

厚生労働科学研究費補助金 (化学物質リスク研究事業)  
総括研究報告書

気道障害性を指標とする室内環境化学物質のリスク評価手法の開発に関する研究

研究代表者 神野 透人 名城大学薬学部 教授

研究要旨: 現在、厚生労働省のシックハウス(室内空気汚染)問題に関する検討会において、「室内濃度指針値見直しスキーム」にしたがって室内濃度指針値の改定あるいは対象化合物の追加に関する議論が進められている。そのスキームでは、全国実態調査等に基づく初期曝露評価に続いて、既存のハザード情報を活用して初期リスク評価を行うこととされている。この初期リスク評価は、その評価結果に基づいて詳細曝露評価および詳細リスク評価を実施するか否かが判断される重要なステップである。しかし、多くの室内環境化学物質では、初期リスク評価に資するハザード情報が比較的限られていることから、この段階が指針値策定/改定作業において律速となることが危惧されている。このような背景から、本研究では、室内濃度指針値策定に必要なハザード情報の網羅的な収集、ならびに不足情報の補完方法の確立を目的として、1) 気道内挙動の *in vitro/in silico* 予測、2) 気道障害性の *in vitro* 評価、3) 気道障害性にかかる情報収集および優先順位判定、および 4) 定量的 VOC 放散データベースの構築の 4 つのサブテーマを設定して研究を実施した。研究課題 1)では、非定常 PBPK-CFD-CSP モデルを開発し、汚染物質の気道内での沈着から粘膜および気道上皮を介して体内へ向かう動態をリアルタイムに非定常解析する一連の解析モデルを構築した。また、異物代謝酵素による 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (TXIB<sup>TM</sup>, TMPD-DIB と略す)/2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol monoisobutyrate (Texanol<sup>TM</sup>, TMPD-MIB と略す)の代謝について速度論的な解析を行った。研究課題 2)では、作用機序の異なる気道刺激性化合物の相互作用について検討し、TRPA1 の相乗的な活性化が生じることを明らかとした。また、感作性スクリーニング試験としての DPRA をアルデヒド類、防腐剤および香料など 33 物質に適用した。

研究課題 3)では、気道、皮膚および眼刺激性の関連について解析を行うとともに、ワークフロー型の機械学習および予測モデル作成ツールである KNIME Analytics Platform を用いて刺激性の予測モデルを開発した。また、網羅的に収集した有害性情報をもとに、脂肪族飽和炭化水素類、脂肪族飽和アルデヒド類、OIT、CI-MIT、トリメチルベンゼン、メチルシクロヘキサン、メチルイソブチルケトン、リナロールの RfC を導出し、初期リスク評価を行った。研究課題 4)では、ウィンドウトリートメント製品を対象として放散試験を実施し、これらの製品が室内環境において 2-Ethyl-1-hexanol、TMPD-MIB および TMPD-DIB の放散源となり得ることを明らかとした。本研究のこれらの成果の一部は、シックハウス検討会において既に有効に活用されている。今後、本研究で得られた知見および要素技術を活用して要検討化合物のリストを作成し、シックハウス検討会に提示することによって、室内濃度指針値の策定/改定作業の一層の加速化が期待される。

研究分担者: 埴岡 伸光 (横浜薬科大学薬学部 教授)、伊藤 一秀 (九州大学大学院総合理工学研究院 教授)、香川 聡子 (横浜薬科大学薬学部 教授)、河上 強志 (国立医薬品

食品衛生研究所 室長)、小野 敦 (岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 教授)、東 賢一 (近畿大学医学部 准教授)、酒井 信夫 (国立医薬品食品衛生研究所 室長)

研究協力者: 大河原 晋 (横浜薬科大学薬学部 准教授)、磯部 隆史 (横浜薬科大学薬学部 講師)、田原 麻衣子 (国立医薬品食品衛生研究所 主任研究員)、前川 梨沙 (名城大学薬学部)、森 葉子 (名城大学薬学部薬学科)、桃井 夢子 (横浜薬科大学薬学部)、平岡結実 (岡山大学薬学部)

## A. 目的

1990年代に、建材等に由来する化学物質による健康被害、いわゆるシックハウス症候群が顕在化したことから、1997～2002年に揮発性/準揮発性有機化合物13物質および総揮発性有機化合物(TVOC)にそれぞれ室内濃度指針値、暫定目標値が設定された。その後約15年が経過し、代替溶剤等の使用による新たな室内空気汚染や準揮発性有機化合物と呼ばれる比較的沸点の高い可塑剤や難燃剤、バイオサイドによる室内環境汚染が懸念されること、さらには2010年に発刊されたWHO Guidelines for Indoor Air Quality: Selected Pollutantsに収載された未規制物質への対応を図る必要が生じたことなどから、2012年9月に「シックハウス(室内空気汚染)問題に関する検討会」(以下、シックハウス検討会)が約10年ぶりに開催された。その後、現在までに11回の検討会(2017年4月現在)を通じて室内濃度指針値の見直しあるいは対象物質の追加に関する議論が進められている。今後は、室内空気中で高頻度・高濃度で検出される化学物質について、順次、既存のハザード情報に基づく「初期リスク評価」、さらには「優先化合物リスト作成」、「詳細リスク評価」を経て最終的に室内濃度指針値の見直し等が行われる運びとなっている。

しかし、ここで問題となるのが、室内環境化学物質の「初期リスク評価」に資するハザード情報は比較的限られていることであり、この段階が指針値の策定作業あるいは改定作業において律速となることが危惧されている。そこで、本研究では「ハザード情報の網羅的な収集ならびに不足情報の補完方法

