%以下)

沸点 : -19.2°C

蒸気圧: 1.33 kPa (-88°C)

比重 : 0.815

使用したホルムアルデヒドの特性をGC/MS(日立製作所 M-80B)を用いて調べた結果、ホルムアルデヒドに相当する分子イオンピーク及びフラグメントピーク(McLafferty 1994)を確認した。

B-1-2: ホルムアルデヒドの吸入暴露システム

B-1-2-1: 6時間/日×7日間反復及び、22時間/日×7日間反復実験の場合:

この部分は、日本バイオアッセイ研究センターに委託することにより実施した。

吸入暴露装置のシステムを図ホルムアルデヒ

ド-1に示した。吸入暴露装置は、①ホルムアルデヒド蒸気の発生装置へ送る発生空気、キャリアー空気の流量制御装置（図ホルムアルデヒド-1のA）、②ホルムアルデヒド蒸気の発生装置（図ホルムアルデヒド-1のB）、③ホルムアルデヒド蒸気を一次希釈装置に送気するための配管（図ホルムアルデヒド-1のC）、④ホルムアルデヒド蒸気を新鮮空気と混合・希釈するための一次希釈装置（図ホルムアルデヒド-1のD）、⑤一次希釈したホルムアルデヒド蒸気各濃度の吸入チャンバーへの供給量を調整するフローコントロールバルブと流量計（図ホルムアルデヒド-1のE）⑥一次希釈したホルムアルデヒド蒸気をさらに新鮮空気と混合・希釈するためのラインミキサー（図ホルムアルデヒド-1のF）、⑦動物をホルムアルデヒド蒸気に暴露させる全身暴露型の吸入チャンバー（図ホルムアルデヒド-1のG）、⑧濃度測定のためのサンプリング装置（図ホルムアルデヒド-1のH）を作製した。

吸入チャンバーは全身暴露型であり、上部と下部が角錐状になった角型のチャンバーで観察窓の部分がガラス製、その他の部分はステンレス製である。容量は各吸入チャンバーとも1,060 Lである。チャンバー内の空気の流れを均一化するために、吸入チャンバー上部の角錐部と角型部の間に、多孔板を設置した。吸入チャンバーは、各群（0.1 ppm暴露群、0.3 ppm暴露群、1.0 ppm暴露群および対照群）につき1台、計4台を用いた。動物を収容する個別飼育ケージは吸入チャンバーの角型部の同一平面上に設置した。飼育ケージは全面がステンレス製の金網であり、5連ケージ（1匹当りのスペースが100(W) × 116(D) × 120(H) mm）を使用した。ケージには蓋付のえさ箱、および動物の飲水のための自動給水ノズルを設置した。また、吸入チャンバー下部の角錐部には動物の糞尿を除去するための自動洗浄装置を設置した。

B-1-2-2: 22時間/日 × 28日間反復実験の場合:

この部分は、国立医薬品食品衛生研究所・毒性部において実施した。

ホルムアルデヒドガスの発生法には、1) パラホルムアルデヒドを加熱する、2) 希釈液を加熱した空気と共に加熱したチャンバー内へスプレーする、3) ホルムアルデヒド希釈液内に空気を送り込みバブリングさせて蒸気を発生させる、4) 市販の標準ガスボンベを用いるなどの方法がある。ここでは先行研究での検討の結果、もともと安定して発生する事ができる、3) ホルムアルデヒド希釈液内に空気を送り込みバブリングさせて蒸気を発生させる方法、を選択した。具体的には、所有するバブリングによる発生装置（柴田科学、Photo-1）を用いてガスを発生する方法を採用した。35°Cに加温した発生装置内タンクへホルムアルデヒド液（37%、和光純薬）を希釈して入れ、これに発生空気を送りバブリングによりガスを発生させ、このガスを希釈空気により希釈を加え、横層流型チャンバー（柴田科学、Photo-1）内へ空調（温度:25±2°C、湿度:55±5%）され活性炭を通した清浄な換気空気によりさらに希釈し目的濃度まで低下させ、ステンレス製網ケージ（柴田科学、Photo-3）内に収容したマウスに1日あたり22時間（午後12時より午前10時まで）、28日間吸入暴露した。本研究で以後使用するチャンバーは、横層流型（容積3 m<sup>3</sup>、Photo-1）とし、チャンバー内にサーキュレーター（Photo-3）を設置し強力に空気を攪拌した状態で動物への暴露を行うこととした。

B-1-3: ホルムアルデヒドの発生方法

B-1-3-1: 6時間/日 × 7日間反復及び22時間/日 × 7日間反復実験の場合:

この部分は、日本バイオアッセイ研究センターに委託することにより実施した。

ホルムアルデヒドの発生装置については、ホ

ホルムアルデヒドの特性、すなわち、常温でホルムアルデヒド水溶液(ホルマリン)として液体に溶解しており、このため、ホルムアルデヒドを空気でバブリングし、発生する蒸気を利用する方法を選択した。

吸入チャンバーの換気流量は20 L/minに設定し、発生空気の流量は0.6 L/min、キャリアー空気流量は0.6 L/minで再希釈用の被験物質供給装置に導入した。その装置内でさらに20 L/minの清浄空気を用いて再希釈し、吸入チャンバーに設定流量(1.7 L/min)で供給した。

被験物質の発生に関しては、少量の被験物質を発生可能な小型発生器を用いた(図ホルムアルデヒド-2)。

微量のホルムアルデヒドを安定して気化させるためには、微小な気泡によりバブリングすることが必要である。この目的のために、バブリング部分の素材については、ゴアテックスチューブ(ジャパンゴアテックス株式会社、GORETMチューブTB005、内径5.00±0.30mm、肉厚0.60±0.05mm、最大孔径3.5mm、穿孔率70±5%)を使用した(図ホルムアルデヒド-3)。

発生容器を入れる恒温槽の温度については、ホルムアルデヒド安定的に発生する温度である5°Cに設定した。

B-1-3-2: 22時間/日×28日間反復実験の場合:

この部分は、国立医薬品食品衛生研究所・毒性部において実施した。

発生方法については、先行研究での検討の結果、ホルムアルデヒドガスの低濃度を安定的に得られるバブリング方式が最適であったため、この手法を選択した。ホルムアルデヒドガスは、10倍希釈液をバブリングすることで目標濃度を達成することが可能であった。先行研究にて、マウス被毛へのガス吸着が濃度低下を引き起こし、小型チャンバーの発生機(柴田科学、Photo-2)では吸着量を上回るホルムアルデヒド

ガスの発生は計算上不可能であったため、横槽流チャンバーとその発生装置(柴田科学、Photo-1)を用いることとした。さらに、横槽流チャンバー内にサーキュレーター(ボルネード、Photo-3)を設置し、内部空気を強力に攪拌することで、マウス被毛へのガス吸着による濃度の不均一を解消する工夫をした。発生流量を4.0L/分とし、供給流量はチャンバー内のホルムアルデヒド濃度測定結果を考慮しつつ調整し、目標濃度1.0ppmに対して2.92~4.50L/分、0.3ppmには0.82~1.18L/分、0.1ppmには0.29~0.40L/分とし、一次希釈流量40L/分及びチャンバー換気流量650L/分で希釈し暴露した。

B-1-4:ホルムアルデヒドの吸入チャンバー内の濃度測定の方法

B-1-4-1: 6時間/日×7日間反復及び22時間/日×7日間反復実験の場合:

この部分は、日本バイオアッセイ研究センターに委託することにより実施した。

B-1-4-1-A: 被験物質の捕集方法

サンプリング用ポンプとして高負荷型ミニポンプ(MP-Σ100H、柴田科学製)を用い、動物を収容するケージの上部に設置した捕集管2,4-ジニトロフェニルヒドラジンがあらかじめ添加された捕集管LpDNPH H30(カタログ番号: 505323 スペルコ社)を吸入チャンバー内に挿入し、6時間及び22時間、吸入チャンバー内のホルムアルデヒドを捕集した。

B-1-4-1-B: 捕集管の前処理及び分析条件

捕集管で捕集したホルムアルデヒドは、捕集管内の2,4-ジニトロフェニルヒドラジンと反応し、ホルムアルデヒド 2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンとして捕集管内に生成させた(図ホルムアルデヒド-4, 5)。反応・生成したホルムアルデヒド 2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンは、アセトニトリル(HPLC分析用 和光純薬工業

