

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 27-29 年度 総合研究報告書

研究代表者 神野 透人

平成 30 (2018) 年 3 月

## 目 次

I. 総合研究報告書		
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	• • •	17
埴岡 伸光、磯部 隆史		
2. 気道内挙動の <i>in vitro/in silico</i> 予測	• • •	29
伊藤 一秀		
3. 気道障害性の <i>in vitro</i> 評価	• • •	39
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	• • •	63
河上 強志、伊佐間 和郎		
5. 気道障害性にかかる情報収集及び優先順位判定	• • •	86
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	• • •	94
東 賢一		
7. 定量的 VOC 放散データベースの構築	• • •	113
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	• • •	130

厚生労働科学研究費補助金 (化学物質リスク研究事業)  
総合研究報告書

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、室内濃度指針値の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、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 3 テーマを軸として 3 年間にわたって研究を実施した。さらに、平成 28 年度からは、喫緊の行政ニーズに対応する目的で、4) 定量的 VOC 放散データベースの構築にかかるサブテーマを追加した。本研究では、気道内挙動の *in vitro/in silico* 予測法として PBPK-CFD-CSP 法を確立し、経気道曝露の参照濃度 RfC を合理的に決定するための有効な情報を提供できる可能性がこと、さらに、気道内での異物代謝も加味した精緻化が可能であることを示した。また、気道障害性 (気道刺激性および気道感作性) の *in vitro* 予測法として、侵害刺激受容体発現細胞株による Calcium Mobilization Assay および DPRA の有用性を示した。これらの *in vitro/in silico* 予測法/補完法の開発と並行して、室内空気中高頻度・高濃度検出化合物について既存のハザード情報の収集および初期リスク評価を行った。さらに、GHS データベースを活用した気道刺激性・感作性の情報収集方法、ならびにワークフロー型機械学習・予測モデルによる気道刺激性情報の補完方法を提示した。また、室内空気中の化合物濃度の効率的な低減化を進める際に必須となる放散源情報の収集方法に関しては超小形チャンバー  $\mu$ -CTE によるハイスループット放散試験が極めて有用であることを示した。本研究によって得られたハザードに関する既存情報や *in vitro/in silico* 補完方法の成果の一端は、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/改定作業を一層の加速化することが可能になるものと期待される。

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: 伊佐間 和郎 (帝京平成大学薬学部 教授)、大河原 晋 (横浜薬科大学薬学部 准教授)、礒部 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)、山口治子 (国立医薬品食品衛生研究所)、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 10 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が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、3) 気道障害性にかかる情報収集および優先順位判定、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検討を行った。

## B. 研究方法

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

**B-1-1:** BMI 約 22 程度の平均な体型の男性非喫煙者の CT データを用いてヒト数値気道モデルを作成した。次いで、立位型の成人男性モデルの人体幾何形状データ (Virtual Manikin) を用いてヒト数値気道モデルとの統合モデルを作成した。両モデルを統合する際には、連続したメッシュにて数値人体モデルと数値気道モデルを完全に一体化し、CFD 解析を実施する際には気道内部空間から鼻腔・口腔を介して室内空間まで一連の解析空間として扱うモデルを作成した。気道 (Airway)、粘膜上皮 (Epithelium + Mucus)、上皮組織 (Subepithelium) の 3 層 (厳密には 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した。最終的に、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。

**B-1-2:** ヒトの鼻粘膜、気管および気管支粘膜における薬物代謝酵素の発現に関係する主立った論文を調査し、2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (TXIB<sup>TM</sup>, TMPD-DIB と略す) および 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol monoisobutyrate (Texanol<sup>TM</sup>, TMPD-MIB と略す) の気道における加水分解反応を速度論的に評価する上で重要となる薬物代謝酵素について検討した。

次に、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。酵素反応溶液から代謝物を *n*-Hexane で抽出し、ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) で分析した。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 0.25 $\mu$ m) 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、イオンクロマトグラムにより定量した。

## B-2 気道障害性の *in vitro* 評価

**B-2-1:** TRP チャネルを安定的に発現する細胞株を用いて、気道に対する刺激性の *in vitro* 評価 (Calcium Mobilization Assay) を行った。ヒトおよびマウス TRPA1 安定発現細胞株 (Flp-In 293/hTRPA1 細胞、Flp-In 293/mTRPA1 細胞) を Poly-D-Lysine-coated 96-well Plate に播種した。翌日に培地を FLIPR Calcium 6 試薬溶液に置換して 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 を用いて被検物質曝露による Flp-In 293/hTRPA1 細胞および Flp-In 293/mhTRPA1 細胞の細胞内 Ca<sup>2+</sup> 濃度の変動を記録した。

**B-2-1:** 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 $\pm$ 2 時間暗所で反応させ、残存するペプチドを HPLC で定量した。ペプチドの減少率をもとに感作性を評価した。

## B-3 気道障害性にかかる情報収集および優先順位判定

**B-3-1:** 我が国の GHS 分類評価結果 (JP-GHS) をもとに GHS 分類項目のうちヒト健康に対する有害性 10 項目について横断検索可能な簡易データベースを構築した。構築したデータベースを用いて、気道障害性 (気道刺激性および気道感作性) 分類がされた物質の検索を行った。次に、気道障害性に関する区分がなされている物質について、気道障害性分類の根拠となった知見の詳細について解析を進めた。また、関連する有害作用である皮膚感作性および皮膚刺激性について情報を整理するとともに、化学構造分類を実施して、気道障害性との関連の解析および知見の無い物質について気道感作性の詳細評価優先順位付けのためのスクリーニング評価への適用性について検討を行った。さらに、気道刺激性に着目して、GHS 分類結果の 3815 物質のうち、刺激性について報告のある物質と報告のない物質を組み合わせたデータセットから金属元素を含む物質 (115 物質)、ハロゲン元素を含む物質 (191 物質) を除外した 291 物質を対象として、気道刺激性と目および皮膚刺激性の重複、物理化学的性質や構造記述子を用いた予測モデル構築を行った。構造記述子の計算には PaDEL Descriptor を用い、物理化学的性質は、Chemid plus および PubChem で検索して得られた情報を用いた。気道刺激性との関連解析および予測モデルには KNIME を用いた。

**B-3-2:** 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諸外国の室内空気質規制状況を調査した。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。

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および NOEL や LOEL 等の情報収集を行った。国立医薬品食品衛生研究所によるこれまでの全国実態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。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等の係数を適用して導出した。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、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。導出した RfC を用いて、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。

#### B-4 定量的 VOC 放散データベースの構築

ISO 規格 12219-3 (Interior air of road vehicles; 車室内の VOC 濃度評価に関する実験法) および ASTM 規格 D7706 (Rapid screening of VOC emissions from products; 製品からの VOC 放散迅速スクリーニング法) に準拠する超小形チャンバー (Micro-Chamber/Thermal Extractor  $\mu$ -CTE250, Markes 社) を使用して、家庭用品等について放散試験を実施した。加熱脱離-GC/MS (TD-GC/MS) による VOC の分析には TD-20 および GCMS-QP2010 Ultra (島津製作所製) を使用した。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-d8 を用いた

内部標準法によって定量した。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ュレーション検索 [NIST11.lib および FFNSC 1.2.lib] を用いて化合物を同定した。

### C. 結果と考察

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

鼻粘膜では CYP1B1、CYP2A6、CYP2A13、CYP2B6、CYP2C、CYP2F1、CYP2J2、CYP2S1 および CYP3A4、気管支粘膜では CYP1A1、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C18、CYP2E1 および CYP3A5 などの多様な Cytochrome P450 分子種が発現していることが明らかになった。また、エステル型の化合物の挙動に大きな影響を及ぼすと考えられるエステラーゼについては、鼻粘膜で CES1 および CES2、気管支粘膜では CES1 が主要な分子種であることが明らかとなった。さらに、ヒト異物代謝酵素を用いて TMPD-MIB および TMPD-DIB の代謝挙動について検討を行った結果、CES が TMPD-DIB から 1-hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl isobutyrate、ならびに 3-hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl isobutyrate から 2,2,4-trimethylpentane-1,3-diol への加水分解反応に関与することが明らかとなった。

一方、ラット、イヌ、サルおよびヒト (2 種) の計 5 種類の数値気道モデルを用いて計算流体力学 CFD (Computational Fluid Dynamics) 解析を実施し、気道内の流れ場を詳細に解析した。気道内粘膜上皮上に形成される境界層粘性底層内の輸送現象を正確に再現するため、超細メッシュを用いたメッシュ分割とし、層流から乱流域までを精度良く再現する低 Re 型 k- $\epsilon$  モデルを適用して流れ場解析を実施した。鼻腔内での複雑かつ非対称の流れ場を定量的に解析した。

さらに、CFD 解析用数値気道モデルを人体幾何形状モデルに統合した総合的な数値人体モデル CSP (Computer Simulated Person) を作成し、これに生理的薬物動態解析 PBPK

(Physiologically Based Pharmacokinetic) モデルを組み込むことで、気道内での汚染物質沈着から気道内粘膜上皮を介して体内へ向かう汚染物質動態を解析する一連の解析モデルを構築した。このモデルを建材等から放散されるホルムアルデヒドに適用した結果、最大吸気の際に約 54%の吸着フラックスが鼻腔内に集中し、“ホットスポット”と呼ばれる相対的に吸着フラックスの高い部位が存在すること、粘膜上皮でのホルムアルデヒドの反応量が支配的であり、上皮組織にはほとんど到達しないことが推察された。PBPK-CFD-CSP 解析手法は、制御対象や規制対象とすべき経気道曝露の参照濃度(Reference Concentration) を合理的に決定するための有効な情報を提供できる可能性があると考えられる。

### C-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 および TRPA1 の他に TRPM8 が同定されていることから、ヒト TRPM8 安定発現細胞株の樹立を行った。さらに、気道の知覚神経刺激の種差について検討を行うために、マウスの TRPA1 および TRPM8 安定発現細胞株を樹立し、細胞内  $Ca^{2+}$ 濃度を指標とする High-throughput Screening 系を構築して 2-ethyl-1-hexanol、TMPD-MIB、TMPD-DIB および室内空気中に存在する可能性のある香料成分による侵害受容チャネルの活性化について検討を行った。その結果、2-Ethyl-1-hexanol はヒト TRPA1 (hTRPA1) およびマウス TRPA1 (mTRPA1) のいずれのチャネルに対しても濃度依存的な活性化を引き起こし、両者の  $EC_{50}$  値に顕著な差は認められなかった。一方、TMPD-MIB は、hTRPA1 に対して典型的な Sigmoid 型の濃度-反応曲線を示したのに対し ( $EC_{50}$ ; 173  $\mu$ M)、mTRPA1 では、250  $\mu$ M を超える濃度範囲で活性が阻害されるベル型の挙動を示した。室内空気中からも検出例のある香料成分の中にも同様のベル型の挙動を示す物質があることから、化学物

質による気道刺激性について動物実験の結果をヒトに外挿する際には慎重な考察が必要であると考えられる。

室内空気汚染実態全国調査等において高頻度・高濃度での検出が報告されている化学物質を中心に、揮発性有機化合物 (Volatile organic compound: VOC) および準揮発性有機化合物 (Semi volatile organic compound: SVOC) に分類される、計 82 化合物について DDPRA による感作性評価を実施した。その結果、81 化合物で感作性評価が可能であり、そのうち 25 化合物が陽性と分類された。室内空気汚染全国実態調査で高頻度、高濃度で検出されている、グリコール類、グリコールエーテル類、可塑剤、ポリ環状シロキサン類およびその類縁化合物については、いずれも陰性と分類された。一方、香料 9 物質、脂肪族アルデヒド (Hexanal および Nonanal)、防腐剤 Bronopol などが陽性と分類された。また、DPRA における Lys/Cys 比が気道感作性のスクリーニング評価に利用できる可能性を示唆する結果が得られた。

### C-3 気道障害性にかかる情報収集および優先順位判定

我が国の GHS 分類評価結果 (JP-GHS) データをもとに 2820 物質の情報をデータベース化した。気道刺激性および気道感作性についてはそれぞれ 1075 物質、96 物質が抽出された。気道感作性 96 物質のうち 86 物質については、気道刺激性物質にも分類されており気道感作性のみで分類された物質は 10 物質であった。室内環境汚染の可能性の高い物性として、GHS 分類情報をもとに常温において気体であるとされている物質に絞り込みを行った結果、気道刺激性 131 物質、気道感作性 4 物質 (いずれも気道刺激生物質に含まれる) が抽出された。気道刺激性物質のうち 74 物質については、JP-GHS 分類根拠においてヒトでのエビデンスが記載されており、これらについては室内環境汚染評価の優先順位の高い物質と考察された。一方、皮膚感作性が示されている物質については気道感作

性の懸念もあると考えられることから、皮膚感作性区分 1 と分類された物質を抽出した結果、405 物質が抽出され、気道感作性 96 物質のうち 86 物質については、気道感作性及び皮膚感作性いずれも該当した。また、常温で気体であり、かつ皮膚感作性の分類はされているものの気道感作性の分類はされていないものが 16 物質存在し、これらについても気道感作性の懸念が高い室内環境汚染評価の優先候補としてハザード情報の収集を行う必要があると考察された。さらに、気道刺激性についての知見のない物質の関連情報と化学構造等からのスクリーニング予測評価法として、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構築した。

国立医薬品食品衛生研究所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、下記の 25 物質/群について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 27 年度] 2-エチルヘキサノール、TMPD-MIB、TMPD-DIB、環状シロキサン類 (オクタメチルシクロテトラシロキサン (D4)、デカメチルシクロペンタシロキサン(D5))、グリコール類 (プロピレングリコール、1,3-ブタンジオール)、酢酸エステル類 (酢酸エチル、酢酸ブチル)

[平成 28 年度] *n*-ブタノール、テルペン類 (d-リモネン、 $\alpha$ -ピネン)、グリコールエーテル類 (プロピレングリコールモノメチルエーテル、プロピレングリコールモノメチルエーテルアセテート、ジエチレングリコールモノメチルエーテル、ジエチレングリコールモノエチルエーテル)

[平成 29 年度] 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

これらの化合物について初期リスク評価を行った結果、優先度 A(MOE が 1 未満) の化合物として、既築住宅の 2-エチルヘキサノール、デカメチルシクロペンタシロキサン、酢酸エチル、総 C8~C16 脂肪族飽和炭化水素、ノナン、デカン、トリデカン、C6~C9 脂肪族飽和アルデヒド類およびヘキサナール、新築住宅の TMPD-DIB、酢酸エチル、ジエチレングリコールモノエチルエーテル、プロピレングリコールモノメチルエーテルアセテート、 $\alpha$ -ピネンおよびトリメチルベンゼンが同定された。

#### C-4 定量的 VOC 放散データベースの構築

室内濃度指針値の見直し、もしくは追加対象となる揮発性有機化合物のリスク評価に資する情報を収集するための「定量的 VOC 放散データベース」を構築する目的で、家庭用品等の放散試験を実施し、放散化学物質の同定およびその放散速度等の分析データを集積した。室内環境中において容積負荷率の高い壁紙および床用敷物等の内装材 40 製品を入手して放散試験を実施し VOC の同定を試みたところ、2-Ethyl-1-hexanol がすべての製品より検出された。さらに、2-Ethyl-1-hexanol の放散速度を算出した結果、クッションフロアやフロアタイルからの放散量が高いことが明らかになった。一方、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につい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、それらの予想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となった。

#### D. 結論

本研究では、室内濃度指針値の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、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 3 テーマを軸として 3 年間にわたって研究を実施した。さらに、平成 28 年度からは、喫緊の行政ニーズに対応する目的で、4) 定量的 VOC 放散データベースの構築にかかるサブテーマを追加した。

本研究では、気道内挙動の *in vitro/in silico* 予測法として PBPK-CFD-CSP 法を確立し、経気道曝露の参照濃度 RfC を合理的に決定するための有効な情報を提供できる可能性がこと、さらに、気道内での異物代謝も加味した精緻化が可能であることを示した。また、気道障害性 (気道刺激性および気道感作性) の *in vitro* 予測法として、侵害刺激受容体発現細胞株による Calcium Mobilization Assay および DPRA の有用性を示した。

これらの *in vitro/in silico* 予測法/補完法の開発と並行して、室内空気中高頻度・高濃度検出化合物について既存のハザード情報の収集および初期リスク評価を行った。さらに、GHS データベースを活用した気道刺激性・感作性の情報収集方法、ならびにワークフロー型機械学習・予測モデルによる気道刺激性情報の補完方法を提示した。

また、室内空気中の化合物濃度の効率的な低減化を進める際に必須となる放散源情報の収集方法に関しては超小形チャンバー  $\mu$ -CTE によるハイスループット放散試験が極めて有用であることを示した。

本研究によって得られたハザードに関する既存情報や *in vitro/in silico* 補完方法の成果の一端は、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/改定作業を一層の加速化することが可能になるものと期待される。

E. 健康危険情報  
なし

F. 研究発表  
論文発表

1. Isobe T., Kofuji K., Okada K., Fujimori J., Murata M., Shigeyama M., Hanioka N., Murata Y.: Adsorption of histones on natural polysaccharides: The potential as agent for multiple organ failure in sepsis. *Int J Biol Macromol*, 2016, 84:54–57.
2. Kishi N., Takasuka A., Kokawa Y., Isobe T., Taguchi M., Shigeyama M., Murata M., Suno M., Hanioka N.: Raloxifene glucuronidation in liver and intestinal microsomes of humans and monkeys: contribution of UGT1A1, UGT1A8, and UGT1A9. *Xenobiotica*, 2016, 46(4):289–295.
3. Miyake Y., Hirose R., Isobe T., Hanioka N.: Molecular cloning and functional analysis of minipig UDP-glucuronosyltransferase 1A6. *Xenobiotica*, 2016, 46(3):193–199.
4. Mukai M., Isobe T., Okada K., Murata M., Shigeyama M., Hanioka N.: Species and sex differences in propofol glucuronidation in liver microsomes of humans, monkeys, rats and mice. *Pharmazie*, 2015, 70(7):466–470.
5. Nguyen Lu Phuong and Kazuhide Ito : Investigation of Flow Pattern in a Realistic Replica Model of Human Respiratory Tract using PIV : *Building and Environment*, 94, 2015, pp504-515.
6. Nguyen Lu Phuong, Masato Yamashita, Sung-Jun Yoo, Kazuhide Ito, Prediction of convective heat transfer coefficient of human upper and lower airway surfaces in steady and unsteady breathing conditions, *Building and Environment*, 100, 2016, pp172-185.
7. Takeuchi S., Tanaka-Kagawa T., Saito I., Kojima H., Jin K., Satoh M., Kobayashi S., Jinno H.: Differential determination of plasticizers and organophosphorus flame

- retardants in residential indoor air in Japan. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2015, Jun 24. doi:10.1007/s11356-015-4858-z
8. Kawakami T., Isama K., Ikarashi Y.: Survey of isothiazolinones and other preservatives in household wet tissue products in Japan, *J. Environ. Chem.*, 25, 207-214, 2015.
  9. Hirata-Koizumi, M., Fujii, S., Hina, K., Matsumoto, M., Takahashi, M., Ono, A., and Hirose, A., Repeated dose and reproductive/developmental toxicity of long-chain perfluoroalkyl carboxylic acids in rats: perfluorohexadecanoic acid and perfluorotetradecanoic acid, *Fundam Toxicol Sci.*, 2(4), 177-190, 2015.
  10. Ono, A., Kobayashi, K., Serizawa, H., Kawamura, T., Kato, H., Matsumoto, M., Takahashi, M., Hirata-Koizumi, M., Matsushima, Y. and Hirose, A., A repeated dose 28-day oral toxicity study of  $\beta$ -bromostyrene in rats. *Fundam. Toxicol. Sci.* 2015.2, 191-200
  11. Kato, H., Fujii, S., Takahashi, M., Matsumoto, M., Hirata-Koizumi, M., Ono, A. and Hirose, A., Repeated dose and reproductive/developmental toxicity of perfluorododecanoic acid in rats. *Environ Toxicol* 2015.30, 1244-1263
  12. Isobe T., Ohkawara S., Tanaka-Kagawa T., Jinno H., Hanioka N.: Hepatic glucuronidation of 4-tert-octylphenol in humans: inter-individual variability and responsible UDP-glucuronosyltransferase isoforms. *Arch Toxicol.* 2017 May 12. doi: 10.1007/s00204-017-1982-1.
  13. 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.
  14. 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.
  15. Hanioka N., Isobe T., Kinashi Y., Tanaka-Kagawa T., Jinno H.: Hepatic and intestinal glucuronidation of mono(2-ethylhexyl) phthalate, an active metabolite of di(2-ethylhexyl) phthalate, in humans, dogs, rats and mice: an in vitro analysis using microsomal fractions. *Arch Toxicol*, 2016, 90(7):1651–1657.
  16. Isobe T., Kofuji K., Okada K., Fujimori J., Murata M., Shigeyama M., Hanioka N., Murata Y.: Adsorption of histones on natural polysaccharides: The potential as agent for multiple organ failure in sepsis. *Int J Biol Macromol*, 2016, 84:54–57.
  17. Nguyen Lu Phuong, Masato Yamashita, Sung-Jun Yoo, Kazuhide Ito, Prediction of convective heat transfer coefficient of human upper and lower airway surfaces in steady and unsteady breathing conditions, *Building and Environment*, 100, 2016, pp172-185
  18. Kazuhide Ito : Toward the development of an in silico human model for indoor environmental design, *Proceedings of the Japan Academy- Series B*, Vol.92, No.7, 2016, pp 185-203
  19. Kazuhide Ito, Koki Mitsumune, Kazuki Kuga, Nguyen Lu Phuong, Kenji Tani, Kiao Inthavong, Prediction of convective heat transfer coefficients for the upper respiratory tracts of rat, dog, monkey, and humans, *Indoor and Built Environment*, 2016, Accepted, (DOI: 0.1177/1420326X16662111)
  20. Alicia Murga, Sung-Jun Yoo and Kazuhide Ito, Multi-stage downscaling procedure to analyze the impact of exposure concentration in a factory on a specific worker through CFD, *Indoor and Built Environment*, 2016,

- Accepted, (DOI: 10.1177/1420326X16677331)
21. Ping Wang, Wenhao Chen, Jiawen Liao, Toshiki Matsuo, Kazuhide Ito, Jeff Fowles, Dennis Shusterman, Mark Mendell, Kazukiyo Kumagai : A Device-independent Evaluation of Carbonyl Emissions from Heated Electronic Cigarette Solvents, PLOS ONE 12(1): e0169811, 2017
  22. Kazuhide Ito : In silico human model for fluid-initiated indoor environmental design, Indoor and Built Environment, 2017; 26 (3) Accepted, (DOI:10.1177/1420326X17697290)
  23. Kazuki Kuga, Kazuhide Ito, Sung-Jun Yoo, Wenhao Chen, Ping Wang, Jiawen Liao, Jeff Fowles, Dennis Shusterman, Kazukiyo Kumagai, First- and second-hand smoke exposure assessment from e-cigarettes using integrated numerical analysis of CFD and a computer-simulated person with a respiratory tract model, Indoor and Built Environment, 2017, Accepted, (DOI: 10.1177/1420326X17694476)
  24. Sung-Jun Yoo and Kazuhide Ito, Numerical Prediction of Tissue Dosimetry in Respiratory Tract using Computer Simulated Person integrated with physiologically based pharmacokinetic (PBPK)-computational fluid dynamics (CFD) Hybrid Analysis, Indoor and Built Environment, 2017, Accepted, (DOI: 10.1177/1420326X17694475)
  25. Nakamori S, Takahashi J, Hyuga S, Tanaka-Kagawa T, Jinno H, Hyuga M, Hakamatsuka T, Odaguchi H, Goda Y, Hanawa T, Kobayashi Y. : Ephedra Herb extract activates/ desensitizes transient receptor potential vanilloid 1 and reduces capsaicin-induced pain. J Nat Med. 2017 Jan;71(1):105-113. doi: 10.1007/s11418-016-1034-9. Epub 2016 Sep 8.
  26. 清水久美子・秋山卓美・伊佐間和郎・河上強志・五十嵐良明: グアニジン系加硫促進剤の感作性評価と家庭用ゴム製品の実態調査, 国立衛研報, 134, 42-49, 2016.
  27. M. Matsumoto, H. Todo, T. Akiyama, M. Hirata-Koizumi, K. Sugibayashi, Y. Ikarashi, A. Ono, A. Hirose and K. Yokoyama ; Risk assessment of skin lightening cosmetics containing hydroquinone.; Regul Toxicol Pharmacol, 81,128–135 (2016)
  28. M. Hirata-Koizumi, R. Ise, H. Kato, T. Matsuyama, T. Nishimaki-Mogami, M. Takahashi, A. Ono, M. Ema and A. Hirose ; Transcriptome analyses demonstrate that Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) activity of an ultraviolet absorber, 2-(2'-hydroxy-3',5'-di-tert-butylphenyl) benzotriazole, as possible mechanism of their toxicity and the gender differences.; J Toxicol Sci, 41,(5) 693–700 (2016)
  29. Azuma K, Ikeda K, Kagi N, Yanagi U, Osawa H. Evaluating prevalence and risk factors of building-related symptoms among office workers: Seasonal characteristics of symptoms and psychosocial and physical environmental factors. Environ Health Prev Med, in press, 2017.
  30. Azuma K, Tanaka-Kagawa T, Jinno H. Health risk assessment of inhalation exposure to 2-ethylhexanol, 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate, and texanol in indoor environment. Proceedings of the 14th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, 2016, ID168, 7 pages.
  31. Azuma K, Uchiyama I, Tanigawa M, Bamba I, Azuma M, Takano H, Yoshikawa T, Sakabe K. Association of odor thresholds and responses in cerebral blood flow of the prefrontal area during olfactory stimulation in patients with multiple chemical sensitivity. PLoS ONE; 11(12): e0168006, 2016. doi:10.1371/journal.pone.0168006.

32. Azuma K, Kouda K, Nakamura M, Fujita S, Tsujino Y, Uebori M, Inoue S, Kawai S. Effects of inhalation of emissions from cedar timber on psychological and physiological factors in an indoor environment. *Environments*; 3(4):37, 2016. doi:10.3390/environments3040037.
33. Bamba I, Azuma K. Psychological and physiological effects of Japanese cedar indoors after calculation task performance. *Journal of the Human-Environment System*; 18(2):33–41, 2016.
34. 東 賢一. 室内空気汚染の健康リスク. *臨床環境医学*; 25(2), in press, 2017.
35. 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.
36. 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.
37. 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.
38. 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.
39. 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
40. 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
41. 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
42. 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.
43. 小野. 宏, 丸野内. 隼, 井口. 泰泉, 小野. 敦; ER STTA 法: hER  $\alpha$  -HeLa-9903 細胞を用いたエストロゲン受容体恒常発現系転写活性化試験法の評価報告書 AATEX-JaCVAM 6, 1-27 (2017).
44. 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.
45. 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.
46. 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.

47. 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.
48. 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.
49. 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.
50. 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. 埴岡伸光, 磯部隆史, 香川(田中)聡子, 神野透人: フタル酸モノ-2-エチルヘキシルの肝及び小腸マイクロゾームによるグルクロン酸抱合反応の種差, *日本薬学会第 136 年会*, 横浜, 2016 年 3 月 26-29 日
2. 磯部隆史, 小藤恭子, 村田慶史, 埴岡伸光: アルギン酸ゲルビーズの敗血症性多臓器不全予防への利用に関する検討, *日本薬学会第 136 年会*, 横浜, 2016 年 3 月 26-29 日
3. 磯部隆史, 埴岡伸光, 小藤恭子, 村田慶史: 天然高分子の敗血症性多臓器不全予防への応用, 第 24 回ポリマー材料フォーラム, 東京 2015 年 11 月 27-28 日
4. 埴岡伸光, 岸直樹, 高須賀茜, 古川由貴, 磯部隆史, 須野学: ヒト及びカニクイザルにおけるラロキシフェンのグルクロン酸抱合反応: UGT1A1, UGT1A8 及び UGT1A10 の役割, *日本薬物動態学会第 30 会年会*, 東京, 2015 年 11 月 12-14 日
5. 光宗航基, 伊藤一秀: 齧歯類を対象とした数値気道モデル開発と鼻腔内流れ場・温度場の数値解析: 日本建築学会大会学術講演梗概集, 2015.9, D-2, pp763-764
6. 山下真登, Sung-Jun Yoo, 伊藤一秀: ヒト数値気道モデルを対象とした熱・エアロゾル粒子輸送解析: 日本建築学会九州支部研究発表会・研究報告, 2016.3, pp249-252
7. 光宗航基, 久我一喜, 山下真登, Sung-Jun Yoo, 伊藤一秀: ラット・イヌ・サル・ヒトを対象とした上気道内対流熱伝達率解析: 日本建築学会九州支部研究発表会・研究報告, 2016.3, pp257-260
8. 河上 強志, 伊佐間 和郎, 香川(田中) 聡子, 神野 透人: 家庭用水性スプレー製品中のグリコール類及びグリコールエーテル類等の分析, 24 回環境化学討論会 (2015.6)
9. 河上強志, 伊佐間和郎, 五十嵐良明: ウェットティッシュ製品に含まれる防腐剤調査, 第 45 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会・学術大会 (2015.11)
10. Jinno H, Tanaka-Kagawa T: Revision of the Indoor Air Quality Guidelines in Japan: Consumer Products as Sources of Air Pollution in Indoor Environment. *AsiaTox 2015* (2015.6)
11. 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 神野 透人: 生活環境化学物質による TRP イオンチャネルの活性化, 第 42 回日本毒性学会学術年会 (2015,6)
12. 田原 麻衣子, 真弓 加織, 五十嵐 良明, 埴岡 伸光, 香川(田中) 聡子, 神野 透人: COSMO-RS 法による空気-鼻粘液分配係数の予測, 第 42 回日本毒性学会学術年会 (2015,6)
13. 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 神野 透人: 金属化合物によるヒト侵害刺激受容 TRP イオンチャネルの活性化, *メタルバイオサイエンス研究会 2015* (2015,8)
14. 香川(田中) 聡子, 田原 麻衣子, 上村 仁, 斎藤 育江, 武内 伸治, 神野 透人: 室内環境中の粒子状物質の日内変動と

- その組成に関する研究, フォーラム 2015 衛生薬学・環境トキシコロジー (2015.9)
15. 河上 強志, 伊佐間 和郎, 香川(田中) 聡子, 神野 透人: 家庭用芳香剤などのスプレー製品に含まれるグリコールエーテル等の実態調査, 第 52 回全国衛生化学技術協議会年会 (2015.12)
  16. Nishimura, T., Hirata-Koizumi, M., Yamada, T., Kawamura, T., Ono, A., Hirose, A., and Ema, M., Derivation of the health advisory guidance values for sub-acute exposure of drinking water, Society of Toxicology 55th Annual meeting, New Orleans, USA, March 2016.
  17. Hirose, A., Hirata-Koizumi, M., Kawamura, T., Matsumoto, M., Takahashi, M., Nishimaki-Mogami, T., Nishimura, T., Ema, M., and Ono, A., Derivation of subacute reference doses for drinking water quality management, The 51st EUROTOX2015, Porto, Portugal, September 2015.
  18. Ono, A., Matsumoto, M., Takahashi, M., Kawamura, T., Hirata-Koizumi, M., and Hirose, A., Is a 14-day dose setting study able to predict its 28-day repeated dose toxicity?, The 51st EUROTOX2015, Porto, Portugal, September 2015.
  19. Azuma K, Tanaka-Kagawa T, Jinno H. Health risk assessment of inhalation exposure to 2-ethylhexanol, 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate, and texanol in indoor environments. 14th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, Ghent, Belgium, 3–8 July, 2016. (in acceptance)
  20. Azuma K, Tanaka-Kagawa T, Jinno H. Health risk assessment of inhalation exposure to cyclic dimethylsiloxanes, glycols, and acetic esters in indoor environments. 28th Conference of the International Society for Environmental Epidemiology, Rome, Italy, 1–4 September, 2016. (in acceptance)
  21. 埴岡伸光, 磯部隆史, 香川(田中)聡子, 神野透人: フタル酸モノ-2-エチルヘキシルの肝及び小腸ミクロゾームによるグルクロン酸抱合反応の種差, 日本薬学会第 136 年会, 横浜, 2016 年 3 月 26–29 日
  22. 磯部隆史, 小藤恭子, 村田慶史, 埴岡伸光: アルギン酸ゲルビーズの敗血症性多臓器不全予防への利用に関する検討, 日本薬学会第 136 年会, 横浜, 2016 年 3 月 26–29 日
  23. 磯部隆史, 埴岡伸光, 小藤恭子, 村田慶史: 天然高分子の敗血症性多臓器不全予防への応用, 第 24 回ポリマー材料フォーラム, 東京 2015 年 11 月 27–28 日
  24. 埴岡伸光, 岸直樹, 高須賀茜, 古川由貴, 磯部隆史, 須野学: ヒト及びカニクイザルにおけるラロキシフェンのグルクロン酸抱合反応: UGT1A1、UGT1A8 及び UGT1A10 の役割, 日本薬物動態学会第 30 会年会, 東京, 2015 年 11 月 12–14 日
  25. 光宗航基, 伊藤一秀: 齧歯類を対象とした数値気道モデル開発と鼻腔内流れ場・温度場の数値解析: 日本建築学会大会学術講演梗概集, 2015.9, D-2, pp763-764
  26. 山下真登, Sung-Jun Yoo, 伊藤一秀: ヒト数値気道モデルを対象とした熱・エアロゾル粒子輸送解析: 日本建築学会九州支部研究発表会・研究報告, 2016.3, pp249-252
  27. 光宗航基, 久我一喜, 山下真登, Sung-Jun Yoo, 伊藤一秀: ラット・イヌ・サル・ヒトを対象とした上気道内対流熱伝達率解析: 日本建築学会九州支部研究発表会・研究報告, 2016.3, pp257-260
  28. 河上 強志, 伊佐間 和郎, 香川(田中) 聡子, 神野 透人: 家庭用水性スプレー製品中のグリコール類及びグリコールエーテル類等の分析, 24 回環境化学討論会 (2015.6)
  29. 河上強志, 伊佐間和郎, 五十嵐良明: ウェットティッシュ製品に含まれる防腐

