

平成 28 年度厚生労働科学研究費補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）  
分担研究報告書

水道における水質リスク評価および管理に関する総合研究  
リスク評価管理に関する研究 - リスク評価管理分科会 -

研究代表者	松井 佳彦	北海道大学大学院工学研究院 教授
研究分担者	広瀬 明彦	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部長
研究分担者	松下 拓	北海道大学大学院工学研究院
研究分担者	山田 隆志	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部 第 4 室長
研究分担者	浅見 真理	国立保健医療科学院生活環境研究部 上席主任研究官
研究分担者	大野 浩一	国立保健医療科学院生活環境研究部 上席主任研究官
研究分担者	西村 哲治	帝京平成大学・薬学部・薬学科 教授
研究協力者	小林 憲弘	国立医薬品食品衛生研究所・生活衛生化学部 第 3 室長
研究協力者	江馬 眞	国立医薬品食品衛生研究所 客員研究員
研究協力者	長谷川 隆一	国立医薬品食品衛生研究所 客員研究員
研究分担者	小野 敦	国立医薬品食品衛生研究所 客員研究員
研究協力者	三浦 稔	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・第 4 室 研究員
研究協力者	平田 睦子	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・第 1 室 研究員
研究協力者	高橋 美加	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・第 1 室 研究員
研究協力者	松本 真理子	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・第 1 室 研究員
研究協力者	川村 智子	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・第 1 室 研究員
研究協力者	加藤 日奈	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・第 1 室 研究員
研究協力者	山口 治子	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・第 1 室 研究員
研究協力者	五十嵐智女	国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部・第 1 室 研究員

## 研究要旨

わが国の水道水質基準において、農薬は水質管理目標設定項目として農薬本体と主要な分解物であるオキソン体は共に管理されているが、農薬は環境中や浄水処理工程での反応により様々な分解物に変化することも知られており、これら分解物に対する毒性を評価することは水道水のリスク評価および管理における今後の議論として必要である。本研究では有機リン系農薬を題材とし、塩素処理による毒性（ChE 活性阻害性）変化とオキソン体以外の毒性に寄与する分解物を検出する手法の開発を行った。その結果、ChE により ACh から生成される Ch を LC/MS/MS にて定量することにより試料の ChE 活性を定量する ChE 活性阻害性試験（質量分析法）と、従来の吸光度法でのフェンチオンオキソンスルホン体の ChE 活性阻害性の検出下限値を 1/15 程度まで低減することができる質量分析法を構築した。

飲料水質評価値を TDI から設定する場合において、飲料水経由の暴露（吸入暴露も含む）が主要な暴露経路となりうる場合などでは、デフォルト値以外の割当率が使われるが割当率値の評価法は明確にされていない。そこで、割当率の算定に必要なより精度の高い暴露評価法の開発を目的とし、実際の家屋における評価対象物質の空气中濃度の測定手法を検討した。本年度の研究では、揮発性有機物のトリクロロエチレン（TCE）とテトラクロロエチレン（PCE）を対象に入浴中の浴室における空气中濃度を実測し、水からの揮発分による濃度上昇率を算定した。その結果、TCE については、TCM の 3.75 倍、BDCM の 4.46 倍の揮発量となることが、PCE は TCM の 11.14 倍、BDCM の 13.05 倍の揮発量になっていることが示唆された。また、シャワーヘッドからの散水による空气中濃度への影響はなかった。

短期的な水道水質汚染が生じた際に有用な亜急性参照値の設定に関する研究において、H28 年度は水質管理項目に記載されている有機化学物質を中心とした 8 物質について、短期間曝露を対象とした亜急性評価値[亜急性参照量: Subacute Reference Dose(saRfD)]の算出し、この算出された saRfD を用いて亜急性参照値の設定を試みた。亜急性参照値は水質管理項目の目標値に対して概ね 4 - 30 倍高い値として設定できたが、メチル-t-ブチルエーテルと 1,1,1-トリクロロエタンについては、数百倍から千倍近い高い値となった。この理由は、これらの物質が慢性毒性影響に基づく評価値より一桁程度低い臭味の閾値を元に目標値が設定されていることによるものであった。一方、WHO の逐次改正で検討中のニッケルの健康影響評価について、最近の国際的評価についてその情報を収集した。近年は、動物実験における慢性影響ではなく、ヒトのニッケルアレルギー患者のアレルギー反応を基に許容値等が設定される方向にあることが示された。この値を用いて飲料水の目標値を設定するには、アレルギー反応が単回曝露による濃度に依存した急性影響であることや、飲水経由の暴露と食事経由の暴露で体内吸収率が著しく異なることを考慮に入れる必要があると考えられた。

## A. 研究目的

### 1. 農薬の分解物

現在、わが国の水道水質基準において、農薬は水質管理目標設定項目の中に組み込まれており、農薬類 120 物質として総農薬方式に

て管理されている。この中には、農薬原体のみならず、いくつかの分解物も含まれており、例えば有機リン系農薬のうち、EPN、イソキサチオン、イソフェンホス、クロルピリホス、ダイアジノン、フェニトロチオン、ブタミホス、マラチオンについてはそのオキソン体の濃度も測定し、それぞれの原体濃度に換算して合計することにより、農薬原体の濃度の測定値とするように規定されている。これは、これらの有機リン系農薬の ADI 設定時の毒性エンドポイントであるコリンエステラーゼ (ChE) 活性阻害性という毒性を、それらのオキソン体も有しているためである。

一方、散布された農薬は、環境中にて微生物分解や光分解などの分解を受け、様々な分解物へと変換されることが知られており、もちろん有機リン系農薬については、オキソン体以外の分解物も生成されると考えられる。また、水道原水に混入する農薬は、浄水処理工程で加えられる遊離塩素やオゾンなどと反応し、様々な分解物へと変換されることも知られている。しかしながら、これらの分解物が原体と同様の毒性を有するの否かについての議論はなされていない。

そこで本研究では、有機リン系農薬を題材とし、塩素処理により毒性 (ChE 活性阻害性) がどのように変化するのかを調べるとともに、塩素処理過程で生成される分解物を調べ、オキソン体以外に毒性に寄与する分解物があるの否か、あるとすると、どのような分解物が毒性に寄与しているのかを調べることが目的とした。

## 2. ChE 活性阻害試験

ChE 活性阻害性を調べる手法は古くから提案されており、最も広く用いられる手法は、エルマン法 (Ellman et al., 1961) に代表される吸光度法である (Mial et al., 2010)。これ

らの手法では、ChE が触媒して進行する基質の加水分解により生成される生成物の量を、生成物に結合することにより呈色する試薬を加えることにより、ChE の活性を吸光度として定量している。しかしながら、一般的に吸光度による検出 / 定量では、その検出 / 定量感度が低い (すなわち、検出 / 定量下限が高い) 可能性が想定されうる。

そこで本年度は、前節にて示した塩素処理過程での分解物の毒性評価の前に、従来の ChE 活性阻害試験の定量感度の向上を目指した。

## 3. 経口暴露換算の総潜在用量、割当率および間接飲水量の推定

毒性に閾値のある化学物質の飲料水質評価値は、耐用一日摂取量 (TDI) の一部に、飲料水摂取からの暴露量を割り当てることで算出される。多くの化学物質については、飲料水経由の暴露量は相対的に小さく、さらに割当率として小さい割合を使って算定された評価値が安全側のリスク評価になることから、割当率としてはデフォルト値の 10% または 20% が多くの場合、使われている。デフォルト値として小さな値を使うことは、飲料水経由の暴露が TDI に比して、大きな寄与とはならないというポリシーを含んでいると理解できる。一方、飲料水経由の暴露が主要な暴露経由となりうる場合などでは、デフォルト値以外の割当率が使われるが、割当率値の評価法は明確に設定されているとは言えない。

米国環境保護庁 (USEPA, 2000) は、割当率の設定法として、引き算法 (subtraction method) と百分率法 (percentage method) の 2 つの方法を提案している。しかしながら、割当率に基づいて算出された評価値と TDI 間のマージンや、複数の暴露経路由来の総暴露量を定量的に解析した方法論には至っていないと思われる。

昨年検討では、生理学的薬物動態モデル (PBPK モデル) を用いて吸入、経皮暴露量を経

口暴露時の体内負荷量に換算する、新しい暴露量分布の推計方法に加え、体重分布・体重-食品相関を考慮した方法へと発展させ、トリクロロエチレン(TCE)、テトラクロロエチレン(PCE)の暴露評価を行った。その結果、TCEは現行の基準値では過半数以上の人々がTDIを超える暴露量となる可能性が示唆され、これは吸入経路や経皮経路では経口経路と同じ量の潜在用量でも臓器への到達率が高くなることで間接飲水量が多くなるためと考えた。しかし、吸入暴露時の室内空気濃度をトリハロメタン類(THMs)のデータからの推定値を用いた点には課題が残った。本来は実際の家屋における対象物質の空气中濃度を測定し、得られた結果を用いるが望ましいと思われる。そこで、本年度の研究では、表1の揮発性有機物を対象に入浴中の浴室における空气中濃度を実測し、水からの揮発分による濃度上昇率を算定した。

#### 4. 水道汚染物質の亜急性評価値に関する研究

水道水の安全性を担保するために、水道汚染物質に関する基準値や目標値が設定されているが、これらの値は、生涯曝露を想定して設定されているものであることから、一時的な基準値・目標値超過がヒトの健康にどのような影響を及ぼすか、事故時の汚染物質濃度や推測される曝露期間などを考慮して毒性情報を評価していく必要があるだろう。そこで、我々は、米国環境保護庁(Environmental Protection Agency: EPA)によって設定された健康に関する勧告値(Health advisory: HA)及び Human Health Benchmarks for Pesticides (HHBP)の設定方法や根拠について調査を行った上で、昨年度までに日本の水質基準項目19項目について食品安全委員会の評価書の情報を精査し、亜急性評価値として亜急性参照量( $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ ) [Subacute Reference Dose; saRfD]を算出した。また、saRfDを用いて、短期的な水道水質汚染が生じた際に参考とすべき水道水中濃度 [参照値 ( $\text{mg}/\text{L}$ )]の