株式会社)20mLによりメスフラスコに抽出し、濃度に応じて希釈調製し、高速液体クロマトグラフ(HPLC)(LC-10 島津製作所)により分析を実施した(図ホルムアルデヒド-6)。

HPLCの分析条件は、移動相組成はアセトニトリル：蒸留水=60：40、流量は1mL/min、カラムはL-column ODS(4.5mmφ×150mm、粒径：5μm(財)化学物質評価研究機構)、検出波長はUV260nm、試料注入量は10μLとした。また、検量線はホルムアルデヒドの量を換算したホルムアルデヒド2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンの標準品ホルムアルデヒド-DNPH(カタログ番号：4M7177 スペルコ社)を用い、0.1~10μg/mLの範囲で検量線を作成した。

B-1-4-2：22時間/日×28日間反復実験の場合：被験物質の捕集の部分は、国立医薬品食品衛生研究所・毒性部において実施し、捕集管の前処理及び分析は、日本バイオアッセイ研究センターに依頼した。

ホルムアルデヒドガスの濃度検知は、チャンバー内濃度について、定流量ポンプ(MPΣ-30(柴田科学)、Photo-4)により捕集管LpDNPH S10L(カタログ番号：505361-U、スペルコ社)へチャンバー内空気を通し、捕集管内に充填されているDNPH(2,4-dinitrophenylhydrazineをコーティングした球状シリカゲルビーズ)にアルデヒドを吸着させ、溶媒(アセトニトリル)で抽出し、液体クロマトグラフを用いてその濃度を測定する、「シックハウス(室内空気汚染)問題に関する検討会」が推奨する方法によりおこなった。捕集管流量は、対照群及び0.1ppm暴露群では500mL/分[660L]、0.3ppm暴露群では100mL/分[132L]、1.0ppm暴露群では60mL/分[66.0L]とした。22時間/日×28日間暴露に際し、暴露期間中毎日、マウスへの22時間暴露中のチャンバー内空気を捕集した捕集管を、冷蔵下で測定機関(日本バイオアッセイ研究センター)に送付し、分析

を依頼した。

B-2：キシレン

B-2-1：被験物質

キシレン(Xylene; 分子量：106.17、CAS No.：1330-20-7)は、下記の試薬を使用した。

製造元：和光純薬工業株式会社

試薬名：キシレン

カタログ番号：244-00081(3Lガロン瓶)

ロット番号：TGP8162

沸点：144℃(o-体)、139.3℃(m-体)、137~138℃(p-体)

蒸気圧：0.7kPa(o-体、20℃)、0.8kPa(m-体、20℃)、0.9kPa(p-体、20℃)

比重：0.8801(o-体、20℃/4℃)、0.8684(m-体、15℃/4℃)、0.86104(p-体、20℃/4℃)

使用した被験物質の特性をガスクロマトグラフ法により確認し、その結果を図キシレン-1-1~図キシレン-1-5に示した。図キシレン-1-1にo-キシレン標準品、図キシレン-1-2にm-キシレン標準品、図キシレン-1-3にp-キシレン標準品、図キシレン-1-4にエチルベンゼン標準品及び図キシレン-1-5に被験物質のキシレンのクロマトグラムをそれぞれ示した。この結果、被験物質中の分離した4つのピークは、先頭から、エチルベンゼン、p-キシレン、m-キシレン及びo-キシレンの順で溶出し、被験物質のそれぞれのピークは各標準品のピークと保持時間が一致し、被験物質として用いたキシレンは、エチルベンゼン、p-キシレン、m-キシレン及びo-キシレンを含有することが確認された。

B-2-2：キシレンの吸入暴露システム

B-2-2-1：6時間/日×7日間反復及び、22時間/日×7日間反復実験の場合：

この部分は、日本バイオアッセイ研究センターに委託することにより実施した。

吸入暴露装置のシステムを図キシレン-2に示した。吸入暴露装置は、①キシレンガスの発生装置（図キシレン-2のA(破線内)）、②発生および希釈空気の流量制御装置（図キシレン-2のB,C）、③一次希釈したキシレンガスを各濃度の吸入チャンバーへ定量供給するフローコントロールバルブと浮子式流量計（図キシレン-2のD）④一次希釈したキシレンガスをさらに新鮮空気と混合・希釈するためのラインミキサー（図キシレン-2のE）、⑤動物をキシレンガスに暴露させる全身暴露型の吸入チャンバー（図キシレン-2のF）、⑥濃度測定のためのサンプリング装置（図キシレン-2のG）を作製した。

吸入チャンバーは全身暴露型であり、上部と下部が角錐状の角型チャンバーで観察窓の部分がガラス製、その他の部分はステンレス製である。容量は各吸入チャンバーとも1,060 Lである。チャンバー内の空気の流れを均一化するために、吸入チャンバー上部の角錐部と角型部の間に、多孔板を設置した。吸入チャンバーは、各群（0.2 ppm暴露群、0.7 ppm暴露群、2.0 ppm暴露群および対照群）につき1台、計4台を用いた。動物を収容する個別飼育ケージは吸入チャンバーの角型部の同一平面上に設置した。飼育ケージは全面がステンレス製の金網であり、5連ケージ（1匹当りのスペースが100(W)×116(D)×120(H) mm）を使用した。ケージには蓋付のえさ箱、および動物の飲水のための自動給水ノズルを設置した。また、吸入チャンバー下部の角錐部には動物の糞尿を除去するための自動洗浄装置を設置した。

B-2-2-2: 22時間/日 × 28日間反復実験の場合:

この部分は、国立医薬品食品衛生研究所・毒性部において実施した。

キシレンガスの発生法は先行研究での検討の結果、もっとも安定して発生する事ができる、バブリングにより発生させる装置(柴田科学、Photo-1)を用いてガスを発生する方法を採用し

た。23°Cに加温した発生装置内タンクへキシレン(和光純薬)を入れ、これに発生空気を送りバブリングによりガスを発生させ、このガスを希釈空気により希釈を加え、横層流型チャンバー(柴田科学、Photo-1)内へ空調(温度:25±2°C、湿度:55±5%)され活性炭を通した清浄な換気空気によりさらに希釈し目的濃度まで低下させ、ステンレス製網ケージ(柴田科学、Photo-3)内に収容したマウスに1日あたり22時間(午後12時より午前10時まで)、28日間吸入暴露した。本研究で以後使用するチャンバーは、横層流型(容積3 m<sup>3</sup>、Photo-1)とし、チャンバー内にサーキュレーター(Photo-3)を設置し強力に空気を攪拌した状態で動物への暴露を行うこととした。

B-2-3: キシレンガスの発生方法

B-2-3-1: 6時間/日 × 7日間反復及び22時間/日 × 7日間反復実験の場合:

この部分は、日本バイオアッセイ研究センターに委託することにより実施した。

キシレンガスの発生については、キシレンを一定温度下(22°C)でバブリングする方法でキシレンガスを作製した。この時、不要なキシレンを取り除く為に冷却(17°C)し、さらに再加熱(23°C)することで一定濃度のキシレンガスを得た。吸入チャンバーの換気流量は212 L/minでバブリングに使用した発生空気は1.0 L/min、希釈空気は10 L/minとして一定量(0.15 L/分、0.5 L/分、1.65 L/分)のキシレンガスを吸入チャンバーに送気して、目的濃度を作製した。(表キシレン-1)

B-2-3-2: 22時間/日 × 28日間反復実験の場合:

この部分は、国立医薬品食品衛生研究所・毒性部において実施した。

発生方法については、先行研究での検討の結果、キシレンガスの低濃度を安定的に得られるバブリング方式が最適であったため、この手法

を選択した。キシレンガスは、キシレンをバブリングすることで目標濃度を達成することが可能であった。発生流量を0.7L/分とし、供給流量はチャンバー内濃度測定結果を考慮し調整し、目標濃度2.0ppmに対して1.65～1.79L/分、0.7ppmには0.42～0.49L/分、0.2ppmには0.11～0.12L/分とし、一次希釈流量25L/分及びチャンバー換気流量650L/分で希釈し暴露した。

