

部分翻訳

**European Union  
Risk Assessment Report  
CHLORODIFLUOROMETHANE  
CAS No: 75-45-6  
November 2007**

欧州連合  
リスク評価書（2007年11月最終承認版）  
クロロジフルオロメタン

**European Union Risk Assessment Report  
Chlorodifluoromethane  
CAS-No.: 75-45-6  
EINECS-No.: 200-871-9  
Risk Assessment  
*FINAL APPROVED VERSION***

国立医薬品食品衛生研究所 安全情報部  
2014年2月

本部分翻訳文書は、chlorodifluoromethane (CAS No: 75-45-6)に関するEU Risk Assessment Report, (2007)の第4章「ヒト健康」のうち、第4.1.2項「影響評価：有害性の特定および用量反応関係」を翻訳したものである。原文(評価書全文)は、

[http://esis.jrc.ec.europa.eu/doc/risk\\_assessment/REPORT/chlorodifluoromethanereport053.pdf](http://esis.jrc.ec.europa.eu/doc/risk_assessment/REPORT/chlorodifluoromethanereport053.pdf)  
を参照のこと。

#### 4.1.2 影響評価：有害性の特定および用量（濃度）-反応（影響）評価

##### 4.1.2.1 トキシコキネティクス、代謝、および分布

###### 4.1.2.1.1 動物における試験

###### 吸収

クロロジフルオロメタンの吸入濃度と血中濃度の関係が、麻酔を施したラットにおいて検討されている(Carney, 1977)。混和槽を経て気管に挿入されたカニューレに送り出される空気について、クロロジフルオロメタン濃度の測定を実施した。15分後、頸動脈から血液試料を採取し、クロロジフルオロメタンの供給を停止し、その後、間隔をあけてさらに血液試料を採取して、血中からの消失速度を推算した。雌雄4匹ずつのラットを用い、予定濃度は10,000もしくは50,000 ppm (35,000もしくは175,000 mg/m<sup>3</sup>)とした。その結果、クロロジフルオロメタンの吸入濃度と血中濃度との間には、正の相関が認められた。吸入濃度が10,000 ppmの場合は、平均血中濃度は31 mg/Lであった。吸入濃度が50,000 ppmの場合は、平均血中濃度は155 mg/Lであった。曝露後のクロロジフルオロメタンの血中からの消失は速やかで、半減期は約3分であった。

同様の結果が、ウサギを用いた試験で報告されている(Sakata et al., 1981)。フェノバルビタール(25 mg/kg、腹腔内投与)で麻酔を施したウサギに、クロロジフルオロメタンと空気の混合組成物を、プラスチック製マスクを介して吸入させ、大腿動脈に装着したカテーテルから血液試料を採取した。吸入されたクロロジフルオロメタンの濃度は、50,000 ppm (175,000 mg/m<sup>3</sup>)から、400,000 ppm (1,400,000 mg/m<sup>3</sup>)という高値にまで及んでいた。

クロロジフルオロメタンの血中濃度は、どの吸入濃度の場合でも、吸入開始から速やかに上昇した。約5分で飽和状態に達した。血中濃度は、クロロジフルオロメタンの吸入濃度に正比例した。曝露を停止すると、血中濃度は速やかに低下し、半減期は最速で1分であった。15~30分後には、吸入濃度に関係なく、血中クロロジフルオロメタン濃度は、同様に

低値となった。血中濃度が検出限界よりも低値となるには、さらに1時間を要した。

ウサギを 1000 ppm (3500 mg/m<sup>3</sup>) のクロロジフルオロメタンに曝露した試験では、肺胞吸収率は、総用量の 3.15% であったと報告されている (Ding et al., 1980)。この試験については、詳細な報告を欠いているため、評価することができない。

妊娠ラットを、クロロジフルオロメタンに、250~175,000 ppm (875~612,500 mg/m<sup>3</sup>) の空气中濃度で曝露した試験が行われている。様々な間隔で血液試料が採取され、その結果、クロロジフルオロメタンは血中で速やかに平衡状態に達し、曝露を解除すると即座に排出された。最高曝露量の場合、血中濃度は 30 分後に 118.5 mg/L に達し、さらに 5.5 時間曝露しても大きな上昇は見られなかった (121 mg/L)。曝露中止後 30 分には、血中濃度は 3.55 mg/L まで減少した (Woollen, 1988)。

## 分布

Sakata et al. (1981) は、ウサギに最大濃度 400,000 ppm (1,400,000 mg/m<sup>3</sup>) で吸入させた際の、組織中のクロロジフルオロメタンの量を測定している (詳細は上述)。組織中濃度に関しては、脂肪組織を除いて、大きなばらつきは認められなかった。脂肪組織では、吸入時間が長かった (高曝露) 場合と短かった (低曝露) の場合とで、差異が認められた。著者は、このような影響について、脂肪組織では血流が乏しいことで吸収が比較的遅くなるが、脂肪での溶解性は高いので最終的な組織濃度は高くなるのではいかと推論している。

## 代謝変換

<sup>14</sup>C や <sup>36</sup>Cl で放射性標識したクロロジフルオロメタンを用いて、*in vivo* 試験が実施されている (Salmon et al., 1979)。ラットを特別に作製した容器に 1 匹ずつ入れて、クロロジフルオロメタンを含む空気に曝露した。容器の気体に触れる面は、すべてガラスないしは金属であった。<sup>14</sup>C クロロジフルオロメタンを用いて曝露試験は 3 件行われ、空气中濃度は 500 もしくは 10,000 ppm (1,750 もしくは 35,000 mg/m<sup>3</sup>) で、曝露時間は 15~24 時間であった。呼気中の CO<sub>2</sub> を、水酸化バリウムに吸収させて回収し、その放射活性を測定した。尿と糞便を別々の試料容器に回収し、0°C に冷却した。その後、尿は直接的に、糞便は適切に酸化処理を施してから、放射化学測定に供した。<sup>36</sup>Cl クロロジフルオロメタンを用いた試験でも、同様の曝露条件、試料採取条件が適用され、曝露濃度は 10,000 ppm (35,000 mg/m<sup>3</sup>)、曝露時間は 17.5 時間であった。

これらの試験結果から、クロロジフルオロメタンは、ラットにおいて、わずかし代謝さ

れないことが示された。呼出された  $^{14}\text{CO}_2$  は、500 ppm (1750 mg/m<sup>3</sup>) の濃度で吸入されたクロロジフルオロメタンのうちの約 0.1%、および、10,000 ppm (35,000 mg/m<sup>3</sup>) の濃度で吸入されたうちの約 0.06% に相当する量であった。尿中の  $^{14}\text{C}$  量も少なく、吸入量の約 0.03 および 0.01% (クロロジフルオロメタン濃度がそれぞれ 1750 および 35,000 mg/m<sup>3</sup> の場合) に相当する量であった。糞便にはわずかな量しか検出されなかった。

$^{36}\text{Cl}$  標識を用いた試験では、吸入量の 0.01% しか尿中には検出されず、 $^{14}\text{C}$  標識を用いた試験で得られた結果を支持するものであった。観察されたこのようなわずかな代謝が、クロロジフルオロメタンに関連するものなのか、被験物質に含まれていた不純物質によるものなのかははっきりしない。Salmon et al. (1979) は、*in vitro* 試験もいくつか行っている。アロクロール 1254 で誘導したラット肝細胞ミクロソームと NADPH、および  $^{36}\text{Cl}$  標識したクロロジフルオロメタン (濃度域 0.2~1.3 mM) を、連続注入器の中でインキュベーションした。2 分間隔で試料採取し、分析に供した。

放出された  $^{36}\text{Cl}$  イオンを塩化銀として分離し、シンチレーション計測により量を算定した。上述の試験条件では、クロロジフルオロメタンからの塩素イオンの放出は見られず、このことから、クロロジフルオロメタンは生体系での分解に対して抵抗性を有することがさらに示された。

Peter et al. (1986) は、Wistar ラットにクロロジフルオロメタンを腹腔内注射したが、代謝されなかったことを確認している。ラットは、クロロジフルオロメタンを単回腹腔内注射され、その後、気体試料がクロマトグラフ装置に導かれるように設定された閉鎖系容器に置かれた。ラットの呼出により、その容器内のクロロジフルオロメタン濃度は、1 時間にわたって上昇した。容器内の濃度は、その後、非常にゆっくり低下していった。また、動物をフェノバルビタールやジクロロジフェニルトリクロロエタン (DDT) で前処置した場合でも、得られた結果に相違は無かった。著者は、クロロジフルオロメタンの代謝的排出は検出できないと結論付けている。B6C3F1 マウスを用いた確認試験も行われたということであるが、データは提示されていない。

## 排出

クロロジフルオロメタンの代謝産物を検出する試験が行われている (Salmon et al., 1979)。ラットを 35,000 mg/m<sup>3</sup> のクロロジフルオロメタンに曝露したところ、尿中には、曝露用量の 0.01% しか回収されなかった (上述参照)。

ウサギを 50,000~400,000 ppm (175,000~1400,000 mg/m<sup>3</sup>) のクロロジフルオロメタンに曝露して、その排出を調べた試験が行われている (Sakata et al., 1981)。曝露を停止すると、血中

濃度は速やかに低下し、最速半減期は1分であった。吸入濃度に関係なく、15～20分後、クロロジフルオロメタンの血中濃度は、27～31 mg/Lであった。濃度が検出限界よりも低値となるには、さらに1時間を要した。肺胞内の空気において、クロロジフルオロメタンの分圧が0になると、クロロジフルオロメタンは速やかに血中から消失し、血流が乏しい組織からは、その後、穏やかに排除された。

#### 4.1.2.1.2 ヒトにおけるデータ

##### 吸収および排出

ヒトにおけるクロロジフルオロメタンの取り込みと排出に関して、Woollen et al.(1992)により試験が行われている。3人ずつの男性被験者からなる2群に対し、平均空気中濃度327もしくは1833 mg/m<sup>3</sup>(92もしくは517 ppm)のクロロジフルオロメタンへの曝露を4時間行った。曝露期間中および曝露後26時間まで、血液や呼気の試料採取を行い、クロロジフルオロメタンの分析を行った。曝露後22時間まで尿試料を採取し、クロロジフルオロメタンやフッ化物イオンの分析を行った。曝露期間中に、血中クロロジフルオロメタン濃度は定常状態に達した。最高血中濃度(0.25および1.36 µg/mL)は、曝露量と比例していた。

曝露期間中における呼気中のクロロジフルオロメタン濃度は、曝露濃度と同等であった。血中濃度と呼気中濃度の比は、曝露期間終了時近くでは、平均で0.77であった。この値は、ヒトの血液におけるクロロジフルオロメタンの溶解性に関する *in vitro* 測定値と整合している(血液/空気分配係数=0.79)。

