

厚生労働科学研究費補助金  
化学物質リスク研究事業

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

平成 28 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 神野 透人

平成 29 (2017) 年 3 月

## 目 次

I. 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	・・・	1
神野 透人		
II. 分担研究報告書		
1. 気道内挙動の <i>in vitro/in silico</i> 予測	・・・	12
埴岡 伸光、磯部 隆史		
2. 気道内挙動の <i>in vitro/in silico</i> 予測	・・・	17
伊藤 一秀		
3. 気道障害性の <i>in vitro</i> 評価	・・・	36
香川(田中) 聡子、大河原 晋、神野 透人		
4. 気道障害性の <i>in vitro</i> 評価	・・・	56
河上 強志		
5. 気道障害性にかかる情報収集及び優先順位判定	・・・	75
小野 敦		
6. 気道障害性にかかる情報収集及び優先順位判定	・・・	86
東 賢一		
7. 定量的 VOC 放散データベースの構築	・・・	131
酒井 信夫、田原 麻衣子、香川(田中) 聡子		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	・・・	142

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、PBPK-CFD モデルを CSP モデルに統合した一連の解析モデルを構築して床材から放散されたホルムアルデヒドの曝露を想定した予備的な解析に適用し、気道内の部位によって濃度が著しく異なることを示した。研究課題 2)では、気道の感覚神経などで発現する侵害受容チャネル TRPA1 について、顕著な種差を示す室内環境化学物質が存在することを明らかにした。また、Direct Peptide Reactivity Assay 法が室内環境化学物質の感作性を評価する上で有用な試験系であることを示し、防腐剤 Bronopol およびその代謝物が DPRA 陽性物質であることを明らかとした。研究課題 3)では、わが国の GHS 分類評価結果をもとに、呼吸器感作性・刺激性に関連する可能性のある皮膚感作性、皮膚刺激性、眼刺激性などについて網羅的な検索を行い、それぞれの化合物の化学構造的な特徴を明らかとした。また、室内空気中の化学物質の有害性にかかる情報を網羅的に収集して RfC を導出し、室内空気全国調査における最高検出濃度を基に初期リスク評価を行った。研究課題 4)では、放散試験の結果から、2-Ethyl-1-hexanol の重要な放散源としてフロアタイル、カーペットなどを同定した。本研究のこれらの成果の一部は既にシックハウス検討会において有効に活用されているが、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)

## 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10年余りが経過し、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、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ため、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年度は4) 定量的VOC放散データベースの構築、を新たにサブテーマに加えて検討を進めた。

## B. 研究方法

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

平成27年度に作成した計算流体力学CFD(Computational Fluid Dynamics)解析用の数値気道モデルを、頭部や胴体・手足などの幾何形状を詳細に再現した人体幾何形状モデルに統合し、室内環境中で発生した各種の汚染物質による経気道曝露予測を可能とする総合的な数値人体モデルCSP(Computer Simulated Person)を作成した。このCSPに経気道曝露評価を目的とした生理的薬物動態解析PBPK(Physiologically Based Pharmacokinetic)モデルを組み込むことで、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一連の解析モデルを構築した。具体的には、気道(Airway)、粘膜上皮(Epithelium)およびMucus)、上皮下組織(Subepithelium)の3層(正確にはCFD解析で1層、PBPKモデルとして2層)からなるPBPK-CFDモデルをCSPモデルに統合した。さらに、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にCSP/PBPK統合モデルを適用し、予備的な解析を行った。

また、上記のCSP/PBPK統合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テキサノールおよびTXIBをモデル化合物として、ヒト由来マイクロゾームを酵素源として用いて代謝挙動の推定を行った。

### 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、気道障害性にかかる動物実験の結果をヒトに外挿する際の妥当性を検証する目的で、気道の知覚神経刺激の種差について検討を行った。ヒトTRPA1および平成27年度に樹立したマウスTRPA1安定発現細胞株を用いて、細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度を指標とするHigh-throughput Screeningにより2-

エチル-1-ヘキサノール、テキサノール、TXIB および室内空气中に存在する可能性のある香料成分としてのテルペン類、タバコ由来のアルカロイド類による侵害受容チャンネル活性化の種差について検討を行った。

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 28 年度は、プロピレングリコールエステル類、グリコールエステルアセテート類、ポリ環状シロキサン類および香料類など、揮発性有機化合物 (Volatile organic compound: VOC) および準揮発性有機化合物 (Semi volatile organic compound: SVOC) に分類される 27 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 年度に構築した JP-GHS データベースを用いて、気道障害性 (気道感作性、気道刺激性) に関する情報とともに、気道感作性、気道刺激性それぞれとの関連がある可能性のある健康影響エンドポイントとして、皮膚感作性、皮膚 (腐食性) 刺激性、眼刺激性 (損傷性) の情報を検索し、物質ごとに整理を行った。また、皮膚感作性、皮膚 (腐食性) 刺激性、眼刺激性 (損傷性) については、陽性のみでなく陰性情報についても GHS から情報が得られるため、陰性・陽性・情報なしの 3 クラスに分類した。一方、気道障害性 (気道感作性、気道刺激性) については、ヒトにおける報告によりラベルされており陰性の情報が得られている物質はないため、陽性・情報なしの 2 クラスに分類し、化学物質の健康影響ラベルを用いたクラスタリング解析に用いた。また、気道障害性のうち特に感作性に着目して、JP-GHS 全物質のうち皮膚感作性について陰性もしくは陽性の情報

が得られている 707 物質について化学構造分類を行い、化学構造群ごとに皮膚感作性と呼吸器感作性との関連について解析を行った。化学構造分類は、OECD QSAR Toolbox に搭載の US-EPA New Chemical Categories スキームによる分類を行った後、分類結果を一部マニュアルで整理して解析に用いた。

また、全国実態調査で検出された化学物質とともに、潜在的に室内環境におけるリスクが高いと想定される経気道曝露の蓋然性が高いと判断された化学物質について、有害性情報を網羅的に収集し、有害性評価を実施した。曝露情報が得られている化学物質に対しては、健康リスクの初期評価を実施し、リスクの大きさを判定するとともに、諸外国における室内空気質規制の情報をあわせて収集した。

### 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) を使用して、壁紙および床用敷物等の内装材 40 検体について放散試験を実施した。

## C. 結果と考察

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

PBPK-CFD モデルを CSP モデルに統合した一連の解析モデル (CSP/PBPK 統合モデル) を構築し、解析の一例として、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予備的な解析に適用した。本年度の解析結果では、室のホルムアルデヒドの完全混合濃度 (排気口位置での濃度) は 100.0  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  (air) であるのに対し、室の体積平均濃度は 91.1  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  (air) となり、10%程度の差違

が認められた。鼻呼吸を想定した場合の鼻孔開口面でのホルムアルデヒド平均濃度は  $62.7 \mu\text{g}/\text{m}^3$  (air) となっており、室の完全混合濃度や体積平均濃度とも異なる値となった。さらに、気道内各部位での気相-粘膜上皮相の界面濃度は  $2.81 \times 10^{-7} \mu\text{g}/\text{m}^3$  (air) から  $0.21 \mu\text{g}/\text{m}^3$  (air) 程度の分布を有していた。今回の解析では、換気システムや呼吸を含めて定常状態を仮定しており、単純化された条件での解析事例であるものの、室内環境中のホルムアルデヒド濃度と呼吸域濃度、鼻呼吸の場合の鼻孔面濃度、さらには気道内粘膜上皮相濃度の関係を定量的に議論した先駆的な経気道暴露シミュレーションの事例となるであろう。また、室平均濃度や気道内の実質的な曝露濃度に有意な差が存在することは、本研究で示した CSP/PBPK 統合モデルによる解析手法が、制御対象や規制対象とすべき経気道曝露の参照濃度 (Reference Concentration: RfC) 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も考えられる。

エステル型の化学物質の気道内挙動に大きな影響を及ぼすと考えられるカルボキシエステラーゼ (CES) については、鼻粘膜で CES1 および CES2、気管支粘膜では CES1 が主要な分子種であることを平成 27 年度に明らかとした。そこで、室内濃度指針値の設定に向けた検討が行われているテキサノールおよび TXIB (2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate) について、ヒト由来マイクロゾームを酵素源として用いて代謝挙動の推定を行った。その結果、CES が TXIB から 1-hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl isobutyrate、ならびにテキサノールを構成する異性体の一つである 3-hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl isobutyrate から 2,2,4-trimethylpentane-1,3-diol への加水分解反応に関与することが明らかとなった。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 TXIB およびテキサノール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

ヒト TRPA1 および平成 27 年度に樹立したマウス TRPA1 安定発現細胞株を用いて、侵害受容チャネル活性化の種差について検討を行った。まず、2-エチル-1-ヘキサノール、テキサノールおよび TXIB とその代謝物である 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol による TRPA1 活性化について種差を検討した。2-エチル-1-ヘキサノールは、ヒト TRPA1 およびマウス TRPA1 のいずれのチャネルに対しても濃度依存的な活性化を引き起こし、その EC<sub>50</sub> 濃度に顕著な差は認められなかった。一方、テキサノールは、ヒト TRPA1 に対して濃度依存的な活性化を引き起こし、典型的な Sigmoid 型の濃度反応曲線を示したのに対し (EC<sub>50</sub>; 173  $\mu\text{M}$ )、マウス TRPA1 では、250  $\mu\text{M}$  を超える濃度範囲で活性が阻害されるベル型の挙動を示した。一方、TXIB については、ヒトおよびマウス TRPA1 に対する活性化作用は認められなかった。しかし、TXIB の加水分解代謝物であるテキサノールがヒト TRPA1 に対する活性化作用を有することから、生体内に取り込まれた TXIB がカルボキシエステラーゼによって加水分解を受けたのちにヒト TRPA1 の活性化を引き起こす可能性も考えられる。

次に、香料としても用いられ、室内空気中からも検出事例のある単環式モノテルペン類 (-)-Menthol および  $\alpha$ -Terpineol、非環式モノテルペン類 (-)-Citronellal および Linalool について検討を行った結果、(-)-Menthol と (-)-Citronellal に特筆すべき種差が認められた。(-)-Menthol では、ヒト TRPA1 が典型的な Sigmoid 型の濃度反応曲線を示したのに対し、マウス TRPA1 の場合は 100  $\mu\text{M}$  を超える濃度範囲で活性が阻害されるベル型の挙動が観察された。また、(-)-Citronellal ではヒトおよびマウス TRPA1 に対する EC<sub>50</sub> 値に 3 倍程度の差異が認められた。これらの結果は、室内空気中の化学物質による気道刺激性について、動物実験の結果をヒトに外挿する際には慎重な考察が必要であることを示している。

一方、室内環境中に存在する可能性のある 27 化合物について DPRA による感作性評価を実施した結果、香料の Methyl Jasmonate、防腐剤である 2-Bromo-2-nitro-1,3-propanediol (Bronopol) とその分解生成物である Bromonitromethane 並びに 2-Bromoethanol、および芳香族第一級アミンである 2,4-Diaminotoluene の 5 化合物が陽性と分類された。これらの中で、Methyl Jasmonate についてはヒトや動物試験では感作性が認められていない。ホルムアルデヒドドナー型防腐剤 Bronopol の感作性については従来はホルムアルデヒドの影響が指摘されていたが、本研究により分解物生成物である Bromonitromethane および 2-Bromoethanol に起因することが示唆された。また、Bronopol については Lys/Cys が 0.2 を超えていることから、気道感作性を有する可能性も考慮して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

健康影響が危惧される室内環境化学物質の詳細リスク評価に向けて、優先順位付けのためのハザード情報の網羅的な収集をおこなうため、平成 28 年度は、我が国の GHS 分類 (JP-GHS) 評価結果をもとに、呼吸器感作性・刺激性に関連すると想定されるエンドポイントである皮膚感作性、皮膚刺激性、眼刺激性について網羅的検索を行い、それぞれの障害性を有する化学物質の共通性について検討を行った。その結果、特に刺激性については共通性が高く、皮膚および目で刺激性が陽性である物質については呼吸器刺激性の蓋然性が高くリスク評価の優先度が高いと結論された。一方、感作性については、ヒトで呼吸器感作性が報告されている概ねすべて化合物が皮膚感作性物質であることが明らかとなった。さらに、化学構造との関連性について解析した結果、気道・皮膚いずれについても感作性が報告されている物質が多く含まれる化学構造的特徴が明らかとなっ

た。すなわち、クロム、コバルト、ニッケルおよび白金の他に、金属元素非含有物質では、カルボン酸無水物、ジイソシアナートに分類された物質群では、皮膚感作性について情報が得られている物質は全て陽性であり、また呼吸器感作性について一部の物質について情報がないものの、大部分の物質については陽性であった。アクリル酸、アニリン、エポキシド、フェノールに分類された物質の多くは、皮膚感作性陽性であったが、呼吸器感作性について情報 (陽性) の得られている物質は限られていた。これらの物質群については、呼吸器刺激性の報告がある物質も多く、現時点では呼吸器感作性を惹起する可能性を否定出来ないことから注意が必要であろう。これらの解析結果から、メカニズム的に関連する他の障害性エンドポイントの情報や化学構造的特徴が、経気道曝露による障害性のスクリーニング評価における補完情報として有用であることが示された。

有害性にかかる情報を網羅的に収集し、n-ブタノール、d-リモネン、 $\alpha$ -ピネン、プロピレングリコールモノメチルエーテル (PGME)、プロピレングリコールモノメチルエーテルアセテート (PGMEA)、ジエチレングリコールモノメチルエーテル (DEGME)、ジエチレングリコールモノエチルエーテル (DEGEE) の RfC を導出した。次に、導出した RfC をもとに、国立医薬品食品衛生研究所が実施した全国調査におけるそれぞれの化学物質の最高濃度に対して MOE を算出した。その結果、優先度 A (MOE が 1 未満) の化合物は既築住宅では存在しなかったものの、新築住宅では冬期のジエチレングリコールモノエチルエーテル、プロピレングリコールモノメチルエーテルアセテートおよび  $\alpha$ -ピネンの 3 物質が該当した。また、さらなる情報収集が必要とされる優先度 B (MOE が 1 以上 10 未満) の化合物には、既築住宅の  $\alpha$ -ピネン (夏期、冬期)、新築住宅のジエチレングリコールモノメチルエーテル (冬期) が該当した。これらの評価結果から、今後、グリコールエーテル類やグリコールエ

ステル類などの親水性溶剤の他に、天然由来の化合物についても詳細な曝露評価を進めていく必要があると考えられる。

#### C-4 定量的 VOC 放散データベースの構築

壁紙および床用敷物等の内装材 40 製品を対象として放散試験を実施した結果、計 48 化合物の多種多様な VOC が同定された。壁紙については 2,4,6-Trimethyloctane、n-Octane 等の飽和炭化水素に加え、Toluene が主要な放散物質として検出された。床用敷物については、クッションフロアから柔軟剤として使用される Formamide が、フロアタイルから 2-Ethyl-1-hexanol が、また、カーペットから 2,2,4,6,6-Pentamethylheptane, 2,2,4,4,-Tetramethyloctane 等が主要な放散物質として検出された。シックハウス症候群との因果関係が指摘されている 2-Ethyl-1-hexanol については、ほぼすべての製品からの放散が確認された。中でもクッションフロアやフロアタイルからの放散量が高く、可塑剤の加水分解によって生じたものであると推察された。

#### 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、PBPK-CFD モデルを CSP モデルに統合した一連の解析モデルを構築して床材から放散されたホルムアルデヒドの曝露を想定した予備的な解析に適用し、気道内の部位によって濃度が著しく異なることを示した。気道内での代謝変換にかかるパラメーター、ならびに計算化学による空気-粘液分配係数を導入することにより、一層精緻なモデルの構築を目指す予定である。

研究課題 2) では、気道の感覚神経などで発

現する侵害受容チャネル TRPA1 について、顕著な種差を示す化合物が存在することを明らかにした。この結果から、気道刺激性を評価する際には、ほ乳動物とヒトとの種差を考慮に入れて慎重に外挿する必要があることが明らかとなった。また、DPRA 法が室内環境化学物質の感作性を評価する上で有用な試験系であること示し、防腐剤 Bronopol およびその代謝物が DPRA 陽性物質であることを明らかとした。

研究課題 3) では、わが国の GHS 分類評価結果をもとに、呼吸器感作性・刺激性に関連する可能性のある皮膚感作性、皮膚刺激性、眼刺激性などについて網羅的な検索を行い、それぞれの化合物の化学構造的な特徴を明らかとした。また、室内空気中の化学物質の有害性にかかる情報を網羅的に収集して RfC を導出し、室内空気全国調査における最高検出濃度を基に、初期リスク評価を行った。

研究課題 4) では、放散試験の結果から、2-エチル-1-ヘキサノールの重要な放散源としてフロアタイル、カーペットなどを同定した。

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. 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 May 12. doi: 10.1007/s00204-017-1982-1.
2. 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.
  3. 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.
  4. Hanioka N., Isobe T., Kinashi Y., Tanaka-Kagawa T., Jinno H.: Hepatic and intestinal glucuronidation of mono(2-ethylhexyl) phthalate, an active metabolite of di(2-ethylhexyl) phthalate, in humans, dogs, rats and mice: an in vitro analysis using microsomal fractions. *Arch Toxicol*, 2016, 90(7):1651–1657.
  5. Isobe T., Kofuji K., Okada K., Fujimori J., Murata M., Shigeyama M., Hanioka N., Murata Y.: Adsorption of histones on natural polysaccharides: The potential as agent for multiple organ failure in sepsis. *Int J Biol Macromol*, 2016, 84:54–57.
  6. Nguyen Lu Phuong, Masato Yamashita, Sung-Jun Yoo, Kazuhide Ito, Prediction of convective heat transfer coefficient of human upper and lower airway surfaces in steady and unsteady breathing conditions, *Building and Environment*, 100, 2016, pp172-185
  7. Kazuhide Ito : Toward the development of an in silico human model for indoor environmental design, *Proceedings of the Japan Academy- Series B*, Vol.92, No.7, 2016, pp 185-203
  8. Kazuhide Ito, Koki Mitsumune, Kazuki Kuga, Nguyen Lu Phuong, Kenji Tani, Kiao Inthavong, Prediction of convective heat transfer coefficients for the upper respiratory tracts of rat, dog, monkey, and humans, *Indoor and Built Environment*, 2016, Accepted, (DOI: 0.1177/1420326X16662111)
  9. Alicia Murga, Sung-Jun Yoo and Kazuhide Ito, Multi-stage downscaling procedure to analyze the impact of exposure concentration in a factory on a specific worker through CFD, *Indoor and Built Environment*, 2016, Accepted, (DOI: 10.1177/1420326X16677331)
  10. Ping Wang, Wenhao Chen, Jiawen Liao, Toshiki Matsuo, Kazuhide Ito, Jeff Fowles, Dennis Shusterman, Mark Mendell, Kazukiyo Kumagai : A Device-independent Evaluation of Carbonyl Emissions from Heated Electronic Cigarette Solvents, *PLOS ONE* 12(1): e0169811, 2017
  11. Kazuhide Ito : In silico human model for fluid-initiated indoor environmental design, *Indoor and Built Environment*, 2017; 26 (3) Accepted, (DOI:10.1177/1420326X17697290)
  12. Kazuki Kuga, Kazuhide Ito, Sung-Jun Yoo, Wenhao Chen, Ping Wang, Jiawen Liao, Jeff Fowles, Dennis Shusterman, Kazukiyo Kumagai, First- and second-hand smoke exposure assessment from e-cigarettes using integrated numerical analysis of CFD and a computer-simulated person with a respiratory tract model, *Indoor and Built Environment*, 2017, Accepted, (DOI: 10.1177/1420326X17694476)
  13. Sung-Jun Yoo and Kazuhide Ito, Numerical Prediction of Tissue Dosimetry in Respiratory Tract using Computer Simulated Person integrated with physiologically based pharmacokinetic (PBPK)-computational fluid dynamics (CFD) Hybrid Analysis, *Indoor and Built Environment*, 2017, Accepted, (DOI: 10.1177/1420326X17694475)

14. Nakamori S, Takahashi J, Hyuga S, Tanaka-Kagawa T, Jinno H, Hyuga M, Hakamatsuka T, Odaguchi H, Goda Y, Hanawa T, Kobayashi Y. : Ephedra Herb extract activates/ desensitizes transient receptor potential vanilloid 1 and reduces capsaicin-induced pain. *J Nat Med.* 2017 Jan;71(1):105-113. doi: 10.1007/s11418-016-1034-9. Epub 2016 Sep 8.
15. 清水久美子・秋山卓美・伊佐間和郎・河上強志・五十嵐良明: グアニジン系加硫促進剤の感作性評価と家庭用ゴム製品の実態調査, 国立衛研報, 134, 42-49, 2016.
16. M. Matsumoto, H. Todo, T. Akiyama, M. Hirata-Koizumi, K. Sugibayashi, Y. Ikarashi, A. Ono, A. Hirose and K. Yokoyama ; Risk assessment of skin lightening cosmetics containing hydroquinone.; *Regul Toxicol Pharmacol*, 81,128–135 (2016)
17. M. Hirata-Koizumi, R. Ise, H. Kato, T. Matsuyama, T. Nishimaki-Mogami, M. Takahashi, A. Ono, M. Ema and A. Hirose ; 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.; *J Toxicol Sci*, 41,(5) 693–700 (2016)
18. Azuma K, Ikeda K, Kagi N, Yanagi U, Osawa H. Evaluating prevalence and risk factors of building-related symptoms among office workers: Seasonal characteristics of symptoms and psychosocial and physical environmental factors. *Environ Health Prev Med*, in press, 2017.
19. Azuma K, Tanaka-Kagawa T, Jinno H. Health risk assessment of inhalation exposure to 2-ethylhexanol, 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate, and texanol in indoor environment. *Proceedings of the 14th International Conference on Indoor Air Quality and Climate*, 2016, ID168, 7 pages.
20. Azuma K, Uchiyama I, Tanigawa M, Bamba I, Azuma M, Takano H, Yoshikawa T, Sakabe K. Association of odor thresholds and responses in cerebral blood flow of the prefrontal area during olfactory stimulation in patients with multiple chemical sensitivity. *PLoS ONE*; 11(12): e0168006, 2016. doi:10.1371/journal.pone.0168006.
21. Azuma K, Kouda K, Nakamura M, Fujita S, Tsujino Y, Uebori M, Inoue S, Kawai S. Effects of inhalation of emissions from cedar timber on psychological and physiological factors in an indoor environment. *Environments*; 3(4):37, 2016. doi:10.3390/environments3040037.
22. Bamba I, Azuma K. Psychological and physiological effects of Japanese cedar indoors after calculation task performance. *Journal of the Human-Environment System*; 18(2):33–41, 2016.
23. 東 賢一. 室内空気汚染の健康リスク. *臨床環境医学*; 25(2), in press, 2017.

#### 学会発表

1. 磯部 隆史, 黒田 勝也, 大河原 晋, 香川 (田中) 聡子, 神野 透人, 埴岡伸光: 4-tert-オクチルフェノールの肝および小腸ミクロゾームによるグルクロン酸抱合反応の種差, 日本薬学会第 137 年会, 仙台, 2017 年 3 月 24–27 日
2. 香川 (田中) 聡子, 大河原 晋, 磯部 隆史, 埴岡 伸光, 神野 透人: 消毒副生成物・ハロアセトアミドによるヒト侵害受容器 TRPA1 の活性化, 日本薬学会第 137 年会, 仙台, 2017 年 3 月 24–27 日
3. 大河原 晋, 岩田 哲, 磯部 隆史, 埴岡伸光, 神野 透人, 香川 (田中) 聡子: ヒト由来培養細胞株における 2-n-Octyl-4-isothiazolin-3-one に対する感受性の差違,

- 日本薬学会第 137 年会, 仙台, 2017 年 3 月 24-27 日
4. 神野 透人, 浅井 理香, 野中 志保, 戸邊 隆夫, 青木 明, 岡本 誉士典, 植田 康次, 大河原 晋, 磯部 隆史, 埴岡 伸光, 香川 (田中) 聡子: タバコ煙による侵害刺激受容体活性化の種差に関する研究, 平成 28 年 室内環境学会学術大会, つくば, 2016 年 12 月 15-16 日
  5. 香川 (田中) 聡子, 大河原 晋, 磯部 隆史, 埴岡 伸光, 神野 透人: 香料アレルギーによる気道刺激に関する研究, 平成 28 年 室内環境学会学術大会, つくば, 2016 年 12 月 15-16 日
  6. 大河原 晋, 河野 みどり, 中村 心一, 和田 光弘, 磯部 隆史, 埴岡 伸光, 神野 透人, 香川 (田中) 聡子: イソチアゾリン系抗菌剤の BEAS-2B 細胞における細胞毒性およびサイトカイン産生能に対する影響, フォーラム 2016 衛生薬学・環境トキシコロジー, 品川, 2016 年 9 月 10-11 日
  7. Sung-Jun Yoo and Kazuhide Ito, Numerical Prediction of Airway Tissue Dosimetry using PBPK-CFD Hybrid Model integrated into Computer Simulated Person, Indoor Air 2016, The 14th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, Belgium, Paper ID:697
  8. Kazuki Kuga, Toshiki Matsuo, Sung-Jun Yoo, Kazuhide Ito, Wenhao Chen, Ping Wang, Jiawen Liao, Jeff Fowles, Dennis Shusterman, Kazukiyo Kumagai, Numerical Prediction of Contaminant Distributions in Human Respiratory Tract for Exposure Assessment to E-Cigarettes, Indoor Air 2016, The 14th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, Belgium, Paper ID:748
  9. Yusuke Sano, Alicia Murga, Yoichi Kawamoto, Kazuhide Ito, Dynamic downscaling analysis of air quality from urban to human scale: Part 1 Integration of WRF and CFD to predict wind pressure coefficient distribution, Indoor Air 2016, The 14th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, Belgium, Paper ID:722
  10. Alicia Murga, Yusuke Sano, Yoichi Kawamoto, Kazuhide Ito, Dynamic downscaling analysis of air quality from urban to human scale: Part 2 Exposure concentration analysis in a Large Factory Space, Indoor Air 2016, The 14th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, Belgium, Paper ID:721
  11. Koki Mitsumune, Kazuki Kuga, Sung-Jun Yoo and Kazuhide Ito, Computational modeling of airflows and gas-phase contaminant dispersion in the respiratory tracts of dog, monkey, and humans, IAQVEC 2016, South Korea, Paper ID:1274
  12. Sung-Jun Yoo and Kazuhide Ito, PBPK-CSP-CFD Hybrid Analysis for Estimating Indoor Air Quality and Airway Tissue Dosimetry, IAQVEC 2016, South Korea, Paper ID:1313
  13. Ji-Woong Kim, Kazuki Kuga, Shin-ichiro Aramaki, Nguyen Lu Phuong, and Kazuhide Ito, Flow Visualization in a Realistic Replica a Model of Monkey Respiratory Tract using Particle Image Velocimetry, IAQVEC 2016, South Korea, Paper ID:1484
  14. 松本秀真, 久我一喜, 劉 城準, 伊藤一秀: 咳由来の飛沫・飛沫核の輸送モデルと CFD-CSP との連成解析, 日本建築学会九州支部研究発表会・研究報告, 2017.3, pp 385-388
  15. 久我一喜, 伊藤一秀: e-Cigarette を対象とした経気道暴露シミュレーション (第 3 報) 総合的な経気道曝露評価のための下気道モデル: 日本建築学会九州支部研究発表会・研究報告, 2017.3, pp 297-280
  16. 劉 城準, 伊藤一秀: 呼吸器系詳細形状を再現した Computer Simulated Person の開

- 発 (第1報) (第3報) PBPK-CSP-CFD 連成解析による経気道曝露リスクの定量評価: 日本建築学会九州支部研究発表会・研究報告, 2017.3, pp 293-296
17. 光宗航基, 伊藤一秀: ラット・イヌ・サル・ヒトを対象とした上気道内流れ場と換気効率解析: 日本建築学会九州支部研究発表会・研究報告, 2017.3, pp 301-304
  18. 河上強志・伊佐間和郎・香川聡子・神野透人: 家庭用水性スプレー製品中のグリコール類等の実態と製品使用時の平均室内空気中濃度の推定, 第 25 回環境化学討論会 (2016.6)
  19. 河上強志・伊佐間和郎・五十嵐良明: ポリウレタン製繊維製品に使用されたベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の簡易分析法の検討と実態調査, 第 25 回環境化学討論会 (2016.6)
  20. 河上強志・秋山卓美・五十嵐良明: 酸化染毛剤による皮膚障害の防止方策に関する研究, 第2回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム 2016 (2016.9)
  21. 河上強志・伊佐間和郎・五十嵐良明: 繊維製品中のアレルギー性金属に関する調査, 第 46 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会・学術大会 (2016.11)
  22. 河上強志・伊佐間和郎・五十嵐良明: ポリウレタン繊維製品におけるベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の使用傾向, 第 53 回全国衛生化学技術協議会年会 (2016.11)
  23. 河上強志・伊佐間和郎・香川聡子・神野透人: 室内空気中グリコール類濃度に対する家庭用水性スプレー製品の寄与, 第 53 回全国衛生化学技術協議会年会 (2016.11)
  24. 秋山卓美・清水久美子・河上強志・伊佐間和郎・五十嵐良明: グアニジン系加硫促進剤 4 種の感作性及び家庭用ゴム製品中の含有量, 第 53 回全国衛生化学技術協議会年会 (2016.11)
  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, 日本薬学会大 137 年会 (2017.3)
  26. A. Ono, J. Ciloy, M. Matsumoto, M. Takahashi, T. Kawamura and A. Hirose :Development and validation of a QSAR model to classify chemicals for toxic potency of sub-acute repeated dose toxicity. 17th International Conference on QSAR in enviromental and health sciences (2016.6, Miami Beach, Florida, USA)
  27. A. Ono, H. Jinno and A. Hirose : Comparative analysis of respiratory and skin sensitization potential of chemicals using Japanese GHS classification.. The 52nd Eurotox2016 (2016.9, Sevilla, Spain)
  28. A. Ono, H. Jinno and A. Hirose :Evaluation of the OECD QSAR Toolbox in the screening of chemical sensitizer.. The 14th International Congress of Toxicology (2016.10, Merida, Mexico)
  29. Azuma K, Tanaka-Kagawa T, Jinno H. Health risk assessment of inhalation exposure to 2-ethylhexanol, 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate, and texanol in indoor environment. 14th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, Ghent, Belgium, 3-8 July, 2016.
  30. Azuma K, Tanaka-Kagawa T, Jinno H. Health risk assessment of inhalation exposure to cyclic dimethylsiloxanes, glycols, and acetic esters in indoor environments. 28th Annual International Society for Environmental Epidemiology Conference, Rome, Italy, 1-4 September 2016.
  31. 東 賢一. 室内空気汚染の健康リスク. 第 25 回日本臨床環境医学会学術集会, 郡山, 2016 年 6 月 17 日.
  32. 東 賢一. 住環境における健康リスク要因とそのマネジメント. 第 87 回日本衛

- 生学会学術総会, 宮崎, 2017年3月26日-28日.
33. 酒井信夫, 田原麻衣子, 遠山友紀, 五十嵐良明 “シックハウス (室内空気汚染) 問題に係る規制状況調査 —低分子環状シロキサン—”第2回 次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム, 2016年9月
34. 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, 高橋美保, 竹熊美貴子, 藺部真理奈, 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, 南真紀, 中嶋智子, 吉田俊明, 八木正博, 新井清, 荒尾真砂, 中島亜矢子, 濱野晃, 城間朝彰 “平成27年度 室内空気環境汚染に関する全国実態調査” 第53回全国衛生化学技術協議会年会, 2016年11月
35. 酒井信夫, 田原麻衣子, 遠山友紀, 五十嵐良明 “国際機関、諸外国における低分子環状シロキサンの規制状況調査” 第53回全国衛生化学技術協議会年会, 2016年11月
36. 酒井信夫 “シックハウス (室内空気汚染) 問題に関する検討会の最新動向” 第53回全国衛生化学技術協議会年会, 2016年11月
37. 田原麻衣子, 遠山友紀, 酒井信夫, 五十嵐良明 “壁紙等の内装材から放散される揮発性有機化合物に関する研究” 第53回全国衛生化学技術協議会年会, 2016年11月
38. 田原麻衣子, 酒井信夫, 香川(田中)聡子, 神野透人, 五十嵐良明 “ウレタン製品から放散されるイソシアネート類の分析” 平成28年室内環境学会学術大会, 2016年12月
39. 斎藤育江, 大貫文, 角田徳子, 香川(田中)聡子, 千葉真弘, 上村仁, 神野透人, 酒井信夫, 鈴木俊也, 保坂三継 “石英繊維フィルターの粒子捕集効率とフタル酸エステル類の粒径分布” 平成28年室内環境学会学術大会, 2016年12月
40. 鳥羽陽, 中島大介, 遠藤治, 香川(田中)聡子, 神野透人, 斎藤育江, 杉田和俊, 酒井信夫, 星純也 “衛生試験法・注解空気試験法 多環芳香族炭化水素 (新規)” 日本薬学会第137年会, 2017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

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）  
分担研究報告書

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

気道内挙動の *in vitro/in silico* 予測

研究分担者 埴岡 伸光	横浜薬科大学	教授
研究協力者 礪部 隆史	横浜薬科大学	講師

研究要旨

室内環境汚染による健康への影響が危惧される揮発性有機化合物濃度と気道における局所的な濃度の関連性を解析するためには、化学物質の気道表面における空気と粘液との間の分配係数、ならびに粘膜における薬物代謝酵素による変換などを明確にする必要がある。気道の中でも鼻腔から気管支は揮発性有機化合物により刺激を受ける部位として知られており、揮発性有機化合物の鼻粘膜などにおける代謝を明らかにすることは局所的な暴露濃度を推定する上で重要となる。本研究では、気道における揮発性有機化合物の代謝経路および生成物を明らかにすることを目的として、気道粘膜刺激症状への関与が指摘されている TXIB およびテキサノールの *in vitro* 代謝試験を行った。2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (TXIB) は、カルボキシエステラーゼによって主に 1-hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl isobutyrate (1-HTMPIB) に代謝された。また、3-hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl isobutyrate (3-HTMPIB) も検出され、3-HTMPIB は、さらに 2,2,4-trimethylpentane-1,3-diol (TMPD) に代謝された。これらの知見は、気道粘膜刺激症状への関与が予測される TXIB およびテキサノールの局所暴露濃度を推定するための重要な情報となる。

A. 研究目的

室内空気汚染物質および総揮発性有機化合物 (TVOC) に対する室内濃度指針値や暫定目標値が設けられているが、新たな問題として、代替溶剤等の使用による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化学物質による室内環境汚染が危惧されている。このような背景から、現在では室内濃度指針値の見直しおよび対象物質の追加に関する

議論が進められており、研究代表者らは全国規模の室内環境汚染物質の実態調査を行い、新たに 2-エチルヘキサノール、テキサノール、2,2,4-トリメチル-1,3-ペンタンジオール ジイソブチレート (TXIB)、環状シロキサン類、グリコールエーテル類及び酢酸エステル類による汚染実態を明らかにした。これらの揮発性有機化合物の室内空気中の濃度と気道における局所的な濃度を関連づけるためには、気道

内での気流の状態、気道表面における空気と粘液との間の分配係数、粘膜での薬物代謝酵素による変換など、気道内での挙動を適切に見積もる必要がある。気道の中でも鼻腔から気管支は揮発性有機化合物により刺激を受ける部位として知られており、揮発性有機化合物の鼻粘膜などにおける代謝を明らかにすることは局所的な暴露濃度を推定する上で重要となる。これまでに我々は、ヒトの気道における薬物代謝酵素の発現パターンについて検討を行い、鼻腔上皮細胞での薬物代謝酵素の発現分子種を明らかにするとともに、薬物代謝酵素の中でも特にカルボキシエステラーゼ (CES) がテキサノールおよび TXIB の代謝において重要な役割を果たすことを明らかにしてきた。本研究では、CES が関与するテキサノールおよび TXIB の加水分解反応について薬物代謝学的な評価を実施した。

## B. 研究方法

気道における揮発性有機化合物の代謝プロファイルを明らかにするために、薬物代謝酵素が高発現しているヒト肝マイクロゾームを用いて気道粘膜刺激症状への関与が指摘されている TXIB およびテキサノールの *in vitro* 代謝試験を行った。

### B-1. 試験方法

ヒト肝マイクロゾームを含む 50 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.4) を 37°C で 1 分間プレインキュベーションした後、TXIB またはテキサノールを添加し、反応を開始させた。10 分間のインキュベーション後に、ヘキサンを添加することで反応を止め、内標準物質としてアントラセ

ン-d10 を加えた。ボルテックスミキサーで 1 分間攪拌した後、1,500×g で 10 分間遠心分離し、得られたヘキサン相をガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) にて分析した。

### B-2. GC/MS 条件

GC/MS 装置は日本電子株式会社の JMS-Q1000GC K9 を用いた。カラムにはレステック社製の Rtx-5MS (長さ 30 m、内径 0.25 mm、膜厚 0.25µm) を用いた。サンプルはスプリットレス法により注入した。イオン化はイオン化エネルギーを 70 eV に設定し、電子イオン化法により行った。カラムオーブンは 40°C で 1 分間保持した後、15°C/分のペースで 250°C まで上昇させ、その後 3 分間保持した。MS スペクトルは  $m/z$  値が 41 から 350 の範囲をスキャンし、SIM 測定により代謝物の定量を行った。

## C. 結果と考察

TXIB の加水分解代謝物として、1-hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl isobutyrate (1-HTMPIB)、3-hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl isobutyrate (3-HTMPIB) および 2,2,4-trimethylpentane-1,3-diol (TMPD) が報告されている。本研究で実施した分析方法により、いずれの代謝物も定量的測定が可能であった。

本件研究のヒト肝マイクロゾームを用いた *in vitro* 代謝試験では、TXIB の大部分が 1 位のエステル結合を加水分解された 1-HTMPIB へと代謝された (図 1)。一方、3-HTMPIB への代謝は僅かであった。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る。

テキサノールは TXIB 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。ヒト肝マイ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、TMPD へと代謝されたが、1-HTMPIB はほとんど代謝されなかった。TXIB 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ているためにこのような選択性が表れると考えられる。

TXIB およびテキサノールの *in vitro* 代謝試験の結果より、CES が TXIB の 1-HTMPIB への加水分解反応、および 3-HTMPIB の TMPD への加水分解反応に強く関与していることが明らかとなった。

#### D. 結論

本研究では、気道における TXIB など揮発性有機化合物の代謝プロファイルを明らかにすることを目的として、薬物代謝酵素が高発現しているヒト肝マイクロゾームを用いて TXIB およびテキサノールの *in vitro* 代謝試験を行った。その結果、図 1 に示したように、TXIB は CES によって主に 1-HTMPIB へと代謝されることが明らかとなり、また 3-HTMPIB は TMPD へと代謝されることが明らかとなった。

これらの結果より、TXIB など気道粘膜刺激症状への関与が予測される揮発性有機化合物の局所暴露濃度を推定する上で、代謝経路および生成物を明らかにすることの重要性が示唆された。

E. 研究発表（発表誌名巻号・頁・発行年等も記入）

#### 1. 論文発表

- 1) 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.
- 2) 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.
- 3) Hanioka N., Isobe T., Kinashi Y., Tanaka-Kagawa T., Jinno H.: Hepatic and intestinal glucuronidation of mono(2-ethylhexyl) phthalate, an active metabolite of di(2-ethylhexyl) phthalate, in humans, dogs, rats and mice: an *in vitro* analysis using microsomal fractions. *Arch Toxicol*, 2016, 90(7):1651–1657.
- 4) Isobe T., Kofuji K., Okada K., Fujimori J., Murata M., Shigeyama M., Hanioka N., Murata Y.: Adsorption of histones on natural polysaccharides: The potential as agent for multiple organ failure in sepsis. *Int J Biol Macromol*, 2016, 84:54–57.

#### 2. 学会発表

- 1) 磯部 隆史, 黒田 勝也, 大河原 晋, 香



川(田中) 聡子, 神野 透人, 埴岡伸光:  
4-tert-オクチルフェノールの肝および  
小腸マイクロゾームによるグルクロン酸  
抱合反応の種差, 日本薬学会第 137 年  
会, 仙台, 2017 年 3 月 24-27 日

2) 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 磯部 隆  
史, 埴岡 伸光, 神野 透人: 消毒副生成  
物・ハロアセトアミドによるヒト侵害受  
容器 TRPA1 の活性化, 日本薬学会第  
137 年会, 仙台, 2017 年 3 月 24-27 日

3) 大河原 晋, 岩田 哲, 磯部 隆史, 埴岡  
伸光, 神野 透人, 香川(田中) 聡子: ヒ  
ト由来培養細胞株における  
2-n-Octyl-4-isothiazolin-3-one に対する  
感受性の差違, 日本薬学会第 137 年会,  
仙台, 2017 年 3 月 24-27 日

4) 神野 透人, 浅井 理香, 野中 志保, 戸  
邊 隆夫, 青木 明, 岡本 誉士典, 植田  
康次, 大河原 晋, 磯部 隆史, 埴岡 伸  
光, 香川(田中) 聡子: タバコ煙によ  
る侵害刺激受容体活性化の種差に関す  
る研究, 平成 28 年 室内環境学会学術  
大会, つくば, 2016 年 12 月 15-16 日

5) 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 磯部 隆  
史, 埴岡 伸光, 神野 透人: 香料アレ  
ルゲンによる気道刺激に関する研究, 平  
成 28 年 室内環境学会学術大会, つく  
ば, 2016 年 12 月 15-16 日

6) 大河原 晋, 河野 みどり, 中村 心一,  
和田 光弘, 磯部 隆史, 埴岡 伸光, 神  
野 透人, 香川(田中) 聡子: イソチア  
ゾリン系抗菌剤の BEAS-2B 細胞におけ  
る細胞毒性およびサイトカイン産生能  
に対する影響, フォーラム 2016 衛生薬  
学・環境トキシコロジー, 品川, 2016 年  
9 月 10-11 日

#### F. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

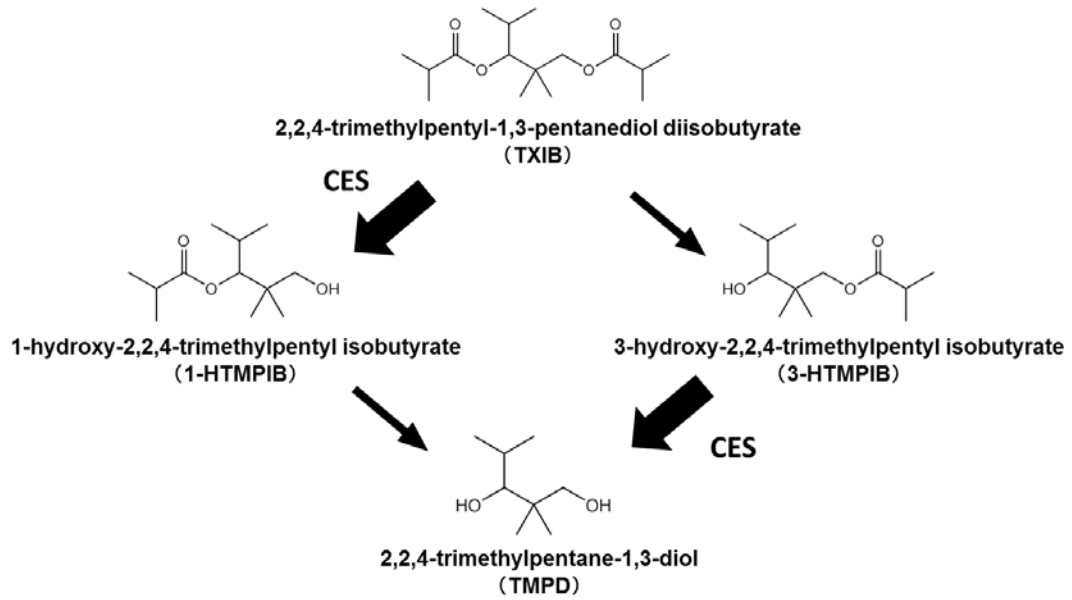
2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図 1. Carboxyl esterase (CES) による TXIB の加水分解



厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）  
分担研究報告書

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

気道内挙動の *in vitro/ in silico* 予測

研究分担者 伊藤一秀 九州大学総合理工学研究院 教授

研究要旨

本年度(2016 年度)は研究初年度(2015 年度)に作成した計算流体力学 CFD (Computational Fluid Dynamics)解析用の数値気道モデルを、頭部や胴体・手足などの幾何形状を詳細に再現した人体幾何形状モデルに統合し、室内環境中で発生した各種の汚染物質による経気道曝露予測を可能とする総合的な数値人体モデル CSP (Computer Simulated Person)を作成した。

この CSP に経気道曝露評価を目的とした生理的薬物動態解析 PBPK (Physiologically Based Pharmacokinetic)モデルを組み込むことで、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一連の解析モデルを構築した。

A. 研究目的

本研究の目的は、*in vivo* ならびに *in vitro* 試験を補完するもしくは代替可能な数値解析モデル、すなわち *in silico* モデルの開発に主眼がある。特に各種汚染物質の軌道内挙動を正確に予測した上で、健康影響を定量的に評価可能な一連の数値解析モデルの構築を目指すものである。

高い倫理的制約から、実人体(ヒト)を対象とした被験者実験の実施が非常に困難になっている。人体を用いた試験の代替法の一つとして動物実験があるが、こちらも動物愛護の点や倫理的側面で実験実施の制約が増す方向にある。実人体も用いず、サロゲートモデル(実験動物)も用いない代替法として、コンピュータ上に人

体や動物の生理を再現した数値モデル(*in silico model*)の利用があり、近年の画像処理技術と計算機能力の飛躍的向上からも期待が高まっている。

室内環境問題に着目した場合、1990 年代のシックハウス問題から、近年では PM2.5 や PM10 といった浮遊粒子状物質による空気質問題が顕在化し、深刻な健康影響が懸念されている。これらの室内空気質問題は、汚染物質を含む室内空気を呼吸によって体内に輸送する、所謂、経気道曝露の問題である。この室内環境中での経気道曝露問題に取り組むためには、室内環境中での汚染物質輸送と呼吸に伴う気道内の汚染物質輸送を同時に評価することが重要となる。

このような背景のもと、本研究では呼吸器系を送達経路とする吸入毒性試験 (Inhalation Toxicology Study) を実施するための、特に上気道を対象とした数値気道モデル (*in silico* model) の開発を行う。人体を対象としたヒトのモデルの他、小形の実験動物の代替となるラット、イヌ、サルの上気道を対象とした数値気道モデル (*in silico* model) の開発も同時に行う。鼻孔から流入した汚染物質による経気道暴露の問題を人間と実験動物で定量比較するためには、両者の鼻腔内流れ場の相違と、微粒子輸送現象の差違、気道内沈着分布の差違を定量的に把握していることが本質的に重要な課題となる。特に、空気中から鼻腔内表面(細胞組織表面)までの輸送現象把握は、流体力学分野の研究者の貢献が求められている重要かつ緊要の研究課題であり、この点で本研究の意義がある。

研究2年目である2016年度は、研究初年度(2015年度)に作成した計算流体力学 CFD (Computational Fluid Dynamics) 解析用の数値気道モデルを、頭部や胴体・手足などの幾何形状を詳細に再現した人体幾何形状モデルに統合し、室内環境中で発生した各種の汚染物質による経気道曝露予測を可能とする総合的な数値人体モデル CSP (Computer Simulated Person) を作成した。その上で、この CSP に経気道曝露評価を目的とした生理的薬物動態解析 PBPK (Physiologically Based Pharmacokinetic) モデルを組み込むことで、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一連の解析モデルを構築したので、

その概要を以下に報告する。

## B. 経気道曝露に関連する生理的薬物動態解析に関する既往研究

生理的薬物動態解析モデル開発には既に非常に長い歴史があり、また、非常に豊富な研究蓄積がある。例えば、米国 FDA (Food and Drug Administration) では薬剤使用に伴う人体影響を *in vivo* ならびに *in vitro* で評価した上で、総合的なリスク評価を PBPK モデルによるコンピュータシミュレーションで行うという手法(所謂 *in silico*) が 1980 年代より採用されている。本稿では特に経気道曝露に伴う体内での薬物動態に着目して既往研究をレビューし、モデル化の概要に関して整理する。

経気道曝露リスクを定量的に評価するためには、その第一歩として気道幾何形状を形成する粘膜上皮表面と気相側汚染物質の相互作用、即ち沈着(もしくは吸着、もしくは分配(Partitioning)とも呼ばれる)現象の詳細把握が本質的に重要な課題となる。その後、粘膜上皮に沈着した汚染物質の体内への動態をモデル化する、との手順となる。ここでガス相汚染物質を対象とする場合、気道内粘膜上皮とガス相汚染物質の相互作用は吸着現象となるが、粘膜上皮がほぼ飽和状態であれば、液相への収着(吸収)現象が支配的となる。この場合は気道内粘膜上皮がほぼ無限の吸着用量を有する Perfect Sink と見なしても大きな問題は無い(気道上流側の吸着量が大きく評価されるため曝露リスク評価上は安全側となるが、後流側への汚染物質輸送量が過小評価される危険性がある)。通常は分配定数(Partition Coefficient)を用

いた線形型(Henry 型)の吸着等温式を用いて壁面境界条件を与えることが多い。

さて、前述の通り経気道暴露に関する数値解析モデルを構築するためには、気道内の汚染物質輸送を把握した上で、空气中の汚染物質と気道内粘膜上皮との収着・沈着現象を評価し、気道内粘膜上皮から体内へ向かう汚染物質動態を解析する必要がある。このモデル化の程度には各種あり、最も単純なモデルでは CFD 解析上の壁面境界条件(汚染物質と気道内壁の界面)として粘膜上皮(nasal lining)を設定した上で、生体組織(壁面)側として 1 層 1 次元の粘膜層(mucosa)のみを仮定し、血流(blood)やその他の細胞組織は無視して解析する手法がある。この簡易モデルは、特に暴露線量評価に主眼がある場合に、気道内の気相汚染物質濃度に加えて、粘膜上皮への沈着・収着量や沈着・収着相濃度の予測評価を実施する際に適用される。

Keyhani et al (1997)は、鼻腔内での臭気物質輸送モデルを構築するため、粘膜層(Mucosa)と細胞組織層(Tissue)からなる 2 層モデルを提案し、粘膜層表面に収着し、溶解した臭気物質が粘膜層内で一次元拡散するとのモデルを提案している。また、Tian and Longest (2010)は、Keyhani らの研究を発展させて詳細形状を再現した人体気道モデル(上気道)内の CFD 解析と、粘膜層(Mucosa)、細胞組織層(Tissue)、血流(Blood)から形成される気道内壁面モデルの連成解析手法を提案している。気道内壁面モデル内は非定常の一次元拡散方程式で記述されている。このモデルは Air, Mucosa, Tissue, Blood の頭文字を取って AMTB モデルとも呼ばれる。

これらモデル化の発展系として生理的薬物動態解析モデル(Physiologically based Pharmacokinetic;以降 PBPK と表記)がある。PBPK モデルは、化学物質暴露に対する人体の化学的、解剖学的、生理学的反応の総合的な関係記述もので、一般的には、人体を部位(compartment)分割することで、各部位を一様な器官/組織としてモデル化し、部位間は空気流動/血流で接続する、というモデル化となる。人体を複数部位に分割した Multi-node タイプの人体熱モデルと同様のコンセプトである。PBPK モデルとは、部位別の AMTB モデルを統合したものと定義することが出来、PBPK モデルの中で最も単純な一部位モデルとしたものが AMTB モデルとなろう。気道モデル内腔は CFD 解析により汚染物質濃度分布を解析し、気道内壁面に対する沈着・収着フラックスもしくは沈着・収着層濃度を解析する。この沈着・収着フラックスもしくは沈着・収着層濃度が PBPK モデルの壁面境界条件(初期条件)となり、汚染物質の動態解析が実施される。PBPK の各部位内は一般に一次元の反応拡散方程式にてモデル化される。Andersen らが PBPK モデルと CFD との先駆的な連成解析事例を報告している。

AMTB モデルや PBPK モデルを用いて吸入毒性(Inhalation Toxicity)の評価を行う目的は、一つに、環境調整のための閾値やガイドライン値を正しく設定するための基本情報を得ることにある。すなわち、経気道暴露の参照濃度(Reference Concentration: RfC)の整備にあるが、これら数理モデルの精度は Compartment 内の拡散係数や Partition Coefficient の精度に

強く依存する。これらの係数も現時点では単純な水中の値を適用するなど、実人体の細胞組織の厳密なモデル化と実細胞を用いた計測データによる境界条件設定までは到達しておらず、予測精度向上に向けた多くの課題が残されている。

### C. CSP に統合する PBPK-CFD モデルの概要

本研究では RA Corley らの煙草煙中に含まれるアルデヒド類を対象とした経気道暴露の PBPK-CFD モデルを基に、気道 (Airway)、粘膜上皮 (Epithelium+Mucus)、上皮組織 (Subepithelium) の 3 層 (正確には CFD 解析で 1 層、PBPK モデルとして 2 層) からなる PBPK-CFD モデルを CSP の数値気道モデルに統合する。本研究で適用する PBPK-CFD モデルの概要を図 1 に示す。図 1 は気道内の内腔 (流体解析領域) と内腔に接する気道粘膜上皮、上皮組織の模式図である。以下、PBPK-CFD の支配方程式を説明する。

#### C.1. 気道内 CFD 解析による汚染物質濃度場解析

本報での CFD 解析では、特に数値気道モデル内は低 Re 型 k-ε モデルを用いて粘性底層内まで解像した解析を行う。流れ場解析と連成して (1) 式の汚染物質の輸送方程式を解く。

$$\frac{\partial \bar{C}_a}{\partial t} + \frac{\partial \bar{U}_i \bar{C}_a}{\partial x_i} = \frac{\partial}{\partial x_i} \left\{ \left( D_a + \frac{v_i}{\sigma} \right) \frac{\partial \bar{C}_a}{\partial x_i} \right\} \quad (1)$$

ここで、 $C_a$  は気相の汚染物質濃度 [ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ] (ここで  $\text{m}^3$  は単位空気体積)、 $D_a$  は汚染物質の分子拡散係数 [ $\text{m}^2/\text{s}$ ] を示すが、本報では代表的な室内空気汚染物質

としてホルムアルデヒドを対象とする。 $v_i$  は RANS モデルによる解析で算出される渦動粘性係数、 $\sigma$  は乱流シュミット数である。

気道内の空気-壁面 (ここでは粘膜上皮) 境界面では (2) 式を壁面条件として与える (粘性底層内での拡散フラックス保存)。

$$D_a \frac{\partial C_a}{\partial n} = D_t \frac{\partial C_t}{\partial n} \quad (2)$$

ここで、 $D_t$  は粘膜上皮内でのホルムアルデヒド拡散係数 [ $\text{m}^2/\text{s}$ ] を、 $C_t$  は粘膜上皮内での汚染物質 (ホルムアルデヒド) 濃度 [ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ] (ここでの  $\text{m}^3$  は単位粘膜組織体積)、 $n$  は境界面での法線方向座標を示す。また粘膜上皮内での汚染物質濃度は気相濃度を用いて次式で与える。

$$C_t = P_{t,air} C_a \quad (3)$$

ここで、 $P_{t,air}$  は Partition Coefficient [ $\text{m}^3(\text{air})/\text{m}^3(\text{tissue})$ ] と呼ばれ、気相濃度と粘膜上皮相濃度の分配を示す。(3) 式の右辺の濃度  $C_t$  と左辺の濃度  $C_a$  は濃度単位中の対象とする体積  $\text{m}^3$  が空気と粘膜組織で異なるため、 $P_{t,air}$  の単位 [ $\text{m}^3/\text{m}^3$ ] は有次元と見なすのが妥当である。この関係を、吸着等温式と見なせば線型モデル (Henry モデル) に相当する。

#### C.2. 粘膜上皮 (Epithelium+Mucus) 内での汚染物質輸送

気道内の気相から粘膜上皮表面 (気相との界面) に沈着した汚染物質 (本報ではホルムアルデヒドを対象) は、粘膜上皮内で脱水素酵素による代謝クリアランス (Saturable metabolic clearance by aldehyde dehydrogenase enzymes)、組織内高分子と

の非特異的反応(First-order non-specific reactions with Tissue macromolecules)ならびに非特異的結合(Non-specific binding)によるクリアランスの他, 粘膜上皮内を拡散移動する.  $C_t$  は前述のとおり粘膜上皮内での汚染物質(ホルムアルデヒド)濃度を示しており, 単位粘膜組織体積  $m^3$  あたりの汚染物質量として濃度が定義されている.

$$\frac{\partial C_t}{\partial t} = -\frac{(V_{max1C})C_t}{K_{m1} + C_t} - K_f C_t - K_b C_t + D_t \nabla^2 C_t \quad (4)$$

ここで,  $V_{max1C}$  [ $\mu g/m^3/s$ ]ならびに  $K_{m1}$  [ $\mu g/m^3$ ]は脱水素酵素による代謝クリアランスのモデルパラメータを示す.  $K_f$  ならびに  $K_b$  は一次反応速度定数 [ $s^{-1}$ ],  $D_t$  は粘膜上皮内でのホルムアルデヒド拡散係数 [ $m^2/s$ ]を示す. (4)式はいわゆる反応-拡散系と呼ばれる数理構造を示しており, 右辺第一項は Michaelis- Menten 式として良く知られる.

