

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 29 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 神野 透人

平成 30 (2018) 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 | ・・・ | 13 |
| 埴岡 伸光、磯部 隆史 | | |
| 2. 気道内挙動の <i>in vitro/in silico</i> 予測 | ・・・ | 18 |
| 伊藤 一秀 | | |
| 3. 気道障害性の <i>in vitro</i> 評価 | ・・・ | 35 |
| 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 | ・・・ | 43 |
| 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 | ・・・ | 59 |
| 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 | ・・・ | 79 |
| 東 賢一 | | |
| 7. 定量的 VOC 放散データベースの構築 | ・・・ | 134 |
| 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 | ・・・ | 145 |

厚生労働科学研究費補助金 (化学物質リスク研究事業)
総括研究報告書

気道障害性を指標とする室内環境化学物質のリスク評価手法の開発に関する研究

研究代表者 神野 透人 名城大学薬学部 教授

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

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

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

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

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

A. 目的

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

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

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

B. 研究方法

B-1 気道内挙動の *in vitro/in silico* 予測

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

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

B-2 気道障害性の *in vitro* 評価

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

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

B-3 気道障害性にかかる情報収集および優先順位判定

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

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

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

B-4 定量的 VOC 放散データベースの構築

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

脱離-ガスクロマトグラフ/質量分析計を用いて放散化学物質を定量分析した。

C. 結果と考察

C-1 気道内挙動の *in vitro/in silico* 予測

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

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

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

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

C-2 気道障害性の *in vitro* 評価

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

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

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

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

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

C-3 気道障害性にかかる情報収集および優先順位判定

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

また、一連の解析の結果から、金属元素またはハロゲン元素を含む化合物の多くが刺激性について陽性であった。したがって、金属元素あるいはハロゲン元素を有する化合物は気道刺激性をもつ可能性が高いと考えられる。TiO₂、Al₂O₃、CeO₂ 等、金属酸化物ナノ粒子の気道刺激性について評価されている物質もあり、金属元素を有する化合物は注目すべきだあると考えられる。また、ハロゲン化合物は農薬や殺虫剤として使用される物質に多く、生活環境を経由した暴露を考えた場合、評価の優先順位が高いと考察された。

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

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

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

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

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

C-4 定量的 VOC 放散データベースの構築

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

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

D. 結論

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

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

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

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

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

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

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

E. 健康危険情報
なし

F. 研究発表
論文発表

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

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

学会発表

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

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

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

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

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

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含
む)

特許取得

なし

実用新案登録

なし

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 磯部 隆史 横浜薬科大学 講師

研究要旨

全国規模の室内環境汚染物質の実態調査により、新たに 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (TXIBTM, TMPD-DIB と略す)、2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol monoisobutyrate (TexanolTM, TMPD-MIB と略す)などの揮発性有機化合物による汚染実態が明らかになった。気道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、TMPD-DIB、TMPD-MIB などの気道における代謝を明らかにすることは、これらの揮発性有機化合物による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、TMPD-DIB および TMPD-MIB の気道における代謝プロファイルの解明を目的として、TMPD-DIB および TMPD-MIB の *in vitro* 代謝試験を行った。TMPD-DIB は、カルボキシエステラーゼによって 1-hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl isobutyrate (1-HTMPIB と略す) および 3-hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl isobutyrate (3-HTMPIB と略す) へ代謝され、3-HTMPIB は、さらに 2,2,4-trimethylpentane-1,3-diol (TMPD と略す) へと代謝された。ヒト肝マイクロソームによる TMPD-DIB 加水分解の速度論的挙動は、Michaelis-Menten のモデルに従った。1-HTMPIB 生成活性と 3-HTMPIB 生成活性では、 K_m 値にそれほど大きな差は認められなかった。しかしながら、 V_{max} 値は 1-HTMPIB 生成活性が 3-HTMPIB 生成活性のおよそ 4 倍の値を示した。これらの知見は、気道粘膜刺激症状への関与が予測される TMPD-DIB および TMPD-MIB 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、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、2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (TXIBTM, TMPD-DIB と略す)、2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol monoisobutyrate (TexanolTM, TMPD-MIB

と略す) などの揮発性有機化合物による汚染実態を明らかにした。気道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、TMPD-DIB、TMPD-MIBなどの気道における代謝を明らかにすることは、これらの揮発性有機化合物による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TMPD-DIB および TMPD-MIB 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、TMPD-DIB およびTMPD-MIBの気道における代謝プロファイルの解明を目的として、TMPD-DIB およびTMPD-MIBの代謝学的な検討を実施した。

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ミ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 TMPD-DIB およびTMPD-MIBの *in vitro* 代謝試験を行った。

B-1. 試験方法

ヒト肝ミクロゾームを含む 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、TMPD-DIB または TMPD-MIB 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

ヒト肝ミクロゾームを用いた *in vitro* 代謝試験では、TMPD-DIB は 1 位のエステル結合が加水分解され 1-hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl isobutyrate (1-HTMPIB と略す) および 3 位のエステル結合が加水分解された 3-hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl isobutyrate (3-HTMPIB と略す) へと代謝された。1-HTMPIB に比べ 3-HTMPIB へ代謝される割合は低く、これは 4 位のメチル基が立体障害となり、3 位のエステル結合の加水分解を妨げているためと推察された。

TMPD-MIB は TMPD-DIB の加水分解

物で、1-HTMPIB およびその構造異性体である 3-HTMPIB からなる。ヒト肝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、2,2,4-trimethylpentane-1,3-diol (TMPD と略す) へと代謝されたが、1-HTMPIB はほとんど代謝されなかった。TMPD-DIB の代謝でみられた選択性と同様に、1-HTMPIB の代謝においても 4 位のメチル基が立体障害となり、3 位のエステル結合の加水分解を妨げているためにこのような選択性が表れると考えられた。

ヒト肝マイクロゾームによる TMPD-DIB 加水分解の速度論的挙動は、Michaelis-Menten のモデルに従った (Fig. 1)。1-HTMPIB 生成活性と 3-HTMPIB 生成活性では、 K_m 値にそれほど大きな差は認められなかった。しかしながら、 V_{max} 値は 1-HTMPIB 生成活性が 3-HTMPIB 生成活性のおよそ 4 倍の値を示した。

これらの結果から、TMPD-DIB のエステル部位間で加水分解活性に違いが生じている原因は、エステル部位における CES との親和性の差ではなく、4 位のメチル基が立体障害となり、3 位のエステル部位に対する CES の加水分解反応の進行を妨げていることである可能性が示唆された。

D. 結論

本研究では、気道における TMPD-DIB 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 TMPD-DIB および TMPD-MIB の *in vitro* 代謝試験を行った。

その結果、TMPD-DIB は CES によって 1-HTMPIB および 3-HTMPIB へと代謝されることが明らかとなり、3-HTMPIB はさらに TMPD へと代謝されることが明らかとなった。ヒト肝マイクロゾームによる TMPD-DIB の加水分解において 1-HTMPIB 生成活性と 3-HTMPIB 生成活性は Michaelis-Menten の速度論的挙動を示した。 K_m 値にそれほど大きな差は認められなかったが、 V_{max} 値は 1-HTMPIB 生成活性が 3-HTMPIB 生成活性のおよそ 4 倍の値を示した。

これらの結果より、TMPD-DIB 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、代謝プロファイル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) Miyata-Nozaka Y., Mohd Zain S., Taguchi M., Shigeyama M., Isobe T., Hanioka N.: Carbamazepine 10,11-epoxidation in human liver microsomes: influence of the CYP3A5*3 polymorphism, *Pharmazie*, 2017, 72(12):747-750.
- 2) Isobe T., Ohkawara S., Tanaka-Kagawa T., Jinno H., Hanioka N.: Hepatic glucuronidation of 4-tert-octylphenol in humans: inter-individual variability and responsible UDP-glucuronosyltransferase isoforms, *Arch Toxicol*, 2017, 91(11): 3543-3550.
- 3) Hanioka N., Isobe T., Ohkawara S.,

Tanaka-Kagawa T., Jinno H.:
Glucuronidation of 4-tert-octylphenol
in humans, monkeys, rats, and mice:
an in vitro analysis using liver and
intestine microsomes, Arch Toxicol,
2017, 91(3):1227-1232.

- 4) Hanioka N., Kinashi Y.,
Tanaka-Kagawa T., Isobe T., Jinno H.:
Glucuronidation of mono(2-ethylhexyl)
phthalate in humans: roles of hepatic
and intestinal
UDP-glucuronosyltransferases. Arch
Toxicol, 2017, 91(2):689-698.

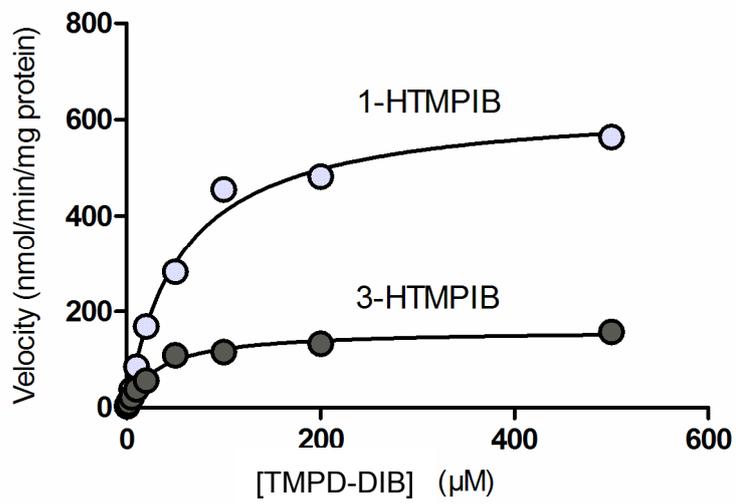
2. 学会発表

- 1) 礒部 隆史, 大河原 晋, 香川(田中) 聡子, 神野 透人, 埴岡 伸光: ヒトにおける 4-tert-オクチルフェノールのグルクロン酸抱合反応に関与する UGT 分子種とその役割, フォーラム 2017 衛生薬学・環境トキシコロジー, 仙台, 2017 年 9 月 1-2 日
- 2) 大河原 晋, 中村 恵理子, 礒部 隆史, 埴岡 伸光, 神野 透人, 香川(田中) 聡子: BEAS-2B 細胞におけるイソチアゾリノン系抗菌剤による炎症性メディエーター産生, フォーラム 2017 衛生薬学・環境トキシコロジー, 仙台, 2017 年 9 月 1-2 日
- 3) 前川 梨沙, 青木 明, 岡本 誉士典, 植田 康次, 大河原 晋, 埴岡 伸光, 香川(田中) 聡子, 神野 透人: BEAS-2B 細胞におけるイソチアゾリノン系抗菌剤による炎症性メディエーター産生, フォーラム 2017 衛生薬学・環境トキシコロジー, 仙台, 2017 年 9 月 1-2 日

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

Fig. 1 ヒト肝ミクロゾームによる TMPD-DIB 加水分解反応の速度論的解析



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(2017 年度)はこれまで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, 経気道暴露用の生理的薬物動態解析 PBPK (Physiologically Based Pharmacokinetic)モデルを統合した人体幾何形状モデルを用いて, 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リアルタイムに非定常解析する一連の解析モデルを構築した. 加えて, これまでに作成してきた実験動物(ラット, イヌ, サル)の数値気道モデルの中で, サルの上気道モデルデータを用いて, 三次元(3D)スキャナにてシリコン製のサル上気道モデル (*in vitro* model)を作成し, 粒子イメージ流速計測法 PIV (Particle Image Velocimetry)にて上気道内流れ場の詳細計測を行った. この基礎データは, 実験に対応する数値解析を実施することで, 流体力学の視点で *in vitro* モデルと *in silico* モデルの予測精度の検証を可能にするものである

A. 研究目的

本研究の目的は, 特に経気道暴露に関する *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 (*in silico* モデル)の開発を目的とする. 特に各種汚染物質の気道内挙動を正確に予測した上で, 生理的薬物動態(PBPK)モデルを用いて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. 人体を直接対象とし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加する方向にある. 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.

室内空気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，経気道暴露の問題である．この室内環境中での経気道暴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，微粒子輸送現象の相違，気道内沈着分布の相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．

2016年度までの2年間の研究期間にて，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 (PBPK-CFD-CSP モデル) を構築した上で，単純な境界条件のもとで定常解析を実施した結果まで報告してきた．

研究の最終年度(3年目)である2017年度は，昨年度まで作成した経気道曝露を総合的に解析可能な PBPK-CFD-CSP モデルを非定常化し，リアルタイムでの経気道曝露解析を可能とするよう改良を行うとともに，各種のカルボニル系化合物を対象として感度解析を実施した．

また，実験動物を対象とした数値気道モデル (*in silico* model) 開発の一環として，昨年度までに作成したサルの上気道モデルデータを用いて透明アクリル性の実験用モデル (*in vitro* model) を作成し，粒子イメージ流速計測法 (PIV: Particle Image Velocimetry) にて上気道内流れ場を実験的に計測した．実験による流れ場計測データを用いて数値解析結果の検証も行った．

以下，具体的な研究成果を課題別に示す．

B. 経気道曝露評価用の数値人体モデル開発

本研究では，昨年度までに 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曝露の 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ことで, 室内環境中での化学物質の経気道暴露に伴う人体影響を定量的に評価可能な一連の数値解析モデルを開発してきた. 本年度のこのモデルを非定常化することでリアルタイム解析を可能とするモデルに改良した.

以下, 計算流体力学CFDと統合する数値人体モデルの重要性を再度強調した上で, 非定常モデル開発の概要を示す.

B.1 CFDを用いた空気環境シミュレーションの意義

例えば, シックハウス問題の議論の対象となる建築や室内環境は, 一般的に四方を壁に囲まれ, 限定された空間体積である. しかしながら, 給気口や排気口の相対的な位置関係や什器の存在などにより, 室内空気が完全混合状態であることは非常に希であり, 室内空間には不均一な流れ場が形成され, 対応して温度分布や汚染物質濃度分布も不均一となる. この不均一性状を積極的に考慮した環境設計を行うためには, 特に設計段階においては計算流体力学CFDの利用が必須となる.

CFDを用いた室内環境設計の立場では, 室内空間の流れ場解析と共に汚染物質濃度分布の解析を行うことで, 室内に形成される不均一濃度場に関する議論が進められており, これまでに非常に充実した研究成果の蓄積がある. 例えば加藤・村上らは, 不完全混合場を対象とした各種の換気効率指標を提案しており, 特に低次モーメントの概念を用いた室内濃度分

布の定量的な整理法は, 室内換気設計や汚染物質濃度制御に広く利用されている. 近年でもLimらが質点での汚染物質排出効率を定義する新たな換気効率指標を提案するなど, 特に空間の不均一濃度場や空気質分布の定量評価法に関する研究は現在でも非常に活発である. これらの研究開発は主に定常流れ場を仮定した空間設計側からのアプローチであり, 即ち「場の管理」の視点から空間濃度評価を目指した取り組みと云える.

一方, 個人暴露量の評価という視点では, 1990年代後半より, CFD解析に適用可能な数値人体モデルの開発研究が進められるようになり, 人体周辺に形成される微気象解析の報告例が増加しており, この数値人体モデルを室内環境解析に適用することで, 呼吸域周辺の空気質評価の議論も行われるようになってきた. この発展として, 近年は呼吸に伴う経気道暴露の予測を目指して, 鼻腔や口腔, 咽頭を介して気道から気管支といった呼吸器系の詳細幾何形状を再現した数値気道モデルの開発研究も見られるようになっており, 人体の詳細幾何形状を再現した数値人体モデルと統合した解析の事例も報告されるようになってきた. 本研究はこの研究動向に沿ったものである.

B.2 非定常PBPK-CFD-CSPモデルの開発

昨年度(2016年度)までに開発を進めた薬物の人体影響評価のためのin vivo, in vitro実験データを基に提案された生理的薬物動態解析(PBPK)モデルを呼吸器系モデルに統合した数値人体モデル(CSP)を

リアルタイムの流体解析(CFD)と連成解析可能とするため、支配方程式の非定常化を実施した。非定常解析対応に伴い計算負荷が増加するため、数値解析アルゴリズムを MPI により並列化することで、計算速度の向上を図った。

図 1 に本研究で開発した PBPK-CFD-CSP 連成解析モデルの概要を示す。本研究で実施する PBPK-CFD 連成解析は、Corley らにより提案された PBPK-CFD モデルを基にしており、気道内(Airway)、粘膜上皮(Epithelium+Mucus)、上皮組織(Sub-epithelium)の 3 層の領域を対象としている。室内及び気道内での汚染物質の移流・拡散を CFD 解析より予測し、その結果としての気道内壁面吸着フラックスを組織側に伝達すると共に組織内での代謝クリアランス、1 次反応、拡散と血流による輸送量などの定量的な評価を行う。

非定常呼吸サイクルを再現した非定常 PBPK-CFD-CSP 連成解析の数値解析条件、特に PBPK モデルに使用したパラメータを整理して表 1 に示す。また床材から放散されたアルデヒド類(本解析ではホルムアルデヒド)の非定常経気道暴露シミュレーションを行うため、単純なモデル室内に数値人体モデルを立位で設定した。図 2 に解析対象空間の概要を示す。置換換気システムを想定して、床面にそった外気導入口、対向壁の天井面にそって排気口を設置している。

本年度の最大の成果は非定常の CFD 解析による気道内汚染物質濃度分布のリアルタイム解析と、反応拡散系数理モデルである PBPK モデルを非定常でリアルタ

イム解析することにある。この解析を実施するため、人体モデルの鼻孔位置に表 2 に示す非定常呼吸サイクルを再現した。

図 3 には流れ場・温度場・ホルムアルデヒド濃度場等の解析結果を示す、また、図 4 には非定常呼吸サイクルを再現した場合の上気道内流れ場・濃度場等の解析結果を、図 5 には上気道内の粘膜上皮に対するホルムアルデヒド吸着フラックスの時間変化を示す。人体周辺の不均一分布の様子と共に、気道内の場合、非定常呼吸の再現により時間の変化に伴う気道内の流れ場、濃度分布の変化が確認できる。気道内壁面でのホルムアルデヒド吸着フラックス分布の時間変化に着目すれば、最大吸気の際、約 54%の吸着フラックスが鼻腔内に集中されており、“ホットスポット”と呼ばれる相対的に高い吸着フラックスの様子が確認される。図 6 鼻腔内粘膜上皮・粘膜下組織を対象とした PBPK 非定常解析結果の一例を示す。この結果より、粘膜上皮でのホルムアルデヒドの反応量が支配的であることから、上皮組織には殆ど到達していない様子が確認される。

本研究では、床材から放散されたホルムアルデヒドを想定した場合の経気道曝露濃度予測と PBPK モデルを用いたホルムアルデヒドの体内吸収メカニズムに関する連成解析事例を報告した。本稿で示した PBPK-CFD-CSP 解析手法が、制御対象や規制対象とすべき経気道暴露の参照濃度(Reference Concentration)の合理的決定のための有効な情報を提供できる可能性を示していると考えられる。

C. サル上気道モデルを対象とした流れ場の可視化計測(*in vitro*)

アカゲザルの CT データを用いて鼻腔・口腔から咽頭下部領域までを含む上気道の幾何形状を数値的に再現した上で、計算流体力学による流れ場解析に適用可能なサル数値気道モデルを作成する。このサル数値気道モデルの幾何形状データを用い、3D プリンタ(光造形)にてシリコン製の気道モデルを作製し、PIV 計測を行うことで実験的に流れ場測定を実施し、数値解析精度の検証用データの蓄積を目指す。

C. 1 アカゲザルの上気道幾何形状データ

本研究では薬物試験後に安楽死処理された生後 6 ヶ月のアカゲザル(*Macaca fascicularis*)の生体データを Micro-CT にて撮影した。アカゲザルの体重は 1.2 kg、鼻腔と口腔の両者から咽頭下部までの上気道を Micro-CT の解像度 200 μm で撮影した。CT データ(DICOM)より対象とする上気道部位の幾何形状を抽出し、スムージング処理した上で最終的な数値気道モデルを作製した。表 3 にアカゲザルの数値気道モデルの基本情報を示す。これは昨年度までに作成したサルの数値気道モデルと同一の幾何形状データである。

C. 2 アカゲザルの上気道の 3 次元アクリルモデル

アカゲザル上気道の 3D モデルは JMC の 3D プリンタ(光造形)にて作成した。第一段階としてアクリル素材にてサル上気道の 3D モデルを作製し、これを Negative

Model とする。Negative Model の表面処理を行った上で、直方体ケースの中に設置して透明シリコンを流し込み、固形化後に Negative model を除去することで透明シリコン製の Positive Model を作成した。図 7 に作成手順と作成の様子を示す。

3D プリンタの精度と作業性を考慮し、数値気道モデルの 150%サイズで作成した。

C. 3 可視化計測(PIV 計測)の概要

本研究では、画像相互相関法によりサル上気道モデル内 2 次元断面での粒子速度を計測する。トレーサ粒子として、平均粒径 10 μm の中空ガラスビーズ(硼珪酸ガラス)を用いる。撮像素子に CMOS を用いた高速度カメラ(Photron FASTCAM APX)によりトレーサ挙動を撮影する。カメラ画素数は 512 \times 1024pixels, 撮影速度(frame rate)は流速に応じて 500 から 2000fps の範囲で設定する。また、光源として連続波(CW)の 2W Green Laser(Beamtech Optronics, Diode-pumped solid state (DPSS) Green Laser 2W, 波長 532 nm)を使用。可視化領域は 26mm \times 52mm 領域とし、レーザーシート厚は約 3mm である。PIV 解析は Dantech Dynamic Studio 3.31 を用い、Inter-rogation window は 32 \times 32 pixels, Overlap 条件を 50%とし、解析アルゴリズムとして Adaptive (FFT) Cross-Correlation Method を用いて解析する。

本実験では、サル上気道モデルの鼻腔と口腔の両者を再現しているため、鼻呼吸、口呼吸の両条件で実験を行う。(鼻呼吸の場合には口腔開口部は閉じた条件、口呼吸の場合には鼻腔開口部は閉じた条件とする)。気道端部(咽頭側)にポンプを接続

し、誘引(吸引)することで定常呼吸を再現する。

シリコン製のサル上気道モデルは曲面を有する複雑形状であり、同一平面上の可視化画像を取得するためにはレーザーシートの屈折に伴う撮影画像の歪みを補正する必要がある。本研究では作動流体として、シリコンの屈折率と同一条件となるよう調整したヨウ化ナトリウム NaI 水溶液を用いる。

屈折率調整を実験実施時に試行錯誤的に NaI の濃度調整を行うこととなるが、これはヨウ化ナトリウム NaI 水溶液中にシリコン塊(TSR-883)を入れ、目視にて確認を行う方法による。その後、作動流体であるヨウ化ナトリウム NaI 水溶液の動粘度を JIS K 2283 に従い計測する。Canon-Fenske Routine Viscometers にて、動粘度 ν [m²/s]、密度 ρ [kg/m³]、Refractive Index (RI) [-]の各情報を計測する。

既往研究によれば、シリコンの屈折率と等価に調整した NaI 水溶液の物性値(20°C)は、屈折率 1.411、比重 1.4□103 [kg/m³]、粘性係数 1.51×10⁻³ [N・s]、動粘性係数 1.08□106 [m²/s]とされている。

流入空気ならびに雰囲気は PIV システムの動作安定性を考慮して 20°C以下程度で一定になるよう配慮する。

本実験では Reynolds 数一致を条件として、式(1)を基に NaI 水溶液を作動流体とした場合の流入面(気道開口面より吸引する)に与える平均流量を調整する。

$$U_{NaI} = \frac{\nu_{NaI}}{\nu_{air}} \frac{L_{real}}{L_{model}} U_{air} \quad (1)$$

$$Q_{NaI} = U_{NaI} \times A_{model} \quad (2)$$

ここで、 ν [m²/s]は動粘性係数、 U は代表流速 [m/s]、 L は代表長さスケール [m]を示す。ここで U ならびに L は咽頭下部での平均流速(断面平均値)、気管相当直径とする。ここで、空気の動粘性係数 1.512×10⁻⁵ [m²/s] (20°C)、水の動粘性係数 1.004×10⁻⁶ [m²/s] (20°C)、NaI 水溶液の動粘性係数 1.080×10⁻⁶ [m²/s] (20°C)。

作動流体である NaI 水溶液の流量は、流量補正を行ったフロート流量計等にて制御する必要がある。本実験では、静穏環境下でのサルの安静条件から重作業時を想定した場合の定常呼吸を想定し、その呼吸量(流入風量)を $Q_{air}=4.0$ L/min から 22.0 L/min の条件に設定する。この流入条件における NaI 水溶液の流量 $Q_{mixture}$ は表 4 の通りとなる

PIV 実験の全体概要図を図 8 に示す。

C. 4 可視化計測(PIV 計測)の結果

図 9 に口呼吸条件、図 10 には鼻呼吸条件を対象として、粒子イメージ流速法(PIV)によるサル上気道内の平均風速分布計測結果を示す。また、図 11 には鼻腔と口腔が合流する咽頭部以降の流れを可視化した結果を示す。流れ場の Reynolds 数依存性、鼻腔や口腔内での不均一風速分布の存在が確認出来る。上気道の後流域では比較的流れが混合する様子が確認出来るものの、流れが完全混合になることは無く、強い不均一性を維持した状態で気道内を通過する様子も確認した。

D. 結語

本年度(2017 年度)は研究の最終年度として、各種化学物質の経気道暴露を定量

的に予測評価するための数値人体モデルと一連の数値解析手法(PBPK-CFD-CSP解析手法)をリアルタイム解析が可能となるよう非定常化した。計算負荷が大きく、一呼吸サイクルの解析にワークスレーションを用いて数週間の解析時間を要するものの、経気道暴露評価と室内環境設計に関する *in silico* モデルのプロトタイプモデルは確立できたと考えている。

また、*in silico* モデルは常に実験的な検証が必要とされる。この点で、経気道暴露メカニズムの本質的な情報を与える気道内平均流れ場に関して、特にサルを対象とした *in vitro* モデル作成と可視化計測を実施することで、数値解析検証用データの蓄積を図った。このデータはサルの *in vitro* データとともに詳細を WEB 公開する予定である。

E. 研究発表

1. 論文発表

Alicia Murga, Yusuke Sano, Yoichi Kawamoto, Kazuhide Ito : Integrated analysis of numerical weather prediction and computational fluid dynamics for estimating cross-ventilation effects on inhaled air quality inside a factory, *Atmospheric Environment*, 167 (2017) 11-22

Koki Nakahara, Takahiro Yamaguchi, Eunsu Lim and Kazuhide Ito : Computational fluid dynamics modeling and parameterization of the visible light photocatalytic oxidation process of toluene for indoor building material, *Sustainable Cities and Society*, 35

(2017) 298-308

Juyeon Chung, Eunsu Lim, Mats Sandberg, and Kazuhide Ito : Returning and net escape probabilities of contaminant at a local point in indoor environment, *Building and Environment*, 125 (2017) 67-76

2. 学会発表

Kazuki Kuga, Sung-Jun Yoo, Kazuhide Ito, Wenhao Chen, Ping Wang, Jeff Fowles, Dennis Shusterman, Kazukiyo Kumagai: Virtual Bronchiole Model Based on the Numerical Respiratory Tract Model for Comprehensive Exposure Assessment to E-Cigarettes, *Healthy Buildings 2017 Asia, Taiwan*, pp122-125

Yusuke Sano, Alicia Murga, Yoichi Kawamoto, Kazuhide Ito: Integration of numerical weather prediction and computational fluid dynamics to analyze indoor air quality: Part 1, prediction of wind pressure coefficient distributions, *Healthy Buildings 2017 Asia, Taiwan*, pp 227-231

Alicia Murga, Yusuke Sano, Yoichi Kawamoto, Kazuhide Ito: Integration of numerical weather prediction and computational fluid dynamics to analyze indoor air quality: Part 2, prediction of contaminant concentration and inhalation exposure in a factory, *Healthy Buildings 2017 Asia, Taiwan*, pp 62-66

- Nguyen Lu Phuong and Kazuhide Ito: Ventilation effectiveness in mammalian upper airways – computational fluid dynamics analysis of in silico airway models for rats, dogs, monkeys, and humans, *Healthy Buildings 2017 Asia*, Taiwan, pp 487-490
- Sung-Jun Yoo and Kazuhide Ito: Transient analysis of inhalation exposure by using computer simulated person integrated with PBPK–CFD hybrid model, *Healthy Buildings 2017 Asia*, Taiwan, pp 135-138
- Juyeon Chung, Eunsu Lim, Kazuhide Ito: Evaluation of Ventilation Efficiency in Push-Pull Type Ventilation System by Ventilation Indices NEV and NEP, *Healthy Buildings 2017 Asia*, Taiwan, pp 107-110
- Koki Nakahara, Takahiro Yamaguchi and Kazuhide Ito: Computational fluid dynamic modelling and parameterization of water- vapour impact on oxidation process by photocatalyst-bound building materials, *Healthy Buildings 2017 Asia*, Taiwan, pp 67-71
- Nguyen Lu Phuong and Kazuhide Ito: Comparative computational modeling of airflow and regional deposition of inhaled particles in respiratory tract of human and monkey, COBEE 2018, Melbourne, Australia, (採用決定, 2018.2 に発表予定)
- Sung-Jun Yoo and Kazuhide Ito: Quantitative risk assessment of transient inhalation exposure using PBPK-CFD hybrid model with computer simulated person, COBEE 2018, Melbourne, Australia, (採用決定, 2018.2 に発表予定)
- Alicia Murga and Kazuhide Ito: Dynamical downscaling and hybrid CFD - transient network modelling analysis for estimating inhaled air quality, COBEE 2018, Melbourne, Australia, (採用決定, 2018.2 に発表予定)
- 伊藤一秀：嗅覚の知覚強度と鼻腔内流れ・物質輸送に関する一考察：第 51 回 空気調和・冷凍連合講演会, 2017.04, pp 115-118
- Eunsu Lim, Juyeon Chung, 伊藤一秀：換気効率指標 Net Escape Velocity と Net Escape Probability による Push-Pull 換気装置の汚染物質排出効率評価：日本建築学会大会学術講演梗概集, 2017.9, D-2, pp 741-744
- Kana Hasebe, Shinsuke Kato, U Yanagi, Hideaki Nagano, Kazuhide Ito, Toshio Yamanaka, Hikaru Kobayashi, Hirofumi Hayama, Shigeo Matsuno, Establishing quantitative evaluation method of contact infection risk using qPCR method: Difference of bacteria collection rate depends on the moisture condition, 空気調和衛生工学会講演論文集, 2017.9, IS-12, pp 5-8
- Alicia Murga, Kazuhide Ito, Prediction of Inhalation Exposure in a factory by integrated analysis of numerical weather prediction and computational fluid

dynamics, 空気調和衛生工学会講演
論文集, 2017.9, IS-11, pp 1-4

Sung-Jun Yoo, 伊藤一秀: 経気道暴露評価
のための PBPK-CFD-CSP 連成解析モ
デル, 室内環境学会学術大会講演集,
2017.12, C-08

久我一喜, Sung-Jun Yoo, 伊藤一秀: 気道
粘膜上皮を対象とした電子煙草由来
カルボニル化合物暴露の *in silico* 評

価, 室内環境学会学術大会講演集,
2017.12, C-07

Ji-Woong Kim, Nguyen Lu Phuong, 伊藤一
秀: サル気道モデルを対象とした上
気道流れ場の PIV 計測と数値解析,
室内環境学会学術大会講演集,
2017.12, C-09

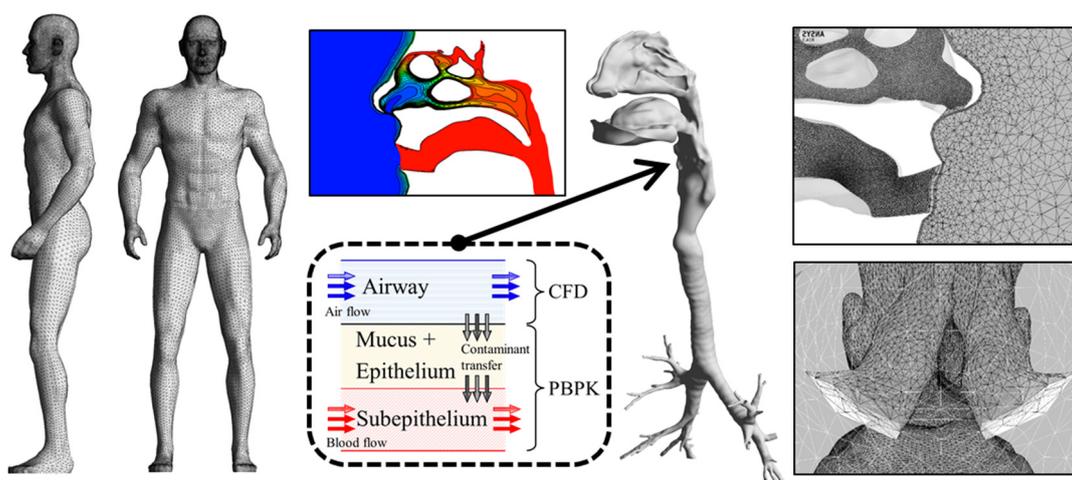


図1 PBPK-CFD-CSP 連成解析モデルの概要

表1 非定常呼吸サイクルを再現した非定常 PBPK-CFD-CSP 連成解析の数値解析条件 (PBPK)

| Target chemicals | Formaldehyde (HCHO) |
|------------------------------------|--|
| Diffusivity | $D_a = 0.15 \times 10^{-4} \text{ [m}^2/\text{s]}$ (Formaldehyde in air) $D_t = 8.08 \times 10^{-10} \text{ [m}^2/\text{s]}$ (Epithelium + mucus) $D_b = 1.62 \times 10^{-9} \text{ [m}^2/\text{s]}$ (Sub-epithelium) |
| Formaldehyde concentration | C_a (in air), C_t (in epithelium + mucus), C_b (in sub-epithelium) |
| Partition coefficient | $P_{t,air} = 101.5 \text{ [m}^3/\text{m}^3]$ (Tissue: air) $P_{b,t} = 1.0 \text{ [m}^3/\text{m}^3]$ (Tissue: blood) |
| Metabolism | $K_{ml} = 2.01 \times 10^5 \text{ [}\mu\text{g/ m}^3]$ $V_{maxIC} = 1.96 \times 10^7 \text{ [}\mu\text{g/ m}^3/\text{s]}$ $K_f = 1.8 \times 10^{-2} \text{ [s}^{-1}]$ |
| Non-specific binding | $K_b = 1.07 \times 10^{-7} \text{ [s}^{-1}]$ |
| Blood flow | $Q_b = 9.868 \times 10^{-5} \text{ [m}^3/\text{s}]$ (= 5920.6 [mL/min]) |
| Compartment 1 (Mucus + epithelium) | Surface area of nasal cavity (18.97×10^{-3}), oral cavity (5.96×10^{-3}), Pharynx/larynx (11.05×10^{-3}), trachea (4.54×10^{-3}), Main bronchi (3.37×10^{-3}), 2 bronch + bronchioles (8.73×10^{-3}) [m^2] $V_b = 3.4479 \times 10^{-3} \text{ [m}^3]$, $L_t = 6.55 \times 10^{-5} \text{ [m]}$ |
| Compartment 2 (Subepithelium) | $V_b = 0.7896 \times 10^{-3} \text{ [m}^3]$, $L_b = 1.5 \times 10^{-5} \text{ [m]}$ |

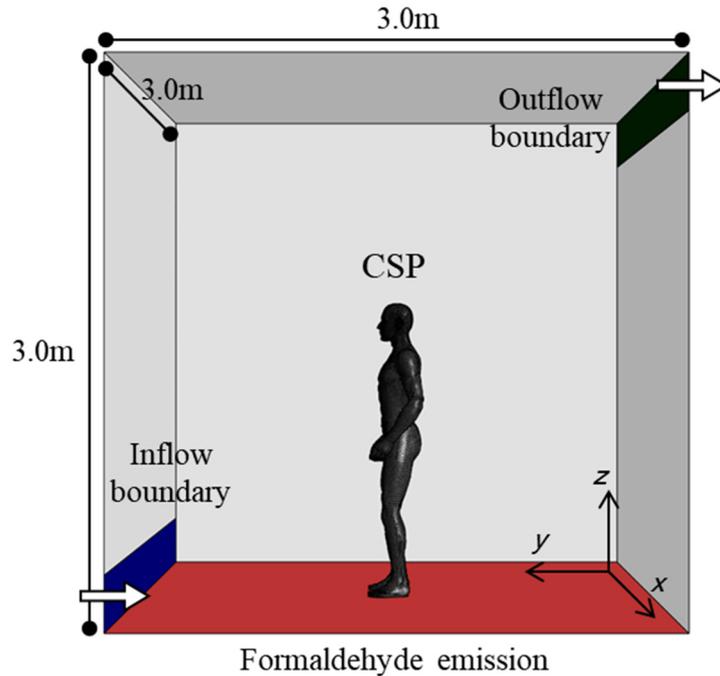
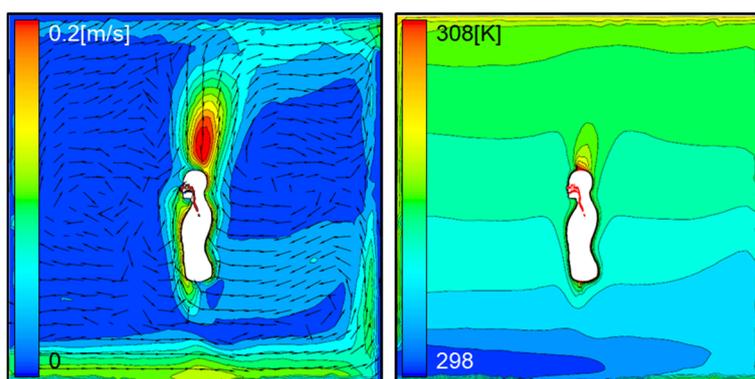


図2 解析対象空間の概要

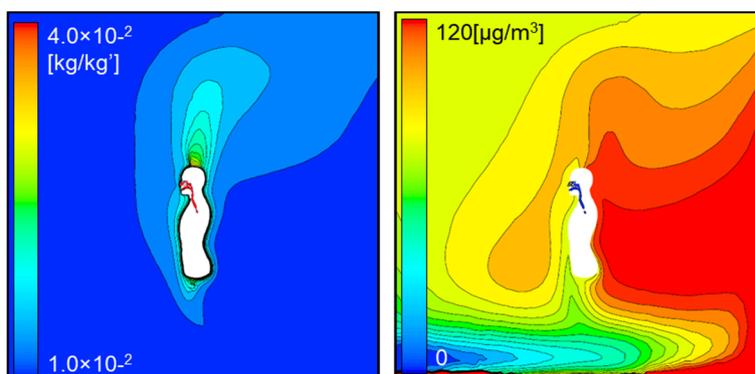
表2 非定常呼吸サイクルを再現した非定常 PBPK-CFD-CSP 連成解析の数値解析条件 (CFD)

| | |
|------------------------------------|---|
| Turbulence Model | Low Re number type $k-\varepsilon$ model (Abe-Kondoh-Nagano Model, 3D Cal.) |
| Mesh | Virtual airway (inside respiratory tract): 7.6 million tetrahedral mesh (unstructured) Analytical domain around the CSP: 2.4 million prism & tetrahedral mesh (unstructured) |
| Algorithm | SIMPLE (Unsteady) |
| Scheme | Convection Term: QUICK |
| Inflow boundary (Airway model) | Q_{in} = unsteady breathing cycle (in Fig 4), 16.6 L/min $k_{in} = 3/2 (U_{in} \times 0.05)^2$, $\varepsilon_{in} = C_{\mu}^{3/4} k_{in}^{3/2} l_{in}$ T_{air} , φ_{in} : Feedback from CSP simulation |
| Inflow boundary (Room model) | Velocity Inlet, $V_{in,r} = 0.1$ m/s, $T_{in,r} = 298$ K, $\varphi_{in,r} = 50\%$ RH |
| Outflow boundary (Airway model) | Boundary type: Pressure boundary |
| Outflow boundary (Room model) | $U_{out} = k_{out} = \varepsilon_{out} = \text{Gradient zero}$ |
| Wall treatment (Respiratory tract) | Velocity: no slip Temperature; $T_{wall\ surface}$: Calculated by 2-node model (T_{cr}) Humidity; $\varphi_{wall\ surface} = 99\%$ RH Contaminant: equation (3) |
| Wall treatment (CSP) | 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 $M = 75.5$ W/m^2 Body height $H = 1.736$ [m], Body weight $W = 65$ [kg], Body surface area $BSA = 1.745$ [m^2] |



(a) Scalar velocity distribution (b) Temperature distribution



(c) Absolute humidity distribution (d) Formaldehyde concentration distribution

図3 流れ場・温度場・ホルムアルデヒド濃度場等の解析結果



(1) 0.0 [s] (2) 1.0 [s] (3) 2.0 [s] (4) 3.0[s]
 図4 非定常呼吸サイクルを再現した場合の上気道内流れ場・濃度場等の解析結果
 (上図は流れ場, 下図はホルムアルデヒド濃度分布)

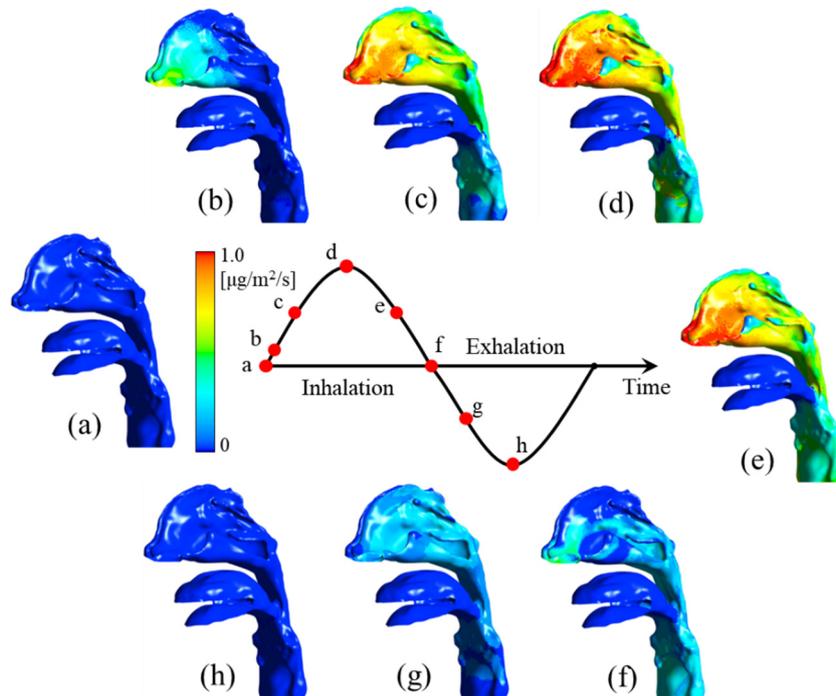


図5 上気道内の粘膜上皮に対するホルムアルデヒド吸着フラックスの時間変化

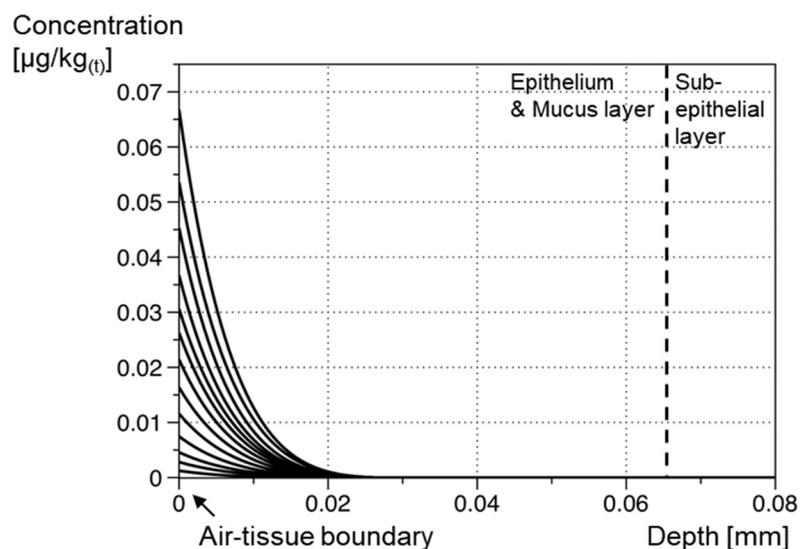
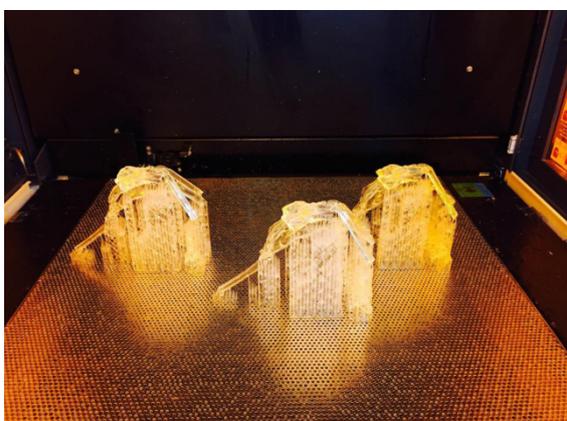