曝露後の期間には、3つのクロロジフルオロメタン排出相が現れ、それぞれの半減期は、0.005、0.20および2.6時間であった。第1相は、呼気の測定からのみ確認できるものであったが、血液からや血流の速やかな組織からの排出に相当するものと考えられる。第2および第3相は、それぞれ血流の遅い組織から、および脂肪からの排出に相当するものと考えられる。

曝露後の期間に採取された尿試料中のクロロジフルオロメタン濃度は、どちらの曝露量の場合も低値であった(それぞれ0.02および0.15 mg/mL)。濃度は曝露後に急激に減少し、その減少速度は、血液と呼気での測定から求められた期間排出速度と整合していた。クロロジフルオロメタン(HCFC-22)の尿中排出半減期は、2.8時間であった。

曝露後に期間に呼気中に回収されたHCFC-22の量の平均値は、327と1833 mg/m<sup>3</sup>という2つの設定用量で、それぞれ18.7および95.1 mgであった。どちらの場合も、曝露期間に吸入された総量からみると、わずかな割合(<2.7%)にすぎない。

## 分布

漁船での作業中における人身事故の3日後、2人の死亡者から主要組織試料を採取し、ガスクロマトグラフィーにより、クロロジフルオロメタン含量を推計した。得られた知見を Table 4.6a に示す。推計濃度は、ウサギをクロロジフルオロメタンで窒息死させてから3日後に測定した値と同等であった (Morita et al., 1977)。

ヒトの母乳から検出される有機化合物の調査において、クロロジフルオロメタンが12試料中の1つから検出された。クロロジフルオロメタンは、この調査で検出された184の化合物の内の1つであった。曝露や検出時の量的数値に関する情報は提示されていない (Pellizzari et al., 1982)。

2人の船員がクロロジフルオロメタンの被害に遭い、その結果死亡した。この事故は、船着き場で船の冷媒系を定期点検中に、フィルターが断裂し、最初の船員がクロロジフルオロメタンが充満 (濃度は提示されていない) した船室に入ったために発生した。2番目の船員は、仲間の船員を支援するために、同じ部屋に入室した。事故の16時間後、両犠牲者の死後剖検が実施されて、血液、尿、胆汁および硝子体液の試料が採取され、GC/MS を用いて、クロロジフルオロメタンの含量が推計された。得られた知見は Table 4.6b に示されている (Kintz et al., 1996)。

Table 4.6 Chlorodifluoromethane levels in post-mortem samples from deceased victims following over-exposure.  
a) from Morita et al., 1977 (levels in  $\mu\text{l/g}$ )

	Brain	Lung	Liver	Kidney	Blood
Subject A	68	18	71	18	69
Subject B	100	20	92	8	130

b) from Kintz et al., 1996 (levels in  $\mu\text{l/ml}$ )

	Urine	Bile	Vitreous Humour	Blood
Subject A	1.7	1.3	1.0	37.1
Subject B	0.9	1.3	0.7	26.0

## 転換

ヒトにおけるクロロジフルオロメタンの転換については、1件の報告以外にデータは得られていない。その報告では、ボランティアを92もしくは517 ppm (322もしくは1809.5  $\text{mg/m}^3$ ) のクロロジフルオロメタンに4時間曝露したところ、フッ化物イオンの上昇は見られず、代謝されにくいことが示唆されている (Woollen et al. 1992)。

#### 4.1.2.1.3 トキシコキネティクス、代謝および分布の要約

動物における試験から、クロロジフルオロメタンは吸入経路では、速やかに吸収されて血流へと移行することが示されており、吸入濃度の75~80%で血中濃度が平衡状態となった。クロロジフルオロメタンは実質的に代謝されず、非常に速やかに(半減期は1分未満)そして大幅に、呼気中に未変化のまま排出され、体内保持時間は非常に短いことが示されている。

したがって、吸入による吸収量は、1日どのくらいの時間曝露されたかによって決まる。曝露の開始時には吸収量は高いが、平衡に達してしまうと吸収量は低くなる。十分に長期の連日曝露試験から、曝露経路特異的なNOAEL値が得られることが知られている。したがって、平衡状態到達という現象は、それらNOAEL値に反映されており、リスクの総合判定で考慮する必要は無い。

放射性標識した被験物は、尿中にほんのわずか(投与量の0.1%に遠くおよばない)しか検出されていない。クロロジフルオロメタンは、ヒトにおいても同様の性質を示す。すなわち、血中濃度はすぐに平衡に達し(血中/呼気中分配比は0.77)、呼吸で速やかに排出され、代謝されるのは少量で、尿中にはほんのわずかしか排出されない。したがって、ヒトにおけるクロロジフルオロメタンの毒性動態に関し、動物試験は、合理的に考えて、適切なモデルとなり得る。

#### 4.1.2.2 急性毒性

##### 経口ならびに経皮毒性

クロロジフルオロメタンの急性経口ならびに急性経皮毒性については、次の2つの理由から、検討が行われていない。

1)クロロジフルオロメタンは、常温・常圧で気体であり、沸点は-40°Cである。加圧下でしか液体として維持できないため、経口投与することができない。Longstaff et al.(1984)が報告しているように、クロロジフルオロメタンを有機溶媒に溶解して経口投与することは可能であるかもしれない。そこでは、クロロジフルオロメタンの3%溶液を、ラットに対し、300 mg/kg bw/日の用量で、反復投与したとされている。しかし、それ以上の用量に増やした場合、おそらく被験物質は動物の胃において揮発してしまい、物理的な有害影響を及ぼすと考えられる。経皮曝露に関しては、被験物質蒸気を皮膚に保持させることはできるかもしれないが、その場合、適用用量はほんのわずかになってしまうと考えられる。

2) 経口および経皮曝露経路は、ヒトにおけるクロロジフルオロメタンへの急性曝露とは関連性が無い。クロロジフルオロメタン製品は気体であり、ヒトが労働現場で遭遇する曝露は、ほとんどの場合、漏えい排出物によるものと考えられる。労働現場での経口曝露は、非常に考えにくい。同様に、経皮曝露も通常考えにくく、それが起きるとすれば、突然の漏出や停止不能の放出があった場合に限られると思われる。皮膚との接触に関しては、液体のクロロジフルオロメタンはすぐに気化してしまい、皮膚が局所的に冷やされた結果、凍傷が発生すると考えられる。液体との接触は、経皮吸収が起きないほど短時間であると考えられる。

このような言及に反し、文献中に、クロロジフルオロメタンの経口毒性試験の報告が 1 件得られている。Antonova et al.(1983)は、ラットに、2700 mg/L の濃度のクロロジフルオロメタン水溶液を、4 mL 経口投与したが、毒性徴候を認めていない。しかしながら、クロロジフルオロメタンのヘンリー則定数は大きく ( $2500 \text{ Pa m}^3/\text{mol}$  超)、実際の被験物質濃度は、目標濃度よりもはるかに低いと思われることから、上述のデータには疑義が残る。

#### 4.1.2.2.1 動物における試験

##### 吸入毒性

文献中に、クロロジフルオロメタンの吸入毒性試験が、何件か報告されている。ラット、マウスおよびモルモットで死亡例が報告されており、その際のクロロジフルオロメタンの濃度は 220,000~365,000 ppm ( $770,000\sim 1,277,500 \text{ mg/m}^3$ ) であり、曝露期間は 15~240 分であった。これらの試験で認められたクロロジフルオロメタンの致死濃度の概要を、Table 4.7 に示す。

哺乳動物種においては、クロロジフルオロメタンは低い毒性を示し、特徴的に見られた影響は、CNS の抑制である。クロロジフルオロメタンに曝露されたラットにおいて、CNS の抑制という臨床症状が認められた閾値濃度は、5.0% であり、2.5% では、120 分の曝露でも、影響は全く観察されなかった (Weigand, 1971)。ラットで見られた毒性症状は、四肢や頭部の振戦、痙攣、昏睡、浅呼吸、および呼吸抑制による脂肪である。死亡が起きたのは、いつも曝露中であった。致死に及ばない曝露の場合、回復は速やかであった。ラットは 10 分以内に正常な様子となり、後遺症が遅れて現れることもなかった。ラットを 10 分間曝露した場合における、CNS への影響についての  $EC_{50}$  は、140,000 ppm ( $490,000 \text{ mg/m}^3$ ) であった (Clark and Tinston 1982)。

ウサギをクロロジフルオロメタンに曝露した試験が行われている。濃度を最高 40% まで上

EURAR: CHLORODIFLUOROMETHANE

昇させながら最長 70 分間曝露した例や、50,000~400,000 ppm (175,000~1400,000 mg/m<sup>3</sup>) の範囲の一定濃度で 30 分間曝露した例が報告されている。ウサギで見られた毒性症状は、ラットで観察されたものと同様であり、すなわち、協調運動失調などの CNS 抑制症状であった。症状は、次の様に進展したと記載されている。a)四肢のよろつき、b)前肢の虚脱、c)転倒、d)口や鼻からの粘液の流出、散瞳と流涙、e)走り回りなど、体と四肢の激しい動き、f)チアノーゼ、および、g)高濃度 (300,000 ppm 超, 1050,000 mg/m<sup>3</sup> 超) の場合における死亡。死亡後の検査により、ウサギの死因は窒息であったことが確認されている (Sakata et al. 1981)。

Table 4.7 Acute inhalation studies - lethality

Species	Concentration ppm	Exposure period min.	Effects	Reference
Monkey	200,000	5	Non lethal	Aviado & Smith 1974
Dog	700,000	90	Lethal	Poznak & Artusio 1960
Rabbit	300,000	30	Minimum Lethal Concentration	Sakata et al. 1981
Guinea Pig	400,000	120	Lethal	Weigand 1971
Guinea pig	300,000	120	Non lethal	Weigand 1971
Guinea pig	>200,000	120	Approximate lethal Concentration	Nickolls 1940 cited in Waritz 1971
Rat	600,000	2	Non lethal	Pantaleoni & Luzi 1975a,b
Rat	400,000	120	Lethal	Weigand 1971
Rat	350,000	15	LC50	Clark & Tinston 1982
Rat	300,000	120	Minimum lethal concentration	Weigand 1971
Rat	250,000	240	Minimum lethal concentration	NIOSH 1976
Rat	220,000	240	LC50	Litchfield & Longstaff 1984
Rat	200,000	120	Non lethal	Weigand 1971
Mouse	370,000	120	Minimum Lethal Concentration	Karpov 1963b
Mouse	320,000	120	Non lethal	Karpov 1963b
Mouse	280,000	30	LC50	Sakata et al. 1981