粘膜上皮-上皮下組織の界面では次式で濃度変換する.

$$C_b = P_{bt} C_t \quad (5)$$

ここで,  $P_{bt}$  は粘膜上皮-上皮下組織の界面での Partition Coefficient [ $m^3/m^3$ ]である.  $C_b$  は上皮下組織内での汚染物質(ホルムアルデヒド)濃度 [ $\mu g/m^3$ ]を示す.

### C.3. 上皮下組織 (Subepithelium)内での汚染物質輸送

粘膜上皮内を拡散移動した汚染物質(ホルムアルデヒド)は, 続いてその下層組織である上皮下組織に輸送される(界面での境界条件はフラックス保存). 上皮下組織内の輸送モデルは, 組織内高分子との非特異的反応ならびに非特異的結合による

クリアランスの他, 血流による上皮下組織外への輸送, 組織内での拡散, より構成される(上皮下組織内でのホルムアルデヒドの代謝クリアランスは非常に小さく一般に無視される).

$$\frac{\partial C_b}{\partial t} = -K_f C_b - K_b C_b - (Q_b/V_b)C_b + D_b \nabla^2 C_b \quad (6)$$

ここで,  $Q_b$  は上皮下組織における血流量 [ $m^3/s$ ],  $V_b$  は上皮下組織の体積 [ $m^3$ ]を示す.  $D_b$  は上皮下組織内でのホルムアルデヒド拡散係数 [ $m^2/s$ ]を示す.

また, 上皮下組織の下端の境界条件は次式で与える.

$$\frac{\partial C_b}{\partial x} = 0 \quad (7)$$

### D. PBPK-CFD 連成解析にむけた予備解析

数値気道モデル内の CFD 解析と汚染物質濃度場解析((1)式)と連成して, (2)式から(7)式を解析することで非定常の経気道曝露リスクの定量評価が可能となる. しかしながら, 例えば空気-粘膜上皮の境界面で Partition Coefficient を用いた(3)式の平衡を仮定した上で, (2)式のフラックス保存を境界条件として与えるためには, 拡散条件を満足する非常に短いタイムステップにて解析を行う必要がある(本解析条件では  $\Delta t < 10^{-5}$  [s]). 一般に, 経気道曝露に関連する汚染物質(ホルムアルデヒド)輸送現象は, 気道内腔の空気側の移流拡散抵抗と比較して, 生体粘膜組織側の反応拡散抵抗が支配的であり, 粘膜組織側の反応拡散速度が全体の輸送現象を律速する. そのため, 人体モデルを含む室内環境解析と気道粘膜組織内の PBPK 解

析は、気相-粘膜上皮の界面濃度を介して、両者を分離して解析する Quasi-Coupling による計算手法を採用することが計算負荷低減の観点では有効となる。この数値解析手法を用いる場合には、特に人体モデルを含む室内環境側の濃度解析の際には、気道内粘膜上皮相の界面濃度を含めて全ての汚染物質濃度を気相(空気)側の体積基準で定義した気相換算濃度で再定義することが簡便である。気道内粘膜上皮相側の界面濃度を気相換算濃度とする場合、(3)式の左右の濃度次元が同一となるため、この場合の Partition Coefficient  $P_{t,air}$  は無次元となる。

さて、空気-粘膜上皮の境界面での濃度定義点を図 2 に簡略化して示す。本節ではこの境界面濃度を算出するために予備的な感度解析を実施し、粘膜上皮相濃度の気相換算濃度と無次元の Partition Coefficient  $P_{t,air}$  を推定する。

気相ならびに粘膜上皮の境界濃度は、図 2 に示すとおり気相濃度  $C_{a,0}$  と粘膜上皮濃度  $C_{t,0}$  の 2 種類で表現される。壁面表面濃度を算出するため、本解析では ( $C_{a,0}^{n+1} + C_{t,0}^{n+1} \approx C_{a,0}^n + C_{t,0}^n$ ,  $n$  は反復計算のステップ)を仮定し、(3)式を用いて次式を設定した。

$$C_{a,0}^{n+1} = \frac{1}{1 + P_{t,air}} (C_{a,0}^n + C_{t,0}^n)$$

$$C_{t,0}^{n+1} = \frac{P_{t,air}}{1 + P_{t,air}} (C_{a,0}^n + C_{t,0}^n)$$

上式を拡散条件を満たすタイムステップ  $\Delta t = 10^{-5}$  [s] の条件で、気相内腔と気道粘膜組織を再現した非定常 1 次元解析を実施した。その際、気道内腔の空気層の他、粘膜上皮層 ( $L_t = 0.0665$  mm) ならびに上皮

下組織層 ( $L_b = 0.015$  mm) を設定した上で、組織層は各々法線方向に 5 分割以上することで(4)式ならびに(6)式を離散化した上で代数的に解く。気道内腔をモデル化した気相側は、粘性底層を想定し、移流を無視して拡散項のみを解く。汚染物質の境界条件として、気相側にホルムアルデヒド濃度  $C_{in} = 1.0$   $\mu\text{g}/\text{m}^3$  (気相濃度) を一定値として与えた。この 1 次元非定常解析による定常濃度分布解析結果を図 3 に示す。

気相 - 粘膜上皮相間の Partition Coefficient として RA Corley ら<sup>15)</sup>の推定値  $P_{t,air} = 101.5 [\text{m}^3(\text{air}) / \text{m}^3(\text{tissue})]$  を用いた場合の、気道内腔側の気相と粘膜上皮相の界面濃度は、定常時には各々  $C_{0,a} : 0.0183$   $[\mu\text{g}/\text{m}^3(\text{air})]$ ,  $C_{0,t} : 1.8631$   $[\mu\text{g}/\text{m}^3(\text{tissue})]$  となった。

この気相側ならびに粘膜上皮側の界面濃度の値より、全てを気相換算濃度で統一した場合の無次元 Partition Coefficient を定義することが出来る<sup>注 1)</sup>。ここでは、気相側の界面濃度である  $C_{a,0}$  の算出結果と、粘膜上皮相側の界面近傍第 1 セル濃度  $C_{a,1}$  との比を取ることで、粘膜相側の反応拡散抵抗を加味した無次元の  $P_{t,air}$  を算出すると、0.16 [-] と同定された。

(8) 前述のとおり、(1)式から(7)式を気道内の 3 次元的な幾何形状を考慮した上で連成解析する計算負荷は甚大となる。そのため、(3)式の分配定数を気相側濃度次元のみで記述した無次元 Partition Coefficient を用いることで、気道内の CFD 解析と PBPK モデルを分離して解析する Quasi-Coupling による計算手法を採用することも可能となる。



## E. モデル室内を想定した PBPK- CSP- CFD 連成解析の概要

本研究では室内に設置された建材から放散されるホルムアルデヒドを想定し、モデル室内でのホルムアルデヒドの濃度分布解析と数値人体モデル CSP を用いた経気道暴露濃度予測を行う。解析対象空間と数値気道モデルを統合した数値人体モデルを図 4 に示す。

数値気道モデルを統合した数値人体モデル周囲ならびに内部のメッシュ分割は数値気道内では PBPK モデルと連成させるために、粘膜上皮層( $L_t=0.0655$  mm)ならびに上皮組織層( $L_b=0.015$  mm)を設定し、各々法線方向に 5 分割以上することで(4)式ならびに(6)式を離散化した上で代数的に解く。界面濃度は(8)式ならびに(9)式を適用して解く。本節での解析は 4 節で示した無次元 Partition Coefficient を用いた CFD-CSP-PBPK の Quasi-Coupling ではなく、全てを完全連成した解析を実施する。

CFD 解析の境界条件ならびに数値解析条件を表 2 に整理して示す。PBPK モデルの各モデルパラメータは RA Corley らの計算事例を参考に決定した表 1 に示した条件と同一。

模擬的な置換換気を想定した給気口からは換気回数  $ACH=12\text{ h}^{-1}$  に相当するホルムアルデヒド濃度ゼロの新鮮空気を供給する( $V_{in,r}=0.1\text{ m/s}$ )。対象とする汚染物質であるホルムアルデヒドは、清浄空気供給量とホルムアルデヒド発生量のみから算出されるモデル室内の完全混合濃度が  $100\mu\text{g}/\text{m}^3$  となる場合を想定し、床面に一定発生量(一定フラックス)を与えた。CFD

の条件として、本解析では定常呼吸を仮定し、人体モデルの鼻孔面に一定流入( $7.5\text{ L/min}$ )を強制対流として与えた。また、数値人体モデルには 2 Node model を人体熱モデルとして組み込んでいる(数値気道モデル内の熱・水蒸気解析と完全連成)。

## F. 数値解析結果

図 5 は人体周辺及び呼吸域における流れ場解析結果を示している。人体熱モデル(2-Node model)との連成解析を行っているため、その結果として人体発熱により人体周辺、特に頭頂部に熱上昇流が確認される。また基礎代謝時の平均定常呼吸量(吸引)を鼻孔面に与えたが、鼻孔面からの吸引気流が人体周辺の熱上昇流に与える影響は比較的狭い領域に留まっているものの、頭部の皮膚表面近傍では複雑な流れ場の形成が確認できる。人体周辺環境と共に呼吸器内(気道内)の流れ場も同時に解析している。

図 6(1)には人体周辺の温度分布解析結果を図 6(2)には床面から発生したホルムアルデヒドの室内濃度分布解析結果を示す。流れ場解析結果と同様に、人体発熱に起因する頭頂部周辺の熱上昇流の存在と、室平均温度より低い温度で床面位置より供給された供給空気による緩やかな温度成層形成の様子も確認できる。ホルムアルデヒド濃度分布に関しては、人体モデル位置を境として給気口側では低濃度となっており、人体モデル背後では天井面に沿って設置された排気口に向けて床面から発生したホルムアルデヒドが高濃度域を形成しており、室内には強い不均一分布が形成されている。人体モデ

ルの設置向きと(濃度ゼロの新鮮空気が供給される)給気口の位置関係より、人体モデル呼吸域のホルムアルデヒド濃度は室平均濃度と比較して相対的に低い濃度となっている。

図 7(1)は呼吸域から鼻腔を中心とした領域のホルムアルデヒド濃度分布解析結果を示す。鼻孔周囲まで輸送されてきたホルムアルデヒドは定常呼吸にて鼻腔内に輸送されるものの、鼻腔内粘膜上皮に吸着することで鼻腔内の空気中ホルムアルデヒド濃度は急激に低下し、鼻腔(Nasal cavity)の後流側に位置する鼻咽頭部(Nasopharynx)付近では鼻孔面位置での濃度と比較して 1/100 程度以下の濃度レベルとなった。定常呼吸を仮定した本解析条件のもとでは、鼻孔より気道内に流入したホルムアルデヒドは過半が鼻腔内壁に吸着し、咽頭、気管、気管支を經由して肺胞まで到達する割合は非常に低いことが明らかとなった(しかしながら、気管支第四分岐位置でのホルムアルデヒド濃度はゼロではなく、長期曝露に伴う積算暴露量は無視できない)。図 7(2)は気道モデルの特に鼻腔に着目した場合の粘膜上皮表面に対するホルムアルデヒドの吸着フラックスの分布を示す。鼻孔ならびに鼻腔での吸着フラックスが相対的に大きな値になっており、この領域からの体内吸収が支配的となる様子が確認できる。

本研究では、図 8 に示すように鼻腔・口腔から気管支第四分岐までの気道モデルを鼻腔(Nasal Cavity)、口腔(Oral Cavity)、咽頭・喉頭(Pharynx/Larynx)、気管(Trachea)、気管支(Main Bronchi)、細気管支(2bronchi+bronchioles)の領域に分割し、各

部位の特性を示す部位別調整係数 ( $V_{maxC}$ , region-specific adjustment factor)を各々の気道部位に適用し、各部位別に PBPK 解析を実施した。ここでは、代表的な解析事例として鼻腔(Nasal cavity)、鼻咽頭(Nasopharynx)、喉頭(Larynx)における PBPK 解析結果を図 9 に示す。本解析では、図 7 の結果からホルムアルデヒドによる経気道曝露の Hot-spot と思われる気道内の 3 箇所を部位として選定し、PBPK 解析を行っている。図 9 に示す PBPK 解析結果は、各気道内部位別平均濃度  $C_{o,a}$  及び(3)式を用いて算出した粘膜上皮相濃度  $C_{o,t}$  を境界条件として、(4)式ならびに(6)式を部位別に解析した粘膜組織内の定常ホルムアルデヒド濃度分布(本報では一次元で解析)である。図 9 の縦軸濃度は粘膜相濃度であり、粘膜組織の単位体積( $m^3$ )あたりのホルムアルデヒド濃度を示している。空気が流通する内腔と接する粘膜上皮面で高濃度となり、組織内での各反応と血流輸送によりホルムアルデヒド濃度が徐々に低下していく様子が確認できる。例えば、図 9 (1)に示す鼻腔(Nasal cavity)の結果では、気相-粘膜上皮層境界での粘膜上皮相ホルムアルデヒド濃度  $21.4\mu g/m^3$ (tissue)に対し、粘膜上皮層-粘膜下組織境界での濃度は  $15.0\mu g/m^3$ (tissue)となっており、粘膜上皮層で 30%程度ホルムアルデヒド濃度が低下する。粘膜下組織ではほぼ一定の濃度プロファイルとなった。鼻咽頭(Nasopharynx)、喉頭(Larynx)でも組織内のホルムアルデヒド濃度分布は鼻腔(Nasal cavity)の場合と相似であるが、気相-粘膜上皮層境界でのホルムアルデヒド濃度が大きく低下していること

が分かる。

表3には、気道内各部位における脱水素酵素による代謝、非特異的反応、非特異的結合及び血流輸送によるホルムアルデヒド分解量を一覧として示す。各組織内での代謝によるクリアランスと血流輸送分がホルムアルデヒド濃度低下に支配的に寄与していることが分かる。

## G. 結語

本年度(2016年度)は研究2年目として、研究初年度(2015年度)に作成した計算流体力学 CFD 解析用の数値気道モデルを、頭部や胴体・手足などの幾何形状を詳細に再現した人体幾何形状モデルに統合し、室内環境中で発生した各種の汚染物質による経気道曝露予測を可能とする総合的な数値人体モデル CSP (Computer Simulated Person)を作成した。

この CSP に経気道曝露評価を目的とした生理的薬物動態解析 PBPK (Physiologically Based Pharmacokinetic)モデルを組み込むことで、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一連の解析モデルを構築した。解析の一例として、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予備的な解析結果の一例を報告した。

本年度の解析結果では、室のホルムアルデヒドの完全混合濃度(排気口位置での濃度)は  $100.0\mu\text{g}/\text{m}^3_{(\text{air})}$  であるのに対し、室の体積平均濃度は  $91.1\mu\text{g}/\text{m}^3_{(\text{air})}$  となり、10%程度の差違がある。鼻呼吸を想定した

場合の鼻孔開口面でのホルムアルデヒド平均濃度は  $62.7\mu\text{g}/\text{m}^3_{(\text{air})}$  となっており、この濃度は室の完全混合濃度や体積平均濃度とも異なる値となる。更に、気道内各部位での気相-粘膜上皮相の界面濃度は  $2.81 \times 10^{-7}\mu\text{g}/\text{m}^3_{(\text{air})}$  から  $0.21\mu\text{g}/\text{m}^3_{(\text{air})}$  程度の分布を有している。

今回の解析では、換気システムや呼吸を含めて定常状態を仮定しており、単純化された条件での解析事例であるものの、室内環境中のホルムアルデヒド濃度と、呼吸域濃度、鼻呼吸の場合の鼻孔面濃度、さらには気道内粘膜上皮相濃度の関係を定量的に議論した先駆的な経気道曝露シミュレーションの事例となろう。

また、室平均濃度や気道内の実質的な曝露濃度に有意な差が存在することは、本研究で示した CSP-CFD-PBPK 解析手法が、制御対象や規制対象とすべき経気道曝露の参照濃度(Reference Concentration: RfC)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も読める。

本研究で示した経気道曝露濃度予測シミュレーションは典型的な *in Silico* モデルであるが、数値解析モデルの宿命としてその予測精度検証が必要である。人体を対象とした *in Silico* モデルの場合、倫理的制約から被験者実験の実施が困難であるため、本研究で示した数値解析モデルの予測精度向上のためには、まずは境界条件として与える PBPK の各モデルパラメータの精度向上が必須であり、その上で、各種の誤差を最小化した数値解析手法の採用が重要となろう。室内環境側要素や人体生理、呼吸現象の非定常化を

含めて、これらの点は次年度の課題としたい。

また、研究所年度(2015年度)に作成したラット、イヌ、サル、ヒトを対象とした数値気道モデルを対象として、気道内換気効率の検討を実施するため、定常吸気時ならびに定常呼気時の気道内空気到達時間(Age of Air)分布の解析手法の可能性を検討した。定量的な結果と相互比較結果に関しては次年度の最終報告として整理する予定である。

## H. 研究発表

### 1. 論文発表

Nguyen Lu Phuong, Masato Yamashita, Sung-Jun Yoo, Kazuhide Ito, Prediction of convective heat transfer coefficient of human upper and lower airway surfaces in steady and unsteady breathing conditions, *Building and Environment*, 100, 2016, pp172-185

Kazuhide Ito : Toward the development of an *in silico* human model for indoor environmental design, *Proceedings of the Japan Academy- Series B*, Vol.92, No.7, 2016, pp 185-203

Kazuhide Ito, Koki Mitsumune, Kazuki Kuga, Nguyen Lu Phuong, Kenji Tani, Kiao Inthavong, Prediction of convective heat transfer coefficients for the upper respiratory tracts of rat, dog, monkey, and humans, *Indoor and Built Environment*, 2016, Accepted  
(DOI: 0.1177/1420326X16662111)

Alicia Murga, Sung-Jun Yoo and Kazuhide Ito, Multi-stage downscaling procedure

to analyze the impact of exposure concentration in a factory on a specific worker through CFD, *Indoor and Built Environment*, 2016, Accepted  
(DOI: 10.1177/1420326X16677331)

Ping Wang, Wenhao Chen, Jiawen Liao, Toshiki Matsuo, Kazuhide Ito, Jeff Fowles, Dennis Shusterman, Mark Mendell, Kazukiyo Kumagai : A Device-independent Evaluation of Carbonyl Emissions from Heated Electronic Cigarette Solvents, *PLOS ONE* 12(1): e0169811, 2017

Kazuhide Ito : *In silico* human model for fluid-initiated indoor environmental design, *Indoor and Built Environment*, 2017; 26 (3) Accepted  
(DOI:10.1177/1420326X17697290)

Kazuki Kuga, Kazuhide Ito, Sung-Jun Yoo, Wenhao Chen, Ping Wang, Jiawen Liao, Jeff Fowles, Dennis Shusterman, Kazukiyo Kumagai, First- and second-hand smoke exposure assessment from e-cigarettes using integrated numerical analysis of CFD and a computer-simulated person with a respiratory tract model, *Indoor and Built Environment*, 2017, Accepted  
(DOI: 10.1177/1420326X17694476)

Sung-Jun Yoo and Kazuhide Ito, Numerical Prediction of Tissue Dosimetry in Respiratory Tract using Computer Simulated Person integrated with physiologically based pharmacokinetic (PBPK)-computational fluid dynamics (CFD) Hybrid Analysis, *Indoor and*

*Built Environment*, 2017, Accepted  
(DOI: 10.1177/1420326X17694475)

## 2. 学会発表

Sung-Jun Yoo and Kazuhide Ito, Numerical Prediction of Airway Tissue Dosimetry using PBPK-CFD Hybrid Model integrated into Computer Simulated Person, *Indoor Air 2016*, The 14th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, Belgium, Paper ID:697

Kazuki Kuga, Toshiki Matsuo, Sung-Jun Yoo, Kazuhide Ito, Wenhao Chen, Ping Wang, Jiawen Liao, Jeff Fowles, Dennis Shusterman, Kazukiyo Kumagai, Numerical Prediction of Contaminant Distributions in Human Respiratory Tract for Exposure Assessment to E-Cigarettes, *Indoor Air 2016*, The 14th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, Belgium, Paper ID:748

Yusuke Sano, Alicia Murga, Yoichi Kawamoto, Kazuhide Ito, Dynamic downscaling analysis of air quality from urban to human scale: Part 1 Integration of WRF and CFD to predict wind pressure coefficient distribution, *Indoor Air 2016*, The 14th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, Belgium, Paper ID:722

Alicia Murga, Yusuke Sano, Yoichi Kawamoto, Kazuhide Ito, Dynamic downscaling analysis of air quality

from urban to human scale: Part 2 Exposure concentration analysis in a Large Factory Space, *Indoor Air 2016*, The 14th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, Belgium, Paper ID:721

Koki Mitsumune, Kazuki Kuga, Sung-Jun Yoo and Kazuhide Ito, Computational modeling of airflows and gas-phase contaminant dispersion in the respiratory tracts of dog, monkey, and humans, IAQVEC 2016, South Korea, Paper ID:1274

Sung-Jun Yoo and Kazuhide Ito, PBPK-CSP-CFD Hybrid Analysis for Estimating Indoor Air Quality and Airway Tissue Dosimetry, IAQVEC 2016, South Korea, Paper ID:1313

Ji-Woong Kim, Kazuki Kuga, Shin-ichiro Aramaki, Nguyen Lu Phuong, and Kazuhide Ito, Flow Visualization in a Realistic Replica a Model of Monkey Respiratory Tract using Particle Image Velocimetry, IAQVEC 2016, South Korea, Paper ID:1484

松本秀真, 久我一喜, 劉城準, 伊藤一秀: 咳由来の飛沫・飛沫核の輸送モデルと CFD-CSP との連成解析, 日本建築学会九州支部研究発表会・研究報告, 2017.3, pp 385-388

久我一喜, 伊藤一秀: e-Cigarette を対象とした経気道暴露シミュレーション (第3報) 総合的な経気道曝露評価のための下気道モデル: 日本建築学会九州支部研究発表会・研究報告, 2017.3, pp 297-280

劉 城準, 伊藤一秀: 呼吸器系詳細形状を  
再現した **Computer Simulated Person**  
の開発 (第 1 報) (第 3 報)

PBPK-CSP-CFD 連成解析による経気  
道曝露リスクの定量評価: 日本建築  
学会九州支部研究発表会・研究報告,  
2017.3, pp 293-296

光宗航基, 伊藤一秀: ラット・イヌ・サ  
ル・ヒトを対象とした上気道内流れ  
場と換気効率解析: 日本建築学会九  
州支部研究発表会・研究報告, 2017.3,  
pp 301-304

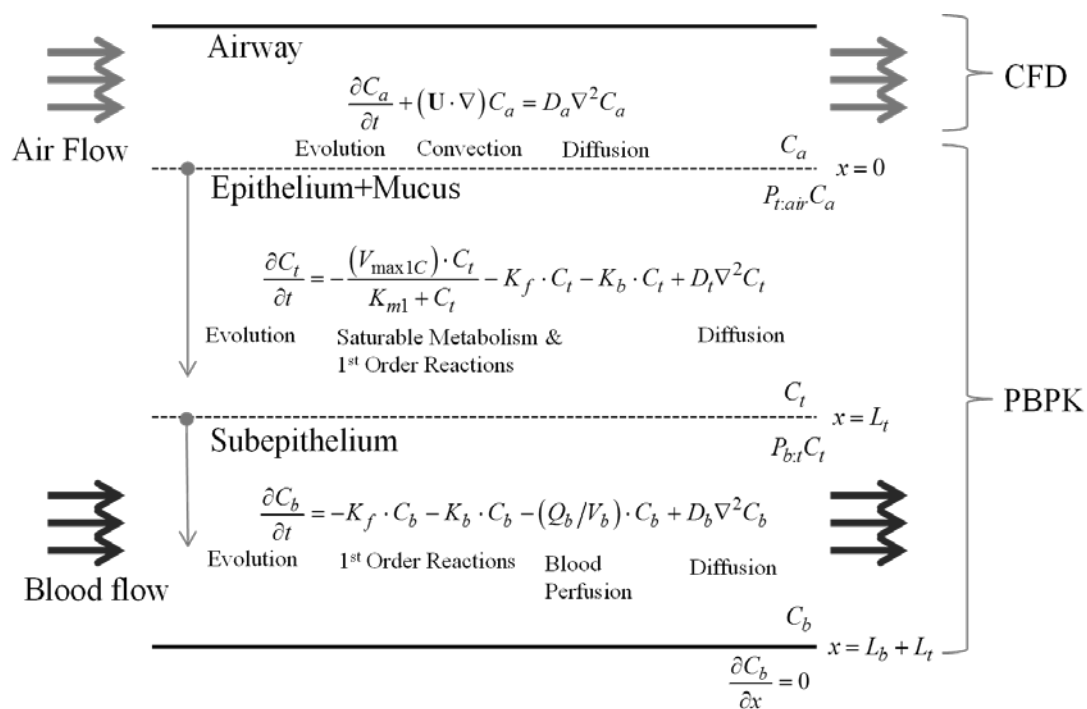


図1 ホルムアルデヒドを対象とした一次元 PBPK-CFD モデルの概要

表1 PBPK-CFD モデルで用いる物性値一覧

Target chemicals	Formaldehyde (HCHO)
Diffusivity	$D_a = 0.15 \times 10^{-4}$ [m <sup>2</sup> /s] (Formaldehyde in Air)
	$D_t = 8.08 \times 10^{-10}$ [m <sup>2</sup> /s] (Epithelium+mucus)
	$D_b = 1.62 \times 10^{-9}$ [m <sup>2</sup> /s] (Sub-epithelium)
Formaldehyde concentration	$C_a$ (in Air), $C_t$ (in Epithelium+mucus), $C_b$ (in sub-epithelium)
Partition Coefficient	$P_{t:air} = 101.5$ [m <sup>3</sup> /m <sup>3</sup> ] (Tissue: air), $P_{b:t} = 1.0$ [m <sup>3</sup> /m <sup>3</sup> ] (Tissue: blood)
Metabolism	$K_{m1} = 2.01 \times 10^5$ [μg/m <sup>3</sup> ], $V_{max1C} = 1.96 \times 10^7$ [μg/m <sup>3</sup> /s]
	$K_f = 1.8 \times 10^{-2}$ [s <sup>-1</sup> ]
$V_{maxC}$ region-specific adjustment factor	1.0 (Nose), 0.25 (Mouth, Pharynx, Larynx, Trachea, Bronchi), 0.5 (Bronchioles)
Non-specific binding	$K_b = 1.07 \times 10^{-7}$ [s <sup>-1</sup> ]
Blood flow	$Q_b = 9.868 \times 10^{-5}$ [m <sup>3</sup> /s] (=5920.6 [mL/min])
Compartment 1 (Mucus+Epithelium)	Surface area of Nasal Cavity ( $18.97 \times 10^{-3}$ ), Oral Cavity ( $5.96 \times 10^{-3}$ ), Pharynx/Larynx ( $11.05 \times 10^{-3}$ ), Trachea ( $4.54 \times 10^{-3}$ ), Main Bronchi ( $3.37 \times 10^{-3}$ ), 2bronch+bronchioles ( $8.73 \times 10^{-3}$ ) [m <sup>2</sup> ]
	$V_b = 3.4479 \times 10^{-3}$ [m <sup>3</sup> ], $L_t = 6.55 \times 10^{-5}$ [m]
Compartment 2 (Subepithelium)	$V_b = 0.7896 \times 10^{-3}$ [m <sup>3</sup> ], $L_b = 1.5 \times 10^{-5}$ [m]

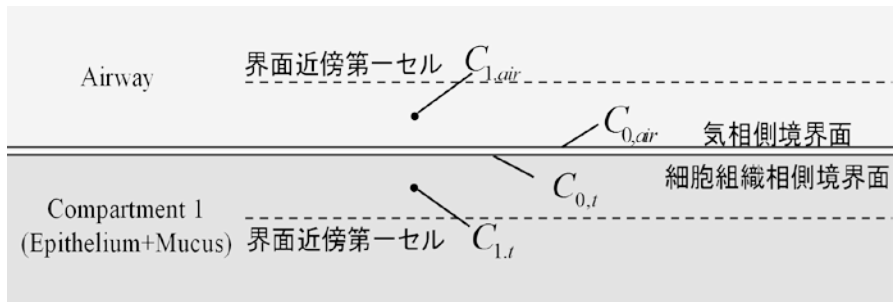


図2 気相-粘膜上皮層のホルムアルデヒド濃度の定義

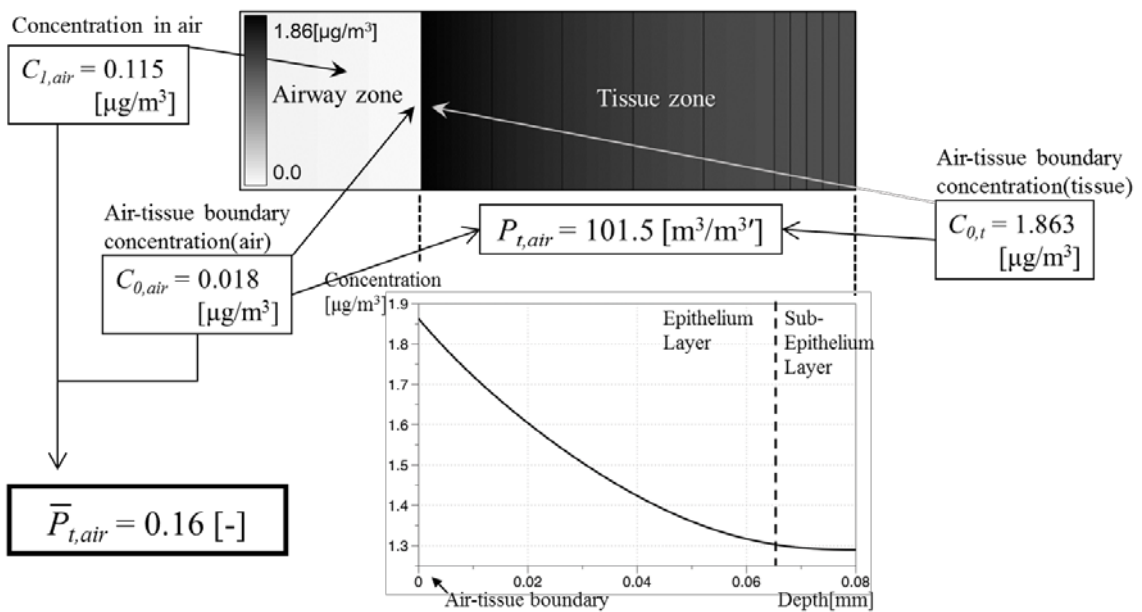
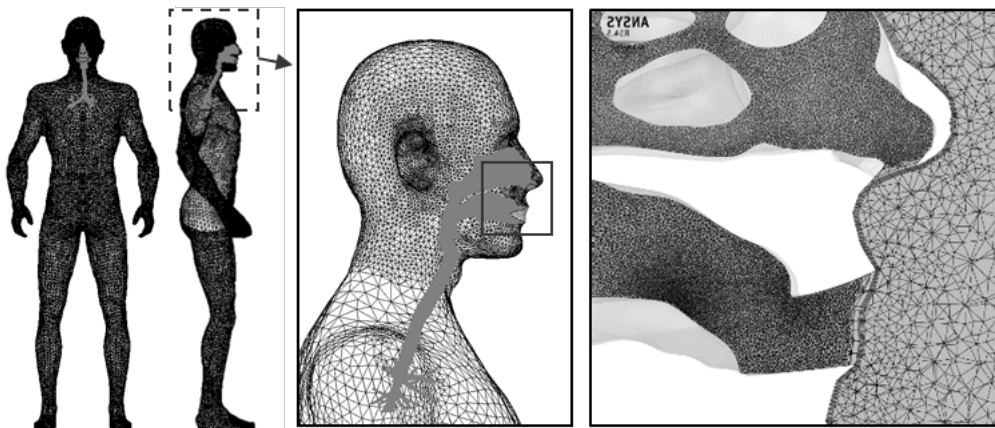
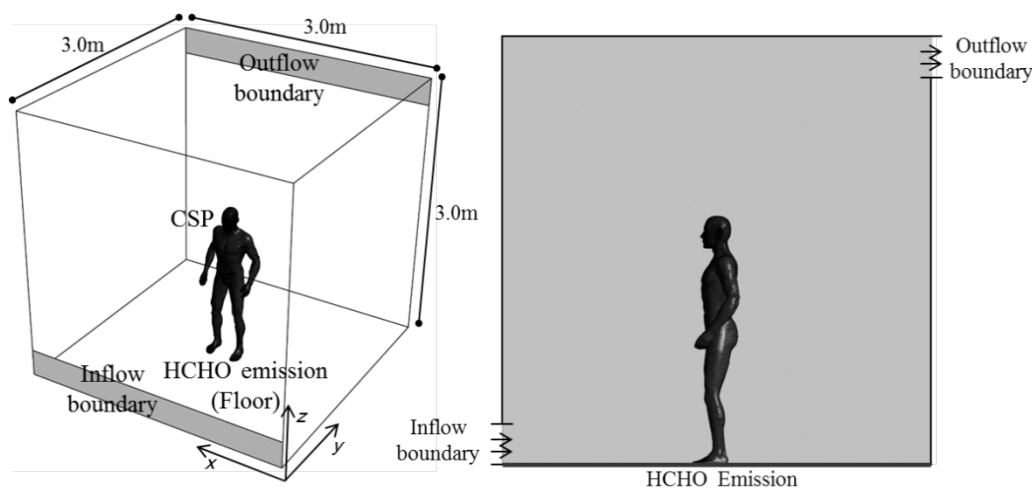


図3 無次元 Partition coefficient,  $P_{t,air}$  [-]の算出手順の概要



(1) 数値人体モデル周辺のメッシュ分割概要



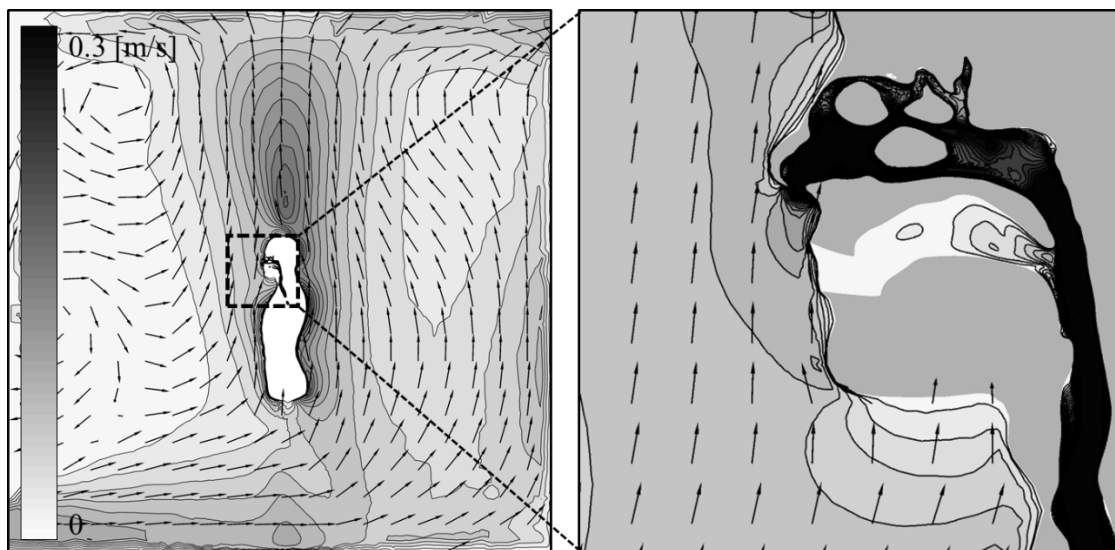


(2) 単純室モデルの概要

図4 数値人体モデルを中心とした解析対象空間の概要

表2 数値解析・境界条件の一覧

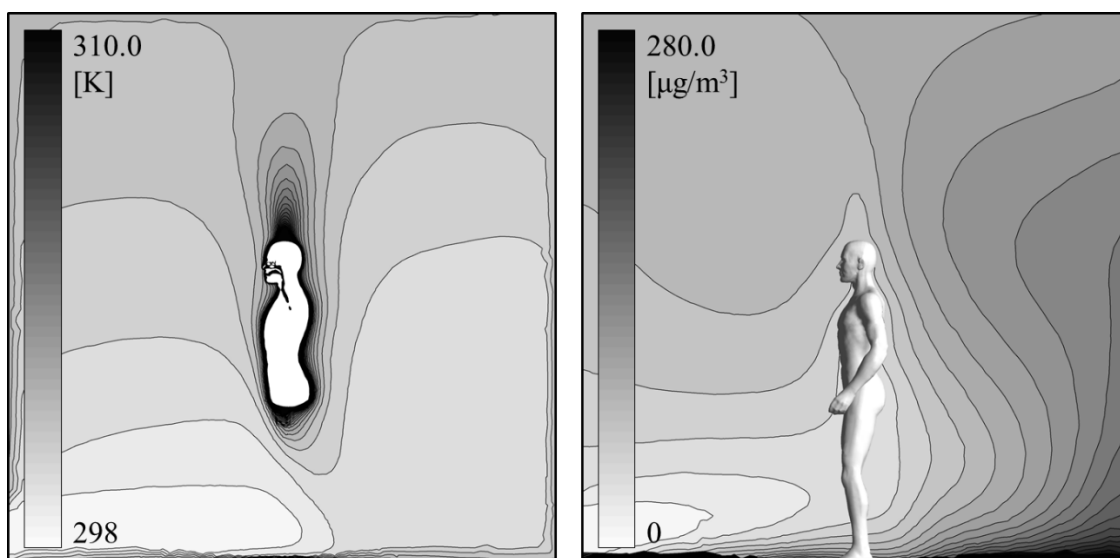
Turbulence Model	Low Re Number Type $k-\varepsilon$ model (Abe- Kondoh- Nagano Model, 3D Cal.)
Mesh	Virtual Airway (inside respiratory tract):7.6 million Analytical domain around the CSP:2.4 million
Algorithm	SIMPLE (Unsteady)
Scheme	Convection Term: QUICK
Inflow boundary (Airway model)	$Q_{in} = 7.5 \text{ L/min}$ (Steady), $k_{in}=3/2 (U_{in} \times 0.05)^2$ , $\varepsilon_{in}=C_{\mu}^{3/4} k_{in}^{3/2} l_{in}$ $T_{air}$ , $\varphi_{in}$ : feedback from CSP simulation
Inflow boundary (Room model)	Velocity Inlet, $V_{in,r} = 0.1\text{m/s}$ $T_{in,r} = 298\text{K}$ , $\varphi_{in,r} = 50\%RH$
Outflow boundary (Airway model)	Boundary type : Pressure boundary Backflow condition : 309.8K, 99% RH Backflow contaminant concentration : 0
Outflow boundary (Room model)	$U_{out} = k_{out} = \varepsilon_{out} = \text{Gradient zero}$
Wall treatment (Airway model)	Velocity: no slip Temperature ; $T_{wall \text{ surface}}$ : calculated by 2-node model( $T_{cr}$ ) Humidity ; $\varphi_{wall \text{ surface}} = 99\%RH$ , Contaminant: $P_{t,air} = 0.16[-]$
Wall treatment (Virtual Manikin)	Velocity: no slip Temperature and humidity: calculated by 2-node model( $T_{sk}$ ) Contaminant: Gradient zero
Wall treatment (Room model)	Velocity: no slip Temperature, humidity and contaminant: Gradient zero (adiabatic)
Contaminant generation	Formaldehyde emission from floor surface: Fixed Flux (Perfectly mixed $C_{out}=100.0[\mu\text{g}/\text{m}^3]$ )
Others	Radiation model: S2S model, Ray tracing method Metabolic rate $M=75.5\text{W}/\text{m}^2$ , Body weight $W=65\text{kg}$ Body surface area $BSA= 1.745\text{m}^2$



(1) CSP 周辺流れ場

(2) 呼吸域周辺流れ場

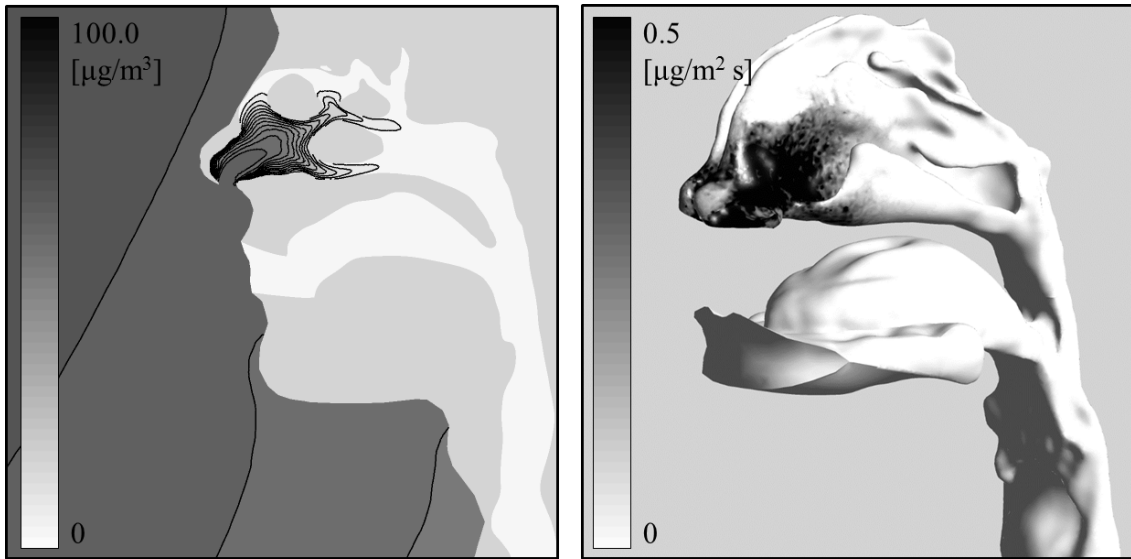
図 5 数値人体モデル周辺の流れ場解析結果



(1) 温度場解析結果

(2) ホルムアルデヒド濃度分布解析結果

図 6 数値人体モデル周辺の温度場ならびにホルムアルデヒド濃度分布解析結果



(1) 呼吸域・鼻腔内のホルムアルデヒド濃度分布 (2) 気道内吸着フラックス分布  
 図7 呼吸空気ホルムアルデヒド濃度分布と鼻腔内粘膜上皮に対するホルムアルデヒドの吸着フラックス分布解析結果

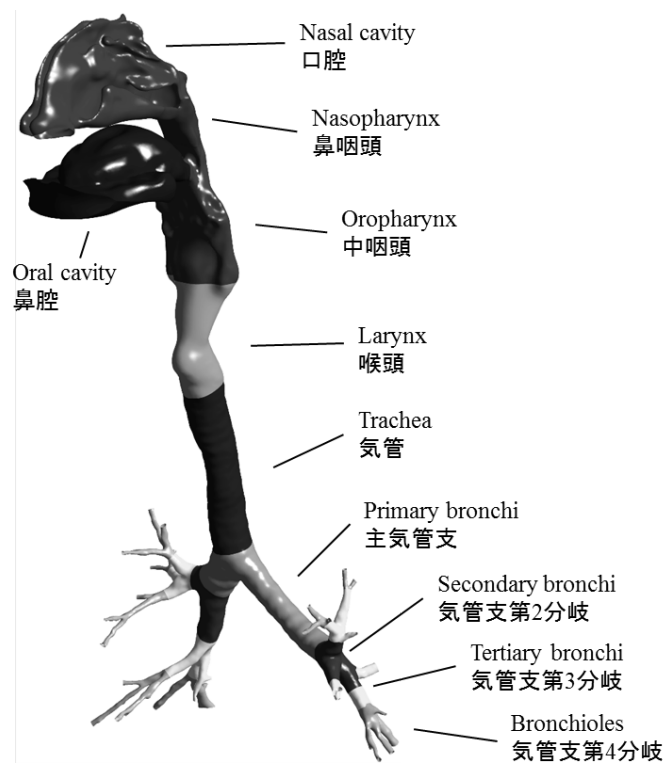
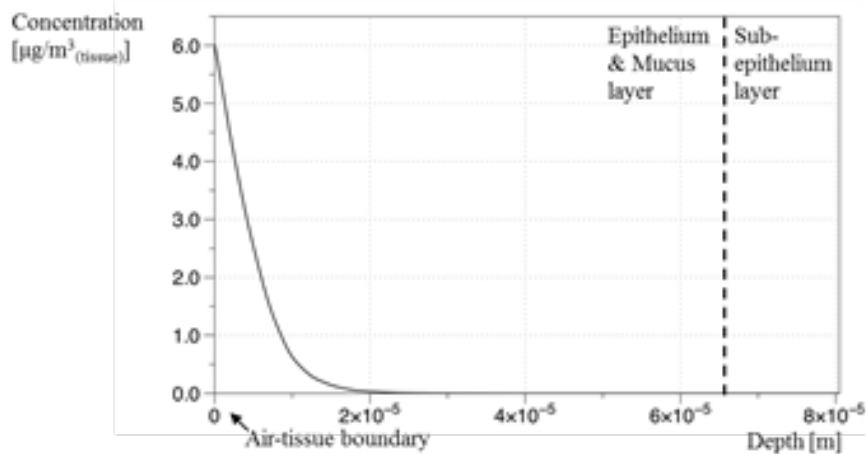
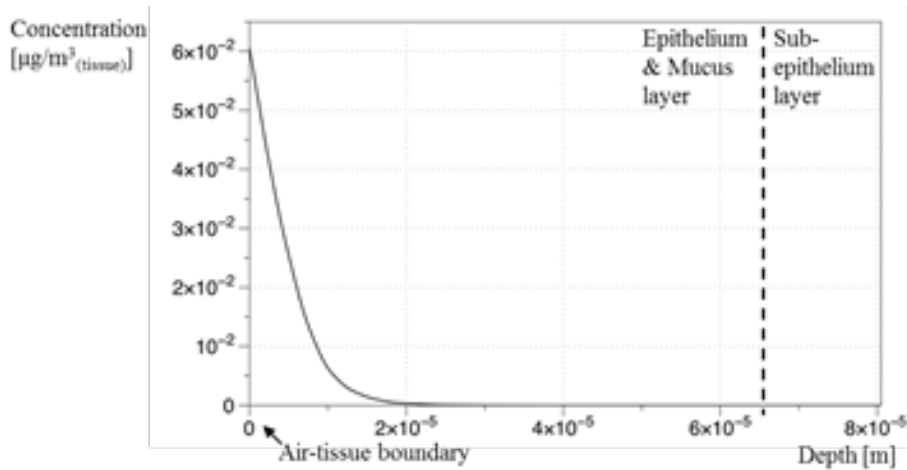