の確立」を目的として、1) 気道内挙動の *in vitro/in silico* 予測、2) 気道障害性の *in vitro* 評価、および 3) 気道障害性にかかる情報収集および優先順位判定、のサブテーマを設定して検討を行った。また、室内濃度指針値策定/改定の際には室内環境における放散源に関する情報が必要不可欠であることから、平成28年度に引き続き 4) 定量的 VOC 放散データベースの構築、についても検討を進めた。

## B. 研究方法

### B-1 気道内挙動の *in vitro/in silico* 予測

平成28年度までに気道内での汚染物質沈着から気道内粘膜上皮を介して体内へ向かう汚染物質動態を解析する PBPK-CFD-CSP (Physiologically Based Pharmacokinetic - Computational Fluid Dynamics - Computer Simulated Person) モデルを構築した。このモデルを非定常化し、リアルタイムでの経気道暴露解析を可能とするよう改良を行うとともに、各種のカルボニル系化合物を対象として感度解析を実施した。また、実験動物を対象とした数値気道モデル (*in silico* model) 開発の一環として、昨年度までに作成したサルの上気道モデルデータを用いて透明アクリル性の実験用モデル (*in vitro* model) を作成し、粒子イメージ流速計測法 (PIV: Particle Image Velocimetry) にて上気道内流れ場を実験的に計測した。実験による流れ場計測データを用いて数値解析結果の検証も行った。

また、上記の PBPK-CFD-CSP モデルの精緻化に必要な、気道内での異物代謝予測法を確立する目的で、室内濃度指針値の設定に向けた検討が行われている 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol monoisobutyrate (Texanol<sup>TM</sup>, TMPD-MIB と略す) および 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (TXIB<sup>TM</sup>, TMPD-DIB と略す) をモデル化合物として、ヒト由来マイクロゾームを用いて代謝挙動の推定を *in vitro* で行った。

## B-2 気道障害性の *in vitro* 評価

ヒトの気道上皮、肺および気道の知覚神経末端で発現する侵害受容チャネルとして TRPV1、TRPA1 および TRPM8 などが同定されている。本研究では、気道刺激性にかかる複合暴露の影響を明らかにする目的で、室内濃度指針値策定候補物質である 2-Ethyl-1-hexanol、TMPD-MIB および TMPD-DIB を対象にして、これらの化合物の侵害刺激におよぼす (-)-Menthol の効果についてヒト TRPA1 (hTRPA1) 高発現細胞株を用いて評価した。さらに、作用機序の異なる 2 種類の TRPA1 アゴニストの相互作用について検討を加えた。

一方、感作性については、OECD のテストガイドライン TG 442C ”In Chemico Skin Sensitisation: Direct Peptide Reactivity Assay” (DPRA 法) を用いて評価を行った。二種類のペプチド (システインペプチド・リジンペプチド) と被験物質を混和し、25°C で 24±2 時間暗所で反応させ、ペプチドの減少率をもとに感作性を評価した。平成 29 年度は、全国調査で室内空気から検出が報告されている化合物や、欧州連合 (European Union: EU) でアレルギー性が指摘されている香料化合物など、計 33 化合物について感作性評価を実施した。

## B-3 気道障害性にかかる情報収集および優先順位判定

平成 28 年度までの研究により、気道障害性のうち、特に気道感作性について知見の無い物質であっても、関連するハザードである皮膚感作性に関する情報と化学構造から気道感作性評価のための優先順位付けスクリーニングの可能性が示された。本年度は、これまでの研究で構築した JP-GHS データベースを用いて、気道障害性のうち気道感作性よりも多くの物質について報告のある気道刺激性に着目して、GHS 分類結果をもとに関連する障害性である皮膚や眼刺激性について報告のある物質を対象として、気道刺激性との関連や、物理化学的性質や構造記述子を

組合せた気道刺激性評価の優先順位付けスクリーニングのための予測モデル構築を行った。

また、平成 28 年度に引き続き、国立衛研におけるこれまでの全国調査で高頻度高濃度で検出された揮発性有機化合物を中心に、気道障害性等に係る有害性や量反応関係等に関する情報を収集した。平成 29 年度の調査対象物質は、炭素数 8~16 の脂肪族飽和炭化水素類 (オクタン、ノナン、デカン、ドデカン、トリデカン、ヘキサデカン)、炭素数 6~9 の脂肪族飽和アルデヒド類 (ヘキサナール、ノナナール)、イソチアゾリン系抗菌剤 (2-*n*-octyl-4-isothiazolin-3-one (OIT)、5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one (CI-MIT))、トリメチルベンゼン、メチルシクロヘキサン、メチルイソブチルケトン、リナロールとした。得られた有害性情報から有害性評価を行い、健康リスク評価値 (RfC: Reference Concentration) を導出した。RfC は、Critical Effect Level の影響濃度 (NOEL や LOAEL) に対して、反復曝露から連続曝露への補正や不確実係数の適用を行って導出した。不確実係数としては、初期リスク評価であるため、LOAEL を用いた場合は 10、曝露期間については動物種と平均寿命から算出した値、種差については 10、個体差 10 とした。これらの数値は、初期評価として、リスクの取りこぼしがないように安全側の不確実係数を用いた。

## B-4 定量的 VOC 放散データベースの構築

ISO 規格 12219-3 (Interior air of road vehicles; 車室内の VOC 濃度評価に関する実験法) および ASTM 規格 D7706 (Rapid screening of VOC emissions from products; 製品からの VOC 放散迅速スクリーニング法) に準拠する超小形チャンバー (Micro-Chamber/Thermal Extractor  $\mu$ -CTE250, Markes 社) を用いて、室内環境中において容積負荷率の高いカーテンやブラインド等のウィンドウトリートメント製品 20 検体 (表裏のべ 40 検体) を対象として放散試験を行い、加熱

