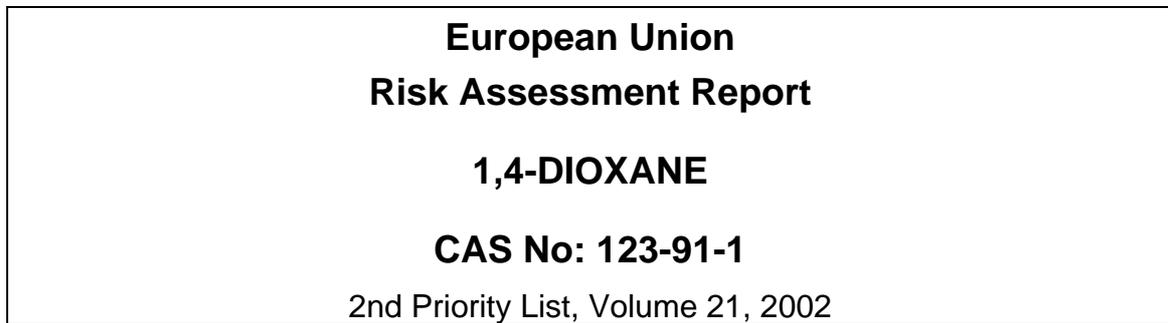
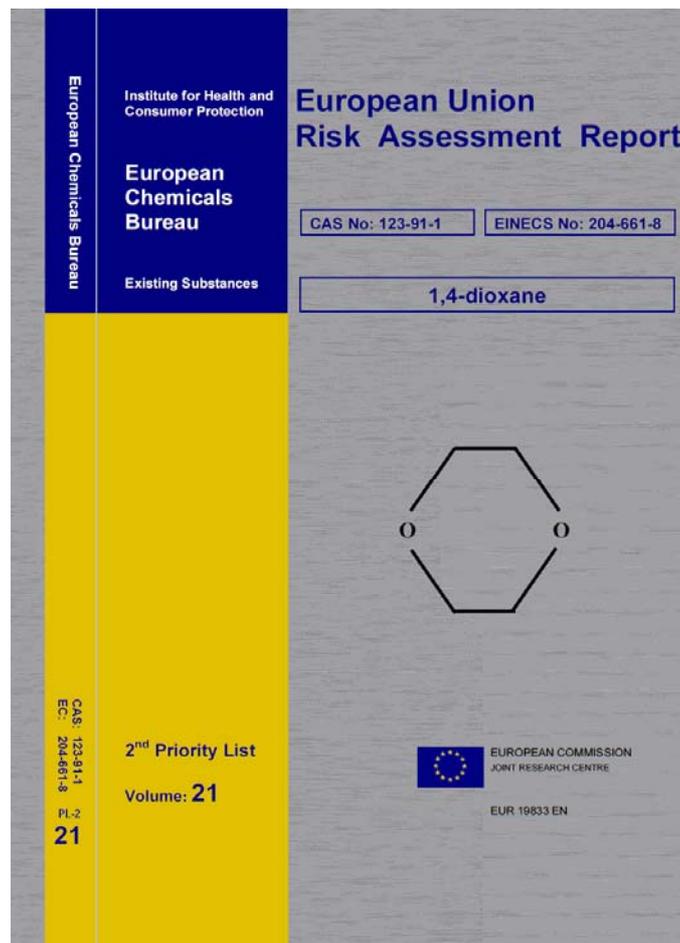


部分翻訳



欧州連合
リスク評価書 (Volume 21, 2002)
1,4-ジオキサン



国立医薬品食品衛生研究所 安全情報部
2013年8月

本部分訳文書は、1,4-dioxane (CAS No: 123-91-1)に関するEU Risk Assessment Report, (Vol. 21, 2002)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/dioxanereport038.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、分布および排泄

経口投与

雄ラット(n=3)に 10、100 または 1,000 mg/kg 体重の ^{14}C -1,4-ジオキサンを単回経口投与した試験が行われている。10 mg/kg 体重投与群では 24 時間後、100 mg/kg 体重または 1,000 mg/kg 体重投与群では 72 時間後に尿中、糞中および呼気中の放射能を測定した。これとは別に、10 mg/kg 体重または 1,000 mg/kg 体重の ^{14}C -1,4-ジオキサンを、雄ラット(n=2)に 17 日間投与した試験が行われている。排泄物が最長 20 日間採集され、また試験終了時にはラットを屠殺して、得られた試料の放射能が分析された。

Table 4.9 Cumulative excretion of radioactivity in rats after oral dosing

	% of the dose				
	Single dose (mg/kg bw)			Multiple doses (mg/kg bw)	
	10	100	1,000	10	1,000
Time (h)	24	72	72	480	480
Urine	98.74	85.52	75.74	98.87	82.32
Faeces	0.95	1.95	1.06	0.46	2.05
Expired 1,4-dioxane	0.43	4.69	25.25	1.33	8.86
Expired $^{14}\text{CO}_2$	3.07	3.13	2.39	4.17	6.95
Body	3.11	1.47	1.02	0.63	0.53

単回および反復投与試験のいずれにおいても、尿中排泄率は投与量の 75.74~98.74%〔訳注：正しくは 98.87%〕、糞中排泄率はわずか 0.46~2.05%であったことから、ラットにおける ^{14}C -1,4-ジオキサンの吸収率が高いことが示された。呼気中の 1,4-ジオキサンは、投与量の

0.43%(10 mg/kg 体重投与群)から 25.25%(1,000 mg/kg 体重投与群)まで用量依存的に増加し、尿中排泄/代謝が飽和状態となることが示唆された。反復投与試験においても飽和が起り、また、呼気中 $^{14}\text{CO}_2$ 量は増加した。1,000 mg/kg 体重を反復投与した群では、単回投与群に比べ呼気中の 1,4-ジオキサンが減少し、呼気中 $^{14}\text{CO}_2$ が増加したが、このような影響は、10 mg/kg 体重反復投与群では観察されなかった(Young et al., 1978)。

経皮投与

雌雄の Pitman-Moore アカゲザル(n=3~6)を用いた皮膚透過性試験が報告されている。この試験では、サルの前腕部皮膚に、メタノールまたはスキンローションに溶解した ^{14}C -1,4-ジオキサンを 24 時間開放適用し(用量:4 mg/cm²; 適用面積:3~15 cm²)、24 時間後に水および石鹼を用いて適用部位を洗浄した。スキンローションに溶解した 1,4-ジオキサンを適用した群では、適用の 1 分後および 5 分後、それぞれ適用量の 36%および 15%が皮膚に検出された。適用後 5 日間の尿を採集して放射能を分析した結果、それぞれ適用量の 2.3%および 3.4%が 24 時間以内に尿中に排泄されたことが示された。また、尿中排泄パターンを推測したところ、適用後 4 時間以内に吸収速度が最大値に達したものと考えられた(Marzulli et al., 1981)。しかし、Appel(1988)は、適用 5 分後に皮膚で検出された被験物質が適用量のわずか 15%であったことから、皮膚からの蒸発がこの試験の結果に影響を及ぼしている可能性を指摘した。したがって、この試験からは、経皮吸収が起こるという結論だけしか得られない。

Fairley et al.(1934)が行った試験では、1,4-ジオキサンの 80%水溶液を、ウサギ(4 匹)およびモルモット(4 匹)の皮膚に非閉塞条件下で反復適用した。その結果、50~100 日以内に、腎尿管細胞および糸球体の損傷、腎髄質の出血、ならびに肝臓の変性が認められた。しかし、この試験は非常に小規模なものであったため、経皮吸収が起こるという結論だけしか得られない。

吸入

頸静脈カテーテルを挿入した雄の Sprague-Dawley ラット(4 匹)を用いた吸入試験が報告されている。この試験では、空気流動条件下の頭部曝露用吸入チャンバー(容積 1 L)に動物を静置させ、チャンバー内濃度が 180 mg/m³(50 ppm)となるよう 1,4-ジオキサンの流量を調節して吸入曝露を行い、6 時間の曝露中および曝露後に、尿を採取して分析を行った。

曝露終了時の放射能は、血漿中 1,4-ジオキサン濃度として表すと、7.3 µg/mL であった。その後、血漿中 1,4-ジオキサン濃度は、対数線形的に低下し、試験開始の 11 時間後には、検出限界(0.3 µg/mL)未満となった。半減期($t_{1/2}$)は、1.01 時間と算出されている。尿中に検出された 1,4-ジオキサンおよび β -ヒドロキシエトキシ酢酸(HEAA)は、曝露中(0~6 時間)には

それぞれ 5.1 および 7,613 μg 、曝露後(6~48 時間)にはそれぞれ 1.7 および 13,659 μg であった。その後、吸入された 1,4-ジオキサン(1,4-dioxane)の尿中排泄は、総量の 99.9%以上が HEAA のかたちで為された。尿中に排泄された 1,4-ジオキサン(6.8 μg)および HEAA の 1,4-ジオキサン当量 [21,271 $\mu\text{g} \times 0.73$ (分子量の比)]の総量から推定すると、ラットは、6 時間の曝露時間中に、少なくとも 72 mg/kg 体重の 1,4-ジオキサンを吸収したと考えられる。ラットの毎分換気量を 240 mL/分とすると、これらのデータから、1,4-ジオキサンは完全に吸収されると考えられる (Young et al., 1978)。

その他

ラット(1 群 6 匹)に 3、10、30、100、300 または 1,000 mg/kg 体重の ^{14}C -1,4-ジオキサンを静脈内投与した試験が報告されている。この試験では、右頸静脈から 5 分おきに血液サンプルを採取して、血漿中放射能を測定した。また、別の 2 匹のラットを用い、呼気中(1,4-ジオキサンおよび $^{14}\text{CO}_2$)ならびに尿および糞中の放射能の測定を行った。試料採取は、供試ラットに頸静脈および尿管カテーテルを留置して行った。

最低用量側(3 mg/kg 体重および 10 mg/kg 体重)では、血漿中放射能の消失動態に明らかな線形性が認められ、 $t_{1/2}$ は 1.1 時間であった。これより高用量では血漿中放射能の消失は次第に緩徐となり、100 mg/kg 体重以上の高用量群では、消失は遅延して血漿中濃度が最高値の約 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ に達し、その後、低用量側と同一の $t_{1/2}$ で消失が進行した。血漿クリアランスは、3 mg/kg 体重投与群で 3.33 mL/分、1,000 mg/kg 体重投与群では 0.25 mL/分と、用量の増加に伴って低下した。1,4-ジオキサンの腎クリアランス速度は、10 mg/kg 体重投与群で 0.032 mL/分、1,000 mg/kg 体重投与群で 0.029 mL/分と低値を示し、腎臓での再吸収率が非常に高いことが示唆された。また、肺クリアランスも低く、10 mg/kg 体重投与群で 0.032 mL/分、1,000 mg/kg 体重投与群で 0.055 mL/分であった。代謝クリアランス(すなわち、血漿クリアランスと腎臓および肺クリアランスの合計との差)は、10 mg/kg 体重投与群で 2.82 mL/分、1,000 mg/kg 体重投与群で 0.17 mL/分と、用量の増加に伴って低下し、高用量では、ラットの代謝能が飽和することが示唆された。この試験における 1,4-ジオキサンの飽和曲線から、血漿中濃度がプラトー濃度 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ に達しない量で投与された場合には、速やかに代謝・排泄されるが、高用量の投与により血漿中濃度がこれを上回った場合は、代謝の飽和により体内からの排泄が緩徐になることが示唆された。

1,4-ジオキサンの尿および呼気中への排泄は、血漿中 1,4-ジオキサンの濃度の変化と整合するパターンを示したことから、これらが排泄の第一段階であることが示唆された。尿および呼気中に排泄された 1,4-ジオキサンの総量は、10 mg/kg 体重投与群では投与量の 5% (それぞれ 4%+1%)、1,000 mg/kg 体重投与群では投与量の 38% (それぞれ 11%+27%) であった。また、10 mg/kg 体重投与群では 92% が HEAA として尿中に排泄されたが、1,000 mg/kg 体重

投与群ではわずか 60%であった (Young et al., 1978)。

雄の Sprague-Dawley ラットに 6.97 mg/kg 体重の ^3H -1,4-ジオキサンを腹腔内注射し、注射後 16 時間までのさまざまな時点における、全血、肝臓、腎臓、脾臓、肺、結腸および骨格筋への放射能分布を検討した試験が行われている。注射の 1~2 時間後には、腎臓で他の組織より 1.5~2 倍高い濃度の放射能が検出された。これについては、尿を介した排泄があることによると説明されており、腎臓を除く他の組織では、ほぼ様な分布がみられた。また、測定を行ったすべての組織において、放射能は経時的に減少した。血液中の放射能は、いずれの測定時点においてもこれらの組織中での濃度より高値を示した (1 時間後の腎臓中での濃度を除く)。さらに、1,4-ジオキサンの結合性を検討した結果、「共有」結合量 (組織中の無脂質・酸不溶性内容物への放射能の取り込みにより評価) は注射後 6 時間まで増加し、肝臓、脾臓および結腸では他の組織に比べ明らかに高値であり、骨格筋および血液中でははるかに低値であった。肝臓における細胞内分布を検討したところ、大半の放射能がサイトゾル画分に存在し、続いてミクロソーム画分、ミトコンドリア画分および核画分に存在していることが示された。これら 3 つの顆粒画分のすべてにおいて、比放射能は、1,4-ジオキサン投与の 6 時間後に最高値に達した。「共有結合」の割合 (組織中の無脂質・酸不溶性内容物への取り込みにより評価) は、核画分中で最も高く、ミクロソーム画分、ミトコンドリア画分および全ホモジネートがこれに続いた。ラットに対し、ミクロソームの混合機能オキシダーゼを誘導する物質による前処置 [3-メチルコラントレン (コーン油に溶解、40 mg/kg 体重を 1,4-ジオキサン投与の 24 時間前に単回腹腔内投与)、ポリ塩化ビフェニル (コーン油に溶解、500 mg/kg 体重を 1,4-ジオキサン投与の 4 日前に腹腔内投与)、ないしは、フェノバルビタール (0.9% 生理食塩水に溶解、80 mg/kg 体重を 1,4-ジオキサン投与前の 4 日間連続して 1 日 1 回腹腔内投与)] を行っても、1,4-ジオキサンの「共有結合」に対する有意な影響は、肝臓の細胞内画分のいずれにおいても認められなかった。In vitro では、 ^3H -ベンゾ [a] ピレンの DNA 付加体が形成される条件下でも、 ^3H -または ^{14}C -ジオキサンがミクロソームの触媒作用により DNA へ結合する事象は認められなかった (Woo et al., 1977d)。

