

医薬品規制調和国際会議（ICH）

ICH 調和ガイドライン

ICH M7 ガイドライン原則の化合物特異的な許容摂取量算出への適用

M7(R2)補遺

最終版

2023年4月3日採択

本ガイドラインは適切な ICH 専門家作業部会により作成され、ICH プロセスに従って規制当局により協議された。プロセスのステップ4 では、最終案が ICH 参加地域の規制当局に採択するよう推奨されている。

M7(R2)補遺 文書履歴

コード	履歴	日付
M7(R2) 補遺	M7(2)ガイドライン草案から M7(R2)補遺が分離され、Step 2 で ICH 総会のメンバーにより承認され、意見募集用のため公表。	2021 年 10 月 6 日
M7(R2) 補遺	Step 4 で ICH 総会の規制側メンバーにより採択。	2023 年 4 月 3 日
M7(R2) 補遺	p132、134、138 及び 140 において、TD ₅₀ の計算式の修正	2023 年 6 月 30 日

法的通知：本文書は著作権で保護されており、ICH の著作物であることが常に明らかにされている場合に限り、公的使用許諾書の下での使用、複製、他の著作物への転載、改編、修正、翻訳又は配布が許可される。本文書を改編、修正又は翻訳する場合は、元の文書を変更した旨又は元の文書に基づいて変更した旨を明記、明瞭化あるいは明らかにするための合理的な手順を取らなければならない。元の文書の改編、修正又は翻訳を ICH が推奨又は後援しているかの印象を与えることは避けなければならない。

本文書は現状のまま提供され、いかなる種類の保証も伴わない。ICH 又は元の文書の著者らは、いかなる場合も、本文書の使用に起因する申し立て、損害又はその他の不利益に対して責めを負わない。

上記の許可は第三者が提供する内容には適用されない。したがって、著作権が第三者に帰属する文書については、この著作権所有者から複製の許可を得ること。

ICH M7 ガイドライン原則の化合物特異的な許容摂取量算出への適用

目次

略語一覧	2
緒言	4
方法	4
Acceptable Intakes (AIs) or Permissible Daily Exposures (PDEs)	9
アセトアルデヒド (CAS# 75-07-0)	11
アクリロニトリル (CAS# 107-13-1)	18
アニリン (CAS# 62-53-3) 及びアニリン塩酸塩 (CAS# 142-04-1)	23
塩化ベンジル (α -クロロトルエン、CAS# 100-44-7)	30
ビス (クロロメチル) エーテル (BCME、CAS# 542-88-1)	36
<i>p</i> -クロロアニリン (CAS# 106-47-8) 及び <i>p</i> -クロロアニリン塩酸塩 (CAS# 20265-96-7)	40
1-クロロ-4-ニトロベンゼン (パラ-クロロニトロベンゼン、CAS# 100-00-5)	45
<i>p</i> -クレシジン (2-メトキシ-5-メチルアニリン、CAS# 120-71-8)	50
1,2-ジブromoエタン (CAS# 106-93-4)	54
ジメチルカルバミルクロリド (CAS# 79-44-7)	59
硫酸ジメチル (CAS# 77-78-1)	63
エピクロロヒドリン (CAS# 106-89-8)	67
臭化エチル (CAS# 74-96-4)	71
塩化エチル (クロロエタン、CAS# 75-00-3)	75
ホルムアルデヒド (CAS# 50-00-0)	78
グリシドール (CAS# 556-52-5)	88
ヒドラジン (CAS# 302-01-2)	91
過酸化水素 (CAS# 7722-84-1)	97
塩化メチル (クロロメタン、CAS# 74-87-3)	103
スチレン (CAS# 100-42-5)	106
酢酸ビニル (CAS# 108-05-4)	113
注 1	120
注 2	122
注 3	125
注 4	126
注 5	128

略語一覽

AI	Acceptable Intakes
ACGIH	American Conference of Governmental Industrial Hygienists
ATSDR	Agency for Toxic Substances & Disease Registry
BCME	Bis(chloromethyl)ether
BUA	Biodegradable in water Under Aerobic conditions
CAC	Cancer Assessment Committee
CCRIS	Chemical Carcinogenesis Research Information System
CHL	Chinese Hamster Lung fibroblast cell line
CICAD	Concise International Chemical Assessment Document
CIIT	Chemical Industry Institute of Toxicology
CNS	Central Nervous System
CPDB	Carcinogenicity Potency Database
CYP	Cytochrome P-450
DMCC	Dimethylcarbamyl Chloride
DMS	Dimethyl Sulfate
DNA	Deoxyribose Nucleic Acid
EC	European Commission
ECHA	European Chemical Agency
EFSA	European Food Safety Authority
EMA	European Medicines Agency
EPA	Environmental Protection Agency
EU	European Union
FDA	Food and Drug Administration
GRAS	Generally Recognized As Safe
HSDB	Hazardous Substance Database
IARC	International Agency for Research on Cancer
I.P.	Intraperitoneal
IPCS	International Programme on Chemical Safety
IRIS	Integrated Risk Information System
JETOC	Japan Chemical Industry Ecology-Toxicology & Information Center
LOAEL	Lowest-Observed Adverse Effect Level
MTD	Maximum Tolerated Dose
NA	Not applicable
NC	Not calculated; individual tumour type incidences not provided in WHO, 2002
NCI	National Cancer Institute
NOAEL	No-Observed Adverse Effect Level
NOEL	No-Observed Effect Level

NSRL	No Significant Risk Level
NTP	National Toxicology Program
OECD	Organisation for Economic Cooperation and Development
PDE	Permissible Daily Exposure
RfC	Reference Concentration
ROS	Reactive Oxygen Species
S.C.	Subcutaneous
SCCP	Scientific Committee on Consumer Products
SCCS	Scientific Committee on Consumer Safety
SCE	Sister Chromatid Exchanges
SIDS	Screening Information Dataset
TBA	Tumor Bearing Animal
TD ₅₀	Chronic dose-rate in mg/kg body weight/day which would cause tumors in half of the animals at the end of a standard lifespan for the species taking into account the frequency of that tumor type in control animals
TDI	Tolerable Daily Intake
TTC	Threshold of Toxicological Concern
UDS	Unscheduled DNA Synthesis
UNEP	United Nations Environmental Programme
US EPA	United States Environmental Protection Agency
WHO	World Health Organization

緒言

ICH M7 ガイドラインでは、発がん性データが陽性の変異原性不純物に対する適切な許容摂取量 (AI) の算出について論じており (7.2.1 項)、次のように述べている。「十分な発がん性データが存在する場合、許容摂取量の算出を目的とした化合物特異的なリスク評価を、TTC に基づく [毒性学的懸念の閾値に基づく] 許容摂取量の代わりに適用するべきである。既知の変異原性発がん物質については、発がん性の強さを直線外挿する既定の方法により、化合物特異的許容摂取量を算出できる。あるいは、国際的規制機関で使用されているような確立された他のリスク評価手法を適用して許容摂取量を算出したり、規制当局が公表している既存値を使用してもよい。」

この ICH M7 補遺では、医薬品製造でよく使用され、ICH M7 で示された化合物特異的摂取量を求める原則を例示する目的に有用であり、変異原性物質や発がん物質であるとみなされている一連の化学物質について、AI や、許容 1 日曝露量 (PDE) が求められている¹。一連の化学物質には、作用機序が変異原性である可能性が高い発がん物質の AIs を求める際に用いる主な方法が、ICH M7 での「既定の方法」である、計算した発がん性推定値の TD₅₀ からの直線外挿である化合物が含まれる。変異原性物質や発がん物質である幾つかの化学物質 (ICH M7 でクラス 1 に分類) は、非変異原性の作用機序を介して腫瘍を誘発するかもしれない。したがって、追加化合物には化合物特異的摂取量を求めるために代替原則 (例、PDE、以下参照) を強調するものが含まれる。その他の化合物 (例えば、アニリン) には、これまでの認識では変異原性発がん物質とされているものの、利用可能なデータから非変異原性物質であることが示されているものを含めている。

ICH M7 では 7.2.2 項で次のように述べている。「DNA 以外の標的と相互作用する化合物だけでなく、DNA 反応性化合物でも、用量反応関係が非線形であるか実質的な閾値を持つような機序が存在することが、次第に認識されてきている。それらの作用は、例えば DNA との接触前の迅速な解毒作用や、誘導された DNA 損傷の効果的な修復などにより、調節されている可能性がある。これらの化合物への規制上の対応としては、データが入手可能な場合、無作用量 (NOEL : no-observed effect level) の同定と不確実係数 (ICH Q3C (R5) 参照) に基づき、許容 1 日曝露量 (PDE : permissible daily exposure) を算出することができる。」

この補遺では、ICH Q3C(R5) (1) で示された不確実係数を用いて計算された PDE 算出を正当化する一部のクラス 1 化学物質に対して、作用機序の評価を説明するための実例が含まれる。このような化学物質には、酸化ストレスを誘発する過酸化水素や、メトヘモグロビン血症の結果生じたヘモジデリン沈着により二次的に腫瘍を誘発するアニリンが含まれる。

この補遺で示した AI 値や PDE 値は発がんリスクに関連していることを強調しておく。品質基準のようなその他の考慮すべき事項が、最終的な製品の規格に影響する可能性がある。例えば ICH M7 ガイダンス (section 7.2.2) では、化合物特異的なリスク評価から許容摂取量が計算された場合、上限値は 0.5%、具体的には、一日当たりの最大用量が 100 mg の薬剤では 500 µg になることに言及している。

方法

AI を算出するために、この補遺の中で用いた一般的工程には、文献レビュー、発がん性推定値の選択 [TD₅₀、発がん性データベース (CPDB (2) から引用したもの、又は CPDB と同一の方法を用いた公表試験から計算したもの]、そして最後に、適切な AI、あるいは閾値作用機序のための十分な証拠がある場合は、適切な PDE の計算 (3 項参照) が含まれる。文献レビューでは、一般集団への曝露 (すなわち、食品、水、空気)、変異原性や遺伝毒性、発がん性に関連したデータに注目する。ICH M7 での DNA 反応性変異原性物質の説明に基づき、細菌を用いる復帰突然変異試験 (Ames test) での結果が、化学物質が変異原性物質であると決定する主な基準として用いられた。その他の遺伝毒性試験データ、特に *in vivo* のデータは、腫瘍誘発が起こり得る作用機序を評価する際に考慮された。化合物特異的な評価では、許

¹ このような化学物質には、その特性 (化学反応性、溶解性、揮発性、イオン化性) により、多くの合成工程時で効率的に除去され、それゆえ許容摂取量に基づいた規格が通常は必要無いものが含まれている。

容される曝露レベルとして国の規制値や国際的な規制値（例えば、US EPA、US FDA、EMA、ECHA、WHO）が記載されている。発がん性の前駆事象（例えば刺激性や炎症、又はメトヘモグロビン血症など）として作用する変化が観察された場合は評価したが、急性毒性試験、反復毒性試験、生殖毒性試験、神経毒性試験、発生毒性試験での毒性情報については詳しく評価しなかった。

1. 標準方法

1.1 直線作用機序とAIの算出

ICH M7 の注 4 では次のように述べている。「 TD_{50} 値（腫瘍発生率が 50% となる用量であり、発がんリスクの確率が 1/2 であることと同等）などのげっ歯類の発がん性データから、化合物特異的許容摂取量を算出することができる。10 万分の 1（すなわち、生涯許容リスクレベル）の確率への直線外挿は、単純に TD_{50} を 50,000 で除すことで実施できる。これは TTC の算出に用いられる手順と類似している。」

したがって、 TD_{50} 値からの直線外挿は、「閾値機序」が確立していない、すなわち非線形の用量 - 反応曲線を生じる作用機序について理解されていないクラス 1 不純物（既知の変異原性発がん物質）に対する AI を算出するのに適切と考えられた。多くの場合、発がん性データは CPDB から入手され、その結論はがん原性試験に関する報告書の原著者の意見（CPDB での「著者の意見」）、又は CPDB で提供される統計解析の結論に基づいた。選択した化学物質について、すでに計算されている TD_{50} 値が CPDB で特定されていた場合、この値を用いて AI を計算し、関連する発がん性データは再解析せず、 TD_{50} 値も再計算しなかった。

頑健なデータが CPDB では入手できず文献で入手できた場合、CPDB に示されている方法に基づき TD_{50} を計算した (3)。用量計算のための動物の体重、呼吸量、摂水量の仮定値は、ICH Q3C 及び ICH Q3D (1、4) から採用した。

1.2 試験の選択

CPDB 内の試験の品質は様々であるが、CPDB では採用基準、例えば、試験動物が曝露された期間が一生涯に占める割合のような基準を課している。本補遺では、試験が比較的低い品質であった場合、追加の基準を適用した。ここでは、以下のシナリオの 1 つ以上に該当した試験を、品質の比較的低い試験と定める。

- 各性別における用量当たりの動物数が 50 匹未満
- 用量段階が 3 段階未満
- 同時対照の不在
- 間歇投与（1 週間につき 5 日未満）
- 投与期間が一生涯より短い

概して、より頑健な試験を用いて限度値を求めた。ただし、試験のその他の面が頑健だった場合、例えば投与が 1 週間につき 3 日だが（例えば塩化ベンジル）それを上回る用量に耐えられないだろうと考えられる証拠がある場合、すなわち National Toxicology Programme (NTP) 又は ICH S1C(R2) (5) で定義された最大耐量に達した場合などでは、これらの基準をすべて満たさなくても、一部の例では AI の算出に十分適すると判断した。発がん性推定値の計算では間歇投与や、塩化ベンジルのような一生涯より短い投与を考慮に入れ、例えば、1 週間に 3 回投与した 1 日投与量に 3/7 を掛けて平均 1 日投与量を出すよう、CPDB で示された用量段階は、推定 1 日投与量を反映するよう補正された。動物の投与期間が 24 カ月未満の場合は、同様の補正が行なわれた。 TD_{50} が 10 万分の 1 の過剰発がんリスクに直線外挿されるリスク評価は、極めて慎重であることを考慮すると、それ以上に完全なデータが存在しない場合は、頑健性の低いデータの使用が許容可能とされうる。そのような場合は、化合物特異的な評価において、推奨される方法の基礎を支持する合理的な根拠が与えられる。

1.3 腫瘍及び部位の選択

ある動物種における性別毎の特定臓器部位の最小 TD₅₀ が、最も頑健な試験から選択された。試験が複数存在する場合、CPDB では TD₅₀ の調和平均値を計算しているが、本補遺では最小 TD₅₀ をより慎重な推定値とみなした。「腫瘍を擁する動物」(TBA) として編集されたデータは、CPDB から TD₅₀ を選択する際に適切とせず、より感度の高い発がん性推定値として適切な場合は、1 つの組織 (例えば肝臓など) に腫瘍型が混在している (例えば腺腫及び癌腫など) データを用いた。

1.4 投与経路

ICH M7 の 7.5 項では次のように述べている。「7 項で述べた上記のリスク対応はすべての投与経路に適用可能であり、許容摂取量の見直しは一般に必要とされない。考慮すべき例外には、特定の投与経路での懸念がデータによって示されている場合が含まれ、それらの懸念についてはケースバイケースで評価する必要がある。」

本補遺では、異なる投与経路でのがん原性試験から頑健なデータを入手でき、腫瘍部位が経路特異的ではないと考えられた場合、最も低い TD₅₀ 値を示した投与経路での TD₅₀ が AI の算出には選択されるため、通常はすべての投与経路について適切であると考えられる。ケースバイケースで例外が必要となる可能性があり、例えば、接触部位で強力な発がん物質の場合、特定の投与経路の AI 又は PDE が必要かもしれない。刺激などのその他の毒性も特定の経路に対する AI を制限する可能性があるが、M7 と同様に本補遺では腫瘍原性のみを考慮した。ここでは、腫瘍が部位特異的であり (例えば、吸入曝露の結果として気道腫瘍が発生したが遠位部に腫瘍を伴わない場合)、TD₅₀ が他の投与経路より低い場合は、その投与経路について個別の AI を定めた (例えば、ジメチルカルバモイルクロリド、ヒドラジン)。

1.5 TD₅₀ による AI の算出

TD₅₀ からの AI の算出は次の通りである (例として ICH M7 の注 4 参照)。

$$AI = TD_{50} / 50,000 \times 50 \text{ kg}$$

体重補正では、任意のヒト成人の体重を男女とも 50 kg と仮定する。このように比較的少ない体重とすれば、このような種類の計算でよく用いられる標準的体重である 60 kg や 70 kg に対し、安全係数が追加されることになる。成人患者の一部は体重が 50 kg 未満であることが認識されているが、このような患者は、AI の決定に用いられる本質的慎重さ (すなわち、最も感受性が高い臓器部位の直線外挿) により配慮されていると考えられる。

2. AI 算出に関する代替方法の検討

2.1 腫瘍のヒトとの関連性

ICH M7 の注 4 では次のように述べている。「ヒトとの関連性とは関係なくげっ歯類のがん原性試験から最も慎重な TD₅₀ 値を用いる方法を選択する代わりに、入手可能な発がん性データを毒性専門家が詳細に評価してもよい。これは、直線外挿の基準点を求めるための基礎として、ヒトのリスク評価との関連性が最も高い所見 (動物種、臓器など) を最初に特定するために行われる。」

AI 算出に対し、入手可能な発がん性データのヒトとの関連性が検討された。非線形の用量反応で生じる毒性に伴うげっ歯類での作用は、医薬品不純物で想定される毒性のない低濃度において、ヒトと関連していない。例えば、*p*-クロロアニリンの場合、最も感受性の高い腫瘍誘発部位は脾臓であるが、これらの腫瘍はヘモジデリン沈着を伴っており、非線形の用量反応性のある作用機序であると考えられるため、ヘモジデリン沈着を誘発しない低用量ではヒトと関連していないと考えられた。*p*-クロロアニリンの場合、肝臓腫瘍に対しては変異原性作用機序が排除できなかったため、より高い TD₅₀ をもつ肝臓腫瘍を直線外挿して AI が計算された。ヒトと関連していないと考えられる腫瘍の 2 つ目の分類は、代謝の種差を伴う塩化メチルのような、げっ歯類に特異的な作用機序の関与する腫瘍である。

2.2 公表された規制上の限度値

ICH M7 の注 4 では次のようにも述べている。「化合物特異的許容摂取量も、適切な生涯リスクレベルである 10^{-5} を用い、世界保健機関 (WHO、International Programme on Chemical Safety [IPCS] Cancer Risk Assessment Programme) などの国際的に認知された機関が公表した推奨値から求めることができる。一般に、規制上の限度値として適用される値は最新の科学的に裏付けされたデータ又は方法に基づいている必要がある。」

本補遺では、入手可能な規制上の限度値について説明している（職業衛生上の限度値については、通常は地域特有なものであり異なるリスクレベルを用いることから省略している）。ただし、ICH M7 の既定方法として、また化合物間の一貫性を保持するため、通常は AI を算出する主な方法として慎重な TD₅₀ からの直線外挿を用いた。発がんリスク評価方法のわずかな違いにより推奨限度値に差が生じる場合があると認識されているが（例えば計算時の体表面積の補正）、直線外挿を計算の基本としている場合、その差は通常は極めて小さい。

3. 非線形（閾値）作用機序及び PDE の算出

ICH M7 では 7.2.2 項で次のように述べている。「DNA 以外の標的と相互作用する化合物だけでなく、DNA 反応性化合物でも、用量反応関係が非線形であるか実質的な閾値を持つような機序が存在することが、次第に認識されてきている。それらの作用は、例えば DNA との接触前の迅速な解毒作用や、誘導された DNA 損傷の効率的な修復などにより、調節されている可能性がある。これらの化合物への規制上の対応としては、データが入手可能な場合、無作用量 (NOEL: no-observed effect level) の同定と不確実係数 (ICH Q3C (R5) 参照) に基づき、許容 1 日曝露量 (PDE: permissible daily exposure) を算出することができる。」

in vitro 及び *in vivo* での変異原性に対して閾値が提案されている DNA 反応性化学物質の例として、エチルメタンスルホン酸がある (6、7)。閾値が確立されているような場合は直線外挿ではなく、不確実係数を用いた PDE 計算の方が適切である。

この「閾値」方法は、腫瘍誘発に対する非線形の用量反応に基づいて、低用量ではヒトとの関連性がない作用機序をもつ発がん物質 (2.1 項) に対して実施する化合物特異的な評価で、適切と考えられた。

メトヘモグロビン血症や、脾臓のような組織にヘモジデリン沈着を誘発し、続いて炎症や腫瘍を誘発する化学物質 (例えば、アニリンや類似化合物など)。

これを裏付ける証拠には、変異原性を示す証拠が弱いなど、変異原性が作用機序の鍵であったことを示す確実な証拠がないこと (例えばアニリン) や、*in vivo* 遺伝毒性 (DNA 付加体など) と腫瘍誘発がみられた部位や動物種に相関がないことなどがある。

局所の刺激や炎症に関連して腫瘍 (げっ歯類の前胃腫瘍など) を誘発し、接触部位で発がん性を有する化学物質は、医薬品の潜在的な不純物としては刺激を生じさせない低濃度では、ヒトへの曝露とは関連性がないと考えられる (例えば、塩化ベンジル)。

酸化的損傷を介して作用するが、内在性防御機構が豊富に存在するため、低用量では有害な影響の生じない化学物質 (例えば過酸化水素など)。

閾値作用機序のある発がん物質の許容曝露量は PDE の計算により確立した。PDE の方法については ICH Q3C(R5) (1) 及び ICH Q3D (4) で詳しく説明している。

4. 環境 (例えば食事) 中の曝露に基づく許容限度値

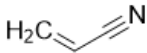
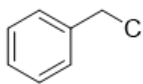
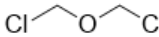
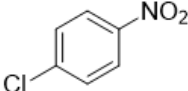
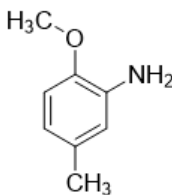
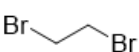
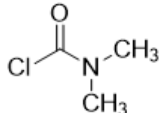
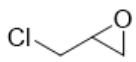
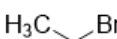
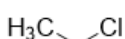
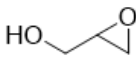
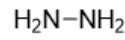
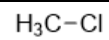
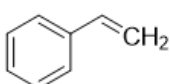
ICH M7 の 7.5 項に記載しているように、「食品や内因性代謝 (例えば、ホルムアルデヒドなど) に由来する不純物への曝露量が極めて大きい場合、より高い許容摂取量の設定を正当化できる場合がある。」

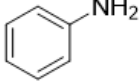
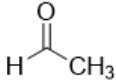

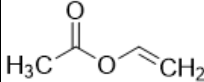
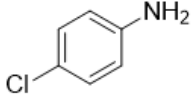
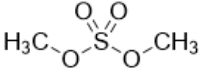
例えば、ホルムアルデヒドは経口投与では発がん物質ではないため、規制上の限度値は非がんのエンドポイントに基づいている。Health Canada (8)、WHO IPCS (9) 及び米国環境保護庁 (EPA) (10) は体重 50 kg のヒトに対して、0.2 mg/kg/day あるいは 10 mg/day を経口投与の限度値として推奨している。

References

1. International Conference on Harmonisation (2011). Q3C(R5): Impurities: Guideline for Residual Solvents
2. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>
3. Carcinogenicity Potency Database (CPDB): [Online]. Available from: URL: <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>
4. International Conference on Harmonisation (2014). Q3D: Impurities: Guideline for Elemental Impurities
5. International Conference on Harmonisation (2008). S1C(R2): Dose Selection for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals
6. Müller L, Gocke E, Lave T, Pfister T. Ethyl methanesulfonate toxicity in Viracept-A comprehensive human risk assessment based on threshold data for genotoxicity. *Toxicol Lett* 2009;190:317-29.
7. Cao X, Mittelstaedt RA, Pearce MG, Allen BC, Soeteman-Hernández LG, Johnson GE, et al. Quantitative dose-response analysis of ethyl methanesulfonate genotoxicity in adult gpt-delta transgenic mice. *Environ Mol Mutagen* 2014;55:385-99.
8. Health Canada. 2001 Priority substances list assessment report: Formaldehyde. Ottawa. Ministry of Public Works and Government Services. February. [Online]. Available from: URL: http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/contaminants/psl2-lsp2/index_e.html
9. World Health Organization (WHO). International Programme on Chemical Safety (IPCS). 2002. Concise International Chemical Assessment Document 40. Formaldehyde. [Online]. Available from: URL: <http://www.who.int/ipcs/publications/cicad/en/cicad40.pdf>
10. US Environmental Protection Agency. Integrated Risk Information System (IRIS). [Online]. 1990; Available from: URL: <http://www.epa.gov/iris/>

Acceptable Intakes (AIs) or Permissible Daily Exposures (PDEs)

Compound	CAS#	Chemical Structure	AI or PDE (µg/day)	Comment
Linear extrapolation from TD₅₀				
Acrylonitrile	107-13-1		6	TD ₅₀ linear extrapolation
Benzyl chloride	100-44-7		41	TD ₅₀ linear extrapolation
Bis(chloromethyl)ether	542-88-1		0.004	TD ₅₀ linear extrapolation
1-Chloro-4-nitrobenzene	100-00-5		117	TD ₅₀ linear extrapolation
<i>p</i> -Cresidine	120-71-8		45	TD ₅₀ linear extrapolation
1,2-Dibromoethane	106-93-4		2	TD ₅₀ linear extrapolation
Dimethylcarbamyl chloride	79-44-7		0.6 (inhalation)* 5 (all other routes)	TD ₅₀ linear extrapolation
Epichlorohydrin	106-89-8		3	TD ₅₀ linear extrapolation
Ethyl bromide	74-96-4		32	TD ₅₀ linear extrapolation
Ethyl chloride	75-00-3		1,810	TD ₅₀ linear extrapolation
Glycidol	556-52-5		4	TD ₅₀ linear extrapolation
Hydrazine	302-01-2		0.2 (inhalation)* 39 (all other routes)	TD ₅₀ linear extrapolation
Methyl Chloride	74-87-3		1,361	TD ₅₀ linear extrapolation
Styrene	100-42-5		154	TD ₅₀ linear extrapolation

Threshold-based PDE				
Aniline Aniline HCl	62-53-3 142-04-1		720	PDE based on threshold mode of action (hemosiderosis)
Endogenous and/or Environmental Exposure				
Acetaldehyde	75-07-0		2,000 (oral)* 185 (all other routes)	Oral PDE is based on average food intake; all other routes based on TD ₅₀ linear extrapolation from an inhalation study
Formaldehyde	50-00-0		8,000 or 215 ppb, whichever is lower (inhalation)* 10,000 (all other routes)	Inhalation route based on TD ₅₀ linear extrapolation or local irritation; all other routes based on average food intake
Hydrogen peroxide	7722-84-1	HO-OH	68,000 or 0.5%, whichever is lower	68 mg/day is 1% of estimated endogenous production
Vinyl acetate	108-05-4		2,000 (oral)* 758 (all other routes)	Oral PDE is based on average food intake for acetaldehyde; all other routes based on TD ₅₀ linear extrapolation from an inhalation study
Other Cases				
<i>p</i> -Chloroaniline <i>p</i> -Chloroaniline HCl	106-47-8 20265-96-7		34	AI based on liver tumors for which mutagenic mode of action cannot be ruled out
Dimethyl Sulfate	77-78-1		1.5	Carcinogenicity data available, but inadequate to derive AI. Default to TTC

* Route specific limit

アセトアルデヒド (CAS# 75-07-0)

ヒトへの曝露の可能性

アセトアルデヒドはエタノール及び炭水化物の代謝、並びに消化管内の細菌によってヒトの体内で内因的に形成される。ヒトは、主に食品、アルコール飲料、タバコの煙、さらにわずかながら環境排出物によりアセトアルデヒドに曝露される(1、2)。血液、呼吸、及び唾液中の内因性アセトアルデヒドの測定は、アーティファクトや汚染物質の問題が生じやすいため技術的に難しい(3、4)。それでも、一定の内因性血中アセトアルデヒド総濃度 $2.2 \pm 1.1 \mu\text{mol/L}$ (3) 及びアセトアルデヒドクリアランス 0.95 L/min (5) に基づいて、1日に内因的に産生されるアセトアルデヒドが 360 mg/day と計算された。最大 48 mg/day の平均アセトアルデヒド摂取量は、アルコール飲料の摂取によるものである(6)。内因性アセトアルデヒド濃度及び関連する発がんリスクは、アセトアルデヒド脱水素酵素 2 (ALDH2) 遺伝子多型を持つヒトにおいて有意に高い(7)。食品(アルコール飲料や香料としてアセトアルデヒドが添加されたものを除く)からの外因性曝露は、ドイツ人集団の平均で約 2 mg/day 、及び上位 95 パーセントイルで 8 mg/day と推定されていた(8)。FAO/WHO 食品添加物専門家会議(JECFA)は食品添加物の摂取量を米国で 9.7 mg/day 及び欧州で 11 mg/day と推定しているが、この推定値は、香料としてアセトアルデヒドが添加されている食品を摂取している消費者に限定されている(9)。日本の食品安全委員会(FSC)は、推定摂取量を欧州で 9.6 mg 、及び米国で 19.2 mg/day と推定している(10)。アセトアルデヒドは医薬品の合成に使用される。

変異原性/遺伝毒性

アセトアルデヒドの遺伝毒性は、すでに日本の化学物質評価研究機構等(11)及び他の研究者(1、5、12-18)により評価されている。アセトアルデヒドは Ames 試験で陰性であったが、哺乳類細胞においてヒポキサンチン・グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (HPRT) 遺伝子座の突然変異(配列決定によって確認された点突然変異を含む)の増加を誘発した(13)。アセトアルデヒドで処理した培養細胞においてDNA付加体及びDNA・タンパク質付加体が認められ(14、15)、健常者の尿中及びアルコール依存症者の血液細胞中のDNA付加体が測定された(5)。アセトアルデヒドは主に大幅な染色体効果を誘導する。アセトアルデヒドは *in vitro* で染色体異常及び小核を誘発し、マウスリンフォーマ L5178Y TK⁺試験で陽性であった(13)。アセトアルデヒドはラット及びマウスの骨髄で小核の増加を誘発した(17)。

発がん性

アセトアルデヒドはIARCによる発がん物質の分類でグループ2Bであり、「アルコール飲料の摂取に伴うアセトアルデヒド」はグループ1、「ヒトに対する発がん性がある」とされる。アセトアルデヒドはラット及びハムスターで吸入曝露後に発がん性を示した(1)。

ヒトではアセトアルデヒドはアルコールの主な代謝物であり、高用量及び低用量のアルコール摂取は、特定のヒト癌(例えば、口腔癌、咽頭癌、乳癌)において相対リスクの上昇と相関性がある(19、20)。相対リスクはアルコール消費量の多い喫煙者で高く、タバコの煙に含まれるアセトアルデヒドが関与している可能性が示されている(19)。また、アセトアルデヒド含有濃度の高いアルコール飲料を摂取する地域では、扁平上皮癌及び食道癌の発生率が高い傾向が示された(21)。さらに、入手可能な疫学データから、ALDHによるアセトアルデヒドから酢酸への分解が不十分なヒトではアルコール関連癌の発症リスクが上昇することが示されている。特に、遺伝子変異型ALDH2*1/*2は、飲酒量の多いヒトだけでなく、適度な飲酒をするヒトにおいても、アルコール関連癌との強い相関がある(1、7、19)。メタ分析及び大規模コホート試験では、ALDH欠損者が比較的にまれな米国人集団において適度な飲酒に伴う頭頸部及び乳腺腫瘍のリスク上昇が認められるかに関する結果は矛盾している。ALDHが欠損した飲酒量の多いヒト、喫煙者、適度な飲酒をするヒトにおけるアセトアルデヒド曝露に関連した頭頸部癌のリスク増加に関する文献では、こうした曝露に伴って、刺激作用や組織増殖と矛盾しない病理組織学的変化も認められるかについては考察されていない(22)。

げっ歯類においては、吸入発がん性試験のみ発がん性データベース（CPDB）で入手できる（23）。最も頑健な試験は、Wistarラット（24）を用いて、0、750、1500、又は3000/1000 ppm（11ヵ月後に毒性のため減量）で、1日6時間、週5日、最長28ヵ月間の全身吸入曝露で実施された。CPDBに記載されている投与量は、雄ラットで0、70.8、142及び147 mg/kg、雌ラットで0、101、202及び209 mg/kgであった。高用量群では雄ラットの50%及び雌ラットの42%が67週目までに死亡し、102週目までに全例が死亡した。試験終了時に、雄ラット（対照1/49例、低用量1/52例、中用量10/53例、高用量15/49例）及び雌ラット（それぞれ0/50、0/48、5/53及び17/53例）において接触部位の腫瘍、すなわち鼻扁平上皮癌の発生率の上昇が認められた。全用量で鼻腺癌の増加も認められ、発生率はそれぞれ雄ラットで0/49、16/52、31/53及び21/49例、雌ラットで0/50、6/48、26/53及び21/53例であった。これらのデータに基づいて、CPDBにおけるTD₅₀値は、最も感受性の高い性別及び組織である雄ラットの鼻腺癌に対して185 mg/kgと推定された。

Sprague Dawley ラットを用いて、アセトアルデヒドを飲水投与して経口発がん性試験（25）が実施された。この試験では、0、50、250、500、1500及び2500 mg/Lのアセトアルデヒドを含む飲水を1群当たり50匹のラットに104週間与え、最後のラットが161週齢で死亡するまで試験を続けた。濃度はそれぞれ雄ラットで0、5、25、49、147及び246 mg/kg/day、雌ラットで0、5、27、53、155及び260 mg/kg/dayに相当する。腺癌、リンパ腫及び白血病、乳腺腫瘍及び頭蓋骨肉腫の発生率は、曝露ラットの少なくとも1群で対照群と比べて有意に高いことが報告された。接触部位となる器官、すなわち口腔及び消化管、又は肝臓には悪性腫瘍の増加は認められなかった。この試験は、アセトアルデヒドが飲水による摂取後に発がん性を示す可能性があることを示唆している。しかしながら、明らかな用量反応関係が認められなかったことから、この試験から明確な結論を引き出すことはできないという評価が多かった（5、12、19）。同じデータを用いた別の評価では、2種類の用量反応モデルを用いて発がん性が推定され、著者らは、定量的リスク評価から、一般集団ではアセトアルデヒドへの曝露を低下させることが必要であることが示されると結論したものの、自然発生するアセトアルデヒドを減らすことはできないと認めた（21）。このモデルでは、特定のガン部位についてモデルを作製するには統計検出力が十分でないと考えられたため、すべての担がん動物について発がん性が計算された。アセトアルデヒドの経口投与によるTD₅₀は計算されなかった。

Acetaldehyde – Details of carcinogenicity studies

Study	Animals/ dose group	Duration/ Exposure	Controls	Doses	Most sensitive tumor site/sex	TD ₅₀ (mg/kg/d)
Ref. 24	55/sex/ group Wistar rat	28 months, Inhalation	55	3: M: 70.8; 142; 147. F: 101; 202; 209 mg/kg/day	Nasal /Adenocarcino ma / Male	185 ^a
Ref. 25	50/sex/ group Sprague Dawley rat	24 months, drinking water	50	5: M: 5; 25; 49; 147; 246. F: 5; 27; 53; 155; 260 mg/kg/day	Not identifiable	NC ^b
Ref. 26	30/sex/ group Syrian golden hamster	52 weeks, Inhalation	30	1: M: 344. F: 391 mg/kg/d	Larynx / Mixed tumor type / Male	461

Studies listed are in Cancer Potency Database (CPDB) (Ref. 24)

NC = not calculated;

^aTD₅₀ taken from the CPDB, carcinogenicity study selected for AI derivation

^bThe TD₅₀ was not calculated due to lack of dose-response and sufficient statistical power; the study is not presented in the CPDB

発がん性の作用機序

アセトアルデヒドは強力な求電子剤であり、強力な求核剤、例えばDNA塩基やタンパク質上のアミノ酸残基と反応する。アセトアルデヒドは、細菌を用いる標準的な復帰突然変異試験では変異原性を示さなかったものの、*in vitro*及び*in vivo*でDNA及びDNA・タンパク質付加体が検出され、また哺乳類細胞を用いる*in vitro* HPRT変異原性試験の結果が陽性であったことから、DNA反応性（変異原性）の証拠が示された。その反応特性にもかかわらず、アセトアルデヒドの遺伝毒性及び発がん性に関連する非線形用量反応の証拠が認められる（14）。1～1000 µMの濃度におけるアセトアルデヒド誘発性付加体の用量反応は細胞培養系で測定されており、アセトアルデヒドの添加によって誘発された内因性付加体と外因性付加体の区別が可能となっている。これらの濃度は、アセトアルデヒド含有又は非含有のアルコール含有飲料摂取前後に測定した唾液中アセトアルデヒド濃度に相当する（27、28）。外因性付加体は、臨界濃度を超える付加体の内因性バックグラウンド濃度を上回る程度であった。

アルデヒド脱水素酵素（ALDH）は、アセトアルデヒドを効率的に解毒し、非線形用量反応関係に関与している。ALDHは、大多数の組織（例えば、肝臓、消化管、腎臓、鼻上皮/嗅上皮、肺）のミトコンドリア及びサイトゾルで発現し、アセトアルデヒドを代謝して酢酸とプロトン1個を生成する（29）。プロトン放出により細胞pHが低下することがあり、それにより非特異的細胞毒性と、それに続いて増殖効果が引き起こされる。解毒作用の重要性は、ALDH欠損動物モデルで示された。例えば、吸入及び経口（強制）曝露後、ALDH2活性が欠損したマウスではアセトアルデヒド誘発性の染色体損傷及び突然変異が認められるが、ALDH2活性の高いマウスでは認められない（30）。同様に、アルデヒド脱水素酵素欠損型（残存ALDH活性が約10%に低下している対立遺伝子型ALDH2*1/2*2）を有するアルコール中毒者では、効率的な遺伝子型ALDH2*1/2*1を有するヒトと比べてアセトアルデヒド由来のDNA付加体が多く認められ（31）、またこの遺伝子型を持ち適度な飲酒をするヒトでは、頭頸部癌のリスクが高い（19）。

吸入発がん性データ及びメカニズム検討データから、アセトアルデヒドの発がんリスクは、接触部位で最大であり、また接触部位に限定される可能性があることが示唆される。吸入発がん性試験における鼻腫瘍は、変異細胞の増殖促進となり得るといふ仮説と一致する、再生増殖を引き起こす激しい刺激及び細胞毒性にも関連する吸入量のみ認められた（5、14）。刺激の少ない低用量では、気道の細胞でALDHによってアセトアルデヒドが解毒されることにより、腫瘍が誘発されにくい可能性がある。しかし、がん化における刺激作用と突然変異作用を区別できるような測定データは公表されていない。

規制上の限度値や公表された限度値

アセトアルデヒドは、香料や補助剤に関する米国 FDA の「一般に安全とみなされている」（GRAS）リストに掲載されている - 21 CFR 182.60（32）。日本の食品安全委員会は、アセトアルデヒドが香料として使用される場合には安全性上の懸念はなく、非反応性の酢酸に完全に代謝され、最終的に CO₂ になることから、香料としてのレベルは生理学的範囲を超えないと推定されるとしている（10）。JECFA の評価は、香料として使用された場合、現在の摂取レベルでは安全性上の懸念はないと結論した（9）。

特定海底汚染物質の緊急及び継続的曝露のガイダンスレベルに関する委員会（Committee on Emergency and Continuous Exposure Guidance Levels for Selected Submarine Contaminants）（33）は、3.6 mg/m³に相当する 2 ppm の継続的曝露のガイダンスレベル（CEGL）を推奨している。これは、3.6 mg/m³ × 28.8 m³（1日24時間 - ICH Q3C の仮定） = 104 mg/day の曝露となる。

米国環境保護庁（EPA）はアセトアルデヒドの発がん性の閾値を検討しておらず、濃度 5 µg/m³ のアセトアルデヒドは、ラットの吸入発がん性試験及び直線外挿に基づいて、10⁻⁵ の過剰生涯発がんリスクに相当

すると予測している (34)。24 時間曝露では、これは $5 \mu\text{g}/\text{m}^3 \times 28.8 \text{ m}^3 = 144 \mu\text{g}/\text{day}$ となる。EPA は経口経路によるリスクを検討していない。

経口曝露の許容 1 日曝露量 (PDE)

PDE 算出のための試験選択の根拠

経口投与後のアセトアルデヒドの発がん性に関する非線形用量反応の証拠の重みづけ、及びさまざまな食品によるバックグラウンド曝露の高さを考慮し、食品からのアセトアルデヒドの推定平均摂取量約 $2 \text{ mg}/\text{day}$ に基づいた経口限界について、 $2 \text{ mg}/\text{day}$ という PDE が特定される (8)。

PDE (経口) = $2 \text{ mg}/\text{day}$

他のすべての経路に対する許容摂取量 (AI)

AI 算出のための試験選択の根拠

他のすべての経路に対して、Woutersen ら (24) によるラットでの吸入試験を用いて AI を算出した。この試験では用量当たり各性別 55 匹を使用し、生涯 (すなわち 28 ヶ月間) 投与した。AI を算出するのに最適な試験を選択するための ICH M7 の推奨に従って、これが最適で頑健な試験とみなされる。吸入発がん性データ及びメカニズム検討のデータから、変異細胞の増殖を促す再生増殖を引き起こす激しい刺激及び細胞毒性にも関連する吸入量のみで鼻腫瘍が認められたため、アセトアルデヒドの発がん性が接触部位の細胞毒性に関与していることが示唆される。

AI の算出

生涯 AI = $\text{TD}_{50}/50000 \times 50 \text{ kg}$

生涯 AI = $185 \text{ mg}/\text{kg}/\text{day}/50000 \times 50 \text{ kg}$

生涯 AI (その他すべての経路) = $185 \mu\text{g}/\text{day}$

References

1. IARC. IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Acetaldehyde. 1999;71:319-35.
2. O'Brien PJ, Siraki AG, et al. Aldehyde sources, metabolism, molecular toxicity mechanisms, and possible effects on human health. Crit Rev Toxicol 2005;35:609-62.
3. Fukunaga T, Sillanaukee P, Eriksson CJP. Problems involved in the determination of endogenous acetaldehyde in human blood. Alcohol and Alcoholism 1993;28:535-541.
4. Jones AW. Measuring and reporting the concentration of acetaldehyde in human breath. Alcohol and Alcoholism 1995;30:271-285.
5. Maximum Workplace Concentration Commission (MAK). The MAK Collection for Occupational Health and Safety. Acetaldehyde. 2013;1-58.
6. Lachenmeier DW, Gill JS, Chick J, Rehm J. The total margin of exposure of ethanol and acetaldehyde for heavy drinkers consuming cider or vodka. Food Chem Toxicol 2015;83:210-214.