図6 鼻腔内粘膜上皮・粘膜下組織を対象としたPBPK非定常解析結果の一例

表3 アカゲザルの数値気道モデルの基本情報

| | |
|--|--|
| Total inner surface area | 2.81×10^{-5} [m ²] |
| Total length | 1.05×10^{-1} [m] |
| Maximum height | 4.32×10^{-2} [m] |
| Maximum width | 2.81×10^{-2} [m] |
| Area of naris (right)/ Equivalent diameter | 5.48×10^{-6} [m ²]/ 2.64×10^{-3} [m] |
| Area of naris (left)/ Equivalent diameter | 5.46×10^{-6} [m ²]/ 2.64×10^{-3} [m] |
| Area of mouth/ Equivalent diameter | 4.08×10^{-6} [m ²]/ 7.21×10^{-3} [m] |
| Area of Larynx/ Equivalent diameter | 2.81×10^{-5} [m ²]/ 5.98×10^{-3} [m] |
| Total meshes | 7.03 million (unstructured) |

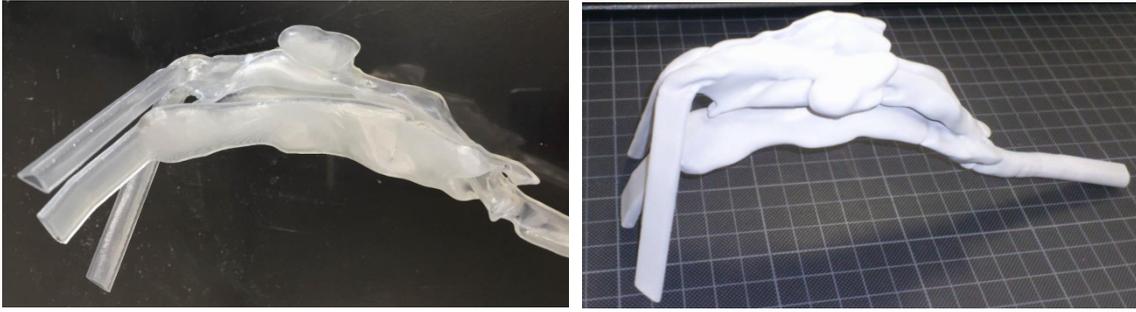


(1) 光造形直後の様子

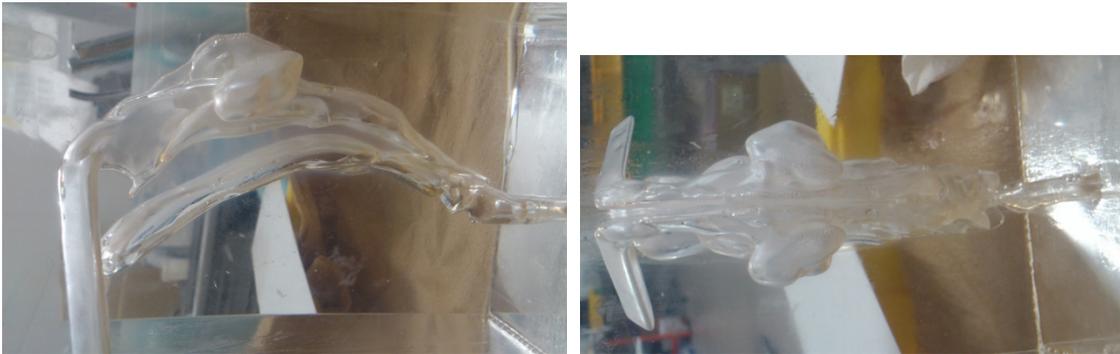


(2) 洗浄と仕上げ (樹脂の洗い落としと簡易研磨)

(モデル周囲はサポート用の樹脂)



(3) 洗浄と仕上げ (拡大図) (4) 表面処理 (表面の造形目除去とサーフェーサー塗布)

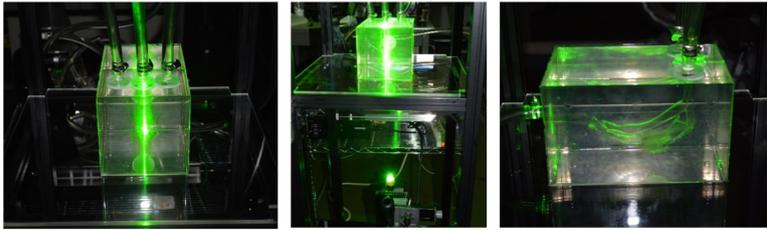


(5) シリコン製の Positive Model

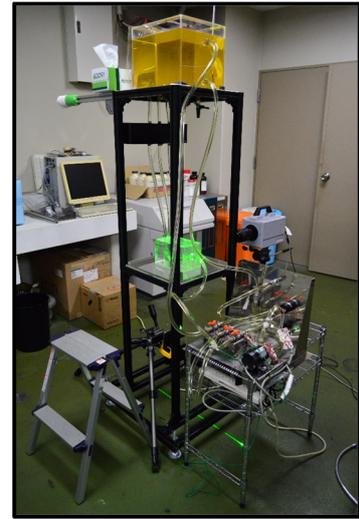
図7 アカゲザルの3Dシリコンモデルの作成手順

表4 PIV計測での流量設定条件

| Q_{air} (L/min) | Q_{Nat} (L/min) | V_{Nat} (m/s) | Reynolds number (Re) | Nominal time constant (s) | Recording time (s) |
|-------------------|-------------------|-----------------|--------------------------|---------------------------|--------------------|
| 4 | 0.2826 | 0.0745 | 938 | 9.12 | 10.914 |
| 6 | 0.4239 | 0.1118 | 1407 | 6.41 | 10.914 |
| 10 | 0.7066 | 0.1863 | 2346 | 3.64 | 5.547 |
| 14 | 0.9892 | 0.2608 | 3284 | 2.60 | 5.547 |
| 18 | 1.2718 | 0.3353 | 4222 | 2.03 | 2.7285 |
| 20 | 1.4121 | 0.3725 | 4692 | 1.84 | 2.7285 |
| 22 | 1.5544 | 0.4098 | 5161 | 1.49 | 2.7285 |



✓ Details of the monkey's silicon airway



✓ View of experimental PIV apparatus

図8 PIV計測実験の概要

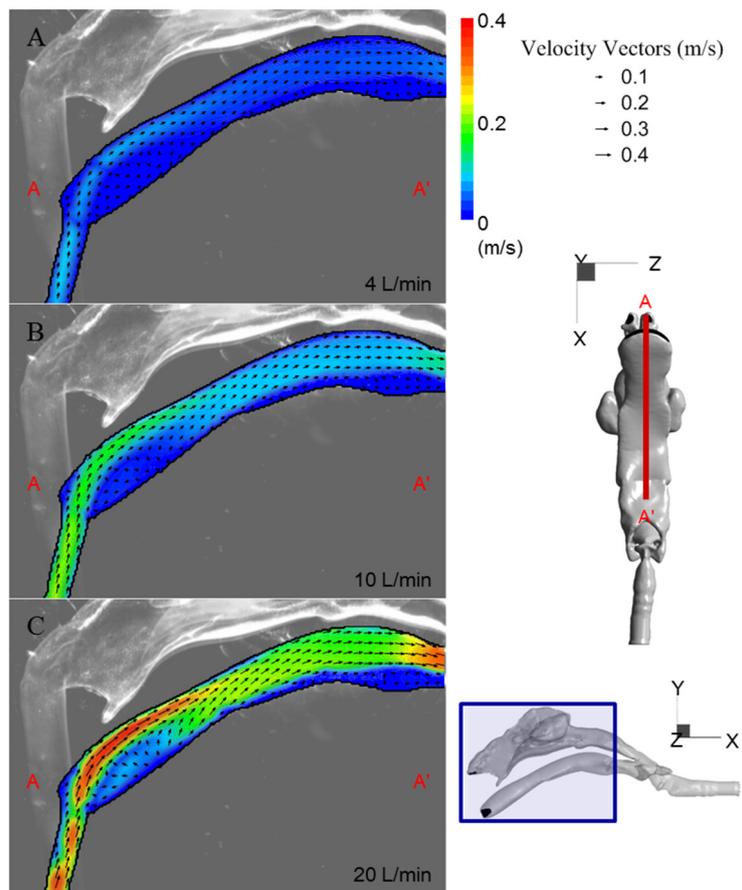


図9 サル上気道モデル内の平均風速分布計測結果 (口呼吸条件)

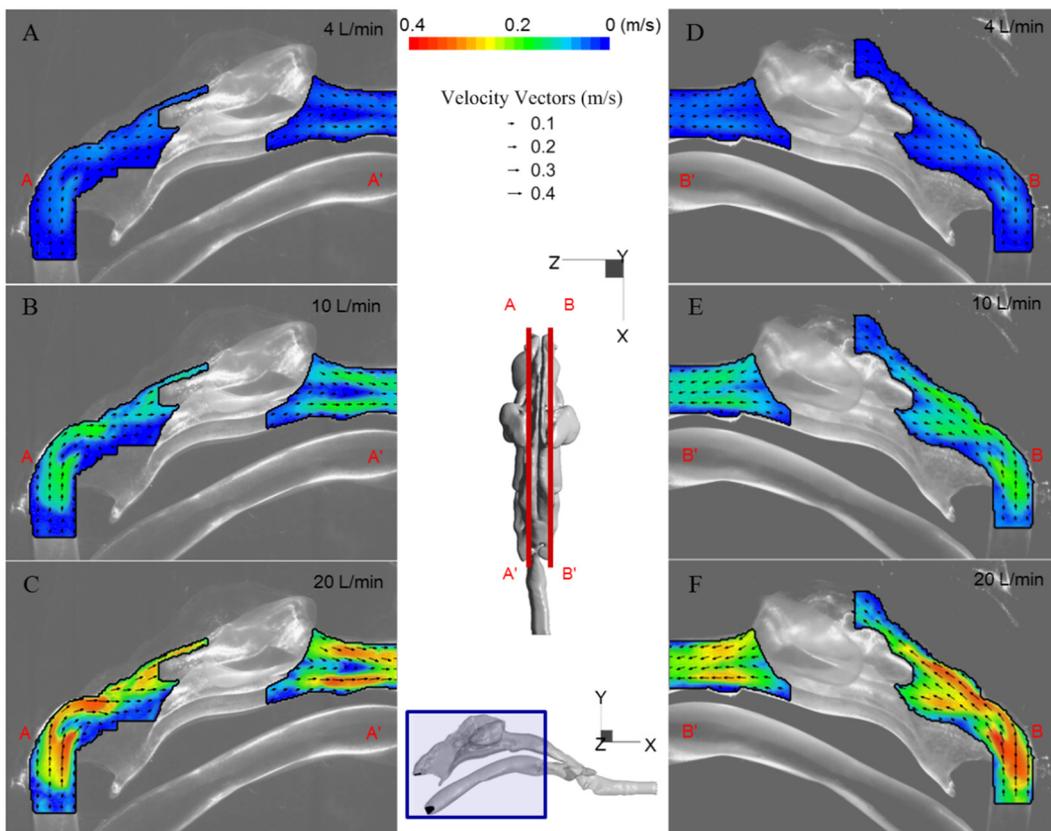


図 10 サル上気道モデル内の平均風速分布計測結果 (鼻呼吸条件)

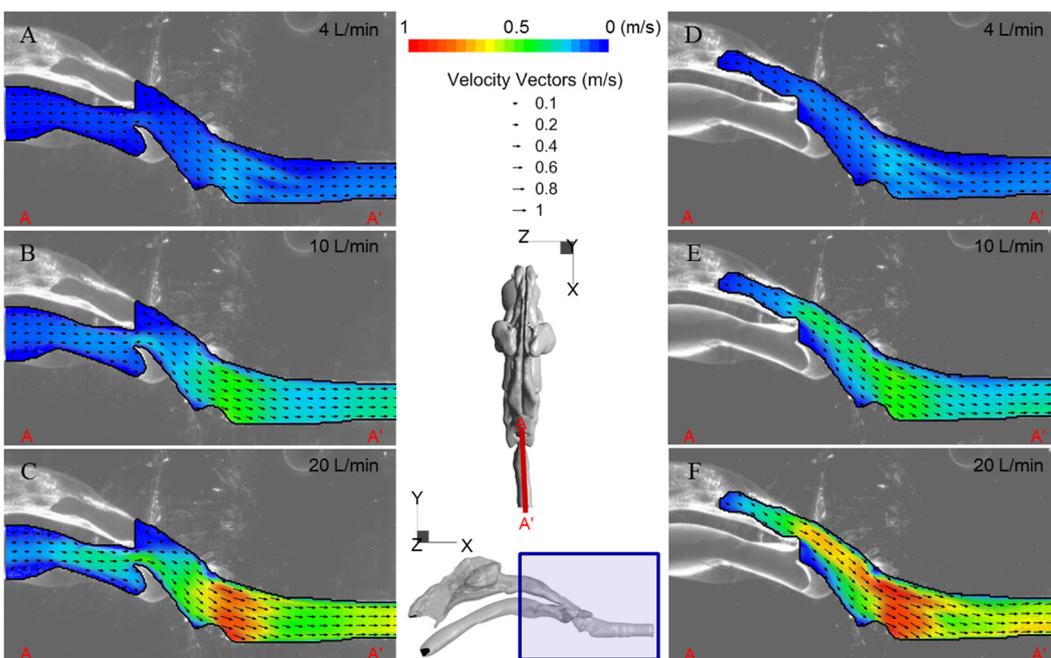


図 11 咽頭部での流れ場計測結果

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 評価系を用いて、研究班共通検討対象物質に選定した 2-Ethyl-1-hexanol、2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol monoisobutyrate (TexanolTM, TMPD-MIB と略す)および 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (TXIBTM, TMPD-DIB と略す)の 3 物質のうち、ヒト TRPA1 チャネルに対して濃度依存的な活性化を引き起こした、2-Ethyl-1-hexanol と TMPD-MIB について、化粧品や家庭用品に使用される (-)-Menthol との複合曝露の影響を検討した。その結果、2-Ethyl-1-hexanol、TMPD-MIB および(-)-Menthol 処理によって、これら化合物の単独処理では TRPA1 の活性化が認められない濃度域において、TMPD-MIB と (-)-Menthol の同時処理、2-Ethyl-1-hexanol と(-)-Menthol の同時処理によって顕著な TRPA1 の活性化が認められることが判明した。さらに、化学物質複合曝露による活性化機構をあきらかにする目的で、作用機序の異なるアゴニストを用いて検討したところ、作用機序の異なる 2 種化合物の処理により、TRPA1 が相乗的に活性化することが明らかとなり、この相乗的な活性化には TRPA1 の C 末端への Calmodulin の結合が関与していることが示唆された。

研究協力者：前川 梨沙 (名城大学薬学部薬学科)、森 葉子 (名城大学薬学部薬学科)、桃井 夢子 (横浜薬科大学薬学部)

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^{1,2)}。初年度の研究に

においては、hTRPV1 および hTRPA1 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 (mTRPA1)アッセイ系の開発についてもあわせて行った³⁾。

また、昨年度の研究では、これまでに樹立した hTRPA1 および mTRPA1 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。

本年度においては、第 21 回 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策定候補物質として追加されることが検討された 2-Ethyl-1-hexanol、2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol monoisobutyrate (TexanolTM, TMPD-MIB と略す) および 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (TXIBTM, TMPD-DIB と略す) について TRPA1 に対する活性化を評価するとともに、それら化合物の侵害刺激におよぼす(-)-Menthol の効果について hTRPA1 高発現細胞株を用いて評価した。さらに、作用機序の異なる 2 種類の TRPA1 アゴニストの相互作用について検討を加えた。

B. 実験方法

B-1. Calcium Mobilization Assay

hTRPA1 安定発現細胞株 (Flp-In-293/hTRPA1 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 細胞を Poly-D-Lysine-coated 96-well Dish に 3.5×10^5 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 細胞 n の細胞内 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

B-2. Western Blot Assay と Immuno-Precipitation Assay

Flp-In 293/hTRPA1 細胞を 60 mm ディッシュ (IWAKI 社製) に播種し一晩培養したのち、Component B 4 mL を各ディッシュに添加して 2 時間培養後、被験物質 1 mL を加えて 1 分後に Protease Inhibitor Cocktail (EDTA-free) を含む RIPA buffer 500 µL で細胞を回収して Whole cell lysate を調製した。

7.5% ミニプロテイン® TGXTM プレキャストゲル (BIO-RAD 社製) を用いて Whole cell lysate を SDS-PAGE で分離し、PVDF 膜 (ATTO 社製) に転写した。3% BSA 溶液で一晩ブロッキング後、一次抗体として anti-phosphoserine antibody、二次抗体として peroxidase -linked anti-mouse antibody を用い

てリン酸化タンパク質を検出した。

また、Calmodulin と TRPA1 タンパク質との相互作用をあきらかにする目的で、Whole cell lysate を anti-Calmodulin で免疫沈降し、上記と同様 Anti-V5-HRP Antibody を用いる Western Blot Assay を行った。

タンパク質の検出には Pierce™ ECL Plus を用い、Typhoon FLA-9000 (GE ヘルスケア社製)にて蛍光シグナルを解析した。

C. 結果と考察

C-1. hTRPA1 活性化における新規室内濃度指針値策定候補物質と(-)-Menthol の相乗作用

TMPD-MIB 、 2-Ethyl-1-hexanol および (-)-Menthol 単独処理による hTRPA1 の活性化を図 1 に示す。これら化合物単独処理によって hTRPA1 の濃度依存的な活性化が認められるが (図 1)。これら化合物の単独処理では hTRPA1 の活性化が認められない濃度領域において、 TMPD-MIB と (-)-Menthol の同時処理、2-Ethyl-1-hexanol と (-)-Menthol の同時処理によって顕著な hTRPA1 の活性化が認められることが判明した (図 2)。

C-2. Cinnamaldehyde 前処理による (-)-Menthol の TRPA1 活性化増強

(-)-Menthol の TRPA1 活性化における Cinnamaldehyde を前処理の影響を検討した。Cinnamaldehyde 単独処理では TRPA1 の顕著な活性化認められない濃度領域において、Cinnamaldehyde で処理し、その約 20 秒後に (-)-Menthol で処理することにより、濃度依存的な TRPA1 活性の増強が認められた (図 3)。

C-3. Cinnamaldehyde 処理による TRPA1 タンパク質リン酸化ならびに Calmodulin との相互作用

Allyl Isothiocyanate や Cinnamaldehyde などは、hTRPA1 チャンネルのシステイン残基の酸化修飾反応により活性化する可能性が示されているが、この活性化に關与する 3CK (C621, C641, C665, K710) 領域とは別に、 (-)-Menthol や Linalool が作用する ST (S873, T874) 領域が存在し、 3CK 領域はシステイン残基との共有結合による活性化部位として、また ST 領域はリガンド結合による活性化部位として作用すると考えられている。

近年、プロテインキナーゼ A による TRPA1 の Ser 残基のリン酸化⁴⁾、ならびに低濃度のカルシウムイオンの流入による C 末端領域への Calmodulin の結合⁵⁾が TRPA1 の活性化の増強機序として示唆された。そこで本研究では、作用機序の異なる 2 種類の TRPA1 アゴニストの複合曝露時の活性化メカニズムをあきらかにする目的で、TRPA1 のリン酸化ならびに TRPA1 の C 末端領域への Calmodulin の結合に関して検討した。

Flp-In-293/hTRPA1 細胞を Cinnamaldehyde (15.6 μ M, 31.2 μ M) で処理しても、今回の実験条件下では、hTRPA1 タンパク質のリン酸化の亢進は認められなかった (図 4)。

一方、Cinnamaldehyde (15.6 μ M, 31.2 μ M) で処理した Flp-In-293/hTRPA1 細胞の whole cell lysate を anti-Calmodulin で免疫沈降して、抗 V5 抗体を用いて検出したところ、Cinnamaldehyde 処理群では、hTRPA1

に相当する分子サイズの位置にシグナルが検出された (図 5)。この結果は、Cinnamaldehyde によって Calmodulin と TRPA1 の結合が促進される可能性を示唆している。すなわち、Cinnamaldehyde の処理によって細胞内の Ca イオン濃度が増加し、Calmodulin が TRPA1 の C 末端に結合することが相乗的活性化に寄与している可能性が考えられる。

D. 結論

本研究では、これまでに樹立した hTRPA1 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 の活性化とそれら化学物質の複合曝露による影響を検討した。その結果、新指針値策定候補物質として提案された、2-Ethyl-1-hexanol および TMPD-MIB による hTRPA1 の活性化は、化粧品や家庭用品に使用される (-) -Menthol の同時処理によって相乗的に増強されることが判明した。

また、作用機序の異なる 2 種類のアゴニストを処理することにより TRPA1 が相乗的に活性化することが明らかとなり、その機序として TRPA1 の C 末端への Calmodulin の結合が関与している可能性が示唆された。

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受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. Meents JE, Fischer MJM, McNaughton PA: Sensitization of TRPA1 by Protein Kinase A. PLoS ONE 12(1): e0170097. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170097> (2017).
5. Hasan R, Leeson-Payne ATS, Jaggar JH, Zhang X: Calmodulin is responsible for Ca²⁺-dependent regulation of TRPA1 Channels. Sci Rep., 7, 45098 doi:10.1038/srep4509845098 (2017).

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

なし

学会発表

1. 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 磯部 隆史, 青木 明, 植田 康次, 岡本 誉士典, 埴岡 伸光, 神野 透人: 室内濃度指針値策定候補物質によるヒト侵害受容体 TRPA1 活性化とその種差: 第 44 回日本毒性学会学術年会, 横浜, 2017 年 7 月

2. 前川 梨沙, 青木 明, 岡本 誉士典,
植田 康次, 大河原 晋, 埴岡 伸光,
香川(田中) 聡子, 神野 透人: 作用機
序の異なる 2 種類のアゴニストによ
るヒト侵害受容器 TRPA1 の相乗的活
性化, フォーラム 2017 衛生薬学・環
境トキシコロジー, 仙台, 2017 年 9 月
 3. 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 磯部 隆
史, 長谷川 達也, 埴岡伸光, 神野透人:
侵害刺激受容体を活性化する金属化
合物に関する研究, メタルバイオサイ
エンス研究会 2017, 岡山, 2017 年 10
月
 4. 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 磯部 隆
史, 青木 明, 植田 康次, 岡本 誉士典,
埴岡 伸光, 神野 透人: 新規室内濃度
指針値策定候補物質によるヒト侵害
受容体 TRPA1 活性化とその種差, 平
成 29 年室内環境学会学術大会, 佐賀,
2017 年 12 月
 5. 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 百井 夢
子, 磯部 隆史, 青木 明, 植田 康次,
岡本 誉士典, 埴岡 伸光, 神野 透人:
TRPA1 活性化における新規室内濃度
指針値策定候補物質と(-)-Menthol の
相乗作用, 日本薬学会第 138 年会, 金
沢, 2018 年 3 月
- 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

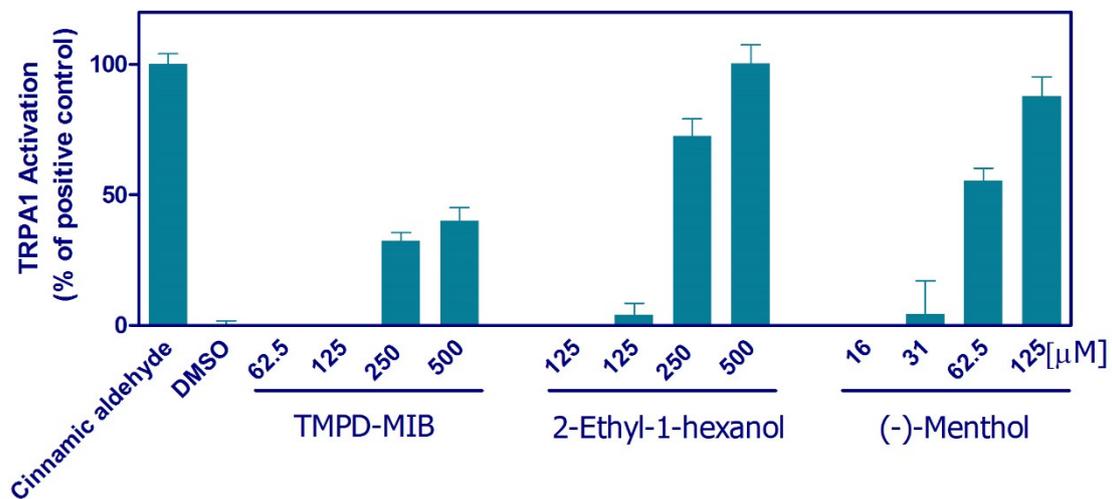


図1 TMPD-MIB、2-Ethyl-1-hexanol およびによるヒト TRPA1 の活性化

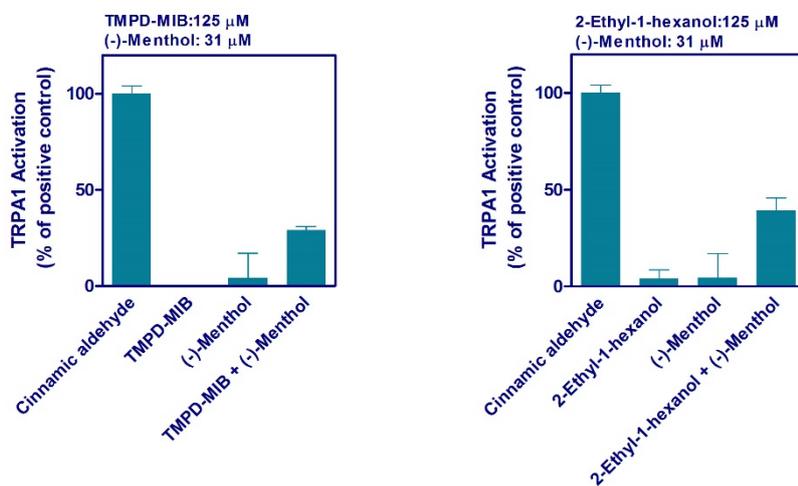


図2 TMPD-MIB および 2-Ethyl-1-hexanol によるヒト TRPA1 の活性化における (-) - Menthol による増強

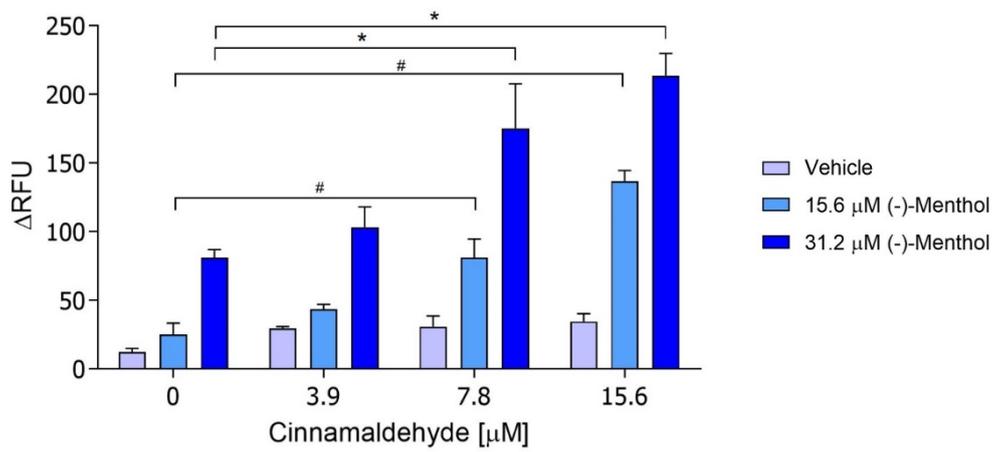


図3 (-) - Menthol によるヒト TRPA1 の活性化における
Cinnamaldehyde 前処理の影響
(#, * ; $p < 0.001$)

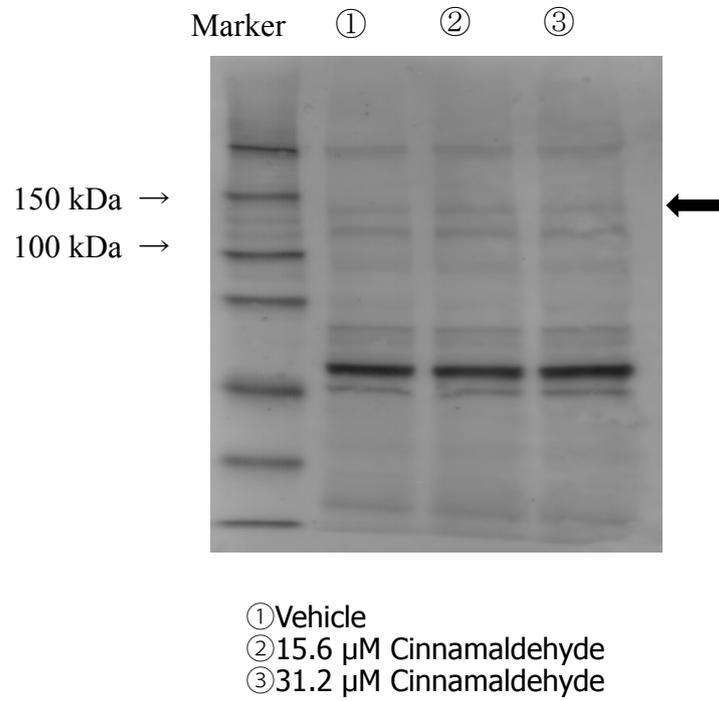


図4 ヒト TRPA1 のリン酸化におよぼす Cinnamaldehyde の影響

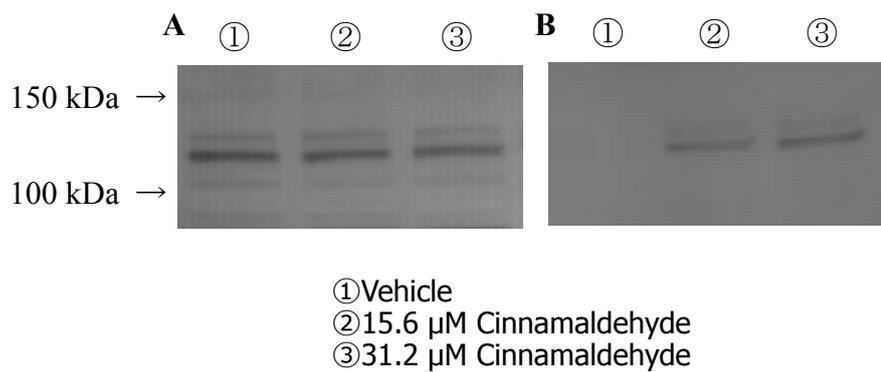


図5 Cinnamaldehyde によるヒト TRPA1 への Calmodulin の結合

(A) IB: anti-V5 (Whole cell lysate), (B) IP: anti-Calmodulin, IB: anti-V5

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

今年度は室内空気汚染実態全国調査で検出が報告されている化合物や、欧州連合 (European Union: EU) でアレルギー性が指摘されている香料化合物など、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、計 33 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、14 化合物が陽性と分類された。EU でアレルギー性が指摘されている 21 種類の香料化合物のうち、本研究で陽性に分類されたのは 9 化合物であった。また、職業性の接触皮膚炎が報告されている monoethanolamine 等は陰性に分類された。DPRA では感作性の弱い化合物で、偽陰性と判定される可能性があることが指摘されている。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。本年度の試験では、複数の化合物が陽性と分類されたが、Lys-peptide への結合性には違いが認められた。これらのうち、Lys/Cys が大きかった化合物については、気道感作性の可能性を考慮して、今後、様々な毒性試験や疫学調査などにより総合的な評価を行う必要があるものと考えられる。

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¹⁾され、建築基準法では 2 種類の化学物質が規制対象²⁾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³⁾。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き初期リスク評価、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작성評価を目的としている。

化学物質の感작성については、皮膚感작성と気道感작성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⁴⁾。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작성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작성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작성がある物質(第1群)、人間に対しておそらく感작성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작성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⁵⁾。ただし、気道感작성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^{4,6)}。そのため、気道感작성物質として確認されている化学物質数は皮膚感작성物質に比べると非常に少ないのが現状である⁵⁾。

化学物質の感작성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) を考慮した試験法が開発が行われている。皮膚感작성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⁷⁾。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⁸⁾によって開発され、現在はOECDのテストガイドライン⁹⁾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^{6,10)}。

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。これまでに、グリコール類、プロピレングリコールエステル類、ポリ環状シロキサン類及び香料類など 49 化合物について評価を実施した。今年度は、全国調査で室内空気から検出が報告されている化合物や、欧州連合 (European Union: EU) でアレルギー性が指摘されている香料化合物など、計 33 化合物について評価を実施した。

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¹¹⁾。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ア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 (v/v) 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 μ L に 200 μ L のアセトニトリル及び被験対象物質溶液 50 μ l 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 μ L に 250 μ L 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との保持時間の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⁹⁾。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。また、Cysteine 1:10/Lysine 1:50 prediction model でペプチド減少率が

陽性判定のクライテリア付近（3~10%）の場合に再試験を実施した。

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⁹⁾。本研究では、一昨年度に、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¹²⁾。

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プラーラック温度は 30℃及び 25℃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

各被験物質について、各ペプチドとの

共溶出を確認した。その結果、Cys-peptide に対して共溶出する被験物質は認められず、Lys-peptide に対して isoeugenol 及び methyl dibromoglutaronitrile の 2 種類で共溶出が認められた。そのため、これら 2 つの化合物については Cys-peptide 1:10 prediction model で評価を行った。

C2. 各被験物質の評価結果

本年度試験した 33 化合物の評価結果を Table 3 に示した。今年度試験した化合物では、33 化合物のうち、14 化合物が陽性と分類され、その他の化合物は陰性と分類された。

室内空気汚染全国実態調査³⁾で検出が報告されている、methylcyclohexane、hexanal 及び nonanal のうち、後者の 2 化合物が陽性と分類された。Hexanal 及び nonanal の工業的な主用途は香料及び香料原料^{13,14)}であるが、針葉樹建材から放散し室内空気中から検出されることも報告されている¹⁵⁾。これらの化合物について、感作性に関する臨床報告は調べた限りでは認められないが、hexanal についてはマウスを用いた局所リンパ節アッセイ (Local Lymph Node Assay: LLNA) において陽性と報告されている¹⁶⁾。

対象とした 23 種類の香料化合物のうち、(1R)-(+)- α -pinene 及び(-)- β -pinene を除く 21 種類は、EU の化粧品指令においてアレルギー性物質として表示が義務付けられている香料に該当する¹⁷⁾。この 21 種類の香料のうち、Table 1 の上から順に α -amylcinnamaldehyde から isoeugenol までの 12 種類は”List A: Fragrance chemicals, which according to existing knowledge, are

most frequently reported and well-recognized consumer allergens”とされているが、そのうち 7 種類が陽性と分類された。一方、残りの 9 種類は”List B: Fragrance chemicals, which are less frequently reported and thus less documented as consumer allergens”とされているが、そのうち 2 種類が陽性と分類された。このように、List A に掲載されているアレルギー性が広く認められている香料の方が、List B に掲載されている香料よりも多く陽性と分類されたが、陰性と分類された化合物も多かった。Coumarin は EU では List A に掲載されているが、本研究や DPRA 開発時の報告¹⁸⁾では陰性に分類されている。また、 α -amylcinnamaldehyde 及び α -hexylcinnamaldehyde については、DPRA 開発時の報告¹⁸⁾では week sensitizer に分類されていたが、本研究では陰性に分類された。DPRA では感作性の弱い化合物で、偽陰性と判定される可能性があることが指摘されている⁷⁾。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、(1R)-(+)- α -pinene 及び(-)- β -pinene は陰性と分類された。

防腐剤 3 種類のうち、bronidox 及び DMDM hydantoin は、昨年度報告した bronopol と同様にホルムアルデヒドドナー型防腐剤である^{19,20)}。DMDM hydantoin については、臨床において複数例のアレルギー性接触皮膚炎が報告されている^{19,20)}。一方、bronidox については、臨床における感作例はほとんど報告されていない^{19,20)}。Methyl dibromoglutaronitrile については、これまでに臨床での感作例が報告されており、感作物質として認識されて

いる²¹⁾。本研究では、これら3種類の防腐剤はいずれも陽性に分類された。

本研究では4種類のアミン類について評価を実施したが、いずれも陰性と分類された。そのうち、エタノールアミン類（モノ、ジ、トリ）3種類については、動物試験では感作性が認められないが、ヒトでは感作が報告されている²²⁾。具体的には、感作が多く報告されているのは金属加工（切削）に従事している労働者における職業性接触皮膚炎であり、機械の潤滑油（切削液）に monoethanolamine が含まれており、手の皮膚バリアが破壊された状態で頻繁に暴露されることが原因と考えられている。そのため、これらの化合物は感作性が弱い可能性が考えられ、結果として DPRA では陰性に分類されたものと考えられた。

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¹⁰⁾。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。このように、DPRA で得られる被験物質の Cys-peptide 及び Lys-peptide への結合性の違いが、一定の呼吸器感作性の指標になり得る可能性が指摘されている⁶⁾。一方で、DPRA のみでは皮膚感作性と呼吸器感作性を区別することは難しく、被験物質の

呼吸器感作性については AOP を考慮し、複数の試験法を組み合わせる必要があることも指摘されている²³⁾。

本年度の試験で陽性と分類された14化合物について Lys/Cys を見ると、hexanal、citral 及び hydroxycitronellal で 1.3、1.05 及び 0.96 と 0.2 を超えていた。また、ペプチド減少率がクライテリア付近のため追加試験を実施した cinnamyl alcohol について、2回目の試験では Lys/Cys が 0.59 となった。これは、Lys-peptide の減少率が1回目（1.74%）と2回目（14.5%）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。

本年度の試験では、複数の香料化合物が陽性と分類されたが、Lys-peptide への結合性には違いが認められた。これらのうち、Lys/Cys が大きかった化合物については、気道感作性の可能性を考慮して、今後、様々な毒性試験や疫学調査などにより総合的な評価を行う必要があるものと考えられる。

D. まとめ

室内空気汚染実態全国調査で検出が報告されている化合物や、EU でアレルギー性が指摘されている香料化合物など、計33化合物について DPRA による感作性評価を実施し、14化合物が陽性と分類された。EU でアレルギーが指摘されている21種類の香料化合物については、陽性に分類されたのは9化合物であった。また、職業性の接触皮膚炎が報告されている monoethanolamine 等は陰性に分類された。

DPPA では感作性の弱い化合物で、偽陰性と判定される可能性があることが指摘されている⁷⁾。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。本年度の試験では、複数の化合物が陽性と分類されたが、その Lys-peptide への結合性には違いが認められた。これらのうち、Lys/Cys が大きかった化合物については、気道感作性の可能性を考慮して、今後、様々な毒性試験や疫学調査などにより総合的な評価を行う必要があるものと考えられる。

E. 研究発表

E1. 論文発表

1) Kawakami T., Isama K., Kagawa-Tanaka T., Jinno H. Analysis of glycols, glycol ethers, and other volatile organic compounds present in household water-based hand pump sprays, *J. Environ. Sci. Health Part A*, 52, 1204-1210, 2017.

E.2 学会発表

1) 小野敦・渡辺真一・菅原経継・若林晃次・田原宥・堀江宣行・藤本恵一・草苺啓・黒川嘉彦・寒水孝司・中山拓人・草生武・河上強志・小島幸一・小島肇・Jon Richmond・Nicole Kleinstreuer・Bae-Hwa Kim・山本裕介・藤田正晴・笠原利彦: 新規 in chemico 皮膚感作性試験 ADRA 法の多施設バリデーション試験: 第1報, 第44回日本毒性学会学術年会, 横浜, 2017年7月

2) Ono A., Watanabe S., Sugawara T., Wakabayashi K., Tahara T., Horie N., Fujimoto K., Kusakari K., Kurokawa Y.,

Sozu T., Nakayama T., Kusao T., Kawakami T., Kojima K., Kojima H., Richmond J., Kleinstreuer N., Kim B.H., Yamamoto Y., Fujita M., Kasahara T. Phase-1 of the validation study of Amino acid Derivative Reactivity Assay (ADRA): a novel in chemico alternative test method of skin sensitization. (The 10th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, Seattle, Aug., 2017)

- 3) 藤田正晴・山本裕介・渡辺真一・菅原経継・若林晃次・田原宥・堀江宣行・藤本恵一・草苺啓・黒川嘉彦・河上強志・小島幸一・小島肇・小野敦・笠原利彦: 新規 in chemico 皮膚感作性試験 ADRA 法に使用する Cys 誘導体試薬 (NAC) の酸化原因および防止策の検討, 日本動物実験代替法学会第30回大会, 大田区, 2017年11月
- 4) 河上強志・秋山卓美・伊佐間和郎・小濱とも子・五十嵐良明: 亜リン酸エステル系酸化防止剤の刺激性及び感作性と家庭用 PVC 製手袋中の実態, 第47回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会・第41回皮膚脈管・膠原病研究会, 鹿児島, 2017年12月
- 5) 河上強志・伊佐間和郎・五十嵐良明・神野透人: DPPA による揮発性及び準揮発性有機化合物類の感作性評価 (第二報), 金沢, 2018年3月

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) 職場の安全サイト: ヘキサナール, <http://anzeninfo.mhlw.go.jp/anzen/gmsds/6-25-1.html>
- 14) 職場の安全サイト: ノナナール, <http://anzeninfo.mhlw.go.jp/anzen/gmsds/124-19-6.html>
- 15) 斉藤育江・大貫文・上原眞一・瀬戸博・栗田雅行・小縣昭夫: 木造新築住宅における揮発性有機化合物及びアルデヒド類の発生源調査, *室内環境*, 13, 55-64, 2010.
- 16) Patlewicz G.Y., Basketter D.A., Pease C.K., Wilson K., Wright Z.M., Roberts D.W., Bernard G., Arnau E.G., Lepoittevin J.P.: Further evaluation of quantitative structure-activity relationship models for

- the prediction of the skin sensitization potency of selected fragrance allergens, *Contact Dermatitis*, 50, 91-97, 2004.
- 17) 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
- 18) 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.
- 19) de Groot A.C., White I.R., Flyvholm M.A., Lensen G., Coenraads P.J.: Formaldehyde-releasers in cosmetics: relationship to formaldehyde contact allergy. Part 1. Characterization, frequency and relevance of sensitization, and frequency of use in cosmetics, *Contact Dermatitis*, 62, 2-17, 2010.
- 20) de Groot A.C., 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.
- 21) Erdmann S.M., Sachs B., Merk H.F.: Allergic contact dermatitis due to methylidibromo glutaronitrile in Euxyl K 400 in an ultrasonic gel, *Contact Dermatitis*, 44, 39-40, 2001.
- 22) Lessmann H., Uter W., Schnuch A., Geier J.: Skin sensitizing properties of the ethanolamines mono-, di-, and triethanolamine. Data analysis of a multicentre surveillance network (IVDK) and review of the literature, *Contact Dermatitis*, 60, 243-255, 2009.
- 23) Dik S., Rorije E., Schwillens P., van Loveren H., Ezendam J.: Can the Direct Peptide Reactivity Assay Be Used for the Identification of Respiratory Sensitization Potential of Chemicals?, *Toxicol. Sci.*, 153, 361-371, 2016.

