

ンバー内に挿入し、2時間、吸入チャンバー内のキシレンを捕集した。

B-4-1-1-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。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℃、注入口温度は200℃、検出器温度は200℃、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。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。

B-4-1-2: 情動認知行動解析のための22時間/日×7日間反復実験：

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 5）により活性炭捕集管（ORBOTM-91;E-L、SUPELCO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。捕集管内導入流量は、対照群では500mL/分[660L]、2.0ppm暴露群では100mL/分[132.0L]とした。22時間/日×7日間暴露に際し、暴露期間中の2日終了時と7日終了時に、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-4-2: パラジクロロベンゼンの濃度測定の方法

B-4-2-1: トキシコゲノミクスのための2時間単回吸入暴露実験：

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-4-2-1-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。

(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: トキシコゲノミクスのためのキシレン及びパラジクロロベンゼン2時間単回吸入暴露実験の場合:

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-1-1: キシレンの場合

C-1-1-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、2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 0.208 ppm (目標濃度に対し 104%)、0.656 ppm (目標濃度に対し 93.7%) および 1.93 ppm (目標濃度に対し 96.5%) であった。0.2 ppm 群で目標濃度よりやや高値であったが、0.7 ppm 群と 2 ppm 群ではやや低値であった。

検討2: 有効性を確認するために、検討1と同条件で暴露運転を行った。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 0.204 ppm (目標濃度に対し 102%)、0.703 ppm (目標濃度に対し 100%) および 1.89 ppm (目標濃度に対し 94.5%) であり、2 ppm 群は目標値よりやや低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-1-1-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、2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2時間とした。その結果、各濃度とも2時間採気で捕集管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10%以内であり、安定した結果が得られた。

具体的には、2時間の暴露運転で目標吸入暴露濃度0.2、0.7及び2.0ppm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0.210±0.005 ppm (目標濃度に対し105%)、0.766±0.017 ppm (目標濃度に対し109%) および2.07±0.05 ppm (目標濃度に対し104%) 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8A)。なお、キシレン中の不純物であるエチ

ルベンゼンの濃度はそれぞれ、 0.0503 ± 0.0013 ppm、 0.183 ± 0.005 ppm、および 0.492 ± 0.012 ppmであった。

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-1-2: パラジクロロベンゼンの場合

C-1-2-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1)。

検討1: 発生空気の流量を0.2 L/分、恒温槽の温度を27°C、パラジクロロベンゼンガスの再加熱温度を23°Cとし、2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0.0383 ppm(目標濃度に対し95.8%)、0.142 ppm(目標濃度に対し118%)および0.450 ppm(目標濃度に対し113%)であった。0.12および0.40 ppmの群で目標濃度よりやや高値であった。

検討2: 有効性を確認するために、検討1と同条件で2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0.0376 ppm(目標濃度に対し94.0%)、0.128 ppm(目標濃度に対し107%)および0.412 ppm(目標濃度

に対し103%)であり、0.12 ppm群で目標濃度よりやや高値であった。

C-1-2-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、2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2時間とした。その結果、各濃度とも2時間採気で捕集管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、2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±標準偏差がそれぞれ 0.0402 ± 0.0013 ppm(目標濃度に対し101%)、 0.126 ± 0.007 ppm(目標濃度に対し105%)及び 0.442 ± 0.053 ppm(目標濃度に対し111%)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8B)。

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-2: 情動認知行動解析のためのキシレン22時間/日×7日間反復吸入暴露実験の場合

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。成熟期マウスに暴露する場合と幼若期マウスに暴露する場合の2種類の実験を実施した。

先行研究での検討結果を踏まえて、発生流量を0.7L/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2.0ppmに対して1.62~1.70L/分とし、一次希

積流量25L/分及びチャンバー換気流量650L/分で希釈し暴露した。目標吸入暴露濃度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、成熟期マウスに暴露した場合は、 2.14 ± 0.13 ppm (1.98～2.44 ppm)、幼若期マウスに暴露した場合は、 1.93 ± 0.11 ppm (1.73～2.14 ppm)と、目標濃度に対しそれぞれ107%、97%となり、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2.0 ppmを目標暴露濃度とした吸入暴露が達成できた(図8C)。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。一方、異性体として含まれるエチルベンゼン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、成熟期マウスに暴露した場合は、 0.46 ± 0.03 ppm (0.41～0.51 ppm)、幼若期マウスに暴露した場合は、 0.36 ± 0.03 ppm (0.31～0.41 ppm)であった。

・(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(表7)」(2003)
http://www.env.go.jp/air/osen/monitoring/mo_n_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年度室内空気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

D. 結論

平成26年度(今年度)は、トキシコゲノミクスのための吸入暴露実験に向け、キシレン(指

針値: 0.2 ppm)及びパラジクロロベンゼン(指針値: 0.04 ppm)について、SHSレベル(キシレン: 0, 0.2, 0.7, 2.0 ppm、パラジクロロベンゼン: 0, 0.04, 0.12, 0.4 ppm)での2時間単回吸入暴露をマウス(成熟期)に対して実施し、また情動認知行動解析のための吸入暴露実験に向け、キシレン(0, 2.0 ppm: 2.0 ppmは指針値の10倍濃度)について、SHSレベルでの22時間/日×7日間反復暴露をマウス(成熟期及び幼若期)に対して実施した。その結果、トキシコゲノミクスのための吸入暴露実験において、キシレンの目標暴露濃度(0.2, 0.7及び2.0 ppm)に対して、それぞれ0.21, 0.77及び2.07 ppm、パラジクロロベンゼンの目標暴露濃度(0.04, 0.12及び0.4 ppm)に対して、0.040, 0.126及び0.44 ppm、他方、情動認知行動解析のための吸入暴露実験においては、キシレンの目標暴露濃度(2.0 ppm)に対して、成熟期暴露では2.14 ppm、幼若期暴露では1.93 ppmと、いずれの場合も、目標濃度に対し100～111%の濃度での暴露が実施された事を確認した。

E. 健康危機情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

Janesick A, Nguyen TT, Aisaki K, Igarashi K, Kitajima S, Chandraratna RA, Kanno J and Blumberg B, Active Repression by RAR γ Signaling is Required for Vertebrate Axial Elongation. *Development* 141(11): 2260-2270, 2014.