7. Väkeväinen S, Tillonen J, Agarwal DP, Srivastava N, Salaspuro M. High salivary acetaldehyde after a moderate dose of alcohol in ALDH2-deficient subjects: strong evidence for the local carcinogenic action of acetaldehyde. *Alcohol Clin Exp Res* 2000;24:873-7.
8. Uebelacker M, Lachenmeier DW. Quantitative determination of acetaldehyde in foods using automated digestion with simulated gastric fluid followed by headspace gas chromatography. *J Autom Methods Manag Chem* 2011;2011:907317.
9. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Evaluation of certain food additives and contaminants. Forty-Ninth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. 1999; WHO Technical Report Series 884:30p.
10. Food Safety Commission (FSC). Evaluation of Food Additives: Acetaldehyde, Tokyo, Japan. 2005.
11. Chemicals Evaluation and Research Institute Japan (CERI). Hazard Assessment Report Acetaldehyde, Japan. 2007.
12. European Commission (EC). Scientific Committee on Consumer Safety: SCCS/1468/12: Opinion On: Acetaldehyde. 2012; SCCS/1468/12.
13. Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products (SCCNFP). Opinion of the Scientific Committee on Cosmetic Products and non-food products for consumers concerning acetaldehyde. 2004; SCCNFP/0821/04.
14. Albertini RJ. Vinyl acetate monomer (VAM) genotoxicity profile: Relevance for carcinogenicity. *Critical Reviews in Toxicology* 2013;43:671-706.
15. Grafström RC, Dydbukt JM, Sundqvist K, Atzori L, Nielsen I, Curren RD, Harris CC. Pathobiological effects of acetaldehyde in cultured human epithelial cells and fibroblasts. *Carcinogenesis* 1994;15:985-990.
16. Moeller BC, Recio L, Green A, Sun W, Wright FA, Bodnar WM, Swenberg JA. Biomarkers of Exposure and Effect in Human Lymphoblastoid TK6 Cells Following [¹³C₂]-Acetaldehyde Exposure. *Toxicological Sciences* 2013;133:1-12.
17. Morita T, Asano N, Awogi T, Sasaki YF, Sato S-I, Shimada H, Sutou S, Suzuki T, Wakata A, Sofuni T, Hayashi M. Evaluation of the rodent micronucleus assay in the screening of IARC carcinogens (groups 1, 2A and 2B). The summary report of the 6th collaborative study by CSGMT/JEMS MMS. *Mutation Research* 1997;389:3-122.
18. Speit G, Froehler-Keller M, Schuetz P, Neuss S. Low sensitivity of the comet assay to detect acetaldehyde-induced genotoxicity. *Mutation Research* 2008;657:93-97.

19. IARC. IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Personal habits and indoor combustions. 2012; Volume 100 E.
20. Shield KD, Soerjomataram I, Rehm J. Alcohol Use and Breast Cancer: A Critical Review. *Alcohol Clin Exp Res.* 2016 Jun;40(6):1166-81.
21. Lachenmeier DW, Kanteres F, Rehm J. Carcinogenicity of acetaldehyde in alcoholic beverages: risk assessment outside ethanol metabolism. *Addiction* 2009;104:533-50.
22. Bagnardi V, Rota M, Botteri E, Tramacere I, Islami F, Fedirko V, Scotti L, Jenab M, Turati F, Pasquali E, Pelucchi C, Galeone C, Bellocco R, Negri E, Corrao G, Boffetta P, La Vecchia C. Alcohol consumption and site-specific cancer risk: a comprehensive dose-response meta-analysis. *Br J Cancer* 2015;112:580-93.
23. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>
24. Woutersen RA, Appelman LM, Van Garderen-Hoetmer A, Feron VJ. Inhalation toxicity of acetaldehyde in rats. III. Carcinogenicity study. *Toxicology* 1986;41:213-231.
25. Soffritti M, Belpoggi F, Lambertini L, Lauriola M, Padovani M, Maltoni C. Results of long-term experimental studies on the carcinogenicity of formaldehyde and acetaldehyde in rats. *Ann N Y Acad Sci* 2002;982:87-105.
26. Feron VJ, Kruysse A, Woutersen RA. Respiratory tract tumours in hamsters exposed to acetaldehyde vapour alone or simultaneously to benzo(a)pyrene or diethylnitrosamine. *European Journal of Cancer Clinical Oncology* 1982;1:13-31.
27. Homann N, Jousimies-Somer H, Jokelainen K, Heine R, Salaspuro M. High acetaldehyde levels in saliva after ethanol consumption: methodological aspects and pathogenetic implications. *Carcinogenesis* 1997;18:1739-43.
28. Salaspuro V, Hietala J, Kaihovaara P, Pihlajarinne L, Marvola M, Salaspuro M. Removal of acetaldehyde from saliva by a slow-release buccal tablet of L-cysteine. *Int J Cancer* 2002;97:361-4.
29. Sladek NE. Human aldehyde dehydrogenases: Potential pathological, pharmacological and toxicological impact. *Journal of Biochemical Molecular Toxicology* 2003;17:8-23.
30. Kunugita N, Isse T, Oyama T, Kitagawa K, Ogawa M, Yamaguchi T, Kinaga T and Kawamoto T. Increased frequencies of micronucleated reticulocytes and T-cell receptor mutation in ALDH2 knockout mice exposed to acetaldehyde. *Journal of Toxicological Science* 2008;33:31-6.
31. Matsuda T, Yabushita H, Kanaly RA, Shibutani S, Yokoyama A. Increased DNA damage in ALDH2-deficient alcoholics. *Chemical Research in Toxicology* 2006;19:1374-1378.

32. United States Food and Drug Administration (US FDA) Title 21- Subchapter B - Food for human consumption Part 182 -Substances generally recognized as safe. 21CFR182.60]
33. Committee on Emergency and Continuous Exposure Guidance Levels for Selected Submarine Contaminants (CECEGL). Emergency and continuous exposure guidance levels for selected submarine contaminants, Volume 3, National Academies Press, Washington. 2009.
34. United States Environmental Protection Agency (USEPA). Integrated Risk Information System (IRIS). Acetaldehyde (CASRN 75-07-0) Carcinogenicity Assessment. 1988; Available from: URL: https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/subst/0290_summary.pdf

アクリロニトリル (CAS# 107-13-1)

ヒトへの曝露の可能性

一般集団の曝露に関する入手可能なデータはない。

変異原性／遺伝毒性

アクリロニトリルは*in vitro*で変異原性及び遺伝毒性があり、*in vivo*では潜在的に陽性である。

世界保健機関 (WHO) のConcise International Chemical Assessment Document (CICAD、1) は、アクリロニトリルの詳細なリスク評価を提供している。この評価文書において、酸化代謝はアクリロニトリルが遺伝毒性作用を示すための重要なステップであり、DNA反応性代謝物としてシアノエチレンオキシドが関係していると示している。様々な系を用いた遺伝毒性試験の詳細な評価が引用文献とともに示されており (1)、ここでは主要な結論のみを纏める。

アクリロニトリルは以下において変異原性を示す：

細菌を用いる復帰突然変異試験 (Ames) として、*Salmonella typhimurium* TA 1535及びTA 100を用いたラット又はハムスターS9存在下のみの試験、及び複数の*E. coli*株を用いた代謝活性化系非存在下の試験S9存在下で再現性があり、またS9非存在下では幾つかのケースでのヒトリンパ芽球及びマウスリンフォーマ細胞
飲水により曝露されたラットの脾臓T細胞

*in vivo*遺伝毒性試験では陰性又は結論づけられず、肝臓におけるDNA結合性に関する報告は一貫して陽性であるが、脳では矛盾した結果が得られている。

発がん性

IARC により、アクリロニトリルはグループ 2B の発がん物質、おそらくヒトに対する発がん性があると分類されている (2)。

アクリロニトリルはマウス及びラットにおいて多臓器発がん物質であり、ラットでは脳が主な標的臓器である。CPDB (3) に引用された経口がん原性試験は4試験あり、この他に経口試験3試験の結果が文献1で要約されている。これら7試験のうち1試験のみが陰性だったが、この試験は1用量のみの短期間の検討であった (4)。

試験デザインが頑健であり、最も慎重なTD₅₀値であったことに基づき、経口AIの算出にはCPDBに引用されたマウスのアクリロニトリルのNCI/NTP試験(5)を選択した。この2年間の試験では、雌雄ラットに3用量のアクリロニトリルを強制経口投与した。ハーダー腺及び前胃に統計学的に有意な腫瘍の増加がみられた。

Dow Chemicalの報告としてCPDBに引用されたQuastら(6)の1980年の試験において、最も感受性の高いTD₅₀は、雌ラットの星状細胞腫(5.31 mg/kg/day)である。しかしながら、この試験はその後詳細が説明され(7)、公表文献で算出された用量はCPDBに記載された用量より高かった。Quast(7)は、35、100及び300 ppmの飲水中濃度から、体重及び試験中に認められた飲水量の低下で補正してmg/kg/dayの用量を算出している。これらの数値から導かれる星状細胞腫に対するTD₅₀は雄20.2 mg/kg/day、雌20.8 mg/kg/dayであり、一方、CPDBで算出された値は6.36及び5.31 mg/kg/dayであった。(表に示す通り、前胃腫瘍に対してQuast(7)が概算した用量から算出したTD₅₀値は、同じ試験においてCPDBで算出された値より高かった。)中枢神経系(CNS)の腫瘍が記載されているが(7)、下表に示すように最も感受性の高いTD₅₀は前胃腫瘍であった。

3種類のラット飲水試験の頑健性は低いと考えられた。最大の試験(8)では5つのアクリロニトリル投与群の動物が各群100匹、対照動物が200匹であったが、6、12、18、24カ月後に1群20匹を連続して屠殺

した。WHO (1) 及びUS EPA (9) によるデータ概要では、全時点を合わせたデータに基づく腫瘍発生率を示している。したがって、報告された腫瘍発生率は、全動物を2年間飼育した場合に観察されるであろう総腫瘍数を過小評価しているかもしれない。2 試験 (10、11) では、胃、ジンバル腺及び脳に腫瘍が認められたが、2 用量のみであり、個別の腫瘍の種類は報告されていない (1)。

アクリロニトリルは吸入経路でも試験されている。1 用量につき雌雄各 50 匹を2年間アクリロニトリルに曝露したところ、脳腫瘍が観察された (12)。ただし、この試験では2 用量しか投与をしていない。他の吸入試験でも脳腫瘍が観察されたが、1 群当たりの動物数や曝露期間に不足があるか、1 用量であった。

Acrylonitrile – Details of carcinogenicity studies

Study	Animals/ dose group	Duration/ Exposure	Controls	Doses	Most sensitive tumor site/type/sex	TD ₅₀ (mg/kg/d)
Ref. 5 ^a	50 B6C3F1 Mice (F)	2 years Gavage	50	3: 1.79; 7.14; 14.3 mg/kg/d	Forestomach	6.77 ^c
	50 B6C3F1 Mice (M)	2 years Gavage	50	3: 1.79; 7.14; 14.3 mg/kg/d	Forestomach	5.92 ^c
Ref. 6	~50 SD Spartan rats (F)	2 years Drinking water	~80	3: 2.00; 5.69; 15.4 mg/kg/d	Astrocytoma	5.31 ^d (20.8)
	~50 SD Spartan rats (M)	2 years Drinking water	~80	3: 1.75; 4.98; 14.9 mg/kg/d	Stomach, non- glandular	6.36 ^d (9.0)
Ref 7 (report of Ref. 6)	~50 female SD Spartan rats	2 years Drinking water	~80	3: 4.4; 10.8; 25 mg/kg/d	Stomach, non- glandular	19.4
	~50 SD male Spartan rats	2 years Drinking water	~80	3: 3.4; 8.5; 21.3 mg/kg/d	Stomach, non- glandular	9.0
Ref. 8 ^e	100 male rats	~2 years Drinking water	~200	5: 0.1-8.4 mg/kg/d	Brain astrocytoma	(22.9) ^c

Study	Animals/ dose group	Duration/ Exposure	Controls	Doses	Most sensitive tumor site/type/sex	TD ₅₀ (mg/kg/d)
	100 female rats	~2 years Drinking water	~200	5: 0.1-10.9 mg/kg/d	Brain astrocytoma	(23.5) ^c
Ref. 11 ^e	100/sex Rats	19-22 mo Drinking water	~98	2: ~0.09; 7.98 mg/kg/d	Stomach, Zymbal's gland, brain, spinal cord	NC
Ref. 10 ^e	50/sex Rats	18 mo Drinking water	No	2: 14; 70 mg/kg/d	Brain, Zymbal's gland, forestomach	NC ^b
Ref. 13	20 male CD rats	2 years Drinking water	No	3: 1; 5; 25 mg/kg/d	Zymbal's gland	30.1
Ref. 4	40/sex SD rats	1 year 3d/wk Gavage	75/sex	1: 1.07 mg/kg/d	Neg in both sexes	NA
Ref. 12	100/sex SD Spartan rat	2 years 6 h/d; 5d/wk Inhalation	~100	2: M: 2.27; 9.1 F: 3.24; 13.0 mg/kg/d	Brain Astrocytoma Male	32.4
Ref. 4	30/sex SD rats	1 year 5d/wk Inhalation	30	4: M: 0.19; 0.38; 0.76; 1.52 F: 0.27;0.54;1.0; 2.17 mg/kg/d	Brain glioma Male	19.1
Ref. 4	54 female SD rats	2 years 5d/wk Inhalation	60	1: 11.1 mg/kg/d	Brain glioma	(132) ^f

Studies listed are in CPDB (Ref. 3) unless otherwise noted.

The TD₅₀ values represent the TD₅₀ from the most sensitive tumor site.

TD₅₀ values in parentheses are considered less reliable as explained in footnotes.

^aCarcinogenicity study selected for AI calculation; in CPDB.

^bNC= Not calculated as individual tumor type incidences not provided in WHO (Ref. 1).

^cTD₅₀ calculated based on astrocytoma incidence implied as most significant site by WHO (Ref. 1).

Serial sampling reduced number of animals exposed for 2 years, so tumor incidences may be underestimates.

^dTaken from the CPDB. Note that based on the dose calculations by the author (Ref. 7) the TD₅₀ for astrocytomas and stomach tumors in Spartan rats (20.8 and 9.0) are higher than those in the CPDB.

NA= Not applicable.

^eNot in CPDB. Summarized in Refs. 1 and 9.

^fSingle dose-level study.

発がん性の作用機序

発がん性の作用機序は結論できていないが、DNA 相互作用の関与は否定できない (1)。前胃腫瘍に加え、CNS 腫瘍がラットの複数のがん原性試験でみられ、前胃腫瘍はマウスでも最も感受性の高い腫瘍だった。

前胃腫瘍は局所の刺激及び炎症を伴っており、Quast (7) はラットでみられたこれらの腫瘍と、他の炎症及び変性変化を伴う過形成及び/又は異常角化症との典型的な関連性を指摘している。高濃度で経口投与されたげっ歯類における前胃腫瘍 (接触部位への作用) は、刺激性のない低濃度ではヒトへの曝露とは関連しない可能性がある (14)。アクリロニトリルは、単なる接触部位発がん物質ではない。胃腸管及び舌のように直接曝露される組織に加え、腫瘍は CNS にみられた。前胃腫瘍はラットにアクリロニトリルを飲水投与及びマウスに強制経口投与した後に認められた。したがって、マウス前胃腫瘍に基づいてアクリロニトリルの AI を算出した。

規制上の限度値や公表された限度値

US EPA (9) は、ラットの飲水試験における多臓器腫瘍の発生率に基づき、10 万分の 1 のリスクレベルにおける経口スロープファクターを 0.54 /mg/kg/day 及び飲水限度値を 0.6 µg/L と算出した。この飲水限度値は 50 kg のヒトの 1 日量である約 1 µg/day に等しい。

許容摂取量 (AI)

AI を算出するための試験選択の根拠

吸入試験も経口試験 (強制経口投与及び飲水) も利用できる。いずれの経路でも CNS の腫瘍がみられ、アクリロニトリルは全ての経路で曝露後速やかに吸収されて評価対象の組織に分布するため (1)、固有の吸入 AI は不要と考えられた。AI を算出するため最も頑健ながん原性試験を選択する際は、US EPA (9) がアクリロニトリルの飲水限度値の算出に用いた全てのがん原性試験を考慮した。アクリロニトリルを雌雄マウスに強制経口投与して算出した TD₅₀ に基づき、AI の算出に NCI/NTP 試験 (5) を選択した。最小 TD₅₀ を示す腫瘍は雄マウスの前胃腫瘍であり、TD₅₀ 値は 5.92 mg/kg/day だった。方法の 2.2 項で考察したように、ここでは AI の算出に TD₅₀ からの直線外挿を使用し、また、わずかな計算方法の違いにより計算値が異なることが予想される。したがって、潜在的な医薬品不純物について以下に算出した AI は、US EPA (9) による飲水から算出したものよりわずかに高い。

AI の算出

$$\text{生涯 AI} = \text{TD}_{50}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{生涯 AI} = 5.92 \text{ (mg/kg/day)}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{生涯 AI} = 5.9 \text{ µg/day (6 µg/day)}$$

References

1. World Health Organization (WHO). Concise International Chemical Assessment Document (CICAD) 39. Acrylonitrile. [Online]. Geneva. 2002; Available from: URL: <http://www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad39.htm>
2. International Agency for Research on Cancer (IARC). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon. Acrylonitrile 1999; Vol. 71, 43.

3. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>
4. Maltoni C, Ciliberti A, Cotti G, Perino G. Long-term carcinogenicity bioassays on acrylonitrile administered by inhalation and by ingestion to Sprague-Dawley rats. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1988;534:179–202.
5. National Toxicology Program (NTP) Toxicology and Carcinogenesis Studies of Acrylonitrile (CAS No. 107-13-1) in B6C3F1 Mice (Gavage Studies). NTP TR 506 NIH Publication No. 02-4440. 2001;198.
6. Quast JF, Wade CE, Humiston CG, Carreon RM, Hermann EA, Park CN et al, Editors. A Two-Year Toxicity and Oncogenicity Study with Acrylonitrile Incorporated in the Drinking Water of Rats, Final Report. Dow Chemical USA, Midland, MI; 1980.
7. Quast, JF Two-year toxicity and oncogenicity study with acrylonitrile incorporated in the drinking water of rats. *Toxicol Lett* 2002;132:153-96.
8. Bio/Dynamics Inc. Monsanto Company. 1980. A twenty-four month oral toxicity/carcinogenicity study of acrylonitrile administered in the drinking water to Fischer 344 rats. Final report. Four volumes. St. Louis, MO. Project No. 77-1744; BDN-77-27.
9. US EPA. Acrylonitrile (CAS# 107-13-1). Integrated Risk Information System (IRIS) [Online].1987. Available from: URL: https://cfpub.epa.gov/ncea/iris2/chemicalLanding.cfm?substance_nubr=206
10. Bigner DD, Bigner SH, Burger PC, Shelburne JD, Friedman HS. Primary brain tumors in Fischer 344 rats chronically exposed to acrylonitrile in their drinking water. *Food and Chemical Toxicology* 1986;24:129–37.
11. Bio/Dynamics Inc. Monsanto Company, Division of Biology and Safety evaluation. 1980. A twenty-four month oral toxicity/carcinogenicity study of acrylonitrile administered to Spartan rats in the drinking water. Final report. Two volumes. St. Louis, MO. Project No. 77-1745; BDN-77-28.
12. Quast JF, Schuetz DJ, Balmer MF, Gushow TS, Park CN, McKenna MJ, editors. A Two-Year Toxicity and Oncogenicity Study with Acrylonitrile Following Inhalation Exposure of Rats, Final Report. Dow Chemical USA, Midland, MI; 1980.
13. Gallagher GT, Maul EA, Kovacs K, Szab S. Neoplasms in rats ingesting acrylonitrile for two years. *J Am Col Toxicol* 1988;7:603-15.
14. Proctor DM, Gatto NM, Hong SJ, Allamneni KP. Mode-of-action framework for evaluation of the relevance of rodent forestomach tumors in cancer risk assessment. *Toxicol. Sci* 2007; 98:313-26.

アニリン (CAS# 62-53-3) 及びアニリン塩酸塩 (CAS# 142-04-1)

ヒトへの曝露の可能性

アニリンは、一部の食品（すなわち、トウモロコシ、穀類、豆、茶）で自然に存在するが、曝露のより大きな発生源は工業環境にある。

変異原性／遺伝毒性

アニリンは、*Salmonella* を用いた復帰突然変異試験（Ames）で変異原性を示さない。アニリンは、幾つかの *in vitro* と *in vivo* 遺伝毒性試験が陽性であり、遺伝毒性発がん物質であるというこれまでの認識により本補遺に含まれる。

アニリンは、S9 存在下又は非存在下の *Salmonella* 菌又は *E.coli* WP2 *uvrA* の標準的な 5 菌株において、変異原性を示さない（1、2、3、4、5、6、7、8）。

アニリンは、S9 存在下及び非存在下の L5178Y 細胞を用いるマウスリンフォーマ *tk* 試験で、0.5～21 mM のような極めて高濃度で陽性を示した（9、10、11）。

染色体異常試験では、S9 存在下あるいは非存在下でのハムスター細胞株で、例えば約 5～30 mM の非常に高濃度で、細胞毒性がみられる濃度において、幾つかの陰性の報告や陽性結果が得られている（1、12、13、14、15）。

in vivo では、380 mg/kg を 2 日間腹腔内（i.p.）投与した後の雄 CBA マウスの骨髄で、染色体異常は増加しなかった（16）が、500 mg/kg を雄 PVR ラットへ経口投与した 18 時間後に染色体異常がわずかに増加したことが報告された（17）。

経口あるいは腹腔内投与したマウス骨髄（18、19、20、21）やラット骨髄（17、22）において、多くの試験の小核誘発性は陽性であったが、ほとんどの陽性は共通して、約 300 mg/kg を上回る高用量においてみられた。500、1000 及び 2000 ppm の 90 日間摂餌投与により、雌雄の B6C3F1 マウスの末梢血において小核の増加を生じさせた（23）。

in vivo では、61～420 mg/kg のアニリンを単回 i.p.投与した 24 時間後に、雄 Swiss マウスの骨髄で、背景を超える最大 2 倍に達する姉妹染色分体交換（SCE）の弱い増加がみられた（24、25）。この研究において、アルカリ溶出試験でマウス骨髄に DNA 鎖切断は検出されなかった。

発がん性

IARC により、アニリンはグループ 3、ヒトに対する発がん性について分類することができないとされている（4）。

染料産業の労働者の膀胱癌は当初、アニリン曝露に関連すると考えられたが、その後β-ナフチルアミン、ベンジジン及びその他のアミン類のような、アニリン染料生産中の他の中間物質への曝露が原因とされた。

化学工業毒性学研究所（CIIT、26）は、CD-F ラット（雌雄各 130 匹／群）にアニリン塩酸塩を 0、200、600、2000 ppm で 2 年間摂餌投与する試験を行なった。高用量群の雄ラットでのみ、原発性脾臓肉腫の発生率上昇を認めた。3 段階の用量群があり、用量当たりの動物数が大きい（各性別 130 匹）という頑健な試験デザインに基づき、この試験をアニリンの PDE 算出に選択した。

CIIT の試験結果は、米国国立がん研究所によるアニリン塩酸塩の摂餌試験（27）のそれと一致しており、この試験では雄ラットには脾臓を含む多くの臓器での血管肉腫が増加し、悪性褐色細胞腫の発生率には有意な用量関連傾向があった。マウスでは（27）極めて高用量においても、いずれの腫瘍も統計学的に有意な増加はみられなかった。

頑健性の低い試験デザインで試験をした場合、アニリンそのものは、ラットに腫瘍を誘発しなかった (28)。

Aniline and Aniline HCl – Details of carcinogenicity studies

Study	Animals/ dose group	Duration/ Exposure	Controls	Doses	Most sensitive tumor site/type/sex	TD ₅₀ (mg/kg/d)
Ref. 26 ^a Aniline HCl	130/sex/ group, CD-F rats	2 years Diet	130	3: 200, 600 and 2000 ppm in diet (M; 7.2; 22; 72 mg/kg/d)	Spleen sarcoma (high dose). NOEL at low dose	Not reported
Ref. 27 ^b Aniline HCl	50/sex/group, F344 rats	103 weeks (107-110 wk study) Diet	50	2: 3000 and 6000 ppm in diet (F: 144;268 M: 115;229 mg/kg/d)	Spleen hemangio- sarcoma/Male	160 (Male)
Ref. 27 ^b Aniline HCl	50/sex/group B6C3F1	103 weeks (107-110 wk study) Diet	50	2: 6000 and 12000 ppm in diet (F: 741;1500 M: 693;1390 mg/kg/d)	Negative	NA
Ref. 28 ^b Aniline	10-18/group, male Wistar rats	80 weeks Diet	Yes	3: 0.03, 0.06 and 0.12% in diet (15;30;60 mg/kg/d)	Negative	NA

^aCarcinogenicity study selected for PDE calculation. Not in CPDB.

^bTaken from CPDB (Ref. 29). The TD₅₀ values represent the TD₅₀ from the most sensitive tumor site.

NA = Not applicable

発がん性の作用機序

動物実験では、アニリンは高用量でメトヘモグロビン血症と溶血を引き起こし、溶血は造血誘発による小核の増加へ間接的につながる可能性があった (19、30、31)。小核はラットとマウスの両方で誘発される一方、アニリン誘発性の腫瘍がラットでみられたがマウスでみられなかったことも、遺伝毒性がアニリン誘発性腫瘍の主な作用機序ではないことの証拠とされている。

脾臓でのアニリン誘発毒性は発がん性の一因であり、フリーラジカルの形成や組織損傷を介していると考えられる (32)。高用量 (10 mg/kg 超) のアニリンにより脾臓で鉄が蓄積するが、これはアニリンが赤血球へ優先的に結合し、損傷した細胞が脾臓に蓄積する結果である。脾臓における鉄を介した酸化ストレスは、脂質過酸化、マロンジアルデヒド-タンパク質付加体、タンパク質酸化、形質転換増殖因子-β1 の上方制御を誘発するらしく、いずれもアニリン曝露後のラット脾臓で検出されている

(33)。酸化ストレスの増加は、アニリンへの長期曝露中における持続的事象であると考えられ、ラットで観察された細胞過形成、線維症、腫瘍原性の一因となっていた可能性がある(32、34)。マウスに腫瘍原性がないことは、ラットと比べて脾臓でみられる毒性が比較的軽度であることが関係している可能性がある(17、35)。

発がん性に対するこのような毒性の作用機序を裏付けるものとして、ラットのアニリン誘発性腫瘍原性の用量反応は非線形となっている(36)。同系統のラットを用いているNCI試験及びCIIT試験を考慮した場合、アニリン塩酸塩を0.02%の濃度(雄では約7.2 mg/kg/dayのアニリンに等しい)で摂餌投与しても腫瘍はみられなかった。このことは、脾臓でのアニリンに由来する結合放射標識の蓄積パターンを評価した試験(37)と併せ、アニリンの発がん性には閾値が存在するという結論を裏付けている(36)。この証拠の重みから、これらの腫瘍は主な変異原性作用機序の結果ではないという結論が裏付けられる(38)。

規制上の限度値や公表された限度値

US EPA(39)は、CIIT試験(26)に基づき、アニリンの量的発がんリスク評価の概要を示している。その結果、発がん強度スロープ曲線は0.0057/mg/kg/dayであり、10万分の1の生涯発がんリスクと関連している用量は120 µg/dayと計算されている。ただしこの評価では、脾臓でのアニリンの蓄積が非線形であるため、この手順がスロープファクターの算出に最適の方法ではない可能性があると記述している(39)。10 mg/kg未満の用量では、アニリンの蓄積はわずかでありヘモジデリン沈着はみられず、すでに述べたとおり、ヘモジデリン沈着はラットにみられる脾臓腫瘍の誘発に重要である可能性がある。

許容1日曝露量(PDE)

アニリンの許容摂取量の根拠をラットで観察された脾臓腫瘍の直線外挿とするのは、脾臓腫瘍の用量反応が非線形であること、またアニリンが変異原性物質ではないこと、そして遺伝毒性がアニリン誘発性発がんの作用機序では重要でないことから、不適切であると考えられる。PDEは、ICH Q3C(40)で定めた過程を用いて算出された。

PDE算出のための試験選択の根拠

CIITの2年間のラットがん原性試験(26)から得たデータを用いた。用量レベルは摂餌中200、600、2000 ppmのアニリン塩酸塩であり、7.2、22、72 mg/kg/dayのアニリンの用量レベルに等しい。腫瘍は高用量の雄に認められ、22 mg/kg/dayでは脾臓の間質性肉腫が1件確認された。これらのデータに基づき、最低用量である7.2 mg/kg/dayを用いて腫瘍に関する無影響量(NOEL)を定義している。

The PDEの計算は、(NOEL × 体重補正(kg)) / F1 × F2 × F3 × F4 × F5である。

ICH Q3Cで概要が示されているように、アニリンのPDEの決定には以下の安全係数を適用した。

F1 = 5 (ラットからヒトへ)

F2 = 10 (個人間のばらつき)

F3 = 1 (少なくとも半生涯の試験期間)

F4 = 10 (重篤な毒性—遺伝毒性ではない発がん性)

F5 = 1 (NOELを使用)

生涯 PDE = 7.2 mg/kg/day × 50 kg / (5 × 10 × 1 × 10 × 1)

生涯 PDE = 720 µg/day

References

1. Chung KT, Murdock CA, Zhou Y, Stevens SE, Li YS, Wei CI, et al. Effects of the nitro-group on the mutagenicity and toxicity of some benzamines. *Environ. Molecul. Mutagen.* 1996;27:67-74.
2. IARC. Some aromatic amines, anthraquinones and nitroso compounds, and inorganic fluorides used in drinking water and dental preparations. *Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon.* 1982;27:39.
3. IARC. Genetic and related effects: An update of selected IARC Monographs from volumes 1 to 42. *Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon.* 1987. Addendum 6: 68.
4. IARC. Overall evaluation of carcinogenicity: An update of IARC monographs volumes 1 to 42. *Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon.* 1987. Addendum 7: pp. 99 and 362.
5. Jackson MA, Stack HF, Waters MD. The genetic toxicology of putative nongenotoxic carcinogens. *Mutat Res* 1993;296:241-77.
6. Brams A, Buchet JP, Crutzen-Fayt MC, De Meester C, Lauwerys R, Leonard A. A Comparative Study, With 40 Chemicals, of The Efficiency of the Salmonella Assay and the SOS Chromotest (Kit Procedure). *Toxicol. Lett.* 1987;38:123-33.
7. Rashid KA, Arjmand M, Sandermann H, Mumma RO. Mutagenicity of chloroaniline / lignin metabolites in the Salmonella/microsome assay; *J Environ Sci Health* 1987;Part B B22(6):721-9.
8. Gentile JM, Gentile GJ and Plewa M. Mutagenicity of selected aniline derivatives to Salmonella following plant activation and mammalian hepatic activation; *Mutat. Res.* 1987;188:185-96.
9. Wangenheim J, Bolcsfoldi G. Mouse lymphoma L5178Y thymidine kinase locus assay of 50 compounds; *Mutagenesis* 1988;3(3):193-205.
10. Amacher DE, Paillet SC, Turner GN, Ray VA, Salsburg DS. Point mutations at the thymidine kinase locus in L5178Y mouse lymphoma cells. *Mutat. Res.* 1980;72:447-74.
11. McGregor DB, Brown AG, Howgate S, McBride D, Riach C, Caspary WJ. Responses of the L5178y mouse lymphoma cell forward mutation assay. V: 27 Coded Chemicals; *Environ Mol Mutagen* 1991;17:196-219.
12. Abe S, Sasaki M. Chromosome aberrations and sister chromatic exchanges in Chinese hamster cells exposed to various chemicals. *J. Natl: Cancer Inst.* 1977;58:1635-41.

13. Ishidate M, Jr, Odashima S. Chromosome tests with 134 compounds on Chinese hamster cells *in vitro* – A screening for chemical carcinogens. *Mutat. Res.* 1977;48:337-54.
14. Ishidate M Jr. The data book of chromosomal aberration tests *in vitro* on 587 chemical substances using Chinese hamster fibroblast cell line (CHL cells). Tokyo. The Realize Inc. 1983;p26.
15. Galloway SM, Armstrong MJ, Reuben C, Colman S, Brown B, Cannon C, et al. Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in Chinese Hamster Ovary cells: Evaluations Of 108 Chemicals; *Environ. Mol. Mutagen.* 1987;10 Suppl 10:1-175.
16. Jones E, Fox V. Lack of clastogenicity activity of aniline in the mouse bone marrow. *Mutagenesis* 2003;18:283-6.
17. Bomhard EM. High-dose clastogenic activity of aniline in the rat bone marrow and its relationship to the carcinogenicity in the spleen of rats. *Arch. Toxicol.* 2003;77:291-7.
18. Westmoreland C, Gatehouse DG. Effects of aniline hydrochloride in the mouse bone marrow micronucleus test after oral administration. *Carcinogenesis* 1991;12:1057-9.
19. Ashby J, Vlachos DA, Tinwell H. Activity of aniline in the mouse bone marrow micronucleus assay. *Mutat. Res.* 1991;263:115-7.
20. Sicardi SM, Martiarena JL, Iglesias MT. Mutagenic and analgesic activities of aniline derivatives. *J Pharm Sci* 1991;80:761-4.
21. Ress NB, Witt KL, Xu J, Haseman JK, Bucher JR. Micronucleus induction in mice exposed to diazoaminobenzene or its metabolites, benzene and aniline: implications for diazoaminobenzene carcinogenicity. *Mutat Res* 2002;521:201-8.
22. George E, Andrews M, and Westmoreland C. Effects of azobenzene and aniline in the rodent bone marrow micronucleus test. *Carcinogenesis* 1990;11:1551-5.
23. Witt KL, Knapton A, Wehr CM, Hook GJ, Mirsalis J, Shelby MD et al. Micronucleated erythrocyte frequency in peripheral blood of B6C3F1 mice from short-term, prechronic and chronic studies of the NTP carcinogenesis bioassay program. *Environ Mol Mutagen* 2000;36:163-94.
24. Parodi S, Pala M, Russo P, Zunino A, Balbi C, Albini A, et al. DNA damage in liver, kidney, bone marrow, and spleen of rats and mice treated with commercial and purified aniline as determined by alkaline elution assay and sister chromatid exchange induction. *Cancer Res.* 1982;42:2277-83.

25. Parodi S, Zunino A, Ottaggio L, De Ferrari M, Santi L. Lack of correlation between the capability of inducing sister chromatid exchanges *in vivo* and carcinogenic potency for 16 aromatic amines and azo derivatives. *Mutat Res* 1983;108:225-38.
26. CIIT. 1982. 104-week chronic toxicity study in rats with aniline hydrochloride. Final report. Report prepared for CIIT by Hazleton Laboratories America, Inc. CIIT Docket No. 11642. CIIT, Research Triangle Park, NC.
27. NCI (National Cancer Institute) National Toxicology Program. Technical report on the bio-assay for Aniline hydrochloride for possible carcinogenicity. (CAS No., 142-04-1). NCI-CG-TR-130. 1978. Available from : URL: https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr130.pdf
28. Hagiwara A, Arai M, Hirose M, Nakanowatari J-I, Tsuda H and Ito N. Chronic effects of norharman in rats treated with aniline. *Toxicol Lett.* 1980;6:71-5.
29. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>
30. Steinheider G, Neth R, Marguardt H. Evaluation of nongenotoxic and genotoxic factors modulating the frequency of micronucleated erythrocytes in the peripheral blood of mice. *Cell Biol. Toxicol* 1985;1:197-211.
31. Tweats D, Blakey D, Heflich RH, Jacobs A, Jacobsen SD, Nohmi TT, et al. Report of the IWGT working group on strategies and interpretation of regulatory *in vivo* tests. I. Increases in micronucleated bone marrow cells in rodents that do not indicate genotoxic hazards. *Mutat Res* 2007;627:78-91.
32. Khan MF, Wu X, Boor PJ, Ansari GAS. Oxidative modification of lipids and proteins in aniline induced splenic toxicity. *Toxicol Sci* 1999;48:134-40.
33. Khan MF, Wu X, Wang JL. Upregulation of transforming growth factor-beta 1 in the spleen of aniline-induced rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 2003;187:22-8.
34. Weinberger MA, Albert RH, Montgomery SB. Splenotoxicity associated with splenic sarcomas in rats fed high doses of D & C Red No. 9 or aniline hydrochloride. *J Natl Cancer Inst* 1985;5:681-7.
35. Smith RP, Alkaitis AA, Shafer PR. Chemically induced methemoglobinemias in the mouse. *Biochem. Pharmacol* 1967;16:317-28.
36. Bus JS, Popp JA. Perspectives on the mechanism of action of the splenic toxicity of aniline and structurally-related compounds. *Food. Chem. Toxicol.* 1987;25:619-26.

37. Robertson O, Cox MG, Bus JS. Response of the erythrocyte and spleen to aniline insult in Fischer 344 rats. *Toxicologist* 1983;3:128.
38. Bomhard EM, Herbold BA. Genotoxic activities of aniline and its metabolites and their relationship to the carcinogenicity of aniline in the spleen of rats. *Crit. Rev. Toxicol.* 2005;35:783-835.
39. US Environmental Protection Agency. Aniline (CAS No 62-53-3). Integrated Risk Information System (IRIS) [Online]. 1988 Available from: URL:
https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/subst/0350_summary.pdf
40. International Conference on Harmonisation (2011). Q3C(R5): Impurities: Guideline for Residual Solvents.