B-2-4:キシレンの吸入チャンバー内の濃度測定の方法

B-2-4-1: 6時間/日×7日間反復及び22時間/日×7日間反復実験の場合:

この部分は、日本バイオアッセイ研究センターに委託することにより実施した。

B-4-1-A: 被験物質の捕集方法

サンプリング用ポンプとして高負荷型ミニポンプ(MP-Σ100H、柴田科学製)を用い、動物を収容するケージの上部に設置した捕集管(ORB0TM-91 Tube, Extra-Large、SUPELCO社製)を吸入チャンバー内に挿入し、6時間及び22時間、吸入チャンバー内のキシレンを捕集した。

B-2-4-1-B: 捕集管の前処理及び分析条件

捕集管で捕集したキシレンは、捕集管内の活性炭(1層及び2層)を取り出し、各々、バイアルびん(柴田科学株式会社製)に入れ、二硫化炭素(和光純薬工業株式会社製、作業環境測定用)を加え、蓋をしてダイレクトミキサー(サーマル化学産業株式会社製)を用いて振とうした。各濃度の活性炭1層の抽出液は、検量線の所定の範囲に入るように希釈した。その後、バイアルびん(Agilent Technologies社製)に入れ、蓋をしてガスクロマトグラフ(Agilent Technologies社製 HP5890A)より分析を実施した(図キシレン-3)。GCの分析条件は、カラムはXylene Master(0.32mmφ×50m)、キャリアーガスはヘリウム、検出器はFIDを用い、カラム温度

は65°C、注入口温度は200°C、検出器温度は200°C、試料注入量は1μLとした。なお、先行研究ではキシレンのm-とp-体及び不純物であるエチルベンゼンのそれぞれの単独の濃度は測定できなかったが、本実験ではガスクロマトグラフ用のカラムにXylene Master(信和化工株式会社)を採用した(図キシレン-4)。この事により、これら3種の異性体に加えて不純物であるエチルベンゼンの各濃度が測定できるようになった(図キシレン-5)。

B-2-4-2: 22時間/日×28日間反復実験の場合:

被験物質の捕集の部分は、国立医薬品食品衛生研究所・毒性部において実施し、捕集管の前処理及び分析は、日本バイオアッセイ研究センターに依頼した。

キシレンガスの濃度検知は、チャンバー内濃度について、定流量ポンプ(MPΣ-30、MPΣ-300(柴田科学)、Photo-4)により活性炭捕集管(8015-0532JUMBO、柴田科学社)へチャンバー内空気を通し、捕集管内に充填されている活性炭にキシレンガスを吸着させ、溶媒(二硫化炭素)で抽出し、ガスマスを用いてその濃度を測定する、「シックハウス(室内空気汚染)問題に関する検討会」が推奨する方法によりおこなった。捕集管流量は、対照群及び0.2ppm暴露群では500mL/分[660L]、0.7ppmおよび、2.0ppm暴露群では100mL/分[132.0L]とした。22時間/日×28日間暴露に際し、暴露期間中毎日、マウスへの22時間暴露中のチャンバー内空気を捕集した捕集管を測定機関(日本バイオアッセイ研究センター)に送付し、分析を依頼した。

B-3:パラジクロロベンゼン

B-3-1: 被験物質

パラジクロロベンゼン(paradichlorobenzene; 分子量:147、CAS No.:106-46-7)は、下記の試薬を使用した。

製造元：和光純薬工業株式会社

試薬名：パラジクロロベンゼン

カタログ番号：047-01315 (500 g 瓶)

ロット番号：WEP0371

沸点：174°C

蒸気圧：0.17kPa (20°C)

純度：99.9% (和光純薬工業(株)測定値)

使用した被験物質の特性は、GC/MS (日立社製 M-80B) を用いて定性した。図パラジクロロベンゼン1-1に被験物質のマススペクトルを、図パラジクロロベンゼン1-2にパラジクロロベンゼンの文献のマススペクトルを示した。その結果、被験物質とパラジクロロベンゼンの文献データとは一致し、かつ分子イオンピーク及びフラグメントピークを確認した。

B-3-2:パラジクロロベンゼンの吸入暴露システム

B-3-2-1: 6時間/日×7日間反復及び、22時間/日×7日間反復実験の場合：

この部分は、日本バイオアッセイ研究センターに委託することにより実施した。

吸入暴露装置のシステムを図パラジクロロベンゼン2に示した。吸入暴露装置は、①パラジクロロベンゼン蒸気の発生装置 (図パラジクロロベンゼン2のA)、②パラジクロロベンゼン蒸気を希釈するための一次希釈装置 (図パラジクロロベンゼン2のB)、③希釈したパラジクロロベンゼン蒸気の流量を制御するための供給バルブ (フローコントロールバルブ) と流量計 (図パラジクロロベンゼン2のC)、④パラジクロロベンゼン蒸気を新鮮空気と混合し二次希釈するためのラインミキサー (図パラジクロロベンゼン2のD)、⑤動物をパラジクロロベンゼン蒸気に暴露させる全身暴露型の吸入チャンバー、⑥濃度測定のためのサンプリング装置 (図パラジクロロベンゼン2のE) によって構成した。

吸入チャンバーは全身暴露型であり、上部と下部が角錐状になった角型のチャンバーで観察窓の部分がガラス製、その他の部分はステンレス製である。容量は各吸入チャンバーとも1,060 Lである。チャンバー内の空気の流れを均一化するために、吸入チャンバー上部の角錐部と角型部の間に、多孔板を設置した。動物を収容する個別飼育ケージは吸入チャンバーの角型部の同一平面上に設置した。飼育ケージは全面がステンレス製の金網であり、5連ケージ (1匹当りのスペースが100(W)×116(D)×120(H) mm) を使用した。ケージには蓋付のえさ箱、および動物の飲水のための自動給水ノズルを設置した。また、吸入チャンバー下部の角錐部には動物の糞尿を除去するための自動洗浄装置を設置した。

B-3-2-2: 22時間/日×28日間反復実験の場合

この部分は、国立医薬品食品衛生研究所・毒性部において実施した。

パラジクロロベンゼンのガスの発生法は先行研究での検討の結果、もっとも安定して発生する事ができる、加温により昇華発生させる装置を用いてガスを発生する方法を採用した。温浴槽で40°Cに加温した密閉容器内へパラジクロロベンゼン (Cat No. 047-01315, 和光純薬) を入れ、この中へ発生空気を送りガスを発生させ、このガスを一次希釈空気により一定濃度に希釈混合、流量計を用いて一定量を横層流型吸入チャンバー (柴田科学、Photo-1) 上部のラインミキサーに供給し、ラインミキサー内で空調 (温度: 25±2°C、湿度: 55±5%) され活性炭を通した清浄な換気空気によりさらに希釈し目的濃度まで低下させ、ステンレス製網ケージ (柴田科学、Photo-3) 内に収容したマウスに1日あたり22時間 (午後12時より午前10時まで)、28日間吸入暴露した。本研究で以後使用するチャンバーは、横層流型 (容積3 m<sup>3</sup>、Photo-1) とし、チャンバー内にサーキュレーター (Photo-3) を設置し強力に空気を攪拌し

た状態で動物への暴露を行うこととした。

B-3-3: パラジクロロベンゼンの発生方法

B-3-3-1: 6時間/日×7日間反復及び22時間/日×7日間反復実験の場合:

この部分は、日本バイオアッセイ研究センターに委託することにより実施した。

恒温槽 (27℃) に収納したパラジクロロベンゼン入り密封容器に、清浄空気 (発生空気) を供給しパラジクロロベンゼンを気化させた。このパラジクロロベンゼンを含む空気と清浄空気 (キャリア空気) を混合し、被験物質供給装置 (柴田科学株式会社) の発生容器 (循環式恒温槽で27℃に温度維持) に導入した。さらに、清浄空気 (希釈空気) で一定濃度に希釈混合した後、流量計を用いて一定量を吸入チャンバー上部のラインミキサーに供給し、ラインミキサー上で新鮮空気と混合し、設定濃度としたパラジクロロベンゼンを吸入チャンバーに送り込んだ。新鮮空気はHEPAフィルターと活性炭フィルターにより濾過して使用した。なお、暴露濃度が目標濃度となるように、ガス濃度を毎日測定し、その結果を基にガス供給量を毎日補正し、暴露を行った。具体的には、前日の濃度分析結果を基に、ガス供給量を浮子式流量計のフローコントロールバルブにて調節することにより目的濃度を作製した。(表パラジクロロベン-1)