Tanaka M, Aisaki K, Kitajima S, Igarashi K, Kanno J and Nakamura T, Gene expression response to EWS-FLI1 in mouse embryonic cartilage. *Genomics Data* 2: 296-298, 2014.

2. 学会発表

Kitajima S and Kanno J, Progress of Percellome Toxicogenomics Project, 2014 Spring International Symposium of Korean Society of Toxicology (KSOT) (2014. 5. 22) Seoul, Korea.

北嶋 聡、種村 健太郎、菅野 純

毒性の網羅的把握のための遺伝子発現ネットワーク描出と動的バイオマーカー抽出、第 41 回日本毒性学会学術年会 (2014. 7. 2)

北嶋 聡、小川幸男、大西 誠、相磯成敏、相崎健一、五十嵐勝秀、高橋祐次、菅野 純

シックハウス症候群レベルの極低濃度吸入暴露時の海馬 Percellome トキシコゲノミクス-化学構造が異なる 3 物質の比較-、第 41 回日本毒性学会学術年会 (2014. 7. 3)

菅野 純、相崎 健一、北嶋 聡

Percellome Project の進捗-新型反復暴露による慢性毒性の予測に向けての分子背景の解析-、第 41 回日本毒性学会学術年会 (2014. 7. 2)

相崎 健一、北嶋 聡、菅野 純

遺伝子発現からみた毒性学-Percellome トキシコゲノミクスの進捗-、第 36 回日本中毒学会総会・学術集会 (2014. 7. 25)

Kanno J, Aisaki K and Kitajima S, Percellome toxicogenomics project as the 3R-toxicology and the foundation of in vitro- and in silico-toxicology, the 9th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences (WC9) (2014. 8. 27) Prague, Czech Republic

Kanno J, Aisaki K and Kitajima S, Percellome

Toxicogenomics, 50th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX2014) (2014. 9. 9) Edinburgh, UK

古川佑介、種村健太郎、相崎 健一、北嶋 聡、菅野 純
アセチルコリンエステラーゼ阻害作用をもつ殺虫剤の暴露による遅発性の中樞神経影響の比較、第 17 回環境ホルモン学会研究発表会 (2014. 12. 10)

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1 吸入暴露装置の設定条件とチャンバー内のキシレンの濃度

	検討1	検討2
恒温槽の温度	22℃	22℃
発生空気の流量	1.0 L/分	1.0 L/分
一次希釈空気の流量	10 L/分	10 L/分
冷却温度	17℃	17℃
再加熱温度	23℃	23℃
目標濃度 0.2 ppm		
一次希釈ガスの供給量	0.2 L/分	0.2 L/分
新鮮空気の供給量	212 L/分	212 L/分
測定値 ppm (目標濃度に対する%)	0.208 (104%)	0.204 (102%)
目標濃度 0.7 ppm		
一次希釈ガスの供給量	0.67 L/分	0.67 L/分
新鮮空気の供給量	212 L/分	212 L/分
測定値 ppm (目標濃度に対する%)	0.656 (93.7%)	0.703 (100%)
目標濃度 2.0 ppm		
一次希釈ガスの供給量	1.74 L/分	1.82 L/分
新鮮空気の供給量	212 L/分	212 L/分
測定値 ppm (目標濃度に対する%)	1.93 (96.5%)	1.89 (94.5%)
暴露時間	2時間	2時間

表2 吸入暴露装置の設定条件とチャンバー内のパラジクロロベンゼンの濃度

	検討1	検討2
恒温槽の温度	27°C	27°C
発生空気流量	0.2 L/分	0.2 L/分
一次希釈空気の流量	10 L/分	10 L/分
新鮮空気の供給量	212L/分	212L/分
目標濃度 0.04 ppm		
フローメータの流量	0.80 L/分	0.80 L/分
測定値 ppm (目標濃度に対する%)	0.0383 (95.8%)	0.0376 (94.0%)
目標濃度 0.12 ppm		
フローメータの流量	2.65 L/分	2.60 L/分
測定値 ppm (目標濃度に対する%)	0.142 (118%)	0.128 (107%)
目標濃度 0.40 ppm		
フローメータの流量	7.7 L/分	7.50 L/分
測定値 ppm (目標濃度に対する%)	0.450 (113%)	0.412 (103%)
暴露時間	2 時間	2 時間