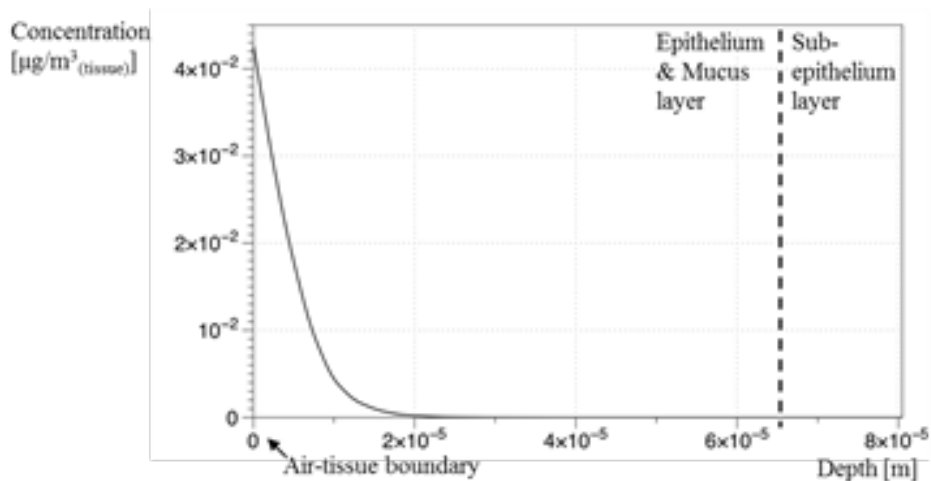
図8 数値気道モデルの部位分割の概要(10 部位分解)



(1) Nasal cavity



(2) Nasopharynx



(3) Larynx

図9 気道粘膜組織内のホルムアルデヒド濃度分布  
(鼻腔 : nasal cavity, 鼻咽頭 : nasopharynx, 咽頭 : Larynx)

表3 ホルムアルデヒドの経気道暴露を想定した場合の PBPK 解析結果[ $\mu\text{g}/\text{m}^3/\text{s}$ ]

	Epithelium + Mucus layer		Sub-epithelial layer	
	Saturable metabolic clearance $\frac{(V_{\max}C) \cdot C_t}{K_{m1} + C_t}$	1 <sup>st</sup> order reaction $(K_f + K_b) \cdot C_t$	1 <sup>st</sup> order reaction $(K_f + K_b) \cdot C_b$	Blood perfusion $(Q_b/V_b) \cdot C_b$
Nasal cavity	17.05	$3.15 \times 10^{-3}$	0	0
Nasopharynx	0.17	$3.16 \times 10^{-5}$	0	0
Larynx	$1.21 \times 10^{-1}$	$2.23 \times 10^{-5}$	0	0
Oropharynx	$9.62 \times 10^{-2}$	$1.78 \times 10^{-5}$	0	0
Trachea	$8.01 \times 10^{-2}$	$1.48 \times 10^{-5}$	0	0

厚生労働科学研究費補助金 (化学物質リスク研究事業)  
分担研究報告書

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

気道障害性の *in vitro* 評価

研究分担者	香川(田中) 聡子	横浜薬科大学薬学部 教授
研究協力者	大河原 晋	横浜薬科大学薬学部 准教授
研究協力者	神野 透人	名城大学薬学部 教授

研究要旨：TRP (Transient Receptor Potential) チャネルは温度や化学物質の刺激を感知する侵害刺激受容体で、特に TRPA1 と TRPV1 は気道過敏性に重要な役割を果たしている。本研究では、生活環境化学物質による侵害刺激の種差を明らかにする目的で、これまでに確立したヒト TRPA1 評価系に加え、前年度に開発したマウス TRPA1 安定発現細胞株を用いる評価法を用いて、先ず研究班共通検討対象物質に選定した 2-Ethyl-1-hexanol、Texanol および TXIB の 3 物質について作用を比較した。その結果、2-Ethyl-1-hexanol は、ヒト TRPA1 およびマウス TRPA1 のいずれのチャネルに対しても濃度依存的な活性化を引き起こし、その EC<sub>50</sub> 濃度に顕著な差は認められなかった。一方、Texanol は、ヒト TRPA1 に対して濃度依存的な活性化を引き起こし、典型的な Sigmoid 型の濃度反応曲線を示したのに対し、マウス TRPA1 では、250 μM を超える濃度範囲で活性が阻害されるベル型の挙動を示した。次に、タバコアルカロイド 4 化合物の TRPA1 に対する影響を検討した結果、文献既知の Nicotine に加え、Nornicotine もヒトおよびマウス TRPA1 を濃度依存的に活性化すること、Nicotine 代謝物 Cotinine による TRPA1 活性化にはヒトとマウスの間に顕著な差異が認められ、マウス TRPA1 のみが活性化されることが明らかとなった。また、化粧品や家庭用品に広範に使用されるテルペン類の TRPA1 に対する影響を検討した結果、(-)-Menthol では、ヒト TRPA1 が典型的な Sigmoid 型の濃度反応曲線を示したのに対し、マウス TRPA1 は 100 μM を超える濃度範囲で活性が阻害されるベル型の挙動を示した。α-Terpineol、(-)-Citronellal および Linalool はいずれもヒトおよびマウス TRPA1 の両者を濃度依存的に活性化したが、(-)-Citronellal では EC<sub>50</sub> 値に 3 倍程度の差異が認められ、マウスに比べてヒトの方が感受性が高いことが判明した。また、香料アレルゲンとして表示義務のある 17 物質のヒト TRPA1 に対する影響を検討した結果、9 物質が濃度依存的に活性化を引き起こすこと、さらに複数の化合物の曝露により、相乗的な活性化が引き起こされることを明らかにした。また、水の塩素処理によって生じる含窒素消毒副生成物 Bromoacetamide、Tribromoacetamide、Dibromochloroacetamide が濃度依存的にヒト TRPA1 を活性化することが明らかになった。以上の結果から、室内環境中の様々な物質が、ヒト TRPA1 を活性化すること、さらに、化学物質によっては、ヒトとマウスで TRPA1 の応答性に差が認められることから、気道刺激性などに関する安全性評価を行う際には侵害受容チャネルの種差を十分に考慮する必要性が示された。

研究協力者：浅井 理香（名城大学薬学部薬学科）、野中 志保（名城大学薬学部薬学科）、森 陽子（名城大学薬学部薬学科）、桃井 夢子（横浜薬科大学薬学部）

#### A. 研究目的

TRP (Transient Receptor Potential) チャネルは 6 回膜貫通型の非選択的 Cation チャネルで、TRPV、TRPA、TRPM、TRPC、TRPP および TRPML の 6 つの Subfamily で構成され、ヒトでは 28 種類の遺伝子が同定されている。気道において、幾種類かの TRP チャネルが末梢の知覚神経をはじめ、鼻腔や気管支、肺などの上皮系の細胞にも発現しており、咳などの侵害応答や炎症に関与することが明らかにされている。著者らは、既に後根神経節 Total RNA からクローニングしたヒト TRPV1 (hTRPV1) およびヒト TRPA1 (hTRPA1) を安定的に発現する Flp-In 293 細胞株を樹立し、多種多様な生活環境化学物質がこれらの TRP チャネルを活性化することを明らかにしてきた<sup>1,2)</sup>。さらに、昨年度の研究においては、ヒト TRPV1 およびヒト TRPA1 に加えて、気道での侵害刺激への関与が最近明らかにされたヒト TRPM8 (hTRPM8) について安定発現細胞株を用いるアッセイ系の確立を行い、研究班共通検討対象物質の評価を行うとともに、TRPA1 活性化について比較的大きな種差の存在が報告されていることから、生活環境化学物質による侵害刺激の種差を明

らかにする目的で、マウス TRPA1 アッセイ系の開発についてもあわせて行った<sup>3)</sup>。

本研究では、これまでに樹立したヒト TRPA1 およびマウス TRPA1 安定発現細胞株を用いる TRPA1 活性化のハイスループットアッセイ法を用いて、生活環境化学物質による TRPA1 の活性化とその種差について検討した。

#### B. 実験方法

##### B-1. Calcium Mobilization Assay

ヒト TRPA1 及びマウス TRPA1 安定発現細胞株 (Flp-In-293/hTRPA1 細胞あるいは Flp-In-293/mTRPA1 細胞)はそれぞれ 100 µg/mL Hygromycin を添加した選択培地で培養した。Assay 前日に Flp-In-293/hTRPA1 細胞あるいは Flp-In-293/mTRPA1 細胞を Poly-D-Lysine-coated 96-well Dish に  $3.5 \times 10^5$  cells/mL の細胞濃度で播種した。翌日に培地を除去して FLIPR Calcium 6 試薬溶液に置換し、37°C で 2 時間培養したのちに、分注機能付きマイクロプレートリーダー FlexStation3 を用いて下記の測定条件で被検物質曝露による Flp-In-293/hTRPA1 または、Flp-In-293/mTRPA1 細胞細胞内 Calcium 濃度の変動を記録した。

##### FlexStation3 測定条件

[Temperature]

37°C

[Read Mode]

Fluorescence/Bottom Read

[Wave Length]

Excitation: 485 nm

Emission: 525 nm

Cut off: 515 nm

[Sensitivity]

Readings: 3

PMT: Medium

C. 結果と考察

C-1. Cinnamic Aldehyde による TRPA1 活性化

TRPA1 の陽性対照化合物として Cinnamic Aldehyde による活性化をヒトとマウスで比較した結果を図 1 に示す。Cinnamic Aldehyde 曝露によって、ヒト TRPA1 とマウス TRPA1 ではほぼ同一の濃度-反応曲線が得られ、EC<sub>50</sub> 値にもほとんど差異は認められなかった (ヒト TRPA1; 28 μM、マウス TRPA1; 22 μM)。本研究では、TRP Superfamily の中で、TRPA1 はヒトとげっ歯類の間のホモロジーが比較的低く (80% 程度)、Menthol のように Agonist 作用に種差が認められる化合物が報告されていることから、従来 Assay に用いてきたヒト TRPA1 と比較可能なマウス TRPA1 安定発現細胞を前年度樹立して検討を行った。今回の結果でも、陽性対照物質として評価した Cinnamic Aldehyde による TRPA1 の活性化にはヒトとマウスで顕著な差は認められなかった。

C-2. 2-Ethyl-1-hexanol、Texanol および TXIB による TRPA1 活性化の種差  
研究班共通検討対象物質に選定した 2-Ethyl-1-hexanol、Texanol および TXIB とその代謝物 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol による TRPA1 活性化の種差を検討した。評価化合物の構造式を図 2 に、評価結果を図 3 に示す。2-Ethyl-1-hexanol は、ヒト TRPA1 およびマウス TRPA1 のいずれのチャンネルに対しても濃度依存的な活性化を引き起こし、その EC<sub>50</sub> 濃度に顕著な差は認められなかった (ヒト TRPA1; 150 μM、マウス TRPA1; 188 μM)。一方、Texanol は、ヒト TRPA1 に対して濃度依存的な活性化を引き起こし、典型的な Sigmoid 型の濃度反応曲線を示したのに対し (EC<sub>50</sub>; 173 μM)、マウス TRPA1 では、250 μM を超える濃度範囲で活性が阻害されるベル型の挙動を示した。

室内環境中で高頻度に検出される TXIB に関しては、本研究条件ではヒトおよびマウス TRPA1 に対する活性化作用は認められなかった (data not shown)。しかし、TXIB の加水分解代謝物である Texanol がヒト TRPA1 に対する活性化作用を有することから、生体内に取り込まれた TXIB がカルボキシエステラーゼによって加水分解を受けたのちにヒト TRPA1 の活性化を引き起こす可能性もある。

本研究班では分担研究者である埴岡ら



は Texanol がヒトカルボキシエステラーゼによって加水分解されて 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol を生じることを見出している。Texanol の代謝物である 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol は、ヒトおよびマウスいずれの TRPA1 に対しても活性化作用は認められなかった (data not shown)。このことから、ヒトカルボキシエステラーゼが Texanol の解毒代謝に重要な役割を果たしていると考えられる。

### C-3. タバコアルカロイドによる TRPA1 活性化の種差

タバコ葉に含まれる Nicotine 類縁体 (図 4) がヒトおよびマウス TRPA1 に及ぼす影響について検討を行った。その結果、Nicotine の他に、Nornicotine、Anabasin および Anatabin はいずれも濃度依存的にヒト TRPA1 およびマウス TRPA1 発現細胞株の細胞内カルシウム濃度を増加させた (図 5)。ただし、Anabasin および Anatabin では、TRPA1 を異所的に発現していない Flp-In 293 細胞でも顕著な細胞内カルシウム濃度の増加が認められたことから、TRP チャンネル非依存的な機序も無視できない。

一方、Nicotine の酸化的代謝物である Cotinine (図 4) について TRPA1 に対する影響を検討した結果、マウス TRPA1 では濃度依存的な活性化が認められるのに対し、ヒト TRPA1 では細胞内カルシウム濃度の増加は観察されなかった (図 6)。

喫煙は気管支炎、肺炎や COPD (慢性閉塞性肺疾患) などの呼吸器系肺疾患の原因となることが知られている。その発症メカニズムとして、チャンネルの関与が示唆されている。特に、COPD の発症には気管支や肺の感覚神経 C 線維に発現する TRPA1 が関与することが報告されている。タバコ煙の成分の中で、NNN (N'-Nitrosornicotine)、NNK (4-(Methylnitrosoamino)-1-(3-pyridinyl)-1-butanone)、Formaldehyde や Acrolein などの化合物が COPD の発症に関与していると考えられており、実際に Formaldehyde や Acrolein が TRPA1 の活性化を引き起こすことが明らかにされている。一方、タバコの主要成分である Nicotine にも弱い TRPA1 活性化能が報告されているものの、Nicotine 以外のアルカロイド類の影響については明らかにされていなかった。本研究ではタバコアルカロイド 4 化合物の TRPA1 に対する影響を検討した結果、文献既知の Nicotine に加え、Nornicotine もヒトおよびマウス TRPA1 を濃度依存的に活性化することが明らかとなった。さらに、Nicotine 代謝物 Cotinine による TRPA1 活性化にはヒトとマウスの間に顕著な差異が認められ、マウス TRPA1 のみが活性化されることが明らかとなった。本研究の結果から、タバコアルカロイドによる侵害刺激を評価する際には、代謝物の影響、ならびに種差の存在を考慮する必要があると考えられる。

#### C-4. テルペン類による TRPA1 活性化の種差

単環式モノテルペン類である (-)-Menthol および  $\alpha$ -Terpineol、非環式モノテルペン類である (-)-Citronellal および Linalool (図 7)について評価した。(-)-Menthol では、ヒト TRPA1 が典型的な Sigmoid 型の濃度反応曲線を示したのに対し、マウス TRPA1 の場合は、細胞内カルシウム濃度の最高値で比較すると、ヒト TRPA1 の 1/2 ないし 1/3 程度で、100  $\mu$ M を超える濃度範囲で活性が阻害されるベル型の挙動を示した (図 8)。3 種類のテルペン類、 $\alpha$ -Terpineol、(-)-Citronellal および Linalool はいずれもヒト TRPA1 およびマウス TRPA1 の両者を濃度依存的に活性化したが、(-)-Citronellal では EC<sub>50</sub> 値に 3 倍程度の差異が認められ、(-)-Citronellal に対する感受性には種差が存在することが明らかになった。

TRP Superfamily の中で、TRPA1 はヒトとげっ歯類間のホモロジーが比較的 low (80%程度)、Menthol のように Agonist 作用に種差が認められる化合物が報告されていることから、本研究では Menthol 以外に単環式モノテルペン類と、非環式モノテルペン類について評価した結果、(-)-Citronellal に対する感受性に種差が存在することが明らかになった。これらのテルペン類は香料として化粧品や家庭用品に広範に使用されており、気道刺激性などに関する安全性評価を行う際には侵害受容チャネルの種差を十分に考慮する必要があると考えられる。

#### C-5. 香料アレルゲンによる TRPA1 活性化

香料アレルゲンとして表示義務のある香料の中で、植物エキス等を除く 18 物質 (図 9)のうち、Benzyl cinnamate については、試薬調製の段階で結晶の析出が認められたため、評価対象外とした。終濃度 1000  $\mu$ M を最高濃度として細胞内カルシウム濃度の増加を指標として TRPA1 チャンネルの活性化を評価した結果、今回評価可能であった 17 物質中 9 物質が濃度依存的に TRPA1 の活性化を引き起こすことが明らかとなった (図 10)。なかでも、2-(4-tert-Butylbenzyl) propionaldehyde による TRPA1 活性化の EC<sub>50</sub> 値は 33  $\mu$ M であり、この数値は典型的な TRPA1 活性化物質で、本研究において陽性対照物質として評価した trans-Cinnamaldehyde に匹敵することが明らかとなった。本研究で、TRPA1 の活性化を引き起こすことが判明した香料について作用の強さを EC<sub>50</sub> 値で比較した結果、2-(4-tert-Butylbenzyl) propionaldehyde に次いで、Isoeugenol (EC<sub>50</sub>; 103  $\mu$ M)、Citral (EC<sub>50</sub>; 118  $\mu$ M)、*b*-Citronellol (EC<sub>50</sub>; 191  $\mu$ M)、Eugenol (EC<sub>50</sub>; 216  $\mu$ M)、Hydroxycitronellal (EC<sub>50</sub>; 308  $\mu$ M)、Geraniol (EC<sub>50</sub>; 327  $\mu$ M)、Coumarin (EC<sub>50</sub>; 445  $\mu$ M)、Cinnamyl alcohol (EC<sub>50</sub>値は本試験条件下では算定不可) の順であった。なお、今回の実験条件では TRPV1 の活性化は認められなかった (data not shown)。さらに

複数の化合物の曝露により、相乗的な活性化が引き起こされることが判明した(図 11)。

近年、高残香性の衣料用柔軟仕上げ剤や香り付けを目的とする加香剤商品等の市場規模が拡大している。それに伴い、これら生活用品の使用に起因する危害情報も含めた相談件数が急増しており、呼吸器障害をはじめ、頭痛や吐き気等の体調不良が危害内容として報告されている<sup>4)</sup>。このような室内環境中の化学物質はシックハウス症候群や喘息等の主要な原因、あるいは増悪因子となることが指摘されているが、そのメカニズムについては不明な点が多く残されている。

著者らは、これまでに残香をうたった衣類用柔軟剤を対象として、ディスク型 MonoTrap DCC18 (ジーエルサイエンス) に揮発性成分を吸着させ Methanol で抽出し、その Methanol 抽出液についてヒト TRPA1 の活性化能を検討した結果、評価対象とした 20 製品中 18 製品が用量依存かつ溶媒対照 (Methanol) の 2 倍を超える TRPA1 の活性化を示すことを報告した<sup>2)</sup>。さらに、Methanol 抽出液を GC/MS で分析した結果、これら柔軟剤の香料成分として含まれる Linalool に加えて、Rose Oxide にも TRPA1 活性化能があることを明らかにした<sup>2)</sup>。

そこで本研究では、香料成分として欧州連合の化粧品指令でアレルギー物質としてラベル表示を義務付けられた物質を

対象として、TRP イオンチャネル活性化について検討を行った結果、17 物質中 9 物質が濃度依存的にヒト TRPA1 の活性化を引き起こすこと、さらに、複合曝露されることによりその作用が増強されることが判明した。以上の結果より、これら香料アレルゲンが TRPA1 の活性化を介して気道過敏の亢進を引き起こす可能性を示唆しており、シックハウス症候群の発症メカニズムを明らかにする上でも極めて重要な情報であると考えられる。

#### C-6. 消毒副生成物・ハロアセトアミドによる TRPA1 活性化

Chloroacetamide をはじめとするハロアセトアミド類 9 物質 (図 12) についてヒト TPRA1 及び TRPV1 に対する活性化を評価した。その結果、TRPV1 の活性化は認められなかったが (data not shown)、Bromoacetamide、Tribromoacetamide、Dibromochloroacetamide が濃度依存的に TPRA1 を活性化することが明らかになり、その EC<sub>50</sub> 値はそれぞれ 41 μM、107 μM、246 μM であった (図 13)。

塩素による消毒は水道水のみならず公衆浴場や遊泳プール等において広範に用いられているが、その過程で生ずる消毒副生成物の中には発がん性や皮膚・粘膜刺激性等が指摘されているものもある。また、屋内プールでの遊泳と喘息の発症リスクとの因果関係を指摘する報告もあり、消毒副生成物がこれら疾病の発症や

増悪に重要な役割を果たしている可能性も考えられる。本研究では、トリハロメタン類やハロ酢酸類に比べて毒性が強いハロゲン化含窒素消毒副生成物・ハロアセトアミド類が気道過敏性の亢進にも深く関与する TRPA1 を活性化することが明らかになった。塩素消毒によって生じる副生成物によって TRPA1 を介した感覚神経あるいは気道の刺激が引き起こされる可能性を示唆するものであると考えられる。

#### D. 結論

本研究では、これまでに樹立したヒト TRPA1 およびマウス TRPA1 安定発現細胞株を用いる TRPA1 活性化のハイスループットアッセイ法を用いて、生活環境化学物質による TRPA1 の活性化とその種差について検討し、室内環境中の様々な物質が、ヒト TRPA1 を活性化すること、さらに、化学物質によっては、ヒトとマウスで TRPA1 の応答性に差が認められることを明らかにした。本研究結果は、TRPA1 を介する侵害刺激に関して、毒性実験に繁用されるマウスとヒトの間には種差が存在することを示しており、げっ歯類で得られた結果をヒトに外挿する際の妥当性を化合物ごとに検証する必要があるものと考えられる。

#### E. 参考文献

1. 厚生労働科学研究費補助金 化学物質

リスク研究事業「家庭用品から放散される揮発性有機化合物の気道刺激性及び感作性を指標とするリスク評価 (H22 - 化学 - 一般 - 002)」研究代表者 香川聡子、平成 22 年度～24 年度 総合研究報告書

2. 厚生労働科学研究費補助金 化学物質リスク研究事業「家庭用品から放散される揮発性有機化合物の健康リスク評価モデルの確立に関する研究 (H25 - 化学 - 一般 - 006)」研究代表者 香川聡子、平成 25 年度～27 年度 総合研究報告書

3. 厚生労働科学研究費補助金 化学物質リスク研究事業「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 (H27 - 化学 - 一般 - 009)」研究代表者 神野透人、平成 27 年度 総括・分担研究報告書

4. 柔軟剤のにおいに関する情報提供、独立行政法人国民生活センター 報道資料、平成 25 年 9 月 19 日

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

論文発表

1. Hepatic glucuronidation of 4-tert-octylphenol in humans: inter-individual variability and responsible UDP-

- glucuronosyltransferase isoforms. Isobe T, Ohkawara S, Tanaka-Kagawa T, Jinno H, Hanioka N. Arch Toxicol. 2017 May 12. doi: 10.1007/s00204-017-1982-1.
2. Ephedra Herb extract activates/desensitizes transient receptor potential vanilloid 1 and reduces capsaicin-induced pain. Nakamori S, Takahashi J, Hyuga S, Tanaka-Kagawa T, Jinno H, Hyuga M, Hakamatsuka T, Odaguchi H, Goda Y, Hanawa T, Kobayashi Y. J Nat Med. 2017 Jan;71(1):105-113. doi: 10.1007/s11418-016-1034-9. Epub 2016 Sep 8.
  3. Glucuronidation of 4-tert-octylphenol in humans, monkeys, rats, and mice: an in vitro analysis using liver and intestine microsomes. Hanioka N, Isobe T, Ohkawara S, Tanaka-Kagawa T, Jinno H. Arch Toxicol. 2017 Mar;91(3):1227-1232. doi: 10.1007/s00204-016-1800-1. Epub 2016 Jul 12.
  4. Glucuronidation of mono(2-ethylhexyl) phthalate in humans: roles of hepatic and intestinal UDP-glucuronosyltransferases. Hanioka N, Kinashi Y, Tanaka-Kagawa T, Isobe T, Jinno H. Arch Toxicol. 2017 Feb;91(2):689-698. doi: 10.1007/s00204-016-1708-9. Epub 2016 Apr 12.
  5. Hepatic and intestinal glucuronidation of mono(2-ethylhexyl) phthalate, an active metabolite of di(2-ethylhexyl) phthalate, in humans, dogs, rats, and mice: an in vitro analysis using microsomal fractions. Hanioka N, Isobe T, Kinashi Y, Tanaka-Kagawa T, Jinno H. Arch Toxicol. 2016 Jul;90(7):1651-7. doi: 10.1007/s00204-015-1619-1.
- 学会発表
1. 香川(田中)聡子, 大河原 晋, 埴岡伸光, 神野透人: 香料アレルゲンによるヒト侵害受容器 TRPA1 の活性化, 第 43 回日本毒性学会学術年会, 名古屋, 2016 年 6 月
  2. 野中志保, 戸邊隆夫, 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: タバコアルカロイドによる侵害受容チャネルの活性化, 第 62 回 日本薬学会東海支部大会, 名古屋, 2016 年 7 月
  3. 浅井理香, 戸邊隆夫, 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: テルペン類による侵害受容体 TRPA1 の活性化: ヒトおよびマウスの種差, フォーラム 2016 衛生薬学・環境トキシコロジー, 東京, 2016 年 12 月
  4. 神野透人, 浅井理香, 野中志保, 戸邊隆夫, 青木 明, 岡本誉士典, 植田康次, 大河原 晋, 磯部隆史, 埴岡伸光, 香川(田中)聡子: タバコ煙による侵害刺激受容体活性化の種差に関する研究, 平成 28 年室内環境学会学術大会, つくば, 2016 年 12 月

5. 香川(田中)聡子, 大河原 晋, 磯部隆史, 埴岡伸光, 神野透人: 香料アレルギーによる気道刺激に関する研究, 平成28年室内環境学会学術大会, つくば, 2016年12月
6. 香川(田中)聡子, 大河原 晋, 磯部隆史, 埴岡伸光, 神野透人: 消毒副生成物・ハロアセトアミドによるヒト侵害受容器TRPA1の活性化, 日本薬学会第137年会, 仙台, 2016年3月

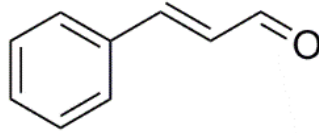
H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

特許取得

なし

実用新案登録

なし



*trans*-Cinnamaldehyde

CAS# 14371-10-9

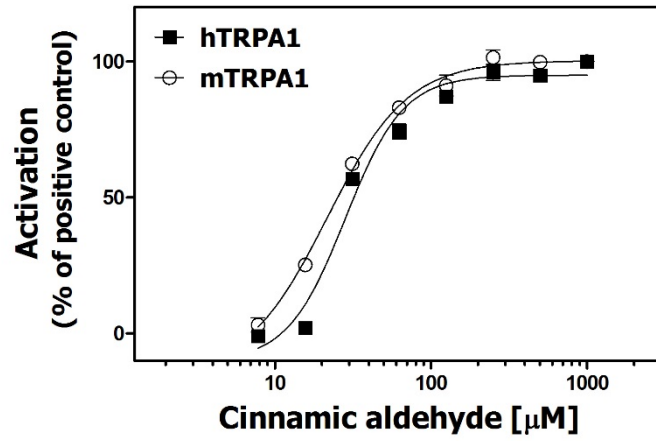
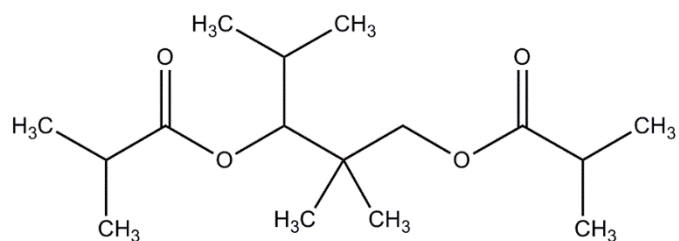
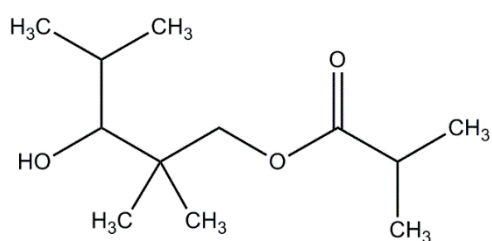


図 1 Cinnamic Aldehyde による hTRPA1 および mTRPA1 の活性化



TXIB; 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate

CAS# 6846-50-0

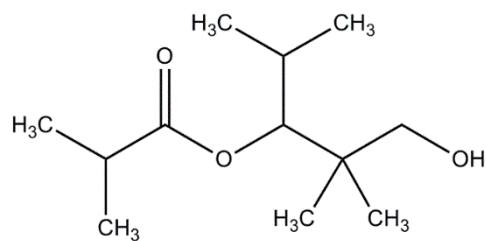


3-Hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl

Isobutyrate

Texanol(60%)

CAS# 74367-34-3

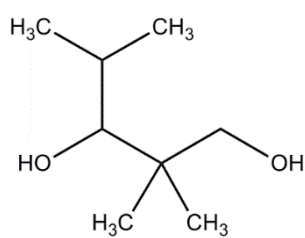


2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol 3-

Monoisobutyrate

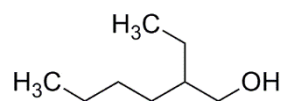
Texanol(40%)

CAS# 25265-77-4



2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol

CAS# 144-19-4



2-Ethyl-1-hexanol

CAS# 104-76-7

図2 研究班共通検討対象物質



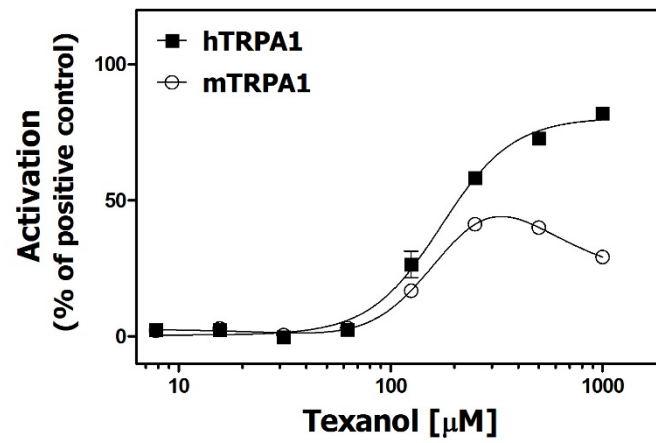
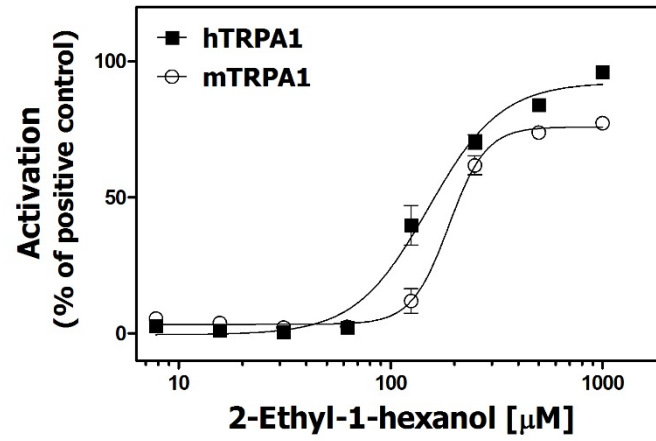


図3 2-Ethyl-1-hexanol および Texanol による TRPA1 活性化の種差

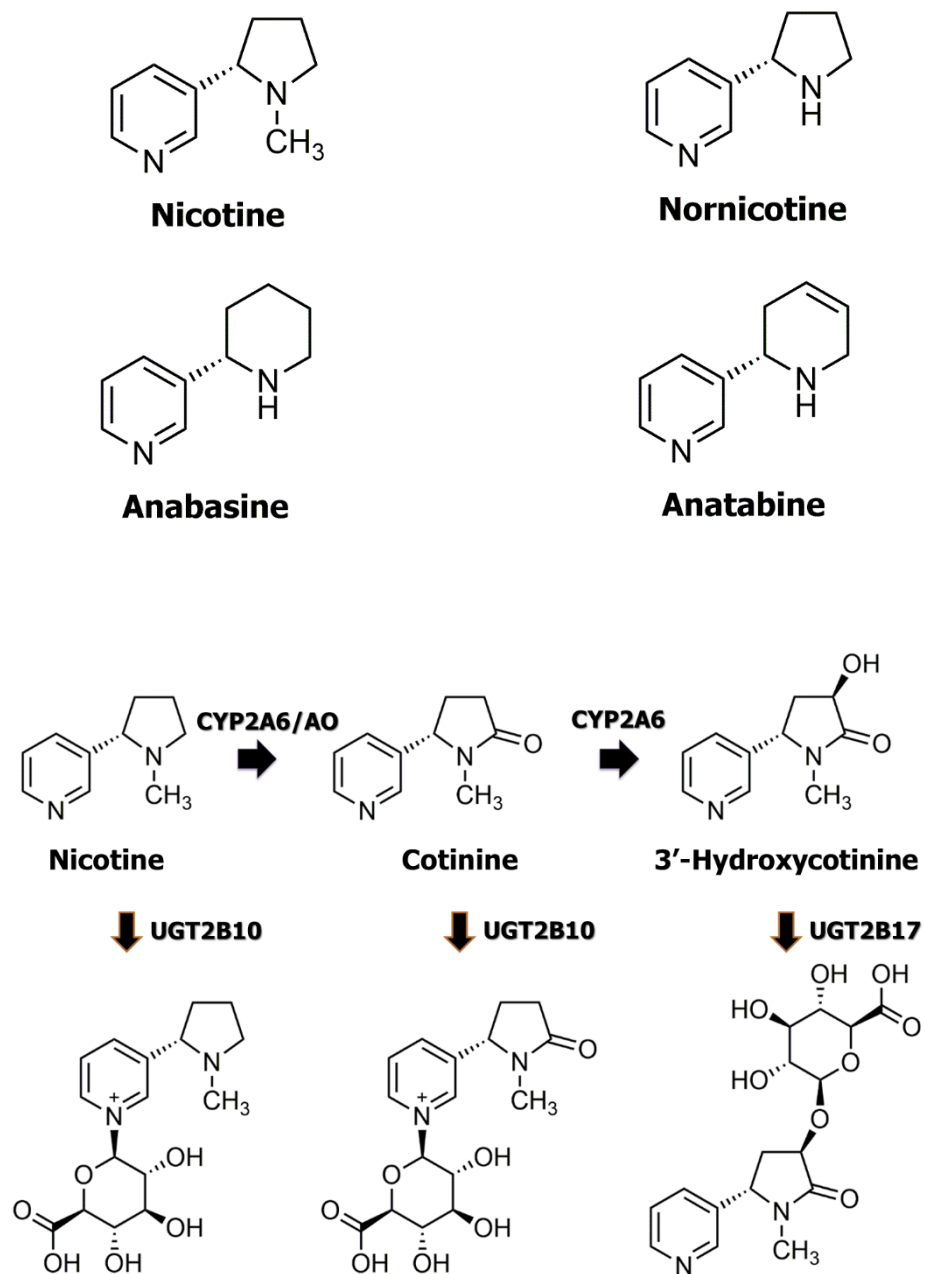


図4 本研究で評価したタバコアルカロイドとその代謝

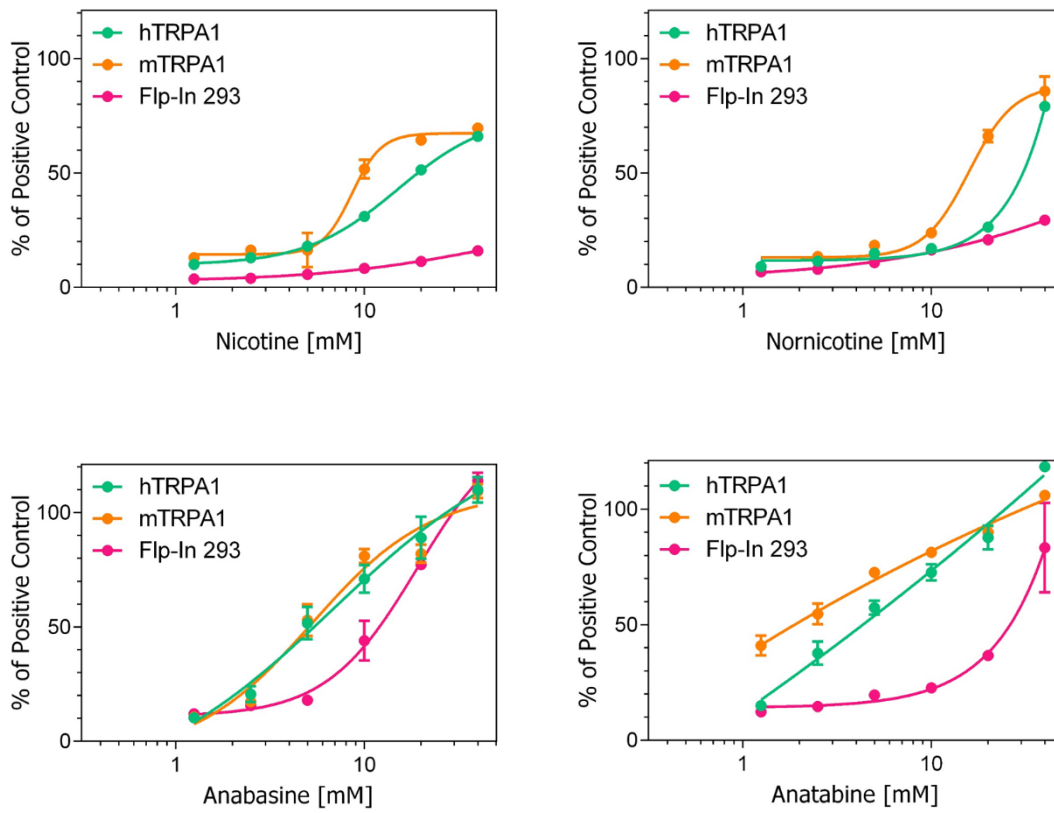


図5 タバコアルカロイドによる TRPA1 活性化の種差

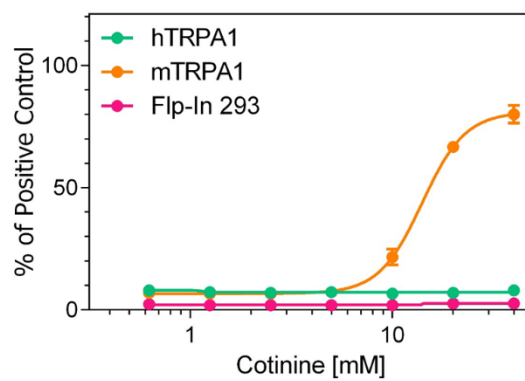


図6 ニコチン代謝物・コチニンによる TRPA1 活性化の種差

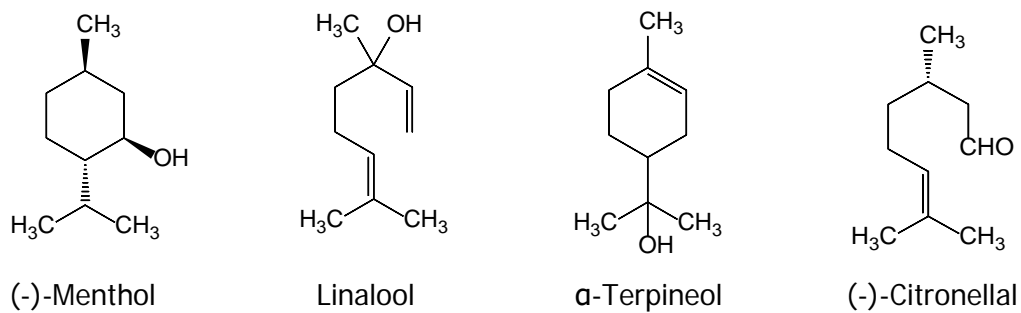


図7 本研究で評価したテルペン類の構造式

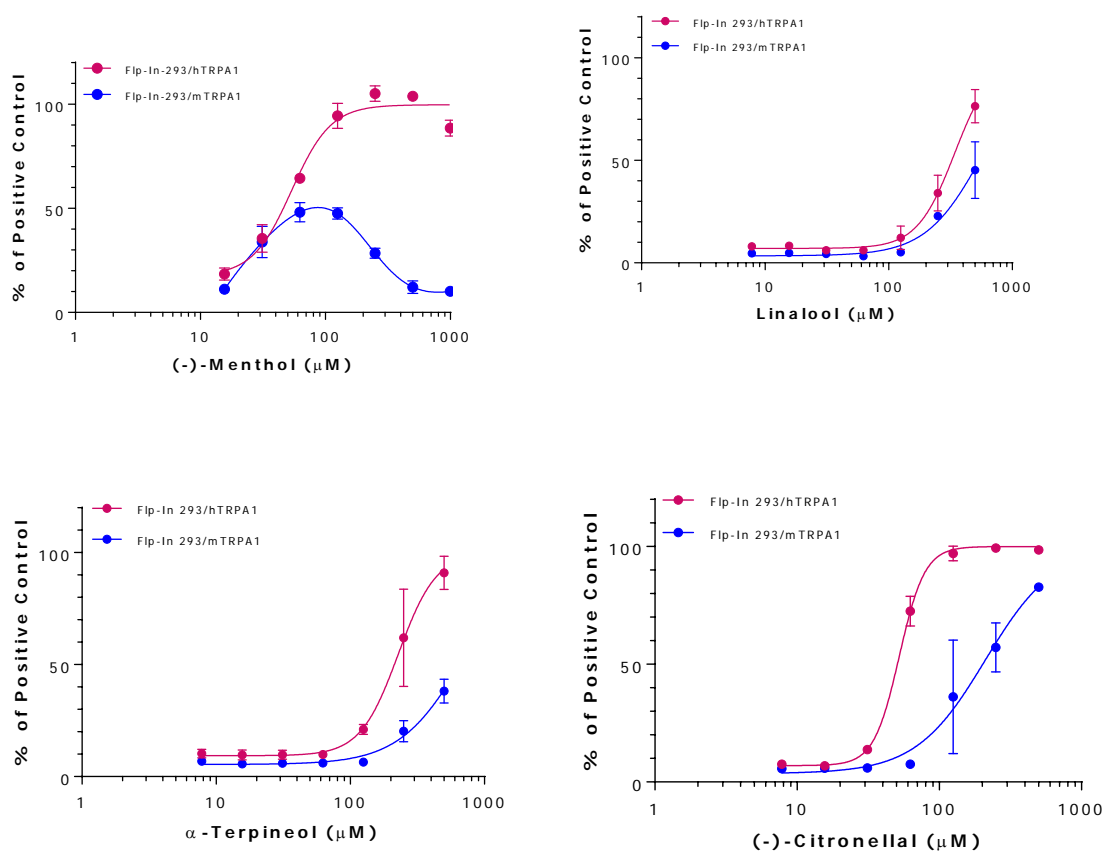


図8 テルペン類による TRPA1 活性化の種差

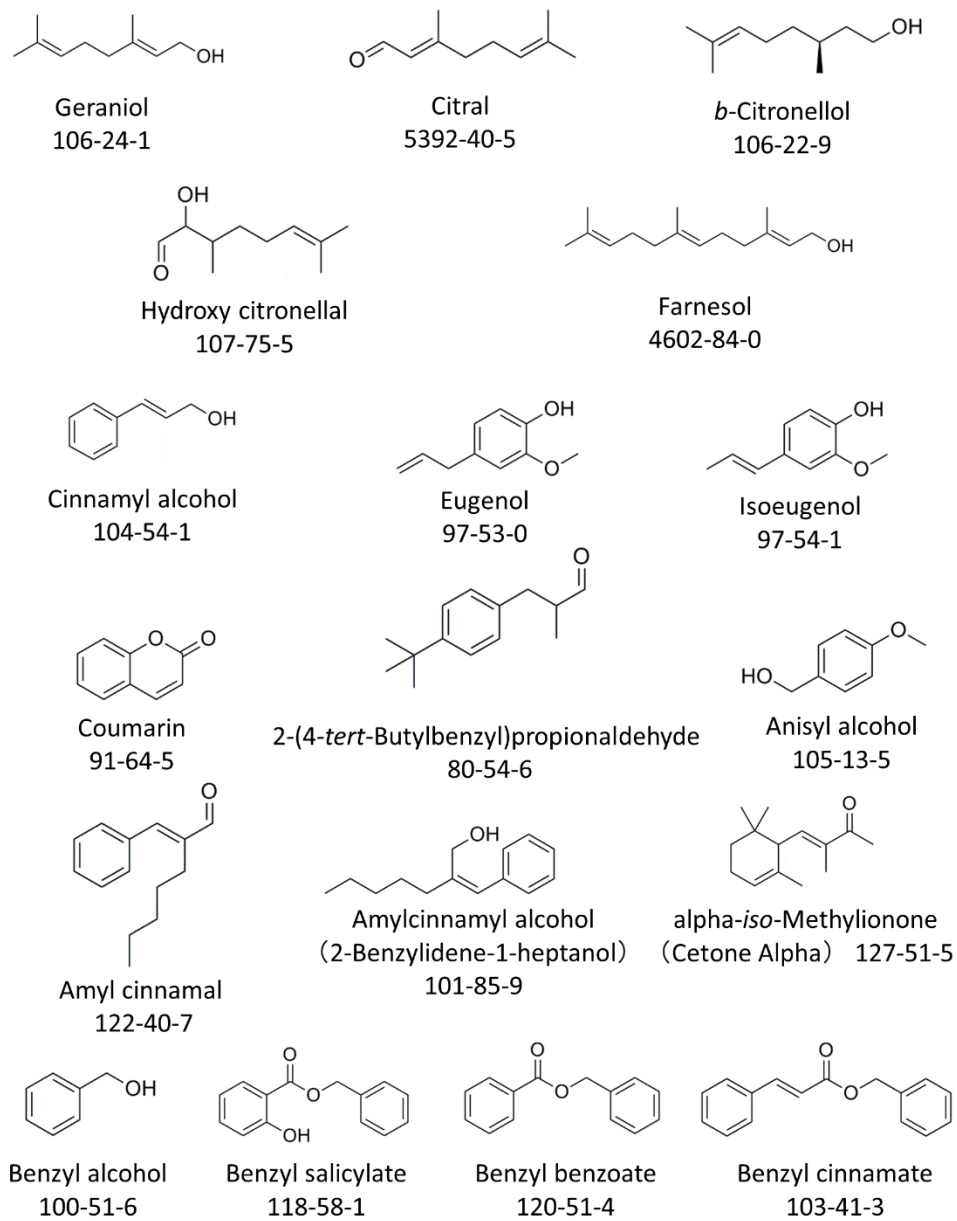


図9 本研究で評価した香料アレルゲン（数字は CAS No.）

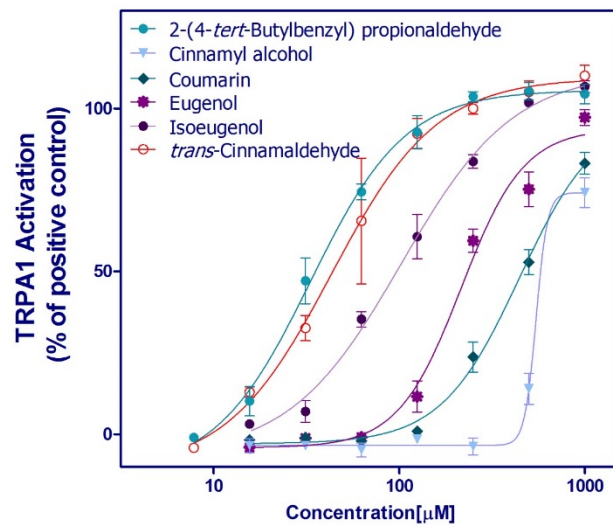
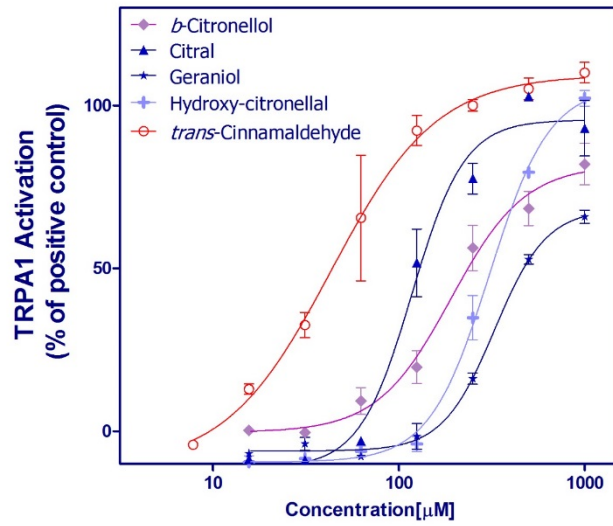