塩化ベンジル (α -クロロトルエン、CAS# 100-44-7)

ヒトへの曝露の可能性

ヒトへの曝露は主に職業での吸入によるが、頻度は少ないものの汚染した地下水の摂取による曝露もある。

変異原性／遺伝毒性

塩化ベンジルは *in vitro* で変異原性及び遺伝毒性があるが、これらは哺乳類を用いた *in vivo* では認められない。

The International Agency for Research on Cancer (IARC) は、塩化ベンジルの変異原性／遺伝毒性データについて詳細に概説を行い、論文を公表した (1)。ここに幾つかの主要な結論を纏める。

塩化ベンジルは以下において変異原性を示す。

Salmonella typhimurium TA100 を用いた細菌を用いる復帰突然変異試験 (Ames 試験) の結果は、試験施設間及び施設内で一貫していないが、気相では明らかな復帰変異コロニー数の増加を示している (2)。

チャイニーズハムスター細胞 (1)。

塩化ベンジルは、マウスの骨髄を用いた *in vivo* 小核試験において、経口、腹腔内又は皮下投与後に小核を誘発しなかったが、静脈内投与後のマウスにおいて、DNA 付加体を形成した (1)。

発がん性

塩化ベンジルはグループ 2A、ヒトに対して発がん性がある可能性が高いと分類されている (3)。

塩化ベンジルが、F-344 ラット及び B6C3F1 マウスにコーン油を媒体として強制経口投与により週 3 回 104 週間投与された (4)。ラットには 0、15、30 mg/kg (推定 1 日量：0、6.4、12.85 mg/kg) を投与し、マウスには 0、50、100 mg/kg (推定 1 日量：0、21.4、42.85 mg/kg) を投与した。ラットでは、雌の高用量群で甲状腺 C 細胞腺腫／癌腫のみに腫瘍発生率の統計学的に有意な増加が認められた (対照群 8% に対して 27%)。これらの甲状腺癌が投与に関連した変化か否かについての考察は下記に記載されている。複数の毒性試験が実施されたが、C 細胞過形成はこの一生涯の試験の雌にしか認められなかった。

マウス (4) では、雌雄ともに高用量で前胃乳頭腫及び前胃癌 (主に乳頭腫) の発生率の統計学的に有意な増加が認められた (対照群が 0% であったのに対し、雄 62% 及び雌 37%)。腫瘍が認められないマウスの胃には上皮過形成が認められた。また、雄で血管腫又は血管肉腫の発生率の統計学的に有意な増加が高用量で認められ (対照群 0% に対し 10%)、肝臓の癌腫又は腺腫の発生率の統計学的に有意な増加が低用量でのみ認められたが (対照群 33% に対して 54%)、これらは雌では認められなかった。雌で肺胞－細気管支の腺腫又は癌腫の発生率の統計学的に有意な増加が高用量で認められたが (対照群 1.9% に対して 12%)、雄では認められなかった。

発がん性を評価するため、他にも試験が実施されたが、AI の算出に利用するには試験デザインの面で不適切と考えられた。局所投与で実施された 3 つの試験のうちの 1 試験 (5) では皮膚癌の発生率が増加したが、統計学的な有意差は認められなかった (ベンゼン対照群 0% に対して 15%)。塩化ベンジルが皮膚がんを誘発する可能性を確認するため、クロトン油及びホルボールエステルの TPA (12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate) をプロモーターとして用いたイニシエーション-プロモーション試験が実施されたが (6、7、8)、試験期間が限られており、また、報告書は予備的知見として公表されたが、最終的な結果は文献に記載されていない。皮下投与後には投与部位に肉腫が認められた (9)。

Benzyl chloride – Details of carcinogenicity studies

Study	Animals/dose group	Duration/Exposure	Controls	Doses	Most sensitive tumor site/type/sex or tumor observations	TD₅₀ (mg/kg/d)
Ref. 4 ^a	52/sex/group F344 rat	2 year 3 times/wk Gavage	52	2: 15 and 30 mg/kg (6 and 12 mg/kg/d)	Thyroid C-cell neoplasm/ Female	40.6
Ref. 4	52/sex/group B6C3F1 mouse	2 year 3 times/wk Gavage	52	2: 50 and 100 mg/kg (21 and 42 mg/kg/d)	Forestomach papilloma, carcinoma/ Male	49.6
Ref. 5	11/group female ICR mouse	9.8 mo 3 times/wk for 4 wks, 2 times/wk Dermal	Yes (benzene treated)	1: 10 µL	No skin tumors	NC ^b
Ref. 5	20/group female ICR mouse	50 weeks 2 times/wk Dermal	20 (benzene treated)	1: 2.3 µL	Skin squamous cell carcinoma	NC ^b
Ref. 6	20/group male ICI Swiss albino mouse	>7 mo 2 times/wk Dermal, in toluene	20	1: 100 µg/mouse	No skin tumors	NC ^b
Ref. 9	14 (40 mg/kg), and 8 (80 mg/kg) BD rat	51 weeks 1 time/wk Subcutaneous	Yes	2: 40 and 80 mg/kg/wk	Injection site sarcoma	NC ^b
Ref. 7	40/sex/group Theiler's Original mouse	10 mo 1 dose (in toluene); wait 1 wk Promoter (croton oil)	40	1: 1 mg/ mouse	No skin tumors	NC ^b

Study	Animals/dose group	Duration/Exposure	Controls	Doses	Most sensitive tumor site/type/sex or tumor observations	TD ₅₀ (mg/kg/d)
		2 times/wk				
Ref. 8	Sencar mice	6 mo 1 dose; Promoter (TPA) 2 times/wk	Yes	3: 10; 100 and 1000 µg/mouse	20% skin tumors [5% in TPA controls] (DMBA controls had skin tumors by 11 weeks)	NC ^b

Studies listed are in CPDB (Ref. 10) unless otherwise noted.

^aCarcinogenicity study selected for AI calculation.

^bNC= Not calculated; small group size, limited duration. Not included in CPDB as route with greater likelihood of systemic exposure is considered more relevant.

発がん性の作用機序

CPDB (10) において、塩化ベンジルについて計算された最小TD₅₀となる腫瘍型（発がん性が最も高いもの）は、マウスの前胃腫瘍及び雌ラットの甲状腺C細胞腫瘍である。潜在的な不純物が関連する、刺激性のない低用量でのヒトのリスク評価について、この前胃腫瘍の関連性は極めて疑わしい。

げっ歯類の前胃腫瘍は、ヒトへのリスク評価において、多くの議論の対象となっている。非変異原性の化学物質では、強制経口投与後、前胃に接触した高濃度の被験物質に関連した炎症や刺激により過形成が生じ、最終的に腫瘍が発生する可能性があると認識されている。ヒトでは経口投与された物質は急速に食道を通過するのに対し、げっ歯類では強制経口投与された物質は腺胃に排出される前に一定時間前胃に残存する可能性がある。このような腫瘍誘発は、刺激が生じない用量ではヒトと関連していない。同様な炎症作用及び過形成作用は変異原性化学物質によっても認められ、このような非変異原性での高用量効果による作用機序が相対的にどのくらい寄与するのか判断するのは、直接的な突然変異誘発と比較してより複雑である。しかし、損傷による二次的機序に基づくと考えられる刺激や炎症を引き起こす濃度のみに関連している接触部位での腫瘍形成については、確固たる症例がしばしば生じ得る。細胞増殖は、非線形の用量反応性となる腫瘍形成で重要な役割を果たすと考えられており、前胃（又はその他の接触部位）の腫瘍は低用量でのヒトへの曝露と関連していない。

Proctor ら (11) は、既知の遺伝毒性がヒト組織と関連している可能性があるか（ある化合物が *in vivo* で遺伝毒性を有するかについても含まれる）、経口投与によるどのような種類の腫瘍も前胃に特異的であるか、腫瘍は前胃を刺激する用量や MTD を上回る用量でのみ認められるか、を考慮し、発がんリスク評価において前胃腫瘍の関連性を評価するための体系立てられた方法を提案した。

上記や表で説明したように、塩化ベンジルはラット及びマウスにおいて、強制経口投与による高用量の曝露後（前胃腫瘍）、注射による高用量の曝露後（注射部位の肉腫）及び高感受性の Sencar マウスの皮膚腫瘍イニシエーション-プロモーションモデルにおいて、局所塗布による高用量の曝露後、主に接触部位で腫瘍を誘発する。Screening Information Dataset (SIDS) for high volume chemicals の OECD 報告書では、塩化ベンジルは急性及び反復投与試験において、皮膚、眼、粘膜に対し強い刺激性を示したと説明している (12)。Fischer 344 ラットの雄に 250 mg/kg 以上、雌に

125 mg/kg 以上の塩化ベンジルを週 3 回経口投与した後に、雌雄各 10 匹が前胃における重度の急性及び慢性胃炎のため 2-3 週間以内に死亡し、潰瘍を伴うものも多く認められた (4)。雌ラットの低用量では、前胃の過形成 (62 mg/kg) や前胃の角化亢進 (30 mg/kg) などの増殖性変化が認められた。マウスのがん原性試験では前胃腫瘍の発生率が高く、また、Lijinsky ら (4) は亜慢性用量設定試験でラットの前胃において非腫瘍性病変も観察したが、ラットのがん原性試験では前胃において腫瘍はほとんど発生しなかった。ラットでの用量 - 反応曲線のスロープは急峻であり MTD の確立が困難であることから、著者はラットの試験で用いた用量がラットで有意な発がん性を誘発する量よりわずかに低すぎたと推測した。

塩化ベンジルの場合、接触部位の腫瘍に加えその他の腫瘍型についても、その投与と関連している可能性があるとして考察された。マウスの経口投与試験で、Lijinsky は前胃腫瘍以外の発がん作用を意義がないと見なし、これには雄における内皮の腫瘍、雌のみにおける肺の肺胞 - 細気管支の腫瘍 (これらはいずれも統計的に有意ではない) 及び雄の低用量のみにおける肝細胞の腫瘍 (この腫瘍型は用量に関連していなかったため考慮しなかった) の増加が含まれた。OECD SIDS (12) がマウスの 26 週間経口毒性試験における重度から中等度の用量に関連した肝臓の過形成の観察所見を報告していることは注目に値する。

雄マウスでは循環器系の血管腫/血管肉腫 (TD_{50} は 454 mg/kg/day)、雌ラットでは甲状腺 C 細胞腺腫又は癌腫 (TD_{50} は 40.6 mg/kg/day) の統計学的に有意な増加が報告された。雌ラットの高用量群における甲状腺 C 細胞腫瘍の発生頻度は、雌の同時対照群より高かったが (対照群では 52 匹中 4 匹だったのに対し 52 匹中 14 匹)、雄の同時対照群とは同程度であった (52 匹中 12 匹)。雄では、甲状腺 C 細胞腫瘍の発生頻度は、対照群より塩化ベンジル投与群の方が低かった。NTP の試験 (13、14) で収集された Fisher 344 ラットの背景対照群のデータにおいて、この系統のラットの C 細胞腺腫及び癌腫の発生頻度が雌雄とも同程度であるものの、範囲は雄の方が広いことを示している。したがって、塩化ベンジルを投与した雌ラットの甲状腺腫瘍の発生頻度を雌雄の同時対照群と比較することは妥当であると考えられ、雌の甲状腺腫瘍は当時に引用した背景対照群の範囲を上回っていたが (10%)、投与に関連しているかについては疑わしい。

規制上の限度値や公表された限度値

USEPA (15) は 1.7×10^{-1} mg/kg/day という経口スロープファクターを算出し、これは US EPA の仮定を用いた場合の 10 万分の 1 のリスクレベルである 2 µg/L 又は約 4 µg/day に相当する。

許容摂取量 (AI)

AI を計算するための試験選択の根拠

塩化ベンジルの発がん性に関する最も頑健な評価は、(強制) 経口投与を用いた Lijinsky らの試験 (4) だった。この試験では、動物に対して一般的な NCI/NTP の試験のように週 5 日ではなく、週 3 日の投与を行っていた。しかし、最高用量が最大耐量に近いことを示す証拠があったため、全体としてこのラットの試験は AI を計算するのに適していると考えられた。同じレポートに記載された 26 週間の用量設定試験 (4) では、それぞれ 125 mg/kg 又は 250 mg/kg (週 3 日) を投与された雌雄のラット 10 匹全例が 2~3 週間以内に死亡した。死因は前胃における重度の胃炎及び潰瘍であり、心筋壊死の認められる例も多かった。62 mg/kg 投与群では、雌の 26 匹中 4 匹のみが 26 週間まで生存し、心筋壊死及び前胃の過形成が認められた。30 mg/kg 投与群の雌の数例では、前胃の角化亢進が認められた。62 mg/kg 投与群では、雌雄で体重増加の抑制が認められ、雄では統計学的に有意な抑制が認められた。したがって、がん原性試験で選択した高用量は 30 mg/kg (週 3 回投与) だった。この用量では、2 年間のがん原性試験において、生存率に対照群との差はなかったが、雄ラット 3 匹では前胃の扁平上皮癌及び乳頭腫が認められたため、生涯試験をより高用量で行なうことができたとは考えにくい。

標準的方法を示した 2.2 項で説明したように、 TD_{50} からの直線外挿を AI 算出の方法として用いた。上記のとおり、刺激や炎症を引き起こす可能性のある濃度を十分に下回る、医薬品に含まれる不

純物のような低濃度に曝露されたヒトにおいて、塩化ベンジルが接触部位の腫瘍のリスクを引き起こすことは極めて考えにくい。したがって、雄マウスにおいて認められた前胃腫瘍を AI の算出に用いるのは妥当ではないと考えられる。雌ラットにおいて認められた甲状腺 C 細胞腫瘍は、対照群のラットでもよく発生するため、この腫瘍の意義にも疑問が残る。しかしながら、これらの腫瘍が原因不明であり、甲状腺 C 細胞腫瘍は最小 TD₅₀ である 40.6 mg/kg/day を示したため、この腫瘍を用いて AI を算出した。

AI の算出

生涯 AI = TD₅₀/50,000 × 50 kg

生涯 AI = 40.6 (mg/kg/day)/50,000 × 50 kg

生涯 AI = 40.6 µg/day (41 µg/day)

References

1. IARC. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Man. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon. [Online] 1972-PRESENT. (Multivolume work). 1999. Available from: URL: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol71/mono71-19.pdf>
2. Fall M, Haddouk H, Morin JP, Forster R. Mutagenicity of benzyl chloride in the *Salmonella*/microsome mutagenesis assay depends on exposure conditions. *Mutat Res* 2007;633:13-20.
3. IARC. An update of selected IARC Monographs from volumes 1 to 42. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon. 1987. Suppl. 7:126-7;148-9.
4. Lijinsky W. Chronic Bioassay of Benzyl Chloride in F344 Rats and (C57BL/6J X BALB/c) F1 Mice. *J Natl Cancer Inst* 1986;76:1231-6.
5. Fukuda K, Matsushita H, Sakabe H, Takemoto K. Carcinogenicity of benzyl chloride, benzal chloride, benzotrichloride and benzoyl chloride in mice by skin application, *Gan* 1981;72(5):655-64.
6. Ashby J, Gaunt C, Robinson M. Carcinogenicity bioassay of 4-chloromethylbiphenyl (4CMB), 4-hydroxymethylbiphenyl (4HMB) and benzyl chloride (BC) on mouse skin: Interim (7 month) report. *Mutat Res* 1982;100:399-401.
7. Coombs MM. Attempts to initiate skin tumors in mice in the 2-stage system using 4-chloromethylbiphenyl (4CMB), 4-hydroxymethylbiphenyl (4HMB) and benzyl chloride (BC), Report of the experiment at 10 months, *Mutat Res* 1982;100:403-5.
8. Coombs MM. The UKEMS Genotoxicity Trial: A summary of the assays for skin tumour induction in mice, the subcutaneous implant test and the sebaceous gland suppression test. *Mutat Res* 1982;100:407-9.

9. Druckrey H, Kruse H, Preussmann R, Ivankovic S, Landschuetz C. Cancerogenic alkylating substances. III. Alkyl-halogenides, - sulfates, - sulfonates and strained heterocyclic compounds. 1970;74(3):241-73.
10. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>
11. Proctor DM, Gatto NM, Hong SJ, Allamneni KP. Mode-of-action framework for evaluation of the relevance of rodent forestomach tumors in cancer risk assessment. Toxicol Sci 2007;98:313-26.
12. OECD Chemicals Screening Information Dataset (SIDS) for high volume chemicals benzyl chloride report published by the United Nations Environmental Programme (UNEP) [Online]. Available from: URL: <http://www.chem.unep.ch/irptc/sids/OECDSEIDS/100447.pdf>
13. Haseman JK, Huff J, Boorman GA. Use of historical control data in carcinogenicity studies in rodents., Toxicol Pathol 1984;12:126-35.
14. Haseman JK, Hailey JR, Morris RW. Spontaneous neoplasm incidence in Fischer 344 rats and B6C3F1 mice in two-year carcinogenicity studies: A National Toxicology Program update, Toxicol Pathol 1998;26:428-41.
15. US Environmental Protection Agency. Benzyl chloride (CAS 100-44-7). Integrated Risk Information System (IRIS). [Online] 1989. Available from: URL: https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/subst/0393_summary.pdf

ビス（クロロメチル）エーテル（BCME、CAS# 542-88-1）

ヒトへの曝露の可能性

工業的利用においては主に吸入となるが、環境において急速に分解されるため、環境曝露はごくわずかであり、このことは大気中や水中に BCME が存在しないと報告されたことで裏付けられている (1)。

変異原性／遺伝毒性

BCMEは*in vitro*及び*in vivo*で変異原性及び遺伝毒性がある。

BCMEは以下において変異原性を示す。

*Salmonella typhimurium*による細菌を用いる復帰突然変異試験（Ames） (2)

*in vivo*では、吸入で6カ月間曝露されたラットの骨髄細胞において、BCMEは染色体異常を誘発しなかった (3)。BCMEに曝露された労働者の末梢リンパ球には、染色体異常発生率にわずかな上昇を認めた (4)。

発がん性

BCMEは、US EPAによりグループA、ヒトにおいて既知の発がん物質 (5)、また、IARCによりグループ1、ヒトへの発がん性があると分類されている (6)。

上記の総説が示すように、多くの疫学研究から（吸入により）BCMEに曝露された労働者で肺癌リスクの上昇が明らかとなっている。以下の試験で説明されているように、吸入による曝露後、BCMEはラット及びマウスの気道にて発がん性を示す。

最も頑健な試験デザインと最小TD₅₀値であったことに基づいて、Leongら (3) の試験をAIの算出に選択した。雄Sprague-Dawleyラット及びHa/ICRマウスの群を1、10、100 ppbのBCMEに6 h/day、週5日で6カ月間吸入曝露し、その後自然に死亡するまで生涯観察した（約2年間）。6カ月間の曝露期間終了時に屠殺したラットの群を評価したところ、血液学的検査、肺洗浄液の剥離細胞診、骨髄細胞の細胞遺伝学的パラメータに異常はみられなかった。ただし、100 ppb (7780 ng/kg/day、又は～8 µg/kg/day) のBCMEに曝露されている生存ラットの86.5%は、その後に鼻腫瘍（嗅上皮の腫瘍である鼻腔神経上皮腫、ヒトでまれな神経芽細胞腫に類似）を発症し、これらのラットの約4%は肺腺腫を発症した。10又は1 ppbのBCMEに曝露されたラットでは腫瘍を認めなかった。100 ppbのBCMEに曝露されたマウスは鼻腫瘍を発症しなかったが、対照マウスと比較して有意に肺腺腫発生率が上昇した。10又は1 ppbのBCMEに曝露されたマウスでは肺腺腫発生率が有意に上昇しなかった。

吸入試験において、雄 Sprague-Dawley ラットに 0.1 ppm (100 ppb) の単一用量の BCME に 6 時間/day、週 5 日を 10、20、40、60、80、又は 100 日間曝露し、生涯観察した (7)。投与動物では、対照群と比較していくつかの気道腫瘍の著しい発生増加がみられた。

BCMEは接触部位発がん物質であり、マウスで注射部位に肉腫 (8)、また皮膚に腫瘍を発生させる (9)。皮下投与した新生児マウスには肺腺腫も誘発する (10)。

Bis(chloromethyl)ether (BCME) – Details of carcinogenicity studies

Study	Animals/dose group	Duration/Exposure	Controls	Doses	Most sensitive tumor site/type/sex	TD ₅₀ (mg/kg/d)
Ref. 3 ^a	~104/group Rat, male Sprague-Dawley.	28 weeks 6 h/d, 5 d/wk Inhalation	104	3: 1; 10; 100 ppb (53;528; 7780 ng/kg/d)	Nasal passage - esthesioneuro- epitheliomas	0.00357
Ref. 3	138- 144/group Mouse, male ICR/Ha.	25 weeks 6 h/d, 5 d/wk Inhalation	157	3: 1; 10; 100 ppb (0.295; 2.95;33.6 ng/kg/d)	Lung adenomas	No significant increases
Ref. 7	30-50 treated for different durations with same concentration, male Sprague Dawley rats.	6h/d, 5d/wk, for 10, 20, 40, 60, 80, and 100 exposures. Inhalation	240	1: 0.1 ppm	Lung and nasal cancer	NC ^b
Ref. 7	100/group male Golden Syrian Hamsters.	Lifetime 6h/d, 5d/wk, Inhalation	NA	1: 1 ppm	One undifferentiated in the lung	NC ^b
Ref. 9	50/group female ICR/Ha Swiss mice.	424-456 days, once weekly Intra-peritoneal	50	1: 0.114 mg/kg/d	Sarcoma (at the injection site)	0.182

Studies listed are in CPDB (Ref. 11) unless otherwise noted.

^aCarcinogenicity study selected for AI calculation

^bNC= Not calculated due to non-standard carcinogenicity design. Not in CPDB.

NA= Not available since controls were not reported in the study

発がん性の作用機序

BCME は変異原性発がん物質であり、許容摂取量は TD₅₀ からの直線外挿により算出される。

規制上の限度値や公表された限度値

US EPA (5) では、Kuschner ら (7) による吸入試験データの線形多段階モデリングに基づいて、経口発がんスロープファクターは 220 per mg/kg/day と計算された。10 万分の 1 の生涯発がんリスクと関連する吸入用量（及び経口用量）は 3.2 ng/day（吸入については 1.6×10^{-8} mg/m³、経口曝露については 1.6×10^{-6} mg/L）である。

許容摂取量 (AI)

AI 算出に用いた試験の選択根拠

BCME は *in vitro* の変異原性物質であり、動物及びヒトにおいてがんを引き起こし、既知のヒトの発がん物質として分類されている。経口投与によるがん原性試験は実施されていないため、腹腔内注射試験及び吸入試験を AI 設定の根拠とみなす。最も感受性の高い評価項目は、吸入がん原性試験 (3) における雄ラットの鼻腫瘍 (鼻腔神経上皮種) の増加であり、TD₅₀ は 3.57 µg/kg/day だった。TD₅₀ から直線外挿により算出した AI である ~4 ng/day は、US EPA の推奨値である 3.2 ng/day と本質的に同一だった。この試験 (3) は信頼性のあるデザインであり、複数の用量段階が設定され、1 群につき 50 匹を超えていた。

吸入曝露された部位以外の腫瘍についての証拠はない。皮膚塗布後の新生児マウスの肺腫瘍について記述している上記の試験 (10) は、皮膚塗布の結果として吸入が生じた場合は確定的でない可能性がある。しかし、本補遺において吸入データから算出した AI は極めて慎重である (1.5 µg/day の規定値より桁が低い) ため、他の経路に適用可能であると考えられる。吸入データに基づき US EPA が算出した限界値が、吸入した BCME 及び摂取した BCME (飲水) の双方に推奨されており、この AI と類似している (4 ng/day 対 3.2 ng/day)。

AI の算出

$$\text{生涯 AI} = \text{TD}_{50}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{生涯 AI} = 3.57 \text{ µg/kg/day}/50,000 \times 50$$

$$\text{生涯 AI} = \mathbf{0.004 \text{ µg/day or } 4 \text{ ng/day}}$$

References

1. NIH ROC. National Institutes of Health. Report on Carcinogens, Twelfth Edition [Online]. 2011. Available from: URL: [http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/twelfth/profiles/bis\(chloromethyl\)ether.pdf](http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/twelfth/profiles/bis(chloromethyl)ether.pdf)
2. Nelson N. The chloroethers - occupational carcinogens: A summary of laboratory and epidemiology studies. Ann. NY Acad Sci 1976;271:81-90.
3. Leong BKJ, Kociba RI, Jersey GC. A lifetime study of rats and mice exposed to vapors of bis(chloromethyl) ether. Toxicol Appl Pharmacol 1981;58:269-81.
4. IARC. Bis(chloromethyl)ether and chloromethyl methyl ether (technical-grade). Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. Lyon. 1987; Addendum 7:131-3.
5. U.S. Environmental Protection Agency. Bis(chloromethyl)ether (CAS# 542-88-1). Integrated Risk Information System (IRIS). [Online]. 1999. Available from: URL: <http://www.epa.gov/iris/subst/0375.htm>
6. IARC. Chemicals, industrial processes and industries associated with cancer in humans. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon. 1982; Volumes 1 to 29, Addendum 4.

7. Kuschner M, Laskin S, Drew RT, Cappiello V, Nelson N. Inhalation carcinogenicity of alpha halo ethers. III. Lifetime and limited period inhalation studies with bis(chloromethyl)ether at 0.1 ppm. Arch Environ Health 1975;30:73-7.
8. Van Duuren BL, Sivak A, Goldschmidt BM, Katz C, Melchionne S. Carcinogenicity of halo ethers. J Nat Cancer Inst 1969;43:481-6.
9. Van Duuren BL, Goldschmidt BM, Seidman I. Carcinogenic activity of di- and trifunctional α -chloro ethers and of 1,4-dichlorobutene-2 in ICR/HA swiss mice. Cancer Res 1975;35:2553-7.
10. Gargus JL, Reese WH Jr, Rutter HA. 1969. Induction of lung adenomas in newborn mice by bis(chloromethyl) ether. Toxicol Appl Pharmacol 1969;15:92-96.
11. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>

***p*-クロロアニリン (CAS# 106-47-8) 及び *p*-クロロアニリン塩酸塩 (CAS# 20265-96-7)**

ヒトへの曝露の可能性

工業的曝露は、染料、織物、ゴムなどの工業で可能性がある (1)。環境中に放出されると、好気条件下の水中で本質的に生分解される (2)。

変異原性/遺伝毒性

p-クロロアニリンは*in vitro*で変異原性を示し、*in vivo*の遺伝毒性については限られた証拠しかない。

様々な試験系を用いた遺伝毒性試験の詳細なレビューは、文献とともにWHO (3) により提供されているため、ここに主要な結論のみを纏める。

p-クロロアニリンは以下の試験で変異原性を示す：

細菌を用いた復帰突然変異試験 (Ames) ；いくつかの施設で2から3倍の復帰変異コロニー数の増加が認められたが、認められなかった施設もある。

マウスリンフォーマL5178Y細胞を用いる*tk*遺伝子突然変異試験の陽性結果 (3) は、著しい細胞毒性を伴うわずかな増加であり、「総合的評価ファクター (global evaluation factor)」を用いた陽性試験に対する現行の基準を満たしていない (4)。

チャイニーズハムスター卵巣細胞における染色体異常のわずかな増加が認められたが、2つの試験施設で一貫していない。

*in vivo*では180 mg/kgを単回経口投与されたマウスでは小核が増加しなかったが、300 mg/kg/dayを投与されたマウスでは3日間投与後に有意な増加が認められた。

発がん性

ヒトでは証拠が不十分であるが、動物では発がん性を示す十分な証拠があることから、IARC により、*p*-クロロアニリンはグループ 2B、おそらくヒトに対して発がん性があると分類されている (5)。

動物を用いたがん原性試験は、*p*-クロロアニリンあるいはその塩酸塩である *p*-クロロアニリン塩酸塩について実施されている。

AIの算出には、強制経口投与で実施されたNTP (6) 試験を用いた。この試験では脾臓腫瘍の発生率上昇に基づくと、*p*-クロロアニリン塩酸塩は雄ラットでがん原性を示した (肉腫の複合発生率：媒体対照 0/49例、低用量 1/50例、中用量 3/50例、高用量 38/50例)。脾臓の線維症は線維肉腫に進行するおそれがある前腫瘍性病変であり、雌雄両性に認められた (6、7)。雌ラットにおいて、脾臓腫瘍は中用量ラット1例及び高用量ラット1例のみに認められた。雌雄ラットの副腎褐色細胞腫の発生率上昇は *p*-クロロアニリン投与と関連している可能性があるが、悪性褐色細胞腫は増加しなかった。雄マウスでは高用量群で肝臓や脾臓での血管肉腫の発生率が、媒体対照よりも高かった (0 mg/kg/day で 4/50例；2.1 mg/kg/day で 4/49例；7.1 mg/kg/day で 1/50例；21.4 mg/kg/day で 10/50例)。肝細胞腺腫や肝細胞癌の (複合型) 発生率は、投与された雄マウスで増加し、これらのうち肝細胞癌は (0 mg/kg/day で 3/50例；2.1 mg/kg/day で 7/49例；7.1 mg/kg/day で 11/50例；21.4 mg/kg/day で 17/50例) であった。雌マウスの試験は陰性であった。NTP (6) の最終結論は、雄ラットでの発がん性には明らかな証拠があること、雌ラットでの発がん性の証拠は曖昧であること、雄マウスでの発がん性には証拠がいくつかあること、及び雌マウスでの発がん性を示す証拠はないこととされた。

より以前の試験では、ラット及びマウスに*p*-クロロアニリンが摂餌投与された (8)。投与された雄ラットで脾臓腫瘍が、マウスでは血管肉腫が認められた。腫瘍の発生率からは発がん性が強く支持されたが、これらの試験条件下ではラットとマウスに対する*p*-クロロアニリンの発がん性を結論する十分な証拠が認められない、とNCIは結論した。*p*-クロロアニリンは飼料中で不安定であり、動物には目標を下回る濃度で投与された可能性があった (3)。したがって、本試験は不十分とみなされる。

***p*-Chloroaniline and *p*-Chloroaniline HCl – Details of carcinogenicity studies**

Study	Animal s/dose group	Duration/ Exposure	Control s	Doses	Most sensitive tumor site/type/sex	TD ₅₀ (mg/kg/d)
Ref. 6 ^a <i>p</i> -chloroaniline HCl	50/group p male B6C3F1 mice	103 weeks 5 times/wk Gavage	50	3: 3; 10; 30 mg/kg (2.1; 7.1; 21.4 mg/kg/d)	Hepatocellular adenomas or carcinomas	33.8
Ref. 6 <i>p</i> -chloroaniline HCl	50/group p female B6C3F1 mice	103 weeks 5 times/wk Gavage	50	3: 3; 10; 30 mg/kg (2.1; 7.1; 21.4 mg/kg/d)	Negative	NA
Ref. 6 <i>p</i> -chloroaniline HCl	50/group p male Fischer 344 rat	103 weeks 5 times/wk Gavage	50	3: 2; 6; 18 mg/kg (1.4; 4.2; 12.6 mg/kg/d)	Spleen fibrosarcoma, hemangiosarcoma, osteosarcoma	7.62
Ref. 6 <i>p</i> -chloroaniline HCl	50/group p female Fischer 344 rat	103 weeks 5 times/wk Gavage	50	3: 2; 6; 18 mg/kg (1.4; 4.2; 12.6 mg/kg/d)	No significant increases; equivocal	NA
Ref. 8	50/group p male Fischer 344 rat	78 weeks (study duration: 102 wk) Diet	20	2: 250; 500 ppm (7.7; 15.2 mg/kg/d)	Mesenchymal tumors (fibroma, fibrosarcoma, hemangiosarcoma, osteosarcoma, sarcoma not otherwise specified) of the spleen or splenic capsule	72
Ref. 8	50/group p female Fischer 344 rat	78 weeks (study duration: 102 wk) Diet	20	2: 250; 500 ppm (9.6, 19 mg/kg/d)	Negative	NA

Study	Animal s/dose group	Duration/ Exposure	Control s	Doses	Most sensitive tumor site/type/sex	TD ₅₀ (mg/kg/d)
Ref. 8	50/group p male B6C3F1 mice	78 weeks (study duration: 91 wk) Diet	20	2: 2500; 5000 ppm (257;275 mg/kg/d)	Hemangiosarcomas (subcutaneous tissue, spleen, liver, kidney) Increased incidence of all vascular tumors	Not significan t (CPDB)
Ref. 8	50/grou p female B6C3F1 mice	78 weeks (study duration: 102 wk) Diet	20	2: 2500; 5000 ppm (278, 558 mg/kg/d)	Hemangiosarcomas (liver and spleen) Increased incidence of combined vascular tumors	1480

Studies listed are in CPDB (Ref. 9).

*Carcinogenicity study selected for AI calculation.

NA = Not applicable

発がん性の作用機序

p-クロロアニリンは雄ラットにおいて、アニリン及び構造的に関連性のある物質で典型的にみられる、脾臓の線維肉腫や骨肉腫のような腫瘍を誘発した。*p*-クロロアニリンの反復曝露はチアノーゼ及びメトヘモグロビン血症を誘発し、続いて血液、肝臓、脾臓及び腎臓において、血液学的パラメータ、巨脾並びに脾臓、肝臓及び腎臓における一部には髄外造血を伴った中等度から重度のヘモジデリン沈着を示した(6、8)。これらの影響は、化合物が誘発した過剰な溶血によって二次的に発生しており、再発性の貧血とも一致している(3)。これらの証拠は、がん原性の間接的なメカニズムを示し、メトヘモグロビン血症の他、脾臓の線維化や過形成に続いて発生し(10)、*p*-クロロアニリンやその代謝物がDNAと直接作用したことに関連した腫瘍誘発ではないことを支持する。同様に、*in vivo*での小核誘発の報告は、アニリンと同様に再発性の貧血や造血変化による二次的なものだと考えられた(11、12)。

最小 TD₅₀ となる腫瘍型は、雄ラットでの脾臓腫瘍であった。しかし、この腫瘍型は非線形の用量関係を伴っているため、脾臓腫瘍は許容摂取量の算出に用いなかった。非腫瘍性の変化(血液毒性)に基づき、WHO(3)は、2µg/kg/day(すなわち、体重50kgのヒトで100µg/day)を推奨している。

p-クロロアニリンの *in vitro* 変異原性試験では、施設間で再現性のないわずかな突然変異の増加がみられているのみであるが、肝臓腫瘍の作用機序として突然変異の関与を否定できない。

規制上の限度値や公表された限度値

p-クロロアニリンやその塩酸塩については、規制上の限度値は公表されていない。

許容摂取量 (AI)

雄マウスの肝臓腫瘍の作用機序として変異原性の関与を否定できないため、AIは腺腫と癌腫を合わせた数に基づくTD₅₀である33.8 mg/kg/dayからの直線外挿により算出した。

AIの算出

p-クロロアニリン塩酸塩の雄マウス肝臓腫瘍に基づく。

生涯 AI = TD₅₀/50,000 × 50 kg

生涯 AI = 33.8 mg/kg/day /50,000 × 50 kg

生涯 AI = 34 µg/day

References

1. Beard RR, Noe JT. Aromatic nitro and amino compounds, Clayton GD, Clayton FE, editors. Patty's Industrial Hygiene and Toxicology. New York. John Wiley 1981;2A:2413–89.
2. BUA. *p*-Chloroaniline. Beratergremium für Umweltrelevante Altstoffe (BUA) der Gesellschaft Deutscher Chemiker. Weinheim, VCH, 1995;171. (BUA Report 153).
3. World Health Organization (WHO). International Programme on Chemical Safety (IPCS). 2003. Concise International Chemical Assessment Document 48 4-chloroaniline. [Online]. Available from: URL: <http://www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad48.htm>
4. Moore MM, Honma M, Clements J, Bolcsfoldi G, Burlinson B, Cifone M, et al. Mouse Lymphoma Thymidine Kinase Gene Mutation Assay: Follow-up Meeting of the International Workshop on Genotoxicity Testing_Aberdeen, Scotland, 2003_Assay Acceptance Criteria, Positive Controls, and Data Evaluation. Environ Mol Mutagen 2006;47:1-5.
5. IARC. Para-chloroaniline. In: Occupational exposures of hairdressers and barbers and personal use of hair colourants; some hair dyes, cosmetic colourants, industrial dyestuffs and aromatic amines. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon. 1993;57:305-21.
6. NTP. Technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of para-chloroaniline hydrochloride (CAS No. 20265-96-7) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies). National Toxicology Program, Research Triangle Park, NC. 1989 NTP TR 351.
7. Goodman DG, Ward JM, Reichardt WD. Splenic fibrosis and sarcomas in F344 rats fed diets containing aniline hydrochloride, *p*-Chloroaniline, azobenzene, *o*-toluidine hydrochloride, 4,4'-sulfonyldianiline, or D & C Red No. 9; J Natl Cancer Inst 1984;3:265-73.
8. NCI. Bioassay of *p*-Chloroaniline for possible carcinogenicity, CAS No. 106-47-8. US National Cancer Institute, Bethesda, MD. 1979; NCI-CG-TR-189.
9. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>
10. Bus JS, Popp JA. Perspectives on the mechanism of action of the splenic toxicity of aniline and structurally-related compounds, Food Chem Toxicol 1987;25:619–26.

11. Ashby J, Vlachos DA, Tinwell H. Activity of aniline in the mouse bone marrow micronucleus assay. *Mutat Res* 1991;263:115-7.
12. Tweats D, Blakey D, Heflich RH, Jasobs A, Jacobsen SD, Nohmi TT, et al. Report of the IWGT working group on strategies and interpretation of regulatory *in vivo* tests. I. Increases in micronucleated bone marrow cells in rodents that do not indicate genotoxic hazards. *Mutat Res* 2007;627:78-91.

1-クロロ-4-ニトロベンゼン（パラ-クロロニトロベンゼン、CAS# 100-00-5）

ヒトへの曝露の可能性

工業的利用において曝露する可能性がある。一般集団の曝露に関する入手可能なデータはない。

変異原性／遺伝毒性

1-クロロ-4-ニトロベンゼンは *in vitro* 及び *in vivo* で変異原性及び遺伝毒性がある。

1-クロロ-4-ニトロベンゼンは以下において変異原性を示す：

1-クロロ-4-ニトロベンゼンは、*Salmonella typhimurium* 株 TA100 及び TA1535 を用いた代謝活性化系存在下での細菌を用いる復帰変異試験（Ames）では変異原性を示したが、TA1537、TA1538、TA98、及び *E.coli* WP2uvrA では陰性だった（1、2、3、4）。TA1535 では、代謝活性化系の非存在下でも4試験中2試験で弱い陽性を示した（4）。

in vivo では、クロロ-4-ニトロベンゼンを腹腔内投与した雄 Swiss マウスの肝臓、腎臓、脳において、DNA 鎖切断が誘発された（5、6）。

発がん性

IARC により、1-クロロ-4-ニトロベンゼンはグループ 2 の発がん物質、ヒトでの発がん性は分類できないとされており（7）、US EPA はグループ B2 の発がん物質、すなわちヒトへの発がん物質である可能性が高いとみなしている（8）。

1-クロロ-4-ニトロベンゼンの動物を用いたがん原性試験は、ラット及びマウスの摂餌投与（9、10）及び雄マウスの強制経口投与（12）により実施されている。

2年間の給餌による試験（9）では、雌雄ラットにおいて脾臓腫瘍（線維腫、線維肉腫、骨肉腫及び肉腫）の有意な増加がみられ、雌雄において脾臓の血管肉腫の増加がみられ、それらは雄の中用量及び高用量（7.7及び41.2 mg/kg/day）で統計学的に有意であった。線維化や被膜過形成のような脾臓の非腫瘍性変化もみられた。副腎髄質褐色細胞腫の増加が高用量（53.8 mg/kg/day）でみられ、それは雌で統計学的に有意であった。マウスでは、唯一の有意な腫瘍の増加は、雌の高用量（275.2 mg/kg/day）における肝臓の血管肉腫であった。赤血球数やヘマトクリットの減少のような血液学的障害、また髄外造血がラットとマウスの両方でみられた。

別の給餌による試験（10）では、雄 CD-1 ラットに 18 カ月間摂餌投与した場合は腫瘍を誘発しなかった。18 カ月の間、摂餌中の濃度を毒性により以下のように調節した。低用量群には最初の 3 カ月間に 2000 ppm、次の 2 カ月間に 250 ppm、6 カ月目から 18 カ月目まで 500 ppm を、高用量群には最初の 3 カ月間に 4000 ppm、次の 2 カ月間に 500 ppm、6 カ月目から 18 カ月目まで 1000 ppm を投与した。平均 1 日曝露量は、低用量群が約 17 mg/kg、高用量群が約 33 mg/kg だった。最終投与から 6 カ月後にラットを屠殺し、腫瘍について評価した。評価した 11 組織（肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、心臓、膀胱、胃、腸、精巣及び下垂体）では、投与に関連した腫瘍増加はみられなかった。

同研究室（10）はまた、18 カ月間摂餌投与した雌雄 CD-1 マウスにおいて、1-クロロ-4-ニトロベンゼンによる発がんの可能性を調べた。最終曝露から 3 カ月後にマウスを屠殺し、12 組織（肺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、心臓、膀胱、胃、腸及び生殖器）の腫瘍を評価した。雌雄いずれのマウスにおいても、肝臓、肺及び脾臓の血管腫瘍（血管腫又は血管肉腫）に用量依存性の増加を認めた。

経口投与の試験（11）では、雌雄 Sprague-Dawley ラット（n = 60）に対し、1-クロロ-4-ニトロベンゼンを週 5 日 24 カ月間強制経口投与した。雌雄いずれにおいても毒性がみられ、中用量及び高用量群でメトヘモグロビン血症、高用量群でヘモジデリン及び貧血がみられた。

1-Chloro-4-nitrobenzene – Details of carcinogenicity studies

Study	Animals/ dose group	Duration/ Exposure	Controls	Doses	Most sensitive tumor site/type/sex	TD ₅₀ (mg/kg/d)
Ref. 9 ^{ac}	50/ group male F344 rats (SPF)	2 years (Diet)	50	3: 40; 200; 1000 ppm. (1.5; 7.7; 41.2 mg/kg/d)	Spleen hemangiosarcomas 7.7 mg/kg/d	173.5
	50/ group female F344 rats (SPF)	2 years (Diet)	50	3: 40; 200; 1000 ppm. (1.9; 9.8; 53.8 mg/kg/d)	Pheochromo- cytoma/Female 53.8 mg/kg/d	116.9 ^b
	50/ group male Crj:BDF1 (SPF)	2 years (Diet)	50	3: 125; 500; 2000 ppm. 15.3; 60.1; 240.1 mg/kg/d)	NA	
	50/ group female Crj:BDF1 (SPF)	2 years (Diet)	50	3: 125; 500; 2000 ppm. (17.6; 72.6; 275.2 mg/kg/d)	Hepatic hemangiosarcomas 275.2 mg/kg/d	1919.9
Ref. 10	14-15/ group male CD-1 rats	18 mo Diet; sacrificed 6 mo after last dose	16	2: Average 17 and 33 mg/kg; (see text) (22.6 and 45.2 mg/kg/d)	NA	Negative ^d
	14-20/sex group CD-1 mice	18 mo Diet; sacrificed 3 mo after last dose	15/sex	2: M: 341; 720. F: 351; 780 mg/kg/d	Vascular (hemangiomas/ hemangiosarcomas)/ Male	430 ^d
Ref. 11 ^c	60/sex/ group Sprague Dawley rat	24 mo 5 d/wk, Gavage	Yes	3/ 0.1; 0.7; 5 mg/kg/d	NA	Negative

Studies listed are in CPDB (Ref. 12) unless otherwise noted.

^a Carcinogenicity study selected for AI/PDE calculation.

^b TD₅₀ calculated based on carcinogenicity data (see Note 1)

^c Not in CPDB.

^d Histopathology limited to 11-12 tissues.