#### 4.1.2.2.2 ヒトにおける試験

##### 偶発曝露事例

フッ化炭素化合物が関連した主要な災害は、一般的に、狭い空間にこれらの化合物が蓄積して酸素を追い出してしまうことによる。このような状況になると、窒息による死亡が起こることがある。いくつかの論文で、冷蔵産業や大規模な冷蔵設備を使用する場所における、HCFC-22 への偶発的な曝露事例が報告されている。Morita et al.(1977)は、遠洋漁船における冷媒ガスへの曝露による死亡例 6 件を報告している。犠牲者のうち 2 人は、検死にかけられたが、これといった肉眼的変化は認められなかった。主要臓器すべてについて組織病理学的検査を行ったところ、肺は水腫性となっており、肝臓では、主として辺縁部において、細胞質中に細かい脂肪滴が存在していた。他には、死亡に関連すると思われる所見は認められなかった。著者は、その死因はおそらく、酸素欠乏からの窒息であると考えている。クロロジフルオロメタンへの過剰曝露による窒息という、同様の事例が、Haba and Yamamoto(1985)により報告されている。

冷蔵装置修理に携わる従業員についても、窒息による死亡事例が、いくつか報告されている。クロロジフルオロメタンへの過剰曝露後に、意識不明や死亡に陥った例が、著者不明の情報源から報告されている(1992)。さらに、配管工の死亡例に関する報告も為されている。その配管工は、クロロジフルオロメタンへの過剰曝露により意識不明となり、作業にあっていたパイプから流出した水により溺死したと考えられている(Dal Grande et al.,1992)。別の症例報告(Kintz et al., 1996)では、2 名がクロロジフルオロメタンの被害を受け、死亡に至っている(状況の詳細については 4.1.2.1.2 項を参照)。犠牲者は 2 名とも検死を受けたが、肺水腫が存在した以外、所見については、「目立ったものは無し」と記載されている。

#### 4.1.2.2.3 心臓感作性および心臓へのその他の影響

##### 動物における試験

クロロフルオロカーボン化合物は、心臓を感作して、アドレナリン誘発性不整脈に対する感受性を亢進することが知られている(Reinhardt et al. 1971; Zakhari & Aviado 1982)。

クロロジフルオロメタンが及ぼす心臓血管系への影響について、そのデータを Table 4.8 にまとめた。

Reinhardt et al.(1971)および Mullin(1975)は、ビーグル犬を用いて、クロロジフルオロメタ

## EURAR: CHLORODIFLUOROMETHANE

ンのアドレナリンに関する心臓感作誘発性を検討した。各群 12 匹に対し、25,000 もしくは 50,000 ppm (87,500 もしくは 175,000 mg/m<sup>3</sup>) の濃度で、ガスマスクを介して曝露を行った。曝露の 5 分後、アドレナリン (0.008 mg/kg) を注射して感作惹起を行った。25,000 ppm (87,500 mg/m<sup>3</sup>) のクロロジフルオロメタンに曝露されたイヌでは、心臓感作は認められなかった。50,000 ppm (175,000 mg/m<sup>3</sup>) に曝露された 12 匹のうち 2 匹が、心臓感作を発現した。

アドレナリンに関する心臓感作については、イヌを 5 分間クロロジフルオロメタンへの曝露した場合にその 50% に感作が誘発された量、すなわち EC<sub>50</sub> は、140,000 ppm (490,000 mg/m<sup>3</sup>) とされた (Clark & Tinston, 1982)。

Aviado and Belej (1974) は、麻酔した Swiss マウスを、顔面に装着したマスクを介して、200,000 ppm (700,000 mg/m<sup>3</sup>) ないしは 400,000 ppm (1,400,000 mg/m<sup>3</sup>) の濃度で、6 分間曝露した試験を行っている。この試験では、アドレナリン注射有りもしくは無しの条件で行われ、有りの場合は、0.006 mg/kg を曝露の 1 分後に注射した。不整脈は、高濃度で曝露してアドレナリンを投与した場合にのみ認められた。不整脈は、ネコを、40% (400,000 ppm, 1,400,000 mg/m<sup>3</sup>) のクロロジフルオロメタンに 10 分間曝露し、その後 0.1 もしくは 1 µg/kg のアドレナリンを注射した試験においても認められている (Branch et al. 1990)。

心臓への他の影響も観察されている。Belej et al. (1974) は、クロロジフルオロメタンの心臓血管系への影響を、ペントバルビタールで麻酔したサルを用いて検討した。気管カニューレを介し、クロロジフルオロメタンを、約 100,000 ppm (350,000 mg/m<sup>3</sup>) ないしは 200,000 ppm (700,000 mg/m<sup>3</sup>) の濃度で、5 分間投与した。その後、心臓機能が評価された。各曝露濃度群のサルで、心筋収縮性や大動脈血圧の低下だけが、軽度だが有意に認められた。

Pantaleoni and Luzi (1975a,b) は、ラットを非常に高い濃度 (空気中濃度 15, 30 および 60%) で曝露し、様々な心臓機能測定を行った。空気中濃度が 300,000 から 593,000 ppm (1,050,000 から 2,075,500 mg/m<sup>3</sup>) のクロロジフルオロメタンに 2 分間曝露した場合、心拍数の減少、心収縮力の低下とそれに続く頸動脈圧低下、動脈性低血圧、および心電図における変化が認められた。

上述の両試験において、諸パラメータは、通常空気での呼吸に戻して 2 分以内に正常化した。

Table 4.8 Cardiovascular function studies

Species	Concentration ppm	Duration minutes	Effects	References
<b>Cardiac sensitisation</b>				
Dog	50,000	5	Lowest concentration causing cardiac sensitisation with exogenous adrenaline	Mullin, 1975
	50,000 25,000	5	Cardiac sensitisation with exogenous adrenaline No effects with exogenous adrenaline	Reinhardt et al., 1971
	140,000	5	EC50 for cardiac sensitisation with exogenous adrenaline	Clark & Tinston 1982
<b>Other cardiac effects</b>				
Mouse	200,000 400,000	6	No arrhythmia with or without exogenous adrenaline Arrhythmia seen only with exogenous adrenaline	Aviado & Belej 1974
Rat	300,000-593000	2	Decreased heart rate and changes in ECG	Pantaleoni & Luzi 1975 a
	300,000-593000	2	Decreased myocardial contractility, ECG changes and arterial hypotension	Pantaleoni & Luzi 1975 b
Monkey	100,000 200,000	5	Depression of myocardial contractility Decreased aortic blood pressure	Belej et al. 1974

## ヒトにおけるデータ

動物データに基づくと、他の多くのフッ化炭素化合物と同様、非常に高い濃度で人が曝露された場合、心臓感作性は、危険事象を生じ得る。しかし、ヒトに関しては、明瞭な心臓感作例は報告されていない。

心臓への他の影響(動悸などの心臓律動における変化)が報告されているが、それらの影響と曝露との関係について、明確には実証されていない(Speizer et al., 1975; Antti-Poika et al., 1990; Edling et al., 1990)。

意図的に乱用・吸入したことによる急性中毒例が、いくつか報告されている。そのうちの1事例は、少年が小さな部屋で死亡しているのが発見されたもので、彼の口の近くには、クロロジフルオロメタンが入ったタンクのノズルが置かれていた(Garriot and Petty, 1980)。別の事例では、青年(16歳)が、エアロゾル容器から噴射剤を意図的に吸入したもので、その中には、制汗剤として、フェニルスルホン酸アルミニウムも含まれていた(Kamm, 1975)。

剖検所見から、全身性の組織鬱血や水腫が見られ、心室細動により死亡したことが明らかとなった。

#### 4.1.2.2.4 その他の影響

Aviado & Smith[1975、(訳注:原文では1974)]は、麻酔したサルを1匹用いて、クロロジフルオロメタンの試験を行っている。30 mg/kg のペントバルビタールナトリウムを静注して動物を麻酔し、気管に挿管を施した。心電図および大腿骨動脈血圧を記録した。気管空気流量および肺内外圧較差を測定し、そこから肺気道抵抗および肺圧縮率を推算した。200,000 ppm (700,000 mg/m<sup>3</sup>) のクロロジフルオロメタンに曝露したが、肺圧縮率、心拍数および大動脈血圧に、有意な変化はみられなかった。この濃度の曝露では、肺抵抗の値に、軽微だが有意な上昇が認められただけであった。

#### 4.1.2.2.5 急性毒性の要約

クロロジフルオロメタンへの、吸入経路での曝露による急性毒性は、非常に低い。様々な条件下で、また様々な施設で試験が行われているが、諸動物種で一貫した影響がみられている。クロロジフルオロメタンを急性吸入した後に現れる主要な毒性影響は、中枢神経系の抑制であるが、これは、極めて高い濃度においてのみ発現する。

経口および経皮曝露は、クロロジフルオロメタンにおいては重要な経路ではない。これらの経路によるクロロジフルオロメタンの急性毒性に関して、有益な情報を提供する試験の報告は得られていない。他のフッ化炭素化合物の多くと同様に、クロロジフルオロメタンは動物試験で心臓感作を誘発したが、それは非常に高濃度かつ急性の曝露の場合のみであった。イヌにおいて、アドレナリンに係る心臓感作性の誘発閾値濃度は、50,000 ppm (175,000 mg/m<sup>3</sup>) であり、NOAEC は、25,000 ppm (87,500 mg/m<sup>3</sup>) であった。非常に高濃度における動物試験においては、呼吸器への影響も認められている。

急性毒性に関して得られたデータは、以下のようにまとめられる。

死亡：ラットにおける4時間 LC<sub>50</sub> = 219,000 ppm (766,500 mg/m<sup>3</sup>) ; ラットにおける2時間 = 297,000 ppm (1,050,000 mg/m<sup>3</sup>)。

イヌにおける心臓感作：LOAEC = 50,000 ppm (175,000 mg/m<sup>3</sup>) および NOAEC = 25,000 ppm (87,500 mg/m<sup>3</sup>)。

急性毒性全般に関しては、NOAEC は、25,000 ppm (87,500 mg/m<sup>3</sup>) であり、LOAEC は 50,000

ppm (175,000 mg/m<sup>3</sup>)である。

#### 4.1.2.3 刺激性

##### 4.1.2.3.1 皮膚刺激性

クロロジフルオロメタンは室温で気体の状態をとるため、皮膚刺激テストそのものは行われていない。しかし、急性吸入毒性試験や反復投与吸入毒性試験の結果からは、動物を非常に高濃度で曝露した場合でも、臨床的観察中に、皮膚刺激の徴候はみられなかった。

