

非定常状態における化学物質曝露の健康リスク評価手法の基礎的検討

Fundamental study of health risk assessment method in non-steady state chemical exposure

川口 真以子^{1*}・柳澤 利枝²・小池 英子²・鈴木 規之³
Maiko KAWAGUCHI^{1*}, Rie YANAGISAWA², Eiko KOIKE² and Noriyuki SUZUKI³

¹ 明治大学 農学部 農学科 動物環境学研究室

² 国立研究開発法人 国立環境研究所 環境リスク・健康領域

³ 国立研究開発法人 国立環境研究所 企画部

¹ Lab of Animal Behavior and Environmental Science, Department of Agriculture, School of Agriculture, Meiji University

² Health and Environmental Risk Division, National Institute for Environmental Studies

³ Planning Division, National Institute for Environmental Studies

摘 要

世界的にも自然災害・事故起因による化学物質曝露によるリスクが増加している。その対策の確立は急務であるが、災害・事故等の非定常状態によって想定される、時間とともに変動する曝露要因に対する健康リスクの評価はほとんど検討されていない。そこで、実際の非定常状態の化学物質曝露として想定される、「曝露歴の有無が与える健康影響の評価」及び「曝露量の変動が与える健康影響の評価」について、雄ラットを用いて実験的影響評価を試みた。評価対象物質としてはリン酸トリス（1,3-ジクロロ-2-プロピル）及びアセナフテンを用いた。その結果、「曝露歴の有無が与える健康影響の評価」は、従来法では評価できない可能性があることが示唆された。また、曝露歴の影響は時期特異性、化学物質特異性があることも明らかとなった。一方、「曝露量の変動が与える健康影響の評価」は、従来法で評価できる可能性が示された。

キーワード：アセナフテン、曝露歴、非定常的曝露、ラット、
リン酸トリス（1,3-ジクロロ-2-プロピル）

Key words：acenaphthene, exposure history, non-steady state chemical exposure, rats, tris- (1,3-dichloro-2-propyl) phosphate

1. はじめに

現代社会は、多種多様な化学物質のリスクにさらされている。特に近年、World Health Organization (WHO)をはじめ世界的に指摘されているのが、自然災害・事故起因の産業事故(Natural-hazard triggered technological accidents, Natech)による比較的短期間に多量の化学物質にさらされるリスクである(WHO, 2018)。Natechによるリスクは増加してきているとの指摘があるが(Cruz and Suarez-Paba, 2019)、わが国でも東日本大震災をはじめとして地震が頻発しており、危険物施設の火災及び流出事故が増加傾向にある。太平洋側で今後30年間に震度6弱以上の大地震が発生する可能性が高いと予測されていることから、自然災害・事故に起因する化学物質対策の確立は急務であるが、その中でも、災害・事故等の非定常状態によって想定される、時間とともに変動する曝露要因に対する健康リスク(図1)の評価は世界

的にもほとんど検討されていない。複数回同じ化学物質を曝露した研究としては、幼若期のみにPCBs (Poly chlorinated biphenyls)を曝露されたラットと胎児期と幼若期の両時期にPCBsを曝露されたラットを比較し、神経系や行動に対するPCBsの毒性影響が異なることが報告されているのみである(Bell *et al.*, 2016)。従来、化学物質の健康リスク評価として実施されている試験は、実験動物を用いた化学物質の急性曝露、あるいは一定量を反復投与した慢性

