IPCS

UNEP//ILO//WHO

国際化学物質簡潔評価文書

Concise International Chemical Assessment Document

No.25　Chloral Hydrate（2000）

抱水クロラール

世界保健機関　国際化学物質安全性計画

国立医薬品食品衛生研究所　安全情報部

2007

目 次

序言
1. 要約 ---- 4
2. 物質の特定および物理的・化学的性質 ---- 6
3. 分析方法 ---- 7
4. ヒトおよび環境の暴露源 ---- 8
5. 環境中の移動・分布・変換 ---- 8
6. 環境中の濃度とヒトの暴露量 ---- 8
6.1 環境中の濃度 ---- 8
6.2 ヒトの暴露量 ---- 9
7. 実験動物およびヒトでの体内動態・代謝の比較 ---- 9
8. 実験哺乳類および *in vitro* 試験系への影響 ---- 12
8.1 単回暴露 ---- 12
8.1.1 経口 ---- 12
8.1.2 吸入 ---- 13
8.2 刺激と感作 ---- 13
8.3 短期暴露 ---- 13
8.4 長期暴露 ---- 13
8.4.1 準長期暴露 ---- 13
8.4.2 長期暴露と発がん性 ---- 14
8.5 遺伝毒性および関連エンドポイント ---- 17
8.5.1 遺伝毒性 ---- 17
8.5.2 細胞増殖 ---- 19
8.5.3 がん遺伝子の活性化 ---- 19
8.5.4 フリーラジカル生成と DNA 付加体形成 ---- 20
8.5.5 細胞間コミュニケーション ---- 20
8.5.6 ペルオキシソーム増殖 ---- 20
8.6 生殖・発生毒性 ---- 21
8.7 免疫系および神経系への影響 ---- 22
9. ヒトへの影響 ---- 24
10. 実験室および自然界の生物への影響 ---- 25
11. 影響評価 ---- 26
11.1 健康への影響評価 ---- 26
11.1.1 危険有害性の特定と用量反応の評価 ---- 26
11.1.2 耐容摂取量または指針値の設定基準 ---- 30

11.1.3　リスクの総合判定例 ---------- 31
11.2　環境への影響評価 ---------- 31
12.　国際機関によるこれまでの評価 ---------- 31

参考文献 ---------- 33

添付資料 1　毒物動態分析 ---------- 44
添付資料 2　腫瘍発生に対するベンチマークドースの計算 ---------- 47
添付資料 3　原資料 ---------- 50
添付資料 4　CICAD ピアレビュー ---------- 52
添付資料 5　CICAD 最終検討委員会 ---------- 54
添付資料 6　国際化学物質安全性カード　抱水クロラール(ICSC0234) ------- 56

国際化学物質簡潔評価文書（Concise International Chemical Assessment Document）

No.25　抱水クロラール
（Chloral Hydrate）

序 言

http://www.nihs.go.jp/hse/cicad/full/jogen.html
を参照

1.　要約

抱水クロラールに関する本 CICAD は、米国環境保護庁(EPA)の *Toxicological review on chloral hydrate*(*抱水クロラールに関する毒性レビュー*)(US EPA, 2000)に基づき、EPA によって作成された。1999 年 3 月時点で確認された科学文献が検討対象となった。原資料のレビュープロセスおよび入手方法に関する情報を添付資料 3 に記す。本 CICAD のピアレビューに関する情報は添付資料 4 に記す。本 CICAD は、1999 年、11 月 21～24 日にオーストラリアのシドニーで開催された最終検討委員会(Final Review Board)で国際的な評価が行われ、承認されたものである。最終検討委員会の会議参加者を添付資料 5 に記す。国際化学安全性計画によって作成された国際化学物質安全性カード(ICSC 0234)も、添付資料 6 に転載する(IPCS, 1993)。

抱水クロラール(CAS No.302-17-0)は、エタノール(ethanol)の塩素化によって合成される。鎮静薬および睡眠薬としてヒトおよび動物に用いられる。無水のクロラール(CAS No.75-87-6)は、DDT、メトキシクロル(methoxychlor)、ナレド(naled)、トリクロルホン(trichlorfon)、ジクロルボス(dichlorvos)、トリクロロ酢酸(trichloroacetic acid)の合成中間体として用いられる。

一般住民の主要暴露経路は飲料水で、これは水を塩素消毒するさいに抱水クロラールが生じるためである。米国の上水道中での抱水クロラールの標準的濃度は 5 μg/L である。抱水クロラールはトリクロロエチレン(trichloroethylene)およびテトラクロロエチレン(tetrachloroethylene)の代謝物であり、ヒトがこれらの化合物に暴露すると抱水クロラールに暴露することになる。一般住民は、抱水クロラールの代謝物であるトリクロロ酢酸や(trichloroacetic acid)ジクロロ酢酸(dichloroacetic acid)にも暴露される。こうした化合物もまた、飲料水の塩素消毒時に生成されるからである。鎮静薬としての通常の臨床用量は、

250 mg を 1 日 3 回(10.7 mg/kg 体重/日に相当)である。代謝物のトリクロロエタノール(trichloroethanol)が薬理効果を担っている。職業性暴露についての定量的な情報は得られていない。