図 10 香料アレルゲンによるヒト TRPA1 活性化

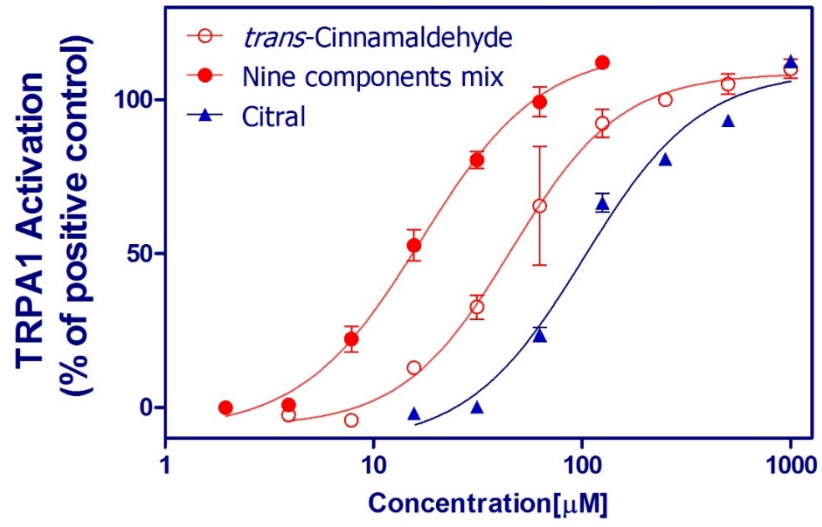


図 11 香料アレルゲン複合曝露によるヒト TRPA1 活性化の相乗効果

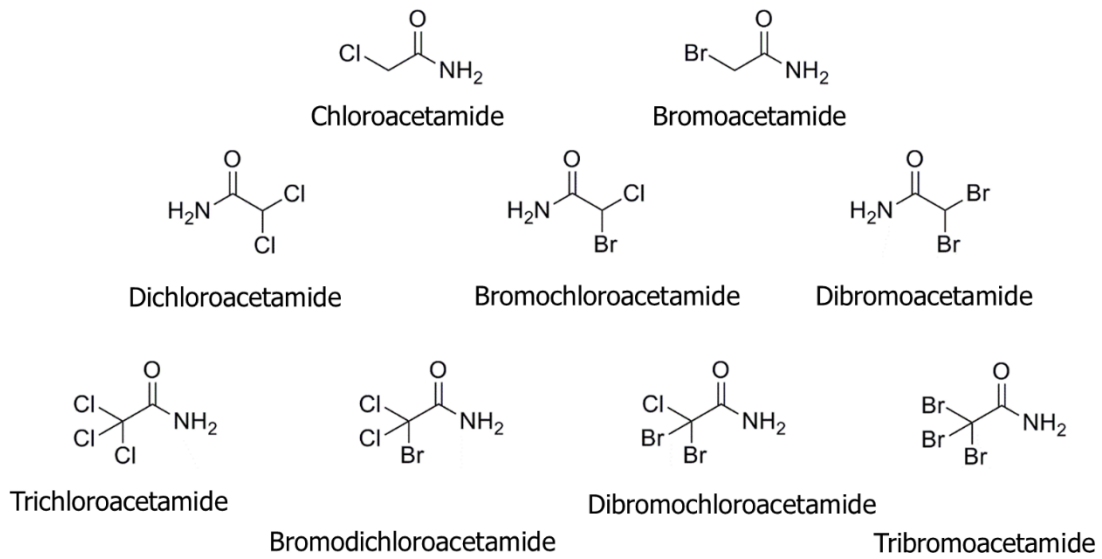


図 12 本研究で評価した消毒副生成物 ハアロアセトアミド



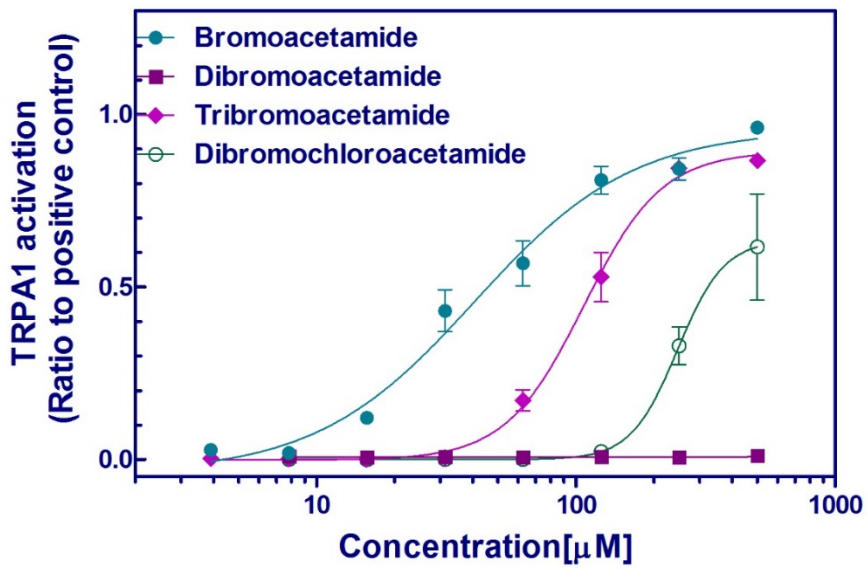
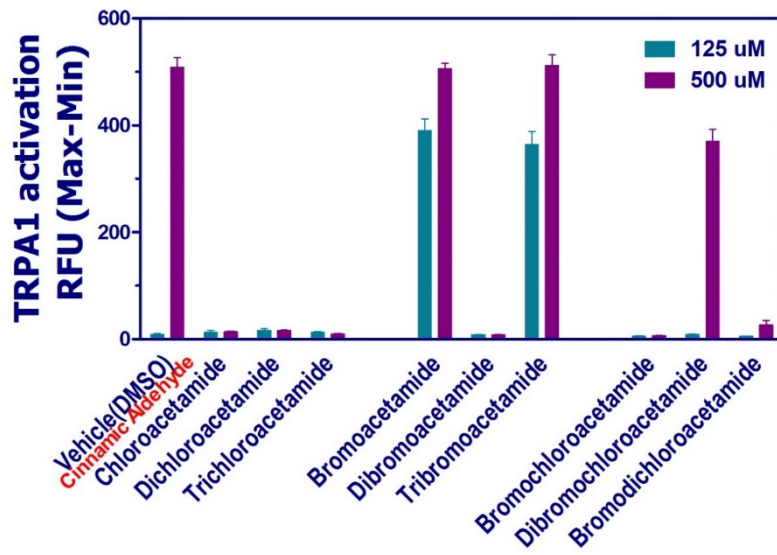


図 13 消毒副生成物・ハロアセトアミドによるヒト TRPA1 活性化

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）  
分担研究報告書

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

気道障害性の *in vitro* 評価

研究分担者 河上 強志 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 室長

今年度はプロピレングリコールエステル類、グリコールエステルアセテート類、ポリ環状シロキサン類及び香料類など、揮発性有機化合物（Volatile organic compound: VOC）及び準揮発性有機化合物（Semi volatile organic compound: SVOC）に分類される 27 化合物について Direct peptide reactivity assay（DPRA）による感作性評価を実施した。その結果、香料の methyl jasmonate、防腐剤である 2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol（bronopol）とその分解生成物である bromonitromethane 並びに 2-bromoethanol、及び芳香族第一級アミンである 2,4-diaminotoluene の 5 化合物が陽性と分類された。そのうち、methyl jasmonate についてはヒトや動物試験では感作性が認められていないことから、本研究では偽陽性を示している可能性が考えられた。一方で、本研究で陰性と分類された幾つかの化合物は動物試験等では感作性を有していると報告されており、感作性の弱い化合物においては、DPRA による評価のみならず、別の試験法による評価も用いた総合的な判定が必要と考えられた。臨床報告では、これまで bronopol はホルムアルデヒドドナー型防腐剤であることから、ホルムアルデヒドの影響が指摘されていたが、本研究によりその分解物である bromonitromethane 及び 2-bromoethanol が陽性に分類されたことから、これらの分解生成物の影響を検討する必要があると考えられた。また、bronopol については Lys/Cys が 0.2 を超えており気道感作性を有している可能性が考えられたことから、動物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。

#### A. 研究目的

人間は一日の大半を室内環境で過ごすことから、室内空気は人間の健康上、重要な環境媒体である。我が国では室内空気の安全性について、室内濃度指針値が 13 種類の化学物質対して策定<sup>1)</sup>され、建築基準法では 2 種類の化学物質が規制対

象<sup>2)</sup>とされている。

しかしながら、室内濃度指針値が策定されてから 10 年程度過ぎ、代替溶剤等の使用や準揮発性有機化合物（Semi volatile organic compound: SVOC）による室内環境汚染が懸念されるようになってきている。このような背景から、2012 年からシック

ハウス（室内空気汚染）問題に関する検討会（シックハウス検討会）が開催され、室内濃度指針値の見直しや、対象物質の追加に関する議論が進められている<sup>3)</sup>。この検討会では、現在の室内空気汚染実態の把握のために、全国調査を実施するとともにその結果を公表している。この実態調査結果から室内空気中で注目すべき化合物を選定し、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が行われることになっている。しかし、このような化合物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。そのため、この段階が室内濃度指針値の改定において律速となることが懸念されている。そこで、本研究ではハザード情報の網羅的な収集、並びに不足情報の補完方法の確立を目的としている。具体的には、気道内挙動の *in vitro/in silico* 予測、気道障害性の *in vitro* 評価及び気道障害性にかかる情報収集及び優先順位判定をサブテーマとして設定して検討を進め、気道障害性が疑われる室内環境化学物質についての優先取組リスト等、室内環境衛生にかかる厚生労働行政を推進する上で必要不可欠な情報の提供を目指している。本分担研究課題は、気道障害性の *in vitro* 評価として、室内環境化学物質の気道感作性評価を目的としている。

化学物質の感作性については、皮膚感作性と気道感作性とがある。前者はIV型アレルギー（遅延型アレルギー）であり、*in vitro* 及び *in vivo* のどちらでも多くの試験法が確立している<sup>4)</sup>。そして、これまで

に数多くの化学物質が評価され、その皮膚感作性の有無が報告されている。一方、後者は主にI型アレルギー（瞬時型アレルギー）である。産業衛生学会では、気道感作性物質はアレルギー性呼吸器疾患（鼻炎、喘息、過敏性肺臓炎、好酸球性肺炎等、アレルギーの関与が考えられる疾患）を誘発する物質と定義付けており、人間に対して明らかに感作性がある物質（第1群）、人間に対しておそらく感作性があると考えられる物質（第2群）、動物試験などにより人間に対して感作性が懸念される物質（第3群）と分類し、それぞれに判断基準を示している<sup>5)</sup>。ただし、気道感作性については、*in vivo* 及び *in vitro* どちらの試験系においても確立された試験方法はこれまで報告されていない<sup>4,6)</sup>。そのため、気道感作性物質として確認されている化学物質数は皮膚感作性物質に比べると非常に少ないのが現状である<sup>5)</sup>。

化学物質の感作性試験について、近年は動物愛護の観点から代替法が開発されている。そして、その際には *adverse outcome pass way* (AOP) を考慮した試験法の開発が行われている。皮膚感作法試験については、Fig. 1 に示したように、①化学物質とタンパク質との結合、②ケラチノサイトにおける炎症性応答及び遺伝子発現、③樹状細胞の活性化、④リンパ節におけるT細胞の活性化、といった各ステージに対応した試験法が開発されている<sup>7)</sup>。このうち、①の化学物質とタンパク質との結合について評価している *Direct peptide reactivity assay* (DPRA) は、Fig. 2 に示したシステイン含有ペプチド (Cys-peptide) またはリジン含有ペプチド

(Lys-peptide) と被験物質とを混合し 24 時間反応させた後、未反応のペプチド量を測定し、そこから被験物質の反応性を分類する方法である。この方法は、Gerberick ら<sup>8)</sup>によって開発され、現在は OECD のテストガイドライン<sup>9)</sup>に採用されている (OECD Guideline for the Testing of Chemicals TG 442C (In Chemico Skin Sensitization: Direct Peptide Reactivity Assay))。この DPRA について、被験物質に対する Cys-peptide 及び Lys-peptide の結合性の差から、その気道感作性を評価できる可能性が報告されている<sup>10)</sup>。

そこで本分担研究では、室内空気汚染実態全国調査等にて高頻度・高濃度で検出が報告されている化学物質を中心に、DPRA を用いた皮膚感作性及び気道感作性評価を実施している。昨年度は、グリコール等 23 化合物について評価を実施した。今年度はプロピレングリコールエステル類、グリコールエステルアセテート類、ポリ環状シロキサン類及び香料類など 27 化合物について評価を実施した。また、DPRA ではペプチド減少率が陽性判定のクライテリア付近の場合には、再試験を実施することになっている (Cysteine 1:10/Lysine 1:50 prediction model では 3~10%、Cysteine 1:10 prediction model のみモデルでは 9~17%)<sup>9)</sup>。昨年度、試験を実施した diethylhexyl fumarate はこの条件に該当していたことから、diethylhexyl fumarate について再試験を実施した。

## B. 研究方法

### B1. 試薬類

評価対象とした被験物質の購入先を

Table 1 に示した。また、それらの化学構造を Fig. 3 に示した。対象とした化合物は全て世界保健機関 (World Health Organization: WHO) の定義で、揮発性化合物 (Volatile organic compound: VOC) 及び SVOC に定義された<sup>11)</sup>。リン酸緩衝液の作製に使用した、リン酸二水素ナトリウム及びリン酸水素二ナトリウムは関東化学製の特級試薬を用いた。酢酸アンモニウム緩衝液の作製に用いた酢酸アンモニウム及びアンモニウム水はナカライテスク製及び和光純薬工業製をそれぞれ用いた。アセトニトリル及びトリフルオロ酢酸 (TFA) はシグマアルドリッチ製及び和光純薬工業製の HPLC 用をそれぞれ用いた。Cys-peptide 及び Lys-peptide は株式会社スクラムより購入した。試験に用いた水は全てミリポア製超純水製造装置 Milli-Q AdvantageA10 で製造した水を用いた。

リン酸緩衝液は各 100 mmol/L に調製したリン酸二水素ナトリウム水溶液及びリン酸水素二ナトリウム水溶液を 18/82 の割合で混合し、pH を 7.5±0.05 に調製したものをを用いた。酢酸アンモニウム緩衝液は酢酸アンモニウム 1.542 g を 200 mL の水に溶解した後、アンモニア水を用いて pH を 10.2 に調製したものをを用いた。

ペプチド溶液は Cys-peptide (Cys 溶液) 及び Lys-peptide (Lys 溶液) が 0.667 mmol/L となるように、それぞれリン酸緩衝液及び酢酸アンモニウム緩衝液に溶解させた。

陽性対照に使用した Cinnamic aldehyde 及び各被験物質は 100 mmol/L となるようにアセトニトリルに溶解させた。

## B2. 試験方法

OECD TG 442C に従い試験した。Cys-peptide と各被験物質との反応では、Cys 溶液 750 µL に 200 µL のアセトニトリル及び被験対象物質溶液 50 µl を加え、ボルテックスミキサーで攪拌した後、暗所にて 25°C で 24 ± 2 時間静置した。24 時間後に高速液体クロマトグラフ/フォトダイオードアレイ検出器 (HPLC/PDA) にて Cys-peptide を測定した。Lys-peptide では、Lys 溶液 750 µL に 250 µL の被験物質溶液を加え、ボルテックスミキサーで攪拌した後、Cys-peptide と同様に操作後に測定した。また、各ペプチドとの反応において、ペプチド溶液を対応する各緩衝液に置き換えた試料を Co-elution control、被験物質溶液をアセトニトリルに置き換えたものを Reference control としてそれぞれ調製し用いた。ここで、Co-elution control は各ペプチドと被験物質の保持時間が重なるの有無の確認用、Reference control は各ペプチドの安定性評価に用いている。また、試験の成立確認のために、各ペプチドについて検量線を作製し測定した。

これらの試験は、最初に混合された試料から 22~26 時間以内に HPLC による測定を開始し、HPLC 分析は測定開始から 30 時間以内終了した。

各被験物質によるペプチド減少量は次式から算出した。

$$\text{Peptide Depletion (\%)} = \left[ 1 - \frac{\text{Peptide peak area in replicate injection}}{\text{Mean peptide peak area in reference controls}} \right] \times 100$$

DPRA では被験物質のペプチドとの反応性の評価は、ペプチド減少率の平均値を算出し、Table 2 に示したモデルで分類

することになっている<sup>9)</sup>。この際、各ペプチドと被験物質の溶出時間が重なるかどうか、Co-elution control を測定し確認することになっている。もし、ペプチドと被験物質の溶出時間が重なる場合にはペプチド減少率の算出が不可能となる (共溶出 : Co-elution)。ただし、共溶出が Lys-peptide のみの場合には、Cys-peptide 1:10 prediction model に従い分類することになっている。また、共溶出が認められない場合で減少率がマイナスを示した場合には、減少率はゼロとして平均値を算出している。

OECD TG 442C では DPRA 法の実施にあたり試験者の技術レベルを確認するため、感作性強度が extreme から non-sensitizer まで幅広い 10 物質を用いた技能試験 (proficiency test) の実施が求められており、Cys-peptide 及び Lys-peptide のそれぞれについて、10 物質中 8 物質以上で所定のペプチド減少率の範囲に収まることが要求されている<sup>9)</sup>。本研究では、昨年度に、proficiency test を実施し OECD TG 442C の要求範囲に収まっていることを確認している<sup>12)</sup>。

## B3. HPLC/PDA 条件

島津製作所製の NexeraX2 システムを用いた。カラムにはアジレントテクノロジー社製の Zorbax SB-C18 (内径 2.1 mm × 長さ 100 mm × 粒子径 3.5 µm) を用いた。カラムオープン温度及びオートサンPLA ラック温度は 30°C 及び 25°C とした。流速は 0.35 mL/min、注入量は 10 µL とした。移動相は、A 液が 0.1% (w/w) TFA 水、B 液が 0.085% (w/w) TFA アセトニ

トリルとした。グラジエント条件は B 液を初期濃度 10%から 10 分間に 25%とし、その後 1 分間で 90%とした。その後、2 分間 B 液 90%で保持した後、0.5 分で 10%とし、その後 7.5 分間保持した。測定波長は 220 nm 及び 258 nm とし、ペプチド減少率は 220 nm で測定した。

## C. 結果及び考察

### C1. 各ペプチドとの共溶出について

各ペプチドについて、被験物質無し (Reference control) 及び陽性対照と反応させた (Positive control) 試料の HPLC クロマトグラムを Fig. 4 に示した。本年度試験した 27 化合物のうち、Cys-peptide では 2-phenylethyl alcohol で、Lys-peptide では diethylene glycol monoethyl ether acetate で共溶出が確認された (Fig.4)。そのため、diethylene glycol monoethyl ether acetate は Cys-peptide 1:10 prediction model で評価し、2-phenylethyl alcohol は評価を実施しなかった。

### C2. 各被験物質の評価結果

本年度試験した 27 化合物の評価結果を Table 3 に示した。また、前述のように、ペプチド減少率が陽性判定のクライテリア付近の場合には、再試験を実施することになっている。これまでに評価した化合物では、昨年度試験した diethylhexyl fumarate 及び今年度試験した diethylene glycol monobutyl ether、methyl jasmonate、3-(4-tert-butylphenyl)isobutyraldehyde、2-bromoethanol 及び 2,6-diaminotoluene の 6 化合物が該当した (Table 3)。そこで、これらの化合物について再試験を実施し

たところ、2,6-diaminotoluene を除く 5 化合物は最初の試験結果と同じ結果を示した。2,6-Diaminotoluene については、初回が陽性、二回目が陰性であったことから、さらに試験を実施したところ、二回目と同じ結果となり陰性と分類された。

最終的に今年度試験した化合物では、試験が成立した 26 化合物のうち、5 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<sup>3)</sup>では、グリコールエーテル類やポリ環状シロキサン類が高頻度及び高濃度で検出されることが報告されている。今年度試験した、グリコールエーテル類、グリコールエーテルアセテート類及びポリ環状シロキサン類については、感作性は全て陰性と分類された。ポリ環状シロキサンである、octamethylcyclotetrasiloxane 及び decamethylcyclotetrasiloxane については、昨年度の本研究班の分担研究者による毒性情報収集の結果<sup>13)</sup>でも感作性が認められないことが報告されている。

8 種類の香料化合物について評価を実施したところ benzyl benzoate 及び 3-(4-tert-butylphenyl) isobutyraldehyde が陰性に分類された。これらの化合物は、マウスを用いた局所リンパ節アッセイ (Local Lymph Node Assay : LLNA) では弱い陽性物質 (Weak sensitizer) と分類され、DPRA 開発時の報告では benzyl benzoate が陰性、3-(4-tert-butylphenyl) isobutyraldehyde が弱い陽性と分類されている<sup>14)</sup>。DPRA では感作性の弱い化合物については、偽陰性と判定される可能性があることが指摘されており<sup>7)</sup>、そのため

本研究ではこれらの化合物が陰性に分類されたものと考えられた。また、本研究では methyl jasmonate が弱い陽性化合物と分類されたが、モルモットマキシミゼーション試験 (Guinea pig maximization test: GPMT) や、ヒト累積感作性試験 (Human repeated insult patch test: HRIPT) では methyl jasmonate について感作性は認められていない<sup>15)</sup>。DPRA 開発時に 82 化合物が試験され、LLNA では非感作性物質 (Non sensitizer) と分類されている化合物のいくつかで、弱い陽性と分類されたことが報告されている<sup>14)</sup>。そのため、本試験では methyl jasmonate は偽陽性を示している可能性が考えられた。また、今回試験に用いた methyl jasmonate は異性体混合物であり、CASRN が異性体を含まないもの (CASRN. 1211-29-6) と異なっていた。そのため、試験結果に異性体の影響も含まれている可能性も考えられた。Ethylene 1,11-undecanedicarboxylate は、欧州連合 (European Union: EU) の消費者科学委員会 (Science Committee of Consumer Safety: SCCS) による化粧品用香料に関する意見書で、構造活性相関に基づき非感作性物質と予測されていたが<sup>16)</sup>、本研究においても陰性と分類された。

2-Bromo-2-nitro-1,3-propanediol は bronopol と呼ばれる防腐剤であり、化粧品をはじめウェットティッシュ等の衛生製品<sup>17)</sup>など様々な製品の防腐剤として使用されている。この防腐剤については、GPMT では感作性について判断できないとの報告<sup>18)</sup>がある一方で、接触皮膚炎の臨床報告では原因物質とされている<sup>19,20)</sup>。Bronopol はホルムアルデヒドを放出する

ホルムアルデヒドドナー型防腐剤として知られており、ホルムアルデヒドを放出しながら、bromonitromethane や 2-bromoethanol へと分解される (Fig. 5)。そのため、bronopol の感作にはホルムアルデヒドの影響が指摘されていたが、bronopol に陽性を示す患者でホルムアルデヒドにも陽性を示したのは 15%であったことから、bronopol 自体が感作性を有している可能性が指摘されている<sup>21)</sup>。さらに、ヒト由来細胞や NMR を用いた試験により、bronopol による感作はホルムアルデヒドとは反応性が異なることや、2-bromoethanol も関与していることなどが報告されている<sup>22)</sup>。本研究では、bronopol とその分解物である bromonitromethane 及び 2-bromoethanol について、DPRA による評価を実施した。その結果、これら 3 種類の化合物は全て陽性に分類され、bronopol のみならず、その分解物も感作性を有していることが明らかとなった。ただし、bronopol については、温度及び pH が高いほどホルムアルデヒドを放出し分解することが報告されており、リン酸緩衝液中で pH 8.0、25°C の条件のとき、1000 µg/L (5 mmol/L) の bronopol から 24 時間で 30 µg/L (1 mmol/L) のホルムアルデヒドの生成が確認されている<sup>23)</sup>。DPRA では pH 7.5 及び 10.2 の緩衝液を使用し、各ペプチド溶液を添加後、25°C で 24±2 時間静置しており、bronopol を陽性と分類するには、試験時の分解生成物の影響を検討する必要があると考えられた。

本研究では 3 種類の芳香族第一級アミンについて試験を実施した。そのうち、

2,4-diaminotoluene については、GPMT の結果の解釈の違いから感作性について評価が分かれているが<sup>24,25)</sup>、本研究では陽性と分類された。また、その構造異性体である 2,6-diaminotoluene については、陰性と分類された。4,4'-Methylenedianiline は GPMT で陽性が認められているが<sup>26)</sup>、本研究では陰性に分類されており、偽陰性を示している可能性が考えられた。

Morpholine、cyclohexylamine 及び dicyclohexylamine は様々な用途に使用されているが、ゴム製品の製造に用いるベンゾチアゾール系の加硫促進剤の分解物として、ゴム製品から放散することが知られている。これらの化合物は本研究では陰性に分類された。

### C3. 被験物質の気道感作性

Lalko et al. は既知の気道感作性物質と、皮膚感作性を有するが気道感作性を有さない化合物とを DPRA により評価し、それらの Cys-peptide 及び Lys-peptide におけるペプチド減少率の比 (Lys/Cys) を求め比較した<sup>10)</sup>。その結果、気道感作性を有する化合物の方が、皮膚感作性のみ有する化合物に比べて Lys/Cys が大きくなることを報告しており、気道感作性物質の Lys/Cys は 0.2 以上を示していた。本研究で陽性と判断された 5 化合物について Lys/Cys を見ると、0.2 以上を示したのは bronopol と 2-bromoethanol の 2 化合物であった。ただし、2-bromoethanol については、2 回試験を実施しており、1 回目は Lys/Cys は 0.012 と 0.2 を大きく下回っている。これは、2-bromoethanol のペプチド減少率が陽性クライテリア付近であり、特に

Lys-peptide の減少率が 1 回目と 2 回目で大きく異なることが影響している。このように、弱い陽性を示す化合物については Lys/Cys を用いた気道感作性評価は適切ではないと考えられた。Bronopol については気道感作性に関するデータがないため、分類できないとされているが<sup>27)</sup>、本研究で気道感作性の可能性が考えられたことから、今後、動物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。

### D. まとめ

今年度はプロピレングリコールエステル類、グリコールエステルアセテート類、ポリ環状シロキサン類及び香料類など VOC 及び SVOC に分類される 27 化合物について DPRA による感作性評価を実施し、5 化合物が陽性と分類された。そのうち、methyl jasmonate についてはヒトや動物試験では感作性が認められていないことから、本研究の結果は偽陽性を示している可能性が考えられた。一方で、陰性と分類された化合物の幾つかは、動物試験等で感作性有りとしてされており、感作性の弱い化合物においては、DPRA による評価のみならず、別の試験法による評価も用いた総合的な判定が必要と考えられた。Bronopol はそれ自身のみならず、分解生成物である bromonitromethane 及び 2-bromoethanol が陽性に分類されたことから、その影響を検討する必要があると考えられた。また、bronopol は Lys/Cys が 0.2 を超えており気道感作性を有している可能性が考えられたことから、今後、動物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。

## E. 研究発表

### E1. 論文発表

1) 清水久美子・秋山卓美・伊佐間和郎・河上強志・五十嵐良明: グアニジン系加硫促進剤の感作性評価と家庭用ゴム製品の実態調査, 国立衛研報, 134, 42-49, 2016.

### E.2 学会発表

- 1) 河上強志・伊佐間和郎・香川聡子・神野透人: 家庭用水性スプレー製品中のグリコール類等の実態と製品使用時の平均室内空气中濃度の推定, 第25回環境化学討論会 (2016.6)
- 2) 河上強志・伊佐間和郎・五十嵐良明: ポリウレタン製繊維製品に使用されたベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の簡易分析法の検討と実態調査, 第25回環境化学討論会 (2016.6)
- 3) 河上強志・秋山卓美・五十嵐良明: 酸化染毛剤による皮膚障害の防止方策に関する研究, 第2回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム 2016 (2016.9)
- 4) 河上強志・伊佐間和郎・五十嵐良明: 繊維製品中のアレルギー性金属に関する調査, 第46回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会・学術大会 (2016.11)
- 5) 河上強志・伊佐間和郎・五十嵐良明: ポリウレタン繊維製品におけるベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の使用傾向, 第53回全国衛生化学技術協議会年会 (2016.11)

- 6) 河上強志・伊佐間和郎・香川聡子・神野透人: 室内空气中グリコール類濃度に対する家庭用水性スプレー製品の寄与, 第53回全国衛生化学技術協議会年会 (2016.11)
- 7) 秋山卓美・清水久美子・河上強志・伊佐間和郎・五十嵐良明: グアニジン系加硫促進剤4種の感作性及び家庭用ゴム製品中の含有量, 第53回全国衛生化学技術協議会年会 (2016.11)
- 8) 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, 日本薬学会大137年会 (2017.3)

## F. 知的所有権の取得状況

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

## G. 引用文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室: 室内濃度指針値一覧, <http://www.nihs.go.jp/mhlw/chemical/situnai/hyou.html>
- 2) 国土交通省: 改正建築基準法に基づくシックハウス対策の概要, <http://www.mlit.go.jp/jutakukentiku/build/sickhouse.files/gaiyou.pdf>
- 3) 厚生労働省: シックハウス(室内空気汚染)問題に関する検討会, <http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/other-iyaku.html?tid=128714>

- 4) 青山公治：動物による皮膚及び呼吸器感作性試験の最近の動向, 日衛誌, 65, 14-19, 2010.
- 5) 産業衛生学会: 許容濃度等の勧告 (2014年度), 産衛誌, 56, 162-188, 2014.
- 6) Mekenyan O., Patlewicz G., Kuseva C., Popova I., Mehmed A., Kotov S., Zhechev T., Pavlov T., Temelkov S., Roberts W.D.: A mechanistic approach to modeling respiratory sensitization, *Chem. Res. Toxicol.*, 27, 219-239, 2014.
- 7) 辻田恭子・足利太可雄: 皮膚感作試験代替法開発への取り組み, *Fragrance Journal*, 2014-9, 27-31, 2014.
- 8) Gerberick G.F., Vassallo J.D., Bailey R.E., Chaney J.G., Morrall S.W., Lepoittevin J.P.: Development of a peptide reactivity assay for screening contact allergens, *Toxicol. Sci.*, 81, 332-343, 2004.
- 9) OECD Guideline for the Testing of Chemicals TG 442C (In Chemico Skin Sensitization: Direct Peptide Reactivity Assay).
- 10) Lalko J.F., Kimber I., Gerberick G.F., Foertsch L.M., Api A.M., Dearman R.J.: The direct peptide reactivity assay: Selectivity of chemical respiratory allergens, *Toxicol. Sci.*, 129, 421-431, 2012.
- 11) World Health Organization: Indoor air quality investigations, organic pollutants, Euro reports and studies No.111, WHO, Regional office of Europe, Copenhagen (1989).
- 12) 河上強志・伊佐間和郎: 気道障害性の in vitro 評価, 厚生労働科学研究費補助金 (化学物質リスク研究事業)「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」平成 27 年度報告書
- 13) 東賢一: 気道障害性にかかる情報収集及び優先順位判定, 厚生労働科学研究費補助金 (化学物質リスク研究事業)「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」平成 27 年度報告書
- 14) Gerberick F., Vassallo J.D., Foertsch L.M., Price B. B., Chaney, J. G., Lepoittevin, J.P.: Quantification of chemical peptide reactivity for screening contact allergens: a classification tree model approach, *Toxicol. Sci.*, 97, 417-427, 2007.
- 15) Scognamiglio J., Jones L., Letizia C.S., Api A.M.: Fragrance material review on methyl jasmonate, *Food Chem. Toxicol.*, 50, S572-S576, 2012.
- 16) Scientific Committee on Consumer Safety: Opinion on fragrance allergens in cosmetic products, [http://ec.europa.eu/health/scientific\\_committees/consumer\\_safety/docs/sccs\\_o\\_073.pdf](http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_073.pdf)
- 17) Kawkamai T., Isama K., Ikarashi Y.: Survey of isothiazolinones and other preservatives in household wet tissue products in Japan, *J. Environ. Chem.*, 25, 207-214, 2015.
- 18) 野田勉・山野哲夫・清水充: 家庭用品に使用される化学物質の皮膚感作性試験 (VI) 抗菌剤 2-chloroacetamide、2-bromo-2-nitropropane-1,3-diol、zinc bis(2-pyridylthio-1-oxide) のモルモット

- における皮膚感作性, 生活衛生, 48, 396-406, 2004.
- 19) Peters M.S., Connolly S.M., Schroeter A.L.: Bronopol allergic contact dermatitis, Contact Dermatitis, 9, 397-401, 1983.
- 20) Frosch P.J., White I.R., Rycroft R.J., Lahti A., Burrows D., Camarasa J.G., Ducombs G., Wilkinson J.D.: Contact allergy to Bronopol, Contact Dermatitis, 22, 24-26, 1990.
- 21) de Groot A., White I.R., Flyvholm M.A., Lensen G., Coenraads P.J.: Formaldehyde-releasers in cosmetics: relationship to formaldehyde contact allergy. Part 2. Patch test relationship to formaldehyde contact allergy, experimental provocation tests, amount of formaldehyde released, and assessment of risk to consumers allergic to formaldehyde, Contact Dermatitis, 62, 18-31, 2010.
- 22) Kireche M. Peiffer J.L., Antonios D., Fabre I., Giménez-Arnau E., Pallardy M., Lepoittevin J.P., Ourlin J.C.: Evidence for chemical and cellular reactivities of the formaldehyde releaser bronopol, independent of formaldehyde release, Chem. Res. Toxicol., 24, 2115-2128, 2011.
- 23) Kajimura K., Tagami T., Yamamoto T., Iwagami S.: The release of formaldehyde upon decomposition of 2-bromo-2-nitropropan-1,3-diol (bronopol), J. Health Sci., 54, 488-492, 2008.
- 24) 財団法人化学物質評価研究機構: CERI 有害性評価書 2,4-diaminotoluene, [http://www.cerij.or.jp/evaluation\\_document/yugai/95\\_80\\_7.pdf](http://www.cerij.or.jp/evaluation_document/yugai/95_80_7.pdf)
- 25) 職場の安全サイト: 2,4-ジアミノトルエン, <http://anzeninfo.mhlw.go.jp/anzen/gmsds/0167.html>
- 26) 財団法人化学物質評価研究機構: CERI 有害性評価書 4,4'-methylenedianiline, [http://www.cerij.or.jp/evaluation\\_document/yugai/101\\_77\\_9.pdf](http://www.cerij.or.jp/evaluation_document/yugai/101_77_9.pdf)
- 27) 職場の安全サイト: 2-ブロモ-2-ニトロプロパン-1,3-ジオール, <http://anzeninfo.mhlw.go.jp/anzen/gmsds/52-51-7.html>

Table 1. CAS No, logKow, boiling point, and supplier of chemicals studied.

Type	Chemicals	CAS No.	Molecular weight	logKow <sup>a</sup>	Boiling point (°C) <sup>a</sup>	VOC/SVOC <sup>b</sup>	Supplier <sup>c</sup>
Positive Control	Cynnamic aldehyde	14371-10-9	132.2	1.9 <sup>d</sup>	252 <sup>d</sup>	VOC/SVOC	T
Glycol ethers and glycol ether acetates	Propylene glycol monomethyl ether	107-98-2	90.1	-0.49 <sup>d</sup>	120 <sup>d</sup>	VOC	K
	Propylene glycol monoethyl ether	1569-02-4	104.2	0.3 <sup>d</sup>	132 <sup>d</sup>	VOC	J
	Propylene glycol monobutyl ether	5131-66-8	132.2	1.15 <sup>d</sup>	170 <sup>d</sup>	VOC	T
	Diethylene glycol monobutyl ether	112-34-5	162.2	0.56 <sup>d</sup>	230 <sup>d</sup>	VOC	T
	Propylene glycol monomethyl ether acetate	108-65-6	132.2	0.3 <sup>d</sup>	146 <sup>d</sup>	VOC	T
	Diethylene glycol monoethyl ether acetate	112-15-2	176.2	0.32 <sup>d</sup>	217 <sup>d</sup>	VOC	T
	Diethylene glycol monobutyl ether acetate	124-17-4	204.3	1.3 <sup>d</sup>	245 <sup>d</sup>	VOC/SVOC	T
	Octamethylcyclotetrasiloxane	556-67-2	296.6	5.1 <sup>d</sup>	175 <sup>d</sup>	VOC	T
	Decamethylcyclopentasiloxane	541-02-6	370.8	5.2 <sup>d</sup>	210 <sup>d</sup>	VOC	T
Cyclosiloxanes	Dodecamethylcyclohexasiloxane	540-97-6	444.9	5.86 <sup>d</sup>	245 <sup>d</sup>	VOC/SVOC	T
	Butyl acetate	123-86-4	116.2	1.82 <sup>d</sup>	126 <sup>d</sup>	VOC	T
Fragrances	Benzyl benzoate	120-51-4	212.3	3.97 <sup>d</sup>	324 <sup>d</sup>	SVOC	T
	Ethyl Salicylate	118-61-6	166.2	3.032±0.240 <sup>e</sup>	231 <sup>d</sup>	VOC	T
	Methyl jasmonate (mixture of isomers)	1101843-02-0	224.3	2.945±0.350 <sup>e</sup>	302.9±15.0 <sup>e</sup>	SVOC	T
	Methyl dihydrojasmonate (mixture of isomers)	24851-98-7	226.3	2.663±0.272 <sup>e</sup>	307.8±15.0 <sup>e</sup>	SVOC	T
	Ethylene 1,11-undecanedicarboxylate	105-95-3	270.4	2.773±0.394 <sup>e</sup>	139-142 <sup>e</sup>	VOC	W
	3-(4-tert-Butylphenyl)isobutyraldehyde (Lilial)	80-54-6	204.3	3.839±0.249 <sup>e</sup>	95-96 <sup>e</sup>	VOC	T
	2-Phenylethyl Alcohol	60-12-8	122.2	1.4 <sup>d</sup>	219 <sup>d</sup>	VOC	T
	2-Bromo-2-nitro-1,3-propanediol (Bronopol)	52-51-7	200.0	1.150±0.631 <sup>e</sup>	358.0±42.0 <sup>e</sup>	SVOC	T
	Bromonitromethane	563-70-2	139.9	0.875±0.267 <sup>e</sup>	149 <sup>e</sup>	VOC	W
	2-Bromoethanol	540-51-2	125.0	0.263±0.221 <sup>e</sup>	150 <sup>d</sup>	VOC	T
Aromatic amines	2,4-Diaminotoluene	95-80-7	122.2	0.14 <sup>d</sup>	292 <sup>d</sup>	SVOC	W
	2,6-Diaminotoluene	823-40-5	122.2	-0.241±0.254 <sup>e</sup>	282 <sup>d</sup>	SVOC	T
	4,4'-Methylenedianiline	101-77-9	198.3	1.6 <sup>d</sup>	398-399 <sup>e</sup>	SVOC	W
Rubber related compounds	Morpholine	110-91-8	87.1	-0.86 <sup>d</sup>	129 <sup>d</sup>	VOC	T
	Cyclohexylamine	108-91-8	99.2	1.500±0.187 <sup>e</sup>	125 <sup>d</sup>	VOC	T
	Dicyclohexylamine	101-83-7	181.3	3.5 <sup>d</sup>	256 <sup>d</sup>	VOC/SVOC	T
Others	Bis(2-ethylhexyl) fumarate	141-02-6	340.5	7.25 <sup>d</sup>	197 <sup>d</sup>	VOC	T

<sup>a</sup> logKow: octanol-water partition coefficient.

<sup>b</sup> Type of VOC/SVOC is classified based on WHO definition)

<sup>c</sup> T: Tokyo Chemical Industry Co., Ltd., K: Kanto Chemical Co., Inc., J: Junsei Chemical Co., Ltd., W: Wako Pure Chemical Industries, Ltd.

<sup>d</sup> The values are cited from manufacturer's safety data sheet.

<sup>e</sup> The values expressed bold face type are cited from Scifinder.

Table 2. Prediction models of DPRA.

Prediction model	Prediction	Mean of cysteine and lysine % depletion	Reactivity Class
Cys-peptide 1:10 Lys-peptide 1:50 Prediction model	Negative	$0\% \leq \text{mean \% depletion} \leq 6.38\%$	No or minimal reactivity
	Positive	$6.38\% < \text{mean \% depletion} \leq 22.62\%$	Low reactivity
		$22.62\% < \text{mean \% depletion} \leq 42.47\%$	Moderate reactivity
		$42.27\% < \text{mean \% depletion} \leq 100\%$	High reactivity
Cys-peptide 1:10 Prediction model	Negative	$0\% \leq \text{mean \% depletion} \leq 11.89\%$	No or minimal reactivity
	Positive	$11.89\% < \text{mean \% depletion} \leq 23.09\%$	Low reactivity
		$23.09\% < \text{mean \% depletion} \leq 98.24\%$	Moderate reactivity
		$98.24\% < \text{mean \% depletion} \leq 100\%$	High reactivity

Table 3. Results of DPRA for chemicals studied.

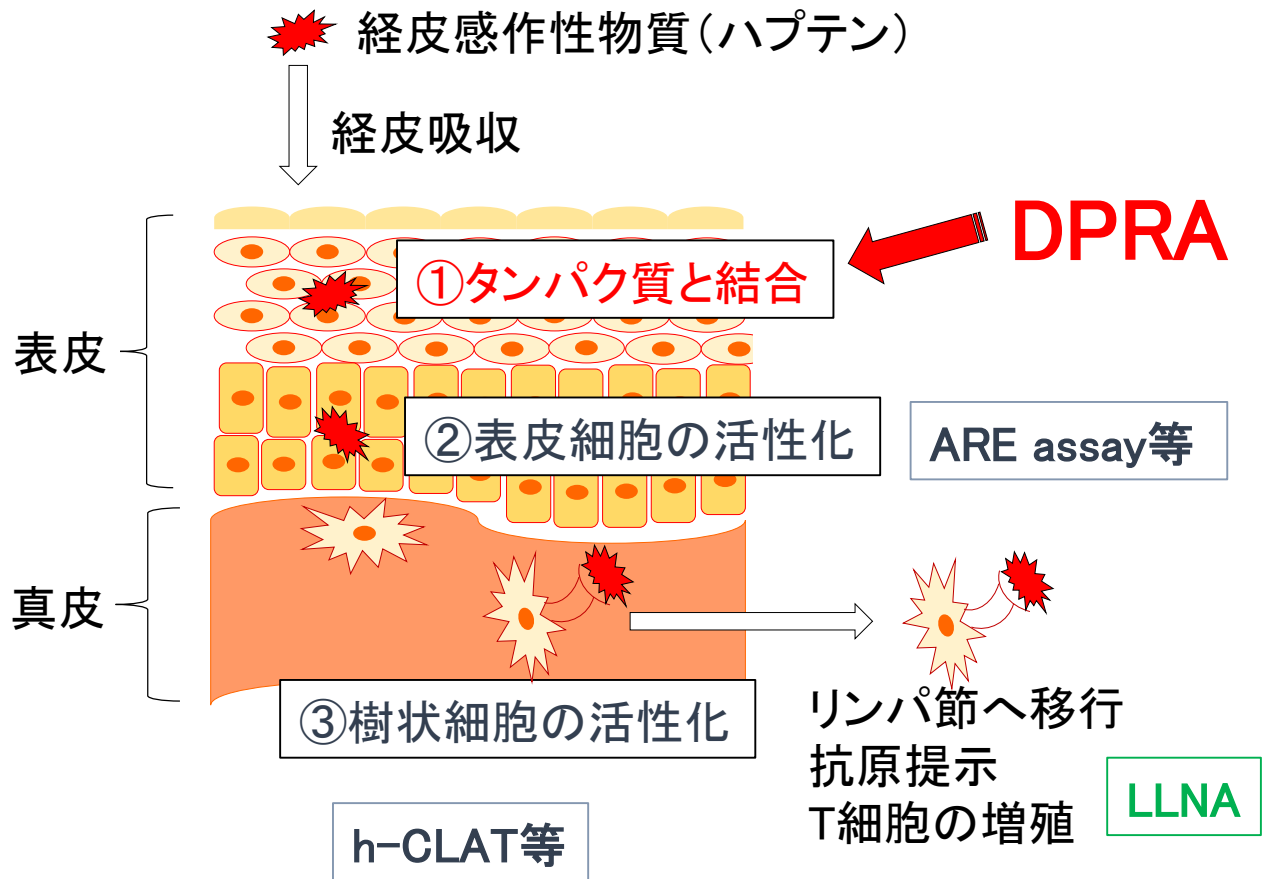
Type	Chemicals	Depletion (%)			Prediction	Lys/Cys	Additional testing
		Cysteine	Lysine	Mean <sup>a</sup>			
Glycol ethers and glycol ether acetates	Propylene glycol monomethyl ether	-0.68	0.67	0.34	Negative		
	Propylene glycol monoethyl ether	-0.45	0.58	0.29	Negative		
	Propylene glycol monobutyl ether	0.15	1.7	0.90	Negative		
	Diethylene glycol monobutyl ether	5.3	1.3	3.3	Negative		○
		2.4	-0.5	1.2			
	Propylene glycol monomethyl ether acetate	-0.035	1.2	0.59	Negative		
	Diethylene glycol monoethyl ether acetate	0.61	n.t. <sup>b</sup>	0.61 <sub>Cys</sub> <sup>c</sup>	Negative		
	Diethylene glycol monobutyl ether acetate	0.49	1.5	1.0	Negative		
Cyclosiloxanes	Octamethylcyclotetrasiloxane	-0.010	0.30	0.15	Negative		
	Decamethylcyclopentasiloxane	0.029	0.75	0.39	Negative		
	Dodecamethylcyclohexasiloxane	-0.031	0.16	0.08	Negative		
Fragrances	Butyl acetate	0.39	1.5	0.92	Negative		
	Benzyl benzoate	0.88	0.46	0.67	Negative		
	Ethyl Salicylate	0.65	1.81	1.2	Negative		
	Methyl jasmonate	17	1.17	<u>8.9</u>	Positive (Low)	0.070	○
		21	0.02	<u>10</u>		0.00092	
	Methyl dihydrojasmonate	2.8	-0.23	1.4	Negative		
	Ethylene 1,11-Undecanedicarboxylate	0.030	-0.56	0.015	Negative		
	3-(4-tert-Butylphenyl)isobutyraldehyde (Lilial)	11	-0.34	5.6	Negative		○
		11	-0.63	5.4			
	2-Phenylethyl alcohol	n.t. <sup>b</sup>	2.4	n.c. <sup>d</sup>	Not evaluation		
Bronopol and its decomposition products	2-Bromo-2-nitro-1,3-propanediol (Bronopol)	100	67.6	<u>84</u>	Positive (high)	0.68	
	Bromonitromethane	100	9.4	<u>55</u>	Positive (high)	0.094	
	2-Bromoethanol	13	0.15	<u>6.5</u>	Positive (Low)	0.012	○
		13	7.58	<u>10</u>		0.57	
Aromatic amines	2,4-Diaminotoluene	74	0.55	<u>37</u>	Positive (Moderate)	0.0075	
		13	0.46	<u>6.8</u>			
	2,6-Diaminotoluene	11	-1.23	5.7	Negative		○
		12	-1.37	5.8			
	4,4'-Methylenediamine	1.4	0.49	0.93	Negative		
Rubber related compounds	Morpholine	3.8	-0.68	1.9	Negative		
	Cyclohexylamine	1.0	0.01	0.53	Negative		
	Dicyclohexylamine	3.8	1.06	2.4	Negative		
Others	Diethylhexyl fumarate	6.7	-3.6	3.3	Negative		○
		8.6	0.5	4.6			

<sup>a</sup> Negative depletion is considered as "0" when calculating the mean and underline means positive.

<sup>b</sup> n.t.: Co-elution is observed.

<sup>c</sup> Using Cys-peptide 1:10 prediction model only

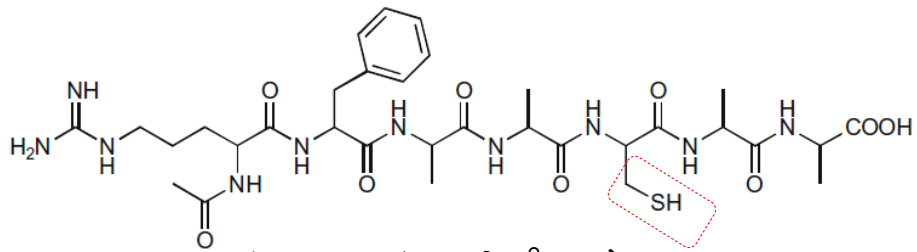
<sup>d</sup> n.c.: Not calculated.