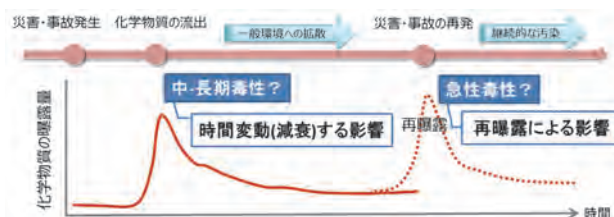


図1 災害・事故時の非定常状態によって想定される健康リスク。

受付：2023年8月17日，受理：2023年10月26日

* 〒214-8571 神奈川県川崎市多摩区東三田1-1-1, E-mail: maiko@meiji.ac.jp

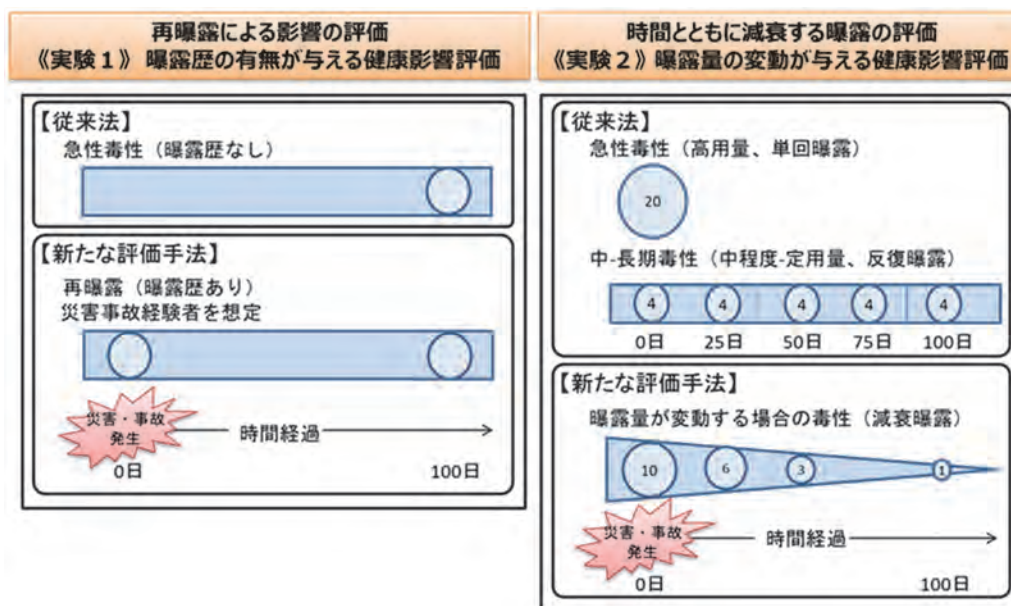


図2 非定常的曝露の影響評価手法のイメージ図。

曝露の影響を調べるものであり、非定常状態は想定されていない。しかし、非定常状態という新たなリスク評価における実験的影響評価手法は、近い将来に発生が予測されている災害・事故が起こる前に明らかにされるべき事象であり、緊急に実施し構築する必要がある。そこで我々は、実際の非定常状態の化学物質曝露として想定される、「曝露歴の有無が与える健康影響の評価」及び「曝露量の変動が与える健康影響の評価」について（図2）、Wistar-Imamichi系雄ラットを用いて実験的影響評価手法の構築を試みた。

2. 評価対象物質

評価対象物質は、経済協力開発機構（Organization for Economic Co-operation Development, OECD）における高生産量化学物質（High Production Volume Chemicals, HPV Chemicals）から2つ選抜した。HPV Chemicalsとは、OECD加盟国1カ国以上で年間の製造量が1,000トンを超える高生産量のもので、安全性の点検を行う対象としてその名称が高生産量化学物質点検事業（HPV Chemicals Assessment Program）の候補名簿に掲載されている物質である。また、日本での製造量と毒性の強度、事故・災害時の環境への漏出等を考慮し、災害時におけるヒトへの曝露の可能性が高い物質を選択した。1つは様々な生活用品に含有されている難燃剤の1つであるリン酸トリス（1,3-ジクロロ-2-プロピル）（tris-（1,3-dichloro-2-propyl）phosphate, TDCIPP, CAS No. 13674-87-8）、もう1つは染料原料、殺菌・殺虫剤として使用されているアセナフテン（CAS No. 83-32-9）とした（図3）。投与濃度を厳密に操作する必要があることから、本研究での評価対象物質の投

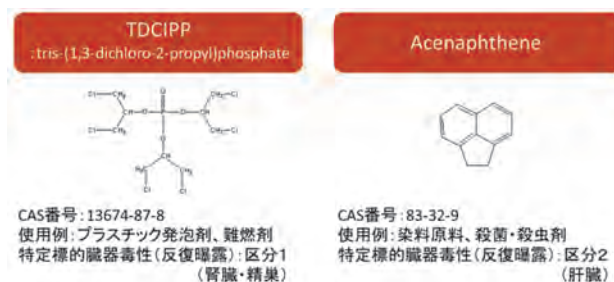


図3 本研究で用いた評価対象物質。

左: TDCIPP（リン酸トリス）、右: Acenaphthene（アセナフテン）

与方法は強制経口投与とした。

TDCIPPはリン酸エステル系難燃剤の1つであり、プラスチック、木材、繊維等の高分子有機材料に使用することで火災による延焼と延焼面積の拡大を低減させる効果があり、建材の断熱材や家電、カーペット等ファブリックスなどに広く使用されている。難燃剤の中で最も難燃効率の高い臭素系難燃剤は、正式に禁止はされていないものの2007年のRoHS（Restriction of the use of certain Hazardous Substances in electrical and electronic equipment）指令の制定により使用が控えられていることもあり（西澤, 2019）、リン酸エステル系難燃剤の使用量が多い（環境省, 2017）。TDCIPPは家財に多く含まれるほか、水道水、室内の埃、食品中など我々の環境中にも存在し（Cristale *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2019）、ヒトの母乳や尿・爪等からも検出されている（Kim *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2016）。「化学品の分類および表示に関する世界調和システム」(The Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals, GHS)によると、TDCIPPは腎臓と精巣において特定標的臓器毒性（反復曝露）区分1となっている。この特定標的臓器毒性の根拠となっているのは、ラッ