抱水クロラールは皮膚および粘膜刺激性があり、推奨臨床用量で胃部不快感、吐き気、嘔吐を起こすことがある。急性過剰摂取の場合、運動失調、嗜眠、深い昏睡、呼吸抑制、血圧低下、不整脈の症状が順に進行する。1 回に致死量に近い量を摂取して生存した症例で肝障害がみられるとの報告もあるが、推奨臨床用量で肝障害が生じるとする説得力ある証拠はない。抱水クロラールの臨床用途を調べた複数の調査では、軽微な副作用が低頻度に認められた。薬として長期間使用されてきたにもかかわらず、長期暴露後の臨床比較試験では毒性に関する情報は報告されていない。

抱水クロラールは経口投与すると、完全に吸収され迅速に代謝される。主要代謝物は、トリクロロエタノール、そのグルクロニド、およびトリクロロ酢酸である。ジクロロ酢酸が少量生成されるとのデータもある。ヒトでは、トリクロロエタノールとそのグルクロニドの半減期はおよそ 8 時間、トリクロロ酢酸の半減期はおよそ 4 日間である。トリクロロエタノールの半減期が、早期および満期産児では幼児や成人の数倍にもなるとのデータもある。抱水クロラール代謝物の主要排泄経路は尿中への排泄である。抱水クロラールとその代謝物が、抱水クロラール投与を受けた女性の母乳中で検出されている。しかし、これらの物質の濃度は低く、授乳中の乳児に薬理学的影響を及ぼすことはない。

マウスへの急性投与は運動協調性の喪失(運動失調)を引き起こすが、これはヒトに同等の影響を与えるのとほぼ同じ暴露量による。マウスの 90 日試験で、行動学的変化や他の神経毒性を示す証拠はみられない。ラットとマウスの長期試験で、行動学的変化や神経組織の病理学的変化を示す証拠はみられない。マウスへの 90 日間の暴露で、体液性免疫に軽度な低下が認められた。抱水クロラールについては、ラットとマウスで発生毒性試験が行われている。形態学的異常は認められていない。マウスの神経発達毒性試験では、受動的回避学習にわずかな影響がみられた。二世代繁殖試験は行われていないが、生殖能力ならびに精子・卵母細胞への影響に関するデータから、生殖毒性が重要影響である可能性は高くないと考えられる。さらに、準長期あるいは長期試験で、げっ歯類の生殖器官への組織病理学的影響は認められていない。実験動物を用いたすべての試験で、非発がん性の影響が現れたのは、ヒトに鎮静をもたらす用量をはるかに超えた暴露量においてである。

ヒトでの発がん性データはない。ラットを用いた 2 件のバイオアッセイでは、いずれの部位でも腫瘍は増加していない。雄マウスでは、3 件の別々の試験が肝腫瘍発生率の増加を示している。これらの試験のうちもっとも信頼の置ける試験で、3 暴露量それぞれで肝腫瘍

の発生率と多重度が増加することがわかった。こうしたデータは雄マウスで発がん性を示唆する証拠をもたらすが、低暴露での線形応答によってヒトの健康リスク評価を行うことは適切ではないと考えられる[1]。

遺伝毒性に関しては広範囲に及ぶデータベースがある。種々の結果から、抱水クロラールには弱いながら変異原性および染色体異常誘発性が認められている。抱水クロラールはさまざまな種類の細胞で異数性を誘発するが、これは紡錘体装置の崩壊から生じると考えられる。このような作用を引き起こすのは、抱水クロラールの濃度が高い場合のみである。こうしたデータは遺伝毒性が抱水クロラール毒性の一翼を担うことを示唆しているが、その影響の発現には環境中における通常の暴露での生理的条件下では起こりえない濃度を必要とする。雄マウスに肝腫瘍を誘発する可能性のある原因として DNA 付加体の形成があげられるが、これはチトクロム P450 2E1(CYP2E1)による抱水クロラール代謝によって発生するフリーラジカルと、代償性過形成に至る細胞毒性を介して引き起こされる。

発がん以外の影響に対する耐容摂取量の 0.1 mg/kg 体重/日は、ヒトの鎮静に対する最小毒性量(LOAEL)の 10.7 mg/kg 体重/日に不確実係数 100 を用いて推定した。

環境への影響に関しては限られたデータしかない。メタノトローフ(メタン酸化細菌群)が、抱水クロラールをトリクロロエタノールとトリクロロ酢酸に変換する。抱水クロラールは、ある条件下では非生物的分解を受ける。細菌、藻類、原生動物の増殖阻止ならびにウニにおける発生に及ぼす影響については、限られたデータがある。環境へのリスクを評価するには、データは不十分である。

2. 物質の特定および物理的・化学的性質

抱水クロラール(CAS No. 302-17-0)は、エタノール(ethanol)の塩素化によって合成される。構造式を§7に示す。CAS 名は 2,2,2-トリクロロ-1,1-エタンジオール(2,2,2-trichloro-1,1-ethanediol)、別名はクロラール 1 水和物(chloral monohydrate)、トリクロロアセトアルデヒド水和物(trichloroacetaldehyde hydrate)、トリクロロアセトアルデヒド 1 水和物(trichloroacetaldehyde monohydrate)、 1,1,1-トリクロロ-2,2-ジヒドロキシエタン(1,1,1-trichloro-2,2-dihydroxyethane)である。相対分子量は 165.42、水溶解度は 8.3 g/ml、オクタノール／水分配係数(log K_{ow})は 0.99、蒸気圧は 2 kPa(25℃)である。化学的・

[1] 最終検討委員会後に公表された米国国家毒性計画の発がん性バイオアッセイで、雄では肝腫瘍の発生率が増加し、雌では下垂体腺腫の発生率がわずかに増加したが、統計的有意性はボーダーラインレベルであった。