算出を試みた。今年度は、日本の水質管理目標設定項目26項目のうち有機化学物質を中心に新たに8項目についてsaRfDの算出及び参照値の算出を試みる。

#### 5. WHOガイドラインの逐次改定やリスク管理上関心の高い物質の毒性情報整理

WHOガイドラインの逐次改定やリスク管理上関心の高い物質の毒性情報整理としては、現在WHOで改定検討しているニッケルについて最近の国際的評価について情報を収集整理する。

### B. 研究方法

#### 1. 吸光度法によるChE活性阻害試験

本研究では、従来法である吸光度によるChE活性阻害試験として、Tahara et al. (2005)の方法を一部変更して用いた。96穴プレートの各ウェルに、サンプル50  $\mu\text{L}$ 、2 mMのMATP+溶液(基質、1,1-dimethyl-4-acetylthiomethylpiperidinium iodide)50  $\mu\text{L}$ 、2 mMのDTNB溶液(発色試薬、5,5'-dithiobisnitrobenzoic acid)50  $\mu\text{L}$ 、120 unit/LのChE溶液50  $\mu\text{L}$ を入れ、37  $^{\circ}\text{C}$ にて30分間インキュベートし、波長405 nmにて吸光度を測定した。サンプルは、ChE活性を阻害すると報告されている(Tahara et al., 2008)フェンチオンオキソンスルホン体とし、低濃度区(0.003125 ~ 1  $\text{mg}/\text{L}$ )と高濃度区(3.125 ~ 1000  $\text{mg}/\text{L}$ )に分け、試験を行った。

#### 2. 質量分析法によるChE活性阻害試験

本研究では、従来法である吸光度法の感度向上を目的とし、近年のLC/MS/MS機器の飛躍的な性能向上を鑑み、質量分析法によるChE活性阻害試験の構築を目指した。96穴プレートの各ウェルに、サンプル150  $\mu\text{L}$ 、6  $\mu\text{M}$ のアセチルコリン溶液(基質、ACh)75  $\mu\text{L}$ 、1.2 unit/L

のChE 溶液 75  $\mu$ L を加え、37  $^{\circ}$ C にて2時間インキュベートした。その後、アセトニトリルで2倍希釈することによりChEを不活化し、LC/MS/MS (Q Exactive, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) にて生成物のコリン (Ch) を定量した。サンプルは、フェンチオンオキソンスルホン体とし、添加濃度を0.002 ~ 20 mg/L とした。

### 3. 経口暴露換算の総潜在用量、割当率および間接飲水量の推定

水道水に含まれる揮発性有機化合物は、家庭内で使用すると揮発し空気中の濃度が上昇する。その濃度上昇は物質によって、または、換気やその空間の体積など物理的条件によって異なる。物質の物性値と揮発による濃度上昇には関係があるとされているが (Thomas, 1987)、室内濃度を測定した研究例としてはトリハロメタン類以外 (Itoh & Asami, 2010) は行われていない。

そこで、本年度の研究では、実際の家庭にあるような浴室を用いて対象物質の水から揮発することによる室内空気上昇分を測定した。また、Itoh & Asami, 2010 と比較し、実際の家庭での空気中濃度を推定するため、対象物質と合わせて THMs の濃度も測定した。実験場所の水道水には TCE や PCE、プロモホルム(TBM) は含まれていないため、それらの水溶媒溶液を作成し水道水に添加した。さらに、水中濃度の違いによる揮発による室内濃度上昇への影響の有無を調べるため、場合によってはクロロホルム(TCM)、プロモジクロロメタン(BDCM)、ジブロモクロロメタン(DBCM)も添加した。

### 実験条件

実験は図 3 のような環境で以下の条件で行った。ポンプと捕集管、除湿管の構成は図 4 になっている。実際の家庭での入浴条件を考慮し複数の組み合わせで表 2 の条件で実験を行った。

また、表 2 の実験番号は表 8、表 9、表 10、表 11、表 12 と共通である。

### 溶液作成方法

使用した試薬は以下の6点である。

トリクロロエチレン(安定剤不含)(和光純薬、試薬特級)

テトラクロロエチレン(和光純薬、試薬特級)

クロロホルム(和光純薬 トリハロメタン測定用)

ジブロモクロロメタン(和光純薬 トリハロメタン測定用)

プロモジクロロメタン(和光純薬 トリハロメタン測定用)

プロモホルム(和光純薬 トリハロメタン測定用)

溶液の作成は以下の手順で行った。

1. 物質ごとに溶解度の 1/2 量(DBCM のみ 1/4 量)を目安に表 3 の量を 100 mL 褐色メスフラスコ(PCE のみ 1000 mL 褐色メスフラスコ)に溶かし、一晩常温で攪拌した。
2. 1 で作成した溶液を対象物質は 10 mg/L、THMs は 3 mg/L となるように表 4 に示す添加量で対象物質と TBM の混合溶液と TCM と BDCM と DBCM の混合溶液の 2 種類に分けて 200 mL メスフラスコにて作成した。

### 濃度測定方法

#### シャワー水濃度

水中濃度測定は、上水試験方法のパージ・トラップーガスクロマトグラフー質量分析法を参考に以下の手順で行った。

試料の採取及び保存

試料は、250 mL アイボーイに採水した。

## 試薬

- (1) 揮発性有機化合物 23 種混合標準液(関東化学, 1 g/L in メタノール)
- (2) メタノール
- (3) 内部標準物質混合標準液 4 種(関東化学, フルオロベンゼン, m- プロモフルオロベンゼン 各 1 g/L in メタノール, 1,4-dioxane -d8 0.8 g/L in メタノール)
- (4) 1.0 mol/L 塩酸

## 器具及び装置

- (1) バイアル
- (2) 100 mL メスフラスコ
- (3) ビーカー
- (4) キャップ
- (5) セプタム
- (6) GC/MS
- (ア) 装置 : P&T-GC/MS(P&T:ジーエルサイエンス、GC/MS:島津製作所)
- (イ) カラム : AQUATIC (内径 0.25 mm、充填剤厚み 0.25  $\mu$ m、長さ 60 m)
- (ウ) メソッド : 表 5

## 試験操作

### ・サンプル測定

以下の作業はメタノールを用いるため、全てドラフト内で行った。

- A) サンプルを 100 mL メスフラスコで測り取る。
- B) 内標 B(内標 B は内部標準物質混合標準液 4 種を 1/20 の濃度になるようにメタノールで希釈した)を 20  $\mu$ L、1.0 mol/L 塩酸を 800  $\mu$ L 添加した。
- C) メスフラスコに入っているサンプルを P&T (パージ&トラップ) 用の 40ml バイアルに移し替え、満水にして栓をした。

### ・検量線用サンプル作成

以下の作業はメタノールを用いるため、全てドラフト内で行った。

- A) 揮発性有機化合物 23 種混合標準液(関東化学, 1 g/L in メタノール)をメタノールを用いて、濃度が 0.05 ~ 50 mg/L、全量が 1mL になるように希釈した。(2mL のガラスバイアル内で行った。)
- B) 内標 A は内部標準物質混合標準液 4 種(関東化学, フルオロベンゼン, m- プロモフルオロベンゼン 各 1g/L in メタノール, 1,4-dioxane -d8 0.8 g/L in メタノール)を 1/20 の濃度になるようにメタノールで希釈した。
- C) 超純水が入っている 100 mL メスフラスコにメタノールで希釈した検量線用サンプルをそれぞれ 20  $\mu$ L 添加し、超純水を用いて全量を 100 mL とした。
- D) 内標 A を 20  $\mu$ L と 1 mol/L 塩酸を 800  $\mu$ L 添加した。
- E) メスフラスコに入っているサンプルを P&T (パージ&トラップ) 用の 40ml バイアルに移し替え、満水にして栓をした。

### 空气中濃度

空气中濃度測定は、有害大気汚染物質測定方法マニュアルの固体吸着採取 - GC 法または GC-MS 法 [環境省, 2011]を参考に以下の手順で行った。

### 試料の採取及び保存

捕集後の捕集管の両端にキャップをつけ、アルミホイルで包み冷蔵保存した。

## 試薬

- (1) 二硫化炭素 (和光純薬, 作業環境測定用)
- (2) 揮発性有機化合物 23 種混合標準液(関東化学, 1 g/L in メタノール)
- (3) トルエン-d8 (和光純薬, 大気汚染物質測定用)

## 器具及び装置

- (1) ピンセット
  - (2) 2 mL バイアル
  - (3) 攪拌器
  - (4) マイクロピペット
  - (5) シリンジ
  - (6) 0.45 µmPTFE 膜
  - (7) GC/MS
- (ア) 装置：ALS-GC/MS(Agilent)
- (イ) カラム：DB-624 (内径 0.25 mm、充填剤厚み 1.4 µm、長さ 30 m)
- (ウ) 表 6

## 試験操作

### ・サンプル測定

以下の作業は二硫化炭素を用いるため、全てドラフト内で行った。

- A) トルエン-d8 (内部標準液) を  $10^7$  倍希釈した。
- B) 捕集管から活性炭をピンセットを用いて 2 mL バイアルに取り出し、前段、後段ともに 1 mL の二硫化炭素を添加する。
- C) A)のサンプルを 2 時間攪拌器にかけ、抽出する。
- D) B)のサンプルを 0.45 µmPTFE 膜を用いてろ過した後、500 µL 取り出し、別のバイアルに入れる。(必要に応じて希釈する)
- E) D)に A)を 100 µL 添加したものを試験液とした。