トの24ヶ月間混餌投与試験において、5 mg/kg/day 以上で雄の腎臓尿管上皮の過形成の発生率が増加し、精子過少など精巣への影響が認められたことによるものである。GHSとは、化学品の危険有害性を世界的に統一された一定の基準に従って分類し、災害防止及び人の健康や環境の保護に役立てようとするものである。他の先行研究としては、TDCIPPを20~80 mg/kg/day 餌を介して24ヶ月間投与したSprague-Dawley(SD)ラットにおいて、肝臓重量、腎臓重量の増加等、高用量群では死亡率の増加と体重減少及びヘモグロビン・赤血球等の減少が示されている(Freudenthal and Henrich, 2000)。また、TDCIPPを250~650 mg/kg/day 経口投与された成熟Wistar-Imamichiラットでは、高濃度群で肝臓・腎臓重量の増加と脾臓重量の減少、血中総蛋白質(TP)・アルブミン(ALB)・アミラーゼ(AMY)・リパーゼ(Lipa)の増加とアルカリフォスファターゼ(ALP)・ナトリウム(Na)・クロール(Cl)・無機リン(IP)の減少等が報告されている(Kobayashi *et al.*, 2021)。妊娠10日から離乳までTDCIPPを15~150 mg/kg/day 経口投与されたLong-Evansラットでは、高用量群で生まれた仔の体重増加の抑制と肝臓絶対重量の低下が報告されている(Moser *et al.*, 2015)。一方、TDCIPPは*in vitro*で内分泌かく乱化学物質としての特性を示し、その中でも特に抗アンドロゲン様作用が強いことが明らかになっている(Suzuki *et al.*, 2013)。関連する*in vivo*の現象としては、生後1~28日齢のWistar-imamichi系の雄ラットにTDCIPPを250 mg/kg/day 経口投与すると、成熟後の精巣等が低下し、性行動が抑制されることが報告されている(Kamishima *et al.*, 2018)。またヒトではTDCIPP濃度は血中アンドロゲン濃度で負の相関を示すこと等が報告されている(Meeker and Stapleton, 2010)。

アセナフテンは燃焼生成物であり、化石燃料などに含まれているため地震や火山の噴火などの自然災害の二次被害などにより流出が想定される物質である。アセナフテンの主な用途は、染料原料、殺菌・殺虫剤とされている。また、石炭及びディーゼル燃料や様々な化石燃料にも含まれることから、これらの燃焼による大気への排出が報告されており(日本芳香族工業会, 2000)、人に対する1日の予測最大曝露量はおよそ0.0044/μg/kg/dayである(環境省, 2010)。GHSによると、アセナフテンは肝臓において特定標的臓器毒性(反復曝露)区分2となっている。この特定標的臓器毒性の根拠となっているのは、ラットを用いた28日間強制経口投与毒性試験において、60~300 mg/kg/day 投与群で影響がみられ、高用量群の所見として、雌雄で総コレステロールの増加、肝臓重量の増加等がみられたことである。また、健康リスクの初期評価において、SDラットに1,000 mg/kg/dayのアセナフテンを2週間投与

し続けた結果、摂食量の低下、ヘモグロビン濃度等の低下、総コレステロール等の増加、肝臓及び腎臓重量の増加などが報告されている一方、単回曝露では、ラットに2,000 mg/kgを強制経口投与しても死亡例はなく、一般状態や体重、組織への影響がみられないということが報告されている(厚生労働省, 2010)。

3. 曝露歴の有無が与える健康影響の評価

3.1 TDCIPPの新生仔期曝露歴の有無が与える健康影響の評価

昨今の自然災害・事故発生間隔を鑑みると、生涯のうちで複数回大規模な災害で被災し、複数回化学物質に曝露されることも十分に考えられる。そこでまずは、化学物質への感受性が高い可能性のある新生児期に自然災害・事故により化学物質曝露された人が成人になり、再度、自然災害・事故により化学物質曝露されたことを想定し、雄ラットにTDCIPPを生後1日齢から7日齢にかけて(1週齢)毎日経口投与(新生仔期、曝露歴)した後、101日齢から107日齢にかけて(14週齢)再び経口投与(成熟期、再曝露)するモデルについて検討した。また、曝露歴の作用機序を検討するため、新生仔期のみにTDCIPPを投与する群も作成した。実験群は、(1)新生仔期・成熟期ともに溶媒であるsesame oilを投与したOO群(陰性対照, n=12)、(2)新生仔期TDCIPP・成熟期Oil投与したTO群(陽性対照, n=6)、(3)新生仔期Oil・成熟期TDCIPP投与したOT群(陽性対照, n=11)、(4)新生仔期・成熟期ともにTDCIPP投与したTT群(新しい評価手法, n=12)とした。新生仔期ラットに対する曝露用量は、先行研究(Kamishima *et al.*, 2018)に基づき250 mg/kg/dayと設定した。成熟期ラットに対する曝露用量は、先行研究において、TDCIPPの毒性影響が検出された650 mg/kg/dayとした(Kobayashi *et al.*, 2021)。最終投与翌日に体重測定、採血及び臓器重量測定(肝臓、腎臓、脾臓、副腎、心臓、精巣、精巣上体、陰茎、下垂体)を行った。肝臓、腎臓、脾臓、副腎に関しては病理組織学的な定量評価を行った。また採取した血液を用い、赤血球数、白血球数、網状赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)、平均赤血球色素濃度(MCHC)、血小板、好中球、リンパ球、単球、好酸球、好塩基球からなる血液学検査、及びTP、ALB、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、ALP、総ビリルビン(Tbill)、尿素窒素(BUN)、クレアチニン(CRE)、グルコース(Glu)、総コレステロール(Tcho)、中性脂肪(TG)、総胆汁酸(TBA)、乳酸脱水素酵素(LDH)、AMY、Lipa、Na、カリウム(K)、Cl、カルシウム(Ca)、IP、クレアチニンキ

ナーゼ(CPK), 血清鉄, 不飽和鉄結合能(UIBC), 総鉄結合能(TIBC)からなる血液生化学検査を行った。また, 内分泌学的解析として, 血中テストステロン濃度の測定を行った。