ラットに、LD₅₀ (799~5,600 mg/kg 体重) の 1/10 に相当する ^{14}C -1,4-ジオキサン (詳細は不明) を単回腹腔内投与した試験が行われている。5 分後、15 分後、30 分後、1 時間後、3 時間後および 6 時間後の各時点で、それぞれ 6 匹のラットを屠殺して分析した。肝臓および腎臓では 5 分後に、血液、脳および精巣では 15 分後に、1,4-ジオキサン濃度が最高値に達した。分布係数 (組織/血液) は、肝臓および腎臓とともに 0.8 であったが、肝臓では試験終了時までこの値が維持されたのに対し、腎臓では試験終了時には 1.0 に増加していた。また、精巣における組織/血液分布係数は、5 分後に 0.6、試験終了時には 1.3 であり、脳では一貫して 0.7 であった。6 時間後の肝細胞における細胞内画分/組織比は、核画分で 0.06、ミトコンドリア肝画分で 0.01 であった (Mikheev et al., 1990)。

生体内変化

雄の Sprague-Dawley ラット(2匹)に、蒸留水に溶解した ^{14}C -1,4-ジオキサン 1,000 mg/kg 体重を単回強制経口投与した試験が行われている。24 時間尿を採集して、放射能を分析し、さらに TLC、GC、NMR および GC/MS により、代謝物の同定を行った。尿中の主要代謝物として HEAA が同定され、HEAA は排泄物の 85%を占めていた。残りの 15%は 1,4-ジオキサンの未変化体およびジエチレングリコールであった (Braun and Young, 1977)。

ラットに、10、100 または 1,000 mg/kg 体重の ^{14}C -標識 1,4-ジオキサンを単回強制経口投与して、1,4-ジオキサンの体内動態が検討されており、この試験の結果、非線形的動態をとると考えられた。10 mg/kg 体重の低用量では、投与量の大半が HEAA として速やかに尿中に排泄され、呼気中には少量の親化合物が排泄されたのみであった。これより高用量(100 mg/kg 体重および 1,000 mg/kg 体重)では、未変化 ^{14}C -1,4-ジオキサンの呼気中への排泄が増加した。 ^{14}C -1,4-ジオキサン 1,000 mg/kg 体重を 17 日間 1 日 1 回経口投与されたラットでは、尿中代謝物および呼気中代謝物($^{14}\text{CO}_2$)の量がこれより高値であったことから、1,4-ジオキサンの生体内変化が増加したことが示された。この用量では、代謝酵素の誘導が起こっていた。しかし、10 mg/kg 体重では、反復投与でも、生体内変化の増加は認められなかった (Dietz et al., 1982; Reitz et al., 1990; Young et al., 1978)。

雄の Sprague-Dawley ラットに 1,000 (Woo et al., 1977b では 500)~4,000 mg/kg 体重の 1,4-ジオキサンを腹腔内投与し、尿中の揮発性化合物を検討した試験が行われている。投与後 8~12 時間間隔で 2 日間尿試料を採集し、分析を実行した。試料の浄化は、酸性系で行った。分析の結果、1,4-ジオキサンおよび代謝物の 2 つの主要ピークが認められ、この代謝物は 1,4-ジオキサン-2-オンと同定された。この代謝物は、12 を超える pH では検出されなかったが、尿を再酸性化することにより再び検出可能となった。また、この代謝物の排泄は、用量および時間依存的に増加し、投与後 20~28 時間後に最大に達した。未変化体 1,4-ジオキサンの尿中排泄率は、1,000、2,000、3,000 および 4,000 mg/kg 体重投与群で、それぞれ 2.9%、6.8%、10.8%および 10.8%であり、3,000 mg/kg 体重投与群では、33%が 1,4-ジオキサン-2-オンとして排泄された (Woo et al., 1977a; 1977b)。

備考

同定される代謝物は、pH により異なる。高 pH では HEAA が主要代謝物として検出されたが、低 pH では HEAA は 1,4-ジオキサン-2-オンに変換され、これが主要代謝物として同定された。これら 2 つの物質は、化学平衡の関係にある。

代表的な肝混合機能オキシダーゼ (MFO) 誘導剤および阻害剤が 1,4-ジオキサン-2-オン(尿

中に認められる 1,4-ジオキサンの主要代謝物の排泄に及ぼす影響について、ラットに 3 g/kg 体重の 1,4-ジオキサンを腹腔内投与した試験において、検討されている。誘導剤として、フェノバルビタール(0.9%生理食塩水に溶解、80 mg/kg 体重を 1,4-ジオキサン投与前の 4 日間連続して 1 日 1 回腹腔内投与)、ポリ塩化ビフェニル組成物のアロクロール 1254(コーン油に溶解、500 mg/kg 体重を 1,4-ジオキサン投与の 4 日前に単回腹腔内投与)、ないしはこれよりはるかに少ない量の 3-メチルコラントレン(コーン油に溶解、40 mg/kg 体重を 1,4-ジオキサン投与の 24 時間前に単回腹腔内投与)を用いて前処置を施すと、代謝物の排泄が増加し、排泄ピーク出現までの時間が早まった。これとは逆に、MFO の阻害剤/抑制剤である 2,4-ジクロロ-6-フェニルフェノキシエチルアミン(2,4-dichloro-6-phenylphenoxyethylamine) (0.9%生理食塩水に溶解、15.9 mg/kg 体重を 1,4-ジオキサン投与の 0.5 時間前、8 時間後、16 時間後、24 時間後に腹腔内投与)、ないしは塩化コバルト(60 mg/kg 体重を 1,4-ジオキサン投与の 24 時間前に皮下注射)を投与した場合には、代謝物の排泄は減少した。観察された影響は、腎臓の排泄機能とは関係性がなかった。また、誘導剤の中で最も強い影響が認められたのはフェノバルビタールであり、アロクロール 1254 がこれに続き、3-メチルコラントレンの作用が最も弱かった(Woo et al., 1977c; 1978)。

代謝物 HEAA は、酸化能の高い組織に蓄積することが報告されている(Hecht & Young, 1981; Hecht et al., 1983)。

Hecht and Young (1981) は、上述の酸化生成物(1,4-ジオキサン-2-オンおよび HEAA)のほかに、水酸化により 1,4-ジオキサン-2-オールが生成されるものと推論している。1,4-ジオキサン-2-オールは、反応性の高い β -ヒドロキシエトキシアセトアルデヒドと平衡状態にあり、この化合物は細胞毒性を有すると考えられている。1,4-ジオキサンが高用量投与されたことによって酸化能が飽和して HEAA への酸化が阻害されている細胞中では、毒性学的意義がある量の 1,4-ジオキサン-2-オール(\rightleftharpoons β -ヒドロキシエトキシアセトアルデヒド)が生成され得ると考えられる。

Braun and Young (1977) が行った試験においても、ジオキサン代謝物を酸性条件下でクロマトグラフィーにより分離する過程で、HEAA の環化により 1,4-ジオキサン-2-オンが生成される可能性が示されている。

1,4-ジオキサンの代謝については、以下の図に示した経路が考えられる。考えられる経路は、以下のとおりである。

- ジエチレングリコールへの加水分解の後、水酸基の 1 つが酸化を受ける経路
- ケトペルオキシラジカルと考えられる中間体を介した、直接変換による経路、および
- α -水酸化の後、ヘミアセタールまたはヒドロキシアルデヒド中間体が酸化される経路

(Woo et al., 1977a)。

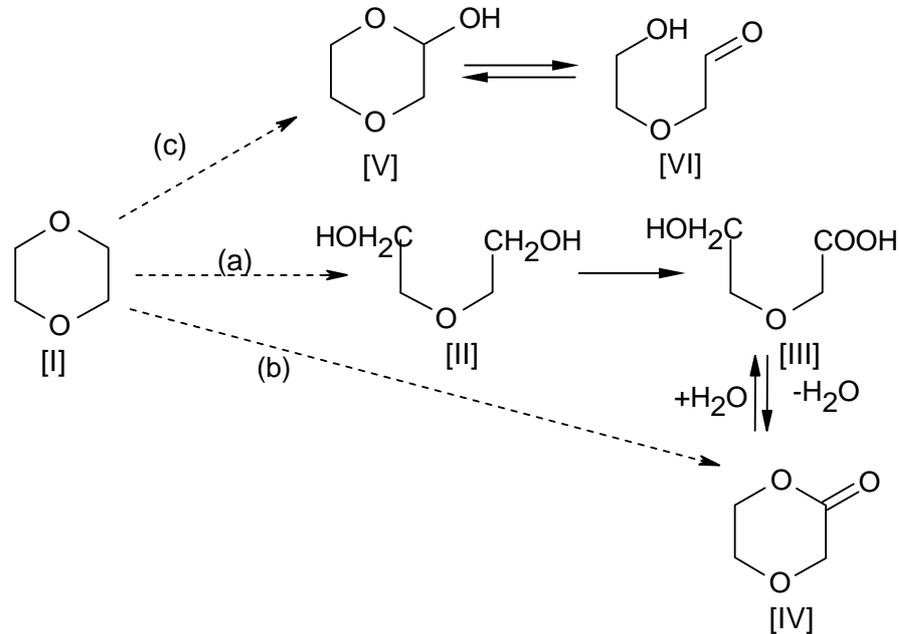


Figure 1 Suggested metabolic pathways of 1,4-dioxane in the rat (Woo et al., 1977a)
 (I 1,4-dioxane; II diethylene glycol; III β -hydroxyethoxy acetic acid (HEAA);
 IV 1,4-dioxane-2-one; V 1,4-dioxane-2-ol, VI β -hydroxyethoxy acetaldehyde)

4.1.2.1.2 ヒトにおける試験

経口曝露

データは得られていない。

経皮曝露

In vitro

ヒトから摘出した皮膚を用いて、¹⁴C-1,4-ジオキサンの皮膚透過性が検討されている。この試験では、化粧品に使用される代表的な3種の溶媒を用い、本物質を表皮に適用した。

¹⁴C-1,4-ジオキサンは揮発性の化合物であるため、皮膚適用後の蒸発量も測定した。蒸発を防止した場合の各溶媒中における1,4-ジオキサンの吸収速度は、水で 4.3×10^{-4} cm/時、ミリスチン酸イソプロピルで 11.2×10^{-4} cm/時、「一般的なローション」では 2.7×10^{-4} cm/時であっ

た。著者は、これらの結果から、1,4-ジオキサンを、速やかに透過する化合物であるとしている。

「一般的なローション」を溶媒として 1,4-ジオキサンを適用し、蒸発を抑制しなかった場合、皮膚透過は、約 10～20 分の 1 に減少した。別の試験では、添加した ^{14}C -1,4-ジオキサンの 90%が、ローションの薄い層から 15 分以内に蒸発し、残存した化合物も、その大半が 24 時間かけて徐々に蒸発したことが示されている (Bronaugh et al., 1980; 要約のみ閲覧可、詳細は不明)。

吸入曝露

1,4-ジオキサンの体内動態および代謝を検討した試験が行われている。健康な男性 4 名を、濃度 50 ppm (180 mg/m³) の空気流動条件下の曝露チャンバー内で、6 時間曝露した。血液試料を試験開始後 12 時間まで一定間隔で採取し、尿試料を曝露中から曝露後にわたって計 48 時間採集した。

血漿中濃度は、初期に急激に上昇した後、曝露中にプラトーに達した。曝露後、血漿中 1,4-ジオキサン濃度は直線的に低下したことから、排泄は一次型で 50 ppm の曝露濃度では飽和に達していないことが示された。この試験における 1,4-ジオキサンの血漿中半減期 ($t_{1/2}$) は、59 分であった。血漿中 HEAA 濃度は 7 時間後に最高値に達し、その後、対数線形的に低下した。曝露期間終了後、血漿中 HEAA 濃度は、血漿中 1,4-ジオキサン濃度を上回っていた。

1,4-ジオキサンの総投与量の 99.3%が、HEAA として尿中に排泄された。HEAA の 47%は曝露後 0 時間～6 時間の間に排泄され、24 時間後以降には検出されなかった。HEAA の尿中半減期 ($t_{1/2}$) は、2.7 時間であった。尿中に排泄された 1,4-ジオキサンは、総投与量のわずか 0.7%であり、曝露後 0 時間～6 時間の間にその 90%がすでに排泄され、12 時間後以降には検出されなかった。1,4-ジオキサンの尿中半減期 ($t_{1/2}$) は、48 時間であった。

尿中に排泄された 1,4-ジオキサンおよび HEAA の 1,4-ジオキサン当量の合計から推算すると、6 時間の曝露期間中に、少なくとも 5.4 mg/kg 体重 (すなわち、換気量を 20 m³/日として、少なくとも投与量の 50%) の 1,4-ジオキサンが吸収されたと考えられる。しかし、1,4-ジオキサンおよび HEAA はいずれも、その大部分が曝露期間中に排泄されたことから、推算値の 5.4 mg/kg 体重が同時に体内に存在したわけではない。体内量が最高値に達したのは、曝露開始から 6 時間後であった。このときの体内量は、0 時間～6 時間の間に排泄された 1,4-ジオキサンおよび HEAA の 1,4-ジオキサン当量の合計を総曝露量から差し引くことにより、1,4-ジオキサン当量で 2.86 mg/kg 体重であったと算出された。

1,4-ジオキサンへの反復曝露を模した試験が行われている。濃度 180 mg/m^3 、1日1回8時間で反復曝露を実施した。その結果、1,4-ジオキサンへの曝露濃度が 180 mg/m^3 以下であれば、8時間の単回曝露後に認められる濃度を上回る蓄積は起こらないことが示された(Young et al., 1977)。

1,4-ジオキサン工場作業員の尿中に、1,4-ジオキサンおよび HEAA が検出されたことが報告されている。作業員は、時間加重平均濃度 1.6 ppm (5.8 mg/m^3) で、7.5時間の曝露を受けていた。就業日の作業終了時に採取した尿試料中の1,4-ジオキサンおよび HEAA の平均濃度は、それぞれ $3.5 \text{ }\mu\text{mol/L}$ および $414 \text{ }\mu\text{mol/L}$ であった。したがって、1,4-ジオキサンは、尿中の1,4-ジオキサンおよび HEAA の総濃度の、わずか 0.8% を占めるに過ぎなかった。これにより、ヒトにおける1,4-ジオキサンから HEAA への代謝は非常に速やかであり、 1.6 ppm の蒸気濃度では代謝の飽和は起こらないことが示された(Young et al., 1976)。