### ・検量線用サンプル測定

以下の作業は二硫化炭素を用いるため、全てドラフト内で行った。

- A) 揮発性有機化合物 23 種混合標準液(関東化学, 1 g/L in メタノール)を二硫化炭素を用いて、濃度が 0.01 ~ 1 mg/L になるように 2 mL バイアル内で希釈し全量を 1 mL と

した。

- B) トルエン-d8 (内部標準液) を  $10^7$  倍希釈した。

- C) A)に B)を 100 µL 添加したものを試験液とした。

## 4. 水道汚染物質の亜急性評価値に関する研究

日本の水質管理目標設定項目 26 項目のうち 8 項目について、食品安全委員会の評価書を参考にして、saRfD を求めた。

saRfD は、ヒトがおよそ 1 か月間曝露した場合を想定し、非発がん影響に関しては、28 日間曝露試験、90 日間曝露試験、及び生殖発生毒性試験から無毒性量 (NOAEL)を求め、不確実係数 (UF)を適用して saRfD を求めた。UF は、種差 10、個人差 10 の他、NOAEL が求められない場合や重篤性のある毒性影響などは適宜追加の UF を適用した。遺伝毒性発がん物質については  $1 \times 10^{-4}$  発がんリスク ( $1 \times 10^{-5}$  発がんリスクの 10 倍) に相当する曝露レベルを算出し、非発がん影響に関する saRfD 相当値と比較し、より低い値を saRfD とした。

次に 8 項目に関する saRfD を用いて、短期的な水道水質汚染が生じた際に参考とすべき参照値 (mg/L)の算出を試みた。なお、参照値は、HA や HHBP の考え方に習い、割当率を 100% とし、それぞれの項目について成人と小児を対象とした 2 つの値を算出した。成人の体重は 50 kg、飲水量は 2 L/day とし、小児の体重は 10 kg、飲水量は 1 L/day とした。

## 5. WHO ガイドラインの逐次改定やリスク管理上関心の高い物質の毒性情報整理

WHO 水質ガイドラインの逐次改正として検討中のニッケルについて、WHO の動向を整理すると共に、我が国の食品安全委員会の評価や EFSA (European Food Safety Authority) の評価など、最近の国際的評価について情報を収集し毒

性情報の整理を行った。

## C. 研究結果と考察

### 1. 吸光度法による ChE 活性阻害試験

図 1 に従来法である吸光度法による ChE 活性阻害試験の結果を示す。低濃度区 (0.003125 ~ 1 mg/L) では、いずれの添加濃度でも、フェンチオンオキソンスルホン体を添加しなかった場合 (コントロール) の吸光度  $0.57 \text{ cm}^{-1}$  とほぼ同程度の吸光度であった。すなわち、この濃度区では ChE 活性阻害を検出することはできなかった。一方、高濃度区 (3.125 ~ 1000 mg/L) では、コントロールの吸光度  $0.55 \text{ cm}^{-1}$  に比べ、いずれの添加濃度でも吸光度が小さかった。すなわち、3.125 mg/L 以上のフェンチオンオキソンスルホン体の添加では、ChE 活性阻害を検出することができた。また、フェンチオンオキソンスルホン体の濃度の増加に伴い、濃度依存的に吸光度が減少した。これらの実験より、吸光度法によるフェンチオンオキソンスルホン体の ChE 活性阻害試験の検出下限は 3.125 mg/L であることが示された。

### 2. 質量分析法による ChE 活性阻害試験

図 2 に本研究にて構築した質量分析法による ChE 活性阻害試験の結果を示す。図 2(a) に示すように、ChE もフェンチオンオキソンスルホン体も添加しない場合 (wo/ChE: ACh のみをリン酸緩衝液に添加した系) 6 nM 程度の Ch が生成された。これは、水中にて自然に起こる ACh の加水分解による Ch の遊離 ( $\text{ACh} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ch} + \text{酢酸}$ ) によるものであり不可避である。すなわち、本手法におけるブランク値に相当する。一方、ACh に ChE を添加した系では (すなわち、フェンチオンオキソンスルホン体濃度 0 mg/L) 40 nM 程度の Ch が生成された。これは、自然な加水分解に加え、ChE による触媒反応より、ACh からの Ch が生成されたためであ

る。これは本手法におけるコントロール値に相当する。よって、ChE が触媒した Ch の生成量は、コントロール値からブランク値を差し引いた  $34 \text{ nM} (= 40 \text{ nM} - 6 \text{ nM})$  であると算定される。

フェンチオンオキソンスルホン体濃度が 0.002 ~ 0.02 mg/L の場合、Ch 生成量はコントロール値と同じであった。すなわち、この濃度区では、フェンチオンオキソンスルホン体の ChE 活性阻害性を検出することはできなかったと判断された。一方、フェンチオンオキソンスルホン体濃度が 0.2 mg/L 以上の場合、Ch 生成量はコントロールでの生成量より小さくなった。すなわち、この濃度区では ChE 活性が阻害されたと判断された。また、その生成量はフェンチオンオキソンスルホン体濃度に依存して小さくなった。

そこで、試料の有する ChE 活性阻害性を評価するため、以下の計算を行った。各試料の Ch 生成量からブランク値を差し引き、それを正常な ChE により生成された Ch 量 (すなわち、前述のコントロール値 - ブランク値) で除することにより、各試料の ChE 活性率を算出し、その値を 1 から減ずることにより、各試料の ChE 活性阻害率を求めた (図 2(b))。フェンチオンオキソンスルホン体では、ChE 活性阻害性の検出下限は 0.2 mg/L であり、その際の ChE 活性阻害率は 23% であった。また、ChE 活性の 50% 阻害濃度は 0.72 mg/L と計算された。

本研究で構築した質量分析法によるフェンチオンオキソンスルホン体の ChE 活性阻害試験の検出下限 (0.2 mg/L) は、従来の吸光度法の検出下限 (3.125 mg/L) の 1/15 程度であった。すなわち、従来法の 15 倍の検出感度をもつ ChE 活性阻害性試験を開発することができたと判断された。

### 3. 経口暴露換算の総潜在用量、割当率および

## 間接飲水量の推定

添加に用いた溶液の濃度は表 7 のようになった。また、TCE1 はサンプル番号 1 ~ 10 に、TCE2 はサンプル番号 11 ~ 23 に、TCE3 は 24 ~ 35 に使用し、TCM1 は 24 ~ 31 に使用した。添加溶液の濃度が目標濃度よりも低くなったため、測定した水中濃度も目標値より低い値となった。室外空气中濃度の結果を表 8、浴室内空气中濃度の結果を表 9、水中濃度の結果を表 10 に示す。表 8、表 9、表 10 の結果を用いて、揮発量を式(1)で定義し、計算を行った。そして、クロロホルムとトリクロロエチレン、プロモジクロロメタンとトリクロロエチレン、クロロホルムとテトラクロロエチレン、プロモジクロロメタンとテトラクロロエチレンの比較を行い、それぞれの結果を、図 5、図 6、図 7、図 8 に示した。

$$b_k = \frac{\text{室内空气中濃度} - \text{室外空气中濃度}}{\text{水中濃度}} \quad (1)$$

図 5、図 6、図 7、図 8 より、トリクロロエチレンはクロロホルムの 3.75 倍、プロモジクロロメタンの 4.46 倍の揮発量になっていることが分かった。また、テトラクロロエチレンはクロロホルムの 11.14 倍、プロモジクロロメタンの 13.05 倍の揮発量になっていることが分かった。そこで、実際の家庭で得られたクロロホルム、プロモジクロロメタンの  $b_k$  値分布 (Itoh & Asami, 2010) を基に、本実験から得た比率を用いてトリクロロエチレン、テトラクロロエチレンの  $b_k$  値分布を作成した (図 9、図 10)。また、シャワーヘッドから散水された水分がミスト状のまま捕集管に吸着されている可能性を考え、活性炭に吸着した水分量を測定した (表 11)。この結果を踏まえて、吸着した水分中の物質濃度が水中濃度と等しいものとして捕集量から差し引き、空气中濃度を求めたものを表 12 に示し、水分を考慮していない濃度との平均値の比較を

表 13 に示す。

表 13 のように、水分を考慮しても濃度は 1% 程度しか変わらなかった。そのため、トリハロメタン類の濃度測定と同様に捕集した物質は全て空気由来とした。浴室内が高濃度になる要因として換気の有無を考えた。本実験では、換気を 0, 88, 121  $\text{m}^3/\text{h}$  で行っているため、他の条件を合わせたうえでそれぞれの換気量における  $b_k$  値の平均値を図 11 に示した。換気をすれば濃度が下がると考えていたが、0 と 88  $\text{m}^3/\text{h}$  では濃度が下がっていないため、換気扇は天井についており、捕集は人が風呂のいすに座った程度の高さで行っているため換気の影響よりもシャワーからの散水による揮発の影響を受けやすいためだと考えた。

## 4.水道汚染物質の垂急性評価値に関する研究

今年度算出した 8 項目の saRfD と、それらの値を TDI (Tolerable Daily Intake: 耐容一日摂取量) 又は VSD (Virtually Safe Dose: 実質安全量) と比較した結果を表 14 に示した。各項目の saRfD 設定根拠を以下に示す。

### 1,2-ジクロロエタン

1,2-ジクロロエタンは遺伝毒性発がん物質であるため、 $1 \times 10^{-5}$  リスクの 10 倍を saRfD として算出した。VSD の設定根拠は以下の通りである。

Osborn-Mendel ラット (50 匹/性/群) に、1,2-ジクロロエタンを、0、47、95  $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$  の用量で 78 週間 (5 日/週) 強制経口投与し、その後 32 週間観察を続けた結果、前胃での扁平上皮がんと循環器系での血管肉腫、及び乳腺がんの発生率増加の発生頻度が増加した。この試験の発がんユニットリスクは、 $6.3 \times 10^{-2}/(\text{mg}/\text{kg}/\text{day})$  となり、 $1 \times 10^{-5}$  リスクは 0.16  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  であった。