物理的性質については、本文書に転載した国際化学物質安全性カード(ICSC 0234)にまとめられている(添付資料 6)。

クロラール(CAS No. 75-87-6)は、抱水クロラールの無水型である。水に溶解すると抱水クロラールに自然に変わる。

3. 分析方法

環境試料中で、抱水クロラールの痕跡量を測定する方法がある。カルボニル化合物を 2,4-ジニトロフェニルヒドラゾン誘導体に変換、高速液体クロマトグラフィーで分離、紫外線吸収度によって検出するものである(Fung & Grosjean, 1981)。各種カルボニル化合物の最低定量限界は 1～6 ng である。

ラット肝ホモジネートでは、抱水クロラールとその代謝物(トリクロロエタノール, トリクロロエタノールグルクロニド[trichloroethanol glucuronide]、およびトリクロロ酢酸)は、ヘッドスペースガスクロマトグラフィーと電子捕獲型検出器を用いて測定する(Køppen & Dalgaard, 1988)。検出限界は、トリクロロエタノールとトリクロロエタノールグルクロニドが 0.06 µg/ml、抱水クロラールとトリクロロ酢酸が 0.02 µg/ml である。これらの物質を血液・尿中で測定する類似の方法もある(Breimer et al., 1974)。検出限界は、抱水クロラールとトリクロロエタノールが 0.5 µg/ml、トリクロロ酢酸が 0.1 µg/ml である。

生体試料中では抱水クロラールとその代謝物は、メチルエステルに変換後、ガスクロマトグラフィー／質量分析で分離検出して測定する(Yan et al., 1999)。測定値の範囲は 0.12～7.83µmol/L(約 20～1290 µg/L に相当)である。

臨床検査で用いる血漿中で、トリクロロエタノールを液体クロマトグラフィーで測定する方法も開発されている(Gupta, 1990)。これは、血漿中で薬理学的活性(最高 12 mg/L まで)および急性毒性(約 100 mg/L)の範囲において、トリクロロエタノールを測定するのに役立つ。測定は約 2 時間で終了する。

市販製剤中で抱水クロラールを測定する分光光度法は、キナルジンエチルヨウ化物を抱水クロラールと反応させ、約 605nm に極大吸収を有する安定したシアニンブルーを生成し、測定するものである(Helrich, 1990)。

4. ヒトおよび環境の暴露源

抱水クロラールは自然発生しないとされている。ヒトが暴露する主要経路は飲料水からである。抱水クロラールとその代謝物トリクロロ酢酸およびジクロロ酢酸は、水の塩素消毒時に副生成物として生成される。原水中の炭素は、天然有機物(フミン質とフルボ質)由来である。抱水クロラールの生成量は、フミン質・フルボ質濃度および塩素処理条件に左右される。塩素を含む水がフミン・フルボ酸含有食品と混合すると、抱水クロラールが更に生成される(Wu et al., 1998)。抱水クロラールは、トリクロロエチレンおよびテトラクロロエチレンの代謝物でもある。ヒトがこうした化合物に暴露すると、抱水クロラールに暴露することになる。抱水クロラールは、成人および小児用の鎮静薬や催眠薬として広く用いられてきた。クロラールは、殺虫剤の DDT、メトキシクロル、ナレド、トリコロルホン、ジクロルボス、および除草剤のトリクロロ酢酸の合成中間体として用いられている(IARC, 1995)。

抱水クロラールは、汚水処理施設、医薬品グレードの抱水クロラールの製造、抱水クロラールを中間体に使用する殺虫剤や除草剤の製造過程で生じる廃棄物、などから環境中に放出されると考えられる。

米国では、抱水クロラール／クロラールの製造量は 590 トン(1975 年)、輸入量は 47 トン(1986 年)と推計される(HSDB, 1999)。EU 加盟国による抱水クロラール／クロラールの製造量は、2500 トン(1984 年)と推計される(IARC, 1995)。

5. 環境中の移動・分布・変換

Newman と Wackett(1991)は、抱水クロラールのトリクロロエタノールとトリクロロ酢酸へのメタン酸化細菌群(メタノトローフ)による変換、ならびにクロロホルム(chloroform)とギ酸(formic acid)への非生物的分解を報告した。pH7.0、30℃、24 時間では、検知しうる分解は起こらなかった。pH9.0、60℃では、分解半減期は 16 分間であった。

6. 環境中の濃度とヒトの暴露量

6.1 環境中の濃度

環境中の濃度に関する情報はない。

6.2　ヒトの暴露量

抱水クロラールへの主要暴露経路は、塩素消毒された飲料水からである。米国の上水道中の抱水クロラールの標準的濃度は 5 μg/L である(US EPA, 1994)。この経路を介して、2 億人以上が抱水クロラールに日常的に暴露している。1 日摂水量を 2 L、体重を 70 kg と想定すると、暴露量は 0.14 μg/kg/体重/日となる。シャワー時にエーロゾル化した水を吸入することでさらに暴露量が増える。水滴は肺に深く達するほど小さくはなく、上気道に留まる。このようにして、水滴も抱水クロラールの経口による暴露源となる。シャワーや入浴に用いる水からも、多少の抱水クロラールが皮膚吸収される。こうした追加的な暴露源の量的データは入手できない。