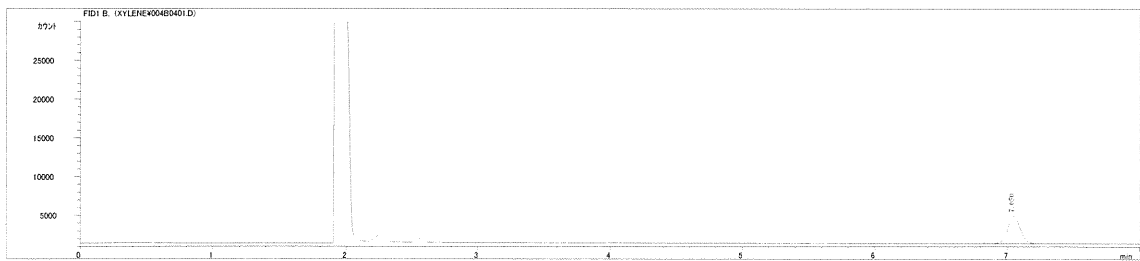


図 1-1 *o*-キシレン標準品

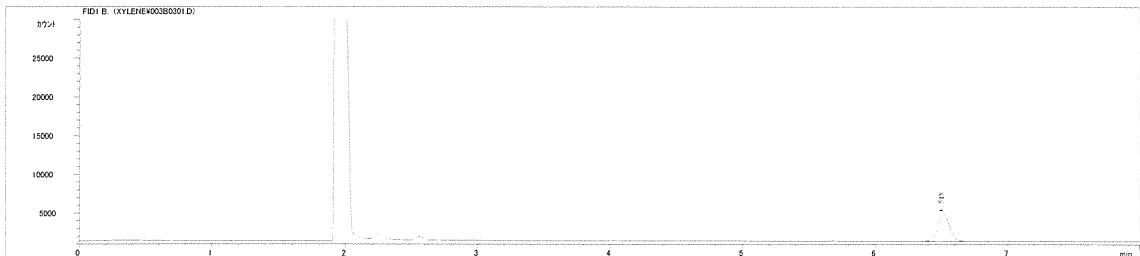


図 1-2 *m*-キシレン標準品



図 1-3 *p*-キシレン標準品

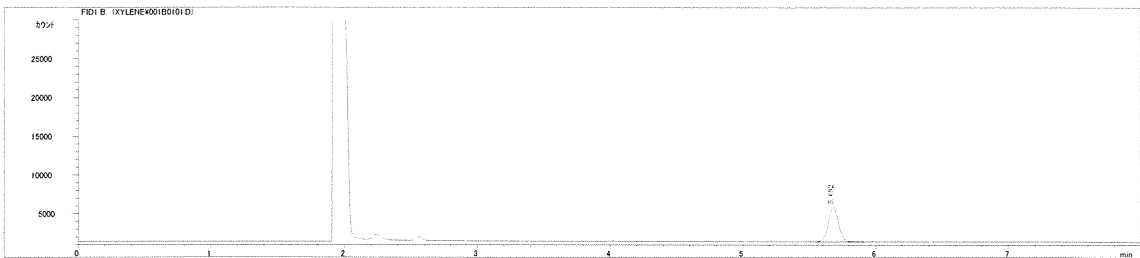


図 1-4 エチルベンゼン標準品

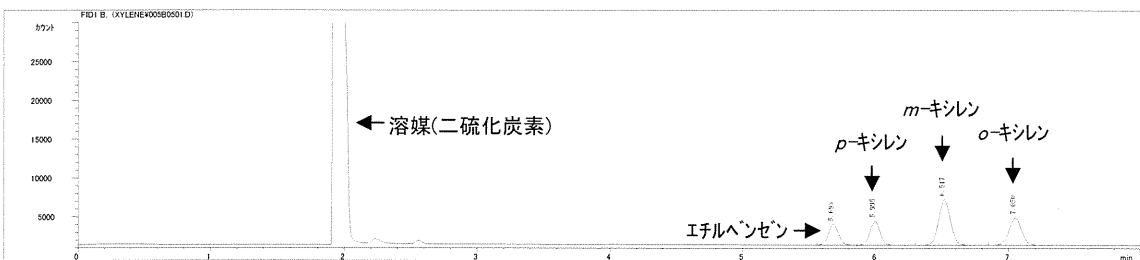


図 1-5 被験物質 (キシレン ロット番号 : QQR1283)