従って、saRfD は  $1 \times 10^{-5}$  リスクの 10 倍の 1.6  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  と算出された。なお、この値は 1,2-ジ

クロロエタンのラット 90 日間強制経口投与試験の非発がん影響(腎・肝・脳の相対重量の増加、血液学的変化)を基に食品安全委員会が定めた TDI : 37.5 µg/kg/day (UF:1000 より導出)より低値であることを確認した。

### トルエン

F344 ラット又は B6C3F1 マウスの 13 週間(週 5 日)強制経口投与試験(0、312、625、1250、2500、5000 mg/kg/day)においてラットの 625 mg/kg/day では神経病理組織学的変化は認められなかったが、1250 mg/kg/day 以上では海馬体の歯状回及びアンモン角での神経細胞の壊死等の脳の神経病理学的影響が見られた。NOAEL は 625 mg/kg (週 7 日換算 : 446 mg/kg/day) と判断された。マウスにおいても肝臓の所見から同様の値を NOAEL と判断している。本試験(ラット)の NOAEL は我が国の食品安全委員会の TDI 導出に用いられている。

CD-1 マウスにおけるトルエン(0、5、22、105 mg/kg/day)の 28 日間の飲水投与試験では、神経伝達物質への影響を根拠に LOAEL 5 mg/kg/day という結果が得られている。

一方、SD ラットを用いた発生毒性試験(520 または 650 mg/kg/day)では、両投与群において児の神経発達に影響が認められている。また、Nya:NYLAR マウスの妊娠から授乳期の飲水投与(2.88、14.4、72 mg/kg/day)においては児の行動に変化は見られたものの用量相関が認められなかった。

以上の情報より食品安全委員会が TDI 導出に用いた試験が信頼性の高い情報と判断されたため、NOAEL 446 mg/kg/day に UF 300 (3 : 重篤性)を適用し saRfD は 1490 µg/kg/day となった。

### メチル-t-ブチルエーテル (MTBE)

Sprague-Dawley ラットにおける MTBE (0、100、300、900、1200 mg/kg/day) の 90 日間強制経口投与試験結果では、300 mg/kg/day 以上

の雌、900 mg/kg/day 以上の雄で腎相対重量増加が、1200 mg/kg/day の雌雄で麻酔作用、雌で最終体重の減少が見られ、NOAEL は 100 mg/kg/day であった。

SD ラットに 0、90、440、1750 mg/kg/day の用量で 28 日間(5 日/週)強制経口投与した結果、440 mg/kg/day 以上の雌雄に活動低下、運動失調、雄に腎臓重量増加、腎尿細管の硝子滴、1750 mg/kg/day の雌雄にコレステロール増加、肝重量増加、雄に副腎重量増加がみられ、NOAEL は 90 mg/kg/day (週 7 日補正值 64 mg/kg/day) であった。

上記の情報を基に、より低い NOAEL 64 mg/kg/day に UF100 を適用して saRfD は 640 µg/kg/day となった。

### 1,1,1-トリクロロエタン

B6C3F1 マウスの 13 週間混餌投与試験(5000-80000 ppm; 雄:約 0.85-15 g/kg/day、雌:約 1.340-23 g/kg/day)において、雌雄の 20000 ppm 群以上で体重が有意に減少し NOAEL は 10000 ppm (雄 1.77 g/kg/day、雌 2.82 g/kg/day) であった。

F344 ラットの雌雄に 5000-80000 ppm(雄:約 0.3-4.8 g/kg/day、雌:約 0.3-5 g/kg/day)で 13 週間混餌投与した NTP 試験の結果では、20000 ppm 以上の雄で腎尿細管の硝子滴変性、再生性変化、円柱形成、間質の慢性炎症が、雌の 80000 ppm で肝臓絶対重量の増加が見られた。NOAEL は 10000 ppm (600 mg/kg/day) であった。

雄 SD ラットにおける 0、0.5、2.5、5.0 g/kg/day の 12 週間(週 5 回)の強制経口投与試験では、2.5 g/kg/day 以上の投与群に体重増加抑制及び中枢神経系への影響が見られ、NOAEL は 0.5 g/kg/day(週 7 日換算:357 mg/kg/day)と判断された。

雄の SD ラットに 0、0.5、2.5、5.0 g/kg/day の用量で 50 日間(週 5 回、0 及び 0.5 g/kg/day 投

与群は 13 週間)の強制経口投与試験を行った結果では、2.5 g/kg/day 以上で、持続的な中枢神経系抑制影響による死亡が多く認められた。NOAEL は 0.5 g/kg/day (週 7 日換算 : 357 mg/kg/day) であった。

最も低い NOAEL は、357 mg/kg/day であるが、これは、瞬時大量投与による高血中濃度レベルでの試験であり、WHO 飲料水水質ガイドライン(第 2 版、第 3 版)においても引用されていないことから、食品安全委員会は TDI の設定根拠とするのは適当でないとしている。

本研究においても食品安全委員会と同様に、NOAEL : 600 mg/kg/day を POD として設定した。UF 100 を適用し saRfD は、6000 µg/kg/day と算出された。

#### フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)(DEHP)

F344 ラットに 0、1600、3100、6300、12500、25000 ppm の用量で DEHP を 13 週間混餌投与した結果、25000 ppm で体重増加量減少、精巢委縮が認められ、NOAEL は 12500 ppm (625 mg/kg/day)とされた。

F344 ラットに DEHP を 0、1000、4000、12500、25000 ppm (雄 ; 0、63、261、850、1724 mg/kg/day、雌 ; 0、73、302、918、1858 mg/kg/day) の用量で 13 週間混餌投与した結果、1000 ppm の雌を除く全投与群で肝臓の実重量及び相対重量が有意に増加し、LOAEL は 1000 ppm(雄 ; 63 mg/kg/day、雌 ; 73 mg/kg/day) であった。

SD ラットに 0、5、50、500、5000 ppm の用量で DEHP を 13 週間混餌投与した試験では、500 ppm の雄 1 例で肝臓の腫大および雄 7 例でセルトリ細胞のごく軽度な空胞化が見られた。NOAEL は 50 ppm (3.7 mg/kg/day) であると判断された。

マーモセットに DEHP を 0、100、500、2500 mg/kg/day で 13 週間強制経口投与した結果、脾臓の用量相関的な減少が雄の全投与群で見られ、LOAEL は 100 mg/kg/day であった。

Wistar ラットに 0、3、10、30、100、300、600、900 mg/kg/day の用量で、妊娠 7 日から 16 日まで強制経口投与した試験では、10 mg/kg/day 以上で AGD の短縮、乳頭遺残数の増加、副腎重量の低値が認められ、NOAEL は 3 mg/kg/day であった。

以上から最も低い NOAEL 3 mg/kg/day に UF100 を適用して saRfD は 30 µg/kg/day と算出された。なお、この値は食品安全委員会が同一試験から導出した TDI と同値である。

#### ジクロロアセトニトリル

SD ラット雌雄に 0、8、33、65 mg/kg/day の用量で 90 日間強制経口投与した結果、8 mg/kg/day 以上の雌雄で肝相対重量増加が認められ、LOAEL は 8 mg/kg/day と判断された。

妊娠 Long-Evans ラットに 0、5、15、25、45 mg/kg/day の用量で妊娠 6-18 日に強制経口投与した結果、25 mg/kg/day 以上で死亡、着床後胚損失、胚吸収の増加、軟組織の奇形頻度の増加、45 mg/kg/day で一腹当たりの生存児数減少、胎児体重減少、体長減少が認められ生殖発生毒性の NOAEL は 15 mg/kg/day であった。なお、この試験はハロゲン化アセトニトリルの発生毒性及び催奇形性を増強することが報告されているトリカプリリンを媒体として用いており、試験結果の信頼性が低いとされている。

以上の毒性情報より、LOAEL 8 mg/kg/day に UF 300 (3 : LOAEL 使用) を用い saRfD は 27 µg/kg/day と算出された。

#### 抱水クロラール

SD ラットにおける抱水クロラール(0、0.2、2、20、200 ppm)の 13 週間飲水投与試験では、200 ppm でアセトアルデヒド脱水素酵素 (ALDH) レベルの低下及びアニリン水酸化酵素 (AH) の増加が認められ NOAEL を 20 ppm (雄 : 1.89 mg/kg/day、雌 : 2.53 mg/kg/day) と判断した。

別の SD ラットにおける抱水クロラール(300、

600、1200、2400 mg/L) の 90 日間飲水投与試験について、WHO は、肝毒性の影響と血清中酵素の変化に基づき、LOAEL を 1200 mg/L (96 mg/kg/day)、NOAEL を 600 mg/L (48 mg/kg/day) としている。

一方、CD-1 マウスにおける抱水クロラール (0、70、700 mg/L) の 90 日間飲水投与試験で、雄では両投与群とも肝腫大が認められ LOAEL は 70 mg/L (16 mg/kg/day) であった。

また CD-1 の飲水投与による生殖発生毒性試験 (0、60、600 mg/L) において、高用量群の児に記憶力の低下が認められ、神経発達毒性影響を根拠に NOAEL は 60 mg/L (21.3 mg/kg/day) とされている。

以上より、最も低い NOAEL 1.89 mg/kg/day を POD として UF100 を用いて saRfD は 18.9 µg/kg/day となった。

### 1,1-ジクロロエチレン

B6C3F1 マウス (10 匹/性/群) に 0、5、15、40、100、250 mg/kg/day の用量で 5 回/週、13 週間強制経口投与した結果、100 mg/kg/day 以上の雌雄で死亡及び肝小葉中心性壊死が見られた。NOAEL は 40 mg/kg/day (週 7 日換算: 28.6 mg/kg/day) であった。