その結果, 新生仔期の曝露歴により, 成熟期曝露後の副腎絶対・相対重量, 血清鉄, UIBC が有意に変化した(表 1, 表 2) (Akimoto *et al.*, 2022)。一方, 副腎の重量増加に伴う病理組織学的変化はみられなかった。副腎重量, 血清鉄, UIBC 各々, OO 群と TO 群の間では有意差が認められなかったため, これらの OT 群と TT 群の間の有意差は新生仔期曝露の影響ではなく, 新生仔期曝露と成熟期曝露の相互作用により表れたと考えられる。その他の項目に関しては, 曝露歴による影響は検出されなかった (Akimoto *et al.*, 2022)。本研究結果より, 新生児期に災害・事故等によって化学物質に曝露され, 成人期に再曝露されるケースの健康リスクは, 従来法の単回曝露, もしくは反復曝露では評価できない可能性があることが示され, 曝露歴の有無を考慮した健康影響評価法の有用性が示唆された。

一方, 本研究では成熟期単独の曝露影響が多くの項目で認められた(表 1, 表 2)。これらの影響は TDCIPP 成熟期曝露についての報告 (Kobayashi *et al.*, 2021) とほぼ同様であることから, データの堅牢性が示された。また, 抗アンドロゲン作用を有し (Suzuki *et al.*, 2013) GHS でも精子数への影響が指摘されていることから, 性行動, 雄性生殖器官(本試験で重量を検討したのは精巣・精巣上体・陰茎)や血中テストステロン濃度, 精子数への影響が予測されたため性行動試験と精巣上体を用いた精子数の測

定も実施した。しかし性行動の一部と血中テストステロン濃度が成熟期曝露で低下した一方, 曝露歴による影響は表れなかったことから, 抗アンドロゲン物質に影響されうるこれらの項目への新生児期曝露歴による影響は少ないことが示唆された。

新生仔期の TDCIPP 曝露歴による影響が認められた血清鉄は血清の中でトランスフェリンと結合した鉄であり, UIBC は鉄と結合していないトランスフェリンのことを表す。血清鉄と UIBC は貧血症状を特定するための指標とされ, 貧血とはヘモグロビン量が正常以下に減少した状態のことである。曝露歴の有無により血清鉄, UIBC が変化したメカニズムとして考えられるのは, TDCIPP の抗アンドロゲン作用による鉄代謝への影響が挙げられる。ペプチドホルモンの一種であるヘプシジンは鉄の吸収を抑制する働きを持ち, 体内の鉄代謝と関わりのあるホルモンであり, ヘプシジン合成が抑制されることで鉄の吸収は促進される。ヘプシジンの発現を抑制する因子の 1 つにテストステロンが挙げられる (Guo *et al.*, 2013)。TDCIPP には抗アンドロゲン作用が確認され, かつ成熟期曝露により血中テストステロン濃度は低下していたため, ヘプシジンの発現が促進された可能性がある。このことから, TDCIPP の成熟期曝露によりヘプシジンの増加が起これ, 新生仔期曝露歴により更に増強され, 鉄の吸収が抑制されて血清鉄が減少し, UIBC が増加した可能性が考えられる。

新生仔期の TDCIPP 曝露歴により重量の有意な増加が認められた副腎はストレス応答系の重要な器官である。ストレスとはホメオスタシスを乱す

表 1 TDCIPP を用いた新生仔期曝露歴試験及び若齢期曝露歴試験における体重・臓器重量・血中ホルモン濃度。

項目	新生仔期曝露歴試験				若齢期曝露歴試験			
	1 週齢曝露 (新生仔期, 曝露歴) の主効果	14 週齢曝露 (成熟期曝露) の主効果	交互作用	OT vs TT	6 週齢曝露 (若齢期, 曝露歴) の主効果	19 週齢曝露 (成熟期曝露) の主効果	交互作用	OT vs TT
体重	—	—	—		—	↓↓	—	
肝臓 絶対重量	↑↑	↑↑	—		—	↑↑	—	
肝臓 相対重量	↑↑	↑↑	—		—	↑↑	—	
腎臓 絶対重量	—	↑↑	○		—	↑↑	—	
腎臓 相対重量	—	↑↑	—		—	↑↑	—	
脾臓 絶対重量	—	↓↓	○		—	↓↓	—	
脾臓 相対重量	—	↓↓	○		—	↓↓	—	
副腎 絶対重量	—	↑↑	◎	OT < TT	—	—	—	
副腎 相対重量	—	↑↑	◎	OT < TT	—	↑↑	—	
精巣上体 絶対重量	—	—	—		—	↑	—	
精巣上体 相対重量	—	—	—		—	↑	—	
血中テストステロン濃度	—	↓	○					

表は「曝露歴」の有無と「成熟期曝露」の有無の 2 要因からなる二元配置分散分析 (栗原, 2021) の結果, 及び交互作用が認められた場合の下位検定において OT と TT 間が有意であった場合の結果。影響が現れた項目のみ掲載。OT; 新生仔期に Oil・成熟期に TDCIPP を投与した群, TT; 新生仔期・成熟期ともに TDCIPP 投与した群。—: 有意な影響なし, ↑, ↓, ○: $P < 0.05$, ↑↑, ↓↓, ◎: $P < 0.01$