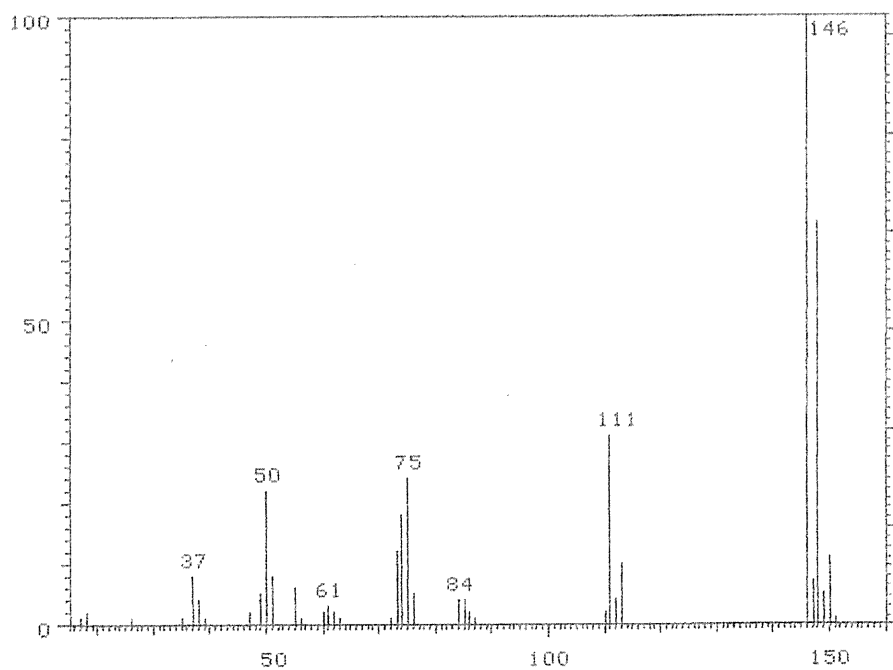


図 2-1 被験物質のマススペクトル

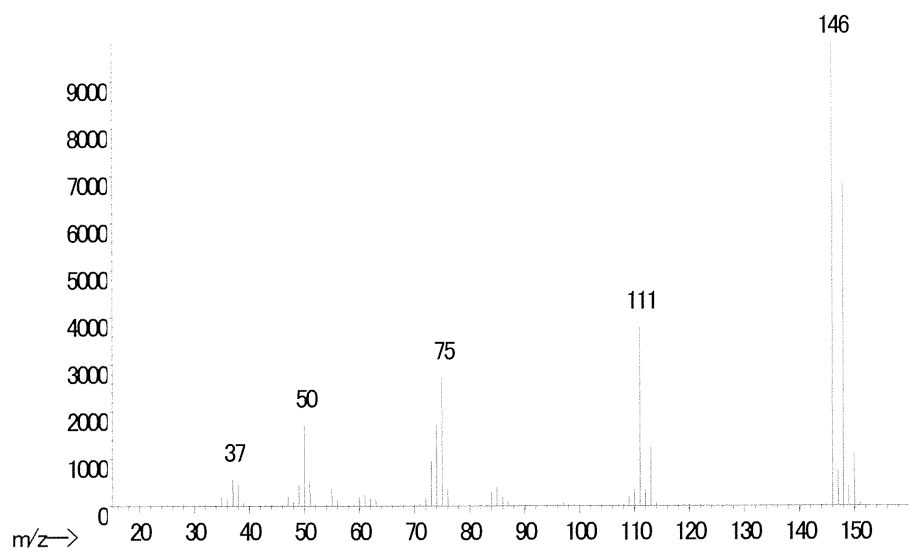


図 2-2 パラジクロロベンゼンのマススペクトル (文献データ)
 (McLafferty FW, ed. 1994. Wiley Registry of Mass Spectral Data.
 6th ed. New York, NY:John Wiley and Sons.)

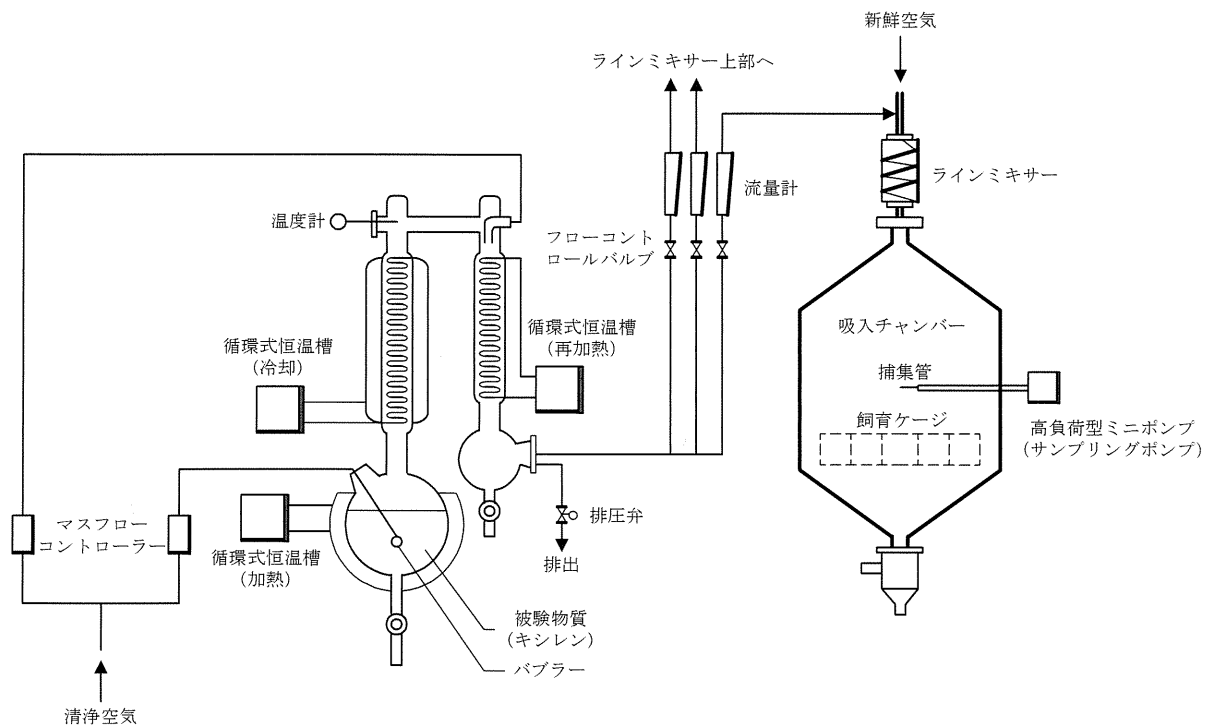


図3 吸入暴露装置のシステム (キシレン)