F344 ラット (10 匹/性/群) に 0、5、15、40、100、250 mg/kg/day で 5 回/週、13 週間強制経口投与した試験では、100 mg/kg/day 以上の雌雄で肝細胞肥大が見られ、NOAEL は 40 mg/kg/day (週 7 日換算: 28.6 mg/kg/day) であった。

この値を POD として UF100 で除した結果、saRfD は 286 µg/kg/day と算出された。

次に算出した 8 項目の saRfD に成人及び小児の体重と飲水量を適用し参照値の算出を行った。表 15 に成人及び小児の参照値と、各項目の目標値との比較結果を示した。

設定した saRfD を TDI 又は VSD と比較した結果、DEHP で、比率は 1 (TDI と saRfD が同

値) であった。これは、DEHP のエンドポイントが発生毒性であり、毒性の発現のリスクが慢性・亜急性の別に因らないためである。このような項目については、水道水質汚染が生じた際に注意が必要となる。また、亜急性参照量は目標値に対して概ね 4 - 30 倍高い値として設定できたが、MTBE と 1,1,1-トリクロロエタンについては、数百倍から千倍近い高い値となった。この理由は、これらの物質が慢性毒性影響に基づく値より一桁程度低い臭味の閾値を元に目標値が設定されていることによるものであった。しかし、ヒトが飲料水中に混入している MTBE の味や臭いを感じる閾値は 20-40 µg/L という値が概算されており、閾値の 1000 倍相当の成人の参照値 20 mg/L という値が現実的に許容出来るのかと言う点を考えると、臭味が目標値の設定根拠となっている項目の扱いについて更なる検討が必要であると考えられた。

一方、トルエン、ジクロロアセトニトリル、抱水クロラール、1,1-ジクロロエチレンの参照値は、小児及び成人を対象としたいずれの値も目標値の 10 倍以上高い値となっているため、これらの項目については、一時的に飲料水中濃度が目標値を超えた場合でも、本研究で提案する参照値を超えない濃度であれば健康影響の懸念は低いと考えられるため、給水停止までの措置は必要ないとの判断ができるだろう。

水道水は、飲用、炊事、洗濯、風呂、水洗便所のみならず、空調用水、冷却水、消防用水等の都市活動や医療活動に使用されており、都市機能や公衆衛生の維持に不可欠なものである。従って、事故等で汚染物質濃度が目標値を超えた場合でも、その濃度や推測される曝露期間等を考慮して慎重に対応する必要がある。本研究では、このような一時的な水質汚染の際に参考すべき値として成人及び小児を対象とした参照値を設定した。事故時には、緊急の判断が必要となることから、本研究で設定した値は非常

に有用と考えられる。本研究では、主に食品安全委員会の評価書の情報を基に安全性評価を行っており、評価書公表時以降の新しい情報の検索は行っていない。今後は、評価書公表時以降の新しい情報を入手した上で、値の適切性を再評価する必要がある。

## 5. WHO ガイドラインの逐次改定やリスク管理上関心の高い物質の毒性情報整理

経口経路によるニッケルの毒性情報について、最近の評価を調査した結果、以下の情報が得られた。

### ● WHO 飲料水質ガイドライン (2011)

ニッケル皮膚炎女性に対し空腹状態で飲水投与を行った試験において、手の湿疹の悪化及び斑点状丘疹の拡大が認められた結果を基に LOAEL を  $12 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  とし、UF は設定せず、ニッケルの TDI を  $12 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  とした。飲水による寄与率を 20% とし、ガイドライン値は  $0.07 \text{ mg}/\text{L}$  ( $70 \mu\text{g}/\text{L}$ ) と定められた。

### ● 食品安全委員会 (2012)

上述同様のニッケル皮膚炎女性に対し空腹状態で飲水投与を行った試験の結果を基に LOAEL を  $12 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  とし、UF3 (NOAEL に近い LOAEL を使用) で除し、ニッケルの TDI を  $4 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  とした。

### ● EFSA (2015)

硫酸ニッケル六水和物のラットを用いた 2 世代生殖毒性試験において、F1 世代の着床後胚損失を伴う母動物の増加がみられたことを基に、BMDL<sub>10</sub> を  $0.28 \text{ mg}/\text{kg}/\text{day}$  とし、UF 100 (種差: 10、個体差: 10) で除しニッケルの TDI を  $2.8 \mu\text{g Ni}/\text{kg}/\text{day}$  とした。現時点でのヒトの長期的なニッケル摂取量を考慮すると、いずれの年齢層においても懸念があると結論している。更に、急性影響としては、ヒトの飲水における皮膚炎の BMDL<sub>10</sub> ( $1.1 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ ) を用い MOE 評価を行った結果、ニッケルに感受性の

高いヒトについて懸念があると結論している。

食品安全委員会、EFSA の定めた経口経路によるニッケルの TDI を用い、成人の体重を 50 kg、寄与率を 20% とした場合の水質目標値は以下の通りと算出できる。

- ・ 食品安全委員会 :  $20 \mu\text{g}/\text{L}$  (TDI:  $4 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ )
- ・ EFSA :  $14 \mu\text{g}/\text{L}$  (TDI:  $2.8 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ )

ニッケルの経口経路の毒性評価について近年の評価状況を調査した結果では、ヒトのニッケルアレルギー患者のアレルギー反応を基に許容値等が設定される方向にあることが示された。

Jansen's(2006) のレビューレポートと日本で報告されているケースレポートによれば、ニッケルアレルギー患者に対する診断報告において、ニッケル経口投与による全身症状は、0.3 から  $10 \text{ mg}/\text{day}$  の投与量で起きている。また、低用量暴露では用量依存性のあることも示唆されている。概ね  $0.3 \text{ mg}/\text{day}$  が LOAEL であると考えられる。EFSA では、低用量反応性についてベンチマークドース解析を行っている。最も低用量暴露での用量依存性が示されている Jansen ら (2003) のレポートに基づいて BMDL<sub>10</sub> を求めると  $0.08 \text{ mg}/\text{day}$  と算出される (EFSA 2015)

この報告における患者の通常の食事中からニッケル摂取量は明らかではないが、ニッケル投与による全身症状は、この通常のニッケル暴露量に追加暴露されたニッケルによって引き起こされている。それ故、この報告に基づいた BMDL から健康影響評価値を求める際には寄与率を考慮に入れる必要はないと考えられる。したがって、BMDL<sub>10</sub> である  $0.08 \text{ mg}/\text{day}$  に基づいて、デフォルトの 1 日飲料水量を適用すると  $40 \mu\text{g}/\text{L}$  が、短期間のニッケル暴露に対する健康影響評価値として見積もることができる。

因みに、40 µg/L という濃度は、1 日飲料水量に基づいた一日平均濃度であるが、BMDL10 を算出した Jansen ら (2003) のレポートは患者への単回投与であることから、もっと高い濃度を摂取した際の評価である。

以上のことを考慮すると、平均値としての 40 µg/L は、ニッケルアレルギー患者が通常飲用する場合において、全身性アレルギー症状を起こす可能性は低いと考えられる。

また、動物実験結果に基づいた、TDI 設定に関しては、ラットを用いた 2 世代試験における肺致死数に増加が最も感受性の高いエンドポイントであると考えられる。このエンドポイントに対する BMDL10 は 0.28 mg/kg/day と算出されている (EFSA 2015) 通常の不確実係数 (100) を適用すると、TDI は 2.8 µg/kg/day となる。一方 EFSA (2015) の評価では、ニッケルの最近の摂取量は、2-3µg/kg/day から 95 パーセントイル値では 13-14 ug/kg/day になることが示されており、すでにこの TDI を超えた暴露実態があることになっている。

しかし、ニッケルの飲料水経由の摂取と食事経由の摂取では、その吸収率に大きな違いのあることが知られている。飲料水経由では 27 ± 17 % であり、食事経由では 0.7 ± 0.4 % であるとされており、飲料水の最小値と食事経由の臍立ちを比較すると、少なくとも 10 倍以上の違いのあることが示されている。

ところで、この TDI を算出したラットの試験は、ニッケルを水に溶かして経口投与している。ヒトとラットの飲水経由のニッケルの吸収率に違いのないことを考慮すると、この実験から求めた TDI は飲水経由による暴露に対応した TDI とすることが相応しく、食餌由来の TDI とすると過剰評価となる可能性がある。

EFSA の評価で得られた高用量暴露群の一日摂取量が 13-14 ug/kg/day であるが、そのほとんどが食品由来の暴露であることより上記の吸収率の違いを考慮すると飲水摂取では、1.4 ug/kg/day に相当する暴露量であると考えられる。この暴露量は、動物実験から求めた TDI の約 50% に相当する。この暴露評価に基づき、TDI の寄与率を 50% に対して、体重 60 kg のヒトが一日 2 L の飲料水を摂取すると仮定すると、健康影響評価値として [1.4 ug/kg/day X 60 kg / 2L =] 40 ug/L を導出することが可能となる。

一方、この評価は健康影響評価値を TDI の上限まで許容した場合の評価なので、安全側の評価として、WHO がデフォルト値として用いている寄与率 20% を準用して、16 (= 20) ug/L を健康影響評価値として設定できるかもしれない。

以上の検討より、20-40 ug/L のニッケル濃度は、アレルギー患者を対象とした急性の全身症状と一般の人に対する慢性的な健康影響を防ぐという両方の目的に対応できる値であると考えられた。

#### < 参考文献 >

- EFSA (European Food Safety Authority). (2015) Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of nickel in food and drinking water. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Eur Food Saf Auth J 13(2): 4002.
- Jensen CS, Menné T, Johansen JD. (2006) Systemic contact dermatitis after oral exposure to nickel: A review with a modified meta-analysis. Contact Dermat 54(2): 79-86.
- Jensen CS, Menné T, Lisby S, Kristiansen J, Veien N. (2003) Experimental systemic contact dermatitis from nickel: A dose-response

study. *Contact Dermat* 49: 124-132.