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

| Type | Chemicals | CAS No. | Molecular weight | logKow ^a | Boiling point (°C) ^a | VOC/SVOC/POM ^b | Supplier ^c |
|--------------------|---------------------------------|------------|------------------|---------------------|---------------------------------|---------------------------|-----------------------|
| Positive Control | Cynnamic aldehyde | 14371-10-9 | 132.2 | 1.9 | 252 | VOC/SVOC | T |
| 全国調査 | Methylcyclohexane | 108-87-2 | 98 | 3.70±0.17 | 100 | VOC | W |
| | Hexanal | 66-25-1 | 100 | 1.93±0.22 | 131 | VOC | T |
| | Nonanal | 124-19-6 | 142 | 3.27 | 192 | VOC | T |
| | α-Amylcinnamaldehyde | 122-40-7 | 202 | 4.7 | 288.5 | SVOC | T |
| | α-Amylcinnamyl alcohol | 101-85-9 | 204 | 4.032±0.245 | 331.3±11.0 | SVOC | SA |
| | Benzylalcohol | 100-51-6 | 108 | 1.1 | 200 | VOC | T |
| | Benzyl salicylate | 118-58-1 | 228.25 | 4.209±0.254 | 320 | SVOC | T |
| | Cinnamyl alcohol | 104-54-1 | 134.18 | 1.95 | 250 | VOC/SVOC | T |
| | Citral (cis/trans mixtures) | 5392-40-5 | 152 | 3.127±0.359 | 229 | VOC | W |
| | Coumarin | 91-64-5 | 146 | 1.39 | 298 | SVOC | T |
| | Eugenol | 97-53-0 | 164 | 2.49 | 254 | VOC/SVOC | T |
| | Geraniol | 106-24-1 | 154 | 3.56 | 230 | VOC | T |
| | Hydroxycitronellal | 107-75-5 | 173 | 1.654±0.244 | 241 | VOC/SVOC | W |
| | Lylal | 31906-04-4 | 210 | 2.424±0.256 | 318.7±42.0 | SVOC | Ar |
| | Isoeugenol (cis/trans mixtures) | 97-54-1 | 164 | 3.08±0.25 | 266 | SVOC | T |
| | Anisyl alcohol | 105-13-5 | 138 | 0.944±0.229 | 259 | VOC/SVOC | T |
| | Benzyl cinnamate | 103-41-3 | 238 | 3.778±0.229 | 230 | VOC | T |
| | β-citronellol | 106-22-9 | 156 | 3.239±0.235 | 220 | VOC | T |
| | Famesol (isomers) | 4602-84-0 | 222.37 | 4.83±0.31 | 110~113 | VOC | T |
| | α-hexylcinnamaldehyde | 101-86-0 | 216 | 4.866±0.318 | 305 | SVOC | T |
| (+)-Limonene | 5989-27-5 | 136 | 4.2 | 176 | VOC | T | |
| Linalool | 78-70-6 | 154 | 2.97 | 200 | VOC | T | |
| Methyl-2-octynoate | 111-12-6 | 154 | 3.220±0.378 | 220 | VOC | T | |
| α-iso-Methylionone | 127-51-5 | 206 | 4.079±0.321 | 285.3±29.0 | SVOC | T | |
| (1R)-(+)-α-Pinene | 7785-70-8 | 136.24 | 4.83 | 156 | VOC | T | |
| (-)-β-Pinene | 18172-67-3 | 136 | 4.35 | 165 | VOC | T | |
| Bronidox | 30007-47-7 | 212 | 0.749±0.430 | 280.8±40.0 | SVOC | T | |
| Preservatives | DMDM hydantoin | 6440-58-0 | 188 | -1.078±0.654 | 303.7±52.0 | SVOC | JK |
| | Methyl dibromoglutaronitrile | 35691-65-7 | 266 | 1.515±0.408 | 338.6±42.0 | SVOC | SA |
| Amines | Monoethanolamine | 141-43-5 | 61 | -1.31 | 171 | VOC | W |
| | Diethanolamine | 111-42-2 | 105 | -1.43 | 269 | SVOC | W |
| | Triethanolamine | 102-71-6 | 149 | -1.59 | 335 | SVOC | SA |
| | Diethylamine | 109-89-7 | 73 | 0.58 | 55 | VOC | W |

^a These values are cited from manufacturer's safety data sheet or from Scifinder. (logKow: octanol-water partition coefficient)

^b Type of VOC/SVOC/POM is classified based on WHO definition: VOC 50-100°C~240-260°C, SVOC 240-260°C~380-400°C, POM ≥380°C)

^c T: Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.; K: Kanto Chemical Co., Inc.; J: Junsei Chemical Co., Ltd.; A: Alfa Aesar; W: Wako Pure Chemical Industries, Ltd.; Ar: Ark Pharm, Inc.; SA: Sigma-Aldrich; JK: J&K Scientific.

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 |

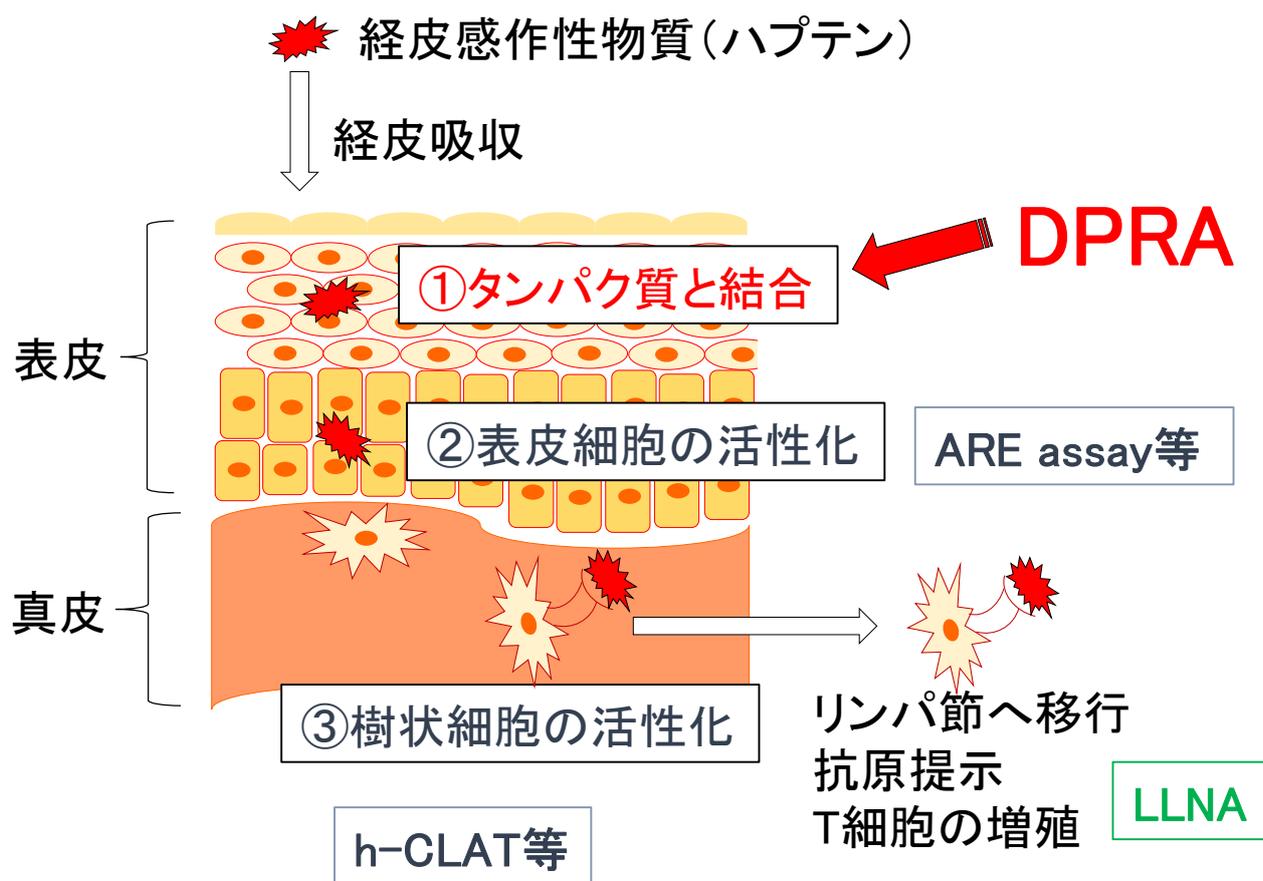
Table 3. Results of DPRA for chemicals studied.

| Type | Chemicals | Depletion (%) | | | Prediction | Lys/Cys | |
|----------------------|---------------------------------|---------------|-------------------|-----------------------|--------------------|---------------|--------|
| | | Cysteine | Lysine | Mean ^a | | | |
| 全国調査 | Methylcyclohexane | 0.17 | -0.56 | 0.08 | Negative | | |
| | Hexanal | 31.5 | 42.3 | 36.9 | Positive(Moderate) | 1.34 | |
| | Nonanal | 24.6 | 2.68 | 13.6 | Positive(Low) | 0.11 | |
| Fragrances | α -Amylcinnamaldehyde | 1.87 | 0.73 | 1.30 | Negative | | |
| | α -Amylcinnamyl alcohol | 23.0 | 1.17 | 12.1 | Positive(Low) | 0.051 | |
| | Benzylalcohol | 0.45 | 3.66 | 2.05 | Negative | | |
| | Benzyl salicylate | | 11.6 | -0.075 | 5.80 | Negative | |
| | | | 1.05 | -0.033 | 0.52 | | |
| | Cinnamyl alcohol | | 15.3 | 1.74 | 8.53 | Positive(Low) | 0.11 |
| | | | 24.5 | 14.5 | 19.5 | | |
| | Citral (cis/trans mixtures) | 18.1 | 19.0 | 18.5 | Positive(Low) | 1.05 | |
| | Coumarin | 1.34 | 0.84 | 1.09 | Negative | | |
| | Eugenol | 37.5 | 4.03 | 20.8 | Positive(Low) | 0.11 | |
| | Geraniol | 5.03 | 0.60 | 2.81 | Negative | | |
| | Hydroxycitronellal | 19.1 | 18.3 | 18.7 | Positive(Low) | 0.96 | |
| | Lylal | 75.3 | 10.4 | 42.9 | Positive(high) | 0.14 | |
| | Isoeugenol (cis/trans mixtures) | 37.3 | n.t. ^b | 37.3Cys ^c | Positive(Moderate) | | |
| | Anisyl alcohol | 2.02 | 0.83 | 1.42 | Negative | | |
| | Benzyl cinnamate | 0.63 | -0.50 | 0.32 | Negative | | |
| | β -citronellol | 1.87 | 0.61 | 1.24 | Negative | | |
| | Farnesol (isomers) | | 10.1 | -0.35 | 5.07 | Positive(Low) | -0.049 |
| | | | 13.8 | -0.67 | 6.91 | | |
| | | | 23.0 | 0.61 | 11.8 | | |
| | α -hexylcinnamaldehyde | 2.23 | -0.01 | 1.11 | Negative | | |
| | (+)-Limonene | 2.62 | -0.57 | 1.31 | Negative | | |
| | Linalool | 3.41 | 0.00 | 1.71 | Negative | | |
| | Methyl-2-octynoate | 99.2 | 3.16 | 51.2 | Positive(high) | 0.032 | |
| | α -iso-Methylionone | | 6.26 | -0.07 | 3.13 | Negative | |
| | | | 7.61 | 0.20 | 3.81 | | |
| | (1R)-(+)- α -Pinene | | 8.10 | -0.88 | 3.61 | Negative | |
| | | 11.6 | -0.69 | 5.80 | | | |
| (-)- β -Pinene | 3.28 | -1.08 | 1.64 | Negative | | | |
| Preservatives | Bronidox | 99.7 | -0.31 | 49.9 | Positive(high) | -0.0031 | |
| | DMDM hydantoin | 60.0 | 2.68 | 31.34 | Positive(Moderate) | 0.045 | |
| | Methyldibromoglutaronitrile | 100.0 | n.t. ^b | 100.0Cys ^c | Positive(high) | | |
| Amines | Monoethanolamine | 1.34 | 0.21 | 0.78 | Negative | | |
| | Diethanolamine | 2.02 | 1.48 | 1.75 | Negative | | |
| | Triethanolamine | 0.63 | -0.31 | 0.32 | Negative | | |
| | Diethylamine | 4.10 | 0.10 | 2.10 | Negative | | |

^a Negative depletion is considered as "0" when calculating the mean and underline means positive.

^b n.t.: Co-elution is observed.

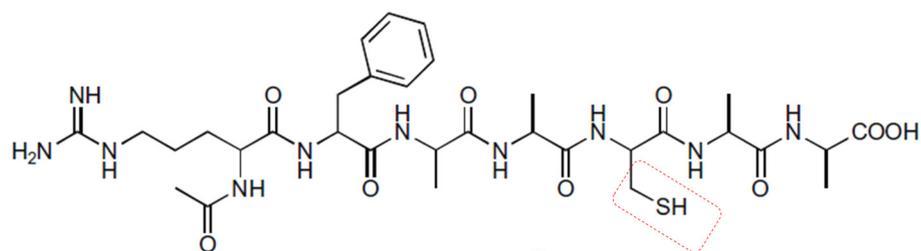
^c Using Cys-peptide 1:10 prediction model only.



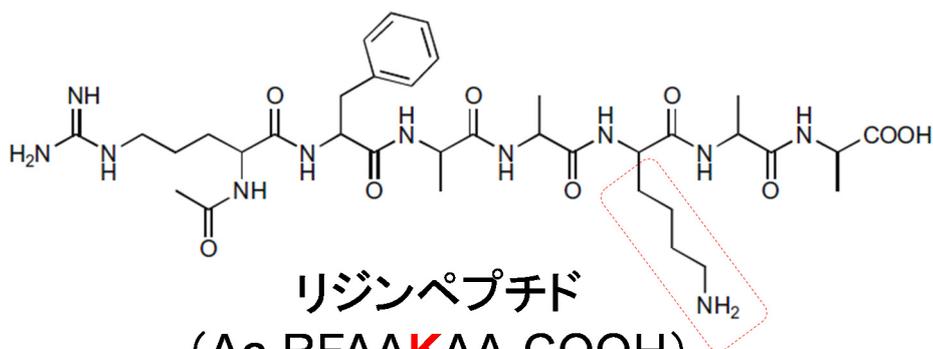
Adverse Outcome Pathway (AOP)

- 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)

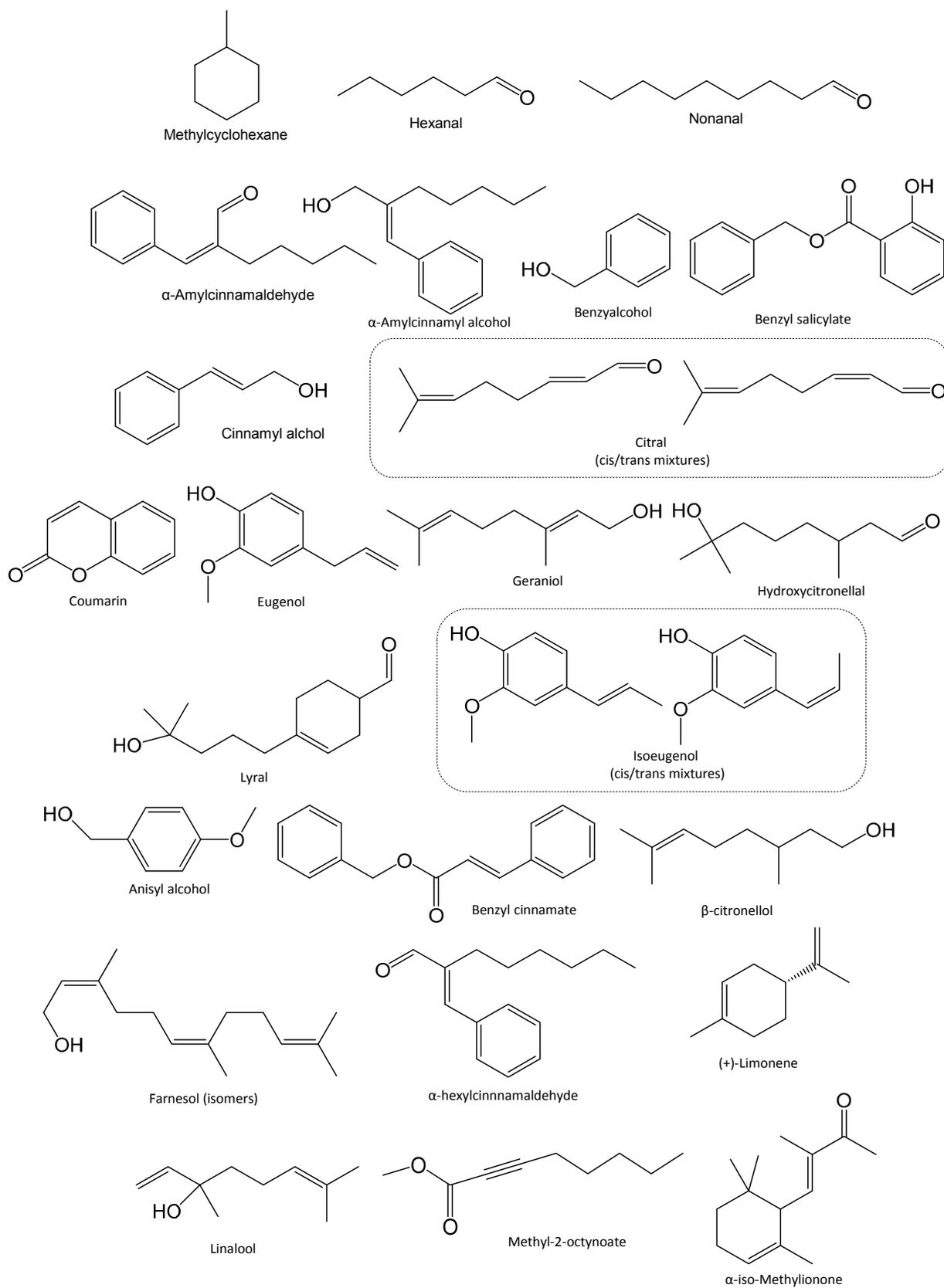


Fig. 3 被験物質の化学構造

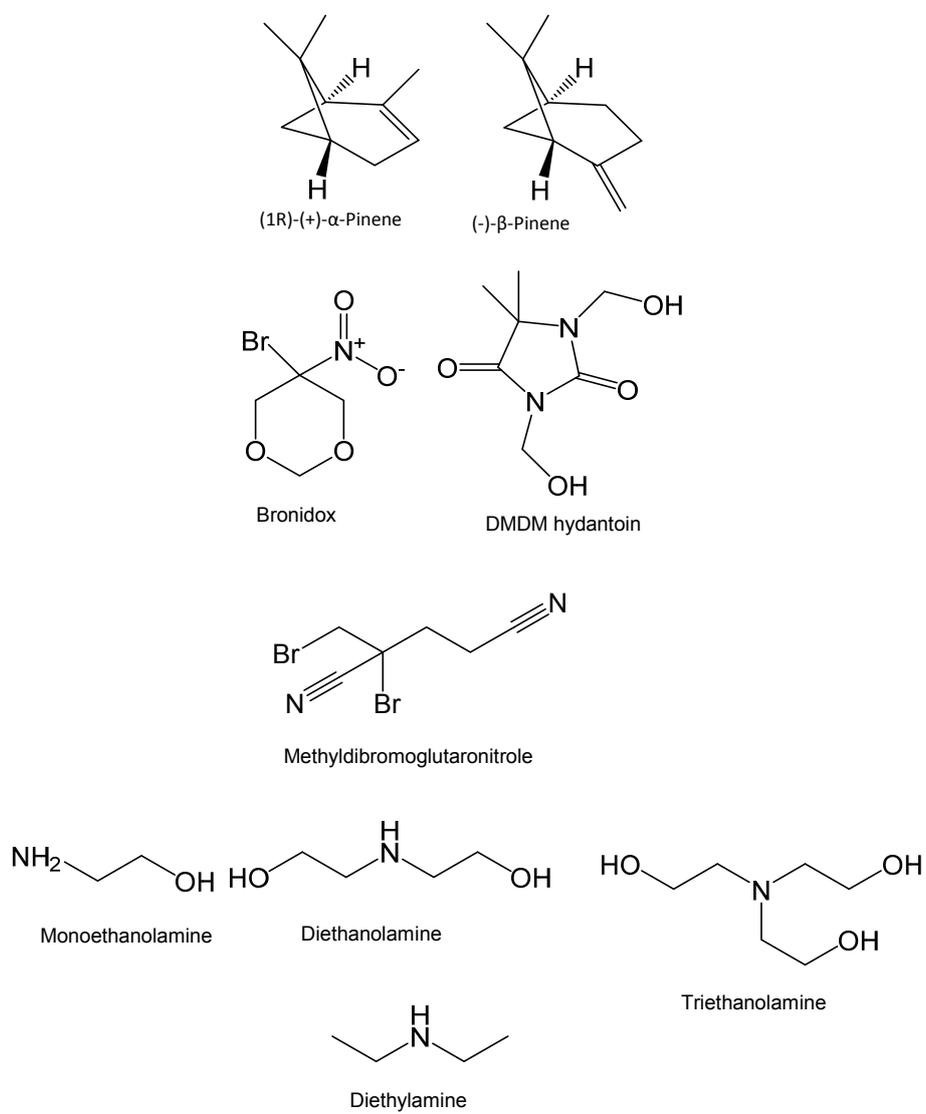


Fig. 3 被験物質の化学構造 (続き)

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

研究協力者 平岡結実 岡山大学・薬学部

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。これまでの研究により、網羅的情報収集のため JP-GHS 情報をデータベース化して気道障害性に関する情報について収集解析を行った結果、気道障害性についてはガイドライン化された試験法がないことから主に産業暴露などによるヒトにおける障害報告により区分されており、ヒトでの報告がない物質については、気道障害性に関しての区分がされていないことが確認された。JP-GHS 分類のうち関連する他の障害性との比較解析の結果、気道障害性のうち特に気道感作性については、知見の無い物質であっても、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。本年度は、気道障害性として気道感作性よりも多くの物質について報告のある気道刺激性に着目して、GHS 分類結果をもとに関連する障害性である皮膚や眼刺激性について報告のある物質を対象として、気道刺激性との関連や、物理化学的性質や構造記述子を組合せた気道刺激性評価の優先順位付けスクリーニングのための予測モデル構築を行った。

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。気道障害性についてはガイドライン化された試験法がないことから主に産業暴露などによるヒトにおける障害報告により区分されており、ヒトでの報告がない物質についての気道障害性の有無は不明なままである。これまでの研究より、気道

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

B. 研究方法

1, 解析に用いたデータセット

これまでの研究により構築した、JP-GHS データベース分類結果から気道刺激性及び関連すると思われる障害性として眼刺激性、皮膚刺激性に関する情報を整理した。各々の刺激性の陽/陰性の判断は国連 GHS 文書に記載されている分類基準にのっとり、“区分 1～3”を陽性(+)、“区分外”を陰性(-)、“分類できない”を no data(nd)とした。気道刺激性については「特定標的臓器毒性」の区分 3(気道刺激性)または区分 1(呼吸器系)に分類されているもので、GHS 文書詳細に気道刺激と思われる記述のあるものを陽性(+)とした。データセットは Instant JChem を用いて作成した。GHS 分類結果の全 3815 物質のうち、重複しているもの、CAS 番号のないもの(901 物質)を除き、気道刺激性について報告のある物質と気道刺激性について報告がなく、眼刺激性、皮膚刺激性ともに陰

性の物質を組み合わせた化学物質リストを作成した(543 物質)。また、構造情報は QSARToolbox を使用して CAS 番号を基に検索して、作成した化学物質リストの smiles を取得し、KNIME を用いて sdf ファイルに変換して解析に用いた。本研究では皮膚刺激性、眼刺激性が陽性でかつ気道刺激性について報告のある物質を「陽性」とし、皮膚刺激性、眼刺激性が陰性でかつ気道刺激性について情報のない物質を「陰性」とした。その中で金属元素を含む物質(115 物質)、ハロゲン元素を含む物質(181 物質)を除外した合計 295 物質 (金属元素・ハロゲン元素を除外した過程については後述)のうち、KNIME で化学構造を読み込めなかった 4 物質を除外した合計 291 物質を解析に用いた。

2, 解析ソフト

本研究では、以下の解析ソフトを用いた。

・ QSAR Toolbox3.4

化学物質の安全性を評価するために構造情報や各国から提供された種々の毒性試験データが集積されているシステムである。本研究では QSAR Toolbox を使用して SMILES のデータを収集し、データセットを作成した。

・ Instant JChem(version17.1.16.0)

化学構造式データベースの構築・編集・管理を行うアプリケーションである。本研究では GHS 分類結果のエクセルファイルから作成したデータセットをインポートし、新たにクエリを作成してエクスポートした sdf ファイルを KNIME に読み込ませた。

・ KNIME Analytics Platform(version3.2.1)

ワークフロー型の機械学習および予測モデ

ル作成ツールである。オープンソースソフトウェアで誰でも無償で使うことができる。ノードが豊富で様々な形式のファイルを読み取り、データ処理することが可能である。本研究では KNIME を用いて予測モデルを作り、化合物の刺激性の有無を予測した。

・ PaDEL Descriptor

PaDEL Descriptor は 1875 個の分子記述子 (1444 個の 1D、2D 記述子および 431 個の 3D 記述子) と 12 個の Fingerprint (合計 16092 個の記述子) を計算するソフトウェアである。記述子およびフィンガープリントは、原子タイプの電気トポロジカル状態、Crippen による logP および MR、拡張トポ化学原子 (ETA)、McGowan 体積、分子線自由エネルギー関係、環の数、Laggner による化学的基礎構造の数、および Klekota および Roth によって同定された Fingerprint および化学構造の数などが計算される。本研究では Fingerprint を使用して物質の構造の情報を取得した。

・ EZR version1.36(Eazy R)

R コマンドを用いた統計解析ソフトである。生存解析、ROC 曲線、t 検定等医療統計で使われる解析を行うことができる [6]。本研究では ROC 曲線を生成し AUC からパラメーターの有用性を調べるために用いた。

3, 物理化学的性質の情報

化合物の物理化学的性質の情報は Chemid plus 及び PubChem で得られたものを使用した。Chemid plus 及び PubChem で得られた情報はモル数、Complexity、色、状態、溶解度、沸点、融点、LogP、TPSA、密

度、蒸気圧などで、この中でほとんどの化合物で情報がある 4 つの性質 (SlogP・Molweight・Complexity・TPSA) に注目した。

Chemid plus URL :
<https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/>
PubChem URL :
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

4, KNIME を用いた予測モデルの構築

KNIME で図 1 に示すワークフローを作成して予測モデルの構築と検証を行った。本研究では“SDF Reader”に読み込ませるデータセットに以下の 3 つを用意した。

〈データセット〉

- ・ Estate FP : PaDEL Descriptor で EStateFingerprint を出力したデータセット
- ・ Substructure FP : PaDEL Descriptor で SubstructureFingerprint を出力したデータセット
- ・ Descriptor : KNIME の RDKit Descriptor Calculation で計算したデータセット

KNIME では RDKit を用いた計算を行うため、正確に計算できない金属元素を含む化合物とハロゲン元素を含む化合物をあらかじめ除外した全 295 物質のうち 60% をトレーニングセットとして用い、40% をテストセットとして用いた。トレーニングセットとテストセットは Bootstrap sampling によってランダムにサンプリングされているので、サンプリングに偏りがないように $\alpha \cdot \beta \cdot \gamma$ の 3 つを用意した。最適な記述子を決定する前に Random Forest のモデル数と深度を適切な数に設定した。

5, 予測モデルに用いるパラメーターの決

定

5.1 Fingerprint を用いる予測モデルのパラメーター

KNIME で設定したワークフローにおけるすべてのパラメーターの決定は、記述子の決定と同様に scatter plot でのグラフと Randomforest の tree での優先度、頻度から決定した。設定したワークフローに3つのデータセットをそれぞれ読み込ませ、始めにすべてのパラメーターを用いて予測モデルにかけ、RandomForestLearner における決定木から判別に関わっていないパラメーターを除外する。次に残ったパラメーターの中で判別に関わっている可能性が高いと考えられるパラメーターを scatter plot から選別し、予測率を保てる最小のパラメーター数に限定した。パラメーターの数をできる限り少なくしたのは、毒性試験の前段階でのスクリーニングを目的としていることから、より単純に、簡単に危険度を判別できるモデルを開発することが重要であると考えたためである。

5.2 RDKit DescriptorCalculation を用いる予測モデルのパラメーター

記述子に関しては、KNIME の RDKit DescriptorCalculation を使用してそれぞれの化合物について SlogP、SMR、LabuteASA、TPSA、AMW、HallKierAlpha など116個の記述子を計算し、KNIME の予測評価を繰り返して scatter plot でのグラフと Randomforest の tree での優先度、頻度から、最終的にこれらの中で気道刺激性との関連性が高いと判断した5つの記述子を使用した。

〈最終的に使用した記述子〉

SlogP : Crippen による分配係数。疎水性の指標。

TPSA(極性表面積) : 全ての極性原子 (主に酸素、窒素、それと結合する水素) の表面総和として定義される。細胞膜透過性の指標。

Num Lipinski HBD : Lipinski 則によるHBD(水素結合ドナー)数

Num Hetero Atoms : ヘテロ原子数

Num Heavy Atoms : 重原子数

5.3 モデルの精度評価

トレーニングセットと同じ物質をテストセットとしてセットして設定したモデルの精度を評価した。本研究では、以下の指標を用いてモデルおよびパラメーターの評価を行った。

True Positive(TP) : 真陽性

True Negative(TN) : 真陰性

False Positive(FP) : 偽陽性

False Negative(FN) : 偽陰性

Precision(精度・適合率) : 陽性と予測したデータのうち実際に陽性であるものの割合

$$\text{Precision} = \text{TP} / (\text{TP} + \text{FP})$$

Recall(再現率) : 実際に陽性であるデータのうち陽性と予測されたものの割合

$$\text{Recall} = \text{TP} / (\text{TP} + \text{FN})$$

Sensitivity 感度(真陽性率) : 実際は陽性のデータのうち、陽性と予測されるものの割合

$$\text{Sensitivity} = \text{TP} / (\text{TP} + \text{FN})$$

Specificity 特異度(真陰性率) : 実際は陰性のデータのうち、陰性と予測されるものの割合

$$\text{Specificity} = \text{TN} / (\text{TN} + \text{FP})$$

F-measure : 正確性と網羅性の総合的な評価

の尺度

$$F\text{-measure}=(2\text{Recall}*\text{Precision})/(\text{Recall}+\text{Precision})$$

Accuracy(正確度)：陽性/陰性の予測率

$$\text{Accuracy}=(\text{TP}+\text{TN})/(\text{TP}+\text{TN}+\text{FN}+\text{FP})$$

6. ROC 分析

ROC (Receiver Operating Characteristic) 曲線とは、いくつかのスクリーニング方法の相対的な有効性を視覚的に判定する基準の 1 つである。1 つのスクリーニング方法について陽性・陰性の基準値を最小値から最大値まで段階的に変えると、偽陽性率 (= 1-特異度) も感度も 0 から 1 まで変わるので、偽陽性率を横軸に、感度を縦軸にとって線で結ぶと、基準値の変化に対応する曲線を引くことができる。この曲線ができるだけ左上を通る方がスクリーニングとしての有効性が高く、この曲線の最も左上の点が陽性・陰性を分けるカットオフポイントとして最も有効性が高いと判断される。また、AUC (Area under curve; 曲線下面積) を計算し、AUC が大きいほど精度が高い。本研究では、EZR を使用して ROC 曲線と AUC を算出し、スクリーニングに必要なカットオフ値を決定した。

C. 研究結果と考察

1. 皮膚刺激性/眼刺激性と気道刺激性の関係

気道刺激性、皮膚刺激性、眼刺激性に関して報告のある物質について解析を行った結果、気道刺激性の報告がある物質の多くで皮膚刺激性または眼刺激性が陽性であることが分かった。気道刺激性について報告がある物質のうち、82.63%が眼刺激性陽性

であり、60.06%が皮膚刺激性陽性であった(図 1)。

- ・気道刺激性あり：691 物質
- ・眼刺激性陽性：1258 物質
- ・皮膚刺激性陽性：853 物質
- ・気道刺激性かつ眼刺激性陽性：571 物質
- ・気道刺激性かつ皮膚刺激性陽性：415 物質
- ・気道刺激性かつ皮膚刺激性かつ眼刺激性陽性：396 物質

この結果から、眼刺激性を有する化合物は気道刺激性がある可能性が高いと考えられた。また、気道刺激性の報告はないが眼刺激性陽性の物質(687 物質)や、眼・皮膚ともに刺激性陽性の物質(370 物質)についても気道刺激性がある可能性が高いと考えられた。すなわち、眼刺激性/皮膚刺激性陽性物質と気道刺激性物質との間に共通の特徴を見つけることができればそれを基にスクリーニングすることが可能になると考察された。シックハウス症候群の病態・症候の定義では、「①皮膚や眼、咽頭、気道などの皮膚・粘膜刺激症および、②全身倦怠感、めまい、頭痛・頭重などの不定愁訴」となっており、眼刺激と気道刺激の関係性は、粘膜刺激を共通の原因とすると考察された。

2. 金属元素またはハロゲン元素を含む化合物の毒性

解析の結果から、金属元素またはハロゲン元素を含む化合物の多くが刺激性について陽性であることがわかった。

金属元素

刺激性陽性：115 物質中 109 物質

ハロゲン元素

刺激性陽性：181 物質中 129 物質

よって、金属元素あるいはハロゲン元素を有する化合物は気道刺激性がある可能性が高いと考えられる。TiO₂、Al₂O₃、CeO₂等、金属酸化物ナノ粒子の気道刺激性について評価されている物質もあり、金属元素を有する化合物は注目すべきだあると考えられる。また、ハロゲン化合物は農薬や殺虫剤として使用される物質に多く生活環境を經由した暴露を考えた場合、評価の優先順位が高いと考察された。

3、KNIME を用いた評価モデル

方法 2.4 で示したワークフローに Estate FP、Substructure FP、Descriptor の 3 つのデータセットを処理した結果を表 1 に示す。全体で False Negative と予測された物質は重複しているものを除き 39 物質あった。Estate FP、Substructure FP では陽性物質は高い精度で予測されているが、陰性物質の予測精度が低く、全体的な accuracy は 75% 程度である。一方、Descriptor では陽性物質の予測精度は他の 2 つに比べて劣るが、陰性物質の予測精度が優れており、全体の accuracy は約 83% となった。本研究では刺激性陽性物質をスクリーニングすることが目的であり、高い真陽性率を保つことが重要である。よって陽性物質において高い予測精度を示したこの結果は良いものと判断した。

表 2 には予測モデルで偽陰性判定された化合物を示す。EStateFP、SubstructureFP は構造的特徴について学習・予測していて、descriptor は物理化学的特徴について学習・

予測しているため、それぞれの系で予測できるものとできないものがある。例えば、構造的な観点(Estate、Substructure FP)からエポキシを有する化合物は陽性であると全て判断されたが、物理化学的な観点(Descriptor)からでは偽陰性を示すものがあった。また、複数の系で偽陰性となる物質は 3 物質のみであった。このことから、物理化学的性質と構造的性質の 2 つの観点から特徴を把握することでより高い精度でスクリーニングすることが可能になると考えられた。

4、物理化学的性質

Chemid plus および PubChem を用いて化合物の物理化学的性質の情報(色、状態(液体、固体など)、沸点、融点、溶解度、密度、疎水性など)を収集し、物理化学的性質の観点から陽性・陰性・偽陰性を示す物質の特徴を考察した。Chemid plus に情報が記載されている物性のうち、十分な情報がある 4 つの性質(SlogP・Molweight・Complexity・TPSA)について解析を行った。

図 2 には、横軸に Molweight、縦軸に TPSA/SlogP/Complexity を各々設定したグラフを示す。図 2 から陽性/陰性物質の分布は、Molweight が小さい物質に陽性が多く、大きい物質に陰性が多く、TPSA のグラフ(図 2.1)では陽性/陰性/偽陰性のどれも全体に分布していて、特に特徴がみられなかった。SlogP のグラフ(図 2.2)では、陰性物質は全体に分布しているが陽性物質は SlogP 値が比較的 low、高値(約 4.0 以上)になるとほとんど存在しないことが明らかとなった。また、Complexity のグラフ(図 2.3)より、MolWeight が約 150 以下の範囲で

Complexity が低いと陽性物質が多く、高いと陰性物質が多く、MolWeight が約 150 より大きい物質には偽陰性を示す物質が多い傾向が示された。次に、パラメーターの有用性を判断し、カットオフ値を設定するために ROC 分析により AUC を算出した。表 3 より、Molweight、Complexity、SlogP は比較的高い AUC の値が得られたため、これらのパラメーターは有用であると判断した。TPSA については AUC の値が低く、有用ではないと判断した。

5. 構造的性質

反応性の高い部分構造に着目して刺激性の有無について解析を行った結果を以下に示す。

エポキシ(刺激性 陽性：12 陰性：0)
シアン酸(刺激性 陽性：9 陰性：0)
カルボニル基(刺激性 陽性：43 陰性：28)
アミノ基(刺激性 陽性：17 陰性：8)
ヒドロキシ基(刺激性 陽性：50 陰性：15)
ピリジン(刺激性 陽性：6 陰性：2)
エーテル化合物(刺激性 陽性：13 陰性：20)
リン酸基(刺激性 陽性：6 陰性：18)

結果より、エポキシとシアン酸を含む化合物はすべて陽性であることからエポキシとシアン酸を含む化合物は陽性の可能性が高いと判断される。次に、これらの部分構造ごとに物理化学的性質 (Molweight、TPSA、SlogP、Complexity) と刺激性との関連について解析を行った結果、カルボニル基、エーテルを含む化合物で、物理化学的性質と刺激性物質の分布に関連が認められた。カル

ボニル基について SlogP が約 2 以下で陽性物質が多く、エーテルでは TPSA が約 30 以下で陽性が多い傾向が認められた (図 3.1、3.2)。また、どちらも Complexity が約 100 以下で陽性が多い傾向が認められた。しかし、それ以外の構造では特に特徴は得られなかった。一方、リン酸基を有する化合物は陰性物質が多いが、KNIME の予測結果では 6 つの陽性物質のうち 3 つが偽陰性を示しており、陽性物質が陰性物質と似た物理化学的性質を有することから注意が必要であると考察された。

E. 結論

本研究では、気道刺激性物質の詳細評価優先順位付けのための *in silico* スクリーニング目的として JP-GHS 分類をもとに気道刺激性の報告がある物質の構造的および物理化学的特徴について解析を行った。結果より、物理化学的性質と構造的性質の 2 つの観点から特徴を把握することでどちらか一方のみを用いるよりも高い精度でスクリーニングすることが可能であると結論付けられる。そして、化学物質の毒性試験を行う前段階で次の特徴を持つ物質に注意し、スクリーニングするべきであるという結論に至った。

- ・眼刺激性陽性物質
- ・金属元素またはハロゲン元素を有する物質
- ・Molweight \leq 132.21 かつ Complexity \leq 119.0 である物質
- ・Molweight $>$ 132.21 である物質

さらに特徴的な構造を含んだ物質において

は以下の点も注目すべきである。

- ・エポキシ基またはシアン酸基を有する物質
- ・カルボニル基を有し、Complexity \leq 162.000 または SlogP \leq 1.984 である物質
- ・エーテル結合を有し、TPSA \leq 29.460 または Complexity \leq 70.900 である物質

一方で、これらの特徴のいずれにも該当しない物質は刺激性を惹起する可能性が低く、リスク評価の優先度が低いと考えられる。

本研究においては、気道刺激性を有する可能性の高い物質を高精度で判別できるモデルを構築した。一方で、物理化学的性質と構造的性質など異なる性質に基づく、いずれの予測モデルにおいても偽陰性判定されたリン酸基を含む物質のように、現時点で GHS 分類された物質情報からは、陽性物質と陰性物質とで物理化学的性質および構造的な特徴に差がなく、判別が難しい物質群があることが明らかとなった。これらの物質については、陽性物質は少ないものの更なる情報の蓄積が必要である。また、本研究の解析においては、刺激性の有無のみを評価のエンドポイントとしており刺激性の強さやメカニズム等については考慮していない。今後は、個々の物質が刺激性を惹起するメカニズムに基づく評価スキームを構築することでスクリーニング評価のさらなる効率化と高精度化が期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

小野. 宏, 丸野内. 隼, 井口. 泰泉, 小野.

敦; ER STTA法 : hER α -HeLa-9903細胞を用いたエストロゲン受容体恒常発現系転写活性化試験法の評価報告書 *AATEX-JaCVAM* **6**, 1-27 (2017).