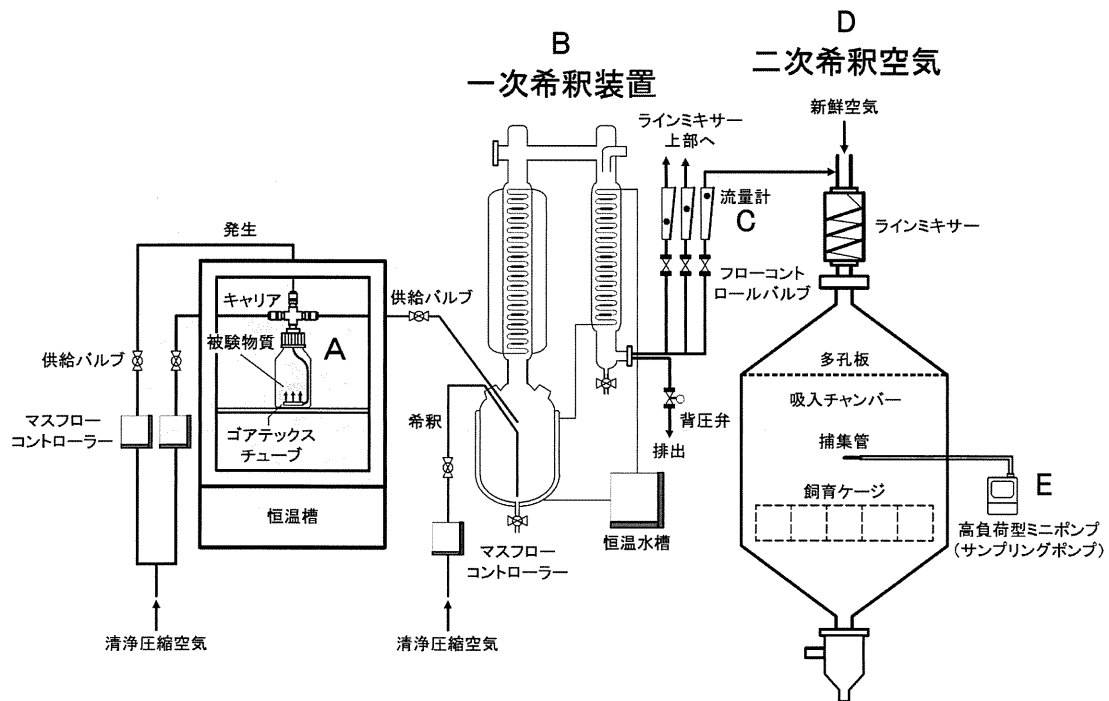


図4 吸入暴露装置のシステム (パラジクロロベンゼン)

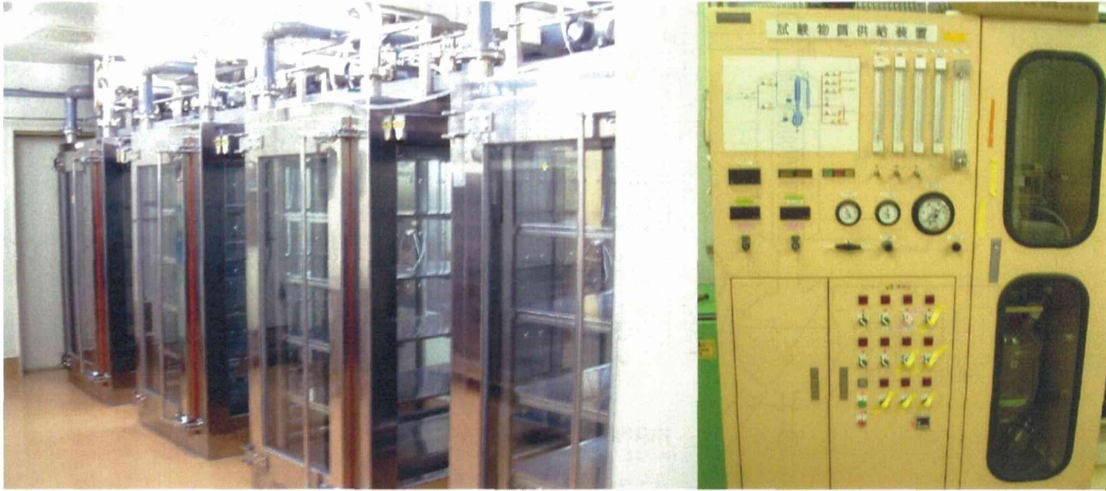


Photo 1 3m³ 横層流大型チャンバー及びその発生装置(柴田科学)