Simpson と Hayes(1998)の報告によると、オーストラリアの 7 都市の飲料水中に抱水クロラールが 0.2～19 μg/L の範囲で検出された。

抱水クロラールを臨床使用する場合、成人に推奨される用量は鎮静薬として 250 mg を 1 日 3 回(10.7 mg/kg 体重/日に相当)、催眠薬として 500～1000 mg(7.1～14.3 mg/kg 体重に相当)である(Goodman & Gilman, 1985)。内科的、歯科的処置を受ける小児への推奨用量は 50～100 mg/kg 体重である(Badalaty et al., 1990; Fox et al., 1990)。通常小児には成人より高い用量を投与するが、これは内科または歯科治療中に小児から良好な協力が得られるよう、深いレベルの鎮静が求められるためである。抱水クロラールの鎮静効果に対して、小児が成人より感受性が低いという証拠はない。

職業性暴露からの量的情報は見当たらない。

7.　実験動物およびヒトでの体内動態・代謝の比較

抱水クロラールは経口投与すると完全に吸収される。皮膚吸収についての情報はない。定性的に類似した代謝が、マウス、ラット、イヌ、日本メダカ(Oryzias latipes)およびヒトで起こる(Marshall & Owens, 1954; Owens & Marshall, 1955; Breimer, 1977; Gosselin et al., 1981; Goodman & Gilman, 1985; Hobara et al., 1986, 1987a,b, 1988a,b; Reimche et al., 1989; Gorecki et al., 1990; Hindmarsh et al., 1991; Mayers et al., 1991; Abbas et al.,

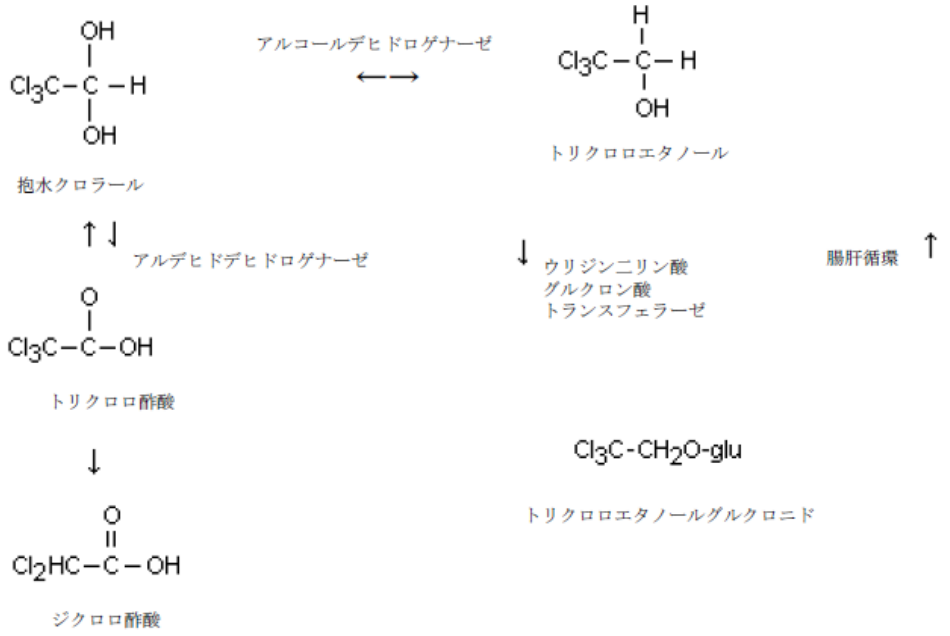

図1　　抱水クロラールの代謝経路

1996; Lipscomb et al., 1996, 1998; Abbas & Fisher, 1997; Henderson et al., 1997; Stenner et al., 1997, 1998;　Beland et al., 1998; Elfarra et al., 1998; Fisher et al., 1998; Merdink et al., 1998, 1999; Greenberg et al., 1999)。代謝経路を図 1 に示す。

抱水クロラールは肝内外の組織で、トリクロロエタノールとトリクロロ酢酸に迅速に代謝される。トリクロロエタノールへの還元を担うアルコールデヒドロゲナーゼは、肝臓と赤血球中に局在する。生じたトリクロロエタノールの一部は、グルクロン酸抱合を受ける。トリクロロエタノールグルクロニドは大部分が尿中に排泄されるが、一部は胆汁中に排泄され腸肝循環する。抱水クロラールのトリクロロ酢酸への酸化はおもに肝と腎で起こるが、これはアルデヒドデヒドロゲナーゼを介し､ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NAD)を補酵素とする。抱水クロラール代謝物の主要排泄経路は、尿中への排泄である。抱水クロラールとその代謝物が、抱水クロラール投与を受けた女性の母乳中に検出された(Bernstine et al., 1954)。しかし、こうした物質の濃度は低く、授乳中の乳児に薬理学的影響を及ぼすことはない(HSDB, 1999)。

マウスとラットでは、抱水クロラールの投与量の 8%が直接尿中排泄され、15%がトリクロロ酢酸(腸肝循環からのものを含む)に、77%がトリクロロエタノールに変換される(Beland et al., 1998)。ヒトでは、投与量の 92%がトリクロロエタノールに、8%が直接ト

リクロロ酢酸に変換される。トリクロロエタノールの腸肝循環中にトリクロロ酢酸がさらに生じるため、抱水クロラール投与量の 35%もがトリクロロ酢酸に変換されることになる(Allen & Fisher, 1993)。