2. 学会発表

- A. Ono, S. Watanabe, T. Sugawara, K. Wakabayashi, Y. Tahara, N. Horie, K. Fujimoto, K. Kusakari, Y. Kurokawa, T. Sozu, T. Nakayama, T. Kusao, T. Kawakami, K. Kojima, H. Kojima, J. Richmond, N. Kleinstreuer, K. Bae-Hwa, Y. Yamamoto, M. Fujita and T. Kasahara :A multi-centre validation study of Amino acid Derivative Reactivity Assay (ADRA) - a novel in chemico alternative test method for skin sensitization. *Society of Toxicology 55th Annual meeting* (2018.March, San Antonio, USA)

小野 敦, 渡辺 真一, 菅原 経継, 若林 晃次, 田原 宥, 堀江 宣行, 藤本 恵一, 草薙 啓, 黒川 嘉彦, 寒水 孝司, 中山 拓人, 草生 武, 河上 強志, 小島 幸一, 小島 肇, J. Richmond, K. Nicole, K. Bae-Hwa, 山本 裕介, 藤田 正晴, 笠原 利彦 :新規in chemico皮膚感作性試験 ADRA法の多施設バリデーション試験 : 第2報. *日本実験動物代替法学会第30回年会* (2017.11, Tokyo)

- A. Ono, Y. Hiraoka, A. Hirose, and H. Jinno :Comparative analysis of respiratory, skin and eye irritation potential of chemicals using Japanese GHS classification.. *The 53nd Eurotox2017* (2017.9, Bratislava, Slovak)

A. Ono, S. Watanabe, T. Sugawara, K. Wakabayashi, Y. Tahara, N. Horie, K. Fujimoto, K. Kusakari, Y. Kurokawa, T. Sozu, T. Nakayama, T. Kusao, T. Kawakami, K. Kojima, H. Kojima, J. Richmond, N. Kleinstreuer, K. Bae-Hwa, Y. Yamamoto, M. Fujita and T. Kasahara :Phase-1 of the validation study of Amino acid Derivative Reactivity Assay (ADRA): a novel *in chemico* alternative test method of skin sensitization.. *Tenth World Congress Alternatives and Animal Use in the Life Sciences* (2017.8, Washington State Convention Center, Seattle, Washington)

小野 敦, 渡辺 真一, 菅原 経継, 若林 晃次, 田原 宥, 堀江 宣行, 藤本 恵一, 草苺 啓, 黒川 嘉彦, 寒水 孝司, 中山

拓人, 草生 武, 河上 強志, 小島 幸一, 小島 肇, J. Richmond, K. Nicole, K. Bae-Hwa, 山本 裕介, 藤田 正晴, 笠原 利彦 :新規*in chemico*皮膚感作性試験 ADRA法の多施設バリデーション試験 : 第1報. *第44回日本毒性学会* (2017.7, Yokohama)

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

表 1 KNIME を用いた予測モデルでの予測結果

Estate FP

| | True Positive | False Negative | F-measure | Sensitivity | Specificity | Accuracy |
|----------|---------------|----------------|-----------|-------------|-------------|----------|
| α | 103 | 4 | 0.831 | 0.963 | 0.255 | 0.734 |
| β | 102 | 0 | 0.819 | 1 | 0.211 | 0.717 |
| γ | 112 | 4 | 0.842 | 0.966 | 0.24 | 0.747 |

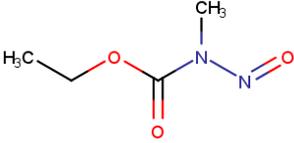
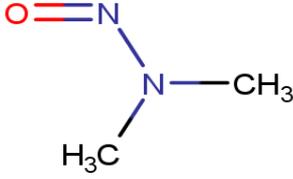
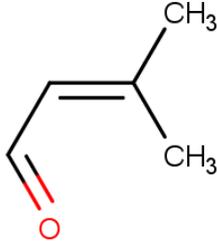
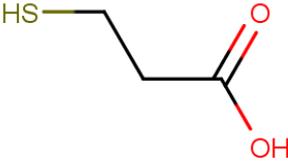
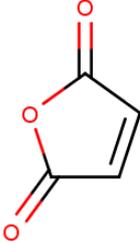
Substructure FP

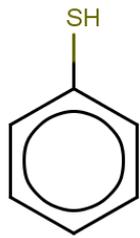
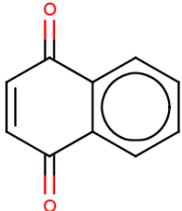
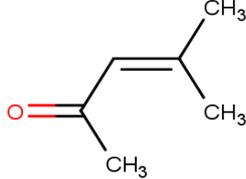
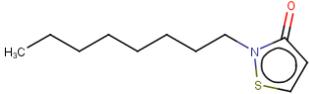
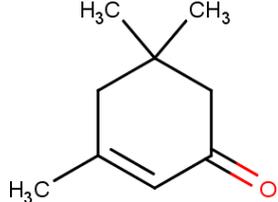
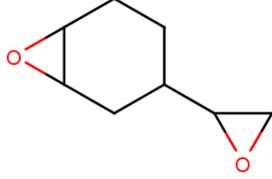
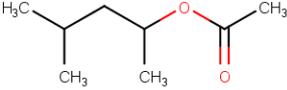
| | True Positive | False Negative | F-measure | Sensitivity | Specificity | Accuracy |
|----------|---------------|----------------|-----------|-------------|-------------|----------|
| α | 115 | 4 | 0.839 | 0.966 | 0.322 | 0.753 |
| β | 108 | 5 | 0.837 | 0.956 | 0.383 | 0.757 |
| γ | 113 | 10 | 0.825 | 0.919 | 0.345 | 0.735 |

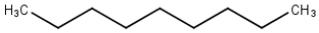
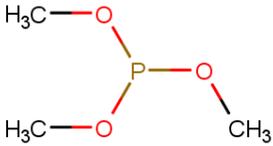
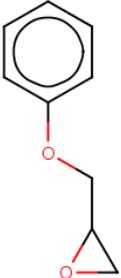
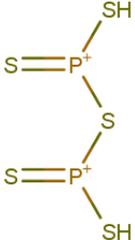
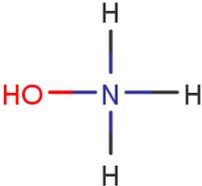
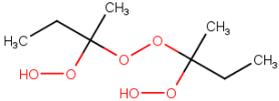
Descriptor

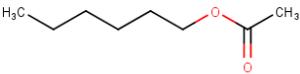
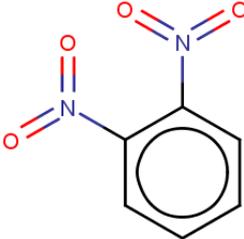
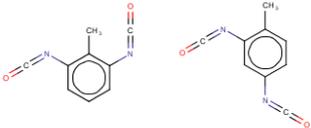
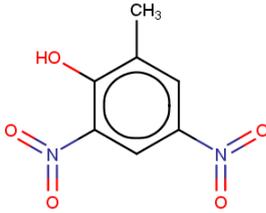
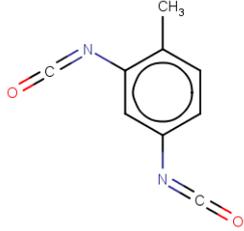
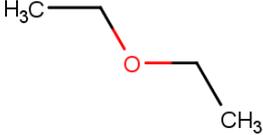
| | True Positive | False Negative | F-measure | Sensitivity | Specificity | Accuracy |
|----------|---------------|----------------|-----------|-------------|-------------|----------|
| α | 97 | 10 | 0.886 | 0.907 | 0.712 | 0.843 |
| β | 94 | 18 | 0.858 | 0.839 | 0.735 | 0.807 |
| γ | 103 | 9 | 0.88 | 0.92 | 0.604 | 0.825 |

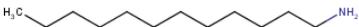
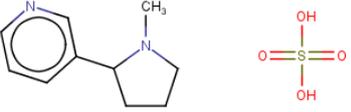
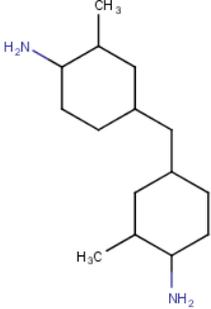
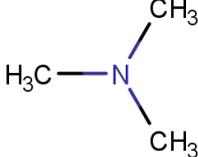
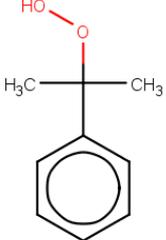
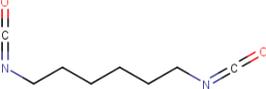
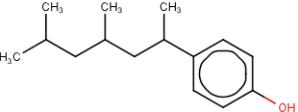
表2 3種の予測モデルで False Negative 判定された化合物

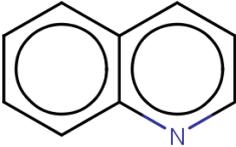
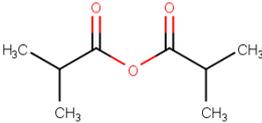
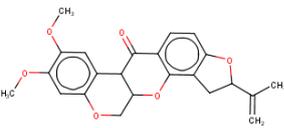
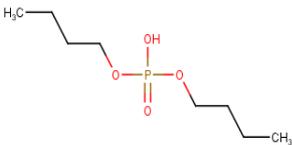
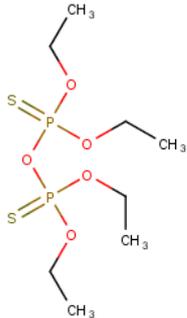
| 系 | CAS | 構造式 |
|-----------------|----------|---|
| Estate FP | 615-53-2 |  |
| | 62-75-9 |  |
| Substructure FP | 104-87-0 |  |
| | 107-86-8 |  |
| | 107-96-0 |  |
| | 108-31-6 |  |

| | | |
|------------|------------|--|
| | 108-98-5 |  |
| | 130-15-4 |  |
| | 141-79-7 |  |
| | 26530-20-1 |  |
| | 78-59-1 |  |
| Descriptor | 106-87-6 |  |
| | 108-84-9 |  |

| | |
|-----------|---|
| 111-84-2 |  |
| 121-45-9 |  |
| 122-60-1 |  |
| 124-09-4 |  |
| 1314-80-3 |  |
| 1336-21-6 |  |
| 1338-23-4 |  |

| | |
|------------|--|
| 142-92-7 |  |
| 142-96-1 |  |
| 25154-54-5 |  |
| 26471-62-5 |  |
| 534-52-1 |  |
| 584-84-9 |  |
| 60-29-7 |  |

| | |
|------------|---|
| 61788-46-3 |  <chem>CCCCCCCCCCCCN</chem> |
| 65-30-5 |  <chem>CN1C=CN=C1</chem> <chem>OS(=O)(=O)O</chem> |
| 6864-37-5 |  <chem>CC1(N)CCCCC1CC2CCCCC2N</chem> |
| 75-50-3 |  <chem>CN(C)C</chem> |
| 80-15-9 |  <chem>CC(C)(O)C1=CC=CC=C1</chem> |
| 822-06-0 |  <chem>CCCCCCCCN=CN=O</chem> |
| 84852-15-3 |  <chem>CC(C)C(C)(C)C1=CC=C(O)C=C1</chem> |

| | | |
|--|-----------|---|
| | 91-22-5 |  |
| | 97-72-3 |  |
| Substructure FP+Descriptor | 83-79-4 |  |
| EstateFP+Substructure FP+Descriptor | 107-66-4 |  |
| | 3689-24-5 |  |

| Descriptors | AUC | 最短距離の値 |
|-------------|-------|---------|
| Mol Weight | 0.799 | 132.210 |
| Complexity | 0.79 | 119.000 |
| SlogP | 0.704 | 1.773 |
| TPSA | 0.635 | 34.140 |

表 3 ROC 曲線の AUC と最短距離の値)

カルボニル基

| パラメーター | AUC | 最短距離の値 | カットオフ値 |
|------------|-------|---------|-----------------------|
| Complexity | 0.897 | 129.000 | 162.000(0.741, 0.902) |
| SlogP | 0.846 | 1.766 | 1.984(0.643, 0.907) |

※ (特異度, 感度)

エーテル

| パラメーター | AUC | 最短距離の値 | カットオフ値 |
|------------|-------|--------|-----------------------|
| Complexity | 0.785 | 70.900 | 70.900 (0.737, 0.923) |
| TPSA | 0.829 | 29.460 | 29.460 (0.700, 0.923) |

※ (特異度, 感度)

表 4 ROC 曲線の AUC と最短距離の値およびカットオフ値)

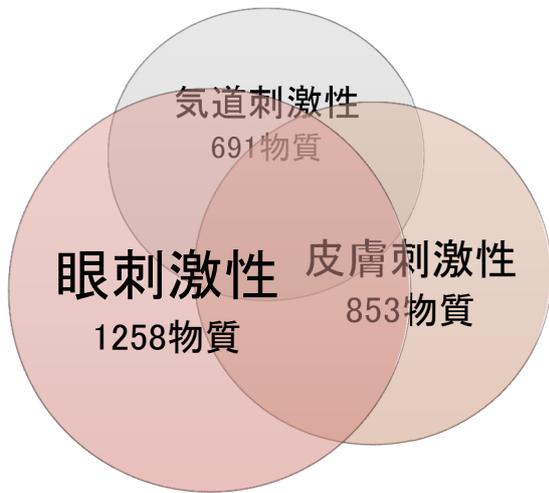


図1 気道、皮膚、眼刺激性の重なり

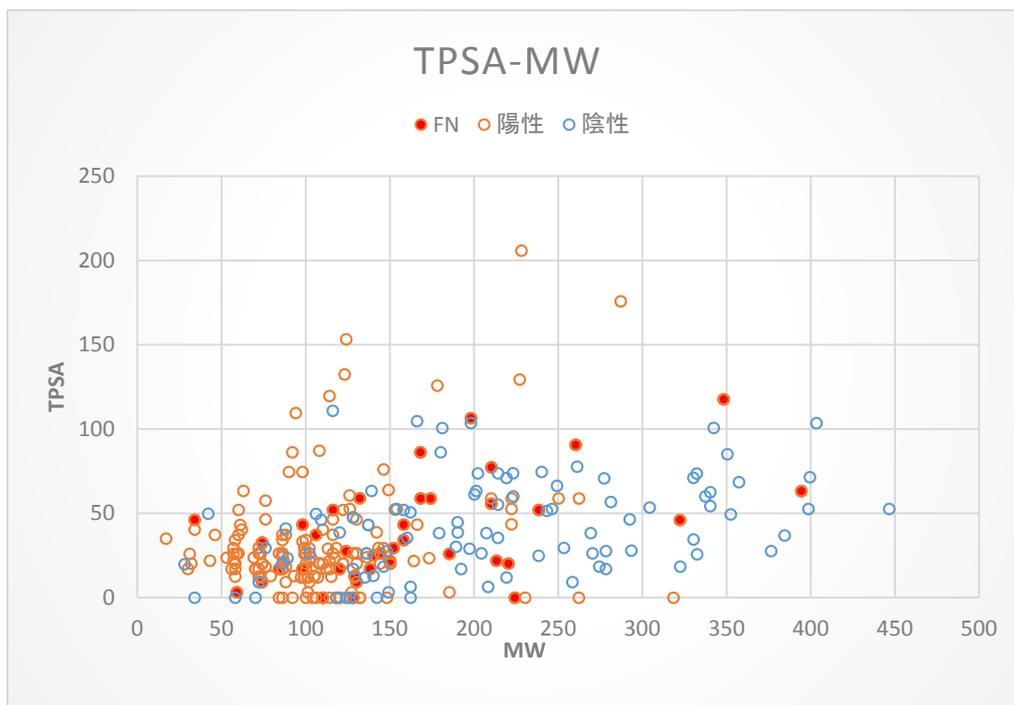


図 2.1 TPSA

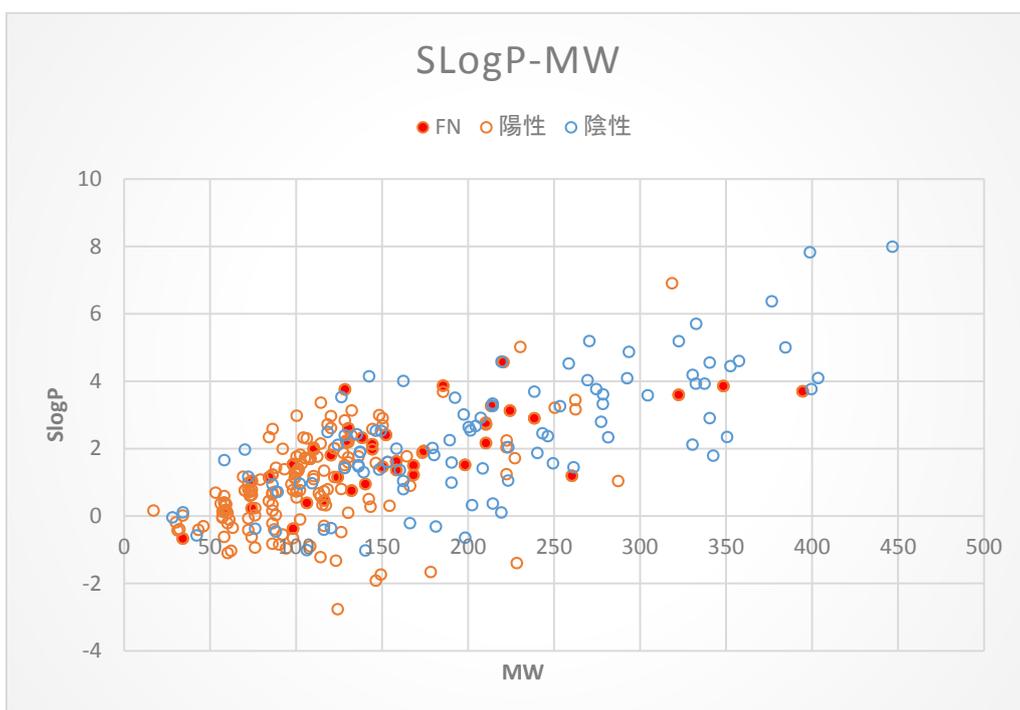


图 2.2 SlogP

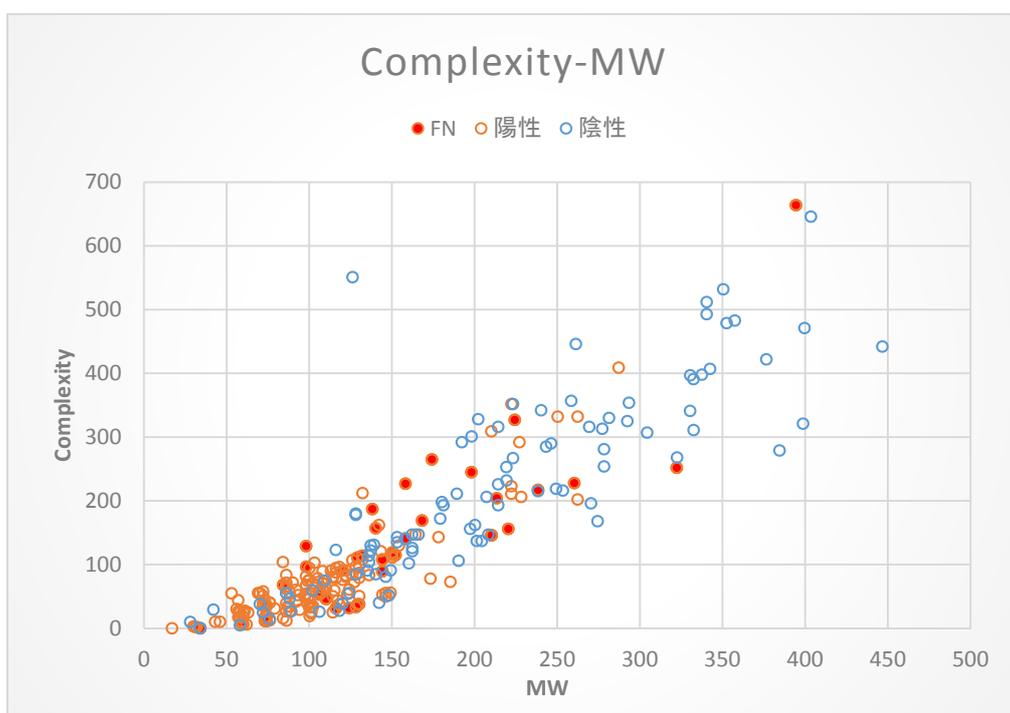


图 2.3 Complexity

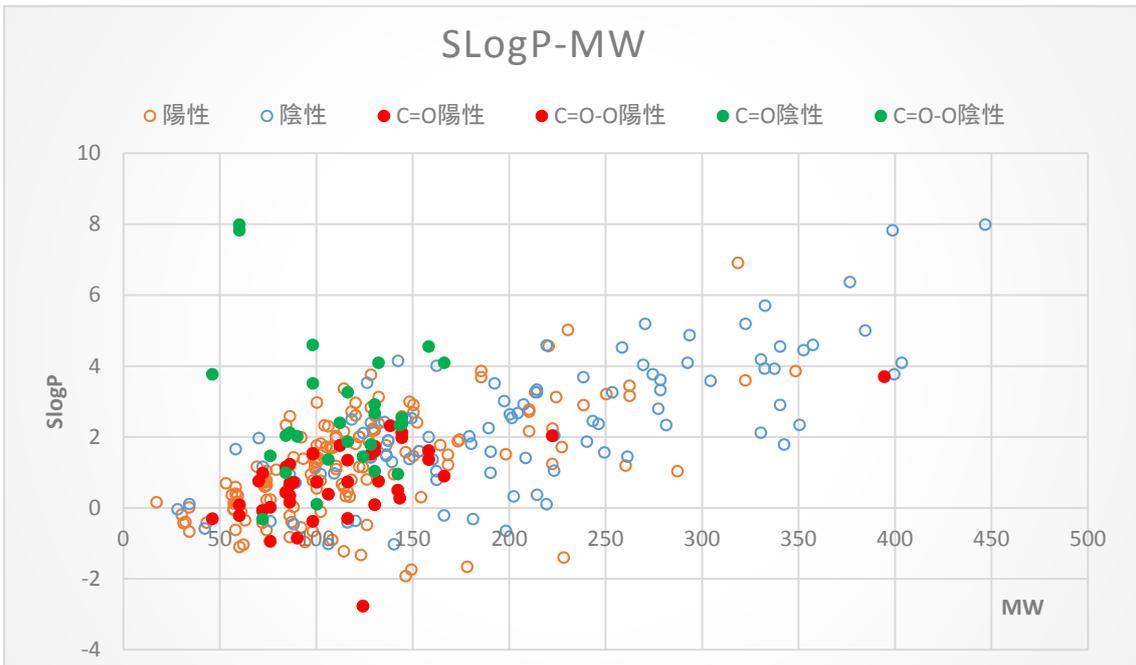


図 3.1 カルボニル基を含む物質の SlogP と刺激性陽性物質の分布

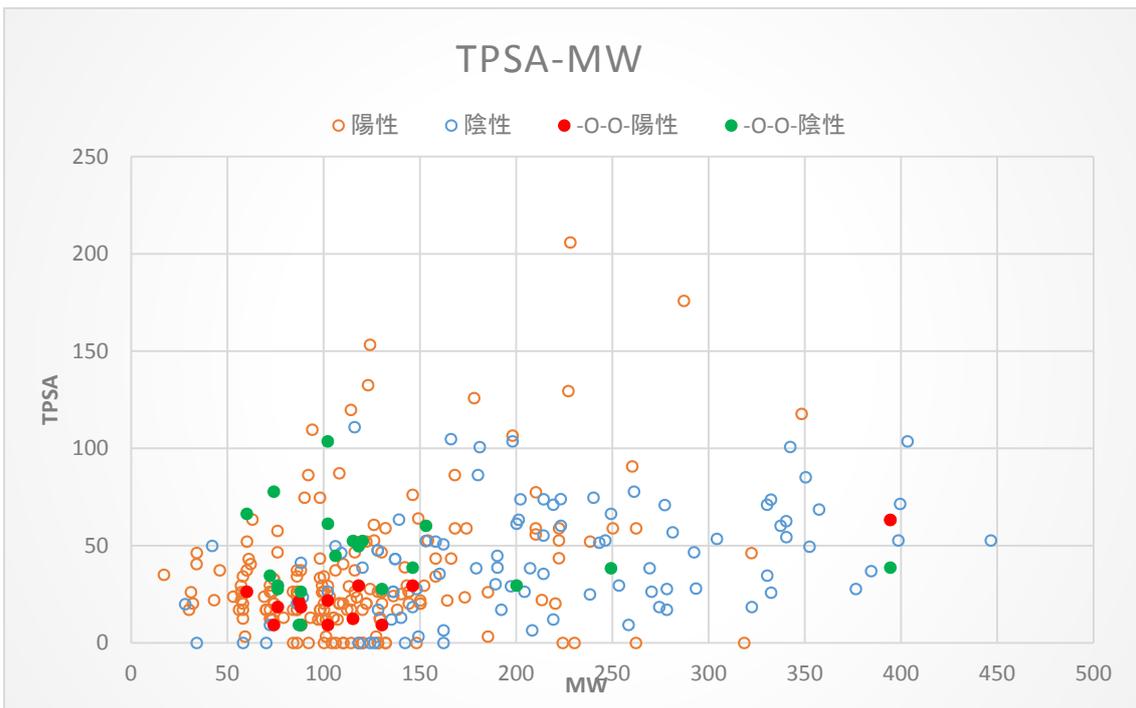


図 3.2 エーテル化合物の TPSA と刺激性陽性物質の分布

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

研究分担者 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、昨年度の報告書以降、プロピレングリコール、テトラクロロエチレンの室内空気質ガイドラインを設定した。また、C₇~C₈のアルキルベンゼンの混合曝露の評価基準として、類似した神経毒性を有するトルエン、キシレン、エチルベンゼンについては、測定濃度／指針値の総和を 1 未満とする新たな基準を公表している。またカナダでは、アセトアルデヒドの室内空気質ガイドラインが設定された。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。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、既築住宅では、C₈~C₁₆脂肪族飽和炭化水素類（夏期、冬期）、ノナン（冬期）、デカン（冬期）、トリデカン（夏期）、C₆~C₉脂肪族飽和アルデヒド類（夏期）、ヘキサナール（夏期）であった。新築住宅では、冬期のトリメチルベンゼンであった。なお、イソチアゾリン系抗菌剤（2-n-octyl-4-isothiazolin-3-one (OIT)、5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one (CI-MIT)）とリナロールについては、室内濃度の測定データがないためリスク評価はできなかった。今後測定を行った際の評価用として、評価値（RfC）を導出した。

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、2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol monoisobutyrate (TexanolTM, TMPD-MIB)、2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (TXIBTM, TMPD-DIB)、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 29 年度は平成 28 年度に引き続き、国立衛研におけるこれまでの全国調査で高頻度高濃度検出された揮発性有機化合物を中心に、

気道障害性等に係る有害性や量反応関係等に関する情報を収集した。平成 29 年度の調査対象物質は、炭素数 8~16 の脂肪族飽和炭化水素類（オクタン、ノナン、デカン、ドデカン、トリデカン、ヘキサデカン）、炭素数 6~9 の脂肪族飽和アルデヒド類（ヘキサナール、ノナナール）、イソチアゾリン系抗菌剤（2-n-octyl-4-isothiazolin-3-one (OIT)、5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one (CI-MIT))、トリメチルベンゼン、メチルシクロヘキサン、メチルイソブチルケトン、リナロールとした。

得られた有害性情報から有害性評価を行い、健康リスク評価値（RfC: Reference Concentration）を導出した。RfC は、Critical effect level の影響濃度（NOEL や 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^{1,2)}、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^{1,2)}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 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ことは昨年度の報告書で報告した。現在のところ、その後の動きは公表されていない。ただし、今年度公表された WHO のガイドラインに関する資料の中で、PM₁₀、PM_{2.5}、二酸化窒素、二酸化硫黄、一酸化炭素に関する短時間曝露と長時間曝露のガイドラインのアップデートを今後実施するとの記述がみられた。

ドイツ連邦環境庁は、トルエンの再評価を行ったが、室内濃度指針値の変更は行われなかった。プロピレングリコールの指針値 I として 0.06 mg/m³、テトラクロロエチレンの指針値 I として 0.1 mg/m³ が新たに設定された。なお、トルエンの再評価の際に、C₇~C₈ のアルキルベンゼンの混合曝露の評価基準として、トルエン、キシレン、エチルベンゼンの各室内濃度指針値に対する各曝露濃度の比を足し算して 1 未満とすることが示された。これは、この 3 つの物質が類似した神経毒性を有することから、毒性の

相加則が成立すると仮定したことによる。

フランス環境労働衛生安全庁では 2017 年度に新設または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。カナダ保健省は、アセトアルデヒドの室内空気質ガイドラインとして、短時間曝露指針値 (1 時間) として 1420 μg/m³、長期間曝露指針値 (24 時間値) として 280 μg/m³ を新たに設定した。

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、炭素数 8~16 の脂肪族飽和炭化水素類、炭素数 6~9 の脂肪族飽和アルデヒド類 (ヘキサナール、ノナナール)、2-n-octyl-4-isothiazolin-3-one (OIT)、5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one (CI-MIT)、トリメチルベンゼン、メチルシクロヘキサン、メチルイソブチルケトン、リナロールの RfC を導出した (表 1 1-1)。

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²⁾。

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。但し、イソチアゾリン系抗菌剤 (2-n-octyl-4-isothiazolin-3-one (OIT)、5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one (CI-MIT))、リナロールについては、室内濃度の測定データがないためリスク評価はできなかった。今後測定を行った際の評価用として、RfC を示すのみとした。

優先度 A の物質は、既築住宅では、総 C₈~C₁₆ 脂肪族飽和炭化水素 (夏期、冬期)、ノナン (冬期)、デカン (冬期)、トリデカン (夏期)、C₆~C₉ 脂肪族飽和アルデヒド類 (夏期)、ヘキサナール (夏期) であった。新築住宅では、冬期のトリメチルベンゼンであった。

優先度 B の物質は、既築住宅ではオクタン（夏期、冬期）、ノナン（夏期）、デカン（夏期）、ドデカン（夏期、冬期）、トリデカン（冬期）、C₆~C₉脂肪族飽和アルデヒド類（秋期）、ノナナール（夏期、秋期）、トリメチルベンゼン（夏期、冬期）、メチルシクロヘキサン（冬期）であった。新築住宅では、冬期のメチルイソブチルケトンであった。

優先度 C の物質は、既築住宅ではヘキサナール（秋期）とメチルシクロヘキサン（夏期、秋期）であった。新築住宅では、該当する物質はなかった。

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、昨年度の報告書以降、プロピレングリコール、テトラクロロエチレンの室内空気質ガイドラインを設定した。また、C₇~C₈のアルキルベンゼンの混合曝露の評価基準として、類似した神経毒性を有するトルエン、キシレン、エチルベンゼンについては、測定濃度／指針値の総和を1未満とする新たな基準を公表している。またカナダでは、アセトアルデヒドの室内空気質ガイドラインが設定された。

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。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、既築住宅では、C₈~C₁₆脂肪族飽和炭化水素（夏期、冬期）、ノナン（冬期）、デカン（冬期）、トリデカン（夏期）、C₆~C₉脂肪族飽和アルデヒド類（夏期）、ヘキサナール（夏期）であった。新築住宅では、冬期のトリメチルベンゼンであった。

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, Yanagi U, Kagi N, Osawa H. A review of the effects of exposure to carbon dioxide on human health in indoor environment. *Proceedings of the Healthy Buildings Europe 2017*, ID0022, 6 pages, 2017.
- 2) Azuma K, Ikeda K, Kagi N, Yanagi U, Osawa H. Physicochemical risk factors for building-related symptoms in air-conditioned office buildings: ambient particles and combined exposure to indoor air pollutants. *Science of the Total Environment* 616–617: 1649–1655, 2018.
- 3) Azuma K et al. Occupational exposure limits of ethyleneglycol monobutyl ether, isoprene, isopropyl acetate and propyleneimine, and classification on carcinogenicity, occupational sensitizer and reproductive toxicant. *J Occup Health*; 59(4): 364–366, 2017.
- 4) 東 賢一. 室内空気質規制に関する国内外の動向. *環境技術*; 46(7), 4–9, 2017.
- 5) 東 賢一. 室内環境汚染による健康リスクと今後の課題. *臨床環境医学*; 26(2), in press, 2017.

2. 学会発表

- 1) Azuma K, Yanagi U, Kagi N, Osawa H. A review of the effects of exposure to carbon dioxide on human health in indoor environment. *Healthy Buildings Europe 2017*, Lublin University of Technology, Lublin, Poland, 2–5 July, 2017.

- 2) Azuma K, Tanaka-Kagawa T, Jinno H. Health risk assessment of inhalation exposure to glycol ethers and esters in indoor environments. 29th Annual International Society for Environmental Epidemiology Sydney, Australia, 24-28 September 2017.
- 3) 東 賢一. 健康リスク学から見た現状と今後の展望 一人の健康の保護と持続可能な発展一. 第 26 回日本臨床環境医学会 学術集会, 東京, 2017 年 6 月 25 日.
- 4) 東 賢一. 世界保健機関の住宅と健康のガイドライン. 平成 29 年度室内環境学会学術大会, 佐賀, 2017 年 12 月 13 日-14 日.

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ことは昨年度の報告書で報告した（WHO, 2016）。現在のところ、その後の動きは公表されていない。ただし、今年度公表されたWHOのガイドラインに関する資料の中で、PM₁₀、PM_{2.5}、二酸化窒素、二酸化硫黄、一酸化炭素に関する短時間曝露と長時間曝露のガイドラインのアップデートを今後実施するとの記述がみられた（WHO, 2017）。

なお、2018年10月30日から11月1日にかけて、WHOは「空気質と健康: First WHO Global Conference on Air Quality and Health」と題した国際会合（Member States, experts and key stakeholders will gather to review global progress on air quality and health and agree on further action as requested in WHA 68.8.）を本部のジュネーブで開催する予定である。

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、トルエン（IRK, 2016）、C₇～C₈のアルキルベンゼン（IRK, 2016）、プロピレングリコール（IRK, 2017a）、テトラクロロエチレン（IRK, 2017b）であった。各物質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1に示す。

表1 ドイツ連邦環境庁の室内空気質ガイドライン
（平成28年度神野班分担報告書キシレン以降）

| 物質 | アセスメントの概要 | 指針値 | キー研究 |
|--|--|--|---|
| トルエン (2016) ※再評価 | ヒトの神経影響 LOAEL 337 mg/m ³ 時間補正係数 4.2 個体差 10 子どもの呼吸量 2 | ・ 指針値 II （計算上は 4mg/m ³ であるが 1996 年導出の 3mg/m ³ を採用） 3.0 mg/m ³ ・ 指針値 I 0.3 mg/m ³ (3.0/10→0.3) | Foo SC et al (1990) Chronic neurobehavioural effects of toluene. British J Ind Med 47:480-484 |
| C ₇ ～C ₈ の アルキルベ ンゼン (2016) | トルエン、キシレン、 エチルベンゼンは、類 似の神経毒性を有し ていることから、それ ぞれの指針値に対す る室内濃度の割合を 合計した値（リスクの 総和）が1未満になる ように評価するよう 求めている。 | $x/GV_{tol} + y/GV_{xyl} + z/GV_{eth} < 1$ ※x,y,z はそれぞれトルエン、キ シレン、エチルベンゼンの測定 濃度。 トルエンの指針値 (GV _{tol}) : 0.3 mg/m ³ キシレンの指針値 (GV _{xyl}) : 0.1 mg/m ³ エチルベンゼンの指針値 (GV _{eth}) : 0.2 mg/m ³ | IRK (2016) |

| | | | |
|--------------------------|---|---|---|
| プロピレン グリコール (2016) | ラットの鼻腔の出血 に関する 90 日吸入曝 露試験 LOAEL 28.6 mg/m ³ 曝露期間係数 2 種差 2.5、個体差 10 | ・ 指針値 II (LOAEL から導出) 0.6 mg/m ³ ・ 指針値 I 0.06 mg/m ³ (0.6/10→0.06) | Suber RL et al (1989) Subchronic nose-only inhalation study of propylene glycol in Sprague-Dawley rats. Food Chem Toxicol 27:573-583 |
| テトラクロ ロエチレン (2017) | ヒトの腎臓への影響 LOAEL 102 mg/m ³ 時間補正係数 4.2 個体差 10 子どもの呼吸量 2 | ・ 指針値 II (計算上は 1.2mg/m ³ であるが 切り下げて 1.0mg/m ³ を採用) 1.0 mg/m ³ ・ 指針値 I 0.1 mg/m ³ (1.0/10→0.1) | Mutti A et al (1992) Nephropathies and exposure to perchloroethylene in dry- cleaners. Lancet 340:189-193 |

※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。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 (ANSES, 2018)。

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として、アセトアルデヒドが 2017 年 8 月に公表された (Health Canada, 2017)。表 2 にその概要を示す。

表 2 カナダにおける室内空気質ガイドラインのまとめ

| 物質 | アセスメントの概要 | ガイドライン | キー研究 |
|------------------------|---|--|--|
| アセトアル デヒド (2017) | ヒトの気管支収縮作用 LOAEL 142 mg/m ³ LOAEL から NOAEL の係数 10 高感受性集団 (喘息、小児) 10 | 短期間曝露指針値 1420 μg/m ³ (1 時間値) | Prieto L et al (2000) Airway responsiveness to acetaldehyde in patients with asthma: Relationship to methacholine responsiveness and peak expiratory flow variation. Clinical and Experimental Allergy, |

| | | | |
|--|---|--|--|
| | | | 30(1), 71-78. |
| | ラットの鼻腔の嗅上皮変性に関する 90 日吸入曝露試験 NOAEL 89 mg/m ³ ヒト等価濃度換算で 120 mg/m ³ 曝露補正で 21 mg/m ³ 種差 2.5、個体差 10 量反応関係の低濃度の傾き 3 | 長期間曝露指針値 280 μg/m ³ (24 時間値) | Dorman DC et al (2008) Derivation of an inhalation reference concentration based upon olfactory neuronal loss in male rats following subchronic acetaldehyde inhalation. Inhalation toxicology, 20(3), 245-256. |

参考文献

ANSES (2018) 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 15 January 2018.

Health Canada (2017) Residential indoor air quality guideline: acetaldehyde. available at <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/publications/healthy-living/residential-indoor-air-quality-guideline-acetaldehyde.html>, accessed at 15 January 2018.

IRK (2016) Richtwerte für Toluol und gesundheitliche Bewertung von C7-C8-Alkylbenzolen in der Innenraumluft. Bundesgesundheitsblatt 59:1522–1539.

IRK (2017a) Richtwert für Propan-1,2-diol (Propylenglykol) in der Innenraumluft. Bundesgesundheitsblatt 60:1298–1304.

IRK (2017b) Richtwerte für Tetrachlorethen in der Innenraumluft. Bundesgesundheitsblatt 60:1305–1315.

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.

WHO Europe (2017) Evolution of WHO air quality guidelines: past, present and future. 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 1 物質群および 8 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。

<調査対象物質>

- ・炭素数 8～16 の脂肪族飽和炭化水素類（オクタン、ノナン、デカン、ドデカン、トリデカン、ヘキサデカン）
- ・ヘキサナール
- ・ノナナール
- ・イソチアゾリン系抗菌剤 (2-n-octyl-4-isothiazolin-3-one(OIT)、5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one(CI-MIT))
- ・トリメチルベンゼン
- ・メチルシクロヘキサン
- ・メチルイソブチルケトン
- ・リナロール

1. 炭素数 8～16 の脂肪族飽和炭化水素類

約 10%以上の芳香族炭化水素 (PAH) を含む脂肪族飽和炭化水素類混合物の知見は、ATSDR (1995) や WHO の EHC 187 (1996)、IARC の Vol 47 (1989) でレビューされている。しかし、芳香族が数%以下の脂肪族飽和炭化水素類混合物についての評価は US EPA が Superfund のもとで実施するまでなかったとされている。

芳香族が数%以下の脂肪族飽和炭化水素類混合物については、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、毒性は相対的に低く、遺伝子傷害性はないと考えられている。

なお、NTP (2004) の Stoddard Solvet IIC を用いた発がん性試験では、副腎の褐色細胞腫、肝細胞腺腫の発生がみられ、これらから US EPA はユニットリスクを算出しているが、Mckee ら (2015) の総説では、褐色細胞腫はヒトでは起こりそうもなく、肝細胞腺腫も高曝露群での体重増加に起因したものとされている。

1) 米国環境保護庁 (USEPA) の Superfund における有害性評価

ホワイトスピリッツとして Stoddard Solvet IIC (n-paraffins, isoparaffins and cycloparaffins; C₁₀–C₁₃; <1.0% aromatic) を雌雄の F334 ラットと B6C3F1 マウスに 0、138、275、550、1100、2200 mg/m³ で 14 週間 (6 時間/日、5 日/週) 吸入曝露したところ、雌ラットで鼻部の杯細胞の過形成が 1100 mg/m³ で以上の群でみられ、マウスでは肝臓の絶対重量と相対重量の増加が 2200 mg/m³ で以上の群でみられた (NTP, 2004)。以上より、NOAEL は雌ラットで 550 mg/m³ と判断される (USEPA, 2009a)。

また、Stoddard Solvet IIC を F334 ラットに雄で 0、138、550、1100 mg/m³、雌で 0、550、1100、2200 mg/m³ で 2 年間 (6 時間/日、5 日/週)、B6C3F1 マウスに 0、550、1100、2200 mg/m³ で 2 年間 (6 時間/日、5 日/週) 吸入曝露したところ、雄ラットで副腎髄質過形成が 550 mg/m³ で以上の群でみられ、雌マウスでは好酸球性の病巣の増加が 2200 mg/m³ でみられた (NTP, 2004)。以上より、NOAEL は雄ラットで 138 mg/m³ と判断される (USEPA, 2009a)。

米国環境保護庁では、これらの結果から参照値 (RfC) を導出するにあたり、ラットに 13 週間吸入曝露した試験結果から、雌ラットの鼻部における杯細胞過形成の発生率から求めた $BMCL_{10}$ 410 mg/m^3 から、連続曝露に補正したヒト相当の $BMCL_{10HEC}$ 12 mg/m^3 を算出し、不確実係数 100 (個体差 10、種差 3、データベース不足 3) で除した 0.1 mg/m^3 を RfC に設定している (USEPA, 2009a)。なお、13 週間の試験で最小の $LOAEL_{HEC}$ は 31 mg/m^3 (杯細胞過形成) であり、2 年間の試験では最小の $LOAEL_{HEC}$ が 56 mg/m^3 (副腎髄質過形成) とわずかに高い程度であったことから、これをエンドポイントに $BMCL_{10}$ を算出すると 144 mg/m^3 となり、連続曝露に補正すると 26 mg/m^3 となる。しかし、全身影響であるため、血液：ガスの分配係数 (0.56) を乗じて $BMCL_{10HEC}$ を算出すると 15 mg/m^3 となり、13 週間の試験結果から求めた $BMCL_{10HEC}$ 12 mg/m^3 の方が低くなるため、 12 mg/m^3 を用いて慢性の RfC を算出しているが、不確実係数が亜慢性と同じであるため、RfC の値は亜慢性と慢性で同じとなる。

また、米国環境保護庁は、雄ラットの副腎腫瘍から、Multistage モデル (1 次～3 次) でそれぞれ $BMCL_{10}$ を 215.68 mgm^3 、Multistage Cancer Slope Factor を 0.000463657 と算出しているが、USEPA (2009a) の文書ではユニットリスクとして採用 (設定) していない。一方、USEPA (2009b) の文書では、スクリーニング値として $4.5 \times 10^{-6}/(\mu\text{g}/\text{m}^3)$ を設定している。

USEPA (2009a): Provisional Peer-Reviewed Toxicity Values for Midrange Aliphatic Hydrocarbon Streams. (C₉-C₁₈ の RfC、ユニットリスクを算出した文書。US EPA (2009b) が引用している。)

USEPA (2009b): Provisional Peer-Reviewed Toxicity Values for Complex Mixtures of Aliphatic and Aromatic Hydrocarbons (CASRN Various).

(キー研究)

NTP (2004): NTP technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of Stoddard Solvent IIC (CAS No. 64742-88-7) in F344/N rats and B6C3F1 mice (inhalation studies).

2) Mckerr ら(2015)の総説

ACGIH のグループガイダンス値 (Group Guidance Values: GGVs) の見直しについて言及しているが (具体的な値の算出根拠は記載がなかった)、上記の RfC 値と比べて $1,000 \sim 1,400 \text{ mg/m}^3$ の高濃度であるため、参考にならないと思われる。

Mckee RH, Adenuga MD, Carrillo JC. (2015): Characterization of the toxicological hazards of hydrocarbon solvents. Crit Rev Toxicol. 45: 273-365.

3) Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group (TPHCWG) の評価

米国の産学官の専門家で構成される Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group (TPHCWG) は、脂肪族炭化水素を主成分とする混合物の吸入曝露に関する参照値 (Reference Concentration : RfC) について、得られた毒性試験結果に基づき評価している。

Phillips ら(1984)は、芳香族を除いた white spirit (C₇-C₁₁) を SD ラットに 0、300、900 ppm (0、1,828、5,485 mg/m^3 (原著では、0、1.97、5.61 g/m^3)) の濃度で 12 週間吸入曝露したところ、体重増加の抑制や肝臓、腎臓重量の増加が 900 ppm 群でみられ、雄の曝露群では腎症がみられたが、いずれも重要な (significant) 所見ではないと考えられた。

そこで TPHCWG は、900 ppm ($5,485 \text{ mg/m}^3$) を NOAEL としたうえで、連続曝露に補正 ($\times 6/24 \times 5/7$) して不確実係数 1,000 (個体差 10、種差 10、亜慢性→慢性 10) で除した 1.0 mg/m^3

を RfC に設定している (Edwards et al., 1997)。

なお、Mattie ら(1991)の実験では、JP-8 Jet Fuel (C₉-C₁₆) を F344 ラットに 0、500、1,000 mg/m³ の濃度で 90 日間連続吸入曝露し、24 ヶ月間飼育した試験において、雄の曝露群で体重減少 (正しくは、体重増加の抑制と思われる) がみられたが、有意差はなく、雄の肝臓でみられた好塩基性巢の有意な増加や雌の脾臓でみられた造血亢進は投与に関連したものではないと考えられた。さらに壊死性の皮膚炎で死亡率が増加したが、皮膚炎はケンカに伴うものであったことから、曝露に伴う影響はなかったとしている。

そこで TPHCWG は、NOAEL を 1,000 mg/m³ とし、これに不確実係数 1,000 (個体差 10、種差 10、亜慢性→慢性 10) で除した 1.0 mg/m³ を RfC に設定している (Edwards et al., 1997)。

なお、Phillips ら(1984)の実験では、C₁₀-C₁₁ の Isoparaffinic Hydrocarbon (IPH) の吸入曝露実験の結果も示されているが、TPHCWG の評価では最高濃度群の 900 ppm (5,226 mg/m³) を NOAEL とし、不確実係数 1,000 (個体差 10、種差 10、亜慢性→慢性 10) で除すと RfC は 0.9 mg/m³ となり、1.0 mg/m³ を下回るが、最終的な RfC 値には採用していない。

Edwards DA, Andriot MD, Amoruso MA, Tummey AC, Bevan CJ, Tveit A, Hayes LA, Youngren SH, Nakles DV. (1997): Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group series: Volume 4: Development of fraction specific reference doses (RfDs) and reference concentration (RfCs) for total petroleum hydrocarbons (TPH).

(キー研究)

Phillips RD, Egan GF. (1984): Subchronic inhalation exposure of deaeromatized white spirit and C₁₀-C₁₁ isoparaffinic hydrocarbon in Sprague-Dawley rats. *Fundam Appl Toxicol.* 4: 808-818.

Mattie DR, Alden CL, Newell TK, Gaworski CL, Flemming CD. (1991): A 90-day continuous vapor inhalation toxicity study of JP-8 jet fuel followed by 20 or 21 months of recovery in Fischer 344 rats and C57BL/6 mice. *Toxicol Pathol.* 19: 77-87.

4) ドイツ連邦環境庁の室内空気質ガイドライン

芳香族を除いた white spirit (CAS: 64742-48-9) を WIST ラットに 0、800 ppm (0、4,680 mg/m³ (原著は 4,679 mg/m³)) の濃度で妊娠 7 日から妊娠 20 日まで吸入曝露し、離乳後の仔 (F₁) の行動への影響を調べた試験では、5 ヶ月齢の 4,680 mg/m³ 群の F₁ で学習・記憶障害を認めた (Hass et al., 2001) ことから、LOAEL を 4,680 mg/m³ としている。

ドイツ連邦環境庁は、この LOAEL に対して、曝露濃度群が 1 段階であったことから有害影響の検出限界を考慮した係数 3 で除し、さらに連続曝露に補正する係数 (24/6=4) で除して丸めた 400 mg/m³ (4,680/3/4=390≒400) を算出した。これを不確実係数 200 (種差 10、個体差 10、成人に比べて高い小児期の呼吸頻度 2) で除した 2 mg/m³ を RW II、さらに 1/10 した 0.2 mg/m³ を RW I に設定した。

なお、同じ物質を 3 ヶ月齢の WIST ラットに 0、400、800 ppm (0、2,339、4,680 mg/m³ (原著は 4,679 mg/m³)) の濃度で 6 ヶ月間吸入曝露し、その後の 2~6 ヶ月に神経行動学的検査を実施した試験では、学習・記憶の機能に影響はなかったが、4,680 mg/m³ 群で曝露に関連した感覚誘発電位の変化と運動活性の低下を認めた (Lund et al., 1996) ことから、4,680 mg/m³ を LOAEL としている。

ドイツ連邦環境庁は、この LOAEL に対して、連続曝露への補正 (24/6×7/5=5.6) と慢性曝露への補正 (2) の係数で除して 418 mg/m³ (4,680/5.6/2=418) を算出し、これを不確実係数 200 で除して丸めると 2 mg/m³ となり、Hass et al (2001)の結果を基にした場合と同じ値が

得られるとしている。

Umweltbundesamt (2005): Richtwert für die Innenraumluft: Aromatisierte Kohlenwasserstoffgemische (C9-C14). Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz. 52: 650-659.

(キー研究)

Hass U, Ladefoged O, Lam HR, Ostergaard G, Lund SP, Simonsen L. (2001): Behavioural effects in rats after prenatal exposure to dearomatized white spirit. Pharmacol Toxicol. 89: 201-207.

Lund SP, Simonsen L, Hass U, Ladefoged O, Lam HR, Ostergaard G. (1996): Dearomatized white spirit inhalation exposure causes long-lasting neurophysiological changes in rats. Neurotoxicol Teratol. 18: 67-76.

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、下記のような報告があった。

- OECD (2010): SIDS Initial Assessment Report for SIAM 30. C7-C9 Aliphatic Hydrocarbon Solvents Category.
- OECD (2012): SIDS Initial Assessment Profile. C9-C14 Aliphatic [$\leq 2\%$ aromatic] Hydrocarbon Solvents Category. (Profile 文書のみ)
- OECD (2011): SIDS Initial Assessment Profile. C14-C20 Aliphatic [$\leq 2\%$ aromatic] Hydrocarbon Solvents Category. (Profile 文書のみ)

また、脂肪族系酸 (Aliphatic acids category) の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った。

- OECD (2014): SIDS Initial Assessment Report for CoCAM 6. Aliphatic acids category.

2. ヘキサナール (CAS 66-25-1)

ドイツ連邦環境庁の室内空気質ガイドラインでは、C₄~C₁₁の脂肪族飽和直鎖アルデヒドの有害性情報は乏しいが、C₄についてはリスク評価を行う上で十分な情報があることから、C₄の有害性情報をもとに、C₄~C₁₁の脂肪族飽和直鎖アルデヒドの有害性評価を行っている。

1) ドイツ連邦環境庁の室内空気質ガイドライン

雌雄のF334ラットとビーグル犬に0、125、500、2,000 ppmのn-ブチルアルデヒド (C₄)をラットで13週間 (6時間/日、5日/週)、ビーグル犬で14週間 (6時間/日、5日/週) 吸入曝露した試験では、125 ppm以上の群のラットとビーグル犬で鼻腔の扁平上皮化生の発生率に有意な増加を認めた (UCC, 1979) ことから、LOAELを125 ppm (363 mg/m³)としている (OECD, 2005)。なお、雌雄のF344ラットに0、1、10、50 ppm (145 mg/m³) のn-ブチルアルデヒド (C₄)を12週間 (6時間/日、5日/週) 曝露した試験では、いずれの濃度においても、鼻腔で影響はみられなかった (UCC, 1980)。

ドイツ連邦環境庁は、室内空気質ガイドラインの導出にあたっては、亜慢性試験のLOAELを360 mg/m³とし、慢性曝露への補正係数を4として連続曝露に補正した16 mg/m³ (=360×1/4×6/24×5/7)を不確実係数10 (種差1、個体差10)で除して丸めた2 mg/m³をRW II (GV II)、さらに1/10した0.2 mg/m³をRW I (GV I)に設定した。

また、C₄～C₁₁の脂肪族飽和直鎖アルデヒドの総量については、総 WII として 2 mg/m³、総 WI として 0.1 mg/m³を設定した。なお、種差については、鼻腔での局所影響であることから 1 に設定している。個体差 10 については、短期間曝露後の気道影響の変動に関する研究に基づいた係数として 5、子供に対する不確実性の係数として 2 を適用している。

Umweltbundesamtes (2009): Richtwerte für gesättigte azyklische aliphatische C₄- bis C₁₁-Aldehyde in der Innenraumluft. 52: 650-659.

(キー研究)

OECD (2005): SIDS Initial Assessment Report for 21th SIAM. n-Valeraldehyde. (ドイツの設定文書で採用された根拠文献)

Union Carbide Corporation. (1979): Unpublished study. Carnegie-Mellon Institute of Research Report 42-50., dated June 11, 1979. (SIDS 内で LOAEL として引用された知見)。

Union Carbide Corporation. (1980): Unpublished study. Butyraldehyde. Twelve-Week Vapor Inhalation Study in Rats Bushy Run Research Center Report 43-61, dated September 17, 1980. (SIDS 内で NOAEL として引用されていた知見)

2) 欧州共同研究 (ECA) の LCI (Lowest Concentration of Interest)

LCI は、小型チャンバーによる建材評価法として利用されているチャンバー内濃度の基準ではあるが、参考までに LCI における有害性評価をレビューした。

雌雄の F334 ラットに 0、1、10、50 ppm の n-ブチルアルデヒド (C₄) を 12 週間 (6 時間/日、5 日/週) 吸入曝露したフォローアップ試験では、先に実施した試験 (UCC, 1979) の 125 ppm 以上の群でみられた鼻腔への影響 (鼻腔以外への影響はなし) がみられなかったことから、NOAEL は 50 ppm (145 mg/m³) 以上であったとした報告 (UCC, 1980) を採用している。

慢性曝露への補正係数を 2、連続曝露への補正係数を 5.6 (= 24/6×7/5)、個体差を 10、データの確実性の係数を 2 とし、計 224 の不確実係数で除して 662.1 µg/m³ とし、これを丸めた 650 µg/m³ をブチルアルデヒドの EU-LCI 値とした。ヘキサナールの EU-LCI 値は、丸める前の n-ブチルアルデヒドの EU-LCI 値 662.1 µg/m³ に、ヘキサナールの分子量 (100.16) と n-ブチルアルデヒドの分子量 (72.11) の比 1.39 (= 100.16/72.11) を乗じて 920.3 µg/m³ (= 662.1×1.39) とし、これを丸めた 900 µg/m³ とした。

ECA-LCI (2013): European collaborative action urban air, indoor environment and human exposure. Report No 29. Harmonisation framework for health based evaluation of indoor emissions from construction products in the European Union using the EU-LCI concept.

EU (2016): Agreed EU-LCI values (December 2016)

(http://ec.europa.eu/growth/sectors/construction/eu-lci/values_en)

(キー研究)

Union Carbide Corporation. (1980): Unpublished study. Butyraldehyde. Twelve-Week Vapor Inhalation Study in Rats Bushy Run Research Center Report 43-61, dated September 17, 1980.
(SIDS 内で NOAEL として引用されていた知見)

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った。

- National Institute for Working life (2006): Scientific Basis for Swedish Occupational Standards XXVII. (RD₅₀ 値の出典として引用されていた文献 Steinhagen WH, Barrow CS. (1984): Sensory irritation structure-activity study of inhaled aldehydes in B6C3F1 and Swiss-Webster mice. Toxicol Appl Pharmacol. 72: 495-503.)
- JECFA (1998): Safety evaluation of certain food additives and contaminants. WHO food additives series 40. Saturated aliphatic acyclic linear primary alcohols, aldehydes, and acids.
- RIVM (2006): Adverse health effects of cigarette smoke: aldehydes, Crotonaldehyde, butyraldehyde, hexanal, and malonaldehyde.
また、EU-LCI 値を Tolerable exposure level とし、敷物からの化学物質曝露によるリスクを評価した事例 (risk characterisation ratio : RCR = 曝露濃度/EU-LCI) もあった。
- Danish EPA (2016): Survey and risk assessment of chemical substances in rugs for children. Survey of chemical substances in consumer products No. 147.

3. ノナナール (CAS 124-19-6)

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中間報告書では、ノナナールの毒性データについては情報量が乏しいことから、C₈～C₉のアルデヒド混合物の経口投与の試験結果から、吸入換算した評価が行われている。

また、ドイツ連邦環境庁の室内空気質ガイドラインでは、C₄～C₁₁の脂肪族飽和直鎖アルデヒドの有害性情報が乏しいなか、C₄についてはリスク評価を行う上で十分な情報があることから、C₄の有害性情報を基に C₄～C₁₁の脂肪族飽和直鎖アルデヒドの有害性評価を行っている。

1) 厚生労働省の室内濃度指針値（案）

ノナナールを含む C₈～C₁₂のアルデヒド類の混合物をラットに12週間経口投与した試験では、NOAEL が 12.4 mg/kg/day (USEPA, 2000) であったことから、これに不確実係数 1,000 (種差 10、個体差 10、短期→長期 10) を除して 0.0124 mg/kg/day とし、体重 50 kg、呼吸量 15 m³/day をもとに吸入換算した 0.041 mg/m³ (41 µg/m³) を室内濃度指針値案の暫定値 (情報量が乏しいため) に設定している (厚生労働省, 2001)。

なお、NOAEL は Federal Register に記載された US EPA の情報に基づくが、出典等の記載がなく、実験結果等の詳細は不明である。また、US EPA の Test Plan や Robust Summaries、JECFA の文書には、Nonanal を含む C₈～C₁₂のアルデヒド混合物をラットに 0、112 mg/kg/day の用量段階で12週間混餌投与した試験結果の記載があるが、12.4 mg/kg/day という投与量の記載はない。JECFA の WHO Food Additives Series 14 では、112 mg/kg/day は Nonanal として 29 mg/kg/day に相当するとしており、US EPA の Robust Summaries に記載された濃度比を基に按分すると、Nonanal の投与量として 29 mg/kg/day を導くことができることから、JECFA はこのようにして算出していた可能性が示唆された。

厚生労働省 (2001): シックハウス (室内空気汚染) 問題に関する検討会 中間報告書—第 6 回及び第 7 回のまとめについて。(別添 1) 室内空気汚染に係るガイドライン案について —室内濃度に関する指針値—

(キー研究)

USEPA (2000): Notice of Filing Pesticide Petitions to Establish Tolerances for Certain Pesticide Chemicals in or on Food. Federal Register. December 20, 2000; Vol. 65, No. 245: 79834-79839.

2) ドイツ連邦環境庁の室内空気質ガイドライン

雌雄の F334 ラットとビーグル犬に 0、125、500、2,000 ppm の n-ブチルアルデヒド (C₄) をラットで 13 週間 (6 時間/日、5 日/週)、ビーグル犬で 14 週間 (6 時間/日、5 日/週) 吸入曝露した試験では、125 ppm 以上の群のラットとビーグル犬で鼻腔の扁平上皮化生の発生率に有意な増加を認めた (UCC, 1979) ことから、LOAEL を 125 ppm (363 mg/m³) としている (OECD, 2005)。なお、雌雄の F344 ラットに 0、1、10、50 ppm (145 mg/m³) の n-ブチルアルデヒド (C₄) を 12 週間 (6 時間/日、5 日/週) 曝露した試験では、いずれの濃度においても、鼻腔で影響はみられなかった (UCC, 1980)。

ドイツ連邦環境庁は、室内空気質ガイドラインの導出にあたっては、亜慢性試験の LOAEL を 360 mg/m³ とし、慢性曝露への補正係数を 4 として連続曝露に補正した 16 mg/m³ (= 360 × 1/4 × 6/24 × 5/7) を不確実係数 10 (種差 1、個体差 10) で除して丸めた 2 mg/m³ を RW II (GV II)、さらに 1/10 した 0.2 mg/m³ を RW I (GV I) に設定した。

また、C₄~C₁₁ の脂肪族飽和直鎖アルデヒドの総量については、総 WII として 2 mg/m³、総 WI として 0.1 mg/m³ を設定した。なお、種差については、鼻腔での局所影響であることから 1 に設定している。個体差 10 については、短期間曝露後の気道影響の変動に関する研究に基づいた係数として 5、子供に対する不確実性の係数として 2 を適用している。

Umweltbundesamtes (2009): Richtwerte für gesättigte azyklische aliphatische C₄- bis C₁₁-Aldehyde in der Innenraumluft. 52: 650-659.

(キー研究)

OECD (2005): SIDS Initial Assessment Report for 21th SIAM. n-Valeraldehyde. (ドイツの設定文書で採用された根拠文献)

Union Carbide Corporation. (1979): Unpublished study. Carnegie-Mellon Institute of Research Report 42-50., dated June 11, 1979. (SIDS 内で LOAEL として引用された知見)。

Union Carbide Corporation. (1980): Unpublished study. Butyraldehyde. Twelve-Week Vapor Inhalation Study in Rats Bushy Run Research Center Report 43-61, dated September 17, 1980. (SIDS 内で NOAEL として引用されていた知見)

3) 欧州共同研究 (ECA) の LCI (Lowest Concentration of Interest)

LCI は、小型チャンバーによる建材評価法として利用されているチャンバー内濃度の基準ではあるが、参考までに LCI における有害性評価をレビューした。

雌雄の F334 ラットに 0、1、10、50 ppm の n-ブチルアルデヒド (C₄) を 12 週間 (6 時間/日、5 日/週) 吸入曝露したフォローアップ試験では、先に実施した試験 (UCC, 1979) の 125 ppm 以上の群でみられた鼻腔への影響 (鼻腔以外への影響はなし) がみられなかったことから、NOAEL は 50 ppm (145 mg/m³) 以上であったとした報告 (UCC, 1980) を採用している。

慢性曝露への補正係数を 2、連続曝露への補正係数を 5.6 (= 24/6 × 7/5)、個体差を 10、データの確実性の係数を 2 とし、計 224 の不確実係数で除して 662.1 µg/m³ とし、これを丸めた 650 µg/m³ をブチルアルデヒドの EU-LCI 値とした。ヘキサナールの EU-LCI 値は、丸める前の n-ブチルアルデヒドの EU-LCI 値 662.1 µg/m³ に、ヘキサナールの分子量 (100.16) と n-ブ

チルアルデヒドの分子量 (72.11) の比 1.39 (=100.16/72.11) を乗じて 920.3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (=662.1 \times 1.39) とし、これを丸めた 900 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ とした。

ECA-LCI (2013): European collaborative action urban air, indoor environment and human exposure. Report No 29. Harmonisation framework for health based evaluation of indoor emissions from construction products in the European Union using the EU-LCI concept.

EU (2016): Agreed EU-LCI values (December 2016)

(http://ec.europa.eu/growth/sectors/construction/eu-lci/values_en)

(キー研究)

Union Carbide Corporation. (1980): Unpublished study. Butyraldehyde. Twelve-Week Vapor Inhalation Study in Rats Bushy Run Research Center Report 43-61, dated September 17, 1980.

(SIDS 内で NOAEL として引用されていた知見)

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った。

○ The Flavor and Fragrance High Production Volume Consortia, The C₇-C₉ Consortium. (2004): Test Plan for C₇- C₉ Aliphatic Aldehydes and Carboxylic Acids.

○ The Flavor and Fragrance High Production Volume Consortia, The C₇ - C₉ Consortium. (2004): Revised Robust Summaries for C₇ - C₉ Aliphatic Aldehydes and Carboxylic Acids.

○ WHO (1967): Toxicological evaluation of some flavouring substances and non-nutritive sweetening agents. FAO Nutrition Meetings Report Series No. 44A, WHO/Food Add./68.33.

○ JECFA (1979): (WHO Food Additives Series 14, Nonanal.

また、EU-LCI 値を Tolerable exposure level とし、敷物からの化学物質曝露によるリスクを評価した事例 (risk characterisation ratio : RCR = 曝露濃度/EU-LCI) もあった。

○ Danish EPA (2016): Survey and risk assessment of chemical substances in rugs for children. Survey of chemical substances in consumer products No. 147.

4. 2-n-octyl-4-isothiazolin-3-one (OIT) (CAS 26530-20-1)

急性毒性、反復曝露の一般毒性、生殖発生毒性が得られており、遺伝子傷害性はないと考えられている。発がん性試験の結果はあるが、ガイドラインの要求事項を満たす試験ではないため、評価はできないとしたうえで、カナダの評価書では、発がん性が問題になる可能性は低いとされている。

1) 米国環境保護庁 (USEPA) における農薬の再登録資格決定 (Reregistration Eligibility Decision: RED) の評価

雌雄の SD ラットに 0、0.05、0.64、6.39 mg/m^3 を 13 週間吸入曝露 (6 時間/日、5 日/週) した試験では、6.39 mg/m^3 群でラ音や呼吸困難などの症状、体重増加の抑制、子宮内の液体、肺や鼻腔の病理学的変化を認めたことから (Hagan et al., 1989)、NOAEL を 0.64 mg/m^3 とし、2、4、6、8 時間曝露のヒト等価濃度 (HEC) に換算して、農薬としての散布時における住宅、職場での MOE を求めている。なお、この際、短期間曝露及び中期間曝露のターゲット MOE

を 30 (= 個体差 10×種差 3) とし、各種曝露条件下で求めた MOE と比較してリスクを評価している。

USEPA (2007): Reregistration Eligibility Decision for 2-Octyl-3 (2H)-isothiazolone (OIT), EPA 739-R-07-008.

(キー研究)

Hagan J, Kulwich B, Fisher J. (1989): Skane M-8 HQ Microbicide: Thirteen-Week Inhalation Toxicity Study in Rats: Protocol No. 86P-196: Report No. 87R-013: Lab Project Number: 87R-013: 86P-196. Unpublished study prepared by Rohm and Haas Co. 521 p. MRID #41544701.

2) カナダ保健省 (Health Canada) における農薬登録の評価

雌雄の SD ラットに 0、0.05、0.64、6.39 mg/m³ を 13 週間吸入曝露 (6 時間/日、5 日/週) した試験では、6.39 mg/m³ 群で体重増加の抑制、鼻腔の病変などを認めたことから (Hagan et al., 1989)、NOAEL を 0.64 mg/m³、不確実係数を個体差 10、種差 10、短期→長期で 3 とし、ターゲット MOE を 300 (= 10×10×3) としてリスク評価を行っている。(具体的には、0.64 mg/m³ を経口換算した 0.17 mg/kg/day で MOE を算出し、ターゲット MOE 300 と比較している。(評価書 19 ページの Table 3.5.2.2)。

Health Canada (2016): Proposed Registration Decision, PRD2016-19. Oocthilonone.

(キー研究)

Hagan J, Kulwich B, Fisher J. (1989): Skane M-8 HQ Microbicide: Thirteen-Week Inhalation Toxicity Study in Rats: Protocol No. 86P-196: Report No. 87R-013: Lab Project Number: 87R-013: 86P-196. Unpublished study prepared by Rohm and Haas Co. 521 p. MRID #41544701. (1989. Skane M-8 HQ Microbicide - Thirteen-week inhalation toxicity study in rats (87R-013;86P-196). June 29, 1989. DACO: 4.7) (上記 US EPA(RED)で示した設定根拠の知見と同じ。)

3) ドイツ研究振興会 (DFG) の最大現場濃度 (MAK)

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。

雌雄の SD ラットに 0、0.05、0.64、6.39 mg/m³ を 13 週間吸入曝露 (6 時間/日、5 日/週) した試験では、6.39 mg/m³ 群の鼻腔で扁平上皮化生等の明瞭な影響を認め、0.64 mg/m³ 群でも鼻腔の上皮内に好酸球性滴がみられた (Hagan et al., 1989) ことから NOAEL を 0.05 mg/m³ とし、同値を MAK 値に設定している (DFG, 2001)。DFG は、0.64 mg/m³ 群における鼻腔の上皮内の好酸球性滴は対照群ではみられなかったことから、OIT による毒性学的に意義のある影響と判断している。

DFG (2001): The MAK Collection for Occupational Health and Safety. MAK Value Documentation for 2-Octyl-4-isothiazolin-3-one. Vol.16.

(キー研究)

Rohm and Haas Company (1989) Skane M-8 HQ microbicide: thirteen-week inhalation toxicity study

in rats. Report No. 87R 013, unpublished report. (上記 US EPA(RED)で示した設定根拠の知見と同じ。)

4) その他

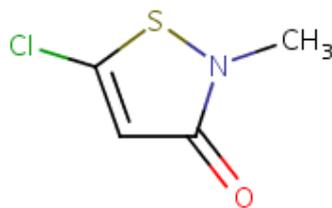
指針値等のリスク評価値の設定は実施していないが、有害性の知見を取りまとめたものとして、下記のような報告があった。

- CalEPA (2009): Oethylinone [CASRN: 26530-20-1]. Materials for the July 28-29, 2009 Meeting of the California Environmental Contaminant Biomonitoring Program (CECBP) Scientific Guidance Panel (SGP).

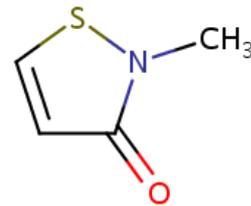
5. 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one (CI-MIT) (CAS 26172-55-4)

5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one のみの有害性情報は得られなかった。しかし、5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one と 2-Methyl-3(2H)-isothiazolone を約 3:1 の割合で含む物質(剤)が Methylisothiazolinone という名称で農薬として使用(登録)されていたことから、混合物としての有害性やリスク評価の情報が得られた。

これらの混合物では、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、2年間の飲水投与試験では腫瘍の発生増加はみられなかったが、複数の発がん性試験の結果がないことから、USEPA はグループ D に分類している。



5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one
(CAS: 26172-55-4)
別名 Methylchloroisothiazolinone



2-Methyl-3(2H)-isothiazolone
(CAS: 2682-20-4)
別名 Methylisothiazolinone

1) 米国環境保護庁(USEPA)における農薬の再登録資格決定(Reregistration Eligibility Decision: RED)の評価: Methylisothiazolinone

雌雄のSDラットに0、0.34、1.15、2.64 mg/m³を90日間吸入曝露(6時間/日、5日/週)させたところ、1.15 mg/m³以上の群の鼻孔で炎症、2.64 mg/m³群で体重増加の抑制、鼻腔の呼吸粘膜で好酸球性滴を認めた(Hagan et al., 1984)ことから、NOELを0.34 mg/m³とし、リスク評価を行っている(USEPA, 1998)。(具体的には、0.34 mg/m³を経口換算(10 m³/日)した0.049 mg/kg/dayを使用)。

USEPA (1998): Reregistration Eligibility Decision for Methylisothiazolinone, EPA738-R-98-012.

(キー研究)

Hagan J, Baldwin R (1984) Kathon 886 MMPA Process: 13-Week Inhalation Toxicity Study in Rats: Report No. 82R-245. Unpublished study prepared by Rohm and Haas Co. 267 p. MRID #00148418.

(入手できず)

2) ドイツ研究振興会 (DFG) の最大現場濃度 (MAK)

雌雄のSDラットに0、0.34、1.15、2.64 mg/m³を90日間吸入曝露(6時間/日、5/週)させた試験の結果から(Hagan et al., 1984)、NOAELを0.34 mg/m³とし、MAK値を0.2 mg/m³に設定している(DFG, 2007)。

なお、1991年の評価では、0、0.027、0.23、0.89 mg/m³の90日間曝露(6時間/日、5/週)させた試験の結果、0.89 mg/m³群で体重増加の抑制、血清タンパク質の減少、脾臓重量の減少、0.23 mg/m³群で軽度の鼻炎を認めたことからNOELを0.027 mg/m³としてMAK値を0.05 mg/m³としていた。しかし、蒸気分画を分析対象としない分析方法が使用されていたことから曝露濃度が余りにも低くなったため、実験条件を再現して実施したフォローアップ試験では曝露濃度(蒸気+エアロゾル)は0、0.34、1.15、2.64 mg/m³であったとした報告をもとにNOAELを0.34 mg/m³とし、1999年にMAKが0.2 mg/m³に変更された。

DFG (2007): The MAK Collection for Occupational Health and Safety. MAK Value Documentation. 5-Chloro-2-methyl-2,3-dihydroisothiazol-3-one and 2-Methyl-2,3-dihydroisothiazol-3-one. Vol. 23.

(キー研究)

Rohm and Haas (1984) Kathon 886 MPPA process. 13-week inhalation toxicity study in rats. Protocol No. 82P-093, report no. 92R-245, revised version from 10.12.1984, unpublished. (上記US EPA(RED)で示した設定根拠の知見と同じ。)

3) 欧州共同研究 (ECA) の LCI (Lowest Concentration of Interest)

Lowest Concentration of Interest (LCI) 値として、1 mg/m³が設定されているが、設定根拠は明示されていない。

ECA (2013): European collaborative action urban air, indoor environment and human exposure. Report No 29. Harmonisation framework for health based evaluation of indoor emissions from construction products in the European Union using the EU-LCI concept.

AgBB (2015): Health-related evaluation procedure for volatile organic compounds emissions (VVOC, VOC and SVOC) from building products.

EU (2016): Agreed EU-LCI values.

4) EC の Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS) の評価

SDラットに0、30、100、300 ppmの濃度で飲水投与した2世代試験の結果、300 ppm群のF0 (P1)で飲水量の有意な減少、胃壁の刺激/びらんを認めたことから、30 ppm群の用量2.8~4.4 mg/kg/dayをもとに、NOAELを2.8 mg/kg/dayとしてMOSを算出している(SCCS, 2009)。

なお、US EPA (RED) や DFG (MAK) が採用した3:1混合物の知見については、3:1の組成に不確実な点がある等の理由から、限定的な知見としている。

SCCS (2009): Opinion on the mixture of 5-chloro-2-methylisothiazolin-3(2H)-one and 2-methylisothiazolin-3(2H)-one. COLIPA n° P56.

(キー研究)

Rohm and Haas (1998): Kathon™ 886F biocide: two-generation reproductive toxicity study in rats. Report No. 96R-189. Unpublished. (US EPA の農薬評価書 (RED) に引用されていない知見で、入手できなかった。)

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、下記のような報告があった。

- NICNAS (2014): Human health tier ii assessment for 3(2h)-isothiazolone, 5-chloro-2-methyl-
- ECHA (2016): Annex 1 - Background document to the Opinion proposing harmonised classification and labelling at EU level of Reaction mass of: 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one [EC no. 247-500-7] and 2-methyl-2H-isothiazol-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1).
- EC (2000): IUCLID dataset. 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one. Year 2000 CD-ROM edition.

また、吸入による感作や小児の末梢気道病変を報告した下記のような論文もあった。

- Breuer K, Uter W, Geier J. (2015): Epidemiological data on airborne contact dermatitis - results of the IVDK. Contact Dermatitis. 73: 239-247.
- Cho HJ, Park DU, Yoon J, Lee E, Yang SI, Kim YH, Lee SY, Hong SJ. (2017): Effects of a mixture of chloromethylisothiazolinone and methylisothiazolinone on peripheral airway dysfunction in children. PLoS One. 12: e0176083.

カナダが 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one と 2-Methyl-3(2H)-isothiazolone を 3:1 混合物の知見を基に、2-Methyl-3(2H)-isothiazolone を単独成分とした農薬登録の評価を実施していたが、両物質の吸入毒性には大きな違いがないとして、混合比での按分や追加の不確実係数の設定は実施していない。

- Health Canada (2011): Proposed Registration Decision. 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one. PRD2011-02.
- Health Canada (2014): Registration Decision. 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one. RD2014-02.

6. トリメチルベンゼン (CAS 108-67-8)

トリメチルベンゼンについては、多数の機関から報告されている。それぞれの機関毎に有害性評価結果の概要を以下に示す。

1) 化学物質評価研究機構 (CERI) 有害性評価書 : 1,3,5-トリメチルベンゼン

1,3,5-トリメチルベンゼン単体に関するヒトの疫学研究報告はないが、1,3,5-トリメチルベンゼン異性体の混合溶剤 10~60ppm(全ベンゼン誘導体濃度)への曝露で、作業中に頭痛、疲労感、めまい、胃の不調、歯ぐきや鼻の出血の症状がみられ、血液凝固時間の延長、血小板数の減少、赤血球数の減少、最高濃度への曝露者の 70%に喘息性気管支炎が生じたとの報告がある。

実験動物に対する急性毒性については、Dyshinevich(1979)の実験で、ラットに4時間暴露したときの LC₅₀ が 4,800ppm(24,000mg/m³)であり、中枢神経系の障害がみられたとの報告がある。

実験動物に対する刺激性及び腐食性については、Jacob ら(1987)の研究結果によると、1,3,5-トリメチルベンゼン 0.5ml を NZW ウサギの皮膚に適用後観察した結果、ごく軽度の発赤が1時間後からみられ、144時間後には中等度から重度になった。1時間後の観察では浮腫は軽度であり、144時間後に消失した。また、Marhold(1986)によると、ウサギの皮膚に 1,3,5-トリメチルベンゼン

ン 20mg を 24 時間適用した試験で、皮膚に中等度の刺激性がみられ、更に、ウサギの眼に 1,3,5-トリメチルベンゼン 500mg を 24 時間適用した試験で、眼に軽度の刺激性がみられた。

反復投与毒性については、経口投与では肝臓、腎臓への影響が、吸入暴露では中枢神経系への影響がみられている。IIT RI(1995)は雌雄の SD ラットに 1,3,5-トリメチルベンゼン 0、50、200、600 mg/kg/日を 90 日間経口投与（5 日/週）した試験で、600 mg/kg/日群では雌雄に鼠径部被毛の濡れ及び変色、流涎が観察され、血中無機リン含有量の上昇、肝臓相対重量の増加がみられ、雄のみに体重増加の抑制(5 週以後)、腎臓相対重量の増加がみられ、雌のみに肝臓絶対重量の増加がみられたことから、NOEL を 200mg/kg/日としているが、CERI 有害性評価書(2006)ではこの値を NOAEL と判断している。

CERI(2006)が調査した範囲内では、1,3,5-トリメチルベンゼンの生殖・発生への影響に関するエビデンスは存在しない。遺伝毒性については、Florin ら(1980)や Spiechowicz ら(1998)が行った実験結果ではいずれも陰性の結果を示しているが、遺伝毒性に関する試験報告は少なく、明確な判断はできない。また、1,3,5-トリメチルベンゼンの実験動物に対する発がん性に関する試験報告は得られておらず、国際機関等も発がん性を評価していない。

CERI (2006) CERI 有害性評価書 1,3,5-トリメチルベンゼン. 財団法人化学物質評価研究機構, 東京.

<キー文献>

IIT RI (1995) 90day oral gavage toxicity study of 1,3,5-trimethylbenzene in rats with a recovery group, Final Report, EPA/OTS; Doc #44618 (NTIS/OTS; Doc #0558838)

<参考文献>

Dyshinevich, N.E. (1979) Public-health standards for trimethylbenzenes in polymeric building materials. *Gig. sanit.* 5,15-19. (GDCh BUA, 1990 から引用)

Jacob, G..A. and Martens, M. (1987) (タイトル不明) *J. Toxicol.-Cut. Occular Toxicol.*, 6, 215. (GDCh BUA, 1990 から引用)

Marhold, J. (1986) *Prehled Prumyslove Toxikologie, Organické Latky*, p34. (U.S. NIOSH, 2004 から引用) U.S. NIOSH, National Institute for Occupational Safety and Health (2004) Registry of Toxic Effects of Chemical Substances, STN online. (GDCh BUA, 1990 から引用)

Florin I., Rutberg, L., Curvall, M. and Enzell, C.R. (1980) Screening of tobacco smoke constituents for mutagenicity using the Ames' test. *Toxicology*, 18, 219. (GDCh BUA, 1990 から引用)

Spiechowicz, E.J., Wyszynska, K. and Dziubaltoeska, E. (1998) (Title is not known) *Mutation Res.*, 412, 299-305.(U.S. NIOSH, 2002 から引用)

2) 環境省初期リスク評価：1,3,5-トリメチルベンゼン

環境省初期リスク評価(2013)では、1,3,5-トリメチルベンゼンの非発がん影響については一般毒性及び生殖・発生毒性等に関する知見が得られているが、発がん性については十分な知見が得られず、ヒトに対する発がん性の有無については判断できないとしている。このため、閾値の存在を前提とする有害性について、非発がん影響に関する知見に基づき無毒性量等を設定している。

生殖・発生毒性については、Saillenfait ら(2005)の実験において、Sprague-Dawley ラット雌 24 匹を 1 群とし、0、100、300、600、1,200 ppm を妊娠 6 日から 20 日まで吸入(6 時間/日)させた結果、300 ppm 以上の群で体重増加の有意な抑制と摂餌量の有意な減少を認め、600 ppm

以上の群の雄の胎仔及び 1,200 ppm 群の雌の胎仔で体重は有意に低かったが、黄体数や着床数、着床後胚損失率、生存胎仔数などに影響はなく、奇形や変異の発生増加もなかったことから、NOAEL を母ラットで 100 ppm、胎仔で 300ppm としている。しかし、この実験結果は健康リスクの評価の指標には設定されていない。

経口曝露については、IIT Research Institute(1995)の実験で、Sprague-Dawley ラット雌雄各 10 匹を 1 群とし、0、50、200、600 mg/kg/day を 90 日間 (5 日/週) 強制経口投与した結果、600 mg/kg/day 群の雄で体重は 11%低かったが、有意差はなく、600mg/kg/day 群の雌雄で血中のリン濃度、肝臓の絶対及び相対重量、雌で肝臓及び腎臓の相対重量の有意な増加を認めたが、組織への影響はいずれの群にもみられなかったことから、NOAEL を 200 mg/kg/day(ばく露状況で補正:143 mg/kg/day)とし、試験期間が短いことから 10 で除した 14mg/kg/day が信頼性のある最も低用量の知見と判断し、これを無毒性量等に設定している。

吸入曝露については、Wiaderna ら(2002)のラットの実験結果から LOAEL 25ppm(123mg/m³)として評価すべきという意見があったが、その影響(中枢神経系)に濃度依存性がなかったことから、LOAEL として採用しないこととしたため、無毒性量等の設定はされていない。

環境省 (2013) 化学物質の環境リスク評価第 11 巻: 1,3,5-トリメチルベンゼン. 環境省環境リスク評価室, 東京.

<キー文献>

IIT Research Institute (1995): 90-Day oral gavage toxicity study of 1,3,5-trimethylbenzene in rats with a recovery group. IITRI Project No. L0851. Study 2. NTIS/OTS0558838.

<参考文献>

Saillenfait, A.M., F. Gallissot, J.P. Sabate and G. Morel (2005): Developmental toxicity of two trimethylbenzene isomers, mesitylene and pseudocumene, in rats following inhalation exposure.

Food Chem. Toxicol. 43: 1055-1063.

Wiaderna, D., S. Gralewicz and T. Tomas (2002): Assessment of long-term neurotoxic effects of exposure to mesitylene (1,3,5-trimethylbenzene) based on the analysis of selected behavioral responses. Int. J. Occup. Med. Environ. Health. 15: 385-392.

3) 環境省初期リスク評価: 1,2,4-トリメチルベンゼン

環境省初期リスク評価(2009)では、1,2,4-トリメチルベンゼンの非発がん影響については一般毒性及び生殖・発生毒性等に関する知見が得られているが、発がん性については十分な知見が得られず、ヒトに対する発がん性の有無については判断できないとしている。このため、閾値の存在を前提とする有害性について、非発がん影響に関する知見に基づき無毒性量等を設定している。

生殖・発生毒性については、Saillenfait ら(2005)の実験において、Sprague-Dawley ラット雌 24 匹を 1 群とし、0、100、300、600、900ppm を妊娠 6 日から 20 日まで吸入(6 時間/日)させた結果、600 ppm 以上の群で体重増加の有意な抑制と摂餌量の有意な減少を認め、600 ppm 以上の群の胎仔で体重は有意に低かったが、黄体数や着床数、着床後胚損失率、生存胎仔数などに影響はなく、奇形や変異の発生増加もなかったことから、NOAEL を母ラット及び胎仔で 300ppm としている。しかし、この実験結果は健康リスクの評価に用いる指標には設定されていない。

経口ばく露については、化学物質点検推進連絡協議会(1996)の実験をキー研究としている。実験では、Sprague-Dawley ラット雌雄各 10 匹を 1 群とし、0、30、100、300、1,000 mg/kg/day

を 28 日間強制経口投与した結果、300 mg/kg/day 以上の群の雌雄で投与直後に流涎がみられ、1,000 mg/kg/day 群の雄で体重増加の有意な抑制、雌でその抑制傾向がみられた。血液や臨床化学成分に影響はなかったが、1,000 mg/kg/day 群の雌雄で尿量が有意に増加した。300 mg/kg/day 以上の群の雄及び 1,000 mg/kg/day 群の雌で腎臓相対重量、300 mg/kg/day 以上の群の雌及び 1,000 mg/kg/day 群の雄で肝臓相対重量の有意な増加を認め、300 mg/kg/day 以上の群の雄の腎臓で尿細管の硝子滴変性の発生率が有意に増加した。この結果から、NOAEL は 100 mg/kg/day とされた。そして環境省初期リスク評価(2009)では NOAEL 100 mg/kg/day(肝臓相対重量の増加など)を試験期間が短いことから 10 で除した 10 mg/kg/day が信頼性のある最も低用量の知見と判断し、これを無毒性量等に設定している。

吸入ばく露については、Gralewicz ら(1997)と Korsak ら(2000)のラットの試験をキー研究に設定している。Gralewicz ら(1997)の実験では、Wistar ラット雄 15 匹を 1 群とし、0、123、492、1,230 mg/m³ を 4 週間(6 時間/日、5 日/週)した結果、各群の体重に影響はなかった。最終ばく露の 14 日から 54 日後に実施した放射状迷路試験の成績に影響はなかったが、オープンフィールド試験での身繕い回数は 492 mg/m³ 群で有意に増加した。ステップダウン型受動的回避試験では 492 mg/m³ 以上の群で潜時の増加が有意に小さく、能動的回避試験では 1,230 mg/m³ 群の学習に軽度の遅延がみられた。熱刺激からの逃避行動をみたホットプレート試験では初日の成績に影響はなかったが、翌日の検査では 492 mg/m³ 以上の群で潜時の有意な遅延を認めた。この結果から、NOAEL を 123 mg/m³(ばく露状況で補正:22 mg/m³)とした。

Korsak ら(2000)の実験では、Wistar ラット雌雄各 10 匹を 1 群とし、0、123、492、1,230 mg/m³ を 3 ヶ月間(6 時間/日、5 日/週)吸入させた結果、体重や摂餌量、臓器重量に影響はなかったが、123mg/m³ 以上の群の雄でソルビトール脱水素酵素活性がやや高く、492 mg/m³ 以上の群の雌で血液凝固時間の有意な短縮、1,230 mg/m³ 群の雄で赤血球数の有意な減少と白血球数の有意な増加、雌で網赤血球数の有意な減少を認め、492mg/m³ 以上の群の雌雄の肺で気管支周囲のリンパ組織の増殖、間質のリンパ球浸潤の発生率に有意な増加がみられた。この結果から、NOAEL を 123mg/m³(ばく露状況で補正:22mg/m³)とした。

以上の実験結果より、環境省初期リスク評価(2009)は、Gralewicz ら(1997)のラットの試験から得られた NOAEL 123 mg/m³(行動(神経系)への影響)及び Korsak ら(2000)のラットの試験から得られた NOAEL 123 mg/m³(気管支周囲の変性)をばく露状況で補正して 22 mg/m³ とし、試験期間が短いことから 10 で除した 2.2 mg/m³ が信頼性のある最も低濃度の知見と判断し、これを無毒性量等に設定している。

環境省 (2009) 化学物質の環境リスク評価 第 7 巻 1,2,4-トリメチルベンゼン.環境省環境リスク評価室, 東京.