B-3-3-2: 22時間/日×28日間反復実験の場合:

この部分は、国立医薬品食品衛生研究所・毒性部において実施した。

発生流量を2.0L/分、一次希釈空気量を15.0L/分とし、供給流量はチャンバー内濃度測定結果を考慮し調整し、目標濃度0.4ppmに対して4.48~8.22L/分、0.12ppmには0.99~2.20L/分、0.04ppmには0.37~0.80L/分とし、チャンバー換気流量650L/分で希釈し暴露した。

B-3-4: パラジクロロベンゼンの吸入チャンバー内の濃度測定の方法

B-3-4-1: 6時間/日×7日間反復及び22時間/日×7日間反復実験の場合:

この部分は、日本バイオアッセイ研究センターに委託することにより実施した。

B-3-4-1-A: 被験物質の捕集方法

パラジクロロベンゼン濃度は、固相吸着-溶媒抽出法により毎日測定することにより算出した。測定に際しては、サンプリング用ポンプとして高負荷型ミニポンプ(MP-Σ100H、柴田科学株式会社製)を用いて、動物を収容したケージの上部に設置した捕集管 (ORBOTM-91 Tube, Extra-Large, SUPELCO社製) に吸入チャンバー内の空気を吸引した。サンプリング用ポンプの吸引流量は0.5 L/分とした。捕集時間は暴露時間 (暴露開始から暴露停止まで) に合わせ6時間及び22時間とした。捕集管の暴露1回当たりの使用本数は、対照群は1本、暴露群は各濃度とも3本とした。捕集管の前処理及び分析条件は、捕集管の活性炭 (1層及び2層) を取り出し、各々、バイアルビン (柴田科学株式会社製) に入れ、二硫化炭素 (和光純薬工業株式会社製、作業環境測定用) を加え、蓋をしてダイレクトミキサー (サーマル化学産業株式会社製) を用いてしんとうした。各濃度の活性炭1層の抽出液は、検量線の所定の範囲に入るように希釈した。その後、バイアルビン (Agilent Technologies社製) に入れ、蓋をしてガスクロマトグラフ (Agilent Technologies社製 HP5890A) により測定した。

B-3-4-2: 22時間/日×28日間反復実験の場合:

被験物質の捕集の部分は、国立医薬品食品衛生研究所・毒性部において実施し、捕集管の前処理及び分析は、日本バイオアッセイ研究センターに依頼した。

パラジクロロベンゼンのガスの濃度検知は、チャンバー内濃度について、定流量ポンプ (MP



Σ-30、MP Σ-300(柴田科学)、Photo-4) により活性炭捕集管 (ORBOTM-91 Tube, Extra-Large、SUPELCO社製) ヘチャンバー内空気を通し、捕集管内に充填されている活性炭にガスを吸着させ、溶媒 (二硫化炭素) で抽出し、ガスクロマトグラフを用いてその濃度を測定する、「シックハウス (室内空気汚染) 問題に関する検討会」が推奨する方法によりおこなった。捕集管流量は、500mL/分[660L]とした。22時間/日×28日間暴露に際し、暴露期間中毎日、マウスへの22時間暴露中のチャンバー内空気を捕集した捕集管を測定機関(日本バイオアッセイ研究センター)に送付し、分析を依頼した。

#### (倫理面への配慮)

動物実験の計画及び実施に際しては、科学的及び動物愛護的配慮を十分行い、所属する研究機関の指針を遵守した。

### C. 研究結果及び考察

C-1: ホルムアルデヒド

C-1-1: 6時間/日×7日間反復及び22時間/日×7日間反復実験の場合

この部分は、日本バイオアッセイ研究センターに委託することにより実施した。

試作したホルムアルデヒドの吸入暴露装置を図ホルムアルデヒド-2、3及び7に示した。

C-1-1-A: ホルムアルデヒドの濃度制御の方法の検討

目標吸入暴露濃度である 0.1、0.3 および 1.0 ppm に濃度制御する方法について、ホルムアルデヒド蒸気の発生装置へ送るバブリングのための発生空気とキャリアー空気の流量、恒温槽の温度の設定条件を決定するために、設定条件を修正しながら試運転を行った。

なお、一次希釈空気の流量は 20 L/分とした。また、一次希釈したホルムアルデヒド蒸気の各濃

度の吸入チャンバーへの供給量は、目標濃度の比に合わせ、0.1 ppm 暴露群が 1.7 L/分、0.3 ppm 暴露群が 5.2 L/分、1.0 ppm 暴露群が 17 L/分とした。吸入チャンバーへの新鮮空気の供給量は、換気回数が 15-17 回/時を確保できるように各吸入チャンバーとも 212 L/分とした。

各設定条件の試運転により、下記の結果を得た(表ホルムアルデヒド-1)。

検討 1: 発生空気の流量を 0.50 L/分、キャリアー空気の流量を 0.50 L/分、恒温槽の温度を 5°C、ホルムアルデヒド蒸気の再加熱温度を 25°Cとし、動物をチャンバー内に挿入(マウス Cr1j:CD1(ICR) 日本チャールス・リバー(株) 厚木飼育センター 6週齢 各群それぞれ 12匹)し、6時間の暴露運転を行った。その結果、目標吸入暴露濃度 0.1、0.3 および 1.0 ppm の吸入チャンバーの実測値は、それぞれ 0.086ppm (目標濃度に対し 86%)、0.27ppm (目標濃度に対し 90%) および 0.94ppm (目標濃度に対し 94%) であった。0.1ppm 群は目標濃度よりやや低値、0.3 ppm 群と 1.0ppm 群は目標濃度に近い値であった。

検討 2: 22 時間暴露での有効性を確認するために、検討 2 と同条件で 22 時間の暴露運転を行った。その結果、目標吸入暴露濃度 0.1、0.3 および 1.0 ppm の吸入チャンバーの実測値は、それぞれ 0.09ppm (目標濃度に対し 90%)、0.28ppm (目標濃度に対し 93%) および 1.08ppm (目標濃度に対し 108%) であり、22 時間暴露では、各濃度群とも目標濃度に近似した値が得られることを確認した。

C-1-1-B: 吸入チャンバー内のホルムアルデヒドの濃度測定

目標吸入暴露濃度 0.1、0.3 および 1.0 ppm で、6時間および22時間の暴露を行い、被験物質の捕集方法および捕集管の前処理及び分析条件を検討した。なお、捕集管への採気時間は、暴露全時間にわたる6時間または22時間とした。その結

果、各濃度とも6時間および22時間採気の両者で捕集管2本目へのホルムアルデヒドの移行は認められず、破過はなかった。また、同時に採気した3本の捕集管の測定値は、各濃度とも15%以内であり、安定した結果が得られた。

具体的には、6時間の暴露運転で目標吸入暴露濃度0.1、0.3及び1.0 ppmの吸入チャンバーの実測値(以下、平均値±標準偏差)がそれぞれ0.102±0.005 (0.098～0.112 ppm) (目標濃度に対し102%)、0.308±0.024 (0.266～0.344 ppm) (目標濃度に対し103%) および1.060±0.061 (1.007～1.173 ppm) (目標濃度に対し106%)、22時間の運転でも目標吸入暴露濃度0.1、0.3および1.0 ppmの吸入チャンバーの実測値がそれぞれ0.101±0.003 (0.096～0.104 ppm) (目標濃度に対し101%)、0.301±0.021 (0.278～0.330 ppm) (目標濃度に対し100%) および1.028±0.050 (0.973～1.120 ppm) (目標濃度に対し103%) になり、各濃度群とも目標濃度に近似した値が得られた(図ホルムアルデヒド-8A, B)。従って、冷却バブリング法によって、ホルムアルデヒドの室内濃度指針値である0.08 ppmを考慮した0.1、0.3および1.0 ppmを目標暴露濃度とした吸入暴露が達成できた。