#### D. 結論

1. ChE により ACh から生成される Ch を LC/MS/MS にて定量することにより試料の ChE 活性を定量する ChE 活性阻害性試験（質量分析法）を開発した。
2. 本研究にて構築した質量分析法により、従来の吸光度法でのフェンチオンオキシンスルホン体の ChE 活性阻害性の検出下限値を 1/15 程度まで低減することができた。
3. TCE については、TCM の 3.75 倍、BDCM の 4.46 倍の揮発量となることが、PCE は TCM の 11.14 倍、BDCM の 13.05 倍の揮発量になっていることが示唆された。また、シャワーヘッドからの散水による空气中濃度への影響はなかった。
4. 亜急性評価値に関する研究では、水質管理目標設置項目の 8 項目に関する saRfD ( $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ ) を定めた。更に、saRfD を用いて短期的な水道水質汚染が生じた際に参考とすべき参照値 ( $\text{mg}/\text{L}$ ) の算出を試み、成人及び小児を対象とした参照値を提案することができた。
5. WHO の逐次改正で検討中のニッケルについて、最近の国際的評価についてその情報を収集した。近年は、動物実験における慢性影響ではなく、ヒトのニッケルアレルギー患者のアレルギー反応を基に許容値等が設定される方向であるが、にあることが示された。この値を用いて飲料水の目標値を設定するには、アレルギー反応か単回暴露による濃度に依存した急性影響であることや、飲水経路の暴露と食事経路の暴露で体内吸収率が著しく異なることを考慮に入れる必要があると考えられた。

#### E. 参考文献

Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V. Jr. and Featherstone, R. M. (1961) A new and rapid

colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, *Biochemical Pharmacology*, **7**, 88–95.

Mioa, Y., He, N. and Zhu, J. (2010) History and new developments of assays for cholinesterase activity and inhibition, *Chemical Reviews*, **110**, 5216–5234.

Tahara, M., Kubota, R., Nakazawa, H., Tokunaga, H. and Nishimura, T. (2005) Use of Cholinesterase activity as an indicator for the effects of combinations of organophosphorus pesticides in water from environmental sources, *Water Research*, **39**, 5112–5118.

Tahara, M., Kubota, R., Nakazawa, H., Tokunaga, H. and Nishimura, T. (2008) The behaviour and cholinesterase inhibitory activity of fenthion and its products by light and chlorination, *Journal of Water Supply: Research and Technology–AQUA*, **57**(3), 143–151.

Itoh, S., & Asami, M. (2010). Study on disinfection byproducts. In Y. Matsui (Ed.). (pp. 53-73). Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan.

Thomas, M. E. (1987). *Human Exposure to Volatile Organic Compounds in Household Tap Water: The Indoor Inhalation Pathway*. Environ. Sci. Technol.

USEPA. (2000). *Methodology for deriving ambient water quality criteria for the protection of human health*. United States Environmental Protection Agency. Retrieved 28, 2013, from [water.epa.gov/scitech/swguidance/standards/criteria/health/methodology/index.cfm](http://water.epa.gov/scitech/swguidance/standards/criteria/health/methodology/index.cfm)

環境省. (2003). 化学物質の環境リスク評価 第 2 巻. 参照日: 2016 年 12 月 21 日, 参照先:

<http://www.env.go.jp/chemi/report/h15-01/index.html>

環境省. (2009). 化学物質の環境リスク評価 第7巻. 参照日: 2016年12月22日, 参照先:

<http://www.env.go.jp/chemi/report/h21-01/index.html>

環境省. (2011). 有害大気汚染物質測定方法マニュアル. 参照日: 2015年5月17日, 参照先:

<http://www.env.go.jp/air/osen/manual2/>

厚生労働省. (2014). 国民健康・栄養調査. 厚生労働省.

総務省統計局. (2014). 日本の統計 2014. 総務省統計局.

## F. 健康危機情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Hirata-Koizumi M, Ise R, Kato H, Matsuyama T, Nishimaki-Mogami T, Takahashi M, Ono A, Ema M, Hirose A. Transcriptome analyses demonstrate that Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) activity of an ultraviolet absorber, 2-(2'-hydroxy-3',5'-di-tert-butylphenyl)benzotriazole, as possible mechanism of their toxicity and the gender differences. *The Journal of Toxicological Sciences* 41 : 693-700 (2016)

### 2. 学会発表

Yamada T, Hirata-Koizumi M, Ise R, Kato H, Matsuyama T, Nishimaki-Mogami T, Takahashi M, Kawamura T, Ema M, Hirose A, Ono A. Transcriptome analyses of an ultraviolet absorber, 2-(2'-hydroxy-3',5'-di-

tert-butylphenyl)benzotriazole in rats.

DIOXIN2016 (Florence, August, 2016)

広瀬明彦、平田睦子、小野敦、山田隆志、山口治子、西村哲治。水道水汚染物質の亜急性評価値に関する研究 平成28年度全国会議(水道研究発表会)(京都市、平成28.11)

## H. 知的財産

権の出願・登録状況(予定も含む)

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

**表 1 本研究の対象物質**

揮発性有機化合物 (VOC)	トリクロロエチレン (TCE) テトラクロロエチレン (PCE)
-------------------	-------------------------------------

**表 2 実験条件**

No.	シャワー(分)	お風呂(分)	換気(m <sup>3</sup> /h)	THMs
1	15	お湯無し	88	添加無し
2	10	お湯無し	88	添加無し
3	15	お湯無し	0	添加無し
4	10	お湯無し	0	添加無し
5	15	0	88	添加無し
6	10	0	88	添加無し
7	10	0	0	添加無し
8	15	0	0	添加無し
9	15	お湯無し	88	添加無し
10	10	お湯無し	88	添加無し
11	10	お湯無し	0	添加無し
12	15	お湯無し	0	添加無し
13	10	0	88	添加無し
14	15	0	88	添加無し
15	10	0	0	添加無し
16	15	0	0	添加無し
17	10	10	88	添加無し
18	10	15	88	添加無し
19	10	10	0	添加無し
20	10	15	0	添加無し
21	10	10	121	添加無し
22	15	お湯無し	121	添加無し
23	15	0	121	添加無し
24	10	お湯無し	0	添加あり
25	15	お湯無し	0	添加あり
26	10	お湯無し	88	添加あり
27	15	お湯無し	88	添加あり
28	10	0	0	添加あり
29	15	0	0	添加あり
30	10	0	88	添加あり
31	15	0	88	添加あり
32	10	お湯無し	0	添加無し
33	10	お湯無し	88	添加無し
34	10	0	0	添加無し
35	10	0	88	添加無し

換気量：なし または 24h 換気 88 m<sup>3</sup>/h または 換気 121 m<sup>3</sup>/h

浴槽のふた：あり または なし

シャワー時間：10 分または 15 分

入浴時間：0 分または 10 分または 15 分

溶液の添加：対象物質と TBM または 対象物質と THMs

(2-1-2 で作成した溶液を浴槽のお湯 200 L に対し 200 mL 添加した。)

表 3 各物質の溶解度と添加量

物質名	TCE	PCE	TCM	BDCM	DBCM	TBM
溶解度( g/100 mL )	0.128 <sup>a</sup>	0.015 <sup>a</sup>	0.771 <sup>a</sup>	0.303 <sup>b</sup>	0.270 <sup>b</sup>	0.310 <sup>a</sup>
温度( □ )	25	25	25	30	20	25
添加量(μL)	34	45	277	28	175	57

<sup>a</sup>[環境省, 2003]

<sup>b</sup>[環境省, 2009]

表 4 各物質の添加量

物質名	TCE	PCE	TCM	BDCM	DBCM	TBM
添加量( μL )	4000	27440	147.4	177.6	452	726

表 5 水中濃度メソッド

P&T		
パラメーター	値	
トランスファーライン温度	180 □	
パージレディ温度	35 □	
パージ時間	10min	
パージ温度	35 □	
パージ流量	40 ml/min	
ドライパージ時間	5min	
ドライパージ温度	35 □	
デゾーブ温度	190 □	
デゾーブ時間	2.5min	
デゾーブ流量	300ml/min	
ベイク時間	15min	
ベイク温度	220 □	
MCS ベイク温度	45 □	
ベイク流量	80ml/min	
ベイクリンス数	3	
キャリアガス	窒素とヘリウム	
GC		
オープン		
レート( □/min )	値( □ )	ホールド時間( min )
	40	1
3	145	0
20	195	3
インターフェイス温度	200 □	
MS		
イオン源温度	200 □	
溶媒溶出時間	1 分	

**表 6 空气中濃度測定メソッド**

GC		
注入口		
ヒーター	200 □	
圧力	9.5455 psi	
セプタムパージ	3 mL/min	
ガスセーバー	20 mL/min	
モード	スプリットレス	
オープン		
レート(□/min)	値(□)	ホールド時間(min)
	40	1.575
35.555	220	1.125
AUX ヒーター	220 □	
MS		
イオン源温度	230 □	
四字極温度	150 □	
溶媒溶出時間	1.5 分	

**表 7 添加溶液の濃度**

	TCM	TCE	BDCM	PCE
TCE1	0.00	1.82	0.00	1.99
TCE2	0.00	1.79	0.00	2.13
TCE3	0.00	2.80	0.00	2.50
TCM1	2.23	0.17	1.68	0.14

**表 8 浴室外空気濃度**

	TCM	TCE	BDCM	PCE
室外濃度[ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ]	0.82	1.06	0.60	1.01