<キー文献>

化学物質点検推進連絡協議会 (1996): 1,2,4-トリメチルベンゼンのラットを用いる 28 日間反復経口投与毒性試験. 化学物質毒性試験報告. 4: 179-188.

Gralewicz, S., D. Wiaderna, T. Tomas and K. Ryzyski (1997): Behavioral changes following 4-week inhalation exposure to pseudocumene (1,2,4-trimethylbenzene) in the rat. *Neurotoxicol. Teratol.* 19: 327-333.

Korsak, Z., J. Stetkiewicz, W. Majcherek, I. Stetkiewicz, J. Jajte and K. Ryzyski (2000): Sub-chronic inhalation toxicity of 1,2,4-trimethylbenzene (pseudocumene) in rats. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health.* 13: 155-164.

<参考文献>

Saillenfait, A.M., F. Gallissot, J.P. Sabate and G. Morel (2005): Developmental toxicity of two trimethylbenzene isomers, mesitylene and pseudocumene, in rats following inhalation exposure. *Food Chem. Toxicol.* 43: 1055-1063.

4) カリフォルニア州環境保護庁の OEHHA (Office of Environmental Health Hazard Assessment)

トリメチルベンゼン(TMB)のヒトに対する毒性についてのデータは、Bättigら(1958)による職業的吸入曝露の研究に限定される。スイスのプラント輸送塗装店の労働者が97.5%芳香族炭化水素(1,2,4-TMB>50%、1,3,5-TMB>30%、1,2,3-TMBと様々なメチルエチルベンゼン)からなる溶剤に曝露されていた。曝露レベルは10-60ppm(49-295mg/m³)の範囲だった。その溶剤は10年間使われていたが、労働者の曝露期間は報告されていない。労働者はコントロール群より多く中枢神経症状(めまい、頭痛、眠気)を報告している。中枢神経症状の発生率はコントロール群と比べて有意に高いと判断された(p<0.05)。

実験動物に対する1,2,4-TMBと1,3,5-TMBの経口毒性についてNCEA(1999)が評価している。NCEA(1999)は1,3,5-TMBの毒性についてIIT RI(1995)の動物実験のデータを採用している。Sprague-Dawleyラット雌雄それぞれ10匹が強制経口で0, 50, 200, 600 mg/kgの1,3,5-TMBを90日間、週に5日投与された。日々の曝露量(7 days/wk)は0, 36, 143, 429mg/kg-dayに相当すると計算された。この研究で、血清リンの値が高投与量の雌雄ラットにおいて、増加していることから、NOAELは143 mg/kg-day、LOAELは429 mg/kg-dayと判断された。1,2,4-TMBの毒性についてNCEA(1999)は適切な研究論文がないと考えている。しかし、1,3,5-TMBと1,2,4-TMBの代謝と性質はとても類似しているので、1,2,4-TMBに対するreference dose(RfD)は1,3,5-TMBに類似すると判断しており、OEHHA(2001)ではこの判断を支持している。

OEHHA (2001) PROPOSED ACTION LEVELS FOR 1,2,4-TRIMETHYLBENZENE AND 1,3,5-TRIMETHYLBENZENE

<キー文献>

IIT RI (1995). 90-Day oral gavage toxicity study of 1,3,5-trimethylbenzene in rats with a recovery group. Industry Institute of Toxicology Research Institute. Study conducted for Koch Industries Inc., Wichita, KS.

<文献>

Bättig KE, Grandjean E, Rossi L, and Rickenbacker J (1958). Toxicological investigation of trimethylbenzene. *Arch. Gewerbepathol. Gewerbehygiene.* 16:555-566 (as cited in NCEA, 1999).

NCEA (1999). Risk Assessment Issue Paper for: Derivation of Provisional RfD for 1,2,4-Trimethylbenzene (CASRN 95-63-6) and 1,3,5-Trimethylbenzene (CASRN 108-67-8). National Center for Environmental Assessment, U.S. Environmental Protection Agency (98-023/6-30-99).

5) ドイツ研究振興会 (DFG) の最大現場濃度 (MAK) : トリメチルベンゼン (全異性体)

MAK value を設定するのに適したトリメチルベンゼン各異性体に関する長期研究はない。しかし、動物実験と約50%のトリメチルベンゼンを含むC₉芳香族混合物に曝露されたヒトに関する

る所見は確認できた。50%超の1,2,4-トリメチルベンゼン及び30%超の1,3,5-トリメチルベンゼンなどを含む塗料用シンナー(Fleet X)に平均7年間にわたって曝露された塗装工27人を対象としたBättigら(1956;1958)による調査で、これらの労働者に血球数の減少がみられたが、DFG(1998)はこの曝露レベルが半定量的にしか決定されておらず、またC₉芳香族混合物を用いた適切な動物実験で一致した血球数の変化は観察されていないため、この血液影響については評価できないと考え、それゆえに慢性及び慢性動物実験における所見をlimit valueの導出に使用すべきとしている。

Clarkら(1989)の実験で、大人のラットをC₉芳香族混合物に12ヶ月曝露した結果、366 ml/m³ (164 ml/m³のtotalトリメチルベンゼンと約120 ml/m³の1,2,4-トリメチルベンゼンに相当)の高濃度に曝露された雄ラットにのみ肝臓と腎臓重量の増加が観察されたが、病理組織学的変化は見られなかった。体重増加量は最初だけ減少した。

API(1989)の3世代のラットを対象とした実験では、約50%のトリメチルベンゼン留分を含むC₉芳香族混合物への曝露は、495 ml/m³ (273 ml/m³のtotalトリメチルベンゼン)で体重増加量の減少が観察された。若いラットはより敏感に反応し、103 ml/m³ (57 ml/m³のtotalトリメチルベンゼン)の低濃度で体重増加量の減少が観察された。この若いラットの特別な感度の原因とヒトへの関連性は明らかでないが、トリメチルベンゼンだけがこの影響の原因であるとは考えられない。

KorsakとRydzynski(1996)の実験では、Wistarラット雄10匹を1群とし、1,2,4-トリメチルベンゼンと1,2,3-トリメチルベンゼンを0、25、100、250 ml/m³ (0、123、492、1,230 mg/m³)で3ヶ月間(6時間/日、5日/週)吸入させホットプレート試験を行い、100 ml/m³以上の1,2,4-トリメチルベンゼン、250 ml/m³以上の1,2,3-トリメチルベンゼンで潜時の遅延がみられた。この結果より、DFG(1998)は1,2,4-トリメチルベンゼンでは25 ml/m³ (123 mg/m³)、1,2,3-トリメチルベンゼンでは100 ml/m³ (492 mg/m³)がNOAECに相当するとしている。

Korsakら(1997)の実験では、ラット雄10匹を1群とし、1,2,4-トリメチルベンゼンを25、100、250 ml/m³で90日間(6時間/日、5日/週)曝露させた。DFG(1998)はこの実験で、25 ml/m³の1,2,4-トリメチルベンゼンを曝露された1群で肺の炎症細胞が増加した所見がヒトにも該当するか明らかにすべきとしている。

各トリメチルベンゼン異性体の毒性に関する研究から引用できる結論はないが、Järnbergら(1996;1997)のボランティアを使った実験によると吸入後の各異性体の血中濃度は非常に類似しているため、各異性体の活性は他のアルキルベンゼンのそれと比較できると思われる。他のアルキルベンゼンの事例とは異なり、ヒトに対する神経毒性の研究は行われていない。これらのデータが利用できるまでは、KorsakとRydzynski(1996)の実験結果より、全てのトリメチルベンゼン異性体に対するMAK valueは暫定的に20 ml/m³とする。この濃度では、2時間以内に血中レベルが半分以上減少するので、各異性体はPeak Limitation Category II with an excursion factor of 1に分類する。

API(1988)はCD1マウス雌22~27匹を一群とし、C₉芳香族混合物102 ± 2.5 ml/m³、500 ± 3.7 ml/m³、1514 ± 22.9 ml/m³ (トリメチルベンゼン56,275,833 ml/m³に相当)を妊娠6日から15日まで吸入(6時間/日)させた。高曝露群で母体死亡率の増加(約50%)、摂餌量の減少、体重増加の抑制、ヘマトクリット値及び平均赤血球容積の減少、平均赤血球血色素濃度の増加を認めた。低・中等度曝露群では母体毒性は認められなかった。高曝露群の胎仔で口蓋裂、胸骨分節及び頭蓋骨の骨化遅延の発生率の増加が認められた。また高曝露群で着床後胚損失率は有意に高く、中・高曝露群では胎仔の体重は有意に低かった。API(1988)はこの結果より、トリメチルベンゼンのNOECは胎仔で56 ml/m³、母ラットで275 ml/m³とした。

Ungvaryら(1983)は、妊娠したラット3匹を一群とし、C₉芳香族混合物を妊娠20日に4時間、全身に曝露させた。この研究では全トリメチルベンゼンの異性体が胎盤を通過することが示

された。さらに、ラット 18~20 匹を一群とし、C₉芳香族混合物を 49,78,156 mg/m³の濃度で妊娠 7 日から 15 日まで曝露させた。中・高曝露群では雄の胎児の体重が 5 %減少し、高曝露群では 89 匹中 53 匹で骨成長の遅れがみられた。また高曝露群では臓器発育遅延(胸腺と尿管)の合計数が増加した。これらの結果より全トリメチルベンゼンに対する NOAEC は 49 ml/m³とされた。

ラットの複数世代の研究と API(1988)と Ungvary ら(1983)による吸入後の胎児毒性の研究の結果は約 50 %のトリメチルベンゼンを含む C₉芳香族混合物の生殖毒性は低いと示唆している。稀な胎児毒性だけが高曝露群で観察された。全トリメチルベンゼンの胎児毒性に対する NOAEC はマウスで 56 ml/m³、ラットで 49 ml/m³とする。上述の NOAEC と 20ml/m³の暫定的 MAK value の違いはとても小さいように見えるけれども、もしこの値が観察されるならば、胎児毒性は起こらないと期待される。またトリメチルベンゼンだけが C₉芳香族の全濃度の約 50 %を占めるということを考慮しなければならない。すなわち、実験動物はかなり高濃度の芳香族に曝露されていた。それゆえにトリメチルベンゼンは Pregnancy Risk Group C に分類する。

DFG (1998) The MAK Collection for Occupational Health and Safety. MAK Value Documentation for trimethylbenzene (all isomers)

<キー文献>

Korsak Z, Rydzynski K (1996) Neurotoxic effects of acute and subchronic inhalation exposure to trimethylbenzene isomers (pseudocumene, mesitylene, hemimellitene) in rats. *Int J Occup Med Environ Health* 9: 341–349

Korsak Z, Rydzynski K, Jajte J (1997) Respiratory irritative effects of trimethylbenzenes: an experimental animal study. *Int J Occup Med Environ Health* 10: 303–311

<参考文献>

Bättig K, Grandjean E, Turrian V (1956) Gesundheitsschäden nach langdauernder Trimethylbenzol-Exposition in einer Malerwerkstatt (Health damage after prolonged exposure to trimethylbenzene in a painting workshop) (German). *Z Präventivmed* 1: 389–403

Bättig K, Grandjean E, Rossi L, Rickenbacher J (1958) Toxikologische Untersuchungen über Trimethylbenzol (Toxicological studies of trimethylbenzene) (German). *Arch Gewerbepathol Gewerbehyg* 16: 555–566

Clark DG, Butterworth ST, Martin JG, Roderick HR, Bird MG (1989) Inhalation toxicity of high flash aromatic naphtha. *Toxicol Ind Health* 5: 415–428

API (1989) Three generation reproduction/fertility study in rats with C₉ aromatic hydrocarbons. IRDC 418-033, EPA/OTS Doc# 86-890000223, NTIS/OTS0516758, NTIS, Springfield, VA, USA

Järnberg J, Johanson G, Löf A (1996) Toxicokinetics of inhaled trimethylbenzenes in man. *Toxicol Appl Pharmacol* 140: 281–288

Järnberg J, Ståhlbom B, Johanson G, Löf A (1997) Urinary excretion of dimethylhippuric acids in humans after exposure to trimethylbenzenes. *Int Arch Occup Environ Health* 69: 491–497

API (1988) Inhalation developmental toxicity study in mice with C-9 aromatic hydrocarbons. IRDC 418-032, EPA/OTS Doc#FYI-AX-0588-0605, NTIS/OTS0000605-0, NTIS, Springfield, VA, USA

Ungvary G, Tatrai E, Lorinz M, Fittier Z, Gyongyi B (1983) Study of the embryotoxic effect of Aromatol, a new aromatic C₉-mixture (English translation). *Egeszsegudomány* 27: 138–148

6) 欧州化学物質庁 (European Chemical Agency: ECHA) の登録物質データベース : 1,2,4-トリメチルベンゼン

吸入反復毒性については、Clark ら(1989)と Korsak ら(2000)の実験をキー研究としている。Clark ら(1989)は、Wistar ラット雄雌各 25 匹を 1 群とし、C₉ 芳香族混合物(2.76%の 1,2,3-トリメチルベンゼン、32.7%の 1,2,4-トリメチルベンゼン、9.35%の 1,3,5-トリメチルベンゼンなどを含む)を 0, 450, 900, 1800 mg/m³ の濃度で 12 ヶ月間(6 時間/日、5 日/週)吸入させた。その結果、様々な統計学的に著しく血液学的な変化が雄ラットで 6 ヶ月目までに一時的に見られたが、生物学的に重要ではないと考えられた。高濃度曝露された雄の肝臓と腎臓の重量は 6 ヶ月目と 12 ヶ月目に増加したが、病理組織学的変化がなかったため、生理学上の適応反応だと考えられた。治療に関連した病理組織学的異常はみられなかった。この C₉ 芳香族混合物への慢性曝露では、全身毒性が観察されなかったため、NOAEC は 1800 mg/m³ と判断された。Korsak ら(2000)は、Wistar ラット雌雄各 10 匹を 1 群とし、0, 123, 492, 1230mg/m³ の 1,2,4-トリメチルベンゼンを 3 ヶ月間(6 時間/日、5 日/週)吸入させた。その結果、体重や摂餌量、臓器重量に変化はなかったが、1,2,4-トリメチルベンゼンへの曝露の呼吸刺激作用により生じた炎症に関連すると考えられる多くの影響があった。492、1230 mg/m³ 群の肺で気管支周囲、実質、血管周囲のリンパ球浸潤の増加がみられた。1230 mg/m³ 群で赤血球数の減少、網赤血球数の減少、白血球数のわずかな増加がみられ、雄ではソルビトール脱水素酵素活性が高くなった。この結果から、ラットにおける全身毒性の NOAEL は 1230 mg/m³ と判断された。

神経毒性については、Douglas ら(1993)、Gralewicz ら(1997)、Gralewicz と Wiaderna(2001)の研究をエビデンスとしている。Douglas ら(1993)は、Charles River COBS CD ラット雄 20 匹を 1 群とし、0, 101, 432, 1320 ppm の高沸点芳香族系溶剤(High Flash Aromatic Naphthas)を 13 週間(6 時間/日、5 日/週)吸入させ、運動活動性と機能観察バッテリーを月 1 回評価した。1320 ppm で体重はコントロール群よりも統計学的に著しく低下していた(実験終了時に 12%低下)。神経毒性の影響はどのグループでもみられなかった。神経組織の病理組織学的検査で神経病理的影響あるいは関連退行性変化は示されなかった。その結果より、神経毒性の NOAEC は 1320 ppm と判断された。Gralewicz ら(1997)は、Wistar ラット雄 9~10 匹を 1 群とし、0, 25, 100, 250ppm の 1,2,4-トリメチルベンゼンを 4 週間(6 時間/日、5 日/週)吸入させ、spike-wave discharges(SWD)の群発(burst)を観察した。SWD の発生と 1,2,4-トリメチルベンゼンへの曝露との間に量反応関係は認められなかった。この結果より NOAEC は 250ppm と判断された。Gralewicz と Wiaderna(2001)は、Wistar ラット雄 10~11 匹を一群とし、0、100ppm の 1,2,4-トリメチルベンゼンを 4 週間(6 時間/日、5 日/週)吸入させた結果、体重への影響はなかった。中枢神経系への影響を検査するため、最終曝露の 12~60 日後に実施した各種行動試験のうち、放射状迷路試験の成績に影響はなかったが、オープンフィールド試験(区画移動数の増加)、受動回避試験(ステップダウン潜時の短縮)、ホットプレート試験(反応発現時間の遅延)、能動回避試験(試行回数の増加)の成績に有意差を認め、中枢神経系への影響が示唆された。この結果より NOAEC は 100 ppm と判断された。

生殖毒性については McKee ら(1990)の実験をキー研究としている。McKee ら(1990)は Charles River COBS CD ラット雌雄各 30 匹を 1 群とし、1,2,4-トリメチルベンゼン 0.5%、1,3,5-体を 8.4%含む C₉ 混合物を 0、100、500、1500 ppm の濃度で交尾前 10 週から雄には交尾期間、雌には妊娠及び哺育期間(哺育 0~4 日は除く)を通して吸入(6 時間/日)させて 3 世代試験を実施した。

第1世代では1500 ppm 群の親で体重は著明に減少したが、生殖パラメーターには影響がなかった。産仔数、平均出生体重、出生後生存率に差異はなかった。母への曝露をひとたび再開(4L/日)すると、1500 ppm 曝露群の子孫ではコントロール群より体重増加が遅くなった。第2世代では1500 ppm 群の親で体重減少が再び認められ、雄の生殖力は低下した。産仔数、出生体重、出生後生存率は1500 ppm 群で低下したように思われたが、出生までいくつかの仔がGD20を超えて曝露されていたことの影響である。これらの仔では出生数、平均出生体重は減少しており、授乳期の生存は悪かった。1500 ppm からGD20に曝露された雌親の仔の生存はコントロール群の98.7%に対して、92.5%だった。第3世代では、各ラットへの曝露が続けられた(すなわち、前世代と同様に離乳と曝露の開始の間に曝露されていない期間はなかった。)。1500 ppm 群ではラットの88%が死亡した。6匹の仔だけが1500 ppm での評価に利用できたが、受胎や生殖への影響のevidenceはなかった。LD4での平均体重はコントロール群と差異はなかったが、出生体重は1500 ppm 群では低かった。この世代における1500ppmでの毒性は生殖への影響の可能性の決定的評価と前世代で得られた結果の説明を排除する。この結果より、NOAECは500 ppmと判断された。

発達毒性についてはUnnamed(2005)の実験をキー研究としている。実験では妊娠したSprague-Dawley雌ラット24-25匹を一群とし、1,2,4-トリメチルベンゼンを0, 492, 1470, 2950, 4430 mg/m³の濃度で妊娠6日から20日の間、6時間/日吸入させた。2950, 4430 mg/m³群で母体の体重と摂餌量の有意な減少が観察された。2950, 4430 mg/m³群で胎児毒性(胎児の有意な体重減少)が認められた。吸入曝露による胚致死性、催奇性の影響のevidenceはない。この結果よりNOAECは4430 mg/m³と判断された。

ECHA: European Chemical Agency (2017): 1,2,4-trimethylbenzene.

<https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/13135>

<キー研究>

Korsak, Z., J. Stetkiewicz, W. Majcherek, I. Stetkiewicz, J. Jajte and K. Rydzyski (2000): Sub-chronic inhalation toxicity of 1,2,4-trimethylbenzene (pseudocumene) in rats. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health.* 13: 155-164

<参考文献>

Douglas JF, McKee RH, Cagen SZ, Schmitt SL, Beatty PW, Swanson MS, Schreiner CA, Ulerich CE and Cockrell BY (1993): A neurotoxicity assessment of high flash aromatic naphtha. *Toxicology and Industrial Health*, Vol 9, No. 6, pp1047-1056

Gralewicz S, Wiaderna D and Tomas T (1997) : Retardation of the age-related increase in spontaneous cortical spike-wave discharges (swd) in rats after a 28-day inhalation exposure to an industrial solvent, Pseudocumene (1,2,4-trimethylbenzene). *Int. J. Occ. Med. Environ. Health* Vol 10, No.2, 213-222

Gralewicz S and Wiaderna D (2001): Behavioral effects following subacute inhalation exposure to m-xylene or trimethylbenzene in the rat A comparative study. *Neurotoxicology* 22 (2001) 79-89

Clark DG, Butterworth ST, Martin JG, Roderick HR, Bird MG (1989) Inhalation toxicity of high flash aromatic naphtha. *Toxicol Ind Health* 5: 415-428

McKee RH, Wong ZA, Schmitt S, Beatty P, Swanson M, Schreiner CA and Schardein JL (1990) : The reproductive and developmental toxicity of high flash aromatic naphtha.

7) 欧州化学物質庁 (European Chemical Agency: ECHA) の登録物質データベース : 1,3,5-トリメチルベンゼン

吸入反復毒性については Unnamed(2000) (Korsak et al. 2000 とと思われる) と Clark ら(1989) の実験をキー研究としている。Unnamed(2000)の実験では、Wistar ラット雌 10 匹、雄 10 匹を一群とし 1,2,4-トリメチルベンゼンを 0, 123, 492, 1230 mg/m³ の濃度で 3 ヶ月間(6 時間/日、5 日/週)吸入させた結果、弱い全身毒性がみられた。体重、摂餌量、臓器重量に変化はなかった。1,2,4-トリメチルベンゼンへの曝露の呼吸刺激性影響によって生じた炎症に関連すると考えられる多くの影響があった。492, 1230 mg/m³ 群では、気管支周囲肺、実質部と血管周囲でリンパ球浸潤がみられた。1230 mg/m³ 群では、赤血球の減少、網赤血球の減少、白血球のわずかな増加によって特徴付けられる血液学的なパラメーターの異常が起こり、雄ではソルビトール脱水素酵素の活性の増加がみられた。この結果より、NOAEC は 1230 mg/m³ と判断された。但しこの実験は 1,2,4-トリメチルベンゼンの結果である。

Clark ら(1989)の実験では、Wistar ラット雄雌各 25 匹を 1 群とし、C₉ 芳香族混合物(2.76%の 1,2,3-トリメチルベンゼン、32.7%の 1,2,4-トリメチルベンゼン、9.35%の 1,3,5-トリメチルベンゼンなどを含む)を 0, 450, 900, 1800 mg/m³ の濃度で 12 ヶ月間(6 時間/日、5 日/週)吸入させた。高曝露群のラット雄雌ともに体重減少が起こった。様々な統計学的に有意な血液学的な変化が雄ラットで 6 ヶ月目までに一時的に見られたが、生物学的に重要ではないと考えられた。高濃度曝露された雄の肝臓と腎臓の重量は 6 ヶ月目と 12 ヶ月目に増加したが、病理組織学的変化がなかったので、生理学上の適応反応だと考えられた。治療に関連した病理組織学的異常はみられなかった。この C₉ 芳香族混合物への慢性曝露では、全身毒性が観察されなかったので、NOAEC は 1800 mg/m³ と判断された。

神経毒性については、Gralewicz ら(1997)、Unnamed(1996)、Douglas ら(1993)、Wiaderna ら(2002)、Gralewicz と Wiaderna (2001)の研究をエビデンスとしている。Gralewicz ら(1997)は、Wistar ラット雄 9~10 匹を 1 群とし、0, 25, 100, 250 ppm の 1,2,4-トリメチルベンゼンを 4 週間(6 時間/日、5 日/週)吸入させ、spike-wave discharges(SWD)の群発(burst)を観察した。SWD の発生と 1,2,4-トリメチルベンゼンへの曝露との間に量反応関係は認められなかった。この結果より NOAEC は 250 ppm と判断された。

Unnamed(1996)は、Wistar ラット雄 10 匹を一群とし、急性毒性研究では 250-2000 ppm の 1,2,4-トリメチルベンゼンを 4 時間、3 ヶ月吸入させ、ロータロッド試験と痛み刺激反応を評価した。亜慢性毒性研究では 25, 200, 250 ppm の 1,2,4-トリメチルベンゼンを 3 ヶ月(6 時間/日、5 日/週)吸入させ、ロータロッド試験と痛み刺激反応を評価した。急性毒性研究における rotarod performance は濃度依存的分布がみられ、痛み刺激反応は濃度依存的に減少した。Rotarod performance の EC₅₀ は 954 ppm、痛み刺激の EC₅₀ は 1155 ppm と判断された。亜慢性吸入曝露では、rotarod performance に濃度依存的分布がみられ、濃度依存的に痛み刺激の減少が認められた。吸入曝露をやめて 2 週間後、rotarod performance の回復は観察されなかった。

Douglas ら(1993)は、Charles River COBS CD ラット雄 20 匹を 1 群とし、0, 101, 432, 1320ppm の高沸点芳香族系溶剤(High Flash Aromatic Naphthas)を 13 週間(6 時間/日、5 日/週)吸入させ、運動活動性と機能観察バッテリーを月 1 回評価した。1320 ppm で体重はコントロール群よりも統計学的に著しく低下していた(実験終了時に 12%低下)。神経毒性の影響はどのグループでもみられなかった。神経組織の病理組織学的検査で神経病理的影響あるいは関連退行性変化は示されなかった。その結果より、神経毒性の NOAEC は 1320 ppm と判断された。

Wiaderna ら(2002)は、WIST ラット雄 12 匹を一群とし、0, 25, 100, 250 ppm の 1,3,5-トリメチルベンゼンを 4 週間(6 時間/日、5 日/週)吸入させ、行動反応を評価した。受動回避試験、能動回避試験、痛みへの感度には有意な差がみられた。曝露群ではコントロール群と比べ、受動回避反応の持続性の短縮や能動回避試験での試行回数の増加がみられた。100 ppm 群のラットは、ホットプレート試験の二日目により怯えるのが認められた。影響に濃度依存性はなかった。病理所見あるいは他の相互関連性の影響がないため、神経毒性に関する結論はでなかった。この結果、NOAEC は 250ppm と判断された。

Gralewicz と Wiaderna(2001)は、Wistar ラット雄 10~11 匹を一群とし、0, 100 ppm の 1,3,5-トリメチルベンゼンを 4 週間(6 時間/日、5 日/週)吸入させた。放射状迷路試験の成績はコントロール群と比較して差はなかった。曝露群ではオープンフィールド試験での区画移動数の増加、受動回避試験でのステップダウン潜時の短縮、ホットプレート試験での反応発現時間の遅延、能動回避試験での試行回数の増加がみられた。この結果、NOAEC は 100 ppm と判断された。

生殖毒性については McKee ら(1990)の研究をキー研究としている。McKee ら(1990)は Charles River COBS CD ラット雌雄各 30 匹を 1 群とし、1,2,4-トリメチルベンゼン 0.5%、1,3,5-体を 8.4%含む C9 混合物を 0, 100, 500, 1500 ppm の濃度で交尾前 10 週から雄には交尾期間、雌には妊娠及び哺育期間(哺育 0~4 日は除く)を通して吸入(6 時間/日)させて 3 世代試験を実施した。第 1 世代では 1500 ppm 群の親で体重は著明に減少したが、生殖パラメーターには影響がなかった。産仔数、平均出生体重、出生後生存率に差異はなかった。母への曝露をひとたび再開(4L/日)すると、1500 ppm 曝露群の子孫ではコントロール群より体重増加が遅くなった。第 2 世代では 1500 ppm 群の親で体重減少が再び認められ、雄の生殖力は低下した。産仔数、出生体重、出生後生存率は 1500 ppm 群で低下したように思われたが、出生までいくつかの仔が GD20 を超えて曝露されていたことの影響である。これらの仔では出生数、平均出生体重は減少しており、授乳期の生存は悪かった。1500 ppm から GD20 に曝露された雌親の仔の生存はコントロール群の 98.7%に対して、92.5%だった。第 3 世代では、各ラットへの曝露が続けられた(すなわち、前世代と同様に離乳と曝露の開始の間に曝露されていない期間はなかった)。1500 ppm 群ではラットの 88%が死亡した。6 匹の仔だけが 1500 ppm での評価に利用できたが、受胎や生殖への影響の evidence はなかった。LD4 での平均体重はコントロール群と差異はなかったが、出生体重は 1500 ppm 群では低かった。この世代における 1500 ppm での毒性は生殖への影響の可能性の決定的評価と前世代で得られた結果の説明を排除する。この結果より、NOAEC は 500ppm と判断された。

発達毒性については Unnamed(2005a)、Unnamed(2005b)の実験をキー研究としている。Unnamed(2005 a)は妊娠した Sprague-Dawley 雌ラット 24-25 匹を一群とし、1,2,4-トリメチルベンゼンを 0, 492, 1470, 2950, 4430 mg/m³の濃度で妊娠 6 日から 20 日の間、6 時間/日吸入させた。2950, 4430 mg/m³群で母体の体重と摂餌量の有意な減少が観察された。2950, 4430 mg/m³群で胎児毒性(胎児の有意な体重減少)が認められた。吸入曝露による胚致死性、催奇性の影響の evidence はなかった。この結果より NOAEC は 4430 mg/m³と判断された。Unnamed(2005 b)は妊娠した Sprague-Dawley 雌ラット 24-25 匹を一群とし、1,3,5-トリメチルベンゼンを 0, 492, 1470, 2950, 5900mg/m³の濃度で妊娠 6 日から 20 日の間、6 時間/日吸入させた。1470, 2950, 5900mg/m³群で母体の体重と摂餌量の有意な減少が観察された。2950, 5900 mg/m³群で胎児毒性(胎児の有意な体重減少)が認められた。吸入曝露による胚致死性、催奇性の影響の evidence はなかった。この結果より NOAEC は 5900 mg/m³と判断された。

ECHA: European Chemical Agency (2017): 1,3,5-trimethylbenzene.

<https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/9977>

<キー研究>

- Unnamed (2000) : <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/9977/7/6/3>
Clark DG, Butterworth ST, Martin JG, Roderick HR and Bird MG(1989): Inhalation toxicity of high flash aromatic naphtha. Toxicol. Ind. Health Vol 5, No. 3, pp415-428
McKee RH, Wong ZA, Schmitt S, Beatty P, Swanson M, Schreiner CA and Schardein JL (1990) : The reproductive and developmental toxicity of high flash aromatic naphtha. Toxicology and Industrial Health Vol 6, No. 314, pp 441-460
Unnamed(2005a) : <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/9977/7/9/3>
Unnamed(2005b) :<https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/9977/7/9/3/?documentUUID=f6e3246b-a096-4e39-94b0-11e31a2bc609>

<参考文献>

- Gralewicz S, Wiaderna D and Tomas T(1997) : Retardation of the age-related increase in spontaneous cortical spike-wave discharges (swd) in rats after a 28-day inhalation exposure to an industrial solvent, Pseudocumene (1,2,4-trimethylbenzene). Int. J. Occ. Med. Environ. Health Vol 10, No.2, 213-222
Unnamed(1996) :<https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/9977/7/10/1/?documentUUID=a2b95010-c6c7-42df-a0dd-55e412034e3d>
Douglas JF, McKee RH, Cagen SZ, Schmitt SL, Beatty PW, Swanson MS, Schreiner CA, Ulerich CE and Cockrell BY (1993): A neurotoxicity assessment of high flash aromatic naphtha. Toxicology and Industrial Health, Vol 9, No. 6, pp1047-1056
Wiaderna D, Gralewicz S and Tomas T (2002) : Assessment of long-term neurotoxic effects of exposure to mesitylene (1,3,5- trimethylbenzene) based on the analysis of selected behavioral responses. Int J Occ Med Environ Health, Vol 15, No 4, 385-391
Gralewicz S and Wiaderna D (2001) : Behavioral effects following subacute inhalation exposure to m-xylene or trimethylbenzene in the rat A comparative study. Neurotoxicology 22 (2001) 79-89

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

TMBの非発がん影響に対する吸入参照濃度(RfC)

トリメチルベンゼン(TMB)の RfC(Reference Concentration)は、生理学的薬物動態モデル(PBPK)あるいは default dosimetric methods で BMD モデル(benchmark dose modeling)を用いて算出される。BMD モデルは、dose inputs の様な外部曝露濃度と 5%の変化(胎児体重)の BMR レベル(benchmark response level)かコントロールの平均(全ての他のエンドポイント)の 1 標準偏差を使って行なわれる。BMD の信頼下限値(BMDL)(データにフィットするモデルがない場合における NOAEL あるいは LOAEL)が POD として定められると、ヒト等価濃度(HEC)は PBPK モデル(1,2,4-TMB)か default dosimetric adjustments(1,2,3-TMB と 1,3,5-TMB)を使った各エンドポイントで計算される。

各 HEC に対して、複合不確実係数(UF)が TMB データベースにおける不確実性を説明するために適応され、以下の通りとする。

- ・実験動物からヒトに推定する不確実性は 3 (異種間変動性)
- ・ヒト集団のメンバーにおける感受性の変動は 10 (個人間の変動性)
- ・亜慢性実験の使用による亜慢性から慢性への推定は 3

- ・データベースにおける不足は3 (TMB 特異的発達神経毒性の研究に利用できるものはない。)

UF の選択と適用の詳細は Section 2.1.3 で得られる。HEC の候補を 300(複合 UF)で割ると臓器/全身特異的 RfC が求められる。

TMB の毒性データベースにおいて、神経毒性は最も一貫して観察されるエンドポイントである。疼痛感受性の低下は短期間あるいは亜慢性に 1,2,3-TMB あるいは 1,2,4-TMB に曝露した複数の研究で観察された。疼痛感受性を低下させるこの影響と決定の一貫性が、EPA の *Guidelines for Neurotoxicity Risk Assessment*(U.S. EPA, 1998)と一致して reference value(Section 2.1.5 を参照)を得るのに適した有害な影響であるならば、疼痛感受性の低下は重要な影響として選ばれ、Korsak と Rydzyński (1996)の研究が TMB の RfC を導く最も重要な研究として選ばれる。Korsak と Rydzyński (1996)の実験では、Wistar ラット雄 10 匹を 1 群とし、0、123、492、1,230 mg/m³ の 1,2,4-TMB を 3 ヶ月間(6 時間/日、5 日/週)吸入させながら 0、4、8、13 週目に実施した回転棒試験では、濃度に依存した成績低下がみられ、1,230 mg/m³ 群で 8、13 週目の成績は有意に低く、2 週間の回復期間後に実施した試験でも成績の改善はみられなかった。曝露期間終了直後に実施したホットプレート試験では 492 mg/m³ 以上の群で潜時の有意な遅延がみられたが、2 週間後の試験で回復が認められた。1,3,5-TMB 曝露の調査された神経毒性のエンドポイントについて利用できる亜慢性研究はなく、結果として 1,3,5-TMB 特異的神経毒性の RfC は欠落している。しかし、Section 1.2.7 で論じられているように、全ての曝露期間にわたって全異性体に対する利用可能な毒性学的データベースは、異性体の神経毒性について 1,3,5-TMB の RfC は他の TMB 異性体の RfC と実質上変わらないとする重要な類似性が示されている。またこの結論を支持することは、TMB 異性体は化学特性と、血液ガス分配係数、呼吸取り込み、血流への吸収(Section 1.2.7 と Appendices C.1 と C.2 を参照)等の類似性を含む薬物動態学に関して重要な類似性を示しているという意見になる。これらの類似性は 1,3,5-TMB の RfC は 1,2,3-TMB あるいは 1,2,4-TMB に対して算出された RfC と同様になるであろうという結論を支持することになる。1,2,3-TMB の RfC でなく 1,2,4-TMB の RfC が全 TMB データベースの RfC として選ばれた。これは確証された PBPK モデルの適応を通じて算出されたという点で信頼性が増したためである。一方、1,2,3-TMB の値は default dosimetric methods を使って推定された。従って、全 TMB の慢性 RfC は 1,2,4-TMB 曝露の神経毒性の量反応関係から得た BMDL_{1SD} の 141 mg/m³ に基づきヒト等価濃度に換算して不確実係数 300 を適用して 6×10^{-2} mg/m³ に設定された。この TMB の RfC は TMB 異性体単独あるいは TMB 異性体の混合物に曝露されたときにも使用される。個々の臓器あるいは全身特異的 RfC は、複数の agent の統合した影響が同じ場所で作用することを考慮する引き続き累積リスク評価に有用だろう。

複数のシステムにおいて慢性曝露に対する RfC を提供することに加えて、この文書はまた、亜慢性期間の曝露に対する RfC も提供する。TMB のケースにおいて、慢性 RfC を算出するために使われた研究の全ては亜慢性あるいは妊娠期のものである。それゆえに、亜慢性 RfC を算出する方法は慢性 RfC の算出に使われた方法と同一であり、亜慢性から慢性 UF(Table ES-1 を参照)の適応は行っていない。妊娠は感受性の critical window であり、発育する胎児に対する亜慢性 RfC value は慢性 RfC value と同一であることに注意すべきである。またどちらのケースにおいても慢性以下の曝露を説明するのに適応される UF はない。亜慢性吸入 RfC は 30 日以上曝露で最大ヒトの寿命の約 10%までで使用されることが意図されている。TMB の亜慢性 RfC は 1,2,4-TMB 曝露の神経毒性に基づいて 2×10^{-1} mg/m³ に設定された。

1,2,4-TMB の慢性吸入 RfC の信頼度

高、中、低の信頼水準は *Methods for Derivation of Inhalation Reference Concentrations and Application of Inhalation Dosimetry (U.S. EPA, 1994)* の Section 4.3.9.2 に説明されているように RfC、データベース全体、RfC それ自体に由来して使用された研究にあてはめられる。

critical effect が同定された研究における信頼は低から中等度である。その研究は、コントロール群と3つの服用群、服用群ごとに適した動物数、適切な統計解析を利用し査読された研究である。しかし、この研究において信頼を低下させる不確実な source は存在する。

この研究に関する不確実性の一領域には、報告された実際の濃度の欠落がある。しかし、試験環境が作られ分析された方法が十分に詳細まで報告されていて、この実験室がその後の研究でこの方法論を使っていて、適切な実際の濃度(すなわち目標濃度の10%以内)を達成しているようなら、報告された実際の濃度の欠落に関する懸念は少し解消される。リファレンスの Table 1 の分散の報告された測定は SDs であると主要な研究は明白に述べていないという事実が不確実性の他の source に認められる。しかし、分散の報告されたレベルの慎重な分析と統計学的有意性の重大さは、分散の測定は SDs であると示している。この結論を支持することは、この研究室の全ての他の論文は、分散は SDs として報告しているという考えになる。RfC を決定した critical effect は、TMB 誘導性神経毒性の weight of evidence が動物間(ヒト、マウス、ラット)、異性体間、複数の曝露期間(急性、短期間、亜慢性)において筋が通っていて、よく支持されている。

TMB に対するデータベースはラットとマウスの急性、短期間、亜慢性、発達毒性研究を含んでいる。しかし、データベース全体の信頼は低から中等度である。その理由は、それが慢性研究と発達神経毒性研究、そして優性に同じ研究機関による critical effect を支持する研究を欠いているからである。TMB の RfC の相対的な信頼は低から中等度である。

経口曝露による発がん性以外の影響

1,3,5-TMB の経口曝露の影響を調査した亜慢性研究が1つだけ同定された。臨床化学パラメーターと白血球数の変化を含む血液学的体系上の影響がラットで経管栄養的に 1,3,5-TMB を曝露したとき観察された。臓器の重量変化もまた複数の器官(腎臓、肝臓)で観察された。臨床化学パラメーターと臓器重量の変化は関連器官で病理組織学的変化を欠いて観察された。これは自然に代償が起こったと考えられる。有害でないあるいは自然に代償された可能性のある影響を無視することで、RfD の導出に基づいた統計学的に有意な影響として雄ラットにおける単球の増加が観察された。もし膨大な TMB データベースがなければ、単球のわずかな増加は不確実な有害性であるけれども、白血球数の変化を含むたくさんの endpoint が吸入毒性データベースにおいて観察された。それゆえに経口曝露による単球の増加は血液学的体系への何らかの毒性を示している可能性があり、また吸入曝露についても明白であると考えられる。

発がん性以外の TMB に対する経口 RfD

TMB に対する RfD は default dosimetric methods を伴った BMD モデルを使って導出された。BMD モデルは dose inputs として外部曝露濃度と対照群の平均値の 1 SD の BMR レベルを使って行なわれる。BMDL が POD として定められると、default dosimetric adjustments(すなわち 3/4 の力に対する体重)を使って 3.0mg/kg-day のヒト等価濃度(HED)が単球の増加に対して計算される。

推定された HED に対して、composite UF が TMB データベース上の不確実性を説明するために適応され、以下の通りとする

- ・実験動物からヒトに推定する不確実性は 3 (異種間変動性)
- ・ヒト集団のメンバーにおける感受性の変動は 10 (個人間の変動性)

- ・亜慢性実験の使用による亜慢性から慢性への推定は3
- ・データベースにおける不足は3(TMB 特異的発達神経毒性の研究に利用できるものはない。)

UF の選択と適応の詳細は Section 2.2.3. で得られる。HED を 300(この composite UF)で割ると $1 \times 10^{-2} \text{mg/kg-day}$ の RfD が求められ、これはどの TMB 異性体あるいは TMB 異性体の混合物に適応することができる。

経口のデータから計算された TMB に対する RfD に加えて、経口 TMB データベースにおける適切な神経毒性のデータの欠落に対処するために RfD が route-to-route 推定を用いて吸入のデータから算出された。神経毒性は reference values の導出に重要な endpoint で、特に全異性体の急性経口や急性、短期間、亜慢性の吸入曝露に及ぶ TMB データベースで観察される神経毒性と一致している場合、TMB に対する吸入データベースからそのことは明らかである。最終的に経口と吸入神経毒性の endpoints は類似しており、神経毒性の endpoints は吸入データベースの中で最も信頼性がある RfC になるという事実があり、神経毒性に基づいた PODs は RfDs の導出に重要であると期待するのは合理的である。1,2,4-TMB に対する利用できるデータベースは route-to-route 推定の使用をサポートする。なぜなら代謝の類似した質的側面(すなわちジメチル安息香酸と馬尿酸の代謝の観察)と曝露ルートにおける親化合物分布のパターン(Section C.2, Appendix C)を示す十分なエビデンスが存在するからである。

それゆえ、経口曝露では吸入曝露のように同じ全身影響を生じる(すなわち疼痛感受性の低下として測定された中枢神経系機能の変化)と考えると、経口曝露は EPA による PBPK モデル(Section C.3.3.5, Appendix C)に加えられ、また、肝臓に至る経口投与の持続注入による摂取された 1,2,4-TMB の 100%の吸収と 6 つの摂取イベント(Section 2.2.3 を参照)の理想的なパターンを考慮する。修正された PBPK モデルを使うと 3.5mg/kg-day の HED が求められた。これは $1 \times 10^{-2} \text{mg/kg-day}$ の RfD を推定するために 300 の composite UF で割って算出された。単球の増加に対する経口の 1,3,5-TMB のデータから計算された RfD に同等であるけれども、 $1 \times 10^{-2} \text{mg/kg-day}$ の値は最終的に TMB 異性体に対する RfD として選ばれた。この RfD は経口、吸入曝露でみられた神経毒性の影響のパターンにおける共通性と、血中での類似性(すなわちガスと組織：ガス分配係数と TMB 異性体間における血流への吸収)と、肝臓を経る初回通過の代謝は 3 つの異性体間で著しく異なることが予期されないことを示す質的代謝側面を含む経口と吸入のデータベースにおけるエビデンスの複数の lines に基づく。

血液系、神経系への影響に対する RfD を規定することに加えて、この文書はまた寿命より短い状況で懸念される曝露に対する亜慢性 RfD の評価を規定する。TMB の場合、慢性 RfD の算出の route-to-route の推定に使用される経口 1,3,5-TMB の研究と吸入 1,2,4-TMB の研究は両方とも亜慢性の期間である。それゆえに、亜慢性 RfD を算出するために使用される方法は UF の適応なしに慢性 RfC の算出のために使用されるのと同様である。これは composite UF が 100 になる(異種間の UF [UF_A] が 3、種内の UF [UF_H] が 10、UF_S が 1、データベース UF [UF_D] が 3)。血液学的影響(3.01mg/kg-day)と神経毒性影響(3.5mg/kg-day)に対する POD を 100 の composite UF で割ると、単球の減少、疼痛感受性の低下に対する RfDs がそれぞれ 3×10^{-2} 、 $4 \times 10^{-2} \text{mg/kg-day}$ になる。亜慢性 RfD は 1,2,4-TMB への曝露による神経学的影響に基づいて $4 \times 10^{-2} \text{mg/kg-day}$ に設定された。亜慢性経口 RfD は最大でヒトの寿命の約 10%で、30 日以上の曝露に使用されることが目的とされる。

1,2,4-TMB に対する慢性経口 RfD の信頼度

TMB の経口データベースの信頼度は低い。なぜならそれは複数の異性体に対する神経毒性 endpoints を調べた急性経口研究と、1,3,5-TMB に対する一般毒性 endpoints を調べた亜慢性研

究を含むからである。このデータベースは RfD を導出するのに使われたが、もし適切な神経毒性研究を欠いているとすれば、この RfD の信頼度は低い。PBPK モデルは吸入データから RfD の導出に POD を決定するために route-to-route 推定を行なうのに利用された。有害な影響がわかったその研究の信頼度は低から中等度である(Section 2.1.7 を参照)。1,2,4-TMB に対するデータベースはラットとマウスの急性、短期間、亜慢性、そして発達毒性研究を含む。しかし、TMB のデータベースの信頼度は低から中等度である。なぜならそれは慢性、発達神経毒性研究を欠いており、有害な影響を支持する研究は主に同じ研究機関によるものであるからである。その研究とデータベースの信頼度と route-to-route 推定の目的に利用される PBPK モデルの適応に関する不確実性を考慮すると、TMB に対する RfD の信頼度は低い。

発がん性のエビデンス

EPA の *Guidelines for Carcinogen Risk Assessment*(U.S. EPA,2005)によると、TMBs の発がん性のポテンシャルを評価するには情報が不十分である。がんの outcome を調べた慢性吸入の研究がないことが 1,2,3-TMB、1,2,4-TMB、あるいは 1,3,5-TMB の文献においてわかった。ラットを 1 回の実験で経管栄養的に 800 mg/kg-day の 1,2,4-TMB に曝露したがん研究では、全悪性腫瘍と頭部腫瘍(例えば neuroesthesioepitheliomas)における悪性増加が報告されたが、その結果の統計学的分析は提供されていない。多くの方法論的問題はこの研究の有用性を制限している(例えば 1 つだけの服用群や病理組織学的分析の議論がない)。それゆえに、TMB に対する質的ながん評価は行なわれなかった。

影響を受ける個体群と生活環

TMB 曝露により感受性が増加する個体群や生活環を同定するのを可能にする TMB 特異的データはなかった。しかし、関連化合物トルエンから得られたデータは、若齢期では溶剤曝露に対して感受性があるという示唆的なエビデンスを提示している。それゆえに、TMB 異性体への若齢期での曝露を特別に考慮することは合理的に考えられる。

USEPA (2016) Toxicological Review of Trimethylbenzenes [CASRNs 25551-13-7, 95-63-6, 526-73-8, and 108-67-8]. Integrated Risk Information System, National Center for Environmental Assessment, Office of Research and Development, □U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.

