

分担研究報告書

毒物又は劇物の指定等に係る急性吸入毒性試験の代替法の精緻化及び標準化のための研究

毒物/劇物判定と暴露経路に関する情報収集に関する研究

研究分担者 小川久美子 星薬科大学毒性学研究室教授

研究要旨

毒物及び劇物（毒劇物）は、原則、動物を用いた急性毒性試験における LD_{50} ・ LC_{50} 値から判定されており、投与方法には経口、経皮及び吸入が想定されている。ヒトへの吸入暴露が想定される化合物については、吸入試験による評価が必要であるが、全身暴露法は大規模な暴露装置が必要となるため、実施可能な施設がわずかである。また、頭部/鼻部暴露法は、長期間の拘束ストレスが結果に影響しうる。そうした困難さから、毒劇物判定並びに化学品の分類および表示に関する世界調和システム（GHS）分類に使用可能な吸入毒性情報は限定的である。また、近年は 3R に配慮した *in vitro* 評価法も希求されている。

本研究では、急性吸入毒性評価のための *in vivo* 試験代替法としての TIPS 法、及び *in vitro* 試験代替法としての A549 細胞の細胞毒性を指標とした評価法の意義を解析するため、評価値に及ぼす暴露経路並びに投与方法の影響を検討することを目的とした。これまでに検討してきた 49 の被験物質について、ラットにおける経口による急性毒性の LD_{50} を公表情報から確認し、吸入による急性毒性の LC_{50} と比較し、GHS 区分及び毒劇物判定を検討した。経口および吸入による急性毒性のデータが揃っている 45 化合物のうち、約 80%は経口暴露よりも吸入暴露において急性毒性が高度であった。特に、規制対象外から劇物または毒物に分類が変わる化合物が約 50%を占めていた。更に劇物から毒物に分類が変わる化合物も認められた。このことから、吸入による毒性が懸念される化合物については、経口暴露の急性毒性データから毒劇物の判断をすることは適切ではなく、毒物又は劇物の指定においては、吸入による毒性評価を実施するか、あるいは、化合物の特徴に即した適切な換算方法を考慮する必要性があると考えられた。

A. 研究目的

毒物及び劇物（毒劇物）は、原則、動物を用いた急性毒性試験における LD_{50} ・ LC_{50} 値から判定されており、投与方法には経口、経皮及び吸入が想定されている。ヒトへの吸入暴露が想定される化合物については、吸入試験による評価が必要であるが、全身暴露法は大規模な暴露装置が必要となるため、実施可能な施設がわずかである。また、頭部/鼻部暴露法は、長期間の拘束ストレスが結果に影響しうる。そうした困難さから、毒劇物判定並びに化学品の分類および表示に関する世界調和システム（GHS）分類に使用可能な吸入毒性情報は限定的である。また、近年は 3R に配慮した *in vitro* 評価法も希求されている。

津田研究協力者等は、これまでにラットを用いた被験物質の経気管肺内噴霧投与方法（Intra-tracheal intrapulmonary spraying ; TIPS 法）による汎用性の高い吸入暴露評価法を開発し、多種の多層カーボンナノチューブ（MWCNT-7 等）の肺又は胸膜中皮に対する発がん性を報告してきた（Saleh *et al.* Part Fibre Toxicol. 2020;17(1):48 等）。また、A549 ヒト肺癌細胞株を用い

た Neutral Red の取込みを指標とした細胞毒性評価（A549-NRU assay）が、*in vivo* 吸入毒性と関連することを報告してきた（Vachiraarunwong *et al.* Toxicol Lett. 2026; 415:111803）。我々の先行科研費研究では、A549-NRU assay の LD_{50} 予測値とラット 4 時間吸入暴露の LD_{50} 値がある程度一致すること、TIPS 法では全身吸入暴露法と比較して毒性が同等、あるいは細胞傷害性や刺激性が強い物質は強く表れる傾向があること、さらに、TIPS 法の LD_{50} は A549-NRU assay の LD_{50} 予測値より高値となる傾向がみられたものの、両者の間に強い正の相関性あることが示された。また、肝毒性や神経毒性を示す物質は A549-NRU assay よりも TIPS 法の LD_{50} が低値となることも示された。