**表 9 浴室內空氣濃度**

室內濃度[ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ]	TCM	TCE	BDCM	PCE
1	35.88	40.81	24.14	41.56
2	10.29	9.59	4.64	10.24
3	8.90	9.94	5.39	11.16
4	8.64	6.17	3.50	6.74
5	11.09	12.37	7.88	12.66
6	10.07	9.54	4.89	11.19
7	8.55	7.16	3.86	8.63
8	8.47	8.54	5.03	9.25
9	24.79	24.82	17.19	28.13
10	6.97	6.89	4.27	8.27
11	11.84	9.37	5.88	12.45
12	14.96	11.57	7.17	14.52
13	13.07	10.31	6.64	13.62
14	15.90	16.55	11.33	20.86
15	10.41	7.94	4.81	10.22
16	10.07	9.60	5.92	11.95
17	12.15	20.54	13.58	24.76
18	13.20	20.49	13.47	23.79
19	8.47	12.82	9.16	15.14
20	9.15	13.60	9.58	15.91
21	1.60	4.63	2.29	5.78
22	3.14	5.40	4.84	7.48
23	12.54	7.10	4.61	9.05
24	14.83	7.03	9.03	10.80
25	18.74	10.52	12.52	12.80
26	14.48	8.58	7.60	4.55
27	18.71	12.40	14.58	7.67
28	30.38	14.99	10.29	13.70
29	22.64	16.28	12.94	13.70
30	29.82	15.53	14.19	13.16
31	35.57	18.32	15.07	15.68
32	50.99	35.45	17.72	29.40
33	57.69	43.54	18.28	34.02
34	51.80	42.89	20.05	38.72
35	49.11	42.68	19.59	37.41

**表 10 水中濃度**

水中濃度[μg/L]	TCM	TCE	BDCM	PCE
1	13.09	2.90	6.92	1.46
2	12.80	2.94	6.78	1.53
3	12.39	2.99	6.72	1.49
4	11.81	2.50	6.49	1.25
5	13.39	2.67	7.10	1.40
6	13.37	2.69	7.05	1.38
7	11.74	2.50	6.44	1.21
8	5.73	2.58	3.90	1.30
9	13.44	2.43	7.20	1.28
10	13.86	2.49	7.44	1.30
11	12.88	2.44	7.09	1.38
12	14.04	2.60	7.57	1.48
13	13.52	2.36	7.46	1.35
14	11.23	2.32	6.63	1.24
15	13.93	2.54	7.76	1.41
16	12.61	2.31	7.46	1.33
17	23.46	5.21	13.59	2.30
18	23.46	5.21	13.59	2.30
19	22.98	5.20	14.24	2.32
20	22.98	5.20	14.24	2.32
21	10.82	2.13	6.08	0.97
22	9.89	1.87	5.79	0.86
23	9.79	1.82	5.60	0.75
24	12.58	1.79	7.47	0.77
25	12.58	1.79	7.47	0.77
26	14.10	2.15	8.25	0.19
27	14.10	2.15	8.25	0.19
28	15.36	3.09	8.75	0.88
29	15.36	3.09	8.75	0.88
30	14.53	2.49	8.21	0.64
31	14.53	2.49	8.21	0.64
32	12.52	2.49	6.56	0.66
33	12.06	2.75	6.42	0.70
34	13.76	2.75	7.07	0.79
35	14.11	2.89	7.17	0.82

**表 11 捕集管に吸着した水分量**

No.	水分量(mg)
1	105.97
2	97.05
3	60.73
4	142.66
5	222.01
6	135.30
7	29.69
8	55.24
9	136.86
10	10.10
11	57.15
12	42.98
13	76.81
14	44.26
15	7.09
16	112.04
17	135.39
18	87.92
19	106.35
20	85.57
21	88.49
22	86.03
23	68.32
24	57.89
25	101.04
26	93.18
27	82.92
28	99.91
29	55.88
30	81.00
31	152.31
32	121.75
33	151.01
34	131.29
35	166.71

**表 12 水分を考慮した空气中濃度**

室内濃度[ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ]	TCM	TCE	BDCM	PCE
1	35.70	40.77	24.04	41.54
2	10.04	9.53	4.51	10.21
3	8.80	9.92	5.34	11.15
4	8.30	6.10	3.31	6.70
5	11.05	12.36	7.86	12.66
6	9.71	9.46	4.69	11.15
7	8.48	7.15	3.82	8.62
8	8.43	8.52	5.00	9.24
9	24.42	24.75	16.99	28.09
10	6.95	6.89	4.26	8.27
11	11.70	9.34	5.80	12.44
12	14.84	11.54	7.10	14.51
13	12.86	10.28	6.53	13.59
14	15.84	16.54	11.29	20.85
15	10.39	7.93	4.80	10.22
16	9.88	9.57	5.81	11.93
17	11.83	20.47	13.39	24.73
18	13.04	20.45	13.37	23.78
19	8.22	12.77	9.01	15.12
20	8.99	13.57	9.48	15.90
21	1.51	4.61	2.24	5.77
22	3.03	5.38	4.78	7.47
23	12.45	7.08	4.56	9.04
24	14.69	7.01	8.94	10.79
25	18.57	10.49	12.42	12.79
26	14.22	8.54	7.45	4.54
27	18.56	12.38	14.49	7.67
28	30.07	14.93	10.11	13.68
29	22.52	16.26	12.88	13.69
30	29.59	15.49	14.06	13.15
31	35.27	18.27	14.90	15.66
32	50.69	35.39	17.56	29.38
33	57.33	43.46	18.09	34.00
34	51.44	42.82	19.86	38.70
35	48.64	42.58	19.35	37.38

**表 13 水分考慮の有無**

	TCM	TCE	BDCM	PCE
水分無視[ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ]	17.54	14.83	9.55	15.30
水分考慮[ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ]	17.35	14.80	9.45	15.28
差[%]	1.08	0.25	1.10	0.10

表 14 Subacute Reference Dose(SaRfD)設定値及び TDI 又は VSD との比較

項目	試験法 (エンドポイント)	POD (mg/kg/day)	UF	TDI・VSD (µg/kg/day)	試験法 (エンドポイント)	POD (mg/kg/day)	UF	saRfD (µg/kg/day)	比率*		
1,2-ジクロロエタン	ラット慢性経口投与 (扁平上皮がん、血管肉腫 及び乳腺がん)	VSD(10 <sup>-5</sup> 発がんリスク)		0.16	同左	VSD10 <sup>-5</sup> 発がんリスク の 10 倍		1.6	10		
トルエン	ラット 13 週間経口投与 (神経影響)	NOAEL	446	3000	149	同左	NOAEL	446	300	1490	10
メチル-t-ブチルエーテル (MTBE)	ラット 2 年間経口投与 (白血病、リンパ腫など)	NOAEL	143	1000	143	ラット 28 日間経口投与 (活動低下、腎重量増加)	NOAEL	64	100	640	4.5
1,1,1-トリクロロエタン	ラット 13 週間混餌投与 (腎影響)	NOAEL	600	1000	600	同左	NOAEL	600	100	6000	10
フタル酸ジ(2-エチルヘキシル) (DEHP)	ラット生殖・発生経口投与 (出生児雄の AGD 短縮等)	NOAEL	3	100	30	同左	NOAEL	3	100	30	1
ジクロロアセトニトリル	ラット 90 日間経口投与 (肝臓重量増加)	LOAEL	8	3000	2.7	同左	LOAEL	8	300	27	10
抱水クロラール	ラット 2 年間飲水投与 (肝がん・腺腫)	LOAEL	13.5	3000	4.5	ラット 90 日飲水投与 (肝酵素変化)	NOAEL	1.89	100	18.9	4.2
1,1-ジクロロエチレン	ラット 2 年間飲水投与 (肝脂肪変性)	BMDL <sub>10</sub>	4.6	100	46	ラット 13 週間経口投与 (肝細胞肥大)	NOAEL	28.6	100	286	6.2

\* : saRfD を TDI 又は VSD で割った値

表 15 成人及び小児の参照値及び目標値との比較

項目	saRfD ( $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ )	目標値 ( $\text{mg}/\text{L}$ )	成人参照値 ( $\text{mg}/\text{L}$ )	比率 (参照値/目標値)	小児参照値 ( $\text{mg}/\text{L}$ )	比率 (参照値/目標値)
1,2-ジクロロエタン	1.6	0.004	0.04	10	0.02	5
トルエン	1490	0.4	40	100	10	25
メチル-t-ブチルエーテル (MTBE)	640	0.02*	20	1000	6	300
1,1,1-トリクロロエタン	6000	0.3*	200	667	60	200
フタル酸ジ(2-エチルヘキシル) (DEHP)	30	0.08	0.8	10	0.3	3.75
ジクロロアセトニトリル	27	0.01	0.7	70	0.3	30
抱水クロラール	18.9	0.02	0.5	25	0.2	10
1,1-ジクロロエチレン	286	0.1	7	70	3	30