液状にしたクロロジフルオロメタンについて、フランス共和国官報(J.O.R.F)1982年2月21日号に公表の手法に準拠し、ウサギを用いた皮膚刺激試験が行われている(Gonnet and Guillot, 1986)。被験物質をポリプロピレンで被覆して、6匹のウサギの無処置の皮膚および擦過処置した皮膚に、24時間適用した(0.5 mL)。被覆の除去時ならびに48時間後に、紅斑や浮腫の評価を行った。これらは、適用後24時間および72時間の時点に相当する。紅斑や浮腫の評点(24時間後の値+72時間後の値)は、平均でそれぞれ1.8および1.5であり、これらの値は、皮膚刺激物質としての分類に関する現行の基準に合致するものではない。試験で認められた軽微な刺激性影響は、クロロジフルオロメタンが有している刺激性によるものというよりは、物理的に気体化するために組織が冷却されるために引き起こされたものである、と強く類推される。

#### ヒトにおける試験

クロロジフルオロメタンは、加圧下で液状となるため、その形で偶発的に皮膚接触した場合、皮膚に凍傷を生じる可能性がある。

Wegner et al.(1991)は、加圧容器から放出されたクロロジフルオロメタン液に接触し、重度の凍傷を負った症例について報告している。7歳の男性が、容器からクロロジフルオロメタンを吸入して、「ハイ」な感覚を得ようと試みた。クロロジフルオロメタンは冷媒であり、気化の際に冷却効果を示す。クロロジフルオロメタンの麻酔性のため、彼は「ハイ」な状態にはならず、眠りに陥ってしまった。彼は、彼の兄弟により発見され、病院に運ばれたが、顔と左手に重度の凍傷を負っていた。顔の凍傷は、彼が目を開けられないほど重篤で、また、気道を確保するために挿管しなければならなかった。患者は回復したが、彼の顔には皮膚移植が必要であった(Kurbat et al., 1998)。

しかし、凍傷は、物理的な災害と考えるべきで、毒性学的な反応とみなされるべきではない。

#### 4.1.2.3.2 眼刺激性

##### 動物における試験

クロロジフルオロメタンは室温で気体の状態をとるため、眼刺激テストそのものは行われていない。急性吸入毒性試験での観察では、非常に高濃度の場合に流涙がみられただけで、眼の損傷の所見はなかった。液状にしたクロロジフルオロメタンについて、フランス共和国官報(J.O.R.F)1984年10月24日号および1985年9月2日号に公表の手法に準拠し、ウサギを用いた眼刺激試験が行われている(Gonnet and Guillot, 1986)。

6匹のウサギの右目に、液化ガス状態のクロロジフルオロメタンを、第1テストでは5秒間、第2テストでは30秒間噴霧し、その後洗浄は施さなかった。1時間後、24時間後、およびそれ以降は7日目まで毎日、観察・評点付けを行った。両テストにおいて、1時間後に軽微な結膜浮腫と軽微な発赤が認められた。これらの影響は、48時間後には消失しており、24時間で回復する例もあった。また、これらの影響は、30秒間噴霧の場合、やや顕著であった。評点(24時間での値+48時間での値+72時間での値)の平均値は、30秒間の噴霧を行ったテストの場合、結膜浮腫に関しては0.27、水腫に関しては0.05であった。クロロジフルオロメタンは、これらの試験条件下では、軽微な刺激性しか示さないと考えられた。したがって、眼刺激性物質の基準には合致しない。

##### ヒトにおけるデータ

ヒトに関しては、クロロジフルオロメタンへの曝露により眼刺激が生じたという報告は、得られていない。クロロジフルオロメタンは、加圧下で液状となるため、その形で偶発的に眼に接触した場合、眼に凍傷を生じる可能性がある。

#### 4.1.2.3.3 気道刺激性

##### 動物における試験

動物における毒性試験では、気道に対する刺激影響は示されていない。

##### ヒトにおけるデータ

ヒトにおける気道刺激に関する症例報告は、得られていない。

#### 4.1.2.3.4 刺激性の要約

クロロジフルオロメタンは室温で気体の状態をとるため、皮膚刺激テストや眼刺激テストそのものは行われていない。しかし、急性ないしは反復投与吸入毒性試験における臨床的観察では、皮膚刺激性や眼に損傷を与える徴候は何も認められなかった。非常に高い濃度における、流涙が報告されているだけである。

クロロジフルオロメタンは、ウサギを用いたテストで液化ガスとして適用された場合、眼に対して非常に軽微な刺激性を示し、皮膚に対して軽微な刺激性を示した。これらの刺激性は主として、クロロジフルオロメタンが加圧されて液状となっていたため、組織の凍結を引き起こしたことによる。このような影響は、ヒトにおいては偶発的な条件下で観察されている。

しかしながら、上述のとおり、凍傷は、物理的な災害と考えるべきで、毒性学的な反応とみなされるべきではない。

#### 4.1.2.4 腐食性

4.1.2.3.1 から 4.1.2.3.4 項で述べたとおり、クロロジフルオロメタンは、腐食性を有していない。

#### 4.1.2.5 感作性

##### 4.1.2.5.1 動物における試験

##### 皮膚

クロロジフルオロメタンの皮膚感作性については、モルモットにおいて、Magnusson and Kligman のマキシミゼーション法を基にした技術を用いて検討されている (Gonnet and Guillot, 1986)。

感作誘導期の際には、液化状態の被験物質 0.5 mL を、ポリプロピレンにより被覆して、48 時間適用した。感作惹起の際には、被験物質を、同じ条件下で 0.25 mL 適用した。媒体は用いられなかった。

閉塞被覆を取り除いた後 48 時間まで、皮膚反応について肉眼的および組織学的に評価して評点付けした。

この試験条件下では、クロロジフルオロメタンは、皮膚感作反応を、全く生じさせなかった。

### **気道**

HCFC-22 に関しては、気道感作の影響がみられたという報告は為されていない。

#### **4.1.2.5.2 ヒトにおけるデータ**

### **皮膚**

ヒトにおけるクロロジフルオロメタンへの曝露症例は、報告されていない。

### **気道**

ヒトにおけるクロロジフルオロメタンへの曝露症例は、報告されていない。

#### **4.1.2.5.3 感作性についての結論**

試験的な検査結果では、クロロジフルオロメタンは、皮膚感作性を有していなかった。ヒトに関しては、皮膚感作症例報告も気道感作症例報告も、得られていない。

#### **4.1.2.6 反復投与毒性**

##### **4.1.2.6.1 動物における試験**

### **In vivo 試験**

#### ***Inhalation* 吸入**

Leuschner et al. (1983) は、イヌを用い、4940 ppm (17290 mg/m<sup>3</sup>) のクロロジフルオロメタンに、

EURAR: CHLORODIFLUOROMETHANE

1日6時間、週7日の頻度で90日間曝露し、ECGや循環機能を調べたが、何ら影響は観察されなかった。

各群雌雄80匹ずつのAlderley Park Swissマウスを用いた試験が行われている。クロロジフルオロメタンへの曝露は、0(2群)、1000、10,000もしくは50,000 ppm(0、3500、35,000、175,000 mg/m<sup>3</sup>)の濃度で、1日5時間、週5日の頻度で、最長83週間(雌)もしくは94週間(雄)実施された。試験がそれらの時点で終了とされたのは、曝露群のうちの1群で、死亡率が80%に達したためである。試験手順において、曝露は、いずれか1群の死亡率が80%になるまで続けられると規定していたのである。各マウス群の試験終了時における死亡率を、Table 4.9に示す。

Table 4.9. Mortality of mice exposed to chlorodifluoromethane following long-term repeated exposure by inhalation (Tinston et al., 1981a)

Sex	Week of termination	% Mortality in mice following long-term exposure to chlorodifluoromethane (ppm).				
		Control I	Control II	1000	10,000	50,000
Male	83	72.2	54.2	72.0	70.6	68.8
Female	93	55.0	63.3	68.0	73.5	75.0

38週の時点で、各群10匹のマウスを屠殺し、血液検査や生化学的検査を実施した。それらには、赤血球ならびに白血球の測定、血小板測定、プロトロンビン時間ならびに活性化部分トロンボプラスチン時間の測定、および骨髄検査が含まれていた。血漿ALT(アラニントランスアミナーゼ)ならびにAST(アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ)活性の測定や、尿検査も実施された。一貫して認められた所見は、50,000 ppmのクロロジフルオロメタンに曝露された雄マウスにおける、活動亢進状態だけであった。死亡率、体重増加、血液学的ならびに生化学的数値、および組織学的所見には、影響は認められなかった。この試験における、クロロジフルオロメタンの無毒性濃度(NO<sub>AEC</sub>)は、10,000 ppm(35,000 mg/m<sup>3</sup>)であった。この試験は、GLPに準拠して実施された(Tinston et al., 1981a)。

各群雌雄80匹ずつのAlderley Parkラットを用いた試験が行われている。クロロジフルオロメタンへの曝露は、0(2群)、1000、10,000もしくは50,000 ppm(0、3500、35,000もしくは175,000 mg/m<sup>3</sup>)の濃度で、1日5時間、週5日の頻度で、最長117/118週間(雌)もしくは130/131週間(雄)実施された。試験がそれらの時点で終了とされたのは、曝露群のうちの2群で、死亡率が80%に達したためである。試験手順において、曝露は、いずれか1群の死亡率が80%になるまで続けられると規定していたのである。44から55週の時点で、各群10匹のマウスを屠殺し、中間検査を実施した。各ラット群の試験終了時における死亡率を、Table 4.10に示す。

## EURAR: CHLORODIFLUOROMETHANE

Table 4.10. Mortality of rats exposed to chlorodifluoromethane following long-term repeated exposure by inhalation (Tinston et al., 1981b)

Sex	Week of termination.	% Mortality in rats following long-term exposure to chlorodifluoromethane (ppm and mg/m <sup>3</sup> ).				
		Control I	Control II	1000 3500	10,000 35,000	50,000 175,000
Male	130/131	72.6	77.0	69.9	85.6	85.6
Female	117/118	77.0	62.7	67.0	77.1	71.7

マウスの試験と同じ検査が実施された。どの曝露量においても、クロロジフルオロメタンに起因する臨床的異常、死亡率の増加、もしくは血液学的・生化学的数値の変化は認められなかった。最高濃度群(50,000 ppm、175,000 mg/m<sup>3</sup>)では、雄で体重増加量の減少(80週まで)、雌で肝臓、腎臓、副腎および下垂体重量の増加が認められた。全ての群で、数多くの非腫瘍性病変が、組織学的に確認されたが、クロロジフルオロメタンが原因で発生率が増加したという証拠は得られなかった。この試験における、クロロジフルオロメタンの NOAEC は、10,000 ppm (35,000 mg/m<sup>3</sup>)であった。この試験は、GLP に準拠して実施された(Tinston et al., 1981b)。