- 剤調査, 第 45 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会・学術大会 (2015.11)
30. Jinno H, Tanaka-Kagawa T : Revision of the Indoor Air Quality Guidelines in Japan: Consumer Products as Sources of Air Pollution in Indoor Environment. AsiaTox 2015 (2015.6)
31. 香川 (田中) 聡子, 大河原 晋, 神野 透人 : 生活環境化学物質による TRP イオンチャンネルの活性化, 第 42 回日本毒性学会学術年会 (2015.6)
32. 田原 麻衣子, 真弓 加織, 五十嵐 良明, 埴岡 伸光, 香川 (田中) 聡子, 神野 透人 : COSMO-RS 法による空気-鼻粘液分配係数の予測, 第 42 回日本毒性学会学術年会 (2015.6)
33. 香川 (田中) 聡子, 大河原 晋, 神野 透人 : 金属化合物によるヒト侵害刺激受容 TRP イオンチャンネルの活性化, メタルバイオサイエンス研究会 2015 (2015.8)
34. 香川 (田中) 聡子, 田原 麻衣子, 上村 仁, 斎藤 育江, 武内 伸治, 神野 透人 : 室内環境中の粒子状物質の日内変動とその組成に関する研究, フォーラム 2015 衛生薬学・環境トキシコロジー (2015.9)
35. 河上 強志, 伊佐間 和郎, 香川 (田中) 聡子, 神野 透人 : 家庭用芳香剤などのスプレー製品に含まれるグリコールエーテル等の実態調査, 第 52 回全国衛生化学技術協議学会年会 (2015.12)
36. Nishimura, T., Hirata-Koizumi, M., Yamada, T., Kawamura, T., Ono, A., Hirose, A., and Ema, M., Derivation of the health advisory guidance values for sub-acute exposure of drinking water, Society of Toxicology 55th Annual meeting, New Orleans, USA, March 2016.
37. Hirose, A., Hirata-Koizumi, M., Kawamura, T., Matsumoto, M., Takahashi, M., Nishimaki-Mogami, T., Nishimura, T., Ema, M., and Ono, A., Derivation of subacute reference doses for drinking water quality management, The 51st EUROTOX2015, Porto, Portugal, September 2015.
38. Ono, A., Matsumoto, M., Takahashi, M., Kawamura, T., Hirata-Koizumi, M., and Hirose, A., Is a 14-day dose setting study able to predict its 28-day repeated dose toxicity?, The 51st EUROTOX2015, Porto, Portugal, September 2015.
39. Azuma K, Tanaka-Kagawa T, Jinno H. Health risk assessment of inhalation exposure to 2-ethylhexanol, 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate, and texanol in indoor environments. 14th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, Ghent, Belgium, 3–8 July, 2016. (in acceptance)
40. Azuma K, Tanaka-Kagawa T, Jinno H. Health risk assessment of inhalation exposure to cyclic dimethylsiloxanes, glycols, and acetic esters in indoor environments. 28th Conference of the International Society for Environmental Epidemiology, Rome, Italy, 1–4 September, 2016. (in acceptance)
41. 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関する 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
42. 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
43. 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
44. 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
  45. 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
  46. 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
  47. 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
  48. 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
  49. 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)
  50. 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)
  51. 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)
  52. 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
  53. 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
  54. 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
  55. 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
  56. 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
  57. 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
58. 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
  59. 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
  60. 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
  61. 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
  62. 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
  63. 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
  64. 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
  65. 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
  66. 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)
  67. 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 53rd Eurotox2017 (2017.9, Bratislava, Slovak)
  68. 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)
  69. 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)
70. 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.
  71. 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.
  72. 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.
  73. 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.
  74. 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
  75. 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
  76. 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
  77. 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
  78. 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
  79. 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
  80. 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
  81. 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 礒部 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 (TXIB<sup>TM</sup>, TMPD-DIB と略す)、2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol monoisobutyrate (Texanol<sup>TM</sup>, TMPD-MIB と略す)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、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た。次に薬物代謝酵素が高発現しているヒト肝マイクロゾームを用いて 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-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) へと代謝されることが明らかとなった。ヒト、サル、ラットおよびマウスの肝マイクロゾームによる TMPD-DIB から TMPD-MIB への加水分解反応を比較したところ、TMPD-DIB 加水分解反応の速度論的な様相は動物種間で大きく異なり、動物実験のデータをヒトへ外挿する際には、種差を考慮し慎重に行う必要があることが示唆された。本研究で得られた知見は、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 の局所的な曝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、新たに 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (TXIB™, TMPD-DIB と略す)、2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol monoisobutyrate (Texanol™, 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。これらの揮発性有機化合物の室内空気中の濃度と気道における局所的な濃度を関連づけるためには、気道内での気流の状態、気道表面における空気と粘液との間の分配係数、粘膜での薬物代謝酵素による変換など、気道内での挙動を適切に見積もる必要がある。気道の中でも鼻腔から気管支は揮発性有機化合物により刺激を受ける部位として知られており、揮発性有機化合物の鼻粘膜などにおける代謝を明らかにすることは局所的な暴露濃度を推定する上で重要となる。本研究において我々は、ヒトの気道における薬物代謝酵素の発現パターンならびに TMPD-DIB および TMPD-MIB の加水分解反応の *in vitro* 解析を行った。また、動物実験のデータをヒトへ外挿する際には動物種差の情報が重要となるため、ヒト、サル、ラットおよびマウスにおける TMPD-DIB の加水分解反応を速度論的に解析した。

## B. 研究方法

### B-1. 気道における揮発性有機化合物の代謝に関与する薬物代謝酵素の推定

ヒトの鼻粘膜、気管および気管支粘膜

における薬物代謝酵素の発現に関係する主立った論文を調査し、TMPD-DIB および TMPD-MIB の気道における加水分解反応を速度論的に評価する上で重要となる薬物代謝酵素について検討した。

### B-2. TMPD-DIB 加水分解反応の薬物代謝学的評価

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。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、得られたヘキサソル相をガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) にて分析した。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 0.25 μm) 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

### C-1. 気道における揮発性有機化合物の代謝に関与する薬物代謝酵素の推定

気道内での加水分解反応に関与する主なカルボキシエステラーゼ (CES) 分子種の組織分布は、複数のグループによって研究が行われている。Zhang らの免疫組織化学的および Sasagawa らの代謝学的な手法により、鼻粘膜に CES2 が高く発現していることが明らかにされている。また、Sanghani らは、気管に発現している CES 分子種は、主に CES1、CES2 及び CES3 遺伝子であることを報告している。

TMPD-DIB および TMPD-MIB など揮発性有機溶媒の粘膜刺激症状への影響を調査する上では、気管支全体としてよりも粘膜部分での薬物代謝酵素の発現が重要と考えられる。例えば、Leclerc らは、気管支粘膜で遺伝子が発現している主な分子種は CES1 であることを報告している。

シトクロム P450 (CYP) に関しては、Ding らが遺伝子レベルで組織分布性を報告している。そのなかで鼻粘膜における薬物代謝の重要性ならびに 6 種類の CYP 分子種 (CYP2A6、CYP2A13、CYP2B6、CYP2C、CYP2J2、CYP3A) の遺伝子が発現していることを述べている。Zhang らは、これら CYP 分子種の他に CYP1B1、CYP2F1 及び CYP4B1 遺伝子も鼻粘膜に発現していることも明らかにしている。Saarikoski らは *in situ* ハイブリダイゼーション及び免疫組織化学的な検出方法で各組織における CYP2S1 の遺伝子ならびにタンパク質の発現状態を調べ、鼻粘膜における CYP2S1 の発現を明らかにした。これらの報告より、鼻粘膜で遺伝子の発

現を確認されている主な分子種は、CYP1B1、CYP2A6、CYP2A13、CYP2B6、CYP2C、CYP2F1、CYP2J2、CYP2S1、CYP3A 及び CYP4B1 であることが明確となった。

気管での CYP 遺伝子の発現については、CYP2A6、CYP2A13、CYP2B6 及び CYP2S1 であることが Ding らにより報告されている。

気管支粘膜では、CYP1A1、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C18、CYP2E1、CYP3A5 及び CYP4B1 の CYP 遺伝子が発現していることを Mace ら及び Leclerc らが報告している。

鼻粘膜、気管及び気管支粘膜においては、CES1 か CES2 のいずれかが必ず発現し、これらの酵素が TMPD-DIB および TMPD-MIB の気道での加水分解反応に重要な役割を果たしていることが推測される (表 1)。

### C-2. TMPD-DIB 加水分解反応の薬物代謝学的評価

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) へと代謝されることを確認した (図 1)。1-HTMPIB に比べ、3-HTMPIB へ代謝される割合は低く、この現象は 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ことに起因しているものと推察

された。

TMPD-MIB は TMPD-DIB の加水分解物であり、1-HTMPIB およびその構造異性体の 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、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 (図 2)。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。

ヒト、サル、ラット、マウスの肝ミクロゾームによる TMPD-DIB から TMPD-MIB への加水分解反応を比較したところ、いずれの動物種でも 1-HTMPIB と 3-HTMPIB への代謝がみられ、代謝における選択性は 1-HTMPIB > 3-HTMPIB であった。動物種間での肝ミクロゾームによる 1-HTMPIB 生成活性を比較したところ、サルとマウスにおいてヒトの約 2-3 倍の値を示したが、ラットではヒトの約 30%の活性しか認められなかった。また、3-HTMPIB 生成活性については、ヒト、サル及びマウス間で同等の値を示したのに対し、ラットにおいてはヒトの約

14%の活性であった (図 3)。次に、速度論的な解析を行ったところ、肝ミクロゾームによる 1-HTMPIB 生成活性の *in vitro* クリアランス値 (ヒト=1.0) は、サル (2.7)  $\approx$  マウス (2.7) > ヒト (1.0)  $\approx$  ラット (0.8) であった。一方、3-HTMPIB 生成活性の *in vitro* クリアランス値 (ヒト=1.0) は、ヒト (1.0) > サル (0.8)  $\approx$  マウス (0.8) > ラット (0.2) であった (図 4-6、表 2、3)。このように TMPD-DIB の加水分解反応は動物種間で大きく異なり、動物実験のデータをヒトへ外挿するには注意が必要であることが明らかとなった。

#### D. 結論

本研究では、気道における 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、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 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た。

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 TMPD-DIB および TMPD-MIB の *in vitro* 代謝試験を行った。その結果、TMPD-DIB から 1-HTMPIB およびその構造異性体である 3-HTMPIB からなる TMPD-MIB への代謝に CES が関与しており、さらに 3-HTMPIB から TMPD への代謝にも関与していることが明らかとなった。さらに、ヒト、サル、ラット

およびマウスの肝ミクロゾームによる TMPD-DIB から TMPD-MIB への加水分解反応を比較したところ、いずれの動物種でも 1-HTMPIB と 3-HTMPIB への代謝がみられた。しかしながら、TMPD-DIB 加水分解反応の速度論的な解析結果は動物種間で大きく異なるため、動物実験のデータをヒトへ外挿する際には、種差を考慮し慎重に行う必要があることが明らかとなった。

本研究で得られたこれらの知見は、気道粘膜刺激症状への関与が予測される TMPD-DIB および TMPD-MIB の局所的な曝露濃度を推定するための重要な情報となる。

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.
- 5) Hanioka N., Isobe T., Kinashi Y., Tanaka-Kagawa T., Jinno H.: Hepatic and intestinal glucuronidation of mono(2-ethylhexyl) phthalate, an active metabolite of di(2-ethylhexyl) phthalate, in humans, dogs, rats and mice: an in vitro analysis using microsomal fractions. *Arch Toxicol*, 2016, 90(7):1651–1657.
- 6) Isobe T., Kofuji K., Okada K., Fujimori J., Murata M., Shigeyama M., Hanioka N., Murata Y.: Adsorption of histones on natural polysaccharides: The potential as agent for multiple organ failure in sepsis. *Int J Biol Macromol*, 2016, 84:54–57.
- 7) Kishi N., Takasuka A., Kokawa Y., Isobe T., Taguchi M., Shigeyama M., Murata M., Suno M., Hanioka N.: Raloxifene glucuronidation in liver and intestinal microsomes of humans and monkeys: contribution of UGT1A1, UGT1A8, and UGT1A9. *Xenobiotica*, 2016, 46(4):289–295.
- 8) Miyake Y., Hirose R., Isobe T., Hanioka

N.: Molecular cloning and functional analysis of minipig UDP-glucuronosyltransferase 1A6. *Xenobiotica*, 2016, 46(3):193–199.

9) Mukai M., Isobe T., Okada K., Murata M., Shigeyama M., Hanioka N.: Species and sex differences in propofol glucuronidation in liver microsomes of humans, monkeys, rats and mice. *Pharmazie*, 2015, 70(7):466–470.

## 2. 学会発表

- 1) 礒部 隆史, 小島 健太郎, 大河原 晋, 越智 定幸, 香川(田中) 聡子, 神野 透人, 埴岡 伸光: 2,2,4-トリメチル-1,3-ペンタンジオール ジイソブチラートの肝ミクロゾームによる加水分解反応の種差, 日本薬学会第 138 年会, 金沢, 2017 年 3 月 25–28 日
- 2) 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 百井 夢子, 礒部 隆史, 青木 明, 植田 康次, 岡田 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, 2017 年 3 月 25–28 日
- 3) 中村 恵理子, 今田 翔子, 礒部 隆史, 埴岡 伸光, 神野 透人, 大河原 晋, 香川(田中) 聡子: BEAS-2B および THP-1 における炎症性メディエーター産生に対するイソチアゾリノン系抗菌剤の影響, 日本薬学会第 138 年会, 金沢, 2017 年 3 月 25–28 日

4) 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

5) 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

6) 前川 梨沙, 青木 明, 岡田 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

7) 礒部 隆史, 黒田 勝也, 大河原 晋, 香川(田中) 聡子, 神野 透人, 埴岡伸光: 4-tert-オクチルフェノールの肝および小腸ミクロゾームによるグルクロン酸抱合反応の種差, 日本薬学会第 137 年会, 仙台, 2017 年 3 月 24–27 日

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

9) 大河原 晋, 岩田 哲, 礒部 隆史, 埴岡伸光, 神野 透人, 香川(田中) 聡子: ヒト由来培養細胞株における 2-n-Octyl-4-isothiazolin-3-one に対する

感受性の差違, 日本薬学会第 137 年会, 仙台, 2017 年 3 月 24-27 日

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

11) 香川 (田中) 聡子, 大河原 晋, 礒部 隆史, 埴岡 伸光, 神野 透人: 香料アレルギーによる気道刺激に関する研究, 平成 28 年 室内環境学会学術大会, つくば, 2016 年 12 月 15-16 日

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

13) 埴岡伸光, 礒部隆史, 香川(田中)聡子,

神野透人: フタル酸モノ-2-エチルヘキシルの肝及び小腸マイクロゾームによるグルクロン酸抱合反応の種差, 日本薬学会第 136 年会, 横浜, 2016 年 3 月 26-29 日

14) 埴岡伸光, 岸直樹, 高須賀茜, 古川由貴, 礒部隆史, 須野学: ヒト及びカニクイザルにおけるラロキシフェンのグルクロン酸抱合反応: UGT1A1、UGT1A8 及び UGT1A10 の役割, 日本薬物動態学会第 30 会年会, 東京, 2015 年 11 月 12-14 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

表 1 ヒトの気道で発現がみられる薬物代謝酵素

Tissue	Metabolic enzyme	Reference
Nasal mucosa	<u>CES2</u> , CYP1B1, CYP2A6, CYP2A13, CYP2B6, CYP2C, CYP2F1, CYP2J2, CYP2S1, CYP3A, CYP4B1	[1], [2], [3], [4], [5]
Trachea	<u>CES1</u> , <u>CES2</u> , <u>CES3</u> , CYP2A6, CYP2A13, CYP2B6, CYP2S1	[3], [6]
Bronchial mucosa	<u>CES1</u> , CYP1A1, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C18, CYP2E1, CYP3A5, CYP4B1	[7], [8]

Reference

- [1] Zhang W., Xu G., McLeod H. L.: Comprehensive Evaluation of Carboxylesterase-2 Expression in Normal Human Tissues Using Tissue Array Analysis. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2002, 10(4):374-380.
- [2] Sasagawa T., Yamada T., Nakagawa T., Tsujioka T., Takahashi Y., Kawakita N., Nonaka K., Nakamura A.: *In vitro* metabolism of dexamethasone cipeclate, a novel synthetic corticosteroid, in human liver and nasal mucosa. *Xenobiotica*, 2011, 41(10):874-884.
- [3] Ding X., Kaminsky L. S.: Human extrahepatic cytochromes P450: Function in xenobiotic metabolism and tissue-selective chemical toxicity in the respiratory and gastrointestinal tracts. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2003, 43:149-173.
- [4] Zhang X., Zhang Q.Y., Liu D., Su T., Weng Y., Ling G., Chen Y., Gu J., Schilling B., Ding X.: Expression of cytochrome P450 and other biotransformation genes in fetal and adult human nasal mucosa. *Drug Metab Dispos*, 2005, 33(10):1423-1428.
- [5] Saarikoski S. T., Wikman H. A. L., Smith G., Wolff C. H. J., Husgafvel-Pursiainen K.: Localization of cytochrome P450 CYP2S1 expression in human tissues by in situ hybridization and immunohistochemistry. *J Histochem Cytochem*, 2005, 53(5):549-556.
- [6] Sanghani S. P., Sanghani P. C., Schiel M. A., Bosron W. F.: Human carboxylesterases: an update on CES1, CES2 and CES3. *Protein Pept Lett*, 2009, 16(10):1207-1214.
- [7] Leclerca J., Ngangua E. C. N., Cauffieza C., Allorgea D., Pottiera N., Lafitteb, J. J., Debaertc M., Jaillardd S., Brolya F., Guidicea J. M. L.: Xenobiotic metabolism and disposition in human lung: Transcript profiling in non-tumoral and tumoral tissues. *Biochimie*, 2011, 93(6):1012-1027.
- [8] Macé K., Bowman E. D., Vautraviers P., Shields P. G., Harris C.C., Pfeifer A. M. A.: Characterisation of xenobiotic-metabolising enzyme expression in human bronchial mucosa and peripheral lung tissues. *Eur J Cancer*, 1998, 34(6):914-920.

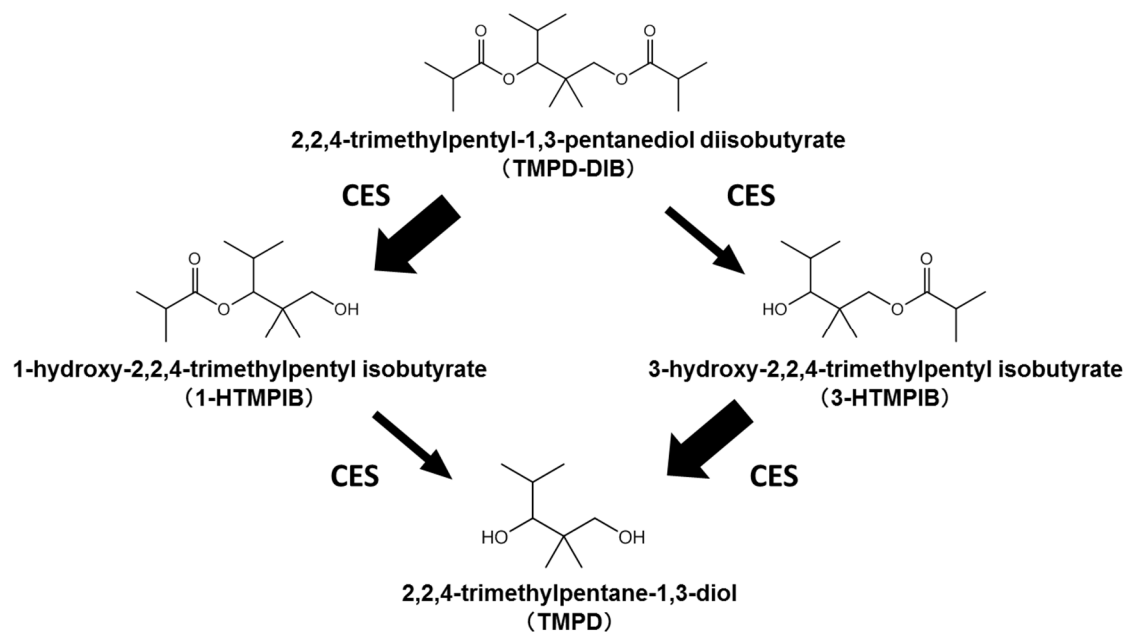


図 1 Carboxyl esterase (CES) による TMPD-DIB の加水分解

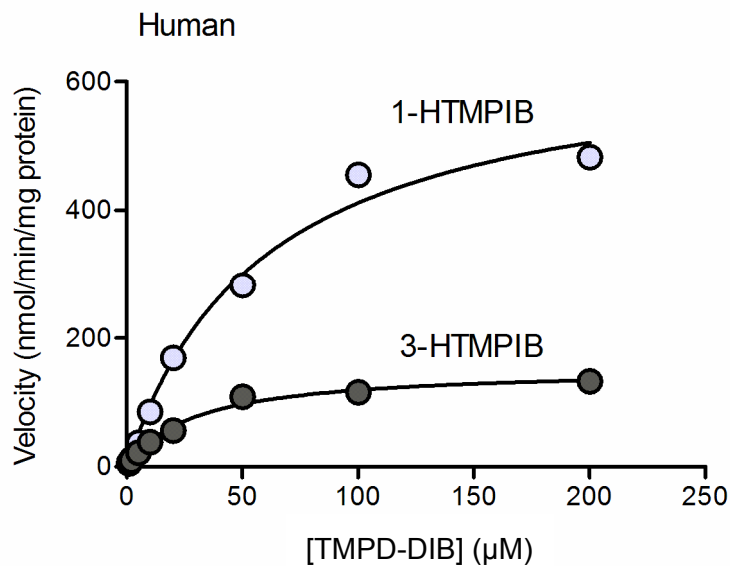


図 2 ヒト肝ミクロゾームによる TMPD-DIB 加水分解反応の Michaelis-Menten プロット

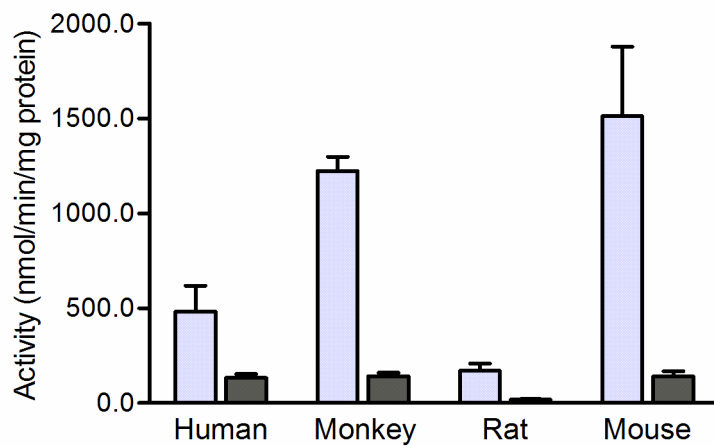


図 3 ヒト、サル、ラットおよびマウス肝ミクロゾームの TMPD-DIB 加水分解活性

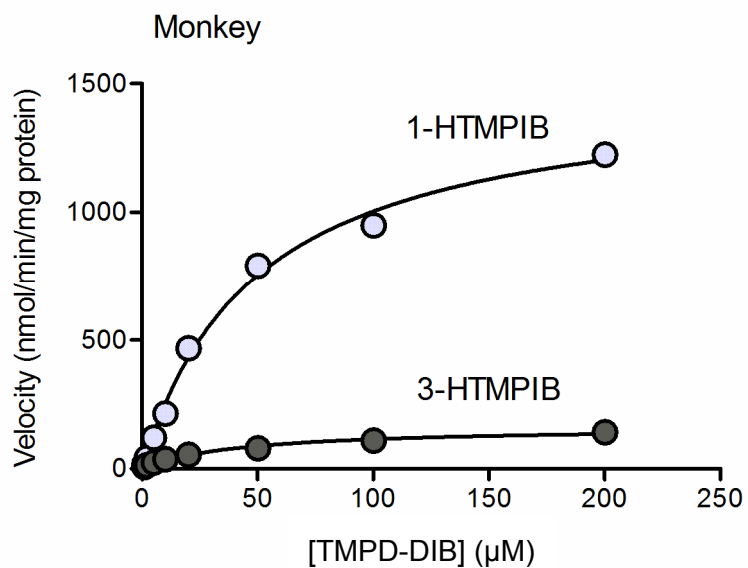


図 4 サル肝ミクロゾームによる TMPD-DIB 加水分解反応の Michaelis-Menten プロット



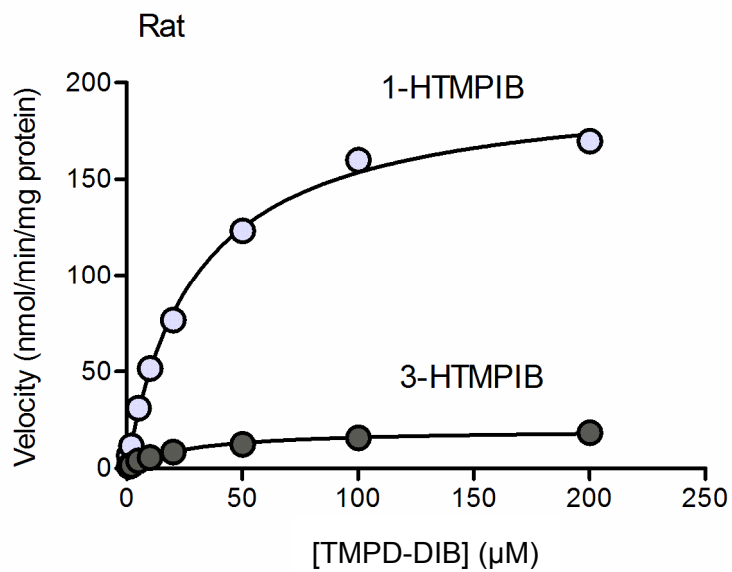


図 5 ラット肝ミクロゾームによる TMPD-DIB 加水分解反応の Michaelis-Menten プロット

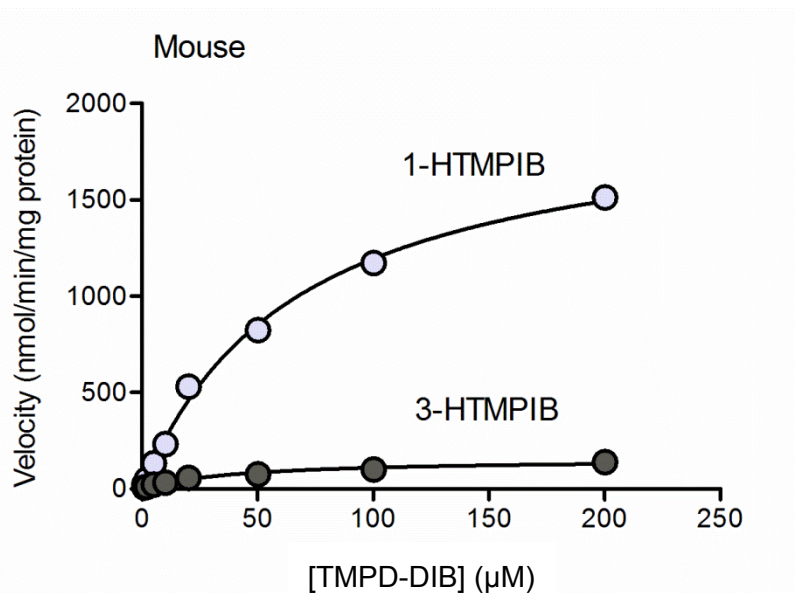


図 6 マウス肝ミクロゾームによる TMPD-DIB 加水分解反応の Michaelis-Menten プロット

表 2 1-HTMPIB 生成活性の速度論的パラメーター

	$K_m^a$	$V_{max}^b$	$CL_{int}^c$
Human	57.2 ± 8.2	637 ± 122	11.4 ± 3.3
Monkey	51.7 ± 17.2	1520 ± 150	30.8 ± 6.6
Rat	29.1 ± 8.1	285 ± 198	9.10 ± 3.80
Mouse	64.1 ± 25.2	1997 ± 789	31.4 ± 6.71

Each value represents the mean ± S.D. of three separate experiments.  
<sup>a</sup>μM; <sup>b</sup>nmol/min/mg protein; <sup>c</sup>mL/min/mg protein.

表 3 3-HTMPIB 生成活性の速度論的パラメーター

	$K_m^a$	$V_{max}^b$	$CL_{int}^c$
Human	32.6 ± 3.0	162 ± 27	4.94 ± 0.45
Monkey	44.2 ± 9.0	166 ± 24	3.81 ± 0.52
Rat	30.4 ± 10.1	28.0 ± 14.7	1.06 ± 0.76
Mouse	51.0 ± 36.2	168 ± 63	3.83 ± 1.46

Each value represents the mean ± S.D. of three separate experiments.  
<sup>a</sup>μM; <sup>b</sup>nmol/min/mg protein; <sup>c</sup>mL/min/mg protein.

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

本研究では計算流体力学 CFD (Computational Fluid Dynamics)解析用の数値気道モデルを、頭部や胴体・手足などの幾何形状を詳細に再現した人体幾何形状モデルに統合し、室内環境中で発生した各種の汚染物質による経気道曝露予測を可能とする総合的な数値人体モデル CSP (Computer Simulated Person)を作成した。この CSP に経気道曝露評価を目的とした生理的薬物動態解析 PBPK (Physiologically Based Pharmacokinetic)モデルを組み込むことで、気道内での汚染物質沈着から気道内粘膜上皮を介して体内へ向かう汚染物質動態を解析する一連の解析モデル(PBPK-CFD-CSP)を構築した。最終的に PBPK モデルを非定常モデル化することで、リアルタイムで経気道曝露シミュレーションの実施が可能な解析モデルを作成した。

A. 研究目的

高い倫理的制約から、実人体(ヒト)を対象とした被験者実験の実施が非常に困難になっている。人体を用いた試験の代替法の一つとして動物実験があるが、こちらも動物愛護の点や倫理的側面で実験実施の制約が増す方向にある。実人体も用いず、サロゲートモデル(実験動物)も用いない代替法として、コンピュータ上に人体や動物の生理を再現した数値モデル(*in silico model*)の利用があり、近年の画像処理技術と計算機能力の飛躍的向上からも期待が高まっている。

室内環境問題に着目した場合、1990年代のシックハウス問題から、近年ではPM2.5やPM10といった浮遊粒子状物質

による空気質問題が顕在化し、深刻な健康影響が懸念されている。これらの室内空気質問題は、汚染物質を含む室内空気を呼吸によって体内に輸送する、所謂、経気道曝露の問題である。この室内環境中での経気道曝露問題に取り組むためには、室内環境中での汚染物質輸送と呼吸に伴う気道内の汚染物質輸送を同時に評価することが重要となる。

このような背景のもと、本研究では呼吸器系を送達経路とする吸入毒性試験(Inhalation Toxicology Study)を実施するための、特に上気道を対象とした数値気道モデル(*in silico model*)の開発を行った上で、頭部や胴体・手足などの幾何形状を詳細に再現した人体幾何形状モデルに統合

し、室内環境中で発生した各種の汚染物質による経気道曝露予測を可能とする総合的な数値人体モデル CSP (Computer Simulated Person)を作成した。その上で、この CSP に経気道曝露評価を目的とした生理的薬物動態解析 PBPK (Physiologically Based Pharmacokinetic)モデルを組み込むことで、気道内での汚染物質沈着から気道内粘膜上皮を介して体内へ向かう汚染物質動態を解析する一連の解析モデルを構築した。最終的には呼吸に対応した経気道曝露のリアルタイム解析手法を確立した。

#### B. ヒト数値気道モデル

BMI 約 22 程度の平均な体型とされる非喫煙者である男性の CT データを用いて作成した。一連の CT 画像データ(DICOM データ)より気道部分を抽出し、その後、Mimics 4.0 (Materialise)にて CT 画像の 3 次元化、続いて 3-matic (Materialise)にて 3 次元化した STL のスムージングならびに流体ジオメトリの作成を行い、最終的には ICEM (ANSYS)にて読み込むことで、最終的な数値流体解析用メッシュデータを生成した。

ヒトモデルに関しては、上気道を対象としたモデルに加え、気管支第四分岐程度までの下気道も再現した詳細モデルを合わせて作成した。

本研究で作成した 5 種類の数値気道モデルは、全て低 Re 型 k- $\epsilon$  モデルによる流体解析を前提として、気道内粘膜上皮と気道内空気層の境界面に形成される境界層粘性底層(層流域)内の速度プロファイルを精密に解像するため、全ての解析ケ

ースで壁面第一メッシュを壁座標  $y^+ < 1$  を満たすように設定した上で、メッシュ依存性の検討を慎重に行った上で、解析領域内の最終メッシュデザインを決定している。

#### C. 気道統合型の数値人体モデル

我々の研究グループは、一般的な成人男性、成人女性、7 歳児程度の子どもの対象として、立位条件と座位条件の 2 種の姿勢にて、CFD 解析に利用可能な人体幾何形状データ(Virtual Manikin)を整備し、グリッドライブラリ化して WEB サイトで公開している。本研究では立位型の成人男性モデルの人体幾何形状を用いて気道モデルとの統合モデルを作成する。

両者の統合の際には、連続したメッシュにて数値人体モデルと数値気道モデルを完全に一体化し、CFD 解析を実施する際には気道内部空間から鼻腔・口腔を介して室内空間まで一連の解析空間として扱うモデルを作成した。

このモデル化では鼻孔面を介して数値人体モデルと数値気道モデルが連続したメッシュで生成されており、CFD 解析そのものの解析精度を担保することで、流量保存、エネルギー保存等が自動的に満足される。

#### D. 経気道曝露評価用 PBPK モデル

本研究では RA Corley らの煙草煙中に含まれるアルデヒド類を対象とした経気道曝露の PBPK-CFD モデルを基に、気道 (Airway), 粘膜上皮 (Epithelium+Mucus), 上皮下組織 (Subepithelium)の 3 層(正確には CFD 解析で 1 層, PBPK モデルとして