<キー研究>

Korsak, Z; Rydzyński, K. (1996). Neurotoxic effects of acute and subchronic inhalation exposure to trimethylbenzene isomers (pseudocumene, mesitylene, hemimellitene) in rats. *Int J Occup Med Environ Health* 9: 341-349

<文献>

U.S. EPA (U.S. Environmental Protection Agency). (1998): Guidelines for neurotoxicity risk assessment [EPA Report] (pp. 1-89). (EPA/630/R-95/001F). Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency, Risk Assessment Forum.

<http://www.epa.gov/risk/guidelines-neurotoxicity-risk-assessment>

U.S. EPA (U.S. Environmental Protection Agency). (1994): Methods for derivation of inhalation reference concentrations and application of inhalation dosimetry [EPA Report] (pp. 1-409). (EPA/600/8-90/066F). Research Triangle Park, NC: U.S. Environmental

Protection Agency, Office of Research and Development, Office of Health and Environmental Assessment, Environmental Criteria and Assessment Office.

<https://cfpub.epa.gov/ncea/risk/recordisplay.cfm?deid=71993&CFID=51174829&CFTOKE N=25006317>

U.S. EPA (U.S. Environmental Protection Agency). (2005): Guidelines for carcinogen risk assessment [EPA Report] (pp. 1-166). (EPA/630/P-03/001F). Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency, Risk Assessment Forum.
<http://www2.epa.gov/osa/guidelines-carcinogen-risk-assessment>

9) ドイツ連邦環境庁の室内空気質ガイドライン

長期間の研究は吸入曝露後の発がん性が欠けている。これは C₉ 芳香族混合物にも適応される。発がん性のデータは遺伝毒性の可能性を示唆しない。1,2,4-トリメチルベンゼン(TMB)の経口投与では、発がん性の影響が生じる可能性が認められた。NTP(1986)によると、ラットとマウスに構造類似体であるジメチルベンゼン(o-, m-, p-キシレン)と 1,2,4-TMB の混合物を経口投与した結果、発がん性の影響があるエビデンスは得られなかった。キシレンの様に TMB は側鎖にメチル基だけを含み、イソプロピルベンゼンや長い側鎖を持つ他の代表物質とは異なる。Cruzan ら(2009)によると、ナフタレンや他の構造類似物(イソプロピルベンゼンなど)は、マウスの気道において特に、特異的 P450 モノオキシゲナーゼの良い基質であることが示される。またラットは高い活動性があり、これらの物質の局所影響と関連している。それゆえ TMB や側鎖にメチル基だけを含む他の C₉-C₁₅ アルキルベンゼンは、エチルプロピルベンゼンやイソプロピルベンゼンとは著しく異なる活性プロファイルを持っていると考えられる。しかし、1,2,4-TMB と 1,2,3-TMB の亜慢性吸入研究ではラットの下気道における局所炎症反応が示された。さらなる情報のためには、吸入後の代謝と毒性に関する研究が求められる。予防的観点から、TMB 吸入曝露で気道に有害な影響が及ぼされると考えられる。

TMB の事例において、個別の物質や C₉ アルキルベンゼン混合物を伴う神経毒性が観察された亜慢性研究では体重減少などの非特異的変化と同様にまた TMB と関連がある。C₉-C₁₅ アルキルベンゼンや他の混合物に対する利用できる適切なデータはない。

Ad Hoc Working Group は TMB のデータに基づいた導出を批評している。キー研究に選ばれた Korsak ら(2000a)の実験では、Wistar ラット雌雄各 10 匹を 1 群とし、0、123、492、1,230 mg/m³ を 3 ヶ月間(6 時間/日、5 日/週)吸入させた結果、体重や摂餌量、臓器重量に影響はなかったが、123 mg/m³ 以上の群の雄でソルビトール脱水素酵素活性がやや高く、492 mg/m³ 以上の群の雌で血液凝固時間の有意な短縮、1,230 mg/m³ 群の雄で赤血球数の有意な減少と白血球数の有意な増加、雌で網赤血球数の有意な減少を認め、492 mg/m³ 以上の群の雌雄の肺で気管支周囲のリンパ組織の増殖、間質のリンパ球浸潤の発生率に有意な増加がみられた。Korsak ら(2000a, 2000b, 1996)の研究報告から、ラットにおける TMB の亜慢性曝露での LOAEC 490 mg/m³ (endpoint: リンパ球増加と下気道へのリンパ球浸潤)が starting point として使用された。持続的曝露(6h/日, 5 日/週)換算すると LOAEC は 88 mg/m³ に相当する。さらなる推定要因として、Ad-hoc-AG IRK/AGLMB (2012)より、亜慢性から慢性曝露にはアセスメント係数 2 が、種差として 2.5、個体差で 10、そして子供の特別な生理機能(大人と比較して呼吸数増加)を考慮するのに 2 が適用された。88 mg/m³ の濃度は、 $88/2 \times 2.5 \times 10 \times 2 = 0.9$ より、四捨五入して 1 mg/m³ (TMB 全異性体)が GV (Guide value) II として得られた。さらに係数 10 (LOAEL を使用) を掛けて 0.1 mg/m³ を GV I としている。この値は C₉~C₁₅ のアルキルベンゼンの合計値に適用される。

Umweltbundesamtes (2012): Richtwerte für C₉ – C₁₅-Alkyl- benzole in der Innenraumluft.

<キー研究>

Korsak Z, Stetkiewicz J, Majcherek W et al. (2000a). Subchronic inhalation toxicity of 1,2,4-trimethylbenzene (pseudocumene) in rats. *Int J Occup Med Environ Health* 13: 155-164.

<参考文献>

NTP (1986) Toxicology and Carcinogenesis Studies of Xylenes (Mixed) (60 % m-Xylene, 14 % p-xylene, 9 % o-Xylene, and 17 % Ethylbenzene (CAS No. 1330-20-7) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Gavage Studies). *Natl Toxicol Program Tech Rep Ser* 327: 1-162.

Cruzan G, Bus J, Banton M et al. (2009) Mouse specific lung tumors from CYP2F2-mediated cytotoxic metabolism: an endpoint/toxic response where data from multiple chemicals converge to support a mode of action. *Regul Toxicol Pharmacol* 55: 205-218.

Korsak Z, Stetkiewicz J, Majcherek W et al. (2000b). Subchronic inhalation toxicity of 1,2,3-trimethylbenzene (hemimellitene) in rats. *Int J Occup Med Environ Health* 13: 223-232.

Korsak Z, Rydzynski K (1996). Neurotoxic effects of acute and subchronic inhalation exposure to trimethylbenzene isomers (pseudocumene, mesitylene, hemimellitene) in rats. *Int J Occup Med Environ Health* 9: 341-349.

Ad-hoc-AG IRK/AGLMB (2012) Richtwerte für die Innenraumluft: erste Fortschreibung des Basischemas. *Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz* 55: 279-290.

7. メチルシクロヘキサン (CAS 108-87-2)

1) 米国産業衛生専門家会議 (ACGIH) の許容濃度

Treonら(1943)は、ウサギに1日あたり6時間で10000 ppmを10日間連続吸入曝露したところ、痙攣、昏睡、死亡を生じたこと、2880 ppmで90時間の曝露では中毒症状を生じなかったこと、1200 ppmで300時間ではウサギで何ら影響がみられなかったことを報告している。またサルでは、1日あたり6時間で370 ppmのメチルシクロヘキサンに50日間吸入曝露(6時間/日、5日間/週で10週間)したところ、何ら影響はみられなかったと報告している。そこでACGIHは、ヘプタンの急性毒性と比較したうえで、400 ppmのTLV-TWAを設定している。

ACGIH (2001): Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices. 7th Edition. Methyl Cyclohexane.

<キー文献>

Treon, J.F.; Crutchfield, Jr., W.E.; Kitzmiller, K.V.: The Physiological Response of Animals to Cyclohexane, Methyl cyclohexane and Certain Derivatives of These Compounds. II. Inhalation. *J. Ind. Hyg. Toxicol.* 25:323-347(1943)

2) 欧州化学物質庁 (European Chemical Agency: ECHA) の登録物質データベース

雌雄のF344ラット(各群65匹)に0、400、2000 ppm(0、1600、80000 mg/m³)を12ヶ月間吸入曝露(6時間/日、5日間/週)したところ、2000 ppm群の雄で進行性腎症(髄質石化、

腎乳頭の上皮過形成) がみられ (Unpublished, 1985)、NOAEC を 1600 mg/m³ (400 ppm) と判断している。2000 ppm 群では体重増加の有意な抑制もみられた。また、雄のハムスター (各群 100 匹) に同様の吸入曝露実験をと行ったところ、400 ppm 群で体重増加の有意な抑制がみられており、LOAEC を 1600 mg/m³ (400 ppm) と判断している。但し、体重増加の抑制に関して用量依存的な関係はみられなかった。

ECHA: European Chemical Agency (2017): methylcyclohexane.

<https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/15991>

<キー文献>

Unpublished (1985) Unnamed title (DFG で引用されている ARML (1985)と同じ内容)

3) ドイツ研究振興会 (DFG) の最大現場濃度 (MAK)

雌雄のF344ラット (各群65匹) に0、400、2000 ppm (0、1600、80000 mg/m³) を12ヶ月間吸入曝露 (6時間/日、5日間/週) したところ、2000 ppm群の雄で進行性腎症 (髄質石化、腎乳頭の上皮過形成) がみられ (AMRL, 1985)、NOAELを1600 mg/m³ (400 ppm) と判断している。DFGは、この結果から、MAKとして200 ppm (810 mg/m³) を設定している。

DFG (2007): The MAK Collection for Occupational Health and Safety. MAK Value Documentation for Methylcyclohexan.

<キー文献>

AMRL (Aerospace Medical Research Laboratory) (1985) Chronic inhalation exposure of experimental animals to methylcyclohexane. AMRL, AFAMRL-TR-85-032, NTIS ADA156053, NTIS, Springfield, VA, USA

8. メチルイソブチルケトン (MIBK) (CAS 108-10-1)

1) 環境省初期リスク評価

F344 ラット雌雄各 50 匹を 1 群とし、0、450、900、1800 ppm を 104 週間 (6 時間/日、5 日/週) 吸入曝露させたところ、450 ppm 以上の群の雌及び 1,800 ppm 群の雄で尿細管の拡張や尿細管上皮の多発性変性、再生及び肥厚などから成る腎症の発生率に有意な増加を認め、さらに雄では 450 ppm 以上の群で腎乳頭の石灰化、尿細管上皮の過形成、900 ppm 以上の群で腎盂移行上皮の過形成、1,800 ppm 群で副腎髄質の過形成の発生率に有意な増加がみられた (NTP, 2007)。

B6C3F₁ マウス雌雄各 50 匹を 1 群とし、0、450、900、1800 ppm を 105 週間 (6 時間/日、5 日/週) 吸入曝露したところ、1800 ppm 群の雌で 17 週間後から体重増加の抑制を認め、雌では各群の 4/50、11/50、10/50、14/50 匹の肝臓に好酸性巣がみられ、その発生率は 450 ppm 及び 1800 ppm で有意であった (NTP, 2007)。

環境省では、これらの結果から、LOAEL を 450 ppm と判断している。なお、マウスの実験においては、雌の肝臓の好酸性巣は 900 ppm 群では有意差がなかったものの、有意差のあった 450 ppm とはわずかに 1/50 匹の差であり、1800 ppm 群の雌雄で肝腫瘍の発生率に有意な増加がみられたことから、安全側の評価となるように LOAEL を 450 ppm と判断している。以上 2 つの実験結果から、LOAEL 450 ppm (雌ラットの腎症の増悪、マウスの肝組織の変性) を曝露状況

で補正して 80 ppm とし、さらに LOAEL であるために 10 で除した 8 ppm (33 mg/m³) 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 (2008) 化学物質の環境リスク評価 第 6 巻 メチルイソブチルケトン.環境省環境リスク評価室, 東京.

(キー研究)

NTP (2007): Toxicology and carcinogenesis studies of methyl isobutyl ketone (CAS No.108-10-1) in F344/N rats and B6C3F1 mice (Inhalation studies). TR-538.

Stout MD, Herbert RA, Kissling GE, Suarez F, Roycroft JH, Chhabra RS, Bucher JR (2008) Toxicity and carcinogenicity of methyl isobutyl ketone in F344N rats and B6C3F1 mice following 2-year inhalation exposure. Toxicology. 2008 Feb 28;244(2-3):209-19. (NTP 2007 を論文化したもの)

2) ドイツ研究振興協会 (DFG) の最大現場濃度 (MAK)

MIBK による粘膜や中枢神経系への影響は重大ではあるが、ヒトにおけるこのような影響は 100 ml/m³ (410 mg/m³) 以上に曝露された場合に報告されている。2.4、25、50、100 ml/m³ の MIBK に曝露されたヒトの研究 (Dick et al., 1992; Iregren et al., 1993; Hjelm et al., 1990) を総合すると、主観的な症状の発現で一致した結果が得られている。短時間曝露における影響を 100 ml/m³ と 25 ml/m³ で比較した場合、また、25 ml/m³ 及び 50 ml/m³ を 2.4 ml/m³ と比較した場合、症状において重要な違いはみられなかった。いずれにおいても、曝露に関係した症状が生じたが、これらの症状は、より低濃度に曝露された対照群と比べて明らかに強いものではなかった。曝露後の刺激や嗅覚における順応の過程は、長期の刺激で影響が残らないことを示している。MIBK の臭いの閾値は 0.4 ml/m³ と低く、ヒトの被験者は自身で匂いを探索した結果、症状を報告したと結論づけることができる。パフォーマンスが低下した感覚における神経学的な影響は観察されなかった。

雌雄の F344 ラットと B6C3F₁ マウス (各群 14 匹) に 0、50、250、1000 ppm を 90 日間 (6 時間/日、5 日/週) 吸入曝露したところ、250 ppm 以上の群の雄マウスにおいて、肝臓の絶対重量の増加がみられ、肝臓の相対重量の増加は 1000 ppm 群のみでみられた。病理組織学的検査では肝臓に対する損傷は観察されなかった。250 ppm 以上の群の雄ラットにおいて、尿細管の硝子滴が増加した。250 ppm 群の雄ラットおよび 1000 ppm 群の雌雄のラットにおける尿中グルコース濃度が増加し、1000 ppm 群の雄ラットでは、タンパクの腎排せつ量、血小板数、血中コレステロールが増加し、雌ラットでは好酸性顆粒球が減少した。これらの結果から、ラットやマウスでの NOEL は 50 ppm と判断された (Phillips et al., 1987)。

DFG では、これらの所見から、MAK としては 20 ppm を設定している。

DFG (1999) The MAK Collection for Occupational Health and Safety. MAK Value Documentation for Hexone

(キー研究)

Phillips RD, Moran EJ, Dodd DE, Fowler EH, Kary CD, O'Donoghue J (1987) A 14-week vapour inhalation toxicity study on methyl isobutyl ketone. Fundam Appl Toxicol 9: 380–388

Dick, R.B., E.F. Krieg, J. Setzer and B. Taylor (1992): Neurobehavioral effects from acute

exposures to methyl isobutyl ketone and methyl ethyl ketone. *Fund. Appl. Toxicol.* 19: 453-473.

Iregren A, Tesarz M, Wigaeus-Hjelm E (1993) Human experimental MIBK exposure: effects on heart rate, performance, and symptoms. *Environ Res* 63: 101-108

Hjelm, E.W., M. Hagberg, A. Iregren and A. Lof (1990): Exposure to methyl isobutyl ketone: toxicokinetics and occurrence of irritative and CNS symptoms in man. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 62: 19-26.

3) 米国産業衛生専門家会議 (ACGIH) の許容濃度

Hjelm ら (1990) の実験では、8名の男性被験者に対して軽度の運動を行いながら 10、100、200 mg/m³ の MIBK に曝露したところ、眼、鼻、喉の刺激、頭痛、吐き気、めまいによる重症度の指標が 10 mg/m³ 曝露群より 100 および 200 mg/m³ 曝露群で有意に高かった。しかしながら、3つの刺激症状を1グループに、3つの中枢神経系症状を1グループに分類したところ、統計上の有意差はみられなかった。Iregren ら (1993) は、男女各6名の研究所の従業員に対して、10 mg/m³ (対照群)、200 mg/m³ (曝露群) で2時間曝露したところ、心拍数、単純反応テスト、単純計算テストで有意差はなかった。しかしながら、曝露による中枢神経症状 (疲労感など) が 200 mg/m³ (49 ppm) 曝露群で有意に上昇した。この2つの実験から、ヒトの中枢神経系症状に対する TLV-TWA は 20 ppm (82 mg/m³) とされた。

ACGIH は、NTP (2007)におけるラットとマウスの104週間吸入曝露の試験結果について、雄の腎臓への影響は、 α -2 マイクログロブリン腎症に起因した結果であり、これらの影響は雄ラットに特異的な病変であることからヒトの健康影響に関連するとは考えられないとし、マウスにおける肝細胞腺腫および肝細胞腺腫あるいは肝細胞がん (その合計) の発生率が 1800 ppm の雌雄で有意に増加したが、これらの腫瘍のヒトへの関連性は疑問であるとしている (ACGIH, 2010)。

ACGIH (2010): Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices. 7th Edition. Methyl Isobutyl Ketone.

(キー研究)

Iregren A; Gamberale F; Kjellberg A: Swedish Performance Evaluation System (SPES): A psychological test system to diagnose environmental hazards. *Neurotoxicol Teratol* 18(4):485-91 (1996).

Hjelm, E.W., M. Hagberg, A. Iregren and A. Lof (1990): Exposure to methyl isobutyl ketone: toxicokinetics and occurrence of irritative and CNS symptoms in man. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 62: 19-26.

NTP (2007): Toxicology and carcinogenesis studies of methyl isobutyl ketone (CAS No.108-10-1) in F344/N rats and B6C3F1 mice (Inhalation studies). TR-538.

4) 欧州連合 (EU) の職業曝露限界値

Linari ら(1964)による MIBK (80-500 ppm(333-2080 mg/m³), 20-30分/日、3-12カ月間) の職業曝露についての研究は、5年後に 50-105 ppm(208-437 mg/m³)と濃度を低くして Armeli によって追跡調査された。500 ppm の曝露群では、19人のうちの大部分が吐き気(17人)、嘔吐(10人)、下痢(6人)、眼の刺激(17人)、気道の刺激(13人)を訴えた。16人は神経衰弱症状を示した。5年後に14人について、より低濃度で追跡調査したところ、症状を示す人の割合は低下したが、

神経衰弱(4/14人)や刺激症状(2/14人)を呈するものが存在した。Armeliら(1968)によるヒトのデータは、100 ppm (410 mg/m³)を下回った値で影響を示し、限界値を決める基盤として十分であると考えられた。そこで、TLV-TWAとして20 ppmが示された。

SCOEL (1991) Recommendation from Scientific Expert Group on Occupational Exposure Limits for 4-Methylpentan-2-one, SEG/SUM/6, 1991

<キー研究>

Armeli, G., Linari, F. and Martorano, G. (1968): Rilievi clinici ed ematochimici in operai esposti all'arione di un chetone superiore (MIBK) ripetuti a distanza di 5 anni. Lav.Umano 20, 418-423.

Linari, F., Perelli, G. and Varese, D. (1964): Rilievi clinici ed ematochimici in operai esposti all'azione di un chetone superior: metil-isoutil-chetone. Arch.Sci.-Med., 226-239.

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

Tylら(1987)は、35匹の妊娠したF344ラットと30匹の妊娠したCD-1マウスのグループを0, 300, 1000, 3000 ppm (0, 307, 1026, 3073 mg/m³)の濃度のMIBKに、一日6時間、妊娠6日から15日に吸入曝露させ、生殖発生毒性を評価した。その結果、胎児の体重は、307、3073 mg/m³に曝露したラットで有意に減少したが、1026 mg/m³群では体重減少はみられなかった。また、マウスでは3073 mg/m³曝露群で有意に胎児の体重が減少した。307 mg/m³曝露群のラットにおける体重減少は、一複の子の大きさによるものであり、曝露に関連したものではないと考えられた。

仔の骨化遅延による様々な奇形を伴う個体数は、対照群と比較して3073 mg/m³曝露群のラットとマウスで明らかに増加した。しかし、統計学的な検定結果は示されていない。

以上の結果から、USEPAは、吸入曝露に関するNOAELを1026 mg/m³とし、不確実係数(種差3、個体差10、データベースの欠如10)300を適用してRfCとして3 mg/m³を導出している。

USEPA (2003): Integrated Risk Information System (IRIS). Methyl Isobutyl Ketone (MIBK); CASRN 108-10-1.

<キー研究>

Tyl, R.W., K.A. France, L.C. Fisher, I.M. Pritts, T.R. Tyler, R.D. Phillips, and E.J. Moran. (1987) Developmental toxicity evaluation of inhaled methyl isobutyl ketone in Fischer 344 rats and CD-1 mice. Fundam Appl Toxicol 8:310-327.

8) ドイツ連邦環境庁の室内空気質ガイドライン

NTP (2007)におけるF344ラットの104週間吸入曝露実験(6時間/日、5日/週)において、雌ラットで慢性進行性腎症が生じており、これをエンドポイントとして320 mg/m³のBMDL₁₀を算出している。この値に対して、曝露時間の補正係数5.6、種差2.5、個体差10、高感受性係数2を適用し、1 mg/m³のguide value II (RW II)を定め、さらに係数10を適用して0.1 mg/m³のRW Iを定めている。

Umweltbundesamtes (2013): Richtwerte für Methylisobutylketon in der Innenraumluft. Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz. 56: 148-158.

(キー研究)

NTP (2007): Toxicology and carcinogenesis studies of methyl isobutyl ketone (CAS No.108-10-1) in F344/N rats and B6C3F1 mice (Inhalation studies). TR-538.

Stout MD, Herbert RA, Kissling GE, Suarez F, Roycroft JH, Chhabra RS, Bucher JR (2008) Toxicity and carcinogenicity of methyl isobutyl ketone in F344N rats and B6C3F1 mice following 2-year inhalation exposure. *Toxicology*. 2008 Feb 28;244(2-3):209-19. (NTP 2007 を論文化したもの)

9. リナロール (CAS 78-70-6)

リナロールは、植物精油に含まれており、香料の原料として使用されている。有害性評価について、吸入曝露のデータは得られなかった。

1) 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)

Serota ら(1990)の実験において、雌雄の Sprague-Dawley ラット 10 匹を 1 群とし、160, 400, 1000 mg/kg/day の用量で 72.9%リナロールを 28 日間強制経口投与したところ、400 mg/kg/day 以上の群で肝臓と腎臓重量の増加がみられ、肝葉の肥厚、腎臓における色素脱離、肝細胞の細胞質空胞変性もみられたことから、NOAEL は 160 mg/kg/day (リナロール 117 mg/kg/day に相当) と判断された。この研究では雌雄の生殖腺への影響はみられなかった。in vitro 及び in vivo 試験のいずれにおいても、リナロールの変異原性は確認されなかった。

Hoberman と Christian(1989)の実験において、雌の Sprague-Dawley ラット 10 匹を 1 群とし、250, 500, 1000 mg/kg/day のリナロールを交配前 7 日間から最大 40 日間強制経口投与したところ、臨床所見と体重、摂餌量への影響に基づいて母体毒性の NOAEL は 500 mg/kg/day (リナロール 365 mg/kg/day に相当) と判断された。産仔数の減少とその後の子の罹病率と死亡率に基づいて、生殖発生毒性の NOAEL は 500 mg/kg/day (リナロール 365 mg/kg/day に相当) と判断された。Gaworski ら(1994)の動物研究からは、リナロールの免疫毒性は確認されなかった。

OECD (2002): Linalool. SIDS Initial Assessment Report For SIAM 14.

(キー研究)

Serota, DG (1990): 28-day oral toxicity study in rats, compound B10. Hazleton Laboratories America Inc, Rockville, MD 20850. HLA study no. 642-460, January 26, 1990. Test commissioned by Lorillard Inc, Greensboro NC 27420.

(参考文献)

Hoberman AM, Christian MS (1989): Reproductive and developmental toxicity screening test of B10 administered orally via gavage to Crl:CD(SD)BR female rats. Argus Research Laboratories Inc, Horsham PA 19044, Protocol 412-005, April 12, 1989. Test commissioned by Lorillard Inc, Greensboro NC 27420, study monitors Dr TA Vollmuth, Dr JD Heck.

Gaworski CL, Vollmuth TA, Dozier MM, Heck JD, Dunn LT, Ratajczak HV, Thomas PR (1994): An immunotoxicity assessment of food flavouring ingredients. *Food Chem Toxicol* 32(5): 409-415

2) 欧州食品安全機関 (ESFA) の評価

リナロールの香料としてのリスク評価を行うにあたり、上記 OECD の SIDS でキー研究とさ

れた Serota ら(1990)の NOAEL 160 mg/kg/day (リナロール 117 mg/kg/day に相当) をリスク評価に用いている。

EFSA (2012): Scientific Opinion on the safety and efficacy of aliphatic, alicyclic and aromatic saturated and unsaturated tertiary alcohols and esters with esters containing tertiary alcohols ethers (chemical group 6) when used as flavourings for all animal species. EFSA Journal 10(11):2966.

(キー研究)

Serota, DG (1990): 28-day oral toxicity study in rats, compound B10. Hazleton Laboratories America Inc, Rockville, MD 20850. HLA study no. 642-460, January 26, 1990. Test commissioned by Lorillard Inc, Greensboro NC 27420.

3) 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、リナロールとシトロネロールの 50:50 混合物を雌雄のラット (種と数は不明) に混餌投与 (各物質の 1 日摂取量は 50 mg/kg/day) したところ、6 週間後と 12 週間後において、血液学的、臨床化学的、尿検査、病理組織検査において影響はみられなかった。雄ラットでわずかな成長の遅れがみられたが、著者らは生物学的に重要な影響ではないと判断している (Oser, 1967)。

JECFA では、この結果から、リナロールの NOEL を 50 mg/kg/day と判断している。そして、リナロールは香料として欧米では 1 日 1 人当たり 44 μ g/ka/day (欧州)、19 μ g/kg/day (米国) と試算されており、50 mg/kg/day の NOEL に対して 1000 倍以上の曝露マージン (MOE) があると推定している。また、リナロールとそのエステル化合物を含めた場合、香料としての使用量は 1 日 1 人当たり 72 μ g/ka/day (欧州)、21 μ g/kg/day (米国) と試算されており、50 mg/kg/day の NOEL に対して 500 倍以上の曝露マージン (MOE) があると推定している。

JECFA (1999): Aliphatic acyclic and alicyclic terpenoid tertiary alcohols and structurally related substances, Safety evaluation of certain food additives. WHO Food additives series 42, World Health Organization, Geneva.

<キー研究>

Oser, B.L. (1967) Unpublished report cited in FAO Nutrition Meeting Report Series No. 44A, 1968 (Annex 1, reference 15).

10. 有害性評価結果のまとめ

1) 炭素数 8~16 の脂肪族飽和炭化水素類

ラットで2年間の吸入曝露試験を行った NTP (2004) がキー研究であり、NOAEL 138 mg/m³ 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 (2009a) | NTP (2004) | ラットとマウスで13週間吸入 (6時間/日、5日/週) | 雌ラットの鼻部の杯細胞の過形成 | NOAEL 550 mg/m ³ | リスク評価値 (RfC) ラット13週間曝露における杯細胞過形成の BMCL ₁₀ 410 mg/m ³ から、連続曝露に補正したヒト相当の BMCL _{10HEC} 12 mg/m ³ を算出し、不確実係数100 (個体差10、種差3、データベース不足3) で除した0.1 mg/m ³ を RfC |
| USEPA (2009a) | NTP (2004) | ラットとマウスで2年間吸入 (6時間/日、5日/週) | 雄ラットの副腎髄質過形成 | NOAEL 138 mg/m ³ | |
| THCWG TP (1997) | Phillips et al (1984) | ラットで12週間吸入 (6時間/日、5日/週) | 全体 (体重、肝臓や腎臓重量) 的な知見 | NOAEL 5485 mg/m ³ | リスク評価値 (RfC) 曝露時間の補正係数5.6、曝露期間の係数10、種差10、個体差10で除した1 mg/m ³ を RfC |
| ドイツ連邦環境庁 (2005) | Hass et al (2001) | 妊娠7日から妊娠20日まで吸入曝露 (6時間/日週) | 離乳後の仔(F1)で学習・記憶障害 | LOAEL 4680 mg/m ³ | 一般環境の IAQ 指針値 検出限界の係数3、曝露時間の補正係数4、種差10、個体差10、高感受性係数2で合計2400のアセスメント係数 GV II: 4680/2400=2 mg/m ³ GV I: 2/10=0.2 mg/m ³ (LOAEL への係数10) |
| | Lund et al (1996) | ラットで6ヶ月間吸入 (6時間/日、5日/週) | 感覚と運動活性の低下 | LOAEL 4680 mg/m ³ | 一般環境の IAQ 指針値 曝露時間の補正係数5.6、曝露期間の係数2、種差10、個体差10、高感受性係数2で合計2240のアセスメント係数 GV II: 4680/2240=2 mg/m ³ GV I: 2/10=0.2 mg/m ³ (LOAEL への係数10) |

2) ヘキサナール

Union Carbide Corporation (1979)がキー研究であり、ビーグル犬の LOAEL 363 mg/m³ (125 ppm)を RfC の導出に採用した。なお、Union Carbide Corporation (1979)では、ラットでも LOAEL が 363 mg/m³ (125 ppm)であったが、Union Carbide Corporation (1980)ではラットの NOAEL として 145 mg/m³ (50 ppm)が得られている。従って、ビーグル犬での LOAEL 363 mg/m³ (125 ppm)をクリティカルエンドポイントとした。

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 (2009) | Union Carbide Corporation (1979) | ラットで 13 週間、ビーグル犬で 14 週間吸入 (6 時間/日、5 日/週) | ラットとビーグル犬で鼻腔の扁平上皮化生 | LOAEL 363 mg/m ³ (125 ppm) | 一般環境の IAQ 指針値 曝露状況の補正係数 5.6、 曝露期間の補正係数 4、種差 1、 個体差 10 で合計 224 のアセスメント係数 GV II: 360/224=2 mg/m ³ (LOAEL への係数 10) GV I: 2/10=0.2 mg/m ³ |
| ECA-LIC (2013) ※参考 | Union Carbide Corporation (1980) | ラットで 12 週間吸入曝露 (6 時間/日、5 日/週) | 鼻腔組織への影響 | NOAEL 145 mg/m ³ (50 ppm) | LCI は、小型チャンバーによる建材評価法として利用されているチャンバー内濃度の基準であるため記載せず |

3) ノナナール

Union Carbide Corporation (1979)がキー研究であり、ヘキサナールと同様に、ビーグル犬の LOAEL 363 mg/m³ (125 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 |
|--------------|--------------|----------------|-----------------|--------------------|---|
| 厚生労働省 (2001) | USEPA (2000) | ラットで 12 週間経口投与 | 毒性学的影響に関する総合的所見 | NOAEL 12.4 mg/kg/d | 室内濃度指針値案 (暫定) NOAEL 12.4 mg/kg/day に対して種差 10、個体差 10、 曝露機関 0 で 0.0124 mg/kg/day とし、 体重 50 kg、呼吸量 15 m ³ /day をもとに吸入換算した 41 µg/m ³ |

| | | | | | |
|-----------------------|----------------------------------|------------------------------------|-----------|---|---|
| ドイツ連邦環境庁 (2009) | Union Carbide Corporation (1979) | ラットで13週間、ビーグル犬で14週間吸入 (6時間/日、5日/週) | 鼻腔の扁平上皮化生 | LOAEL 363 mg/m ³ (125 ppm) | 一般環境の IAQ 指針値 曝露状況の補正係数 5.6、 曝露期間の補正係数 4、種差 1、 個体差 10 で合計 224 のアセスメント係数 GV II: 360/224=2 mg/m ³ (LOAEL への係数 10) GV I: 2/10=0.2 mg/m ³ |
| ECA-LIC (2013) ※参考 | Union Carbide Corporation (1980) | ラットで12週間吸入曝露 (6時間/日、5日/週) | 鼻腔組織への影響 | NOAEL 145 mg/m ³ (50 ppm) | LCI は、小型チャンバーによる建材評価法として利用されているチャンバー内濃度の基準であるため記載せず |

4) 2-n-octyl-4-isothiazolin-3-one (OIT)

Hagan et al (1989)がキー研究である。農薬登録として評価を行った米国環境保護庁とカナダ保健省は、ラットで明確な影響が観察された 6.39 mg/m³を LOAEL と判断した。しかし、ドイツ研究振興会 (DFG) は、0.64 mg/m³群で鼻腔の上皮内に好酸球性滴がみられ、この影響は対照群ではみられなかったことから OIT による毒性学的に意義のある影響と判断して 0.05 mg/m³を NOAEL とし、最大現場濃度 (MAK) を 0.05 mg/m³に設定している。そこで、本評価においては、0.05 mg/m³を NOAEL として 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 (2007) | Hagan et al (1989) | ラットに13週間吸入曝露 (6時間/日、5日/週) | ラ音や呼吸困難、体重増加の抑制、子宮内の液体、肺や鼻腔の病理組織学的変化 | NOAEL 0.64 mg/m ³ | |
| Health Canada (2016) | Hagan et al (1989) | ラットに13週間吸入曝露 (6時間/日、5日/週) | 体重増加の抑制、鼻腔の病変 | NOAEL 0.64 mg/m ³ | |
| DFG (2001) | Hagan et al (1989) | ラットに13週間吸入曝露 (6時間/日、5日/週) | 鼻腔の上皮内の好酸球性滴 | NOAEL 0.05 mg/m ³ | 最大現場濃度 (MAK) ※ TLV 同等の暫定値 0.05 mg/m ³ |

5) 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one (Cl-MIT)

Hagan ら (1984)をキー研究とし、NOAEL 0.34 mg/m³を RfC の導出に採用した。但し、5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one と 2-Methyl-3(2H)-isothiazolone を約 3:1 の割合で含む物質 Methylisothiazolinone による評価であったことから、暫定 RfCとする。

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 (1998) | Hagan et al (1984)※1 | ラットに13週間吸入曝露 (6時間/日、5日/週) | 鼻腔で炎症 | NOEL 0.34 mg/m ³ | |
| DFG (2007) | Hagan et al (1984)※1 | ラットに13週間吸入曝露 (6時間/日、5日/週) | 鼻腔で炎症 | NOAEL 0.34 mg/m ³ | 最大現場濃度 (MAK) ※ TLV 同等の暫定値 0.2 mg/m ³ |
| SCCS (2009) | Rohm and Haas (1998)※2 | ラットで2世代試験の経口投与 | 胃壁の刺激やびらん | NOAEL 2.8 mg/kg/d | |

※1: 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one と 2-Methyl-3(2H)-isothiazolone を約 3:1 の割合で含む物質 Methylisothiazolinone による評価

※2: Kathon 886F (5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one と 2-Methyl-4-isothiazolin-3-one を約 3:1 の割合で含む混合物)による評価

6) トリメチルベンゼン (TMB)

Korsak ら (1996)と Korsak ら (2000)をキー研究として、NOAEL 123 mg/m³を RfC の導出に採用する。なお、ヒトボランティア実験では吸入後の各異性体の血中濃度はほぼ同じであることから、全ての TMB 異性体に対してこの評価値を適用する。

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 |
|-------------|---------------|-----------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|--------------|
| CERI (2006) | IIT RI (1995) | ラットに90日間強制経口投与 (5日/週) | 雌雄で血中無機リン含有量の上昇と肝臓相対重量の増加、雄で腎臓相対重量の増加 | NOAEL 200 mg/kg/d (1,3,5-TMB) | |

| | | | | | |
|----------------|---------------------------|--|---|--|--|
| 環境省 (2013) | IIT RI (1995) | ラットに 90日間強 制経口投 与 (5日/ 週) | 雌雄で血中無機 リン含有量の上 昇と肝臓相対重 量の増加、雄で 腎臓相対重量の 増加 | NOAEL 200 mg/kg/d (1,3,5-TMB) | |
| 環境省 (2009) | Gralewicz et al (1997) | ラットに 4週間吸 入曝露 (6 時間/日、 5日/週) | 神経行動学的影 響 | NOAEL 123 mg/m ³ (1,2,4-TMB) | |
| | Korsak et al (1996) | ラットに 3ヶ月間 吸入曝露 (6時間/ 日、5日/ 週) | 神経行動学的影 響 | NOAEL 123 mg/m ³ (1,2,4-TMB) | |
| | Korsak et al (2000) | ラットに 3ヶ月間 吸入曝露 (6時間/ 日、5日/ 週) | 気管支周囲の変 性 | NOAEL 123 mg/m ³ (1,2,4-TMB) | |
| NCEA (1999) | IIT RI (1995) | ラットに 90日間強 制経口投 与 (5日/ 週) | 雌雄で血中無機 リン含有量の上 昇と肝臓相対重 量の増加、雄で 腎臓相対重量の 増加 | NOAEL 200 mg/kg/d (1,3,5-TMB) | 1,3,5-TMBと1,2,4-TMB の代謝と性質はとても類似 しているため1,2,4-TMBに 対する reference dose(RfD) は1,3,5-TMBにもあてはま ると判断 |
| DFG (1998) | Korsak et al (1996) | ラットに 3ヶ月間 吸入曝露 (6時間/ 日、5日/ 週) | 神経行動学的影 響 | NOAEL 123 mg/m ³ (1,2,4-TMB) NOAEL 492 mg/m ³ (1,2,3-TMB) | 最大現場濃度 (MAK) ※ TLV 同等の暫定値 100 mg/m ³ ※ヒトボランティア実験で は吸入後の各異性体の血中 濃度はほぼ同じであること から、全ての TMB 異性体 に対して暫定的に 20 ml/m ³ (100 mg/m ³) とする |
| ECHA (2017) | Korsak et al (2000) | ラットに 3ヶ月間 吸入曝露 (6時間/ 日、5日/ 週) | 気管支周囲の変 性 | NOAEL 123 mg/m ³ (1,2,4-TMB) | |

| | | | | | |
|-----------------|---------------------|---------------------------|------------------------------------|---|--|
| | | 日、5日/週) | | | |
| USEPA (2016) | Korsak et al (1996) | ラットに3ヶ月間吸入曝露 (6時間/日、5日/週) | 神経行動学的影響 | NOAEL 123 mg/m ³ (1,2,4-TMB) | 全 TMB の慢性 RfC は 1,2,4-TMB 吸入曝露の神経毒性の量反応関係から得た BMDL _{1SD} の 141 mg/m ³ に基づきヒト等価濃度に換算して不確実係数 300 を適用して 0.06 mg/m ³ に設定された。この TMB の RfC は TMB 異性体単独あるいは TMB 異性体の混合物に曝露された際にも使用される |
| ドイツ連邦環境庁 (2012) | Korsak et al (2000) | ラットに3ヶ月間吸入曝露 (6時間/日、5日/週) | 気管支周囲の変性 (気管支周囲のリンパ球増殖、下気道のリンパ球浸潤) | NOAEL 123 mg/m ³ (1,2,4-TMB) | 一般環境の IAQ 指針値 490 mg/m ³ の LOAEL を曝露時間の補正で 5.6 を除して 88 mg/m ³ 、曝露期間として 2、種差 2.5、個体差 10、高感受性 2 で合計 100 のアセスメント係数 GVII: 88/100=0.9→1 mg/m ³ GVI: 1/10=0.1 mg/m ³ この値を C ₉ ~C ₁₅ のアルキルベンゼンの合計値に適用 |

7) メチルシクロヘキサン

実験データがかなり限られているが、ARML (1985)をキー研究として、NOAEL 1600 mg/m³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) | Treon et al (1943) | サルで 10 週間吸入曝露 (6 時間/日、5 日/週) | 全体的な所見 | NOAEL 370 ppm (1484 mg/m ³) | 職業曝露限界値 TLV-TWA 400 ppm (1610 mg/m ³) |
| ECHA (2017) | Unpublished (1985) | ラットに 1 年間吸入曝露 (6 | 進行性腎症 (髄質石化、腎乳頭の上皮過形成) | NOAEL 1600 mg/m ³ (400 ppm) | |

| | | | | | |
|---------------|-------------|--|--------------------------------|--|--|
| | | 時間/日、 5日/週) | | | |
| DFG (2007) | ARML (1985) | ラットに 1年間吸 入曝露 (6 時間/日、 5日/週) | 進行性腎症 (髓 質石化、腎乳頭 の上皮過形成) | NOAEL 1600 mg/m ³ (400 ppm) | 最大現場濃度 (MAK) ※ TLV 同等の暫定値 200 ppm (810 mg/m ³) |