脱離-ガスクロマトグラフ/質量分析計を用いて放散化学物質を定量分析した。

## C. 結果と考察

### C-1 気道内挙動の *in vitro/in silico* 予測

非定常 PBPK-CFD-CSP モデルの開発：平成 28 年度までに開発を進めた、薬物の人体影響評価のための *in vivo*、*in vitro* 実験データをもとに提案された生理的薬物動態解析 (PBPK) モデルを呼吸器系モデルに統合した数値人体モデル (CSP) をリアルタイムの流体解析 (CFD) と連成解析可能とするため、支配方程式の非定常化を実施した。非定常解析対応に伴い計算負荷が増加するため、数値解析アルゴリズムを MPI により並列化することで計算速度の向上を図った。本研究で実施する PBPK-CFD 連成解析は、Corley らにより提案された PBPK-CFD モデルをもとにしており、気道内 (Airway)、粘膜上皮 (Epithelium + Mucus)、上皮組織 (Subepithelium) の 3 層の領域を対象としている。室内および気道内での汚染物質の移流・拡散を CFD 解析より予測し、その結果としての気道内壁面吸着フラックスを組織側に伝達すると共に、組織内での代謝クリアランス、1 次反応、拡散と血流による輸送量などの定量的な評価を行った。また、床材から放散されたアルデヒド類(本解析ではホルムアルデヒド)の非定常経気道暴露シミュレーションを行うため、単純なモデル室内に数値人体モデルを立位で設定した。解析対象空間には、置換換気システムを想定して、床面にそった外気導入口、対向壁の天井面にそって排気口を設置した。本年度の最大の成果は非定常の CFD 解析による気道内汚染物質濃度分布のリアルタイム解析と、反応拡散系数理モデルである PBPK モデルを非定常でリアルタイム解析することにある。この解析を実施するため、人体モデルの鼻孔位置で非定常呼吸サイクルを再現した。人体周辺の不均一分布の様子と共に、気道内の場合、非定常呼吸の再現により時間の変化に伴う気道

内の流れ場、濃度分布の変化が確認できる。気道内壁面でのホルムアルデヒド吸着フラックス分布の時間変化に着目すれば、最大吸気の際、約 54%の吸着フラックスが鼻腔内に集中されており、“ホットスポット”と呼ばれる相対的に高い吸着フラックスの様子が確認される。鼻腔内粘膜上皮・粘膜下組織を対象とした PBPK 非定常解析の結果より、粘膜上皮でのホルムアルデヒドの反応量が支配的であることから、上皮下組織にはほとんど到達していない様子が確認される。本研究では、床材から放散されたホルムアルデヒドを想定した場合の経気道曝露濃度予測と PBPK モデルを用いたホルムアルデヒドの体内吸収メカニズムに関する連成解析事例を報告した。本稿で示した PBPK-CFD-CSP 解析手法が、制御対象や規制対象とすべき経気道暴露の参照濃度(Reference Concentration)の合理的決定のための有効な情報を提供できる可能性を示していると考えられる。

気道内での異物代謝予測法の確立：ヒト肝ミクロゾームを用いた *in vitro* 代謝試験で、TMPD-DIB は 1 位のエステル結合が加水分解され 1-Hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl isobutyrate (1-HTMPIB) および 3 位のエステル結合が加水分解された 3-Hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl isobutyrate (3-HTMPIB) へと代謝された。1-HTMPIB に比べ 3-HTMPIB へ代謝される割合は低く、これは 4 位のメチル基が立体障害となり、3 位のエステル結合の加水分解を妨げているためと推察された。一方、TMPD-MIB は TMPD-DIB の加水分解物で、1-HTMPIB およびその構造異性体である 3-HTMPIB からなる。ヒト肝ミクロゾームを用いた *in vitro* 代謝試験において、3-HTMPIB はさらに加水分解を受けて TMPD へと代謝されたが、1-HTMPIB はほとんど代謝されなかった。TMPD-DIB の代謝でみられた選択性と同様に、1-HTMPIB の代謝においても 4 位のメチル基が立体障害となり、3 位のエステル結合の加水分解を妨げられる結果、このような選択性が表れると考えられた。ヒト肝ミクロゾームによる

TMPD-DIB 加水分解の速度論的挙動は、Michaelis-Menten のモデルに従った。1-HTMPIB 生成活性と 3-HTMPIB 生成活性では、 $K_m$  値にそれほど大きな差は認められなかった。しかしながら、 $V_{max}$  値は 1-HTMPIB 生成活性が 3-HTMPIB 生成活性のおよそ 4 倍の値を示した。これらの結果から、TMPD-DIB のエステル部位間で加水分解活性に違いが生じる原因として、エステル部位における CES との親和性の差ではなく、4 位のメチル基が立体障害となり、3 位のエステル部位に対する CES の加水分解反応の進行を妨げている可能性が示唆された。これらの知見は、気道粘膜刺激症状への関与が示唆される TMPD-DIB および TMPD-MIB の局所的な曝露濃度を予測するための重要な情報である。

### C-2 気道障害性の *in vitro* 評価

TRPA1 を標的とする気道障害性化合物の相互作用：TMPD-MIB、2-Ethyl-1-hexanol あるいは(-)-Menthol の単独処理では hTRPA1 の活性化が認められない濃度領域において、(-)-Menthol と TMPD-MIB、または(-)-Menthol と 2-Ethyl-1-hexanol の同時処理によって hTRPA1 の有意な活性化が認められることが明らかとなった。次に、システイン残基との共有結合反応によって hTRPA1 を活性化する Cinnamaldehyde と、Ligand として hTRPA1 に結合する(-)-Menthol の相互作用について検討した。Cinnamaldehyde 単独処理では hTRPA1 の顕著な活性化認められない濃度領域において、Cinnamaldehyde 処理 20 秒後に (-)-Menthol で処理することによって濃度依存的に hTRPA1 の活性化が増強された。TRPA1 の活性修飾に関しては、Protein Kinase A による TRPA1 Ser 残基のリン酸化、ならびに低濃度の  $Ca^{2+}$  の流入による C 末端領域への Calmodulin の結合によって TRPA1 の化学物質に対する感受性が増強されることが報告されている。そこで、作用機序の異なる 2 種類の TRPA1 アゴニスト複合曝露時の活性化メカニズムを明らかにする目的で、TRPA1