2層)からなる PBPK-CFD モデルを CSP の数値気道モデルに統合した。

最終的に、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。

#### E. リアルタイム PBPK-CFD-CSP 解析の事例

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

数値気道モデルを統合した数値人体モデル周囲ならびに内部のメッシュ分割は数値気道内では PBPK モデルと連成させるために、粘膜上皮層( $L_f=0.0655$  mm)ならびに上皮組織層( $L_b=0.015$  mm)を設定し、各々法線方向に 5 分割以上することで PBPK の各反応拡散項を離散化した上で代数的に解く。界面濃度はフラックス保存を課す。

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

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

図 1 に本研究で開発した PBPK-CFD-CSP 連成解析モデルの概要、図 2 に解析対象空間の概要を示す。

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 には鼻腔内粘膜上皮・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暴露濃度予測と 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。

#### F. 纏め

本研究ではヒトの呼吸器系を対象とした数値解析用気道モデルの開発と、気道モデルを統合した数値人体モデルの開発を行った。In silico モデルを使用した研究開発は、生体の直接利用(*in vivo*)と比較して倫理的な制約に縛られること無く、多様な検討を行うことが可能である。

数値解析はあくまで数値実験であり、モデル化に伴う誤差を含む。*in vivo* 試験ならびに *in vitro* 試験などによる実験的な検証が常に必要である。実験と計算が相互補完することで、数値気道モデルが空気清浄分野の新たな研究手法(*in silico*)として発展していくことが期待される。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

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

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

Kazuhide Ito, Koki Mitsumune, Kazuki Kuga, Nguyen Lu Phuong, Kenji Tani, Kiao Inthavong, Prediction of convective heat transfer coefficients for the upper respiratory tracts of rat, dog, monkey, and humans, Indoor and Built Environment, 2017, Vol 26, Issue 6, pp. 828 – 840

Alicia Murga, Sung-Jun Yoo and Kazuhide Ito, Multi-stage downscaling procedure to analyze the impact of exposure concentration in a factory on a specific worker through CFD, Indoor and Built Environment, 2016, Accepted (DOI: 10.1177/1420326X16677331)

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

Kazuhide Ito : Editorial, In silico human model for fluid-initiated indoor environmental design, Indoor and Built Environment, 2017; 26 (3) pp 295-297

Kazuki Kuga, Kazuhide Ito, Sung-Jun Yoo, Wenhao Chen, Ping Wang, Jiawen Liao, Jeff Fowles, Dennis Shusterman, Kazukiyo Kumagai, First- and second-hand smoke exposure assessment from e-cigarettes using integrated numerical analysis of CFD and a computer-simulated person with a respiratory tract model, Indoor and

- Built Environment, 2017, Accepted (DOI: 10.1177/1420326X17694476)
- 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
- Alicia Murga, Sung-Jun Yoo and Kazuhide Ito : A Multi-scale Exposure Concentration Analysis in A Large Factory Space Using A Computational Fluid Dynamics Technique: *Healthy Buildings America 2015*, pp543-546
- Wenhao Chen, Ping Wang, Toshiki Matsuo, Kazuhide Ito, Jeff Fowles, Kazukiyo Kumagai : Exposure Assessment to e-Cigarettes, : Part 1 Literature Review on Carbonyl Compounds Generation from E-cigarettes and Affecting Factors : *Healthy Buildings America 2015*, pp456-459
- Wenhao Chen, Ping Wang, Toshiki Matsuo, Kazuhide Ito, Jeff Fowles, Kazukiyo Kumagai : Exposure Assessment to e-Cigarettes, : Part 2 A Pilot Lab Study on Formation of Volatile Carbonyls from Propylene Glycol – a Major E-cigarette Carrier Solvent : *Healthy Buildings America 2015*, 460-463
- Kazuhide Ito, Masato Yamashita, Sung-Jun Yoo, Toshiki Matsuo, Wenhao Chen, Ping Wang, Jeff Fowles, Kazukiyo Kumagai : Exposure Assessment to e-Cigarettes, : Part 3 Preliminary Numerical Prediction of Contaminant Distributions in Human Respiratory Tract Models : *Healthy Buildings America 2015*, pp464-469
- Sung-Jun Yoo and Kazuhide Ito, Numerical Prediction of Airway Tissue Dosimetry using PBPK-CFD Hybrid Model integrated into Computer Simulated Person, *Indoor Air 2016*, The 14th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, Belgium, Paper ID:697
- Kazuki Kuga, Toshiki Matsuo, Sung-Jun Yoo, Kazuhide Ito, Wenhao Chen, Ping Wang, Jiawen Liao, Jeff Fowles, Dennis Shusterman, Kazukiyo Kumagai, Numerical Prediction of Contaminant Distributions in Human

- Respiratory Tract for Exposure Assessment to E-Cigarettes, Indoor Air 2016, The 14th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, Belgium, Paper ID:748
- Yusuke Sano, Alicia Murga, Yoichi Kawamoto, Kazuhide Ito, Dynamic downscaling analysis of air quality from urban to human scale: Part 1 Integration of WRF and CFD to predict wind pressure coefficient distribution, Indoor Air 2016, The 14th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, Belgium, Paper ID:722
- Alicia Murga, Yusuke Sano, Yoichi Kawamoto, Kazuhide Ito, Dynamic downscaling analysis of air quality from urban to human scale: Part 2 Exposure concentration analysis in a Large Factory Space, Indoor Air 2016, The 14th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, Belgium, Paper ID:721
- Koki Mitsumune, Kazuki Kuga, Sung-Jun Yoo and Kazuhide Ito, Computational modeling of airflows and gas-phase contaminant dispersion in the respiratory tracts of dog, monkey, and humans, IAQVEC 2016, South Korea, Paper ID:1274
- Sung-Jun Yoo and Kazuhide Ito, PBPK-CSP-CFD Hybrid Analysis for Estimating Indoor Air Quality and Airway Tissue Dosimetry, IAQVEC 2016, South Korea, Paper ID:1313
- Ji-Woong Kim, Kazuki Kuga, Shin-ichiro Aramaki, Nguyen Lu Phuong, and Kazuhide Ito, Flow Visualization in a Realistic Replica a Model of Monkey Respiratory Tract using Particle Image Velocimetry, IAQVEC 2016, South Korea, Paper ID:1484
- 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)

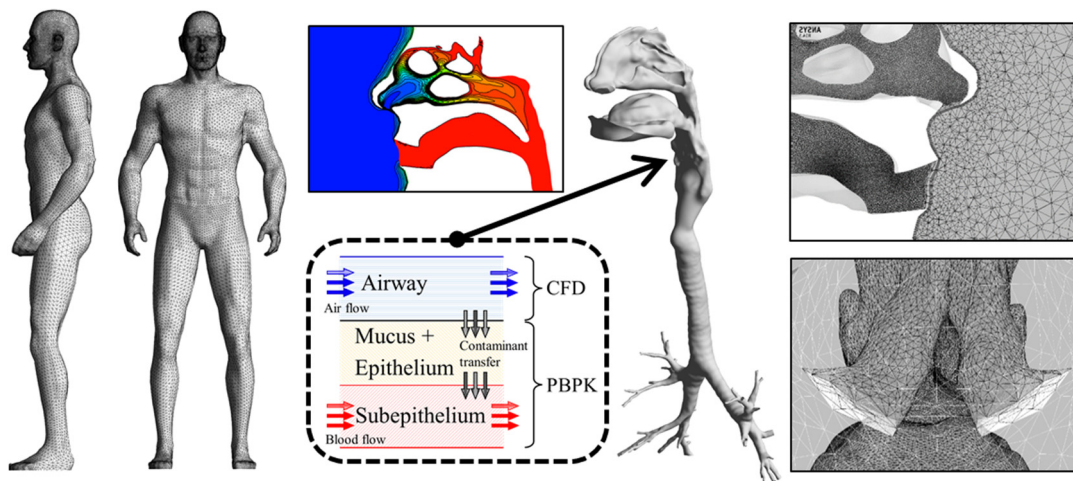


図1 PBPK-CFD-CSP 連成解析モデルの概要

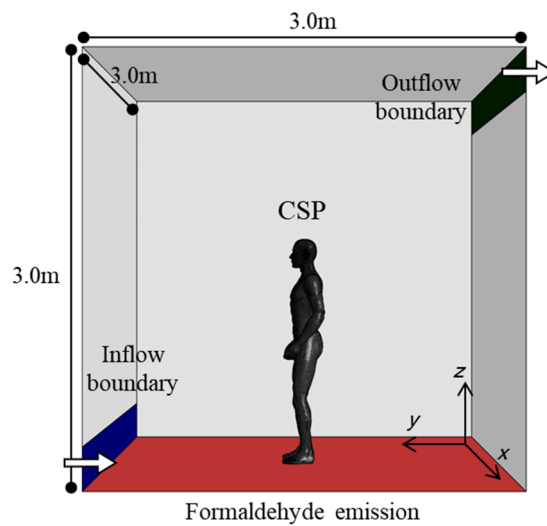
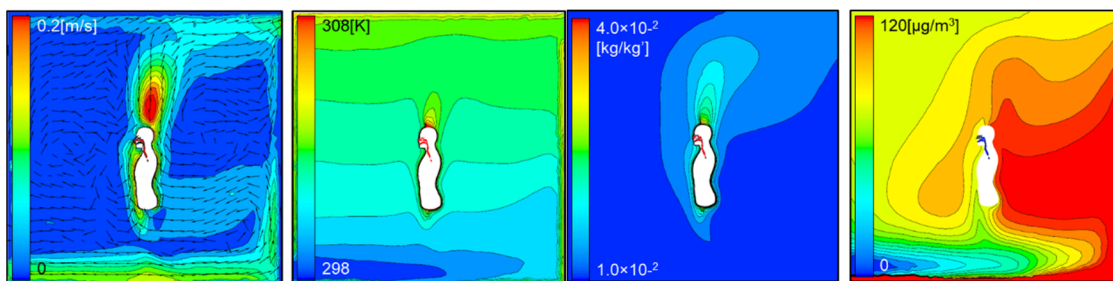
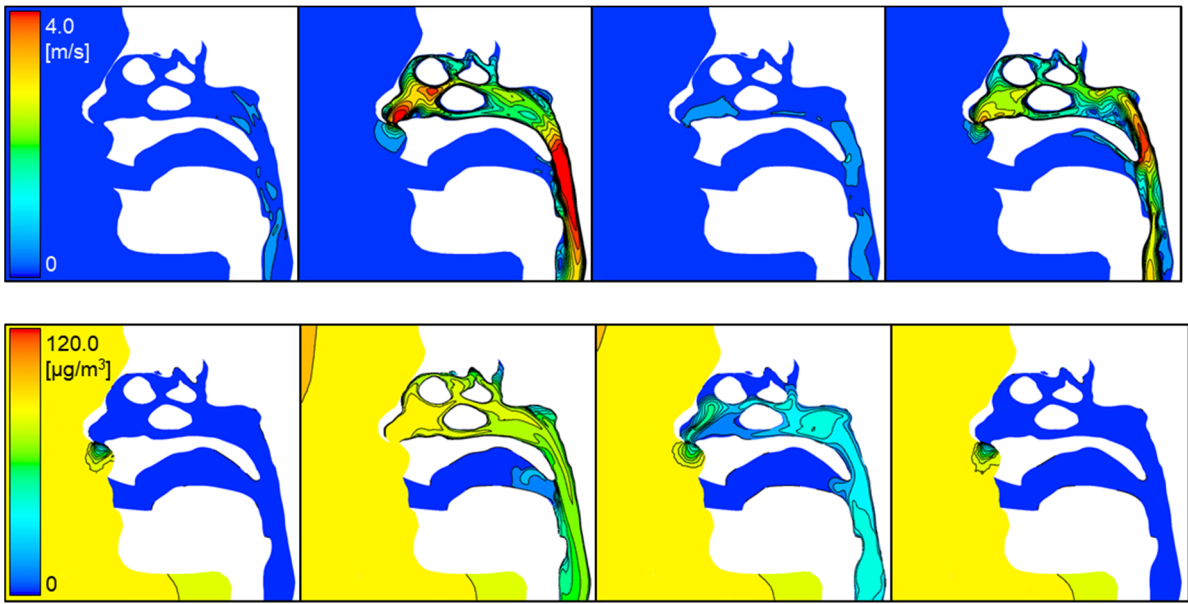


図2 解析対象空間の概要



(a) Scalar velocity (b) Temperature (c) Absolute humidity (d) Formaldehyde concentration

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)

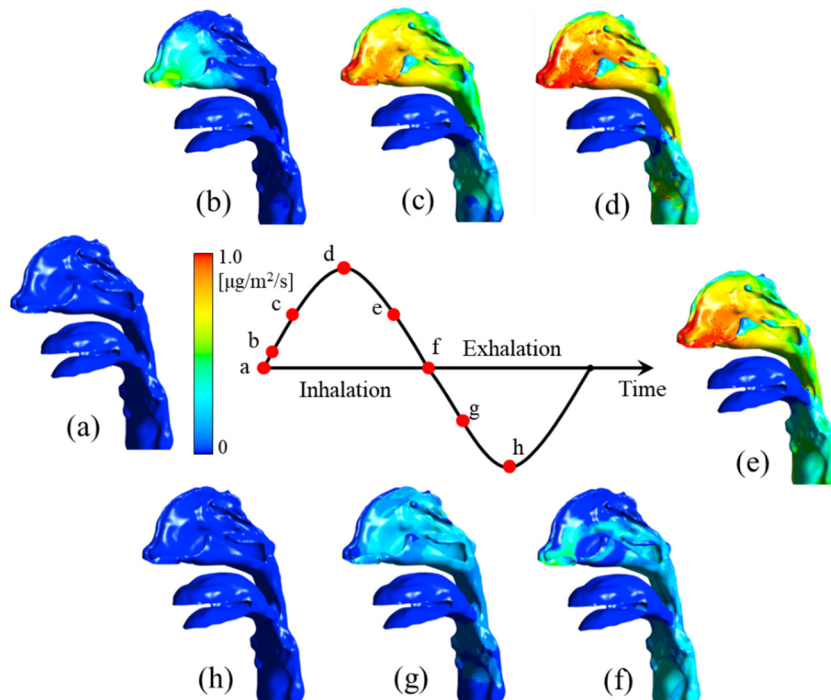


図5 上気道内の粘膜上皮に対するホルムアルデヒド吸着フラックスの時間変化

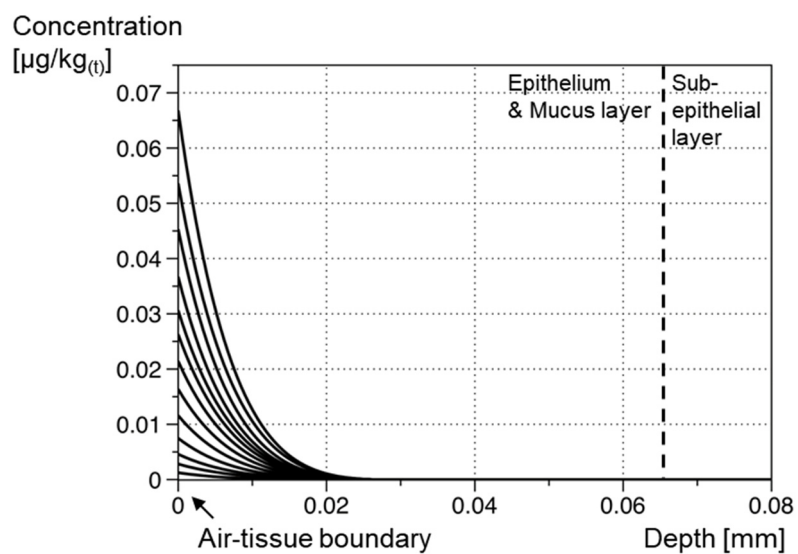


図 6 鼻腔内粘膜上皮・粘膜下組織を対象とした PBPK 非定常解析結果の一例

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) チャン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、既に研究代表者らが評価系を確立したヒト TRPV1 およびヒト TRPA1 に加え、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 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った。さらに、生活環境化学物質による侵害刺激の種差を明らかにする目的で、マウス TRPA1 アッセイ系についても開発を行った。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 (Texanol<sup>TM</sup>, TMPD-MIB と略す) および 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (TXIB<sup>TM</sup>, TMPD-DIB と略す) の 3 物質をはじめ、化粧品や家庭用品に使用される (-)-Menthol や、香料アレルゲン、タバコアルカロイド等生活環境中の化学物質に関して本研究で確立したイオンチャンネル活性化を指標として気道刺激性の種差を明かにするとともに、それらの複合曝露の影響についても検討した。さらに、複合曝露時の相乗効果のメカニズムについても検討を加えた。その結果、ある種の化学物質については、その気道刺激性にヒトとマウスで種差があること、複数の環境化学物質の複合曝露によって気道刺激が相乗的に増強されることが判明した。気道刺激性などに関する安全性評価を行う際には侵害受容チャンネルの種差や、複合曝露の影響を十分に考慮する必要性が示された。

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

A. 研究目的

TRP (Transient Receptor Potential) チャンネ

ルは 6 回膜貫通型の非選択的 Cation チャンネルで、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 チャン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 チャンネルを活性化することを明らかにしてきた<sup>1,2)</sup>。初年度の研究においては、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) アッセイ系も開発した<sup>3)</sup>。

2 年目の研究では、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。

最終年度においては、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 (Texanol<sup>TM</sup>, TMPD-MIB と略す) および 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (TXIB<sup>TM</sup>, TMPD-DIB と略す) 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  $3.5 \times 10^5$  cells/mL の細胞濃度で播種した。翌日に培地を除去して FLIPR Calcium 6 試薬溶液に置換し、37°C で 2 時間培養したのちに、分注機能付きマイクロプレートリーダー FlexStation3 を用いて下記の測定条件で被検物質曝露による Flp-In 293/hTRPA1 細胞の細胞内 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 Immunoprecipitation 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® TGX™ 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 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 抗体で免疫沈降し、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. hTRPM8 を活性化する室内環境化学物質のハイスループットスクリーニング系の確立と評価

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ンネルとして TRPV1 および TRPA1 の他に TRPM8 が同定されていることから、本研究ではまずヒト前立腺 cDNA からクローニングした TRPM8 を安定的に発現する Flp-In 293 細胞株を新たに樹立した。

共通検討対象物質である TMPD-DIB、TMPD-MIB および 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol について hTRPM8 に対する Agonist 作用を検討した結果、これらの化合物にはいずれも活性化能は認められなかった (data not shown)。

### C-2. mTRPA1 を活性化する室内環境化学物質のハイスループットスクリーニング系の確立と評価

TRP Superfamily の中で、TRPA1 はヒトとげっ歯類の間のホモロジーが比較的 low (80%程度)、Menthol のように Agonist 作用に種差が認められる化合物が報告されている。室内環境化学物質による TRPA1 活性化の種差を明らかにするために、従来 Assay に用いてきた hTRPA1 と比較可能な mTRPA1 安定発現細胞を樹立し、典型的な TRPA1 Agonist である Cinnamic Aldehyde、ならびに hTRPM8 の Agonist であり、かつ hTRPA1 を活性化することが知られている Menthol を Positive Control として、両化合物による hTRPA1 と mTRPA1 の活性化を比較、検証した。その結果、図 1A に示すように、Cinnamic Aldehyde では、hTRPA1 と mTRPA1 でほぼ同一の濃度-反応曲線が得られ、EC50 値にもほとんど差異は認められなかった (それぞれ 23  $\mu$ M、17  $\mu$ M)。

### C-3. 2-Ethyl-1-hexanol、TMPD-MIB および TMPD-DIB による TRPA1 活性化の種差

研究班共通検討対象物質に選定した 2-Ethyl-1-hexanol、TMPD-MIB および TMPD-DIB とその代謝物 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol による TRPA1 活性化の種差を検討した。評価化合物の構造式を図 2 に、評価結果を図 3 に示す。2-Ethyl-1-hexanol は、hTRPA1 および mTRPA1 のいずれのチャンネルに対しても濃度依存的な活性化を引き起こし、その EC50 濃度に顕著な差は認められなかった (ヒト TRPA1; 150  $\mu$ M、マウス TRPA1; 188  $\mu$ M)。一方、TMPD-MIB は、ヒト TRPA1 に対して濃度依存的な活性化を引

き起こし、典型的な Sigmoid 型の濃度反応曲線を示したのに対し (EC50; 173 $\mu$ M)、mTRPA1 では、250  $\mu$ M を超える濃度範囲で活性が阻害されるベル型の挙動を示した。

室内環境中で高頻度に検出される TMPD-DIB に関しては、本研究条件では hTRPA1 および mTRPA1 に対する活性化作用は認められなかった (data not shown)。しかし、TMPD-DIB の加水分解代謝物である TMPD-MIB が hTRPA1 に対する活性化作用を有することから、生体内に取り込まれた TMPD-DIB がカルボキシルエステラーゼによって加水分解を受けたのちに hTRPA1 の活性化を引き起こす可能性もある。

本研究班では分担研究者である埴岡らが TMPD-MIB からヒトカルボキシルエステラーゼによる加水分解によって 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol が生じることを見出している。TMPD-MIB の代謝物である 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol は、ヒトおよびマウスいずれの TRPA1 に対しても活性化作用は認められなかった (data not shown)。このことから、ヒトカルボキシルエステラーゼが TMPD-MIB の解毒代謝に重要な役割を果たしていると考えられる。

#### C-4. タバコアルカロイドによる TRPA1 活性化の種差

タバコ葉に含まれる Nicotine 類縁体 (図 4) がヒトおよび mTRPA1 に及ぼす影響について検討を行った。その結果、Nicotine の他に、Nornicotine、Anabasin および Anatabin はいずれも濃度依存的に hTRPA1 および mTRPA1 発現細胞株の細胞内カルシウム濃度を増加させた (図 5)。ただし、Anabasin

および Anatabin では、TRPA1 を異所的に発現していない Flp-In 293 細胞でも顕著な細胞内カルシウム濃度の増加が認められたことから、TRP チャネル非依存的な機序も無視できない。

一方、Nicotine の酸化代謝物である Cotinine (図 4) について TRPA1 に対する影響を検討した結果、mTRPA1 では濃度依存的な活性化が認められるのに対し、hTRPA1 では細胞内カルシウム濃度の増加は観察されなかった (図 6)。

喫煙は気管支炎、肺炎や COPD (慢性閉塞性肺疾患) などの呼吸器系肺疾患の原因となることが知られている。その発症メカニズムとして、チャネルの関与が示唆されている。特に、COPD の発症には気管支や肺の感覚神経 C 線維に発現する TRPA1 が関与することが報告されている。タバコ煙の成分の中で、NNN (N'-Nitrosornicotine)、NNK (4-(Methyl-nitrosoamino)-1-(3-pyridinyl)-1-butanone)、Formaldehyde や Acrolein などの化合物が COPD の発症に関与していると考えられており、実際に Formaldehyde や Acrolein が TRPA1 の活性化を引き起こすことが明らかにされている。一方、タバコの主要成分である Nicotine にも弱い TRPA1 活性化能が報告されているものの、Nicotine 以外のアルカロイド類の影響については明らかにされていなかった。本研究ではタバコアルカロイド 4 化合物の TRPA1 に対する影響を検討した結果、文献既知の Nicotine に加え、Nornicotine もヒトおよびマウス TRPA1 を濃度依存的に活性化することが明らかとなった。さらに、Nicotine 代謝物 Cotinine による TRPA1 活性化にはヒトとマウスの間に顕著な差異が認められ、mTRPA1 のみが活性化



されることが明らかとなった。本研究の結果から、タバコアルカロイドによる侵害刺激を評価する際には、代謝物の影響、ならびに種差の存在を考慮する必要があると考えられる。

#### C-5. テルペン類による TRPA1 活性化の種差

単環式モノテルペン類である (-)-Menthol および  $\alpha$ -Terpineol、非環式モノテルペン類である (-)-Citronellal および Linalool (図 7) について評価した。(-)-Menthol では、hTRPA1 が典型的な Sigmoid 型の濃度反応曲線を示したのに対し、mTRPA1 の場合は、細胞内カルシウム濃度の最高値と比較すると、hTRPA1 の 1/2 ないし 1/3 程度で、100  $\mu$ M を超える濃度範囲で活性が阻害されるベル型の挙動を示した (図 8)。3 種類のテルペン類、 $\alpha$ -Terpineol、(-)-Citronellal および Linalool はいずれも hTRPA1 および mTRPA1 の両者を濃度依存的に活性化したが、(-)-Citronellal では EC50 値に 3 倍程度の差異が認められ、(-)-Citronellal に対する感受性には種差が存在することが明らかになった。

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

価を行う際には侵害受容チャネルの種差を十分に考慮する必要があると考えられる。

#### C-6. 香料アレルゲンによる TRPA1 活性化

香料成分として欧州連合の化粧品指令でアレルギー物質としてラベル表示を義務付けられた物質を対象として、TRP イオンチャネル活性化について検討を行った。植物エキス等を除く 18 物質 (図 9)のうち、Benzyl cinnamate については、試薬調製の段階で結晶の析出が認められたため、評価対象外とした。終濃度 1000  $\mu$ M を最高濃度として細胞内カルシウム濃度の増加を指標として hTRPA1 チャネルの活性化を評価した結果、今回評価可能であった 17 物質中 9 物質が濃度依存的に TRPA1 の活性化を引き起こすことが明らかとなった (図 10)。なかでも、2-(4-tert-Butylbenzyl) propionaldehyde による TRPA1 活性化の EC50 値は 33  $\mu$ M であり、この数値は典型的な TRPA1 活性化物質で、本研究において陽性対照物質として評価した trans-Cinnamaldehyde に匹敵することが明らかとなった。本研究で、TRPA1 の活性化を引き起こすことが判明した香料について作用の強さを EC50 値で比較した結果、2-(4-tert-Butylbenzyl) propionaldehyde に次いで、Isoeugenol (EC50; 103  $\mu$ M)、Citral (EC50; 118  $\mu$ M)、b-Citronellol (EC50; 191  $\mu$ M)、Eugenol (EC50; 216  $\mu$ M)、Hydroxy-citronellal (EC50; 308  $\mu$ M)、Geraniol (EC50; 327  $\mu$ M)、Coumarin (EC50; 445  $\mu$ M)、Cinnamyl alcohol (EC50; 値は本試験条件下では算定不可)の順であった。なお、今回の実験条件では TRPV1 の活性化は認められなかった (data not shown)。

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

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

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

そこで本研究では、香料成分としてラベル表示を義務付けられている物質を対象として、TRP イオンチャネル活性化について検討を行った結果、17 物質中 9 物質が濃度依存的にヒト TRPA1 の活性化を引き起こすこと、さらに、複合曝露されることによりその作用が増強されることが判明した。以上

の結果より、これら香料アレルゲンが TRPA1 の活性化を介して気道過敏の亢進を引き起こす可能性を示唆しており、シックハウス症候群の発症メカニズムを明らかにする上でも極めて重要な情報であると考えられる。

#### C-7. 消毒副生成物・ハロアセトアミドによる TRPA1 活性化

Chloroacetamide をはじめとするハロアセトアミド類 9 物質 (図 12) についてヒト TPRA1 及び TRPV1 に対する活性化を評価した。その結果、TRPV1 の活性化は認められなかったが (data not shown)、Bromoacetamide、Tribromoacetamide、Dibromochloroacetamide が濃度依存的に TPRA1 を活性化することが明らかになり、その EC50 値はそれぞれ 41  $\mu$ M、107  $\mu$ M、246  $\mu$ M であった (図 13)。

塩素による消毒は水道水のみならず公衆浴場や遊泳プール等において広範に用いられているが、その過程で生ずる消毒副生成物の中には発がん性や皮膚・粘膜刺激性等が指摘されているものもある。また、屋内プールでの遊泳と喘息の発症リスクとの因果関係を指摘する報告もあり、消毒副生成物がこれら疾病の発症や増悪に重要な役割を果たしている可能性も考えられる。本研究では、トリハロメタン類やハロ酢酸類に比べて毒性が強いハロゲン化含窒素消毒副生成物・ハロアセトアミド類が気道過敏性の亢進にも深く関与する TRPA1 を活性化することが明らかになった。塩素消毒によって生じる副生成物によって TRPA1 を介した感覚神経あるいは気道の刺激が引き起こされ

る可能性を示唆するものであると考えられる。

#### C-8. 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 14 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 14)、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 (図 15)。

#### C-9. Cinnamaldehyde 前処理による (-)-Menthol の hTRPA1 活性化増強

(-)-Menthol の hTRPA1 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 hTRPA1 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 16)。

#### C-10. 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、この活性化に関与する 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<sup>5)</sup>、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<sup>6)</sup>が TRPA1 の活性化を増強させる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  $\mu$ M, 31.2  $\mu$ M) で処理しても、今回の実験条件下では、ヒト TRPA1 タンパク質のリン酸化の亢進は認められなかった (図 17)。

一方、Cinnamaldehyde (15.6  $\mu$ M, 31.2  $\mu$ M) で処理した Flp-In 293/hTRPA1 細胞の hole 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的位置にシグナルが検出された (図 18)。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示された。

#### 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 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った。さらに、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、mTRPA1 アッセイ系も確立した。確立したアッセイ系を用いて、生活環境化学物質による TRP イオンチャネルの活性化とその種差、ならびに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、室内に存在する多種化学物質がイオンチャネルの活性化を介して気道刺激を引き起こす可能性を示した。さらに、ある種の化学物質については、その気道刺激性にヒトとマウスで種差があること、複数の環境化学物質の複合曝露によって気道刺激が相乗的に増強されることが判明した。気道刺激性などに関する安全性評価を行う際には侵害受容チャネルの種差や、複合曝露の影響を十分に考慮する必要性が示された。

#### 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. 柔軟剤のにおいに関する情報提供、独立行政法人国民生活センター 報道資料、平成 25 年 9 月 19 日
5. 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).
6. Hasan R, Leeson-Payne ATS, Jaggar JH, Zhang X: Calmodulin is responsible for Ca<sup>2+</sup>-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

1. Takeuchi S., Tanaka-Kagawa T., Saito I., Kojima H., Jin K., Satoh M., Kobayashi S., Jinno H.: Differential determination of plasticizers and organophosphorus flame retardants in residential indoor air in Japan. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2015, Jun 24. doi:10.1007/s11356-015-4858-z
2. Ephedra Herb extract activates/desensitizes transient receptor potential vanilloid 1 and reduces capsaicin-induced pain. Nakamori S, Takahashi J, Hyuga S, Tanaka-Kagawa T, Jinno H, Hyuga M, Hakamatsuka T, Odaguchi H, Goda Y, Hanawa T, Kobayashi Y. *J Nat Med*. 2017 Jan;71(1):105-113. doi: 10.1007/s11418-016-1034-9. Epub 2016 Sep 8.