げっ歯類の血中にジクロロ酢酸を大量検出したとする試験報告がある(Abbas et al., 1996)が、データでは還元ヘモグロビンの存在下にトリクロロ酢酸の酸触媒による脱塩素化でジクロロ酢酸が生じた可能性がもっとも高い(Ketcha et al., 1996)。げっ歯類による最近の実験データおよび薬物動態学的モデルのシミュレーションでは、ジクロロ酢酸は肝臓で寿命の短い代謝物として発生するに過ぎず、急速に二炭素の非塩素化代謝物および二酸化炭素に変換し、塩素分子が塩化物プールに入る(Merdink et al., 1998)。Henderson ら(1997)はジクロロ酢酸を人為的に生成しにくい異なる抽出法を用いて、抱水クロラールの投与を受けた小児でジクロロ酢酸を検出した。

Breimer(1977)は、5 人の自発的被験者に抱水クロラール水溶液 15 mg/kg 体重を単回経口投与した。初回サンプリング時間の 10 分間においてさえ、血漿中に抱水クロラールは検出されなかった。使用した方法の検出限界は 0.5 mg/L であった。トリクロロエタノールとトリクロロエタノールグルクロニドは、抱水クロラール投与後 20～60 分間でピーク濃度に達した。トリクロロエタノールの最高血漿中濃度はおよそ 5 mg/L であった。平均半減期は、トリクロロエタノールが 8 時間(7～9.5 時間)、トリクロロエタノールグルクロニドが 6.7 時間(6～8 時間)であった。トリクロロ酢酸の半減期はおよそ 4 日間であった。Zimmermann ら(1998)は、18 人の健康な男性被験者(20～28 歳)に、抱水クロラール 250 mg を飲料水に加えて単回投与した。抱水クロラール、トリクロロエタノール、トリクロロ酢酸が血漿中で測定された。投与後 8～60 分で抱水クロラールが検出されたのは、一部の血漿試料においてのみであった。測定濃度は報告されていないが、検出限界は 0.1 mg/L との記載がある。トリクロロエタノールでは投与後 0.67 時間で 3 mg/L の、トリクロロ酢酸では投与後 32 時間で 8 mg/L の最高血漿中濃度が得られた。消失半減期は、トリクロロエタノールが 9.3～10.2 時間、トリクロロ酢酸が 89～94 時間であった。

抱水クロラールには、ラットとマウスを用いた毒物動態モデルが 2 つある(Abbas et al., 1996; Beland et al., 1998)。Beland ら(1998)は、ラットとマウスに抱水クロラールを 1 回用量 50 または 200 mg/kg 体重で、単回あるいは 12 回強制経口投与した。マウスでは、抱水クロラール、トリクロロエタノール、トリクロロエタノールグルクロニドの最高血漿中濃度が、初回サンプリング時間の 0.25 時間で観察された。血漿中半減期は抱水クロラールが約 3 分間、トリクロロエタノールが約 5 分間、トリクロロエタノールグルクロニドが約 7 分間であった。トリクロロ酢酸が血漿中に検出された主要代謝物であり、投与後 1～6 時間で最高濃度に到達した。血漿中半減期は約 8～11 時間であった。ラットでも同程度の数値

が得られた。

トリクロロ酢酸とトリクロロエタノールの定常状態濃度をさまざまな暴露状況下で推定し、添付資料 1 に記載する。

数件の研究が抱水クロラール代謝の年齢依存性について調べている(Reimche et al., 1989; Gorecki et al., 1990; Hindmarsh et al., 1991; Mayers et al., 1991)。これらの研究は乳幼児・小児集中治療室の重症患者を対象に行われたもので、健康な幼児集団を代表するわけではない。トリクロロエタノールとそのグルクロニドの半減期は、早期および満期産児では幼児や成人に比べて数倍長い。幼児と成人ではトリクロロエタノールの半減期はよく似ている。こういった年齢による違いは、グルクロン酸抱合をはじめとする未発達な肝代謝と低い糸球体濾過率によると考えられる。

Kaplan ら(1967)は、抱水クロラール代謝にエタノール摂取が及ぼす影響について成人で調べた。被験者はエタノール(880 mg/kg 体重)、抱水クロラール(9～14 mg/kg 体重)、あるいは両方を摂取した。抱水クロラールのみの摂取に比べて、併用摂取では血中トリクロロエタノール濃度がより迅速にかつより高値に達した。エタノールがトリクロロエタノール生成を助長するのは、エタノールの酸化が抱水クロラールの還元に用いられる NADH を供与するためである(Watanabe et al., 1998)。

8. 実験哺乳類および *in vitro* 試験系への影響

8.1 単回暴露

8.1.1 経口

Sanders ら(1982)は、CD-1 マウスで抱水クロラールの急性毒性試験を行った。蒸留水に加えた抱水クロラール 300、600、900、1200、1500、1800 mg/kg 体重を、各群雌雄各 8 匹に強制経口投与した。900 mg/kg 体重以下では、雌雄ともに死亡は発生しなかった。LD_{50} は、雌 1265 mg/kg 体重、雄 1442 mg/kg 体重であった。投与後 10 分以内に影響が現れ、300 mg/kg 体重では鎮静が、600 および 900 mg/kg 体重では嗜眠および正向反射の消失がみられた。1200 mg/kg 体重以上で呼吸が著しく阻害された。呼吸阻害が死亡の直接の原因と思われた。1800 mg/kg 体重では、大部分の死亡が 4 時間以内に発生した。1200 および 1500 mg/kg 体重では、4 時間後以降の死亡もみられたが、すべての死亡は 24 時間以内に発生した。