のリン酸化ならびに TRPA1 の C 末端領域への Calmodulin の結合について検討を行った。その結果、低濃度 Cinnamaldehyde 処理 (15.6  $\mu$ M, 31.2  $\mu$ M) では hTRPA1 タンパク質のリン酸化亢進は認められなかったのに対し、抗 Calmodulin 抗体で免疫沈降される hTRPA1 タンパク量が増加することが明となった。したがって、 $Ca^{2+}$  濃度の増加による TRPA1 C-末端への Calmodulin 結合が相乗的活性化に寄与している可能性が示唆された。

一方、DPRA を実施した 33 化合物のうち、14 化合物が陽性と分類され、その他の化合物は陰性と分類された。室内空気汚染全国実態調査で検出が報告されている、Methylcyclohexane、Hexanal および Nonanal のうち、後者の 2 化合物が陽性と分類された。Hexanal についてはマウスを用いた局所リンパ節アッセイ (Local Lymph Node Assay: LLNA) において陽性と報告されている。また、EU 化粧品指令においてアレルギー性物質として表示が義務付けられている 21 種類の香料では、List A (Fragrance chemicals, which according to existing knowledge, are most frequently reported and well-recognized consumer allergens) の 12 物質のうち 7 物質が、List B (Fragrance chemicals, which are less frequently reported and thus less documented as consumer allergens) の 9 物質のうち 2 物質が陽性と分類された。また、試験を行った防腐剤 3 物質はいずれも陽性に分類された。これらのうち、Bronidox および DMDM Hydantoin はホルムアルデヒドドナー型防腐剤である。

DPRA で得られる被験物質の Cys-peptide および Lys-peptide への結合性の違いが、一定の呼吸器感作性の指標になり得る可能性が指摘されている。一方で、DPRA のみでは皮膚感作性と呼吸器感作性を区別することは難しく、被験物質の呼吸器感作性については AOP を考慮し、複数の試験法を組み合わせる必要があることも指摘されている。本年度の試験で陽性と分類された 14 化合物について Lys/Cys を見ると、Hexanal、Citral 及び Hydroxycitronellal で 1.3、1.05 お

よび 0.96 と 0.2 を超えていた。また、陽性と分類された香料化合物の Lys-peptide への結合性には違いが認められたが、Lys/Cys が大きい化合物については、気道感作性の可能性を考慮して、今後、様々な毒性試験や疫学調査などにより総合的な評価を行う必要があるものと考えられる。

### C-3 気道障害性にかかる情報収集および優先順位判定

気道、皮膚および眼刺激性に関して報告のある物質について解析を行った結果、気道刺激性の報告がある物質の多くで皮膚刺激性または眼刺激性が陽性であり、気道刺激性について報告がある物質のうち、82.63%が眼刺激性陽性であり、60.06%が皮膚刺激性陽性であった。この結果から、眼刺激性を有する化合物は気道刺激性がある可能性が高く、気道刺激性の報告はないが眼刺激性陽性の物質 (687 物質) や、眼・皮膚ともに刺激性陽性の物質 (370 物質) についても気道刺激性がある可能性が高いと考えられた。シックハウス症候群の病態・症候の定義では、「①皮膚や眼、咽頭、気道などの皮膚・粘膜刺激症および、②全身倦怠感、めまい、頭痛・頭重などの不定愁訴」とされており、眼刺激と気道刺激の関係性は、粘膜刺激を共通の原因とする と考察された。

また、一連の解析の結果から、金属元素またはハロゲン元素を含む化合物の多くが刺激性について陽性であった。したがって、金属元素あるいはハロゲン元素を有する化合物は気道刺激性をもつ可能性が高いと考えられる。TiO<sub>2</sub>、Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、CeO<sub>2</sub> 等、金属酸化物ナノ粒子の気道刺激性について評価されている物質もあり、金属元素を有する化合物は注目すべきだあると考えられる。また、ハロゲン化合物は農薬や殺虫剤として使用される物質に多く、生活環境を經由した暴露を考えた場合、評価の優先順位が高いと考察された。

本研究では、新たな試みとして、ワークフロー型の機械学習および予測モデル作成ツ

ールである KNIME Analytics Platform (ver. 3.2.1) を用いて予測モデルを作成し、刺激性の有無を予測した。Estate FP、Substructure FP および Descriptor の 3 つのデータセットを処理した結果、Estate FP、Substructure FP では陽性物質は高い精度で予測されているが、陰性物質の予測精度が低く、全体的な accuracy は 75%程度である。一方、Descriptor では陽性物質の予測精度は他の 2 つに比べて劣るが、陰性物質の予測精度が優れており、全体の accuracy は約 83%となった。さらに、物理化学的性質と構造的性質の 2 つの観点から特徴を把握することでより高い精度でスクリーニングすることが可能になると考えられた。本研究では刺激性陽性物質をスクリーニングすることが目的であり、高い真陽性率を保つことが重要である。したがって、陽性物質に対して高い予測精度を示したこれらの結果は満足できるものと考えられる。

世界保健機関 (WHO) の空気質ガイドライン、ドイツ連邦環境庁の室内空気質ガイドライン、フランス環境労働衛生安全庁 (ANSES) の室内空気指針値、カナダ保健省の室内空気指針値に関する情報を収集した。