本研究では、急性吸入毒性評価のための *in vivo* 試験代替法としての TIPS 法、及び *in vitro* 試験代替法としての A549 細胞の細胞毒性を指標とした評価法の意義を解析するため、評価値に及ぼす暴露経路の影響を検討することを目的とした。

B. 研究方法

これまでに *in vitro* A549-NRU assay 及び経気管肺内噴霧投与法を用いて検討してきた49の被験物質について、海外評価書及び厚生労働省の「職場のあんぜんサイト」GHS 対応モデルラベル・モデル SDS 情報、https://anzeninfo.mhlw.go.jp/anzen_pg/GHS_MSD_FND.aspxなどの公開情報を検索して、ラットにおける経口による急性毒性のLD₅₀を確認し、吸入による急性毒性のLC₅₀と比較して、GHS 区分及び毒劇物判定を検討した。

(倫理面の配慮) 該当しない

C. 研究結果

49 化合物のうち、経口および吸入による急性毒性のデータが揃っている物質は45化合物であった。得られたLD₅₀及びLC₅₀から求めたGHS 区分を比較したところ、経口による急性毒性区分が吸入による急性毒性区分を上まわるもの(経口区分4, 吸入区分3あるいは2など)が38化合物(84.4%)、経口による急性毒性区分と吸入による急性毒性区分が同等のものが6化合物(13.3%)であった。また、経口による急性毒性区分が吸入による急性毒性区分を下まわるもの(経口区分2, 吸入区分3)は1化合物(2.2%)であった(表1)。

さらに、経口暴露と吸入暴露で毒物劇物分類が変わらないものは14化合物(31.1%)であり、経口暴露では規制対象外で吸入暴露では劇物に分類されるものは20化合物(44.4%)、経口暴露では劇物で吸入暴露では毒物に分類されるものは4化合物(8.9%)、経口暴露では規制対象外で吸入暴露では毒物に分類されるものは6化合物(13.3%)であった。また、経口暴露では毒物に分類され吸入暴露では劇物に分類されるものは1化合物(2.2%)認められた。

D. 考察

検討した45化合物のうち、約80%は経口暴露よりも吸入暴露において急性毒性が高度であった。特に、規制対象外から劇物または毒物に分類が変わる化合物が約50%を占めていた。更に劇物から毒物に分類が変わる化合物も認められた。このことから、吸入による毒性が懸念される化合物については、経口暴露の急性毒性データから毒物劇物の判断をすることは適切ではないと考えられた。

E. 結論

今回検討した45化合物の結果からは、吸入による急性毒性は、経口による急性毒性よりも高度になる場合が多いため、吸入による暴露シナリオが想定される化合物については、経口による毒性評価をそのまま外挿することは不適切であると考えられた。該当する化合物の毒物又は劇物の指定においては、吸入による毒性評価を実施するか、あるいは、化合物の特徴に即した適切な換算方法を考慮する必要があると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 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. 被験物質の吸入急性毒性と経口急性毒性