NA = Not applicable

発がん性の作用機序

ラット (13)、ウサギ (14) 及びヒト (15) では、1-クロロ-4-ニトロベンゼンは還元により 4-クロロアニリン (*p*-クロロアニリン) へ有意に代謝される。*p*-クロロアニリンは1-クロロ-4-ニトロベンゼンと同じく、ラット及びマウスで血管肉腫及び脾臓腫瘍を誘発させることがわかっている (16)。アニリンのように、4-クロロアニリン (16) 及び 1-クロロ-4-ニトロベンゼン (17) のいずれについても、赤血球の酸化的損傷、脾臓の線維化及び過形成に続発した、肝臓及び脾臓の血管腫瘍形成の間接的機序が示唆されている。メトヘモグロビン血症及び関連毒性は 1-クロロ-4-ニトロベンゼンの顕著な作用の 1 つである。腫瘍誘発が非線形機序であることが、給餌による試験 (9、10) よりも低い用量で実施された強制経口投与の試験 (11) の試験における、メトヘモグロビン血症及びヘモジデリンがみられたが腫瘍増加はなかったという事実で裏付けられている。

最小 TD₅₀ となる腫瘍型は、雌ラットの副腎髄質褐色細胞腫であった (9)。この腫瘍型は F344 ラットの、特に雄ではバックグランド腫瘍として一般的であり、幾つかの化学物質を投与した後にみられ、それらの多くは非変異原性物質である (18)。それらの腫瘍は様々な生化学的な障害を伴っており、赤血球に毒性を示すアニリンや *p*-クロロアニリンのような化学物質による褐色細胞腫の誘発作用機序は、酸化的リン酸化の脱共役 (18) あるいは低酸素に対する二次的なものであると考えられてきた。

概して、以下のような非変異原性の作用機序の実質的証拠がある。

顕著な腫瘍型の多くはメトヘモグロビン血症に関連するもの (脾臓腫瘍及び血管腫瘍) であったこと

副腎髄質褐色細胞腫の誘発にも同様の点があること

明らかに非線形の用量反応があること (無作用量があること、および更に低用量を用いた試験 (11) が陰性であったことに基づく)

しかしながら、*Salmonella* の変異原性試験では、1-クロロ-4-ニトロベンゼンが *Salmonella* TA100 及び TA1535 で変異原性を示した (しかし TA98 やその他の菌株では変異原性を示さなかった)。この結果から、変異原性が 1-クロロ-4-ニトロベンゼンの腫瘍誘発作用機序の一つであったことが示唆されており、その変異原性パターンは、試験施設間で一貫した変異原性を示さず、またラット肝 S9 存在下の *Salmonella* TA98 でのみ再現性をもって変異原性を示す (19)、1-クロロ-4-ニトロベンゼンの代謝物である *p*-クロロアニリンとは異なっており、変異原性代謝物や機序に違いがあることが示唆される。*in vivo* 遺伝毒性データは、変異原性作用機序の可能性を評価するには不足している。

1-クロロ-4-ニトロベンゼンは変異原性を有し、変異原性作用機序を否定できないため、AI を算出した。

規制上の限度値や公表された限度値

例えば US EPA、WHO 又は Agency for Toxic Substances & Disease Registry (ATSDR) により、規制上の限度値は公表されていない。

AI の算出

最も感受性の高い TD₅₀ は、雌ラットの副腎髄質褐色細胞腫に対するものである (9)。

生涯 AI = TD₅₀/50,000 × 50 kg

生涯 AI = 117 mg/kg/day /50,000 × 50 kg

生涯 AI = 117 µg/day

References

1. Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K, Speck W, Zeiger E. Salmonella mutagenicity test results for 250 chemicals. *Environ Mutagen* 1983;5 Suppl 1:1-142.
2. Japan Chemical Industry Ecology-Toxicology & information Center (JETOC). Japan: Mutagenicity test data of existing chemical substances based on the toxicity investigation system of the Industrial Safety and Health law. 2005 Addendum 3.
3. Kawai A, Goto S, Matsumoto Y, Matsushita H. Mutagenicity of aliphatic and aromatic nitro compounds. *Sangyoigaku* 1987;29:34-55.
4. NTP. Technical Report on Toxicity Studies on 2-Chloronitrobenzene and 4-Chloronitrobenzene (CAS Nos. 88-73-3 and 100-00-5) Administered by Inhalation to F344/N Rats and B6C4F1 Mice. National Toxicology Program, Research Triangle Park, NC. 1993; NTP TR33.
5. Cesarone CF, Bolognesi C, Santi L. DNA damage induced *in vivo* in various tissues by nitrobenzene derivatives. *Mutat Res* 1983;116:239-46.
6. Cesarone CF, Fugassa E, Gallo G, Voci A, Orunesu M. Influence of the culture time on DNA damage and repair in isolated rat hepatocytes exposed to nitrochlorobenzene derivatives. *Mutat Res* 1984;131:215-22.
7. IARC. Printing processes and printing inks, carbon black and some nitro compounds. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. World Health Organization, Lyon. 1996. Vol. 65.
8. US Environmental Protection Agency (USEPA). Health Effects Assessment Summary Tables. Office of Solid Waste and Emergency Response, US Environmental Protection Agency, Washington DC. 1995; No. PB95-921199.
9. Matsumoto M., Aiso S, Senoh H, Yamazaki K, Arito H, Nagano K, et al. Carcinogenicity and chronic toxicity of *para*-chloronitrobenzene in rats and mice by two-year feeding. *J. Environ Pathol Toxicol Oncol* 2006;25:571-84.
10. Weisburger EK, Russfield AB, Homburger F, Weisburger JH, Boger E, Van Dongen, et al. Testing of twenty-one environmental aromatic amines or derivatives for long-term toxicity or carcinogenicity. *J Environ Pathol Toxicol* 1978;2:325-56.
11. Schroeder RE, Daly JW. A chronic oral gavage study in rats with p-nitrochlorobenzene. Biodynamics Inc. 1984. Project No. 80-2487. NTIS/OTS 0536382.

12. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>
13. Yoshida T, Andoh K, Tabuchi T. Identification of urinary metabolites in rats treated with *p*-chloronitrobenzene. Arch Toxicol 1991;65:52-8.
14. Bray HG, James SP, Thorpe WV. The metabolism of the monochloronitrobenzenes in the rabbit. Biochem J 1956;64:38-44.
15. Yoshida T, Tabuchi T, Andoh K. Pharmacokinetic study of *p*-chloronitrobenzene in humans suffering from acute poisoning. Drug Metab Dispos 1993;21:1142-6.
16. IARC. Occupational exposures of hairdressers and barbers and personal use of hair colourants; some hair dyes, cosmetic colourants, industrial dyestuffs and aromatic amines. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon. 1993;57.
17. Travlos GS, Mahler J, Ragan HA, Chou BJ, Bucher JR. Thirteen-week inhalation toxicity of 2- and 4-chloronitrobenzene in F344/N rats and B6C3F1 mice. Fundam Appl Toxicol 1996;30:75-92.
18. Greim H, Hartwig A, Reuter U, Richter-Reichel HB, Thielman HW. Chemically induced pheochromocytomas in rats: mechanisms and relevance for human risk assessment. Crit Rev Toxicol 2009;39:695-718.
19. WHO. CICAD 48: Concise International Chemical Assessment Document 48 *p*-Chloroaniline. Geneva. [Online]. 2003; Available from: URL: <http://www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad48.htm>

***p*-クレシジン (2-メトキシ-5-メチルアニリン、CAS# 120-71-8)**

ヒトへの曝露の可能性

曝露される可能性は工業的利用においてである。一般集団への曝露に関して入手可能なデータはない。

変異原性／遺伝毒性

p-クレシジンは *in vitro* で変異原性及び遺伝毒性を示し、*in vivo* でも不確実だが遺伝毒性を示す証拠がある。

p-クレシジンは以下において変異原性を示す：

代謝活性化系存在下における複数の *Salmonella* 株 (1、2、3)。

ラムダ cII 遺伝子を有する Big Blue トランスジェニックマウスモデル；がん原性試験の用量と同等である 0.25%及び0.5%の *p*-クレシジン含有飼料による 180 日間の摂餌投与 (4)。

in vivo において、*p*-クレシジンはマウスの骨髄において小核を誘発せず (5、6、7)、また p53 ヘテロ接合マウス又はヌル欠損 (nullizygous) マウスの骨髄においても、小核の誘発はみられなかった (8)。p53 ヘテロ接合マウスを用いた別の試験で認められた小核の増加は、アニリンとその関連化合物によるメトヘモグロビン血症や再生性貧血の 2 次的変化である可能性がある (9)。

膀胱などの複数組織でアルカリ溶出試験による DNA 鎖切断はみられなかった (6、7) が、*p*-クレシジンのマウス経口投与コメットアッセイでは、その他の組織には無いが、膀胱粘膜で DNA 鎖切断が報告された (10)。

発がん性

IARCにより、*p*-クレシジンはグループ 2B の発がん物質、おそらくヒトに対して発がん性を示すと分類されている (11)。

げっ歯類を用いた標準的なモデルでのがん原性試験は、1 組しかない。摂餌投与した Fischer 344 ラット及び B6C3F1 マウスの NTP 試験 (5) において、*p*-クレシジンは腫瘍を誘発した。他の曝露経路による発がん性データはない。

それぞれの動物種ごとに一群雌雄各 50 匹の動物が設定された群に、*p*-クレシジンを摂餌投与した。雌雄それぞれ 50 匹の対照群も設定した。*p*-クレシジンの濃度は餌中 0.5%又は 1.0%だったが、マウスでは 21 週間後に投与濃度が 0.15%及び 0.3%へ変更された。投与量を CPDB (12) で用いられる mg/kg/day に変換すると、雄ラットが 198 及び 396 mg/kg/day、雌ラットが 245 及び 491 mg/kg/day、雄マウスが 260 及び 552 mg/kg/day、雌マウスが 281 及び 563 mg/kg/day であった。

高用量の雄マウスを除き、投与された全動物は *p*-クレシジンが 104 週間摂餌投与され、さらに最大 2 週間追加観察された。高用量の雄マウスは全例、第 92 週終了時まで死亡した。いずれの動物種の雌雄においても、死亡率は用量と相関した。特定の腫瘍の発生率は高用量群より低用量群で高かったが、高用量群での死亡がより早期に発生していたことによるものだろう。

投与されたラットは両性ともに、膀胱癌 (乳頭癌、扁平上皮癌、移行上皮乳頭腫、移行上皮癌及び未分化癌を複合した発生率) 及び嗅神経芽細胞腫の統計学的に有意な発生率が認められた。低用量の雄ラットでは、肝臓の腫瘍性の結節、肝細胞癌、混合型肝癌・胆管癌を複合した発生率も有意であった。投与されたマウスでは雌雄いずれにおいても、膀胱癌の発生率 (癌、扁平上皮癌、移行上皮癌を複合した発生率) が有意であった。投与された雌マウスでは肝細胞癌の発生率が有意であった。

要約すると、*p*-クレシジンは Fischer 344 ラットに対して発がん性を示し、雌雄の膀胱癌及び乳頭腫、雌雄の嗅神経芽細胞腫、雄の肝腫瘍の発生率の上昇を引き起こした。*p*-クレシジンは B6C3F1 マウスでも発がん性を示し、雌雄の膀胱癌及び雌の肝細胞癌を誘発した。

*p*53 +/- ヘミ接合性マウスの短期発がんモデルでも、膀胱腫瘍の誘発がみられた。*p*-クレシジンはマウス発がん試験の施設間差を評価する大規模な試験で、陽性対照として使用された (13)。*p*-クレシジンが 400 mg/kg/day で 26 週間強制経口投与された 19 試験の内 18 試験及び摂餌投与された 1 試験で、膀胱腫瘍の増加が認められた。

***p*-Cresidine – Details of carcinogenicity studies**

Study	Animals /dose group	Duration / Exposure	Controls	Doses	Most sensitive tumor site/type/sex	TD₅₀ (mg/kg/d)
Ref. 5 ^a	50/sex/group B6C3F1 mice	2 year Feed	50	2: 0.5 and 1% Reduced after 21 wk to 0.15 and 0.3%. M: 260;552. F: 281; 563 mg/kg/d	Urinary bladder /Male	44.7
Ref. 5	50/sex/group Fisher 344 rats	2 year Feed	50	0.5 and 1% M: 198;396. F: 245;491 mg/kg/d	Urinary bladder /Male	88.4

^a Carcinogenicity study selected for AI calculation.
Studies listed are in CPDB (Ref. 12).

発がん性の機序

p-クレシジンは変異原性発がん物質であり、許容摂取量は TD₅₀ からの直線外挿により算出される。

規制上の限度値や公表された限度値

規制上の限度値は公表されていない。

許容摂取量 (AI)

AIを算出するための試験選択の根拠:

p-クレシジンのがん原性試験のうち唯一適切なものは、CPDB にて報告されている NCI/NTP (5) が実施した試験であった。最も感受性の高い TD₅₀ が雄マウスの膀胱腫瘍を指標としていたため、AIの算出にはマウスの試験を選択した。

AIの算出

NCI/NTP 試験において、雌雄のラット及びマウスの膀胱に対する TD₅₀ 値は最も感受性が高く、ラットの TD₅₀ は雌 110 mg/kg/day 及び雄 88.4 mg/kg/day、マウスの TD₅₀ は雌 69 mg/kg/day 及び雄 44.7 mg/kg/day だった。最も保守的な値は雄マウスで特定された値であった。

生涯 AIは次のように計算される。

生涯 AI = $TD_{50}/50,000 \times 50 \text{ kg}$

生涯 AI = $44.7 \text{ mg/kg/day}/50,000 \times 50 \text{ kg}$

生涯 AI = 45 $\mu\text{g/day}$

References

1. Zeiger E, Anderson B, Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K. *Salmonella* mutagenicity tests: IV. Results from the testing of 300 chemicals. *Environ Mol Mutagen* 1988;11 Suppl 12:1-158.
2. Dunkel VC, Zeiger E, Brusick D, McCoy E, McGregor D, Mortelmans K, et al. Reproducibility of microbial mutagenicity assays: II. Testing of carcinogens and noncarcinogens in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*. *Environ Mutagen* 1985;7 Suppl 5:1-248.
3. Japan Chemical Industry Ecology-Toxicology and Information Center (JETOC); Mutagenicity test data of existing chemical substances based on the toxicity investigation of the Industrial Safety and Health law; 1997; Suppl.
4. Jakubczak JL, Merlino G, French JE, Muller WJ, Paul B, Adhya S et al. Analysis of genetic instability during mammary tumor progression using a novel selection-based assay for *in vivo* mutations in a bacteriophage λ transgene target. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1996;93(17):9073-8.
5. NCI. Technical report on the Bioassay of *p*-cresidine for possible carcinogenicity. National Toxicology Program, Research Triangle Park, NC. 1979; TR 142.
6. Ashby J, Lefevre PA, Tinwell H, Brunborg G, Schmezer P, Pool-Zobel B, et al. The non-genotoxicity to rodents of the potent rodent bladder carcinogens *o*-anisidine and *p*-cresidine. *Mutat Res* 1991;250:115-133.
7. Morita T, Norihide A, Awogi T, Sasaki Yu F, Sato-S-I, Shimada H, et al. Evaluation of the rodent micronucleus assay in the screening of IARC carcinogens (Groups 1, 2A and 2B). The summary report of the 6th collaborative study by CSGMT/JEMS.MMS. *Mutat Res* 1997;389:3-122.
8. Delker DA, Yano BL, Gollapudi BB. Evaluation of cytotoxicity, cell proliferation, and genotoxicity induced by *p*-cresidine in hetero- and nullizygous transgenic p53 mice. *Toxicol Sci* 2000;55:361-9.
9. Stoll RE, Blanchard KT, Stoltz JH, Majeski JB, Furst S, Lilly PD et al. Phenolphthalein and nisacodyl: Assessment of genotoxic and carcinogenic responses in heterozygous p53^(+/-) mice and Syrian Hamster Embryo (SHE) assay. *Toxicol Sci* 2006;90:440-50.
10. Sasaki YF, Nishidate E, Su YQ, Matsusaka N, Tsuda S, Susa N, et al. Organ-specific genotoxicity of the potent rodent bladder carcinogens *o*-anisidine and *p*-cresidine. *Mutat Res* 1998;412:155-60.

11. IARC. para-Cresidine. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. World Health Organization, Lyon. 1982;27:92. reviewed in Suppl 7 1987.
12. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>
13. Storer RD, French JE, Haseman J, Hajian G, LeGran EK, Long GD, et al. p53^{+/-} hemizygous knockout mouse: Overview of available data. Toxicologic Pathol. 2001;29 Suppl:30-50.

1,2-ジブロモエタン (CAS# 106-93-4)

ヒトへの曝露の可能性

1,2-ジブロモエタンは、かつては殺虫用燻蒸剤や土壌線虫駆除剤として用いられていたが、毒性への懸念から、US EPA及びECは使用を禁止した (1、2)。1,2-ジブロモエタンは医薬品有効成分の合成に用いられている。

変異原性/遺伝毒性

1,2-ジブロモエタンは、*in vitro*及び*in vivo*で変異原性及び遺伝毒性を示す。1,2-ジブロモエタンは、Ames試験において代謝活性化系の有無にかかわらず変異原性を示した (3-7)。1,2-ジブロモエタンは、代謝活性化系の有無にかかわらず、マウスリンフォーマ試験で陽性を示した (8)。*in vitro*において精母細胞と肝細胞の両方でDNA修復の用量依存的増加をもたらした (9)、チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞で突然変異を誘発した (10)。1,2-ジブロモエタンはCHO細胞で用量依存的に染色体異常の頻度を増加させた (11)。ラットを用いた*in vivo*コメントアッセイでは、100 mg/kgの1,2-ジブロモエタンを投与後の肝臓及び腺胃で陽性結果が認められた。最高100 mg/kgまでの1,2-ジブロモエタンが投与されたラット骨髄赤血球小核試験では、陰性の結果が得られた (12)。

発がん性

IARCにより、1,2-ジブロモエタンはヒトに対しておそらく発がん性がある (グループ 2A) と分類されている (13)。吸入及び経口発がん性試験については CPDB に記載されている (14)。1,2-ジブロモエタンは、雌雄のラット及びマウスに両方の経路で投与した後、発がん性を示した (16-21)。最も感受性の高い腫瘍部位は、経口投与 (強制又は飲水) 後の前胃と吸入投与後の鼻腔であった。その他の腫瘍部位に、血管、肺、肝臓及び乳腺がある。両方の種が、少なくとも1つの試験で陽性であった。

1,2-Dibromoethane – Details of carcinogenicity studies

Study	Animals/ dose group	Duration/ Exposure	Controls	Doses ^a	Most sensitive tumor site/type/sex	TD ₅₀ (mg/kg/day) ^b
Ref. 16	30/sex/ group B6C3F1 mice	M: 65 weeks F: 73 weeks, drinking water	50	1: 4 mmol/L M: 116 F: 103 mg/kg/day	Forestomach/ Squamous carcinoma/Male	11.8
Ref. 17	50/sex/ group B6C3F1 mice	78 weeks, drinking water	100	1: M: 46.7 F: 48 mg/kg/day	Forestomach/ Squamous carcinoma/Male	9.44
Ref. 18	50/sex/ group B6C3F1 mice	53 weeks, gavage	20	2: M: 30, 53 F: 26, 52 mg/kg/day	Forestomach/ Squamous cell carcinoma/ Male	2.38
Ref. 18	50/sex/ group Osborne- Mendel	M: 40 weeks F: 50 weeks,	20	2: M: 27.4, 29.2	Stomach/ Squamous cell carcinoma/ Female	1.26

Study	Animals/ dose group	Duration/ Exposure	Controls	Doses ^a	Most sensitive tumor site/type/sex	TD ₅₀ (mg/kg/day) ^b
	rats	gavage		F: 26.7, 28.1 mg/kg/day		
Ref. 19	50/sex/ group B6C3F1 mice	M: 78 weeks, F: 96 weeks, inhalation	50	2: M: 19.9, 79.5 F: 23.9, 95.6 mg/kg/day	Lung/ Multiple tumor types/ Male	18.2
Ref. 19 ^c	50/sex/ group F344 rats	M: 95 weeks F: 97 weeks, inhalation	50	2: M: 4.0, 15.9 F: 5.71, 22.8 mg/kg/day	Nasal cavity/ Carcinomas and adenocarcinoma / Female	2.33
Ref. 20	48/sex/ group Sprague- Dawley rats	78 weeks, inhalation	48	1: M: 9.39 F: 13.4 mg/kg/day	Nasal cavity/Multiple tumor types/Male	1.19
Ref. 21 ^d	50/sex/ group B6C3F1 mice	103 weeks (10 ppm) / 90 weeks (40 ppm), inhalation	50	2: M and F: 3.55, 14.18 mg/kg/day	Nasal cavity/Multiple tumor types/Female	NC

NC = Not calculated

^a mg/kg/day values stated in CPDB (Ref. 14)

^b Individual TD₅₀ values are the CPDB TD₅₀ values as reported in the Lhasa carcinogenicity database (Ref. 15). TD₅₀ values represent the TD₅₀ from the most sensitive tumor site.

^c Carcinogenicity study selected for AI derivation

^d This study was conducted specifically to evaluate the types of tumors formed in the nasal cavity of mice following inhalation exposure. No other tissues were evaluated for carcinogenicity.

最も頑健な発がん性試験は、F344 ラットを用いて NTP で実施された吸入試験である (19)。この試験 (雄で 95 週間及び雌で 97 週間) では、適切な用量間隔を設けた被験物質投与群 2 群 (雄で 4 及び 15.9 mg/kg/day、雌で 5.71 及び 22.8 mg/kg/day、雌雄各 50 匹/群) 及び対照群 (雌雄各 50 匹) が設定された。最も感受性の高い性別/部位の TD₅₀ 値は 2.33 mg/kg/day である。Sprague Dawley ラットを用いて吸入暴露で実施された別の試験 (20) ではより低い TD₅₀ が得られたが、この試験では被験物質投与群は 1 群のみであり、78 週間の投与期間で 1 群 48 匹の設定であったことから、NTP で実施された試験と比べて TD₅₀ の推定の点で質が劣ると考えられた。

B6C3F1 マウスに 53 週間にわたって 1,2-ジブロモエタンを強制経口投与した試験が最も頑健な試験である (18)。この試験では、被験物質投与群 2 群 (雌雄各 50 匹/群) 及び対照群 (雌雄各 20 匹) を用いた。最も感受性の高い性別/部位の TD₅₀ 値は 2.38 mg/kg/day である。Osborne-Mendel ラットでも同様の試験が実施されているが、被験物質投与群 2 群で投与量の間隔が小さく (18) 投与期間は 1 年未満であり、用量反応関係の特徴付けと TD₅₀ の推定に限界があることから、この試験は有用性が低いとみなされる (18)。

発がん性の作用機序

1,2-ジブロモエタンは変異原性発がん物質であり、アルキル化作用機序に基づく変異原性を示すと考えられる。そのため、許容摂取量 (AI) はTD₅₀からの直線外挿により算出できる。経口曝露後の1,2-ジブロモエタンについて計算されたTD₅₀が最小となる腫瘍型 (発がん性が最も高いもの) はマウス及びラットの前胃腫瘍である (18)。吸入曝露後について計算されたTD₅₀値では、マウスの肺腫瘍とラットの鼻腔腫瘍が最小である。経口投与された高濃度の非変異原性化学物質が前胃に接触することで引き起こされる炎症や刺激によって過形成が生じ、最終的に腫瘍が発生することが示されている。ヒトでは経口投与された物質は速やかに食道を通過するのに対し、げっ歯類では強制経口投与された物質は一定時間、前胃に留まったのちに腺胃に排出される可能性がある。したがって、このような腫瘍誘発は、刺激が生じない用量ではヒトには問題がないと考えられる (22, 23)。同様の炎症作用及び過形成作用は変異原性化学物質でも認められる。しかし、DNAに直接反応するアルキル化剤であり、複数部位、複数動物種の発がん物質であることが報告されている1,2-ジブロモエタンの場合、直接的な突然変異誘発に対して、このような非変異原性の高用量の接触による作用機序の寄与を区別することは難しい。

規制上の限度値や公表された限度値

規制上の限度値は公表されていない。

許容摂取量 (AI)

AI算出のための試験選択の根拠

1,2-ジブロモエタンは、吸入及び経口の曝露経路による変異原性発がん物質である。1,2-ジブロモエタンは、マウス及びラットの両方で発がん物質であると考えられる。入手可能な毒性学的データから、いくつかの動物種では1,2-ジブロモエタンが吸入後に吸収されることが示唆される。ラットでは、30分以内にはほぼ完全に経口吸収される (1)。そのため、1,2-ジブロモエタンは経口及び吸入曝露後に完全な全身曝露に至ると合理的に推測できる。この推測は、両方の経路で1,2-ジブロモエタンに曝露された動物で遠位腫瘍が認められることから裏付けられる。TD₅₀値は動物種や投与経路にかかわらず同じ傾向にある。

NTPで実施されたマウス及びラットの発がん性データを考慮すると、最も適切な試験から得られる最も感受性の高い性別/部位のTD₅₀値は2.33 mg/kg/dayである。この値は、雌のF344ラットでの鼻腔腫瘍の発現頻度に基づくTD₅₀値である。

吸入AIと経口AIの算出に推奨されるTD₅₀値が同程度 (それぞれ2.33及び2.38 mg/kg/day) であることから、以下ではTD₅₀値を2.3 mg/kg/dayとし、両方の投与経路について単一のAIを算出する。

AIの算出

$$\text{生涯 AI} = \text{TD}_{50}/50000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{生涯 AI} = 2.3 \text{ mg/kg/day}/50000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{生涯 AI} = 2 \text{ }\mu\text{g/day}$$

References

1. ATSDR. U.S. Department of Human Health and Services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Toxicological Profile for 1,2-Dibromoethane, September 2018.
2. EU Council Directive 87/181/EEC, amending the Annex to Directive 79/117/EEC prohibiting the placing on market and use of plant protection products containing certain active substances. Official Journal of the European Communities 1987, L 71/33.

3. Moriya M, Ohta T, Watanabe K, Miyazawa T, Kato K, Shirasu, Y. Further mutagenicity studies on pesticides in bacterial reversion assay systems. *Mutat Res* 1983;116:185-216.
4. McCann J, Choi E, Yamasaki E, Ames B. Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella/microsome Test: Assay of 300 chemicals. *Proc Natl Acad Sci USA* 1975;72:5135-5139.
5. Rannug U, Sundvall A and Ramel C. The mutagenic effect of 1,2-dichloroethane on *Salmonella typhimurium* 1. Activation through conjugation with glutathione in vitro. *Chem Biol Interact* 1978;20:1-16.
6. Strobel K, Grummt T. Aliphatic and Aromatic Halocarbons as Potential Mutagens in Drinking Water. iii. Halogenated Ethanes and Ethenes. *Toxicol Environ Chem* 1987;15:101-128.
7. Dunkel VC, Zeiger E, Brusick D, Mccoy E, McGregor D, Mortelmans K, Rosenkranz HS, Simmon, VF. Reproducibility of microbial mutagenicity assays: II. Testing of carcinogens and noncarcinogens in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*. *Environ Mutagen* 1985;7(Suppl. 5):1-248.
8. Clive D, McCuen R, Spector JFS, Piper C, Mavournin KH. Specific gene mutations in L5178Y cells in culture: A Report of The U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutat Res* 1983;115:225-251.
9. Smith-Oliver T, Working PK, White RD, Butterworth BE. Induction of DNA repair in rat spermatocytes and hepatocytes by 1,2-dibromoethane: the role of glutathione conjugation. *Carcinogenesis* 1986;7:467-472.
10. Tan EL, Hsie AW. Mutagenicity and cytotoxicity of haloethanes as studied in the CHO/HGPRT system. *Mutat Res* 1981;90:183-191.
11. Asita A. A comparative study of the clastogenic activity of ethylating agents. *Mutagenesis* 1989;4:432-436.
12. Takasawa H, Takashima R, Narumia K, Kawasako K, Hattoria A, Kawabata M, Shuichi Hamada S. Results of the International Validation of the *in vivo* rodent alkaline comet assay for the detection of genotoxic carcinogens: Individual data for 1,2-dibromoethane, p-anisidine, and o-anthranilic acid in the 2nd step of the 4th phase Validation Study under the JaCVAM initiative. *Mutat Res* 2015;786–788:144–150.
13. IARC. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, World Health Organization (WHO). Re-Evaluation of some organic chemicals, hydrazine and hydrogen peroxide. 1999;71:641.

14. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from:
URL: <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>
15. Lhasa Carcinogenicity Database. [Online]. Available from: URL:
<https://carcdb.lhasalimited.org/carcdb-frontend/>
16. van Duuren BL, Melchionne S, Kline SA, Seidman I. Carcinogenicity bioassays of bromoacetaldehyde and bromoethanol- Potential metabolites of dibromoethane. *Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis* 1985;5:393-403.
17. van Duuren BL, Melchionne S, Seidman I, Pereira MA. Chronic bioassays of chlorinated humic acids in B6C3F1 mice. *Environmental Health Perspectives* 1986;69:109-117.
18. National Toxicology Program. Bioassay of 1,2-dibromoethane for possible carcinogenicity (CAS No. 106-93-4). National Toxicology Program Technical Report 1978: TR-86.
19. National Toxicology Program. Carcinogenesis bioassay of 1,2-dibromoethane (CAS No. 106-93-4) in F344 rats and B6C3F1 mice (inhalation study). National Toxicology Program Technical Report 1982: TR-210.
20. Wong LCK, Winston JM, Hong CB, Plotnick H. Carcinogenicity and toxicity of 1,2-dibromoethane in the rat. *Toxicology and Applied Pharmacology* 1982;63:155-165.
21. Stinson SF, Reznik G, Ward JM. Characteristics of proliferative lesions in the nasal cavities of mice following chronic inhalation of 1,2-dibromoethane. *Cancer Letters* 1981;12:121-129.
22. Proctor DM, Suh M, Chappell G, Borghoff SJ, Thompson CM, Wiench K, Finch L, Ellis-Hutchings R. An Adverse Outcome Pathway (AOP) for forestomach tumors induced by non-genotoxic initiating events. *Regul Toxicol Pharmacol* 2018;96:30-40.
23. Proctor DM, Gatto NM, Hong SJ, Allamneni KP. Mode-of-action framework for evaluating the relevance of rodent forestomach tumors in cancer risk assessment. *Toxicol Sci* 2007;98:313-326.

ジメチルカルバミルクロリド (CAS# 79-44-7)

ヒトへの曝露の可能性

工業的利用において曝露する可能性がある。一般集団の曝露に関する入手可能なデータはない。

変異原性／遺伝毒性

ジメチルカルバミルクロリド (DMCC) は *in vitro* 及び *in vivo* で変異原性及び遺伝毒性があると考えられる。

DMCC は以下において変異原性を示す。：

代謝活性化の有無を問わず、*Salmonella typhimurium* TA100、TA1535、TA1537、TA98 及び TA1538 で陽性 (1、2)。

in vivo において、小核試験で陽性結果が得られた (3)。

発がん性

IARC により、DMCC はグループ 2A の化合物、ヒトに対して発がん性がある可能性が高いと分類されている (4)。

6カ月から12年までの範囲で曝露された労働者の小規模試験ではがんによる死亡は報告されず、DMCCのヒトでの発がん性を示す証拠は不十分である。げっ歯類ではDMCCが腫瘍を誘発する証拠がある。

経口投与による試験が実施されていないため、AIを求めるための試験として吸入及び腹腔内投与試験を用いた。

シリアンゴールデンハムスターに1 ppmのDMCCを1日6時間、週5日、寿命を迎えるか瀕死のため屠殺されるまで、吸入により曝露した (5)。55%の動物に鼻腔の扁平上皮癌がみられたのに対し、背景値としてのハムスターでは自然発生の鼻腫瘍はみられなかった。早期死亡を考慮した場合、腫瘍を有する動物の割合は75%と計算された (5)。

雌 ICR/Ha Swiss マウスを用い、皮膚塗布、皮下投与及び i.p.投与により、DMCC の発がん作用を試験した (6；この試験を AI 算出に選択した)。皮膚塗布では、DMCC 2 mg を週 3 回 492 日間投与したところ、マウス 50 匹中 40 匹に乳頭腫、50 匹中 30 匹に癌腫を誘発することがわかった。5 mg/週 の用量で週 1 回の皮下投与を 427 日間継続した。皮下投与後、マウス 50 匹中 36 匹で肉腫、50 匹中 3 匹で扁平上皮癌を認めた。i.p.投与試験では、マウスに DMCC 1 mg を週 1 回、450 日間投与した場合、30 匹中 14 匹で肺の乳頭腫瘍、30 匹中 9 匹で局所悪性腫瘍 (30 匹中 8 匹は肉腫) が誘発された。対照群では、皮膚塗布では腫瘍がみられず、皮下投与では 50 匹中 1 匹に肉腫がみられ、i.p.投与では 30 匹中 1 匹に肉腫及び 30 匹中 10 匹に肺の乳頭腫瘍がみられた。全体として、対照と比較して局所 (注射部位の) 腫瘍のみが有意に増加し、遠隔部位の腫瘍は有意に増加していなかった。

Dimethylcarbamyl chloride – Details of carcinogenicity studies

Study	Animals/ dose group	Duration/ Exposure	Controls	Doses	Tumors observation	TD ₅₀ (mg/kg/d)
Ref. 6 ^a	30 female ICR/Ha Swiss mice	64 weeks Once/wk Intra- peritoneal	30	1: 1 mg 5.71 mg/kg/d	Injection site: malignant tumors/Female	4.59 ^c
Ref. 5 ^b	99 male Syrian golden hamsters	Lifetime 6 h/d, 5 d/wk Inhalation	50 sham treated 200 untreated	1: 1 ppm 0.553 mg/kg/d	Squamous cell carcinoma of nasal cavity	0.625
Ref. 6	50 female ICR/Ha Swiss mice	70 weeks 3 times/wk Skin	50	1: 2 mg	Skin: Papillomas and carcinomas/ Female	NA ^c
Ref. 6	50 female ICR/Ha Swiss mice	61 weeks Once/wk Subcutaneous	50	1: 5 mg	Injection site: Fibrosarcomas; Squamous cell carcinomas/ Female	NA ^c
Ref. 7	Male Sprague- Dawley rats	6 weeks 6 h/d, 5 d/wk Inhalation; examined at end of life	Yes	1: 1 ppm	Nasal tumors/Male	NA ^f
Ref. 8	30 - 50 female ICR/Ha Swiss mice	18-22 mo 3 times/wk Skin	Yes	2: 2 and 4.3 mg	Skin. Mainly skin squamous carcinoma/Fema le	NA ^c
Ref. 8	Female ICR/Ha Swiss mice	18-22 mo Once/wk Subcutaneous	Yes	1: 4.3 mg	Site of administration. Mainly sarcoma. Hemangioma, squamous carcinoma and papilloma also seen/Female	NA ^d
Ref. 8	Female ICR/Ha Swiss mice	12 mo; Once/wk Subcutaneous examined at end of life	Yes	2: 0.43 and 4.3 mg		NA ^d

Studies listed are in CPDB (Ref. 9) unless otherwise noted.

^a Carcinogenicity study selected for non-inhalation AI.

^b Carcinogenicity study selected for inhalation AI.

NA= Not applicable

^c Did not examine all tissues histologically. Subcutaneous and skin painting studies are not included in CPDB as route with greater likelihood of whole body exposure is considered more valuable.

^d Subcutaneous and skin painting studies are not included in CPDB as route with greater likelihood of whole body exposure is considered more valuable.

^e Histopathology only on tissues that appeared abnormal at autopsy.

^f Examined only for nasal cancer. Does not meet criteria for inclusion in CPDB of exposure for at least one fourth of the standard lifetime.

規制上の限度値や公表された限度値

規制上の限度値は公表されていない。

許容摂取量 (AI)

上記のデータに基づき、DMCC は変異原性発がん物質と考えられる。その結果、許容リスク用量を算出するには、がん原性試験で最も感受性の高い TD₅₀ からの直線外挿が適切な方法である。DMCC は接触部位での発がん物質と考えられるため、吸入曝露については他の曝露経路とは別の AI を算出するのが適切であった。

経口投与による情報は入手できないため、吸入以外の曝露経路については、腹腔内投与した Van Duuren ら (6) の試験を用いた。混合腫瘍の発生率を根拠とした場合、TD₅₀ は 4.59 mg/kg/day (CPDB) であった。

生涯 AI は、以下のとおり算出される。

$$\text{生涯 AI} = \text{TD}_{50}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{生涯 AI} = 4.59 \text{ mg/kg/day}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{生涯 AI} = 5 \text{ } \mu\text{g/day}$$

吸入 AI

吸入 AI は、以下のとおり算出される。

DMCC の吸入後はハムスターの鼻癌が最も感受性の高い評価項目であり、TD₅₀ は 0.625 mg/kg/day であった。

$$\text{生涯 AI} = \text{TD}_{50}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{生涯 AI} = 0.625 \text{ mg/kg/day}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{生涯吸入 AI} = 0.6 \text{ } \mu\text{g/day}$$

References

1. Dunkel V, Zeiger E, Brusick D, McCoy E, McGregor D, Mortelmans K, *et al.* Reproducibility of microbial mutagenicity assays. I. Tests with *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* using a standardized protocol. *Environ Mutagen* 1984;6 Suppl 2:1-251.
2. Kier LD, Brusick DJ, Auletta AE, Von Halle ES, Brown MM, Simmon VF, *et al.* The *Salmonella typhimurium*/mammalian microsomal assay. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutat Res* 1986;168:69-240.
3. Heddle JA, Hite M, Kirkhart B, Mavournin K, MacGregor JT, Newell GW, *et al.* The induction of micronuclei as a measure of genotoxicity. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutat Res* 1983;123:61-118.

4. IARC. Monographs on the evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Man. Geneva: International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. [Online] 1972-PRESENT. (Multivolume work). 1999;71:539. Available from: URL: <http://monographs.iarc.fr/index.php>
5. Sellakumar AR, Laskin S, Kuschner M, Rush G, Katz GV, Snyder CA, et al. Inhalation carcinogenesis by dimethylcarbamoyl chloride in Syrian golden hamsters. *J Environ Pathol Toxicol* 1980;4:107-15.
6. Van Duuren BL, Goldschmidt BM, Katz C, Seidman 1770 I, Paul JS. Carcinogenic activity of alkylating agents. *J Natl Cancer Inst* 1974;53:695-700.
7. Snyder CA, Garte SJ, Sellakumar AR, Albert RE. Relationships between the levels of binding to DNA and the carcinogenic potencies in rat nasal mucosa for three alkylating agents, *Cancer Lett* 1986;33:175-81.
8. Van Duuren BL, Melchionne S, Seidman I. Carcinogenicity of acylating agents: chronic bioassays in mice and Structure-Activity Relationships (SARC). *J Am Col Toxicol* 1987;6:479-487.
9. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>

硫酸ジメチル (CAS# 77-78-1)

ヒトへの曝露の可能性

US EPAにより集計された、ある単一箇所における1983年の大気データに基づくと、硫酸ジメチル(DMS)の平均大気濃度は1立方メートルにつき7.4 µg又は1.4 ppbである(1)。

変異原性/遺伝毒性

DMSは*in vitro*及び*in vivo*で変異原性及び遺伝毒性を示す(2)。

DMSは以下で変異原性を示した。

細菌を用いる復帰突然変異試験(Ames)において、代謝活性化の有無にかかわらず、*Salmonella typhimurium*株のTA98、TA100、TA1535、TA1537及びTA1538で変異原性を示した(3)。

*in vivo*において、DMSはアルキル化されたDNA塩基を形成し、複数の遺伝毒性試験で一貫して陽性である(4)。DMSに曝露された作業員の体内を循環するリンパ球において、染色体異常の増加が認められている(4)。

発がん性

IARCにより、DMSはグループ2Aの発がん物質、ヒトに対しておそらく発がん性があると分類されている(4)。

DMSに関する疫学的研究報告は入手できなかったが、ヒトへの曝露と気管支癌の関連を示す症例が少数報告されている。DMSは、動物において慢性及び亜慢性の吸入投与、あるいは単回又は複数回の皮下投与により発がん性を示すが、経口で曝露させた試験は行われていない。DMSはラット、マウス及びハムスターで発がん性を示す(4)。さまざまな理由により、DMSのがん原性試験は限られており、DMSが発がん性データベース(CPDB)に記載されていないのはおそらくこのためである。DMSの発がん性を評価している試験について、以下に述べる(US EPA、5から引用)。

DMS- Details of carcinogenicity studies

Study	Animals	Duration/ Exposure	Controls	Doses	Tumor observations	TD ₅₀ (mg/kg/d)
Ref. 6	Golden hamsters, Wistar rats, and NMRI mice male and female (number not clearly specified)	15 mo 6 h/d, 2 d/wk followed by 15 mo observation period Inhalation	Yes	2: 0.5; 2.0 ppm	Tumors in lungs, thorax and nasal passages at both doses	NA ^a
Ref. 7	20-27 BD rats Sex not specified	130 days 1 h/d, 5 d/wk followed by 643 day observation period Inhalation	No	2: 3; 10 ppm	Squamous cell carcinoma in nasal epithelium at 3 ppm. Squamous cell carcinomas in nasal epithelium and lympho-sarcoma in the thorax with metastases to the lung at 10 ppm.	NA ^b
Ref. 8	8-17 BD Rats Sex not specified	394 days The duration of the study was not reported but mean tumor induction time was 500 days Subcutaneous	No	2: 8; 16 mg/kg/wk	Injection-site sarcomas in 7/11 at low dose and 4/6 at high dose; occasional metastases to the lung. One hepatic carcinoma.	NA ^c
Ref. 7	15 BD Rats Sex not specified	Up to 740 day evaluation Following single injection Subcutaneous	No	1: 50 mg/kg	Local sarcomas of connective tissue in 7/15 rats; multiple metastases to the lungs in three cases	NA ^c
Ref. 7	12 BD rats Sex not specified	800 days Once/wk Intravenous	No	2: 2; 4 mg/kg	No tumors reported	NA ^c

Study	Animals	Duration/ Exposure	Controls	Doses	Tumor observations	TD ₅₀ (mg/kg/d)
Ref. 7	8 BD rats (pregnant females)	1 year offspring observation following single dose, gestation day 15 Intravenous	No	1: 20 mg/kg	4/59 offspring had malignant tumors of the nervous system while 2/59 had malignant hepatic tumors.	NA ^d
Ref. 9	90 female CBAX57 Bl/6 mice	Duration not reported 4 h/d, 5 d/wk Inhalation	Not indicated	3: 0.4; 1; 20 mg/m ³	Increase in lung adenomas at high dose	NA ^e
Ref. 10	20 ICR/Ha Swiss mice ^g	475 days 3 times/wk Dermal	Not indicated	1: 0.1 mg	No findings	NA ^f

Studies listed are in not in CPDB.