##### 学会発表

1. 河上 強志, 伊佐間 和郎, 香川(田中) 聡

- 子, 神野 透人: 家庭用水性スプレー製品中のグリコール類及びグリコールエーテル類等の分析, 24 回環境化学討論会, 2015 年 6 月
2. Jinno H, Tanaka-Kagawa T: Revision of the Indoor Air Quality Guidelines in Japan: Consumer Products as Sources of Air Pollution in Indoor Environment. AsiaTox 2015, 2015 年 6 月
  3. 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 神野 透人: 生活環境化学物質による TRP イオンチャンネルの活性化, 第 42 回日本毒性学会学術年会, 2015 年 6 月
  4. 田原 麻衣子, 真弓 加織, 五十嵐 良明, 埴岡 伸光, 香川(田中) 聡子, 神野 透人: COSMO-RS 法による空気-鼻粘液分配係数の予測, 第 42 回日本毒性学会学術年会, 2015 年 6 月
  5. 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 神野 透人: 金属化合物によるヒト侵害刺激受容 TRP イオンチャンネルの活性化, メタルバイオサイエンス研究会 2015, 2015 年 8 月
  6. 香川(田中) 聡子, 田原 麻衣子, 上村 仁, 斎藤 育江, 武内 伸治, 神野 透人: 室内環境中の粒子状物質の日内変動とその組成に関する研究, フォーラム 2015 衛生薬学・環境トキシコロジー, 2015 年 9 月
  7. 河上 強志, 伊佐間 和郎, 香川(田中) 聡子, 神野 透人: 家庭用芳香剤などのスプレー製品に含まれるグリコールエーテル等の実態調査, 第 52 回全国衛生化学技術協議会年会, 2015 年 12 月
  8. 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 埴岡 伸光, 神野 透人: 香料アレルゲンによるヒト侵害受容器 TRPA1 の活性化, 第 43 回日本毒性学会学術年会, 名古屋, 2016 年 6 月
  9. 野中 志保, 戸邊 隆夫, 青木 明, 岡本 誉士典, 植田 康次, 大河原 晋, 埴岡 伸光, 香川(田中) 聡子, 神野 透人: タバコアルカロイドによる侵害受容チャンネルの活性化, 第 62 回 日本薬学会東海支部大会, 名古屋, 2016 年 7 月
  10. 浅井 理香, 戸邊 隆夫, 青木 明, 岡本 誉士典, 植田 康次, 大河原 晋, 埴岡 伸光, 香川(田中) 聡子, 神野 透人: テルペン類による侵害受容体 TRPA1 の活性化: ヒトおよびマウスの種差, フォーラム 2016 衛生薬学・環境トキシコロジー, 東京, 2016 年 12 月
  11. 神野 透人, 浅井 理香, 野中 志保, 戸邊 隆夫, 青木 明, 岡本 誉士典, 植田 康次, 大河原 晋, 磯部 隆史, 埴岡 伸光, 香川(田中) 聡子: タバコ煙による侵害刺激受容体活性化の種差に関する研究, 平成 28 年室内環境学会学術大会, つくば, 2016 年 12 月
  12. 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 磯部 隆史, 埴岡 伸光, 神野 透人: 香料アレルゲンによる気道刺激に関する研究, 平成 28 年室内環境学会学術大会, つくば, 2016 年 12 月
  13. 香川(田中) 聡子, 大河原 晋, 磯部 隆史, 埴岡 伸光, 神野 透人: 消毒副生成物・ハロアセトアミドによるヒト侵害受容器 TRPA1 の活性化, 日本薬学会第 137 年会, 仙台, 2016 年 3 月
  14. 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
15. 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
16. 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
17. 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
18. 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

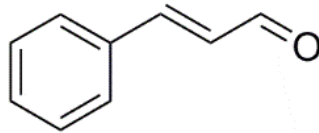
なし

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



*trans*-Cinnamaldehyde

CAS# 14371-10-9

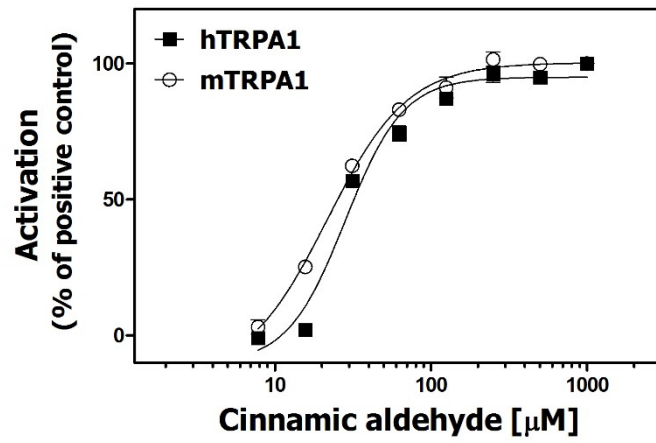
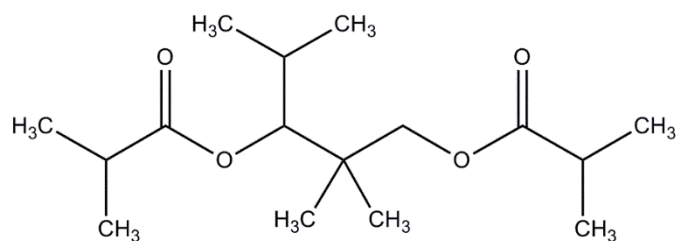
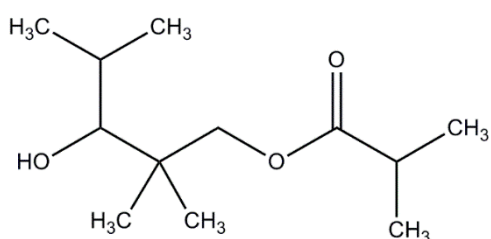


図1 Cinnamic Aldehyde による hTRPA1 および mTRPA1 の活性化



TMPD-DIB; 2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate

CAS# 6846-50-0

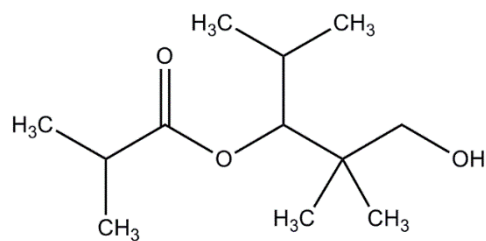


3-Hydroxy-2,2,4-trimethylpentyl

Isobutyrate

TMPD-MIB(60%)

CAS# 74367-34-3

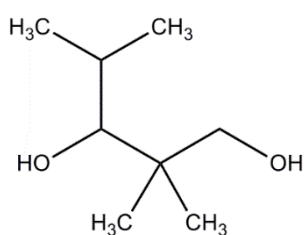


2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol 3-

Monoisobutyrate

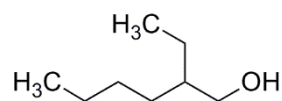
TMPD-MIB(40%)

CAS# 25265-77-4



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

CAS# 144-19-4



2-Ethyl-1-hexanol

CAS# 104-76-7

図2 研究班共通検討対象物質



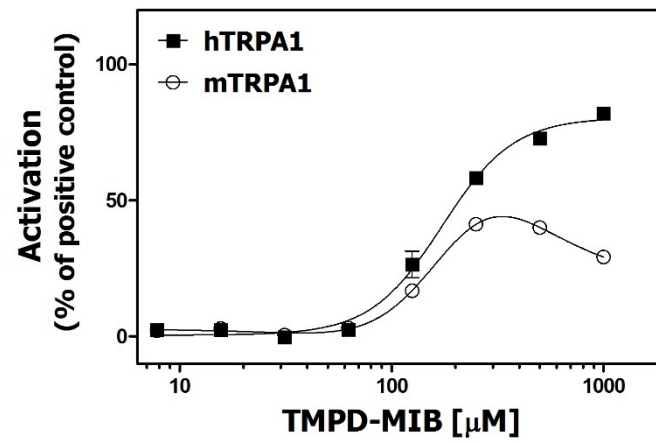
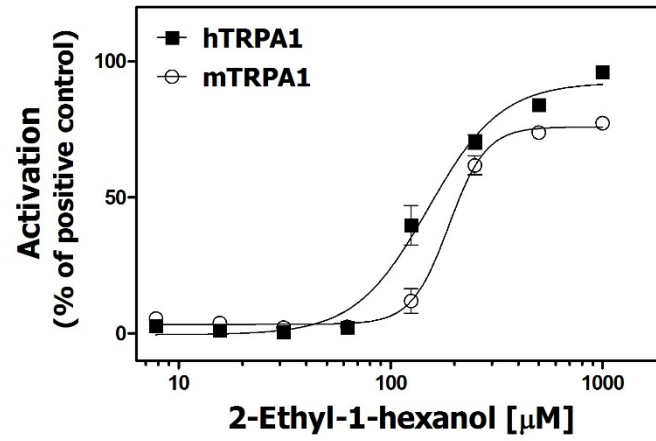


図3 2-Ethyl-1-hexanol および TMPD-MIB による TRPA1 活性化の種差

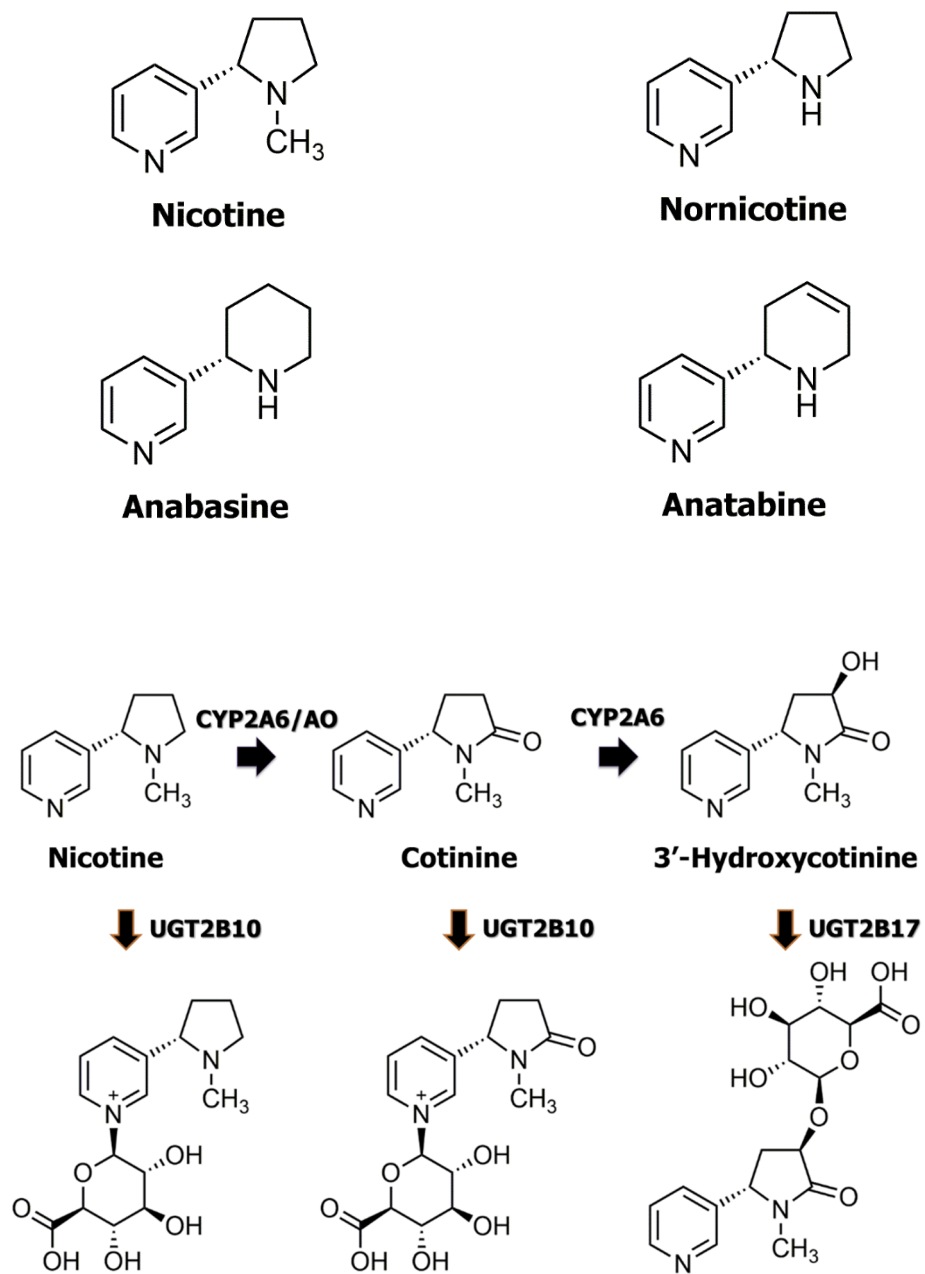


図4 本研究で評価したタバコアルカロイドとその代謝

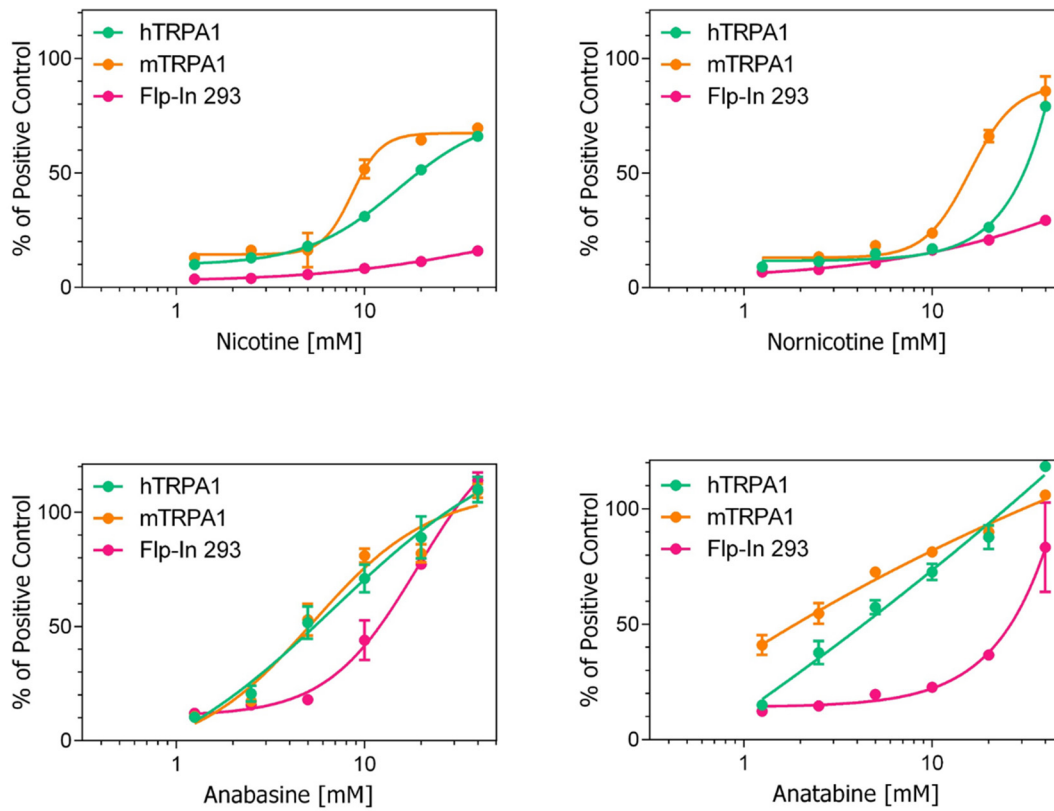


図5 タバコアルカロイドによる TRPA1 活性化の種差

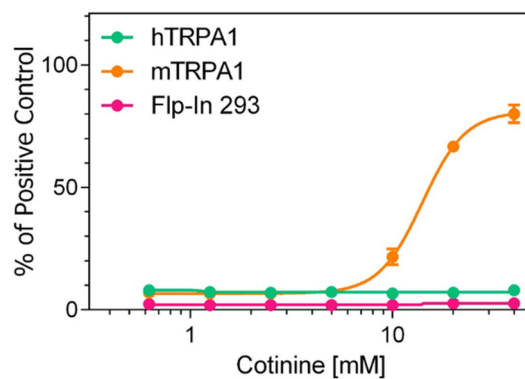


図6 ニコチン代謝物・コチニンによる TRPA1 活性化の種差

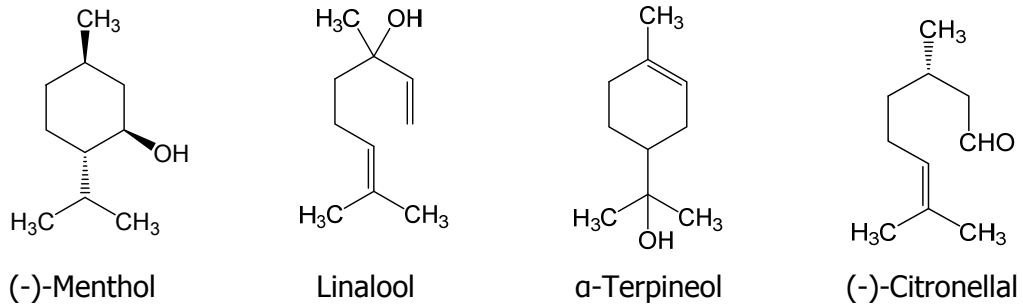


図7 本研究で評価したテルペン類の構造式

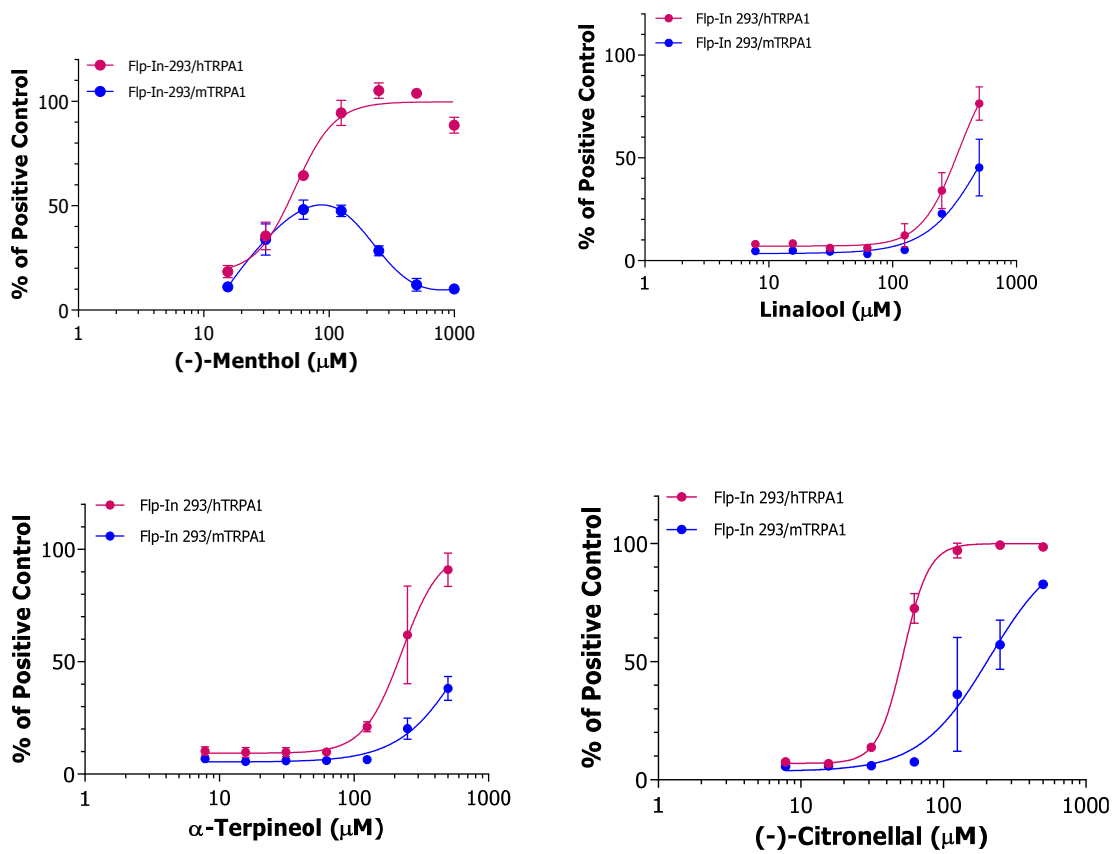


図8 テルペン類による TRPA1 活性化の種差

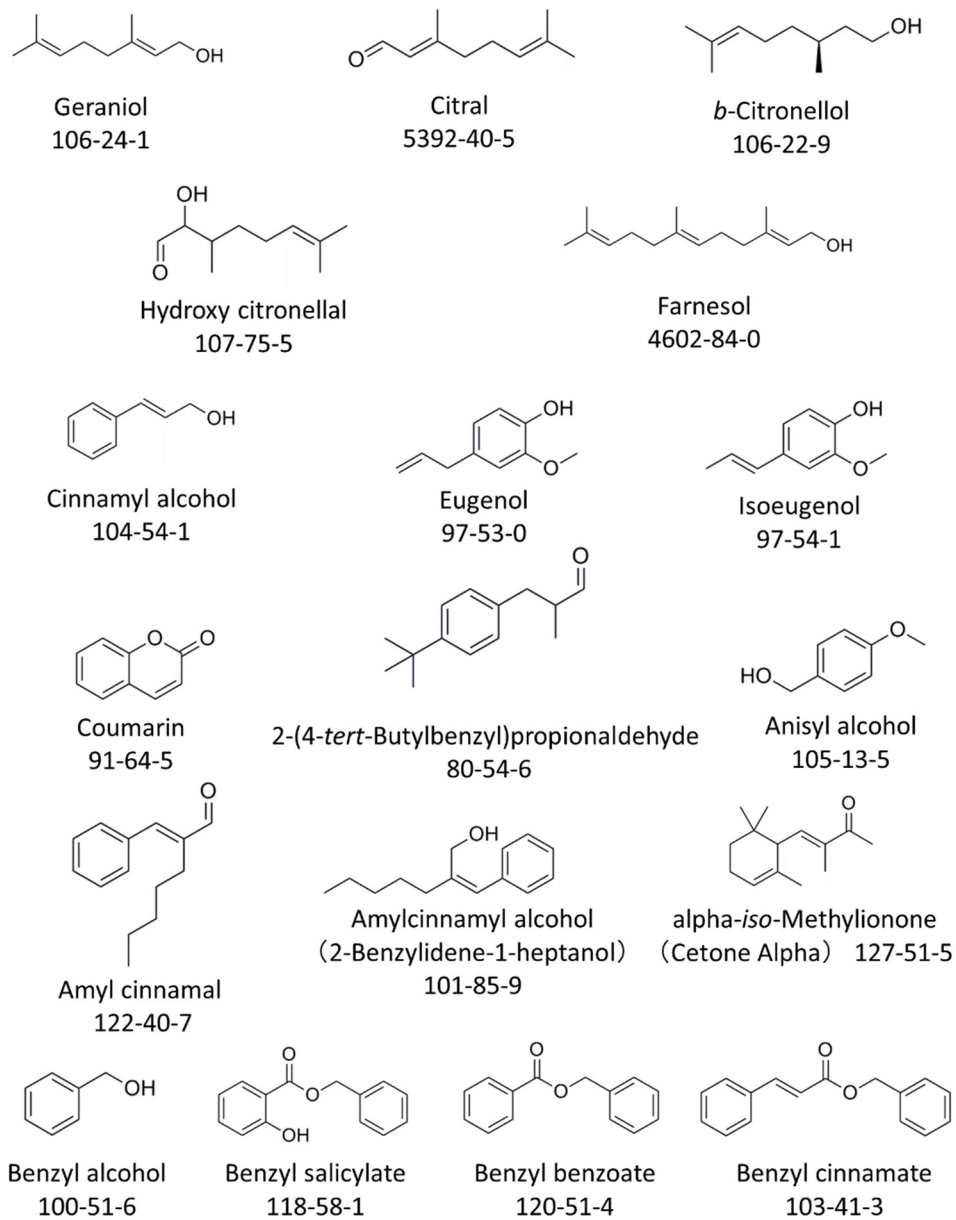


図9 本研究で評価した香料アレルゲン（数字は CAS No.）

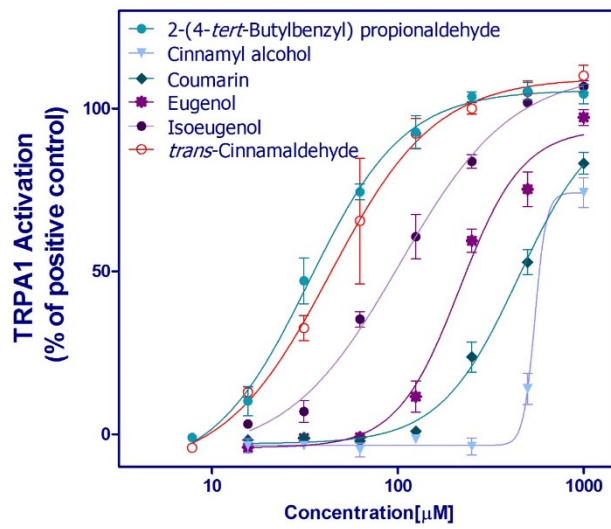
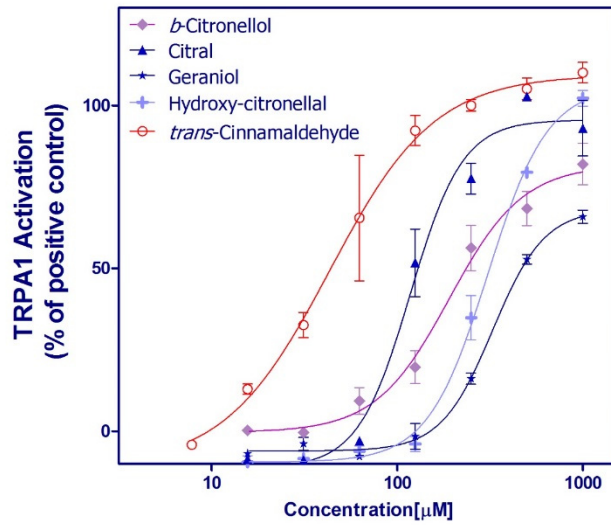


図 10 香料アレルゲンによるヒト TRPA1 活性化

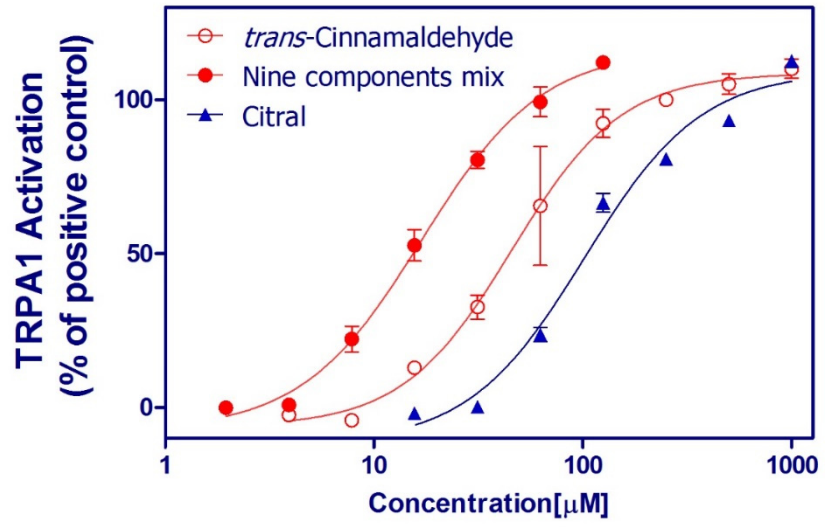


図 11 香料アレルゲン複合曝露によるヒト TRPA1 活性化の相乗効果

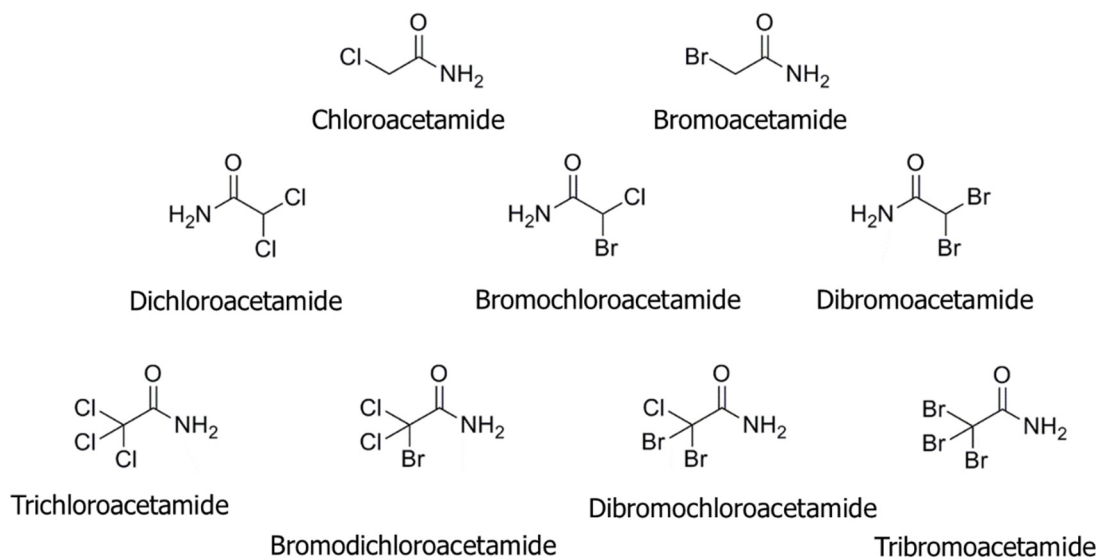


図 12 本研究で評価した消毒副生成物 ハアロアセトアミド



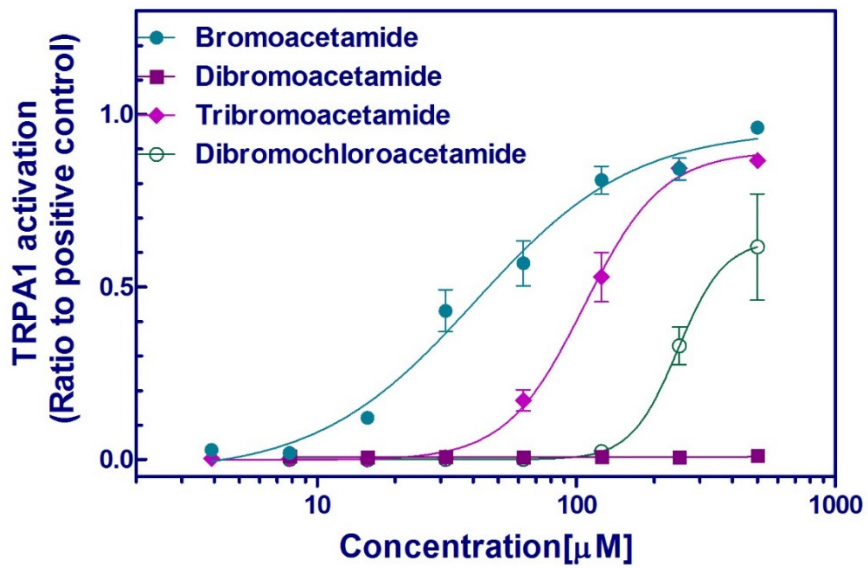
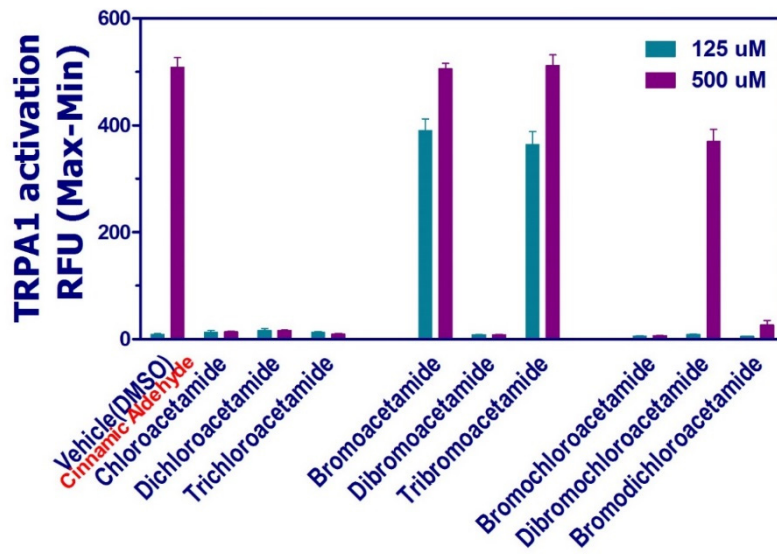


図 13 消毒副生成物・ハロアセトアミドによるヒト TRPA1 活性化

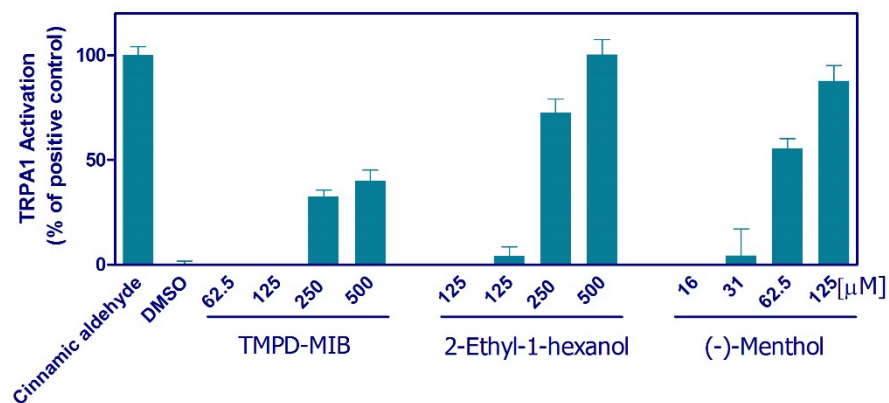


図 14 TMPD-MIB および 2-Ethyl-1-hexanol によるヒト TRPA1 の活性化

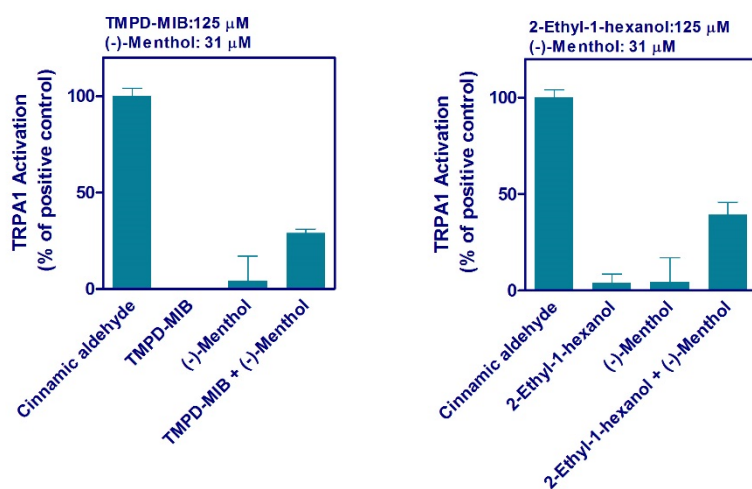


図 15 TMPD-MIB および 2-Ethyl-1-hexanol によるヒト TRPA1 の活性化における (-) - Menthol による増強

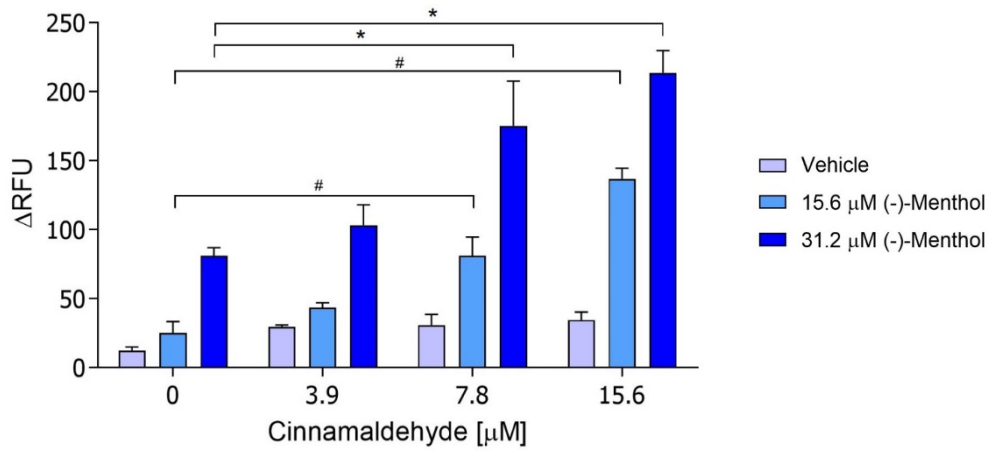


図 16 (-) - Menthol によるヒト TRPA1 の活性化における  
 Cinnamaldehyde 前処理の影響  
 (#, \* ;  $p < 0.001$ )