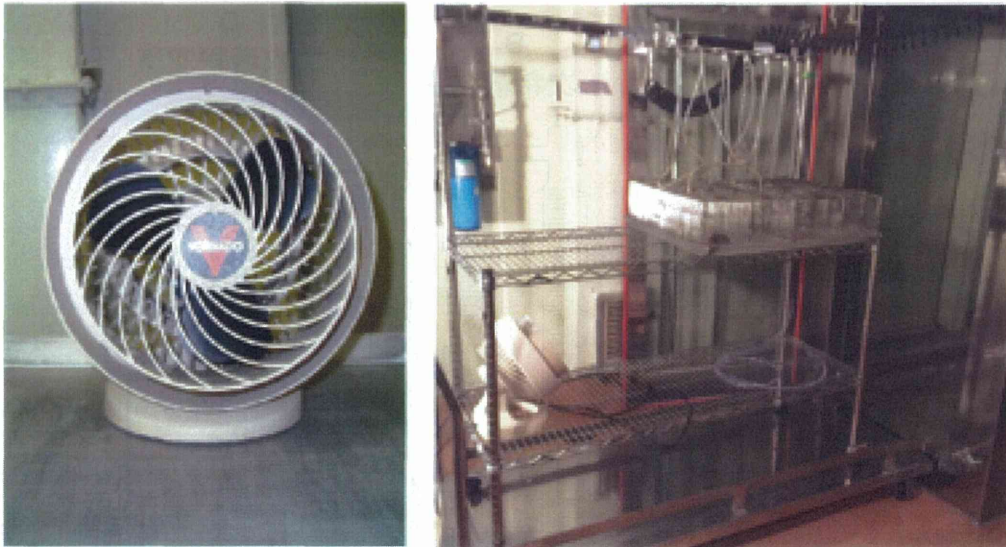


Photo 2 チャンバー内空気攪拌用サーキュレーター(ボルネード)、及び暴露ケージ(柴田科学)を載せた架台



Photo 3 マウスを暴露ケージ(柴田科学)に収容した状態



Photo 4 母児マウスを暴露ケージ(柴田科学)に収容した状態
トレイ上にパルプ製床敷(パルマス μ)を敷き、暴露ケージに密着させた。



Photo 5 捕集管採気用ポンプ MPΣ-30、(柴田科学)