NA = Not applicable

^a Control data not reported. Tumor incidences not tabulated by species or dose.

^b Small group size. No concurrent control group. One rat at high dose had a cerebellar tumor and two at low dose had nervous system tumors which are very rare and distant from exposure.

^c Small group size, no concurrent control group.

^d No concurrent control group.

^e Duration not reported

^f Limited number of animals. Only one dose tested. Even when DMS was combined with tumor promoters no tumors were noted.

^g Sex not specified

発がん性の作用機序

硫酸ジメチルは変異原性発がん物質であり、許容摂取量は TD₅₀ からの直線外挿により算出される。

規制上の限度値や公表された限度値

欧州連合 (EU) の健康・消費者保護研究所 (ECHA、11) は、DMS の吸入投与による発がん性データに基づき、発がん性スロープ曲線を作成した。ECHA は、ラットの吸入試験 (7) から、T₂₅ (腫瘍が 25% 増加する用量) を推定した。この限られたがん原性試験では、全身作用 (神経系) 及び局所の鼻腫瘍が認められた。しかしながら、表に記載した他の試験と同様に、死亡率が高く、対照動物がなく、投与群が 2 群しかなく、病理学的評価が最小限であるといった極めて限られたものであったため、直線外挿には不適切であった。

許容摂取量 (AI)

DMS は経口発がん物質である可能性があり、おそらくヒトの発がん物質であると考えられるが、TD₅₀ 値を算出する根拠とすべき経口投与によるがん原性試験が存在しない。さらに、さまざまな理由により入手可能な吸入投与試験は少なく、TD₅₀ の外挿に適していない。これらのことから、DMS の限度を一生涯の毒性学的懸念の閾値 (TTC) である 1.5 µg/day とするのが妥当である。

生涯 AI = 1.5 µg/day

References

1. US EPA. Health and Environmental effects profile for dimethyl sulfate. Prepared by the Office of Health and Environmental Assessment, Environmental Criteria and Assessment Office, Cincinnati, OH for the Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, DC. 1985.
2. Hoffmann GR. Genetic effects of dimethyl sulfate, diethyl sulfate, and related compounds. *Mutat Res* 1980;75:63-129.
3. Skopek TR, Liber HL, Kaden DA, Thilly WG. Relative sensitivities of forward and reverse mutation assays in *Salmonella typhimurium*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978;75:4465-9.
4. IARC. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenicity Risk of Chemicals to Humans. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon. 1999;71:575.
5. US Environmental Protection Agency. Dimethyl sulfate (CASRN 77-78-1). Integrated Risk Information System (IRIS). [Online]. 1988. Available from: URL: https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/subst/0365_summary.pdf#name_ddest=woe
6. Schlogel FA, Bannasch P. Carcinogenicity and Chronic Toxicity of Inhaled Dimethyl Sulfate. (In German) (Inaugural Dissertation) Julius-Maximilians University, Würzburg 1972. (data in Ref. 11).
7. Druckrey H. Carcinogenic alkylating compounds: III. Alkyl halogenids, sulfates, sulfonates, and heterocyclics. (Article in German) *Z. Krebsforsch* 1970;74:241–273.
8. Druckrey H. Carcinogenic alkylating compounds: I. Dimethyl sulfate, carcinogenic effect in rats and probable cause of occupational cancer. (Article in German) *Z. Krebsforsch* 1966;68:103–111.
9. Fomenko VN, Katasova LD, Domshlak MG (1983); USSR Minist Health All-Union Sci Soc Med Genet 1:348-49 as cited in WHO; Environ Health Criteria 1985; Dimethyl Sulfate p.36
10. Van Duuren BL, Goldschmidt BM, Katz C, Seidman I, Paul JS. Carcinogenic activity of alkylating agents. *J Natl Cancer Inst* 1974;53:695-700.
11. ECHA (European Chemical Agency). European Union Risk Assessment Report: Institute for Health and Consumer Protection. Dimethyl Sulphate. [Online]. 2002 Vol. 12. Available from: URL: <http://echa.europa.eu/documents/10162/3d2e4243-8264-4d09-a4ab-92dde5abfadd>

エピクロロヒドリン (CAS# 106-89-8)

ヒトへの曝露の可能性

エピクロロヒドリンは医薬品有効成分の合成に用いられている。

変異原性/遺伝毒性

エピクロロヒドリンは *in vitro* で変異原性及び遺伝毒性を示し、*in vivo* 遺伝毒性試験では陰性と陽性両方の結果が得られている。*in vitro* 遺伝毒性は肝 S9 代謝活性化系の有無にかかわらず認められるものの、活性は S9 によって抑制される傾向がある (1-3)。エピクロロヒドリンは、プレート法及びプレインキュベーション法のいずれを用いた Ames 試験においても、代謝活性化系の有無にかかわらず、*Salmonella typhimurium* のいくつかの株及び *E. coli* WP2 *uvrA* で変異原性を示す (4)。*in vitro* では、エピクロロヒドリンは哺乳類細胞において、突然変異、染色体及び DNA の損傷について陽性を示す。

発がん性

IARC は、エピクロロヒドリンをグループ 2A の発がん物質、ヒトに対しておそらく発がん性があると分類している (1)。エピクロロヒドリンは、経口、皮下、吸入経路による接触部位発がん物質である。

経口投与試験では、Wester ら (5) が、ラットにエピクロロヒドリン 2 及び 10 mg/kg を週 5 回、生涯にわたって強制経口投与しており、これを週 7 日投与の平均 1 日用量に換算すると、CPDB (6) に記載される投与量はそれぞれ 1.43 及び 7.14 mg/kg/day となる。試験終了時の生存ラットにおいて、高用量では雌全 24 匹と雄 43 匹中 35 匹、低用量では雌 27 匹中 2 匹と雄 43 匹中 6 匹の前胃に扁平上皮癌が認められた。腫瘍の悪性度は低いとみなされ、転移の証拠はなく、他の部位で腫瘍の増加は認められなかった。いずれの用量においても前胃粘膜に増殖性変化が認められ、高用量では一部で潰瘍及び壊死が認められた。CPDB に記載されている TD₅₀ は 2.55 mg/kg/day である。この結果は、最長 81 週間にわたってエピクロロヒドリンを飲水投与した雄 Wistar ラットのの前胃で扁平上皮癌が認められたことと一致している (7)。Konishi らの試験は、技術的欠陥があり、動物の条件が不十分であったため、CPDB には記載されておらず、このモノグラフでは考慮しない。

吸入投与試験では、Laskin ら (8) が雄 Sprague Dawley ラットを用い、短期曝露 (100 ppm で 30 回) で生涯観察 (140 匹/群)、又は生涯にわたって 10 及び 30 ppm の低用量 (100 匹/群) のいずれかで、エピクロロヒドリンを 1 日 6 時間、週 5 日吸入投与した。短期間の高用量曝露では、140 匹中 15 匹に鼻腔の扁平上皮癌が、140 匹中 3 匹に気道の乳頭腫が認められ、鼻甲介、喉頭、気管の重度の炎症を伴っていた。生涯曝露では、30 ppm の用量に曝露された 100 匹中 2 匹のラットで、鼻腔のみに腫瘍が認められた (鼻腔癌 1 例、鼻腔乳頭腫 1 例)。腫瘍の発生率が低いにもかかわらず、CPDB には 421 mg/kg/day の TD₅₀ が報告されている。

皮下投与試験では、Van Duuren ら (9) が、エピクロロヒドリンを皮下投与したマウスの注射部位に肉腫を認めているが、皮膚塗布及び 64 週間以上にわたる週 1 回の腹腔内投与では腫瘍発生率は上昇しなかった。

Epichlorohydrin – Details of carcinogenicity studies

Study	Animals/ dose group	Duration/Exposure	Controls	Doses	Most sensitive tumor site/type/sex	TD ₅₀ (mg/kg/d)
Ref. 5 ^a	50/sex Wistar rat	104 weeks, Gavage	50	2: 1.43, 7.14 mg/kg/day	Forestomach /Squamous cell	2.55 ^{b,c}

					carcinomas / Female	
Ref. 7	18/ group Male Wistar rat	81 weeks, Drinking water	18	3: 375, 750, 1500 ppm. 375, 750, 1500 mg/kg/day	Forestomach / Squamous cell carcinomas	NC ^d
Ref. 8	140 Male Sprague Dawley rat	30 days, Inhalation	140	1: 100 ppm. 10.2 mg/kg/day	Nasal / Squamous cell carcinomas / Male	NC ^e
Ref. 8	100 Male Sprague Dawley rat	136 weeks, Inhalation	150	2: 10, 30 ppm. 0.729, 2.88 mg/kg/day	Nasal / Squamous cell carcinoma / Male	421 ^b
Ref. 9	50 Female ICR/Ha Swiss mouse	61 weeks, S.C.	150	1: 1 mg/once a week	Injection site sarcomas	NC ^f
Ref. 9	50 Female ICR/Ha Swiss mouse	70 weeks, Skin	150	1: 2 mg/ 3 times/week	No skin papillomas or carcinomas	NC ^f
Ref. 9	50 Female ICR/Ha Swiss mouse	64 weeks, I.P.	30	1: 5.71 mg/kg/day	No tumors (including no injection site sarcomas)	NC ^g

NC – Not Calculated, S.C. – Subcutaneous, I.P. – Intraperitoneal

^a Carcinogenicity study selected for AI calculation

^b The TD₅₀ values are taken from CPDB (Ref. 6)

^c The TD₅₀ value represents the TD₅₀ from the most sensitive tumor site

^d Not calculated due to short term exposure

^e Not calculated due to limitations of the study design (injection, single dose level, and did not examine all tissues histologically). The skin painting studies showed no increase in skin papillomas or carcinomas.

^f Not calculated: Although TD₅₀ is listed in CPDB, there was no increase in tumors

^g Not calculated because the group size was small, the rats were in poor condition, dosing had to be stopped intermittently, and there was body weight loss in all dose groups

発がん性の作用機序

エピクロロヒドリンは接触部位のみに腫瘍を誘発した（経口曝露では前胃と口腔の腫瘍、吸入曝露では鼻腫瘍、皮下投与では注射部位の肉腫）。

エピクロロヒドリンは *in vitro* で細菌及び哺乳類細胞において変異原性を示す (4)。曝露された組織に対する刺激性が強い。例えば、エピクロロヒドリン 3、7、19 及び 46 mg/kg/day を 10 日間、又は 1、5 及び 25 mg/kg/day を 90 日間、強制経口投与したラットで、前胃に用量依存性の病変が観察された (11)。さまざまな炎症性及び上皮の変化が認められ、最も顕著だったのは、粘膜過形成及び角化亢進の用量依存的な増加であった。データから、エピクロロヒドリンは吸収され、その代謝物が体循環に入るものの、腫瘍は直接接触部位のみに認められることが示されている。前胃腫瘍の関連性に関する詳細については、アクリロニトリル及び塩化ベンジルのモノグラフを参照。

規制上の限度値や公表された限度値

世界保健機関 (WHO) (12) はこの接触部位発がん物質について、用量反応関係が非線形であるという仮定に基づいて、暫定的 1 日総摂取量を 0.14 µg/kg/day 又は 8.4 µg/day (体重 60 kg の成人) と公表している。US EPA は、Konishi ら (7) のデータを用いて、直線外挿により、飲水レベル (10 万分の 1 の過剰発がんリスク) を 30 µg/L 又は約 60 µg/day (13) と算出した。また、US EPA は、10 万分の 1 の過剰発がんリスクのある吸入濃度を 8 µg/m³、又はヒトの 1 日呼吸量に関する ICH Q3C の仮定を用いて、230 µg/day と計算している (13)。

米国食品医薬品庁食品安全・応用栄養センター (FDA/CFSAN) は、上表に示した Konishi らのデータを用いて、ユニットがんリスクを $2.7 \times 10^{-3} (\text{mg/kg/day})^{-1}$ と計算している (14)。食品添加物・汚染物質が 0.37 µg/kg 又は 22 µg/day を超える曝露量でヒトの食品に移行すると、発がんリスクが 100 万分の 1 を上回ると推定される。

許容摂取量 (AI)

AI 算出のための試験選択の根拠

Wester ら (5) の強制経口投与試験は、AI を算出するのに最も頑健な試験であり、最も感受性の高い動物種及び組織は、強制投与発がん性試験におけるラットの前胃である。この試験は、腫瘍発生率を測定するのに適した用量範囲を含んでおり、明らかな用量反応性が示され、化合物特異的な AI を算出するのに十分なデータを提供している。

AI の算出

$$\text{生涯 AI} = \text{TD}_{50}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{生涯 AI} = 2.55 \text{ mg/kg/day}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{生涯 AI} = 3 \text{ µg/day}$$

References

1. IARC. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. 1987;71:603-628. Available from: URL: <https://publications.iarc.fr/89>
2. Srám RJ, Landa L, et al. Effects of occupational exposure to epichlorohydrin on the frequency of chromosome aberrations in peripheral lymphocytes. *Mutat Res* 1983;122:59-64.
3. Giri AK. Genetic toxicology of epichlorohydrin: A review. *Mutat Res* 1977;386:25-38.
4. Canter DA, Zeiger E, et al. Comparative mutagenicity of aliphatic epoxides in *Salmonella*. *Mutat Res* 1986;172:105-38.

5. Wester PW, van der Heijden CA, et al. Carcinogenicity study with epichlorohydrin (CEP) by gavage in rats. *Toxicology* 1985;36:325-39.
6. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>
7. Konishi Y, Kawabata A, et al. Forestomach tumors induced by orally administered epichlorohydrin in male Wistar rats. *Gann* 1980;71:922-3.
8. Laskin S, Sellakumar AR, et al. Inhalation carcinogenicity study of epichlorohydrin in noninbred Sprague-Dawley rats. *J Natl Cancer Inst* 1980;65:751-7.
9. Van Duuren BL, Goldschmidt BM, et al. Carcinogenic activity of alkylating agents. *J Natl Cancer Inst* 1974;53:695-700.
10. Stoner GD, Conran PB, Greisiger EA, Stober J, Morgan M, Pereira MA. Comparison of two routes of chemical administration on the lung adenoma response in strain A/J mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 1986;82:19-31.
11. Daniel FB, Robinson M, et al. Toxicity studies of epichlorohydrin in Sprague-Dawley rats. *Drug Chem Toxicol* 1996;19:41-58.
12. World Health Organization (WHO). Epichlorohydrin in drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. 2004; WHO/SDE/WSH/03.04/94.
13. United States Environmental Protection Agency (USEPA). Integrated Risk Information System (IRIS). Epichlorohydrin (CASRN 106-89-8) Cancer Assessment.1988; Available from: URL: https://iris.epa.gov/ChemicalLanding/&substance_nmbr=50
14. United States Food and Drug Administration (USFDA). Indirect food additives: Paper and paperboard components. Available from URL: <https://www.ecfr.gov/current/title-21/chapter-I/subchapter-B/part-176>

臭化エチル (CAS# 74-96-4)

ヒトへの曝露の可能性

臭化エチル（プロモエタン）は無色の揮発性、可燃性液体である。主に医薬品の合成における試薬として使用されるアルキル化剤である。類似物質である塩化エチルは ICH M7 にもモノグラフがあり、変異原性発がん物質である。

変異原性／遺伝毒性

臭化エチルは、Ames試験において、プレート法を用いて、代謝活性化系存在下では *Salmonella typhimurium* 株 TA98、TA100 及び TA104 で、また代謝活性化系の有無にかかわらず TA 97 で変異原性を示した (1)。臭化エチルは揮発性の疎水性化合物であるため、密閉デシケーター中で気体として変異原性を調べるための改変型 Ames 試験も実施された。この試験系において、臭化エチルは代謝活性化系の有無にかかわらず TA100 及び TA1535 で変異原性を示したが、TA98 では変異原性を示さなかった (2、3、4)。ラット及びハムスター S9 を用いてプレインキュベーション法で実施された別の Ames 試験では陰性の結果を示し、これはおそらく臭化エチルの揮発性のためであると考えられる (4、5、6)。

CHO 培養細胞において、臭化エチルは姉妹染色分体交換 (SCE) を誘発したが、代謝活性化系の有無にかかわらず染色体異常を誘発しなかった (7)。

発がん性

IARC により、臭化エチルはヒトに対する発がん性について分類することができないとされている (8)。臭化エチルの発がん性に関する疫学的データは存在せず、動物実験では限られた証拠しかない。

動物では、発がん性の証拠は、ラット及びマウスへの臭化エチルの吸入投与を評価した National Toxicology Program (NTP) の 2 年間のバイオアッセイで特定された。100、200、又は 400 ppm の臭化エチルに 1 日 6 時間、週 5 日曝露したところ、さまざまな作用（動物種と性別により異なる）が認められた (9)。

雄 F344/N ラットでは、副腎髄質の褐色細胞腫及び悪性褐色細胞腫を合わせた発生率上昇によって示されるように（対照 8/40 例、100 ppm 23/45 例、200 ppm 18/46 例、400 ppm 21/46 例）、臭化エチルの発がん作用を示すある程度の証拠が存在した。雌ラットでは、脳神経膠腫と肺腺腫の発生率が上昇した。しかしながら、脳神経膠腫の発生率は背景対照値の範囲内であり、また肺腺腫の発生率は、傾向検定又は対比較により統計学的に有意でなかった。B6C3F1 雄マウスでは、不確かではあるが、肺腫瘍の発生率に統計学的に有意な上昇がみられた（肺胞／細気管支の腺腫又は癌腫）。雌 B6C3F1 マウスでは、子宮腫瘍（腺腫又は腺癌）で示されるように、発がん作用の明確な証拠が存在し、塩化エチルと同様の機序によると考えられた。

Ethyl Bromide – Details of carcinogenicity studies

Study	Animals/ dose group	Duration/ Exposure	Controls	Doses ^a	Most sensitive tumor site/type/sex	TD ₅₀ (mg/kg/day) ^b
Ref. 9	50/sex/ group B6C3F1 mice	105 weeks, Inhalation	50	3: M: 115, 229, 458 F: 137, 275, 550 mg/kg/day	Uterus / Female	535
Ref. 9	50/sex/ group F344/N Rats	106 weeks, Inhalation	50	3: M: 22.9, 45.8, 91.7 F: 32.7, 65.5, 131 mg/kg/day	Adrenal / Male	149 ^c
Ref. 9	50/sex/ group F344/N Rats	106 weeks, Inhalation	50	3: M: 22.9, 45.8, 91.7 F: 32.7, 65.5, 131 mg/kg/day	Liver	670

^a mg/kg/day values stated in CPDB (Ref. 10) and calculated by method used to standardize average daily dose levels from variety of routes of administration, dosing schedules, species, strains and sexes; values stated in CPDB accounted for exposure duration of 24 h per day for 7 days per week. (Dose rate = (administered dose × intake/day × number of doses/week) / (animal weight × 7 days/week))

^b TD₅₀ calculated in CPDB

^c Carcinogenicity study selected for AI calculation

発がん性の作用機序

臭化エチルはアルキル化剤である。臭化エチルは変異原性発がん物質であり、AIはTD₅₀からの直線外挿により算出される。

規制上の限度値や公表された限度値

ACGIHは臭化エチルの時間加重平均限界値 (TLV-TWA) を5 ppm (22 mg/m³) としているが、OSHAとNIOSHは時間加重平均値 (TWA) を200 ppm (890 mg/m³) としている (11)。ACGIHは皮膚吸収と注記した上でこの値を推定しているが、OSHAとNIOSHは吸入試験に基づいて推定している。

許容摂取量 (AI)

AI算出のための試験選択の根拠

臭化エチルは、吸入曝露経路による変異原性発がん物質である。臭化エチルの吸入バイオアベイラビリティに関する情報は見つからなかったものの、有機溶剤の吸入バイオアベイラビリティ値は高く (12)、臨床観察により複数の試験において吸入経路による全身曝露が示されている (13)。接触部位組織 (肺など) に加え、マウス及びラットにおいて全身曝露が示されている複数の臓器で腫瘍性病変が認められた。そのため、他の投与経路について、吸入試験から算出したAIを適用するのは合理的である。

ラット及びマウスを用いた吸入試験から入手可能なすべてのデータを考慮すると、最も感受性の高い腫瘍エンドポイントは、F344/N雄性ラットにおける副腎の褐色細胞腫及び悪性褐色細胞腫の

発現であり、このエンドポイントについてCPDBで計算されたTD₅₀は、傾向検定で統計学的に有意差が認められなかった腫瘍発生率に基づいていた。しかしながら、各用量の腫瘍発生率は対照群と統計的に異なっていたため、その影響は関連性があると考えられた。各用量から算出したTD₅₀は低用量で32.2 mg/kg/day、中用量で115 mg/kg/day、高用量で162 mg/kg/dayである（注2）。AIを計算するための最も感受性の高い推定値を保守的に算出するものと考えられたため、最低のTD₅₀値である32.2 mg/kg/dayを使用する。

AIの算出

生涯 AI = TD₅₀/50,000 × 50 kg

生涯 AI = 32.2 mg/kg/day/50,000 × 50 kg

生涯 AI = 32 µg/day

References

1. Strubel K, Grummt T. Aliphatic and aromatic halocarbons as potential mutagens in drinking water. III. Halogenated ethanes and ethenes. *Toxicology and Environmental Chemistry* 1987;15:101-128.
2. Barber ED, Donish, WH, Mueller KR, A procedure for the quantitative measurement of the mutagenicity of volatile liquids in the Ames Salmonella/microsome assay, *Mutation Research*, 1981;90:31-48.
3. Simmon VF. Applications of the Salmonella/Microsome Assay. In: Stich HF, San RHC (eds) Short-Term Tests for Chemical Carcinogens. *Topics in Environmental Physiology and Medicine*, 1981;120-126.
4. Zeiger E, Anderson B, Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K. Salmonella Mutagenicity tests: V. Results from the Testing of 311 Chemicals, *Environ Molec Mutagen* 1992;19:Suppl 21:2-141.
5. Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K, Speck W, Zeiger E. Salmonella Mutagenicity Test Results for 250 Chemicals. *Environ Mut* 1983;Suppl 1:3-142.
6. WHO, Bromoethane, Concise International Chemical Assessment Document 42, 2002.
7. Loveday KS, Lugo MH, Resnick MA, Anderson BE, Zeiger E. Chromosome aberration and sister chromatid exchange tests in vitro in Chinese hamster ovary cells in vitro: II. Results with 20 chemicals. *Environ Molec Mutagen* 1989;13:60-94.
8. NTP. Toxicology and Carcinogenesis Studies of Bromoethane (Ethyl Bromide) (CAS NO. 74-96-4) in F344/N Rats and B6C3F Mice (Inhalation Studies). National Toxicology Program, US Dept Health and Human Services. 1989; NTP-TR 363.
9. IARC. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. 1999;71:1305-1307.

10. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>
11. NIOSH. The National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) Publications & Products. Available from: URL: <https://www.cdc.gov/niosh/idlh/74964.html>
12. Fiserova-Bergerova, V. Toxicokinetics of organic solvents. Scand J Work Environ Health 1985;11:suppl 1, 7-21.
13. Sayers RR, Yant WP, Thomas BGH, Berger LB. Physiological response attending exposure to vapors of methyl bromide, methyl chloride, ethyl bromide and ethyl chloride. Public Health Bull 1929;185:1-5.

塩化エチル（クロロエタン、CAS# 75-00-3）

ヒトへの曝露の可能性

汚染された大気や飲料水から低レベル（1兆分の1程度）の曝露。局所麻酔剤としての皮膚接触。

変異原性／遺伝毒性

塩化エチルは *in vitro* で変異原性及び遺伝毒性を示すが、*in vivo* ではこれらを示さない。IARC（1）が塩化エチルの変異原性データを概説しており、ここに主要な点を纏める。

塩化エチルは以下において変異原性を示す：

ガス状態での曝露が可能な条件下で試験した場合に、代謝活性化系存在下及び非存在下における *Salmonella typhimurium* TA100及びTA1535、*E. coli* WP2*uvrA*での細菌を用いる復帰突然変異試験（Ames試験）（2、3、4）。

代謝活性化系存在下及び非存在下におけるCHO細胞を用いた*hprt*試験。

*in vivo*において、約25,000 ppm、3日間吸入したマウスの骨髄小核試験、及び雌マウスを用いた肝不定期DNA合成（UDS）試験で、塩化エチルは陰性であった（5）。

発がん性

IARCにより、塩化エチルはクラス3化合物、発がん性は分類不能と指定された（1）。

塩化エチルについては、雌雄のラット及びマウスを用い、吸入により1日6時間、週5日100週間投与したNTPの試験（6）が唯一のがん原性試験である。安全性上の懸念（爆発の危険性）、および19,000 ppmまで投与した3カ月間の用量設定試験において明らかな変化は認められなかったことから、1回の曝露濃度（15,000 ppm）は制限された。これらのデータはその後、US EPA（7）により発表され、塩化エチルを臭化エチルと比較した。塩化エチルの注目すべき点は、臭化エチルと構造的に類似していることに加え、稀な腫瘍である子宮腫瘍（子宮内膜癌）をマウスにおいて多数誘発し、ラットにおいては誘発しないことだった。塩化エチルは、雌マウスにおいて発がん性（子宮）の明らかな証拠を示したが、雌雄ラットにおいて発がん性の証拠は曖昧であった。雄マウスの試験は、肺腫瘍の発生率上昇が認められたものの、生存率が低かったため不適切と考えられた。

Ethyl Chloride – Details of carcinogenicity studies

Study	Animals/ dose group	Duration/ Exposure	Control s	Doses	Most sensitive tumor site/sex	TD ₅₀ (mg/kg/d)
Ref. 6, 7 ^a	50/sex/ group B6C3F1 mice	100 weeks 6 h/d, 5 d/wk Inhalation	50	1: M: 10.4 F: 12.4 g/kg/d	Uterus/Female	1810
Ref. 6, 7	50/sex/ group Fischer 344 rats	100 weeks 6 h/d, 5 d/wk Inhalation	50	1: M: 2.01 F: 2.88 g/kg/d	Negative	NA

^a Carcinogenicity study selected for AI calculation. Studies listed are in CPDB (Ref. 8).

NA = Not applicable

発がん性の作用機序

Holder（7）は、反応性代謝物が発がん性に寄与している可能性を提案しているが、雌マウスはがん原性試験に用いられた高濃度の塩化エチルの曝露に対して著しいストレス反応を有しているこ

とに言及しており、そのようなストレスは副腎を刺激することが示唆されている。高レベルのコルチコステロイド産生がマウスにおいて子宮内膜癌を促進しうることが提案された。

規制上の限度値や公表された限度値

US EPA は非発がん性作用の吸入標準濃度 (RfC) を 10 mg/m^3 とし、呼吸量が $28,800 \text{ L/day}$ と仮定した場合には 288 mg/day と定めた (9)。

許容摂取量 (AI)

AIを計算するための試験選択の根拠

試験のデザイン (投与群が1群) は頑健ではないが、マウスにおいて、稀な種類の腫瘍である子宮内膜に由来する子宮癌が高発 (対照群では 49 匹中 0 匹だったのに対し 50 匹中 43 匹に発症) していることは、塩化エチルの強い発がん反応を示唆している。この観察結果は、同じタイプの腫瘍 (マウス子宮腫瘍) がより頑健ながん原性試験 (3 用量及び対照群) で評価された比較分子である臭化エチルで見られた事実により支持されている (10)。

塩化エチルは変異原性発がん物質と考えられている。NTP の吸入試験に基づくと、最も感受性の高い動物種及び部位は雌マウスの子宮である。腫瘍の発生数が多いことから、1 用量のみの試験であるものの TD_{50} を計算することは可能である。CPDB (8) の著者は 0 及び $15,000 \text{ ppm}$ という表示を、0 及び 12.4 g/kg という用量に変換し、マウスの子宮腫瘍について TD_{50} が 1810 mg/kg/day と計算した。

$$\text{生涯 AI} = TD_{50}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{生涯 AI} = 1810 \text{ mg/kg/day}/50,000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{生涯 AI} = 1,810 \text{ }\mu\text{g/day}$$

References

1. IARC. Chloroethane. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon. 1999;71:1345.
2. Goto S, Shiraishi F, Tanabe K, Endo O, Machii K, Tezuka Y, et al. Mutagenicity Detection Method for Vinyl Chloride and Vinylidene Chloride Gases. *Kankyo Kagaku* 1995;5(2):235-40.
3. Zeiger E, Anderson B, Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K. *Salmonella* mutagenicity tests. V. Results from the testing of 311 chemicals. *Environ Mol Mutagen* 1992;19 Suppl 21:2-141.
4. Araki A, Noguchi T, Kato F, Matsushima T. Improved method for mutagenicity testing of gaseous compounds by using a gas sampling bag. *Mutat Res* 1994;307(1):335-44.
5. Ebert R, Fedtke N, Certa H, Wiegand HJ, Regnier JF, Marshall R, et al. SW. Genotoxicity Studies With Chloroethane. *Mutat Res* 1994;322(1):33-43.
6. NCI/NTP Technical Report on the toxicology and carcinogenesis studies of chloroethane. National Toxicology Program, Research Triangle Park, NC. NTP TR-346 1989. [Online]. 1989; Available from: URL: https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr346.pdf

7. Holder JW. Analysis of Chloroethane Toxicity and Carcinogenicity Including a Comparison With Bromoethane. *Toxicology and Industrial Health* 2008;24(10):655-675.
8. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>
9. US Environmental Protection Agency. Ethyl Chloride (CAS# 75-00-3). Integrated Risk Information System (IRIS). [Online] 1991. Available from: URL: https://cfpub.epa.gov/ncea/iris2/chemicalLanding.cfm?substance_nmbr=523
10. NTP. Technical Report on the toxicology and carcinogenesis studies of Ethyl Bromide. National Toxicology Program, Research Triangle Park, NC. NTP TR 363. [Online]. 1989; Available from: URL: http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr363.pdf

ホルムアルデヒド (CAS# 50-00-0)

ヒトへの曝露の可能性

ホルムアルデヒドへの曝露は空気、水、食品で生じ、生体物質の一般的な内因性成分であり、また肉、乳製品、果物、野菜など多くの食品に含まれる天然成分である。食物摂取によるホルムアルデヒドの1日曝露量は1.5~119 mg/dayと推定されている(1, 2)。また、ホルムアルデヒドはヒトの正常な代謝産物であり、特定のアミノ酸の生合成に欠かせない。人体は1日に約53~92 g (60~70 kgの人の場合、878~1210 mg/kg b.w./day)のホルムアルデヒドを産生及び使用するが、これは速やかに代謝され、血漿から除去される(2)。ホルムアルデヒドは医薬品の合成及び製剤化に使用される。また、薬剤の有効成分として用いられることもある(3)。ホルムアルデヒドは、一部の消費者製品に成分として含まれている場合や、調理や喫煙により発生する場合がある(1)。

変異原性/遺伝毒性

ホルムアルデヒドは変異原性化合物である(4, 5)。ホルムアルデヒドは、Ames試験においてS9代謝活性化系の有無にかかわらず変異原性を示し、哺乳類細胞において、欠失、点突然変異、挿入、及び形質転換を誘導した(4, 5)。ホルムアルデヒドはまた、染色体異常誘発性であり、げっ歯類及びヒト初代培養細胞株において染色体異常、小核、姉妹染色分体交換を誘発する。*in vivo*試験においても、主に接触部位で遺伝毒性が認められている(4)。

発がん性

鼻咽頭がん及び白血病が認められることから、IARCは、ホルムアルデヒドをグループ1、ヒトに対して発がん性があると分類している(6)。欧州リスク評価委員会は、動物試験から十分な証拠があるものの、ヒトにおける発がん性の証拠は限定的であることに基づき、ホルムアルデヒドをカテゴリー1B(がんを引き起こす可能性がある)に分類している(7)。ホルムアルデヒドを用いた経口及び吸入動物試験がいくつか存在する(下表に示す)。ホルムアルデヒドの発がん性は、吸入に特異的であり、一方、証拠の重み付けから、経口経路では発がん性がないと考えられている(6, 8-10)。ホルムアルデヒドは、げっ歯類を用いた経口発がん性試験において陰性であった。吸入経路で実施した発がん性試験では、げっ歯類で鼻腔に腫瘍が認められた。

ホルムアルデヒドの吸入後に認められた鼻腫瘍は、直接的な遺伝毒性作用ではなく、組織の変性及び再生の連続サイクル(細胞致死性/再生細胞増殖; cytolethality/regenerative cellular proliferation, CRCP)によるものであった(11)。細胞致死性には、おそらくDNA-タンパク質架橋(DPX)の形成が関係している。Conollyら(11)の、実生活におけるホルムアルデヒドへの曝露を著しく過大評価しているとの考えに基づくリスク予測から、ホルムアルデヒドへの80年間の連続環境曝露に対する過剰発がんリスク予測モデルが作られた。

IARC(6)と一致して、米国EPA(12)及びNTPの発がん物質報告書第15版はホルムアルデヒドの曝露がヒトにおける鼻咽頭癌及び骨髄性白血病(ML)を引き起こすと結論づけている(13)。ホルムアルデヒドががんを引き起こすという結論について、米国科学アカデミーはピアレビューを実施している(14)。ピアレビューにおいて、内因性産生や高反応性といった側面から、特に白血病誘発性の可能性に関してホルムアルデヒドが有害性物質であると特定することは容易ではないとの認識が示された。ホルムアルデヒドの骨髄性白血病誘発リスクに関する最も有益な研究は、ホルムアルデヒドを扱う工業従事者と遺体衛生保全士を対象とした大規模コホート研究であり(15, 16)、ホルムアルデヒド曝露と骨髄性白血病による死亡率には因果関係があるという結論付けている(15, 16)。一方、欧州リスク評価委員会は、ホルムアルデヒドは全身曝露での発がん物質ではないと結論付けた(7)。AlbertiniとKaden(17)は、ホルムアルデヒド曝露後の遺伝子変化に関して入手できる文献の総括からは、外因性曝露、特に吸入による曝露において、直接曝露部位から離れた組織にDNA直接反応作用による突然変異を誘発するという説得力のある証拠が得られなかったと結論した。その中で、曝露部位で影響を受けた循環する幹細胞が骨髄へ戻

り寄与するという作用機序が提唱されている。骨髄、又はその他の接触部位以外の組織における突然変異は認められていない。

2010 年以降、遺伝的に素因のあるマウス系統（雄 C3B6-129F1-Trp53tm1Brdp53 ハプロ不全マウス及び雄 B6.129-Trp53tm1Brd マウス）を用いた、短期発がん性試験 2 試験を NTP が実施及び公表している（18）。これらの発がん性試験は、ホルムアルデヒドの吸入が鼻腫瘍及びリンパ造血系腫瘍の発生率上昇及び／又は潜伏期間短縮をもたらすという仮説を検証し、またホルムアルデヒドが、DNA 付加体形成に関与しない機序により白血病を誘発する可能性があるという仮説を調べるために実施された。この機序は、ホルムアルデヒドの吸入が、鼻上皮又は局部血管循環の幹細胞に著しい遺伝子損傷を引き起こす可能性があるかと仮定している。損傷したこれらの幹細胞は、全身循環に入り、定着して白血病性幹細胞になる可能性があると考えられた。7.5 又は 15 ppm のホルムアルデヒドに 1 日 6 時間、週 5 日、8 週間にわたって曝露したマウスを、約 32 週間観察した。最高濃度では、鼻上皮の有意な細胞増殖と扁平上皮化生が認められたが、鼻腫瘍は認められなかった。いずれのマウス系統でも白血病例は認められず、ホルムアルデヒドを吸入させたマウスで認められた、低頻度のリンパ腫は、曝露と無関係であると考えられた。また、血液学的パラメータに有意な変化は認められなかった。これらの試験条件下で、ホルムアルデヒドの吸入は、遺伝的に素因のあるマウスのこれらの系統に白血病を引き起こさなかったと結論した（18）。

内因性ホルムアルデヒドと外因性ホルムアルデヒドによる DNA またはタンパク質付加体を区別して測定できる感受性の高い分析法を用いて、ラット（19-21）及びサル（21、22）で複数の試験が実施されており、吸入された外因性ホルムアルデヒドは全身に吸収されないか、あるいは最初の接触部から離れた部位に達しないことが示されている。これらの試験に加えて、入手可能なホルムアルデヒドのトキシコキネティクスデータから、直接曝露部位以外に運ばれる「遊離」ホルムアルデヒドの量はほとんどないことが示唆される。

Formaldehyde – Details of carcinogenicity studies

Study	Animals/ dose group	Duration/ Exposure	Controls	Doses	Most sensitive tumor site/type/sex	TD ₅₀ (mg/kg/day)
Ref. 23	42-60/ group C3H Mouse	35- or 64- weeks, Inhalation	59	3: 50, 100, 200 mg/m ³	No tumors	NC
Ref. 24	40-54/sex / group B6C3F1 Mouse	2 years, Inhalation	50-62	3: 2, 5.6, 14.3 ppm M: 0.644, 1.93, 4.83 F: 0.686, 2.06, 5.15 mg/kg/day ^a	Nasal turbinates/ Squamous cell carcinoma/ Male	43.9 ^b
Ref. 24	73- 80/sex/ group F344 Rat	2 years, Inhalation	79	3: 2, 5.6, 14.3 ppm M: 0.129, 0.386, 0.965 F: 0.184, 0.552, 1.38 mg/kg/day ^a	Nasal turbinates/ Squamous cell carcinoma/ Male	0.798 ^b

Study	Animals/ dose group	Duration/ Exposure	Controls	Doses	Most sensitive tumor site/type/sex	TD₅₀ (mg/kg/day)
Ref. 25	100/ group Male Sprague Dawley Rat	Lifetime, Inhalation	99	1: 14.8 ppm 0.952 mg/kg/day ^a	Nasal mucosa / Squamous cell carcinoma/ Male	1.82 ^b
Ref. 26	45/group Male Wistar Rat	4, 8 or 13 weeks, Inhalation	134	2: 10, 20 ppm	Nasal cavity / Male	NC ^c
Ref. 27	30/group (Undama ged) Male Wistar Rat	3- or 28- months, Inhalation	30	3: 0.1, 1.0; 10 ppm	No tumors for undamaged animals ^d	NC
Ref. 28	15-16/ group Female Sprague Dawley Rat	24 months, Inhalation	16	1: 12.4 ppm	Nasal cavity/ One squamous cell carcinoma	NC
Ref. 29	47-97/ group Male F344 Rat	24 months, Inhalation	46	5: 0.7, 2, 6, 10, 15 ppm 0.045, 0.129, 0.386, 0.643, 0.965 mg/kg/day ^a	Nasal cavity /Squamous cell carcinoma/ Male	0.48 ^b
Ref. 30	20-22/ group Male F344 Rat	28 months, Inhalation	22	3: 0.3, 2, 15 ppm 0.0193, 0.129, 0.965 mg/kg/day ^a	Nasal cavity /Mixed tumor type/ Male	0.98 ^b
Ref. 31	88/ group Male Syrian Golden Hamster	Lifetime, Inhalation	132	1: 10 ppm	No tumors	NC
Ref. 32	70/sex/ group Wistar Rat	2 years, Drinking water	70	3: M: 1.2, 15, 82 F: 1.8, 21, 109 mg/kg/day	No tumors	NC

Study	Animals/ dose group	Duration/ Exposure	Controls	Doses	Most sensitive tumor site/type/sex	TD ₅₀ (mg/kg/day)
Ref. 33	50/sex/ group Sprague Dawley Rat	Lifetime, Drinking water	50	7: 10, 50, 100, 500, 1000, 1500, 2500 ppm M: 0.359, 1.79, 3.59, 17.9, 35.9, 53.8 F: 0.410, 2.05, 4.10, 20.5, 41.0, 61.5 mg/kg/day ^a	Lymphoblastic leukemia- lymphosarcoma / Male ^e	424 ^b
Ref. 34	20/sex/ group Wistar Rat	24 months, Drinking water	20	3: 10, 50, 300 mg/kg/day	No tumors	NC

NC – Not Calculated

^a mg/kg/day doses are taken from CPDB

^b TD₅₀ taken from the CPDB (Ref. 35)

^c Not calculated given the limited duration of dosing

^d After 28 months of exposure animals damaged by electrocoagulation experienced an increase in nasal cavity tumors

^e There were concerns about study design (pooling of lymphomas and leukemias diagnosed, lack of reporting of non-neoplastic lesions and historical control data, discrepancies of data between this study and Sofritti (Ref. 36) [second report of this study], and lack of statistical analysis) (Ref. 4, 6, 10).