網羅的に収集した有害性情報をもとに、炭素数 8~16 の脂肪族飽和炭化水素類、炭素数 6~9 の脂肪族飽和アルデヒド類 (Hexanal、Nonanal)、2-*n*-octyl-4-isothiazolin-3-one (OIT)、5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one (CI-MIT)、トリメチルベンゼン、メチルシクロヘキサン、メチルイソブチルケトン、リナロールの RfC を導出し、その RfC をもとに、上述の化学物質の室内濃度に対する MOE を算出した。曝露濃度は、初期リスク評価であることから、各実態調査の最大濃度を用いた。その結果、MOE が 1 未満 (優先度 A、詳細な調査が必要) の物質は、既築住宅では、総 C8~C16 脂肪族飽和炭化水素 (夏期、冬期)、Nonane (冬期)、Decane (冬期)、Tridecane (夏期)、C6~C9 脂肪族飽和アルデヒド類 (夏期)、Hexanal (夏期) であった。新築住宅では、冬期の Trimethylbenzene であった。MOE が 1 以上 10 未満 (優先度 B、さらなる情報収集が

必要)の物質は、既築住宅では Octane (夏期、冬期)、Nonane (夏期)、Decane (夏期)、Dodecane (夏期、冬期)、Tridecane (冬期)、C6~C9 脂肪族飽和アルデヒド類 (秋期)、Nonanal (夏期、秋期)、Trimethylbenzene (夏期、冬期)、Methylcyclohexane (冬期)であった。新築住宅では、冬期の Methyl iso-butylketone であった。

#### C-4 定量的 VOC 放散データベースの構築

ウィンドウトリートメント製品を対象とした放散試験を実施した。20 サンプル (各表裏) の 40 検体について放散試験に供した結果、2-Ethyl-1-hexanol が 29 検体、TMPD-MIB が 36 検体、TMPD-DIB が 19 検体と約半数以上のサンプルから検出された。気中濃度の最大値は木製ブラインドの 2-Ethyl-1-hexanol が  $14.74 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、TMPD-MIB が  $10.03 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、TMPD-DIB が  $9.12 \mu\text{g}/\text{m}^3$  であった。各製品の表裏の放散量を比較したところ、ほとんどの製品で差異は認められなかったが、化学繊維カーテン試料では TMPD-MIB に関して表裏で 2 倍近くの濃度差が認められた。この製品は遮熱・防音効果を高めるため裏面にアクリル樹脂コーティングを施してあった。アクリル樹脂コーティング剤には Toluene、Xylene、Butanol、Butyl Acetate、Mineral Spirits (石油系炭化水素混合物) 等の多種の溶剤が使われているため、その影響が考えられた。

厚生労働省では 13 種類の VOC の室内濃度指針値に加えて、総揮発性有機化合物 (TVOC) の暫定目標値を  $400 \mu\text{g}/\text{m}^3$  と設定している。放散試験で最も高濃度で検出された木製ブラインド試料については、2-Ethyl-1-hexanol、TMPD-MIB、TMPD-DIB の 3 化合物の気中濃度を表裏合算すると暫定目標値の 1/10 を超過することから、ウィンドウトリートメント製品が室内空気汚染の一因になっていることが明らかになった。

#### D. 結論

本研究では、室内濃度指針値策定に必要なハザード情報の網羅的な収集、ならびに不足

情報の補完方法の確立を目的として、1) 気道内挙動の *in vitro/in silico* 予測、2) 気道障害性の *in vitro* 評価、3) 気道障害性にかかる情報収集および優先順位判定、および 4) 定量的 VOC 放散データベースの構築の 4 つのサブテーマを設定して研究を実施した。

研究課題 1)では、非定常 PBPK-CFD-CSP モデルを開発し、汚染物質の気道内での沈着から粘膜および気道上皮を介して体内へ向かう動態をリアルタイムに非定常解析する一連の解析モデルを構築した。また、異物代謝酵素による TMPD-DIB/TMPD-MIB の代謝について速度論的な解析を行った。

研究課題 2)では、作用機序の異なる気道刺激性化合物の相互作用について検討し、TRPA1 の相乗的な活性化が生じることを明らかにした。また、感作性スクリーニング試験としての DPRA をアルデヒド類、防腐剤および香料など 33 物質に適用した。

研究課題 3)では、気道、皮膚および眼刺激性の関連について解析を行うとともに、ワークフロー型の機械学習および予測モデル作成ツールである KNIME Analytics Platform を用いて刺激性の予測モデルを開発した。また、網羅的に収集した有害性情報をもとに、脂肪族飽和炭化水素類、脂肪族飽和アルデヒド類、OIT、CI-MIT、トリメチルベンゼン、メチルシクロヘキサン、メチルイソブチルケトン、リナロールの RfC を導出し、初期リスク評価を行った。

研究課題 4)では、ウィンドウトリートメント製品を対象として放散試験を実施し、これらの製品が室内環境において 2-Ethyl-1-hexanol、TMPD-MIB および TMPD-DIB の放散源となり得ることを明らかにした。

本研究のこれらの成果の一部は、シックハウス検討会において既に有効に活用されている。今後、本研究で得られた知見および要素技術を活用して要検討化合物のリストを作成し、シックハウス検討会に提示することによって、室内濃度指針値の策定/改定作業の一層の加速化が期待される。