特殊な試験：モデル化試験

Fisher et al. (1997) の論文に、授乳期の生理学的薬物動態 (PB-PK) モデルに関する記述がある。著者は、このモデルを用いて、授乳中の女性(出産後2~3ヵ月)が 25 ppm (90 mg/m^3) の一定濃度の蒸気に8時間曝露される場合を想定し、1,4-ジオキサンの母乳中への移行を予測した。モデル化に際しては、安全側に考慮した授乳計画(すなわち24時間中に12分間の授乳を8回)を採用し、母乳を介した乳児への1,4-ジオキサンの移行を増強させた設定とした。また、1,4-ジオキサンに関し、公表されているヒトの代謝パラメータおよびヒトの薬物動態モデルを使用した。このモデルから、仮定された母体の業務上曝露濃度、状況および授乳計画において乳児が摂取するジオキサンの量は、 0.559 mg/日 であると予測された。しかし、この論文にはモデルの妥当性を検証する試み(例えば実測濃度との比較など)についての記載がないため、モデルの性能についても、ジオキサンの血漿中濃度-時間曲線が導出されていないため、適切に評価することができない。このような重大な欠陥があるため、この試験の結果から定量的な結論を導き出すことはできない。だが、この試験により、乳汁中への排泄が起こり得ることは示されている。

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

ラットを経口曝露ないしは吸入曝露した場合には、放射性標識1,4-ジオキサンは、速やかに、かつほぼ完全に吸収された。ヒトにおいても、吸入曝露後、1,4-ジオキサンは速やかに吸収され、吸収率は 50% 以上であった。経皮吸収に関しては、定量的な結論を導き出すことはできないが、Marzulli et al (1981) および Fairley et al. (1934) の試験に基づき、起こり得ると

結論づけられる。*In vitro* 試験により、1,4-ジオキサンは、閉塞適用した場合はヒトの皮膚を透過するが、開放適用では急速に蒸発することが明らかにされた。リスク評価にあたっては、経口および吸入経路では吸収率を 100%とし、経皮経路では 50%とする。後者は、簡略なデータによってではあるが、揮発性化合物である 1,4-ジオキサンの吸収率は最悪のケースでも 100%に達しないことが示されているため、デフォルト値として選択したものである。

ジオキサン関連物質は、ラットおよびヒトのいずれにおいても、主として尿を介して排泄された。ヒトの尿中に認められた主要代謝物は、 β -ヒドロキシエトキシ酢酸(HEAA)であった。ラットでは、HEAA および 1,4-ジオキサン-2-オンの両者が、主要代謝物として同定された。これらの代謝物の同定には pH の影響がみられ、高 pH では HEAA が検出されるが、低 pH では HEAA は 1,4-ジオキサン-2-オンに変換される。これら 2 つの代謝物は化学平衡の関係にあり、低 pH では 1,4-ジオキサン-2-オン側に平衡が移行する。

ラットおよびヒトにおいて、1,4-ジオキサンの体内動態および代謝は比較的類似しているが、ラットでは、1,4-ジオキサンから HEAA への代謝能に限界があるため、用量依存的であることが示されている。すなわち、1,4-ジオキサン 10 mg/kg 体重の単回経口投与では速やかに代謝されて尿中に排泄されたが、1,000 mg/kg 体重を単回投与した場合には、1,4-ジオキサンから HEAA への代謝が飽和した結果、HEAA の尿中排泄が減少し、呼気中の 1,4-ジオキサンが増加した。また、ラットでは、10 mg/kg 体重以下の静脈内投与後、および 180 mg/m³での吸入曝露後の、1,4-ジオキサンの血漿中からの消失動態には、線形性が認められ、 $t_{1/2}$ は 1 時間であった。高用量(100 mg/kg 体重以上)の静脈注射による投与では、血漿中濃度が最高値の約 100 μ g/mL に達するまでは消失が次第に緩徐となったが、その後は、低用量の場合と同一の $t_{1/2}$ で消失した。したがって、投与後の血漿中濃度が 100 μ g/mL を超えるような用量では、1,4-ジオキサンの代謝が飽和するものと考えられる。ヒトを 180 mg/m³の 1,4-ジオキサンで吸入曝露した試験では、1,4-ジオキサンは血漿中から速やかに消失して($t_{1/2}$ は 1 時間)尿中に排泄され、飽和は起こらなかった。

ラットに高用量の 1,4-ジオキサンを反復経口投与した場合、1,4-ジオキサンの体内動態には、より大きな変化(酸化酵素活性の変化および血漿中への 1,4-ジオキサンの蓄積の減少など)が生じる。このような変化は、呼気中の 1,4-ジオキサンの減少および ¹⁴CO₂ 量の増加と相関してみられており、おそらく、酸化生成物(HEAA および 1,4-ジオキサン-2-オン)と生成され得る中間生成物(1,4-ジオキサン-2-オール/ β -ヒドロキシエトキシアセトアルデヒド)との割合が、後者側に偏移することにも関連していると考えられる。

PB-PK モデル化試験により、ジオキサンがヒトの乳汁中にも排泄される可能性が示されている。

4.1.2.2 急性毒性

4.1.2.2.1 動物における試験

種々の動物種および投与経路を用いて、いくつかの試験が実施されている。最も信頼できる試験の概要を、**Table 4.10** に示す。ただし、これらの試験の大半は古くて詳細を欠いていること、およびいずれの試験も現行ガイドラインや GLP に準拠して実施されたものではないことに、留意が必要である。

Table 4.10 Summary of acute toxicity data

Route	Species	Protocol	Results LD50/LC50	Reference
Oral	rat	other *	ca.5,170 mg/kg bw	BASF, 1973
		other *	5,345 mg/kg bw	Laug et al., 1939
		other *	ca. 6,200 mg/kg bw	Nelson, 1951
		other *	6,370 mg/kg bw	Pozzani et al., 1959
		other *	6,500 mg/kg bw	BASF, 1958
		other *	7,339 mg/kg bw	Smyth et al., 1941
	mouse	other *	5,850 mg/kg bw	Laug et al., 1939
	guinea pig	other *	3,256 mg/kg bw	Smyth et al., 1941
		other *	4,000 mg/kg bw	Laug et al., 1939
	rabbit	other *	ca. 2,100 mg/kg bw	Nelson, 1951
	rabbit	other *	6,500 mg/kg bw	Knoefel, 1935
Dermal	rabbit	unknown	7,855 mg/kg bw	RTECS, 1995
Inhalatory	rat	unknown, 2 hours exposure	46,000 mg/m ³	RTECS, 1995
	rat	unknown, 4 hours exposure	51,300 mg/m ³	Pozzani et al., 1959
	mouse	unknown, 2 hours exposure	37,000 mg/m ³	RTECS, 1995

* See IUCLID

経口投与

ラット、マウスおよびモルモットにおける経口投与試験で認められた毒性徴候は、嗜眠、昏睡、消化管粘膜の炎症、ならびに肝臓および腎臓の障害であった (Laug et al., 1939; Nelson, 1951; Smyth et al., 1941)。また、ウサギにおいては、用量依存的な嗜眠が認められた (Nelson, 1951)。

経皮投与

ウサギの経皮 LD₅₀ を検討した試験の要約には、LD₅₀ が示されているのみであり (Table 4.10 を参照のこと)、臨床症状および毒性影響のいずれについても記載されていない (RTECS,

1995)。

吸入投与

Sprague-Dawley ラット(1群雌雄各3匹)を、予定濃度 155,000 mg/m³ で、1時間、3時間ないしは7時間曝露した試験が行われている。動物の観察を14日間行った。1時間曝露群では死亡例はなかったが、3時間曝露群で12匹中6匹、7時間曝露群では18匹中4匹が死亡した(このような例数となったことについては説明がなされていない)。また、吸入曝露の影響として、呼吸困難、無気力、昏睡、眼および気道の粘膜の炎症、眼瞼反射消失、被毛粗剛および失調性歩行のほか、急性心拡張、胃粘膜の出血性びらんならびに胃腸内の血性内容物が観察された(BASF, 1980)。

モルモットを、3,660、7,320、10,980、36,600 ないしは 109,800 mg/m³ の濃度で、最長8時間曝露した試験では、鼻部および目の粘膜に炎症が生じたことが報告されている。また、この試験の最高濃度では、2日以内に死亡例が認められた(Yant et al., 1930)。

雄ラットに、3,660 mg/m³ または 7,320 mg/m³ の1,4-ジオキサンへの4時間曝露を、1日の内に2回施した試験では、血清酵素ALAT、ASATおよびオルニチンカルバミルトランスフェラーゼの顕著な上昇が認められた(Drew et al., 1978)。

その他の投与経路

他の投与経路を用いた試験において、ラットで 799～5,600 mg/kg 体重(腹腔内投与)(Lundberg et al., 1986; Woo et al., 1978; Argus et al., 1973)、マウスでは 4,350 mg/kg 体重(皮下投与)(BASF, 1958)という LD₅₀ 値が得られている。

また、マウスに1,4-ジオキサンを腹腔内投与した試験では、LD₅₀ は約 5,790 mg/kg 体重と算出されている。この試験では、投与の影響として、死亡例に呼吸困難、昏睡、痙攣および腹臥位が観察され、顕微鏡検査で肝臓の変色が認められた(BASF, 1973)。

その他の単回曝露試験

雄の Sprague-Dawley ラット(1群4匹)を用い、[6-³H]チミジン投与後に、生理食塩水に溶解した1,4-ジオキサン0、10、100 または 1,000 mg/kg 体重を強制単回経口投与した。この試験では、投与の7日後に動物を屠殺して肝臓の検査を行った。この結果、臓器重量対体重比、組織1gあたりのDNA量、DNA合成速度([6-³H]チミジンの取込み量により評価)、および

肝臓での病理組織学的変化の発現に、有意な変化は認められなかった。したがって、急性投与では、1,4-ジオキサンは肝細胞毒性を示さないものと考えられる (Stott et al., 1981)。

酵素誘導

雄のマウス(1群5匹)に0、500、1,000または2,000 mg/kg 体重の1,4-ジオキサンを1日1回2日間経口投与した。この試験では、最終投与の24時間後に動物を屠殺して肝臓の検査を行った。この結果、1,000 mg/kg 体重投与群および2,000 mg/kg 体重投与群で、肝臓相対重量の増加および肝臓のミクロソームタンパク質量の増加が認められた。また、同用量で、*in vitro* におけるアミノピリン、エチルモルヒネおよびアセトアニリドといった基質の代謝速度の亢進、およびミクロソームのNADPHシトクロムcレダクターゼ含量およびシトクロムP450含量の増加が認められている (Pawar and Mungikar, 1978)。

神経毒性

1,4-ジオキサンの急性向神経作用を判定するため、電気刺激により誘発させた発作による放電の伝搬・持続が阻害されるか否かが検討されている。

この神経毒性試験は、雄のWistar系アルビノラット(1群4匹)および雌のH系マウス(1群8匹)を用い、異なる2つの条件下で並行して実施された。雄ラットにおいては、1,4-ジオキサン蒸気に4時間曝露し、電気ショックを与えた後に最も強く現れた強直性伸展反応の持続時間の短縮を判定基準とした。一方、雌マウスでは曝露時間を2時間とし、電気ショックを与えた後に強直性伸展反応が発現するまでの時間の遅延を測定した。3用量(正確な濃度は不明)で試験は行われ、その用量範囲では、最大の25~75%の強度で反応がみられた。最大より30%低下した強度の反応がみられた濃度は、ラットで6,807.6 mg/m³、マウスでは8,784 mg/m³であった。なお、行動の変化(昏睡や活動性の低下など)については検討されていない (Frantik et al., 1994)。

Kanada et al. (1994)が行った神経毒性試験では、ラット脳内のモノアミン神経伝達物質および代謝物に対する、1,4-ジオキサン経口投与の影響が検討された。雄のSprague-Dawleyラットに1,4-ジオキサン1,050 mg/kg 体重を単回経口投与し、投与2時間後に動物を屠殺して、脳の種々の領域における、アセチルコリン、3,4-ジヒドロキシフェニルアラニン(DOPA)、ドーパミン、3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸(DOPAC)、ホモバニリン酸(HVA)、ノルエビネフリン、3-メトキシ-4-ヒドロキシフェニルグリコール(MHPG)、セロトニンおよび5-ヒドロキシインドール酢酸(5HIAA)の含量を測定した。

この結果、1,4-ジオキサンの投与により、視床下部のドーパミンおよびセロトニン濃度の有

意な低下、ならびに延髄のセロトニン濃度の有意な低下が認められた。その他の神経伝達物質および代謝物の濃度には、1,4-ジオキサンの投与による有意な影響は認められなかった。なお、行動の変化(昏睡または活動性の低下など)については検討されていない。

4.1.2.2.2 ヒトにおける試験

ヒトにおける1,4-ジオキサンの急性毒性に関するデータは、得られていない。

4.1.2.2.3 急性毒性についての要約

1,4-ジオキサンは、経口LD₅₀値がラットで5,170~7,339 mg/kg 体重、経皮LD₅₀値がウサギで7,855 mg/kg 体重と報告されている。また、吸入LC₅₀は、マウスで36,700 mg/m³、ラットでは46,000~52,000 mg/m³であった。

EC 基準によれば、1,4-ジオキサンは、その急性毒性に基づき、分類を行う必要はない。

ラットでは、1,4-ジオキサン3,660 mg/m³または7,320 mg/m³への4時間曝露により、血清酵素ALAT、ASATおよびオルニチンカルバミルトランスフェラーゼの上昇が認められた。マウスでは、1,000 mg/kg 体重ないしは2,000 mg/kg 体重の経口投与により、薬物代謝酵素の誘導が、用量依存的に認められた。また、ラットにおいて、6,800 mg/m³以上の濃度で、電気ショックによる強直性伸展の持続時間が短縮され、1,050 mg/kg 体重の経口投与により、視床下部のドーパミンおよびセロトニン濃度、ならびに延髄のセロトニン濃度が低下した。

4.1.2.3 刺激性

4.1.2.3.1 動物における試験

皮膚

ウサギ(雄1匹、雌1匹)を用いて経皮投与試験が行われている。1,4-ジオキサンの原液(約0.5 mL)を浸み込ませた2.5×2.5 cm 大の綿パッチを、剃毛した背部皮膚(1、5、15分間および20時間)ならびに耳介部(20時間)に、閉塞条件下で適用した。

1~15分間の皮膚適用により、非常に軽度の紅斑が24時間後に、軽度の鱗屑形成が8日後

に認められた。この鱗屑形成は、おそらく 1,4-ジオキサンの脱脂作用によるものと考えられる。20 時間の適用では、24 時間後に、1 匹の背部皮膚に軽度の紅斑および軽度の浮腫が観察され、7 日後に中等度の鱗屑形成が認められた。また、耳介部皮膚への 20 時間適用では、24 時間後および 8 日後に軽度の紅斑が認められた。しかし、OECD ガイドラインに基づいた刺激性スコアは示されていない(BASF, 1973; Zeller and Kühlem, 1998a)。