発がん性の作用機序

ホルムアルデヒドは、げっ歯類の吸入経路について実施された試験においてのみ明確な発がん性を示した。鼻腔腫瘍が認められており、げっ歯類における接触部位への作用と考えられる。ホルムアルデヒドの吸入後に認められた鼻腫瘍は、直接的な遺伝毒性作用ではなく、組織の変性及び再生の連続サイクル（細胞致死性／再生細胞増殖）によるものであった（11）。DPXの形成は、おそらくホルムアルデヒドの細胞致死性に関係しているが、発がん性の誘導機序とはみなされない。ホルムアルデヒドの作用機序及びラット鼻腫瘍のヒトへの外挿性に関する最近のレビューでは、細胞毒性と再生細胞増殖の役割が再確認されている。また、DPXは曝露の優れたバイオマーカーであるが、内因性に組織に存在するレベルを超える濃度を除き、遺伝毒性作用に基づく発がんに意味のある寄与はしないことが示されている（37、38）。

規制上の限度値や公表された限度値

一般集団に対するホルムアルデヒドの経口曝露については、ATSDR、カナダ保健省、国際化学物質安全性計画（IPCS）、US EPAが、非発がんのエンドポイント（体重の増加抑制と消化管及び腎臓の組織学的変化）に基づいて、0.2 mg/kg/day又は体重50 kgのヒトに対して10 mg/dayの限度値を定めている（10、12、39、40）。ホルムアルデヒドの発がん性は吸入曝露に特有であるため、経口発がんリスクの推定値は存在しない。

職業曝露限度値は、NIOSH（REL TWA 0.016 ppm）、ACGIH（TWA 0.1 ppm）、DFG MAKs（TWA 0.3 ppm）、EU（BOEL 0.3 ppm）、OSHA（PEL TWA 0.75 ppm）が定めている。

一般集団に対する吸入曝露については、US EPA、IPCS 及びカナダ保健省が吸入発がんリスクを算出している（12、10、40）。US EPA は線形発がんモデルに基づいて限度値を定め、カナダ保健省及びIPCS は非線形及び線形発がんモデルを構築した。3機関すべての線形法を用いると、1日吸入量が16~32 µg/dayであれば、過剰発がんリスクが10万分の1となる。しかし、最近の科学的分析から、機序データを考慮したカナダ保健省とIPCSの非線形モデルの使用が支持されている（11、41-43）。Conollyら（11、41）は、ホルムアルデヒドの腫瘍原性の2つの作用機序（CRCPとDPX）についてげっ歯類の実験及びヒトデータを用いて非線形/線形機序ベースモデルを構築した。

吸入曝露に対する許容摂取量（AI）

AI算出のための試験選択の根拠

吸入 AI は Conolly ら（11）が構築した発がんモデルに基づいている。図 1 に喫煙者と非喫煙者の混合集団について Conolly らが構築したホッケースティック型用量反応モデルを示す。Conolly は代替モデルがない場合、ラットの CRCP/DPX の用量反応モデルをヒト予測モデルに用いた。クローン増殖モデルで予測した腫瘍リスクは、細胞動態に対する感受性が極端に高かったため、Conolly は、ホルムアルデヒド曝露に関連するヒトの発がんリスクを、未加工の J 型用量反応とラットデータのホッケースティック型変換の両方を用いて評価することにした。このモデルは、高用量領域では非線形ベースの機序（CRCP）を、低用量領域では線形の機序（DPX）を取り入れている。上記のように、DPX が突然変異を引き起こし、そのような突然変異から生じるがんの線形用量反応は、実験的に確認されていない。さらに、実験結果は、DPX が線形性をもって突然変異を引き起こしていないことを示唆している。したがって、低用量での線形用量反応モデルは、保守的かつ実用的なアプローチを反映しており、実験データによって示されたものではない。

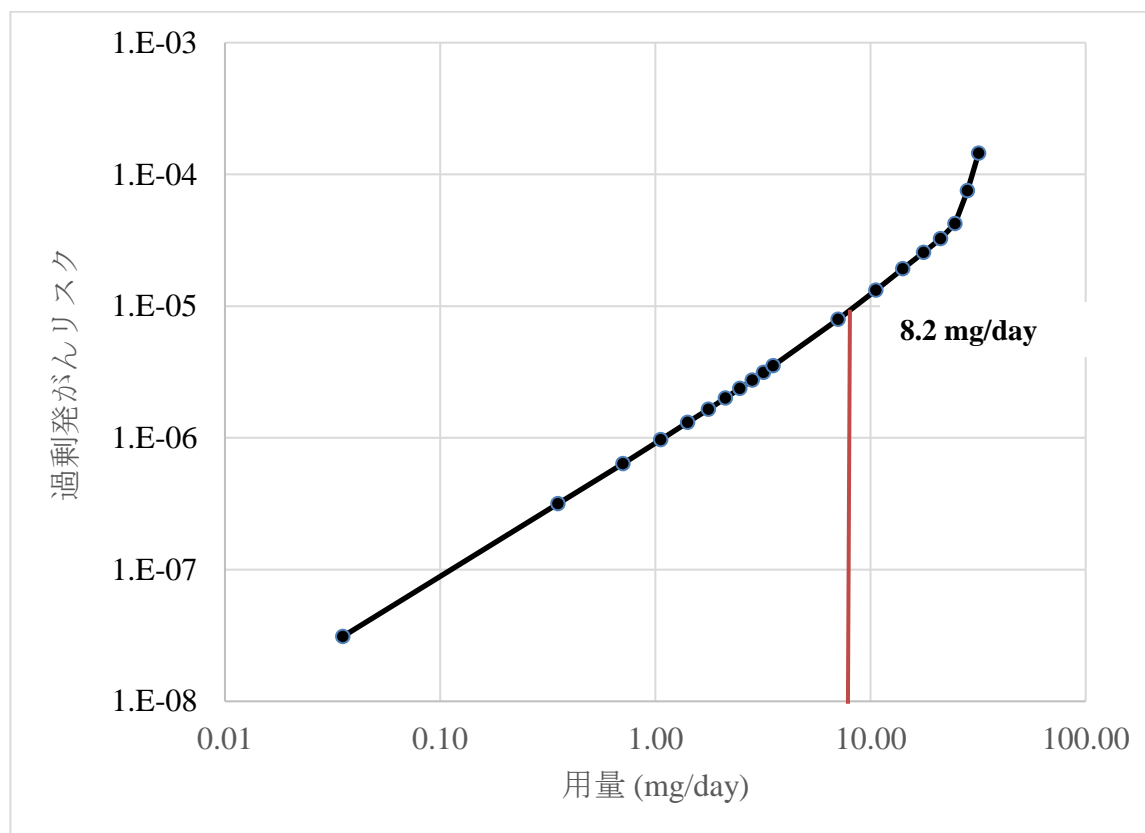


図 1、ホッケースティック型用量反応モデル（喫煙者と非喫煙者の混合集団）（11）。摂取量（mg/day）は、ICH Q3C で示されるヒトの推定呼吸量（28,800 L/day）を用いて、大気中濃度（ppm）を1日用量に換算した。

吸入 AI の算出

図 1 の線形の低用量領域を用いて、過剰発がんリスクが 10 万分の 1 となる摂取量を算出した。24.74 mg/day (0.7 ppm から換算) 以下となる低用量領域の線形回帰から、方程式 $y = 1.62E-06x - 3.27E-06$ が得られる。過剰発がんリスクの変曲点は、24.74 mg/day であると予測された。回帰直線 (y) における 10 万分の 1 の過剰発がんリスクの値を求めると、許容摂取量は 8.2 mg/day となる (10 万分の 1 の過剰発がんリスクに対する摂取当量は図 1 を参照)。

$$\text{リスク (y)} = 1.62E-06x(\text{用量}) - 3.27E-06$$

$$0.00001 = 1.62E-06x - 3.27E-06$$

$$x = (0.00001 + 3.27E-06) / 1.62E-06$$

$$\text{用量 (x)} = 8.2 \text{ mg/day}$$

生涯吸入 AI* = 8 mg/day 又は 215 ppb のうち、より低い量とする

濃度に基づく限度値の根拠

*ホルムアルデヒドは吸入曝露では変異原性発がん物質であると考えられる。許容摂取量である 8 mg/day は、曝露が 24 時間を超える場合の上限を示しており、過剰発がんリスクを 10 万人に 1 人に制限するため許容されると考えられる。本ガイドライン付録 3 の緒言に述べたように、「他の考慮すべき事項」が最終製品の規格に影響する可能性がある。ホルムアルデヒドは、局所刺激性及び感作性を引き起こすことが知られている。したがって、WHO は大気中の平均 30 分の限度値として 81.4 ppb (44)、カナダ保健省は平均 1 時間の短時間の曝露限度値として 100 ppb (45) を推奨している。これらの推奨値は、何らかの影響が観察される最低値との間に少なくとも 10 倍の曝露マージンを確保している。吸入曝露によるホルムアルデヒドの局所刺激性及び感作性の可能性から患者を保護するため、濃度に基づく限度値である 215 ppb が推奨される [24 時間を超える曝露での 8 mg/day は、濃度による限度値である 215 ppb と等しい ($(0.008 \text{ g/day} / 28.8 \text{ m}^3/\text{day}) * 1 / 1293 \text{ g/m}^3$)]。

$$(0.008 \text{ g/day} / 28.8 \text{ m}^3/\text{day}) * 1 / 1293 \text{ g/m}^3 = 215 \text{ ppb}$$

- ヒト呼吸量/day - 28.8 m³/day
- 標準状態での大気重量/m³ = 1293 g

215 ppb の限度値は、大気中のホルムアルデヒドの濃度 (曝露限度値の基準) として、又は原薬に対するホルムアルデヒドの濃度として解釈することができる。215 ppb の大気中限度値が、原薬又は製剤における限度値とどのように関連するかを明確にする例については、注 3 を参照。

他のすべての投与経路に対する許容 1 日曝露量 (PDE)

環境由来ホルムアルデヒドの曝露については本補遺の緒言 4 項を参照。

$$\text{PDE (他のすべての投与経路)} = 10 \text{ mg/day}$$

References

1. Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). SIDS Initial Assessment Report. Formaldehyde. 2002.
2. EFSA 2014. Scientific Report. Endogenous formaldehyde turnover in humans compared with exogenous contribution from food sources. EFSA Journal 2014;12(2):3550. Available online, <https://www.efsa.europa.eu/de/efsajournal/pub/3550>

3. Bingham E, Cohrssen B, Powell CH. *Patty's Toxicology Volumes 1-9* 5th ed. John Wiley & Sons. New York, N.Y. (2001) p. 5:981.
4. IARC (2006). Formaldehyde, 2-butoxyethanol and 1-tertbutoxypropan-2-ol. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 88:1-478. PMID:17366697.
5. Ma TH, Harris MM. Review of the genotoxicity of formaldehyde. *Mutat Res* 1988;196:37-59.
6. IARC. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Chemical agents and related occupations. Volume 100 F. 2012.
7. Committee for Risk Assessment. RAC Opinion proposing harmonised classification and labelling at EU level of Formaldehyde. <https://echa.europa.eu/documents/10162/b8dfa022-9544-72e8-dcaa-7491dff3c0>
8. World Health Organization (WHO). Background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality. 2005; WHO/SDE/WSH/05.08/48.
9. Scheuplein, R.J. Formaldehyde: The Food and Drug Administration's perspective. Chapter 16. in: Turoski, V (Ed.), *Formaldehyde: Analytical Chemistry and Toxicology*. American Chemical Society, Washington DC. 1985;210:237-45.
10. International Programme on Chemical Safety (IPCS) Concise International Chemical Assessment Document 40. Formaldehyde. 2002.
11. Conolly RB, Kimbell JS, et al. Human respiratory tract cancer risks of inhaled formaldehyde: dose-response predictions derived from biologically-motivated computational modeling of a combined rodent and human dataset. *Toxicol Sci* 2004;82:279-96.
12. United States Environmental Protection Agency (USEPA). Integrated Risk Information System (IRIS). Formaldehyde (CASRN 50-00-0) 1990.
13. National Toxicology Program. 2021. Formaldehyde CAS No. 50-00-0. Report on Carcinogens, Fifteenth Edition.; Research Triangle Park, NC: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
14. National Research Council. 2011. Review of the Environmental Protection Agency's Draft IRIS Assessment of Formaldehyde. Washington, DC: The National Academies Press, ISBN 978-0-309-21193-2.
15. Hauptmann M, Lubin JH, Stewart PA, Hayes RB, Blair A. Mortality from lymphohematopoietic malignancies among workers in formaldehyde industries. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:1615–1623.

16. Hauptmann M, Stewart PA, Lubin JH, Freeman LEB, Hornung RW, Herrick RF, Hoover RN, Fraumeni JF, Blair A, Hayes, RB. Mortality from lymphohematopoietic malignancies and brain cancer among embalmers exposed to formaldehyde. *J Natl Cancer Inst* 2009;101:1696–1708.
17. Albertini RJ, Kaden DA. Do chromosome changes in blood cells implicate formaldehyde as a leukemogen? *Crit Rev Toxicol* 2017;47:145-184.
18. Morgan DL, Dixon D, King DH, Travlos GS, Herbert RA, French JE, Tokar EJ, Waalkes MP, Jokinen MP. NTP Research Report on Absence of Formaldehyde-Induced Neoplasia in Trp53 Haploinsufficient Mice Exposed by Inhalation: Research Report 3. Durham (NC): National Toxicology Program; 2017. PMID: 30016014
19. Lu K, Collins LB, Ru H, Bermudez E, Swenberg JA. Distribution of DNA adducts caused by inhaled formaldehyde is consistent with induction of nasal carcinoma but not leukemia. *Toxicol Sci* 2010;116:441-451.
20. Edrissi B, Taghizadeh K, Moeller BC, Kracko D, Doyle-Eisele M, Swenberg JA, Dedon PC. Dosimetry of N⁶-formyllysine adducts following [¹³C²H₂]-formaldehyde exposures in rats. *Chem Res Toxicol* 2013;26:1421-1423.
21. Yu R, Lai Y, Hartwell HJ, Moeller BC, Doyle-Eisele M, Kracko D, Bodnar WM, Starr TB, Swenberg JA. Formation, accumulation, and hydrolysis of endogenous and exogenous formaldehyde-induced DNA damage. *Toxicol Sci* 2015;146:170-182.
22. Moeller BC, Lu K, Doyle-Eisele M, McDonald J, Gigliotti A, Swenberg JA. Determination of N2-hydroxymethyl-dG adducts in the nasal epithelium and bone marrow of non-human primates following ¹³CD2-formaldehyde inhalation exposure. *Chem Res Toxicol* 2011;24:162-164.
23. Horton AW, Tye R, Stemmer KL. Experimental carcinogenesis of the lung. Inhalation of gaseous formaldehyde or an aerosol of coal tar by C3H mice. *J Natl Cancer Inst* 1963;30:31-43.
24. Kerns WD, Pavkov KL, Donofrio DJ, Gralla EJ, Swenberg JA. Carcinogenicity of formaldehyde in rats and mice after long-term inhalation exposure. *Cancer Res* 1983;43:4382-4392.
25. Sellakumar AR, Snyder CA, Solomon JJ, Albert RE. Carcinogenicity of formaldehyde and hydrogen chloride in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1985;81:401-406.
26. Feron VJ, Bruyntjes JP, Woutersen RA, Immel HR, Appelman LM. Nasal tumours in rats after short-term exposure to a cytotoxic concentration of formaldehyde. *Cancer Lett* 1988;39:101-11.

27. Woutersen RA, van Garderen-Hoetmer A, Bruijntjes JP, Zwart A, Feron V J. Nasal tumours in rats after severe injury to the nasal mucosa and prolonged exposure to 10 ppm formaldehyde. *J Appl Toxicol* 1989;9:39-46.
28. Holmström M, Wilhelmsson B, Hellquist H. Histological changes in the nasal mucosa in rats after long-term exposure to formaldehyde and wood dust. *Acta Oto-laryngologica* 1989;108:274-283.
29. Monticello TM, Swenberg JA, Gross EA; Leininger JR, Kimbell JS, Seilkop S, Starr TB, Gibson JE, Morgan KT. Correlation of regional and nonlinear formaldehyde-induced nasal cancer with proliferating populations of cells. *Cancer Res* 1996;56:1012-1022.
30. Kamata E, Nakadate M, Uchida O, Ogawa Y, Suzuki S, Kaneko T, Saito M, Kurokawa Y. Results of a 28-month chronic inhalation toxicity study of formaldehyde in male Fisher-344 rats. *J Toxicol Sci* 1997;22:239-254.
31. Dalbey WE. Formaldehyde and tumors in hamster respiratory tract. *Toxicology* 1982;24:9-14.
32. Til HP, Woutersen R, Feron VJ, Hollanders VHM, Falke HE. Two-year drinking-water study of formaldehyde in rats. *Fd Chem Toxic* 1989;27:77-87.
33. Soffritti M, Maltoni C, Maffei F, Biagi R. Formaldehyde: an experimental multipotential carcinogen. *Toxicol Ind Health* 1989;5:699-730.
34. Tobe M, Naito K, Kurokawa Y. Chronic toxicity study on formaldehyde administered orally to rats. *Toxicology* 1989;56:79-86.
35. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>
36. Soffritti M, Belpoggi F, et al. Results of long-term experimental studies on the carcinogenicity of formaldehyde and acetaldehyde in rats. *Ann N Y Acad Sci* 2002;982:87–105.
37. Thompson CM, Gentry R, Fitch S, Lu K, Clewell HJ. An updated mode of action and human relevance framework evaluation for Formaldehyde-Related nasal tumors, *Critical Reviews in Toxicology* 2020;50:919-952.
38. SCOEL/REC/125 Formaldehyde Recommendation from the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits, 2016. <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/7a7ae0c9-c03d-11e6-a6db-01aa75ed71a1/language-en>
39. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological Profile for Formaldehyde. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. 1999; Available from: URL: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=220&tid=39>

40. Health Canada. Priority substances list assessment report: Formaldehyde. Ottawa. Ministry of Public Works and Government Services. 2001; Available from: URL: http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/contaminants/psl2-lsp2/index_e.html
41. Conolly RB, Kimbell JS, Janszen D, Schlosser, PM, Kalisak D, Preston J, Miller FJ. Biologically motivated computational modeling of formaldehyde carcinogenicity in the F344 rat. *Toxicol Sci* 2003;75:432-447.
42. Starr TB, Swenberg JA. A novel bottom-up approach to bounding low-dose human cancer risks from chemical exposures. *Regul Toxicol Pharmacol* 2013;65:311-315.
43. Swenberg JA, Moeller BC, Lu K, Rager JE, Fry RC, Starr TB. Formaldehyde carcinogenicity research: 30 years and counting for mode of action, epidemiology, and cancer risk assessment. *Toxicol Pathol* 2013;41:181-189.
44. World Health Organization (WHO). WHO Guidelines for Indoor Air Quality: Selected Pollutants. 3 Formaldehyde. 2010. Available from: URL: https://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0009/128169/e94535.pdf
45. Formaldehyde in your home. Available from: URL: <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/environmental-workplace-health/reports-publications/air-quality/formaldehyde-indoor-air-environment-workplace-health.html>.

グリシドール (CAS# 556-52-5)

ヒトへの曝露の可能性

グリセロールや砂糖の加熱はグリシドール形成を引き起こす。グリシドールは3-モノクロロプロパン-1, 2-ジオールの代謝産物であり、これは醤油や植物タンパク質加水分解物などの多くの食品や食品添加物に含まれているクロロプロパノールである。食品中のグリシドールの仮定上の1日曝露量は20~80 µg/dayと概算されている (1)。

変異原性/遺伝毒性

グリシドールは *in vitro* 及び *in vivo* で変異原性及び遺伝毒性がある。

グリシドールの変異原性/遺伝毒性データを IARC (2) 及び CCRIS (3) が概説しており、ここに主要な結論を纏める。

グリシドールは以下において変異原性を示す：

ラット肝 S9 代謝活性化系の有無を問わず、標準的なプレート法及びプレインキュベーション法における、*Salmonella* 株 TA100、TA1535、TA98、TA97 及び TA1537 での細菌を用いた復帰突然変異試験試験 (Ames)。

ラット肝S9の有無を問わず、プレインキュベーション試験での*Escherichia coli*株WP2uvrA/pKM101。

*in vivo*では、雌雄P16Ink4a/p19Arfハプロ不全マウスでの強制経口投与によるマウス小核試験で、グリシドールは陽性であった。

発がん性

IARC により、グリシドールはグループ 2A、ヒトに対して発がん性がある可能性が高いと分類されている (2)。

NTP の試験 (4、5) では、グリシドールを水に溶解して、雌雄 F344/N ラット及び雌雄 B6C3F1 マウスの群へ強制経口投与した。ラットには 1 日 0、37.5、75 mg/kg、マウスには 1 日 0、25、50 mg/kg を、週 5 日で 2 年間投与した。平均 1 日投与量は、週 5 日の投与スケジュールであったことを考慮して投与量に 5/7 を掛け、一生涯より短い投与期間であったことを考慮して 103/104 を掛けて計算した。その結果得られた平均 1 日投与量は、雌雄ラットでは 0、26.5、53.1 mg/kg/day、雌雄マウスでは 0、17.7、35.4 mg/kg/day だった。

グリシドールへの曝露は、ラット及びマウスのさまざまな組織 (ラットでは雌の乳腺腫瘍、マウスではハーダー腺) において、用量に関連した腫瘍の発生率上昇と関連していた。腫瘍性疾患が早期に誘発されたため、投与群のラット及びマウスの生存率は対照群と比較して著しく低下した。

ハムスターでの強制経口投与試験は、小さいグループサイズ、単回投与での曝露量、短い投与期間のために頑健性が低かった。NTPがさらにグリシドールを用いた強制経口投与慢性試験を、2つの癌抑制遺伝子が欠損した遺伝子組換えマウス (すなわち、ハプロ不全のp16Ink4a/p19Arfマウス) を用いて実施した (6)。雄では発がん作用を示す明らかな証拠 (組織球性肉腫及び肺胞・細気管支腺腫の発生に基づく) が、雌マウスでは発がん作用を示すある程度の証拠 (肺胞・細気管支腺腫の発生に基づく) が存在するが、試験期間が短いこと、投与群あたりの使用動物数が少ないこと、遺伝子組換え動物で観察された用量反応関係が標準的な長期発がん性バイオアッセイで観察された用量反応関係とどの程度一致するかに関する理解が限られていることから、これらの試験は2年間のバイオアッセイ (5) よりも用量反応の評価に適していないと考えられる (7)。

Glycidol – Details of carcinogenicity studies

Study	Animals/	Duration/ Exposure	Control s	Doses	Most sensitive tumor	TD ₅₀
-------	----------	-----------------------	--------------	-------	-------------------------	------------------

	dose group				site/sex	(mg/kg/d)
Ref. 5 ^a	50/sex/ group F344/N rats	2 years 5 days/wk Oral gavage	50	2 : 26.5; 53.8 mg/kg/d	Mammary gland /Female	4.15
Ref. 5	50/sex/ group B6C3F1 mice	2 years 5 days/wk Oral gavage	50	2: 17.7; 35.4 mg/kg/d	Harderian gland /Female	32.9
Ref. 8	12-20/sex/ group Syrian Golden Hamsters	60 weeks Twice/wk Gavage	Yes	1: M: 15.8 F: 17.9 mg/kg/d	Spleen/Female	56.1 ^c
Ref. 9 (^b Cited in Ref. 2)	20 ICR/Ha Swiss mice	520 days 3 times/wk Skin Painting	Yes	1: 5%	No Tumors	NA ^c

Studies listed are in CPDB (Ref. 10) unless otherwise noted.

^a Carcinogenicity study selected for AI calculation.

^b Not in CPDB.

NA= Not applicable.

^c Not a standard carcinogenicity design. Only one dose, intermittent dosing, and small sample size (Ref. 7).

発がん性の作用機序

グリシドールは変異原性発がん物質であり、許容摂取量は TD₅₀ からの直線外挿により算出される。

規制上の限度値や公表された限度値

例えば US EPA、WHO 又は ATSDR により、規制上の限度値は公表されていない。

許容摂取量 (AI)

AI算出のための試験選択の根拠：

ヒトの発がんの可能性に関する評価に最適な発がん性データは、NTPがF344/Nラット及びB6C3F1マウスで実施した2年間の経口投与試験に由来する (5)。最も感受性の高い臓器部位は雌の乳腺であり、TD₅₀は4.15 mg/kg/dayだった。

AIの算出

生涯 AI = TD₅₀/50,000 × 50 kg

生涯 AI = 4.15 (mg/kg/day)/50,000 × 50 kg

生涯 AI = 4 µg/day

References

1. Bakhiya N, Abraham K, Gürtler R, Appel KE, Lampen A. Toxicological assessment of 3-chloropropane-1,2-diol and glycidol fatty acid esters in food. Mol Nutr Food Res 2011;55:509-21.

2. IARC. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Man. Geneva: International Agency for Research on Cancer, World Health Organization. [Online]. 1972-PRESENT. (Multivolume work). 2000;77:469; Available from: URL: <http://monographs.iarc.fr/index.php>.
3. CCRIS. Chemical Carcinogenesis Research Information System. National Library of Medicine. [Online]. 2013. Available from: URL: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pcsubstance?term=%22Chemical%20Carcinogenesis%20Research%20Information%20System%20\(CCRIS\)%22%5BSourceName%5D%20AND%20hasnohold%5Bfilt%5D](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pcsubstance?term=%22Chemical%20Carcinogenesis%20Research%20Information%20System%20(CCRIS)%22%5BSourceName%5D%20AND%20hasnohold%5Bfilt%5D) and search on CAS number.
4. Irwin RD, Eustis SL, Stefanski S, Haseman JK. Carcinogenicity of Glycidol in F344 rats and B6C3F1 mice. *J Appl Toxicol* 1996;16 (3):201-9.
5. NTP. Technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of glycidol (CAS No. 556-52-5) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Gavage Studies). National Toxicology Program, Research Triangle Park, NC. 1990. NTP TR 374.
6. NTP. Toxicology and Carcinogenesis Studies of Glycidol (CAS No. 556-52-5) in genetically modified haploinsufficient p16 (Ink4a)/p19 (Arf) mice (gavage study). *Natl Toxicol Program Genet Modif Model Rep* 2007;13:1-81.
7. California Environmental Protection Agency (CalEPA). No Significant Risk Level (NSRL) for the Proposition 65 carcinogen Glycidol. [Online]. 2010. Available from: URL: <https://oehha.ca.gov/media/downloads/proposition-65/chemicals/glycidolnsrl073010.pdf>
8. Lijinsky W, Kovatch RM. A study of the carcinogenicity of glycidol in Syrian hamsters. *Toxicol Ind Health* 1992;8(5):267-71.
9. Van Duuren BL, Langseth L, Goldschmidt BM, Orris L. Carcinogenicity of epoxides, lactones, and peroxy compounds. VI. Structure and carcinogenic activity. *J Natl Cancer Inst* 1967;39:1217-28.
10. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>

ヒドラジン (CAS# 302-01-2)

ヒトへの曝露の可能性

ヒドラジンは、医薬品、農薬及び発泡プラスチックの合成に使用されている (1)。硫酸ヒドラジンは、結核、鎌状赤血球貧血、その他の慢性疾患の治療に使用されている (2)。ヒドラジンやその誘導体の自然発生に関する情報は限られている (3)。ヒトは水や空気、土壌の環境汚染によりヒドラジンに曝露されるおそれがあるが (1)、主なヒトへの曝露源は労働現場である (4)。タバコ製品やタバコの煙においても少量のヒドラジンの発生が報告されている (1、5)。

変異原性／遺伝毒性

ヒドラジンは*in vitro*及び*in vivo*で変異原性及び遺伝毒性がある。ヒドラジンの変異原性はIARCにおいて概説されている (6)。主要な結果を次に示す。

ヒドラジンは下記の条件で変異原性を示す：

代謝活性化系の存在下及び非存在下の*Salmonella typhimurium*株のTA1535、TA102、TA98及びTA100、並びに*Escherichia coli*株のWP2uvrAを用いた細菌を用いる復帰突然変異試験 (Ames) *tk*及び*hprt*遺伝子を対象とした*in vitro*マウスリンフォーマL5178Y細胞

*in vivo*では、マウス骨髄において染色体異常を誘発しなかったが、小核を誘発した (6)。 *in vivo*の幾つかの組織においてDNA付加体が報告されている。

発がん性

ヒドラジンは、IARCによりグループ 2B、すなわちヒトに対しておそらく発がん性があると分類されており (6)、US EPAによりグループ B2、すなわちヒトへの発がん物質である可能性が高いと分類されている (7)。

CPDB (8) ではヒドラジンを用いたがん原性試験が7試験引用されており、投与期間が1年の試験を含めて3試験が吸入、3試験が飲水、1試験が強制経口投与によるものである。原文の著者によれば、これら7試験のうち5試験でヒドラジンは発がん性が陽性と判断された。

げっ歯類において、ヒドラジンの経口投与による発がん性の主な標的臓器は肝臓及び肺である。群数及び投与量に基づくと最も頑健な経口投与試験は、文献 9 及び 10 において報告された。最も頑健な吸入投与試験の中で、TD₅₀の最小値を示す試験は、文献 11 において報告された。げっ歯類において、ヒドラジンの吸入投与による発がん性に対し最も感受性の高い標的は、鼻腔や肺のような最初の接触部位である。

CPDB 内の実施された硫酸ヒドラジンの試験 (8) は、1群当たり動物数が50匹未満 (かつ、ある事例では投与量が1用量だけ) であり、またそれらの試験で算出されたTD₅₀は、飲水投与試験 (9) の値より高かった (発がん性が弱かった) ため、ここには示していない。2つの飲水投与試験 (9、10) の結果の間に類似性があることを考慮し、より高用量でより最近に実施された試験 (10) を、AI計算のための非吸入試験として選択した。

Hydrazine – Details of carcinogenicity studies

Study	Animals/ dose group	Duration/ Exposure	Controls	Doses	Most sensitive tumor site/type/sex	TD ₅₀ (mg/kg/d)
Ref. 9	50/sex/ group Wistar rats	Lifetime Drinking water	50	3: M: 0.1; 1.5, 2.5. F: 0.11, 0.57, 2.86 mg/kg/d	Liver/Female	41.6
Ref. 11 ^a	100/sex/ group F344 rats	1 year with 18 mo observatio n Inhalation	150	4: M:1.37, 6.87, 27.5, 137 F: 1.96, 9.81, 39.3, 196 µg/ /kg/d	Nasal adenomatous polyps/Male	0.194
Ref. 12	50/sex/ group Bor:NMR I, SPF- bred NMRI mice	2 year Drinking water	50	3: M: 0.33, 1.67, 8.33. F: 0.4, 2.0, 10.0 mg/kg/d	Negative	NA, negative study
Ref. 11	200 male Golden Syrian hamsters	1 year with 12 mo observatio n Inhalation	Yes	3: 0.02, 0.08, 0.41 mg/kg/d	Nasal adenomatous polyps/Male	4.16
Ref. 11	400 female C57BL/6 Mice	1 year with 15 mo observatio n Inhalation	Yes	1: 0.18 mg/kg/d	Negative	NA
Ref. 13	50/sex/ group Swiss mice	Lifetime Drinking water	Not concurr ent	1: ~1.7-2 mg/kg/d	Lung/Male	2.20 ^c
Ref. 14	25 female Swiss mice	40 weeks 5 d/wk Gavage	85 Untreated	1: ~5 mg/kg/d	Lung/Female	5.67 ^d
Ref. 10 ^{be}	50/sex/ F344/DuC rj rats	Lifetime Drinking water	Yes	3: M: 0.97, 1.84, 3.86 F:1.28, 2.50, 5.35 mg/kg/d	Liver/Female	38.7

Ref. 10 ^e	50/sex Crj:BDF1 mice	Lifetime Drinking water		3: M: 1.44, 2.65, 4.93 F: 3.54, 6.80, 11.45 mg/kg/d	Liver/Female	52.4
----------------------	----------------------------	-------------------------------	--	---	--------------	------

Studies listed are in CPDB (Ref. 8).

^a Carcinogenicity study selected for inhalation AI calculation.

^b Carcinogenicity study selected for non-inhalation TD₅₀ (see Note 4) and AI calculations.

NA= Not applicable.

^c Excluded by US EPA (Ref. 7); no concurrent controls. Liver negative.

^d Animal survival affected. Liver negative.

^e Not in CPDB

発がん性の作用機序

不明。 *in vivo* で DNA 付加体が検出されたが (15、16、17、18、19、20)、腫瘍形成には至らない組織において報告されており、DNA 付加体が発がん性に貢献するかは明らかになっていない。

規制上の限度値や公表された限度値

US EPA (7) は、mg/kg/day あたりの経口スロープファクターを 3.0、 $\mu\text{g/L}$ 当たりの飲水ユニットリスクを 8.5×10^{-5} と公表している。10 万分の 1 のリスクレベルの場合、これは水中での $0.1 \mu\text{g/L}$ の濃度のヒドラジン、あるいは体重 50 kg のヒトに対する $0.2 \mu\text{g/day}$ 程度に等しい。この限度値は、硫酸ヒドラジンを複数用量の強制経口投与試験 (21) における肝細胞癌の所見から多段階で直線外挿した結果に基づいている。この試験ではマウスに 25 週間ヒドラジン硫酸を投与した後、生涯観察された (7)。追加で試験が特定され、経口スロープファクターが計算された後に公表された (9、10、17、22)。これら試験により経口スロープファクターに変更が生じる可能性があるが、US EPA による再評価は行なわれていない。

US EPA (7) はまた、mg/kg/day あたりの吸入スロープファクターを 17、 $\mu\text{g/m}^3$ 当たりの吸入ユニットリスクを 4.9×10^{-3} と公表している。10 万分の 1 のリスクレベルでは、これは $2 \times 10^{-3} \mu\text{g/m}^3$ という大気中ヒドラジン濃度、あるいはヒトの呼吸量を $20 \text{ m}^3/\text{day}$ と仮定した場合の $0.04 \mu\text{g/day}$ に等しい。この限度値は、複数用量の吸入試験における雄ラットの鼻腔腺腫又は鼻腔腺癌の所見から多段階で直線外挿した結果に基づいている。この試験ではヒドラジンを 1 日 6 時間で週 5 日、1 年間投与した後に 18 カ月間の観察期間が設けられた (7 で引用)。この試験のデータについては、US EPA の評価概要にしかアクセスできないが、Vernot ら (11) の結果と、同一とはいえないまでも、極めて類似していると思われる。

許容摂取量 (AI)

AI を計算するための試験選択の根拠

ヒドラジンの経口投与及び吸入投与によるがん原性試験が評価され、吸入曝露に個別の限度値が必要か否かを判断した。吸入試験では最初の接触部位により強度の発がん性がみられることを考慮し、吸入曝露については個別の AI が適切と判断した。

ヒドラジンの経口投与については、マウスの 4 試験及びラットの 2 試験で発がん性が報告されている。最も感受性が高かった経口試験は雌ラットにおける肝細胞の腺腫と肝臓がんであった (10)。

吸入医薬品の AI を算出するために最も信頼性が高いがん原性試験を選択する際は、US EPA がヒドラジンの吸入曝露による限度値の算出に用いたすべての吸入がん原性試験を考慮した。US EPA が用いた MacEwen らによる重要な試験 (7) を閲覧できなかったが、Vernot ら (11) とおそらく同一のデータと予想される。TTC は、数百の発がん物質の TD₅₀ 値からの直線外挿で算出されていることから、ヒドラジンの AI の算出にも同一のアプローチを用いた。US EPA が用いた方法論及び

ここで用いた方法はいずれも本質的に極めて保守的な方法である。ただし、方法論に違いがあることを考慮すると、わずかな違いがあると予想するのが妥当である。雌雄ラットにヒドラジンを1年間吸入投与し、18カ月間の観察期間を設けた試験(11)から算出したTD₅₀に基づいてAIが計算された。1年間試験はがん原性試験としては標準的なデザインではなかったが、発がん性陽性結果が認められたことから、発がん性の機会を見逃さなかったと考えられる。最も感受性が高かった標的組織は雄の鼻腔であり、TD₅₀値は、2年間の曝露に対して1年間の曝露であることを考慮する通常の方法で調整し、0.194 mg/kg/dayとした。

AIの算出

生涯 AI = TD₅₀/50,000 × 50 kg

生涯 AI = 38.7 (mg/kg/day) /50,000 × 50 kg

生涯 AI = 39 µg/day

吸入 AI の算出

生涯 AI = TD₅₀/50,000 × 50 kg

生涯吸入 AI = 0.194 (mg/kg/day)/50,000 × 50 kg

生涯吸入 AI = 0.2 µg/day

References

1. Choudary G, Hansen H. Human health perspective on environmental exposure to hydrazines: A review. *Chemosphere* 1998;37:801-43.
2. Von Burg R, Stout T. Hydrazine. *J Appl Toxicol* 1991;11:447-450.
3. Toth B. A review of the natural occurrence, synthetic production and use of carcinogenic hydrazines and related chemicals. *In vivo*. 2000;14(2):299-319.
4. Hazardous Substance Database (HSDB): Hydrazine (302-01-2); [Online]. 2005 June 24 [cited 2013 February 27]; Available from: URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/9321>
5. Liu YY, Schmeltz I, Hoffman D. Chemical studies on tobacco smoke. Quantitative analysis of hydrazine in tobacco and cigarette smoke. *Anal Chem* 1974;46:885-9.
6. IARC. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Man. Geneva. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, [Online] 1972-PRESENT. (Multivolume work). 1999; Available from: URL: <http://monographs.iarc.fr/index.php> p. V71 1006.
7. U.S. Environmental Protection Agency. Hydrazine/Hydrazine sulfate (302-01-2). Integrated Risk Information System (IRIS). [Online]. 1991. Available from: URL: https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/subst/0352_summary.pdf

8. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>
9. Steinhoff D, Mohr U. The question of carcinogenic effects of hydrazine. *Exp Pathol* 1988;33:133-40.
10. Matsumoto M, Kano H, Suzuki M, Katagiri T, Umeda Y, Fukushima S. Carcinogenicity and chronic toxicity of hydrazine monohydrate in rats and mice by two-year drinking water treatment. *Regul Toxicol Pharmacol* 2016;76:63-73.
11. Vernot EH, MacEwen JD, Bruner RH, Haun CC, Kinkead ER, Prentice DE, et al. Long-term inhalation toxicity of hydrazine. *Fundam Appl Toxicol* 1985;5:1050-64.
12. Steinhoff D, Mohr U, Schmidt WM. On the question of the carcinogenic action of hydrazine -evaluation on the basis of new experimental results. *Exp Pathol* 1990;39:1-9.
13. Toth B. Hydrazine, methylhydrazine and methylhydrazine sulfate carcinogenesis in Swiss mice. Failure of ammonium hydroxide to interfere in the development of tumors. *Int J Cancer* 1972;9:109-18.
14. Roe FJC, Grant GA, Millican DM. Carcinogenicity of hydrazine and 1,1-dimethylhydrazine for mouse lung. *Nature* 1967;216:375-6.
15. Becker RA, Barrows LR, Shank RC. Methylation of liver DNA guanine in hydrazine hepatotoxicity: dose-response and kinetic characteristics of 7-methylguanine and O⁶-methylguanine formation and persistence in rats. *Carcinogenesis* 1981;2(11):1181-8.
16. Bosan WS, Shank RC. Methylation of liver DNA guanine in hamsters given hydrazine. *Toxicol Appl Pharmacol* 1983;70:324-34.
17. Bosan WS, Shank RC, MacEwen JD, Gaworski CL, Newberne PM. Methylation of DNA guanine during the course of induction of liver cancer in hamsters by hydrazine or dimethylnitrosamine. *Carcinogenesis* 1987;8(3):439-44.
18. Saffhill R, Fida S, Bromley M, O'Connor PJ. Promutagenic alkyl lesions are induced in the tissue DNA of animals treated with isoniazid. *Human Toxicol* 1988;7:311-7.
19. Leakakos K, Shank RC. Hydrazine genotoxicity in the neonatal rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994;126:295-300.
20. Mathison B, Murphy SE, Shank RC. Hydralazine and other hydrazine derivatives and the formation of DNA adducts. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994;127 (1):91-8.
21. Biancifiori, C. Hepatomas in CBA/Cb/Se mice and liver lesions in golden hamsters induced by hydrazine sulfate. *J Natl Cancer Inst* 1970;44:943.

22. FitzGerald BE, Shank RC. Methylation status of DNA cytosine during the course of induction of liver cancer in hamsters by hydrazine sulphate. *Carcinogenesis* 1996;17(12):2703-9.