図 5. キシレンの発生装置

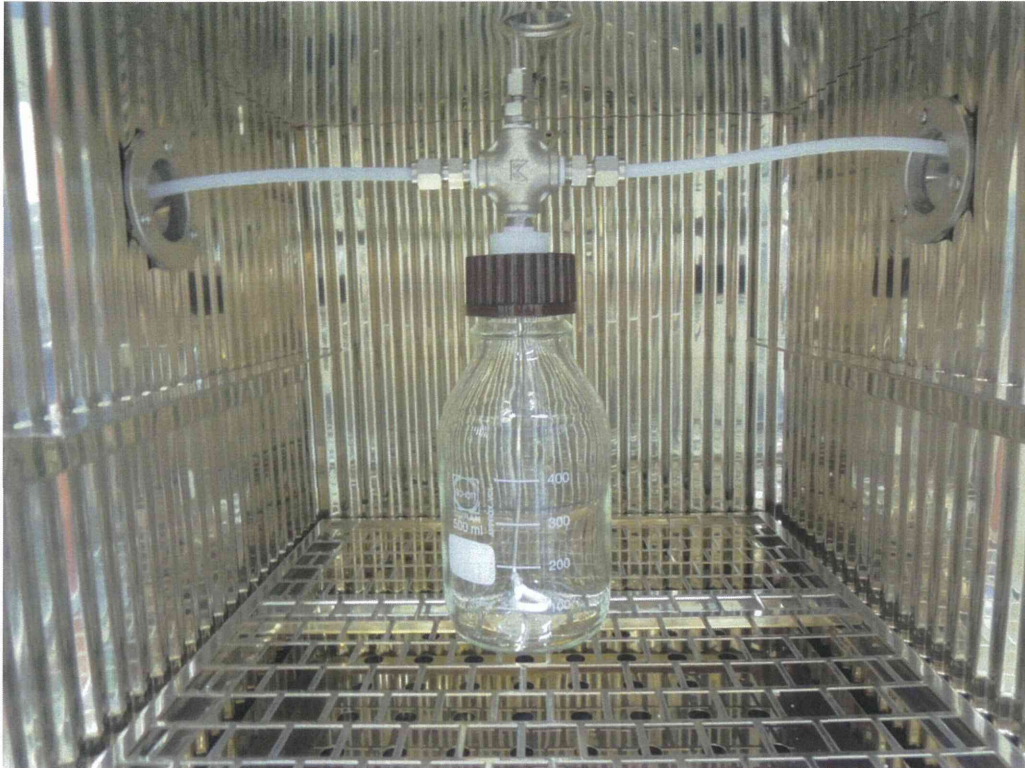


図6 恒温槽 (27°C) に収納したパラジクロロベンゼン発生容器

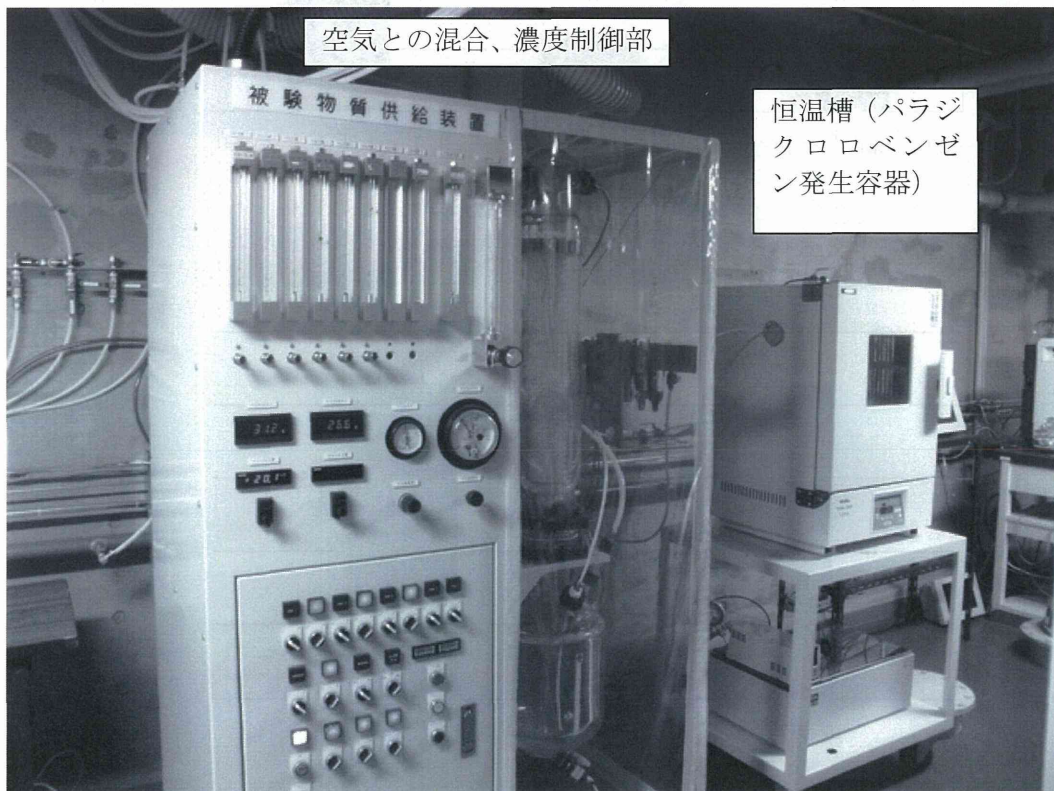


図7 恒温槽 (パラジクロロベンゼン発生容器)、空気との混合、濃度制御部の外観

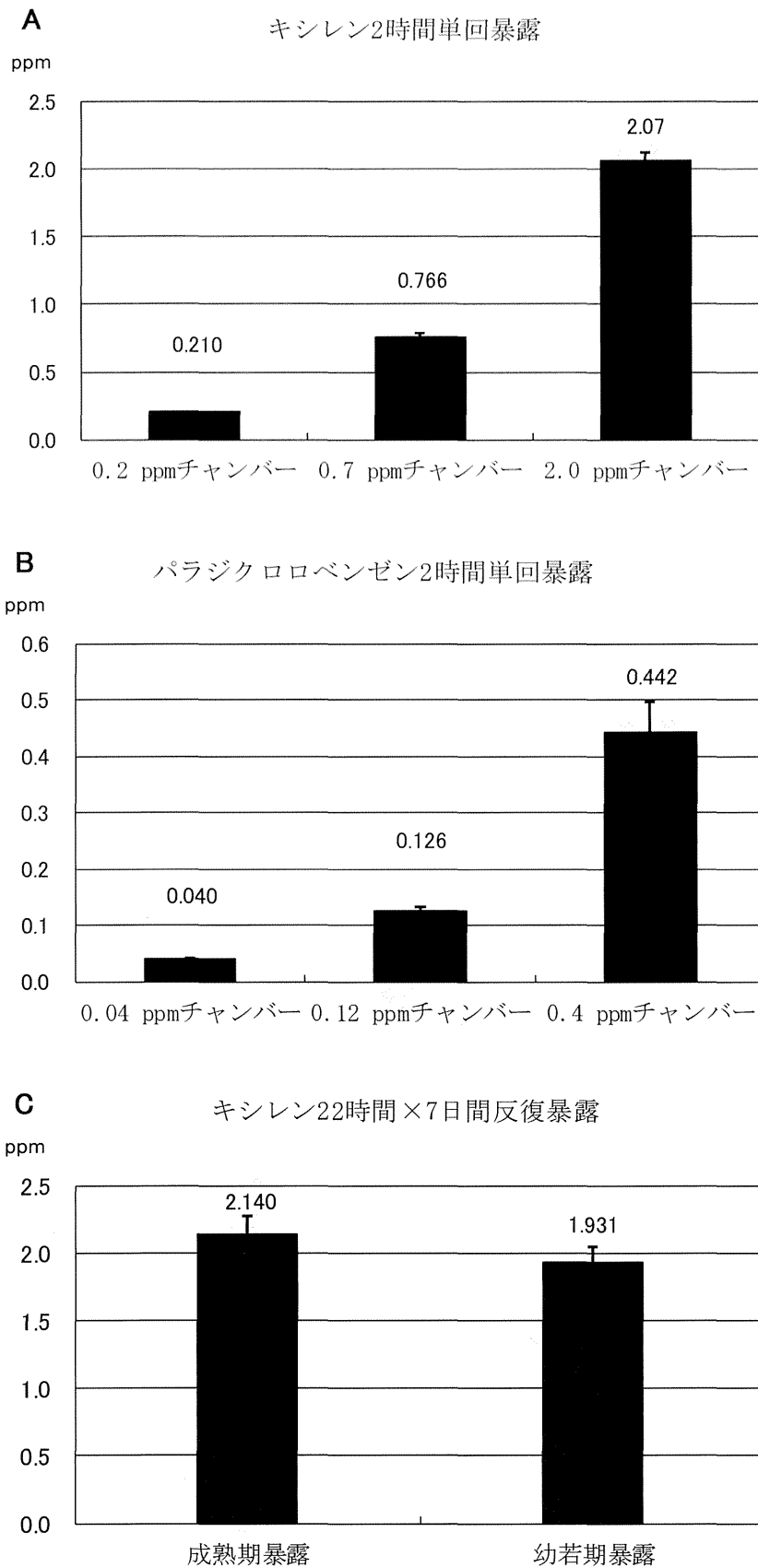


図8 本実験におけるキシレン及びパラジクロロベンゼン暴露濃度の測定結果
 A: キシレン2時間単回暴露の場合、B: パラジクロロベンゼン2時間単回暴露の場合、
 C: キシレン22時間/日×7日間反復暴露の場合（平均値±標準偏差）。
 平均値をグラフ中に記載した