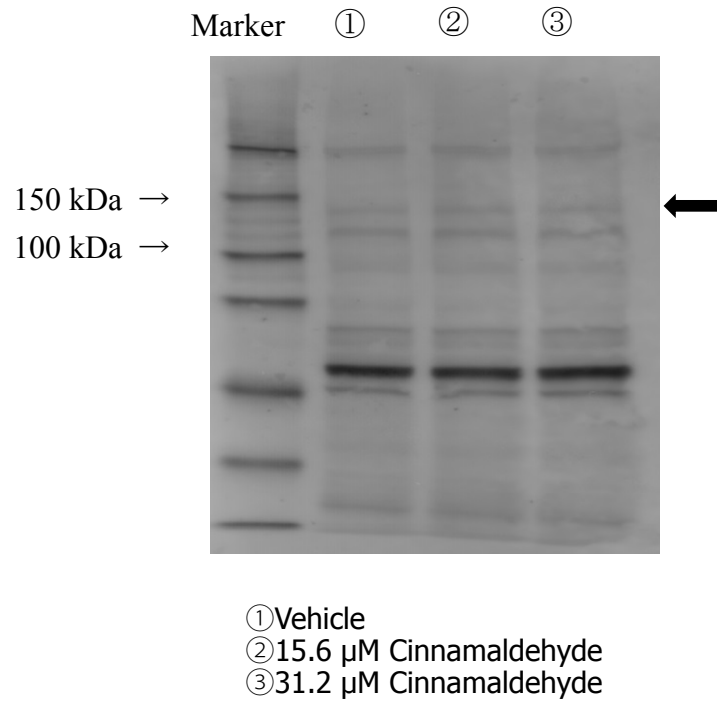


図 17 ヒト TRPA1 のリン酸化におよぼす Cinnamaldehyde の影響

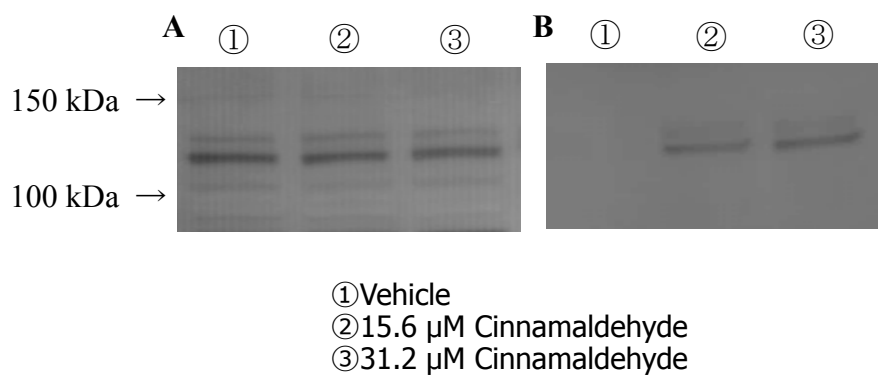


図 18 Cinnamaldehyde によるヒト TRPA1 への Calmodulin の結合

(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  
研究協力者 伊佐間和郎 帝京平成大学薬学部 教授

本研究では、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、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 82 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、81 化合物で感作性評価が可能であり、25 化合物が陽性と分類された。室内空気汚染実態全国調査で高頻度、高濃度で検出が報告されているグリコール類や可塑剤類については全て陰性であったが、香料や建材等に由来すると考えられる hexanal 及び nonanal が陽性と分類された。また、臨床において接触皮膚炎が報告されている化合物や、動物試験で弱い感作性が報告されているいくつかの化合物が陰性に分類された。これは、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ためと考えられた。Lys/Cys は気道感作性を評価する上で指標の一つとして考えられているが、本研究で陽性と分類された化合物間で Lys-peptide への結合性には違いが認められた。今後、本研究で陽性と分類された化合物について、複数の毒性試験や疫学調査等により総合的な評価を行う必要がある。その過程において、本研究で得られた Lys/Cys 値は、気道感作性評価を実施していく化合物の優先順位付けに利用できるものと思われる。

A. 研究目的

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

針値が策定されてから 10 年程度過ぎ、代替溶剤等の使用や準揮発性有機化合物（Semi volatile organic compound: SVOC）による室内環境汚染が懸念されるようになってきている。このような背景から、2012 年からシックハウス（室内空気汚染）問題に関する検討会（シックハウス検討会）が開催され、室内濃度指針値の見

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

化学物質の感作性については、皮膚感作性と気道感作性とがある。前者はIV型アレルギー(遅延型アレルギー)であり、*in vitro* 及び *in vivo* のどちらでも多くの試験法が確立している<sup>4)</sup>。一方、後者は主にI型アレルギー(瞬時型アレルギー)である。産業衛生学会では、気道感作性物質はアレルギー性呼吸器疾患(鼻炎、喘息、過

敏性肺臓炎、好酸球性肺炎等、アレルギーの関与が考えられる疾患)を誘発する物質と定義付けており、人間に対して明らかに感作性がある物質(第1群)、人間に対しておそらく感作性があると考えられる物質(第2群)、動物試験などにより人間に対して感作性が懸念される物質(第3群)と分類し、それぞれに判断基準を示している<sup>5)</sup>。ただし、気道感作性については、*in vivo* 及び *in vitro* どちらの試験系においても確立された試験方法はこれまで報告されていない<sup>4,6)</sup>。そのため、気道感作性物質として確認されている化学物質数は非常に少ないのが現状である<sup>5)</sup>。

化学物質の感作性試験について、近年は動物愛護の観点から代替法が開発されており、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。皮膚感作法試験については、Fig. 1 に示したように、①化学物質とタンパク質との結合、②ケラチノサイトにおける炎症性応答及び遺伝子発現、③樹状細胞の活性化、④リンパ節におけるT細胞の活性化、といった各ステージに対応した試験法が開発されている<sup>7)</sup>。このうち、①の化学物質とタンパク質との結合について評価している **Direct peptide reactivity assay (DPRA)** は、Fig. 2 に示したシステイン含有ペプチド(Cys-peptide)またはリジン含有ペプチド(Lys-peptide)と被験物質とを混合し24時間反応させた後、未反応のペプチド量を測定し、そこから被験物質の反応性を分類する方法である。この方法は、Gerberick ら<sup>8)</sup>によって開発され、現在はOECDのテストガイドライン<sup>9)</sup>に採用されている(OECD

Guideline for the Testing of Chemicals TG 442C (In Chemico Skin Sensitization: Direct Peptide Reactivity Assay))。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、気道感作性を評価できる可能性が報告されている<sup>6,10)</sup>。

そこで本研究では、室内空気汚染実態全国調査等にて高頻度・高濃度で検出されている化学物質を中心に、DPRA による皮膚感作性及び気道感作性評価を実施した。具体的には、グリコール類、ポリ環状シロキサン類、香料類及び防腐剤類など計 82 化合物について試験を実施した。

## B. 研究方法

### B1. 試薬類

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

リン酸緩衝液は各 100 mmol/L に調製したリン酸二水素ナトリウム水溶液及びリン酸水素二ナトリウム水溶液を 18/82 (v/v) の割合で混合し、pH を  $7.5 \pm 0.05$  に調製したものを用いた。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  $\mu$ L に 200  $\mu$ L のアセトニトリル及び被験対象物質溶液 50  $\mu$ 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  $24 \pm 2$  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  $\mu$ L に 250  $\mu$ 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り

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 時間以内で終了した。

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 では被験物質とペプチドとの反応性評価は、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<sup>9)</sup>。この際、各ペプチドと被験物質との溶出時間の重なりを、Co-elution control にて確認する。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が出来る。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た。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<sup>9)</sup>。本研究では、試験に先立ち、この技能試験を実施した。

### 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°C 及び 25°C とした。流速は 0.35 mL/min、注入量は 10 μL とした。移動相は、A 液が 0.1% (w/w) TFA 水、B 液が 0.085% (w/w) TFA アセトニトリルとした。グラジエント条件は B 液を初期濃度 10% から 10 分間に 25% とし、その後 1 分間で 90% とした。その後、2 分間 B 液 90% で保持した後、0.5 分で 10% とし、その後 7.5 分間保持した。測定波長は 220 nm 及び 258 nm とし、ペプチド減少率は 220 nm で測定した。

## C. 結果及び考察

### C1. Proficiency test

OECD TG 442C では proficiency test として、Cys-peptide 及び Lys-peptide のそれぞれについて、指定された被験物質 10 物質中 8 物質以上で、Table 3 に示した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。本研究で実施した proficiency test の結果を Table 3 に示した。Cys-peptide では、Farnesal で減少率が 10% と OECD TG 442C で要求している減少率（15~55%）を下回った。また、Lys-peptide では、benzylideneacetone で減少率が 63%



と OECD TG 442C で要求している減少率 (0~7%) から外れていた。一方、その他の被験物質は、Cys-peptide 及び Lys-peptide のどちらについても、そのペプチド減少率は全て OECD TG 442C の要求範囲に収まっていた。そのため、本研究では DPRA 法の実施にあたり、技能レベルが規定水準以上であることが確認できた。

### C2. 各ペプチドとの共溶出について

各ペプチドについて、被験物質無し (Reference control) 及び陽性対照と反応させた (Positive control) 試料の HPLC クロマトグラムを Fig. 4 に示した。本研究で試験した 82 化合物のうち、Cys-peptide では 2-phenylethyl alcohol で、Lys-peptide では diethylene glycol monoethyl ether acetate、isoeugenol 及び methyl dibromoglutaronitrile で共溶出が確認された。共溶出例として、2-phenylethyl alcohol 及び diethylene glycol monoethyl ether acetate の Co-elution control の HPLC クロマトグラムを Fig. 4 に示した。共溶出が確認された被験物質のうち、diethylene glycol monoethyl ether acetate、isoeugenol 及び methyl bromoglutaronitrile は Cys-peptide 1:10 prediction model で評価した。一方、2-phenylethyl alcohol は評価を実施しなかった。

### C3. 各被験物質の評価結果

試験した 82 化合物の結果を Table 4 に示した。Cys-peptide との共溶出が認められた 2-phenylethyl alcohol を除く 81 化合物のうち、25 化合物が陽性に、その他の化合物は陰性に分類された。DPRA は感作性試験として広く実施されてきたマウス

局所リンパ節試験 (Local Lymph Node Assay : LLNA) と 80%以上の一致を示すとされているが、感作力の弱い化合物では偽陰性を示すことが多く、さらに代謝活性化が必要な化合物は評価できない<sup>7)</sup>。また、ペプチドと被験物質との反応を水系で行うため、疎水性化合物についても正確に評価することが難しいことが指摘されている<sup>7)</sup>。そのため、評価結果についてはこれらの点に留意する必要がある。

室内空気汚染全国実態調査<sup>3)</sup>で高頻度、高濃度で検出されている、グリコール類、グリコールエーテル類、可塑剤、ポリ環状シロキサン類及びその類縁化合物については、いずれも陰性と分類された。

本研究で対象とした香料化合物のうち、23 化合物は EU の化粧品指令においてアレルギー性物質としての表示が義務付けられている<sup>12)</sup>。この 23 種類の香料のうち、Table 1 の  $\alpha$ -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、そのうち 7 種類が陽性と分類された。一方、残りの 11 種類は "List B: Fragrance chemicals, which are less frequently reported and thus less documented as consumer allergens" とされ、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<sup>13)</sup>では陰性に分類されている。 $\alpha$ -Amylcinnamaldehyde 及び  $\alpha$ -hexylcinnamaldehyde は、DPR A 開発時の報告<sup>13)</sup>で weak sensitizer に分類されていたが、本研究では陰性に分類された。Benzyl benzoate 及び 3-(4-tert-butylphenyl) isobutyraldehyde は、LLNA で weak sensitizer と分類されているが、DPR A 開発時の報告では benzyl benzoate が陰性、3-(4-tert-butylphenyl) isobutyraldehyde が弱い陽性と分類されており<sup>13)</sup>、本研究ではいずれも陰性に分類された。

一方、EU の化粧品指令で表示義務の無い香料のうち、室内空気汚染全国実態調査<sup>3)</sup>で検出されている、hexanal 及び nonanal 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<sup>14,15)</sup>であるが、針葉樹建材から放散し室内空气中で検出されている<sup>16)</sup>。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 では LLNA で陽性と報告されている<sup>17)</sup>。また、methyl jasmonate が弱い陽性物質と分類されたが、モルモットマキシミゼーション試験 (Guinea pig maximization test: GPMT) や、ヒト累積感作性試験 (Human repeated insult patch test: HRIPT) では methyl jasmonate の感作性は認められていない<sup>18)</sup>。DPR A 開発時に 82 化合物が試験され、LLNA で非感作性物質 (Non sensitizer) とされているいくつかの化合物が、弱い陽性と分類されたことが報告されている<sup>13)</sup>。そのため、本試験では methyl jasmonate は偽陽性を示している可能性が考えられた。

試験した防腐剤のうち、2-bromo-2-nitro-

1,3-propanediol (bronopol) は、化粧品や様々な衛生製品の防腐剤として使用されている<sup>19)</sup>。この防腐剤については、GPMT では感作性について判断できないとの報告<sup>20)</sup>がある一方で、接触皮膚炎の臨床報告では原因物質とされている<sup>21,22)</sup>。Bronopol はホルムアルデヒドドナー型防腐剤であり、ホルムアルデヒドを放出しながら、bromonitromethane や 2-bromoethanol へと分解される (Fig. 5)<sup>23)</sup>。そのため、bronopol の感作にはホルムアルデヒドの影響が指摘されていたが、bronopol に陽性を示す患者でホルムアルデヒドにも陽性を示したのは 15%であったことから、bronopol 自体が感作性を有している可能性が指摘されている<sup>24)</sup>。さらに、ヒト由来細胞や NMR を用いた試験により、bronopol による感作はホルムアルデヒドとは反応性が異なることや、2-bromoethanol も関与していることなどが報告されている<sup>23)</sup>。本研究では、bronopol とその分解物である bromonitromethane 及び 2-bromoethanol について、DPR A による評価を実施し、これら 3 種類の化合物は全て陽性に分類され、bronopol のみならず、その分解物も感作性を有していることが明らかとなった。ただし、bronopol については、温度及び pH が高いほどホルムアルデヒドを放出し分解することが報告されており<sup>25)</sup>、bronopol を陽性と分類するには、試験時の分解生成物の影響を検討する必要がある。また、bronidox 及び DMDM hydantoin についてもホルムアルデヒドドナー型防腐剤である<sup>24,26)</sup>。DMDM hydantoin 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。

一方、bronidox は、臨床での感作例はほとんど報告されていない。この 2 種類の防腐剤についても、本研究では陽性と分類された。Methyldibromoglutaronitrile は、臨床での感作例が報告されており<sup>27)</sup>、本研究でも陽性に分類された。

フマル酸ジエステル類及びマレイン酸ジエステル類は防腐剤や樹脂添加剤等として使用されている。このうち、dimethyl fumarate は強い感作性を示すことが知られており、その類縁化合物であるフマル酸ジエステル類及びマレイン酸ジエステル類も dimethyl fumarate に交叉反応性を示すとともに、それら自体も感作性を有することが知られている<sup>28)</sup>。本研究でも、これらのジメチル、ジエチル及びジブチルエステル類は陽性と分類された。一方、皮膚感作性が報告<sup>29)</sup>されている diethylhexyl maleate 及びその異性体である diethylhexyl fumarate は陰性と分類された。これは、これらの化合物のオクタノール・水分配係数が他の化合物に比べて大きいいため水溶解性が低く、DPRA による正しい評価が難しいと考えられた。

本研究では 3 種類の芳香族第一級アミンについて試験を実施した。そのうち、2,4-diaminotoluene は、GPMT の結果の解釈の違いから感作性の評価が分かっているが<sup>30,31)</sup>、本研究では陽性と分類された。また、その構造異性体である 2,6-diaminotoluene については、陰性と分類された。4,4'-Methylenedianiline は GPMT では陽性とされているが<sup>32)</sup>、本研究では陰性に分類されており、偽陰性を示している可能性が考えられた。

本研究で評価を実施したエタノールア

ミン類 3 種類は、動物試験では感作性が認められておらず、本研究でも陰性に分類された。一方で、monoethanolamine について、ヒトでは金属加工（切削）労働者における職業性接触皮膚炎が報告されている<sup>33)</sup>。これは、monoethanolamine を含有する機械の潤滑油（切削液）に、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。同様に、本研究で陰性と分類された 1,3-butandiol は、化粧品類で接触皮膚炎が多数報告されている<sup>34,35)</sup>。そのため、これらの化合物は感作性については弱いですが、使用形態から高頻度に曝露されるために、臨床での感作例が多数報告されていると思われる。このような化合物については曝露も想定しつつ、そのほかの試験法も合わせた複合的な評価が必要であると考えられた。

#### C4. 被験物質の気道感作性

Lalko et al. は既知の気道感作性物質と、皮膚感作性を有するが気道感作性を有さない化合物とを DPRA により評価し、それらの Cys-peptide 及び Lys-peptide におけるペプチド減少率の比 (Lys/Cys) を求め比較した<sup>10)</sup>。その結果、気道感作性を有する化合物の方が、皮膚感作性のみ有する化合物に比べて Lys/Cys が大きくなることを報告しており、気道感作性物質の Lys/Cys は 0.2 以上を示していた。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<sup>6)</sup>。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<sup>36)</sup>。

本研究で陽性と分類された化合物の半数程度で、Lys/Cys が 0.2 を越えていたが、cinnamyl alcohol や 2-bromoethanol については、ペプチド減少率が陽性クライテリア付近であり、Lys-peptide の減少率が 1 回目と 2 回目で大きく異なっていた。そのため、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。一方、欧州で接触皮膚炎が多数報告されている dimethyl fumarate は皮膚症状のみならずシックハウス症状も報告<sup>28)</sup>されており、Lys/Cys は 0.46 と 0.2 以上を示していた。そのため、今後より多くの化合物について評価し、そのデータの蓄積が必要と考えられるが、Lys/Cys による気道感作性評価はある程度有効ではないかと思われる。

気道感作性については、*in vivo* 及び *in vitro* どちらにおいても確立された試験方法は報告されていない<sup>4,6)</sup>。そのため、気道感作性の評価は AOP を考慮して複数の毒性試験や疫学調査等により総合的な評価を行う必要がある。その過程において、本研究で得られた Lys/Cys 値は、評価を実施していく化合物の優先順位付けに利用できるものと思われる。

#### D. まとめ

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、82 化合物について DPRA を用いた皮膚感作性及び気道感作性評価を実施した。その結果、共溶出した 1 化

合物を除く 81 化合物で感作性評価が可能であり、25 化合物が陽性と分類された。全国調査で高頻度、高濃度で検出されているグリコール類や可塑剤類は全て陰性であったが、香料や建材等に由来すると考えられる hexanal 及び nonanal が陽性と分類された。臨床において接触皮膚炎が報告されている化合物や、動物試験で弱い感作性が報告されているいくつかの化合物が陰性に分類された。これは、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ためと考えられた。Lys/Cys は気道感作性の指標の一つとして考えられているが、本研究で陽性と分類された化合物の Lys-peptide への結合性には違いが認められた。今後、本研究で陽性と分類された化合物について、複数の毒性試験や疫学調査等により総合的な評価を行う必要がある。その過程において、本研究で得られた Lys/Cys 値は、気道感作性評価を実施していく化合物の優先順位付けに利用できるものと思われる。

#### E. 研究発表

##### E1. 論文発表

- 1) Kawakami T., Isama K., Ikarashi Y.: Survey of isothiazolinones and other preservatives in household wet tissue products in Japan, *J. Environ. Chem.*, 25, 207-214, 2015.
- 2) 清水久美子・秋山卓美・伊佐間和郎・河上強志・五十嵐良明: グアニジン系加硫促進剤の感作性評価と家庭用ゴム製品の実態調査, *国立衛研報*, 134, 42-49, 2016.
- 3) 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) 河上強志, 伊佐間和郎, 五十嵐良明: ウェットティッシュ製品に含まれる防腐剤調査, 第 45 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会・学術大会 (2015.11)
- 2) 河上強志・伊佐間和郎・香川聡子・神野透人: 家庭用水性スプレー製品中のグリコール類等の実態と製品使用時の平均室内空气中濃度の推定, 第 25 回環境化学討論会 (2016.6)
- 3) 河上強志・伊佐間和郎・五十嵐良明: ポリウレタン製繊維製品に使用されたベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の簡易分析法の検討と実態調査, 第 25 回環境化学討論会 (2016.6)
- 4) 河上強志・秋山卓美・五十嵐良明: 酸化染毛剤による皮膚障害の防止方策に関する研究, 第 2 回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム 2016 (2016.9)
- 5) 河上強志・伊佐間和郎・五十嵐良明: 繊維製品中のアレルギー性金属に関する調査, 第 46 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会・学術大会 (2016.11)
- 6) 河上強志・伊佐間和郎・五十嵐良明: ポリウレタン繊維製品におけるベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の使用傾向, 第 53 回全国衛生化学技術協議会年会 (2016.11)
- 7) 河上強志・伊佐間和郎・香川聡子・神野透人: 室内空气中グリコール類濃度に対する家庭用水性スプレー製品の寄与, 第 53 回全国衛生化学技術協議会年会 (2016.11)
- 8) 秋山卓美・清水久美子・河上強志・伊佐間和郎・五十嵐良明: グアニジン系加硫促進剤 4 種の感作性及び家庭用ゴム製品中の含有量, 第 53 回全国衛生化学技術協議会年会 (2016.11)
- 9) 河上強志・伊佐間和郎・五十嵐良明・神野透人: DPRA による揮発性及び準揮発性有機化合物類の感作性評価, 日本薬学会第 137 年会 (2017.3)
- 10) 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
- 11) 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)

- 12) 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
- 13) 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
- 14) 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), 日本薬学会第 138 年会, 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) Scientific Committee on Consumer Safety: Opinion on fragrance allergens in cosmetic products, [http://ec.europa.eu/health/scientific\\_committees/consumer\\_safety/docs/sccs\\_o\\_073.pdf](http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_073.pdf)
- 13) 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.
- 14) 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>
- 15) 職場の安全サイト: ノナナール, <http://anzeninfo.mhlw.go.jp/anzen/gmsds/124-19-6.html>
- 16) 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.
- 17) 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.
- 18) Scognamiglio J., Jones L., Letizia C.S., Api A.M.: Fragrance material review on methyl jasmonate, *Food Chem. Toxicol.*, 50, S572-S576, 2012.
- 19) Kawakamai T., Isama K., Ikarashi Y.: Survey of isothiazolinones and other preservatives in household wet tissue products in Japan, *J. Environ. Chem.*, 25, 207-214, 2015.
- 20) 野田勉・山野哲夫・清水充: 家庭用品に使用される化学物質の皮膚感作性試験 (VI) 抗菌剤 2-chloroacetamide、2-bromo-2-nitropropane-1,3-diol、zinc bis(2-pyridylthio-1-oxide) のモルモットにおける皮膚感作性, *生活衛生*, 48, 396-406, 2004.
- 21) Peters M.S., Connolly S.M., Schroeter A.L.: Bronopol allergic contact dermatitis, *Contact Dermatitis*, 9, 397-401, 1983.
- 22) Frosch P.J., White I.R., Rycroft R.J., Lahti A., Burrows D., Camarasa J.G., Ducombs G., Wilkinson J.D.: Contact allergy to Bronopol, *Contact Dermatitis*, 22, 24-26, 1990.
- 23) Kireche M. Peiffer J.L., Antonios D., Fabre I., Giménez-Arnau E., Pallardy M., Lepoittevin J.P., Ourlin J.C.: Evidence for chemical and cellular reactivities of the formaldehyde releaser bronopol, independent of formaldehyde release, *Chem. Res. Toxicol.*, 24, 2115-2128, 2011.
- 24) de Groot A., White I.R., Flyvholm M.A., Lensen G., Coenraads P.J.: Formaldehyde-releasers in cosmetics: relationship to

- formaldehyde contact allergy. Part 2. Patch test relationship to formaldehyde contact allergy, experimental provocation tests, amount of formaldehyde released, and assessment of risk to consumers allergic to formaldehyde, *Contact Dermatitis*, 62, 18-31, 2010.
- 25) Kajimura K., Tagami T., Yamamoto T., Iwagami S.: The release of formaldehyde upon decomposition of 2-bromo-2-nitropropan-1,3-diol (bronopol), *J. Health Sci.*, 54, 488-492, 2008.
- 26) 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.
- 27) Erdmann S.M., Sachs B., Merk H.F.: Allergic contact dermatitis due to methyl dibromo glutaronitrile in Euxyl K 400 in an ultrasonic gel, *Contact Dermatitis*, 44, 39-40, 2001.
- 28) 河上強志・伊佐間和郎・松岡厚子・西村哲治: 防カビ剤として用いられたフマル酸ジメチルによる接触皮膚炎, *J. Environ. Dermatol. Cutan. Allergol.*, 6, 339-350, 2012.
- 29) 今村真也・足立厚子・白井成鎬・井上友介・前山泰彦・島田恭子・森あゆみ・佐々木和実: 購入 3 日目天日干し後に着用したブラジャー紐に一致して出現した, di (2-ethylhexyl) maleate による接触皮膚炎, *J. Environ. Dermatol. Cutan. Allergol.*, 9, 436, 2015.
- 30) 財団法人化学物質評価研究機構: CERI 有害性評価書 2,4-diaminotoluene, [http://www.cerij.or.jp/evaluation\\_document/yugai/95\\_80\\_7.pdf](http://www.cerij.or.jp/evaluation_document/yugai/95_80_7.pdf)
- 31) 職場の安全サイト: 2,4-ジアミノトルエン, <http://anzeninfo.mhlw.go.jp/anzen/gmsds/0167.html>
- 32) 財団法人化学物質評価研究機構: CERI 有害性評価書 4,4'-methylenedianiline, [http://www.cerij.or.jp/evaluation\\_document/yugai/101\\_77\\_9.pdf](http://www.cerij.or.jp/evaluation_document/yugai/101_77_9.pdf)
- 33) Lessmann H., Uter W., Schnuch A., Geier J.: Skin sensitizing properties of the ethanalamines mono-, di-, and triethanolamine. Data analysis of a multicentre surveillance network (IVDK) and review of the literature, *Contact Dermatitis*, 60, 243-255, 2009.
- 34) Aizawa A., Ito A., Masui Y., Ito M.: Case of allergic contact dermatitis due to 1,3-butylene glycol, *J. Dermatol.*, 41, 815-816, 2014.
- 35) Sugiura M., Hayakawa R., Kato Y., Sugiura K., Hashimoto R., Shamoto M.: Results of patch testing with 1, 3-butylene glycol from 1994 to 1999, *Environ. Dermatol.*, 8, 1-5, 2001.
- 36) 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, molecular weight, logKow, boiling point, classification, and supplier of chemicals studied.

Type	Chemicals	CAS No.	Molecular weight	logKow <sup>a</sup>	Boiling point (°C) <sup>a</sup>	VOC/SVOC/POM <sup>b</sup>	Supplier <sup>c</sup>
Positive control	Cinnamic aldehyde	14371-10-9					T
Proficiency substances	2,4-Dinitrochlorobenzene	97-00-7					W
	Oxazolone	15646-46-5					T
	Formaldehyde	50-00-0					W
	Benzylideneacetone	122-57-6					T
	Famesal	19317-11-4					W
	2,3-Butanedione	431-03-8					T
	1-Butanol	71-36-3					W
	6-Methylcoumarin	92-48-8					T
	DL-Lactic Acid	50-21-5					T
	4-Methoxyacetophenone	100-06-1					T
Glycol ethers and glycol ether acetates	Ethylene glycol	107-21-1	62	-1.36	196	VOC	T
	Propylene glycol	57-55-6	76	-0.92	188	VOC	K
	1,2-Butanediol	584-03-2	90	-0.34	194	VOC	T
	1,3-Butanediol	107-88-0	90	-0.29	207	VOC	T
	1,4-Butanediol	110-63-4	90	-0.83	228	VOC	T
	2,3-Butanediol	513-85-9	90	-0.92	182	VOC	T
	Hexylene glycol	107-41-5	118	0.58	197	VOC	T
	Diethylene glycol	111-46-6	106	-1.98	245	VOC/SVOC	T
	Dipropylene glycol (mixture of isomers)	110-98-5	134	-0.7~-1.5	232	VOC	T
	Propylene glycol monomethyl ether	107-98-2	90	-0.49	120	VOC	K
	Propylene glycol monoethyl ether	1569-02-4	104	0.3	132	VOC	J
	Propylene glycol monobutyl ether	5131-66-8	132	1.15	170	VOC	T
	Diethylene glycol monoethylether	111-90-0	134	-0.15	196	VOC	T
	Diethylene glycol monobutyl ether	112-34-5	162	0.56	230	VOC	T
	Propylene glycol monomethyl ether acetate	108-65-6	132	0.3	146	VOC	T
	Diethylene glycol monoethyl ether acetate	112-15-2	176	0.32	217	VOC	T
	Diethylene glycol monobutyl ether acetate	124-17-4	204	1.3	245	VOC/SVOC	T
Plasticizers and solvents	3-Methoxy-3-methylbutanol	56539-66-3	118	0.18	174	VOC	T
	2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate	6846-50-0	286	4.91	280	SVOC	T
	2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol monoisobutyrate	25265-77-4	216	3.00	244~247	VOC/SVOC	A
	2-Ethyl-1-hexanol	104-76-7	130	2.28	187	VOC	T
	Methylcyclohexane	108-87-2	98	3.70±0.17	100	VOC	W
Cyclosiloxanes	Octamethylcyclotetrasiloxane	556-67-2	297	5.1	175	VOC	T
	Decamethylcyclopentasiloxane	541-02-6	371	5.2	210	VOC	T
	Dodecamethylcyclohexasiloxane	540-97-6	445	5.86	245	VOC/SVOC	T
Fragrances (EU list)	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	4.209±0.254	320	SVOC	T
	Cinnamyl alcohol	104-54-1	134	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 benzoate	120-51-4	212	3.97	324	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	4.83±0.31	110~113	VOC	T
	α-hexylcinnamaldehyde	101-86-0	216	4.866±0.318	305	SVOC	T
	3-(4-tert-Butylphenyl)isobutyraldehyde (Lilial)	80-54-6	204	3.84±0.25	95-96	VOC	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	

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

<sup>b</sup> 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)

<sup>c</sup> 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 1. CAS No, molecular weight, logKow, boiling point, classification, and supplier of chemicals studied. (Continued)

Type	Chemicals	CAS No.	Molecular weight	logKow <sup>a</sup>	Boiling point (°C) <sup>a</sup>	VOC/SVOC/POM <sup>b</sup>	Supplier <sup>c</sup>
Fragrances (others)	Butyl acetate	123-86-4	116	1.82	126	VOC	T
	Ethyl Salicylate	118-61-6	166	3.03±0.24	231	VOC	T
	Ethylene 1,11-undecanedicarboxylate	105-95-3	270	2.77±0.39	139-142	VOC	W
	Hexanal	66-25-1	100	1.93±0.22	131	VOC	T
	Nonanal	124-19-6	142	3.27	192	VOC	T
	Methyl jasmonate (mixture of isomers)	1101843-02-0	224	2.95±0.35	303±15	SVOC	T
	Methyl dihydrojasmonate (mixture of isomers)	24851-98-7	226	2.65±0.27	308±15	SVOC	T
	2-Phenylethyl alcohol	60-12-8	122	1.4	219	VOC	T
	(1R)-(+)- $\alpha$ -Pinene	7785-70-8	136	4.83	156	VOC	T
(-)- $\beta$ -Pinene	18172-67-3	136	4.35	165	VOC	T	
Preservatives and its decomposition products	2-Bromo-2-nitro-1,3-propanediol (Bronopol)	52-51-7	200	1.15±0.63	358±42	SVOC	T
	Bromonitromethane	563-70-2	140	0.88±0.27	149	VOC	W
	2-Bromoethanol	540-51-2	125	0.26±0.22	150	VOC	T
	Bronidox	30007-47-7	212	0.749±0.430	280.8±40.0	SVOC	T
	DMDM hydantoin	6440-58-0	188	-1.078±0.654	303.7±52.0	SVOC	JK
	Methyldibromoglutaronitrile	35691-65-7	266	1.515±0.408	338.6±42.0	SVOC	SA
Maleic and fumaric acid diesters	Dimethyl maleate	624-48-6	144	0.22	205	VOC	T
	Diethyl maleate	141-05-9	172	1.48	225	VOC	T
	Dibutyl maleate	105-76-0	228	3.38	280	SVOC	T
	Bis(2-ethylhexyl) maleate	142-16-5	341	7.88	410±18	SVOC/POM	T
	Dimethyl fumarate	624-49-7	144	0.74	192-193	VOC	T
	Diethyl fumarate	623-91-6	172	2.20	219	VOC	W
	Dibutyl fumarate	105-75-9	228	3.49	285	SVOC	T
Bis(2-ethylhexyl) fumarate	141-02-6	341	7.25	410±18	SVOC/POM	T	
Aromatic amines	2,4-Diaminotoluene	95-80-7	122	0.14	292	SVOC	W
	2,6-Diaminotoluene	823-40-5	122	-0.24±0.25	282	SVOC	T
	4,4'-Methylenedianiline	101-77-9	198	1.6	398~399	SVOC/POM	W
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
Rubber related compounds	Morpholine	110-91-8	87	-0.86	129	VOC	T
	Cyclohexylamine	108-91-8	99	1.50±0.19	125	VOC	T
	Dicyclohexylamine	101-83-7	181	3.5	256	VOC/SVOC	T

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

<sup>b</sup> 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  $\geq$ 380°C)

<sup>c</sup> 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
		$6.38\% < \text{mean \% depletion} \leq 22.62\%$	Low reactivity
	Positive	$22.62\% < \text{mean \% depletion} \leq 42.47\%$	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
		$11.89\% < \text{mean \% depletion} \leq 23.09\%$	Low reactivity
	Positive	$23.09\% < \text{mean \% depletion} \leq 98.24\%$	Moderate reactivity
		$98.24\% < \text{mean \% depletion} \leq 100\%$	High reactivity

Table 3. Predicted skin sensitisation hazards and peptide depletion (%) of proficiency substances.

Proficiency substances	Predicted skin sensitisation hazards		Peptide depletion (%)			
	LLNA	DPRA	This study		OECD requirement	
			Cysteine	Lysine	Cysteine	Lysine
2,4-Dinitrochlorobenzene	Sensitiser (extreme)	Positive	100	30	90-100	15-45
Oxazolone	Sensitiser (extreme)	Positive	68	53	60-80	10-55
Formaldehyde	Sensitiser (strong)	Positive	54	4.1	30-60	0-24
Benzylideneacetone	Sensitiser (moderate)	Positive	93	63	80-100	0-7
Famesal	Sensitiser (weak)	Positive	10	5.8	15-55	0-25
2,3-Butanedione	Sensitiser (weak)	Positive	78	27	60-100	10-45
1-Butanol	Non-sensitiser	Negative	1.1	0.68	0-7	0-5.5
6-Methylcoumarin	Non-sensitiser	Negative	0.86	0.89	0-7	0-5.5
DL-Lactic Acid	Non-sensitiser	Negative	0.51	0.88	0-7	0-5.5
4-Methoxyacetophenone	Non-sensitiser	Negative	1.6	0.47	0-7	0-5.5

Table 4. Results of DPRA for chemicals studied.