おそれがある状態のことであり、ストレス刺激とは視床下部-下垂体-副腎皮質の活性化、もしくは交感神経・副腎髄質系の活性化を引き起こす刺激である(McCarty and Gold, 1996)。視床下部-下垂体-副腎を介すストレス応答系においては、脳でストレスが感知されると視床下部の神経細胞からCRH(Corticotropin releasing hormone)が分泌され、CRHは下垂体前葉の細胞に作用してACTH(Adrenocorticotrophic hormone)が分泌され、ACTHは副腎皮質に作用して糖質コルチコイド(ヒトではコルチゾール、ラットではコルチコステロン)が分泌される。そして分泌された糖質コルチコイドがストレスに対して身体的な抵抗力を高める。糖質コルチコイドの分泌量が増大すると海馬のGR(糖質コルチコイド受容体)を介してCRHやACTHの合成・分泌が抑制され、糖質コルチコイドの分泌量も抑制される負のフィードバックが生じる。しかし、慢性

的なストレス刺激に晒され続けると心拍数、血圧、体温及び血糖値の低下などが起こり、最終的に死に至る。新生仔期のTDCIPP曝露歴による副腎重量の増加はストレス応答系に影響を与えた可能性があることから、血中ACTH・コルチコステロン濃度、海馬内のGR遺伝子発現量、視床下部内のCRH遺伝子発現量を測定することにより、内分泌学的検討を行った。その結果、血中コルチコステロン濃度・海馬内のGR遺伝子発現量は成熟期曝露により増加し、血中ACTH濃度は成熟期TDCIPP曝露によって減少したが、曝露歴の有意な影響は表れなかった。今回の結果は、副腎肥大に起因するコルチコステロン濃度増加とそれに伴う負のフィードバック増加によってACTH濃度の減少が生じたと考えられる。したがって、TDCIPPの成熟期曝露は副腎肥大と血中コルチコステロン濃度の増加を引き起こすが、新生仔期の曝露歴による副腎肥大はストレス刺

表2 TDCIPPを用いた新生仔期曝露歴試験及び若齢期曝露歴試験における血液学・血液生化学検査.

項目	新生仔期曝露歴試験				若齢期曝露歴試験			
	1週齢曝露 (新生仔期、 曝露歴) の主効果	14週齢曝露 (成熟期曝露) の主効果	交互作用	OT vs TT	6週齢曝露 (若齢期、 曝露歴) の主効果	19週齢曝露 (成熟期曝露) の主効果	交互作用	OT vs TT
赤血球数	-	↓	-		-	-	-	
ヘモグロビン	-	↓↓	-		-	-	-	
ヘマトクリット	-	↓↓	-		-	-	-	
MCV	-	-	-		-	↑	-	
MCH	-	↓↓	-		-	-	-	
MCHC	-	-	-		-	↓↓	-	
血小板	-	↑↑	-		-	↑↑	-	
単球	-	↑↑	-		-	↑↑	-	
網状赤血球数	-	↓↓	-		-	↓↓	-	
ALB	-	↑	-		-	-	-	
ALT	-	↑	-		-	↑	-	
ALP	-	↓↓	-		-	↓↓	-	
Tbil	-	↓↓	-		-	↓	-	
BUN	-	↑	-		-	↑	-	
CRE	-	↑↑	-		-	-	-	
Glu	-	↓↓	-		-	↓	-	
TBA	-	-	-		-	↓↓	-	
LDH	-	-	-		-	↓	-	
AMY	-	-	-		↑↑	-	○	OT < TT
Na	-	↓↓	-		-	↓↓	-	
K	-	↓↓	-		-	↓↓	-	
Cl	-	-	-		-	↓	-	
CPK	-	-	-		-	↓↓	-	
血清鉄	-	-	○	OT > TT	↓	↓↓	○	OT < TT
UIBC	-	-	◎	OT < TT	-	-	-	

表は「曝露歴」の有無と「成熟期曝露」の有無の2要因からなる二元配置分散分析(栗原, 2021)の結果、及び交互作用が認められた場合の下位検定においてOTとTT間が有意であった場合の結果。影響が現れた項目のみ掲載。OT; 新生仔期にOil・成熟期にTDCIPPを投与した群、TT; 新生仔期・成熟期ともにTDCIPP投与した群。-: 有意な影響なし、↑, ↓, ○: P<0.05, ↑↑, ↓↓, ◎: P<0.01