過酸化水素 (CAS# 7722-84-1)

ヒトへの曝露の可能性

過酸化水素は緑茶やインスタントコーヒー、新鮮な果実や野菜に存在し、体内でも自然に産生される (1)。1日につき6.8 gが内在的に産生されると推定されている (2)。その他の一般的な曝露源は、消毒薬、一部の局所ご瘡用クリーム製剤、口腔ケア製品 (過酸化水素を4%まで含有してよい) がある (2)。

変異原性/遺伝毒性

過酸化水素は*in vitro*では変異原性及び遺伝毒性を示すが、*in vivo*ではこれらを示さない。

IARC (3) 及びEuropean Commission Joint Research Centre (4) が過酸化水素の変異原性データを評価しており、ここに主要な所見を纏める。

過酸化水素は以下において変異原性を示す：

外因性代謝活性化系の非存在下での *Sallmonela typhimurium* 株 TA96、TA97、SB1106p、SB1106 及び SB1111、並びに *Escherichia coli* WP2

L5178Y マウスリンフォーマ細胞の垂株の *hprt* 遺伝子座

チャイニーズハムスターV79 細胞の *hprt* 遺伝子座 (6 試験中 1 試験のみ)

in vivo で過酸化水素をマウスに1000 mg/kgまで腹腔内投与した試験、又はカタラーゼ欠損 C57BL/6NCr1BRマウスに200、1000、3000、6000 ppmで2週間飲水投与した試験では、小核は誘発されなかった。

発がん性

IARC により、過酸化水素はグループ 3、すなわち、ヒトに対する発がん性について分類することができないとされている (3)。

過酸化水素を 0.1 又は 0.4%の濃度でマウスに約 2 年間飲水投与した 1 つのがん原性試験 (5) のみが CPDB で引用されている (6)。この試験には 1 群につき約 50 匹の 2 つの投与群が含まれていた。このマウスがん原性試験では十二指腸の腫瘍の統計学的有意な増加 ($p<0.005$) を両投与群で認めたが (5)、CPDB では雌の高用量群における十二指腸腫瘍のみ有意であると記述している (6)。したがって、飲水投与した 0.1%の過酸化水素を最小毒性量 (LOAEL) と定め、これは体重 1 kg 当たりの平均 1 日量 167 mg/kg/day に相当する。

投与期間が 6 カ月以上の試験を下表に要約している (2 から改変)。これらの試験では動物数が限定され、単一の用量が用いられた。ほとんどの試験は CPDB の TD₅₀ の算出に用いるための基準を満たしていない。DeSesso ら (2) は、14 のがん原性試験 (マウス皮下投与、2 試験；マウス経皮投与、2 試験；飲水投与、6 試験 (ラット 2 試験及びマウス 4 試験)；ハムスター経口投与、1 試験；頬袋投与、3 試験) のうち、マウス飲水投与の 3 試験 (5、8、9) でのみ過酸化水素で (近位十二指腸の) 腫瘍発生の増加を示したことを述べている。これらのマウスがん原性試験の結果は、米国食品医薬品局 (FDA) のがん評価委員会 (Cancer Assessment Committee : CAC) によって詳細に評価された。結論は、これらの試験は過酸化水素が発がん物質であるという十分な証拠を示さなかった、というものであった (10)。

欧州では、消費者製品に関する科学専門委員会 (Scientific Committee on Consumer Products) が入手可能な過酸化水素のデータを評価した結果、過酸化水素は変異原性物質の定義には合致しないと結論された (11)。また、委員会は、弱い局所発がん性の作用機序は不明であるが、遺伝毒性機序は排除できないと述べている (11)。一方、DeSesso ら (2) は、希釈された過酸化水素は標的部 (十二指腸) に到達する前に分解し、認めた過形成病変は、過酸化水素の飲水曝露でよく認められる、飲水量減少に伴うフードペレットからの刺激が原因だったと示唆した。直接的な作用

が認められないことは、過酸化水素が直接曝露される組織（口腔、食道及び胃）に腫瘍が認められないことや、過酸化水素を胃挿管（飲水量に影響しない）により投与したハムスターの6カ月までの試験で、胃及び十二指腸上皮が正常にみえたとの結果から裏付けられ、このことは、米国FDAが上記のとおり結論付けた根拠であった（10）。

Hydrogen Peroxide – Details of oral carcinogenicity studies

Study	Animals/ dose group	Duration/ Exposure	Control s	Doses	Notes
Ref. 5 ^a	48-51/sex/ group C57BL/6J mice	100 weeks Drinking water	Yes	2; 0.1; 0.4% M: 167; 667 F: 200; 800 mg/kg/d	TD ₅₀ of 7.54 g/kg/d for female duodenal carcinoma
Ref. 7	29 mice C57BL/6J total male & female (additional groups sampled at intervals from 7 to 630 days of treatment; or 10 – 30 days after cessation of treatment at 140 days)	700 days Drinking water	No	1: 0.4%	No tumors reported. Time- dependent induction of erosions and nodules in stomach and nodules and plaques in duodenum. After a recovery period following 140 days of H ₂ O ₂ treatment, by 10 to 30 days without treatment there were fewer mice with lesions.
Ref. 8	18 C3H/HeN mice total male & female	6 mo Drinking water	No	1: 0.4%	2 mice with duodenal tumors (11.1%)
Ref. 8	22 B6C3F1 mice total male & female	6 mo Drinking water	No	1: 0.4%	7 mice with duodenal tumors (31.8%)
Ref. 8	21 C57BL/6N ^ε mice total male & female	7 mo Drinking water	No	1: 0.4%	21 mice with duodenal tumors (100%)
Ref. 8	24 C3H/Cb/s ^ε mice total male & female	6 mo Drinking water	No	0.4% only	22 mice with duodenal tumors (91.7%)
Ref. 9	21 female C3H/HeN mice	6 mo Drinking water	11	1: 0.4%	2 mice with duodenal tumors (9.5%). None in controls

Study	Animals/ dose group	Duration/ Exposure	Control s	Doses	Notes
Ref. 9	22 female B6C3F1 Mice	6 mo Drinking water	12	1: 0.4%	7 mice with duodenal tumors (31.8%) None in controls
Ref. 9	24 female C3Hc/s ^e mice	6 mo Drinking water	28	1: 0.4%	22 mice with duodenal tumors (91.7%). None in controls
Ref. 12	3 male rats	21 weeks Drinking water	3	1: 1.5%	No tumorigenic effect observed
Ref. 13	Males and female rats (50/sex/group)	2 years Drinking water	Yes	2: 0.3% 0.6%	No tumorigenic effect observed
Ref. 14	Hamsters, sex not reported (20/group)	15 weeks and 6 mo Oral gavage (5 d/wk)	Yes	1: 70 mg/kg/d	No tumorigenic effect observed

^a Their studies are not in the CPDB but are summarized in Ref. 2

^e Catalase deficient

発がん性の作用機序

過酸化水素は通常細胞代謝の一環として生成される活性酸素種 (ROS) の一つである (4)。過酸化水素の毒性は、ROSの産生及びそれに続く酸化損傷により、細胞毒性、DNA鎖切断及び遺伝毒性が発生することによる (15)。ROSの体内産生は回避不能であるため、体はカタラーゼ、スーパーオキシドジスムターゼ及びグルタチオンペルオキシダーゼを含む防御機構を進化させ、ROSの量を制限している。

酸化ストレスは体の自然な抗酸化防御機構の限度を超えた場合に発生し、DNA、タンパク質、脂質などの高分子へ損傷を引き起こす。また、ROSは抗酸化酵素を不活化し、さらに損傷作用が増強される (16)。ミトコンドリア呼吸では、酸素は一電子移動を受け、スーパーオキシドアニオンラジカルとなる。この分子の反応性は限られているが、スーパーオキシドジスムターゼという酵素により過酸化水素に変換される。次に過酸化水素はカタラーゼとグルタチオンペルオキシダーゼにより、水と酸素に還元される (17)。ただし、鉄や銅のような遷移金属の存在下では、過酸化水素は極めて反応性が高いヒドロキシラジカルまでさらに還元される。これらは細胞成分と反応するまで分子直径の1~2倍を超えて拡散しないほど反応性が高い (16)。したがって、DNAを酸化するにはDNAに隣接して生成される必要がある。抗酸化物質はヒドロキシラジカルを水へ還元する電子を供給することで、ヒドロキシラジカルの反応性を抑制する。*in vitro*試験系では、酸化的損傷から保護する抗酸化物質及びその他の細胞防御が明らかに制限されている。その結果、細菌株や哺乳類細胞株では、過酸化水素による処置がこれらの防御機構を容易に上回り、細胞毒性や遺伝毒性を誘発する。例えばカタラーゼのような過酸化水素分解酵素の導入や遷移金属レベルの調整など、体内で機能している防御機構の構成因子の導入により、*in vitro*試験の反応が減少することが立証されている (11)。当然ながら、細胞の防御機構が損なわれていない*in vivo*の場合、過酸化水素は短期曝露後に遺伝毒性を示さない。このことは、閾値が存在し、その値未満であれば細胞の防御機構がROSを制御し、恒常性を維持できることを示唆している。

欧州委員会 (EC、4) の包括的リスク評価に基づき、証拠の重みから、過酸化水素は防御機構を大きく上回る場合に *in vitro* で変異原性であると示唆される。しかし、*in vivo* の標準的試験では遺伝毒性がない。作用機序は非線形で閾値を有する。

規制上の限度値や公表された限度値

欧州化粧品規則（European Cosmetic Regulation）の Annex III（18）が、口腔衛生及び歯のホワイトニング製品に関する過酸化水素の許容レベルを定めた。口腔洗浄剤、練り歯みがき、歯のホワイトニング製品や漂白製品を含む、店頭販売される口腔製品について、（既存製品又は発売製品で許可されている過酸化水素の濃度は最大 0.1% である。歯科医が 18 歳以上の者に処方する製品であれば、より濃度の高い 6% まで許可される。EC SCCP（11）は、1 回の適用につき 3 g の口腔洗浄薬又は 0.48 g の練り歯みがきが摂取されると見積もった。製品に 0.1% の過酸化水素が含まれると仮定すると、摂取しうる過酸化水素の量は、口腔洗浄薬からは 3 mg、練り歯みがきからは 0.48 mg となる。おそらく大半の過酸化水素は口腔ケア製品の使用中に分解され摂取されないため、これらの値は摂取量を過大に見積もっていると考えられる（4）。

US FDA – 抗歯周病剤や抗歯垢剤として長期間店頭販売剤として使用される場合、過酸化水素は 3% まで、一般に安全と認められる（GRAS）（19）。

許容1日曝露量（PDE）

過酸化水素は閾値がある作用機序（すなわち、酸化ストレス）を介する遺伝毒性があり、口腔ケア及び他のパーソナルケア製品による摂取量を上回る高い水準で体内で生産されている。したがって、がん原性試験データに基づいて PDE を計算することは適切でないと考えられた。1 日につき内在的に生産される過酸化水素 6.8 g の 1%、すなわち、68 mg/day（68,000 µg/day）を摂取しても、内在的に生産された過酸化水素による曝露量を大幅に増やすことはないが、医薬品の品質に基づく限度値を通常上回る。ICH M7 ガイドラインは、化合物特異的なリスク評価から許容摂取量を算出する場合、上限値は 0.5%、例えば、一日当たりの最大用量が 100 mg の薬剤では 500 µg と定めている。

References

1. Halliwell B, Clement MV, Long LH. Hydrogen peroxide in the human body. FEBS Lett 2000;486:10-13.
2. DeSesso JM, Lavin AL, Hsia SM, Mavis RD. Assessment of the carcinogenicity associated with oral exposures to hydrogen peroxide. Food and Chem Toxicol 2000;38:1021-41.
3. IARC. Re-evaluation of some organic chemicals, hydrazine and hydrogen peroxide. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon. 1999 Vol. 71.
4. European Commission Joint Research Center. EU Risk Assessment report. Hydrogen Peroxide. CASRN 7722-84-1). 38. [Online]2003. Available from: URL: <https://echa.europa.eu/documents/10162/a6f76a0e-fe32-4121-9d9d-b06d9d5f6852>
5. Ito A, Watanabe H, Naito M, Naito Y. Induction of duodenal tumours in mice by oral administration of hydrogen peroxide. Gann the Japanese journal of cancer research 1981;72:174-5.
6. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>

7. Ito A, Naito M, Naito Y, Watanabe H. Induction and characterization of gastro-duodenal lesions in mice given continuous oral administration of hydrogen peroxide. *Gann the Japanese Journal of Cancer Research* 1982;73:315-322.
8. Ito A, Watanabe H, Naito M, Naito Y, Kawashima K. Correlation between induction of duodenal tumor by hydrogen peroxide and catalase activity in mice. *Gann the Japanese Journal of Cancer Research* 1984;75:17-21.
9. Ito A, Watanabe H, Aoyama H, Nakagawa Y, Mori M. Effect of 1,2-dimethylhydrazine and hydrogen peroxide for the duodenal tumorigenesis in relation to blood catalase activity in mice. *Hiroshima Journal of Medical Science* 1986;35:197-200.
10. US FDA. Irradiation in the production, processing, and handling of food. Food and Drug Administration. *Federal Register* 1988; Vol. 53, No. 251:53198-9.
11. SCCP. European Commission. Scientific Committee on Consumer Products. Opinion on Hydrogen peroxide, in its free form or when released, in oral hygiene products and tooth whitening products. SCCP/1129/07 [Online] 2007. Available from: URL: https://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/docs/sccp_o_122.pdf
12. Hiroto N. and Yokoyama T. Enhancing effect of hydrogen peroxide upon duodenal and upper jejunal carcinogenesis in rats. *Gann* 1981;72:811-812. Cited in Ref. 2.
13. Ishikawa T. and Takayama S. (1984) Hydrogen peroxide. In *Information Bulletin on the Survey of Chemicals being Tested for Carcinogenicity*. International Agency for Research on Cancer, Lyon. 1984;11:86. (Cited in Ref. 2).
14. Li Y, Noblitt T, Zhang A, Origel A, Kafrawy A, Stookey G. Effect of long-term exposure to a tooth whitener [Abstract]. *Journal of Dental Research* 1993;72:1162. (Cited in Ref. 2).
15. Tredwin CJ, Naik S, Lewis NJ, Scully C. Hydrogen peroxide tooth-whitening (bleaching) products: Review of adverse effects and safety issues. *British Dental Journal* 2006;200:371-6.
16. De Bont R, Larebeke N. Endogenous DNA damage in humans: a review of quantitative data. *Mutagenesis* 2004;19:169-85.
17. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 2000;408:239-47.
18. Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council of 30 November 2009 on cosmetic products.
19. US FDA. Oral health care drug products for over-the-counter human use; antigingivitis/antiplaque drug products; establishment of a monograph. *Federal Register* 2003;68:32232-32286.

塩化メチル (クロロメタン, CAS# 74-87-3)

ヒトへの曝露の可能性

低レベルの塩化メチルは自然環境に存在する。それは、例えば海洋植物プランクトン、微生物発酵、バイオマス燃焼（野焼きや森林火災）や火山から、毎日数千トンの塩化メチルが自然に産生されているためである。

WHO (1) は、郊外の大気中の塩化メチル濃度は一般に $2.1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (1.0 ppb) 未満であるが、市街地では $0.27\sim 35 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.13~17 ppb) であり、約 $20\sim 700 \mu\text{g}$ の1日摂取量に相当する（ヒトの1日呼吸量 20 m^3 ）と報告している。河川、海水、地下水及び飲用水中の濃度については様々な報告があり、井戸の飲用水中でみられた最大濃度は $44 \mu\text{g}/\text{L}$ であると報告されている。

変異原性/遺伝毒性

塩化メチルは *in vitro* で変異原性及び遺伝毒性があるが、これらは *in vivo* では不確かである。WHO (1) 及び US EPA (2) で塩化メチルの変異原性データを概説しており、ここに主要な所見を纏める：

塩化メチルは以下において変異原性を示す：

細菌を用いる復帰突然変異 (Ames) 試験、代謝活性化系の有無に関わらず *Salmonella typhimurium* TA100、TA1535 及び *Escherichia coli* WP2uvrA TK6 ヒトリンパ芽球

in vivo に関して、WHO (1) は「標準的な *in vivo* 遺伝毒性試験データは入手できないが、高用量で DNA - タンパク質クロスリンクが起こることを示唆するいくつかの証拠に基づき、塩化メチルは *in vivo* で極めて弱い変異原性物質であると考えられる」と結論した。

発がん性

塩化メチルは、IARC によりグループ 3 (塩化メチルのヒトへの発がん性に関する証拠は不十分) (3) に分類されており、また、US EPA によりカテゴリ D 化合物 (ヒトへの発がん性が分類不能である) (2) に分類されている。

動物では、発がん性を示す唯一の証拠は、投与経路として吸入を用いたラット及びマウスの2年間のバイオアッセイ 1 試験 (4) から得られている。腎臓の良性及び悪性の腫瘍発生率の統計的に有意な上昇は、雄の B6C3F1 マウスにおいて高濃度 (1,000 ppm) でのみ観察された。統計的に有意ではなかったが、 $464 \text{ mg}/\text{m}^3$ (225 ppm) では皮質腺腫もみられ、マウスでは腎皮質小嚢胞の発症が $103 \text{ mg}/\text{m}^3$ (50 ppm) 用量群でみられ、 $464 \text{ mg}/\text{m}^3$ (225 ppm) 群である程度みられた (4)。しかし、用量相関性は認められなかった。腎皮質尿細管上皮の過形成及び巨大核も雄マウスの 1000 ppm 用量群に限定された。雄マウスの低用量群や他の部位では腫瘍が認められず、雌マウスや雌雄 F-344 ラットではいずれの部位や用量においても腫瘍はみられなかった。腎腺癌は、人が遭遇しそうなレベルの曝露時に雄マウスでしか発生しないことが示されている。

これらの雄マウスの腎腫瘍がヒトと関連している可能性は低い。塩化メチルはグルタチオン抱合により代謝され、またわずかに p450 による酸化を受ける (1, 2)。雄マウスの腎腫瘍は塩化メチル代謝中のホルムアルデヒド産生に関連していると考えられている。これを担うと考えられているチトクローム P-450 (CYP) アイソザイムである CYP2E1 は、雄マウスの腎臓に存在しアンドロゲンに依存するが、雌マウスの CYP2E1 レベルは雄の 20%~25%に過ぎない。雄 CD-1 マウスの腎ミクロソームでホルムアルデヒドが生成され、その量は未処置 (アンドロゲン未投与) 雌マウスでの生成量を上回ることが実証されているが、ラットの腎ミクロソームはホルムアルデヒドを生成しなかった。また、ヒトの腎臓には塩化メチルを発がん性の可能性のある有毒な中間体に変換することが知られている重要な酵素 (CYP2E1) がないことを考慮すると、塩化メチルが腎臓で処理される方法に種特異的な代謝の差があることから、P-450 酸化を介したマウス腎腫瘍は生物学的

にヒトと関連していないことが強く示唆される。ラットでは、腎臓の CYP2E1 活性は極めて低かった。CYP2E1 活性はヒト腎臓ミクロソーム検体でも (2)、ヒト腎臓から新鮮分離された近位尿細管細胞でも検出されなかった。CYP4A11 はヒトの腎臓で検出されたが、塩化メチルの代謝能力は不明である。CYP4A11 に加え、有意なレベルでヒト腎臓ミクロソームに認められるその他の P-450 酵素は、CYP4F2 及び CYP3A のみである。さらに、一般に知られている環境化学物質のうち、CYP4A ファミリーにより代謝されるとみられるものは存在しない。ヒト腎臓には (高レベルを有するマウスとは対照的に) 検出可能な CYP2E1 タンパク質がないことから、雄マウスの腎臓腫瘍の誘発を担うと考えられる P450 による塩化メチルの代謝 (おそらくホルムアルデヒド濃度上昇を引き起こす) が、ヒトと関連している可能性は低いことが示唆される。

ただし、US EPA (2) 及び WHO (1) が強調しているように、優勢なグルタチオン (GSH) 依存経路を介する (肝臓における塩化メチルのギ酸への代謝は GSH 依存性であり、ホルムアルデヒドをギ酸に酸化する GSH 要求性ホルムアルデヒド脱水素酵素を介する) か、CYP2E1 以外の P450 アイソザイムにより、肝臓 (や腎臓) の代謝が果たす役割 (遺伝毒性の可能性のある代謝物が生じる) という点について、無視することはできない。それでもなお、ホルムアルデヒドの基礎的な体内での形成 (すなわち、878~1310 mg/kg/day; 5) と比べ、低用量の塩化メチルを介したホルムアルデヒド産生は無視できる。また、ヒトとの関連性が限られていることに基づき、US EPA は塩化メチルをグループ D の化合物、すなわち「ヒトの発がん性については分類不能」と分類した。

Methyl Chloride – Details of carcinogenicity studies (only inhalation studies available)

Study	Animals/ dose group	Duratio n/ Exposur e	Controls	Doses	Most sensitive tumor site/sex	TD ₅₀ (mg/kg/d)
Ref. 4 (summarized in Ref. 1 and Ref. 2) ^a	120/sex/ group B6C3F1 mice	24 mo 6h/d, 5d/wk Inhalatio n	Yes	3: 103; 464; 2064 mg/m ³ (50; 225; 1000 ppm)	Kidney tumors in males only. No finding in females.	1,360.7 ^b
Ref. 4 (summarized in Ref. 1 and Ref. 2)	120/sex/ group Fisher 344 rats	24 mo 6h/d, 5d/wk Inhalatio n	Yes	3: 103; 464; 2064 mg/m ³ (50; 225; 1000 ppm)	No findings in males and females	NA

Note: Studies not listed in CPDB.

^a Carcinogenicity study selected for AI calculation.

^b TD₅₀ calculated based on carcinogenicity data (see Note 5).

NA = Not applicable

規制上の限度値や公表された限度値

WHO (1) は一般集団に対するガイドライン値を 0.018 mg/m³ と定め、US EPA (2) は基準濃度を 0.09 mg/m³ と定めた。いずれも塩化メチル吸入後の CNS に対する有害作用の可能性に基づいた。

許容摂取量 (AI)

雄マウスで観察された腫瘍はおそらくヒトと関連していないことがデータから示唆されているが、データに不確定要素があるため AI を定めた。

生涯 AI = $TD_{50}/50,000 \times 50 \text{ kg}$

生涯 AI = $1,360.7 \text{ mg/kg/day}/50,000 \times 50 \text{ kg}$

生涯 AI = 1,361 $\mu\text{g/day}$

References

1. World Health Organization (WHO). Concise International Chemical Assessment Document (CICAD) 28. Methyl chloride. [Online]. 2000; Available from: URL: <http://www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad28.htm>
2. US EPA. Methyl chloride. (CAS No. 74-87-3). Integrated Risk Information System (IRIS). [Online]. 2001; Available from: URL: https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/toxreviews/1003tr.pdf
3. IARC. Methyl Chloride. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, Lyon. 1999 Vol. 71.
4. CIIT. Final report on a chronic inhalation toxicology study in rats and mice exposed to methyl chloride. Report prepared by Battelle Columbus Laboratories for the CIIT. 1981 EPA/OTS Doc #878212061, NTIS/OTS0205952.
5. EFSA. European Food Safety Authority. Endogenous formaldehyde turnover in humans compared with exogenous contribution from food sources. EFSA Journal 2014;12 Suppl 2:3550.

スチレン (CAS# 100-42-5)

ヒトへの曝露の可能性

スチレンの一般集団への曝露は、環境汚染や食事による曝露を介して生じる (1)。一般集団では、屋内外の空気が最大の曝露源となる。しかし、タバコ1箱の喫煙により、ミリグラム単位のスチレンを吸入することになる可能性がある (2)。スチレンは、さまざまな食品及び飲料の天然成分として検出されており、シナモンにおいて最も高い濃度で存在する。ポリスチレン及びそのコポリマーは食品包装材料として幅広く用いられており、スチレンなどのモノマーがわずかに食品に移行する可能性がある。食事由来のスチレンの1日摂取量は、英国で1~4 µg、ドイツで2~12 µg、米国で9 µgと推定されている (3, 4)。スチレンは医薬品有効成分の合成に用いられている。

変異原性/遺伝毒性

スチレンは、Ames 試験では矛盾する結果が得られており、OECD のガイドラインに従って実施された *in vivo* 染色体異常、小核、及び UDS 試験では大部分は陰性である。Ames 試験の結果が矛盾しているのは、スチレンが揮発性、難溶性であること、及び代謝活性化の違いに起因する (5)。スチレンは Ames 試験において、代謝活性化系存在下でのみ陽性であった (5)。代謝活性化系存在下では、スチレンは求電子性中間体 (スチレン-7,8-オキシドなど) に変換され、DNA と共有結合付加体を形成することができる。スチレンの曝露に関連する遺伝子損傷の大部分は、スチレンの主要代謝物であるスチレン-7,8-オキシドによるものと考えられ、これはさらに解毒されるとスチレングリコールになる。スチレンの曝露により、動物モデル及びヒトの両方で DNA 付加体 (N⁷-グアニン、O⁶-グアニン、N¹-アデニン) 及び姉妹染色分体交換 (SCEs) が増加し、ヒトでは DNA 鎖切断が増加した (5, 6)。現在の OECD ガイドラインに概説されている要件に基づくスチレンの遺伝毒性に関する重要なレビューにおいて、Moore ら (7) は、未代謝のスチレンが Ames 試験で変異原性を示すか否かは不明であるが、スチレン-7,8-オキシドは明らかに変異原性を示すと結論している。また、著者らはスチレン-7,8-オキシドが Ames 試験で陽性を示すという大部分のデータが、外因性代謝活性化系の非存在下で収集されたとしている。これは、スチレン-7,8-オキシドがさらにスチレングリコールに代謝されてはいないことを意味する。

85 mg/m³ 以上のスチレンに吸入曝露された労働者 28 人の赤血球におけるグリコホリン A の変異頻度より、スチレンの変異原性が示された (8)。スチレンに曝露された労働者のリンパ球は、ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ *HPRT* 遺伝子座における変異頻度 (MFs) が増加していた (9)。

2つの *in vitro* 哺乳類遺伝子変異試験が確認された。*HPRT* 試験では、スチレンは V79 細胞の *HPRT* MFs をわずかに増加させたのみであった (10)。同様に、スチレンは外因性代謝活性化系の存在下で V79 細胞の *HPRT* 遺伝子座の変異を増加させた (11)。スチレン又はスチレン-7,8-オキシドを評価したげっ歯類の *in vivo* 遺伝子突然変異試験は確認されなかった。

規制上の標準的試験に基づく実験動物を用いたデータからは、スチレンが *in vivo* において意味のある遺伝毒性を有するという説得力のある証拠は得られていない。しかし、スチレンの曝露に伴う遺伝毒性 (スチレン-7,8-オキシドの形成に関連した遺伝毒性) は、実験動物及びヒトにおけるスチレン誘発性の発がん作用の一機序である可能性が考えられている (1)。

発がん性

IARCにより、スチレン及び代謝物のスチレン-7,8-オキシドはグループ2A、「ヒトにおいて限定的な証拠があり、実験動物において十分な証拠があることから、ヒトに対しておそらく発がん性がある」に分類されている (5)。また米国国立衛生研究所 (NIH) も、スチレンはヒト発がん物質であると合理的に予測している (1)。考えうるスチレン誘発性の発がん性作用機序として、免疫抑制作用と共に遺伝毒性及び細胞傷害作用があげられる (1)。NTPは、第12回及び第14回発がん物質報告書において、スチレンを「ヒト発がん物質であると合理的に予測される」と記載してい

る（12、13）。NRCは、ヒトにおいて発がん性の限定的な証拠があり、動物試験において十分な証拠があり、また発がん性を裏付けるその他の機序に関するデータがあることから、「ヒト発がん物質であると合理的に予測される」との判断は、スチレンの発がん性分類として適切であると結論した（6）。

スチレンへの曝露に関する疫学調査の最近の系統的レビューから、入手可能な研究がある程度限定的であるのに加え、スチレンの定量的評価が不足しているとして、特定の発がんリスクについて、すなわちスチレンと、非ホジキンリンパ腫及びそのサブタイプ、すべての白血病、白血病のサブタイプ、又は食道、膵臓、肺、腎臓その他の部位の癌との因果関係について、強力で一貫性のある証拠は認められなかったと結論した（14）。

CPDBでは、スチレンはマウスでは経口及び吸入経路で、またラットでは吸入経路で発がん性を示すと報告されている（15）。米国国立衛生研究所の発がん物質報告書（National Institutes of Health Report on Carcinogens, NIH ROC）（1）では、[1] B6C3F1マウスにおける経口曝露、[2] CD-1マウスにおける吸入曝露による2年間の試験が最も頑健な試験であると考えられている。雄のB6C3F1マウスでは、スチレンへの経口曝露により、肺胞及び細気管支の腺腫及び癌を合わせた発生率が上昇した（16）。吸入曝露による試験では、雌雄CD-1マウスにおいて肺腺種の発生率が上昇し、また雌マウスの高用量群で肺癌の増加が認められた（17）。

IARCは、スチレンについてマウス及びラットを用いた各9試験（さまざまな投与経路による）と、スチレン-7,8-オキシドについてマウス及びラットを用いた各3試験を評価した。O20マウスを用いてスチレンの経胎盤曝露後に強制経口投与した1試験では、仔マウスに肺癌及び肺腺種の増加が認められたのに対し、C57BLマウスを用いた2つ目の試験では陰性であった（18）。CD-1マウスの吸入曝露による5試験中2試験で気管支肺胞腫瘍の増加が報告された（16、19）のに対し、他の3試験（C57BL/6マウスを用いた）は陰性であった（19）。マウスに経口投与した1試験では、肺腫瘍の増加と肝細胞癌の陽性の傾向が認められた（16）。腹腔内投与による別の試験の結果は陰性であった（20）。CD（SD由来）又はSDラットの吸入曝露による2試験のうち、1試験においてスチレンは陰性であった（21）が、もう一つの試験ではスチレンは乳腺腫瘍を増加させ（22）、一方で、経口曝露による4試験（強制経口投与による3試験（17、22）及び飲水投与による1試験（23））では陰性であった。NIH ROC（1）によると、観察された乳腺腫瘍の増加は用量依存性がなく信頼性のある発がん性の証拠とはみなされず、また、IARC（5）も短期間の処置であったこと及び試験報告が不完全であることを指摘している。経胎盤曝露後に強制経口投与した他の1試験（17）、腹腔内投与による1試験、及び皮下投与による1試験（22）も陰性であった。スチレン-7,8-オキシドは、マウスを用いた3試験（強制経口投与による1試験（24）、皮膚塗布による2試験（25、26））が実施されている。スチレン-7,8-オキシドの強制経口投与による試験では、雌雄マウスで前胃の扁平上皮腫瘍が、雄マウスで肝細胞腫瘍が増加した。皮膚塗布による試験は、試験の詳細な情報が限られており、対照群が設定されていないため、評価には不適切であった。ラットでは、スチレン-7,8-オキシドの強制経口曝露による2試験（22、24）及び経胎盤曝露後に強制経口投与した1試験（27）が実施された。強制経口投与によるいずれの試験でも、前胃の扁平上皮腫瘍が増加し、うち1試験では乳腺腫瘍が雄マウスにおいても増加した。経胎盤曝露後に強制経口投与した試験では、前胃腫瘍が増加した。IARCは、実験動物におけるスチレン及びスチレン-7,8-オキシドについて発がん性の十分な証拠が存在すると結論した（5）。

US NTPは、ラットを用いた試験における証拠は、スチレンの発がん性に関して結論に至るには不十分であると結論した（1）。Cruzanら（21）による8つの発がん性試験からの入手可能なデータの評価では、スチレンがラットでがんを誘発しなかったという明らかな証拠があったと結論された。肺腫瘍がマウスで誘発され、ラットでは誘発されなかったのは、この2つの動物種におけるスチレンの代謝の差異に関係している可能性があることが示唆されている（1）。

Styrene – Details of the most relevant carcinogenicity studies

Study	Animals/ dose group	Duration/ Exposure	Controls	Doses	Most sensitive tumor site/type/sex	TD ₅₀ (mg/kg/day) ^a
Ref. 16	50/sex/ group M&F B6C3F1 mouse	78 weeks, Oral Gavage	20	2: 150, 300 mg/kg/day	Lung/ Male ^b	360
Ref. 17	70/sex/ group CD1 mouse	98-104 weeks, Inhalation	70	4: 20, 40, 80, 160 ppm, 22.3, 44.6, 89.3, 179 mg/kg/day	Lung/ Male	154 ^c
Ref. 16	70/sex/ group Fischer 344 rats	78 -107 weeks, Oral Gavage	40	3: 500, 1000, 2000 mg/kg/day	No Tumors	NC
Ref. 21	70/sex/ group CD rats	104 weeks, Inhalation	70	4: 50, 200, 500, 1000 ppm	No Tumors	NC
Ref. 22	30/sex/ group SD rats	52 weeks, Inhalation	60	5: 25, 50, 100, 200, 300 ppm	Mammary tissue/ Female ^d	23.3
Ref. 22	40/sex/ group SD Rats	52 weeks, Gavage	40	2: 50, 250 mg/kg/day	No Tumors	NC
Ref. 22	40/sex/ group SD Rats	S.C. once, then i.p. 4 times at 2- month intervals	40	1: 50 mg (s.c.), 50 mg (i.p.)	No Tumors ^e	NC

NC – Not Calculated, S.C. – Subcutaneous Injection, i.p. – Intraperitoneal Injection, SD – Sprague Dawley

^a The TD₅₀ values are taken from CPDB (Ref. 15)

^b Despite having a statistically significant dose-trend per CPDB, the author concluded that there was no convincing evidence of carcinogenicity in mice

^c Carcinogenicity study selected for the AI calculation, mg/kg/day dose conversion taken from CPDB

^d Author opinion: Styrene, was found to cause an increase in total (benign & malignant) and malignant mammary tumors. Cruzan et al., (Ref. 21) noted no obvious dose-response in the data. Furthermore, the study findings were not considered reliable evidence of carcinogenicity by NIH ROC (Ref. 1) and IARC (Ref. 5) noted short treatment duration and incomplete reporting of the study.

^e Study limited to acute exposures and a non-standard study design

発がん性の作用機序

スチレンの発がん性に寄与する機序に関する包括的なレビューは、IARC のモノグラフに記載されている (5)。入手可能な *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性データを考慮し、IARC は、スチレンには遺伝毒性があり、その機序はヒトにおいても関連性があるとの有力な証拠があると結論付けた。ス

チレンは動物及びヒトにおいて、代謝活性化により求電子剤であるスチレン-7,8-オキシドとなり、これがタンパク質や DNA などの求核性高分子と相互作用する。DNA 付加体は、主に N⁷-グアニンのアルキル化によって形成される。*in vitro* 並びにスチレンを曝露させたげっ歯類及びヒトでは、スチレン-7,8-オキシドの DNA 付加体が認められている。IARC はまた、スチレン及びスチレン-7,8-オキシドがいずれも細胞増殖を変化させること、スチレンに職業的に曝露されたヒトにおける血清プロラクチンの上昇に基づき、スチレンが受容体を介した作用を調節することの有力な証拠があると示した。

遺伝毒性の可能性及びマウスで認められた腫瘍のヒトへの外挿性には疑問が持たれている (28、29、30、31)。スチレンの発がん性に寄与すると考えられるその他の潜在的な機序として、酸化ストレス、免疫抑制、及び慢性炎症が挙げられる。Cruzan ら (28) がマウスの肺腫瘍の主因として提唱する機序には、スチレンの代謝物がマウス肺細胞において脂質及びリポタンパク質の代謝、細胞周期、有糸分裂の M-M/G1 期に関わる遺伝子発現、軽度の細胞毒性及び強い分裂促進を誘発することが含まれる。これらは、過剰な細胞増殖と過形成を引き起こす。一方、ヒトでは (CYP2F2 による) 肺代謝が限定的であるため、これらは問題とならないだろうと著者らは想定している。IARC は、これらの作用機序の証拠は中程度ないしは弱いと結論付けた。遺伝毒性の可能性及びスチレンの投与と関連した腫瘍のヒトへの外挿性について最終的な結論を得るため、様々な観点が評価された。最終的に、スチレンの AI の算出を裏付ける上で IARC の結論が用いられた。

規制上の限度値や公表された限度値

WHO は、経口経路によるスチレンの耐容 1 日摂取量 (TDI) を 7.7 µg/kg/day (すなわち、体重 50 kg では 0.385 mg/day) と定め、そこから、飲料水水質ガイドライン値を 20 µg/L と定めている (すなわち、水 2 L/day を消費する場合、40 µg/day) (32)。この WHO の限度値は、2 年間のラット飲水試験で得られた体重増加量の減少に基づいている。スチレンに対する US EPA の経口参照用量 (RfD) (33) は、非発がんエンドポイントに基づいて、200 µg/kg/day (すなわち、体重 50 kg では 10 mg/day) である。関連する US EPA の飲料水限度値は 100 µg/L (すなわち、水 2 L/day を消費する場合、200 µg/day) である。食品包装から移行するスチレンに対する JECFA の最大 TDI (34) は 0.04 mg/kg/day (すなわち、体重 50 kg では最大 2 mg/day) である。EU では、ポリスチレン包装から食品に移行するスチレンの許容可能な特定移行限度を 60 ppm (すなわち、成人で食品 1 kg/day 消費と仮定して 60 mg/day) としている (4)。

許容摂取量 (AI)

AI 算出のための試験選択の根拠

スチレンはラットでは発がん物質とみなされていないため、AI の算出にはマウスの肺腫瘍を対象とした。最も感受性の高い TD₅₀ は、Cruzan ら (17) の吸入試験の結果から得られた。マウスに強制経口投与したがん原性試験でも肺腫瘍の増加が認められたため、この吸入試験から算出した AI は、すべての投与経路に対応していると考えられた (16)。ヒトと比べてマウスでは、腫瘍形成の鍵となる CYP2F 酵素の発現量が高いことが知られているため (28)、この AI は慎重な値と考えられる。

AI の算出

$$\text{生涯 AI} = \text{TD}_{50}/50000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{生涯 AI} = 154 \text{ mg/kg/day}/50000 \times 50 \text{ kg}$$

$$\text{生涯 AI} = 154 \text{ µg/day}$$

References

1. National Institutes of Health. Report on Carcinogens (NIH ROC). 14th edition. 2016; Available from: URL: <https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/content/profiles/styrene.pdf>
2. Capella KM, Roland K, et al. Ethylbenzene and styrene exposure in the United States based on urinary mandelic acid and phenylglyoxylic acid: NHANES 2005–2006 and 2011–2012. *Environ Res* 2019;171:101-110.
3. World Health Organization (WHO). Chapter 5.12 Styrene. Air Quality Guidelines – 2nd Edition. 2000; Available from: URL: http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0018/123066/AQG2ndEd_5_12Styrene.pdf
4. Gelbke HP, Banton M, et al. Derivation of safe health-based exposure limits for potential consumer exposure to styrene migrating into food from food containers. *Food Chem Toxicol* 2014;64:258–69.
5. IARC (International Agency on Research of Cancer). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Styrene, styrene-4,8-oxide and quinoline. Volume 121. Lyon, 2019.
6. NRC. Review of the Styrene Assessment in the National Toxicology Program 12th Report on Carcinogens. Washington, DC: The National Academies Press. 2014; Available from: URL: <https://doi.org/10.17226/18725>
7. Moore MM, Pottenger LH, House-Knight T. Critical review of styrene genotoxicity focused on the mutagenicity/clastogenicity literature and using current organization of economic cooperation and development guidance. *Environ Mol Mutagen* 2019;60:624-663.
8. Compton-Quintana PJ, Jensen RH, Bigbee WL, Grant SG, Langlois RG, Smith MT, Rappaport SM. Use of the glycophorin A human mutation assay to study workers exposed to styrene. *Environ Health Perspect* 1993;99:297-301.
9. Vodicka P, Soucek P, Tates AD, Dusinska M, Sarmanova J, Zamecnikova M, Vodickova L, Koskinen M, de Zwart FA, Natarajan AT, Hemminki K. Association between genetic polymorphisms and biomarkers in styrene-exposed workers. *Mutat Res* 2001;482:89-103.
10. Loprieno N, Abbondandolo A, Barale R, Baroncelli S, Bonatti S, Bronzetti G, Cammellini A, Corsi C, Corti G, Frezza D, Loporini C, Mazzaccaro A, Nieri R, Rosellini D, Rossi AM. Mutagenicity of industrial compounds: styrene and its possible metabolite styrene oxide. *Mutat Res* 1976;40:317-24.
11. Beijs B, Jenssen D. Investigation of styrene in the liver perfusion/cell culture system. No indication of styrene-7,8-oxide as the principal mutagenic metabolite produced by the intact rat liver. *Chem Biol Interact* 1982;39:57-76.
12. NTP (National Toxicology Program). 12th Report on Carcinogens. *Rep Carcinog* 2011;12:iii-499.