Type	Chemicals	Depletion (%)			Prediction	Lys/Cys	
		Cysteine	Lysine	Mean <sup>a</sup>			
Glycol ethers and glycol ether acetates	Ethylene glycol	0.65	0.82	0.74	Negative		
	Propylene glycol	0.35	0.62	0.48	Negative		
	1,2-Butanediol	0.27	0.94	0.60	Negative		
	1,3-Butanediol	0.16	0.63	0.40	Negative		
	1,4-Butanediol	0.02	0.55	0.28	Negative		
	2,3-Butanediol	0.21	0.81	0.51	Negative		
	Hexylene glycol	0.37	0.75	0.56	Negative		
	Diethylene glycol	0.64	0.99	0.82	Negative		
	Dipropylene glycol (mixture of isomers)	0.63	1.20	0.92	Negative		
	Propylene glycol monomethyl ether	3.21	1.05	2.13	Negative		
	Propylene glycol monoethyl ether	-0.68	0.67	0.34	Negative		
	Propylene glycol monobutyl ether	-0.45	0.58	0.29	Negative		
	Diethylene glycol monoethylether	0.15	1.66	0.90	Negative		
	Diethylene glycol monobutyl ether	5.31	1.30	3.31	Negative		
		2.41	-0.49	1.20			
		Propylene glycol monomethyl ether acetate	-0.04	1.22	0.59	Negative	
		Diethylene glycol monoethyl ether acetate	0.61	n.t. <sup>b</sup>	0.61Cys <sup>c</sup>	Negative	
		Diethylene glycol monobutyl ether acetate	0.49	1.52	1.01	Negative	
Plasticizers and solvents	3-Methoxy-3-methylbutanol	0.45	0.22	0.34	Negative		
	2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate	1.00	0.38	0.69	Negative		
	2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol monoisobutyrate	1.91	0.51	1.21	Negative		
	2-Ethyl-1-hexanol	1.27	0.36	0.82	Negative		
	Methylcyclohexane	0.17	-0.56	0.08	Negative		
Cyclosiloxanes	Octamethylcyclotetrasiloxane	-0.01	0.30	0.15	Negative		
	Decamethylcyclopentasiloxane	0.03	0.75	0.39	Negative		
	Dodecamethylcyclohexasiloxane	-0.03	0.16	0.08	Negative		
Fragrances (EU list)	$\alpha$ -Amylcinnamaldehyde	1.87	0.73	1.30	Negative		
	$\alpha$ -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		0.59	
	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.	37.3Cys	Positive(Moderate)		
	Anisyl alcohol	2.02	0.83	1.42	Negative		
	Benzyl benzoate	0.88	0.46	0.67	Negative		
	Benzyl cinnamate	0.63	-0.50	0.32	Negative		
	$\beta$ -citronellol	1.87	0.61	1.24	Negative		
	Farnesol (isomers)	10.1	-0.35	5.07	Positive(Low)		
		13.8	-0.67	6.91		-0.049	
		23.0	0.61	11.8	0.027		
	$\alpha$ -hexylcinnamaldehyde	2.23	-0.01	1.11	Negative		
	3-(4-tert-Butylphenyl)isobutyraldehyde (Lilial)	11.3	-0.34	5.63	Negative		
		10.8	-0.63	5.42			
	(+)-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		
$\alpha$ -iso-Methylionone	6.26	-0.07	3.13	Negative			
	7.61	0.20	3.81				

<sup>a</sup> Negative depletion is considered as "0" when calculating the mean and underline means positive. <sup>b</sup> n.t.: Co-elution is observed. <sup>c</sup> Using Cys-peptide 1:10 prediction model only.

Table 4. Results of DPRA for chemicals studied. (Continued)

Type	Chemicals	Depletion (%)			Prediction	Lys/Cys	
		Cysteine	Lysine	Mean <sup>a</sup>			
Fragrances (others)	Butyl acetate	0.39	1.46	0.92	Negative		
	Ethyl Salicylate	0.65	1.81	1.23	Negative		
	Ethylene 1,11-undecanedicarboxylate	0.03	-0.56	0.01	Negative		
	Hexanal	31.5	42.3	36.9	Positive(Moderate)	1.34	
	Nonanal	24.6	2.68	13.6	Positive(Low)	0.11	
	Methyl jasmonate (mixture of isomers)	16.6	1.17	8.87	Positive (Low)	0.070	
		20.6	0.02	10.3		0.00092	
		Methyl dihydrojasmonate (mixture of isomers)	2.83	-0.23	1.41	Negative	
		2-Phenylethyl alcohol	n.t. <sup>b</sup>	2.41	n.c. <sup>c</sup>	Not evaluation	
		(1R)-(+)- $\alpha$ -Pinene	8.10	-0.88	3.61	Negative	
		11.6	-0.69	5.80			
	(-)- $\beta$ -Pinene	3.28	-1.08	1.64	Negative		
Preservatives and its decomposition products	2-Bromo-2-nitro-1,3-propanediol (Bronopol)	100	67.6	83.8	Positive (high)	0.68	
	Bromonitromethane	100	9.35	54.7	Positive (high)	0.094	
	2-Bromoethanol	12.8	0.15	6.49	Positive (Low)	0.012	
		13.2	7.58	10.4		0.57	
	Bronidox	99.7	-0.31	49.9	Positive(high)	-0.0031	
	DMDM hydantoin	60.0	2.68	31.34	Positive(Moderate)	0.045	
	Methyldibromoglutaronitrole	100.0	n.t.	100.0Cys <sup>d</sup>	Positive(high)		
Maleic and fumaric acid diesters	Dimethyl maleate	100	83.2	91.6	Positive (high)	0.83	
	Diethyl maleate	100	80.7	90.3	Positive (high)	0.81	
	Dibutyl maleate	100	36.4	68.2	Positive (high)	0.36	
	Bis(2-ethylhexyl) maleate	5.45	-0.32	2.72	Negative		
	Dimethyl fumarate	100	46.1	73.1	Positive (high)	0.46	
	Diethyl fumarate	100	46.2	73.1	Positive (high)	0.46	
	Dibutyl fumarate	100	10.7	55.3	Positive (high)	0.11	
	Bis(2-ethylhexyl) fumarate	8.64	0.50	4.57	Negative		
	6.66	-3.60	3.33				
Aromatic amines	2,4-Diaminotoluene	73.7	0.55	37.1	Positive (Moderate)	0.0075	
		13.2	0.46	6.83			
	2,6-Diaminotoluene	11.34	-1.23	5.67	Negative		
		11.58	-1.37	5.79			
	4,4'-Methylenedianiline	1.38	0.49	0.93	Negative		
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		
Rubber related compounds	Morpholine	3.85	-0.68	1.92	Negative		
	Cyclohexylamine	1.05	0.01	0.53	Negative		
	Dicyclohexylamine	3.81	1.06	2.44	Negative		

<sup>a</sup> Negative depletion is considered as "0" when calculating the mean and underline means positive. <sup>b</sup> n.t.: Co-elution is observed. <sup>c</sup> n.c.: Not calculated. <sup>d</sup> Using Cys-peptide 1:10 prediction model only.

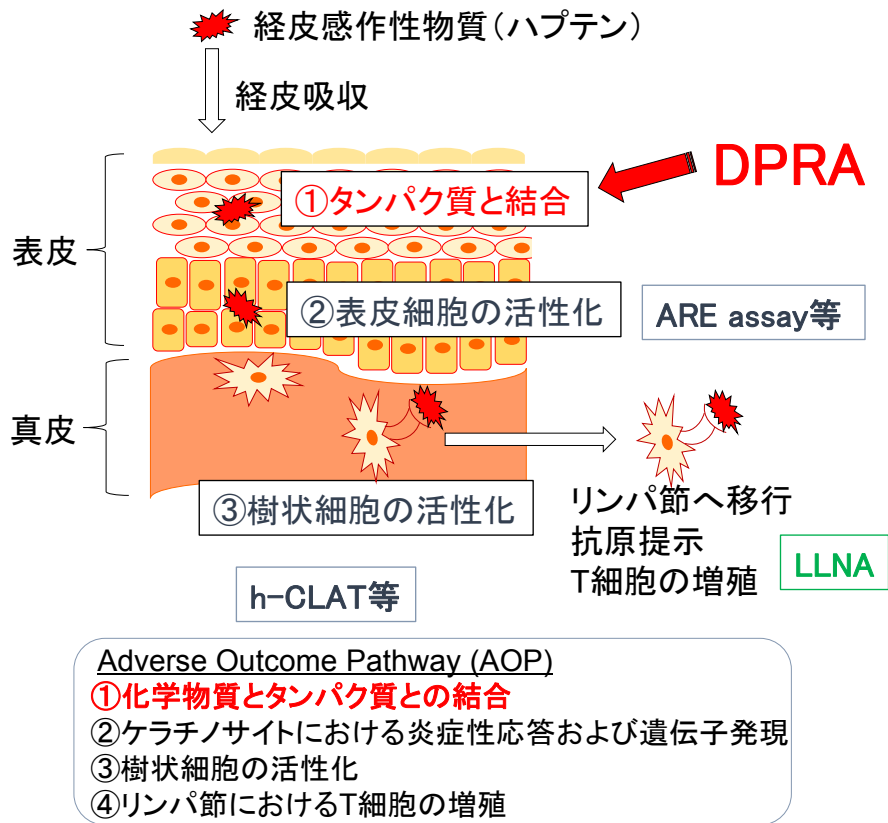


Fig. 1 皮膚感作性のメカニズムとそれに対応した代替試験法  
(引用文献7より改変)

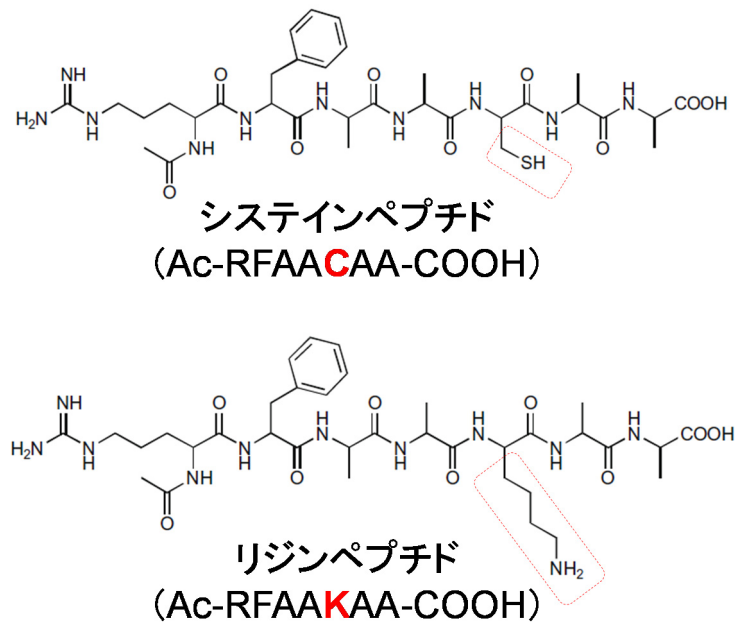


Fig. 2 試験に使用した使用したペプチドの構造  
(上: Cys-peptide、下: Lys-peptide)

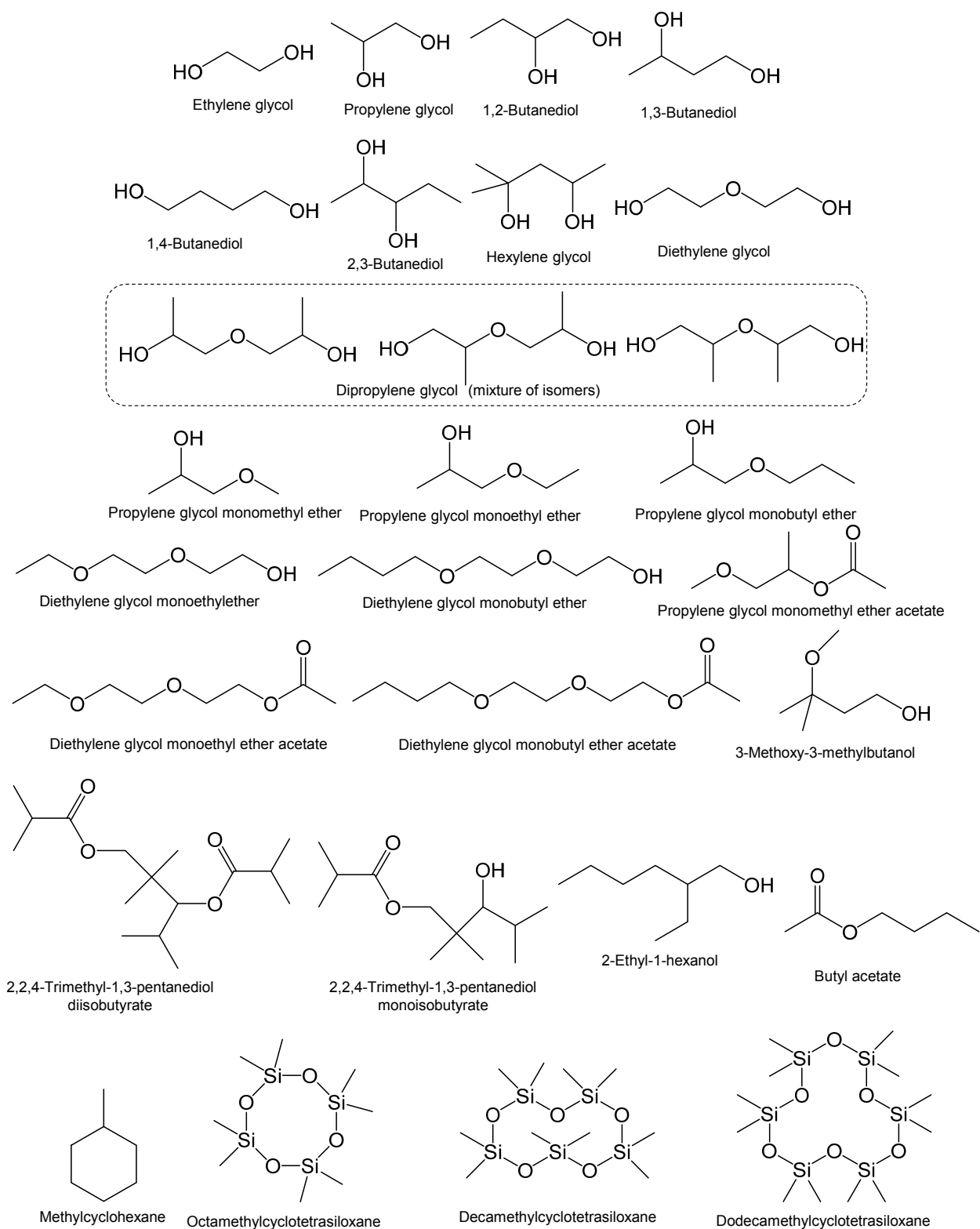


Fig. 3 被験物質の化学構造

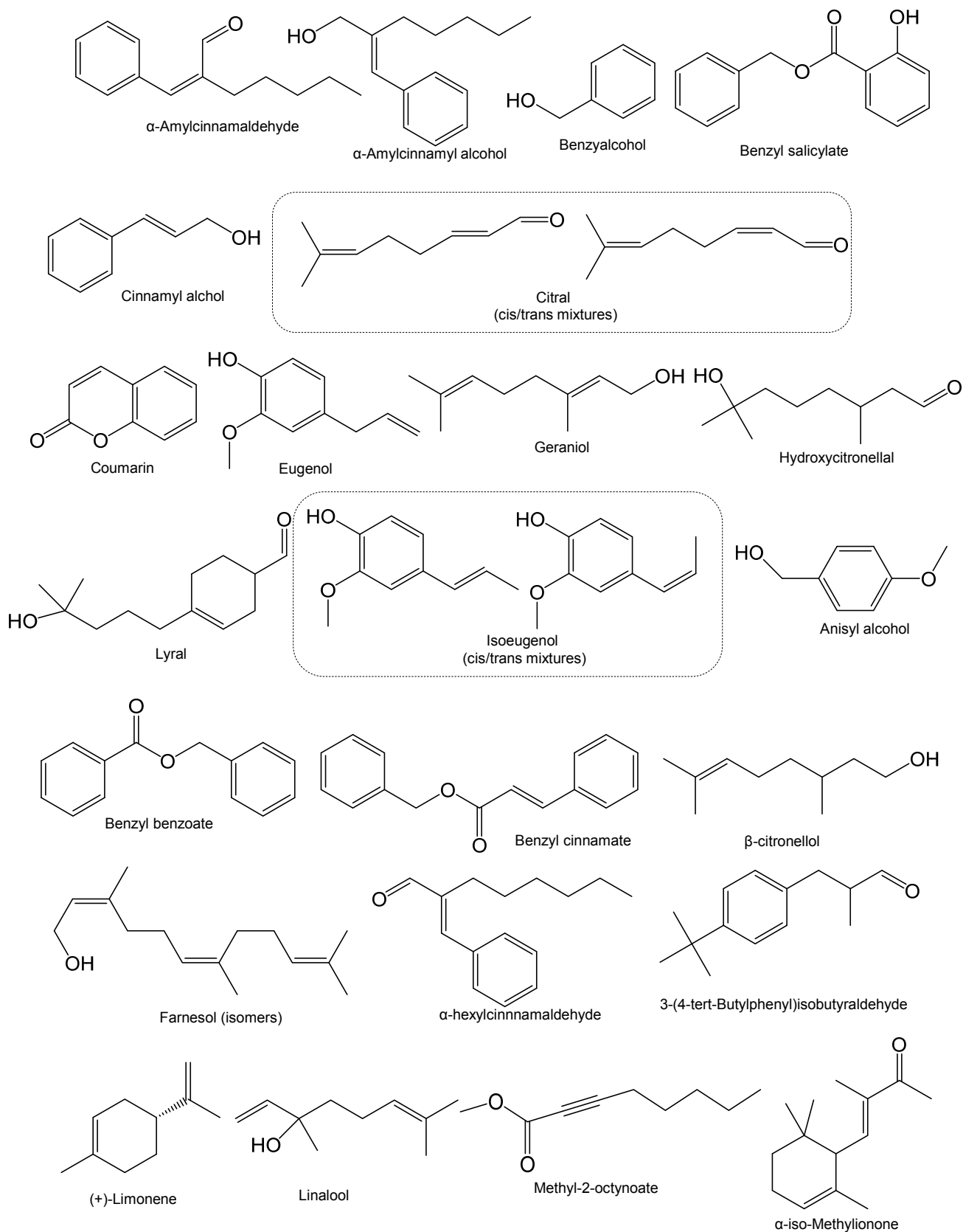


Fig. 3 被験物質の化学構造 (続き)



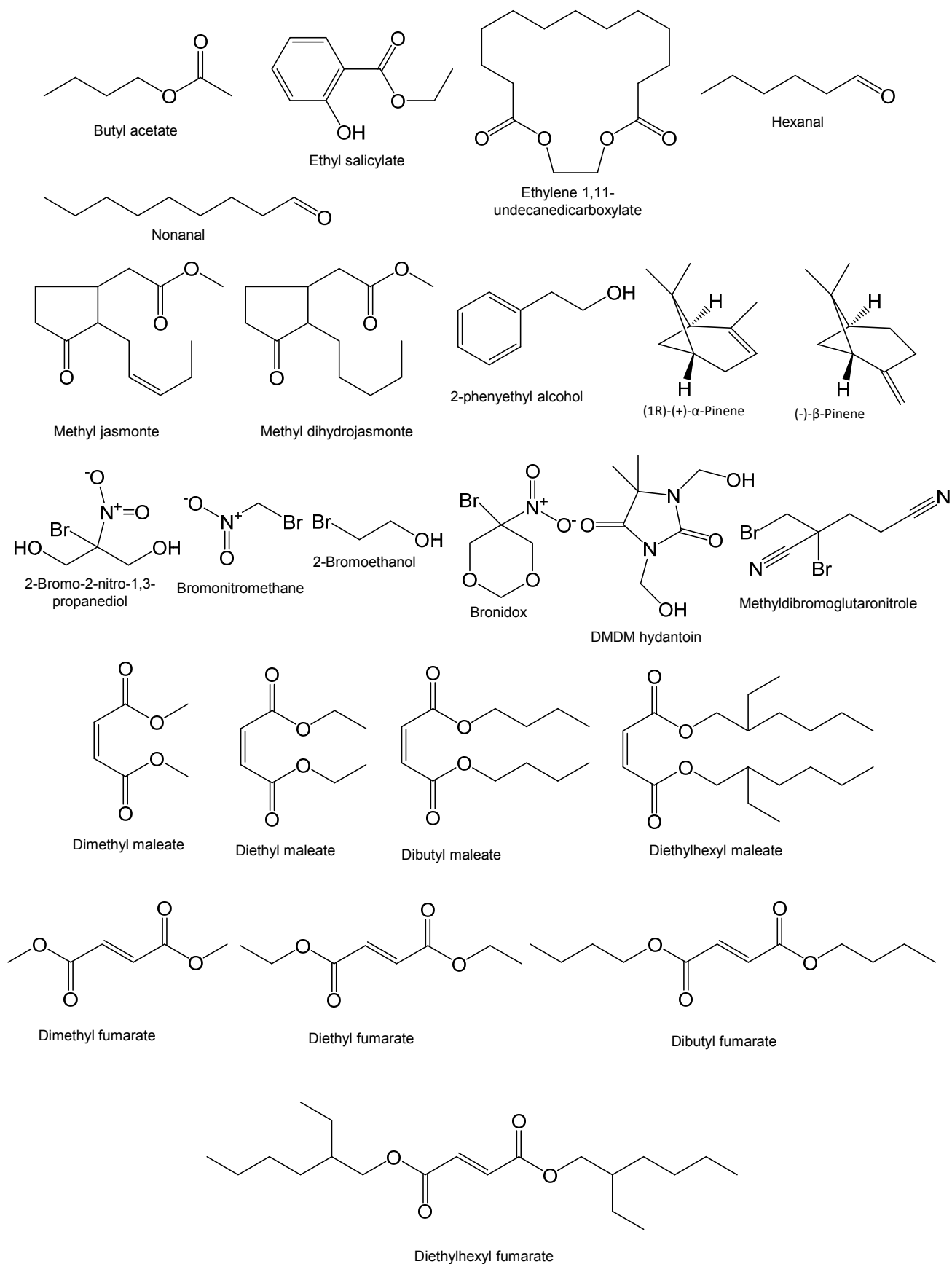


Fig. 3 被験物質の化学構造 (続き)

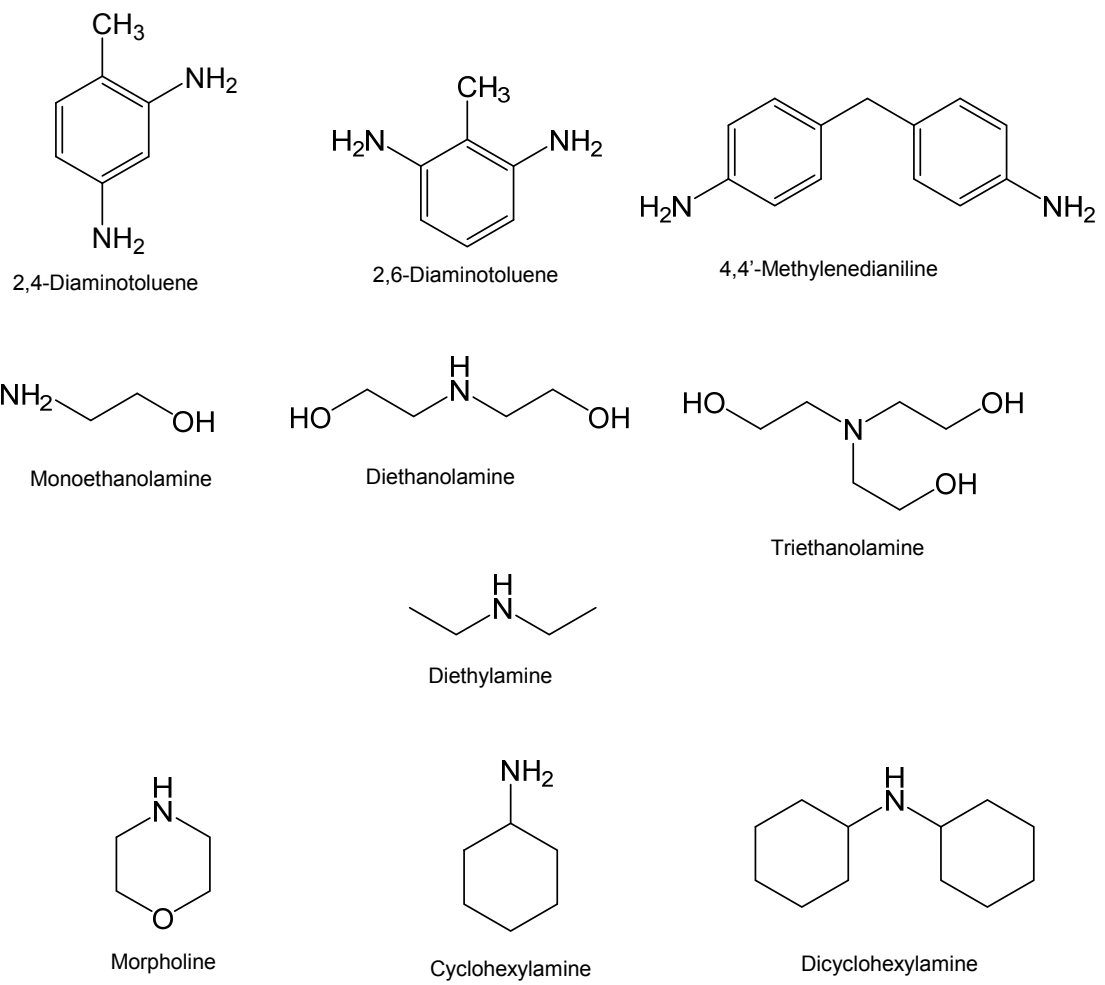


Fig. 3 被験物質の化学構造 (続き)

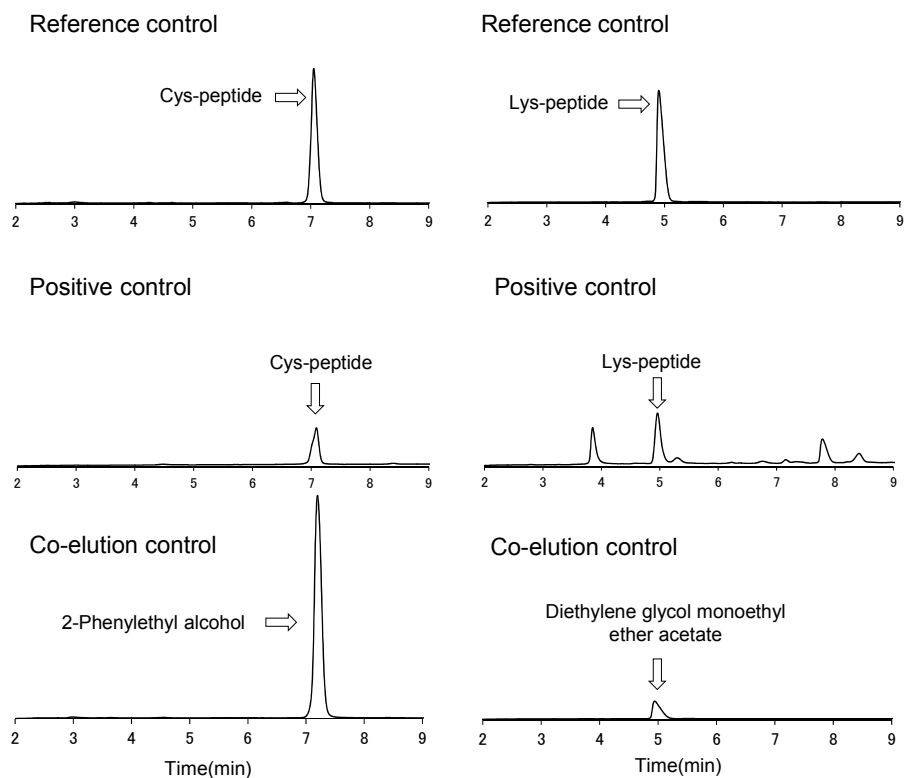


Fig. 4 各ペプチド (Reference control)、陽性対照 (Positive control) 及び被験物質のみ (Co-elution control) の HPLC クロマトグラム ( $\lambda=220$  nm)

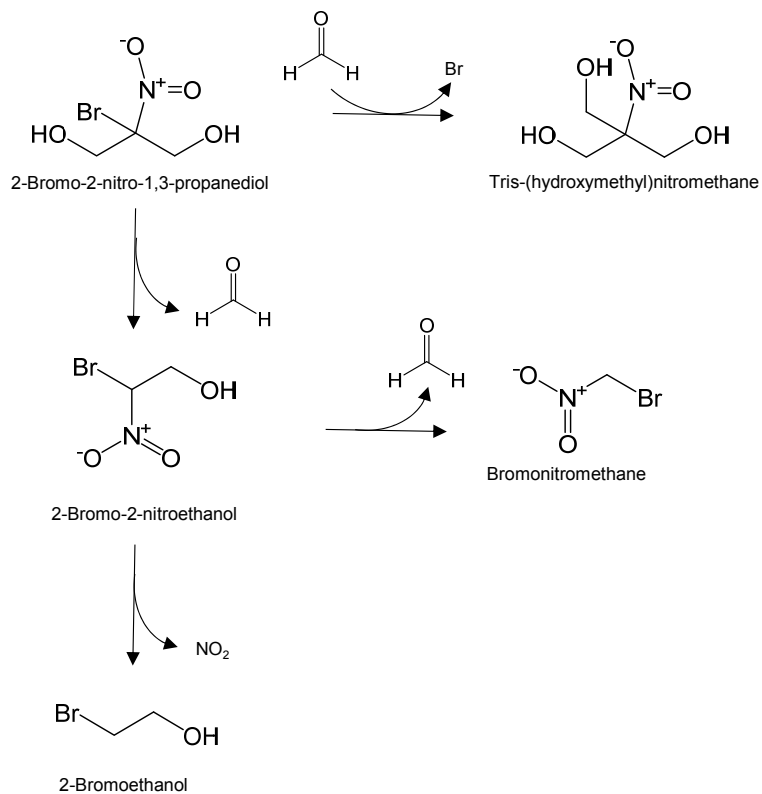


Fig. 5 2-Bromo-2-nitro-1,3-propanediol (Bromopol) の分解過程<sup>24)</sup>

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 山口治子 国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部  
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た研究を実施した。平成 27 年度は、網羅的スクリーニング調査に先立って、気道障害性に関わるハザード情報収集に有用と考えられる情報源について調査を行い、最も網羅性が高く情報が充実していると判断された情報源の一つである我が国の GHS 分類情報（JP-GHS）をもとにヒト健康に対する有害性 10 項目の分類結果や分類の根拠となった情報をデータベース化して、気道障害性（気道刺激性及び気道感作性）に基づく分類がされた化学物質を抽出した。平成 28 年度は、JP-GHS データベースをもとに気道感作性を対象として、関連する有害作用である皮膚感作性等との関連性や化学構造との関連に着目した解析を実施して、気道感作性について情報のない物質であっても、皮膚感作性に関する情報と化学構造から気道感作性評価のための優先順位付けスクリーニングの可能性が示された。さらに平成 29 年度は、気道刺激性に着目して、皮膚や眼刺激性情報と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、気道刺激性情報のない化学物質についての詳細評価の優先順位付けスクリーニングを行う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目的とした研究を実施した。まず始めに、気道障害性の網羅的スクリーニング調査に

有用と考えられる各種情報源の調査を実施して、情報源のうち最も網羅性が高く情報が充実していると判断された情報源の一つである我が国の GHS 分類情報 (JP-GHS) を対象として、気道刺激性や気道感作性に関連する情報が得られた化学物質の網羅的収集をした結果、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の気道障害性の有無は不明なままであることが明らかとなった。そのため、気道障害性について情報の無い化学物質について、関連するヒト健康影響情報や化学構造等から、詳細評価のための優先順位付けの可能性について検討を行うため、JP-GHS 情報をデータベース化して解析を行い、気道感作性については、皮膚感作性と化学構造との関連に着目した解析を、気道刺激性については皮膚や眼刺激性と物理化学的性質等との関連に着目した解析を行った。

## B. 研究方法

### 1、気道障害性詳細評価に向けた優先順位付けに有用な情報源の調査

網羅的スクリーニング調査に先立って、気道障害性に関わるハザード情報収集に有用と思われる情報源について、その概要と気道障害性評価において検索対象となる登録情報及び本年度の研究班における評価対象物質である 2-エチルヘキサノール (CAS No. 104-76-7)、2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol monoisobutyrate (Texanol<sup>TM</sup>) (CAS No. 25265-77-4)、2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (TXIB<sup>TM</sup>) (CAS No. 6846-50-0)

についての情報源における登録情報について整理した。

### 2、我が国の GHS 分類評価結果 (JP-GHS) をもとにした気道障害性 (気道刺激性及び気道感作性) 物質の網羅的スクリーニング

我が国の GHS 分類評価結果 (JP-GHS) をもとに気道障害性 (気道刺激性及び気道感作性) 分類がされた物質の検索を行った。本研究での検索対象は、現在、公開されている平成 25 年度までの JP-GHS 分類評価結果とした。JP-GHS 分類結果は、物質ごとにエクセルシートとして公開されている。そこで、まず初めに本研究では、独) 製品評価技術基盤機構ホームページより入手可能な日本政府による GHS 分類結果ファイルを取得し、GHS 分類項目のうちヒト健康に対する有害性 10 項目について横断検索可能な簡易データベースを構築した。構築したデータベースをもとに気道障害性評価の優先順位付けに有用な項目として気道刺激性、気道感作性の分類が示された物質の検索を行った。

### 3、気道感作性についての知見のない物質の関連情報と化学構造等からのスクリーニング予測評価の検討

構築した JP-GHS データベースを用いて、気道障害性に関する区分がなされている物質について、詳細評価の優先順位付けのため気道障害性分類の根拠となった知見の詳細について解析を進めるとともに、関連する有害作用である皮膚感作性及び皮膚刺激性について情報を整理するとともに化学構造分類を実施して、気道障害性との関連の解析及び知見の無い物質について気道感作性の