#### C-1-2: 22時間/日×28日間反復実験の場合

この部分は、国立医薬品食品衛生研究所・毒性部において実施した。

先行研究での検討結果を踏まえて、横槽流チャンバー内にサーキュレーター(ボルネード、Photo-3)を設置し、内部空気を強力に攪拌することにより、マウス被毛へのガス吸着による濃度の不均一を解消した。

発生流量を4.0L/分とし、供給流量はチャンバー内のホルムアルデヒド濃度測定結果を考慮しつつ調整し、目標濃度1.0ppmに対して2.92～4.50L/分、0.3ppmには0.82～1.18L/分、0.1ppm

には0.29～0.40L/分とし、一次希釈流量40L/分及びチャンバー換気流量650L/分で希釈し暴露した。目標吸入暴露濃度0.1、0.3及び1.0 ppmの吸入チャンバーの実測値(以下、平均値±標準偏差)はそれぞれ、0.094±0.021 ppm (0.048～0.126 ppm)、0.290±0.074 (0.139～0.361 ppm)、0.987±0.242 (0.503～1.302 ppm)と、目標濃度に対しそれぞれ94%、97%、99%となり、各濃度群とも目標濃度に近似した値が得られた。従って、加熱バブリング法によって、ホルムアルデヒドの室内濃度指針値である0.08 ppmを考慮した0.1、0.3および1.0 ppmを目標暴露濃度とした吸入暴露が達成できた(図ホルムアルデヒド-8C)。

また対照群チャンバー内濃度は0.0020±0.0006 ppm (1.99±0.81 μg/m<sup>3</sup> [25℃下でホルムアルデヒドは1 ppm = 1225.64 μg/m<sup>3</sup>])と低濃度群の0.987 ppmと比し極めて低い濃度であり、一般環境大気濃度0.26～10 μg/m<sup>3</sup> (平均値3.4 μg/m<sup>3</sup>) (環境省、2003)と動物室内はほぼ等しく、一般家庭の室内空気中で検出される濃度16～211ppb(平均値50ppb) (国土交通省、2003)を遙かに下回り、実験に影響はないものと考えられた。

#### C-2: キシレン

##### C-2-1: 6時間/日×7日間反復及び22時間/日×7日間反復実験の場合

この部分は、日本バイオアッセイ研究センターに委託することにより実施した。

試作したキシレンの吸入暴露装置を図キシレン-2に示した。

##### C-2-1-A: キシレンの濃度制御の方法の検討

目標吸入暴露濃度である0.2、0.7および2.0 ppmに濃度制御する方法について、キシレンガスの発生装置へ送るバブリングのための発生空気の流量、恒温槽の温度の設定条件を決定するために、設定条件を修正しながら試運転を行った。

なお、一次希釈空気の流量は10 L/分とした。

また、一次希釈したキシレンガスの各濃度の吸入チャンバーへの供給量は、目標濃度の比に合わせ、0.2 ppm 暴露群が 0.15 L/分、0.7 ppm 暴露群が 0.5 L/分、2.0 ppm 暴露群が 1.65 L/分とした。吸入チャンバーへの新鮮空気の供給量は、換気回数が 15-17 回/時を確保できるように各吸入チャンバーとも 212 L/分とした。

各設定条件の試運転により、下記の結果を得た(表キシレン-1)。

**検討1:** 発生空気の流量を 1.0 L/分、恒温槽の温度を 22°C、キシレンガスの再加熱温度を 23°C とし、6 時間の暴露運転を行った。その結果、目標吸入暴露濃度 0.2、0.7 および 2.0 ppm の吸入チャンバーの実測値は、それぞれ 0.211 ppm (目標濃度に対し 106%)、0.742 ppm (目標濃度に対し 106%) および 2.09 ppm (目標濃度に対し 105%) であった。全ての群で目標濃度よりやや高値であった。

**検討2:** 22 時間暴露での有効性を確認するために、検討2と同条件で 22 時間の暴露運転を行った。その結果、目標吸入暴露濃度 0.2、0.7 および 2.0 ppm の吸入チャンバーの実測値は、それぞれ 0.220 ppm (目標濃度に対し 110%)、0.699 ppm (目標濃度に対し 99%) および 2.02 ppm (目標濃度に対し 101%) であり、22 時間暴露では、0.2 ppm 群は目標値よりやや高値であるが他の濃度群では目標濃度に近似した値が得られることを確認した。

#### C-2-1-B: 吸入チャンバー内のキシレンの濃度測定

目標吸入暴露濃度 0.2、0.7 および 2.0 ppm で、6 時間および 22 時間の暴露を行い、被験物質の捕集方法および捕集管の前処理及び分析条件を検討した。なお、捕集管への採気時間は、暴露全時間にわたる 6 時間または 22 時間とした。その結果、各濃度とも 6 時間および 22 時間採気の両者で捕集管 2 層目へのキシレンの移行は認められず、

破過はなかった。また、同時に採気した 3 本の捕集管の測定値は、各濃度とも 15% 以内であり、安定した結果が得られた。

具体的には、6 時間の暴露運転で目標吸入暴露濃度 0.2、0.7 及び 2.0 ppm の吸入チャンバーの実測値(以下、平均値±標準偏差)がそれぞれ 0.204 ± 0.004 (0.199 ~ 0.210 ppm) (目標濃度に対し 102%)、0.703 ± 0.027 (0.678 ~ 0.747 ppm) (目標濃度に対し 100%) および 2.03 ± 0.08 (1.95 ~ 2.17 ppm) (目標濃度に対し 102%)、22 時間の運転でも目標吸入暴露濃度 0.2、0.7 および 2.0 ppm の吸入チャンバーの実測値がそれぞれ 0.203 ± 0.005 (0.195 ~ 0.208 ppm) (目標濃度に対し 102%)、0.701 ± 0.011 (0.686 ~ 0.715 ppm) (目標濃度に対し 100%) および 2.03 ± 0.06 (1.96 ~ 2.11 ppm) (目標濃度に対し 102%) になり、各濃度群とも目標濃度に近似した値が得られた(図キシレン-7A, B)。従って、キシレンの室内濃度指針値である 0.2 ppm を考慮した 0.2、0.7 および 2.0 ppm を目標暴露濃度とした吸入暴露が達成できた。

#### C-2-2: 22 時間/日×28 日間反復実験の場合

この部分は、国立医薬品食品衛生研究所・毒性部において実施した。

先行研究での検討結果を踏まえて、発生流量を 0.7 L/分とし、供給流量はチャンバー内のキシレン濃度測定結果を考慮しつつ調整し、目標濃度 2.0 ppm に対して 1.65 ~ 1.79 L/分、0.7 ppm には 0.42 ~ 0.49 L/分、0.2 ppm には 0.11 ~ 0.12 L/分とし、一次希釈流量 25 L/分及びチャンバー換気流量 650 L/分で希釈し暴露した。目標吸入暴露濃度 0.2、0.7 及び 2.0 ppm の吸入チャンバーの実測値(以下、平均値±標準偏差、最小~最大値)はそれぞれ、0.196 ± 0.014 ppm (0.168 ~ 0.225 ppm)、0.681 ± 0.060 (0.566 ~ 0.823 ppm)、1.981 ± 0.151 (1.799 ~ 2.373 ppm) と、目標濃度に対しそれぞれ

98%、97%、99%となり、各濃度群ともほぼ目標濃度が得られた。従って、加熱バブリング法によって、キシレンの室内濃度指針値である 0.2 ppm を考慮した 0.2、0.7 および 2.0 ppm を目標暴露濃度とした吸入暴露が達成できた（図キシレン-7C）。

また対照群チャンバー内にキシレンは検出されなかった。

### C-3：パラジクロロベンゼン

C-3-1：6時間/日×7日間反復及び22時間/日×7日間反復実験の場合

この部分は、日本バイオアッセイ研究センターに委託することにより実施した。

#### C-3-1-A：パラジクロロベンゼンの濃度制御の方法の検討

目標吸入暴露濃度である 0.04、0.12 および 0.40 ppm に濃度制御する方法について、パラジクロロベンゼンガスの発生装置へ送るバブリングのための発生空気の流量、恒温槽の温度の設定条件を決定するために、設定条件を修正しながら試運転を行った。

なお、一次希釈空気の流量は 10 L/分とした。吸入チャンバーへの新鮮空気の供給量は、換気回数が 12 回/時を確保できるように各吸入チャンバーとも 212 L/分とした。