Sekizawa et al. (1994) は、独特な刺激性試験を行っている。Wistar ラット(雌雄各 3 匹)および ddY マウス(雌雄各 3 匹)に 1,4-ジオキサンの生理食塩水溶液を適用した。刺激性が認められた最低濃度は 80%であった。なお、濃度に関する詳細データおよび OECD ガイドラインに基づいた刺激性スコアは示されていない。

眼

White Vienna ウサギ(雄 2 匹)の眼に、1,4-ジオキサンの原液 0.05 mL を滴下した試験が行われている(曝露期間不定)。いずれのウサギにおいても、適用 24 時間後に、軽度の角膜混濁および結膜発赤、ならびに軽度から重度の結膜浮腫が観察されたほか、眼脂の沈着が認められた。適用 8 日後(試験終了時)に、1 匹で軽度の結膜発赤が観察されたが、この所見については、観察期間を長くすれば回復がみられたものと考えられた。また、この個体にはわずかな眼瞼退縮も認められた。この試験では現行ガイドラインに比べて非常に低い用量が選択されており、供試動物はわずか 2 匹であったことから、1,4-ジオキサンは眼刺激性物質であると考えべきである(BASF, 1973; Zeller and Kühlem, 1998b)。

In vitro

ウシ摘出角膜を用いた *in vitro* 試験において、1,4-ジオキサンは、濃度 5~100%で刺激性(摘出角膜の混濁度や厚さの変化など)を示した(Igarashi and Northover, 1987; Gautheron et al., 1992)。

気道

Sprague-Dawley ラット(1 群雌雄各 3 匹)を、1,4-ジオキサンに、155,000 mg/m³ の予定濃度で 1 時間、3 時間または 7 時間曝露した試験が行われている。1 時間曝露群の 12 匹中 0 匹、3 時間曝露群の 12 匹中 6 匹、7 時間曝露群の 18 匹中 4 匹が死亡した。気道刺激症状が認められた。この試験では、病理組織学的検査が行われ、死亡例では肺腫脹が観察された。なお、この試験の詳細は不明である(BASF, 1980)。

Gingellet al.(1994)は、モルモットを 1,000～30,000 ppm の濃度の 1,4-ジオキサンに 3 時間曝露した試験(Yant et al., 1930)、ならびにラット、マウス、モルモットおよびウサギを 4,000～11,000 ppm の濃度の 1,4-ジオキサンに 8 時間曝露した試験(Gross, 1938)を引用し、高濃度での曝露により粘膜の顕著な刺激が生じると考えられると述べている。曝露中または曝露後間もなくの死亡の原因は、一般に肺水腫に起因する呼吸不全であったが、死亡例では、脳のうっ血も認められた。また、遅発性の死亡例は、肺炎によるものであった。曝露後に死亡した動物だけでなく、曝露数日後に生存していた動物においても、肝毒性および腎毒性を示す組織学的所見が認められている。

4.1.2.3.2 ヒトにおける試験

皮膚および眼刺激性

Gingellet al.(1994)によると、1,4-ジオキサンは脂肪溶剤であり、長時間および反復的接触により皮膚炎を生じる可能性がある。反復曝露試験で皮膚刺激性が認められており(4.1.2.6.2 ヒトにおける試験の項を参照のこと)、吸入曝露試験で眼刺激性が報告されている(4.1.2.3.2 吸入曝露の項を参照のこと)。

Wirth and Klimmer(1937)は、1,4-ジオキサンの原液は、皮膚に対しては刺激性を示さなかったが、口腔粘膜に軽度の灼熱感が生じさせたことを報告している。しかし、この試験の詳細は不明である。

吸入曝露

Wirth and Klimmer(1937)は、1,000 mg/m³ の濃度で咽喉刺激が認められ、10,000 mg/m³ の濃度では強い咽喉刺激が生じたことを報告している。

12 人の被験者を 1,4-ジオキサンに 15 分間曝露して、嗅覚疲労を観察した試験において、720 mg/m³ が最高許容濃度であることが示された。1,080 mg/m³ の濃度では、臭気は感知されなかったが、眼、鼻および咽喉に刺激が認められた(Silverman et al., 1946)。5,760 mg/m³ で 10 分間曝露した試験では、曝露直後に流涙を伴う軽度の眼の熱感ならびに鼻および咽喉の軽度の刺激が報告されている。また、19,800 mg/m³ での 1 分間曝露により、眼の刺激症状や鼻および咽喉の灼熱感が認められ、36,000 mg/m³ では、肺に刺激症状を生じた(Gingell et al., 1994; Yant et al., 1930)。

4.1.2.3.3 刺激性についての要約

報告されている試験は基本要件を完全には満たしていないが、示されている全データ(ヒトにおける知見を含む)に基づくと、1,4-ジオキサンは、眼および気道に対する刺激性を有するが、皮膚に対しては刺激性を示さないと結論づけることができる。しかし、1,4-ジオキサンは脂肪溶剤であり、長時間および反復的接触により皮膚炎を生じる可能性がある。したがって、本物質については、R36/37 および R66 に分類するのが適切である。

ヒトにおいては、1,000 mg/m³以上の濃度の1,4-ジオキサンへの急性曝露により、臭気は感知されなくても、眼、鼻および咽喉に刺激症状が生じた。

4.1.2.4 腐食性

本物質は、皮膚および眼に対し、腐食性を示さない(4.1.2.3 項を参照のこと)。

4.1.2.5 感作性

4.1.2.5.1 動物における試験

ガイドライン 84/449/EEC に準拠して適切に実施されたマキシマイゼーション試験において、1,4-ジオキサンは、皮膚感作性を示さなかったと報告されている。この試験では、予備試験で1,4-ジオキサンの原液が皮膚刺激を生じないことを確認した後、本試験において、雌のB6系 Pirbright White モルモットを、5%(皮内注射)および100%(経皮適用)の被験物質で感作誘導した。皮内感作誘導により、境界明瞭な紅斑および浮腫が観察された。経皮感作誘導の部位でも境界明瞭な紅斑および軽度の浮腫が認められたが、これらは皮内での感作誘導反応によって生じたものであった。その後、被験物質の原液による感作惹起を行ったが、感作性反応は認められなかった(BASF, 1993)。

4.1.2.5.2 ヒトにおける試験

3年間にわたり毎日1,4-ジオキサンを含む溶剤に曝露され続け、左手に皮膚炎を生じた52歳男性が、パッチテスト(0.5%水溶液)で陽性を示したことが報告されている(Fregert, 1974)。

4.1.2.5.3 感作性についての要約

1,4-ジオキサンは、OECD ガイドラインに準拠して実施されたモルモットマキシマイゼーション試験において、皮膚感作性を示さなかった。したがって、EC 基準によれば、1,4-ジオキサンは、報告されている試験結果に基づき、分類を行う必要はない。なお、ヒトにおいては、データが非常に限られているため、結論を導き出すことができない。

4.1.2.6 反復投与毒性

4.1.2.6.1 動物における試験

経口投与

1,4-ジオキサンについて、長期および短期の反復経口投与試験がいくつか行われている。これらの試験の大半は、亜急性または亜慢性毒性試験としてではなく、適用または曝露期間の短いがん原性試験として記述されたものである。そのような試験については、観察された毒性学的影響を含めて 4.1.2.8「がん原性」の項に記載する。それらのうち、ラットおよびマウスに飲水投与を行った比較的長期の試験では、毒性学的影響として、肝臓、腎臓および鼻に重度の影響が認められ、LOAEL は 0.02% (0.016 g/kg 体重/日に相当) であった。0.01% (10 mg/kg 体重/日に相当) の投与では、影響は何も認められなかった。本項では、「短期」試験の結果を記述する。

Crj:BDF1 マウス (1 群雌雄各 10 匹) を用い、2 週間飲水投与試験が行われている。0、1,110、3,330、10,000、30,000 または 90,000 ppm (雄では 0~90,000 ppm の各投与群でそれぞれ 0、0.21、0.66、1.38、2.55 または 3.63 g/kg 体重/日に相当、雌では 0~30,000 ppm の各投与群でそれぞれ 0、0.24、0.75、1.78 または 3.23 g/kg 体重/日に相当) の用量で、1,4-ジオキサンを飲水投与した。一般状態、体重、摂餌量および飲水量を観察し、剖検ならびに病理組織学的検査 (各群雌雄 2~4 匹ずつ) を行った。この結果、最高用量群の雄 (10 匹中 9 匹) および雌 (10 匹中 10 匹) で、死亡例を認めた。体重および摂餌量の減少が、30,000 ppm 投与群および 90,000 ppm 投与群の雌雄で観察され、飲水量の減少が、雄では 10,000 ppm 以上の投与群で、雌では 3,330 ppm 以上の投与群で認められた。また、肝臓の病理組織学的検査では、90,000 ppm 投与群の雄および 30,000 ppm 投与群の雌で、単細胞壊死および中心部肝細胞の腫脹がみられた (Japan Bioassay Research Center, 1998a)。

Crj:BDF1 マウス (1 群雌雄各 10 匹) を用い、13 週間飲水投与試験が行われている。0、640、1,600、4,000、10,000 または 25,000 ppm の 1,4-ジオキサンを飲水投与した (0~25,000 ppm の

各投与群で、雄ではそれぞれ 0、0.10、0.26、0.58、0.92 または 1.83 g/kg 体重/日、雌ではそれぞれ 0、0.17、0.41、0.92、1.71 または 2.70 g/kg 体重/日に相当)。一般状態の観察、体重、摂餌量および飲水量の測定、血液学的検査、生化学的検査、尿検査、剖検、臓器重量の測定ならびに病理組織学的検査を行った。

この結果、25,000 ppm 投与群の雄 1 匹で死亡を認めた。体重および摂餌量のわずかな減少が、10,000 ppm 投与群および 25,000 ppm 投与群の雄ならびに 25,000 ppm 投与群の雌で観察された。飲水量の減少が、全投与群の雄および 4,000 ppm 以上の投与群の雌で認められた。血液学的検査、生化学的検査および尿検査のパラメータに対する影響は、雄ではそれぞれ 10,000 ppm 以上、4,000 ppm 以上および 10,000 ppm 以上の投与群で、雌では 10,000 ppm 以上の投与群で観察された。肺の絶対重量および相対重量の増加が、25,000 ppm 投与群の雄および 10,000 ppm 以上の投与群の雌で認められ、同用量群の雌では、腎臓重量にも増加がみられた。病理組織学的検査では、非腫瘍性病変が、4,000 ppm 以上の投与群の雄および 1,600 ppm 以上の投与群の雌で、鼻腔(嗅上皮および呼吸上皮の核肥大および好酸性変化、嗅神経の空胞性変化)、気管(上皮の核肥大)、肺(泡沫細胞の蓄積、気管支上皮の変性および核肥大)、および肝臓(単細胞壊死および中心部肝細胞の腫脹)において観察された。生殖器官には、いかなる影響も認められなかった。したがって、1,600 ppm 投与群の雌にみられた病理組織学的所見に基づき、この試験における NOAEL は 640 ppm(0.17 g/kg 体重/日に相当)であると判断される(Japan Bioassay Research Center, 1998b)。

F344/DuCrj ラット(1 群雌雄各 10 匹)を用い、2 週間飲水投与試験が行われている。0、1,110、3,330、10,000、30,000 または 90,000 ppm の 1,4-ジオキサンを飲水投与した(0~30,000 ppm の各投与群で、雄ではそれぞれ 0、0.13、0.37、1.01 または 2.96 g/kg 体重/日、雌ではそれぞれ 0、0.16、0.40、1.04 または 2.75 g/kg 体重/日に相当)。一般状態、体重、摂餌量および飲水量を観察し、剖検ならびに病理組織学的検査(各群雌雄 2~4 匹ずつ)を行った。

この結果、90,000 ppm 投与群の雌雄全例が死亡し、30,000 ppm 投与群の雌で 2 匹の死亡を認めた。体重の減少が、30,000 ppm 投与群および 90,000 ppm 投与群の雌雄で観察された。摂餌量の減少が、10,000 ppm 以上の投与群の雄および 30,000 ppm 以上の投与群の雌で、飲水量の減少が、1,110 ppm 以上の投与群の雄および 3,330 ppm 以上の投与群の雌で、いずれも用量依存的に認められた。病理組織学的検査では、30,000 ppm 投与群の雌雄で、嗅上皮の核肥大、肝臓中心部の細胞腫脹および空胞性変化、近位尿細管細胞の水腫性変化および脳細胞の空胞性変化を認め、10,000 ppm 投与群においても雌雄ともに、嗅上皮の核肥大が認められた(Japan Bioassay Research Center, 1998a)。

F344/DuCrj ラット(1 群雌雄各 10 匹)を用い、13 週間飲水投与試験が行われている。0、640、1,600、4,000、10,000 または 25,000 ppm の 1,4-ジオキサンを飲水投与した(0~25,000 ppm

の各投与群で、雄ではそれぞれ 0、0.06、0.15、0.33、0.76 または 1.90 g/kg 体重/日、雌ではそれぞれ 0、0.10、0.20、0.43、0.87 または 2.01 g/kg 体重/日に相当)。一般状態の観察、体重、摂餌量および飲水量の測定、血液学的検査、生化学的検査、尿検査、剖検、臓器重量の測定ならびに病理組織学的検査を行った。

この結果、25,000 ppm 投与群の雌で 1 匹の死亡を認めた。体重減少が、10,000 ppm 投与群および 25,000 ppm 投与群の雄雌で、摂餌量の減少が、25,000 ppm 投与群の雄および 10,000 ppm 以上の投与群の雌で観察された。飲水量の減少が、全投与群の雄および 1,600 ppm 以上の投与群の雌で、用量依存的に認められた。血液学的検査、生化学的検査および尿検査のパラメータに対する影響は、雄ではそれぞれ 25,000 ppm 以上、4,000 ppm 以上および 4,000 ppm 以上の投与群で、雌ではそれぞれ 10,000 ppm 以上、4,000 ppm 以上および 10,000 ppm 以上の投与群で観察された。また、腎臓の絶対重量および相対重量の増加が、1,600 ppm 以上の投与群の雌で認められた。病理組織学的検査では、非腫瘍性病変が、1,600 ppm 以上の投与群の雌雄ともに、鼻腔(嗅上皮および呼吸上皮の核肥大)、気管(上皮の核肥大)、肝臓(中心部肝細胞の空胞性変化および腫脹、顆粒形成)、腎臓(近位尿細管細胞の水腫性変化および核肥大)、ならびに脳(空胞性変化)において観察された。生殖器官には、いかなる影響も認められなかった。したがって、1,600 ppm 投与群にみられた所見(雌雄で観察された病理組織学的所見および雌における腎重量の変化)に基づき、この試験における NOAEL は、640 ppm(雄で 0.06 g/kg 体重/日、雌では 0.10 g/kg 体重/日に相当)であると判断される(Japan Bioassay Research Center, 1998b)。