13. NTP (National Toxicology Program). Report on Carcinogens, Fourteenth Edition.; Research Triangle Park, NC: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. 2016; Available from: URL: <https://ntp.niehs.nih.gov/go/roc14>
14. Collins JJ, Delzell E. A systematic review of epidemiologic studies of styrene and cancer. *Critical Reviews in Toxicology* 2018;48:443-470.
15. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). National Institutes of Health. Carcinogenic Potency Database. Available from: URL: <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>
16. National Cancer Institute (NCI). Technical Report Series No. 185. Bioassay of styrene for possible carcinogenicity. NCI-CG-TR-185. 1979; Available from: URL: http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/LT_rpts/tr185.pdf
17. Cruzan G, Cushman JR, et al. Chronic Toxicity/Oncogenicity Study of Styrene in CD-1 Mice by Inhalation Exposure for 104 Weeks. *J Appl Toxicol* 2001;21:185-98.
18. Ponomarev V, Tomatis L. Effects of long-term oral administration of styrene to mice and rats. *Scand J Work Environ Health* 1978;4:127-35.
19. Cruzan G, Bus JS, Banton MI, Sarang SS, Waites R, Layko DB, et al. Complete attenuation of mouse lung cell proliferation and tumorigenicity in CYP2F2 knockout and CYP2F1 humanized mice exposed to inhaled styrene for up to 2 years supports a lack of human relevance. *Toxicol Sci* 2017;159:413-21.
20. Brunnemann KD, Rivenson A, Cheng SC, Saa V, Hoffmann D. A study of tobacco carcinogenesis. XLVII. Bioassays of vinylpyridines for genotoxicity and for tumorigenicity in A/J mice. *Cancer Lett* 1992;65:107-13.
21. Cruzan G, Cushman JR, et al. Chronic Toxicity/Oncogenicity Study of Styrene in CD rats by Inhalation Exposure for 104 Weeks. *Toxicol Sci* 1998;46:266-81.
22. Conti B, Maltoni C, et al. Long-term carcinogenicity bioassays on styrene administered by inhalation, ingestion and injection and styrene oxide administered by ingestion in Sprague-Dawley rats, and para-methylstyrene administered by ingestion in Sprague-Dawley rats and Swiss mice. *Ann N Y Acad Sci* 1988;534:203-34.
23. Beliles RP, Butala JH, Stack CR, Makris S. Chronic toxicity and three-generation reproduction study of styrene monomer in the drinking water of rats. *Fundam Appl Toxicol* 1985;5:855-68.
24. Lijinsky W. Rat and mouse forestomach tumors induced by chronic oral administration of styrene oxide. *J Natl Cancer Inst* 1986;77:471-6.

25. Weil CS, Condra N, Haun C, Striegel JA. Experimental carcinogenicity and acute toxicity of representative epoxides. *Am Ind Hyg Assoc J* 1963;24:305–25.
26. Van Duuren BL, Nelson N, Orris L, Palmes ED, Schmitt FL. Carcinogenicity of epoxides, lactones, and peroxy compounds. *J Natl Cancer Inst* 1963;31:41–55.
27. Ponomarev V, Cabral JRP, Wahrendorf J, Galendo D. A carcinogenicity study of styrene-7,8-oxide in rats. *Cancer Lett* 1984;24:95–101.
28. Cruzan G, Bus JS, et al. Based on an analysis of mode of action, styrene-induced mouse lung tumors are not a human cancer concern. *Reg Tox Pharm* 2018;95:17-28.
29. European Food Safety Authority (EFSA). EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes and Processing Aids (CEP) Assessment of the Impact of the IARC Monograph Vol. 121 on the Safety of the Substance Styrene (FCM No 193) for its Use in Plastic Food Contact Materials. *EFSA Journal* 2020; 18(10): 6247.
30. European Chemicals Authority (ECHA). CLH report for styrene, Proposal for Harmonised Classification and Labelling, Based on Regulation (EC) No 1272/2008 (CLP Regulation), Annex VI, Part 2, Substance Name: Styrene, September 2011. Available from: URL: <https://echa.europa.eu/documents/10162/fd574447-2888-e637-ae30-77df1b043a2f>
31. European Chemicals Authority (ECHA). Registry of CLH intentions until outcome, Styrene. 2021. Available from: URL: <https://echa.europa.eu/de/registry-of-clh-intentions-until-outcome/-/dislist/details/0b0236e180a0fa4f>
32. World Health Organization (WHO). Styrene in Drinking Water; Background Document for Development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. WHO/SDE/WHS/03.04/27. 2003; Available from: URL: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/styrene.pdf
33. United States Environmental Protection Agency (USEPA). Integrated Risk Information System (IRIS). Styrene (CASRN 100-42-5). 1990; Available from: URL: https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/subst/0104_summary.pdf
34. Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA). Styrene. WHO Food Additives Series 19. 1984; Available from: URL: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v19je15.htm>

酢酸ビニル (CAS# 108-05-4)

ヒトへの曝露の可能性

ヒトにおける酢酸ビニルへの曝露は主に職業環境で生じ、一般集団における曝露は極めて少ない(1)。酢酸ビニルは医薬品の合成に使用される。

変異原性／遺伝毒性

酢酸ビニルの変異原性及び遺伝毒性については、Albertiniが評価している(2)。酢酸ビニルは、複数の*Salmonella*株又は*E. coli*でのAmes試験で変異原性を示さず、また哺乳類細胞(ヒトTK6細胞の*tk*遺伝子座)における酢酸ビニルの変異原性は、主に染色体レベル又は大きな突然変異事象を反映しているように見えるが、より小さな遺伝子突然変異を反映していると考えられる「正常な生育」変異体も報告されている。また酢酸ビニルは、*in vitro*で小核及び染色体異常を、*in vivo*で染色体異常を誘発し、*in vivo*小核試験の5試験中1試験で陽性であった。腹腔内投与後にマウス骨髄で誘発された小核の増加はわずかであったが、遺伝毒性は毒性及び死亡率の上昇と関連していた(3)。

酢酸ビニルの遺伝毒性がその代謝物であるアセトアルデヒドを介して引き起こされるという広範な証拠がある。アセトアルデヒドは内因的に産生され、細胞内恒常性を維持するためにアルデヒドデヒドロゲナーゼによる解毒が必要とされる(2)。哺乳類細胞における反応やアセトアルデヒドへの急速な変換を考えると、酢酸ビニルは変異原性を示すと考えられる。作用機序の詳細情報については以下を参照。

発がん性

酢酸ビニルはグループ 2B、ヒトに対しておそらく発がん性があると分類されている(4)。CPDBには経口発がん性の報告書 2 報が引用されている(5)。酢酸ビニルが飲水投与されたマウス 1 試験及びラット 1 試験は、投与群が 2 群のみであり、1 群当たりの動物数が 50 匹未満であったため限定的な証拠である。Swiss マウスでは子宮、食道及び前胃に、Fischer 344 ラットでは肝臓、甲状腺及び子宮に腫瘍が認められた。Maltoni ら(6)及びLijinsky ら(7)が実施した経口発がん性試験において、非接触部位(例えば、ジンバル腺、肺、肝臓、子宮及び乳腺)に多数の腫瘍が認められた。Maltoni ら(6)の報告でこれらの腫瘍はすべて、陰性対照群での発現率が高かった。ゆえに、これらの腫瘍データを確実に評価するには週齢調整が必要となる。口腔、舌、食道及び前胃の扁平上皮癌は、いずれも 5000 ppm の投与で生じた。1000 ppm を投与されたマウスに腫瘍は認められなかった(8)。Lijinsky ら(7)が発表した最も古い経口発がん性試験は試験デザインに不備が多く、とりわけ飲水投与液が 1 週間に 1 回しか調製されていなかった。著者らは、1 日当たりの分解率が約 8.5%であることを理解していた。したがって、例えば 2500 ppm 群のラットは、週末には約 1300 ppm の酢酸ビニルの他、アセトアルデヒド及び酢酸を含むかなりの量の分解産物に曝露されていた。また著者らは、飲水投与液の調製前に酢酸ビニルを精製していなかった。そのため、ラットは不特定の不純物にも曝露されていた。さらに、各群わずか 20 匹であったため、真の陽性反応を検出し、偽陽性と偽陰性の結果を区別する統計的検出力が不足している(8)。

CPDB の他に、文献で入手可能な発がん性試験もある。OECD ガイドライン 453 に従って日本バイオアッセイ研究センターが実施した経口飲水試験では、各群 50 匹として 3 群が用いられた(9、10)。酢酸ビニルの飲水投与後に、Crj:BDF1 マウスにおいて口腔、食道及び前胃の腫瘍増加が、雌 F344:DuCrj ラットにおいて全投与群で統計学的に有意な口腔腫瘍の増加が報告された。別の生涯試験では、Minardi ら(11)が、酢酸ビニルの飲水投与後に、17 週齢及び 12 日齢の Sprague-Dawley ラットにおいて口腔及び口唇の腫瘍増加を報告している。試験では 2 群設けられており、12 日齢ラット(出生児)群は 50 匹を超えているものの、17 週齢ラット(繁殖)群は 50 匹未満であった。12 日齢ラットでは口腔及び口唇の腫瘍の感受性が高いのに対し、17 週齢ラットでは腫瘍反応の増加が明確でなかった。

Bogdanffy ら (12) は、10 週間にわたって雌雄ラットに酢酸ビニルを飲水投与し、その後交配させた。次に、出生児を主要試験群 2 群 (各群 60 匹) とサテライト群 (30 匹) に分け、104 週間飲水曝露を続けた。著者らは、出生児において、化合物に関連する非腫瘍性及び腫瘍性病変は認められなかったと結論した。投与された雄ラットにおいて口腔の扁平上皮癌が 2 例認められたが、これらの腫瘍の発生率は背景対照値の範囲内であった。したがって、これらは酢酸ビニルの投与とは関連しないと考えられた。

CPDB には吸入発がん性試験の報告書 2 報が引用されている (5)。酢酸ビニルは CD-1 マウスに対して発がん性を示さなかったが、Sprague-Dawley ラットでは鼻腫瘍を誘発した (13)。最終屠殺時に、ラットの鼻腫瘍 11 例のうち 1 例を除くすべて (良性内向性及び外向性乳頭腫並びに扁平上皮癌) が 600 ppm の高用量群で観察され、腫瘍形成の高齢期依存性が示唆された。曝露との関連が不確かな良性腫瘍 1 例が 200 ppm の濃度で認められた (13)。酢酸ビニルは、両方の動物種で雌雄を問わず、200 ppm 群及び 600 ppm 群の鼻腔と、600 ppm 群の気管 (マウスのみ) 及び肺で形態的な非腫瘍性病変を誘発した。

Vinyl Acetate – Details of carcinogenicity studies

Study	Animals/ dose group	Duration/ Exposure	Controls	Doses	Most sensitive tumor site/type/sex	TD ₅₀ (mg/kg/day)
Ref. 6	37 F and 13 M/ group Swiss Mice	2 years in drinking water	37 F, 14 M	2: 1000 ppm (103 mg/kg/day F and 96.3 mg/kg/day M), 5000 ppm (578 mg/kg/day F and 546 mg/kg/day M)	Uterine, Female	3920 ^b
Ref. 7	20/sex/ group F344 Rat	2 years, drinking water	20	2: 1000 mg/L (0.1 mg/kg/day F and 0.062 mg/kg/day M), 2500 mg/L (0.04 mg/kg/day F and 0.025 mg/kg/day M)	Liver, Male	132 ^b
Ref. 9	50/sex/ group Crj:BDF ₁ Mice	2 years, drinking water	50	3: 400 ppm (63 mg/kg/day F and 42 mg/kg/day M), 2000 ppm (301	Oral cavity, Male	1854 ^c

Study	Animals/ dose group	Duration/ Exposure	Controls	Doses	Most sensitive tumor site/type/sex	TD ₅₀ (mg/kg/day)
				mg/kg/day F and 202 mg/kg/day M), 10000 ppm (1418 mg/kg/day F and 989 mg/kg/day M)		
Ref. 9	50/sex/ group F344/Du Crj Rats	2 years, drinking water	50	3: 400 ppm (31 mg/kg/day F and 21 mg/kg/day M), 2000 ppm (146 mg/kg/day F and 98 mg/kg/day M), 10000 ppm (575 mg/kg/day F and 442 mg/kg/day M)	Oral cavity, Male	3057 ^c
Ref. 11	37F and 14M/ group, Breeders (17 wk old); 53 or 83M and 57 or 87F Sprague- Dawley Rat Offspring (12 day old)	2 years, drinking water	Breeders 14M and 37F; Offspring 107M and 99F	2: 1000 ppm (70.6 mg/kg/day), 5000 ppm (353 mg/kg/day) ^a	Oral cavity and lips, Male	983 ^c
Ref. 12	60/sex/ group CrI:CD(S D)BR Rats	2 years, drinking water	60	3: 200 ppm (16 mg/kg/day F and 10 mg/kg/day M), 1000 ppm (76	No tumors	NC

Study	Animals/ dose group	Duration/ Exposure	Controls	Doses	Most sensitive tumor site/type/sex	TD ₅₀ (mg/kg/day)
				mg/kg/day F and 47 mg/kg/day M), 5000 ppm (302 mg/kg/day F and 202 mg/kg/day M)		
Ref. 13	60/sex/ group Charles River CD1 Mice	2 years, inhalation	60	3: 50 ppm (55.3 mg/kg/day F and 46.1 mg/kg/day M), 200 ppm (221 mg/kg/day F and 184 mg/kg/day M), 600 ppm (664 mg/kg/day F and 554 mg/kg/day M)	No tumors	NC
Ref. 13	60/sex/ group Charles River CD (Sprague- Dawley) Rats	2 years, inhalation	20	3: 50 ppm (13.3 mg/kg/day F and 9.32 mg/kg/day M), 200 ppm (52.7 mg/kg/day F and 36.9 mg/kg/day M), 600 ppm (158 mg/kg/day F and 111 mg/kg/day M)	Nasal, Male	758 ^b

NC – Not Calculated

^a Calculated based on ICH Q3C assumptions

^b Taken from the CPDB (Ref. 14). Carcinogenicity study selected for the AI calculation

^c Study not reported in CPDB, therefore TD₅₀ value calculated based on carcinogenicity data

発がん性の作用機序

2008年にリスク評価報告書を公表した欧州委員会の健康・環境リスクに関する科学委員会（SCHER）が、酢酸ビニルを評価している（1）。全体としてSCHERは、アセトアルデヒドの組織曝露が高く、同時に細胞増殖が亢進される場合にのみ酢酸ビニルの発がん性が生じるという結論を支持している。この作用機序から、アセトアルデヒドの細胞内濃度を上昇させない曝露レベルは、有害な細胞応答を引き起こさないことが示唆される。生理学的緩衝系が機能している限り、酢酸ビニルによる局所的な発がん作用は、げっ歯類の呼吸系組織における組織学的変化のNOELでは認められないはずである。しかし、SCHERは、局所濃度がNOEL以下での発がんリスクは、無視できるほど小さいにせよ、ないわけではないと指摘している。Hengstlerら（8）は、閾値用量反応を示すDNA反応性発がん物質として酢酸ビニルの例を提示しており、Albertini（2）もこれを説明している。アセトアルデヒドと同様に、酢酸ビニルは細菌を用いる標準的な復帰突然変異試験において変異原性を示さない。このことは、酢酸ビニルのDNA反応性と接触部位における発がん性はアセトアルデヒドへの代謝的変換により起こることの証拠となる。

アセトアルデヒドと酢酸ビニルの遺伝毒性プロファイルはほぼ同一であり、酢酸ビニルは、カルボキシルエステラーゼが介在しなければ染色体異常誘発活性を示さない（8）。つまり、酢酸ビニルの染色体異常誘発活性は、アセトアルデヒドの代謝生成に起因する。高濃度では、生成されたアセトアルデヒドのすべてが酵素活性により酸化されるわけではなく、その結果微小環境のpHが低くなる（12）。酢酸ビニルによる処置の後、内因性酢酸に継続的に曝露されることにより、有害作用（すなわち、細胞毒性や遺伝毒性）を伴わずに組織のpHが0.15単位低下したままとなる可能性がある（15）。ただし、この実質的な閾値を超えると、DNA損傷、細胞毒性及び再生細胞増殖が生じ、接触部位の腫瘍形成に至る。

動物2種において、雌雄を問わず、吸入及び経口投与のいずれでも、酢酸ビニルの発がん性の明らかな証拠が存在する。経口でも吸入でも、酢酸ビニルは投与後カルボキシルエステラーゼによって接触部位で速やかに酢酸とアセトアルデヒドに加水分解される（3、16）。酢酸ビニルへの曝露によって、曝露経路の最初の接触部位に腫瘍が形成される。用量反応関係は非線形と考えられ、観察される腫瘍反応は、活性化及び解毒に対する標的組織に特異的な酵素活性を反映している（2）。しかし、アセトアルデヒドのモノグラフで言及されているように、刺激作用と、がん発生に対する潜在的な変異原性作用とを区別できる測定データは公表されていない。

規制上の限度値や公表された限度値

酢酸ビニルについては、US EPA IRISデータベースにおいて、非発がん作用の吸入参照濃度（RfC）は0.2 mg/m³又は1日呼吸量を28.8 m³と仮定すると5.8 mg/dayと計算されている。RfCは、2年間の慢性試験においてラット及びマウスの鼻の嗅上皮の病理組織学的影響についてNOELとLOELの両方を特定したOwenら（1988）の報告から求めた、ヒト相当濃度5 mg/m³に基づいていた。総調整係数として30が適用された（17）。US EPAの報告書には、酢酸ビニルに生涯曝露された場合の発がん性評価は含まれていない。発がん性を有する物質の非発がん性の健康影響についてRfCが算出できると述べられており、また発がん性に関しては他の情報源を参照するよう記載されている。

経口曝露の許容1日曝露量（PDE）

PDE算出のための試験選択の根拠

経口投与後、酢酸ビニルはカルボキシルエステラーゼによって接触部位で速やかに酢酸とアセトアルデヒドに加水分解される。経口投与後の酢酸ビニルとアセトアルデヒド両方の発がん性に関する非線形用量反応の証拠の重みづけを考慮し、また、さまざまな食品によるアセトアルデヒドへの曝露の高さを踏まえ、推奨される経口PDEは、2 mg/dayというアセトアルデヒドに対して算出されたものに基づいている。

PDE（経口） = 2 mg/day

他のすべての経路に対する許容摂取量（AI）

AI算出のための試験選択の根拠

経口経路以外の投与経路については、AI算出のためにラットでの吸入発がん性試験(13)を用いた。この試験では、雌雄各60匹/群として3群が設けられた。ラットを1日6時間、週5日、2年間にわたって酢酸ビニルに曝露させた。ラットの鼻腔において発がん性が認められ、また雄でより感受性が高かった。雄ラットの鼻腔におけるTD₅₀は、CPDBに記載されている758 mg/kg/dayである。マウスを用いて吸入経路で投与された酢酸ビニルに関して入手可能な唯一の発がん性試験は陰性である(13)。そのため、AIの算出にはラット吸入試験を選択した。

発がん性の用量反応関係は、上述したように非線形と考えられているものの、実際の閾値と非線形変曲点とを区別できる測定データは公表されていない。したがって、AIは直線外挿を使用して計算した。

AIの算出

生涯 AI = TD₅₀/50000 × 50 kg

生涯 AI = 758 mg/kg/day/50000 × 50 kg

生涯 AI (その他すべての経路) = 758 µg/day

References

1. Scientific Committee on Health and Environmental Risks (SCHER). Risk Assessment Report on Vinyl acetate. 2008. Available from: URL: https://ec.europa.eu/health/archive/ph_risk/committees/04_scher/docs/scher_o_108.pdf
2. Albertini RJ. Vinyl Acetate Monomer (VAM) Genotoxicity Profile: Relevance for Carcinogenicity. Crit Rev Toxicol 2013;43:671-706.
3. European Chemicals Agency (ECHA). Summary Risk Assessment Report. Vinyl Acetate CASRN 108-05-4. 2008. Available from: URL: <https://echa.europa.eu/documents/10162/a3c24f78-4c8d-44e9-a424-24ac30c9c8aa>
4. International Agency for Research on Cancer (IARC). IARC monographs on the evaluation 403 of carcinogenic risks to humans. Vinyl Acetate. 1995;63:443. Available from: URL: <http://www.inchem.org/documents/iarc/vol63/vinyl-acetate.html>
5. Gold S, Zeiger E, et al. Handbook of Carcinogenic Potency and Genotoxicity Databases, 399 Boca Raton, FL: CRC Press. 1997. [Online]. Available from: URL: <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>
6. Maltoni C, Ciliberti A, Lefemine G, Soffritti M. Results of a long-term experimental study on the carcinogenicity of vinyl acetate monomer in mice. Ann N Y Acad Sci 1997;837:209-38.
7. Lijinsky W, Reuber MD. Chronic toxicity studies of vinyl acetate in Fischer rats. Toxicol Appl Pharmacol 1983;68:43-53.

8. Hengstler JG, Bogdanffy MS, et al. Challenging Dogma: Thresholds for genotoxic carcinogens? The case of vinyl acetate. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2003;43:485-520.
9. Umeda Y, Matsumoto M, et al. Carcinogenicity and chronic toxicity in mice and rats administered vinyl acetate monomer in drinking water. *J Occup Health* 2004;46:87-99.
10. Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). OECD 453 Guideline for the Testing of Chemicals: Combined Chronic Toxicity\Carcinogenicity Studies. 2009.
11. Minardi F, Belpoggi B, et al. Results of long-term carcinogenicity bioassay on vinyl acetate monomer in Sprague- Dawley rats. *Ann N Y Acad Sci* 2002;982:106-22.
12. Bogdanffy MS, Tyler TR, et al. Chronic toxicity and oncogenicity study with vinyl acetate in the rat: in utero exposure in drinking water. *Fundam Appl Toxicol* 1994;23:206-14.
13. Bogdanffy MS, Dreef-van der Meulen HC, Beems RB, Feron VJ, Cascieri TC, Tyler TR, Vinegar MB, Rickard RW. Chronic toxicity and oncogenicity inhalation study with vinyl acetate in the rat and mouse. *Fundam Appl Toxicol*. 1994;23:215-29.
14. Carcinogenicity Potency Database (CPDB). [Online]. Available from: URL: <https://files.toxplanet.com/cpdb/index.html>
15. Nedergaard M, Goldman SA, et al. Acid-induced death in neurons and glia. *J Neurosci* 1991;11:2489-97.
16. Robinson DA, Bogdanffy MS, et al. Histochemical localisation of carboxylesterase activity in rat and mouse oral cavity mucosa. *Toxicology*. 2002;180:209-20.
17. United States Environmental Protection Agency (USEPA). Integrated Risk Information System (IRIS). Vinyl acetate (CASRN 108-05-4). 1990. Available from: URL: http://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/subst/0512_summary.pdf

注 1

1-クロロ-4-ニトロベンゼンの計算された TD_{50} は、CPDB に記載されていないため、以下に示す。1-クロロ-4-ニトロベンゼンの計算は、最も感受性の高い腫瘍型である雌ラット副腎髄質褐色細胞腫 (1) に基づいた。投与量と発生率は以下の通りである。

ppm	Dose (mg/kg/day)	Number of Positive Animals	Total Number of Animals
0	0	3	50
50	1.9	6	50
225	9.8	4	50
1000	53.8	16	50

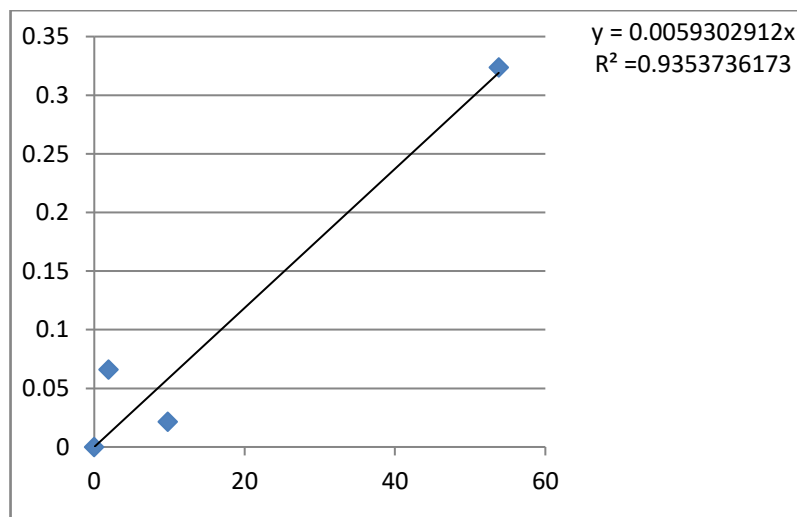
TD_{50} は、バックグラウンドに対する腫瘍発生率の要約データから、以下の式で計算される (2、3) :

$$\frac{P - P_0}{1 - P_0} = 1 - \exp(-\beta \cdot D)$$

ここで、 P は特定の用量 (式中の D) で観察された特定の腫瘍型を伴った動物の割合であり、 P_0 は対照群に対する特定の腫瘍型を伴った動物の割合である。 β と D を単純な線形方程式に変換すると、次のようになる:

$$-\ln\left(1 - \frac{p - p_0}{1 - p_0}\right) = \beta \cdot D$$

結果をプロットし、勾配を使用して β を表すと、用量反応つまり $\beta = 0.0059302912$ についての以下のグラフが得られる。



TD_{50} は、次のように計算される。

$$0.5 = 1 - \exp(-\beta \cdot TD_{50})$$

TD_{50} を求めると、次の式が得られる。

$$TD_{50} = \frac{0.693}{\beta}$$

したがって、TD₅₀は 0.693 / 0.0059302912 すなわち 116.9 mg/kg/day である。

References

1. Matsumoto M, Aiso S, Senoh H, Yamazaki K, Arito H, Nagano K, et al. Carcinogenicity and chronic toxicity of *para*-chloronitrobenzene in rats and mice by two-year feeding. *J. Environ Pathol Toxicol Oncol* 2006;25:571-84.
2. Gaylor DW, Gold LS. Quick estimate of the regulatory virtually safe dose based on the maximum tolerated dose for rodent bioassays. *Regul Toxicol Pharmacol.*1995;22:57-63.
3. Sawyer C, Peto R, Bernstein L, Pike MC. Calculation of carcinogenic potency from long-term animal carcinogenesis experiments. *Biometrics* 1984;40:27-40.

注 2

臭化エチルの TD₅₀ は CPDB で計算されているが、統計学的に有意な用量反応が得られていないため、同試験データを用いて以下の方法で計算した（臭化エチルのモノグラフを参照）。

ppm	Dose (mg/kg/day) ¹	Number of Positive Animals	Total Number of Animals
0	0	8	40
100	22.9	23	45
200	45.8	18	46
400	91.7	21	46

TD₅₀ は、各用量毎に以下の式で計算される（1、2）。

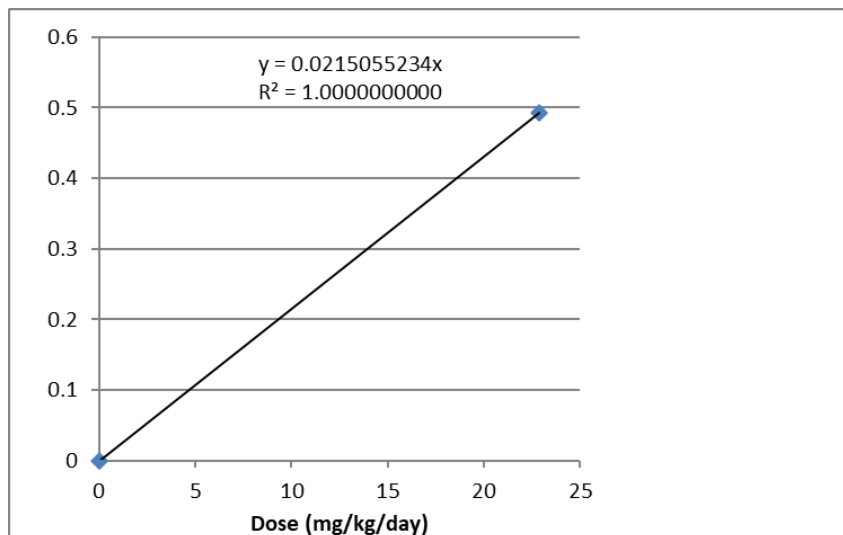
$$\frac{P - P_0}{1 - P_0} = 1 - \exp(-\beta \cdot D)$$

ここで、**P** は特定の用量（式中の **D**）で観察された特定の腫瘍を伴う動物の割合であり、**P**₀ は対照群における特定の腫瘍を伴う動物の割合である。**β** と **D** を単純な線形方程式に変換すると、次のようになる：

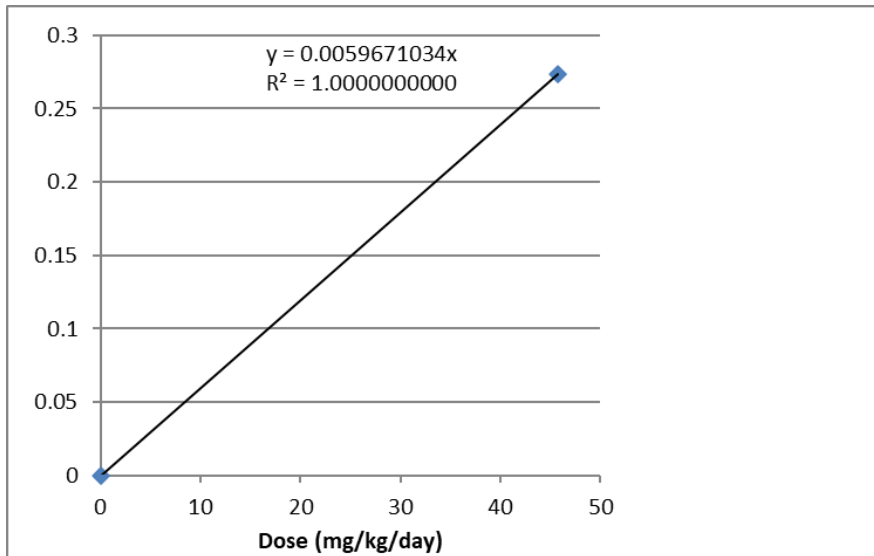
$$-\ln\left(1 - \frac{p - p_0}{1 - p_0}\right) = \beta \cdot D$$

結果をプロットし、勾配を使用して **β** を表すと、用量反応つまり低用量では **β** = 0.0215055234、中用量では 0.0059671034 及び高用量では 0.0042161616 として以下のグラフが得られる。

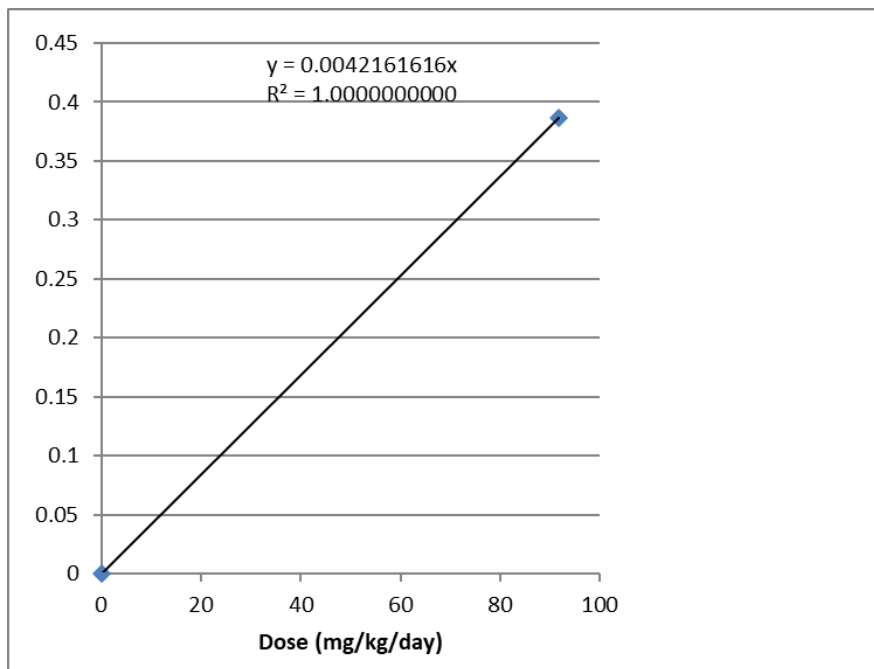
低用量



中用量



高用量



TD₅₀は、次のように計算される。

$$0.5 = 1 - \exp(-\beta \cdot TD_{50})$$

TD₅₀を求めると、次の式が得られる。

$$TD_{50 \text{ low dose}} = \frac{0.693}{0.0215055234}$$

$$TD_{50 \text{ mid dose}} = \frac{0.693}{0.0059671034}$$

$$TD_{50 \text{ high dose}} = \frac{0.693}{0.0042161616}$$

したがって、最も低い TD_{50} は $0.693 / 0.0215055234$ すなわち 32.2 mg/kg/day である。

References

1. Gaylor DW, Gold LS. Quick estimate of the regulatory virtually safe dose based on the maximum tolerated dose for rodent bioassays. *Regul Toxicol Pharmacol* 1995;22:57-63.
2. Sawyer C, Peto R, Bernstein L, Pike MC. Calculation of carcinogenic potency from long-term animal carcinogenesis experiments. *Biometrics* 1984;40:27-40.

注 3

ホルムアルデヒドの限度値は、215 ppb 又は 8 mg/day のいずれか低い方である。この記述から誤解が生じる可能性がある。すなわち、215 ppb という限度値は、（曝露限度値の根拠である）大気中のホルムアルデヒド濃度と解釈される可能性もあれば、原薬に対するホルムアルデヒドの濃度と解釈される可能性もある。以下の例から、原薬又は製剤中の限度値の算出方法を明確にすることができる。

例：アルブテロール硫酸塩アクチュエーターで、原薬中の不純物としてホルムアルデヒドが含まれる場合

- アルブテロールの各アクチュエーターは 90 µg の原薬を含有する。
- 原薬とその不純物はアクチュエーターから吸入される空気希釈される。成人男性の呼吸量は 500 mL、成人女性の呼吸量は 400 mL である（Physiology, Tidal Volume - StatPearls - NCBI Bookshelf (nih.gov)）。より保守的には、より呼吸量が少ない成人女性でホルムアルデヒドが空気希釈されるものとする。
- 大気中のホルムアルデヒドの濃度限度値（215 ppb）を、女性の呼吸量に基づくホルムアルデヒドの絶対量に変換する： $215 \text{ ppb のホルムアルデヒド} = 0.215 \times 30 \text{ g/mol (ホルムアルデヒドの分子量)} / 24.45 = 0.263 \text{ mg/m}^3$ 。 $0.263 \text{ mg/m}^3 \times 1 \text{ m}^3 / 1000 \text{ L} \times 0.4 \text{ L (女性の呼吸量)} = 0.105 \text{ µg のホルムアルデヒド}$
- 対応する原薬中の限度値を算出する： $0.105 \text{ µg のホルムアルデヒド} / 90 \text{ µg の原薬} = 0.12\%$

例：アルブテロール硫酸塩アクチュエーターで、製剤中の不純物としてホルムアルデヒドが含まれる場合

- アルブテロールの各アクチュエーターは 35 mg の製剤を含有する。
- 大気中の限度値である 215 ppb に関連するホルムアルデヒドの絶対量は同じ、すなわち 0.105 µg のホルムアルデヒドである。
- 対応する製剤中の限度値を算出する： $0.105 \text{ µg のホルムアルデヒド} / 35 \text{ mg の製剤} = 3 \text{ ppm}$

注 4

ヒドラジンの計算された TD_{50} は、CPDB に記載されていないため、以下に示す。ヒドラジンの計算は、最も感受性の高い腫瘍型である雌ラットの肝細胞腺腫及び/又は癌腫 (1) に基づいた。投与量と発生率は以下の通りである。

ppm	Dose (mg/kg/day)	Number of Positive Animals	Total Number of Animals
0	0	1	50
20	1.28	0	50
40	2.50	3	50
80	5.35	6	50

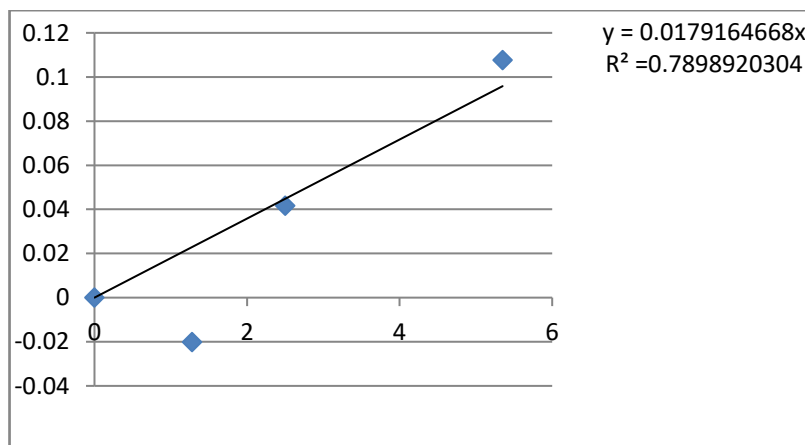
TD_{50} は、バックグラウンドに対する腫瘍発生率の要約データから、以下の式で計算される (2, 3) :

$$\frac{P - P_0}{1 - P_0} = 1 - \exp(-\beta \cdot D)$$

ここで、 P は特定の用量 (式中の D) で観察された特定の腫瘍型を伴った動物の割合であり、 P_0 は対照群に対する特定の腫瘍型を伴った動物の割合である。 β と D を単純な線形方程式に変換すると、次のようになる:

$$-\ln\left(1 - \frac{p - p_0}{1 - p_0}\right) = \beta \cdot D$$

結果をプロットし、勾配を使用して β を表すと、用量反応つまり $\beta = 0.0179164668$ についての以下のグラフが得られる。



TD_{50} は、次のように計算される。

$$0.5 = 1 - \exp(-\beta \cdot TD_{50})$$

TD_{50} を求めると、次の式が得られる。

$$TD_{50} = \frac{0.693}{\beta}$$

したがって、 TD_{50} は $0.693 / 0.0179164668$ すなわち 38.7 mg/kg/day である。

References

1. Matsumoto M, Kano H, Suzuki M, Katagiri T, Umeda Y, Fukushima S. Carcinogenicity and chronic toxicity of hydrazine monohydrate in rats and mice by two-year drinking water treatment. *Regul Toxicol Pharmacol* 2016;76:63-73.
2. Gaylor DW, Gold LS. Quick estimate of the regulatory virtually safe dose based on the maximum tolerated dose for rodent bioassays. *Regul Toxicol Pharmacol*.1995;22:57-63.
3. Sawyer C, Peto R, Bernstein L, Pike MC. Calculation of carcinogenic potency from long-term animal carcinogenesis experiments. *Biometrics* 1984;40:27-40.

注 5

塩化メチルの計算された TD_{50} は、CPDB に記載されていないため、以下に示す。塩化メチルの試験 (1、2) は吸入に基づいているため、吸入させた ppm 濃度は用量に換算する必要がある。

ppm	Dose (mg/kg/day) ¹	Number of Positive Animals	Total Number of Animals
0	0	0	67
50	28	0	61
225	127	2	57
1000	566	22	86

¹ ppm to mg/kg/day conversion – X ppm x 50.5 g/mol (mol weight)/24.45 x 0.043 (breathing volume) x 6/24 hours x 5/7 days / 0.028 kg (mouse weight) = dose mg/kg/day

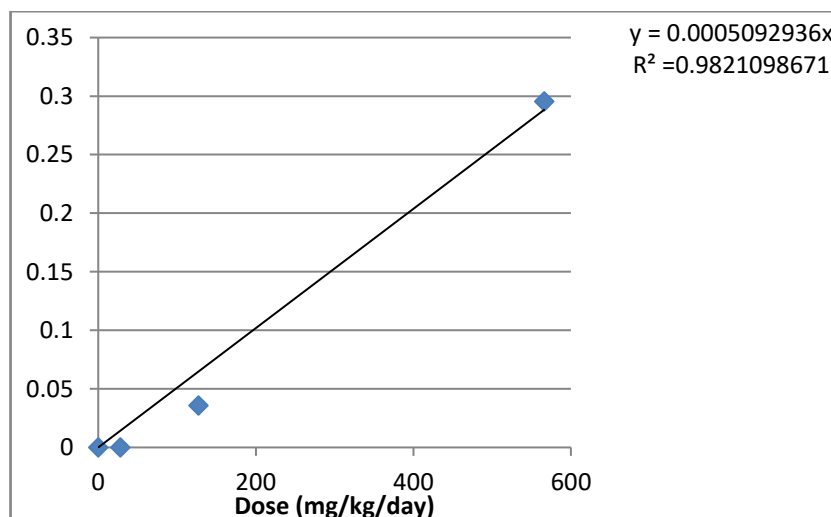
TD_{50} は、バックグラウンドに対する腫瘍発生率の要約データから、以下の式で計算される (3、4) :

$$\frac{P - P_0}{1 - P_0} = 1 - \exp(-\beta \cdot D)$$

ここで、 P は特定の用量 (式中の D) で観察された特定の腫瘍型を伴った動物の割合であり、 P_0 は対照群に対する特定の腫瘍型を伴った動物の割合である。 β と D を単純な線形方程式に変換すると、次のようになる:

$$-\ln\left(1 - \frac{p - p_0}{1 - p_0}\right) = \beta \cdot D$$

結果をプロットし、勾配を使用して β を表すと、用量反応つまり $\beta = 0.0005092936$ についての以下のグラフが得られる。



TD_{50} は、次のように計算される。

$$0.5 = 1 - \exp(-\beta \cdot TD_{50})$$

TD_{50} を求めると、次の式が得られる。

$$TD_{50} = \frac{0.693}{\beta}$$

したがって、 TD_{50} は $0.693 / 0.0005092936$ すなわち 1360.7 mg/kg/day である。

References

1. CIIT. Final report on a chronic inhalation toxicology study in rats and mice exposed to methyl chloride. Report prepared by Battelle Columbus Laboratories for the CIIT. 1981 EPA/OTS Doc #878212061, NTIS/OTS0205952.
2. US EPA. Toxicological review of methyl chloride. (CAS No. 74-87-3). In Support of Summary Information on the IRIS. EPA/635/R01/003. 2001.
3. Gaylor DW, Gold LS. Quick estimate of the regulatory virtually safe dose based on the maximum tolerated dose for rodent bioassays. Regul Toxicol Pharmacol.1995;22:57-63.
4. Sawyer C, Peto R, Bernstein L, Pike, MC. Calculation of carcinogenic potency from long-term animal carcinogenesis experiments. Biometrics 1984;40:27-40.