ラット、モルモット、イヌおよびネコを、50,000 ppm (175,000 mg/m<sup>3</sup>)のクロロジフルオロメタンに、1日3.5時間、週5日の頻度で4週間吸入曝露させた試験が行われている。体重、血液学的数値、尿検査結果、臓器重量、肉眼的および顕微鏡学的組織検査所見に関し、何ら影響は認められなかった(Weigand, 1971)。

各群16匹の雄の Sprague-Dawley ラットを、0(対照)もしくは50,000 ppm(0もしくは175,000 mg/m<sup>3</sup>)のクロロジフルオロメタンに、1日5時間で8週間曝露した試験が行われている(Lee and Suzuki, 1981)。この試験では、曝露後、各群6匹を屠殺し、血液および組織の試料を採取し、血液学的および生化学的検査、ならびに病理組織学的検査を行った。残りの動物については、受胎能試験のために飼養が続けられた(4.1.2.9.1項参照)。クロロジフルオロメタンに曝露された動物において、毒性徴候は現れず、体重への悪影響もなかった。一連の臓器重量には著明な有害影響は及ばなかったが、前立腺重量はわずかに減少していた。検査した臓器のいずれにおいても、曝露に関連した病理組織学的病変は見つからなかった。血液学的パラメータに有害影響はなかったが、曝露群では、血漿グルコースおよびトリグリセリド濃度が低下し、血漿コレステロール値がわずかに上昇していた。

各群雌雄20匹ずつの Sprague-Dawley ラット、および各群雌雄3匹ずつのビーグル犬を用いた、全身曝露試験が行われている。クロロジフルオロメタンの濃度は、ラットとイヌでそれぞれ10,000および5000 ppm(35,000 or 17,500 mg/m<sup>3</sup>)であり、曝露期間は、1日6時間で

13 週間であった (Leuschner et al., 1983)。両動物種において、臨床的挙動の観察、体重測定、血液学および生化学的検査、臓器重量の測定、および病理組織学的検査が実施され、イヌについてはさらに、ECG の記録や循環機能検査も行われた。臨床生化学的検査には、血漿 ALT、AST およびアルカリホスファターゼ活性の測定が含まれていた。病理組織学的検査は、さまざまな組織について実施された。曝露に関連した影響はみられなかった。クロロジフルオロメタンの無影響濃度 (NOEC) は、ラットにおいては少なくとも 10,000 ppm (35,000 mg/m<sup>3</sup>) であり、イヌにおいては少なくとも 5,000 (17,500 mg/m<sup>3</sup>) であった。

ウサギを用いた完成度の低い試験が行われており、クロロジフルオロメタンへの曝露が心不整脈を誘発するか否かが検討されている。曝露は、60,000 ppm (210,000 mg/m<sup>3</sup>) の濃度で 1 日 5 時間、週 5 日で 8~12 週間実施された。供試されたウサギは 14 匹で、フェノバルビタールナトリウムの飲水投与も受けており、そのうち 1 匹に不整脈が出現した (Van Stee and McConnell, 1977)。対照が設けられていなかったことから、1 匹でのそのような観察結果の信憑性は低い。

ラット、マウスおよびウサギを用いて、クロロジフルオロメタンによる影響を調べた試験が実施されている。36 匹のラット、30 匹のマウスおよび 7 匹のウサギを、14,000 ppm に曝露した。さらに、30 匹のラットおよび 30 匹のマウスを、2,000 ppm に曝露した。曝露期間は、1 日 6 時間、週 6 日で、10 ヶ月間にわたった。体重、酸素消費量、「神経機能」、および、生化学的ならびに血液学的パラメータが計測され、いくつかの組織については、試験終了時に病理組織学的検査を行った。14,000 ppm (49,000 mg/m<sup>3</sup>) で曝露した動物では、変化が認められた。マウスでは、4~6 ヶ月後に体重増加量の減少が、ラットでは、酸素消費量の減少が認められた。また、ラットとマウスにおいて、「神経機能」の変化が認められ、ウサギではヘモグロビン濃度の減少が観察された。病理組織学的検査では、肝臓、肺および神経組織に、(異栄養性変化) が認められた。2000 ppm (7000 mg/m<sup>3</sup>) のクロロジフルオロメタンに曝露されたラットやマウスでは、クロロジフルオロメタンによる影響は認められなかった。ただし、14,000 ppm (49,000 mg/m<sup>3</sup>) での曝露を受けたラットやマウスでみられた上述の影響は、後述の試験では、より高い曝露量においても全く確認されていない (Karpov, 1963a)。

同じ著者が別の試験を行っており、ラットを、10,000 ppm (35,000 mg/m<sup>3</sup>) のクロロジフルオロメタンに、1 日 6 時間で 63 日間曝露したが、病理組織学的影響は認められなかった (Karpov, 1963b)。

### 経皮

クロロジフルオロメタンの経皮投与による影響をしらべた試験データは、得られていない。

## 経口

雌雄のラットに、クロロジフルオロメタンを、0、0.5、1.5、4.5 ないしは 13.5 mg/kg bw/日に相当する用量で、最大 6 か月間飲水投与した試験が行われている。この試験では、合計 265 匹が供試されたが、各用量群の規模についての記載は無かった。1、3 および 6 ヶ月の時点で、臨床病理学のおよび病理学的変化に関する検査が行われた。試験終了時には、ラットの神経行動の評価を、一連の手法を用いて実施した。

13.5 mg/kg のクロロジフルオロメタンを摂取していたラットにおいて、体重増加量が減少（約 28%）したことが報告されている。それらの動物では、条件反射も抑制されていた。この影響は、ベル音に対する反射反応の潜伏時間の延長や、陽性条件反射の習得速度および強化速度の低下により顕在化した。用量関連性に血液学のおよび臨床生化学的变化が現れたと報告されているが、これらの変化がすべての試料採取時点で起きていたのかどうかは不明である。曝露を受けたラットについて、内部器官の充血や、神経細胞の変化（膨張、細胞体の溶解、硬化）が起きたことが報告されている。低用量、すなわち 0.5 mg/kg を摂取していたラットでは、何ら影響は報告されておらず、この値が NOAEC であると考えられた (Antonova et al., 1983)。

各群雌雄 36 匹ずつの Alderley Park ラットを用いて、コーン油に混ぜたクロロジフルオロメタンを、300 mg/kg の用量で、週 5 日で 52 週間強制経口投与した試験が行われている。雌雄各 36 匹ずつの媒体対照群を設け、コーン油のみの投与を施し、さらに雌雄各 36 匹ずつの無処置対照群を設けた。試験は 125 週後まで続けられた。(Longstaff et al., 1984; Longstaff, 1988)。クロロジフルオロメタンは、体重や死亡率に対して、何ら影響を及ぼさなかった (Longstaff et al., 1984; Longstaff, 1988)。

### 4.1.2.6.2 ヒトにおける試験

#### In vivo 試験

##### 吸入

ある病院の病理研究室で、クロロジフルオロメタンが、凍結切片の作成に使用されていた。従業員 1 人が心筋梗塞で死亡した後、他の従業員からも動悸を発症した体験が報告された。問診調査が実施され (Speizer et al., 1975)、クロロジフルオロメタンと過度の動悸との間に関連性があると結論付けられた。ただし、動悸発症の報告は主観に基づいており、比較対照群での検討は行われていない。曝露量の推定は、作成した凍結切片の数だけに基づいてい

た。したがって、この調査の信頼性は低い。

冷凍施設営繕に携わる 1 人の男性が末梢神経障害を発症し、冷凍施設営繕工において健康調査が行われることとなった(Gunter et al., 1982; Campbell et al., 1986)。冷凍施設営繕工 27 名の群について、調査が行われた。彼らは、クロロジフルオロメタン、ジクロロジフルオロメタンおよびクロロペンタフルオロエタンに曝露されやすい状況にあり、また、それらの熱分解産物である塩化水素、フッ化水素、ホスゲン、二酸化炭素および塩素にも曝露されやすい環境に置かれていた。同じ業界に携わり、冷媒への曝露を受けていない 14 人の従業員を、対照群とした。末梢神経障害の症例は確認されなかった。胸部 X 線検査、肺機能検査、心電図記録、および血液や尿の検査が行われたが、結果はすべて正常範囲内に納まっていた。全ての被験者に対して問診が行われたが、冷凍施設営繕工の群では、非曝露対照群よりも、眩惑感や動悸を訴える例が多かった。ただし、この調査手法にもやはり不適切な点があり、何らかの結論を導くことはできない。

様々な塩化フッ化炭素化合物に曝露されていた 539 人の冷凍施設営繕工について調査を行った。心臓血管系の疾患で死亡した人数は、予測値の 9.63 人に対し、5 人であった。がんで死亡した人数は、予測値の 5.7 人に対し 6 人、また、肺がんで死亡した人数は、予測値の 1.0 人に対し、2 人であった(Szmidt et al., 1981)。著者は、塩化フッ化炭素化合物への曝露と健康への有害影響との間に、関連性は無いと結論付けている。

#### 経皮

経皮反復投与毒性に関して、ヒトにおけるデータは得られていない。

#### 経口

経口反復投与毒性に関して、ヒトにおけるデータは得られていない。

#### 4.1.2.6.3 反復投与毒性の要約

クロロジフルオロメタンの経口投与試験が 2 件行われているが、クロロジフルオロメタンへの曝露で考えられるリスクは吸入によるものであり、経口投与試験の価値は、リスク評価の面では小さいものと考えられる。さらに、これらの試験については、不十分な報告しか得られていない。

様々な動物種において、クロロジフルオロメタンの反復吸入毒性試験が何件か実施されて

おり、それらの試験期間は 4 から 131 週に及ぶ。ウサギ、ラット、モルモット、イヌ、ネコおよびマウスでの試験はすべて、クロロジフルオロメタンが示す標的器官への毒性が、全般的に低いものであるという評価を示唆するものであった。

最も完成度が高い試験は、マウスやラットを用いて GLP 基準に則って実施されたものであり、クロロジフルオロメタンへの曝露は、最高 50,000 ppm の濃度で、雌雄のマウスやラットで死亡率がそれぞれ 80%になるまで行われた。これらの試験では、臓器特異的毒性は、いかなる曝露濃度でも確認されなかった。総括的には、ラットやマウスを用いた長期吸入試験において、クロロジフルオロメタンへの反復吸入曝露に関する NOAEC は、**10,000 ppm (35,000 mg/m<sup>3</sup>)**とされた。この値は、動物を 50,000 ppm で曝露した際に、マウスでは活動亢進、ラットでは体重の変化といった臨床症状が認められたことに基づいている。