報告内容は不十分であるが、近交系(詳細不明)の白色ラット 50 匹を用い、反復投与試験が行われている。5%の 1,4-ジオキサン(約 4,150 mg/kg 体重に相当)を 1~10 日間飲水投与した。この試験における死亡例は 35 匹に及んだが、死亡例については検査を行わず、残る 15 匹の生存動物を、投与期間中の第 1 日、3 日、5 日、7 日、8 日および 10 日に屠殺し、腎臓の肉眼検査および電子顕微鏡検査を行った。なお、その詳細(すなわち屠殺した動物数)は不明であり、対照群に関する記載もない。この試験の結果、曝露開始から 7 日間の間に屠殺したラットには、肉眼的変化は認められなかったが、それ以降に屠殺したラットでは、表面の異常を伴う腎腫大が高頻度に認められた。曝露 3 日後に屠殺したラットの腎臓の顕微鏡検査では、ネフロンの近位尿細管に、腫脹した上皮細胞が認められた。尿細管上皮では、小胞性変性が、曝露の 5 日目からみられ始め、7 日目以降、重症化していった。また、電子顕微鏡検査により、硝子滴の細胞内蓄積や、それに続く、基底膜陥入部の肥大が観察された。続発的な変化が尿細管上皮に認められ、最終的に変性から壊死に至っていた(David, 1964)。

経皮投与

記載内容が非常に乏しいが、Fairley et al.(1934)により、反復投与試験が行われている。ウサギ(4匹)およびモルモット(4匹)の皮膚に、1,4-ジオキサン(1,4-dioxane)の80%水溶液を、開放条件下で反復適用した。その結果、50日～100日以内に、尿細管細胞および糸球体の損傷と腎髄質の出血、ならびに肝細胞変性が生じた。この試験の結果から結論されるのは、経皮吸収が起こり、経口投与後と同様の影響が認められたということのみである。

吸入投与

吸入曝露による短期間一般毒性試験については、適切な情報は得ていない。Torkelson et al.(1974)は、いくつかの吸入試験について言及しており、それらの試験では、ラット、ウサギ、モルモットないしはイヌを用い、180～360 mg/m³の濃度での7時間曝露が、82～136回行われた。これらの試験のすべてにおいて、外観、挙動、成長、死亡率、血液学的所見、臨床化学的所見、臓器重量または肉眼的および顕微鏡的な病理検査に関し、いかなる有害影響も示されなかったと述べられている(詳細は不明)。吸入曝露で行われた1件の特殊試験について、以下の特殊な試験の項に記述する。

ラットを用い、2年間の慢性毒性/がん原性試験が実施されている。がん原性については、4.1.2.8「がん原性」の項で述べることとし、本項では試験デザインおよび毒性学的影響について記述する。

この試験では、Wistar ラット(1群雌雄各288匹)を、400 mg/m³の1,4-ジオキサン蒸気を含んだ空気に、1日7時間、週5日間で2年間にわたり曝露した。このときの投与量は、吸収率を100%、ラットの分時換気量を240 mL/分、体重を400 gとすると、1日7時間の曝露を行ったことから、108 mg/kg 体重/日と算出される。この試験には、雌雄各192匹からなる対照群が設けられた。

一般状態(活動性、挙動、眼および鼻の刺激症状、皮膚の状態および呼吸困難の有無を含む)、体重または死亡率に対する影響は、認められなかった。血液学的数値にわずかな変化が認められたが、正常な生理学的範囲内であり、毒性学的に重要な変化ではないと考えられた。投与群の雄では、BUN 値および AP 値のわずかな低下がみられた。肝臓、腎臓または脾臓の重量には、変化は認められなかった。

肉眼検査および顕微鏡検査では、生殖器官を含む組織/器官に、投与に関連した非腫瘍性病変は認められなかった。したがって、1,4-ジオキサン(1,4-dioxane)の毒性影響に関する NOAEL は、400 mg/m³とみなされる(Torkelson et al., 1974)。

特殊な試験

Stott et al. (1981)は、雄の Sprague-Dawley ラット(1群 4~6匹)に、0、10 または 1,000 mg/kg 体重/日の 1,4-ジオキサンを 11 週間(週 7 日間) 飲水投与する試験を行っている。試験終了の 7 日前に[6-³H] チミジンを投与しておき、屠殺後に肝臓の検査を行った。この結果、1,4-ジオキサンは、最高用量での反復曝露により、肝細胞毒性を示すことが明らかにされた。すなわち、同用量において、肝臓の対体重比の増加、肝細胞 DNA 合成の有意な増加([6-³H] チミジンの取込み量により評価)、およびごく軽微な肝細胞腫脹が認められた。一方、10 mg/kg 体重/日投与群では、対照群に比べて有意な変化は認められなかった。

行動

雌の CFE ラット(1群 8~10匹)を用い、行動に対する影響を検討した試験が行われている。被験動物は、5,490、10,980 ないしは 21,960 mg/m³ の濃度の 1,4-ジオキサンに、1 日 4 時間、週 5 日で 2 週間曝露された。

この試験では、回避反応の低下が用量依存的に認められ、21,960 mg/m³ 曝露群では、数匹に、逃避反応の低下も観察された。どちらのパラメータについても、反応性が最も低下したのは曝露 2 日後であり、その後、これらの影響は低減した。すべての影響は可逆的であり、その他の深刻な行動的影響(運動平衡障害、明らかな抑うつ状態または歩行失調など)は認められなかった (Goldberg et al., 1964)。

4.1.2.6.2 ヒトにおける試験

経口曝露

データは得られていない。

経皮曝露

以下の吸入曝露の項に示した、Johnstone(1959)の試験を参照されたい。

数週間にわたり、1,4-ジオキサンへの経皮曝露を受けた 47 歳女性検査技師において、上肢皮膚に炎症性変化が生じ、顔部にもこれより軽度の変化が認められた。縞模様を呈した皮膚病変の組織学的検査を行ったところ、皮膚炎の徴候が観察された。ただし、当該患者は以前に熱傷を受けていたため、皮膚変化の評価に際しては、これが交絡因子となることに

留意が必要である (Sonneck, 1964)。

吸入曝露

1,4-ジオキサンの曝露による死亡例が最初に記録されたのは 1933 年のことであり、5 人の患者が症状発現から 5～8 日後に死亡したことが報告されている (Barber, 1934)。これらの患者にみられた症状は、Johnstone (1959) が報告した、閉めきった換気設備のない室内で、呼吸装置を使用せず 1,4-ジオキサンに 1 週間曝露された 21 歳の作業員における症状と類似している。この作業員における、1,4-ジオキサン曝露濃度は $720\sim 2,340\text{ mg/m}^3$ であった。この作業員は、さらに、1,4-ジオキサン液が入ったタブに、反復的に両手を浸す状況にあり、また、アルコール依存症であった。徴候として、脇腹に放散していく様な上腹部痛に続いて筋緊張亢進および神経症状が認められ、入院 1 週間後に腎不全により死亡した。剖検の結果、腎臓では、間質における重度の出血を伴う皮質壊死、肝臓では、重度の小葉中心性壊死、脳では脱髄および神経線維組織の部分的損傷が認められた。

In vitro

ヒトのヘモグロビンに対する 1,4-ジオキサンの影響が、分光光度法により検討されている。0.1～0.5%の濃度では、オキシヘモグロビンはメトヘモグロビンに変換されたが、10～20%の濃度では、メトヘモグロビンへの変換に加え、ヘモグロビン-1,4-ジオキサン複合体の形成が認められた。さらに、より高濃度(40%)では、蛋白凝固が生じた (Baykut et al., 1978)。

4.1.2.6.3 反復投与毒性についての要約

1,4-ジオキサンの長期および短期の反復経口投与試験が、いくつか行われている。これらの試験の大半は、慢性毒性/がん原性試験または特殊な目的のための試験とみなされるが、何件かの亜急性および亜慢性試験から情報を得ることができる。ラットに 5%の 1,4-ジオキサンを 1 日～10 日間飲水投与した小規模な試験では、腎臓への影響が認められた。ラットにおける 11 週間の経口投与試験では、10 mg/kg 体重を超える用量において、肝細胞 DNA への [$6\text{-}^3\text{H}$]チミジンの取込み量の増加、およびこれに伴うごく軽微な肝細胞腫脹が観察された。マウスに 0.05～9%、ラットには 0.01～9%の用量で飲水投与を行った、2 週間や 13 週間試験ならびにより長期の試験(4.1.2.8 項を参照のこと)において、毒性学的影響として、鼻腔、肺、肝臓および腎臓に対する重度の影響が認められており、2 年間投与でのラットの NOAEL は、0.01%(10 mg/kg 体重/日に相当)であった。これらの重度の影響に関する LOAEL は、R48 適用上限値を上回っていた。

吸入曝露に関しては、ラットを用いた2年間慢性毒性/がん原性試験のデータを利用できる。この試験における毒性影響に関する1,4-ジオキサンのNOAELは、試験での最高用量である400 mg/m³(108 mg/kg 体重/日に相当)と判断された。報告内容が非常に乏しいが、ウサギおよびモルモットを用いた経皮投与試験で、肝臓および腎臓に対する影響が観察されており、この試験によっても、本物質が皮膚から吸収されたことが示されている。また、ラットにおいて、5,400 mg/m³以上の濃度で、中枢神経系(CNS)に対する影響(回避反応の低下)が用量依存的に増悪したことが示されている。

ヒトにおいては、極端な条件下ではあったが、職業曝露による有害影響が報告されている。皮膚に熱傷を受けたことのある女性での例だが、職業的に経皮曝露を受け、皮膚の炎症性変化および皮膚炎の臨床症状が生じた。アルコール依存症の男性の例では、720~2,340 mg/m³の濃度で職業的に吸入曝露を受け、筋緊張亢進および神経症状を呈し、その後、腎不全により死に至っており、剖検の結果、腎皮質壊死、肝臓の小葉中心性壊死、および脳損傷が認められた。また、ヒトヘモグロビンをを用いた *in vitro* 試験において、0.1~0.5%の濃度では、オキシヘモグロビンのメトヘモグロビンへの変換が、10~20%の濃度ではヘモグロビン-1,4-ジオキサン複合体の形成が観察されている。

4.1.2.7 変異原性

1,4-ジオキサンを用いた遺伝子毒性試験の概要を、**Table 4.11** に示す。なお、適切な要件を満たした試験(OECD ガイドラインまたはその他のガイドラインに準拠して実施された試験)のみを示し、必要に応じて1,4-ジオキサンの揮発度を考慮した。

Table 4.11 Genotoxicity studies with 1,4-dioxane

Assays	Species	Protocol	Results	References
<i>In vitro</i> studies				
Bacterial gene mutation test	<i>S. typhimurium</i> (4 strains)	other: Ames et al. (1975b)	negative (-/+ S9)	Haworth et al., 1983
Bacterial gene mutation test	<i>S. typhimurium</i> (5 strains)	other: Ames et al. (1975a)	negative (-/+ S9)	Stott et al., 1981
Bacterial gene mutation test	<i>S. typhimurium</i> (2 strains)	other: Ames et al. (1975b)	negative (-/+ S9)	Nestmann et al., 1984
Bacterial gene mutation test	<i>S. typhimurium</i> (5 strains)	other: Ames et al. (1975b)	negative (-/+ S9) *	BASF, 1979a/b/c
Chromosome aberration test	CHO-cells	other: Galloway et al., 1985	negative (-/+ S9)	Galloway et al., 1987
Gene mutation test (HGPRT test)	CHO-cells	OECD 476	negative (-/+ S9)	BASF, 1991

Table 4.11 continued overleaf

Table 4.11 continued Genotoxicity studies with 1,4-dioxane.

Assay	Species	Protocol	Results	References
Aneuploidy test	<i>S. cerevisiae</i>	other: Parry and Zimmerman, 1976	negative	Zimmermann et al., 1985
Sister Chromatid Exchange test	CHO-cells	other: Galloway et al., 1985	positive (-S9); negative (+S9)	Galloway et al., 1987
DNA repair test	<i>E. coli</i> /K-12 343/113 uvrB ⁻ /rec A ⁻ and uvrB ⁺ /rec A ⁺	other: Mohn et al., 1984	negative	Héllmer and Bolcsfoldi, 1992
Unscheduled DNA synthesis test	rat hepatocytes	other: Butterworth et al., 1987a	negative	Goldsworthy et al., 1991
Cell transformation assay	Balb/3T3 cells	other: Schechtman and Kouri, 1977	negative (-/+ S9)	Microbiological Associates, 1980a/b
Cell transformation assay	Balb/3T3 cells	other: Sheu et al., 1987	positive (- S9) (+ S9 not tested)	Sheu et al., 1988
Alkaline elution assay	rat hepatocytes	unknown	positive	Sina et al., 1983
<i>In vivo studies</i>				
Dominant lethal assay	mouse	other: Röhrborn and Vogel, 1967 ip 2,500 ml/kg bw	negative	BASF, 1977
SLRL assay	<i>Drosophila melanogaster</i>	unknown	positive	Yoon et al., 1985
Micronucleus assay	B6C3F1 mice	Unknown ip 2,000-4,000 mg/kg bw	negative	McFee et al., 1994
Micronucleus assay	CD-1 mice	Unknown ip 2; 500-3,200 mg/kg bw	negative	Morita, 1994
Micronucleus assay	C57BL6 mice	Unknown po 900-5,000 mg/kg bw	positive	Mirkova, 1994
Micronucleus assay	Balb/c mice	Unknown po 3,600-5,000 mg/kg bw	negative	Mirkova, 1994
Micronucleus assay	CBA mice	Unknown po 1,800 mg/kg bw	negative	Tinwell and Ashby, 1994
Micronucleus assay	C57BL6 mice	Unknown po 3,600 mg/kg bw	negative	Tinwell and Ashby, 1994
Unscheduled DNA synthesis test	rat liver	other: Butterworth et al., 1987b	negative	Goldsworthy et al., 1991
Unscheduled DNA synthesis test	rat nasal epithelial cells	other: Bermudez and Allen, 1984	negative	Goldsworthy et al., 1991
Replicate DNA synthesis test	Fisher 344 rat hepatocytes	other: Uno et al., 1992a/b	negative	Uno et al., 1994
Alkaline elution assay (DNA ss breaks) in liver	Sprague Dawley rats	other	positive	Kitchin and Brown, 1990

* 1,4-dioxane (purity 99%) tested was once containing 2,6-di-tert butyl-p-cresol, once peroxide, and was once peroxide-free.