詳細評価優先順位付けのためのスクリーニング評価への適用性について検討を行った。

#### 4、気道刺激性についての知見のない物質の関連情報と化学構造等からのスクリーニング予測評価の検討

気道刺激性に着目して、GHS 分類結果の 3815 物質のうち、刺激性について報告のある物質と報告のない物質を組み合わせたデータセットから金属元素を含む物質(115 物質)、ハロゲン元素を含む物質(191 物質)を除外した 291 物質を対象として、気道刺激性と目および皮膚刺激性の重複、物理化学的性質や構造記述子を用いた予測モデル構築を行った。構造記述子の計算には PaDEL Descriptor を用い、物理化学的性質は、Chemid plus 及び PubChem で検索して得られた情報を用いた。気道刺激性との関連解析および予測モデルには KNIME を用いた。

### C. 研究結果と考察

#### 1、気道障害性詳細評価に向けた優先順位付けに有用な情報源の調査

JP-GHS 分類では、健康に対する有害性以外に物理化学的危険性、環境に対する有害性についての分類結果が根拠情報ともに入手可能であった。気道障害性に関連する情報としては、健康に対する有害性分類の中で呼吸器への単回暴露毒性、気道刺激性および気道感作性の情報が利用可能である。気道障害性についての分類は、主に産業暴露等におけるヒトのデータに基づいて分類されていた。研究班の取り組み 4 物質について JP-GHS では、2-エチルヘキサノールについては、健康に対する有害性のうち項目 8：特定標的臓器毒性（単回暴露）において

区分 3（気道刺激性）及び区分 2（呼吸器）と分類されていた。さらに、2-エチルヘキサノールの物理学的危険性の GHS による分類においては、常温においては液体（引火点 73℃の可燃性液体）でありエアロゾルではない。なお、他の 2 物質の情報はない。スクリーニング対象物質の網羅性を検証するため日本産業衛生学会及び ACGIH で評価が行われた物質のうち JP-GHS 分類されていない物質を検索した結果、大半の物質は JP-GHS 分類評価済みであり、またその分類においては、日本産業衛生学会や ACGIH が引用されていることから JP-GHS を基礎データとすることで十分な網羅性を担保出来ると判断された。

2、我が国の GHS 分類評価結果（JP-GHS）をもとにした気道障害性（気道刺激性及び気道感作性）物質の網羅的スクリーニング JP-GHS データをもとに 2820 物質の情報をデータベース化した。気道刺激性については、健康に対する有害性のうち項目 8：特定標的臓器毒性（単回暴露）において区分 3（気道刺激性）もしくは区分 1（呼吸器）と分類された物質を抽出した結果、1075 物質が抽出された。一方、気道感作性については、健康に対する有害性のうち項目 4：呼吸器感作性について区分 1 と分類された物質を抽出した結果、96 物質が該当した。また、気道感作性 96 物質のうち 86 物質については、気道刺激性物質にも分類されており気道感作性のみで分類された物質は 10 物質であった。次に室内環境汚染の可能性の高い物性として、常温における物質性状について GHS 分類情報をもとに気体であるとされている物質に絞り込みを行った結

果、気道刺激性 131 物質、気道感作性 4 物質が抽出された。ただし、気道感作性分類により抽出された 4 物質は、いずれも気道刺激性により抽出された 131 物質に含まれた。抽出された常温で気体の気道刺激性物質 131 物質のうち 74 物質については、JP-GHS 分類根拠においてヒトでのエビデンスが記載されており、これらについては室内環境汚染評価の優先順位の高い物質と考察された。感作性については、皮膚感作性が示されている物質については、気道感作性の懸念もあると考えられることから皮膚感作性区分 1 と分類された物質を抽出した結果、405 物質が抽出され、気道感作性 96 物質のうち 86 物質については、気道感作性及び皮膚感作性いずれも該当した。物質性状について皮膚感作性 405 物質のうち、常温で気体とされている物質は、上述の気道感作性 4 物質を含む 20 物質であり、16 物質については皮膚感作性の分類はされているものの気道感作性の分類はされていなかった。気道感作性に分類されているほとんどの物質が皮膚感作性物質に含まれることから、これらの常温で気体の皮膚感作性 16 物質についても、気道感作性の分類は行われていないものの、気道感作性の懸念が高く室内環境汚染評価の優先候補としてハザード情報の収集を行う必要があると考察された。

### 3、気道感作性についての知見のない物質の関連情報と化学構造等からのスクリーニング予測評価の検討

気道障害性分類根拠の解析から、GHS や ACGIH 等における気道障害性はヒトでの障害発現の報告に基づいて分類されており、

それらの物質について報告された状況下において気道障害性が発現することは、ほぼ明らかである。ただし、一部の物質では産業現場等における特殊条件下での報告によるものも含むため、それらについて室内環境における評価の優先順位は必ずしも高くないと考えられる。一方、気道感作性、気道刺激性については、評価のためのガイドライン試験法が無いため、ヒトでの障害発現の情報の無い物質についての、障害性の有無については全く不明である。そこで、関連する障害として皮膚感作性、皮膚刺激性についての情報の検索を行った。これら皮膚障害性については、多くの物質についての分類はガイドライン試験法による評価に基づいており、陽性物質とともに陰性物質の検索が可能であった。その結果、気道感作性の報告のある物質の 9 割は皮膚感作性の区分がなされており、さらに皮膚感作性については区分外となっていた物質についても、皮膚腐食性などの関連する障害の区分がなされていた。これらの結果から、皮膚感作性が陽性の物質については気道感作性を有する可能性が高いと考察された。さらに気道感作性もしくは皮膚感作性のある物質を化学構造の特徴で分類を行い、化学構造との関連について解析を行った。その結果、いくつかの化学構造群で、気道・皮膚いずれについても感作性が報告されている物質が多く含まれることが明らかとなった。よって気道感作性の情報が無い物質であっても、これらの化学構造群に含まれる皮膚感作性が報告されている物質については、気道感作性を有する蓋然性が特に高いと考察された。

#### 4、気道刺激性についての知見のない物質の関連情報と化学構造等からのスクリーニング予測評価の検討

気道に対する障害性のうち気道刺激性について、JP-GHS データベースをもとに、気道以外での刺激性との関連および化学物質の構造的特徴や化学的性質を指標とした *in silico* での気道刺激性物質のスクリーニング手法について検討を行った。その結果、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、特に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った。このことから、他の部位における刺激性のうち特に眼刺激性を有する物質については、気道刺激性の蓋然性が高いと考察された。一方、化学構造の特徴分類の結果から金属元素またはハロゲン元素を有する物質、エポキシ基またはシアン酸基を有する物質で気道刺激性を惹起する可能性が高いことが示された。一方、化学的性質や構造記述子を用いた解析から、Molweight および Complexity との関連が示され、さらに化学構造と組み合わせた解析によりカルボニル基を有し  $TPSA \leq 46.530$  または  $SlogP \leq 1.984$  である物質およびエーテル結合を有し  $TPSA \leq 29.460$  または  $SlogP \leq 1.043$  である物質で気道刺激性を惹起する可能性が高いことが示された。これらの結果から、刺激性に関する情報の無い物質については、本研究で明らかにされた化学構造的特徴と化学的性質を示す物質について気道刺激性評価の優先順位が高いと考えられた。

#### E. 結論

本研究では、わが国の GHS 分類評価結果

をもとに、気道障害性のうち気道刺激性および関連する可能性のある皮膚刺激性、眼刺激性について網羅的な検索を行い、気道刺激性物質に特徴的な化学構造や化学的性質を明らかにした。

これまでの本研究の結果から、気道感作性については情報のない物質であっても、皮膚感作性に関する情報と化学構造から気道感作性評価のための優先順位付けスクリーニングが可能であることが示された。皮膚感作性については、近年、OECD より皮膚感作性評価のための Adverse Outcome Pathway(AOP)及び AOP に基づく評価のための *in vitro* や *in chemico* のガイドライン試験法が整備されており、また OECD QSAR Toolbox には *in silico* 評価を行うためのプロファイラー機能が搭載されており、それらを用いた迅速評価についてガイダンスが示されている。本研究の結果は、気道感作性についても皮膚感作性と同様に AOP に基づく評価の可能性を示すものと考察されることから、今後は気道感作性スクリーニング評価への適用性について検討を進める目的で、OECD QSAR Toolbox の皮膚感作性関連の化学構造プロファイラーや、皮膚感作性 AOP 評価のためのガイドライン試験法の気道感作性物質の詳細評価のための優先順位付けにおける有用性について検討を行い、気道感作性評価に向けた AOP の構築が重要であると結論された。一方、気道刺激性についても関連する情報として眼刺激性や皮膚刺激性の情報と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高い精度でスクリーニング評価が可能であると結論付けられた。

最終的にリスク評価のためには、ハザード



情報のみではなく、暴露情報が必要であるが、実際の生活環境における測定結果が得られる物質は、限られていると考えられる。化学物質の用途や使用量に関する情報が得られれば、暴露の可能性のある程度推定出来る可能性もあることから、本研究結果により関連情報や化学構造および物性等から優先順位が高い物質としてリストアップされた物質については、用途情報の収集を行い暴露の可能性のある物質については、生活環境中での暴露実態の測定が望まれる。

## 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 $\alpha$ -HeLa-9903細胞を用いたエストロゲン受容体恒常発現系転写活性化試験法の評価報告書 *AATEX-JaCVAM* **6**, 1-27 (2017).

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

M. Hirata-Koizumi, R. Ise, H. Kato, T. Matsuyama, T. Nishimaki-Mogami, M. Takahashi, A. Ono, M. Ema and A. Hirose ; Transcriptome analyses demonstrate that Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) activity of an ultraviolet absorber, 2-(2'-hydroxy-3',5'-di-tert-butylphenyl)benzotriazole, as possible mechanism of their

toxicity and the gender differences.; *J Toxicol Sci*, **41**, (5) 693–700 (2016)

Hirata-Koizumi, M., Fujii, S., Hina, K., Matsumoto, M., Takahashi, M., Ono, A., and Hirose, A., Repeated dose and reproductive/developmental toxicity of long-chain perfluoroalkyl carboxylic acids in rats: perfluorohexadecanoic acid and perfluorotetradecanoic acid, *Fundam Toxicol Sci.*, **2**(4), 177-190, 2015.

Ono, A., Kobayashi, K., Serizawa, H., Kawamura, T., Kato, H., Matsumoto, M., Takahashi, M., Hirata-Koizumi, M., Matsushima, Y. and Hirose, A., A repeated dose 28-day oral toxicity study of  $\beta$ -bromostyrene in rats. *Fundam. Toxicol. Sci.* **2015.2**, 191-200

Kato, H., Fujii, S., Takahashi, M., Matsumoto, M., Hirata-Koizumi, M., Ono, A. and Hirose, A., Repeated dose and reproductive/developmental toxicity of perfluorododecanoic acid in rats. *Environ Toxicol* **2015.30**, 1244-1263

### 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)
- 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 53rd 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)
- A. Ono, J. Ciloy, M. Matsumoto, M. Takahashi, T. Kawamura and A. Hirose :Development and validation of a QSAR model to classify chemicals for toxic potency of sub-acute repeated dose toxicity. *17th International Conference on QSAR in enviromental and health sciences* (2016.6, Miami Beach, Florida, USA)
- A. Ono, H. Jinno and A. Hirose :Comparative analysis of respiratory and skin sensitization potential of chemicals using Japanese GHS classification.. *The 52nd Eurotox2016* (2016.9, Sevilla, Spain)
- A. Ono, H. Jinno and A. Hirose :Evaluation of the OECD QSAR Toolbox in the screening of chemical sensitizer.. *The 14th International Congress of Toxicology* (2016.10, Merida, Mexico)
- Nishimura, T., Hirata-Koizumi, M., Yamada, T., Kawamura, T., Ono, A., Hirose, A., and Ema, M., Derivation of the health advisory guidance values for sub-acute exposure of drinking water, Society of Toxicology 55th Annual meeting, New Orleans, USA, March 2016.
- Hirose, A., Hirata-Koizumi, M., Kawamura, T., Matsumoto, M., Takahashi, M., Nishimaki-Mogami, T., Nishimura, T.,

Ema, M., and Ono, A., Derivation of subacute reference doses for drinking water quality management, The 51st EUROTOX2015, Porto, Portugal, September 2015.

Ono, A., Matsumoto, M., Takahashi, M., Kawamura, T., Hirata-Koizumi, M., and Hirose, A., Is a 14-day dose setting study able to predict its 28-day repeated dose toxicity?, The 51st EUROTOX2015, Porto, Portugal, September 2015.

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

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

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 (Texanol™, TMPD-MIB と略す)、2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (TXIB™, TMPD-DIB と略す)、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。

本研究で得られた成果は、シックハウス（室内空気汚染）問題に対する施策の立案に寄与するものである。

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LOAEL等の情報収集を行った。

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 27 年度から平成 29 年度の 3 年間に於いて有害性データを収集した物質は、以下の通りであった。

平成 27 年度 (9 物質)

- ・2-エチルヘキサノール
- ・TMPD-MIB
- ・TMPD-DIB
- ・環状シロキサン類 (オクタメチルシクロテトラシロキサン(D4)、デカメチルシクロペンタシロキサン(D5))、
- ・グリコール類 (プロピレングリコール、1,3-ブタンジオール)
- ・酢酸エステル類 (酢酸エチル、酢酸ブチル)

平成 28 年度 (7 物質)

- ・n-ブタノール
- ・テルペン類 (d-リモネン、 $\alpha$ -ピネン)
- ・グリコールエーテル類 (プロピレングリコールモノメチルエーテル、プロピレングリコールモノメチルエーテルアセテート、ジエチレングリコールモノメチルエーテル、ジエチレングリコールモノエチルエーテル)

平成 29 年度 (1 物質群、8 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)
- ・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

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等の係数を適用して導出した。不

確実係数としては、初期リスク評価であるため、LOEL を用いた場合は 10、曝露期間については動物種と平均寿命から算出した値<sup>1),2)</sup>、種差については 10、個体差 10 とした。これらの数値は、初期評価として、リスクの取りこぼしがないように安全側の不確実係数を用いている。

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

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

(倫理面での配慮)

本研究は、公表されている既存資料を中心とした情報収集を行った後、それらの整理を客観的におこなうものであり、特定の個人のプライバシーに係わるような情報を取り扱うものではない。資料の収集・整理にあたっては、公平な立場をとり、事実のみにもとづいて行う。本研究は、動物実験および個人情報扱うものではなく、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. 研究結果および考察

### C.1 諸外国の室内空気質規制

世界保健機関（WHO）の室内空気質ガイドライン、ドイツ連邦環境庁の室内空気質ガイドライン、フランス環境労働衛生安全庁（ANSES）の室内空気指針値、カナダ保健省の室内空気指針値に関する情報を収集した。各機関のガイドラインを付属資料1に表でとりまとめた。とりわけドイツ連邦環境庁は、2017年までに53の物質または物質群に対して室内空気質ガイドラインを定めており、2014年～2017年だけでも、1-ブタノール、1-メチル-2-ピロリドン（NMP）、酢酸エチル、トリクロロエチレン、2-ブタノンオキシム（メチルエチルケトキシム）、2-クロロプロパン、キシレン、C<sub>7</sub>～C<sub>8</sub>のアルキルベンゼン、プロピレングリコール、テトラクロロエチレンに室内濃度指針値を定めていた。またこの間、ホルムアルデヒドとトルエンについては再評価も実施している。なお、トルエンの再評価の際に、C<sub>7</sub>～C<sub>8</sub>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。

フランスでは2017年までに13物質の評価を行っており、2014年以降、アセトアルデヒドとエチルベンゼンの室内空気指針値を定めている。カナダでは、2017年までに10物質の評価を行っており、2014年以降、アセトアルデヒドの室内空気指針値を定めている。

WHOは、2010年までに公表を行った空気質ガイドライン、室内空気質ガイドライン（付属資料1に収載）以降の動きとして、近年のエビデンスに基づいて、空気質ガイドラインの改訂／新設に関する優先付けを実施し、2016年に公表した。喫緊に再評価（改訂）が必要な物質（グループ1）としては、粒子状物質、オゾン、二酸化窒素、二酸化硫黄、一酸化炭素があげられた。この次に再評価が必要な物質としては（グループ2）、カドミウム、クロム、鉛、ベンゼン、ダイオキシン類、多

環芳香族炭化水素があげられた。さらにこの次に再評価が必要な物質としては（グループ3）、ヒ素、マンガン、白金、バナジウム、ブタジエン、トリクロロエチレン、アクリロニトリル、硫化水素、塩化ビニル、トルエン、ニッケルがあげられた。当面再評価が不要な物質としては（グループ4）、水銀、アスベスト、ホルムアルデヒド、スチレン、テトラクロロエチレン、二硫化炭素、フッ化物、ポリ塩化ビフェニル、1,2-ジクロロエタン、ジクロロメタンがあげられた。

近年、室内ダスト中のフタル酸エステル類と子どもの喘息やアレルギーとの関連性が報告されている。フタル酸エステル類は、プラスチックを柔らかくする材料として、主に塩化ビニル樹脂に使用されており、室内では家庭用品や建材などに幅広く使用されている。室内ダスト中の化学物質に関しては、測定方法の標準化が容易ではなく、室内ダスト中の化学物質に対する基準値を設定している諸外国はみあたらない。また、室内で多くの製品に利用され、経気道、経口、経皮といった複数の曝露経路がある物質については、発生源対策が重要となる。そこでデンマークは、4種のフタル酸エステル類に対して、室内で使用される製品中の含有量を0.1wt%未満とし、その基準を超える室内用途製品の輸入と使用を禁止する政令を2012年に公布した。しかし、手続き上の問題などの指摘を欧州連合から受け、現在は撤回している。最近では、スウェーデンが成形品中のフタル酸エステル類の含有量をREACHで規制するよう提案している。

欧州におけるその後の動きとしては、電子・電気機器における特定有害物質の使用制限に関する欧州連合（EU）による指令であるRoHS指令において、2015年6月よりフタル酸エステル類の4物質（DEHP、BBP、DBP、DIBP）が規制対象として正式に追加された。各物質の最大許容濃度は0.1wt%となっている。

### 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、各物質のリスク評価値 (RfC) を導出した。そして、導出した RfC をもとに、各物質の室内濃度に対して 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。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。

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付属資料 2 の表 2-3 にまとめた。なお、付属資料では、導出した RfC の一覧を表 2-1、初期リスク評価の結果 (MOE 値) を表 2-2 に年度毎にまとめた。以下、優先付けの結果を年度毎に示す。

(平成 27 年度)

優先度 A の物質は、既築住宅では夏期の 2-エチルヘキサノール、デカメチルシクロペンタシロキサン(D5)、酢酸エチルであった。新築住宅では冬期の TMPD-DIB と酢酸エチルであった。

優先度 B の物質は、既築住宅では 2-エチルヘキサノール (冬期、秋期)、TMPD-DIB (夏期、冬期、秋期)、デカメチルシクロペンタシロキサン(D5) (冬期、秋期)、プロピレングリコール (夏期、冬期、秋期)、酢酸エチル (秋期) であった。新築住宅では冬期の TMPD-MIB、オクタメチルシクロテトラシロキサン(D4)、デカメチルシクロペンタシロキサン(D5)、酢酸ブチルであった。

優先度 C の物質は、既築住宅では TMPD-MIB (夏期、冬期)、1,3-ブタンジオール (夏期、冬期、秋期)、酢酸ブチル (夏期、冬期) であった。新築住宅では優先度 C の物質はなかった。

(平成 28 年度)

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

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

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

(平成 29 年度)

2 種の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 RfC を示すのみとした (付属資料、表 2-1)。

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)、ヘキサノール (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)、ノナンール (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ノール (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ノール (秋期) とメチルシクロヘキサノール (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、2017 年まで

に 53 の物質または物質群に対して室内空気質ガイドラインを設定し、現在も継続している。また、C<sub>7</sub>~C<sub>8</sub>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。低濃度で多種類の汚染物質が存在する室内環境では、特徴のある取り組みと言える。フランスとカナダでも、継続的に室内空気質ガイドラインの設定が実施されている。

日本の実態に基づいた健康リスクベースの優先取組リストを作成するために、これまでの全国調査で高頻度高濃度検出された揮発性有機化合物を中心に有害性情報を収集し、初期リスク評価を行った。3年間で24物質と1物質群の有害性情報を収集して RfC を導出し、21物質と1物質群の初期健康リスク評価を行った結果、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、夏期の2-エチルヘキサノール、デカメチルシクロペンタシロキサン(D5)、酢酸エチル、C<sub>8</sub>~C<sub>16</sub> 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）、C<sub>6</sub>~C<sub>9</sub> 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TMPD-DIBと酢酸エチル、冬期のジエチレングリコールモノエチルエーテル、プロピレングリコールモノメチルエーテルアセテート、 $\alpha$ -ピネン、冬期のトリメチルベンゼンであった。

#### 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.
- 3) 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.
- 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.
- 6) 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*



- 22(114): 38.  
doi:10.1186/s12199-017-0645-4, 2017.
- 7) Azuma K, Tanaka-Kagawa T, Jinno H. Health risk assessment of inhalation exposure to 2-ethylhexanol, 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate, and texanol in indoor environment. Proceedings of the 14th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, 2016, ID168, 7 pages.
  - 8) Azuma K, Uchiyama I, Tanigawa M, Bamba I, Azuma M, Takano H, Yoshikawa T, Sakabe K. Association of odor thresholds and responses in cerebral blood flow of the prefrontal area during olfactory stimulation in patients with multiple chemical sensitivity. PLoS ONE; 11(12): e0168006, 2016. doi:10.1371/journal.pone.0168006.
  - 9) Azuma K, Kouda K, Nakamura M, Fujita S, Tsujino Y, Uebori M, Inoue S, Kawai S. Effects of inhalation of emissions from cedar timber on psychological and physiological factors in an indoor environment. *Environments*; 3(4):37, 2016. doi:10.3390/environments3040037.
  - 10) Bamba I, Azuma K. Psychological and physiological effects of Japanese cedar indoors after calculation task performance. *Journal of the Human-Environment System*; 18(2):33–41, 2016.
  - 11) 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.
- 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—. 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.
  - 5) Azuma K, Tanaka-Kagawa T, Jinno H. Health risk assessment of inhalation exposure to 2-ethylhexanol, 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate, and texanol in indoor environment. 14th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, Ghent, Belgium, 3–8 July, 2016.
  - 6) Azuma K, Tanaka-Kagawa T, Jinno H. Health risk assessment of inhalation exposure to cyclic dimethylsiloxanes, glycols, and acetic esters in indoor environments. 28th Annual International Society for Environmental Epidemiology Conference, Rome, Italy, 1-4 September 2016.
  - 7) 東 賢一. 室内空気汚染の健康リスク. 第25回日本臨床環境医学会学術集会, 郡山, 2016年6月17日.
  - 8) 東 賢一. 住環境における健康リスク要因とそのマネジメント. 第87回日本衛生学会学術総会, 宮崎, 2017年3月26日-28日.

#### 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.

#### F. 知的財産権の出願・登録状況（予定含む） 予定なし

付属資料 1 : 世界保健機関 (WHO)、ドイツ、フランス、カナダの室内空気質ガイドライン

表 1-1 WHO のグローバルアップデート空気質ガイドライン (大気、室内)

汚染物質	ガイドライン値( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	曝露時間
PM <sub>2.5</sub>	25	24 時間平均値
	10	年間平均値
PM <sub>10</sub>	50	24 時間平均値
	20	年間平均値
オゾン	100	8 時間平均値
二酸化窒素	200	1 時間平均値
二酸化硫黄	40	年間平均値
	500	10 分間平均値
	20	24 時間平均値

表 1-2 WHO 欧州事務局による汚染物質に対する個別の室内空気質ガイドライン

汚染物質	ガイドライン	影響指標
ホルムアルデヒド	0.1 $\text{mg}/\text{m}^3$ (30 分平均値) いかなる時間帯もこの値を超えないこと ※長期曝露による肺機能への影響、鼻咽頭がんや骨髄性白血病の発症も防止できる	感覚刺激
ベンゼン	ユニットリスク : $6.0 \times 10^{-6} (\mu\text{g}/\text{m}^3)^{-1}$ 17 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ( $10^{-4}$ の発がんリスク) 1.7 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ( $10^{-5}$ の発がんリスク) 0.17 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ( $10^{-6}$ の発がんリスク)	急性骨髄性白血病 遺伝毒性
ナフタレン	10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (年平均値)	動物実験での炎症や悪性を伴う 気道損傷
二酸化窒素	200 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (1 時間平均値) 40 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (年平均値)	呼吸器症状、気管支収縮、気管支反応の増加、気道炎症、気道感染の増加をもたらす免疫防御の低下
一酸化炭素	100 $\text{mg}/\text{m}^3$ (15 分値) ※1 日のうちで頻繁にこのレベルを超えないこと 35 $\text{mg}/\text{m}^3$ (1 時間値) ※1 日のうちで頻繁にこのレベルを超えないこと 10 $\text{mg}/\text{m}^3$ (8 時間値) ※算術平均値 7 $\text{mg}/\text{m}^3$ (24 時間値) ※算術平均値	急性曝露時の運動負荷試験での運動能力の低下、虚血性心疾患の症状の増加 (心電図の ST 変化等)
ラドン	喫煙者のユニットリスク : $15 \times 10^{-5} (\text{Bq}/\text{m}^3)^{-1}$ 67 $\text{Bq}/\text{m}^3$ ( $10^{-2}$ の発がんリスク) 6.7 $\text{Bq}/\text{m}^3$ ( $10^{-3}$ の発がんリスク) 非喫煙者のユニットリスク : $0.6 \times 10^{-5} (\text{Bq}/\text{m}^3)^{-1}$ 1670 $\text{Bq}/\text{m}^3$ ( $10^{-2}$ の発がんリスク) 167 $\text{Bq}/\text{m}^3$ ( $10^{-3}$ の発がんリスク) ※安全な曝露レベルは存在しないが健康影響 (肺がん) を最小限にする参照レベルとして 100 $\text{Bq}/\text{m}^3$ を推奨	肺がん 白血病や胸郭外気道の癌に関する示唆的証拠
トリクロロエチレン	ユニットリスク : $4.3 \times 10^{-7} (\mu\text{g}/\text{m}^3)^{-1}$ 230 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ( $10^{-4}$ の発がんリスク) 23 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ( $10^{-5}$ の発がんリスク) 2.3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ( $10^{-6}$ の発がんリスク)	発がん性 (肝臓、腎臓、胆管、非ホジキンリンパ腫)
テトラクロロエチレン	250 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (年平均値)	神経行動障害、腎機能への影響

ベンゾ-a-ピレン	ユニットリスク : $8.7 \times 10^{-5} (\text{ng}/\text{m}^3)^{-1}$ 1.2 ng/m <sup>3</sup> (10 <sup>-4</sup> の発がんリスク) 0.12 ng/m <sup>3</sup> (10 <sup>-5</sup> の発がんリスク) 0.012 ng/m <sup>3</sup> (10 <sup>-6</sup> の発がんリスク)	肺がん
-----------	---	-----

表 1-3 WHO の室内燃焼生成物の目標排出基準

物質	器具	目標排出基準
PM <sub>2.5</sub>	煙突や排気フードを有する器具	0.80 mg/分以下
	排気口のないストーブ、ヒーター、燃料ランプ	0.23 mg/分以下
一酸化炭素	煙突や排気フードを有する器具	0.59 mg/分以下
	排気口のないストーブ、ヒーター、燃料ランプ	0.16 mg/分以下

表 1-4 WHO が空気質ガイドラインを今後アップデートする際のエビデンスの評価結果

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

表 1-5 ドイツ連邦環境庁の室内空気質ガイドライン

物質	指針値 II (mg/m <sup>3</sup> )	指針値 I (mg/m <sup>3</sup> )	制定年
ホルムアルデヒド		0.12	1977
		0.1 (30 分間値かつ 1 日の天井値)	2006 再評価 2016 再評価
トルエン	3	0.3	1996 2016 再評価
ペンタクロロフェノール (PCP)	0.001	0.0001	1997
一酸化炭素	60 (30 分) 15 (8 時間)	6 (30 分) 1.5 (8 時間)	1997
ジクロロメタン	2 (24 時間)	0.2	1997
二酸化窒素	0.350 (30 分) 0.06 (1 週間)	—	1998
スチレン	0.3	0.03	1998
水銀 (金属蒸気として)	0.00035	0.000035	1999
ジイソシアネート		数値設定なし	2000
リン酸トリス(2-クロロエチル) (TCEP)	0.05	0.005	2002
二環式テルペン (主に $\alpha$ -ピネン)	2	0.2	2003
ナフタレン	0.03	0.01	2013 改訂
C <sub>9</sub> ~C <sub>14</sub> の低芳香族含量の炭化水素混合物 (アルカン/ イソアルカン類)	2	0.2	2005
ダイオキシン様のポリ塩化ビフェニール	5 pg PCB-TEQ/m <sup>3</sup>		2007
C <sub>4</sub> ~C <sub>11</sub> の飽和脂肪族非環式アルデヒド類	2	0.1	2009
単環モノテルペン (主に d-リモネン)	10	1	2010
ベンジルアルコール	4	0.4	2010
ベンズアルデヒド	0.2	0.02	2010
トリクロラミン		0.2	2011
環状シロキサン (三量体から六量体)	4 (合計値)	0.4 (合計値)	2011
2-フルアルデヒド	0.1	0.01	2011
フェノール	0.2	0.02	2011
メチルフェノール (クレゾール)	0.05	0.005	2012
C <sub>9</sub> -C <sub>15</sub> アルキルベンゼン	1	0.1	2012
エチルベンゼン	2	0.2	2012
メチルイソブチルケトン (MIBK)	1	0.1	2013
エチレングリコールメチルエーテル (EGME)	0.2 (0.05 ppm)	0.02	2013
ジエチレングリコールメチルエーテル (DEGME)	6 (1 ppm)	2	2013 暫定
ジエチレングリコールジメチルエーテル (DEGDME)	0.3 (0.06 ppm)	0.03	2013
エチレングリコールエチルエーテル (EGEE)	1 (0.4 ppm)	0.1	2013
エチレングリコールモノエチルエーテルアセテート (EGEEA)	2 (0.4 ppm)	0.2	2013
ジエチレングリコールエチルエーテル (DEGEE)	2 (0.4 ppm)	0.7	2013 暫定
エチレングリコールブチルエーテル (EGBE)	1 (0.3 ppm)	0.1	2013
エチレングリコールブチルエーテルアセテート (EGBEA)	2 (0.3 ppm)	0.2	2013 暫定
ジエチレングリコールブチルエーテル (DEGBE)	1 (0.2 ppm)	0.4	2013 暫定
エチレングリコールヘキシルエーテル (EGHE)	1	0.1	2013
2-プロピレングリコール 1-メチルエーテル (2PG1ME)	10	1	2013
ジプロピレングリコールメチルエーテル (DPGME)	7	2	2013 暫定
2-プロピレングリコール 1-エチルエーテル (2PG1EE)	3	0.3	2013
プロピレングリコール 1-tert-ブチルエーテル (2PG1tBE)	3	0.3	2013
データが不十分なグリコールエステル類	0.05 ppm	0.005 ppm	2013
2-エチルヘキサノール	1	0.1	2013 暫定 デフォルト値

アセトアルデヒド	1	0.1	2013
1-ブタノール	2	0.7	2014
1-メチル-2-ピロリドン (NMP)	1	0.1	2014
酢酸エチル	6	0.6	2014
トリクロロエチレン		20 µg/m <sup>3</sup> (UR 6.4×10 <sup>-5</sup> (mg/m <sup>3</sup> ) <sup>-1</sup> , 10 <sup>-6</sup> risk)	2015
2-ブタノンオキシム (メチルエチルケトキシム)	0.06	0.02	2015
2-クロロプロパン	8	0.8	2015
キシレン	0.8	0.1	2015
C <sub>7</sub> ~C <sub>8</sub> のアルキルベンゼン	x/GVtol + y/GVxyl + z/GVeth < 1		2016
※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 (GVtol) : 0.3 mg/m <sup>3</sup> キシレンの指針値 (GVxyl) : 0.1 mg/m <sup>3</sup> エチルベンゼンの指針値 (GVeth) : 0.2 mg/m <sup>3</sup>			
プロピレングリコール	0.6	0.06	2016
テトラクロロエチレン	1.0	0.1	2017

※指針値 II (RW II) 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。RW II 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 (RW I) 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、RW I 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、RW I と RW II 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。RW I は、RW II に不確実係数 10 を除した値、つまり RW II 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。RW I 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、RW I 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。

表 1-6 ドイツの室内空気中の二酸化炭素のガイダンス値

区分	濃度範囲 (ppm)	衛生的な評価
1	< 1,000	無害
2	1,000~2,000	衛生面の懸念が上昇
3	> 2,000	容認できない

表 1-7 ドイツの総揮発性有機化合物のガイダンス値

区分	濃度範囲 (mg/m <sup>3</sup> )	衛生的な評価
1	≤ 0.3	支障なし
2	> 0.3~1	支障なし。ただし、個々の物質やグループ物質のための指針値は超過しないこと
3	> 1~3	衛生面の懸念あり
4	> 3~10	大きな支障あり
5	> 10	容認できない状況

表1-8 フランスにおける室内空気指針値のまとめ

物質	室内空気指針値 (VGAI*)		制定
ホルムアルデヒド	短期 VGAI (2 時間)	50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	2007 年
	長期 VGAI (1 年以上)	10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	
一酸化炭素	短期 VGAI		2007 年
	8 時間曝露	10 $\text{mg}/\text{m}^3$	
	1 時間曝露	30 $\text{mg}/\text{m}^3$	
	30 分曝露	60 $\text{mg}/\text{m}^3$	
ベンゼン	15 分曝露	100 $\text{mg}/\text{m}^3$	2008 年
	短期 VGAI: 1~14 日間	30 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	
	中期 VGAI: 14 日~1 年間	20 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	
	長期 VGAI: 一年間以上	10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	
	長期 VGAI: 生涯曝露 リスクレベル=10 <sup>-6</sup>	0.2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	
ナフタレン	長期 VGAI: 生涯曝露 リスクレベル=10 <sup>-5</sup>	2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	2009 年
	長期 VGAI: 一年間以上	10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	
トリクロロエチレン	中期 VGAI: 14 日~1 年間	800 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	2009 年
	長期 VGAI: 生涯曝露 リスクレベル=10 <sup>-6</sup>	2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	
	長期 VGAI: 生涯曝露 リスクレベル=10 <sup>-5</sup>	20 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	
テトラクロロエチレン	短期 VGAI: 1~14 日間	1380 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	2010 年
	長期 VGAI: 一年間以上	250 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	
PM <sub>2.5</sub> PM <sub>10</sub>	VGAI: 無し	—	2010 年
シアン化水素	VGAI: 無し	—	2011 年
二酸化窒素	短期 VGAI: 2 時間	200 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	2013 年
	長期 VGAI: 一年間以上	20 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	
アクロレイン	短期 VGAI: 1 時間	6.9 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	2013 年
	長期 VGAI: 一年間以上	0.8 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	
二酸化炭素	VGAI: 無し	—	2013 年
アセトアルデヒド	短期 VGAI: 1 時間	3000 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	2014 年
	長期 VGAI: 一年間以上	160 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	
エチルベンゼン	短期 VGAI (24 時間)	22 $\text{mg}/\text{m}^3$	2016 年
	長期 VGAI (1 年以上)	1.5 $\text{mg}/\text{m}^3$	

表1-9 カナダにおける室内空気指針値のまとめ

物質	最大ばく露限界	制定年
ホルムアルデヒド	長期 [8 時間] : 50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (40ppb) 短期 [1 時間] : 123 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (100 ppb)	2006 年
カビ (細菌)	カナダ保健省は、以下を勧告する。 湿度を制御すること、カビの増殖を防ぐために水で傷ついた住宅の修復をこまめに行うこと、 住宅用建物の中で繁殖しているカビ (見えないものも含む) を十分に除去すること	2007 年
一酸化炭素	長期 [24 時間] : 11.5 $\text{mg}/\text{m}^3$ (10 ppm) 短期 [1 時間] : 28.6 $\text{mg}/\text{m}^3$ (25 ppm)	2010 年
二酸化窒素	長期 [24 時間] : 100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.05 ppm) 短期 [1 時間] : 480 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.25 ppm)	1987 年
ラドン	200 Bq/ $\text{m}^3$	2007 年
オゾン	長期 [8 時間] : 40 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (20 ppb)	2010 年
トルエン	長期 [24 時間] : 2.3 $\text{mg}/\text{m}^3$ (0.6 ppm) 短期 [8 時間] : 15 $\text{mg}/\text{m}^3$ (4.0 ppm)	2011 年
微小粒子状物質 (PM <sub>2.5</sub> )	カナダ保健省は、以下を勧告する。 室内の PM <sub>2.5</sub> 濃度は可能な限り低く保たなければならない。 室内の主要な排出源に対応するため、料理の際には換気扇を使用し、室内での喫煙は許容しないこと。	2012 年
ナフタレン	長期 [24 時間] : 0.010 $\text{mg}/\text{m}^3$ (0.0019 ppm)	2013 年
ベンゼン	カナダ保健省は、以下を勧告する。 ベンゼンの室内濃度を可能な限り低く維持すること	2013 年
アセトアルデヒド	短期間曝露指針値 : 1420 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (1 時間値) 長期間曝露指針値 : 280 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (24 時間値)	2017 年

付属資料2：健康リスク評価結果

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、LOAEL を用いた場合は 10、曝露期間については（参考文献 1), 2), 3)）に基づき、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。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 2-1 室内環境汚染物質の RfC 一覧  
平成 27 年度有害性評価結果

	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		
2-EH	NOAEL	吸入	8	ヒト	目の刺激影響（瞬目頻度増加）	1	10	1	10	80	Kiesswetter et al. (2005)
TMPD-DIB	NOAEL	経口	30	ラット	肝重量の増加、血液生化学パラメータの変化	1	10	10	10	100	厚生省(1995)
TMPD-MIB	NOAEL	経口	1000	ラット	肝組織への影響	1	10	10	10	3300	Faber et al. (1992) supported by O'Donoghue (1984)
D4	NOAEL	吸入	420	ラット	肝臓への影響と肺の間質性炎症の悪化	1	3	10	10	250	Burns-Naas et al (2002)
D5	NOAEL	吸入	150	ラット	鼻腔上皮の炎症性病変	1	1	10	10	268	Jean et al (2015)
プロピレングリコール	NOAEL	吸入	160	ラット	気道粘膜の杯細胞増加	1	3	10	10	95	Suber et al (1989)
1,3-ブタンジオール	NOAEL	経口	750	イヌ	体重、臓器重量、組織検査、血液パラメータ等で影響がみられなかった	1	1	10	10	25000	Scala and Paynter (1967)
酢酸エチル	LOAEL	吸入	1280	ラット	嗅上皮の変性、体重増加の抑制	10	3	10	10	76	Christoph et al (2003); Hansen et al (1996)
酢酸ブチル	NOAEL	吸入	2400	ラット	体重増加の抑制、運動活性低下、軽微な嗅上皮の壊死	1	3	10	10	1429	Bernard et al., 1996; David et al., 2001

\* 吸入 (mg/m3). 経口 (mg/kg/day).