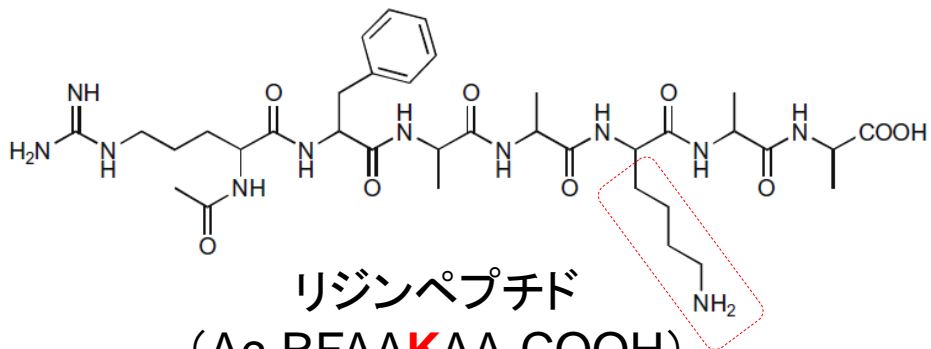
Adverse Outcome Pathway (AOP)

- ①化学物質とタンパク質との結合
- ②ケラチノサイトにおける炎症性応答および遺伝子発現
- ③樹状細胞の活性化
- ④リンパ節におけるT細胞の増殖

Fig. 1 皮膚感作性のメカニズムとそれに対応した代替試験法  
(引用文献7より改変)



システインペプチド  
(Ac-RFAACAA-COOH)



リジンペプチド  
(Ac-RFAAKAA-COOH)

Fig. 2 試験に使用した使用したペプチドの構造  
(上 : Cys-peptide、下: Lys-peptide)



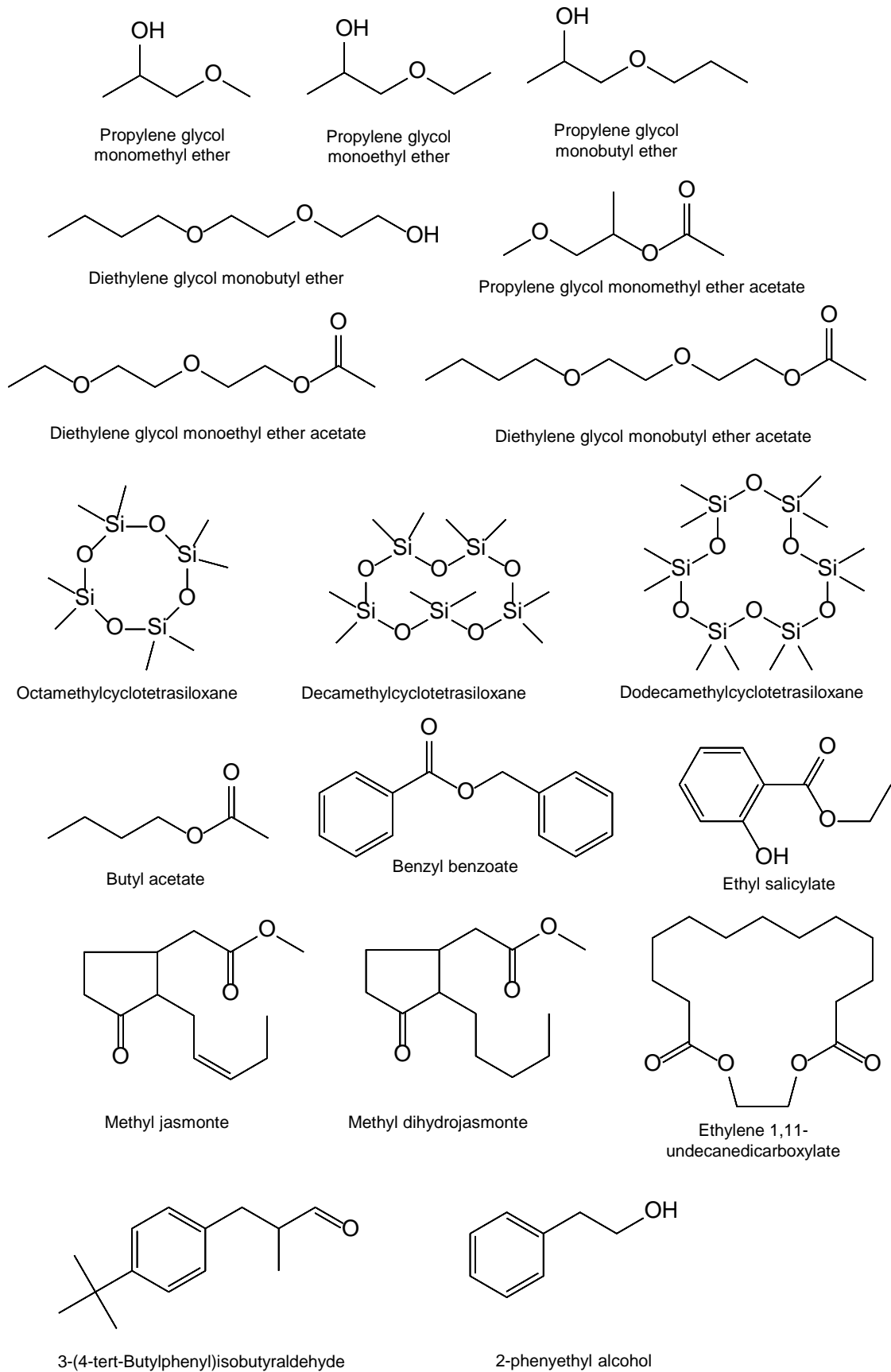


Fig. 3 被験物質の化学構造

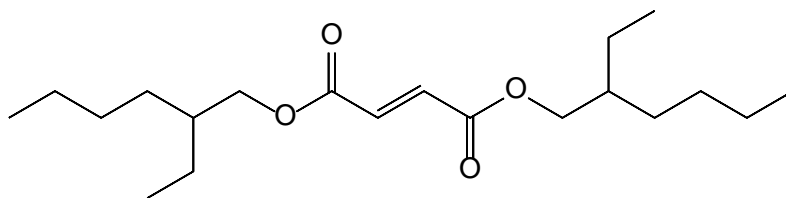
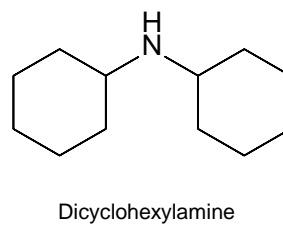
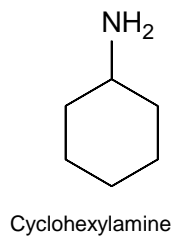
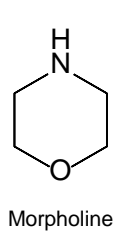
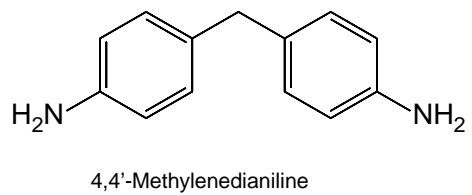
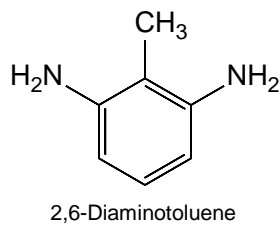
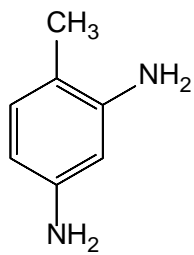
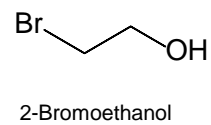
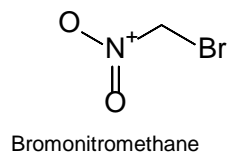
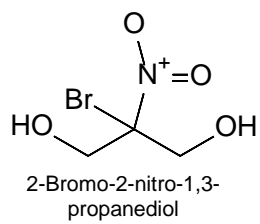


Fig. 3 被験物質の化学構造 (続き)

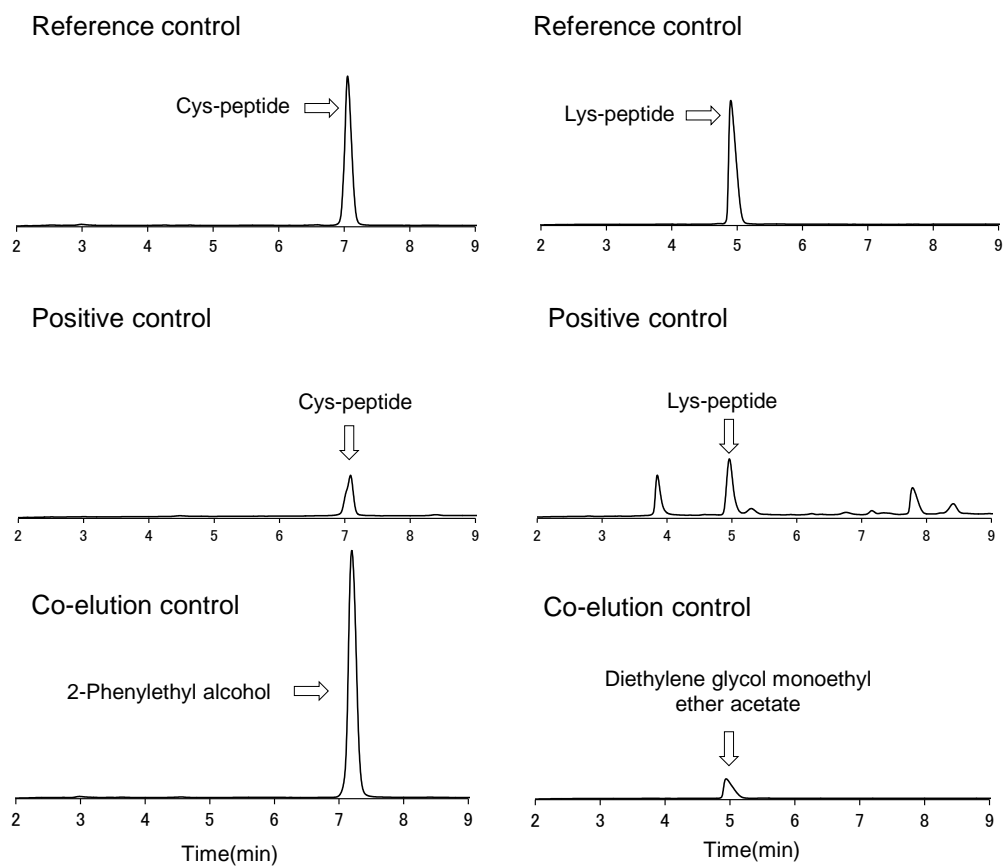


Fig. 4 各ペプチド (Reference control)、陽性対照 (Positive control) 及び被験物質のみ (Co-elution control) の HPLC クロマトグラム ( $\lambda=220$  nm)

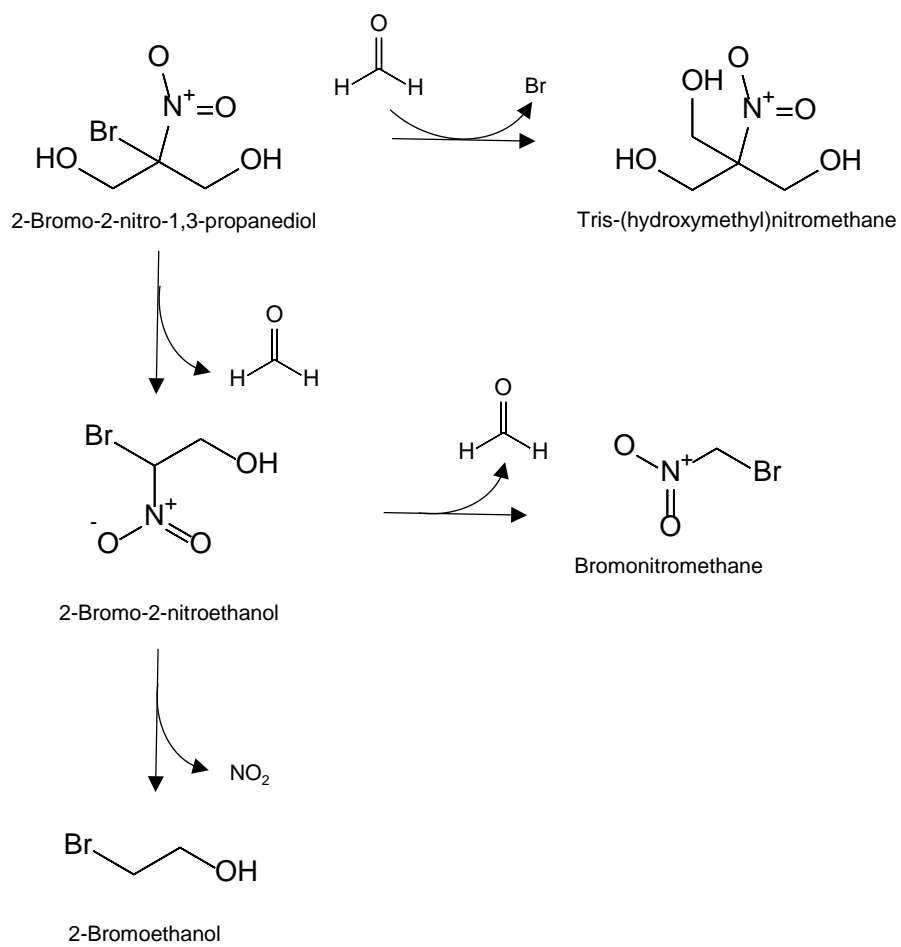


Fig. 5 2-Bromo-2-nitro-1,3-propanediol (Bromopol) の分解過程<sup>22)</sup>

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）

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  
分担研究報告書

気道障害性にかかる情報収集及び優先順位判定のための情報収集

研究分担者 小野 敦 岡山大学・医歯薬学総合研究科 教授

研究要旨

本研究では生活環境を経由して暴露される可能性のある化学物質のうち室内環境汚染による健康影響が危惧される化学物質の詳細評価に向けた優先順位付けのためのハザード情報及び関連情報の網羅的スクリーニング調査を目的としている。網羅的情報収集を目的として平成27年度に構築した JP-GHS データベースからの情報収集の結果、気道障害性に関しては、ガイドライン化された評価法がないため主にヒトにおける障害の報告から区分がされており、ヒトでの報告がない物質については、障害性がないと確認されている物質は無いことが明らかとなった。そこで、平成28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、気道障害性に関する区分がなされている物質のうち特に気道感作性を対象として、関連する有害作用である皮膚感作性等との関連性や化学構造との関連に着目した解析を実施して、気道感作性に関して知見の無い物質について優先順位付けにおける予測評価の適用性について検討を行った結果、気道感作性について情報のない物質であっても、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。

A. 研究目的

本研究では生活環境を経由して暴露される可能性のある化学物質のうち室内環境汚染による健康影響が危惧される化学物質の詳細評価に向けた優先順位付けのためのハザード情報の網羅的な収集、及び気道障害性に関するハザード情報が得られていない物質について関連情報による補完を目的とした経気道曝露によるハザードのスクリーニング調査による化学物質の優先順位付けを進めている。これまでの研究で構築した JP-GHS データベースを用いて、気道障害性に関する区分がなされ

ている物質のうち特に気道感作性を対象として、詳細評価の優先順位付のため気道障害性分類の根拠となった知見の解析を進めるとともに、皮膚感作性等の関連する有害作用との関連性や化学構造との関連に着目した解析を実施して、気道感作性に関して知見の無い物質について優先順位付けにおける関連情報からの予測評価の適用性について検討を行った。

B. 研究方法

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（気道感作性、気

道刺激性)に関する情報とともに、気道感作性、気道刺激性それぞれとの関連がある可能性のある健康影響エンドポイントとして、皮膚感作性、皮膚(腐食性)刺激性、眼刺激性(損傷性)の情報を検索し、物質ごとに整理を行った。また、皮膚感作性、皮膚(腐食性)刺激性、眼刺激性(損傷性)については、陽性のみでなく陰性情報についても GHS 情報から得られるため、陰性・陽性・情報なしの3クラスに分類した。一方、気道障害性(気道感作性、気道刺激性)については、ヒトにおける報告によりラベルされており陰性の情報が得られている物質はないため、陽性・情報なしの2クラスに分類し、以下の解析に用いた。

1, 化学物質の健康影響ラベルを用いたクラスタリング解析;

上記で整理した JP-GHS 全物質についての感作性、刺激性情報をもとに階層化クラスタリングを実施して、各障害性を有する物質の共通性について解析した。階層化クラスタリングにおいては、各障害性エンドポイントを“情報なし: 0、陰性: 1、陽性: 2”に数値化したデータを用い、Manhattan 距離を用いて Average linkage により、化学物質、障害性エンドポイント両方の階層化クラスタリングを実施した。

2, 皮膚感作性情報のある化学物質の化学構造解析からの呼吸器感作性の予測評価の検討;

気道障害性のうち特に感作性に着目して、JP-GHS 全物質のうち皮膚感作性について陰性もしくは陽性の情報が得られている 707 物質について化学構造分類を行い、化学構造群ごとに皮膚感作性と呼吸器感作性との関連につ

いて解析を行った。化学構造分類は、OECD QSAR Toolbox に搭載の US-EPA New Chemical Categories スキームによる分類を行った後、分類結果を一部マニュアルで整理して解析に用いた。

## C. 研究結果

1, 化学物質の健康影響ラベルを用いたクラスタリング解析;

気道感作性、気道刺激性及び関連があると想定される健康影響エンドポイントである皮膚感作性、皮膚(腐食性)刺激性、眼刺激性(損傷性)の5項目の JP-GHS 分類結果を指標とした階層化クラスタリング解析結果を図1にヒートマップで示した。刺激性3項目(皮膚、目、呼吸器)、感作性2項目(皮膚と呼吸器)それぞれの共通性が高いことが示された。一方で、部位が同じであっても刺激性と感作性の共通性は高く無いことが示された。刺激性については、3部位全てで陽性となる複数のクラスター(クラスター1, 4)が得られており、呼吸器刺激性について情報がないものの、皮膚及び目で刺激性が陽性であるクラスター2, 3に含まれる物質群についても呼吸器刺激性を有する可能性が高いと考えられる。

一方、感作性については呼吸器感作性と皮膚感作性を共通に有する物質群としてクラスター5が得られた。クラスター5に含まれる物質について刺激性の各エンドポイントについては、約半数で陽性であったが、残りの物質についてはいずれの刺激性に関しても情報が得られておらず、クラスター2に含まれる皮膚感作性が陽性だが呼吸器感作性の情報が無い物質の呼吸器感作性の可能性については、本解析結果のみでは判断出来ない。

呼吸器感作性、皮膚感作性、呼吸器刺激性の

重なり(図2)を見てみると呼吸器感作性の報告のある物質の9割は皮膚感作性の区分がなされており、呼吸器刺激性との重なりよりもカバー率が高い。さらに、呼吸器感作性が陽性であるにも関わらず皮膚感作性が陰性もしくは不明の物質(表1)については、呼吸器刺激性もしくは皮膚腐食性(刺激性)などの障害性が示されており、これらの結果から、皮膚感作性が陽性の物質はもとより、呼吸器を始めとした組織への刺激性報告のある物質についても、呼吸器感作性の懸念があると考察された。

2, 皮膚感作性情報のある化学物質の化学構造解析からの呼吸器感作性の予測評価の検討;

上述のクラスタリング解析結果から、呼吸器感作性陽性物質は、その殆どが皮膚感作性陽性物質に含まれた。一方、皮膚感作性が陽性であるが、呼吸器感作性について情報のない多くの物質について、関連する他の障害性エンドポイント(刺激性情報)からの優先順位付けは難しいと考えられたことから、化学構造分類との関連性について評価を行った。JP-GHS 全物質のうち皮膚感作性について陰性もしくは陽性の情報が得られている707物質のうち、化学構造分類が可能であった373物質について構造群ごとの分類結果を図3に示した。構造分類を行うにあたって、金属元素はアレルギー誘発性が知られているため、まず金属元素を含む化学物質について金属元素ごとに分類し、その他の物質については基本構造から分類を行った。なお、天然物由来成分など、分類が難しい物質については、今回の解析対象から除外した。

化学構造に金属元素を含む化学物質のうち、I型アレルギー誘発が知られるクロム、コバ

ルト、ニッケル及び白金を含む物質では、JP-GHSに登録されているほぼ全ての物質が皮膚、呼吸器いずれとも感作性陽性であった。一方、同様に金属アレルギーが知られる水銀を含有物質では、JP-GHS登録全物質が皮膚感作性陽性であったのに対して、呼吸器感作性が報告されている物質はなかった。

金属元素非含有物質では、カルボン酸無水物、ジイソシアナートに分類された物質群では、皮膚感作性について情報が得られている物質は全て陽性であり、また呼吸器感作性については各群2物質について情報がないものの、その他の物質については陽性であった。さらに表2に示すとおりジイソシアナート群で呼吸器感作性情報の得られていない物質のうち1物質(26447-40-5)は、呼吸器感作性陽性の物質(101-68-8)とCAS番号の異なる同一物質であり、他の1物質も構造類似物質であった。また、表3に示したとおり、カルボン酸無水物群で呼吸器感作性について情報が得られていない物質についても呼吸器感作性陽性の情報がある他の物質との構造類似であり、これらについても呼吸器感作性の蓋然性が高いと判断された。さらに、アクリル酸、アニリン、エポキシド、フェノールに分類された物質の多くは、皮膚感作性陽性であったが、呼吸器感作性について情報(陽性)の得られている物質は限られていた。これらの物質群については、呼吸器刺激性の報告がある物質も多く(data not shown)、現時点では呼吸器感作性を惹起する可能性を否定出来ないことから注意が必要であろう。一方、脂肪族アミン類、エステル類に分類された化学物質では、皮膚感作性陽性・陰性が半々程度であったことから、これらの化学構造分類は感作性の評価指標としては適切ではないと考えられた。これらの

物質群に分類された感作性物質については、今後、今回実施した構造分類とは異なる化学構造的特徴からの分類について検討が必要と考察された。

#### D. 考察

これまでの研究により、GHS や ACGIH 等のデータベースにおける気道障害性物質の分類根拠の解析から、気道障害性はヒトでの障害発現の報告に基づいて分類されており、それらの物質のヒトでの気道障害性は、ほぼ明らかである一方、気道感作性、気道刺激性については、評価のためのガイドライン試験法が無いため、ヒトでの報告の無い物質の障害性の有無については全く不明であることが明らかとなった。そこで、本年度は関連する障害として皮膚感作性、皮膚刺激性、眼刺激性についての情報検索を行い、それぞれの障害性の発現の関連について解析を行うとともに、特に感作性を対象として化学構造との関連性について解析を行った。

クラスタリング解析の結果から、刺激性 3 項目、感作性 2 項目の発現には共通性が高いことが示された。特に刺激性については、共通性が高いことから呼吸器刺激性について情報がない物質であっても、皮膚及び目で刺激性が陽性である物質については呼吸器刺激性の蓋然性が高いと考察された。一方、感作性については呼吸器感作性の報告のある物質の 9 割は皮膚感作性の区分がなされており、皮膚感作性陽性の物質については、呼吸器感作性の懸念を考慮する必要があると考えられた。また、呼吸器感作性陽性であるが、皮膚感作性が陰性もしくは不明の物質について確認した結果、呼吸器刺激性もしくは皮膚腐食性（刺激性）などの障害性が示されており、刺激性と感

作性の共通性はあまり高く無いものの呼吸器を始めとした組織への刺激性報告のある物質についても、呼吸器感作性を考慮する必要性があると考察された。

感作性については、さらに化学構造と皮膚感作性・気道感作性との関連について解析を行った結果、いくつかの化学構造群で、気道・皮膚いずれについても感作性が報告されている物質が多く含まれることが明らかとなった。よって呼吸器感作性の情報が無い物質であっても、これらの化学構造群に含まれる皮膚感作性が報告されている物質については、呼吸器感作性を有する蓋然性が特に高いと考察された。これまでの本研究の結果から、呼吸器感作性について情報のない物質であっても、皮膚感作性に関する情報と化学構造から呼吸器感作性評価のための優先順位付けスクリーニングが可能であると考察された。皮膚感作性については、近年、OECD より皮膚感作性評価のための Adverse Outcome Pathway (AOP) 及び AOP に基づく評価のための *in vitro* や *in chemico* のガイドライン試験法が整備されており、また OECD QSAR Toolbox には *in silico* 評価を行うためのプロファイラー機能が搭載されており、それらを用いた迅速評価についてガイダンスが示されている。本研究の結果は、呼吸器感作性についても皮膚感作性と同様に AOP に基づく評価の可能性を示すものと考察されることから、今後は呼吸器感作性スクリーニング評価への適用性について検討を進める目的で、OECD QSAR Toolbox の皮膚感作性関連の化学構造プロファイラーや、皮膚感作性 AOP 評価のためのガイドライン試験法の呼吸器感作性物質の詳細評価のための優先順位付けにおける有用性について検討を行い、呼吸器感作性評価に向けた AOP の構築が重要



であると考察された。

## E. 結論

室内環境汚染による健康影響が危惧される化学物質の詳細評価に向けた優先順位付けのためのハザード情報の網羅的な収集のため、本年度は、我が国の GHS 分類 (JP-GHS) 評価結果をもとに、呼吸器感作性・刺激性に関連すると想定されるエンドポイントである皮膚感作性、皮膚刺激性、眼刺激性について網羅的検索を行い、それぞれの障害性を有する化学物質の共通性について検討を行った結果、特に刺激性については、共通性が高く、皮膚及び目で刺激性が陽性である物質については呼吸器刺激性の蓋然性が高くリスク評価の優先度が高いと結論された。一方、感作性については、ヒトで呼吸器感作性が報告されているおおよそ全ての物質が皮膚感作性物質であることが明らかとなり、さらに化学構造との関連性について解析した結果、気道・皮膚いずれについても感作性が報告されている物質が多く含まれる化学構造的な特徴が明らかとなり、それらの構造に含まれる皮膚感作性を有する物質群では、呼吸器感作性の蓋然性が高く、特にスクリーニング評価の優先順位が高いと結論された。

本年度の解析結果から、メカニズムに関連する他の障害性エンドポイントの情報や化学構造的な特徴が、経気道曝露による障害性のスクリーニング評価における補完情報として有用であることが示された。皮膚感作性については、近年、OECD より皮膚感作性評価のための Adverse Outcome Pathway (AOP) 及び AOP に基づく評価のための *in vitro* や *in chemico* のガイドライン試験法が整備されている。本研究結果は呼吸器感作性についても皮膚感作

性と同様に AOP に基づく評価が可能であることを示唆しており、今後、AOP を適用した迅速なスクリーニング評価手法の検討が重要である。一方、本研究でリスク評価の優先順位が高い物質としてリストアップした物質について実際のリスク評価を行うには、暴露情報が必要であるが、実際の生活環境における測定結果が得られている物質は、限られていると考えられる。化学物質の用途や使用量に関する情報等からヒト曝露の可能性のある物質については、生活環境中での曝露実態の測定と詳細なリスク評価の実施が望まれる。

## F. 研究発表

### F-1. 論文発表

M. Matsumoto, H. Todo, T. Akiyama, M. Hirata-Koizumi, K. Sugibayashi, Y. Ikarashi, A. Ono, A. Hirose and K. Yokoyama ; Risk assessment of skin lightening cosmetics containing hydroquinone.; *Regul Toxicol Pharmacol*, 81,128–135 (2016)

M. Hirata-Koizumi, R. Ise, H. Kato, T. Matsuyama, T. Nishimaki-Mogami, M. Takahashi, A. Ono, M. Ema and A. Hirose ; 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.; *J Toxicol Sci*, 41,(5) 693–700 (2016)

### F-2. 学会発表

A. Ono, J. Ciloy, M. Matsumoto, M. Takahashi,

T. Kawamura and A. Hirose :Development and validation of a QSAR model to classify chemicals for toxic potency of sub-acute repeated dose toxicity. *17th International Conference on QSAR in enviromental and health sciences* (2016.6, Miami Beach, Florida, USA)

A. Ono, H. Jinno and A. Hirose :Comparative analysis of respiratory and skin sensitization potential of chemicals using Japanese GHS classification.. *The 52nd Eurotox2016* (2016.9, Sevilla, Spain)

A. Ono, H. Jinno and A. Hirose :Evaluation of the OECD QSAR Toolbox in the screening of chemical sensitizer.. *The 14th International Congress of Toxicology* (2016.10, Merida, Mexico)

G. 知的所有権の取得状況

G-1. 特許取得

特になし

G-2. 実用新案登録

特になし

G-3. その他

特になし

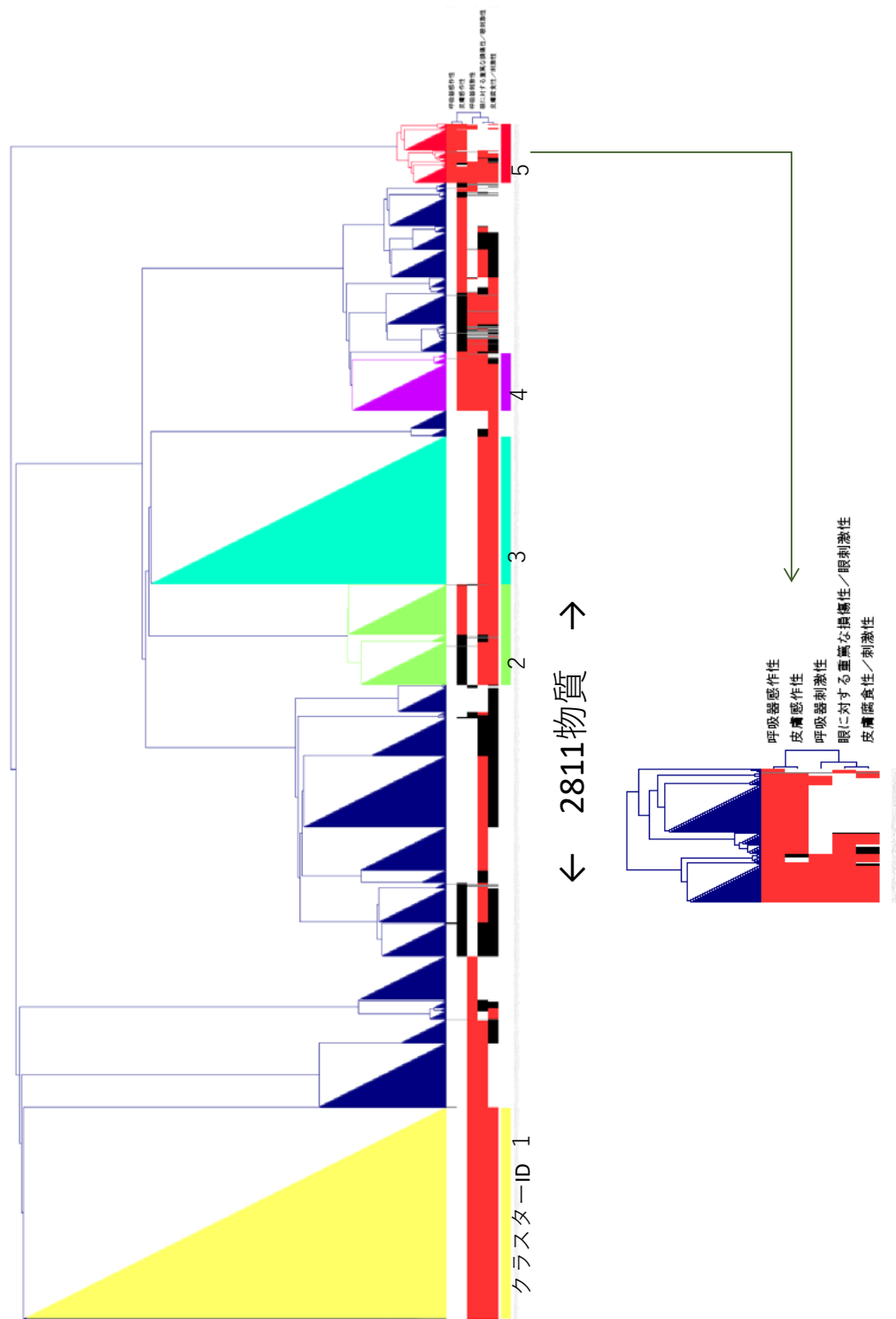


図1 化学物質による感作性、刺激性エンドポイントのクラスターリング解析  
(ヒートマップは、赤：陽性、黒：陰性、白：データなし)

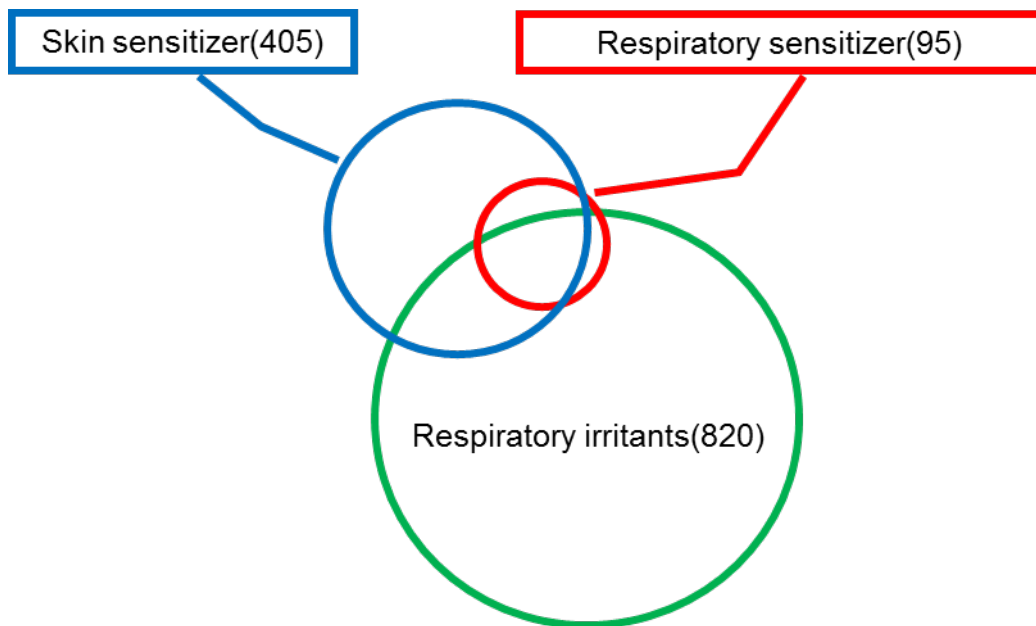
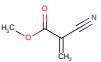
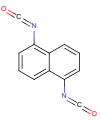
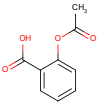
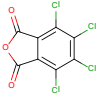
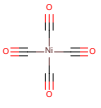


図2 皮膚感作性、呼吸器感作性、呼吸器刺激性物質の共通性

表1 呼吸器感作性が陽性で、皮膚感作性については陰性もしくは区分外の物質

Chemical Structure	CAS RN. Chemical Name	JP GHS Classification			
		Skin sensitization	Skin Corrosion/irritation	Respiratory sensitization	Respiratory Irritation
	137-05-3 methyl 2-cyanoacrylate	-	+	+	+
	3173-72-6 1,5-naphthylene diisocyanate	NC	+	+	+
	50-78-2 acetylsalicylic acid; aspirin acetoxybenzoic acid	NC	+	+	NC
NH <sub>3</sub>	7664-41-7 ammonium nitrate	NC	+	+	+
	117-08-8 tetrachlorophthalic anhydride	NC	NC	+	NC
HCl	7647-01-0 hydrochloride	-	+	+	+
	13463-39-3 nickel carbonyl	NC	+	+	+
Pt	7440-06-4 platinum	-	+	+	+
Rh	7440-16-6 rhodium	NC	NC	+	NC

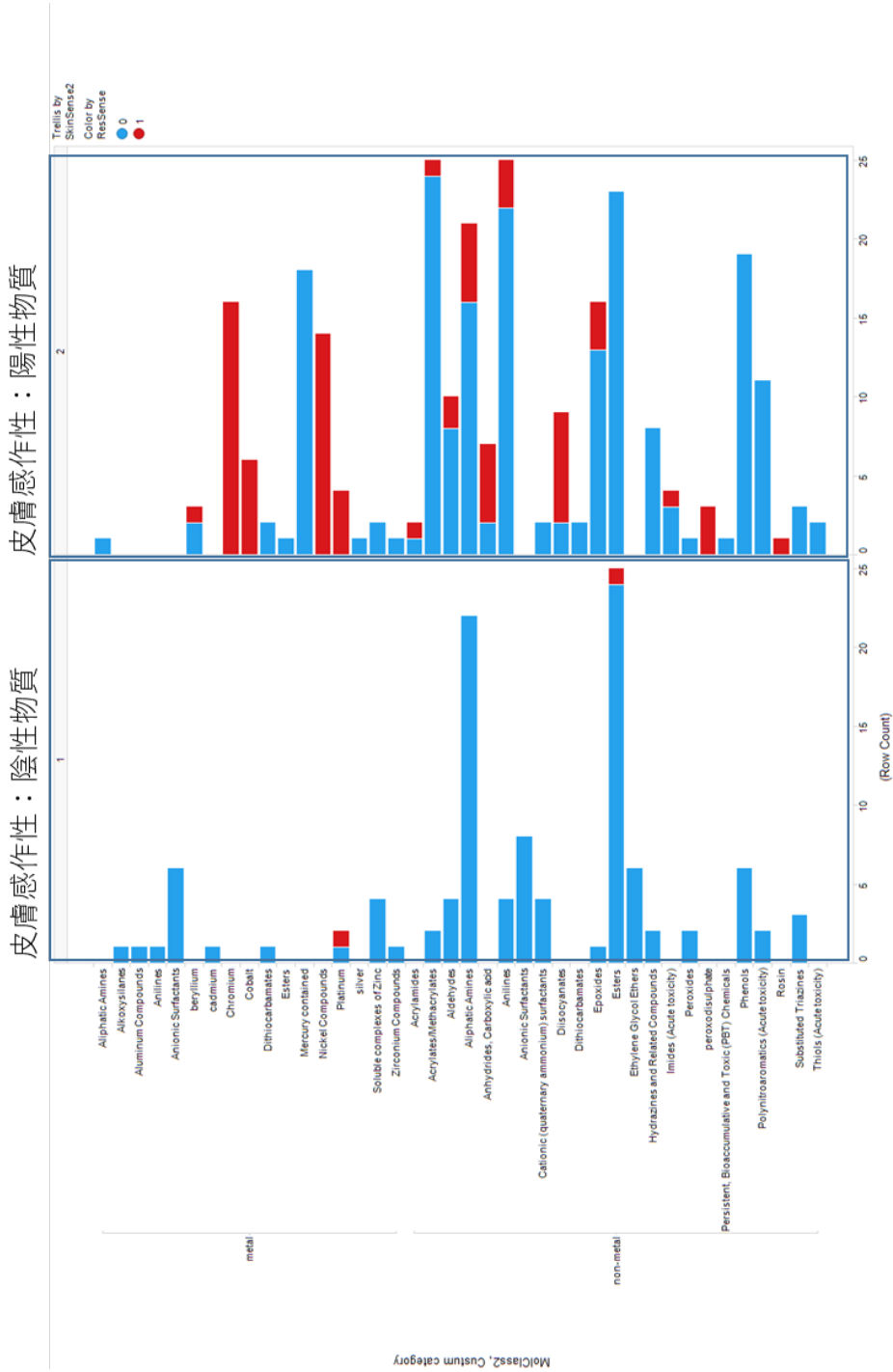


図 3 皮膚感作性物質と呼吸器感作性物質の化学構造解析

表2 ジイソシアナート群で呼吸器感作性情報の得られていない物質とその類似物質

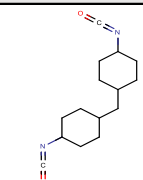
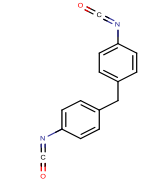
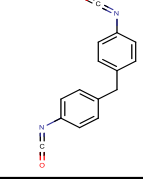
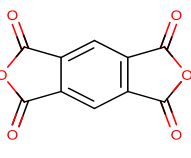
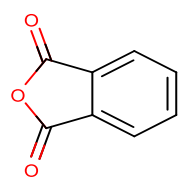
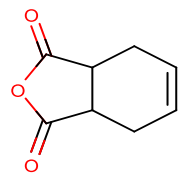
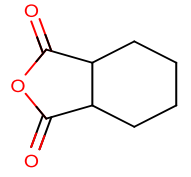
CdId	Structure	Mol Weight	CAS	Mannhold LogP	Custum category	res_sense	skin_sense
991		262.35	5124-30-1	2.67	Diisocyanates	ND	+
832		250.26	26447-40-5	2.67	Diisocyanates	ND	+
66		250.26	101-68-8	2.67	Diisocyanates	+	+

表3 カルボン酸無水物群で呼吸器感作性について情報が得られていない物質とその類似物質

CdId	Structure	Mol Weight	CAS	Mannhold LogP	Custum category	res_sense	skin_sense
1,655		218.12	89-32-7	1.90	Anhydrides, Carboxylic acid	ND	+
1,617		148.12	85-44-9	2.01	Anhydrides, Carboxylic acid	+	+
1,616		152.15	85-43-8	2.01	Anhydrides, Carboxylic acid	ND	+
1,615		154.17	85-42-7	2.45	Anhydrides, Carboxylic acid	+	+

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）  
分担研究報告書

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

気道障害性にかかる情報収集及び優先順位判定

分担研究者 東 賢一 近畿大学医学部 准教授

研究要旨

2000 年前後に 13 の室内空気汚染物質に対して室内濃度指針値が策定されて以降、新たな室内空気汚染の問題が懸念されてきたことなどから、室内濃度指針値の見直し等の議論が進められている。本研究では、国立衛研による全国規模での実態調査で報告された化学物質とともに、潜在的に室内環境におけるリスクが高いと想定される経気道曝露の蓋然性が高いと判断された化学物質について、有害性情報を網羅的に収集し、有害性評価を実施している。また、諸外国における室内空気質規制の情報をあわせて収集し、日本における優先取組リストを作成する際の参考情報とする。諸外国における取り組みは、室内空気質ガイドラインの作成に重点が置かれている。目標となる気中濃度を設定し、それを目指した発生源対策等を行うアプローチである。とりわけドイツ連邦環境庁は、継続的に室内空気質ガイドラインを設定しており、ホルムアルデヒドのガイドラインのアップデートを行った。また、フランスではエチルベンゼンの室内空気指針値を新設した。世界保健機関（WHO）欧州では、近年のエビデンスに基づいて空気質ガイドラインの改訂／新設に関する優先付けを実施し、喫緊に再評価（改訂）が必要な物質（グループ1）として粒子状物質、オゾン、二酸化窒素、二酸化硫黄、一酸化炭素をあげている。日本の実態に基づいた健康リスクベースの優先取組リストを作成するために、これまでの全国調査で高頻度高濃度検出された揮発性有機化合物を中心に有害性情報を収集し、初期リスク評価を行った。平成 28 年度は、n-ブタノール、d-リモネン、 $\alpha$ -ピネン、プロピレングリコールモノメチルエーテル、プロピレングリコールモノメチルエーテルアセテート、ジエチレングリコールモノメチルエーテル、ジエチレングリコールモノエチルエーテルを評価した。初期リスク評価の結果、MOE が小さく詳細な調査が必要（優先度 A）と判定された物質は、冬期の新築住宅のジエチレングリコールモノエチルエーテル、プロピレングリコールモノメチルエーテルアセテート、 $\alpha$ -ピネンであった。

A. 研究目的

1997 年から 2002 年にかけて、13 の室内空気汚染物質に対して室内濃度指針値が策定された。その後、建材等に使用される化学物質の代替や準揮発性有機化合物と呼ばれる揮発性の低い物質による室内空気汚染が懸念されてきたことなどから、2012 年にシックハウス（室内空気汚染）問題に関する検討会（シックハウス検討会）が再開され、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。その中で、研究代表

者の神野らによって、全国規模での室内環境汚染物質の実態調査が進められ、近年における室内環境汚染の実態の変化が明らかになってきた。具体的には、これまで室内濃度指針値が策定されていない2-エチルヘキサノール、テキサノール、TXIB、環状シロキサン類、グリコールエーテル類、酢酸エステル類などが高頻度または高濃度で検出された。そこで、これらの調査で得られた居住者の曝露情報をもとに、室内空気汚染物質の有害性評価と健康リスクの初期評価を実施し、優先的に対応



すべき化学物質のリスト化を行う必要がある。

そこで本研究では、前述の全国規模での実態調査で報告された化学物質とともに、潜在的に室内環境におけるリスクが高いと想定される経気道曝露の蓋然性が高いと判断された化学物質について、有害性情報を網羅的に収集し、有害性評価を実施する。また、曝露情報が得られている化学物質に対しては、健康リスクの初期評価を実施し、リスクの大きさを判定する。なお、諸外国における室内空気質規制の情報をあわせて収集し、日本における優先取組リストを作成する際の参考情報とする。

## B. 研究方法

### B.1 諸外国の室内空気質規制

国際機関や国内外の室内環境規制に関する報告書、関連学会の資料、関連論文をインターネットおよび文献データベースで調査した。近年、主だった活動が見受けられた世界保健機関欧州地域事務局（WHO 欧州）、ドイツ、フランス、カナダを主な調査対象国とした。

### B.2 室内環境化学物質の有害性及び初期リスク評価

室内環境化学物質に関して、刺激性や感作性、一般毒性、神経毒性、免疫毒性、生殖発生毒性、発がん性等に関する有害性情報およびこれらの有害性に関する量反応関係に関する科学的知見が記載された国際機関や諸外国の評価文書等を網羅的に収集するとともに、Pubmed や TOXLINE 等のデータベース検索を行い、各物質の有害性情報をとりまとめた。特に、各物質の評価値の導出に必要なエンドポイント及び NOEL や LOEL 等の情報収集を行った。

平成 28 年度は平成 27 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 28 年度の調査対象物質は、*n*-ブタノール、メチルイソブチルケトン、*d*-リモネン、 $\alpha$ -ピネン、プロピレングリコールモノメチルエーテル、プロピレングリコ

ールモノメチルエーテルアセテート、ジエチレングリコールモノメチルエーテル、ジエチレングリコールモノエチルエーテルの 8 物質とした。

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 LOEL）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、LOEL 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<sup>1,2</sup>、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ている。

なお今後、詳細リスク評価を行う際には、LOEL に対する不確実係数、種差、個体差に対する不確実係数について、感受性、作用機序、体内動態等を詳細に評価し、必要に応じて改めて検討を行い、室内濃度指針値の策定に結びつけることができる。本研究で採用した RfC は、優先取組リストを作成するうえで、迅速に健康リスクの初期評価を実施するために用いられる。

RfC の導出後、2011 年度から国立衛研で実施している全国調査結果をもとに、曝露余裕度（MOE: Margin of Exposure）を算出して初期リスク評価を行った。RfC の導出と MOE の算出にあたっては、本研究者の既報の方法<sup>1,2</sup>を用いた。なお、北米諸国では曝露余裕度（MOE: Margin of Exposure）、欧州諸国では安全余裕度（MOS: Margin of Safety）と異なる呼称が使用されているが、Critical effect level を導出して曝露レベルと対比し、そのマージン（余裕度）を評価してリスクを判定する手法は共通であり、MOE を算出して初期リスク評価を行う方法は、近年さまざまな環境汚染物質の健康リスク評価で用いられている。

（倫理面での配慮）

本研究は、公表されている既存資料を中心とした情報収集を行った後、それらの整理を客観的におこなうものであり、特定の個人の

プライバシーに係わるような情報を取り扱うものではない。資料の収集・整理にあたっては、公平な立場をとり、事実のみにもとづいて行う。本研究は、動物実験および個人情報を扱うものではなく、研究倫理委員会などに諮る必要のある案件ではないと判断している。

## C. 研究結果及び考察

### C.1 諸外国の室内空気質規制

世界保健機関 (WHO) の室内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。

WHO 欧州は、近年のエビデンスに基づいて、空気質ガイドラインの改訂/新設に関する優先付けを実施し、2016年に公表した。喫緊に再評価 (改訂) が必要な物質 (グループ1) としては、粒子状物質、オゾン、二酸化窒素、二酸化硫黄、一酸化炭素があげられた。この次に再評価が必要な物質としては (グループ2)、カドミウム、クロム、鉛、ベンゼン、ダイオキシン類、多環芳香族炭化水素があげられた。さらにこの次に再評価が必要な物質としては (グループ3)、ヒ素、マンガン、白金、バナジウム、ブタジエン、トリクロロエチレン、アクリロニトリル、硫化水素、塩化ビニル、トルエン、ニッケルがあげられた。当面再評価が不要な物質としては (グループ4)、水銀、アスベスト、ホルムアルデヒド、スチレン、テトラクロロエチレン、二硫化炭素、フッ化物、ポリ塩化ビフェニル、1,2-ジクロロエタン、ジクロロメタンがあげられた。

ドイツ連邦環境庁はホルムアルデヒドの室内空気質ガイドラインをアップデートしたが、WHOの室内空気質ガイドラインと同じ値 (0.1 mg/m<sup>3</sup>: 30分間値かつ1日の天井値) を設定した。フランス環境労働衛生安全庁は、エチルベンゼンの室内空気指針値を新たに設定 (短期 22 mg/m<sup>3</sup>、長期 1.5 mg/m<sup>3</sup>) した。カナダ保健省では 2016 年度にアップデートされた室内空気質ガイドラインはなかった。

### C.2 室内環境化学物質の有害性及び初期リスク評価

網羅的に収集した有害性情報をもとに、n-ブタノール、d-リモネン、 $\alpha$ -ピネン、プロピレングリコールモノメチルエーテル (PGME)、プロピレングリコールモノメチルエーテルアセテート (PGMEA)、ジエチレングリコールモノメチルエーテル (DEGME)、ジエチレングリコールモノエチルエーテル (DEGEE) の RfC を導出した (表 1 1-1)。メチルイソブチルケトンについては、まだデータ収集を継続しており、次年度にとりまとめを延長した。

導出した RfC をもとに、上述の化学物質の室内濃度に対して MOE を算出した (表 1 2-1)。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。MOE が 1 未満 (優先度 A) であれば、詳細な調査が必要であると判断される。MOE が 1 以上 10 未満 (優先度 B) であれば、さらなる情報収集が必要と判断される。MOE が 10 以上 (優先度 C) であれば、情報収集の必要がないと判断される<sup>2)</sup>。

得られた MOE の値から、調査時期及び新築/既築別に今後の調査の優先度を表 1 2-2 にまとめた。

優先度 A の物質は、既築住宅では得られなかった。新築住宅では、冬期のジエチレングリコールモノエチルエーテル、プロピレングリコールモノメチルエーテルアセテート、 $\alpha$ -ピネンであった。

優先度 B の物質は、既築住宅では $\alpha$ -ピネン (夏期、冬期) であった。新築住宅では、冬期のジエチレングリコールモノメチルエーテルであった。

優先度 C の物質は、既築住宅ではプロピレングリコールモノメチルエーテル (夏期、冬期)、d-リモネン (夏期、冬期) であった。新築住宅では、冬期のプロピレングリコールモノメチルエーテルと d-リモネンであった。

## D. 総括

諸外国における取り組みは、室内空気質ガイドラインの作成に重点が置かれている。目標となる気中濃度を設定し、それを目指した発生源対策等を行うアプローチである。とりわけドイツ連邦環境庁は、継続的に室内空気

質ガイドラインを設定しており、ホルムアルデヒドのガイドラインのアップデートを行った。また、フランスではエチルベンゼンの室内空気指針値を新設した。WHO 欧州では、近年のエビデンスに基づいて空気質ガイドラインの改訂／新設に関する優先付けを実施し、喫緊に再評価（改訂）が必要な物質（グループ1）として粒子状物質、オゾン、二酸化窒素、二酸化硫黄、一酸化炭素をあげている。

日本の実態に基づいた健康リスクベースの優先取組リストを作成するために、これまでの全国調査で高頻度高濃度検出された揮発性有機化合物を中心に有害性情報を収集し、初期リスク評価を行った。平成28年度は、n-ブタノール、d-リモネン、 $\alpha$ -ピネン、プロピレングリコールモノメチルエーテル、プロピレングリコールモノメチルエーテルアセテート、ジエチレングリコールモノメチルエーテル、ジエチレングリコールモノエチルエーテルを評価した。初期リスク評価の結果、MOEが小さく詳細な調査が必要（優先度A）と判定された物質は、冬期の新築住宅のジエチレングリコールモノエチルエーテル、プロピレングリコールモノメチルエーテルアセテート、 $\alpha$ -ピネンであった。

#### E. 参考文献

- 1) Azuma K, Uchiyama I, Ikeda K. The risk screening for indoor air pollution chemicals in Japan. *Risk Anal*, 27(6), 1623–1638, 2007.
- 2) Azuma K, Uchiyama I, Uchiyama S, et al. Assessment of inhalation exposure to indoor air pollutants: Screening for health risks of multiple pollutants in Japanese dwellings. *Environ Res*, 145, 39–49, 2016.

#### F. 研究業績等（著者氏名・発表論文・学協会誌名・発表年（西暦）・巻号（最初と最後のページ））

##### 1. 論文発表

- 1) Azuma K, Ikeda K, Kagi N, Yanagi U, Osawa H. Evaluating prevalence and risk factors of building-related symptoms among office workers: Seasonal characteristics of

symptoms and psychosocial and physical environmental factors. *Environ Health Prev Med*, in press, 2017.

- 2) Azuma K, Tanaka-Kagawa T, Jinno H. Health risk assessment of inhalation exposure to 2-ethylhexanol, 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate, and texanol in indoor environment. *Proceedings of the 14th International Conference on Indoor Air Quality and Climate*, 2016, ID168, 7 pages.
- 3) Azuma K, Uchiyama I, Tanigawa M, Bamba I, Azuma M, Takano H, Yoshikawa T, Sakabe K. Association of odor thresholds and responses in cerebral blood flow of the prefrontal area during olfactory stimulation in patients with multiple chemical sensitivity. *PLoS ONE*; 11(12): e0168006, 2016. doi:10.1371/journal.pone.0168006.
- 4) Azuma K, Kouda K, Nakamura M, Fujita S, Tsujino Y, Uebori M, Inoue S, Kawai S. Effects of inhalation of emissions from cedar timber on psychological and physiological factors in an indoor environment. *Environments*; 3(4):37, 2016. doi:10.3390/environments3040037.
- 5) Bamba I, Azuma K. Psychological and physiological effects of Japanese cedar indoors after calculation task performance. *Journal of the Human-Environment System*; 18(2):33–41, 2016.
- 6) 東 賢一. 室内空気汚染の健康リスク. *臨床環境医学*; 25(2), in press, 2017.

##### 2. 学会発表

- 1) Azuma K, Tanaka-Kagawa T, Jinno H. Health risk assessment of inhalation exposure to 2-ethylhexanol, 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate, and texanol in indoor environment. *14th International Conference on Indoor Air Quality and Climate*, Ghent, Belgium, 3–8 July, 2016.
- 2) Azuma K, Tanaka-Kagawa T, Jinno H. Health risk assessment of inhalation exposure to cyclic dimethylsiloxanes, glycols, and acetic

esters in indoor environments. 28th Annual International Society for Environmental Epidemiology Conference, Rome, Italy, 1-4 September 2016.

- 3) 東 賢一. 室内空気汚染の健康リスク. 第 25 回日本臨床環境医学会学術集会, 郡山, 2016 年 6 月 17 日.
- 4) 東 賢一. 住環境における健康リスク要因とそのマネジメント. 第 87 回日本衛生学会学術総会, 宮崎, 2017 年 3 月 26 日・28 日.