No.	Chemicals	MW	MW/24.45/ 1000	吸入急性毒性			経口急性毒性	
				rat LC50 (ppm)	(mg/mL)	吸入 GHS区分	rat LD50 (mg/kg bw)	経口 GHS区分
1	1,1,2-Trichloroethane	133.4	0.00546	2000	10.9	3	837	4
2	1,2-Dichloroethane	98.96	0.00405	1000	4	3	670? 967	4
3	1,2-Dichloropropane	112.99	0.00462	2000	9.2	3	487? 2200	4
4	1,4-Dioxane	88.11	0.00360	9158	33	4	5170? 7300	外
5	1-Chloro-2-propanol	94.54	0.00387	1000	3.9	3	= 100~300	3
6	1-Hexyl mercaptan	118.24	0.00484	1080	5.2	3	1254	4
7	1-Nitropropane	89.09	0.00364	1512	5.51	3	455? 484	4
8	2,3-Butanedione	86.09	0.00352	2250-5200	7.92-18.31	3	1580? 3400	4
9	2-Butoxyethanol	118.17	0.00483	450	2.17	2	470	4
10	2-Dimethylaminoethanol	89.14	0.00365	1641	5.98	3	1242? 2340	4
11	2-Ethoxyethyl acetate	132.16	0.00541	2119-3166	11.45-17.11	3	2,900~7,500	5
12	2-Methoxyethanol	76.09	0.00311	5141	16	4	2,370-5,490	5
13	2-Nitropropane	89.09	0.00364	490	1.79	2	720	4
14	3-(Methylthio)propanal	104.17	0.00426	1036-1105	4.42-4.71	3	490-1050	4
15	3,4-Dichloro-1-butene	124.99	0.00511	2100	10.7	3	577? 1153	4
16	3-Methyl-2-butenal	84.12	0.00344	1076	3.7	3	690	4
17	Acetone	58.08	0.00238	32000	76	外	= 5800~9800	外
18	Acetonitrile	41.05	0.00168	10679	17.9	4	= 1315? 6702	4
19	Acetylacetone	100.12	0.00409	1224	5.01	3	570~1000	4
20	Acrylic acid	72.06	0.00295	1221	3.6	3	? 33.5~3,200	? (4)
21	Allyl acetate	100.12	0.00409	500	2.05	2	130	3
22	Allyl alcohol	58.08	0.00238	165	0.39	2	64	3
23	Aniline	93.13	0.00381	250	0.95	2	440? 1072	4
24	Benzyl mercaptan	124.21	0.00508	178	0.90	2	493	4
25	Bis(2-chloroethyl) ether	143.01	0.00585	56.4	0.33	1	75? 215	3
26	Carbon tetrachloride	153.82	0.00629	8000	50.3	4	2800-10180	5
27	Chloroacetone	92.52	0.00378	121	0.46	2	100	3
28	Chloroform	119.38	0.00488	2310	11.3	3	445? 2000	4
29	Cyclohexanone	98.14	0.00401	2450	9.83	3	800? 3460	4
30	Dibromomethane	173.83	0.00711	3978	28.3	4	= 1000	4
31	Dichloromethane	84.93	0.00347	18371	63.8	4	= 1410? 2524	4
32	Ethylene glycol monoisobutyl ether	118.17	0.00483	707-1000	3.41-4.83	3	470? 3000	4
33	Formaldehyde	30.03	0.00123	480	0.59	2	600? 800	4
34	Glycidol	74.08	0.00303	820	2.48	3	420	4
35	Hexahydro-1H-azepine	99.17	0.00406	604	2.45	3	> 20.7	2
36	Malononitrile	66.06	0.00270	52.3-78.6	0.14-0.21	1	14? 61	2
37	Methacrylonitrile	67.09	0.00274	328	0.90	2	= 25? 240	2
38	Methylhydrazine	46.07	0.00188	78	0.15	1	33	2
39	N-Nitrosodimethylamine	74.08	0.00303	78	0.24	1	23-41	2
40	N,N-Dimethylacetamide	87.12	0.00356	1238	4.41	3	4390? 5809	5
41	N,N-Dimethylformamide	73.09	0.00299	1572	4.7	3	2,000~7,170	4
42	N,N,N',N'- Tetramethylethylenediamine	116.2	0.00475	1318	6.26	3	469? 1580	4
43	o-Chlorophenol	128.56	0.00526	390	2.05	2	40? 2000	4
44	Polyacrylic Acid 5000 (10%)	5000	0.20450				?	
45	Quinoline	129.16	0.00528				? 262? 460	3
46	Sodium arsenite	129.91	0.00531				? 42	2
47	tert-Butyl alcohol	74.12	0.00303	>10000	>30.3	4	2,200-3,500	5
48	tert-Butylbenzene	134.22	0.00549	838	4.60	3	2500? 5000	5
49	Xylene	106.17	0.00434	5000	21.7	4	3500? 8800	5