各設定条件の試運転により、下記の結果を得た（表パラジクロロベンゼン-1）。

検討1：発生空気の流量を 0.2 L/分、恒温槽の温度を 27℃、パラジクロロベンゼンガスの再加熱温度を 23℃とし、6時間の暴露運転を行った。その結果、目標吸入暴露濃度 0.04、0.12 および 0.40 ppm の吸入チャンバーの実測値は、それぞれ 0.0418 ppm（目標濃度に対し 105%）、0.112 ppm（目標濃度に対し 93.3%）および 0.372 ppm（目標濃度に対し 93.0%）であった。0.12 および 0.40 ppm の群で目標濃度よりやや低値であった。

検討2：22時間暴露での有効性を確認するために、検討2と同条件で22時間の暴露運転を行った。その結果、目標吸入暴露濃度 0.04、0.12 および 0.40 ppm の吸入チャンバーの実測値は、それぞれ 0.0381 ppm（目標濃度に対し 95.2%）、0.110 ppm（目標濃度に対し 91.7%）および 0.387 ppm（目標濃度に対し 96.8%）であり、全ての群で目標濃度よりやや低値であった。

#### C-3-1-B：吸入チャンバー内のパラジクロロベンゼンの濃度測定

目標吸入暴露濃度 0.04、0.12 および 0.40 ppm で、6時間および22時間の暴露を行い、被験物質の捕集方法および捕集管の前処理及び分析条件を検討した。なお、捕集管への採気時間は、暴露全時間にわたる6時間または22時間とした。その結果、各濃度とも6時間および22時間採気の両者で捕集管2層目へのパラジクロロベンゼンの移行は認められず、破過はなかった。また、同時に採気した3本の捕集管の測定値は、各濃度とも15%以内であり、安定した結果が得られた。

具体的には、6時間の暴露運転で目標吸入暴露濃度 0.04、0.12 および 0.40 ppm の吸入チャンバーの平均値±標準偏差（最低～最高値）がそれぞれ 0.0397±0.001 ppm（0.0379 ppm～0.0408 ppm）（目標濃度に対し 99.3%）、0.117±0.003 ppm（0.104 ppm～0.128 ppm）（目標濃度に対し 97.5%）及び 0.399±0.009 ppm（0.392 ppm～0.409 ppm）（目標濃度に対し 99.8%）、22時間の運転でも目標吸入暴露濃度 0.04、0.12 および 0.40 ppm の吸入チャンバーの平均値±標準偏差（最低～最高値）がそれぞれ 0.0390±0.002 ppm（0.0368 ppm～0.0404 ppm）（目標濃度に対し 97.5%）、0.123±0.002 ppm（0.118 ppm～0.130 ppm）（目標濃度に対し 103%）及び 0.402±0.007 ppm（0.394 ppm～0.410 ppm）（目標濃度に対し 101%）になり、各濃度群とも目標濃度に近似した値が得られた（図パラジクロロベンゼン

-5A, B)。

従って、パラジクロロベンゼンの室内濃度指針値である0.04 ppmを考慮した0.04、0.12および0.40 ppmを目標暴露濃度とした吸入暴露が達成できた。

#### C-3-2: 22時間/日×28日間反復実験の場合

この部分は、国立医薬品食品衛生研究所・毒性部において実施した。

先行研究での検討結果を踏まえて、発生流量を2.0L/分とし、供給流量はチャンバー内のパラジクロロベンゼン濃度測定結果を考慮しつつ調整し、目標濃度0.4ppmに対して4.48~8.22L/分、0.12ppmには0.99~2.20L/分、0.04ppmには0.37~0.80L/分とし、チャンバー換気流量650L/分で希釈し暴露した。目標吸入暴露濃度0.04、0.12及び0.40 ppmの吸入チャンバーの実測値(以下、平均値±標準偏差、最小~最大値)はそれぞれ、0.0385±0.0095 ppm (0.022~0.057 ppm)、0.1241±0.0304 ppm (0.082~0.192 ppm)、0.4097±0.1084 ppm (0.260~0.636 ppm)と、目標濃度に対しそれぞれ96.3%、103.4%、102.4%となり、各濃度群ともほぼ目標濃度が得られた。従って、加熱法によって、パラジクロロベンゼンの室内濃度指針値である0.04 ppmを考慮した0.04、0.12および0.40 ppmを目標暴露濃度とした吸入暴露が達成できた(図パラジクロロベンゼン-5C)。

また対照群チャンバー内にパラジクロロベンゼンは検出されなかった。

・(環境省、2003)

環境省環境保健部環境安全課「平成14年度地方公共団体等における有害大気汚染物質のモニタリング調査結果」(2003)  
[http://www.env.go.jp/air/osen/monitoring/mon\\_h14/hyo\\_07.html](http://www.env.go.jp/air/osen/monitoring/mon_h14/hyo_07.html)

・(国土交通省、2003)

国土交通省住宅局住宅生産課「平成14年度室内空气中の化学物質の実態調査の結果について(2003)

[http://www.mlit.go.jp/kisha/kisha03/07/071219\\_.html](http://www.mlit.go.jp/kisha/kisha03/07/071219_.html)

#### D. 結論

平成23年度は、ホルムアルデヒド(指針値:0.08 ppm)について極低濃度下(0、0.1、0.3及び1.0 ppm)、平成24年度は、キシレン(指針値:0.2 ppm)について極低濃度下(0、0.2、0.7及び2.0 ppm)、平成25年度は、パラジクロロベンゼン(指針値:0.04 ppm)について極低濃度下(0、0.04、0.12及び0.40 ppm)での6時間/日×7日間反復、22時間/日×7日間反復、及び22時間/日×28日間反復吸入暴露をマウスに対してそれぞれ実施した。

その結果、ホルムアルデヒドでは、0.1、0.3および1.0ppmの目標暴露濃度に対して、前二者の場合は、それぞれ0.102±0.005、0.308±0.024、1.060±0.061及び、0.101±0.003、0.301±0.021、1.028±0.050、後者のプロトコールでは、0.094±0.021、0.290±0.074、0.987±0.242(平均値±標準偏差)、キシレンでは、0.2、0.7および2.0ppmの目標暴露濃度に対して、前二者の場合は、それぞれ0.204±0.004、0.703±0.027、2.03±0.08及び、0.203±0.005、0.701±0.011、2.03±0.06、後者のプロトコールでは、0.196±0.014、0.682±0.060、1.98±0.15(平均値±標準偏差)、パラジクロロベンゼンでは、0.04、0.12および0.40 ppmの目標暴露濃度に対して、前二者の場合は、それぞれ0.0397±0.001、0.117±0.003、0.399±0.009及び、0.0390±0.002、0.123±0.002、0.402±0.007、後者のプロトコールでは、0.0385±0.0095、0.1241±0.0304、0.4097±0.1084(平均値±標準偏差)と、ほぼ目標暴露

濃度にて、被験物質をマウスに安定してそれぞれ吸入暴露することができた。

## E. 健康危機情報

なし

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

#### 1-1) 書籍

Jun Kanno, Ken-ichi Aisaki, Katsuhide Igarashi, Noriyuki Nakatsu, Yukio Kodama, Kiyoshi Sekita, Atsuya Takagi and Satoshi Kitajima  
Chapter11 Application of Percellome Toxicogenomics to Food Safety Hormone-Disruptive Chemical Contaminants in Food, 2011, 184-198. Editor(s): Ingemar Pongratz, Linda Bergander, Royal Society of Chemistry. ISBN: 978-1-84973-297-0, DOI:10.1039/9781849732970-00184

#### 1-2) 学術雑誌

Katsuhide Igarashi, Satoshi Kitajima, Ken-ichi Aisaki, Kentaro Tanemura, Yuhji Taquahashi, Noriko Moriyama, Eriko Ikeno, Nae Matsuda, Yumiko Saga, Bruce Blumberg, and Jun Kanno  
Development of Humanized Steroid and Xenobiotic Receptor Mouse by homologous knock-in of the human Steroid and Xenobiotic Receptor Ligand Binding Domain sequence. J Toxicol Sci **37**: 373-380, 2012.