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定含む)  
予定なし

## 調査結果（１） 諸外国の室内空気質規制

### 1. 世界保健機関のガイドライン

世界保健機関（WHO）が空気質ガイドラインを今後アップデートするにあたり、近年のエビデンスのレビューを2015年に実施し、10月にボンで開催された専門家会合での評価結果を公表した（WHO, 2016）。表1にその結果を示す。喫緊に再評価が必要なグループ1の物質は、粒子状物質（特にPM<sub>2.5</sub>）、オゾン、二酸化窒素、二酸化硫黄、一酸化炭素であった。再評価が強く推奨されるグループ2の物質は、カドミウム、クロム、鉛、ベンゼン、ダイオキシン類、多環芳香族炭化水素類（ベンゾ-a-ピレン）であった。その次に再評価が必要（再評価のエビデンスが存在）なグループ3の物質は、ヒ素、マンガン、白金、バナジウム、ブタジエン、トリクロロエチレン、アクリロニトリル、硫化水素、塩化ビニル、トルエン、ニッケルであった。再評価が不要と判断されたグループ4の物質は、水銀、石綿、ホルムアルデヒド、スチレン、テトラクロロエチレン、二酸化硫黄、フッ化物、ポリ塩化ビフェニル、1,2-ジクロロエタン、ジクロロメタンであった。

表1 空気質ガイドラインを今後アップデートするにあたってのエビデンスの評価結果

<i>Recent evidence justifies re-evaluation</i> <i>(Group 1)</i>	<i>Recent evidence justifies re-evaluation</i> <i>(Group 2)</i>	<i>Recent evidence justifies re-evaluation</i> <i>(Group 3)</i>	<i>Recent evidence does not justify need for re-evaluation</i> <i>(Group 4)</i>
Particulate Matter	Cadmium	Arsenic	Mercury
Ozone	Chromium	Manganese	Asbestos
Nitrogen dioxide	Lead	Platinum	Formaldehyde
Sulfur dioxide	Benzene	Vanadium	Styrene
Carbon monoxide	PCDDs & PCDFs	Butadiene	Tetrachloroethylene
	PAHs*	Trichloroethylene	Carbon disulfide
		Acrylonitrile**	Fluoride
		Hydrogen sulfide	PCBs
		Vinyl chloride	1,2-dichloroethane
		Toluene	Dichloromethane
		Nickel	

### 2. ドイツ連邦環境庁の室内空気質ガイドライン

昨年度以降にアップデートされた室内空気質ガイドラインは、ホルムアルデヒドであった（IRK, 2016a）。昨年度キシレンのガイドラインが追加されたが、詳細な報告が間に合わなかったため、以下にキシレン（IRK, 2015）とホルムアルデヒド（IRK, 2016b）の室内空気質ガイドラインのキー研究とガイドラインを表2に示す。

表2 ドイツ連邦環境庁の室内空気質ガイドライン  
(平成27年度神野班分担報告書キシレン以降)

物質	キー研究	指針値	Ref.
キシレン (2015)	ラットの神経影響 LOAEL 440 mg/m <sup>3</sup> 時間補正(6hr・5d) 曝露期間 2 種差 2.5、個体差 10 子どもの呼吸量 2	・指針値 II (LOAEL より導出) 0.8 mg/m <sup>3</sup> ・指針値 I 0.1 mg/m <sup>3</sup> (0.8/10→0.1)	Korsak et al (1992) Pol J Occup Med Environ Health 5:27-33 Korsak et al (1994) Int J Occup Med Environ Health 7:155-166
ホルムアル デヒド (2016)	ヒトの感覚刺激 NOAEL 0.63 mg/m <sup>3</sup> 個体差 5	指針値 I 0.1 mg/m <sup>3</sup> (30 分間値かつ 1 日の天井値)	Lang et al (2008) Regul Toxicol Pharmacol 50:23-36
	ラットの発がん影響 からヒトに外挿	非喫煙者 0.1mg/m <sup>3</sup> で 3×10 <sup>-7</sup> の 過剰発がんリスク (非線形モデル)	Conolly et al (2004) Toxicol Sci 82:279-296

※指針値 II (RWII) は、既知の毒性および疫学的な科学的知見に基づき定められた値であり、不確実性が考慮されている。RWII を越えていたならば、特に、長時間在住する感受性の高い居住者の健康に有害となる濃度として、即座に濃度低減のための行動を起こすべきと定義されている。指針値 I (RWI) は、長期間曝露したとしても健康影響を引き起こす十分な科学的根拠がない値である。従って、RWI を越えていると、健康上望ましくない平均的な曝露濃度よりも高くなるため、予防のために、RWI と RWII の間の濃度である場合には行動する必要があると定義されている。RWI は、RWII に不確実係数 10 を除した値、つまり RWII の 10 分の 1 の値が定められている。不確実係数 10 は慣例値を使用している。RWI は、改善の必要性を示す値としての役割を果たすことができる。可能であれば、RWI の達成を目指すのではなく、それ以下の濃度に維持することを目指すべきであるとされている。

### 3. フランス環境労働衛生安全庁 (ANSES)

フランスでは室内空気指針値 (VGAI) が定められている (ANSES, 2016a)。昨年度以降にアップデートされた室内空気質ガイドラインは、エチルベンゼン (ANSES, 2016b) であった。以下にエチルベンゼンの室内空気指針値を表 3 に示す。

表3 フランスにおける室内空気指針値のまとめ

物質	キー研究	指針値	Ref.
エチルベン ゼン (2016)	ラットにおける難聴 (聴覚閾値 移動) BMCL <sub>1SD</sub> = 81.10 μmol/L BMCL <sub>HEC</sub> = 154.26 ppm	短期 VGAI (24 時間) 22 mg/m <sup>3</sup>	Cappaert et al (2000) J Assoc Res Otolaryngol 1:292-299.
	ラットの内耳のコルチ器官の有 毛細胞の損失 BMC <sub>0.5L90</sub> = 119.7 ppm BMC <sub>0.5L90 HEC ADJ</sub> = 25.6ppm 不確実係数 75 (種差 2.5, 個体差 10, 曝露期間 3)	長期 VGAI (1 年以上) 1.5 mg/m <sup>3</sup>	Gagnaire et al (2008) Arch Toxicol 81:127- 143.

#### 4. カナダ保健省

カナダ保健省では、昨年度以降にアップデートされた室内空気質ガイドラインはなかった (Health Canada, 2016)。

#### 参考文献

ANSES (2016a) Valeurs Guides de qualité d'Air Intérieur (VGAI). available at <https://www.anses.fr/fr/content/valeurs-guides-de-qualit%C3%A9-d%E2%80%99air-int%C3%A9rieur-vgai>, accessed at 14 January 2017.

ANSES (2016b) Proposition de valeurs guides de qualité d'air intérieur, L'éthylbenzène, Avis de l'Anses, Rapport d'expertise collective.

Health Canada (2016) Residential Indoor Air Quality Guidelines. available at <http://healthycanadians.gc.ca/healthy-living-vie-saine/environnement-environnement/air/guidelines-lignes-directrices-eng.php>, accessed at 14 January 2017.

IRK (2015) Richtwerte für Dimethylbenzole in der Innenraumluft. Bundesgesundheitsblatt 58:1378–1389.

IRK (2016a) Ad-hoc-Arbeitsgruppe Innenraumrichtwerte. available at <http://www.umweltbundesamt.de/themen/gesundheit/kommissionen-arbeitsgruppen/ausschuss-fuer-innenraumrichtwerte-vormals-ad-hoc#textpart-1>, accessed at 14 January 2017.

IRK (2016b) Richtwert für Formaldehyd in der Innenraumluft. Bundesgesundheitsblatt 59:1040–1044.

WHO Europe (2016) WHO Expert Consultation: Available evidence for the future update of the WHO Global Air Quality Guidelines (AQGs). Meeting report. Bonn, Germany, 29 September-1 October 2015, WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.

## 調査結果（２）室内環境化学物質の有害性評価

下記に示した 7 物質について、有害性評価を行った国際機関や国内外の関連機関等の評価文書や規制情報等を収集し、有害性評価に関する書誌情報等の整理を行った。なお、メチルイソブチルケトンについては情報収集中であり、とりまとめを平成 29 年度に行うこととした。

<調査対象物質>

・グリコールエーテル／エステル類

プロピレングリコールモノメチルエーテル (Propylene Glycol Monomethyl Ether: CAS 107-98-2)

ジエチレングリコールモノメチルエーテル (Diethylene Glycol Monomethyl Ether: CAS 111-77-3)

ジエチレングリコールモノエチルエーテル (Diethylene Glycol Monoethyl Ether: CAS 111-90-0)

プロピレングリコールモノメチルエーテルアセテート (Propylene Glycol Monomethyl Ether Acetate: CAS 108-65-6)

・テルペン類

d-リモネン (*d*-Limonene: CAS 5989-27-5)

$\alpha$ -ピネン ( $\alpha$ -Pinene: CAS 80-56-8)

・アルコール類

n-ブタノール (n-Butanol: CAS 71-36-3)

### 1. プロピレングリコールモノメチルエーテル (CAS 107-98-2)

プロピレングリコールモノメチルエーテルについて評価されている主な毒性は、急性毒性、反復曝露の一般毒性、生殖発生毒性、遺伝子傷害性、発がん性に関する知見が得られている。毒性は相対的に低く、遺伝子傷害性はないと考えられており、発がん性試験の結果も陰性と報告されている。

#### 1) 米国環境保護庁 (USEPA) の総合リスク情報システム (IRIS)

ラット及びウサギに 13 週間吸入曝露した試験結果から、3,000 ppm 群のラット、ウサギで鎮静が最初の 2 週間にみられたことから、NOAEL を 1,000 ppm (3,678 mg/m<sup>3</sup>) とし、曝露状況で補正した 658 mg/m<sup>3</sup> を不確実係数 (UF) の積 300 (種差 3、個体差 10、短期間 10) で除した 2 mg/m<sup>3</sup> をリスク評価値 (RfC) に設定。3,000 ppm 群での肝臓重量の増加、肝細胞肥大は適応反応としている。

US EPA (1991): Integrated Risk Information System (IRIS). Propylene glycol monomethyl ether (PGME); CASRN 107-98-2.

(キー研究)

Landry TD, Gushow TS, Yano BL. (1983): Propylene glycol monomethyl ether: a 13-week inhalation toxicity study in rats and rabbits. *Fundam Appl Toxicol.* 3: 627-630.

#### 2) カリフォルニア州環境保護庁 (CalEPA) による慢性影響のリスク評価

ラットに 2 年間吸入 (6 時間/日、5 日/週) 曝露した試験結果から、1,000 ppm 群の肝臓で好酸性巣の増加がみられたことから、NOAEL を 300 ppm とし、曝露状況で補正した 54 ppm を



不確実係数 (UF) の積 30 (種差 3、個体差 10) で除した 2 ppm (7 mg/m<sup>3</sup>) をリスク評価値 (REL) に設定。

CalEPA (2000): Determination of Noncancer Chronic Reference Exposure Levels. Propylene glycol monomethyl ether. Appendix D.3 Chronic RELs and toxicity summaries using the previous version of the Hot Spots Risk Assessment guidelines (OEHHA 1999).

(キー研究)

Ciezlak FS, Crissman JW, Stott WT, and Corley RA. (1998): Propylene glycol monomethyl ether: a two-year vapor inhalation chronic toxicity/oncogenicity study and evaluation of hepatic and renal cellular proliferation, P450 enzyme induction and protein droplet nephropathy in Fischer 344 rats. Dow Chemical Company, Midland, MI. (NTIS/OTS0573886、OTS0573887 が当該文書と思われるが、NTIS サイトに pdf ファイルがアップされていない。

Spencer PJ, Crissman JW, Stott WT, Corley RA, Ciezlak FS, Schumann AM, Hardisty JF. (2002): Propylene glycol monomethyl ether (PGME): inhalation toxicity and carcinogenicity in Fischer 344 rats and B6C3F<sub>1</sub> mice. Toxicol Pathol. 30: 570-579.

3) 米国産業衛生専門家会議 (ACGIH) の許容濃度

50~2,000 ppm を吸入曝露したヒトボランティア実験では、100 ppm 以上で一過性に臭気を感じ、より高濃度では臭気と流涙により耐えられなかったが、感覚消失は 1,000 ppm を吸入するまでみられなかったことから、TLV-TWA として 100 ppm を設定した。

ACGIH (2001): Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices. 7th Edition. 1-Methoxy-2-propanol.

(キー研究)

Stewart RD, Baretta ED, Dodd HC, Torkelson TR. (1970): Experimental human exposure to vapor of propylene glycol monomethyl ether. Experimental human exposure. Arch Environ Health. 20: 218-223.

4) 欧州連合 (EU) の職業曝露限界値

欧州連合 (EU) の職業曝露限界に関する科学委員会 (Scientific Committee on Occupational Exposure Limits) は、プロピレングリコールモノメチルエーテルについては、100、150 ppm を 2.5 時間吸入曝露したヒトボランティアでは、100 ppm では何の影響もなく、150 ppm では眼の自覚症状の訴えに軽度の増加がみられたが、眼刺激の客観的指標に影響はなかったことから、ヒトの眼刺激をエンドポイントに NOAEL 150 ppm とした報告があったことから、8 時間 TWA として 100 ppm を勧告した。

EC (1999): Recommendation of the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for 1-Methoxypropan-2-ol.

(キー研究)

Emmen HH, Prinsen MK, Hoogendijk EMG, aMuijser H. (1997): Human volunteer study with propylene glycol monomethyl ether. Potential eye irritation during vapour exposure. TNO Report

V97.116. Unpublished.

Emmen HH, Muijser H, Arts JH, Prinsen MK. (2003): Human volunteer study with PGME: eye irritation during vapour exposure. *Toxicol Lett.* 140-141: 249-259.

#### 5) ドイツ連邦環境庁の室内空気質ガイドライン

ドイツ連邦環境庁は、室内空気質ガイドラインとして、ガイドライン値 I (RW I) とガイドライン値 II (RW II) の2つの値を定めている (これらの定義の詳細は調査資料 (1) のドイツ連邦環境庁の室内空気質ガイドラインを参照)。

プロピレングリコールモノメチルエーテルについては、ラットに2年間吸入曝露した試験結果から、1,000 ppm 群の肝臓で好酸性巣の増加がみられたことから、LOAEL を 1,000 ppm (3,600 mg/m<sup>3</sup>) とし、曝露状況の補正係数を 5.6、種差 2.5、個体差 10、高感受性 2 の不確実係数との積 280 で除した 10 mg/m<sup>3</sup> (≒12.8 mg/m<sup>3</sup>) を RW II、LOAEL であるために 10 で除した 1 mg/m<sup>3</sup> を RW I に設定。

Umweltbundesamtes (2013): Richtwerte für Glykolether und Glykolester in der Innenraumluft. *Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz.* 56: 286-320.

#### (キー研究)

Ciezlak FS, Crissman JW, Stott WT, and Corley RA. (1998): Propylene glycol monomethyl ether: a two-year vapor inhalation chronic toxicity/oncogenicity study and evaluation of hepatic and renal cellular proliferation, P450 enzyme induction and protein droplet nephropathy in Fischer 344 rats. Dow Chemical Company, Midland, MI. (NTIS/OTS0573886, OTS0573887 が当該文書と思われるが、NTIS サイトに pdf ファイルがアップされていない。)

Spencer PJ, Crissman JW, Stott WT, Corley RA, Ciezlak FS, Schumann AM, Hardisty JF. (2002): Propylene glycol monomethyl ether (PGME): inhalation toxicity and carcinogenicity in Fischer 344 rats and B6C3F<sub>1</sub> mice. *Toxicol Pathol.* 30: 570-579.

#### 6) ドイツ研究振興会 (DFG) の最大現場濃度

ドイツ研究振興協会 (DFG) は、労働安全衛生に関する評価結果として、有害化学物質の最大現場濃度 (maximum workplace concentration、MAK)、生物学的許容値 (biological tolerance values、BAT)、評価・モニタリング法などについて公表している。プロピレングリコールモノメチルエーテルについては、50~2,000 ppm を吸入曝露したヒトボランティア実験では、100 ppm 以上で一過性に臭気を感じ、より高濃度では臭気と眼刺激で耐えられなかったが、中枢神経系の抑制は 1,000 ppm を吸入するまでみられなかったことから、MAK 値として 100 ppm を設定した。

DFG (1993): The MAK Collection for Occupational Health and Safety. MAK Value Documentation for Propylene glycol 1-methyl ether.

#### (キー研究)

Stewart RD, Baretta ED, Dodd HC, Torkelson TR. (1970): Experimental human exposure to vapor of propylene glycol monomethyl ether. *Experimental human exposure.* *Arch Environ Health.* 20: 218-223.

## 7) その他

指針値等のリスク評価値の設定は実施していないが、有害性の知見を取りまとめたものとして、下記のような報告がある。

- OECD (2001): SIDS Initial Assessment Report. 1-Methoxypropanol-2ol (PGME).
- OECD (2003): SIDS Initial Assessment Report. Propylene Glycol Ethers.
- EC (2000): IUCLID dataset. 1-Methoxypropanol-2ol. Year 2000 CD-ROM edition.
- Environment Canada Health Canada (2009): Screening assessment for the challenge 1-propanol, 2-methoxy-(2-methoxypropanol).
- EU (2008): European Union Risk Assessment Report. 1-Methoxypropan-2-ol acetate. Final human health risk assessment. Draft.

## 2. ジエチレングリコールモノメチルエーテル (CAS 111-77-3)

ジエチレングリコールモノメチルエーテルについて評価されている主な毒性は、急性毒性、反復曝露の一般毒性、生殖発生毒性、遺伝子傷害性に関する知見が得られており、相対的に毒性は低い。発がん性の知見は得られていないが、変異原性がないことや反復曝露の試験でみられた影響を考慮すると、発がん性が問題になる可能性は低いとされている。

### 1) 欧州連合 (EU) のリスク評価 (SIDS の評価書は EU の評価書と同じ)

ラットに 90 日間吸入曝露した試験では、最高濃度群の 216 ppm (1,060 mg/m<sup>3</sup>) でも影響がなかったことから、NOAEL は 1,060 mg/m<sup>3</sup> 以上と考えられたことから、NOAEL を 1,060 mg/m<sup>3</sup> とし、曝露濃度で除した MOS とアセスメント係数 23 の比較からリスクを評価している。アセスメント係数の内訳は、種差 3、個体差 3、曝露状況で補正 5、エンドポイント (Type of critical effect) 1、LOAEL なし 0.5、データの信頼性 1。 ( $3 \times 3 \times 5 \times 1 \times 0.5 \times 1 = 22.5 \div 23$ )。

EU (1999): European Union Risk Assessment Report. 2-(2-Methoxyethoxy)ethanol.

EU (1999): 2-(2-Methoxyethoxy)ethanol. Summary risk assessment report.

### (キー研究)

Miller RR, Eisenbrandt DL, Gushow TS, Weiss SK. (1985): Diethylene glycol monomethyl ether 13-week vapor inhalation toxicity study in rats. *Fundam Appl Toxicol.* 5: 1174-1179.

### 2) 欧州連合 (EU) の職業曝露限界値

雌ウサギに妊娠 6 日から妊娠 18 日まで皮膚塗布した試験では、250 mg/kg/day 群で骨化遅延を認め、NOEL は 50 mg/kg/day であった。経口、吸入、経皮の吸収率を同じ (100%) と仮定し、労働現場で 8 時間に 10 m<sup>3</sup> を吸入すると仮定すると、50 mg/kg は 350 mg/m<sup>3</sup> に相当する【体重 70 kg を仮定と考えられる】。本物質の代謝物の半減期はラットよりもヒトで長いことから、ヒトと動物における代謝物の差を考慮し、5 で除した 10 ppm を職業曝露限界値に設定した。【50 mg/kg → 350 mg/m<sup>3</sup> ; 1 ppm = 5.01 m/m<sup>3</sup> だから 350 mg/m<sup>3</sup> → 70 ppm ; 70/5=14 ≒ 10 ppm】

EU (2001): Recommendation from the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for

Aerosols of 2-(2-Methoxyethoxy)ethanol.

(キー研究)

Scortichini BH, John-Greene JA, Quast JF, Rao KS. (1986): Teratologic evaluation of dermally applied diethylene glycol monomethyl ether in rabbits. *Fundam Appl Toxicol.* 7: 68-75.

### 3) ドイツ連邦環境庁の室内空気質ガイドライン

ラットに 90 日間吸入曝露した試験では、最高濃度群の 216 ppm でも影響がなかったことから、NOAEL は 216 ppm 以上と考えられたことから、NOAEL を 216 ppm (1,080 mg/m<sup>3</sup>) とし、曝露期間 (短期間) の補正係数 2、曝露状況の補正係数を 5.6、種差 2.5、個体差 10、高感受性 2 の不確実係数との積 560 で除した 2 mg/m<sup>3</sup> (≒ 1.93 mg/m<sup>3</sup>) を RW I、NOEAL から LOAEL 相当にするために 3 で乗じた 6 mg/m<sup>3</sup> を RW II に設定。

Umweltbundesamtes (2013): Richtwerte für Glykolether und Glykolester in der Innenraumluft. *Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz.* 56: 286-320.

(キー研究)

Miller RR, Eisenbrandt DL, Gushow TS, Weiss SK. (1985): Diethylene glycol monomethyl ether 13-week vapor inhalation toxicity study in rats. *Fundam Appl Toxicol.* 5: 1174-1179.

### 4) オランダ国立公衆衛生環境研究所 (RIVM) オランダの評価

ラットの 90 日間吸入曝露試験から NOAEL は 189 mg/m<sup>3</sup> 以上 (1,060 mg/m<sup>3</sup> を曝露状況で補正した値; 1,060 mg/m<sup>3</sup> × 6 h/24 h × 5 d/7 d = 189 mg/m<sup>3</sup>) であり、低いヘンリー係数と短い大気中での滞留時間を考慮すると、最大許容濃度 (MPC<sub>air</sub>) を算出する意義はないと考えられた。

RIVM (2008): Environmental risk limits for 2-(2-methoxyethoxy)ethanol (DEGME).

(キー研究)

Miller RR, Eisenbrandt DL, Gushow TS, Weiss SK. (1985): Diethylene glycol monomethyl ether 13-week vapor inhalation toxicity study in rats. *Fundam Appl Toxicol.* 5: 1174-1179.

### 5) その他

指針値等のリスク評価値の設定は実施していないが、有害性の知見を取りまとめたものとして、下記の報告がある。

- EC (2000): IUCLID dataset. 1-Methoxypropanol-2ol. Year 2000 CD-ROM edition.
- Environment Canada Health Canada (2009): Screening assessment for the challenge Ethanol, 2-(2-methoxyethoxy)-.

## 3. ジエチレングリコールモノエチルエーテル (CAS 111-90-0)

ジエチレングリコールモノエチルエーテルについて評価されている主な毒性は、急性毒性、反復曝露の一般毒性、生殖発生毒性、遺伝子傷害性に関する知見が得られており、相対的に

毒性は低い。発がん性に関する知見は動物数が少ない、記載が不十分などの理由から、発がん性の有無を判断するには不十分とされている。

#### 1) ドイツ連邦環境庁の室内空気質ガイドライン

ラットに 28 日間吸入曝露した試験では、最高濃度群の 197 ppm で気道刺激がみられたものの、弱い影響であったことから、NOAEL を 197 ppm (1,103.2 mg/m<sup>3</sup>) とし、曝露期間 (短期間) の補正係数 6、曝露状況の補正係数を 5.6、種差 2.5、個体差 10、高感受性 2 の不確実係数との積 1,680 で除した 0.7 mg/m<sup>3</sup> (≒ 0.66 mg/m<sup>3</sup>) を RW I、NOAEL から LOAEL 相当にするために 3 で乗じた 2 mg/m<sup>3</sup> を RW II に設定。

但し、原著の Hardy et al (1997) では、全身影響 (systemic effects) の NOAEL を 1,100 mg/m<sup>3</sup>、上気道の非特異的な軽度刺激を示す徴候 (signs indicative of mild nonspecific irritation of the upper respiratory tract) の NOAEL を 90 mg/m<sup>3</sup> と判断している。

Umweltbundesamtes (2013): Richtwerte für Glykolether und Glykolester in der Innenraumluft. Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz. 56: 286-320.

#### (キー研究)

Hardy CJ, Coombs DW, Lewis DJ, Klimisch HJ. (1997): Twenty-eight-day repeated-dose inhalation exposure of rats to diethylene glycol monoethyl ether. *Fundam Appl Toxicol.* 38: 143-147.

#### 2) ドイツ研究振興会 (DFG) の最大現場濃度

ラットに 28 日間吸入曝露した試験では、270 mg/m<sup>3</sup> 群 (中濃度曝露群) で喉頭蓋の刺激を誘発したことから、NOAEL を 90 mg/m<sup>3</sup> とし、50 mg/m<sup>3</sup> の MAK 値が設定された。

DFG (2014): The MAK Collection for Occupational Health and Safety. MAK Value Documentation for Diethylene glycol monoethyl ether.

#### (キー研究)

BG Chemie (Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie) (1993) Diethylene glycol monoethyl ether 28-day inhalation toxicity study in rats. HRC (Huntingdon Research Centre Ltd.), BGH 33/920364 (BG Nr. 61), BG Chemie, Heidelberg, unpublished report.

Hardy CJ, Coombs DW, Lewis DJ, Klimisch HJ. (1997): Twenty-eight-day repeated-dose inhalation exposure of rats to diethylene glycol monoethyl ether. *Fundam Appl Toxicol.* 38: 143-147.

#### 3) その他

指針値等のリスク評価値の設定は実施していないが、有害性の知見を取りまとめたものとして、下記のような報告がある。

○ EC (2000): IUCLID dataset. 1-Methoxypropanol-2ol. Year 2000 CD-ROM edition.

○ OECD (2005): SIDS Initial Assessment Report. Diethylene Glycol Ethers.

## 4. プロピレングリコールモノメチルエーテルアセテート (CAS 108-65-6)

プロピレングリコールモノメチルエーテルアセテートについて評価されている主な毒性は、

急性毒性、反復曝露の一般毒性、生殖発生毒性、遺伝子傷害性に関する知見が得られており、発がん性に関する知見はないが、遺伝子傷害性はないと考えられている (SIDS)。得られた既存評価書類が少なかったことから、EU 評価書のドラフトも掲載した。

EU は 2006 年に本物質のリスク評価書を作成しているが、未だにドラフトのままである。なお、本物質の有害性情報は乏しいものの、加水分解によって速やかに Propylene Glycol Monomethyl Ether と酢酸に代謝されることから、本物質と Propylene Glycol Monomethyl Ether の全身毒性には質的な違いはないとして Propylene Glycol Monomethyl Ether の知見を多用しているが、曝露部位での加水分解により生じた酢酸の影響も考えられることから、局所影響の取り扱いについては注意が必要である。

### 1) 欧州連合 (EU) の職業曝露限界値

マウスに 2 週間 (6 時間/日、5 日/週) 吸入曝露した試験では、300 ppm (1,650 mg/m<sup>3</sup>) 以上の群で嗅上皮の刺激 (化生変化を伴った嗅上皮の変性) がみられたことから、LOAEL を 300 ppm (1,650 mg/m<sup>3</sup>) とし、NOAEL でもなければヒトのデータでもないことから不確実係数を 5 とし、8 時間の TWA として 50 ppm (275 mg/m<sup>3</sup>) が勧告された。なお、鼻腔への影響は、曝露部位での加水分解により発生した酢酸による可能性が考えられている。

EC (1995): Recommendation of the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for 1-Methoxypropyl-2-acetate.

#### (キー研究)

Miller RR, Hermann EA, Young JT, Calhoun LL, Kastl PE. (1984): Propylene glycol monomethyl ether acetate (PGMEA) metabolism, disposition, and short-term vapor inhalation toxicity studies. Toxicol Appl Pharmacol. 75: 521-530.

### 2) ドイツ研究振興会 (DFG) の最大現場濃度

本物質の毒性情報は限られており、分解・けん化産物である 1-メトキシ-2-プロパノール (プロピレングリコールモノメチルエーテル) のデータも含めて検討すべきであることから、暫定的な MAK 値として 50 mL/m<sup>3</sup> (ppm) が設定される。但し、具体的な算出手順の記載はなかった。

DFG (1990): The MAK Collection for Occupational Health and Safety. MAK Value Documentation for 1-Methoxypropyl-2-acetate.

#### (キー研究)

明記されていない。

### 3) 欧州連合 (EU) のリスク評価 (ドラフト)

一般消費者を対象としたリスク評価の結果を以下に示す。

#### ①急性毒性

Propylene Glycol Monomethyl Ether のヒトボランティア実験から、中枢神経系の抑制をエンドポイントに NOAEL を 750 ppm (4,116 mg/m<sup>3</sup>) とし、これと曝露濃度から MOS を算出。MOS と比較するアセスメント係数は 10 (個体差)。

#### ②刺激及び腐食性

Propylene Glycol Monomethyl Ether のヒトボランティア実験から、気管への刺激性をエンドポイントに NOAEL を 750 ppm (549 mg/m<sup>3</sup>) とし、これと曝露濃度から MOS を算出。MOS と比較するアセスメント係数は 3 (個体差)。

③反復曝露毒性 (全身影響)

Propylene Glycol Monomethyl Ether をラットに 2 年間 (6 時間/日、5 日/週) 吸入曝露した試験結果から、1,000 ppm 群の肝臓で好酸性巣の増加がみられたことから、NOAEL を 300 ppm (1,620 mg/m<sup>3</sup>) とし、経皮曝露との統合評価も考慮して、呼吸量 20 m<sup>3</sup>/day、体重 60 kg、肺からの吸収率 100% から経口換算した 96 mg/kg/day (1,620 × 20/60 × 6/24 × 5/7 = 96.4) と曝露濃度 (365 で除した日平均) から MOS を算出。MOS と比較するアセスメント係数は 25 (個体差 2.5、種差 10)。

④反復曝露毒性 (局所影響)

マウスに 2 週間 (6 時間/日、5 日/週) 吸入曝露した試験では、300 ppm (1,620 mg/m<sup>3</sup>) 以上の群で嗅上皮の刺激 (化生変化を伴った嗅上皮の変性) がみられたことから、LOAEL を 300 ppm (1,620 mg/m<sup>3</sup>) とし、これと曝露濃度から MOS を算出。MOS と比較するアセスメント係数は 75 (個体差 2.5、種差 10、LOAEL → NOAEL 3、影響のタイプ 1、データベースの信頼性 1)。

⑤生殖毒性

Propylene Glycol Monomethyl Ether をラットに吸入 (6 時間/日、交尾前 5 日/週、交尾～哺育期間 7 日/週) 曝露した二世世代試験では、3,000 ppm 群の仔で低体重、生存率の低下などがみられたが、1,000 ppm 群では繁殖成績や仔への影響がなかったことから NOAEL を 1,000 ppm (5,400 mg/m<sup>3</sup>) とし、経口換算した 321 mg/kg/day (5,400 × 20/60 × 6/24 × 5/7 = 321.4) と曝露濃度 (365 で除した日平均) から MOS を算出。MOS と比較するアセスメント係数は 25 (個体差 2.5、種差 10、影響のタイプ 1、データベースの信頼性 1)。

なお、本物質は催奇形性を有せず、母動物に毒性を認めない用量では胎仔への影響もないため、生殖毒性に関する懸念はないと判断している。

⑥遺伝子傷害性・発がん性

遺伝子傷害性に関する得られた試験結果から、遺伝子傷害性に関する懸念はないと判断している。Propylene Glycol Monomethyl Ether の発がん性に関する得られた試験結果から、本物質の発がん性に関する懸念はないと判断している。

EU (2008): European Union Risk Assessment Report. 1-Methoxypropan-2-ol acetate. Final human health risk assessment. Draft.

(キー研究) ※対象は一般消費者

急性毒性 : Stewart RD, Baretta ED, Dodd HC, Torkelson TR. (1970): Experimental human exposure to vapor of propylene glycol monomethyl ether. Experimental human exposure. Arch Environ Health. 20: 218-223. (Propylene Glycol Monomethyl Ether の知見を使用)

反復曝露毒性 (全身影響) : Spencer PJ, Crissman JW, Stott WT, Corley RA, Cieszlak FS, Schumann AM, Hardisty JF. (2002): Propylene glycol monomethyl ether (PGME): inhalation toxicity and carcinogenicity in Fischer 344 rats and B6C3F<sub>1</sub> mice. Toxicol Pathol. 30: 570-579. (Propylene Glycol Monomethyl Ether の知見を使用)

反復曝露毒性 (局所影響) : Miller RR, Hermann EA, Young JT, Calhoun LL, Kastl PE. (1984): Propylene glycol monomethyl ether acetate (PGMEA) metabolism, disposition, and short-term vapor inhalation toxicity studies. Toxicol Appl Pharmacol. 75: 521-530.

生殖毒性：Carney EW, Crissman JW, Liberacki AB, Clements CM, Breslin WJ. (1999): Assessment of adult and neonatal reproductive parameters in Sprague-Dawley rats exposed to propylene glycol monomethyl ether vapors for two generations. Toxicol Sci. 50: 249-258. (Propylene Glycol Monomethyl Ether の知見を使用)

#### 4) その他

指針値等のリスク評価値の設定は実施していないが、有害性の知見を取りまとめたものとして、下記のような報告がある。

- OECD (2001): SIDS Initial Assessment Report. 1-Methoxy-2-propanol acetate.
- OECD (2003): SIDS Initial Assessment Report. Propylene Glycol Ethers.
- EC (2000): IUCLID dataset. 1-Methoxypropanol-2ol. Year 2000 CD-ROM edition.

### 5. *d*-リモネン (CAS 5989-27-5)

*d*-リモネンについて評価されている主な毒性は、急性毒性、反復曝露の一般毒性、生殖発生毒性、遺伝子傷害性、発がん性に関する知見が得られており、遺伝子傷害性はないものと考えられている。雄ラットでは腎臓腫瘍の発生率に有意な増加がみられたが、雌ラットや雌雄のマウスで腫瘍の発生増加はなく、雄ラットに特有の $\alpha$ 2u-グロブリン腎症の起因したものであり、ヒトへの外挿性はないと考えられている。

なお、有害性の知見は経口曝露にほぼ限られており、吸入曝露の知見を基にしたリスク評価事例はなかった。

#### 1) 国際化学物質安全性計画 (IPCS) による国際化学物質簡潔評価文書 (CICAD)

ラットに13週間(5日/週)経口投与した試験結果から、雄ラットにみられた腎臓への影響は雄ラットに特有の $\alpha$ 2u-グロブリンによるものと判断して雄ラットの腎臓への影響を除外し、本物質の標的臓器は肝臓であるとして、肝臓の相対重量増加をエンドポイントにとってNOELを10 mg/kg/day、NOAELを30 mg/kg/dayと評価し、NOEL 10 mg/kg/dayを基に種差10、個体差10で除した0.1 mg/kg/dayをガイドライン値として算出できることを例示している。

なお、吸入については、本物質の場合、経口摂取に比べて重要な経路でないため、ガイドライン値の算出はしていない。

IPCS (1998): Concise International Chemical Assessment Document 5. Limonene.

#### (キー研究)

Webb DR, Ridder GM, Alden CL. (1989): Acute and subchronic nephrotoxicity of *d*-limonene in Fischer 344 rats. Food Chem Toxicol. 27: 639-649.

#### 2) FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA)

国連食糧農業機関 (FAO) と世界保健機関 (WHO) による JECFA の評価では、ラットの雄に 0、75、150 mg/kg/day、雌に 0、300、600 mg/kg/day、マウスの雄に 0、250、500 mg/kg/day、雌に 0、500、1,000 mg/kg/day を103週間(5日/週)強制経口投与、雌ウサギに妊娠6日から妊娠18日まで0、250、500、1,000 mg/kg/day を強制経口投与した試験では、本物質投与による体重増加の有意な増加がみられたが、150 mg/kg/day ではみられなかったことから、NOEL



は 150 mg/kg/day であるため、ADI は 0~1.5 mg/kg/day と算出された (IPCS (1993) & JECFA (1992)より)。なお、雄ラットに腎症と腎腫瘍の発生があったが、 $\alpha$  2u-グロブリンの蓄積に伴うものであることが確認されており、雄ラットの腎臓への影響は評価から除外されている。また、NOEL に対して種差を 10、個体差を 10 で除したと思われるが明記はされていない。但し、ADI 設定に用いた NOEL は雄ラットの最高用量群の値であったが、より高用量を投与して LOAEL を求めようとしても、 $\alpha$  2u-グロブリンによる腎症が試験結果に影響を与えることから、ADI はより高用量を投与した試験結果を基に設定すべきでないこと、雌ラットや他の動物種では体重以外の影響は致死量に近い用量 (sub-lethal) でしかみられないこと、現在の本物質使用のパターンが自然起源に関連したものであることを考慮し、既存の ADI を取り下げ、ADI は特定しないこととなっている。

IPCS (1993): Toxicological evaluation of certain food additives and naturally occurring toxicants. WHO food additives series 30.

JECFA (1992): Evaluation of certain food additives and naturally occurring toxicants. (Thirty-ninth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Technical Report Series No. 828.

JECFA (1993): Evaluation of certain food additives and naturally occurring toxicants. (Forty-first report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Technical Report Series No. 837.

#### (キー研究)

NTP (1990): Toxicology and carcinogenesis studies of *d*-limonene (CAS No. 5989-27-5) in F344/N rats and B6C3F<sub>1</sub> mce (gavage studies). NTP TR 347.

Kodama R, Okubo A, Sato K, Araki E, Noda K, Ide H, Ikeda T. (1977): Studies on *d*-limonene as a gallstone solubilizer (IX). Effects on development of rabbit fetuses and offspring. (Japan) Oyo Yakuri. 13: 885-898.

### 3) 米国環境保護庁 (USEPA) の総合リスク評価情報システム (IRIS)

経口のリスク評価値 (RfD) は評価せず、吸入のリスク評価値 (RfC) は定量的考察とした上で、経口投与の試験結果を複数例示し、可能性のある気道への影響に関する情報がなく、経路間の外挿の基となる薬物動態学的データが限られたものしかないため、RfC の算出はできないと判断している。

US EPA (1993): Integrated Risk Information System (IRIS). *d*-Limonene; CASRN 5989-27-5.

### 4) 米国環境保護庁 (USEPA) の農薬の耐容量再評価 (Tolerance Reassessment eligibility decision: TRED)

短期間曝露については、0、400 mg/kg/day を雄ラットに 30 日間強制経口投与した試験結果 (Ariyoshi ら, 1975) から、400 mg/kg/day 群で肝酵素の上昇を伴った肝臓相対重量の増加を認めたことから、400 mg/kg/day を LOAEL として評価に採用。LOAEL であるため、100 の Margin of Exposure (MOE) に追加の安全係数として 3 を乗じた 300 をリスクの判定に採用。CICAD がガイドライン値の算出に用いた NOEL 10 mg/kg/day (Webb ら, 1989) については、1 用量段階上の 30 mg/kg/day 群でも肝臓相対重量に有意差はないし、肝臓組織や肝酵素の変化を伴ったものでもないことから、採用しないとした。

慢性曝露時については、雄ラットに103週間（5日/週）強制経口投与したNTPの試験結果から、腎臓以外の影響は最高用量群（150 mg/kg/day）でもみられなかったことから、NOAELを150 mg/kg/dayとし、100のMOEでリスクを判定。吸入の曝露評価は、E-FASTモデルの消費者曝露モジュールを使用。なお、100のMOEの内訳は明記されていないが、種差10×個体差10と思われる。

US EPA (1993): Integrated Risk Information System (IRIS). *d*-Limonene; CASRN 5989-27-5.

#### （キー研究）

Ariyoshi T, Arakaki M, Ideguchi K, Ishizuka Y, Noda K. (1975): Studies on the metabolism of *d*-Limonene (*p*-Mentha-1,8-diene). III. Effects of *d*-Limonene on the lipids and drug-metabolizing enzymes in rat livers. *Xenobiotica*. 5: 33-38. （短期間曝露時の評価）

NTP (1990): Toxicology and carcinogenesis studies of *d*-limonene (CAS No. 5989-27-5) in F344/N rats and B6C3F<sub>1</sub> mice (gavage studies). NTP TR 347. （慢性曝露時の評価）

#### 5) 欧州連合の室内空気プロジェクト（INDEX）

8人に2時間曝露したヒトボランティア実験結果から、10 mg/m<sup>3</sup>曝露に比べて450 mg/m<sup>3</sup>の曝露で肺活量の有意な低下（2.38%）を認めたことから、NOAELを225 mg/m<sup>3</sup>、LOAELを450 mg/m<sup>3</sup>とし、LOAEL 450 mg/m<sup>3</sup>をアセスメント係数1,000（慢性曝露へ補正で10、LOAELで10、個体差で10）で除した0.45 mg/m<sup>3</sup>を長期間の曝露限界（EL）とした。

EC (2005): The INDEX project. Critical Appraisal of the Setting and Implementation of Indoor Exposure Limits in the EU. Final report.

#### （キー研究）

Falk-Filipsson A, Löf A, Hagberg M, Hjelm EW, Wang Z. (1993): *d*-limonene exposure to humans by inhalation: uptake, distribution, elimination, and effects on the pulmonary function. *J Toxicol Environ Health*. 38: 77-88.

#### 6) ドイツ連邦環境庁の室内空気質ガイドライン

雄マウスに2年間（5日/週）強制経口投与した試験では、高用量群（500 mg/kg/day）の肝臓で肝細胞の多核化及び巨細胞化の発生率に有意な増加を認めたことから、LOAELを500 mg/kg/dayとし、曝露状況で補正した357 mg/kg/dayを基に指針値を算出。室内空気ガイドラインでは呼吸量20 m<sup>3</sup>/day、体重70 kgを標準としており、種差10、個体差10、子供の生理学的特徴（成人よりも高い呼吸速度）の係数2、吸入した本物質の吸収率63%から、RW IIを10 mg/m<sup>3</sup>、RW Iを1 mg/m<sup>3</sup>と算出した。

RW II :  $357 \text{ mg/kg/day} / (20 \text{ m}^3/\text{day}) \times 70 \text{ kg} \times 1/10 \times 1/10 \times 1/2 \times 1/0.63 = 9.9 \approx 10 \text{ mg/m}^3 \rightarrow$

RW I : LOAEL  $\rightarrow$  NOAEL  $10 \times 1/10 = 1 \text{ mg/m}^3$

Umweltbundesamt (2010): Richtwerte für monocyclische Monoterpene (Leitsubstanz *d*-Limonen) in der Innenraumluft. *Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz*. 53: 1206-1215.

#### （キー研究）

NTP (1990): Toxicology and carcinogenesis studies of *d*-limonene (CAS No. 5989-27-5) in F344/N rats and B6C3F<sub>1</sub> mice (gavage studies). NTP TR 347.

#### 7) ドイツ研究振興会 (DFG) の最大現場濃度

ラットに 13 週間 (5 日/週) 経口投与した試験結果から、肝臓の相対重量増加をエンドポイントにとって NOAEL を 30 mg/kg/day と評価し、ヒトとラットの薬物動態学的相違に関連した値として 1:4、ラットでの経口吸収率を 100%、労働者の体重を 70 kg、呼吸量を 10 m<sup>3</sup>/8hr、吸入曝露の吸収率を 68% とすると、30 mg/kg/day は 77 mg/m<sup>3</sup> (14 mL/m<sup>3</sup>) となる。【30 mg/kg/day × 70 kg / (10 m<sup>3</sup>/8 hr) × 1/0.68 × 1/4 = 77 mg/m<sup>3</sup>】

肝臓重量の増加は肝酵素の誘導によるものであるため、肝酵素誘導は 13 週間後には平衡に達していると考えられるため、NOAEL は慢性曝露後に低下するとは考え難い。このため、“Preferred Value Approach” を用いて MAK 値は 5 mL/m<sup>3</sup> (28 mg/m<sup>3</sup>) と決定される。

DFG の MAK では、労働者が対象のため、7 日/週の連続投与に変換する必要はない。Preferred Value Approach の具体的な定義は見つからなかったが、(preferred value approach: 1,2,5 ppm or mg/m<sup>3</sup> etc.) とした説明があった。労働者の許容濃度算出にあたっては、不確実係数が明示 (考慮) されない場合が多く、大体この程度と切りの良い数値が設定されており、このことを指すものと思われる。

DFG (2012): The MAK Collection for Occupational Health and Safety. MAK Value Documentation for *D*-Limonene.

(キー研究)

Webb DR, Ridder GM, Alden CL. (1989): Acute and subchronic nephrotoxicity of *d*-limonene in Fischer 344 rats. Food Chem Toxicol. 27: 639-649.

#### 8) デンマークの評価

CICAD が算出したガイドライン値 (0.1 mg/kg/day) を TDI とし、おもちゃから揮散する本物質について、子供の体重を 10 kg、室内での遊技時間を 1 時間とし、活動時の呼吸量を 1.2 m<sup>3</sup>/hr、1 日の呼吸量を 8.3 m<sup>3</sup>/day、肺からの吸収率を 100% として、急性、慢性の Margin of Safety (MOS) を算出。急性シナリオの吸収量: 室内濃度 × 1.2/10。慢性シナリオではさらに × 8.3/24 する。

Danish Ministry of the Environment (2005): Survey and release of chemical substances in "slimy" toys.

(キー研究)

Webb DR, Ridder GM, Alden CL. (1989): Acute and subchronic nephrotoxicity of *d*-limonene in Fischer 344 rats. Food Chem Toxicol. 27: 639-649.

#### 9) オーストラリアの評価

オーストラリア政府による産業化学物質の評価では、D-リモネンについて、実験動物における肝臓への影響から特定された適切な NOAEL がないため、MOE のアプローチによるリスク評価は実施しないとして、推定される曝露濃度から、リスクの大小を判定している。

National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme (NICNAS) (2002): Priority

existing chemicals assessment report. No. 22.

#### 10) 欧州の EPHECT project (Emissions, exposure patterns and health effects of consumer products in the EU)

欧州では、共同研究プロジェクトとして、消費者製品の健康影響評価プロジェクト (EPHECT プロジェクト) が活動を行い、リスク評価結果を公表している。D-リモネンについては、8人のヒトボランティアに2時間曝露した実験では、10 mg/m<sup>3</sup> 曝露に比べて 450 mg/m<sup>3</sup> の曝露時に肺活量の有意な低下 (2.38%) を認めたが、約 2% の肺活量低下は著者も指摘しているように機能的な意義はなく、薬物動態を目的とした研究計画であったため、被験者等に制限もあった。このため、NOAEL を 450 mg/m<sup>3</sup> とし、アセスメント係数 5 (個体差 5) で除した 90 mg/m<sup>3</sup> (16 ppm) を短期間曝露の Critical Exposure Limit (CEL) とし、さらに短期間の不確実係数 10 で除した 9 mg/m<sup>3</sup> (1.6 ppm) を長期間曝露の CEL としている。

EPHECT (2013): WP7 - Exposure and health risk assessment. Report on the health risk associated with emissions from household use of selected consumer products.

Trantallidi M, Dimitroulopoulou C, Wolkoff P, Kephelopoulos S, Carrer P. (2015): EPHECT III: Health risk assessment of exposure to household consumer products. *Sci Total Environ.* 536: 903-913.

#### (キー研究)

Falk-Filipsson A, Löf A, Hagberg M, Hjelm EW, Wang Z. (1993): *d*-limonene exposure to humans by inhalation: uptake, distribution, elimination, and effects on the pulmonary function. *J Toxicol Environ Health.* 38: 77-88.

#### 11) Mandin(2017)の評価

欧州では、現代オフィス環境に関する 7 カ国の共同研究として、OFFICAIR プロジェクトが進行している。D-リモネンについては、短期曝露は、EPHECT プロジェクトによる短期間 CEL の 90 mg/m<sup>3</sup> を採用して評価。長期間曝露は、Petry ら(2014) が設定した 3.6 mg/m<sup>3</sup> (ラットに 2 週間吸入曝露した試験結果 (Kirkpatrick, 2013. 未公表) から、NOAEC を 543 mg/m<sup>3</sup> とし、アセスメント係数 150 (種差 2.5、個体差 10、短期間 6 : ECHA REACH Guidance documents 2012 のデフォルト値) で除した 3.6 mg/m<sup>3</sup> で評価。

Mandin C, Trantallidi M, Cattaneo A, Canha N, Mihucz VG, Szigeti T, Mabilia R, Perreca E, Spinazzè A, Fossati S, De Kluizenaar Y, Cornelissen E, Sakellaris I, Saraga D, Hänninen O, De Oliveira Fernandes E, Ventura G, Wolkoff P, Carrer P, Bartzis J. (2017): Assessment of indoor air quality in office buildings across Europe - The OFFICAIR study. *Sci Total Environ.* 579: 169-178.

#### (キー研究)

短期曝露 : Trantallidi M, Dimitroulopoulou C, Wolkoff P, Kephelopoulos S, Carrer P. (2015): EPHECT III: Health risk assessment of exposure to household consumer products. *Sci Total Environ.* 536: 903-913.

長期曝露 : Petry T, Vitale D, Joachim FJ, Smith B, Cruse L, Mascarenhas R, Schneider S, Singal M. (2014): Human health risk evaluation of selected VOC, SVOC and particulate emissions from scented candles. *Regul Toxicol Pharmacol.* 69: 55-70.

### (その他参考資料)

Kirkpatrick DT. (2013): A two-week inhalation toxicity study of aerosolized dlimonene in the Sprague Dawley rat. Unpublished report by the Research Institute for Fragrance Materials (RIFM).  
ECHA, 2012a. Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment. Chapter R.15: Consumer Exposure Estimation. European Chemicals Agency Version 2.1, October 2012. [http://echa.europa.eu/documents/10162/13632/information\\_requirements\\_r15\\_en.pdf](http://echa.europa.eu/documents/10162/13632/information_requirements_r15_en.pdf) (accessed December 2013).

### 12) その他

指針値等のリスク評価値の設定は実施していないが、有害性の知見を取りまとめたものとして、下記のような報告がある。また、NTP が現在、ラット及びマウスで2年間の吸入曝露試験を実施中であった。

- IARC (1993): Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. *d*-Limonene. 73: 307-327..
- The Flavor and Fragrance High Production Volume Consortia (FFHPVC); The Terpene Consortium. (2002): Robust Summaries and Test Plan for Monoterpenes. HPV Challenge Program: AR201-13756 and AR201-13756A and AR201-13756B.
- EPA (2009): SCREENING-LEVEL HAZARD CHARACTERIZATION. Monoterpene Hydrocarbons Category. 【上記の FFHPVC の文書を受けて EPA が作成したもの】
- EC (2000): IUCLID dataset. 1-Methoxypropanol-2ol. Year 2000 CD-ROM edition.
- Adams TB, Gavin CL, McGowen MM, Waddell WJ, Cohen SM, Feron VJ, Marnett LJ, Munro IC, Portoghese PS, Rietjens IM, Smith RL. (2011): The FEMA GRAS assessment of aliphatic and aromatic terpene hydrocarbons used as flavor ingredients. *Food Chem Toxicol.* 49: 2471-2494.
- NTP\_試験実施状況\_ts-m030014.pdf

## 6. $\alpha$ -ピネン (CAS 80-56-8)

$\alpha$ -ピネンに関して評価されている主な毒性は、急性毒性、反復曝露の一般毒性、遺伝子傷害性に関する知見は得られているが、生殖発生毒性の知見はなく、発がん性の知見（33週間皮膚塗布試験）も限られたものしかなかった。

なお、NTP が 2005 年に実施した 14 週間の吸入曝露試験結果が 2006 年にドラフト版としてとりまとめられており、これを引用した業界団体 (FFHPVC) の文書を出典とした NOAEL を基に我が国の室内空気曝露の現状を評価した報告が 2 報あった。この試験結果は 2016 年 3 月に最終版が公表されており、ラットの低曝露群 (25 ppm)、マウスの中曝露群 (100 ppm) が LOEL とされていた。ラットの LOEL 25 ppm のエンドポイントは雄で腎臓の病変、雌で組織変化を伴わない肝臓相対重量の増加であり、*L*-リモネンと同様に  $\alpha$ 2u-グロブリン腎症による腎臓への影響、薬物代謝の適応に伴う腎臓相対重量の増加とした場合には、NOAEL を 25 ppm とする評価が考えられる。

### 1) FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA)

本物質の代謝産物の一つに *d*-Limonene があるが、欧米での本物質摂取量は *d*-Limonene の 5~20% と見積もられており、*d*-Limonene は ADI を設定するほどのものではないとされていることから、本物質の摂取量が問題になることはないとは評価している。

JECFA (2006): Safety evaluation of certain food additives. WHO food additives series. No. 54.

## 2) 米国産業衛生専門家会議 (ACGIH) の許容濃度

テレピン及びモノテルペン ( $\alpha$ -ピレン、 $\beta$ -ピレン、 $\Delta^3$ -カレン) として評価。ヒトボランティア実験 (①~④) では、概ね 80 ppm の 2 時間曝露で眼刺激等の明瞭な影響がみられるが、10 ppm 以上で拡散量への影響を認めたヒトボランティア実験 (⑤) や労働者 (⑥) の報告があることから、TLV-TWA として 20 ppm (112 mg/m<sup>3</sup>) を勧告した。

ACGIH (2001): Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices. 7th Edition. Turpentine and selected monoterpenes.

### (キー研究)

Falk AA, Hagberg MT, Löf AE, Wigaeus-Hjelm EM, Wang ZP. (1990): Uptake, distribution and elimination of alpha-pinene in man after exposure by inhalation. Scand J Work Environ Health. 16: 372-378.

Falk A, Löf A, Hagberg M, Hjelm EW, Wang Z. (1991): Human exposure to 3-carene by inhalation: toxicokinetics, effects on pulmonary function and occurrence of irritative and CNS symptoms. Toxicol Appl Pharmacol. 110: 198-205.

Filipsson AF. (1996): Short term inhalation exposure to turpentine: toxicokinetics and acute effects in men. Occup Environ Med. 53: 100-105.