#### 4.1.2.7 変異原性

##### 4.1.2.7.1 *In vitro* 試験

細菌や酵母を用いた、*in vitro* の復帰突然変異試験や前進突然変異試験が、数多く実施されている (Table 4.11)。クロロジフルオロメタンを慎重にガス状態に保って実施された試験において、ネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*) の TA1535 および TA100 株に対し、外因性の代謝系の存在下および非存在下で、変異原性が示された (Longstaff and McGregor 1978, Bartsch 1980, Russell et al. 1980)。分裂酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) や出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) を用いた試験では、陰性結果が得られた (Loprieno and Abbondandolo 1980)。非細菌細胞を用いた試験、例えばチャイニーズハムスターの細胞 (CHO) (McCooney, 1980) や V-79 細胞 (Loprieno and Abbondandolo, 1980) の *HGPRT* 遺伝子座に対する突然変異誘発試験では、変異原性は示されていない。ヒトの EUE 細胞株において、不定期 DNA 合成の誘発は観察されず、また、新生仔ハムスター腎臓細胞 (BHK21) を用いた形質転換試験でも、陰性結果が得られた (Longstaff, 1984)。

##### 4.1.2.7.2 *In vivo* 試験

ラットをクロロジフルオロメタンに 1 日 6 時間で 5 日間曝露した試験では、最低曝露濃度であった 1,000 ppm (3,500 mg/m<sup>3</sup>) でも、染色体損傷の発生率増加が認められた。しかし、このような増加は、10,000 や 150,000 ppm (35,000 および 525,000 mg/m<sup>3</sup>) での曝露では、認められなかった (Anderson et al., 1977)。そこで、1,000 ppm (3,500 mg/m<sup>3</sup>) や、それより低い 10、100

## EURAR: CHLORODIFLUOROMETHANE

および 500 ppm (35, 350 および 1750 mg/m<sup>3</sup>) といった曝露濃度で、再試験が行われた。その結果、染色体損傷の発生率増加はみられたが、それはやはり曝露濃度に関連した増加ではなかった。さらに、1,000 ppm (3,500 mg/m<sup>3</sup>) という設定濃度において、これら 2 件の試験の間で、かけ離れた結果が得られた (Anderson and Richardson, 1979)。

CD1 マウスに、クロロジフルオロメタンを 816 mg/kg の用量で、コーン油を媒体として強制経口投与した試験が行われている。骨髄の染色体変化を調べたが、陰性結果が得られた (Loprieno and Abbondandolo, 1980)。

マウスの骨髄における小核形成を調べる手法により、試験が行われている (Howard et al., 1989)。曝露群では、最高 150,000 ppm (525,000 mg/m<sup>3</sup>) の濃度でクロロジフルオロメタンが投与され、同時陽性対照群 (塩化ビニルを投与) および同時陰性対照群 (窒素を投与) が設けられた。曝露期間はともに 6 時間であった。その結果、染色体異常誘発能は、示されなかった。

ラットを用いた優性致死試験が行われている。50,000 ppm (175,000 mg/m<sup>3</sup>) のクロロジフルオロメタンで、1 日 5 時間 8 週間の曝露を行ったが、曝露による影響は何も認められなかった (Lee and Suzuki, 1981)。マウスでは、2 件の優性致死試験の情報が得られている。10~100,000 ppm (35-350,000 mg/m<sup>3</sup>) にわたる用量で実施され、対照値との統計学的有意差が認められた結果も得られた。しかし、これら 2 件の試験における同じ用量での結果を見ると、再現性がないと考えられ、また、用量-反応の関連性も認められなかった。結論としては、クロロジフルオロメタンは、これらの試験において、優性致死作用を示さなかったと考えられる (Anderson et al., 1977; Hodge et al., 1979)。すべての結果について、**Table 4.11** にまとめて示す。

Table 4.11 The genetic toxicology of chlorodifluoromethane in vitro and in vivo studies

ASSAY	STRAIN/TYPE	METABOLIC ACTIVATION	RESULT	COMMENT	REFERENCE
Schizosaccharomyces Pombe	Forward Mutation	+/- S-9	-ve	Tested as a gas	Loprieno & Abbondandolo (1980)
Saccharomyces Cerevisiae	Mitotic Gene Conversion	+/- S-9	-ve	Tested as a gas	Loprieno & Abbondandolo (1980)
Salmonella Typhimurium	TA1535, TA1538, TA98, TA100	+/- Arochlor induced rat liver S-9	S-9 independent +ve for strains TA1535, TA100	Incubated with 50% atmosphere of chlorodifluoromethane for 24 hrs	Longstaff & McGregor (1978)
Salmonella Typhimurium	TA100	+/- Phenobarbitone or Aroclor induced rat liver S-9	+ve	Tested as a gas 50% for 24 hrs	Bartsch et al. (1980)
Salmonella Typhimurium	TA100 TA1535	+/- Auxiliary metabolising systems	unrepeatable +ve in strain TA1535	6 hr exposure up to 40% chlorodifluoromethane. 32 hr to air. Result not considered biologically significant.	Butterworth (1976)
Salmonella typhimurium	TA100 TA1535	+/- Auxiliary metabolising systems	S-9 independent +ve for strains TA1535, TA100	48 hr exposure to up to 40% chlorodifluoromethane	Russel et al. (1980) Krahn (1977)
Salmonella Typhimurium	Not stated	Not stated	-ve	Liquid suspension protocol. Flasks gassed and maintained for 2 hrs.	Russel et al. (1980)
Host mediated assay – mouse	Sc. pombe or S. cerevisiae	-	-ve		Loprieno and Abbondandolo (1980)
Chinese Hamster Cell (CHO) – mutation	HGPRT locus	+/- metabolic activation	-ve	Tested as a gas at 0, 33, 67 and 100% atmospheres	MCooney (1980)
Chinese Hamster V-79 – mutation	HGPRT local	+/- S-9	-ve		Loprieno and Abbondandolo (1980)
Unscheduled DNA synthesis	Human Hetherploid EUE cell line	-	-ve		Loprieno and Abbondandolo (1980)
Rat	Dominant lethal	175,000 5 hrs/day for 8 weeks	-ve		Lee & Suzuki (1981)
Mouse	Cytogenetics bone marrow	816 mg/kg in corn oil, gavage	-ve		Loprieno & Abbondandolo (1980)

- ve = negative - + ve =positive

#### 4.1.2.7.3 変異原性の要約

クロロジフルオロメタンは、いくつかの細菌株において、ある程度の変異原活性を示した。

HCFC-22 は、酵母(分裂酵母ないしは出芽酵母)を用いた 3 件の試験において、陰性であった。HCFC-22 は、哺乳類培養細胞を用いて実施された 3 件の試験(CHO 細胞 *HGPRT* 遺伝子座突然変異誘発、V-79 細胞 *HGPRT* 遺伝子座突然変異誘発、および不定期 DNA 合成)においても、陰性を示した。さらに、HCFC-22 は、2 件の *in vivo* 試験(ラットの優性致死試験およびマウスの細胞遺伝学的試験)においても、陰性を示した。HCFC-22 は、5 件の Ames テスト中 3 件で、TA 1535 および TA 100 株において、わずかな活性を示しただけに過ぎなかった。この活性は、S-9 の存否とは無関係であった。HCFC-22 は、TA 1538 および TA 98 株に対しては、まったく活性を示さなかった。これらのデータを考慮すると、その活性は細菌株特異的な代謝に起因するものであるとする、Litchfield and Longstaff(1984)による結論が強く支持される。

ラットやマウスを用いて *in vivo* で実施された細胞遺伝学的試験や優性致死試験からは、遺伝毒性活性を証明する一貫性や用量関連性がある結果は得られなかった。吸入での小核形成試験で結果が陰性であったことと考え合わせ、得られた知見からは、クロロジフルオロメタンが *in vivo* で遺伝毒性を有していないことが示唆される。

#### 4.1.2.8 がん原性

##### 4.1.2.8.1 動物における試験

###### *In vivo* 試験

###### 吸入

Maltoni et al.(1982, 1988)は、各群雌雄 60 匹ずつの Sprague-Dawley ラットおよび Swiss マウスを用いて試験を行い、クロロジフルオロメタンを、0、1000 もしくは 5000 ppm の空气中濃度で吸入させた。曝露期間は、1 日 4 日、週 5 日で、104 週間(ラット)もしくは 78 週間(マウス)であった。クロロジフルオロメタンに関連した影響は、認められなかった。

別の試験(Litchfield and Longstaff, 1984)では、各群雌雄 80 匹の Wistar 系 Alderley Park ラットに、クロロジフルオロメタンを吸入させた。曝露濃度は、0(2 群)、1000、10,000 もしくは 50,000 ppm で、曝露期間は、1 日 5 時間、週 5 日で、雌では 118 週間、雄では 131 週間

であった。この期間で、いずれか 1 群において死亡率が約 80%に達した(詳細は Table 4.12 参照)。

Table 4.12 Mortality at 104 weeks and at the end of the study

Males

Week	Exposure concentration of CFC (ppm)				
	0	0	1000	10,000	50,000
104	35.1	36.9	31.2	40.9	32.5
131	72.6	77.0	69.9	85.6	85.6

Females

Week	Exposure concentration of CFC (ppm)				
	0	0	1000	10,000	50,000
104	48.3	42.6	45.4	61.3	56.1
118	77.0	62.7	67.0	77.1	71.7

いずれの用量においても、クロロジフルオロメタンに起因する臨床的異常、死亡率の上昇、血液学的もしくは生化学的変化は認められなかった。観察された異常は、50,000 ppm (175,000 mg/m<sup>3</sup>) の曝露を受けた雄における体重減少(80 週まで)と、雌における肝臓、腎臓、副腎および下垂体重量の増加だけであった。雄では、良性腫瘍の増加は見られなかったが、悪性腫瘍を患う動物の数がわずかに増加し、この増加は、主として線維肉腫の発生率が増加したことによるものであった(Table 4.13)。この増加と常に関連していた部位は、唾液腺であった。しかし、著者は、腫瘍の原発巣を特定することは困難であったと述べている。その腫瘍は、全身性の皮下線維肉腫であった可能性があり、たまたま顎下部で増殖して唾液腺に浸潤していただけたとも考えられる。線維肉腫の例数増加は、この試験の終盤においてのみ観察された。1 例は、雄の群で観察され、53 から 104 週の間死亡した。他の 6 例は、105 週から試験終了までの間に死亡したラットにおいて観察された。50,000 ppm 群の雄ラットにおける全体的な線維肉腫発症率の増加は、「統計学的に有意」であることが判明したということであるが、試験報告の原本には、p 値の記載がない。50,000 ppm (175,000 mg/m<sup>3</sup>) 群の 4 匹の雄が、ジンバル腺腫瘍を有していたことが判明したが、外耳道の扁平上皮がんとは区別することはできなかった。また、高用量で処置された雄においては、皮膚の扁平上皮がんの有意な増加が観察されている。このがんは、10,000 および 50,000 ppm 群で、それぞれ 5 および 4 例発生したが、対照群や最低用量群では発生はみられなかった。扁平上皮がんは、多くの場合(10,000 および 50,000 ppm 群でそれぞれ 4/5 例および 3/4 例)、試験の終盤、すなわち、105 週から試験終了時の間に観察された。雌では、どの曝露群においても、どのような種類の腫瘍に関しても、有意な増加は認められなかった。