\*:目標値は臭味で設定

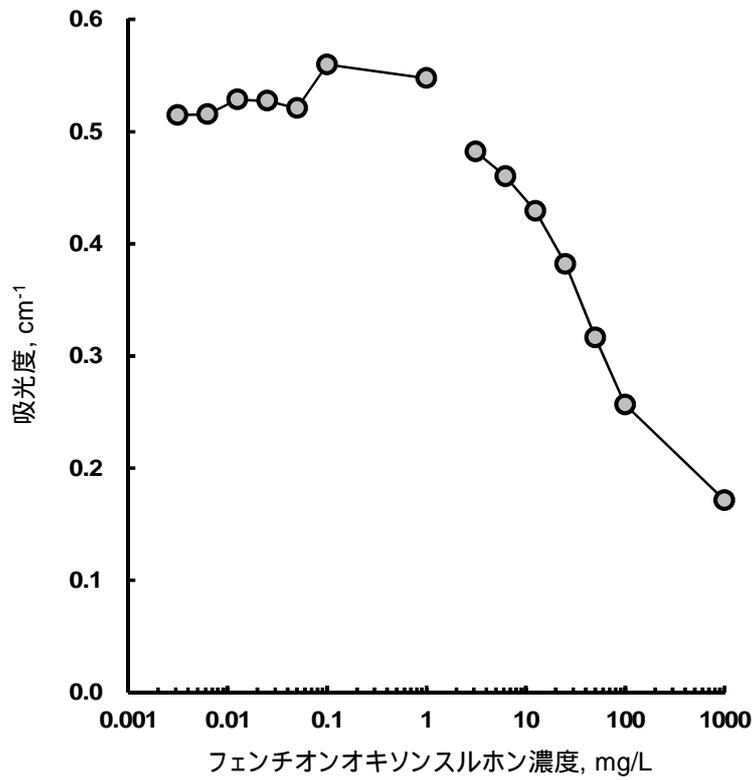


図 1. 従来の吸光度法によるChE活性阻害試験結果

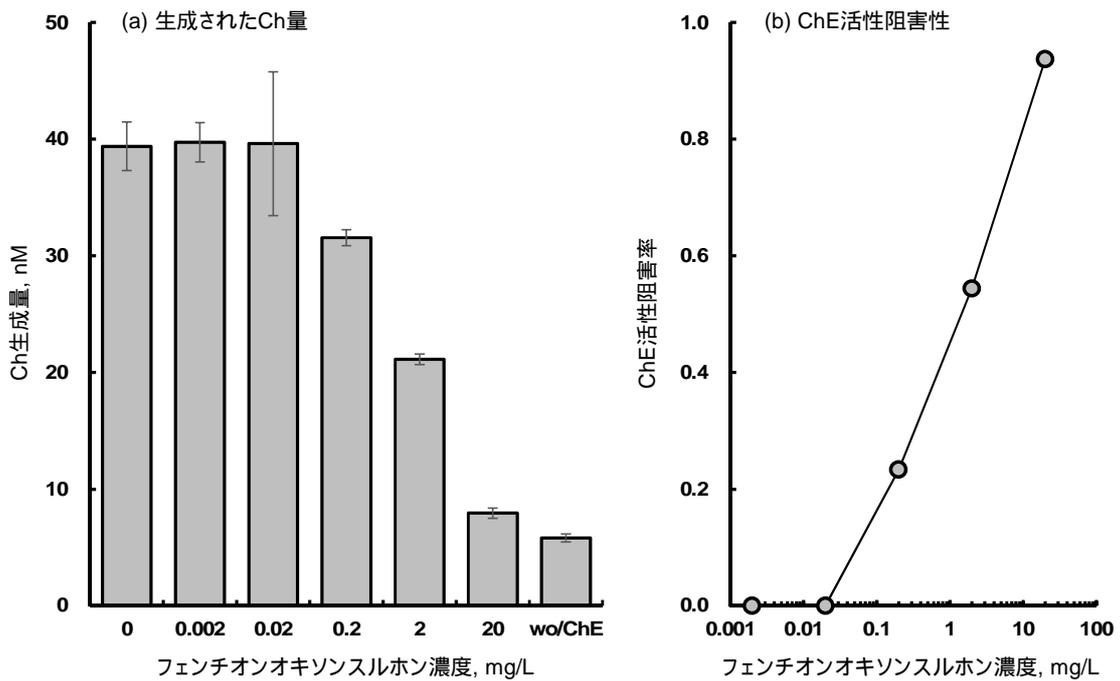


図 2. 本研究で開発した質量分析法によるChE活性阻害試験結果

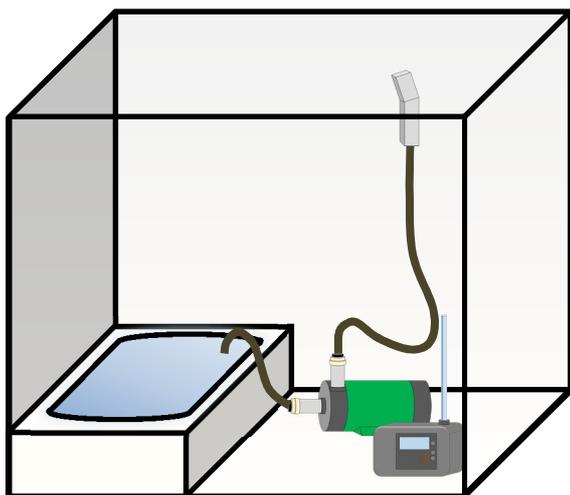


図 3 浴室

浴室体積：2.0 × 1.6 × 2.2 m<sup>3</sup>

浴槽体積：0.2 m<sup>3</sup> (70%水位時)

シャワー流量：7.4 L/min または 14 L/min または 19.4 L/min

捕集管：カーボンビーズアクティブ・スタンダード型（柴田科学）

空気ポンプ流速：0.5 L/min

除湿管：インライントラップ（柴田科学）

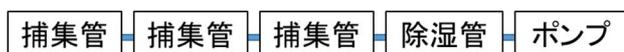


図 4 試料採取装置の構造

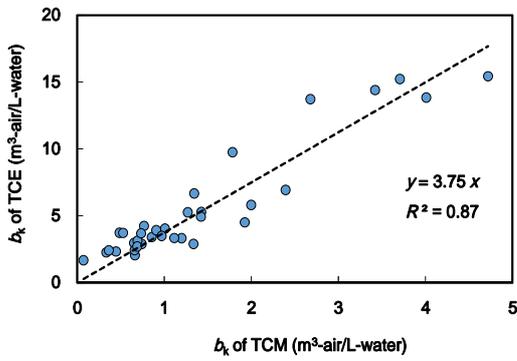


図5 クロロホルムとトリクロロエチレンの揮発量比較

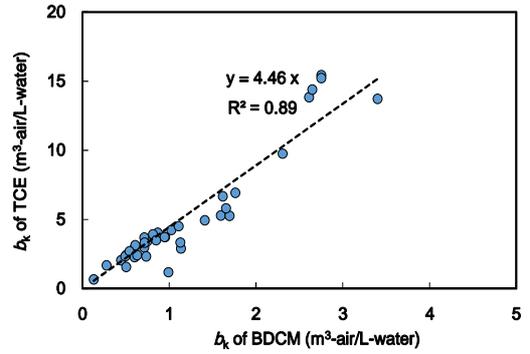


図6 プロモジクロロメタンとトリクロロエチレンの揮発量比較

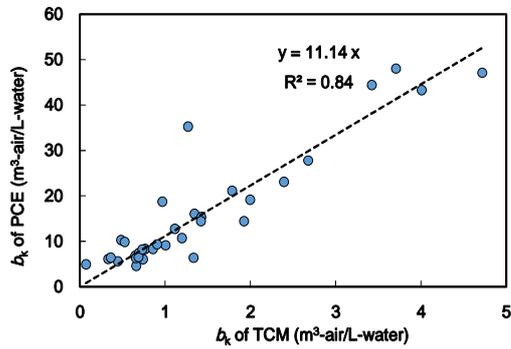


図7 クロロホルムとテトラクロロエチレンの揮発量比較

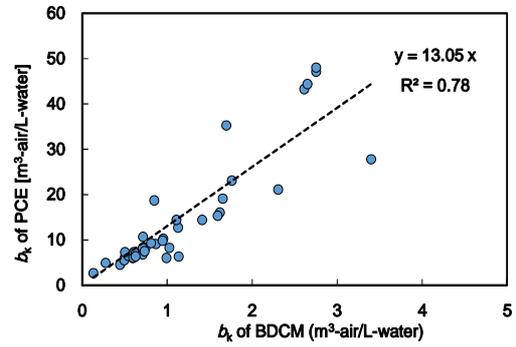


図8 プロモジクロロメタンとテトラクロロエチレンの揮発量比較

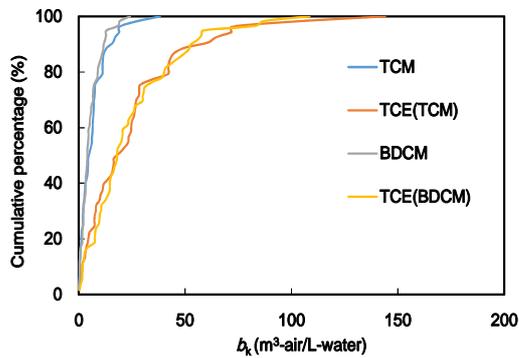


図9 作成したトリクロロエチレンの bk 値

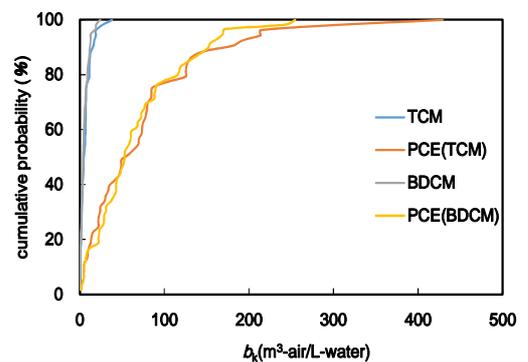


図10 作成したテトラクロロエチレンの bk 値分

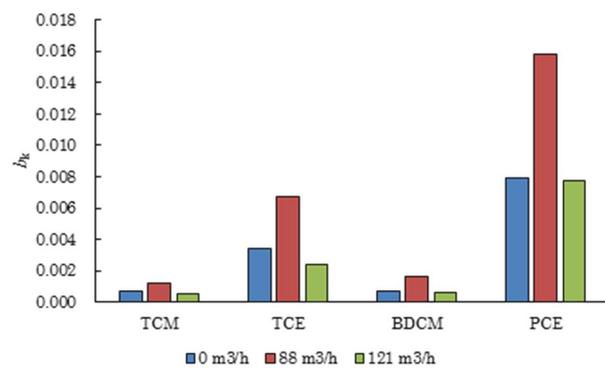


図 11 換気量による  $b_k$  値の違い