Johard U, Larsson K, Löf A, Eklund A. (1993): Controlled short-time terpene exposure induces an increase of the macrophages and the mast cells in bronchoalveolar lavage fluid. Am J Ind Med. 23: 793-799.

Dahlqvist M, Palmberg L, Malmberg P, Sundblad BM, Ulfvarson U, Zhiping W. (1996): Acute effects of exposure to air contaminants in a sawmill on healthy volunteers. Occup Environ Med. 53: 586-590.

Eriksson KA, Stjernberg NL, Levin JO, Hammarström U, Ledin MC. (1996): Terpene exposure and respiratory effects among sawmill workers. Scand J Work Environ Health. 22: 182-190.

## 3) 欧州連合の室内空気プロジェクト (INDEX)

8 人に 2 時間曝露したヒトボランティア実験では、5 人が 450 mg/m<sup>3</sup> の曝露で眼、鼻、喉の刺激を訴え、それらの程度には有意な増加があったことから、NOAEL を 225 mg/m<sup>3</sup>、LOAEL を 450 mg/m<sup>3</sup> とし、LOAEL 450 mg/m<sup>3</sup> をアセスメント係数 1,000 (慢性曝露へ補正で 10、LOAEL で 10、個体差で 10) で除した 0.45 mg/m<sup>3</sup> を長期間の曝露限界 (EL) とした。

EC (2005): The INDEX project. Critical Appraisal of the Setting and Implementation of Indoor Exposure Limits in the EU. Final report.

### (キー研究)

Falk A, Gullstrand E, Löf A, Wigaeus-Hjelm E. (1990): Liquid/air partition coefficients of four terpenes. Br J Ind Med. 47: 62-64.

#### 4) ドイツ連邦環境庁の室内空気質ガイドライン

ボランティア 8 人に  $\alpha$ -ピネン、 $\beta$ -ピネン、 $\delta$ -3-カレンを 10:1:5 の割合で含む混合物 450 mg/m<sup>3</sup> を 2 週間に 4 回 (3 時間/回) 吸入させた結果、気管支肺胞洗浄液中にマクロファージ、マスト細胞の増加を認め、肺胞の炎症が示されたことから、LOAEL を 450 mg/m<sup>3</sup> とし、これを基に指針値を算出することとした。

長期間曝露への補正については、危険物質委員会 (Ausschusses für Gefahrstoffe) が 12 で十分としていることから、450 mg/m<sup>3</sup> を 12 で除すと 38 mg/m<sup>3</sup> となる。これを個体差 10、子供の生理学的特徴 (成人よりも高い呼吸速度) の係数 2 の計 20 で除すと 1.9 mg/m<sup>3</sup> となり、丸めた 2 mg/m<sup>3</sup> を RW II に設定した。RW I は LOAEL であることを考慮して 10 で除した 0.2 mg/m<sup>3</sup> を設定した。

Sagunski H, Heinzow B. (2003): Richtwerte für die Innenraumluft: Bicyclische Terpene (Leitsubstanz  $\alpha$ -Pinen). Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz. 46: 346-352.

#### (キー研究)

Johard U, Larsson K, Löf A, Eklund A. (1993): Controlled short-time terpene exposure induces an increase of the macrophages and the mast cells in bronchoalveolar lavage fluid. Am J Ind Med. 23: 793-799.

#### 5) デンマーク環境省

有害性情報の多くが吸入曝露であるとした上で、生殖毒性試験は少なく、いずれも本物質を約 20% 含むテルペン類を経口投与して実施されていたが、いずれも NOAEL は最高投与群であり、260~600 mg/kg/day の範囲内にあった。このため、雌ラットに妊娠 6 日から妊娠 15 日まで強制経口投与した試験から得られた NOAEL 260 mg/kg/day を基に Margin of Safety (MOS) を算出することにした。

おもちゃから揮散する本物質について、子供の体重を 10 kg、室内での遊技時間を 1 時間とし、活動時の呼吸量を 1.2 m<sup>3</sup>/hr、1 日の呼吸量を 8.3 m<sup>3</sup>/day、肺からの吸収率を 100% とし、急性、慢性の Margin of Safety (MOS) を算出。急性シナリオの吸収量：室内濃度  $\times$  1.2/10。慢性シナリオではさらに  $\times$  8.3/24。

Danish Ministry of the Environment (2005): Survey and release of chemical substances in "slimy" toys.

#### (キー研究)

Morgareidge K. (1973): Teratologic evaluation of FDA 71-28 in rats. Contract No. FDA 71-260. Unpublished Report

#### 6) 欧州の EPHECT project (Emissions, exposure patterns and health effects of consumer products in the EU)

8 人のヒトボランティアに 2 時間曝露した実験では、5 人が 450 mg/m<sup>3</sup> の曝露で眼、鼻、喉の刺激を訴え、それらの程度には有意な増加があったことから、NOAEL を 225 mg/m<sup>3</sup>、LOAEL を 450 mg/m<sup>3</sup> とし、LOAEL 450 mg/m<sup>3</sup> をアセスメント係数 10 (LOAEL で 2、個体差で 5) で除した 45 mg/m<sup>3</sup> (8 ppm) を短期間曝露の Critical Exposure Limit (CEL) とし、さらに短期間の不確実係数 10 で除した 4.5 mg/m<sup>3</sup> (0.8 ppm) を長期間曝露の CEL とした。

EPHECT (2013): WP7 - Exposure and health risk assessment. Report on the health risk associated with emissions from household use of selected consumer products.

Trantallidi M, Dimitroulopoulou C, Wolkoff P, Kephelopoulos S, Carrer P. (2015): EPHECT III: Health risk assessment of exposure to household consumer products. *Sci Total Environ.* 536: 903-913.

#### (キー研究)

Falk A, Gullstrand E, Löf A, Wigaeus-Hjelm E. (1990): Liquid/air partition coefficients of four terpenes. *Br J Ind Med.* 47: 62-64.

#### 7) 吉田 (2010) 及び三宅ら (2015)

##### ・ 吉田 (2010)

EPA (2006) は NTP の吸入曝露試験結果から、NOAEL を雄で 21 mg/kg/day、雌で 170 mg/kg/day と提案しており、TDI は通常、NOAEL を不確実係数 (10×10) で除して算出することから、体重 60 kg のヒトでは 13 mg (男性)、102 mg (女性) となり、室内空気汚染が顕著な部屋で 16 時間過ごした場合の本物質吸収量は男性の TDI と同レベルになる。

##### ・ 三宅ら (2015)

本物質を 14 週間 (6 時間/日、5 日/週) 吸入曝露した NTP の試験結果から、雄ラットで認められたアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) 活性の低下をエンドポイントとし、NOAEL を 21 mg/kg/day、ヒトの空気吸入量を 17.3 m<sup>3</sup>/day、体重を 60 kg、吸入による肺からの吸収率を 50% として個人曝露濃度から MOE を推算した。算出した MOE の評価は不確実係数積 100 (種差 10、個体差 10) で行い、さらに慢性曝露への外挿に不確実係数 10 を用いた場合も検討した。

#### ※補足事項

吉田 (2010)、三宅ら (2015) はともに出典の著者を EPA (2006) としていたが、当該文書は HPV チャレンジプログラムの中で、香料業界のコンソーシアム (FFHPVC) が既存の有害性情報と不足する情報を取りまとめて EPA に提出したものであり、EPA による作成文書ではない。従って、NOAEL の値、吸入曝露試験の結果から経口換算した値は FFHPVC の判断によるものである。また、NTP (2006) はドラフトと思われるが、現在、NTP には見当たらないため、内容の確認はできない。NTP (2016) がファイナルであり、雌雄のラットで LOEL を最低曝露群の 25 ppm (雄で腎臓の病変の発生増加、雌で組織変化を伴わない肝臓相対重量の増加)、雌雄のマウスで LOEL を中曝露群の 100 ppm (雄で精子数減少、雌雄で膀胱の移行上皮過形成) としている。なお、腎臓の病変は  $\alpha$  2u-グロブリンによる可能性が考えられ、L-リモネンの 90 日間の試験で観察された病変と一致したが、 $\alpha$  2u-グロブリンや細胞増殖の測定は未実施であることに留意が必要であり、雌雄のラットにみられた腎臓重量の増加は  $\alpha$  2u-グロブリン以外の毒性メカニズムによる可能性を示唆しているとしている。

吉田俊明 (2010): 日本の住宅内での  $\alpha$ -ピネン吸収量の推定 —吸入曝露ラットにおける体内動態の薬物動学的解析から— . *Indoor Environ.* 13: 141-154.

三宅祐一、孫琿玢、雨谷敬史 (2015): ピネン類の個人曝露/室内外濃度とその初期リスク評価. *環境科学会誌.* 28: 283-290.



(キー研究)

吉田 (2010)

Environmental Protection Agency (EPA): The flavor and fragrance high production volume consortia, The terpene consortium, revised test plan for bicyclic terpene hydrocarbons, EPA, Washington DC (2006). (<http://www.epa.gov/HPV/pubs/summaries/bictrphy/c13610rt.pdf>).

National Toxicology Program (NTP): Initial study results from a 90 day toxicity study on alpha pinene in mice and rats, Study number SRL-13 wk 03 AP/M and SRL-13 wk 03 AP/R, National Institute of Environmental Health Sciences, Research Triangle Park, NC (2006).

三宅ら (2015) の引用

US Environmental Protection Agency (US EPA) (2006) The flavor and fragrance high production volume consortia, The terpene consortium, revised test plan for bicyclic terpene hydrocarbons, <http://www.epa.gov/HPV/pubs/summaries/bictrphy/c13610rt.pdf> (accessed 2015-2-1).

National Toxicology Program (NTP) (2006) Initial study results from a 90 day toxicity study on alpha-pinene in mice and rats. Study number SRL-13 wk 03 AP/M and SRL-13 wk 03 AP/R.

## 8) Mandin (2017)

短期曝露は、EPHECT プロジェクトによる短期間 CEL の  $45 \text{ mg/m}^3$  を採用して評価。

長期間曝露は、ドイツの室内空気指針値の  $\text{RW II } 2 \text{ mg/m}^3$  を採用して評価するものの、同値は子供を考慮して不確実係数 2 で除しているため、事務所勤務の労働者を対象とした場合には不適當な係数であることから、オーダーレベルの評価として行う。

Mandin C, Trantallidi M, Cattaneo A, Canha N, Mihucz VG, Szigeti T, Mabilia R, Perreca E, Spinazzè A, Fossati S, De Kluzenaar Y, Cornelissen E, Sakellaris I, Saraga D, Hänninen O, De Oliveira Fernandes E, Ventura G, Wolkoff P, Carrer P, Bartzis J. (2017): Assessment of indoor air quality in office buildings across Europe - The OFFICAIR study. *Sci Total Environ.* 579: 169-178.

(キー研究)

短期曝露 : Trantallidi M, Dimitroulopoulou C, Wolkoff P, Kephelopoulos S, Carrer P. (2015): EPHECT III: Health risk assessment of exposure to household consumer products. *Sci Total Environ.* 536: 903-913.

長期曝露 : Umweltbundesamtes (2003): Richtwerte für die Innenraumluft: Bicyclische Terpene (Leitsubstanz  $\alpha$ -Pinen). *Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz.* 46: 346-352.

## 9) その他

指針値等のリスク評価値の設定は実施していないが、有害性の知見を取りまとめたものとして、下記のような報告がある。

- The Flavor and Fragrance High Production Volume Consortia (FFHPVC); The Terpene Consortium. (2006): Revised Robust Summaries and Test Plan for Bicyclic terpene Hydrocarbons. HPV Challenge Program: AR201-16383A and AR201-16383B and AR201-16383C.
- EPA (2010): SCREENING-LEVEL HAZARD CHARACTERIZATION. Bicyclic Terpene Hydrocarbons Category. 【上記の FFHPVC の文書を受けて EPA が作成したもの】
- EC (2000): IUCLID dataset. 1-Methoxypropanol-2ol. Year 2000 CD-ROM edition.
- Adams TB, Gavin CL, McGowen MM, Waddell WJ, Cohen SM, Feron VJ, Marnett LJ, Munro IC,

Portoghese PS, Rietjens IM, Smith RL. (2011): The FEMA GRAS assessment of aliphatic and aromatic terpene hydrocarbons used as flavor ingredients. *Food Chem Toxicol.* 49: 2471-2494.

## 7. n-ブタノール (CAS 71-36-3)

### 1) 環境省初期リスク評価

IPCS(1995)より、急性毒性については、蒸気は気道を刺激するなどし、中・長期毒性については、Rumyanstevら(1979)によるラット(系統不明)に0,0.8,6.8,41mg/m<sup>3</sup>を4か月間連続吸入させた実験において、6.8mg/m<sup>3</sup>以上の群で、ヘキサバルビタールによる睡眠時間の減少、神経筋障害、赤血球の漏出を伴った血管の拡張、肺水腫、無気肺、小腸の壊死性変化などを認めたとする報告があるが、詳細は不明である。

Korsacら(1994)による実験において、Wistar (Imp:DAK)ラット雄12匹を1群とし、0,150,300mg/m<sup>3</sup>を3か月間(6時間/日/5日/週)吸入させた結果、体重増加、主要臓器の重量、GOTやGPT等の化学成分に有意な影響はなかった。150mg/m<sup>3</sup>以上の群でヘモグロビン濃度、300mg/m<sup>3</sup>群で赤血球数の減少、白血球、好酸球の増加に有意差を認めたが、ヘモグロビンの変化に用量依存性はなかった。また、回転棒試験では2,3ヶ月後の300mg/m<sup>3</sup>群で運動協調性障害の有意な発生を認めた。この他、150mg/m<sup>3</sup>群以上の肝ミクロソームで過酸化脂質反応の有意な亢進が認められ、これはチトクロームP-450系酵素の誘導を伴う変化ではなかった。この結果から、NOAELは150mg/m<sup>3</sup>(曝露状況で補正:27mg/m<sup>3</sup>)と判断された。さらに、試験期間が短いことから10で除算した2.7mg/m<sup>3</sup>が信頼性のある最も低濃度の知見であると判断し、これを無毒性量等として設定している。

環境省環境リスク評価室(2005):1-ブタノール. 化学物質の環境リスク評価 第4巻

(キー研究)

Korsak, Z., J. Wisniewska-Knypl and R. Swiercz (1994): Toxic effects of subchronic combined exposure to n-butyl alcohol and m-xylene in rats. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health.* 7:155-166.

(その他文献)

IPCS (1995): International Chemical Safety Cards. 0111. 1-Butanol.

Rumyanstev, A.P., I.Y.A. Lobanova, L.V. Tiunova and V.V. Chernikova (1979): Toxicology of butyl alcohol. *Khim. Prom.-st. Ser. Toksikol. Sanit. Khim. Plastmass.* 2: 24-26 (in Russian). Cited in: EPA 749-F-94-007a

### 2) アメリカ産業衛生専門家会議 (ACGIH) の許容濃度

ACGIHでは、n-ブタノールは、液体または気体の状態で、人間の皮膚や眼、上気道を刺激するとしている。NOAEL、LOAELは確認されていない。

ヒトにおけるn-ブタノールの目への刺激を記述する報告書は、多くが職業またはボランティアでの研究に基づいたものであり、1940年代に発行されている。このうち最も包括的な(comprehensive)ものは、Sternerら(1949)によるものであり、溶媒としてn-ブタノールを用いる写真用の紙の酸化バリウムの塗装に従事する16-99(才)の男性の職歴および身体検査の記録を10年間にわたって追跡し、100ppmの平均的なn-ブタノール呼吸ゾーン(breathing zone)において曝露された労働者の間での、刺激の新たな訴え、または訴えがなかったことを報告し、さらに、

100ppm を上回るような短期間の曝露に対するこれらの訴えも記述している。200ppm の平均的な n-ブタノール呼吸ゾーンにおいて、視力障害、流涙、羞明、炎症(burning)、中程度の角膜浮腫、結膜の浮腫が記述されているが、これらの初期の知見は、最近の管理された(controlled)ヒトにおける、n-ブタノールの目に特化した効果の研究と一致している。Nelson(1943)らにより、n-ブタノールに曝露されていることを分からないように(blind)、また、管理の施されている部屋で、n-ブタノールに曝露された経験がない(exposure-naïve)人々において、50ppm の n-ブタノールが眼に対する刺激を引き起こしたことを観察したことが報告されたりしているが、Sterner(1949)らにより、工場の従業員は、そうでない人が初めに刺激を感じる濃度に対しても容易に順応することが報告されており、これらの n-ブタノールに関係する労働者が、繰り返し曝露を受けることで n-ブタノールに慣れることを示唆している。これらの報告により、職業被曝における TLV-TWA は 20ppm(61mg/m<sup>3</sup>)としている。1 時間、眼のみに対する曝露の場合は、NOEL を 314ppm としている。

ACGIH(2002): n-BUTANOL.

(キー研究)

Sterner JH; Crouch HC; Brockmyre HF; et al: A Ten-Year Study of Butyl Alcohol Exposure. Am Ind Hyg Assoc Q 10:53-59 (1949)

Nelson KW; Ege Jr JF; Ross M; et al: Sensory Response to Certain Industrial Solvent Vapors. J Ind Hyg Toxicol 25:282-285 (1943)

### 3) 米国環境保護庁 (USEPA) の総合リスク情報システム (IRIS)

いくつかのヒトにおける吸入での研究で、眼や鼻、喉への刺激や、軽い頭痛が報告されているが、これらは自然において、一時的なものであるとしている。

U.S.EPA(1986)による 4 グループの雌雄のラット(30/sex/group)(系統は記述されていない)に対する 13 週間の経口投与(0,30,125,500mg/kg/day)実験が行われた。投与開始から 6 週間後、中間解剖(interim sacrifice)(10 rats/sex)によって、臨床的、生化学的、全体的な形態の変化が評価され、残ったラットは 92 日、または 93 日の最終解剖(final sacrifice)まで実験を継続した。身体や器官の重量変化、餌の消費、瀕死率、死亡率、眼科学的、肉眼的(gross)、そして組織病理学的検査におけるこの研究のデータは、対照群との間での用量に関連した違いをいずれも示さなかった。いくつかの血液パラメーターにおける減少が、中間解剖群の中～多量に投与された雌で観察されたが、最終解剖群では観察されなかった。これは、有害な作用というよりも一時的なものであろうとしている。また、運動失調や活動状態の持続的な低下が投与期間の最後の 6 週間で 500mg/kg/day 投与された雌雄両方で認められた。これらの結果から、経口曝露における中枢神経系へのラットにおける NOAEL は 125mg/kg/day と判断している。また、LOAEL は 500mg/kg/day と判断している。しかし、吸入曝露における NOAEL や LOAEL は報告されていない。

US EPA(1990): IRIS Toxicological Review of n-Butanol.

(キー研究)

U.S. EPA. 1986. Butanol: Rat oral subchronic toxicity study. Office of Solid Waste, Washington, DC.

#### 4) 経済協力開発機構のスクリーニング情報データセット (SIDS)

David ら(1996)は、雌雄の Sprague-Dawley(SD)ラットを、0,500,1500,または 3000ppm の n-ブチルアセテートに、14 週間以上、少なくとも 65 回曝露(65 exposures)させた。ラットは、4200L のガラスとステンレススチールの部屋で一日 6 時間曝露を受けた。この結果、実験中に自然に死亡することはなかったが、3000ppm の曝露を受けたラットは、曝露中に通常は軽度であるが、活動レベルの低下がみられた。また、唾液過多や頤の毛の赤い変色が観察された。1500ppm の曝露を受けたラットでは、通常は最低限のレベルの活動レベルの低下がみられたが、対照群と 500ppm の曝露を受けたラットは、曝露中も正常なままであった。曝露後、全ての群のラットにおいて、鼻におけるポルフィリンの分泌がみられ、鼻の周辺でポルフィリンの染み(stain)が乾燥していた。これらの臨床的なサインは曝露前の朝の検査で時折観察された。3000ppm の曝露を受けたラットにおいて、平均体重は実験中、対照群と比較して有意に低く、全体の体重増加も、対照群に比べて、雄で 62%、雌で 78%であった。平均のエサの消費量も、対照群に比べて有意に低く、平均の週のエサの消費量は、雄のラットで対照群の 14-25%、雌のラットで対照群の 6-16%低かった。1500ppm の曝露を受けたラットでは、平均体重は、研究のある時点で有意に低く、全体的な体重は対照群に比べて、雄のラットで 90%、雌のラットで 107%であった。平均のエサの消費量は、研究中、対照群に比べて有意に低かった。平均の週のエサの消費量は、対照群に比べて雄のラットで 4-17%、雌のラットで 10-15%低かった。500ppm の曝露を受けたラットでは、研究中、平均体重は対照群と近かったが、平均のエサの消費量は、対照群と比べて研究を行った日の内の数日で有意に低かった。平均の週のエサの消費量は、対照群に比べて雄のラットで 3-12%の減少、雌のラットで、2%の増加から 7%の減少が観察された。曝露から 30 日後および 90 日後において、血液学的パラメーターにおける生物学的な有意な違いは認められなかった。また、群の間で、血清化学における生物学的に有意な違いも認められなかった。処置に関連した眼科学的な違いも認められなかった。平均の最終体重は、1500 と 3000ppm の曝露を受けた雌雄両方の群において、対照群に比べて有意に低かった。体重の変化に依存しない器官の重量変化は、3000ppm の曝露を受けた雄の群において、脾臓の重量がわずかに、限局して低く、1500ppm と 3000ppm の曝露を受けた群の雄のラットにおいて、精巣の重量が高かった。3000ppm の曝露を受けたラットの雄において、肺の重量が高く、1500ppm の曝露を受けた雌と、3000ppm の曝露を受けた雌雄のラットの群において、副腎の重量が高かった。1500ppm と 3000ppm の曝露を受けたラットの一部において、n-ブチルアセテートによる嗅上皮の壊死の兆候が限局して、接触した部位(site-of-contact effect)に認められた。関連した化合物(compound-related)によると考えられる、顕微鏡的に観察されるその他の病変は認められなかった。精巣上体または睪丸の精子数には影響がなかった。この実験から、全身作用の NOAEL を 500ppm としている。

Bernard ら(1996)や David ら(1998)は、Sprague-Dawley(SD)ラットの、FOB、MA、NP を調べるために、雌雄両方を用い、エサを好きな時に食べてよい群と、SCOB を調べるために、雄のみでエサの量が 12-14g と制限された群とを計画し、0,500,1500,3000ppm の濃度の n-ブチルアセテートを 14 週間以上、少なくとも 65 回曝露させた。動物は、一日に 6 時間、4200L のガラスとステンレススチールの部屋で曝露を受けた。この実験の結果、1500 または 3000ppm の曝露を受けたラットで最小または少量の活動レベルの減少が観察されたが、活動レベルの減少の重症度における、曝露の累積の効果を示す証拠はなかった。対照群と 500ppm の曝露を受けたラットは、曝露を受けている間、正常であるようだった。FOB、MA、NP を調べるための群と、SCOB を調べるための群において、臨床的な状態で明らかな違いは存在しなかった。体重および/または、体重の増加は、1500 と 3000ppm の曝露を受けた雌雄両方のラットで減少した。対照群と比較したとき、500ppm の曝露を受けたラットでは、体重または体重の増加率の違いは認められなかった。

FOB、運動活動、神経病理学、そして SOB の終点に基づく神経毒性の証拠は存在しなかった。この実験から、繰り返し曝露による累積の神経毒性の欠落に基づき、亜慢性の神経毒性に対する NOAEL は 3000ppm としている。

OECD(2001): n-Butyl alcohol. SISD Initial Assessment Report For SIAM 13

(キー研究)

- David, R.M., Tyler, T.R., Ouellette, R.E., Faber, W.D., and Banton, M.I. 1996. Evaluation of Subchronic Toxicity of n-Butyl Acetate Vapor. Accepted for publication, *Food Chem. Toxicol.*
- David, R.M., Tyler, T.R., Ouellette, R.E., Faber, W.D., Banton, M.I., Garman, R.H. Gill, M.W., and O'Donoghue, J.L. 1998. Evaluation of Subchronic Neurotoxicity of n-Butyl Acetate Vapor. *Neurotoxicology* 19:6, 809-822
- Bernard, L.G., and R.M. David. 1996. A thirteen-Week Subchronic Inhalation Toxicity Study in the Rat HAEL No. 94-0305, KAN 900710, CAS 000123-86-4. Final Report. Toxicological Sciences Laboratory, Health and Environmental Laboratories Eastman Kodak Company Rochester, New York.
- Bernard, L.G., R.M. David, and R.S. Hosenfeld. 1996. A thirteen-Week Subchronic Inhalation Neurotoxicity Study in the Rat. HARL NO. 94-0305 and 94-0306, KAN 900710, CAS 000123-86-4. Final Report. Toxicological Sciences Laboratory, Health and Environmental Laboratories Eastman Kodak Company Rochester, New York.

#### 5) ドイツ研究振興協会 (DFG) の最大現場濃度 (MAK)

初期の職業医学的研究(earlier occupational-medical studies)によると、n-ブチルアルコールに対する曝露の重大な毒性効果は目における刺激効果である。比較的長期にわたる(longitudinal)研究では、このような症状は平均濃度 200ml/m<sup>3</sup> に曝露された人々(16-100 (人?) の間の労働者)に起こった。n-ブチルアルコール濃度は 100ml/m<sup>3</sup> にまで減少すると、労働者は症状から解放され、目の刺激を訴えるものはほとんどいなかった。これらの結果から、100ml/m<sup>3</sup> の職場での濃度では、健康における有害事象を引き起こさないとしている。(Sterner et al. 1949)。初期の観察段階において、労働者が 200ml/m<sup>3</sup> またはそれ以上の濃度に曝露された間、軽度から中程度の浮腫、流涙、羞明を伴う角膜炎を発症する人もいた。(おそらく Sterner et al. 1949)呼吸マスクを通して、100 または 200ml/m<sup>3</sup> の濃度に 2 時間曝露された毒物動態学研究における 12 人のボランティア(何人かは軽い運動をしながら曝露されている)は、発症しうる症状を調べることが目的ではなかったが、全員、有害事象を感じなかったと述べている(Astrand et al. 1976)。そして、8 人のボランティアにおいて、片側の眼に対する n-ブチルアルコールの一時間の曝露(濃度 99,314,990ml/m<sup>3</sup>)は、300ml/m<sup>3</sup> の濃度になるまで影響がなかった(Hempel Jorgensen et al. 1998)。しかしながら、10 人のボランティアでの初期の研究は、鼻、喉、眼に対する中程度の刺激が 25ml/m<sup>3</sup> を 3-5 分間曝露した後に報告された。50ml/m<sup>3</sup> の濃度は、全てのボランティアに重度の喉の刺激を引き起こし、軽度の頭痛を引き起こした人もいた(Nelson et al. 1943)。曝露期間が短いため、これらの結果は、職場における閾値の限界値の評価において考慮に入れることはできない。

喉と鼻に対する矛盾する知見、及び目に対する顕著な刺激が MAK 値の 2 倍の濃度で実証された結果、excursion factor of 1 が条件付きでカテゴリー I によって(according to Category I)最大限界にセットされた。

このように、100ml/m<sup>3</sup> の MAK 値で、眼に対する刺激は予期されていない。同様に、n-ブチル

アルコールを経口投与されたラットでの唯一の適切な研究は、最も多量の検査投与量である 1 日当たり 500mg/kg 体重まで、1 日当たり 250mg/kg 体重から、中枢神経系の低下は別として、有害事象は観察されなかったため、全身の毒性効果はこれらの状態下で予期されていない(IRIS 1998)。MAK 値が 100ml/m<sup>3</sup> のとき、肺吸収が 60% で、体重 70kg、呼吸容量 10m<sup>3</sup>/sift と仮定すると、労働者は多くて 1 日につき体重 1kg あたり 25mg を吸収するだろう。

それゆえ、n-ブタノールに対する MAK 値は 100ml/m<sup>3</sup> と確認されている。

Deutsche Forschungsgemeinschaft(2000): MAK n-Butyl alcohol. Volume19

(キー研究)

Sterner JH, Crouch HC, Brockmyre HF, Cusack M (1949) A ten-year study of butyl alcohol exposure. *Am Ind Hyg Assoc J* 10: 53–59

Astrand I, Övrum P, Linqvist T, Hultengren M (1976) Exposure to butyl alcohol. Uptake and distribution in man. *Scand J Work Environ Health* 3: 165–175

Hempel-Jørgensen A, Kjærgaard SK, Mølhave L (1998) Cytological changes and conjunctival hyperemia in relation to sensory eye irritation. *Int Arch Occup Environ Health* 71: 225–235

Nelson KW, Ege Jr JF, Ross M, Woodman LE, Silverman L (1943) Sensory response to certain industrial solvent vapors. *J Ind Hyg Toxicol* 25: 282–285

IRIS (Integrated Risk Information System) (1998) *Results of databank search on 23.10.98 for n-butyl alcohol*, National Library of Medicine, Bethesda, MD, USA

#### 6) 欧州化学品庁 (ECHA) の登録物質データベース

労働者における吸入経路での危険性の評価において、長期間の曝露での DNEL(Derived No Effect Level)を 310mg/m<sup>3</sup> としている。DNEL に関連する情報として、overall assessment factor(AF)1 と記している。

一般集団における吸入経路での危険性の評価において、長期間の曝露での DNEL を 55mg/m<sup>3</sup> とし、AF6 としている。最も敏感な終点(endpoint)は、労働者、一般集団ともに、皮膚の刺激や腐食としている。

反復投与毒性の非特異的な実験(Exp NS)では、雄の Wistar ラットに対する 1-ブタノールの曝露による亜慢性の影響を調べられた。投与方法は、蒸気の吸入であり、曝露期間は 90 日、頻度は 6 時間/日、5 日/週である。濃度は 0.15mg/L(50ppm)または 0.31mg/L(100ppm)であり、それぞれに 12 匹ずつのラットが用いられた。コントロール群も使用した。

研究デザインの詳細は以下の通りである。曝露前と研究終了の一週間後に、尾静脈血の血液学的な評価を行った。臨床的生化学検査は、最終曝露の 24 時間後に行われた。肝臓のミクロソームの混合機能オキシダーゼレベルは、指針(indicator)としてシトクロム P450 を用いて調べられ、また、肝臓の過酸化はマロンジアルデヒドの情報によって測定された。神経学的な影響は、研究中の毎月のインターバル前とインターバル中に、ロータロッド上での動物のふるまい(performance)によって評価された。無痛覚レベルの測定は、3 ヶ月の曝露期間の終了時点での、ホットプレート逃避行動(hot plate avoidance behaviour)によって決定された。組織学的検査は行われなかった。

結果、いずれの濃度においても、実験中に死亡したラットは存在せず、毒性の臨床的サインの根拠も存在しなかった。体重に対する影響もなく、7 つの器官における絶対的、または体重に対する相対的な重さへの影響もなかった。僅かではあるが、統計上において、ヘモグロビン濃度の

有意な減少が、いずれの濃度においても認められたが、これは投与量に関連したものではないようである。また、100ppmの群において、赤血球数が減少した。血清酵素または混合機能オキシダーゼの活動における統計上の有意な変化は存在しなかった。しかしながら、脂質過酸化物の活動は、いずれの曝露濃度においても上昇した。ただし、濃度に関連したものではないようである。執筆者は、ロータロッドでの行動がいずれの濃度においても減少し、実験が進行していくにつれ増加したと報告している。減少は、濃度に関連したものであるようだった(Task Force comment: このデータはロータロッドでの行動に対して graphical な形でのみ報告されたものであり、表になったデータは存在しない。)。熱に対する反応の敏感さは、眼に見える形での変化がなかった。この結果、LOELは50ppmとしている。ただし、Reliabilityは3(not reliable)としている。

Read across Subs Key Repeated dose toxicity では、Sprague-Dawley の雌雄両方のラットを用いて、亜慢性の影響が調べられた。投与方法は吸入である。1回の投与時間は6時間であり、頻度は5日/週、つまり、13週間で65日曝露される。濃度は約2.35,7.05,14.1mg/L(500,1500,3000ppm)であり、性別および投与量当たり15匹のラットが用いられ、コントロール群も用意された。ラットは13週間の曝露の後、一晩絶食し、次の日に麻酔をかけた上で血液を集め、体重を測定し、解剖が行われた。体重の測定は、餌の消費と同様に、毎週、曝露の前にも測定されている。

結果、実験中に死亡したラットはいずれの群においても存在しなかった。3000ppm(約14.1mg/L)の濃度に曝露されたラットは、曝露期間中に活動レベルが低下したが、大抵は軽度であった。下痢の兆候や顎の毛の赤色変化も観察された。1500ppm(約7.05mg/L)の濃度に曝露されたラットは、0日目の最初5時間と、1日目及び2日目の最初1時間または2時間は正常であったが、その後、活動状態の軽度の低下が見られた。活動状態の軽度の低下は、通常、その後は毎日の曝露を通じて見られた。コントロール群と500ppm(2.350mg/L)の群のラットでは、曝露期間中正常であった。

1500ppm(約7.05mg/L)及び3000ppm(約14.1mg/L)の群におけるラットの体重は、研究のほとんどの期間、コントロール群よりも有意に低かった。3000ppmの群での全体的な体重の増加は、コントロール群の体重増加に対して、雄が62%、雌が78%であった。1500ppmの群の場合は、コントロール群に対して雄が77%、雌が70%であった。3000ppmの群での餌の消費は、雄のラットの場合は実験中、コントロール群よりも有意に低く、雌のラットの場合は、84日と91日を除く全てのintervalで低かった。平均の餌の消費量は、1500ppmの群において、研究の大部分でコントロール群よりも有意に低く、500ppmの群においては、時折、コントロール群と比較すると低かった。

臨床化学、及び血液学においては、生物学的に関連があると考えられる影響は観察されなかった。血液学的パラメーターにおける有意な変化は、研究30日目以降は見られなかった。コントロール群と比較して、研究90日目以降の3000ppmの濃度に曝露された雌雄両方のラットにおいて、平均赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値が高かった。平均好酸球百分率は、3000ppmに曝露された雄のラットにおいて、コントロール群よりも有意に高かった。研究30日目以降では、平均ナトリウム濃度が、3000ppmの濃度に曝露された雌雄両方のラットにおいてコントロール群よりも有意に低かった。しかし、その違いは僅か(約1Meq/L)であった。1500ppmの濃度に曝露された雄のラットの群において、平均塩素濃度はコントロール群と比較して有意に低かった。しかし、その違いもまた、小さいものであった(<4Meq/L)。その他の血清化学的な違いはグループ間で見られなかった。研究90日目以降では、平均アルブミン及び総タンパク質濃度が、3000ppmの濃度に曝露された雌の群において、コントロール群よりも有意に低かった。平均ソルビトールデヒドロゲナーゼ活性は、1500ppmの濃度に曝露された雄の群において、コント

コントロール群よりも有意に高かった。これらの変化は、毒性学的に意味のあるものではないと考えられ、血清化学における他の変化は、グループ間で見られなかった。

放血後に測定した最終的な体重は、1500ppm 及び 3000ppm の雌雄両方の群において、コントロール群と比較して有意に低かった。肝臓、腎臓、脾臓の絶対的な重さは、この体重の減少を反映している。1500ppm 及び 3000ppm の雌雄両方の群における肝臓と脾臓の重さは、コントロール群に対して有意に低かった。1500ppm の雌のラット及び、3000ppm の雌雄両方のラットの群における絶対的な腎臓の重さもまた、コントロール群に比べて有意に低かった。しかし、体重に対する相対的なこれらの器官の重さは、3000ppm の雄の群での、体重に対する脾臓の比がコントロール群に比べ有意に低かったことを除くと有意な違いはなかった。体重の減少も、各々のコントロール群に対して、3000ppm の雄の群における絶対的な脳の重さの有意な減少や、1500ppm の雌と 3000ppm の雄の群における体重に対する脳の重さの有意な増大に反映されている。加えて、1500ppm と 3000ppm の雄の群における体重に対する精巣の重さと、3000ppm の雄の群における体重に対する肺の相対的な重さは、コントロール群に比べて有意に高かった。1500ppm の雌と 3000ppm の雌雄の群における、体重に対する副腎の重さの比は、各々のコントロール群に比べて有意に高かった。

死体解剖の結果について。1500ppm と 3000ppm での鼻孔(nasal passages)や胃における曝露と関連する変化は観察されなかった。3000ppm における全ての雌雄のラットと、1500ppm における 4/10 の雄と 6/10 の雌のラットは、嗅上皮の壊死を起こしていた。嗅上皮の変性は、内背側道(dorsal medial meatus)に沿って観察された。上皮の変性および再生は、第3 篩骨甲介やいくつかの他の場所に沿って観察された。病変は、嗅上皮細胞の核崩壊、核濃縮および消耗(depletion)におよび特徴付けられた。嗅覚の病変の重症度は、3000ppm の群において軽度から中程度であり、1500ppm の群では最低限から軽度であった。嗅上皮は、移行上皮や呼吸上皮によって置き換わっていた場所もあった。3000ppm の雌の群では、3/10 のラットが急性炎症を呈し、胃粘膜(glandular vs forestomach)のびらんがあった。その重症度は、最低限から軽度であった。胃におけるこのタイプの病変は、テスト物質を含んだ粘膜の飲み込みに関係しているかも知れないが、病変の場所からストレスによって引き起こされたものである可能性がより高い(Glavin et al., 1991: The neurobiology of stress ulcers. Brain Research Reviews 16, 301-343)。3000ppm の雄のラットは時折、胸腺が委縮していたが、これは直接関連のある(compoundrelated)効果ではないだろうと考えられた。代わりに、この病変はストレスのためである(Greaves and Faccini, 1992: Rat Histopathology, A Glossary for Use in Toxicity and Carcinogenicity Studies. p.51. Elsevier Science, Amsterdam)。

コントロール群と比較して、精巣上体(epididymal)や精巣での精子数における統計学的に有意な影響は観察されなかったが、全ての投与群における精巣上体の精子数はコントロール群よりも少なかった。

以上の結果から、NOAEL は約 2.35mg/L としている。

Read across Sub Supporting Repeated dose toxicity では、Sprague-Dawley の雌雄両方のラットを用いて、亜慢性の影響が調べられた。1 回の曝露時間は 6 時間、頻度は 5 日/週(13 週間で 65 日)、濃度は約 2.35,7.05,14.1mg/L(500,1500,3000ppm)であり、性別および投与量あたり 10 匹のラットが用いられた。コントロール群は用いられた。

結果、実験中に自然に死亡したラットは存在しなかったが、一匹の不断給餌のコントロール群の雄を(ad-libitum-fed control male)、体調不良と過度の体重減少のために瀕死の状態で安楽死させた。

3000ppm(約 14.1mg/L)に曝露されたラットは、曝露期間中、コントロール群によって示された



活動レベルと比較して、運動の減少、注意力の低下、曝露容器の壁へのタッピングに対する反応が緩慢になった。1500ppm(7.05mg/L)に曝露されたラットは、0日目(曝露初日)の最初5時間、および1日目と2日目の最初の1時間または2時間は正常であるように見えたが、その後、通常はごく僅かの程度の反応性の低下を、残りの毎日の曝露期間に示した。コントロール群と500ppmのラットは、曝露期間中も通常のままのようだった。不断給餌および食事制限のあるラットの臨床的な状態における明白な違いは存在しなかった。曝露後すぐの神経行動学的な影響や全身毒性の徴候は存在しなかった(曝露中止後30-60分)。

3000ppmの群の平均体重は、通常、コントロール群より15-19%低く、雄のラットにおける7日目と雌のラットにおける14日目の初めのコントロール群より有意に低かった。300ppmの群における全体での体重増加は、コントロール群の体重増加に対して、雄で64%、雌で59%であった。1500ppmの群における全体での平均体重は、コントロール群の平均体重より9%低かった。しかしながら、雌の1500ppmの群における平均体重は42、49、70、77、84、91、98日でコントロール群より有意に低かった。500ppmの群における平均体重は、研究中を通してコントロール群と同等であり、統計学的に有意な違いは記されなかった。食事制限のあるラットの平均体重における違いは、グループ間で記されなかった。

病理組織診断の結果について。コントロール群と3000ppmの群におけるラットの脳や脊髄(頸部および腰部)、背側・腹側脊髄根、脊髄後根神経節、坐骨神経、脛骨神経由来の断片の顕微鏡的評価は、投与に関連した効果は示されなかった。

European Chemical Agency(2016): n-Butanol.

[http://apps.echa.europa.eu/registered/data/dossiers/DISS-9d977f80-9d42-105d-e044-00144f67d249/DISS-9d977f80-9d42-105d-e044-00144f67d249\\_DISS-9d977f80-9d42-105d-e044-00144f67d249.html](http://apps.echa.europa.eu/registered/data/dossiers/DISS-9d977f80-9d42-105d-e044-00144f67d249/DISS-9d977f80-9d42-105d-e044-00144f67d249_DISS-9d977f80-9d42-105d-e044-00144f67d249.html)

(キー研究)

Korsak Z., Wisniewska-Knypl J., Swiercz R. (1994) Toxic effects of subchronic combined exposure to n-butyl alcohol and m-xylene in rats. *Int J Occup Med Environ Health*, 7 155-166, 1994

Korsak Z., Wisniewska-Knypl J., Swiercz R. (1994) Toxic effect of subchronic combined exposure to n-butyl alcohol and m-xylene in rats. *Int J Occup Med Environ Health*, 7, 155-166, 1994; cited in ECETOC JACC, n-Butanol, 2003

David, R.M., Tyler, T. R., Ouellette, R., Faber, W.D., Banton, M. I., Garman, R.H., Gill, M.W. and O'Donoghue, J.L. (2001) Evaluation Of Subchronic Toxicity Of n-Butyl Acetate Vapor. *Fd. Chem. Toxicol.* 39: 877-886, 2001

David, R.M., Tyler, T. R., Ouellette, R., Faber, W.D., Banton, M. I., Garman, R.H., Gill, M.W. and O'Donoghue, J.L. (2001) Evaluation Of Subchronic Toxicity Of n-Butyl Acetate Vapor. *Fd. Chem. Toxicol.* 39: 877-886, 2001; cited in the OECD SIDS dossier 2008 of CAS 109-60-4, propyl acetate

David, R.M., Tyler, T. R., Ouellette, R., Faber, W.D., Banton, M. I., Garman, R.H., Gill, M.W. and O'Donoghue, J.L (1998) Evaluation Of Subchronic Neurotoxicity Of n-Butyl Acetate Vapor. *Neurotoxicology* 19: 809-822, 1998

David, R.M., Tyler, T. R., Ouellette, R., Faber, W.D., Banton, M. I., Garman, R.H., Gill, M.W. and O'Donoghue, J.L (1998) Evaluation Of Subchronic Neurotoxicity Of n-Butyl Acetate Vapor. *Neurotoxicology* 19: 809-822, 1998; cited in the OECD SIDS dossier 2008 of CAS 109-

60-4, propyl acetate

#### 7) ドイツ連邦環境庁の室内空気質ガイドライン

US-EPA(2011)は、Sitarek ら(1994)による、ラットに対する 14 週間生殖発生毒性試験の経口投与(飲み水)の結果から、ラットでの胚発生の障害からの BMDL<sub>10</sub> を 26.1mg/kg b.w. per day としている。ヒトの呼吸数を一日あたり 20m<sup>3</sup>、体重を 70kg と考えた場合、吸入濃度に変換することができ、吸入濃度割合や、種の違い、個人差を考慮して、健康災害ガイド値(Health hazard guide value)(RWII)を、2mg 1-butanol/m<sup>3</sup>、同様にして、BMDL<sub>05</sub> 値 12.4 mg/kg b.w. per day から予防的ガイド値(precautionary guide value) (RW I) を室内空気では 0.7mg 1-butanol/m<sup>3</sup> と計算した。

Umweltbundesamtes (2014): Richtwerte für die Innenraumluft: 1-Butanol in der innenraumluft. Bundesgesundheitsbl 2014 • 57:733-743 DOL 10,1007/s00103-014-1972-x

(キー研究) U.S.EPA の中の Sitarek

U.S.EPA (2011) Toxicological review of n-Butanol (external Review Draft). September 2011. EPA/635/R-11/081A. U.S. Environmental Protection Agency, Washington DC. [http://ofmpub.epa.gov/eims/eimscomm.getfile?p\\_download\\_id=504786](http://ofmpub.epa.gov/eims/eimscomm.getfile?p_download_id=504786)

Sitarek K, Berlinska B, Baranski B (1994) Assessment of the effect of n-butanol given to female rats in drinking water on fertility and prenatal development of their offspring. Int J Occup Med Environ Health 7:365–370

10. 有害性評価結果のまとめ

1) プロピレングリコールモノメチルエーテル (PGME)

Ciezlak ら (1998)と Spencer ら (2002)がキー研究であり、NOAEL 1107 mg/m<sup>3</sup> (300 ppm)を RfC の導出に採用した。

各機関の評価結果

評価機関	キー研究	種及び曝露時間	エンドポイント	影響量	許容濃度やガイドライン等
USEPA IRIS (1991)	Landry et al (1983)	ラットとウサギで 13週間吸入	鎮静反応	NOAEL 3678 mg/m <sup>3</sup> (1000 ppm)	<u>リスク評価値 (RfC)</u> NOAEL 3678 mg/m <sup>3</sup> を曝露補正で 658 mg/m <sup>3</sup> 不確実係数 (種差 3、個体差 10、短期間 10) 300 で除した 2 mg/m <sup>3</sup> を RfC
CalEPA (2000)	Ciezlak et al (1998), Spencer et al (2002)	ラットで 2年間吸入	肝細胞の変性による好酸球性病巣の増加	NOAEL 1107 mg/m <sup>3</sup> (300 ppm)	<u>慢性リスク評価値 (REL)</u> NOAEL 1107 mg/m <sup>3</sup> を曝露補正で 199.3 mg/m <sup>3</sup> 不確実係数 (種差 3、個体差 10) 30 で除した 7 mg/m <sup>3</sup> を慢性 REL
ACGIH (2001)	Stewart et al (1970)	ヒトボランティア	臭気 of 感覚消失	1000 ppm (3690 mg/m <sup>3</sup> )	<u>職業曝露限界値 TLV-TWA</u> 100 ppm (369 mg/m <sup>3</sup> )
EC (1999)	Emmen et al (1997), (2003)	ヒトボランティア 2.5時間吸入	眼の刺激	NOAEL 150 ppm	<u>職業曝露限界値 OEL</u> 8時間 TWA: 100 ppm (369 mg/m <sup>3</sup> )
ドイツ連邦環境庁 (2013)	Ciezlak et al (1998), Spencer et al (2002)	ラットで 2年間吸入	肝細胞の変性による好酸球性病巣の増加	LOAEL 3600 mg/m <sup>3</sup> (1000 ppm) ※NOAEL 1107 mg/m <sup>3</sup> (300 ppm)	<u>一般環境の IAQ 指針値</u> 曝露状況の補正係数 5.6、種差 2.5、個体差 10、高感受性 2 で合計 280 のアセスメント係数 GVII:3600/280=12.8→10 mg/m <sup>3</sup> GVI:GVII 10/10=1 mg/m <sup>3</sup>
ドイツ DFG (1993)	Stewart et al (1970)	ヒトボランティア	中枢神経系の抑制	1000 ppm (3690 mg/m <sup>3</sup> )	<u>最大現場濃度 (MAK) ※</u> <u>TLV 同等</u> 100 ppm (369 mg/m <sup>3</sup> )

2) ジエチレングリコールモノメチルエーテル

Miller ら (1985) がキー研究であり、NOAEL 1060 mg/m<sup>3</sup> (216 ppm) 以上を RfC の導出に採用した。

各機関の評価結果

評価機関	キー研究	種及び曝露時間	エンドポイント	影響量	許容濃度やガイドライン等
EU (1999)	Miller et al (1985)	ラットで 90 日間吸入曝露	総合的な所見 (体重、血液、臓器等)	NOAEL >1060 mg/m <sup>3</sup> (216 ppm)	MOS NOAEL 1060 mg/m <sup>3</sup> 曝露状況の補正係数 5、種差 3、個体差 3、LOAEL なし 0.5 で合計 23 のアセスメント係数で MOS 評価
EC (2001)	Scortichini et al (1986)	雌ウサギに妊娠期間中 12 日間皮膚塗布	胎児の骨化遅延	NOEL 50 mg/kg/day	職業曝露限界値 OEL 8 時間 TWA: 10 ppm (50 mg/m <sup>3</sup> ) 吸収率 100% で 350 mg/m <sup>3</sup> (70ppm) に相当、種差 5 として 70/5=14→10ppm
ドイツ連邦環境庁 (2013)	Miller et al (1985)	ラットで 90 日間吸入曝露	総合的な所見 (体重、血液、臓器等)	NOAEL >1080 mg/m <sup>3</sup> (216 ppm)	一般環境の IAQ 指針値 (暫定) 曝露状況の補正係数 5.6、曝露期間の補正係数 2、種差 2.5、個体差 10、高感受性 2 で合計 560 のアセスメント係数 GVII: 2×3=6 mg/m <sup>3</sup> (LOAEL への係数 3) GVI: 1080/560=2 mg/m <sup>3</sup>
オランダ RIVM (2008)	Miller et al (1985)	ラットで 90 日間吸入曝露	総合的な所見 (体重、血液、臓器等)	NOAEL >1060 mg/m <sup>3</sup> (216 ppm)	一般環境の最大許容濃度 (MPC <sub>air</sub> ) NOAEL 1060 mg/m <sup>3</sup> を曝露状況で補正すると 1,060 mg/m <sup>3</sup> × 6 h/24 h × 5 d/7 d = 189 mg/m <sup>3</sup> であるが、低いヘンリー係数と短い大気中での滞留時間を考慮すると MPC <sub>air</sub> を算出する意義はないと判断

3) ジエチレングリコールモノエチルエーテル

Hardy ら (1997) がキー研究であり、原著及びドイツ DFG の評価を採用して NOAEL 90 mg/m<sup>3</sup> を RfC の導出に採用した。

各機関の評価結果

評価機関	キー研究	種及び曝露時間	エンドポイント	影響量	許容濃度やガイドライン等
ドイツ連邦環境庁 (2013)	Hardy et al (1997)	ラットで 28 日間吸入曝露	全身影響 (90 mg/m <sup>3</sup> の気道の刺激は弱い影響と判断)  上気道の刺激	NOAEL 1103 mg/m <sup>3</sup> (197 ppm)  *原著の評価 LOAEL 270 mg/m <sup>3</sup> NOAEL 90 mg/m <sup>3</sup>	一般環境の IAQ 指針値 (暫定) 曝露状況の補正係数 5.6、曝露期間の補正係数 6、種差 2.5、個体差 10、高感受性 2 で合計 1680 のアセスメント係数 GVII: 0.7 × 3 = 2 mg/m <sup>3</sup> (LOAEL への係数 3) GVI: 1103/1680 = 0.7 mg/m <sup>3</sup>
ドイツ DFG (2014)	BG Chemie (1993) Hardy et al (1997)	ラットで 28 日間吸入曝露	上気道の刺激	NOAEL 90 mg/m <sup>3</sup>	最大現場濃度 (MAK) ※ TLV 同等 50 mg/m <sup>3</sup>

4) プロピレングリコールモノメチルエーテルアセテート

Miller ら (1984) がキー研究であり、マウスでの LOAEL 1650 mg/m<sup>3</sup> を RfC の導出に採用した。

各機関の評価結果

評価機関	キー研究	種及び曝露時間	エンドポイント	影響量	許容濃度やガイドライン等
EC (1995)	Miller et al (1984)	マウスに 2 週間吸入曝露	嗅上皮の変性	LOAEL 1650 mg/m <sup>3</sup> (300 ppm)	職業曝露限界値 OEL 8 時間 TWA: 50 ppm (275 mg/m <sup>3</sup> ) 不確実係数 5
DFG (1990)	記載なし				最大現場濃度 (MAK) ※ TLV 同等の暫定値 50 ppm
EU (2008) draft	Miller et al (1984)	マウスに 2 週間吸入曝露	嗅上皮の変性	LOAEL 1620 mg/m <sup>3</sup> (300 ppm)	MOS LOAEL 1620 mg/m <sup>3</sup> 種差 10、個体差 2.5、 LOAEL 使用 3 で合計 75 のアセスメント係数で MOS 評価