Table 4.13 Incidence of fibrosarcomas in male rats exposed to Chlorodifluoromethane

Dose (ppm)	Incidence of Fibrosarcomas		
	Examined	Total	Involving Salivary gland
0	80	5	1
0	80	7	0
1000	80	8	1
10,000	80	5	0
50,000	80	18	7

From Litchfield and Longstaff, 1984

類似の試験が別に行われている (Tinston et al., 1981a; Litchfield and Longstaff, 1984)。各群雌雄 80匹ずつの Alderley Park Swiss 系マウスを、0(2群)、1000、10,000 もしくは 50,000 ppm (3500、35,000 もしくは 175,000 mg/m<sup>3</sup>) の濃度のクロロジフルオロメタンに吸入曝露した。曝露は、1日5時間、週5日、最長83週間(雄)もしくは94週間(雌)実施された。これらの時点で、死亡率が80%に達した。曝露に関連して一貫して見られたと認定できる所見は、50,000 ppm (175,000 mg/m<sup>3</sup>) 群のマウスにおける活動性亢進だけであった。曝露を受けた雄でも雌でも、対照群と比べて、良性もしくは悪性腫瘍の発生率が有意に増加することはなかった。50,000 ppm (175,000 mg/m<sup>3</sup>) の曝露を受けていた雄で、肝臓における結節の発生率がわずかに増加したが、この増加は、Alderley Park Swiss 系マウスにおける既存累積データによる対照値の範囲に収まるものであった。

#### 経皮

経皮曝露によるがん原性試験のデータは得られていない。

#### 経口

経口曝露によるがん原性試験のデータは得られていない。

#### 4.1.2.8.2 ヒトにおける試験

小規模の疫学調査データが得られているが、冷凍・冷蔵産業に携わり、クロロジフルオロメタンに職業曝露されていた人々において、がんの発症率が増加したという証拠は示されなかった。

塩化フッ化炭素化合物への複合曝露を受けていた冷凍・冷蔵施設の従業員 539 人に対する調査が行われた。がんによる死亡に関しては、予想値が 5.7 人であったところが 6 人であった。そのうち 2 人が肺がんで死亡しているが、肺がんによる死亡の予想値は 1 人であった (Szmidt et al. 1981)。著者は、この調査からは、塩化フッ化炭素化合物への曝露と健康への有害影響との間に関連性を見出すことはできなかつたと結論付けている (Szmidt et al. 1981 参照)。

#### 4.1.2.8.3 がん原性の要約

動物試験からは、ラットにおいてのみ、クロロジフルオロメタンのがん原性を示すわずかな証拠が得られた。ラットを用いた 1 件の吸入試験で、様々な箇所での線維肉腫および皮膚での扁平上皮がんの発生率増加が、最高用量で曝露された雄で認められた。ジンバル腺扁平上皮がんの有意な発生率増加も 50,000 ppm での曝露を受けたラットで観察されているが、そのがんは、外耳道の扁平上皮がんと明確に区別できるものではなかつた。しかし、そうしたがんは、扁平上皮がん全体の例数や有意差の増加に、大きく寄与していた。これらの観察所見の重要性は、有意な腫瘍発症率の増加が雄のラットでしか認められていないということによって、幾分低減される。さらに、殆どの腫瘍は、105 週よりも後になって発現していた。

雄ラットについては、NOAEC を明確に 1000 ppm (3500 mg/m<sup>3</sup>) と定めることができた。雌ラットや雌雄のマウスについては、クロロジフルオロメタンへの曝露に起因する腫瘍の発生率増加があつたとは判断されなかつた。

#### 4.1.2.9 生殖毒性

##### 4.1.2.9.1 受胎能への影響

###### 動物における試験

生殖に目的が絞られた試験の情報は、得られていない。しかし、8 週間から 2 年間の期間で多数の動物種に関して反復投与試験が行われており、そこで雄および雌の生殖器官についても検討されている。クロロジフルオロメタンへの曝露により、生殖器官において重量変化がみられたとの報告は無く、病理組織学的検査でも、雄および雌の生殖器官への影響は検出されなかつた。

クロロジフルオロメタンが雄の生殖能に及ぼす影響について、ラットやマウスで調べられ

## EURAR: CHLORODIFLUOROMETHANE

ている。Lee and Suzuki(1981)は、16 匹の Sprague-Dawley(CD 系)ラットを、50,000 ppm (175,000 mg/m<sup>3</sup>)の濃度のクロロジフルオロメタンに、1日5時間で8週間、吸入により曝露した。同規模の対照群を設け、同様の条件で、ろ過された空気に曝露した。8週間の曝露期間終了後、各群の6匹ずつを屠殺し、内臓・器官の検査(重量測定および組織学的検査)と、血液・生化学的検査を実施した。他の10匹ずつについては、最後の曝露直後に血液試料を採取し、卵胞刺激ホルモン(FSH)および黄体形成ホルモン(LH)の測定に供した。これらのラットは、それから連続交配に供して、生殖成績、すなわち雄の受胎能を評価した。それぞれの雄は、1匹ずつ、未交配の雌1匹と7日間同居させた。その7日間の同居期間の後、雌ラットを別の雌と交換した。この飼養法を10週間繰り返した。雄から引き離された9日後に、それぞれの雌を屠殺し、妊娠パラメータ(黄体数や着床数)を検討した。クロロジフルオロメタンに曝露された雄における、精巣、精巣上体、精嚢などの主要臓器の重量や組織学的所見については、脳重量に対する前立腺や凝固腺の重量がわずかに減少した以外に、対照群のラットとの相違は認められなかった。また、それらの重量の変化は、組織学的な変化を伴うものではなかった。さらに、前立腺のフルクトースや酸ホスファターゼ濃度にも、変化はみられなかった。FSHやLHについても、曝露群と対照群のラットの間で相違はみられなかった。交尾行動、黄体数、着床数、死亡胚数に関して、曝露群と対照群との間に、統計学的に有意な差異は認められなかった。

これらの試験結果から、50,000 ppm でのクロロジフルオロメタンへの曝露は、雄の生殖能に有害な影響を及ぼさないが、副性腺に軽微な影響を与えることが示された。また、雄の Sprague-Dawley-CD ラットの精子形成周期全体にわたり、曝露による優性致死や催奇形性といった影響は現れないことが示された。これらの結果は、FSH および LH 濃度や精巣の検査結果とも整合するものであった。単一用量における試験であったため、NOEC は導出できない。したがって、50,000 ppm は、かろうじて LOEC ともみなせると考えられる。

Anderson et al.(1977)および Hodge et al.(1979)により、マウスを用いて、2件の優性致死試験が実施されている(4.1.2.7 項参照)。各群20匹の受胎能を有する雄マウスを、クロロジフルオロメタンに、10 から 100,000 ppm(35 から 350,000 mg/m<sup>3</sup>)の濃度範囲で、1日6時間、5日間曝露した。曝露の後、これらの雄を、週ごとに2匹の未交配雌と交配させ、それを8週間繰り返した。

全体として、雄の受胎能を低減させるという再現性のある証拠は示されなかった。交配の成功例数や雌の妊娠例数で見ると、雄の受胎能は、2件の試験で一貫して高い水準を維持していた。

#### 4.1.2.9.2 発生・発達毒性

##### 動物における試験

クロロジフルオロメタンによる発生への影響が、ウサギを用いた 1 件の催奇形性試験およびラットを用いた多数の催奇形性試験により調べられている。

Palmer et al.(1978a)は、各群 14 から 16 匹の雌の New-Zealand 白ウサギを、0(空気を用いた対照)、100、1000 もしくは 50,000 ppm(0、350、3500 もしくは 175,000 mg/m<sup>3</sup>)の濃度のクロロジフルオロメタンに、1 日 6 時間、妊娠 6 から 18 日目までの間、これらの日を含めて曝露した。動物を妊娠 29 日目に屠殺し、1 腹仔数を記録した。さらに胎仔を検査し、重大な奇形(催奇形性の影響)、軽微な異常および骨格の変異に関して検討を行った。

親動物には、毒性を示す臨床症状は現れず、曝露に関連した死亡例も見られず、また、妊娠も正常であった。50,000 ppm(175,000 mg/m<sup>3</sup>)のクロロジフルオロメタンに曝露されたウサギでは、曝露の最初の 4 日間、体重の軽微な減少が認められたが、その後の体重増加量は、対照群と同等であった。1 腹仔数、着床後胚死亡、1 腹当たりの胎仔重量および平均胎仔重量には、クロロジフルオロメタンへの曝露による有意な悪影響は認められなかった。1000 ppm(3500 mg/m<sup>3</sup>)のクロロジフルオロメタンに曝露された母獣の同腹の 2 胎仔に、重大な奇形が認められた。そのうちの一方は、猿頭症、両側性小眼球症、一側性水晶体白内障および網膜嚢壁症を有していた。他方は、一側性の水晶体白内障および網膜嚢壁症を有していた。対照群で 1 例の重大な奇形がみられており、その胎仔は猿頭症を有していた。最低用量群および最高用量群では、重大な奇形は認められなかった。軽微な異常や骨格の変異の出現率は、対照群よりも、曝露群において低かった。用量-影響関係を欠いていたことから、全ての所見について、偶発的なものであり、曝露に関連したものではないと考えられた。

一般的な規模で、通常飼育のラットを用い、クロロジフルオロメタンの催奇形性を調べた一連の試験が、3 件行われている(Culik et al., 1976; Culik and Crowe, 1978)。各群 20 から 40 匹の Sprague-Dawley CD ラットを、様々な濃度のクロロジフルオロメタンに、1 日 6 時間で、妊娠 4 から 13 日目もしくは 6 から 15 日目にかけて曝露した。濃度範囲は、100 から 20,000 ppm(350 to 70,000 mg/m<sup>3</sup>)であった。曝露を受けた母獣やその子供で、母体毒性や顕性胎仔毒性の証拠は示されなかった。いくつかの群の数例で無眼球症や小眼球症がみられた以外には、奇形性の異常は認められず、それらの例でも用量関連性は認められなかった(Table 4.9 の試験 1~3 の結果を参照)。各群における発症率で、統計学的に有意差を示したものは無かった。これらの試験のうち 2 件における、母体毒性と発生毒性に関する NOAEC は、10,000 ppm(35,000 mg/m<sup>3</sup>)であり、残りの 1 件では、20,000 ppm(70,000 mg/m<sup>3</sup>)であった。