4.1.2.7.1 *In vitro* 試験

細菌を用いた試験が、Ames et al.(1975a/b)の方法により実施されている。ネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*)の2~5菌株について、複数の用量を設定して実施された。これらの試験のすべてにおいて、代謝活性化の有無にかかわらず、陰性の結果が得られた (Nestmann et al., 1984; Haworth et al., 1983; Stott et al., 1981; BASF, 1979a/b/c)。チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞を用いた遺伝子突然変異試験〔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(HGPRT)遺伝子座試験〕においても、代謝活性化の有無にかかわらず陰性の結果が得られている。この試験においては、被験物質濃度は0.05~10.0 mg/mLであったが、通例観察され得る細胞毒性は認められなかった(BASF, 1991)。また、染色体異常試験においても、代謝活性化の有無にかかわらず陰性の結果が得られている(Galloway et al., 1987)。CHO細胞を用いた姉妹染色分体交換(SCE)試験では、代謝活性化の非存在下では陽性であったが、存在下では陰性を示した(Galloway et al., 1987)。酵母を用いた試験では、異数性発生頻度の増加はみられなかった(Zimmermann et al., 1985)。初代培養ラット肝細胞を用いた不定期DNA合成(UDS)試験の結果も陰性であった(Goldsworthy et al., 1991)。Balb/3T3細胞を用いた細胞形質転換試験では、1件が代謝活性化の非存在下で陽性を示したと報告しているが(Sheu et al., 1998)、別の1件では、代謝活性化の有無にかかわらず陰性の結果を得ている(Microbiological Associates, 1980a/b)。ラット肝細胞を用いたアルカリ溶出試験(DNA一本鎖切断の検出)では、細胞毒性濃度において陽性が認められている(Sina et al., 1983)。

4.1.2.7.2 *In vivo* 試験

小核試験の報告が、合計6件得られている。C57BL6マウスに1,4-ジオキサンを経口投与した試験では、陽性(Mirkova, 1994)および陰性(Tinwell and Ashby, 1994)の異なる結果が示された。BALB/cマウス(Mirkova, 1994)ないしはCBAマウス(Tinwell and Ashby, 1994)に1,4-ジオキサンを経口投与した試験、ならびにB6C3F1マウス(McFee et al., 1994)ないしはCD-1マウス(Morita, 1994)に腹腔内投与した試験では、いずれも陰性の結果が得られている。また、BALB/cマウスでの経口投与試験およびCD-1マウスでの腹腔内投与試験を除き、多染性赤血球(PCE)/正染性赤血球(NCE)比の減少が認められており、1,4-ジオキサンが骨髄に到達していたことが示された。

雄のマウスへの単回腹腔内投与による優性致死試験は陰性であり、受胎率、平均着床数、胚生存率および突然変異誘発指数に変化は認められなかった(BASF, 1977)。キイロショウジョウバエ(*Drosophila melanogaster*)を用いた伴性劣性致死試験では、高用量で陽性結果が示されている(Yoon et al., 1985)。

1,000 mg/kg 体重の 1,4-ジオキサンを単回投与した試験、および 1%の 1,4-ジオキサンを 2 週間または 2%の 1,4-ジオキサンを 1 週間飲水投与した試験のいずれにおいても、初代培養ラット肝細胞での不定期 DNA 合成増加は認められなかった。また、1%の 1,4-ジオキサンを 8 日間飲水投与したラット、または 1%の 1,4-ジオキサンを 8 日間飲水投与してから最高 1,000 mg/kg 体重までの用量で単回強制経口投与したラットの鼻腔呼吸上皮細胞(鼻甲介または上顎甲介より採取)においても、不定期 DNA 合成は、陰性を示した (Goldsworthy et al., 1991)。アルカリ溶出試験では、特に 2,500 mg/kg を超える高用量で、肝細胞における DNA 一本鎖切断の増加が認められている (Kitchin and Brown, 1990)。

4.1.2.7.3 特殊な試験

In vivo

ラットに、前処置として 0.01%、0.1%、1.0%または 2.0%の 1,4-ジオキサンを 1 日～9 週間まで飲水投与した後、1,000 mg/kg 体重の 1,4-ジオキサン単回経口投与した試験において、濃度 0.1%以上の前処置飲水投与群で、肝細胞 DNA への $[6-^3\text{H}]$ チミジンの取込み量が増加したことが報告されている。この影響は、投与の数週間後も持続していた。これには損傷細胞の置換が関係し、したがって細胞毒性も関係していると考えられる (BASF, 1987; Goldsworthy et al., 1991)。

ラットに 1,000 mg/kg 体重の 1,4-ジオキサンを単回強制経口投与した試験では、肝臓の対体重比および標識細胞指数(^3H -メチルチミジンによる)の増加が認められなかったことから、肝細胞増殖は起こらなかったと考えられる。対照的に、1%の 1,4-ジオキサンを 1～2 週間継続して飲水投与した試験では、肝細胞標識指数が倍増し、細胞増殖が起こったことが示唆された (Goldsworthy et al., 1991)。Goldsworthy et al. (1991) は、さらに、米国国立がん研究所 (NCI) によるラットの慢性毒性試験 (4.1.2.8 項参照) で見られたような鼻部腫瘍について分布解析を行い、大半の腫瘍が発生した部位の鼻粘膜上皮における細胞増殖を検討した。この結果、1%の 1,4-ジオキサンを最長 2 週間飲水投与されたラットにおいて、病理組織学的病変は認められず、どの観察部位にも標識細胞指数(^3H -メチルチミジンによる)の増加は認められなかった。

1,000 mg/kg 体重/日を投与した試験 (4.1.2.6.1 項参照) で肝毒性が観察されているにもかかわらず、ラットに同用量を強制経口投与した Stott et al. (1981) の試験では、*in vivo* における DNA アルキル化や肝細胞中の DNA 修復の増加は、観察されなかった。

CBA/J マウス (動物数は不明) に、0.1%、1.0%、5%、10%または 20%の 1,4-ジオキサン溶液

0.5 mL を 7 日間で 7 回腹腔内投与した試験が行われている。その結果、20%投与群で全 7 回の投与が完了する前でも死亡例が認められたが、分離リンパ球における ^3H -チミジンの取込み率には、生物学的に有意な変化は認められていない(Thurman et al., 1978)。

In vitro

Thurman et al. (1978) が行った試験において、0.25%ないしは 0.5%の 1,4-ジオキサンを添加して、無処置マウスから分離したリンパ球の培養が行われている。その結果、リンパ球への ^3H -チミジン取込み率の低下、およびマイトジェン刺激による T リンパ球活性化の抑制が認められたが、B リンパ球活性は著しく増強された。1,4-ジオキサンは、1.0%以上の濃度では、細胞毒性を示した。ヒトリンパ球培養物においては、1,4-ジオキサン 0.25~1.0%の濃度で 2 時間処置しても、有意な影響は認められなかった。ただし、2.5%のジオキサンで処置した場合には、フィトヘムアグルチニン刺激による DNA 合成が顕著に増加した。

1,4-ジオキサンと DNA をマイクロソーム存在下で培養した *in vitro* 試験では、DNA との共有結合の形跡は認められなかった。なお、この試験では、ベンゾ[a]ピレンを陽性対象として用いた(Woo et al., 1977d)。

4.1.2.7.4 代謝物を用いた試験

1,4-ジオキサンの代謝物である 1,4-ジオキサン-2-オンについて、Ames 試験、ラット肝細胞を用いた UDS 試験、および CHO 細胞を用いた HGPRT 試験が行われているが、いずれも陰性であったと報告されている(BASF, 1979d; Goldsworthy et al., 1991; BASF, 1985)。Balb/3T3 細胞を用いた細胞形質転換試験では、代謝活性化の存在下で陰性、非存在下では陽性であったと報告されている(Microbiological Associates, 1981a/b, 1986)。

4.1.2.7.5 変異原性についての要約

In vitro については、染色体異常誘発作用および変異原性作用は報告されていない。*In vivo* においては、優性致死試験で陰性、キイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) を用いた伴性劣性致死試験で陽性結果が示されている。報告が得られた 6 件の小核試験のうち、C57BL6 マウスを用いた経口投与試験 1 件が陽性であった。しかし、C57BL6 マウス、BALB/c マウスないしは CBA マウスを用いた 3 件の経口投与試験、および、B6C3F1 マウスないしは CD-1 マウスを用いた 2 件の腹腔内投与試験では、いずれも陰性の結果が得られた。陰性

結果を得たこれらの試験のうち 4 件で、被験物質は標的器官に到達していた。アルカリ溶出試験においては、*in vitro* および *in vivo* ともに、高用量で DNA 鎖の切断が起こることが指摘された。また、1,4-ジオキサンは、CHO 細胞において姉妹染色分体交換を、Balb/3T3 細胞において細胞形質転換を誘発し得ることが示されている。

1,4-ジオキサンが弱い遺伝子毒性を有する可能性を示唆する結果がいくつか報告されているが、全体的な証拠の重みづけに基づくと、1,4-ジオキサンは遺伝子毒性を有さない化合物であると判断される。肝毒性が発現する用量で DNA 付加体が認められなかったことも、これを裏づけるものである。

4.1.2.8 がん原性

4.1.2.8.1 動物における試験

がん原性に関するデータが得られた試験の概要を、Table 4.12 に示す。

Table 4.12 Carcinogenicity studies with 1,4-dioxane

Study type	Duration	Result	Reference
Mice 0.5 or 1% in drinking water	90 weeks	liver damage, pneumonia/rhinitis hepatocellular carcinomas	NCI, 1978
Mice 0.05, 0.2 or 0.8% in drinking water	104 weeks	damage to nasal cavity, lungs, kidney hepatocellular carcinomas/adenomas	Yamazaki et al., 1994; Japan Bioassay Research Center, 1998c
Rats 1% in drinking water (equivalent to 1g/kg bw/d)	63 weeks	potential for kidney damage and liver tumours	Argus et al., 1965
Rats 0.75, 1.0, 1.4 or 1.8% in drinking water	13 months	kidney damage nasal and liver carcinomas	Hoch-Ligeti et al., 1970; Argus et al., 1973
Rats 0.01, 0.1 or 1.0 % in drinking water	716 days	kidney and liver damage nasal and liver carcinomas	Kociba et al., 1974
Rats 0.5 or 1% in drinking water	110 weeks	damage to liver, kidney, stomach, pneumonia/rhinitis	NCI, 1978; Goldsworthy et al., 1991
Rats 0.02, 0.10 or 0.50% in drinking water	104 weeks	damage to nose, liver, kidney nasal carcinomas; liver carcinomas/adenomas	Yamazaki et al., 1994; Japan Bioassay Research Center, 1998c
Guinea pig 0.5-2% in drinking water	23 months	kidney and lung damage potential for liver and gall bladder tumours	Hoch-Ligeti and Argus, 1970
Rats 400 mg/m ³ by inhalation	2 years	slight increase in lymphoreticular cell sarcomas in males and mammary gland adenomas in females	Torkelson et al., 1974

経口投与

B6C3F1 マウス(1 群雌雄各 50 匹)を、0%、0.5%および1%の1,4-ジオキサンに90 週間曝露した、飲水投与試験が行われている。平均投与量は、雄で720 mg/kg 体重/日および830 mg/kg 体重/日、雌では380 mg/kg 体重/日および860 mg/kg 体重/日であった。一般状態、体重、摂餌量および飲水量などが観察され、剖検ならびに病理組織学的検査が行われた。体重に対する影響に一貫性は認められなかったが、この試験の2 年目の期間中、高用量群の雌の体重は、対照群に比べ低値を示した。投与群における生存率(雄では低用量群で46/50、高用量群で45/50、雌では低用量群で39/50、高用量群で28/50)は、対照群(雄で48/50、雌で45/50)に比べ、低値であったが、遅発性の腫瘍発現に関するリスクを評価するのに十分な生存動物数をであった。投与に関連した非腫瘍性病変として、雌雄の動物で、肝細胞の巨細胞化、肺炎および鼻炎が認められた。雌雄ともに、肝細胞がん発生率の増加が認められ、0%投与群、0.5%投与群および1%投与群における発生率は、雄でそれぞれ2/49、18/50 および24/47、雌ではそれぞれ0/50、12/48 および29/37 であった。また、肝細胞腺腫および肝細胞がんを併せた発生率にも増加がみられ、0%投与群、0.5%投与群および1%投与群の雄でそれぞれ8/49、19/50 および28/47、雌では0/50、21/48 および35/37 であった。また、低用量群の雌1 匹および高用量群の雄1 匹に、鼻腔内腺がんが認められた。雌雄とも、生殖器官には、いかなる影響も認められなかった(NCI, 1978)。

Crj:BDF₁ マウス(1 群雌雄各 50 匹)を用い、104 週間にわたる、1,4-ジオキサンの長期飲水投与試験が行われている。用量は、0%、0.05%、0.2%または0.8%(雄でそれぞれ0、0.066、0.25 または0.77 g/kg 体重/日、雌ではそれぞれ0、0.077、0.32、または1.07 g/kg 体重/日に相当)であった。投与期間中、すべての動物に対して一般状態の観察、体重、摂餌量および飲水量の測定、血液学的検査、生化学的検査、尿検査を行った。105 週間後に動物を屠殺した。投与期間中の死亡例および瀕死状態となったため切迫屠殺した例を含め、すべての動物について、剖検および病理組織学的検査を行った。0.2%投与群と0.8%投与群の雌では、肝腫瘍による死亡例があったため生存率が低下し、対照群に比べ有意に低値を示した(それぞれ17/50 および5/50、対照群では29/50)。0.2%投与群および0.8%投与群の雌、ならびに0.8%投与群の雄の平均体重は、対照群に比べ低値であった。高用量群では、雌雄ともに摂餌量および飲水量の減少が認められた。血液学的検査、生化学的検査および尿検査のパラメータに対する影響は、雄ではそれぞれ0.8%、0.2%以上および0.8%の投与群で、雌では0.2%以上の投与群で観察された。肺の絶対重量および相対重量の増加が、0.8%投与群の雄および0.2%以上の投与群の雌で認められた。病理組織学的検査では、0.2%以上の投与群の雄雌で、非腫瘍性病変が、鼻腔(嗅上皮や呼吸上皮の核肥大や萎縮、ならびに炎症)、気管(上皮の萎縮や核肥大)、肺(泡沫細胞の蓄積、気管支上皮の核肥大および萎縮)、および腎臓(近位尿細管細胞の核肥大)において観察された。雄では、0.8%投与群で肝臓に、0.2%以上の投与