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

平成 28 年度有害性評価結果

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

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

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

平成 29 年度有害性評価結果

	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 <sub>8</sub> -C <sub>16</sub> 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-MI T	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 ( $\text{mg}/\text{m}^3$ ). 経口 ( $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ ).

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

2) 健康リスクの初期評価結果

表2-2 初期リスク評価結果の一覧

平成27年度評価結果

		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
2-エチルヘキサノール	2013 全国夏	93	既築	130	80	0.6	NIHS (2014)
	2013 東京都	100	既築	69	80	1.2	NIHS (2014)
	2012 全国夏	111	既築	122	80	0.7	NIHS (2013b)
	2012 全国冬	111	既築	20	80	4.0	NIHS (2013b)
	2011 全国冬	101	既築	36	80	2.2	NIHS (2013a)
TMPD-DIB	2013 全国夏	93	既築	64	100	1.6	NIHS (2014)
	2013 東京都	100	既築	10	100	10.0	NIHS (2014)
	2012 全国夏	111	既築	12	100	8.3	NIHS (2013b)
	2012 全国冬	111	既築	11	100	9.1	NIHS (2013b)
	2012 全国新築冬	45	新築	661	100	0.2	NIHS (2013b)
TMPD-MIB	2013 全国夏	93	既築	59	3300	55.9	NIHS (2014)
	2012 全国夏	111	既築	35	3300	94.3	NIHS (2013b)
	2012 全国冬	111	既築	22	3300	150.0	NIHS (2013b)
	2012 全国新築冬	45	新築	837	3300	3.9	NIHS (2013b)
D4	2012 全国新築冬	45	新築	78	250	3.2	NIHS (2013b)
D5	2013 全国夏	93	既築	690	268	0.4	NIHS (2014)
	2013 東京都	100	既築	280	268	1.0	NIHS (2014)
	2012 全国夏	111	既築	488	268	0.5	NIHS (2013b)
	2012 全国冬	111	既築	147	268	1.8	NIHS (2013b)
	2012 全国新築冬	45	新築	48	268	5.6	NIHS (2013b)
プロピレングリコール	2013 全国夏	93	既築	51	95	1.9	NIHS (2014)
	2013 東京都	100	既築	32	95	3.0	NIHS (2014)
	2012 全国夏	111	既築	93	95	1.0	NIHS (2013b)
	2012 全国冬	111	既築	17	95	5.6	NIHS (2013b)
1,3-ブタンジオール	2013 全国夏	93	既築	110	25000	227.3	NIHS (2014)
	2013 東京都	100	既築	130	25000	192.3	NIHS (2014)
	2012 全国夏	111	既築	93	25000	268.8	NIHS (2013b)
	2012 全国冬	111	既築	25	25000	1000.0	NIHS (2013b)
酢酸エチル	2013 全国夏	93	既築	170	76	0.4	NIHS (2014)
	2013 東京都	100	既築	64	76	1.2	NIHS (2014)
	2012 全国新築冬	45	新築	151	76	0.5	NIHS (2013b)
酢酸ブチル	2012 全国夏	111	既築	63	1429	22.7	NIHS (2013b)
	2012 全国冬	111	既築	33	1429	43.3	NIHS (2013b)
	2012 全国新築冬	45	新築	664	1429	2.2	NIHS (2013b)

(室内最大濃度データの出典)

NIHS. 2013a. Report at the 12th meeting, Committee on sickhouse syndrome: indoor air pollution, Ministry of Health, Labour and Welfare. National Institute of Health Sciences, Tokyo, Feb. 18, 2013.

NIHS. 2013b. 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. 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.

平成 28 年度評価結果

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

(室内最大濃度データの出典)

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

平成 29 年度評価結果

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 <sub>8</sub> -C <sub>16</sub> 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 <sub>8</sub> -C <sub>16</sub>	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 <sub>6</sub> -C <sub>9</sub> アルデヒド類	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 <sub>6</sub> -C <sub>9</sub>		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 $\mu$ g/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.

### 3) 今後の詳細リスク評価の優先度のまとめ

表 2-3 今後の詳細リスク評価の優先度のまとめ  
平成 27 年度まとめ

	優先度	室内環境汚染物質
既築住宅	A (詳細評価)	2-エチルヘキサノール (夏期) D5 (夏期) 酢酸エチル (夏期)
	B (情報収集)	2-エチルヘキサノール (冬期、秋期) TMPD-DIB (夏期、冬期、秋期) D5 (冬期、秋期) プロピレングリコール (夏期、冬期、秋期) 酢酸エチル (秋期)
	C (静観)	TMPD-MIB (夏期、冬期) 1,3-ブタンジオール (夏期、冬期、秋期) 酢酸ブチル (夏期、冬期)
新築住宅	A (詳細評価)	TMPD-DIB (冬期) 酢酸エチル (冬期)
	B (情報収集)	TMPD-MIB (冬期) D4 (冬期) D5 (冬期) 酢酸ブチル (冬期)
	C (静観)	

平成 28 年度まとめ

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

平成 29 年度まとめ

	優先度	室内環境汚染物質
既築住宅	A (詳細評価)	総 C <sub>8</sub> -C <sub>16</sub> 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 <sub>6</sub> -C <sub>9</sub> 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 <sub>6</sub> -C <sub>9</sub> 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、もしくは追加対象となる揮発性有機化合物のリスク評価に資する情報を収集するための「定量的 VOC 放散データベース」を構築する目的で、家庭用品の放散試験を実施し、放散化学物質の同定およびそれら VOC の気中濃度、放散速度等の分析データを集積した。

室内環境中において容積負荷率の高い壁紙・床用敷物製品 40 検体、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）、合計 80 検体を対象とし、加熱脱離-ガスクロマトグラフ/質量分析計を用いて放散化学物質を定量分析した。その結果、壁紙・床用敷物等からは室内濃度指針値が既設されている Toluene, *n*-Tetradecane に加え、*n*-Decane をはじめとする様々な脂肪族炭化水素類、エステル類、アルコール類等の有機溶剤が検出された。また、室内濃度指針値の新規策定が検討されている 2-Ethyl-1-hexanol については、放散試験に供した全製品から検出され、試験検体の単位面積 [unit; m<sup>2</sup>] 当たりの放散速度を算出した結果、クッションフロアやフロアタイルが高い値を示すことが明らかになった。他方、ウィンドウトリートメント製品については、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, 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate が約半数以上のサンプルから検出された。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。

本研究で集積した分析データを元に定量的 VOC 放散データベースの構築することによって、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ることから、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。

A. 研究目的

室内濃度指針値の見直し、もしくは追加対象となる揮発性有機化合物 (VOC; Volatile Organic Compounds) のリスク評価に資する情報を収集するための「定量的 VOC 放散デ

ータベース」を構築する目的で、家庭用品等の放散試験を実施し、放散化学物質の同定およびそれら VOC の気中濃度、放散速度等の分析データを集積した。

平成 28 年度は、室内環境中において容積

負荷率の高い壁紙・床用敷物等の内装材 40 製品を対象とし、シックハウス症候群との因果関係が指摘されている 2-Ethyl-1-hexanol について検討を行った。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 (Texanol™, TMPD-MIB と略す), 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate (TXIB™, TMPD-DIB と略す)について、それらの単位面積 [unit; m<sup>2</sup>] 当たりの放散速度および気中濃度 [μg/m<sup>3</sup>] 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

放散試験に供した家庭用品、ウィンドウトリートメント製品を表 1 に示す。壁紙および床用敷物等の内装材はメーカーや素材の異なる製品をインターネット市場より入手した。壁紙は 13 製品、床用敷物はクッションフロア 13 製品、フロアタイル 9 製品、カーペット 5 製品の合計 40 検体を選定した。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)。放散された空気試料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*<sub>8</sub> 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*<sub>8</sub> 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 μm)

Carrier Gas: He, 40 cm/sec

Split Ratio: 1 : 20

Oven Temperature:

40°C-(5°C/min)-280°C (4 min)

#### [MS]

Interface Temperature: 250°C

Ion Source Temperature: 200°C

Scan Range: 35-450 *m/z*

Scan Rate: 10 Hz

#### 放散速度の算出・計算方法

TD-GCMS の定量結果より、サンプル 1 m<sup>2</sup>あたりの放散速度 [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ほどの程度汚染されるかを評価するために気中濃度 [μg/m<sup>3</sup>] 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 m<sup>3</sup>、換気回数 0.5 回/h、温度は 28°C でモデル室内の床面積 8 m<sup>2</sup> に床材、壁面積 28 m<sup>2</sup> に壁紙、窓面積 4 m<sup>2</sup> 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 [m<sup>2</sup>/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 [m<sup>2</sup>/unit] = (検出濃度 [ng] / 1,000) x (10,000 / 面積 [24.617 cm<sup>2</sup>]) x (60 / 放散時間 [min])

次式により室内気中濃度 [μg/m<sup>3</sup>] を算出した。

気中濃度 [μg/m<sup>3</sup>] = (放散速度 [m<sup>2</sup>/unit] x 窓面積 [4 m<sup>2</sup>]) / (換気回数 [0.5 回/h] x 容積 [20 m<sup>3</sup>])

#### C. 研究結果および考察

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

各検体から放散された総揮発性有機化合物 (TVOC) の構成成分について、シミラリティ検索による定性分析を行った。ピークエリアの大きい順に検索を行い、上位 5 位のピークまでを同定した (フラグメントイオンの生成パターンから Unknown とされたピークについては除外した)。その結果、表 2 に示すように、多種多様な VOC 合計 48 化合物が同定された。壁紙検体については 2,4,6-Trimethyloctane, *n*-Octane 等の飽和炭化水素に加え、Toluene が主成分として検出された。床用敷物検体については、クッションフロアから柔軟剤として使用される Formamide が、フロアタイルから 2-Ethyl-1-hexanol が、また、カーペットから 2,2,4,6,6-Pentamethylheptane, 2,2,4,4-Tetramethyloctane 等が主成分として検出された。表 3 に示すように、これら VOC を検出頻度順に並べると、最も検出頻度の高かった VOC は室内濃度指針値が設定されている Toluene (22/40 = 55.0%)、次いで 2-Ethyl-1-hexanol (15/40 = 37.5%)、*n*-Decane (13/40 = 32.5%)、*n*-Undecane (12/40 = 30.0%)、*n*-Dodecane (12/40 = 30.0%) となった。

シックハウス症候群との因果関係が指摘されている 2-Ethyl-1-hexanol については、検出上位 5 位のピークに限定しなければ、40 製品すべてにおいて検出された。この結果より、GC/MS 分析

で得られた試験検体の定量データをもとに、試験料空気中の 2-Ethyl-1-hexanol 濃度 [ $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ] を計算し、気中濃度から試験検体の単位面積 (unit;  $\text{m}^2$ ) 当たりの放散速度 [ $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$ ] を算出した。結果を表 4 に示す。

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

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

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;  $\text{m}^2$ ] 当たりの 2-Ethyl-1-hexanol, TMPD-MIB および TMPD-DIB の放散速度 [ $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$ ] を算出し、気中濃度を算出した (表 5)。

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 (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  $400 \mu\text{g}/\text{m}^3$  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 (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 6)。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あることと示唆された。

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

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)

- 建材の健康影響評価委員会 (the Committee for Health-related Evaluation of Building Products; Ausschuss zur gesundheitlichen Bewertung von Bauprodukten) ([https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/355/dokumente/agbb\\_evaluation\\_scheme\\_2015.pdf](https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/355/dokumente/agbb_evaluation_scheme_2015.pdf))
- 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](http://www.mlit.go.jp/jutakuken-tiku/build/jutakuken-tiku_house_tk_000043.html))
- 建築に用いられる化学物質辞典 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](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

なし

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. 酒井信夫, 田原麻衣子, 遠山友紀, 五十嵐良明 “シックハウス(室内空気汚染)問題に係る規制状況調査 —低分子環状シロキサンの”第2回 次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム, 2016年9月
2. 酒井信夫, 田原麻衣子, 遠山友紀, 五十嵐良明, 奥田晴宏, 千葉真弘, 高橋美保, 竹熊美貴子, 菌部真理奈, 高梨嘉光, 斎藤育江, 上

村仁, 田中礼子, 今井美紗子, 高田博司, 小林浩, 鈴木光彰, 青木梨絵, 南真紀, 中嶋智子, 吉田俊明, 八木正博, 新井清, 荒尾真砂, 中島亜矢子, 濱野晃, 城間朝彰 “平成27年度 室内空気環境汚染に関する全国実態調査” 第53回全国衛生化学技術協議会年会, 2016年11月

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

10. 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
11. 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
12. 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
13. 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
14. 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
15. 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
16. 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
17. 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
18. 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
19. 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 放散試験に供した家庭用品

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

TF:トリプルフレッシュ(消臭機能), EVA:エチレン・酢酸ビニル共重合

表 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 壁紙および床用敷物等の内装材40製品のVOC構成成分

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



表3 壁紙および床用敷物等より放散されるVOCの検出頻度

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

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

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

表5 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 <sup>3</sup> ]	放散速度 [mg/unit/h]	気中濃度 [mg/m <sup>3</sup> ]	放散速度 [mg/unit/h]	気中濃度 [mg/m <sup>3</sup> ]	
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	
化学繊維	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	-
	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	
ブラインド	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 6 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 <sup>3</sup> ]		
		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 7 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	Dodecane	Octanal	Octamethylcyclotetrasiloxane
	B 表裏	Tetradecane	Octanal	Dodecane	Benzaldehyde	Phenol
	C 表裏	Dodecane	Hexamethylcyclotrisiloxane	Tetradecane	Hexamethylcyclotrisiloxane	7-Methylenetricadecane
	D 表裏	Tetradecane	Tetradecane	Hexamethylcyclotrisiloxane	Hexamethylcyclotrisiloxane	
	E 表裏	Tetradecane	Dodecane	9-Methylheptadecane	2-Butyl-1-decene	
	F 表裏	Benzaldehyde	Dodecane	9-Methylheptadecane	Heptyl dichloroacetate	
	G 表裏	Propylene Glycol	Benzene	1,3-Dichlorobenzene	Benzoic acid	
	H 表裏	1,3-Dioxolane	Hexamethylcyclotrisiloxane	Dimethylsilanediol	Hexamethylcyclotrisiloxane	Hexamethylcyclotrisiloxane
	I 表裏	1,3-Dioxolane	Benzaldehyde	1,3,5,7-Tetroxane	Benzoic acid	
	J 表裏	Tetradecane	Benzaldehyde	Benzoic acid	Hexamethylcyclotrisiloxane	
	K 表裏	Tetradecane	Hexadecane	5-Methyltetradecane	Benzaldehyde	
	L 表裏	Tetradecane	1-Bromotetracosane	10-Methylicosane	Hexamethylcyclotrisiloxane	Butylated hydroxytoluene
	M 表裏	Tetradecane	Dodecane	2,4-Bis(1,1-dimethylethyl)phenol	Dodecane	1-Butanol
	N 表裏	Tetradecane	Hexamethylcyclotrisiloxane	Decamethylcyclopentasiloxane		
	化学繊維	I 表裏	Tetradecane	Hexamethylcyclotrisiloxane	Hexamethylcyclotrisiloxane	
J 表裏		2,2-Dimethyldecane	Dodecane	2,5-Dimethylundecane	Undecane	3,6-Dimethylundecane
K 表裏		2,2-Dimethyldecane	Dodecane	2,5-Dimethylundecane	Undecane	2,5-Dimethylundecane
L 表裏		Dodecane	1-Butanol	Hexamethylcyclotrisiloxane	2,6,11-Trimethylundecane	Tetradecane
M 表裏		Dodecane	1-Butanol	Hexamethylcyclotrisiloxane	Tetradecane	2,6,11-Trimethylundecane
N 表裏		Tetradecane	Hexamethylcyclotrisiloxane	(3-Methyl-oxiran-2-yl)-methanol	Hexadecane	
O 表裏		Tetradecane	Hexamethylcyclotrisiloxane	1,4-Dichlorobenzene	Hexadecane	
P 表裏		4-Methyldecane	2,5-Dimethylundecane	5-Ethyl-2,2,3-trimethylheptane	3-Methyl-5-propylnonane	2,2-Dimethyldecane
Q 表裏		5-Butylnonane	2,5-Dimethylundecane	5-Ethyl-2,2,3-trimethylheptane	3-Methyl-5-propylnonane	2,2-Dimethyldecane
R 表裏		Hexamethylcyclotrisiloxane	Tetradecane	Octamethylcyclotetrasiloxane	Octamethylcyclotetrasiloxane	
S 表裏		Hexamethylcyclotrisiloxane	Tetradecane	Butylated hydroxytoluene	Octamethylcyclotetrasiloxane	
T 表裏		Hexamethylcyclotrisiloxane	Tetradecane	Butylated hydroxytoluene	Octamethylcyclotetrasiloxane	
U 表裏		Hexamethylcyclotrisiloxane	Tetradecane	Butylated hydroxytoluene	Octamethylcyclotetrasiloxane	
V 表裏		Hexamethylcyclotrisiloxane	Tetradecane	Butylated hydroxytoluene	Octamethylcyclotetrasiloxane	
W 表裏		Hexamethylcyclotrisiloxane	Tetradecane	Butylated hydroxytoluene	Octamethylcyclotetrasiloxane	
ブラインド	R 表裏	Butylated hydroxytoluene	Toluene	1,6-Dioxacyclododecane-7,12-dione	Dodecane	Tetradecane
	S 表裏	Butylated hydroxytoluene	Toluene	Tetradecane	1,6-Dioxacyclododecane-7,12-dione	Dodecane
	T 表裏	Hexamethylcyclotrisiloxane	Toluene			
	U 表裏	Hexamethylcyclotrisiloxane	Toluene			
	V 表裏	Butyl acetate	Acetic acid	o-Xylene	1-Butanol	Hexanal
	W 表裏	Butyl acetate	Acetic acid	o-Xylene	1-Butanol	Hexanal

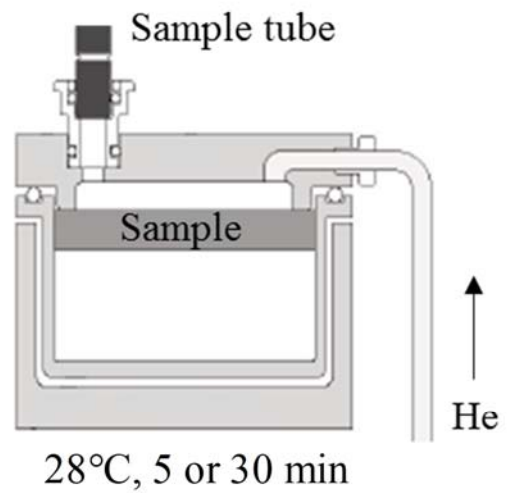
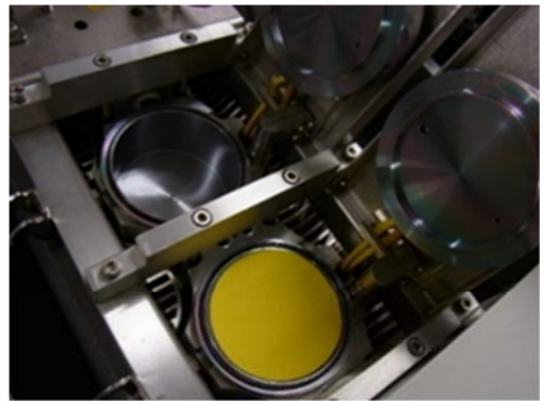
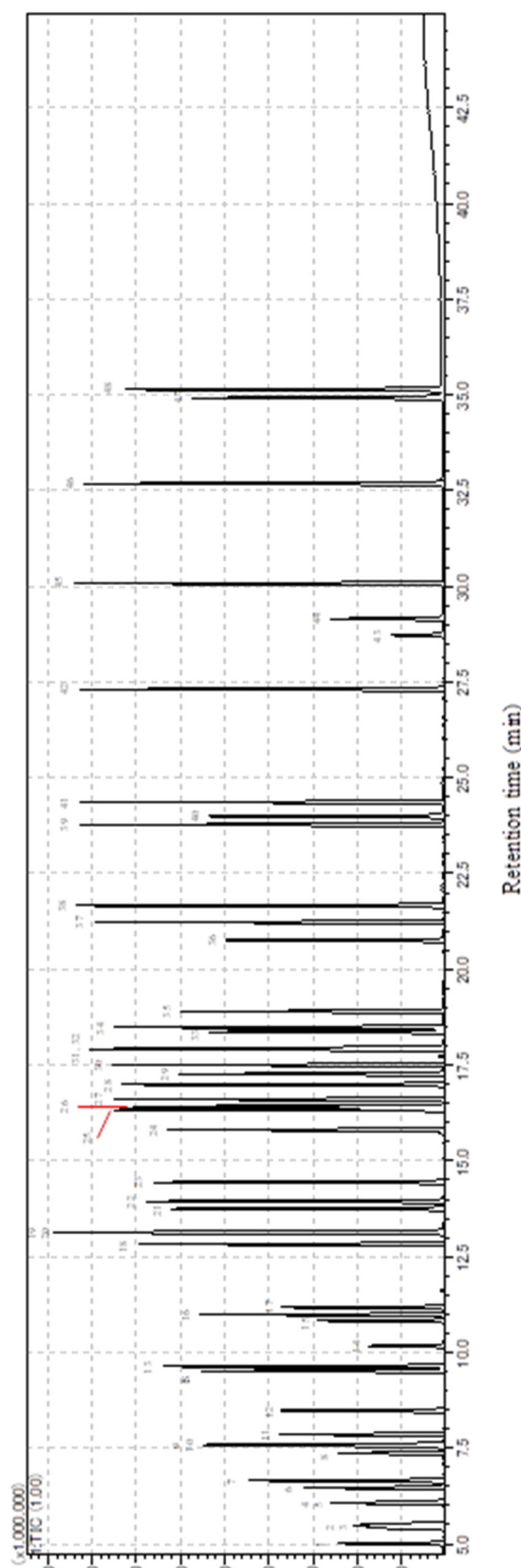


図1 超小形チャンバーμ-CTE250の装置概略図

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, 5; 2,4-Dimethylpentane, 5; 2,4-Dichloroethane, 5; 6, n-Butanol, 7; Benzene, 8; 1,2-Dichloropropane, 9; Bromo dichloromethane, 10; Trichloroethylene, 11; n-Heptane, 12; 4-Methyl-2-Pentanone, 13; Toluene, 14; Dibromochloromethane, 15; n-Butylacetate, 16; n-Octane, 17; Tetra chloroethylene, 18; Ethylbenzene, 19; m-Xylene, 20; p-Xylene, 21; Styrene, 22; o-Xylene, 23; n-Nonane, 24; (1S)-(-)-Alpha-Pinene, 25; 3-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; Norbornene, 37; n-Undecane, 38; 1,2,4,5-Tetramethylbenzene, 39; Naphthalene, 40; Decanal, 41; n-Dodecane, 42; n-Tridecane, 43; TMPD-AIB-1, 44; TMPD-AIB-2, 45; n-Tetradecane, 46; n-Pentadecane, 47; TMPD-DIB, 48; n-Hexadecane, 49; Toluene-d<sub>8</sub>, 49.

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
Mukai M. Isobe T. Okada K. Murata M. Shigeyama M. Hanioka N.	Species and sex differences in propofol glucuronidation in liver microsomes of humans, monkeys, rats and mice.	Pharmazie	70	466-470	2015
Kawakami T. Isama K. Ikarashi Y.	Survey of isothiazolinones and other preservatives in household wet tissue products in Japan.	J. Environ. Chem	25	207-214	2015
Kato H. Fujii S. Takahashi M. Matsumoto M. Hirata-Koizumi, M. Ono A. Hirose A.	Repeated dose and reproductive/developmental toxicity of perfluorododecanoic acid in rats.	Environ Toxicol	30	1244-1263	2015
Ono A. Kobayashi K. Serizawa H. Kawamura T. Kato H. Matsumoto M. Takahashi M. Hirata-Koizumi M. Matsushima Y. Hirose A.	A repeated dose 28-day oral toxicity study of $\beta$ -bromostyrene in rats.	Fundam. Toxicol. Sci.	2	191-200	2015
Hirata-Koizumi M. Fujii S. Hina K. Matsumoto M. Takahashi M. Ono A. Hirose A.	Repeated dose and reproductive/developmental toxicity of long-chain perfluoroalkyl carboxylic acids in rats: perfluorohexadecanoic acid and perfluorotetradecanoic acid.	Fundam Toxicol Sci.	2(4)	177-190	2015



Miyake Y. Hirose R. Isobe T. Hanioka N.	Molecular cloning and functional analysis of minipig UDP-glucuronosyltransferase 1A6.	Xenobiotica	46(3)	193-199	2016
Kishi N. Takasuka A. Kokawa Y. Isobe T. Taguchi M. Shigeyama M. Murata M. Suno M. Hanioka N.	Raloxifene glucuronidation in liver and intestinal microsomes of humans and monkeys: contribution of UGT1A1, UGT1A8, and UGT1A9.	Xenobiotica	46(4)	289-295	2016
Hanioka N. Isobe T. Kinashi Y. Tanaka-Kagawa T. Jinno H.	Hepatic and intestinal glucuronidation of mono(2-ethylhexyl) phthalate, an active metabolite of di(2-ethylhexyl) phthalate, in humans, dogs, rats and mice: an in vitro analysis using microsomal fractions.	Arch Toxicol	90(7)	1651-1657	2016
Isobe T. Kofuji K. Okada K. Fujimori J. Murata M. Shigeyama M. Hanioka N. Murata Y.	Adsorption of histones on natural polysaccharides: The potential as agent for multiple organ failure in sepsis.	Int J Biol Macromol	84	54-57	2016
Nguyen LP. Yamashita M. Yoo SJ. Ito K.	Prediction of convective heat transfer coefficient of human upper and lower airway surfaces in steady and unsteady breathing conditions.	Building and Environment	100	pp172-185	2016
Ito K.	Toward the development of an in silico human model for indoor environmental design.	Proceedings of the Japan Academy-Series B,	92(7)	pp 185-203	2016

Murga A. Yoo AJ. Ito K.	Multi-stage downscaling procedure to analyze the impact of exposure concentration in a factory on a specific worker through CFD,	Indoor and Built Environment,  DOI: 10.1177/1420326X16677331		Accepted	2016
清水久美子 秋山卓美 伊佐間和郎 河上強志 五十嵐良明	グアニジン系加硫促進剤の感作性評価と家庭用ゴム製品の実態調査	国立衛研報	134	42-49	2016
Matsumoto M. Todo H. Akiyama T. Hirata-Koizumi M. Sugibayashi K. Ikarashi Y. Ono A. Hirose A. Yokoyama K.	Risk assessment of skin lightening cosmetics containing hydroquinone.	Regul Toxicol Pharmacol	81	128-135	2016
Hirata-Koizumi M. Ise R. Kato H. Matsuyama T. Nishimaki-Mogami T. Takahashi M. Ono A. Ema M. Hirose A.	Transcriptome analyses demonstrate that Peroxisome Proliferator-Activated Receptor $\alpha$ (PPAR $\alpha$ ) activity of an ultraviolet absorber, 2-(2'-hydroxy-3',5'-di-tert-butylphenyl)benzotriazole, as possible mechanism of their toxicity and the gender differences.	J Toxicol Sci	41(5)	693-700	2016
Matsumoto M. Todo H. Akiyama T. Hirata-Koizumi M. Sugibayashi K. Ikarashi Y. Ono A. Hirose A. Yokoyama K.	Risk assessment of skin lightening cosmetics containing hydroquinone.	Regul Toxicol Pharmacol,	81	128-135	2016

Azuma K. Tanaka-Kagawa T. Jinno H.	Health risk assessment of inhalation exposure to 2-ethylhexanol, 2,2,4-trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyrate, and texanol in indoor environment.	Proceedings of the 14th International Conference on Indoor Air Quality and Climate	ID16 8	7 pages.	2016
Azuma K. Uchiyama I. Tanigawa M. Bamba I. Azuma M. Takano H. Yoshikawa T. Sakabe K.	Association of odor thresholds and responses in cerebral blood flow of the prefrontal area during olfactory stimulation in patients with multiple chemical sensitivity.	PLoS ONE; e0168006, doi:10.1371/journal.pone.0168006.	11 (12)		2016
Azuma K. Kouda K. Nakamura M. Fujita S. Tsujino Y. Uebori M. Inoue S. Kawai S.	Effects of inhalation of emissions from cedar timber on psychological and physiological factors in an indoor environment.	Environments doi:10.3390/environments3040037.	3(4)	37	2016
Bamba I. Azuma K.	Psychological and physiological effects of Japanese cedar indoors after calculation task performance.	Journal of the Human-Environment System	18(2)	33-41	2016
Isobe T. Ohkawara S. Tanaka-Kagawa T. Jinno H. Hanioka N.	Hepatic glucuronidation of 4-tert-octylphenol in humans: inter-individual variability and responsible UDP-glucuronosyltransferase isoforms.	Arch Toxicol May 12. doi: 10.1007/s00204-017-1982-1	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 $\alpha$ -HeLa-9903 細胞を用いたエストロゲン受容体恒常発現系転写活性化試験法の評価報告書	AATEX-JaCV AM	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