5) d-リモネン

ヒトでのデータを優先し、Falk-Filipsson ら (1993)をキー研究として、NOAEL 450 mg/m<sup>3</sup>をRfCの導出に採用した。なお、RfCの導出では、NTP (1990)のマウスの経口曝露のデータによる評価もあわせて実施した。

各機関の評価結果

評価機関	キー研究	種及び曝露時間	エンドポイント	影響量	許容濃度やガイドライン等
IPCS (1998)	Webb et al (1989)	ラットで13週間経口投与(5日/週)	肝重量の増加	NOEL 10 mg/kg/d NOAEL 30 mg/kg/d	ガイドライン値 (経口) NOEL 10 mg/kg/day に対して種差 10、個体差 10 より 0.1 mg/kg/day
USEPA (1993)	NTP (1990)	ラットで103週間経口投与	総合的な所見 (体重、臓器等)	NOAEL >150 mg/kg/d	慢性影響リスク評価 種差 10、個体差 10
EC (2005) INDEX Project	Falk-Filipsson et al (1993)	ヒトボランティアで2時間吸入曝露	肺活量低下	LOAEL 450 mg/m <sup>3</sup> NOAEL 225 mg/m <sup>3</sup>	長期間曝露限界値 EL LOAEL 450 mg/m <sup>3</sup> に対して不確実係数 1000 (慢性曝露への係数 10、LOAEL で 10、個体差 10) より 0.45 mg/m <sup>3</sup> を EL
ドイツ連邦環境庁 (2010)	NTP (1990)	マウスで103週間経口投与(5日/週)	肝臓への影響 (肝細胞の多核化と巨細胞化)	LOAEL 500 mg/kg/d NOAEL 250 mg/kg/d	一般環境の IAQ 指針値 (暫定) 曝露状況の補正で 357 mg/kg/d 種差 10、個体差 10、高感受性 2 で合計 200 のアセスメント係数、呼吸量 20 m <sup>3</sup> /day、体重 70 kg、吸収率 63% から GVII:10 mg/m <sup>3</sup> GVI:10/10=1 mg/m <sup>3</sup>
DFG (2012)	Webb et al (1989)	ラットで13週間経口投与(5日/週)	肝重量の増加	NOAEL 30 mg/kg/day	最大現場濃度 (MAK) ※ TLV 同等の暫定値 5 ppm (28 mg/m <sup>3</sup> )
DME (2005)	Webb et al (1989)	ラットで13週間経口投与(5日/週)	肝重量の増加	NOEL 10 mg/kg/day	MOS IPCS (1998)の TDI 0.1mg/kg/day を採用して MOS 算出

EPHECT (2013)	Falk-Filipsson et al (1993)	ヒトボラ ンティア で 2 時間 吸入曝露	肺活量低下 (450 mg/m <sup>3</sup> 曝 露の肺活量の有 意な低下 2.38% に機能的な意義 はないと判断	NOAEL 450 mg/m <sup>3</sup>	長時間曝露の CEL 個体差 5、曝露期間の係数 10 より 9 mg/m <sup>3</sup> を CEL
Mandin (2017)	Petry et al (2014)	ラットで 2 週間吸 入曝露	未公表研究のため 詳細不明	NOAEL 543 mg/m <sup>3</sup>	リスク評価 アセスメント係数 150 (種差 2.5、個体差 10、 短期間 6) で除した 3.6 mg/m <sup>3</sup> で評価

#### 6) α-ピネン

ヒトでのデータを優先し、Falk ら (1990) をキー研究として、NOAEL 150 mg/m<sup>3</sup> を RfC の導出に採用した。

#### 各機関の評価結果

評価機関	キー研究	種及び曝 露時間	エンドポイント	影響量	許容濃度やガイドライン等
ACGIH (2001)	Falk et al (1990,1991) Filipsson (1996) Johard et al (1993) Dahlqvist et al (1996) Eriksson et al (1996)	ヒトボラ ンティア で 2 時間 吸入曝露	眼の刺激	80 ppm	職業曝露限界値 TLV-TWA 20 ppm (112 mg/m <sup>3</sup> )
EC (2005) INDEX Project	Falk et al (1990)	ヒトボラ ンティア で 2 時間 吸入曝露	眼、鼻、喉の 刺激	LOAEL 450 mg/m <sup>3</sup> NOAEL 225 mg/m <sup>3</sup>	長期間曝露限界値 EL LOAEL 450 mg/m <sup>3</sup> に対し て不確実係数 1000 (慢性曝 露への係数 10、LOAEL で 10、個体差 10) より 0.45 mg/m <sup>3</sup> を EL
ドイツ連 邦環境庁 (2003)	Johard et al (1993)	ヒトボラ ンティア で 2 週間 に 4 回 (3 時間/回) 吸入曝露	肺胞の炎症	LOAEL 450 mg/m <sup>3</sup>	一般環境の IAQ 指針値 (暫 定) 曝露期間の補正で 12 を除 して 38 mg/m <sup>3</sup> 、個体差 10、高感受性 2 で合計 20 のアセスメント係数 GVII:38/20=1.9→2 mg/m <sup>3</sup> GVI:2/10=0.2 mg/m <sup>3</sup>

DME (2005)	Morgareidge (1973)	ラットで 妊娠 6～ 15 日に経 口投与	詳細不明	NOAEL 260 mg/kg/d	<u>MOS</u> NOAEL 260 mg/kg/day を 採用して MOS 算出
EPHECT (2013)	Falk et al (1990)	ヒトボラ ンティア で 2 時間 吸入曝露	眼、鼻、喉の 刺激	LOAEL 450 mg/m <sup>3</sup> NOAEL 225 mg/m <sup>3</sup>	長時間曝露の <u>CEL</u> LOAEL 450 mg/m <sup>3</sup> に対し てアセスメント係数 100 (LOAEL 2、個体差 5、曝 露期間の係数 10) より 4.5 mg/m <sup>3</sup> を CEL

#### 7) n-ブタノール

Korsak ら (1994) をキー研究として、NOAEL 150 mg/m<sup>3</sup> を RfC の導出に採用した。なお、RfC の導出では、Sitraek (1994) のラットの経口曝露による生殖発生毒性試験のデータを用いた評価もあわせて実施した。

#### 各機関の評価結果

評価機関	キー研究	種及び曝 露時間	エンドポイント	影響量	許容濃度やガイドライン等
環境省 (2005)	Korsak et al (1994)	ラットで 3 ヶ月間 吸入曝露 (6 時間/ 日、5 日/ 週)	運動協調性障害	NOAEL 150 mg/m <sup>3</sup>	初期リスク評価 NOAEL 150mg/m <sup>3</sup> を曝露 状況で補正して 27mg/m <sup>3</sup> 、 曝露期間の不確実係数 10 から無毒性量等 2.7mg/m <sup>3</sup>
ACGIH (2002)	Sterner et al (1949)	ヒト労働 者 10 年間	眼や上気道の刺 激	100 ppm では 刺激影響は観 察されず、200 ppm で眼や上 気道の刺激	職業曝露限界値 <u>TLV-TWA</u> 20 ppm (61 mg/m <sup>3</sup> )
USEPA (1990)	USEPA (1986)	ラットで 6 週間経 口投与	運動失調や活動 状態の持続的な 低下	NOAEL 125mg/kg/d	<u>RfD</u> 不確実係数 1000 (種差 10、個体差 10、曝露期間 10)
DFG (2000)	Sterner et al (1949)	ヒト労働 者 10 年間	眼や上気道の刺 激	100 ppm では 刺激影響は観 察されず、200 ppm で眼や上 気道の刺激	最大現場濃度 ( <u>MAK</u> ) ※ <u>TLV 同等の暫定値</u> 100 ppm (300 mg/m <sup>3</sup> )



ドイツ連邦環境庁(2014)	Sitraek et al (1994)	ラットで14週間経口投与の生殖発生毒性試験	胎仔の脳の形態異常	BMDL <sub>10</sub> 26.1 mg/kg/d  BMDL <sub>5</sub> 12.4 mg/kg/d  *原著の評価 LOAEL 300 mg/kg/d	一般環境の IAQ 指針値 (暫定) BMDL <sub>10</sub> 26.1 mg/kg/d より ヒト呼吸量 20m <sup>3</sup> /day、体重 70kg で吸入換算、肺吸収率 0.6、種差 10、個体差 10 のアセスメント係数 GVII:2 mg/m <sup>3</sup> BMDL <sub>5</sub> 12.4 mg/kg/d より同様に GVI:0.7 mg/m <sup>3</sup>
----------------	----------------------	-----------------------	-----------	---	--

## 1 1. RfC の導出

個々の物質の有害性評価結果に基づいて、健康リスク評価値（Reference Concentration: RfC）を導出した。有害性評価の方法は、拙著の方法を用いた（Azuma et al., 2007; Azuma et al., 2016）。影響量に対して、反復曝露から連続曝露への補正、不確実係数の適用を行って RfC を導出した。不確実係数としては、初期リスク評価であるため、近年欧州化学品庁（ECHA）が公表している不確実係数を用いた（ECHA, 2012）。なお、ヒトボランティアによる短時間の曝露データを用いた場合は、試験期間の調整係数を 10 とした。また、LOAEL を用いた場合は 10 とし、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。詳細リスク評価を行う際には、LOAEL に対する不確実係数、種差、個体差に対する不確実係数について、感受性、作用機序、体内動態などに基づいて見直す必要がある。

表 1 1 - 1 室内環境汚染物質の RfC 一覧

	指標	曝露経路	影響量*	種	エンドポイント	不確実係数(UF)**				RfC ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	キー研究
						1	2	3	4		
PGME	NOAEL	吸入	1107	ラット	肝細胞の変性による好酸球性病巣の増加	1	1	10	10	<b>1977</b>	Ciezlak et al (1998), Spencer et al (2002)
DEGM E	NOAEL	吸入	1060	ラット	体重、臓器重量、組織検査、血液パラメータなどで影響が観察されなかった	1	2	10	10	<b>946</b>	Miller et al (1985)
DEGE E	NOAEL	吸入	1100	ラット	全身影響	1	6	10	10	327	Hardy et al (1997)
	NOAEL	吸入	90	ラット	上気道の刺激	1	6	2.5	10	<b>107</b>	Hardy et al (1997)
PGME A	LOAEL	吸入	1650	マウス	嗅上皮の変性	10	6	2.5	10	<b>196</b>	Miller et al (1984)
d-リモ ネン	NOAEL	吸入	450	ヒト	肺活量低下	1	10	1	10	<b>4500</b>	Falk-Filipsson et al (1993)
	NOAEL	経口	250	マウス	肝臓への影響（肝細胞の多核化と巨細胞化）	1	1	10	10	5952	NTP (1990)
$\alpha$ -ピ ネン	NOAEL	吸入	150	ヒト	眼、鼻、喉の刺激	1	10	1	10	<b>2250</b>	Falk et al (1990)
n-ブタ ノール	NOAEL	吸入	300	ラット	運動協調性障害	1	2	10	10	<b>134</b>	Korsak et al (1994)
	LOAEL	経口		ラット	胎仔の脳の形態異常（生殖発生毒性試験）	10	1	10	10	1000	Sitraek et al (1994)

\* 吸入 ( $\text{mg}/\text{m}^3$ ). 経口 ( $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ ).

\*\* UF1: LOAEL to NOAEL extrapolation. UF2: Extrapolation across durations. UF3: Interspecies extrapolation UF4: Intraspecies extrapolation.

表 1 1 – 2 欧州化学品庁によるアセスメント係数のデフォルト値 (ECHA 2012)

Assessment factor – accounting for differences in:		Default value systemic effects	Default value local effects
Interspecies	- correction for differences in metabolic rate per body weight	AS <sup>a, b</sup>	–
	- remaining differences	2.5	1 <sup>f</sup> 2.5 <sup>g</sup>
Intraspecies	- worker	5	5
	- general population	10 <sup>c</sup>	10 <sup>c</sup>
Exposure duration	- subacute to sub-chronic	3	3 <sup>h</sup>
	- sub-chronic to chronic	2	2 <sup>h</sup>
	- subacute to chronic	6	6 <sup>h</sup>
Dose-response	- issues related to reliability of the dose-response, incl. LOAEL/NAEL extrapolation and severity of effect	1 <sup>d</sup>	1 <sup>d</sup>
Quality of whole database	- issues related to completeness and consistency of the available data	1 <sup>d</sup>	1 <sup>d</sup>
	- issues related to reliability of the alternative data	1 <sup>e</sup>	1 <sup>e</sup>

a: ラットでは 4。 f,g: 局所影響 (local effect) では AS による補正は不要であり、皮膚、眼、消化管に対する単純な粘膜障害作用については種間差を認めず UF を 1 とする。但し曝露を受ける局所における代謝の結果として皮膚、眼、消化管への影響が現れる場合および呼吸器 (respiratory tract) に対する影響が現れる場合には 2.5 の UF を採用。 d: NOAEL が得られず LOAEL を用いる場合は、実験における曝露量の設定の公比 (dose spacing) (最近の試験では通常 2~4 倍) の大きさ、量反応関係の形や傾き、LOAEL で観察された毒性影響の程度などを勘案して UF を決定するが、ECHA は 3 (通常) ~10 (例外的) の UF を示唆。

(参考文献)

Azuma K, Uchiyama I, Ikeda K. 2007. The risk screening for indoor air pollution chemicals in Japan. *Risk Anal*, 27(6), 1623–1638.

Azuma K, Uchiyama I, Uchiyama S, et al., 2016. Assessment of inhalation exposure to indoor air pollutants: Screening for health risks of multiple pollutants in Japanese dwellings. *Environ Res*, 145, 39–49.

ECHA. 2012. Guidance on information requirements and chemical safety assessment. Chapter R8: Characterisation of dose[concentration]-response for human health, Version: 2.1, 2012. Available at: <https://echa.europa.eu/guidance-documents/guidance-on-information-requirements-and-chemical-safety-assessment>. Access at 10 February 2017.

## 1 2. 初期リスク評価結果

導出した RfC をもとに、国立衛研で実施してきた個々の物質の室内濃度に対して MOE (Margin of Exposure) を算出した (表 1 2 – 1)。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。MOE が 1 未満 (優先度 A) であれば、詳細な調査が必要であ

ると判断される。MOE が 1 以上 10 未満（優先度 B）であれば、さらなる情報収集が必要と判断される。MOE が 10 以上（優先度 C）であれば、情報収集の必要がないと判断される（Azuma et al., 2016）。今後の詳細調査の優先度を表 1 2 - 2 にまとめた。

表 1 2 - 1 初期リスク評価結果の一覧

物質	測定時期	調査世帯	建築	最大室内濃度 ( $\mu\text{g Toluene}/\text{m}^3$ )	RfC ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	MOE	濃度データの 出典
PGME	2012 全国夏	111	既築	29	1977	68.2	NIHS (2013)
	2012 全国冬	111	既築	135	1977	14.6	NIHS (2013)
	2012 全国新築冬	45	新築	100	1977	19.8	NIHS (2013)
DEGME	2012 全国新築冬	45	新築	337	946	2.8	NIHS (2013)
DEGEE	2012 全国新築冬	45	新築	192	107	0.6	NIHS (2013)
PGMEA	2012 全国新築冬	45	新築	253	196	0.8	NIHS (2013)
d-リモネン	2012 全国夏	111	既築	80	4500	56.3	NIHS (2013)
	2012 全国冬	111	既築	412	4500	10.9	NIHS (2013)
	2012 全国新築冬	45	新築	358	4500	12.6	NIHS (2013)
$\alpha$ -ピネン	2012 全国夏	111	既築	611	2250	3.7	NIHS (2013)
	2012 全国冬	111	既築	560	2250	4.0	NIHS (2013)
	2012 全国新築冬	45	新築	2648	2250	0.8	NIHS (2013)
n-ブタノール	2012 全国新築冬	45	新築	227	134	0.6	NIHS (2013)

(室内最大濃度データの出典)

NIHS. 2013. Report at the 17th meeting, Committee on sickhouse syndrome: indoor air pollution, Ministry of Health, Labour and Welfare. National Institute of Health Sciences, Tokyo, Aug. 1, 2013.

表 1 2 - 2 今後の詳細リスク評価の優先度のまとめ

	優先度	室内環境汚染物質
既築住宅	A (詳細評価)	
	B (情報収集)	$\alpha$ -ピネン (夏期、冬期)
	C (静観)	プロピレングリコールモノメチルエーテル (夏期、冬期) d-リモネン (夏期、冬期)
新築住宅	A (詳細評価)	ジエチレングリコールモノエチルエーテル (冬期) プロピレングリコールモノメチルエーテルアセテート (冬期) $\alpha$ -ピネン (冬期) n-ブタノール (冬期)
	B (情報収集)	ジエチレングリコールモノメチルエーテル (冬期)
	C (静観)	プロピレングリコールモノメチルエーテル (冬期) d-リモネン (冬期)

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

### 定量的 VOC 放散データベースの構築

研究分担者 酒井 信夫 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 室長  
研究協力者 田原 麻衣子 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 研究助手  
研究協力者 香川 (田中) 聡子 横浜薬科大学 薬学部 教授

#### 研究要旨:

室内濃度指針値の見直し、もしくは追加対象となる揮発性有機化合物のリスク評価に資する情報を収集するための「定量的 VOC 放散データベース」を構築する目的で、家庭用品の放散試験を実施し、放散化学物質の同定およびそれら VOC の気中濃度、放散速度等の分析データを集積した。

室内環境中において容積負荷率の高い壁紙・床用敷物等 40 製品を対象とし、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分析した結果、室内濃度指針値が設定されている Toluene, *n*-Tetradecane に加え、*n*-Decane をはじめとするさまざまな脂肪族炭化水素類、エステル類、アルコール類等の有機溶剤が検出された。また、シックハウス症候群との因果関係が指摘されている 2-Ethyl-1-hexanol については、放散試験に供した全 40 製品から検出され、試験検体の単位面積 (unit; m<sup>2</sup>) 当たりの放散速度を算出した結果、クッションフロアやフロアタイルが高い値を示すことが明らかになった。

#### A. 研究目的

室内濃度指針値の見直し、もしくは追加対象となる揮発性有機化合物 (VOC; Volatile Organic Compounds) のリスク評価に資する情報を収集するための「定量的 VOC 放散データベース」を構築する目的で、家庭用品等の放散試験を実施し、放散化学物質の同定およびそれら VOC の気中濃度、放散速度等の分析データを集積した。

平成 28 年度は、室内環境中において容積負荷率の高い壁紙・床用敷物等の内装材 40 製品を対象とし、シックハウス症候群との因果関係が指摘されている 2-Ethyl-1-hexanol について検討を行った。

#### B. 研究方法

##### 試験検体

放散試験に供した家庭用品を表 1 に示す。壁紙および床用敷物等の内装材はメーカーや素材の異なる製品をインターネット市場より入手した。壁紙は 13 製品、床用敷物はクッションフロア 13 製品、フロアタイル 9 製品、カーペット 5 製品の合計 40 検体を選定した。

##### 放散試験

放散試験には 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) を使用した。検体は円切りカッター (NT カッター ec-1500P, エヌティー社) で直径約 65 mm の円形に裁断した。これら裁断した検体をステンレスチャンバー内にセットし、室温を想定した 28°C 恒温条件下で、高純度ヘリウムを約 50 mL/min の流速で通気して放散試験を実施した (図 1)。放散された空気試料のサンプリングには、300°C でコンデショニングした Tenax TA ステンレス捕集管 (Markes 社/CAMSCO 社) を用いた。サンプリング時間は原則として 30 min とし、高濃度の VOC により定量に支障をきたした場合には 5 min とした。VOC は加熱脱離-ガスクロマトグラフ/質量分析計 (TD-GC/MS) を用いて分析を行った。標準物質には SUPELCO 社製 H48 Component Indoor Air Standard および和光純薬工業社製 2-Ethyl-1-hexanol (和光特級) を、内部標準には和光純薬工業社製 Toluene- $d_8$  使用した。標準溶液の調製には和光純薬工業社製 Methanol 5000 (残留農薬・PCB 試験用) を用いた。

#### 分析方法

TD-GC/MS による VOC の分析には TD-20 及び GCMS-QP2010 Ultra (島津製作所製) を使用した。主要な測定条件を以下に記した。

2-Ethyl-1-hexanol に関しては SCAN および SIM モードを高速にスイッチする FASST (Fast Automated Scan/SIM Mode) モードで測定し、Toluene- $d_8$  を用いた内部標準法によって定量した。検量線の範囲は 0.5-100 ng とし、範囲を超過した場合は外挿値として算出した。GC/MS 分析で得られた標準物質のクロマトグラムを図 2 に示す。また、Scan 測定により検出したピークについて GC/MS (GCMSsolution) 内ライブラリーのシミラリティ検索 (NIST11.lib および FFNSC 1.2.lib) を用いて化合物を同定した。

#### [加熱脱離]

Desorption: 280°C, 8 min, 50 mL He/min  
Cold Trap: -20°C  
Trap Desorption: 280°C, 5 min  
Line and Valve Temperature: 250°C

#### [GC]

Column: Rtx-1 (0.32 mm i.d. x 60 m, 1  $\mu$ m)  
Carrier Gas: He, 40 cm/sec  
Split Ratio: 1 : 20  
Oven Temperature:  
40°C-(5°C/min)-280°C (4 min)

#### [MS]

Interface Temperature: 250°C  
Ion Source Temperature: 200°C  
Scan Range: 35-450  $m/z$   
Scan Rate: 10 Hz

#### 放散速度の算出・計算方法

TD-GCMS の定量結果より、床材および壁紙 1  $m^2$  あたりの放散速度 ( $\mu$ g/unit/h) を算出した。

GC/MS 分析で得られた結果から、次式により試料空気中の各測定対象物質の気中濃度を計算した。

$$C = \frac{(As - At) \times 1000}{V \times 293 / (273 + t) \times P / 101.3}$$

C: 試料空気中の各測定対象物質の濃度 [ $\mu$ g/ $m^3$ ]

As: GC/MS に注入した試料中の各測定対象物質の重量 [ng]

At: ブランク試料中の測定対象物質の重量 [ng]

V: 試料空気捕集量 [L]

t: 試料採取時の平均の気温 [°C]

P: 試料採取時の平均大気圧 [kPa]

次式により試験検体からの単位面積(unit; m<sup>2</sup>)当たりの各測定対象物質の放散速度を計算した。

$$EFa = \frac{(C - Cb) \times Q}{A} = (C - Cb) \times \frac{n}{L}$$

*EFa*: 単位面積あたりの放散速度 [μg/m<sup>2</sup>/h]

*C*: マイクロチャンバー内の各測定対象物質の気中濃度 [μg/m<sup>3</sup>]

*Cb*: バックグラウンド濃度 [μg/m<sup>3</sup>]

*Q*: マイクロチャンバーの換気量 [m<sup>3</sup>/h]

*A*: 試験検体の表面積 [m<sup>2</sup>]

*n*: 換気回数 [回/h]

*L*: 試料負荷率 [m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup>]

### C. 研究結果および考察

壁紙および床用敷物等の内装材 40 製品を対象とした放散試験を実施し、TD-GC/MS を用いて放散化学物質を分析した。

各検体から放散された総揮発性有機化合物 (TVOC) の構成成分について、シミラリティ検索による定性分析を行った。ピークエリアの大きい順に検索を行い、上位 5 位のピークまでを同定した (フラグメントイオンの生成パターンから Unknown とされたピークについては除外した)。その結果、表 2 に示すように、多種多様な VOC 合計 48 化合物が同定された。壁紙検体については 2,4,6-Trimethyloctane, *n*-Octane 等の飽和炭化水素に加え、Toluene が主成分として検出された。床用敷物検体については、クッションフロアから柔軟剤として使用される Formamide が、フロアタイルから 2-Ethyl-1-hexanol が、また、カーペットから 2,2,4,6,6-Pentamethylheptane, 2,2,4,4-Tetramethyloctane 等が主成分として検出された。表 3 に示すように、これら VOC を検出頻度順に並べると、最も検出頻度の高かった VOC は室内濃度指針値が設定さ

れている Toluene (22/40 = 55.0%)、次いで 2-Ethyl-1-hexanol (15/40 = 37.5%)、*n*-Decane (13/40 = 32.5%)、*n*-Undecane (12/40 = 30.0%)、*n*-Dodecane (12/40 = 30.0%) となった。

シックハウス症候群との因果関係が指摘されている 2-Ethyl-1-hexanol については、検出上位 5 位のピークに限定しなければ、40 製品すべてにおいて検出された。この結果より、GC/MS 分析で得られた試験検体の定量データをもとに、試料空気中の 2-Ethyl-1-hexanol 濃度 [μg/m<sup>3</sup>] を計算し、気中濃度から試験検体の単位面積 (unit; m<sup>2</sup>) 当たりの放散速度 [μg/m<sup>2</sup>/h] を算出した。結果を表 4 に示す。

2-Ethyl-1-hexanol は、クッションフロアやフロアタイルからの放散量が高く、気中濃度が高い値を示したクッションフロア (No. 23 および 24)、フロアタイル (No. 33) については主な素材が示されていないが、製品の形状からポリ塩化ビニルバック材に含まれる可塑剤に由来するものと推察された。また、2-Ethyl-1-hexanol の放散速度の最大値はフロアタイル (No. 33) の 930 μg/m<sup>2</sup>/h であり、室内容積 20 m<sup>3</sup>、床面積 8 m<sup>2</sup>、室内換気回数を 0.5 回と想定したモデル室内における気中濃度増分予測値は最高で 1,200 μg/m<sup>3</sup> に達すると推定された。

厚生労働省が示す室内濃度指針値では、TVOC の暫定目標値が 400 μg/m<sup>3</sup> と設定されている。上述の気中濃度増分予測値の推定では、当該家庭用品の使用において 2-Ethyl-1-hexanol 単独で TVOC 暫定目標値を超過する可能性が示唆された。また、ドイツ連邦環境庁の「建材の健康影響評価委員会-AgBB」では、2-Ethyl-1-hexanol の室内空気最小濃度 (NIK; Niedrigste Interessierende Konzentration, LCI values; Lowest Concentration of Interest と同義) は 300 μg/m<sup>3</sup> と規定されている。当該家庭用品の使用においては、この NIK の 4 倍の室内空気汚染を引き起こす可能性が示された。

## D. まとめ

室内濃度指針値の見直し、もしくは追加対象となる揮発性有機化合物のリスク評価に資する情報を収集するための「定量的 VOC 放散データベース」を構築する目的で、家庭用品等の放散試験を実施し、放散化学物質の同定およびその放散速度等の分析データを集積した。

室内環境中において容積負荷率の高い壁紙および床用敷物等の内装材 40 製品を入手して放散試験を実施し VOC の同定を試みたところ、2-Ethyl-1-hexanol がすべての製品より検出された。更に 2-Ethyl-1-hexanol の放散速度を算出した結果、クッションフロアやフロアタイルからの放散量が高いことが明らかになった。

次年度は、これまでの家庭用品等より放散される VOC の調査研究において集積された分析データをもとに、Web ブラウザで検索できる「定量的 VOC 放散データベース」の構築を試みる。具体的には、室内空気環境汚染化学物質調査等において分析対象とされる VOC 約 50 化合物について個別定量値及び TVOC 定量値、放散速度等をデータベースにアップロードする。試験に供した検体は、家庭用品、放散試験システム、ハザード情報等の項目毎にカテゴリ化する事で、簡易なキーワード検索を可能にする。取得データについては、登録されたモデル容積等のマクロ条件を呼び出すことで、放散速度から気中濃度増分予測値を自動的に算出するようにプログラムし、外部データベースにリンクすることで、放散化学物質の包括的なリスク評価に資する情報を入手できるように設計する。

本データベースの構築により、科学的エビデンスに基づく家庭用品等の選択・居住環境改善等、能動的なシックハウス対策が可能になり、室内環境衛生に係る厚生労働行政の推進、安心、安全な国民生活の維持に貢献出来るものと考えられる。

(参考文献)

\* 建材の健康影響評価委員会 (the Committee for Health-related Evaluation of Building Products; Ausschuss zur gesundheitlichen Bewertung von Bauprodukten)

[https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/355/dokumente/agbb\\_evaluation\\_scheme\\_2015.pdf](https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/355/dokumente/agbb_evaluation_scheme_2015.pdf)

## E. 健康危険情報

なし

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

1. 酒井信夫, 田原麻衣子, 遠山友紀, 五十嵐良明 “シックハウス (室内空気汚染) 問題に係る規制状況調査 —低分子環状シロキサナー” 第 2 回 次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム, 2016 年 9 月
2. 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, 高橋美保, 竹熊美貴子, 菌部真理奈, 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, 南真紀, 中嶋智子, 吉田俊明, 八木正博, 新井清, 荒尾真砂, 中島亜矢子, 濱野晃, 城間朝彰 “平成 27 年度 室内空気環境汚染に関する全国実態調査” 第 53 回全国衛生化学技術協議会年会, 2016 年 11 月
3. 酒井信夫, 田原麻衣子, 遠山友紀, 五十嵐良明 “国際機関、諸外国における低分子環状シロキサンの規制状況調査” 第 53 回全国衛生化学技術協議会年会, 2016 年 11 月



4. 酒井信夫 “シックハウス（室内空気汚染）問題に関する検討会の最新動向” 第 53 回全国衛生化学技術協議会年会, 2016 年 11 月
  5. 田原麻衣子, 遠山友紀, 酒井信夫, 五十嵐良明 “壁紙等の内装材から放散される揮発性有機化合物に関する研究” 第 53 回全国衛生化学技術協議会年会, 2016 年 11 月
  6. 田原麻衣子, 酒井信夫, 香川(田中)聡子, 神野透人, 五十嵐良明 “ウレタン製品から放散されるイソシアネート類の分析” 平成 28 年室内環境学会学術大会, 2016 年 12 月
  7. 斎藤育江, 大貫文, 角田徳子, 香川(田中)聡子, 千葉真弘, 上村仁, 神野透人, 酒井信夫, 鈴木俊也, 保坂三継 “石英繊維フィルターの粒子捕集効率とフタル酸エステル類の粒径分布” 平成 28 年室内環境学会学術大会, 2016 年 12 月
  8. 鳥羽陽, 中島大介, 遠藤治, 香川(田中)聡子, 神野透人, 斎藤育江, 杉田和俊, 酒井信夫, 星純也 “衛生試験法・注解 空気試験法 多環芳香族炭化水素（新規）” 日本薬学会第 137 年会, 2017 年 3 月
  9. 秋月真梨子, 田原麻衣子, 青木明, 岡本誉士典, 植田康次, 榎本孝紀, 埴岡伸光, 五十嵐良明, 香川(田中)聡子, 酒井信夫, 神野透人 “間欠サンプリング法による室内空气中総揮発性有機化合物測定法の開発” 日本薬学会第 137 年会, 2017 年 3 月
- G. 知的財産権の出願・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 放散試験に供した家庭用品

No.		主な素材
1	壁紙	塩化ビニル系樹脂
2		塩化ビニル系樹脂
3		塩化ビニル系樹脂
4		塩化ビニル系樹脂
5		塩化ビニル系樹脂
6		塩化ビニル系樹脂/表面:ウレタンコート
7		ビニールレザー/表面:ポリ塩化ビニル
8		ビニールレザー/表面:ポリウレタン
9		TF金属,TF窒素化合物
10		TF金属,TF窒素化合物
11		不明
12		不明
13		不明
14	クッションフロア	塩化ビニル/裏面:ガラス繊維
15		塩化ビニル/裏面:ガラス繊維
16		塩化ビニル/裏面:ガラス繊維
17		EVA樹脂
18		EVA樹脂
19		EVA樹脂/表面:ポリウレタン
20		コルク/裏面:EVA樹脂
21		天然コルク材/裏面:EVA樹脂
22		ポリエステル/裏面:EVA樹脂
23		不明
24		不明
25	不明(抗菌性機能付)	
26	不明(抗菌性,防かび性,防汚加工機能付)	
27	フロアタイル	ポリエステル原着100%
28		ポリエステル(スミロン)100%
29		原着ポリプロピレン100%
30		原着ポリプロピレン100%
31		厚着ナイロン(アントロン,ルーミナ)100%
32		ナイロン100%
33		不明
34		不明
35		不明
36	カーペット	表面:アクリル65%,アクリル系35%
37		難燃アクリル40%,抗菌アクリル30%,ポリエステル30%
38		アクリル100%
39		ポリエステル100%/中材:ウレタンフォーム
40		ポリエステル100%

TF:トリプルフレッシュ(消臭機能),EVA:エチレン・酢酸ビニル共重合

表2 壁紙および床用敷物等の内装材40製品のVOC構成成分

No.	1	2	3	4	5
1	2,4,6-Trimethylheptane	<i>n</i> -Undecane	Toluene	2-Ethyl-1-hexanol	<i>n</i> -Dodecane
2	2,4,6-Trimethylheptane	Toluene	<i>n</i> -Undecane	<i>n</i> -Dodecane	<i>n</i> -Tetradecane
3	2,4,6-Trimethylheptane	Toluene	<i>n</i> -Undecane	<i>n</i> -Undecane	<i>n</i> -Tetradecane
4	2,4,6-Trimethylheptane	<i>n</i> -Dodecane	<i>n</i> -Tetradecane	<i>n</i> -Dodecane	<i>n</i> -Undecane
5	2,4,6-Trimethylheptane	1-Octene	<i>n</i> -Tetradecane	<i>n</i> -Undecane	6-Methyltridecane
6	<i>n</i> -Octane	Toluene	<i>n</i> -Heptane	<i>n</i> -Decane	1,3-Dimethyl cyclohexene
7	<i>n</i> -Decane	Toluene	<i>n</i> -Nonane	<i>n</i> -Undecane	Cyclohexanone
8	N-Ethylformamide	<i>n</i> -Octane	Toluene	1-Octene	Cyclohexanone
9	2,4,6-Trimethylheptane	Toluene	2-Ethyl-1-hexanol	<i>n</i> -Butyl acetate	<i>n</i> -Dodecane
10	2,4,6-Trimethylheptane	Toluene	<i>n</i> -Dodecane	2-Ethyl-1-hexanol	<i>n</i> -Tetradecane
11	Isocetane	<i>n</i> -Dodecane	2-Ethyl-1-hexanol	2,2,4,6,6-Pentamethylheptane	Ethylhexanoic acid
12	<i>n</i> -Dodecane	2-Ethyl-1-hexanol	Toluene	<i>n</i> -Decane	<i>m</i> -Ethylmethylbenzene
13	<i>n</i> -Dodecane	<i>n</i> -Decane	3,8-Dimethyldecane	2-Ethyl-1-hexanol	Toluene
14	Toluene	<i>n</i> -Decane	<i>n</i> -Nonane	2-Methylnonane	4-Methylnonane
15	Toluene	<i>n</i> -Decane	<i>n</i> -Nonane	2-Methylnonane	4-Methylnonane
16	<i>n</i> -Decane	Toluene	<i>n</i> -Nonane	<i>n</i> -Undecane	2-Methylnonane
17	Formamide	2,2,4,6,6-Pentamethylheptane	2,2,4,4-Tetramethyloctane	2,5,6-Trimethyldecane	2,5-Dimethyldecane
18	<i>n</i> -Octane	Formamide	1-Octene	<i>n</i> -Heptane	3-Methylnonane
19	Formamide	2,2,4,6,6-Pentamethylheptane	Cyclohexanone	<i>n</i> -Octane	2,2,4,4-Tetramethyloctane
20	<i>n</i> -Octane	1-Octene	Toluene	Formamide	<i>n</i> -Heptane
21	<i>n</i> -Octane	1-Butanol	1-Octene	<i>n</i> -Heptane	1,3-Dimethyl cyclohexene
22	<i>n</i> -Octane	Formamide	2,2,4,6,6-Pentamethylheptane	1-Octene	<i>n</i> -Heptane
23	<i>n</i> -Decane	3-Methyldecane	<i>n</i> -Undecane	1,2,4,5-Tetramethylbenzene	<i>p</i> -Cymene
24	<i>n</i> -Decane	<i>n</i> -Undecane	3-Methyldecane	1,2,4,5-Tetramethylbenzene	<i>n</i> -Tetradecane
25	<i>n</i> -Decane	<i>n</i> -Undecane	3-Methyldecane	1,2,4,5-Tetramethylbenzene	Toluene
26	<i>n</i> -Decane	Toluene	<i>n</i> -Undecane	<i>n</i> -Nonane	3-Methyldecane
27	2-Ethyl-1-hexanol	9-Octadecene	2,5,6-Trimethyloctane	1-Undecene	Toluene
28	2,2,4,6,6-Pentamethylheptane	2,2,4,4-Tetramethyloctane	Toluene	Cyclohexanone	2-Ethyl-1-hexanol
29	2-Ethyl-1-hexanol	Cyclohexanone	3-Methyl-1-octene	2,5-Dimethyldecane	Isobutanol
30	<i>n</i> -Hexanal	2-Ethyl-1-hexanol	3-Methylnonane	2,5-Dimethyldecane	Toluene
31	2,5,6-Trimethylheptane	2-Ethyl-1-hexanol	<i>n</i> -Hexanal	$\beta$ -Pinene	3,8-Dimethyldecane
32	2-Ethyl-1-hexanol	Cyclohexanone	Toluene	<i>n</i> -Decane	2,5-Dimethyldecane
33	2-Ethyl-1-hexanol	Phenol	<i>n</i> -Butyl acetate	Butyl diglycol	Toluene
34	<i>n</i> -Butyl acetate	Diethylene glycol monomethyl ether	Butyl diglycol	7-Methyl-1-undecene	2-Ethyl-1-hexanol
35	Toluene	2-Ethyl-1-hexanol	Cyclohexanone	Isobutyl methyl ketone	<i>n</i> -Butyl acetate
36	2,2,4,6,6-Pentamethylheptane	2,2,4,4-Tetramethyloctane	2,5,9-Trimethyldecane	2,5-Dimethyldecane	<i>n</i> -Dodecane
37	2,2,4,6,6-Pentamethylheptane	2,2,4,4-Tetramethyloctane	Hexamethylcyclotrisiloxane	2,5-Dimethyldecane	2,5,9-Trimethyldecane
38	3,8-Dimethyldecane	<i>n</i> -Decane	<i>n</i> -Dodecane	<i>n</i> -Undecane	3,7-Dimethyldecane
39	2,2,4,6,6-Pentamethylheptane	Hexamethylcyclotrisiloxane	2,2,4,4-Tetramethyloctane	Octamethyltetrasiloxane	3,7-Dimethyldecane
40	<i>n</i> -Octane	2,5,6-Trimethyloctane	1-Octene	3,7-Dimethyldecane	<i>n</i> -Dodecane

表3 壁紙および床用敷物等より放散されるVOCの検出頻度

	検出された検体数	検出頻度(%)
Toluene	22	55.0
2-Ethyl-1-hexanol	15	37.5
<i>n</i> -Decane	13	32.5
<i>n</i> -Undecane	12	30.0
<i>n</i> -Dodecane	12	30.0
<i>n</i> -Octane	8	20.0
2,2,4,6,6-Pentamethylheptane	8	20.0
1-Octene	7	17.5
Cyclohexanone	7	17.5
2,4,6-Trimethyloctane	7	17.5
<i>n</i> -Nonane	6	15.0
2,2,4,4,-Tetramethyloctane	6	15.0
2,5-Dimethyldecane	6	15.0
<i>n</i> -Tetradecane	6	15.0
Formamide	5	12.5
<i>n</i> -Heptane	5	12.5
<i>n</i> -Butyl acetate	4	10.0
3-Methyldecane	4	10.0
2-Methylnonane	3	7.5
2,5,6-Trimethyloctane	3	7.5
3,8-Dimethyldecane	3	7.5
3,7-Dimethyldecane	3	7.5
1,2,4,5-Tetramethylbenzene	3	7.5
<i>n</i> -Hexanal	2	5.0
1,3-Dimethyl cyclohexene	2	5.0
Hexamethylcyclotrisiloxane	2	5.0
4-Methylnonane	2	5.0
3-Methylnonane	2	5.0
2,5,9-Trimethyldecane	2	5.0
Butyl diglycol	2	5.0
Isobutanol	1	2.5
1-Butanol	1	2.5
Isooctane	1	2.5
Isobutyl methyl ketone	1	2.5
<i>N</i> -Ethylformamide	1	2.5
3-Methyl-1-octene	1	2.5
Diethylene glycol monomethyl ether	1	2.5
Phenol	1	2.5
$\beta$ -Pinene	1	2.5
<i>m</i> -Ethylmethylbenzene	1	2.5
Octamethyltetrasiloxane	1	2.5
<i>p</i> -Cymene	1	2.5
1-Undecene	1	2.5
Ethylhexanoic acid	1	2.5
2,5,6-Trimethyldecane	1	2.5
7-Methyl-1-undecene	1	2.5
6-Methyltridecane	1	2.5
9-Octadecene	1	2.5

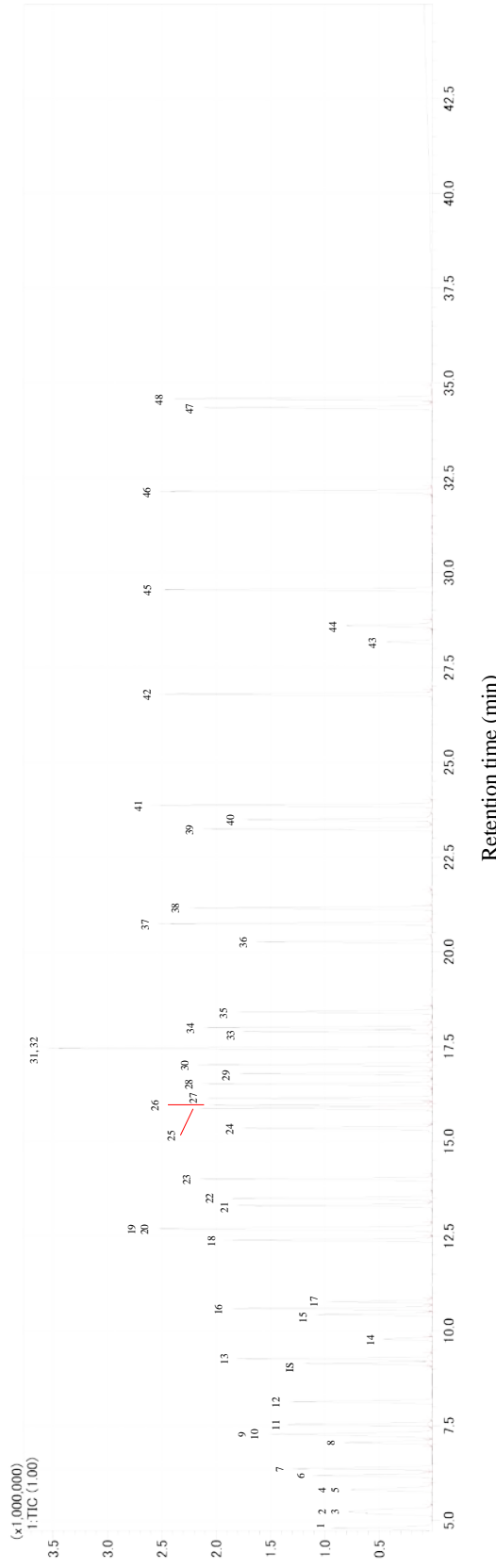
表4 壁紙および床用敷物等より放散される2-Ethyl-1-hexanolの気中濃度及び放散速度

No.		気中濃度 [ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ]	単位面積あたりの放散速度 [ $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$ ]
1	壁紙	550	450
2		500	410
3		320	260
4		270	220
5		230	190
6		2.4	12
7		390	320
8		3.6	29
9		360	300
10		290	240
11		81	400
12		45	220
13		42	210
14	クッションフロア	87	700
15		65	530
16		100	490
17		7.5	36
18		2.6	6.4
19		4.9	24
20		5.8	28
21		4.8	23
22		22	53
23		1100	900
24		1100	850
25	880	710	
26	780	630	
27	フロアタイル	97	470
28		9.5	77
29		71	350
30		37	90
31		97	240
32		31	150
33		1100	930
34		710	580
35		380	380
36	カーペット	42	34
37		34	27
38		23	19
39		2.8	23
40		5.7	14



図1 超小型チャンバーμ-CTE250の装置概略図

左; 全体図, 右上; チャンバー内試料設置時  
右下; チャンバーの仕様



- 1; 2-Butanone, 2; Hexane, 3; Chloroform, 4; 1,2-Dichloroethane, 5; 2,4-Dimethylpentane, 6; *n*-Butanol, 7; Benzene, 8; 1,2-Dichloropropane, 9; Bromodichloromethane, 10; Trichloroethylene, 11; *n*-Heptane, 12; 4-Methyl-2-Pentanone, 13; Toluene, 14; Dibromochloromethane, 15; *n*-Butyl acetate, 16; *n*-Octane, 17; Tetrachloroethylene, 18; Ethylbenzene, 19; *m*-Xylene, 20; *p*-Xylene, 21; Styrene, 22; *o*-Xylene, 23; *n*-Nonane, 24; (1*S*)-(-)- $\alpha$ -Pinene, 25; 3-Ethyltoluene, 26; 4-Ethyltoluene, 27; 1,3,5-Trimethylbenzene, 28; 2-Ethyltoluene, 29; (1*S*)-(-)- $\beta$ -Pinene, 30; 1,2,4-Trimethylbenzene, 31; *n*-Decane, 32; 1,4-Dichlorobenzene, 33; 2-Ethyl-1-hexanol, 34; 1,2,3-Trimethylbenzene, 35; *R*-(-)-Limonene, 36; Nonanal, 37; *n*-Undecane, 38; 1,2,4,5-Tetramethylbenzene, 39; Naphthalene, 40; Decanal, 41; *n*-Dodecane, 42; *n*-Tridecane, 43; Texanol-1, 44; Texanol-2, 45; *n*-Tetradecane, 46; *n*-Pentadecane, 47; TXIB, 48; *n*-Hexadecane, 49; Toluene-*d*<sub>8</sub>.

図2 揮発性有機化合物標準品(48物質)のGC/MSクロマトグラム

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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  May 12. doi: 10.1007/s00204-017-1982-1		<i>in press</i>	2017
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	91(3)	1227– 1232	2017
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	91(2)	689–698	2017
Hanioka N., Isobe T., Kinashi Y., Tanaka-Kagawa T., Jinno H.	Hepatic and intestinal glucuronidation of mono(2-ethylhexyl) phthalate, an active metabolite of di(2-ethylhexyl) phthalate, in humans, dogs, rats and mice: an in vitro analysis using microsomal fractions.	Arch Toxicol	90(7)	1651– 1657	2016



Isobe T., Kofuji K., Okada K., Fujimori J., Murata M., Shigeyama M., Hanioka N., Murata Y.	Adsorption of histones on natural polysaccharides: The potential as agent for multiple organ failure in sepsis.	Int J Biol Macromol	84	54–57	2016
Nguyen LP., Yamashita M., Yoo SJ., Ito K.,	Prediction of convective heat transfer coefficient of human upper and lower airway surfaces in steady and unsteady breathing conditions,	Building and Environment,	100	pp172-185	2016
Ito K.	Toward the development of an in silico human model for indoor environmental design,	Proceedings of the Japan Academy-Series B,	92(7)	pp 185-203	2016
Ito K., Mitsumune K., Kuga K., Nguyen LP., Tani K., Inthavong K.	Prediction of convective heat transfer coefficients for the upper respiratory tracts of rat, dog, monkey, and humans,	Indoor and Built Environment, (DOI: 0.1177/1420326X16662111)		<i>Accepted</i>	2016,

Murga A., Yoo S.J., Ito K.	Multi-stage downscaling procedure to analyze the impact of exposure concentration in a factory on a specific worker through CFD,	Indoor and Built Environment,  (DOI: 10.1177/1420326X16677331)		<i>Accepted</i>	2016
Wang P., Chen W., Liao J., Matsuo T., Ito K., Fowles J., Shusterman D., Mendell M., Kumagai K.	A Device-independent Evaluation of Carbonyl Emissions from Heated Electronic Cigarette Solvents,	PLOS ONE:  e0169811	2(1)	1	2017
Ito K.	In silico human model for fluid-initiated indoor environmental design,	Indoor and Built Environment  (DOI:10.1177/1420326X17697290)	26(3)	<i>Accepted</i>	2017;
Kuga K., Ito K., Yoo S.J., Chen W., Wang P., Liao J., Fowles J., Shusterman D., Kumagai K.	First- and second-hand smoke exposure assessment from e-cigarettes using integrated numerical analysis of CFD and a computer-simulated person with a respiratory tract model,	Indoor and Built Environment  (DOI: 10.1177/1420326X17694476)		<i>Accepted</i>	2017

Yoo SJ., Ito K.	Numerical Prediction of Tissue Dosimetry in Respiratory Tract using Computer Simulated Person integrated with physiologically based pharmacokinetic (PBPK)-computational fluid dynamics (CFD) Hybrid Analysis,	Indoor and Built Environment, (DOI: 10.1177/1420326X17694475)		<i>Accepted</i>	2017
Nakamori S, Takahashi J, Hyuga S, Tanaka-Kagawa T, Jinno H, Hyuga M, Hakamatsuka T, Odaguchi H, Goda Y, Hanawa T, Kobayashi Y.	Ephedra Herb extract activates/desensitizes transient receptor potential vanilloid 1 and reduces capsaicin-induced pain.	J Nat Med. doi: 10.1007/s11418-016-1034-9.	71(1)	105-113	2017
清水久美子, 秋山卓美, 伊佐間和郎, 河上強志, 五十嵐良明	ゲアニジン系加硫促進剤の感作性評価と家庭用ゴミ製品の実態調査	国立衛研報	134	42-49	2016
Matsumoto M., H. Todo H., Akiyama T., Hirata-Koizumi M., Sugibayashi K., Ikarashi Y., Ono A., A. Hirose A., Yokoyama K.	Risk assessment of skin lightening cosmetics containing hydroquinone.	Regul Toxicol Pharmacol	81	128-135	2016

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.	J Toxicol Sci	41(5)	693–700	2016
Azuma K., Ikeda K., Kagi N., Yanagi U., Osawa H.	Evaluating prevalence and risk factors of building-related symptoms among office workers: Seasonal characteristics of symptoms and psychosocial and physical environmental factors.	Environ Health Prev Med		<i>in press</i>	2017
Azuma K., Tanaka-Kagawa T., Jinno H.	Health risk assessment of inhalation exposure to 2-ethylhexanol, 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate, and texanol in indoor environment.	Proceedings of the 14th International Conference on Indoor Air Quality and Climate	ID168	7 pages.	2016
Azuma K., Uchiyama I., Tanigawa M., Bamba I., Azuma M., Takano H., Yoshikawa T., Sakabe K.	Association of odor thresholds and responses in cerebral blood flow of the prefrontal area during olfactory stimulation in patients with multiple chemical sensitivity.	PLoS ONE; e0168006., doi:10.1371/journal.pone.0168006.	11 (12)		2016

Azuma K., Kouda K., Nakamura M., Fujita S., Tsujino Y., Uebori M., Inoue S., Kawai S.	Effects of inhalation of emissions from cedar timber on psychological and physiological factors in an indoor environment.	Environments doi:10.3390/environments3040037.	3(4)	37	2016
Bamba I., Azuma K.	Psychological and physiological effects of Japanese cedar indoors after calculation task performance.	Journal of the Human-Environment System;	18(2)	33-41	2016
東 賢一	室内空気汚染の健康リスク	臨床環境医学	25(2)	<i>in press</i>	2017