激のない平常時の血中コルチコステロン濃度の増加等を亢進するほどの影響ではないことが示された。しかし、ストレス刺激時のホルモン分泌については今後の課題である。

3.2 TDCIPP の若齢期曝露歴の有無が与える健康影響の評価

TDCIPP においては新生仔期曝露歴により、従来の一般毒性試験とは異なる影響が表れた。そこで、曝露歴の時期により化学物質への感受性が異なる可能性を検討するため、1 回目の曝露時期を新生仔期から若齢期に変えた実験を行った。具体的には、思春期以降に自然災害・事故により化学物質曝露された人が、再度自然災害・事故により化学物質曝露されたことを想定し、性成熟後の若齢期となる生後 42 日齢から 7 日間(6 週齢)、雄ラットに TDCIPP を毎日経口投与(若齢期、曝露歴)した後、142 日齢から 7 日間(19 週齢)再び経口投与(成熟期、再曝露)するモデルについて検討した。TDCIPP の曝露量は新生仔期曝露試験と同様、若齢期は 250 mg/kg/day、成熟期は 650 mg/kg/day とした。実験群は、(1)若齢期・成熟期ともに Oil 投与した OO 群(陰性対照, n=6)、(2)若齢期 TDCIPP・成熟期 Oil 投与した TO 群(陽性対照, n=6)、(3)若齢期 Oil・成熟期 TDCIPP 投与した OT 群(陽性対照, n=6)、(4)若齢期・成熟期ともに TDCIPP 投与した TT 群(新しい評価手法, n=3)とし、全く影響の認められなかった数項目を除き新生仔期曝露歴試験と同様の項目について検討した。

その結果、若齢期の TDCIPP 曝露歴の影響はほぼ認められず、曝露歴による毒性の増悪も現れなかった。従って、TDCIPP の新生仔期における曝露歴は再曝露による毒性を増悪させるが、若齢期の曝露歴では大きな影響を及ぼさないことが示された。

3.3 アセナフテンの新生仔期曝露歴の有無が与える健康影響の評価

TDCIPP を用いた曝露歴試験の結果、新生児期の化学物質の曝露歴がある状態で、成人期にもう一度化学物質に曝露される非定常状態を想定した健康リスク評価手法は有用であることが示された。しかしその影響は TDCIPP 特有のものである可能性があるため、他の物質でも同様の試験を行い、化学物質の種類に関わらず同様の影響が表れるのかを確認する必要がある。そこでもう 1 つの評価対象物質であるアセナフテンを用いて実験を行った。アセナフテンあるいは溶媒の corn oil を生後 1 日齢から 7 日齢(1 週齢、新生仔期、曝露歴)にかけて毎日経口投与した後、101 日齢から 107 日齢(14 週齢、成熟期、再曝露)にかけて再び経口投与し、影響について検討した。アセナフテンの投与濃度は、予備試験において、対照群に対して毒性が認められたアセナフテン 100 mg/kg/day と設定した。実験群は、(1)新生仔期・成熟期ともに Oil 投与した OO 群(陰性対象,

n=8)、(2)新生仔期アセナフテン・成熟期 Oil 投与した AO 群(陽性対象, n=7)、(3)新生仔期 Oil・成熟期アセナフテン投与した OA 群(陽性対象, n=7)、(4)新生仔期・成熟期ともにアセナフテン投与した AA 群(新しい評価手法, n=7)とした。具体的な評価項目は、TDCIPP を用いた若齢期曝露歴試験と同様とした。

アセナフテン成熟期曝露によって、肝臓相対重量、BUN、UIBC 等の増加、ヘモグロビン、網状赤血球数等の減少はみられたが、曝露歴による影響はいずれの項目でも検出されなかった。以上のことから、新生児期に災害・事故等によってアセナフテンに曝露され、成人期に再曝露されるケースの健康リスクは、従来法である程度評価できるものと考えられた。

4. 曝露量の変動が与える健康影響の評価

4.1 TDCIPP の曝露量の変動が与える健康影響の評価

災害・事故等によって流出した化学物質濃度は時間経過に伴い減衰することから、この減衰曝露を想定し、TDCIPP を評価対象物質とし、雄ラットを用いて以下の実験を実施した。

TDCIPP あるいは溶媒の sesame oil を生後 7 週目から 10 日毎に、計 10 回経口投与した。実験群は、(1)溶媒のみを投与する群(陰性対照, n=6)、(2)高用量(500 mg/kg)を 10 回のみ投与する群(陽性対照, n=6)、(3)一定用量(50 mg/kg)を反復投与する群(陽性対照, n=6)、(4)用量を減衰(1 回目から順に 333.5, 83.4, 41.7, 20.8, 10.4, 5.2, 2.6, 1.3, 0.7, 0.3 mg/kg)させて投与する群(新しい評価手法, n=6)を設定した。事前に実施した予備実験において毒性影響が検出された 500 mg/kg を陰性対照群以外の総曝露量になるよう設定した。実験期間中には、飲水・摂食量及び体重を経時的に測定した。最終投与翌日に解剖を行い、臓器と血液を採取した。本実験での測定項目は TDCIPP を用いた若齢期曝露歴試験で用いた項目とした。

単回投与は肝臓重量、腎臓重量、Tbill、血清鉄、UIBC 等に有意な影響を及ぼした。反復投与は単球、Tbill、血清鉄に有意な影響を及ぼした。一方、減衰曝露独自の毒性影響は認められなかった。以上のことから、非定常状態において想定される TDCIPP の減衰曝露による健康リスクは、従来法である単回投与や反復投与で評価できるものと考えられた。

4.2 アセナフテンの曝露量の変動が与える健康影響の評価

TDCIPP を用いた曝露量の変動が与える健康影響の評価を検討した結果、時間経過に伴い減衰する非定常状態を想定した健康リスク評価手法は従来法でカバーできる可能性が示された。他の化学物質でも