### 2. 学会発表

北嶋 聡, 小川幸男, 長野嘉介, 相崎健一, 五十嵐勝秀, 高橋祐次, 安彦行人, 山本雅也, 菅野 純  
Percellome 法によるシックハウス症候群レベルの極低濃度暴露下での吸入トキシコゲノミクス [第 38 回日本トキシコロジー学会学術年会]2011 年 7 月

種村健太郎, 五十嵐 勝秀, 松上稔子, 相崎 健一, 北嶋 聡, 菅野 純  
ヒト型リガンド結合ドメインノックイン PXR マウスの遺伝子発現応答特性 [第 29 回内分泌代謝学サマーセミナー] 2011 年 7 月

種村 健太郎, 五十嵐 勝秀, 相崎 健一, 北嶋 聡, 菅野 純  
中枢神経系の発生-発達期における神経活動かく乱による遅発性中枢影響解析  
-幼若期雄マウスへのアセフェートによる成熟後の脳高次機能障害について- [第 38 回日本トキシコロジー学会学術年会]2011 年 7 月

五十嵐 勝秀, 北嶋 聡, 相崎 健一, 菅野 純  
ヒト型 PXR 生理的発現マウス系の全身臓器トランスクリプトーム解析 [第 38 回日本トキシコロジー学会学術年会]2011 年 7 月

相崎 健一, 五十嵐 勝秀, 種村 健太郎, 安彦行人, 高橋祐次, 高木篤也, 北嶋 聡, 菅野 純  
Percellome プロジェクト・オンライン解析システム [第 38 回日本トキシコロジー学会学術年会]2011 年 7 月

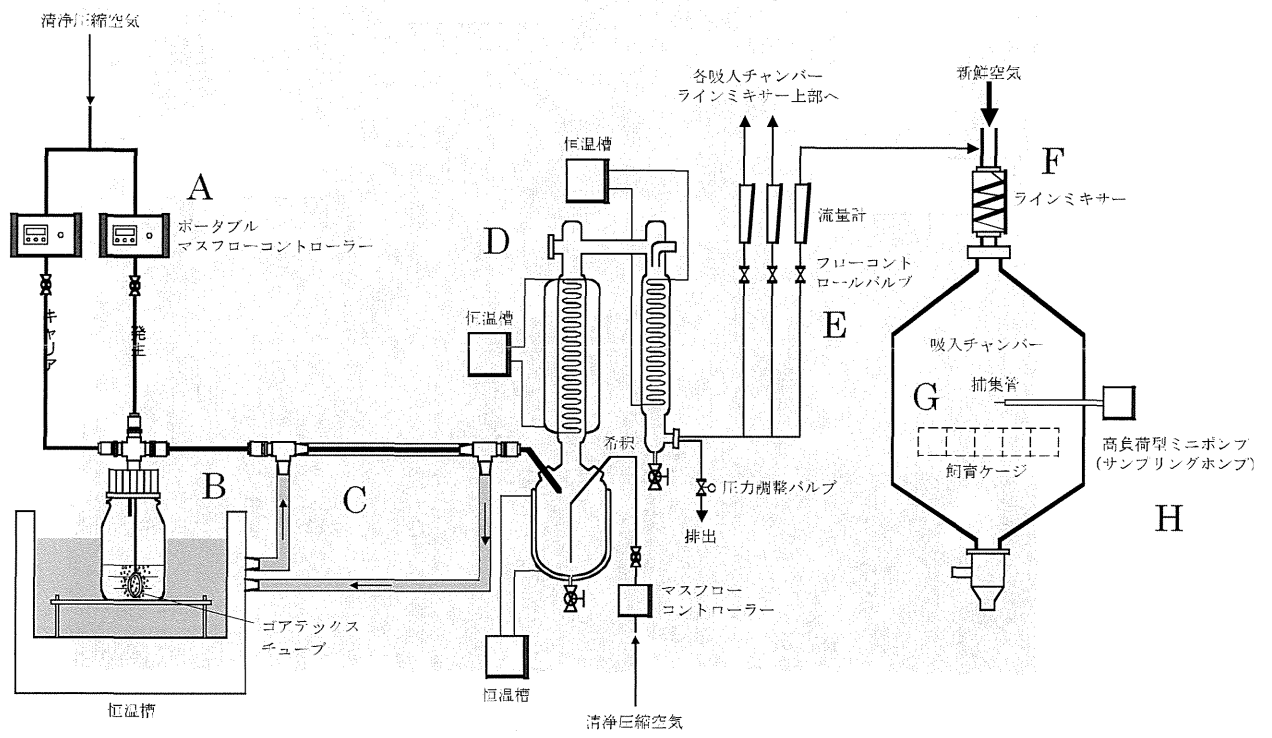
菅野 純, 相崎 健一, 北嶋 聡  
パーセローム (Percellome) 法を用いた定量的トランスクリプトミクスによる遺伝子発現ネットワーク描出による毒性解析の試み [第 34 回日本高血圧学会総会]2011 年 10 月

## G. 知的財産所有権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

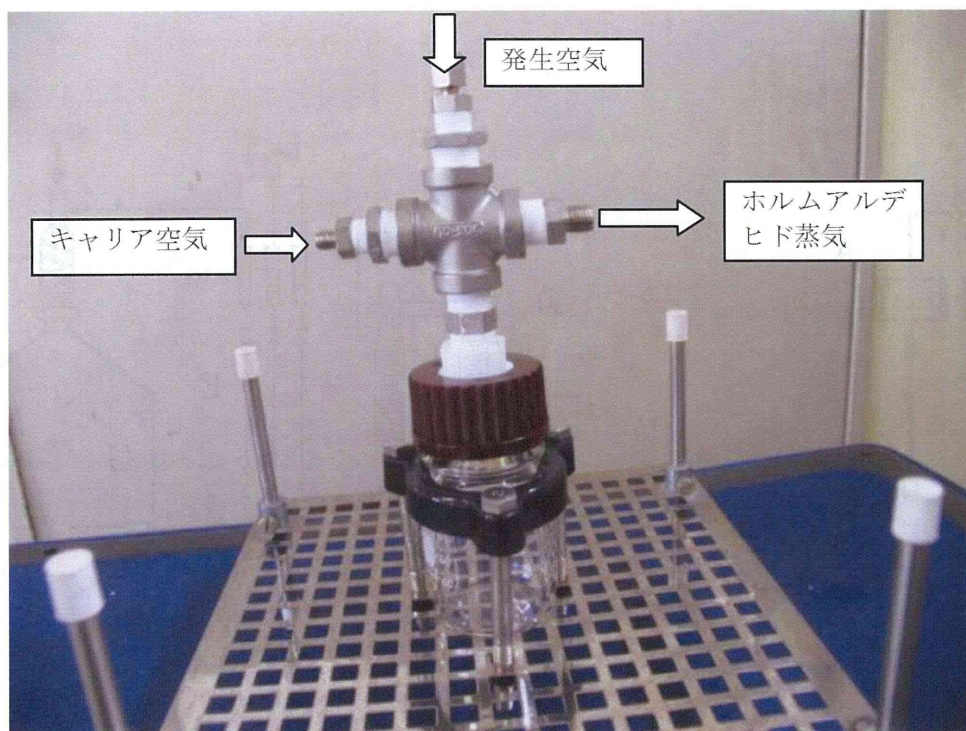
表ホルムアルデヒド-1 吸入暴露装置の設定条件とチャンバー内のホルムアルデヒドの濃度

|                        | 検討1                                       | 検討2                                       |
|------------------------|---|---|
| 恒温槽の温度                 | 5℃  | 5℃  |
| 発生空気の流量                | 0.6 L/分                                   | 0.6 L/分                                   |
| キャリア空気の流量              | 0.6 L/分                                   | 0.6 L/分                                   |
| 一次希釈空気の流量              | 20 L/分                                    | 20 L/分                                    |
| 再加熱温度                  | 23℃                                       | 23℃                                       |
| 目標濃度 0.1 ppm           |   |   |
| 一次希釈ガスの供給量             | 1.7L/分                                    | 1.7 L/分                                   |
| 新鮮空気の供給量               | 212 L/分                                   | 212 L/分                                   |
| 測定値 ppm<br>(目標濃度に対する%) | 0.086<br>(86%)                            | 0.09<br>(90%)                             |
| 目標濃度 0.3 ppm           |   |   |
| 一次希釈ガスの供給量             | 5.2 L/分                                   | 5.2 L/分                                   |
| 新鮮空気の供給量               | 212 L/分                                   | 212 L/分                                   |
| 測定値 ppm<br>(目標濃度に対する%) | 0.27<br>(90%)                             | 0.28<br>(93%)                             |
| 目標濃度 1.0 ppm           |   |   |
| 一次希釈ガスの供給量             | 17 L/分                                    | 17 L/分                                    |
| 新鮮空気の供給量               | 212 L/分                                   | 212 L/分                                   |
| 測定値 ppm<br>(目標濃度に対する%) | 0.94<br>(94%)                             | 1.08<br>(108%)                            |
| 暴露時間                   | 6時間                                       | 22時間                                      |
| チャンバー内に導入した試験動物        | マウス Crlj:CD1(ICR) 日本チャールス・リバー(株) 厚木飼育センター | マウス Crlj:CD1(ICR) 日本チャールス・リバー(株) 厚木飼育センター |
| 週齢                     | 6週齢                                       | 6週齢                                       |
| 使用した動物数                | 各群それぞれ12匹                                 | 各群それぞれ12匹                                 |