これらの通常飼育動物での試験において、無眼球症や小眼球症が非常に低頻度で観察されたことから、別の試験施設において、同系統のラットを用いて、さらに催奇形性試験を実施することになった〔欧州化学物質生態毒性・毒性センター (ECETOC), 1989; 国際化学物質安全性計画 (IPCS), 1991〕。この試験は、非常に多数のラット(群の規模が通常の 19 倍)を用いて行われ、試験手法を改良して、無眼球症や小眼球症の発生率に関するわずかな有意性も見極められるように計画された (Palmer et al., 1978b)。この試験は、発生毒性に関連するいずれの重要所見についても、NOAEC が確定されるようには設計されておらず、そのため、この試験で選択・設定された曝露量には大きなばらつきがある。

この試験では、妊娠した雌の Sprague-Dawley CD ラットを、100、1000 ないしは 50,000 ppm (350、3500 ないしは 175,000 mg/m<sup>3</sup>) の濃度のクロロジフルオロメタンに、1 日 6 時間、妊娠 6 日から 15 日目にかけて曝露した。妊娠 20 日目に、胎子を帝王切開により取り出し、全ての胎子の頭部について切片を作製して、無眼球症と小眼球症の発生率を割り出した。妊娠時期を合わせた雌を用いて、1 年間かけて 19 回の試行を実施した。検査に供することができた胎子の数は、対照群からは 6000 匹超、各曝露群からは 4000 匹超であった。19 回の試行において、50,000 ppm (175,000 mg/m<sup>3</sup>) のクロロジフルオロメタンで曝露された母獣で、それぞれの対照群と比べ、体重増加量の低下が、わずかだが一貫して認められたが、それ以外には母獣に対する有害影響は示されなかった。その影響についてはこの試験報告書の中では定量化されていないが、生存能力のある胎子を妊娠していた高用量群の母獣における体重増加量の低下率は、対照群に対し、19 回の試行にわたる平均で、6.8% (-0.2 から 16.5% の範囲) であった。

妊娠 6 から 10 日目の、眼の発生に重要な期間だけについて考えると、高用量の母獣における体重増加量の低下率は、より大きな数値となる。この期間における体重増加量の低下率は、平均で 42.4% (-13.5 から 86.2% の範囲) であった。しかし、眼の欠陥の発生率と、個々の母獣の体重増加量との間には、明確な相関関係は認められなかった。1000 もしくは 100 ppm (3500 もしくは 350 mg/m<sup>3</sup>) のクロロジフルオロメタンに曝露された母獣においては、体重増加量への影響は示されなかった。

全ての試行回の全ての対照群において、妊娠に関するパラメータは、試験施設一般における標準範囲に収まっていた。ほとんど全ての試行回において、クロロジフルオロメタン曝露群の妊娠成績、すなわち 1 腹仔数、着床後胚死亡数、1 腹仔重量、および、50,000 ppm (175,000 mg/m<sup>3</sup>) 群を除いた平均胎仔重量は、同時対照群の値と比べ、大きな相違を示さなかった。50,000 ppm (175,000 mg/m<sup>3</sup>) 曝露群については、12 回の試行において、平均胎仔重量が、同時対照群の値をわずかに下回った。眼の異常以外、明らかな異常の発生率は、どの曝露群でも統計学的有意差を示さなかった。50,000 ppm (175,000 mg/m<sup>3</sup>) のクロロジフルオロメタンに曝露された母獣の胎仔では、無眼球症や、無眼球と小眼球の複合症の例数が、統計学的

## EURAR: CHLORODIFLUOROMETHANE

に有意に増加していたが、1000 もしくは 100 ppm (3500 or 350 mg/m<sup>3</sup>) 群では、そのような増加は示されなかった (Table 4.14 の試験 4 の結果を参照)。小眼球症については、発生率の群間差は、有意ではなかった。

クロロジフルオロメタンに関する上述の大規模な再現試験 (Palmer et al., 1978b) の結果が、その試験の後の 10 年間、同じ試験施設で同系統のラットを用いて行われた試験データと比較された (ECETOC, 1989)。15,000 を超える妊娠例を、上述のクロロジフルオロメタンに関する試験と数的に同等となるように、また、時系列順に 9 組に振り分け、それぞれの組で、各群約 4,000 匹の胎仔を、眼の異常の検査に供した。50,000 ppm に曝露された母獣の胎仔で、無眼球症 (1 腹当たり、対照群では 0.16% であったのに対し、曝露群では 1.6%) および無眼球と小眼球の複合症 (1 腹当たり、対照群では 0.5% であったのに対し、曝露群では 2.6%) の発生数が、有意に増加していた。既存累積データによる対照値では、1 腹当たり、無眼球症の発生率は 0 から 0.8% であり、無眼球と小眼球の複合症の発生率は 0 から 2.6% であることが示されている。上述の大規模試験は、それ以前の試験において無眼球症や小眼球症が非常にわずかな確率で現れたことの意義を見極めるために実施されたものであるが、そこでは、50,000 ppm (175,000 mg/m<sup>3</sup>) のクロロジフルオロメタンに曝露された母獣の胎仔でそれらの異常の発生率が増加し、1000 ppm (35,000 mg/m<sup>3</sup>) 群では増加は無かったことが示されている。また、50,000 ppm (175,000 mg/m<sup>3</sup>) という濃度は、ラットの 4 時間 LC<sub>50</sub> に相当する高濃度であり、母体毒性と胎仔毒性の両方が認められた。だが、上述の大規模試験における無眼球症の発生率は、既存累積データによる対照値より高く、無眼球と小眼球の複合症の発生率は、既存累積データによる対照値の上限に匹敵するものである。50,000 ppm でみられた母体毒性は、体重増加量のわずかな減少に関するものだけであり、事実上、他の有害影響は報告されていない。実験動物においてこの種の奇形 (無眼球症および無眼球と小眼球の複合症) が非常に特異的に現れており、母体毒性との関連性は低いと思われる。

上述のラットを用いた通常飼育での試験と非常に大規模な試験から得られた情報を総合的に検討すると、50,000 (175,000 mg/m<sup>3</sup>) に曝露されたラットの胎仔でみられた影響が、曝露に関連したものとされるか否かにかかわらず、発生毒性に関する NOAEC は 1000 ppm (3500 mg/m<sup>3</sup>) であると結論付けられる。

EURAR: CHLORODIFLUOROMETHANE

Table 4.14 Eye malformations in rat teratogenicity studies conducted on chlorodifluoromethane

Conc.	Eye defect	Study 1 Culick et al. (1976)		Study 2 Culick et al. (1976)		Study 3 Culick and Crowe (1978)		Study 4 Palmer et al. (1978b)	
		/litters	/foetuses	/litters	/foetuses	/litters	/foetuses	/litters	/foetuses
Current control	A	0/21		0/34		0/38		1/607	1/6348
	M	0/21		0/34		0/38		2/607	2/6348
	A+M	0/21		0/34		0/38		3/607	3/6348
100 ppm	A					0/40		1/395	1/4216
	M					1/40		4/395	4/4216
	A+M					1/40		5/395	5/4216
300 ppm	A					0/35			
	M					0/35			
	A+M					0/35			
500 ppm	A			0/33					
	M			1/33					
	A+M			1/33					
1000 ppm	A	1/22		1/33				1/390	1/4111
	M	1/22		2/33				2/390	2/4111
	A+M	1/22		2/33				3/390	3/4111
10,000 ppm	A	2/21				0/34			
	M	0/21				2/34			
	A+M	2/21				2/34			
20,000 ppm	A			1/35					
	M			0/35					
	A+M			1/35					
50,000 ppm	A							6/383(+)	6/4031
	M							4/383	4/4031
	A+M							10/383(+)	10/4031
Historical control	A							0/350 to 3/373 **	0/3682 to 3/3795 **
	M							0/350 to 8/386 **	0/3682 to 8/4123 **
	A+M	(1/100- 200)	(1/1000- 2000)*	(1/100- 200)	(1/1000- 2000)*	(1/100- 200)*	(1/1000- 2000)*	0/350 to 10/386 **	0/3682 to 10/4123 **

Number of anophthalmia + microphthalmia/ total number of foetuses per group (from ECETOC, 1989 and IPCS, 1991)

A Anophthalmia

M Microphthalmia

A+M Anophthalmia plus Microphthalmia

\*approximately from 100-200 litters

\*\* (over a 10 year period post chlorodifluoromethane experiment)

(+): statistically significant from control group (P<0.05), statistical analysis performed using litters only.

## ヒトにおけるデータ

クロロジフルオロメタンによるヒトの生殖能への影響に関するデータは得られていない。

### 4.1.2.9.3 生殖毒性の要約

雄のラットやマウスでは、クロロジフルオロメタンにより生殖能に有害影響が及ぶことはなかった。ウサギでは、発生毒性は示されなかった。クロロジフルオロメタンは、50,000 ppmでの曝露を受けた母獣の胎仔において、無眼球症(1腹当たり、対照群では0.16%であったのに対し、曝露群では1.6%)および無眼球と小眼球の複合症(1腹当たり、対照群では0.5%であったのに対し、曝露群では2.6%)の発生数を、有意に増加させた。既存累積データによる対照値では、1腹当たり、無眼球症の発生率は0から0.8%であり、無眼球と小眼球の複合症の発生率は0から2.6%であることが示されている。このことから、大規模試験で観察された無眼球症の発生率は、既存累積データによる対照値より高く、無眼球と小眼球の複合症の発生率は、既存累積データによる対照値の上限に匹敵していることになる。50,000 ppmでみられた母体毒性は、体重増加量のわずかな減少に関するものだけであり、事実上、他の有害影響は報告されていない。実験動物においてこの種の奇形(無眼球症および無眼球と小眼球の複合症)が非常に特異的に現れており、母体毒性との関連性は低いと思われる。

したがって、ラットにおける発生毒性に関する NOAEC は、1,000 ppm (3,500 mg/m<sup>3</sup>) である。

さらに、軽微な母体毒性が現れる条件では特異的な奇形の発生率が低いことから、クロロジフルオロメタンについては、カテゴリ-3(生殖能に関して有害)に分類し、警句 R63 を付することが妥当であると考えられる。

**注記：Palmer の試験(Palmer, 1978b)から導出された 1,000 という NOAEC は、非常に安全側に考慮した値であると考えられている。実際、Culik and Crowe(1978)の試験において、20,000 ppm まで有害影響は認められていない。このことは、リスクの総合判定の項において、考慮されることになるであろう。**