委託研究報告書

I. パラジクロロベンゼンのマウスを用いた極低濃度暴露試験

報告書

(2時間/日、単回暴露)

試験番号 : 0836

CAS No. 106-46-7

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パラジクロロベンゼンを C57BL/6J 雄マウスに 2 時間/日、単回全身暴露（経気道投与）し、遺伝子発現解析用の肝、肺及び脳の組織を採取した。

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。投与濃度は、0.04、0.12 及び 0.40 ppm 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。投与終了時、並びに投与開始後 4 時間目、8 時間目及び 24 時間目に各群 3 匹の動物を解剖し、肝、肺及び脳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、目標投与濃度 0.04、0.12 及び 0.40 ppm に対し、測定値の平均±標準偏差は、それぞれ 0.0402 ± 0.0013 ppm、 0.126 ± 0.007 ppm 及び 0.442 ± 0.053 ppm であった。

剖検と病理組織学的検査では、全動物とも肝、肺及び脳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。

1. 試験材料

1-1 被験物質の性状等

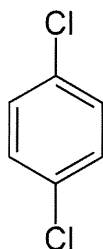
1-1-1 名称等

名称：パラジクロロベンゼン(paradichlorobenzene)

CAS No.：106-46-7

1-1-2 構造式及び分子量

構造式：



パラジクロロベンゼン

分子量：147

1-1-3 物理化学的性状等

性状：白色の結晶

融点：53°C

沸点：174°C

蒸気圧：0.17kPa (20°C)

1-2 被験物質のロット等

製造元：和光純薬工業株式会社

カタログ番号：047-01315

ロット番号：PDM2926

純度：99.9% (和光純薬工業(株)測定値) (別紙-1参照)

保管条件：室温で保管

1-3 被験物質の特性

使用した被験物質の特性は、GC/MS (日立製作所 M-80B) を用いて定性した。その結果、パラジクロロベンゼンに相当する分子イオンピーク及びフラグメントピークを確認した(図1)。

1-4 試験動物

1-4-1 種、系統及び清浄度

種 : マウス
系 統 : C57BL/6J
清浄度 : SPF

1-4-2 性及び導入匹数

雄 : 58匹

1-4-3 週齢

導 入 時 週 齢 : 生後10週齢 2014年4月15日生まれ

投与開始時週齢 : 生後12週齢

解剖サンプリング時週齢 : 生後12週齢

1-4-4 供給業者

日本チャールス・リバー (株) 厚木飼育センター

1-4-5 検疫及び馴化

動物導入後、1週間の検疫を行った。検疫期間後、動物を吸入チャンバー室に移動し、1週間の馴化を行った。

検疫期間 : 7日間 (2014年6月24日～2014年6月30日)

馴化期間 : 7日間 (2014年7月 1日～2014年7月 7日)

2. 試験方法

2-1 投与

2-1-1 投与経路

投与経路は全身暴露による経気道投与とした。

2-1-2 被験物質の投与方法

投与は、試験動物を収容した吸入チャンバー内に、設定濃度に調整した被験物質を含む空気を送り込み、動物に全身暴露することにより行った。

2-1-3 投与期間 (図2参照)

投与は単回2時間暴露 (午前10時から午後0時) とした。

2-1-4 投与濃度

投与濃度は、0.04、0.12及び0.40 ppmの3段階（公比約3）に設定した。なお、対照群はHEPAフィルターと活性炭フィルターにより濾過した新鮮空気による換気のみとした。

2-1-5 投与経路、及び投与濃度の設定理由

投与経路は、室内環境におけるヒトへの主な暴露経路に合わせ、全身暴露による経気道投与とした。

投与濃度はパラジクロロベンゼンの室内濃度指針値である0.04 ppmを考慮して、最高投与濃度を0.40 ppmとし、以下0.12、0.04 ppmの3段階の濃度（公比約3）を設定した。

2-1-6 先行研究におけるパラジクロロベンゼン暴露に関する当センターでの暴露結果

当センターでは、平成20年度に化学物質を極低濃度で実験動物に経気道で暴露することを目的として、パラジクロロベンゼンを対象として室内濃度指針値（0.04 ppm）を考慮した濃度でマウスに全身暴露する実験を実施した。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。なお、先行研究では、パラジクロロベンゼンの発生に関して、下記の2つの点が明確であった。

1. 発生容器の口金内にキャリア空気を流し運転することにより、パラジクロロベンゼンの再結晶化が防止できた。

2. パラジクロロベンゼンの発生容器を恒温槽（27℃）に収納したところ、パラジクロロベンゼンの昇華速度が安定し、発生濃度が安定した。

吸入チャンバー内の被験物質濃度は、固相吸着-溶媒抽出法により毎日測定した。すなわち、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、検量線の所定の濃度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。

先行研究（6時間/日×7日間暴露）において、0、0.04、0.12および0.40 ppmの目標暴露濃度で実験を行った結果、吸入チャンバー内の被験物質濃度は、目標暴露濃度0、0.04、0.12及び0.40 ppmに対し、測定値の平均±偏差（最低～最高値）は、それぞれ 0 ± 0 ppm（全期間とも0 ppm）、 0.039 ± 0.002 ppm（0.036 ppm～0.042 ppm）、 0.119 ± 0.010 ppm（0.108 ppm～0.137 ppm）及び 0.387 ± 0.032 ppm（0.351 ppm～0.443 ppm）であった。