このような減衰曝露試験が従来法でカバーできるかを明らかにするため、もう1つの評価対象物質であるアセナフテンを用い同様の実験を行った。雄ラットを用い、アセナフテン、あるいは溶媒の corn oil を7週齢から19週齢にかけて10日毎に10回強制的に経口投与した。実験群は、(1)溶媒のみを投与する群(陰性対照, n=11), (2)高用量(2,000 mg/kg)を10回目のみに投与する群, (3)一定用量(200 mg/kg)を反復投与する群(陽性対照, n=9), (4)用量を減衰(1回目から順に1334.2, 333.6, 166.8, 83.4, 41.7, 20.9, 10.4, 5.2, 2.6, 1.3 mg/kg)させて投与する群(新しい評価手法, n=12)である。予備実験において毒性影響が検出された2,000 mg/kgが、陰性対照群以外の投与群の総曝露量となるように設定した。最終投与翌日に解剖を行い、臓器と血液を採取した。本実験での測定項目はTDCIPPを用いた試験と同様とした。

単回曝露の影響は、肝臓重量、脾臓重量、好中球、AST、BUN、UIBC等で表れた。反復曝露の影響は、白血球、UIBC、脾臓におけるリンパ鞘の萎縮等で表れた。対照群に対して減衰曝露群で有意に毒性が現れ、かつ従来法より毒性が増強される項目はなかった。以上のことから、アセナフテンの減衰曝露の影響は従来法でカバーできることが示された。

5. まとめ

災害・事故等によって化学物質に曝露され、後日再曝露されるケースの健康リスクは、従来法では評価できない可能性があることが示され、曝露歴の有無を考慮した健康影響評価法の有用性が示唆された。しかし、曝露歴の影響は時期特異性、化学物質特異性があることも明らかとなった。

一方、災害・事故等によって時間経過に伴い減衰する化学物質曝露の健康リスクは、従来法で評価できる可能性が示された。

引用文献

- Akimoto, T., Kobayashi, S., Nakayama, A., Isobe, A., Abe, K., Hatakeyama, T., Ohta, R., Yanagisawa, R., Koike, E., Suzuki, N. and Kawaguchi, M. (2022) Toxicological effects of Tris (1,3-dichloro-2-propyl) phosphate exposure in adult male rats differ depending on the history of exposure in the neonatal period. *Journal of Applied Toxicology*, 42 (9), 1503-1509. <https://doi.org/10.1002/jat.4316>
- Bell, M. R., Hart, B. G. and Gore, A. C. (2016) Two-hit exposure to polychlorinated biphenyls at gestational and juvenile life stages: 2. Sex-specific neuromolecular effects in the brain. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 420, 125-137. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2015.11.024>
- Cristale, J., Aragão Belé, T. G., Lacorte, S. and Rodrigues de Marchi MR. (2018) Occurrence and human exposure to brominated and organophosphorus flame retardants via indoor dust in a Brazilian city. *Environmental Pollution*, 237, 695-703. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.10.110>
- Cruz, A. M. and Suarez-Paba, M. C. (2019) Advances in Natech research: An overview. *Progress in Disaster Science*, 1, 100013. <https://doi.org/10.1016/j.pdisas.2019.100013>
- Freudenthal, R. I. and Henrich, R. T. (2000) Chronic toxicity and carcinogenic potential of tris-(1,3-Dichloro-2-propyl) phosphate in Sprague-Dawley Rat. *International Journal of Toxicology*, 19 (2), 119-125. <https://doi.org/10.1080/10915810024926>
- Guo, W., Bachman, E., Li, M., Roy, C. N., Blusztajn, J., Wong, S., Chan, S. Y., Serra, C., Jasuja, R., Travison, T. G., Muckenthaler, M. U., Nemeth, E. and Bhasin, S. (2013) Testosterone administration inhibits hepcidin transcription and is associated with increased iron incorporation into red blood cells. *Aging Cell*, 12(2), 280-291. <https://doi.org/10.1111/accel.12052>
- Kamishima, M., Hattori, T., Suzuki, G., Matsukami, H., Komine, C., Horii, Y., Watanabe, G., Oti, T., Sakamoto, H., Soga, T., Parhar, I. S., Kondo, Y., Takigami, H. and Kawaguchi, M. (2018) Early-life exposure to tris(1,3-dichloroisopropyl) phosphate induces dose-dependent suppression of sexual behavior in male rats. *Journal of Applied Toxicology*, 38(5), 649-655. <https://doi.org/10.1002/jat.3569>
- 環境省(2010)化学物質の環境リスク初期評価第8巻. <https://www.env.go.jp/chemi/report/h22-01/profile/pf1-01.pdf>(2023年7月25日確認)
- 環境省(2017)平成29年度臭素系ダイオキシン類の排出源情報の収集・整理調査業務報告書, 環境省 水・大気環境局総務課 ダイオキシン対策室. <https://www.env.go.jp/air/report/h29-03/>(2023年7月25日確認)
- Kim, J. W., Isobe, T., Muto, M., Tue, N. M., Katsura, K., Malarvannan, G., Sudaryanto, A., Chang, K.-H., Prudente, M., Viet, P. H., Takahashi, S. and Tanabe, S. (2014) Organophosphorus flame retardants (PFRs) in human breast milk from several Asian countries. *Chemosphere*, 116, 91-97. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.02.033>
- Kobayashi, S., Abe, K., Isobe, A., Nakayama, A., Akimoto, T., Hatakeyama, T., Saito, Y., Yanagisawa,