E. 健康危険情報  
なし

F. 研究発表  
論文発表

1. Miyata-Nozaka Y., Mohd Zain S., Taguchi M., Shigeyama M., Isobe T., Hanioka N.: Carbamazepine 10,11-epoxidation in human liver microsomes: influence of the CYP3A5\*3 polymorphism, *Pharmazie*, 2017, 72(12):747–750.
2. Isobe T., Ohkawara S., Tanaka-Kagawa T., Jinno H., Hanioka N.: Hepatic glucuronidation of 4-tert-octylphenol in humans: inter-individual variability and responsible UDP-glucuronosyltransferase isoforms, *Arch Toxicol*, 2017, 91(11): 3543–3550.
3. Hanioka N., Isobe T., Ohkawara S., Tanaka-Kagawa T., Jinno H.: Glucuronidation of 4-tert-octylphenol in humans, monkeys, rats, and mice: an in vitro analysis using liver and intestine microsomes, *Arch Toxicol*, 2017, 91(3):1227–1232.
4. Hanioka N., Kinashi Y., Tanaka-Kagawa T., Isobe T., Jinno H.: Glucuronidation of mono(2-ethylhexyl) phthalate in humans: roles of hepatic and intestinal UDP-glucuronosyltransferases. *Arch Toxicol*, 2017, 91(2):689–698.
5. Alicia Murga, Yusuke Sano, Yoichi Kawamoto, Kazuhide Ito : Integrated analysis of numerical weather prediction and computational fluid dynamics for estimating cross-ventilation effects on inhaled air quality inside a factory, *Atmospheric Environment*, 167 (2017) 11-22
6. Koki Nakahara, Takahiro Yamaguchi, Eunsu Lim and Kazuhide Ito : Computational fluid dynamics modeling and parameterization of the visible light photocatalytic oxidation process of toluene for indoor building material, *Sustainable Cities and Society*, 35 (2017) 298-308
7. Juyeon Chung, Eunsu Lim, Mats Sandberg, and Kazuhide Ito : Returning and net escape probabilities of contaminant at a local point in indoor environment, *Building and Environment*, 125 (2017) 67-76
8. Kawakami T., Isama K., Kagawa-Tanaka T., Jinno H. Analysis of glycols, glycol ethers, and other volatile organic compounds present in household water-based hand pump sprays, *J. Environ. Sci. Health Part A*, 52, 1204-1210, 2017.
9. 小野. 宏, 丸野内. 棗, 井口. 泰泉, 小野. 敦; ER STTA 法 : hER  $\alpha$  -HeLa-9903 細胞を用いたエストロゲン受容体恒常発現系転写活性化試験法の評価報告書 AATEX-JaCVAM 6, 1-27 (2017).
10. Azuma K, Yanagi U, Kagi N, Osawa H. A review of the effects of exposure to carbon dioxide on human health in indoor environment. *Proceedings of the Healthy Buildings Europe 2017*, ID0022, 6 pages, 2017.
11. Azuma K, Ikeda K, Kagi N, Yanagi U, Osawa H. Physicochemical risk factors for building-related symptoms in air-conditioned office buildings: ambient particles and combined exposure to indoor air pollutants. *Science of the Total Environment* 616–617: 1649–1655, 2018.
12. Azuma K et al. Occupational exposure limits of ethyleneglycol monobutyl ether, isoprene, isopropyl acetate and propyleneimine, and classification on carcinogenicity, occupational sensitizer and reproductive toxicant. *J Occup Health*; 59(4): 364-366, 2017.
13. 東 賢一. 室内空気質規制に関する国内外の動向. *環境技術*; 46(7), 4–9, 2017.

14. 東 賢一. 室内環境汚染による健康リスクと今後の課題. 臨床環境医学; 26(2), *in press*, 2017.
15. 田原麻衣子, 杉本直樹, 香川 (田中) 聡子, 酒井信夫, 五十嵐良明, 神野透人: ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの定量分析における qNMR を用いたトレーサビリティの確保, 薬学雑誌, *in press*, 2018.
16. 酒井信夫. 室内空気汚染物質の指針値と測定法, ぶんせき, 2018, 28-29.

#### 学会発表

1. 磯部 隆史, 大河原 晋, 香川 (田中) 聡子, 神野 透人, 埴岡 伸光: ヒトにおける 4-tert-オクチルフェノールのグルクロン酸抱合反応に参与する UGT 分子種とその役割, フォーラム 2017 衛生薬学・環境トキシコロジー, 仙台, 2017 年 9 月 1-2 日
2. Kazuki Kuga, Sung-Jun Yoo, Kazuhide Ito, Wenhao Chen, Ping Wang, Jeff Fowles, Dennis Shusterman, Kazukiyo Kumagai: Virtual Bronchiole Model Based on the Numerical Respiratory Tract Model for Comprehensive Exposure Assessment to E-Cigarettes, Healthy Buildings 2017 Asia, Taiwan, pp122-125
3. Yusuke Sano, Alicia Murga, Yoichi Kawamoto, Kazuhide Ito: Integration of numerical weather prediction and computational fluid dynamics to analyze indoor air quality: Part 1, prediction of wind pressure coefficient distributions, Healthy Buildings 2017 Asia, Taiwan, pp 227-231
4. Alicia Murga, Yusuke Sano, Yoichi Kawamoto, Kazuhide Ito: Integration of numerical weather prediction and computational fluid dynamics to analyze indoor air quality: Part 2, prediction of contaminant concentration and inhalation exposure in a factory, Healthy Buildings 2017 Asia, Taiwan, pp 62-66
5. Nguyen Lu Phuong and Kazuhide Ito: Ventilation effectiveness in mammalian upper airways – computational fluid dynamics analysis of in silico airway models for rats, dogs, monkeys, and humans, Healthy Buildings 2017 Asia, Taiwan, pp 487-490
6. Sung-Jun Yoo and Kazuhide Ito: Transient analysis of inhalation exposure by using computer simulated person integrated with PBPK-CFD hybrid model, Healthy Buildings 2017 Asia, Taiwan, pp 135-138
7. Juyeon Chung, Eunsu Lim, Kazuhide Ito: Evaluation of Ventilation Efficiency in Push-Pull Type Ventilation System by Ventilation Indices NEV and NEP, Healthy Buildings 2017 Asia, Taiwan, pp 107-110
8. Koki Nakahara, Takahiro Yamaguchi and Kazuhide Ito: Computational fluid dynamic modelling and parameterization of water-vapour impact on oxidation process by photocatalyst-bound building materials, Healthy Buildings 2017 Asia, Taiwan, pp 67-71
9. Nguyen Lu Phuong and Kazuhide Ito: Comparative computational modeling of airflow and regional deposition of inhaled particles in respiratory tract of human and monkey, COBEE 2018, Melbourne, Australia, (採用決定, 2018.2 に発表予定)
10. Sung-Jun Yoo and Kazuhide Ito: Quantitative risk assessment of transient inhalation exposure using PBPK-CFD hybrid model with computer simulated person, COBEE 2018, Melbourne, Australia, (採用決定, 2018.2 に発表予定)
11. Alicia Murga and Kazuhide Ito: Dynamical downscaling and hybrid CFD - transient network modelling analysis for estimating inhaled air quality, COBEE 2018,