Goldenthal(1971)の報告によると、ラットの LD_{50} は 480 mg/kg 体重である。

8.1.2 吸入

Odum ら(1992)は、雌 CD-1 マウス 4 匹をクロラールに 100 ppm(603 mg/m^3)の濃度で 6 時間暴露した。暴露は深い麻酔状態を誘発した。暴露停止後にマウスは正常に回復した。肺への影響として、クララ細胞空胞化、肺胞壊死、上皮剥離、肺胞浮腫などがみられた。肺／体重比が 1.5 倍となったが、これは肺胞浮腫による可能性がもっとも高い。

8.2 刺激と感作

実験動物で刺激性あるいは感作性試験は行われていない。

8.3 短期暴露

Sanders ら(1982)は、マウスで抱水クロラールの短期毒性試験を行った。蒸留水に加えた抱水クロラール 14.4 または 144 mg/kg 体重/日を、雄 CD-1 マウスに 14 日間強制経口投与した。体重への有意な影響は観察されなかった。肉眼的検査から内臓の変化は認められなかった。各群 11～12 匹からなるマウスで複数の毒性学的パラメータを評価した。血液学的あるいは血清生化学的パラメータへの有意な影響はみられなかった。高暴露群で統計的に有意な($P< 0.05$)肝重量の増加(17%)と脾重量の減少(27%)がみられた。この試験での無毒性量(NOAEL)は 14.4 mg/kg 体重/日、最小毒性量(LOAEL)は 144 mg/kg 体重/日であった。同研究者らはその後の 90 日試験で、肝重量増加は確認したものの、脾重量減少を確認できなかった。

8.4 長期暴露

8.4.1 準長期暴露

Sanders ら(1982)は、CD-1 マウスに 70 または 700 mg/L(16 または 160 mg/kg 体重/日に相当)の抱水クロラールを 90 日間飲水投与した。雄では、肝腫脹(低暴露群で 20%、高暴露群で 34%の重量増加)およびミクロソーム増殖(肝総タンパク mg 当たりタンパク mg で表すと、ミクロソーム総タンパクは増加せず、チトクロム b_5 がそれぞれ 26%および 40%増加、アミノピリン-N-脱メチル化酵素がそれぞれ 28%および 20%増加、アニリン水酸化酵素がそれぞれ 24%および 30%増加)が認められた。血清酵素には生物学的に有意な変化はなか

った。雌に肝腫脹はみられなかったが、肝ミクロソームパラメータの変化(肝総タンパク mg 当たりタンパク mg で表すと、ミクロソーム総タンパクは 10%増加、アニリン水酸化酵素は 23%増加、チトクロム b_5 は 12%減少)が高暴露群においてのみ認められた。ほかには、毒性学的に有意な変化は認められなかった。本試験では、高暴露雄での肝腫脹とミクロソームパラメータの変化に基づき、LOAEL を 160 mg/kg 体重/日、NOAEL を 16 mg/kg 体重/日とした。

Daniel ら(1992b)は雌雄 Sprague-Dawley ラット(各群雌雄各 10 匹)に、抱水クロラールを 300、600、1200、2400 mg/L の濃度(雄では 24、48、96、168 mg/kg 体重/日、雌では 33、72、132、288 mg/kg 体重/日に相当)で 90 日間飲水投与した。高暴露群の組織と全投与群雄の肝切片の組織病理学的検査が行われた。屠殺前死亡はいずれの群でも起きていない。投与ラットの肝重量を含む臓器重量および臨床化学値の対照群値との相違は、散発的に過ぎず一貫性もみられなかった。96 および 168 mg/kg 体重/日の各暴露群で、雄 10 匹中 2 匹に肝細胞巣状壊死が認められた。この壊死性病変は、96 mg/kg 体重/日群では軽微、168 mg/kg 体重/日群では有意に重症であった。いずれの投与群の雌や対照群でも、壊死性病変は報告されていない。血清酵素量は概して投与群で増加していたが、168 mg/kg 体重/日群の雄では劇的な増加が報告され、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、乳酸デヒドロゲナーゼの平均値が、対照群値よりそれぞれ 89%、54%、127%上昇した。

8.4.2 長期暴露と発がん性

Rijhsinghani ら(1986)は、雄マウス(C57BL × $C3HF_1$)で発がん作用を評価した。蒸留水に加えた抱水クロラール 0、5、10 mg/kg 体重/日を、15 日齢マウス(1 群につきそれぞれ 26、15、14 匹)に強制経口投与した。マウスを、瀕死期、あるいは 78 週、88 週、ならびに 89～92 週時に屠殺した。光学顕微鏡や電子顕微鏡を用いて肝臓の組織病理学的検査が行われた。投与後 48～92 週時に屠殺したマウスで、肝小結節(腺腫や索状がん)の発生数は、対照群の 2/19 に対して、5 mg/kg 体重/日群で 3/9、10 mg/kg 体重/日群で 6/8 であった。統計的に有意($P < 0.05$)な腫瘍の増加は、10 mg/kg 体重群のみであった[2]。

---

[2] 最終検討委員会後、米国国家毒性計画の発がん性バイオアッセイが公表された。この試験では、Rijhsinghani ら(1986)が用いた量の 5 倍量までの抱水クロラールを雌雄 $B6C3F_1$ マウスに単回投与したが、いずれの臓器においても腫瘍の誘発はみられなかった(NTP, 2000a)。