- R., Koike, E., Suzuki, N., Kawaguchi, M. and Ohta, R. (2021) Novel toxicity of tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate in adult male rats. *Journal of Applied Toxicology*, 41(6), 987–992. <https://doi.org/10.1002/jat.4075>
- 厚生労働省(2010)アセナフテン, 職場のあんぜんサイト. <https://anzeninfo.mhlw.go.jp/anzen/gmsds/83-32-9.html>(2023年7月25日確認)
- 栗原伸一(2021)入門 統計学(第2版): 検定から多変量解析・実験計画法・ベイズ統計学まで, 第2版, オーム社.
- Li, J., Zhao, L., Letcher, R. J., Zhang, Y., Jian, K., Zhang, J. and Su, G. (2019) A review on organophosphate ester (OPE) flame retardants and plasticizers in foodstuffs: Levels, distribution, human dietary exposure, and future directions. *Environment International*, 127, 35–51. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.03.009>
- Liu, L. Y., He, K., Hites, R. A. and Salamova, A. (2016) Hair and nails as noninvasive biomarkers of human exposure to brominated and organophosphate flame retardants. *Environmental Science and Technology*, 50(6), 3065–3073. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b05073>
- McCarty, R. and Gold, P. E. (1996) Catecholamines, stress, and disease: A psychobiological perspective. *Psychosomatic Medicine*, 58(6), 590–597. <https://doi.org/10.1097/00006842-199611000-00007>
- Meeker, J. D. and Stapleton, H. M. (2010) House dust concentrations of organophosphate flame retardants in relation to hormone levels and semen quality parameters. *Environmental Health Perspectives*, 118(3), 318–323. <https://doi.org/10.1289/ehp.0901332>
- Moser, V. C., Phillips, P. M., Hedge, J. M. and McDaniel, K. L. (2015) Neurotoxicological and thyroid evaluations of rats developmentally exposed to tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCIPP) and tris(2-chloro-2-ethyl) phosphate (TCEP). *Neurotoxicology and Teratology*, 52, Part B, 236–247. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2015.08.004>
- 日本芳香族工業会(2000)芳香族及びタール工業ハンドブック第3版, 日本芳香族工業会 編, 87–89. 日本芳香族工業会. <http://www.jaia-aroma.com/book.html>(2023年7月23日確認)
- 西澤 仁(2019)臭素系難燃剤. 日本ゴム協会誌, 92(6), 211–217. <https://doi.org/10.2324/gomu.92.211>
- Suzuki, G., Tue, N. M., Malarvannan, G., Sudaryanto, A., Takahashi, S., Tanabe, S., Sakai, S., Brouwer, A., Uramaru, N., Kitamura, S. and Takigami, H. (2013) Similarities in the endocrine-disrupting potencies of indoor dust and flame retardants by using human osteosarcoma (U2OS) cell-based reporter gene assays. *Environmental Science and Technology*, 47(6), 2898–2908. <https://doi.org/10.1021/es304691a>
- World Health Organization. (2018) Chemical releases caused by natural hazard events and disasters, Information for public health authorities. <file:///C:/Users/htok5/Downloads/9789241513395-eng.pdf> (2023年7月23日確認)



川口 真以子/Maiko KAWAGUCHI

明治大学 農学部 農学科 動物環境学研究室 准教授。東京農工大学 獣医学科を卒業後、横浜市立大学大学院 医学研究科にて博士(医学)を取得。国立環境研究所の任期付き研究員、日本学術振興会特別研究員(PD)、Johns Hopkins University School of Medicine 特別研究員、武蔵野大学 薬学部教員を経て現職。動物モデルを用いた行動神経内分泌学的な環境影響評価研究を通じ、よりよい環境の構築への貢献を目指している。



柳澤 利枝/Rie YANAGISAWA

国立研究開発法人 国立環境研究所 環境リスク・健康領域 病態分子解析研究室 主幹研究員。筑波大学で博士(医学)を取得後、2005年より国立環境研究所の任期付き研究員を経て、2021年に現職。環境中の化学物質の健康影響について、特に低用量曝露による疾患への評価研究を進めており、健康リスク評価に繋がる知見の蓄積を目指している。



小池 英子/Eiko KOIKE

国立研究開発法人 国立環境研究所 環境リスク・健康領域 病態分子解析研究室 室長。東邦大学理学部生物分子科学科を卒業後、筑波大学大学院医学研究科にて博士(医学)取得。国立環境研究所の任期付き研究員、民間企業の研究員、国立環境研究所の主任研究員を経て現職。2022年度まで筑波大学連携大学院准教授も担当。専門は免疫毒性学的研究であり、化学物質の健康有害性評価とリスク評価に関する検討にも取り組んでいる。



鈴木 規之/Noriyuki SUZUKI

1961年、東京都生まれ。1984年に東京大学工学部を卒業後、1992年に博士(工学)取得。東京大学工学部助手、金沢工業大学工学部講師、国立研究開発法人 国立環境研究所 環境リスク・健康研究センター長を経て、2021年より現職。専門分野は環境工学・環境科学。微量有機塩素化合物やダイオキシン類分析などの研究を経て、地理情報上で化学物質の環境動態数値モデルの開発に取り組む。近年はさまざまな場でのリスク管理の研究を進めている。