- Melbourne, Australia, (採用決定, 2018.2 に発表予定)
12. 伊藤一秀：嗅覚の知覚強度と鼻腔内流れ・物質輸送に関する一考察：第 51 回空気調和・冷凍連合講演会, 2017.04, pp 115-118
  13. Eunsu Lim, Juyeon Chung, 伊藤一秀：換気効率指標 Net Escape Velocity と Net Escape Probability による Push-Pull 換気装置の汚染物質排出効率評価：日本建築学会大会学術講演梗概集, 2017.9, D-2, pp 741-744
  14. Kana Hasebe, Shinsuke Kato, U Yanagi, Hideaki Nagano, Kazuhide Ito, Toshio Yamanaka, Hikaru Kobayashi, Hirofumi Hayama, Shigeo Matsuno, Establishing quantitative evaluation method of contact infection risk using qPCR method: Difference of bacteria collection rate depends on the moisture condition, 空気調和衛生工学会講演論文集, 2017.9, IS-12, pp 5-8
  15. Alicia Murga, Kazuhide Ito, Prediction of Inhalation Exposure in a factory by integrated analysis of numerical weather prediction and computational fluid dynamics, 空気調和衛生工学会講演論文集, 2017.9, IS-11, pp 1-4
  16. Sung-Jun Yoo, 伊藤一秀：経気道暴露評価のための PBPK-CFD-CSP 連成解析モデル, 室内環境学会学術大会講演集, 2017.12, C-08
  17. 久我一喜, Sung-Jun Yoo, 伊藤一秀：気道粘膜上皮を対象とした電子煙草由来カルボニル化合物暴露の in silico 評価, 室内環境学会学術大会講演集, 2017.12, C-07
  18. Ji-Woong Kim, Nguyen Lu Phuong, 伊藤一秀：サル気道モデルを対象とした上気道流れ場の PIV 計測と数値解析, 室内環境学会学術大会講演集, 2017.12, C-09
  19. 香川 (田中) 聡子, 大河原 晋, 磯部 隆史, 青木 明, 植田 康次, 岡本 誉士典, 埴岡 伸光, 神野 透人：室内濃度指針値策定候補物質によるヒト侵害受容体 TRPA1 活性化とその種差：第 44 回日本毒性学会学術年会, 横浜, 2017 年 7 月
  20. 前川 梨沙, 青木 明, 岡本 誉士典, 植田 康次, 大河原 晋, 埴岡 伸光, 香川 (田中) 聡子, 神野 透人：作用機序の異なる 2 種類のアゴニストによるヒト侵害受容体 TRPA1 の相乗的活性化, フォーラム 2017 衛生薬学・環境トキシコロジー, 仙台, 2017 年 9 月
  21. 香川 (田中) 聡子, 大河原 晋, 磯部 隆史, 長谷川 達也, 埴岡伸光, 神野透人：侵害刺激受容体を活性化する金属化合物に関する研究, メタルバイオサイエンス研究会 2017, 岡山, 2017 年 10 月
  22. 香川 (田中) 聡子, 大河原 晋, 磯部 隆史, 青木 明, 植田 康次, 岡本 誉士典, 埴岡 伸光, 神野 透人：新規室内濃度指針値策定候補物質によるヒト侵害受容体 TRPA1 活性化とその種差, 平成 29 年室内環境学会学術大会, 佐賀, 2017 年 12 月
  23. 香川 (田中) 聡子, 大河原 晋, 百井 夢子, 磯部 隆史, 青木 明, 植田 康次, 岡本 誉士典, 埴岡 伸光, 神野 透人：TRPA1 活性化における新規室内濃度指針値策定候補物質と(-)-Menthol の相乗作用, 日本薬学会第 138 年会, 金沢, 2018 年 3 月
  24. 河上強志, 秋山卓美, 伊佐間和郎, 小濱とも子, 五十嵐良明：亜リン酸エステル系酸化防止剤の刺激性及び感作性と家庭用 PVC 製手袋中の実態, 第 47 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会・第 41 回皮膚脈管・膠原病研究会, 鹿児島, 2017 年 12 月
  25. 河上強志, 伊佐間和郎, 五十嵐良明, 神野透人：DPRA による揮発性及び準揮発性有機化合物類の感作性評価 (第二報), 金沢, 2018 年 3 月
  26. 小野 敦, 渡辺 真一, 菅原 経継, 若林 晃次, 田原 宥, 堀江 宣行, 藤本 恵一,