8) メチルイソブチルケトン

NTP (2007)およびそれを論文化した Stout ら(2008)をキー研究として、LOAEL 1845 mg/m³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 |
|-----------------|--|---|------------------------------|---|--|
| 環境省 (2008) | NTP (2007) ※Stout et al (2008)で論文化 | ラットで 104週間 吸入曝露 (6時間/ 日、5日/ 週) | 腎症の増悪 | LOAEL 450 ppm (1845 mg/m ³) | |
| | | マウスで 104週間 吸入曝露 (6時間/ 日、5日/ 週) | 肝組織の変性 | LOAEL 450 ppm (1845 mg/m ³) | |
| DFG (2000) | Phillips et al (1987) | ラットマ ウスで 90 日間吸入 曝露 (6 時間/日、 5日/週) | マウスで肝臓の 絶対重量増加、 ラットで腎症 | NOAEL 50 ppm (205 mg/m ³) | 最大現場濃度 (MAK) ※ TLV 同等の暫定値 20 ppm (82 mg/m ³) |
| ACGIH (2010) | Hjelm et al (1990), Iregren et al (1993) | ヒトで 2 時間吸入 曝露 | 中枢神経症状 | LOAEL 49 ppm (200 mg/m ³) | 職業曝露限界値 TLV-TWA 20 ppm (82 mg/m ³) |
| SCOEL (1991) | Armeli et al (1968) | ヒトで 3 ～12ヶ月 間 (20～ 30分/日) | 神経や刺激症状 | LOAEL 100 ppm (410 mg/m ³) | 職業曝露限界値 TLV-TWA 20 ppm (83 mg/m ³) |

| | | | | | |
|-----------------|---------------------------------------|----------------------------|------------------------------|--|--|
| USEPA (1990) | Tyl et al (1987) | 妊娠ラットとマウスで6～15日(6時間/日)吸入曝露 | マウスで胎児の体重低下と骨化遅延、ラットで胎児の骨化遅延 | NOAEL 1026 mg/m ³ | RfC 不確実係数 300 (種差 3、 個体差 10、データベース 10) 3 mg/m ³ |
| ドイツ連邦環境庁 (2013) | NTP (2007) ※Stout et al (2008)で論文化 | ラットで104週間吸入曝露(6時間/日、5日/週) | 雌ラットの慢性進行性腎症 | BMDL ₁₀ 320 mg/m ³ *原著の評価 LOAEL 450 ppm (1845 mg/m ³) | 一般環境のIAQ指針値 BMDL ₁₀ 320 mg/m ³ 曝露時間の補正係数 5.6、 種差 2.5、個体差 10、高感受性 2 のアセスメント係数 GV II:320/280=1.1→1 mg/m ³ GV I:1/10=0.1 mg/m ³ |

9) リナロール

利用可能な吸入曝露のデータがないことから、経口曝露研究である Serota (1990)をキー研究として、NOAEL 117 mg/kg/day を RfC の導出に採用した。Oser (1967)の方が NOAEL は低いですが、用量設定が 1 用量のため、Serota (1990)をキー研究とした。

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 |
|--------------|---------------|----------------|------------|---------------------------------|--------------|
| OECD (2001) | Serota (1990) | ラットで28日間経口投与 | 肝臓と腎臓重量の増加 | NOAEL 117 mg/kg/d | |
| EFSA (2012) | Serota (1990) | ラットで28日間経口投与 | 肝臓と腎臓重量の増加 | NOAEL 117 mg/kg/d | |
| JECFA (1999) | Oser (1967) | ラットで6～12週間経口投与 | 全体的な所見 | NOAEL 50 mg/kg/d (1 用量設定) | |

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 | | |
| C ₈ -C ₁₆ 脂肪族 飽和炭 化水素 類 | NOAEL | 吸入 | 138 | ラット | 副腎髄質過形成 | 1 | 1 | 10 | 10 | 246 | NTP (2004) |
| ヘキサ ナール | LOAEL | 吸入 | 363 | イヌ | 鼻腔の扁平上皮化生 | 10 | 2 | 2.5 | 10 | 130 | UCC (1979) |
| ノナナ ール | LOAEL | 吸入 | 363 | イヌ | 鼻腔の扁平上皮化生 | 10 | 2 | 2.5 | 10 | 130 | UCC (1979) |
| OIT | NOAEL | 吸入 | 0.05 | ラット | 鼻腔の上皮内の好酸 球性滴 | 1 | 2 | 2.5 | 10 | 0.18 | Hagan et al (1989) |
| CI- MIT | NOAEL | 吸入 | 0.34 | ラット | 鼻腔の炎症 | 1 | 2 | 2.5 | 10 | 1.2 (暫定) | Hagan et al (1984) |
| トリメ チルベ ンゼン | NOAEL | 吸入 | 123 | ラット | 神経行動学的影響、 気管支周囲の変性 | 1 | 2 | 10 | 10 | 110 | Korsak et al (1996, 2000) |
| メチル シクロ ヘキサ ン | NOAEL | 吸入 | 1600 | ラット | 進行性腎症（髄質石 化、腎乳頭の上皮過 形成） | 1 | 1 | 10 | 10 | 2857 | ARML (1985) |
| MIBK | LOAEL | 吸入 | 1845 | ラッ ト、マ ウス | 雌ラットでの慢性進 行性腎症、マウスで の肝組織変性 | 10 | 1 | 10 | 10 | 329 | NTP (2007) |
| リナロ ール | NOAEL | 経口 | 117 | ラット | 肝臓と腎臓重量の増 加 | 1 | 6 | 10 | 10 | 650 | Serota (1990) |

* 吸入 (mg/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 ^{a, b} | – |
| | - remaining differences | 2.5 | 1 ^f 2.5 ^g |
| Intraspecies | - worker | 5 | 5 |
| | - general population | 10 ^c | 10 ^c |
| Exposure duration | - subacute to sub-chronic | 3 | 3 ^h |
| | - sub-chronic to chronic | 2 | 2 ^h |
| | - subacute to chronic | 6 | 6 ^h |
| Dose-response | - issues related to reliability of the dose-response, incl. LOAEL/NAEL extrapolation and severity of effect | 1 ^d | 1 ^d |
| Quality of whole database | - issues related to completeness and consistency of the available data | 1 ^d | 1 ^d |
| | - issues related to reliability of the alternative data | 1 ^e | 1 ^e |

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 | |
|--|----------------------------------|------------------------------------|-----|--|-------------------------------------|-------|--------------|--------------|
| C ₈ -C ₁₆ 脂肪族飽和炭化水素類 | オクタン | 2012 全国夏 | 111 | 既築 | 82 | 246 | 3.0 | NIHS (2013a) |
| | | 2012 全国冬 | 111 | 既築 | 163 | 246 | 1.5 | NIHS (2013a) |
| | ノナン | 2012 全国夏 | 111 | 既築 | 199 | 246 | 1.2 | NIHS (2013a) |
| | | 2012 全国冬 | 111 | 既築 | 511 | 246 | 0.5 | NIHS (2013a) |
| | デカン | 2012 全国夏 | 111 | 既築 | 180 | 246 | 1.4 | NIHS (2013a) |
| | | 2012 全国冬 | 111 | 既築 | 488 | 246 | 0.5 | NIHS (2013a) |
| | ドデカン | 2012 全国夏 | 111 | 既築 | 98 | 246 | 2.5 | NIHS (2013a) |
| | | 2012 全国冬 | 111 | 既築 | 169 | 246 | 1.5 | NIHS (2013a) |
| | トリデカン | 2012 全国夏 | 111 | 既築 | 301 | 246 | 0.8 | NIHS (2013a) |
| | | 2012 全国冬 | 111 | 既築 | 128 | 246 | 1.9 | NIHS (2013a) |
| 総 C ₈ -C ₁₆ | 2012 全国夏 | 111 | 既築 | 860 | 246 | 0.3 | NIHS (2013a) | |
| | 2012 全国冬 | 111 | 既築 | 1459 | 246 | 0.2 | NIHS (2013a) | |
| C ₆ -C ₉ アールデヒド類 | ヘキサナール | 2013 全国夏 | 93 | 既築 | 210 | 130 | 0.6 | NIHS (2014) |
| | | 2013 東京都秋 | 100 | 既築 | 13 | 130 | 10.0 | NIHS (2014) |
| | ノナナール | 2013 全国夏 | 93 | 既築 | 40 | 130 | 3.3 | NIHS (2014) |
| | | 2013 東京都秋 | 100 | 既築 | 19 | 130 | 6.8 | NIHS (2014) |
| | 総 C ₆ -C ₉ | 2013 全国夏 | 93 | 既築 | 250 | 130 | 0.5 | NIHS (2014) |
| | | 2013 東京都秋 | 100 | 既築 | 32 | 130 | 4.1 | NIHS (2014) |
| OIT | 未調査 | — | — | データなし | 0.18 | — | | |
| CI-MIT | 未調査 | — | — | データなし | 1.2 | — | RfC は暫定値 | |
| トリメチルベンゼン | 2012 全国夏 | 111 | 既築 | 33 | 110 | 3.3 | NIHS (2013a) | |
| | 2012 全国冬 | 111 | 既築 | 112 | 110 | 1.0 | NIHS (2013a) | |
| | 2012 全国新築冬 | 45 | 新築 | 368 | 110 | 0.3 | NIHS (2013a) | |
| メチルシクロヘキサン | 2013 全国夏 | 93 | 既築 | 69 | 2857 | 41.4 | NIHS (2014) | |
| | 2013 東京都秋 | 100 | 既築 | 9 | 2857 | 317.4 | NIHS (2014) | |
| | 2012 全国夏 | 111 | 既築 | 41 | 2857 | 69.7 | NIHS (2013a) | |
| | 2012 全国冬 | 111 | 既築 | 481 | 2857 | 5.9 | NIHS (2013a) | |
| MIBK | 2012 全国新築冬 | 45 | 新築 | 151 | 329 | 2.2 | NIHS (2013a) | |
| リナロール | 家庭用品調査 | 製品含有量 195.9 $\mu\text{g}/\text{g}$ | | | 650 | — | NIHS (2013b) | |

(室内最大濃度データの出典)

NIHS. 2013a. 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.

NIHS. 2013b. Report at the 16th meeting, Committee on sickhouse syndrome: indoor air pollution, Ministry of Health, Labour and Welfare. National Institute of Health Sciences, Tokyo, June. 27, 2013.

NIHS. 2014. Report at the 18th meeting, Committee on sickhouse syndrome: indoor air pollution, Ministry of Health, Labour and Welfare. National Institute of Health Sciences, Tokyo, Mar. 17, 2014.

表12-2 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) | 総 C ₈ -C ₁₆ 脂肪族飽和炭化水素 (夏期、冬期) ノナン (冬期) デカン (冬期) トリデカン (夏期) 総 C ₆ -C ₉ 脂肪族飽和アルデヒド類 (夏期) ヘキサナール (夏期) |
| | B (情報収集) | オクタン (夏期、冬期) ノナン (夏期) デカン (夏期) ドデカン (夏期、冬期) トリデカン (冬期) 総 C ₆ -C ₉ 脂肪族飽和アルデヒド類 (秋期) ノナナール (夏期、秋期) トリメチルベンゼン (夏期、冬期) メチルシクロヘキサン (冬期) |
| | C (静観) | ヘキサナール (秋期) メチルシクロヘキサン (夏期、秋期) |
| 新築住宅 | A (詳細評価) | トリメチルベンゼン (冬期) |
| | B (情報収集) | メチルイソブチルケトン (冬期) |
| | C (静観) | — |

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

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 主任研究官
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、もしくは追加検討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、放散化学物質の単位面積 [unit; m²] 当たりの放散速度および気中濃度データを集積した。

今年度は、室内環境中において容積負荷率の高いカーテンやブラインド等のウィンドウトリートメント製品 20 検体(表裏のべ 40 検体)を対象とし、超小形チャンバーを使用した放散試験を行い、加熱脱離-ガスクロマトグラフ/質量分析計を用いて放散化学物質を定量分析した。

その結果、室内濃度指針値の新規策定が検討されている 2-Ethyl-1-hexanol が 29 検体、2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol monoisobutyrate が 36 検体、2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate が 19 検体と約半数以上のサンプルから検出された。これらの 3 化合物について試験検体の気中濃度を算出した結果、木製ブラインド製品が最も高い値を示した。その他の放散化学物質としては、石油製品や溶剤等に広く使用されている Hexamethylcyclotrisiloxane, *n*-Tetradecane, *n*-Dodecane, 酸化防止剤の Dibutylhydroxytoluene 等が検出された。結論として、ウィンドウトリートメント製品は室内空気汚染の要因の一つとなることが示された。

A. 研究目的

室内濃度指針値の見直し、もしくは追加検討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行った。

平成 29 年度は、室内環境中において容積負荷率の高いカーテンやブラインド等のウィンドウトリートメント製品 20 検体 (表裏のべ 40 検体) を対象とし、室内濃度指針値の

新規策定が検討されている 2-Ethyl-1-hexanol, 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol monoisobutyrate (TexanolTM, TMPD-MIB と略す), 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (TXIBTM, TMPD-DIB と略す)について、それらの単位面積 [unit; m²] 当たりの放散速度および気中濃度を算出した。その他の放散化学物質については GC/MS 内ライブラリーのシミラリティ検索による同定を試みた。

B. 研究方法

試験検体

本研究で放散試験に供したウィンドウトリートメント製品を表1に示す。

素材の異なるカーテン類 20 製品 (サンプル A ~ T) をインターネット市場より入手した。カーテン類の選定は、素材別に天然繊維 (5 製品; サンプル A~E), 天然繊維と化学繊維の混合品 (3 製品; サンプル F~H), 化学繊維 (9 製品; サンプル I~Q), ブラインド (3 製品; サンプル R~T) の 4 種に分類し、実際に使用する際に室内側を「表」、窓側を「裏」と定義し、表裏それぞれの計 40 検体について放散試験を実施した。

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 μ -CTE250, Markes International 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)。

放散試験のサンプリングには、300°C でコンディショニングした Tenax TA ステンレス捕集管 (Markes International 社 / CAMSCO 社) を用いた。サンプリング時間は原則として 30 min (積算捕集体積 1.5 L) 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 (積算捕集体積 0.25 L) 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 2-Ethyl-1-hexanol

(98% 和光特級, 和光純薬工業), 3-Hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl isobutyrate (東京化成工業), 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (> 97.0%, 東京化成工業) 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 Methanol 5000 (残留農薬・PCB 試験用, 和光純薬工業) 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, TMPD-MIB, TMPD-DIB 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 Type) 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 μ 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

放散速度および気中濃度の算出・計算方法

TD-GCMS の定量結果より、ウィンドウトリートメント製品 1 m² 当たりの放散速度 [μg/unit/h] を算出した。また、製品を実際に使用した際に室内空気がどの程度汚染されるかを評価するために気中濃度 [μg/m³] を算出した。室内環境モデル条件として、約 6 畳一間分の容積 20 m³、換気回数 0.5 回/h、温度は 28℃でモデル室内の窓面積 4 m² にカーテンおよびブラインドが張られている状態を想定した。

計算式

次式により検体から単位面積 [m²/unit] 当たりの各測定対象物質の放散速度を算出した。

放散速度 [m²/unit] = (検出濃度 [ng] / 1,000) x (10,000 / 面積 [24.617 cm²]) x (60 / 放散時間 [min])

次式により室内気中濃度 [μg/m³] を算出した。

気中濃度 [μg/m³] = (放散速度 [m²/unit] x 窓面積 [4 m²]) / (換気回数 [0.5 回/h] x 容積 [20 m³])

C. 研究結果および考察

ウィンドウトリートメント製品を対象とした放散試験を実施し、TD-GC/MS を用いて放散化学物質を分析した。GC/MS 分析で得られた試験検体の定量データをもとに、試験検体の単位面積 [unit; m²] 当たりの 2-Ethyl-1-hexanol, TMPD-MIB および TMPD-DIB の放散速度 [μg/m²/h] を算出し、気中濃度を算出した(表 2)。

20 サンプル (各表裏) の 40 検体について放散試験に供した結果、2-Ethyl-1-hexanol が 29 検体、TMPD-MIB が 36 検体、TMPD-DIB が 19 検体と約半数以上のサンプルから検出された。気中濃度の最大値は木製ブラインドの 2-Ethyl-1-

hexanol が 14.74 μg/m³、TMPD-MIB が 10.03 μg/m³、TMPD-DIB が 9.12 μg/m³であった (サンプル T の表)。

各製品の表裏の放散量を比較したところ、ほとんどの製品で差異は認められなかったが、化学繊維カーテン (サンプル L) では TMPD-MIB に関して表裏で 2 倍近くの濃度差が認められた。この製品は遮熱・防音効果を高めるため裏面にアクリル樹脂コーティングを施してあった。アクリル樹脂コーティング剤には Toluene, Xylene, Butanol, Butyl Acetate, Mineral Spirits (石油系炭化水素混合物) 等の多種の溶剤が使われているため、その影響が考えられた。

厚生労働省では 13 種類の VOC の室内濃度指針値に加えて、総揮発性有機化合物 (TVOC) の暫定目標値を 400 μg/m³ と設定している。放散試験で最も高濃度で検出された木製ブラインド (サンプル T) については、2-Ethyl-1-hexanol, TMPD-MIB, TMPD-DIB の 3 化合物の気中濃度を表裏合算すると暫定目標値の 1/10 を超過することから、ウィンドウトリートメント製品が室内空気汚染の一因になっていることが明らかになった。また、気中濃度を表裏合算して一製品当たりとし、素材の分類毎に平均値を比較した結果、3 化合物全てにおいてブラインド製品が高い値を示した (表 3)。これらの結果から、ウィンドウトリートメント製品の中でも特にブラインド製品が室内空気の汚染源となる可能性が示唆された。

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同定を行った。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 4 に示すように、石油製品や溶剤等に使われている Hexamethylcyclotrisiloxane, *n*-Tetradecane, *n*-Dodecane, 酸化防止剤の

Dibutylhydroxytoluene 等が検出された。

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カーテンやブラインド等のウィンドウトリートメント製品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, TMPD-MIB, TMPD-DIB が高頻度で検出された。更にそれらの気中濃度を算出した結果、ブラインド製品の放散量が高いことが明らかになった。

これまでの2年間における家庭用品等の放散試験によっ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ことで、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。

本データベースを構築・提供することにより、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)

- ・室内濃度指針値一覧 国立医薬品食品衛生研究所
(<http://www.nihs.go.jp/mhlw/chemical/situationai/hyou.html>)
- ・建築基準法に基づくシックハウス対策について 国土交通省
(http://www.mlit.go.jp/jutakuken-tiku/build/jutakuken-tiku_house_tk_000043.html)
- ・建築に使われる化学物質辞典 CHEMICAL DICTIONARY FOR ARCHITECTURE 著者：東賢一，池田耕一，久留飛克明，中川雅至，長谷川あすみ，森有紀子，山田裕巳 発行人：山下武秀 発行所：株式会社 風土社
- ・The PubChem Project (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)
- ・ウィンドウトリートメント 編集：社会法人 日本インテリアファブリックス協会 調査・人材育成委員会 発行：社会法人 日本インテリアファブリックス協会
- ・IS 使い方シリーズ シックハウス対策に役立つ小型チャンバー法解説 (JIS A 1901) 監修 村上周三，編集委員長：田辺新一，発行者：板倉省吾 発行所 日本規格協会 製本：株式会社宝文社 2003 年 4 月 21 日発行
- ・東京都福祉保健局 シックハウス FAQ (http://www.fukushihoken.metro.tokyo.jp/kankyo/kankyo_eisei/jukankyo/indoor/sickhouse_faq/index.html)
- ・化学物質過敏症支援センター 北里研究所病院臨床環境医学センターの坂部貢先生による化学物質過敏症の原因 (<http://www.cssc.jp/cs.html>)

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

1. 田原麻衣子, 杉本直樹, 香川 (田中) 聡子, 酒井信夫, 五十嵐良明, 神野透人: ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの定量分析における qNMR を用いたトレーサビリティの確保, 薬学雑誌, in press, 2018.
2. 酒井信夫. 室内空気汚染物質の指針値と測定法, ぶんせき, 2018, 28-29.

2. 学会発表

1. 田原麻衣子, 神野透人, 香川 (田中) 聡子, 酒井信夫, 五十嵐良明 “qNMR によるアルデヒド類のトレーサビリティの確保” 日本薬学会第 137 年会, 仙台, 2017 年 3 月
2. 秋月真梨子, 田原麻衣子, 遠山友紀, 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, 仙台, 2017 年 3 月
3. 田原麻衣子, 神野透人, 香川 (田中) 聡子, 酒井信夫, 五十嵐良明 “アルデヒド類の市販試薬における異性体の値付け” 環境科学会 2017 年会, 北九州, 2017 年 9 月
4. 酒井信夫, 田原麻衣子, 遠山友紀, 五十嵐良明, 奥田晴宏, 千葉真弘, 佐々木陽, 佐藤由紀, 竹熊美貴子, 横山結子, 高梨嘉光, 斎藤育江, 上村仁, 田中礼子, 今井美紗子, 高田博司, 小林浩, 鈴木光彰, 青木梨絵, 小林博美, 中嶋智子, 吉田俊明, 古市裕子, 八木正博, 新井清, 荒尾真砂, 中島亜矢子, 田崎盛也 “平成 28 年度 室内空気環境汚染に関する全国実態調査” 第 54 回全国衛生化学技術協議会年会, 奈良, 2017 年 11 月
5. 酒井信夫 “室内空気の規制に関する最新情

報” 第 54 回全国衛生化学技術協議会年会, 奈良, 2017 年 11 月

6. 田原麻衣子, 遠山友紀, 酒井信夫, 五十嵐良明 “カーテン類から放散される揮発性有機化合物に関する研究” 第 54 回全国衛生化学技術協議会年会, 奈良, 2017 年 11 月
7. 田原麻衣子, 酒井信夫, 千葉真弘, 大泉詩織, 斎藤育江, 大貫文, 香川 (田中) 聡子, 神野透人, 五十嵐良明, 奥田晴宏 “室内濃度指針値新規策定化合物の標準試験法の開発—加熱脱離捕集剤の検討—” 平成 29 年室内環境学会学術大会, 佐賀, 2017 年 12 月
8. 大貫文, 菱木麻佑, 千葉真弘, 大泉詩織, 香川 (田中) 聡子, 上村仁, 神野透人, 田原麻衣子, 酒井信夫, 斎藤育江, 小西浩之, 守安貴子 “溶媒抽出法を用いた TVOC 測定法の検討” 平成 29 年室内環境学会学術大会, 佐賀, 2017 年 12 月
9. 千葉真弘, 大泉詩織, 大貫文, 斎藤育江, 神野透人, 香川 (田中) 聡子, 上村仁, 田原麻衣子, 酒井信夫 “室内空気中における未規制揮発性有機化合物分析法の検討” 化学系学協会北海道支部 2018 年冬季研究発表会, 札幌, 2018 年 1 月
10. 田原麻衣子, 酒井信夫, 斎藤育江, 大貫文, 香川 (田中) 聡子, 神野透人, 五十嵐良明 “フタル酸エステル類の室内濃度指針値の改定案と測定方法の開発” 日本薬学会第 138 年会, 金沢, 2018 年 3 月

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表 1 放散試験に供したウィンドウトリートメント製品

| サンプル | 分類 | 主な素材 |
|------|-------|-------------------------------|
| A | | リネン (亜麻) 100% |
| B | | 綿 85%, 麻 15% |
| C | 天然繊維 | リネン (亜麻) 50%, ラミー (苧麻) 50% |
| D | | 綿 100% |
| E | | 綿 100% |
| F | | ポリエステル 70%, 綿 30% |
| G | 天然+化学 | ポリエステル 65%, 綿 35% |
| H | | ポリエステル 60%, 麻 40% |
| I | | エチレン酢酸ビニル共重合体・ポリエチレン |
| J | | 4層アクリル樹脂コーティング |
| K | | ポリエステル 100% |
| L | | ポリエステル 100% (裏面=アクリル樹脂コーティング) |
| M | 化学繊維 | ポリエステル 100% |
| N | | ポリエステル 100% |
| O | | ポリエステル 100% |
| P | | ポリエステル 100% |
| Q | | タテ:アクリル系100%, ヨコ:アクリル系100% |
| R | | 布地:不織布 (ポリエステル) |
| S | ブラインド | アルミ |
| T | | 木製 |

表2 ウィンドウトリートメント製品より放散される化学物質の放散速度および気中濃度

| 分類 | サンプル | 2-Ethyl-1-hexanol | | TMPD-MIB | | TMPD-DIB | | |
|-------|------|---------------------|------------------------------|---------------------|------------------------------|---------------------|------------------------------|------|
| | | 放散速度 [mg/unit/h] | 気中濃度 [mg/m ³] | 放散速度 [mg/unit/h] | 気中濃度 [mg/m ³] | 放散速度 [mg/unit/h] | 気中濃度 [mg/m ³] | |
| 天然繊維 | A | 表 | 1.54 | 0.62 | ND | - | ND | - |
| | | 裏 | 2.76 | 1.10 | 1.48 | 0.59 | ND | - |
| | B | 表 | 1.59 | 0.63 | 1.75 | 0.70 | ND | - |
| | | 裏 | 1.57 | 0.63 | 1.28 | 0.51 | 1.63 | 0.65 |
| | C | 表 | 2.55 | 1.02 | 2.79 | 1.12 | 1.14 | 0.46 |
| | | 裏 | 2.79 | 1.12 | 2.62 | 1.05 | 1.11 | 0.45 |
| | D | 表 | 1.70 | 0.68 | 4.28 | 1.71 | 0.93 | 0.37 |
| | | 裏 | 1.82 | 0.73 | 5.54 | 2.22 | 0.98 | 0.39 |
| | E | 表 | 2.06 | 0.83 | 2.55 | 1.02 | 2.43 | 0.97 |
| | | 裏 | 2.58 | 1.03 | 3.58 | 1.43 | 2.56 | 1.02 |
| 天然+化学 | F | 表 | 2.55 | 1.02 | ND | - | ND | - |
| | | 裏 | 2.50 | 1.00 | ND | - | ND | - |
| | G | 表 | 2.19 | 0.88 | 3.77 | 1.51 | ND | - |
| | | 裏 | 1.61 | 0.64 | 5.07 | 2.03 | ND | - |
| | H | 表 | 0.95 | 0.38 | 4.09 | 1.64 | 1.11 | 0.44 |
| | | 裏 | ND | - | 3.50 | 1.40 | 1.08 | 0.43 |
| | I | 表 | 28.57 | 11.43 | 4.07 | 1.63 | ND | - |
| | | 裏 | 12.61 | 5.04 | 2.63 | 1.05 | ND | - |
| J | 表 | 7.13 | 2.85 | 0.85 | 0.34 | ND | - | |
| | 裏 | 6.33 | 2.53 | 1.23 | 0.49 | ND | - | |
| K | 表 | ND | - | ND | - | ND | - | |
| | 裏 | ND | - | 0.83 | 0.33 | ND | - | |
| L | 表 | 5.24 | 2.10 | 6.76 | 2.71 | ND | - | |
| | 裏 | 7.37 | 2.95 | 13.18 | 5.27 | ND | - | |
| 化学繊維 | M | 表 | 1.15 | 0.46 | 2.33 | 0.93 | 0.97 | 0.39 |
| | | 裏 | 0.89 | 0.36 | 1.54 | 0.61 | 0.93 | 0.37 |
| | N | 表 | ND | - | 4.15 | 1.66 | ND | - |
| | | 裏 | ND | - | 5.10 | 2.04 | ND | - |
| | O | 表 | ND | - | 1.61 | 0.64 | ND | - |
| | | 裏 | ND | - | 1.71 | 0.69 | ND | - |
| | P | 表 | 13.13 | 5.25 | 1.05 | 0.42 | 2.25 | 0.90 |
| | | 裏 | 3.98 | 1.59 | 2.24 | 0.90 | 2.04 | 0.82 |
| | Q | 表 | ND | - | 5.12 | 2.05 | ND | - |
| | | 裏 | ND | - | 5.47 | 2.19 | ND | - |
| R | 表 | 8.86 | 3.54 | 6.59 | 2.64 | 1.05 | 0.42 | |
| | 裏 | 9.52 | 3.81 | 6.91 | 2.76 | 1.07 | 0.43 | |
| プラインド | S | 表 | ND | - | 3.15 | 1.26 | 1.89 | 0.75 |
| | | 裏 | ND | - | 3.12 | 1.25 | 1.84 | 0.74 |
| | T | 表 | 36.86 | 14.74 | 25.07 | 10.03 | 22.80 | 9.12 |
| | | 裏 | 25.54 | 10.22 | 20.33 | 8.13 | 22.76 | 9.10 |

NDは< LOQ (0.81µg mg/unit/h)

表3 ウィンドウトリートメント製品の素材の分類毎の気中濃度の比較

| 分類 | n | 気中濃度の平均値 [mg/m ³] | | |
|-------|---|-------------------------------|----------|----------|
| | | 2-Ethyl-1-hexanol | TMPD-MIB | TMPD-DIB |
| 天然繊維 | 5 | 1.68 | 2.07 | 0.86 |
| 天然+化学 | 3 | 1.31 | 2.19 | 0.29 |
| 化学繊維 | 9 | 3.84 | 2.66 | 0.28 |
| ブラインド | 3 | 10.77 | 8.69 | 6.85 |

表 4 TVOC 構成成分の上位 5 化合物 (シミラリテイ検索による定性分析)

| 分類 | サンプル | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|------|-------------------------------|--|---|--|--|---|
| 天然繊維 | A 表裏 | Hexamethylcyclotrisiloxane Tetradecane | Tetradecane Octanal | Dodecane Dodecane | Octanal Benzaldehyde | Octamethylcyclotetrasiloxane Phenol |
| | B 表裏 | Dodecane Dodecane | Hexamethylcyclotrisiloxane Tetradecane | Dodecane Tetradecane | Hexamethylcyclotrisiloxane 2-Butyl-1-decene | 7-Methylenetrildecane |
| | C 表裏 | Tetradecane Tetradecane | Dodecane Dodecane | Hexamethylcyclotrisiloxane 9-Methylheptadecane 9-Methylheptadecane | Hexamethylcyclotrisiloxane 2-Butyl-1-decene | |
| | D 表裏 | Benzaldehyde Propylene Glycol | Benzene Hexamethylcyclotrisiloxane | 1,3-Dichlorobenzene Dimethylsilanediol | Heptyl dichloroacetate Benzoic acid | Hexamethylcyclotrisiloxane |
| | E 表裏 | 1,3-Dioxolane 1,3-Dioxolane | Benzaldehyde Benzaldehyde | 1,3,5,7-Tetroxane Benzoic acid | Hexamethylcyclotrisiloxane Benzoic acid | Hexamethylcyclotrisiloxane |
| | F 表裏 | Tetradecane Tetradecane | Hexadecane 1-Bromotetracosane | 5-Methyltetradecane 10-Methylicosane | Benzaldehyde Hexamethylcyclotrisiloxane | Butylated hydroxytoluene 1-Butanol |
| | G 表裏 | Tetradecane Tetradecane | Dodecane Hexamethylcyclotrisiloxane | 2,4-Bis(1,1-dimethylethyl)phenol Decamethylcyclopentasiloxane | Hexamethylcyclotrisiloxane Dodecane | |
| | H 表裏 | Tetradecane Tetradecane | Hexamethylcyclotrisiloxane Hexamethylcyclotrisiloxane | Hexamethylcyclotrisiloxane Hexamethylcyclotrisiloxane | | |
| | I 表裏 | 2,2-Dimethyldecane 2,2-Dimethyldecane | Dodecane Dodecane | 2,5-Dimethylundecane 2,5-Dimethylundecane | Undecane Undecane | 3,6-Dimethylundecane 2,5-Dimethylundecane |
| | J 表裏 | Dodecane Dodecane | 1-Butanol 1-Butanol | Hexamethylcyclotrisiloxane Hexamethylcyclotrisiloxane | 2,6,11-Trimethylundecane Tetradecane | Tetradecane 2,6,11-Trimethylundecane |
| K 表裏 | Tetradecane Tetradecane | Hexamethylcyclotrisiloxane Hexamethylcyclotrisiloxane | Hexamethylcyclotrisiloxane (3-Methyl-oxiran-2-yl)-methanol | Tetradecane Hexadecane | | |
| L 表裏 | Tetradecane 4-Methyldecane | Hexamethylcyclotrisiloxane Hexamethylcyclotrisiloxane | 1,4-Dichlorobenzene 5-Ethyl-2,2,3-trimethylheptane | Hexadecane 3-Methyl-5-propylnonane | 2,2-Dimethyldecane 2,2-Dimethyldecane | |
| 化学繊維 | M 表裏 | 5-Butylnonane Hexamethylcyclotrisiloxane | 2,5-Dimethylundecane Tetradecane | 5-Ethyl-2,2,3-trimethylheptane Octamethylcyclotetrasiloxane | 3-Methyl-5-propylnonane 3-Methyl-5-propylnonane | |
| | N 表裏 | Hexamethylcyclotrisiloxane Hexamethylcyclotrisiloxane | Tetradecane Tetradecane | Butylated hydroxytoluene Butylated hydroxytoluene | Octamethylcyclotetrasiloxane Octamethylcyclotetrasiloxane | |
| | O 表裏 | Hexamethylcyclotrisiloxane Hexamethylcyclotrisiloxane | 1,3-Butanediol 1,3-Butanediol | Dimethylsilanediol Dimethylsilanediol | Octamethylcyclotetrasiloxane Octamethylcyclotetrasiloxane | |
| | P 表裏 | 5-(2-Methylpropyl)nonane 5-Butylnonane | 6-Methyltridecane 6-Methyltridecane | 3,6-Dimethylundecane 2,5-Dimethylundecane | 2,2,6-Trimethyldecane Hexamethylcyclotrisiloxane | 6-Methyltridecane 5-Ethyl-2,2,3-trimethylheptane |
| | Q 表裏 | Tetradecane Tetradecane | Hexamethylcyclotrisiloxane Hexamethylcyclotrisiloxane | Butylated hydroxytoluene Butylated hydroxytoluene | Hexamethylcyclotrisiloxane Butylated hydroxytoluene | |
| | R 表裏 | Butylated hydroxytoluene Butylated hydroxytoluene | Toluene Toluene | 1,6-Dioxacyclododecane-7,12-dione Tetradecane | Dodecane 1,6-Dioxacyclododecane-7,12-dione | Tetradecane Dodecane |
| | S 表裏 | Hexamethylcyclotrisiloxane Hexamethylcyclotrisiloxane | Toluene Toluene | | | |
| | T 表裏 | Butyl acetate Butyl acetate | Acetic acid Acetic acid | o-Xylene o-Xylene | 1-Butanol 1-Butanol | Hexanal Hexanal |

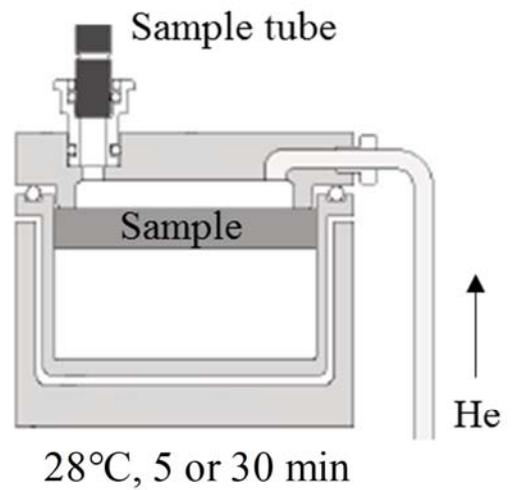
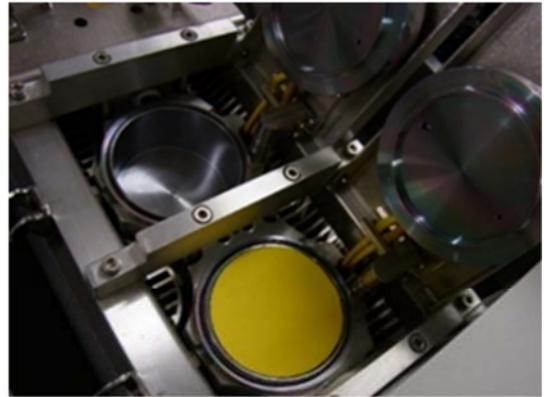
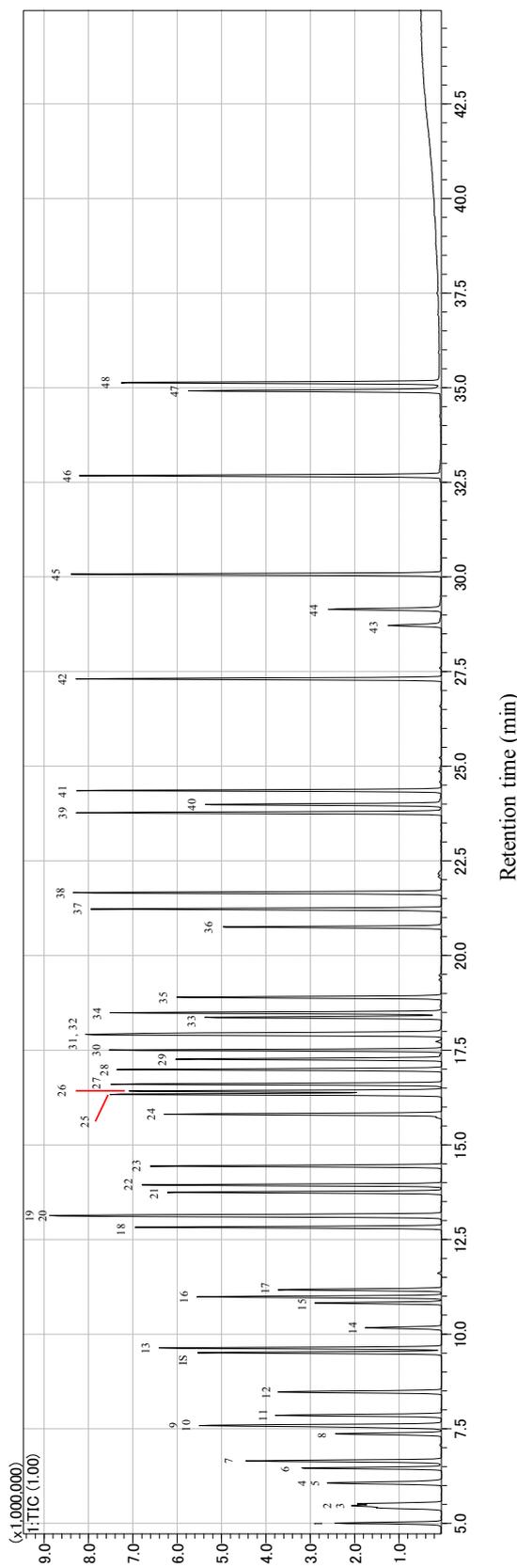


図1 超小形チャンバーμ-CTE250の装置概略図

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; Tetrahydrofuran, 18; Ethylbenzene, 19; m-Xylene, 20; p-Xylene, 21; Styrene, 22; o-Xylene, 23; n-Nonane, 24; (1S)-(-)-Alpha-Pinene, 25; 3-Ethyltoluene, 26; 4-Ethyltoluene, 27; 1,3,5-Trimethylbenzene, 28; 2-Ethyltoluene, 29; (1S)-(-)-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; TMPD-MIB-1, 44; TMPD-MIB-2, 45; n-Tetradecane, 46; n-Pentadecane, 47; TMPD-DIB, 48; n-Hexadecane, 49; Toluene-*d*₆.

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/s0020 4-017-1982-1 | 91 (11) | 3543- 3550 | 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 |
| 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. Mitsumune K. Kuga K. Phuong NL. 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 | 26(6) | pp. 828 - 840 | 2017 |
| Ito K. | Editorial, In silico human model for fluid-initiated indoor environmental design. | Indoor and Built Environment, | 26 (3) | pp 295-297 | 2017 |

| | | | | | |
|--|---|--|------------|----------|------|
| Kuga K. Ito K. Yoo SJ. 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 | | Accepted | 2017 |
| Murga A. Sano Y. Kawamoto Y. Ito K. | Integrated analysis of numerical weather prediction and computational fluid dynamics for estimating cross-ventilation effects on inhaled air quality inside a factory. | Atmospheric Environment | 167 | 11-22 | 2017 |
| Nakahara K. Yamaguchi T. Eunsu Lim E. Ito K. | Computational fluid dynamics modeling and parameterization of the visible light photocatalytic oxidation process of toluene for indoor building material. | Sustainable Cities and Society | 35 | 298-308 | 2017 |
| Chung J. Lim E. Sandberg M. Ito K. | Returning and net escape probabilities of contaminant at a local point in indoor environment | Building and Environment | 125 | 67-76 | 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 |
| Miyata-Nozaka Y. Mohd Zain S. Taguchi M. Shigeyama M. Isobe T. Hanioka N. | Carbamazepine 10,11-epoxidation in human liver microsomes: influence of the CYP3A5*3 polymorphism | Pharmazie | 72 (12) | 747-750 | 2017 |

| | | | | | |
|--|---|---|--------------|-----------------|------|
| Kawakami T. Isama K. Kagawa-Tanaka T. Jinno H. | Analysis of glycols, glycol ethers, and other volatile organic compounds present in household water-based hand pump sprays, | J. Environ. Sci. Health | Part A, 52,. | 1204-1210 | 2017 |
| 小野 宏 丸野内 棣 井口 泰泉 小野 敦 | ER STTA 法：hER α -HeLa-9903 細胞を用いたエストロゲン受容体恒常発現系転写活性化試験法の評価報告書 | AATEX-JaCVAM | 6 | 1-27 | 2017 |
| Azuma K. Yanagi U. Kagi N. Osawa H. | A review of the effects of exposure to carbon dioxide on human health in indoor environment. | Proceedings of the Healthy Buildings Europe 2017, | | ID0022, 6 pages | 2017 |
| Azuma K. Ikeda K. Kagi N. Yanagi U. Osawa H. | Physicochemical risk factors for building-related symptoms in air-conditioned office buildings: ambient particles and combined exposure to indoor air pollutants. | Science of the Total Environment | 616-617 | 1649-1655 | 2018 |
| Azuma K et al. | Occupational exposure limits of ethyleneglycol monobutyl ether, isoprene, isopropyl acetate and propyleneimine, and classification on carcinogenicity, occupational sensitizer and reproductive toxicant. | J Occup Health | 59(4) | 364-366 | 2017 |
| 東 賢一 | 室内空気質規制に関する国内外の動向 | 環境技術 | 46(7) | 4-9 | 2017 |
| 東 賢一 | 室内空気汚染の健康リスク | 臨床環境医学 | 25(2) | 76-81 | 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 doi:10.1186/s12199-017-0645-4 | 22 (114) | 38 | 2017 |
| 東 賢一. | 室内環境汚染による健康リスクと今後の課題 | 臨床環境医学; | 26(2) | <i>in press</i> | 2017 |
| 田原麻衣子 杉本直樹 香川（田中）聡子 酒井信夫 五十嵐良明 神野透人 | ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの定量分析における qNMR を用いたトレーサビリティの確保 | 薬学雑誌 | | <i>in press</i> | 2018 |
| 酒井信夫. | 室内空気汚染物質の指針値と測定法 | ぶんせき | | 28-29 | 2018 |