Daniel ら(1992a)は、雄 B6C3F$_1$ マウス 40 匹に、抱水クロラール 1g/L(166 mg/kg 体重/日に相当)を 104 週間飲水投与した。無処置対照群(1 群目 23 匹、2 群目 10 匹)には蒸留水を与えた。暴露 30 および 60 週時に中間屠殺を行った(各屠殺時に各群 5 匹)。完全な剖検と顕微鏡検査が実施された。投与に起因する生存率や体重への有意な影響はみられなかった。肝臓を別にすれば、脾臓・腎臓・精巣重量の変化も、組織の病理学的変化もみられなかった。肝毒性の特徴は、3 回の屠殺時すべてで肝絶対重量および肝体重比の増大がみられたことである。104 週時点では対照群に対して、肝重量は 37%、肝体重比は 42%増大していた。投与群では、肝細胞壊死が 10/24(42%)に認められ、ほかにも細胞質空胞化、巨大細胞、細胞質変性など肝臓での軽度の病理学的変化が報告された。最終屠殺時での肝腫瘍の有病率は対照より統計的に有意($P < 0.05$)に高く、肝細胞がん 11/24、肝細胞腺腫 7/24 であり、がんと腺腫の合計有病率は 17/24 であった。対照群では、がん 2/20、腺腫 1/20、合計 3/20 であった。60 週目の屠殺時での肝細胞がんの有病率は、対照の 0/5 に対して 2/5 であった。30 週時点で屠殺されたマウスでは、がん、腺腫、過形成性結節の報告はない。

George ら(2000)は、雄 B6C3F$_1$ マウスで長期発がん性試験を行ない、抱水クロラールを 104 週間飲水投与した。72 匹からなる各群の平均暴露量は、0、13.5、65、146.6 mg/kg 体重/日であった。いずれの暴露群でも、摂水量、生存率、行動、体重、臓器重量に変化はみられなかった。肝細胞壊死も認められず、血清酵素量がわずかに変化しただけであった。本試験では、マウスの非発がん性の影響に対する NOAEL を 146.6 mg/kg 体重/日(試験した最高暴露量)とした。肝臓以外の部位では、新生物の有病率に増加はみられなかった。本試験におけるバックグラウンド反応はこのマウス系にしては通常より高いものの、全暴露量において肝臓の増殖性病変(過形成、腺腫、がん、腺腫とがんの合計)の増加がみられた。表 1 にこのデータをまとめた。10%のマウスに腫瘍を発生させる用量(10%有効用量[ED_{10}])は 1.98 mg/kg 体重/日、95%信頼限界の下限値(LED_{10})は 1.09 mg/kg 体重/日と計算された(添付資料 2 参照)。

Leuschner と Beuscher(1998)は、Sprague-Dawley ラットを用いた長期発がん性試験を行い、抱水クロラールを雄に 124 週間、雌に 128 週間飲水投与した。各群雌雄各 50 匹とし、15、45、135 mg/kg 体重/日に暴露した。生存率、外観、行動、体重、摂餌・水量、臓器重量への影響はなかった。いずれの臓器にも腫瘍の増加は認められなかった。組織病理学検査で、最高暴露群の雄のみで肝細胞肥大の増加(対照群 11 %対最高暴露群 28%、$P < 0.01$)が明らかになった。この所見は軽微から軽度で、わずかに好酸性の細胞質を有するびまん性肝細胞肥大を特徴とし、著者らはこれを最初の毒性徴候と認めた。投与群では、他の非腫瘍性病変のタイプ、発生率、重症度は対照群より増大していなかった。生物学的有意性は疑わしいが、肝臓における毒性が軽微であることに基づき、本試験では NOAEL を 45

表1　104週時点でのマウスにおける肝細胞増殖性病変の有病率と多重度[a]

投与群 (mg/kg 体重/日)[b]	検査 個体数[c]	増殖	腺腫	がん	腺腫＋がん
0	42	7.1[d] 0.07 ± 0.04[e]	21.4[d] 0.21 ± 0.06[e]	54.8[d] 0.74 ± 0.12[e]	64.3[d] 0.95 ± 0.12[e]
13.5	46	32.6[f] 0.41 ± 0.10[f]	43.5[f] 0.65 ± 0.12[f]	54.3 0.72 ± 0.11	78.6[f] 1.37 ± 0.16[f]
65	39	33.3[f] 0.38 ± 0.09[f]	51.3[f] 0.95 ± 0.18[f]	59.0 1.03 ± 0.19	79.5[f] 1.97 ± 0.23[f]
146.6	32	37.5[f] 0.41 ± 0.10[f]	50.0[f] 0.72 ± 0.15[f]	84.4[f] 1.31 ± 0.17[f]	90.6[f] 2.03 ± 0.25[f]

[a] Georgeら(2000)からの引用
[b] 時間加重平均1日用量
[c] 78週間以上生存した個体
[d] 有病率(少なくとも1病変以上を有する個体の割合)
[e] 多重度(個体あたりの病変数 ± SEM)
[f] 対照値との統計的有意差、$P < 0.05$

mg/kg 体重/日、LOAEL を 135 mg/kg 体重/日とした。

Goerge ら(2000)は雄 F344 ラットで長期発がん性試験を行なった。ラットに抱水クロラールを 104 週間飲水投与した。各群 78 匹の平均 1 日暴露量は、0、7.4、37.4、162.6 mg/kg 体重であった。いずれの暴露量でも、摂水量、生存率、行動、体重、臓器重量に変化はなかった。肝壊死や肝過形成もなく、分裂指数も上昇せず、血清酵素量がわずかに変化したことからみて、いずれの暴露量でも肝毒性ははっきりしない。また、肝細胞や他部位由来の新生物の有病率や多重度にも上昇はみられなかった。本試験では、NOAEL を 162.6 mg/kg 体重/日(試験した最高暴露量)とした[3]。