- 草苺 啓, 黒川 嘉彦, 寒水 孝司, 中山 拓人, 草生 武, 河上 強志, 小島 幸一, 小島 肇, J. Richmond, K. Nicole, K. Bae-Hwa, 山本 裕介, 藤田 正晴, 笠原 利彦 :新規 in chemico 皮膚感作性試験 ADRA 法の多施設バリデーション試験: 第2報. 日本実験動物代替法学会 第30回年会 (2017.11, Tokyo)
27. A. Ono, Y. Hiraoka, A. Hirose, and H. Jinno :Comparative analysis of respiratory, skin and eye irritation potential of chemicals using Japanese GHS classification.. The 53nd Eurotox2017 (2017.9, Bratislava, Slovak)
28. A. Ono, S. Watanabe, T. Sugawara, K. Wakabayashi, Y. Tahara, N. Horie, K. Fujimoto, K. Kusakari, Y. Kurokawa, T. Sozu, T. Nakayama, T. Kusao, T. Kawakami, K. Kojima, H. Kojima, J. Richmond, N. Kleinstreuer, K. Bae-Hwa, Y. Yamamoto, M. Fujita and T. Kasahara :Phase-1 of the validation study of Amino acid Derivative Reactivity Assay (ADRA): a novel in chemico alternative test method of skin sensitization.. Tenth World Congress Alternatives and Animal Use in the Life Sciences (2017.8, Washington State Convention Center, Seattle, Washington)
29. 小野 敦, 渡辺 真一, 菅原 経継, 若林 晃次, 田原 宥, 堀江 宣行, 藤本 恵一, 草苺 啓, 黒川 嘉彦, 寒水 孝司, 中山 拓人, 草生 武, 河上 強志, 小島 幸一, 小島 肇, J. Richmond, K. Nicole, K. Bae-Hwa, 山本 裕介, 藤田 正晴, 笠原 利彦 :新規 in chemico 皮膚感作性試験 ADRA 法の多施設バリデーション試験: 第1報. 第44回日本毒性学会 (2017.7, Yokohama)
30. Azuma K, Yanagi U, Kagi N, Osawa H. A review of the effects of exposure to carbon dioxide on human health in indoor environment. *Healthy Buildings Europe* 2017, Lublin University of Technology, Lublin, Poland, 2–5 July, 2017.
31. Azuma K, Tanaka-Kagawa T, Jinno H. Health risk assessment of inhalation exposure to glycol ethers and esters in indoor environments. 29th Annual International Society for Environmental Epidemiology Sydney, Australia, 24-28 September 2017.
32. 東 賢一. 健康リスク学から見た現状と今後の展望 一人の健康の保護と持続可能な発展一. 第26回日本臨床環境医学会学術集会, 東京, 2017年6月25日.
33. 東 賢一. 世界保健機関の住宅と健康のガイドライン. 平成29年度室内環境学会学術大会, 佐賀, 2017年12月13日-14日.
34. 田原麻衣子, 神野透人, 香川(田中)聡子, 酒井信夫, 五十嵐良明“アルデヒド類の市販試薬における異性体の値付け”環境科学会 2017 年会, 北九州, 2017 年 9 月
35. 酒井信夫, 田原麻衣子, 遠山友紀, 五十嵐良明, 奥田晴宏, 千葉真弘, 佐々木陽, 佐藤由紀, 竹熊美貴子, 横山結子, 高梨嘉光, 斎藤育江, 上村仁, 田中礼子, 今井美紗子, 高田博司, 小林浩, 鈴木光彰, 青木梨絵, 小林博美, 中嶋智子, 吉田俊明, 古市裕子, 八木正博, 新井清, 荒尾真砂, 中島亜矢子, 田崎盛也“平成28年度 室内空気環境汚染に関する全国実態調査”第54回全国衛生化学技術協議会年会, 奈良, 2017 年 11 月
36. 酒井信夫“室内空気の規制に関する最新情報”第54回全国衛生化学技術協議会年会, 奈良, 2017 年 11 月
37. 田原麻衣子, 遠山友紀, 酒井信夫, 五十嵐良明“カーテン類から放散される揮発性有機化合物に関する研究”第54回全国衛生化学技術協議会年会, 奈良, 2017 年 11 月
38. 田原麻衣子, 酒井信夫, 千葉真弘, 大泉詩織, 斎藤育江, 大貫文, 香川(田中)聡子, 神野透人, 五十嵐良明, 奥田晴宏“室内濃度指針値新規策定化合物の標準試

験法の開発—加熱脱離捕集剤の検討—”  
平成 29 年室内環境学会学術大会, 佐賀,  
2017 年 12 月

39. 大貫文, 菱木麻佑, 千葉真弘, 大泉詩織,  
香川(田中)聡子, 上村仁, 神野透人, 田  
原麻衣子, 酒井信夫, 斎藤育江, 小西浩  
之, 守安貴子“溶媒抽出法を用いた  
TVOC 測定法の検討”平成 29 年室内環境  
学会学術大会, 佐賀, 2017 年 12 月
40. 千葉真弘, 大泉詩織, 大貫文, 斎藤育江,  
神野透人, 香川(田中)聡子, 上村仁, 田  
原麻衣子, 酒井信夫“室内空気中におけ  
る未規制揮発性有機化合物分析法の検  
討”化学系学協会北海道支部 2018 年冬季  
研究発表会, 札幌, 2018 年 1 月
41. 田原麻衣子, 酒井信夫, 斎藤育江, 大貫  
文, 香川(田中)聡子, 神野透人, 五十嵐  
良明“フタル酸エステル類の室内濃度指  
針値の改定案と測定方法の開発”日本薬  
学会第 138 年会, 金沢, 2018 年 3 月

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含  
む)

特許取得

なし

実用新案登録

なし