群で精巣にも病変(それぞれ類洞拡張、および鉍質沈着異常)が認められた。肝細胞がんの発生率の有意な増加が、雄では 0.8%投与群で、雌では全投与群で認められた(発生率は、対照群、0.05%投与群、0.2%投与群、0.8%投与群の順に、雄では 15/50、20/50、23/50 および 36/50、雌では 0/50、6/50、30/50 および 45/50 であった)。肝細胞腺腫の発生率の増加は、0.05%投与群および 0.2%投与群の雌雄で認められた(発生率は、対照群、0.05%投与群、0.2%投与群、0.8%投与群の順に、雄では 7/50、16/50、22/50 および 8/50、雌では 4/50、30/50、20/50 および 2/50 であった)。また、0.8%投与群の雄 1 匹で鼻腔神経上皮腫が、0.8%投与群の雌 1 匹で鼻腔内腺がんが認められた。したがって、この試験における LOAEL は、0.05%(雄で 0.066 g/kg 体重/日、雌では 0.077 g/kg 体重/日に相当)であると判断される(Yamazaki et al., 1994; Japan Bioassay Research Center, 1998c)。

Wistar ラット(26 匹)に、300 mg/匹(1 g/kg 体重/日に相当)の 1,4-ジオキサンを、63 週間投与した飲水投与試験が報告されている。この試験では、6 匹からなる対照群が設けられていた。試験開始後 21.5 週間で死亡した 2 匹のラットにおいて、肝臓全体に組織学的変化がみられ、著しく肥大した濃染核を有する細胞群が概ね門脈周辺に認められた。他の死亡例または 63 週間後に屠殺したラットにおいても同様の変化がみられ、さらに、細胞質の好塩基性が低下した大型細胞の集団も著明であった。投与終了時、投与群の 6 匹に肝細胞がんが認められた。また、この 6 匹中 1 匹で腎盂がんが、別の 1 匹で骨髄性白血病も認められた。重度の腎障害も報告されており、糸球体腎炎に類似した変化が多く認められている。なお、対照群に関するデータは示されていない。この試験は古く、現行のガイドラインに準拠して行われたものではなかったが、上述の結果から、1,4-ジオキサンが腎障害および肝腫瘍を引き起こす可能性が示されている(Argus et al., 1965)。

後に行われた試験では、雄の Charles River CD ラット(1 群 30 匹)に、0%、0.75%、1.0%、1.4% または 1.8%(750、1,000、1,400 または 1,800 mg/kg 体重/日に相当)の 1,4-ジオキサン(毎日新たに調製)を、13 ヶ月間毎日飲水投与した。この結果、対照群、0.75%投与群、1.0%投与群、1.4%投与群および 1.8%投与群の各 30 匹中、それぞれ 0 匹、1 匹、1 匹、2 匹および 2 匹に、鼻腔内腫瘍が発現した。最も早期に観察された影響(時期および用量は不明)は、肝細胞の核肥大であり、その大半は門脈周辺に認められた。細胞質の好塩基性が低下した大型細胞が集塊を形成し、そのため、肝臓はやや結節性の外観を呈していた。また、最高用量群の 2 匹の動物には、肝細胞がんも認められた。屠殺時の組織学的検査では、鼻腔内に腺がん様の領域を含む類表皮がんが認められ、上皮乳頭腫も観察された(Hoch-Ligeti et al., 1970)。Argus et al.(1973)は、後にこれと同じ試験を行い、肝腫瘍(結節および肝細胞がん)の発生が、用量依存的に増加したことを報告している。結節の発生は、対照群で 0、0.75%投与群で 4、1.0%投与群で 9、1.4%投与群で 13、1.8%投与群では 11 であった(結節数か有症個体数かは不明)。肝細胞がんは、1.4%投与群および 1.8%投与群で観察され、その発生はそれぞれ 3

および12であった。また、全投与群において、糸球体腎炎や腎盂腎炎などの顕著な腎障害が認められ、それらの腎炎は、ボーマン嚢上皮の肥厚、糸球体周辺の線維化、限局性の遠位尿細管腔拡張、核異型および多数の多核巨細胞の出現を伴っていた。なお、死亡率に関するデータは示されていない。この試験は古く、現行のガイドラインに準拠して行われたものではなかったが、上述の結果から、1,4-ジオキサンの肝腫瘍を引き起こす可能性が示されている。

Sherman ラット(1群雌雄各60匹)に、0%、0.01%、0.1%または1%(雄でそれぞれ0、9.6、94、または1,015 mg/kg 体重/日、雌では0、19、148 または1,599 mg/kg 体重/日に相当)の1,4-ジオキサンを、716日間飲水投与した試験が行われている。1%投与群の体重が、雌雄とも、試験開始から2日以内に対照群に比べ有意に減少し、試験期間を通じて低値で推移した。また、同群では、雌雄とも、2~4ヵ月以内に生存率が著しく低下し、4ヵ月後にはほぼ半数の動物が死亡していた。4ヵ月後以降の生存率は、実質的に、全群で同等であった。血液学的検査ではいかなる影響も認められず、試験終了時の臓器重量にみられた顕著な変化は、1%投与群における肝重量の有意な増加のみであった。0.1%投与群および1%投与群では、肉眼および組織学的検査により、種々の程度の腎尿細管上皮や肝細胞の変性/壊死が認められ、それらは、肝臓(肝細胞における過形成性結節の形成)や腎尿細管の再生を伴っていた。生殖器官には、雌雄とも、いかなる影響も認められなかった。投与に関連した腫瘍は、高用量群にのみ認められた。肝臓においては、12ヵ月後に生存していた動物66匹中10匹に肝臓がん、2匹に胆管がんが発現した。一方、鼻腔では、扁平上皮癌が66匹中3匹に認められた。以上より、この試験における1,4-ジオキサン NOAELは、0.01%(雄で9.6 mg/kg 体重/日、雌では19 mg/kg 体重/日に相当)とされた(Kociba et al., 1974)。

NCI(1978)による試験では、Osborne-Mendel ラット(1群雌雄各35匹)に、1,4-ジオキサンを、0%、0.5%ないしは1%の濃度で、110週間にわたって飲水投与した。この試験における平均投与量は、雄で240 mg/kg 体重/日および530 mg/kg 体重/日、雌では350 mg/kg 体重/日および640 mg/kg 体重/日であった。一般状態、体重、摂餌量および飲水量が観察され、剖検ならびに病理組織学的検査も実施された。体重に対する影響に一貫性は認められなかったが、この試験の2年目の期間中、高用量群の動物の体重は、対照群に比べ低値を示した。両投与群における生存率は対照群に比べ有意に低値であったが、52週時点では、遅発性の腫瘍発現に関するリスクを検討するには十分な数の動物が生存していた(0%、0.5%および1%投与群の雄でそれぞれ33/35、26/35 および33/35、雌ではそれぞれ35/35、30/35 および29/35)。ジオキサンの投与に関連した非腫瘍性病変が、腎臓(尿細管細胞の変性)、肝臓(巨細胞化)および胃(潰瘍化)に認められた。肺炎および鼻炎が、両投与群の雌雄いずれにおいても高率で発生した。雌雄ともに、鼻腔において、扁平上皮がんの発生がみられ(対照群、低用量群および高用量群の順に、雄で0/33、12/33 および16/34、雌で0/34、10/35 および8/35)、そ

のうち、高用量群の雄 1 匹では眼球後部組織に、低用量群の雄 1 匹では脳に、がんが拡がっていた。さらに、鼻粘膜上皮に由来する腺がんが、高用量群の雄 3 匹、高用量群の雌 1 匹および低用量群の雌 1 匹で認められた。鼻腔がんの発生が最初にみられたのは試験開始の 1 年後であり、追跡検査により、鼻腔腫瘍は後鼻道の前方 1/3 に発生することが明らかにされた (Goldsworthy et al., 1991)。また、雌で、肝細胞腺腫の発生率にも増加がみられ、その発生率は、雌の対照群、低用量群および高用量群で、それぞれ 0/31、10/33 および 11/32 であった。雌雄の生殖器官には、いかなる影響も認められなかった (NCI, 1978)。

F344/DuCrj ラット (1 群雌雄各 50 匹) を用いて、104 週間にわたる、1,4-ジオキサンの長期飲水投与試験が行われている。飲水中の濃度は、0%、0.02%、0.1% または 0.5% (雄でそれぞれ 0、0.016、0.081 または 0.398g/kg 体重/日、雌ではそれぞれ 0、0.021、0.103 または 0.514 g/kg 体重/日に相当) であった。投与期間中、すべての動物に対して一般状態の観察、体重、摂餌量および飲水量の測定、血液学的検査、生化学的検査、尿検査を行った。105 週間後に動物を屠殺した。投与期間中の死亡例および瀕死状態となったため切迫屠殺した例を含めた、すべての動物について、剖検および病理組織学的検査を行った。0.5% 投与群では、雌雄いずれにおいても、鼻腔および肝腫瘍による死亡例があったため、生存数が、対照群に比べ有意に少なかった (それぞれ 50 匹中、雄で対照群の 40 匹に対して 22 匹、雌で対照群の 38 匹に対して 24 匹)。0.5% 投与群の雌雄の平均体重は、対照群に比べ低値であったが、摂餌量および飲水量には影響が認められなかった。血液学的検査、生化学的検査または尿検査のパラメータに対する影響は、雄ではそれぞれ 0.1% 以上、0.5% および 0.5% の投与群で、雌ではそれぞれ 0.5%、0.5% および 0.1% 以上の投与群で観察された。肝臓の絶対重量および相対重量の増加が、0.1% 以上の投与群の雄および 0.5% 投与群の雌で認められ、同用量群の雌では、肺および腎臓重量にも増加がみられた。病理組織学的検査においては、非腫瘍性病変が、0.02% 以上の投与群の雄および 0.1% 以上の投与群の雌で、鼻腔 (以下の記述を参照のこと)、肝臓 (以下の記述を参照のこと) および腎臓 (近位尿細管細胞の核肥大) に観察された。鼻腔の悪性腫瘍は、0.5% 投与群の雌雄のみに発生し、対照群、0.02% 投与群および 0.1% 投与群には認められなかった。これらの悪性腫瘍には、扁平上皮がん (雌雄でそれぞれ 3/50 および 7/50)、肉腫 (それ以上の特定不能; 雄で 2/50)、神経上皮腫 (雌雄とも 1/50) および横紋筋肉腫 (雄で 1/50) が含まれていた。鼻腔の非腫瘍性病変 (呼吸上皮化生、嗅上皮の核肥大および萎縮、呼吸上皮の核肥大や扁平上皮化生および扁平上皮過形成、粘膜固有層の水腫性変化および硬化、鼻腺細胞の癒着および炎症や増殖) の発生率は、0.5% 投与群の雌雄でも高値であった。嗅上皮病変の発生率は、0.1% 投与群でもやや高値を示す傾向がみられた。

肝細胞腺腫および肝細胞がんの発生率の有意な増加が、高用量群の雄 (それぞれ 24/50 および 14/50)、および高用量群の雌 (それぞれ 38/50 および 10/50) で認められた。発生率はこれより低値であったが、0.02% 投与群および 0.1% 投与群の雄、ならびに 0.1% 投与群の雌にお

いても、肝細胞腺腫の発生がみられた(発生率は、対照群、0.02%投与群および0.1%投与群の順に、雄でそれぞれ0/50、2/50 および4/49、雌では1/50、0/50 および5/50)。肝臓における非腫瘍性病変(海綿状変性および過形成を含む)の発生率の増加は、0.1%投与群および0.5%投与群の雌雄両方で認められた。過形成の発生率は、対照群、0.02%投与群、0.1%投与群および0.5%投与群の順に、雄でそれぞれ3/50、2/50、10/50 および24/50、雌ではそれぞれ3/50、2/50、11/50 および47/50 であった。海綿状変性の発生率に関しては、雄では全投与群にわたり用量依存的に増加し、雌では0.5%投与群で増加が認められた(発生率は、対照群、0.02%投与群、0.1%投与群および0.5%投与群の順に、雄でそれぞれ12/50、20/50、25/50 および40/50、雌ではそれぞれ0/50、0/50、1/50 および20/50)。

雄では、0.5%投与群における腹膜中皮腫、皮下組織の線維腫および乳腺線維腺腫の発生率が、対照群に比べて高値を示した。雌では、0.5%投与群で乳腺腺腫の発生率に、増加が認められた。

この試験では、最低用量である0.02%においても、標的器官である肝臓に対する影響(海綿状変性)が、雄で認められた(統計学的に有意ではなかったが、用量依存的に増加する傾向がみられた)。したがって、0.02%(0.016 g/kg 体重/日に相当)が、LOAELであると判断される(Yamazaki et al., 1994; Japan Bioassay Research Center, 1998c)。

要件を十分に満たしていないが、モルモット(22匹)に、1,4-ジオキサンを、0.5~2.0%の濃度範囲で、23ヵ月間飲水投与した試験が行われている。この試験では、無処置対照群が設けられた。この結果、投与群の動物9匹において、肺の気管支周囲および気管支に結節性の単核細胞浸潤を認めた。また、胆嚢がん2例、初期肝細胞がん3例、および腎臓腺腫1例が認められた。対照群では、10匹中4匹で末梢血における単核細胞の集積が、1匹で気管支上皮の過形成が認められた。この試験は古く、現行のガイドラインに準拠して行われたものではなかったが、上述の結果から、1,4-ジオキサンには胆嚢および肝臓の腫瘍を引き起こす可能性があることが示唆される(Hoch-Ligeti and Argus, 1970)。

吸入投与

Wistar ラット(1群雌雄各288匹)を、400 mg/m³の1,4-ジオキサン蒸気を含んだ空気に、1日7時間、週5日間で2年間にわたり曝露した試験が報告されている。吸収率を100%、ラットの換気量を240 mL/分、体重を400 gとすると、1日7時間の曝露を行ったことから、この試験における投与量は、108 mg/kg 体重/日と算出される。この試験には、雌雄各192匹からなる対照群が設けられた。なお、一般毒性に関する結果については、4.1.2.6「反復投与毒性」の項も参照されたい。この試験では、肉眼検査および顕微鏡検査において、経口投与

試験で観察されたような、1,4-ジオキサンに特徴的な鼻腔および肝臓の腫瘍は認められなかったと報告されているが、鼻腔の検査が適切に行われたか否かについては、報告書からは不明確である。他の臓器/組織に認められた腫瘍の発生は、本物質の曝露とは関連性がないと考えられた。対照群との間に発生率の差が認められたのは、雄におけるリンパ網内系細胞肉腫[対照群 12%(150 匹中 18 匹)に対して 18%(206 匹中 37 匹)]および雌における乳腺腺腫[対照群 8%(139 匹中 11 匹)に対して 13%(217 匹中 29 匹)]のみであり、いずれも統計学的に有意な差ではなかった。腫瘍発生率の増加や臓器損傷を示す肉眼病理学的または組織病理学的所見が認められなかったことから、腫瘍誘発作用に関する NOAEL は 400 mg/m^3 であると考えられる (Torkelson et al., 1974)。