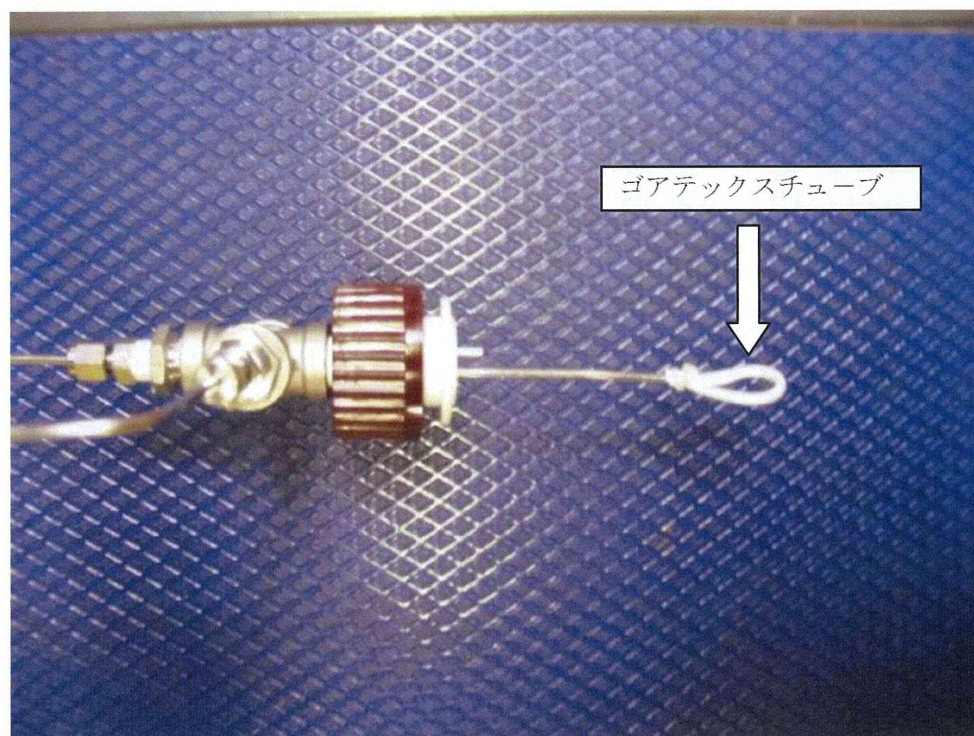


図ホルムアルデヒド-1 吸入暴露装置のシステム (ホルムアルデヒド)





図ホルムアルデヒド-2 ホルムアルデヒドの発生容器



図ホルムアルデヒド-3 ゴアテックスチューブ (矢印) を装着したバブリング部分



Photo-1 3m<sup>3</sup>横層流大型チャンバー及びその発生装置(柴田科学)



Photo-2 600L縦層流大型 及び 30L小型チャンバー(柴田科学)

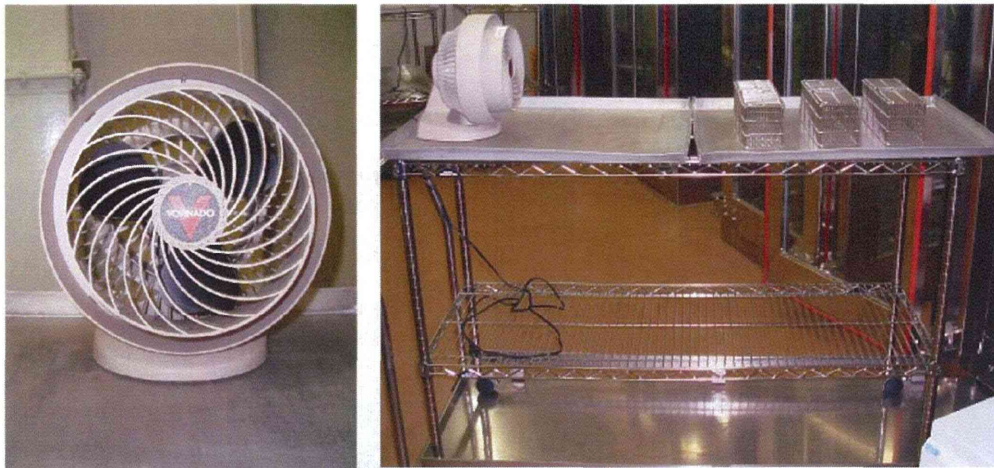
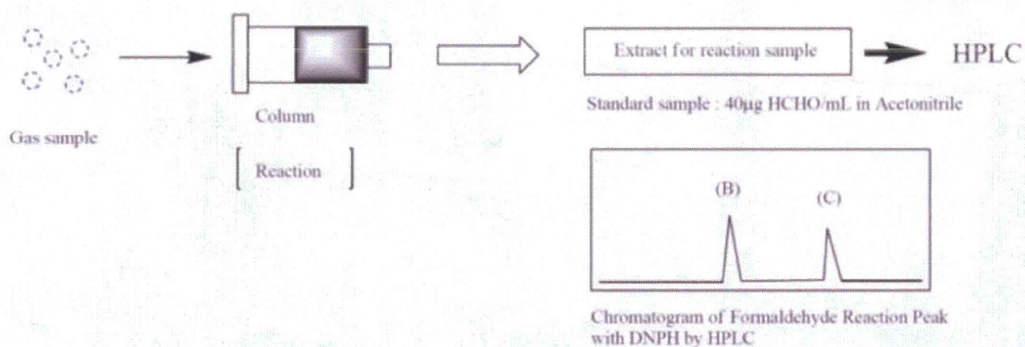
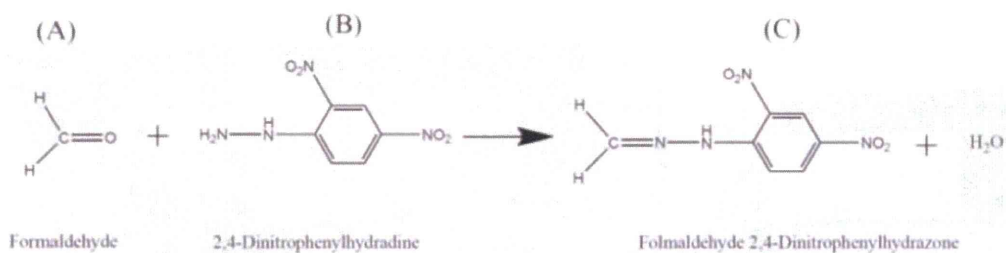


Photo-3 チャンバー内空気攪拌用サーキュレーター(ボルネード)、  
及び暴露ケージ(柴田科学)を載せた架台



Photo-4 捕集管採気用ポンプ MP  $\Sigma$ -30、(柴田科学)



図ホルムアルデヒド-4 捕集管内の2,4-ジニトロフェニルヒドラジンと反応し、捕集管内に生成したホルムアルデヒド 2,4-ジニトロフェニルヒドラゾンの反応スキーム



図ホルムアルデヒド-5. ホルムアルデヒドを暴露し、捕集管に捕集され、反応した2,4-ジニトロフェニルヒドラゾン