発がんプロモーション試験

SENCAR マウス(1 群 20~40 匹)に、最高用量 $1,000 \text{ mg/kg}$ 体重までの 1,4-ジオキサンを、経口、皮下または経皮経路により単回投与した後、テトラデカノイルホルボルアセタート (TPA: 訳注 強力な発がんプロモータ) 1.0 mg を週 3 回、20 週間経皮投与した試験が行われている。その結果、24 週間後の乳頭腫の発生率に増加は認められなかったことから、1,4-ジオキサンは、イニシエーション作用を示さなかったと考えられる(プロモーション活性については検討されていない) (Bull et al., 1986)。

ジエチルニトロソアミンによるイニシエーション処置(肝臓を 2/3 切除した 24 時間後に 30 mg/kg を腹腔内投与)を施した雄ラット(1 群 9 匹)に、 100 mg/kg 体重/日または $1,000 \text{ mg/kg}$ 体重/日の 1,4-ジオキサンを、週 5 日、7 週間強制経口投与した試験が報告されている。最終投与の 10 日後に動物を屠殺し、肝切片中の γ -グルタミルトランスフェラーゼ (GGT) 陽性細胞巢の数および総体積を検討した結果、 $1,000 \text{ mg/kg}$ 投与群で明らかな陽性が認められた。なお、対照群および 100 mg/kg 投与群では陰性であった (Lundberg et al., 1987)。

特殊な試験

ペルオキシソーム増殖

ペルオキシソーム増殖誘発の有無を検討する、特殊な試験が行われている。雄の Fischer 344 ラット(5 匹)に、1,4-ジオキサン(濃度 0.1%ないしは 1.0%)を、5 日間飲水投与した。その結果、肝臓の対体重比にも、用量依存的な増加はみられず、ペルオキシソーム酵素であるパルミトイル CoA 酸化酵素の活性にも、増加は認められなかった (Goldsworthy et al., 1991)。

ペルオキシソーム増殖に関する別の試験(TSCAT, 1989b)では、雄の Fischer 344 ラット(1 群

7匹)に、生理食塩水に溶解した1,4-ジオキサンを、0または2,000 mg/kg体重の用量で、11日間の期間中に9日間経口投与した。最終曝露の16時間後に、動物を屠殺した。この結果、第5日以降、対照群に比べ有意な体重の減少が認められた。また、肝臓の絶対重量および対体重比が著しく増加したが、肝臓中の蛋白濃度は一定値を維持した。また、パルミトイル CoA 酸化酵素活性の誘導は認められなかった。

作用機序

1,4-ジオキサンの臓器特異的な毒性および発がん作用のメカニズムは、まだ明らかにされていない。1,4-ジオキサンは遺伝毒性をもたない化合物であると考えられる。この代謝物である1,4-ジオキサン-2-オンは、Ames試験、CHO細胞を用いたHGPRT試験、およびラット肝細胞を用いたUDS試験で陰性を示した。一方で、Balb/3T3細胞を用いた細胞形質転換試験では、代謝活性化の存在下では陰性であったが、非存在下で陽性を示した。

ペルオキシソーム増殖を検討した特殊な試験では、最高用量を2,000 mg/kg体重として5～9日間、ラットに経口投与を施したが、1,4-ジオキサンによるいかなる影響も認められなかった。

ラットに1%の1,4-ジオキサンを飲水投与した試験で、肝細胞DNAへの[6-³H]チミジンの取込み量の増加が観察されている。この影響は投与の数週間後も持続していたことから、損傷した細胞の置換が関係し、したがって、細胞毒性も関係していると考えられる。

トキシコキネティクスに関しては、ラットでは非線形性であることが示されている。10 mg/kg体重以上の用量では、1,4-ジオキサンからHEAAや1,4-ジオキサン-2-オンへの酸化が飽和することにより、1,4-ジオキサンの蓄積が起こる。また、代謝物である1,4-ジオキサン-2-オールおよびβ-ヒドロキシエトキシアセトアルデヒドも、酸化容量の高い組織に蓄積すると考えられる。これらの影響は、細胞毒性濃度において認められたDNA鎖切断や姉妹染色分体交換の*in vitro*での発生率増加と、臓器毒性が発現する用量範囲で認められた*in vivo*での発生率の増加とが相関していることに、関連していると考えられる。高用量群で細胞毒性が認められたことも併せると、有毒な代謝物が、酸化的代謝経路によって取り除かれることなく、組織に蓄積することが示唆される。

上述の知見に基づくと、本質的に細胞毒性が作用機序である可能性が高い。細胞毒性作用および細胞のターンオーバーの亢進による臓器損傷が、肝臓でのがん発生の下地となっていると考えられる。

飲水投与実験で観察された鼻腔内腫瘍については説明がつかず、その発症機序は不明であ

るが、鼻腔内に非腫瘍性病変がみられたことから明らかなように、本物質は鼻腔粘膜に対する毒性を有しており、これが鼻腔でのがん発生の一因であろうと考えられる。吸入曝露試験では鼻腔内腫瘍が認められなかったことから、このような毒性は、揮発に起因する局所的影響よりも、反応性代謝物によって誘発される細胞毒性および臓器損傷との関連性が高いと考えられている。1%の1,4-ジオキサンを2週間飲水投与したラットでは、鼻腔粘膜上皮に細胞増殖が認められなかったことに注意されたい(Goldsworthy et al., 1991)。

4.1.2.8.2 ヒトにおける試験

1,4-ジオキサンの生産に携わっていた32～62歳の作業員74人を対象とした横断調査について報告されている。これらの作業員は、最高で約54 mg/m³の濃度の1,4-ジオキサンに、3～41年間曝露されていた。この群では、肝臓や腎臓障害の所見は認められず、がん死亡率が一般的集団のデータに比べて高値を示すこともなかったが、年金受給者2人に、がんの発症がみられた。そのうちの1人は、66歳の糖尿病患者で、原発巣は不明だが、扁平上皮がんの転移があったと診断されており、肝不全および腎不全により死亡した。他の1人(69歳)は、心膜腔液の貯留および尿毒症を伴う循環不全により死亡した。また、骨髄線維症を伴う白血病も認められた。6人の現役作業員について、リンパ球の染色体異常が検討されたが、対照群に比べて有意な発生率増加は認められなかった(Thiess et al., 1976)。

1ヵ月～10年間以上にわたり、1,4-ジオキサンの生産に従事し、90 mg/m³未満の濃度の1,4-ジオキサンに曝露(連続的ではない)されていた作業員165人を対象として、死亡率調査が実施されている。その結果、すべての種類のがんによる死亡数に、期待値と比べて有意差は認められなかった(Buffler et al., 1978)。

織物工場の作業員151人を対象とした疫学的調査が実施されている。これらの作業員は、4%の1,4-ジオキサンを含む1,1,1-トリクロロエタンに、最高1,350 mg/m³の濃度で、1～6年間にわたり曝露されていた。特にECGの変化や肝臓障害を検討したが、健康面において、対照群と比べて有意差は認められなかった(Kramer et al., 1978)。

0.18～184 mg/m³の1,4-ジオキサンに曝露された可能性のあった男性80人を対象とした調査では、1,4-ジオキサンに関連した健康影響の徴候は認められなかった(NIOSH, 1977)。

4.1.2.8.3 がん原性についての要約

400 mg/m³の1,4-ジオキサンにラットを曝露した2年間吸入試験において、1,4-ジオキサン

に特徴的な腫瘍の発生はみられていない。

ラットおよびマウスを用いた慢性飲水投与試験の結果から、1,4-ジオキサンは肝臓および腎臓障害を起こし、肝腺腫および肝がんを生じさせ得ると結論される。また、ラットでは鼻腔内にも、非腫瘍性病変を伴う腺腫およびがんの発生がみられている。このような病変はマウスにおいても観察されたが、マウスでは、1,4-ジオキサンによる鼻腔内腫瘍発生率の増加は認められなかった。

飲水投与試験では、肝臓、腎臓および鼻腔の障害が、それぞれ 0.02%、0.1%および 0.1%の濃度において認められているが、0.01%(10 mg/kg 体重/日に相当)では、いかなる影響も認められなかった。肝腫瘍の発生は、マウスでは 0.05%以上、ラットでは 0.1%以上の濃度で、1,4-ジオキサンを飲水投与した場合に観察された。また、ラットにおける鼻腔内腫瘍の発生は、0.5%以上の濃度で1,4-ジオキサンを飲水投与した場合に認められた。モルモットにおいても、肝腫瘍の誘発を示唆するデータが得られているが、非腫瘍性病変に関する情報は示されていない。これらの結果に基づくと、1,4-ジオキサンは実験動物に対してがん原性を示すと考えられる。1,4-ジオキサンは遺伝毒性をもたない化合物であるとみなされるため、閾値の概念を導入することが妥当と考えられる。肝腫瘍は、細胞毒性および臓器障害と関連性があるものと考えられ、これらの毒性や生涯は、特に1,4-ジオキサンの代謝が飽和状態に達する用量で生じると思われる。飲水投与試験からは鼻腔内腫瘍の発生機序を明らかにすることはできないが、鼻腔に対する毒性作用が、鼻腔でのがん発生の一因と考えられる。以上より、肝臓障害の発現に基づき、全体的な NOAEL は、0.01%(10 mg/kg 体重/日に相当)であると判断される。

1,4-ジオキサンは、腫瘍プロモーターとして作用するが、イニシエーター活性は有さない。

吸入曝露を受けた作業員を対象とした小規模な後向き調査において、最高 184 mg/m³ の濃度で数年間1,4-ジオキサンに曝露されても、職業性疾患や腫瘍発生率が、一般集団に比べて増加することはないことが示された。また、1,4-ジオキサンへの曝露をうけていた6人の作業員におけるリンパ球の染色体異常の発生率は、対照群と同等であった。

本物質は2つの動物種(ラットおよびマウス)においてがん原性物質となることが明らかにされており、第3の種(モルモット)に対してもがん原性を示す可能性が示唆されている。それでも、がん原性は低く、遺伝毒性をもたないことを示すデータが得られていることから、現在のところ、カテゴリ3のがん原性物質「R40」に分類することに賛同が得られている。肝臓および鼻腔の腫瘍はいずれも、細胞毒性作用および臓器障害に起因すると考えられ、これらの影響は、非線形動態を示し、腫瘍発生の閾値性を示唆するものである。

同等のデータセットに基づき、IARC(1999)は、1,4-ジオキサンのヒトに対するがん原性については**証拠不十分**であるが、実験動物に対するがん原性については**十分な証拠**が得られていると結論し、同物質をグループ 2B のがん原性物質(ヒトに対して**発がん性を示す可能性あり**)に分類している。

4.1.2.9. 生殖毒性および発生毒性

4.1.2.9.1 動物における試験

優性致死作用および催奇形作用のスクリーニングを兼ねるように改変を加えて、多世代試験が行われている。この試験の中で、ICR Swiss マウスに、1,1,1-トリクロロエタン(安定剤として3%の1,4-ジオキサンを含有)および1,2-ジクロロエタンが飲水投与された。この試験では、無処置対照群(飲水は脱イオン水のみ)のほかに、1%の Emulphor を含む脱イオン水に溶解した1,4-ジオキサン 0.17 mg/mL を飲水投与した対照群が設けられていた。この結果、1,4-ジオキサン/Emulphor 対照群では、成体マウスへの影響をはじめ、生殖能力、一腹仔の生存率や成長、催奇形性、および一般病理所見に対する影響は認められなかったが、優性致死試験では、優性致死因子の出現頻度に若干の増加がみられた。なお、この試験は、1,4-ジオキサンを被検物質として用いて実施されたものではないため、本物質の評価に用いるには、妥当性が乏しい(Lane et al., 1982)。

1,1,1-トリクロロエタン(安定剤として3%の1,4-ジオキサンを含有)の CD ラットに対する発生毒性を検討した試験において、「溶媒対照」群には、0.05%の Tween 80 および安定剤として 0.9 ppm の 1,4-ジオキサンを含む溶媒が投与されていた。この結果、脱イオン水/ろ過水対照群と比べて有意な変化は認められず、母動物の体重および飲水量に非常に軽微な差がみられたのみであった。なお、この試験は、1,4-ジオキサンを被検物質として用いて実施されたのではなく、本物質が安定剤として含まれていたにすぎないため、本物質の評価に用いるには、妥当性が乏しい(George et al., 1989)。

妊娠 Sprague-Dawley ラット(1群 17~20 匹)を用い、妊娠第 6~15 日に、0、0.25、0.5 ないしは 1.0 mL/kg 体重の 1,4-ジオキサン水溶液を強制経口投与した試験が行われている。被験動物は、妊娠 21 日に屠殺された。1.0 mL/kg 体重投与群の母動物に、軽度の体重増加抑制がみられ、この影響は妊娠後期まで継続して認められた。また、同用量群では、投与期間中の摂餌量が減少し、特に投与最初の 2 日間が顕著であった。さらに、同用量群では、生存胎仔の平均体重が対照群に比べて著しく低い値を示し、着床数および生存仔数の軽度の減少、着床前胚損失率の軽度の増加に加え、胎仔の胸骨部位で骨化遅延がみられた。催奇形

性は認められなかった。したがって、この試験における母体毒性および胎仔毒性に関する NOAEL は、0.5 mg/kg 体重 (517 mg/kg 体重に相当) であると判断される (Giavini et al., 1985)。

4.1.2.9.2 ヒトにおける試験

ヒトにおけるデータは得られていない。

4.1.2.9.3 生殖毒性および発生毒性についての要約

目的の要件を満たす催奇形性試験は 1 件のみである。この試験では、ラットに 0、0.25、0.5 および 1.0 mL/kg 体重の 1,4-ジオキサンの飲水投与された。1.0 mL/kg 体重投与群で、軽度の母体および胎仔毒性がみられた。催奇形性は認められていない。この結果から、母体毒性および胎仔毒性に関する NOAEL は、0.5 mL/kg 体重 (517 mg/kg 体重/日に相当) であると判断される。

また、13 週間経口投与試験、ならびに経口投与および吸入投与による慢性毒性/がん原性試験では、マウスおよびラットの生殖器官に、いかなる病理組織学的影響も認められていない (4.1.2.6 項および 4.1.2.8 項を参照のこと)。