抱水クロラールの 2 つの代謝物、トリクロロ酢酸とジクロロ酢酸は、げっ歯類で肝腫瘍を引き起こすことがわかっている。たとえば、トリクロロ酢酸は、200 mg/kg 体重/日を上回って飲水投与すると、雌雄マウスに肝腫瘍を誘発した(Herren-Freund et al., 1987 ; Bull

[3] 最終検討委員会後、米国国家毒性計画の発がん性バイオアッセイが公表された。この試験では、類似の用量で生涯にわたって強制経口投与した抱水クロラールは、雄 $B6CF_1$ マウスに肝細胞腫瘍を誘発し、雌に低頻度の下垂体過形成・腺腫を誘発したが、統計的有意性はボーダーラインレベルであった(NTP, 2000b)。

et al., 1990 ; Pereira, 1996)。しかし、360 mg/kg 体重/日で雄ラットに暴露しても、発がん性の増加は認められなかった(DeAngelo et al., 1997)。ジクロロ酢酸は、160 mg/kg 体重/日を上回って飲水投与すると、雌雄マウスに肝腫瘍を誘発した(Herren-Freund et al., 1987; Bull et al., 1990; DeAngelo et al., 1991; Daniel et al., 1992a; Ferreira-Gonzalez et al., 1995; Pereira, 1996)。また、40 mg/kg 体重/日を上回ると、雄ラットに肝腫瘍を誘発した(Richmond et al., 1995; DeAngelo et al., 1996)。

多くの試験から、トリクロロエチレンが高度に特異的な病変をクララ細胞に引き起こし、マウスの肺細気管支上皮に対し毒性を示すことがわかった。短期暴露はクララ細胞を空胞化し、長期暴露は肺腺腫・腺がんを引き起こす(Odum et al., 1992; Green et al., 1997)。こうした作用は、クララ細胞内にクロラールが蓄積することによると考えられる。トリクロロエチレンは効率的にクロラールに代謝されるが、クロラールからトリクロロエタノールおよびそのグルクロニドへの主要経路は遮断されており、その結果クロラールが蓄積し、観察されたような毒性が生じる。

8.5 遺伝毒性および関連エンドポイント

8.5.1 遺伝毒性

抱水クロラールとその代謝物の遺伝毒性に関するデータベースは広範囲に及ぶ。完全な概要が US EPA(2000)に記述されている。

抱水クロラールは大部分のネズミチフス菌 *Salmonella typhimuriumn* 株で突然変異を誘発しないが、ネズミチフス菌株 TA100 を用いた複数回の試験と TA104 を用いた 1 回の試験では誘発性が認められた。TA104 菌株での誘発性は、フリーラジカル捕捉剤のα-トコフェロール(α-tocopherol) とメナジオン(menadione)によって抑制された(Ni et al., 1994)。

アスペルギルスニダランス *Aspergillus nidulans* では、代謝活性化の非存在下で有糸分裂交差を誘発しなかった。サッカロマイセス・セレヴィシエ *Saccharomyces cerevisiae* では、代謝活性化存在下では減数分裂性組換えを、非存在下では遺伝子変換を弱いながらも誘発した。復帰突然変異は誘発しなかった。各種菌類に対して、代謝活性化の非存在下で異数性を明らかに誘発した。

キイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* では、体細胞・生殖細胞突然変異を誘発した。

ラット肝細胞核では DNA タンパク架橋を、*in vitro* 初代肝細胞では DNA 一本鎖切断／アルカリ不安定部位を、大腸菌 *Escherichia coli* では DNA 修復を引き起こさなかった。ある試験では、*in vivo* 投与のラットとマウス両種の肝 DNA で一本鎖切断を誘発することがわかった。また、より高濃度の抱水クロラールを両種に用いた別の試験では、そのような作用はみられなかった。

抱水クロラールは *in vitro* マウスリンパ腫細胞で弱い変異原性を示したが、小核は誘発しなかった。チャイニーズハムスター細胞株では、小核誘発頻度を上昇させた。1 回の試験で *in vitro* チャイニーズハムスター胚二倍体(CHED)細胞に染色体異常を誘発することが示唆されたが、形成された小核に含まれるのは染色体断片ではなく染色体全体であろうとされたのは、小核がすべて抗動原体抗体で標識されている可能性があるためである。

カンガルーネズミの腎上皮細胞では、紡錘体伸長を阻害し、分裂期の微小管を崩壊させたが、染色体の極から極への移動は阻害しなかった。チャイニーズハムスターDON:Wg.3h 細胞では、多極紡錘体、分裂期紡錘体からの染色体転位、および紡錘体の完全な欠如を生じさせた。

ヒトリンパ球培養では、弱いながら姉妹染色分体交換を誘発した。*in vitro* ヒトリンパ球では、小核、異数性、C－細胞分裂、倍数性を誘発した。小核は、ヒト全血培養を用いた試験では誘発されたが、分離リンパ球を用いた試験では誘発されなかった。小核試験でみられたこのような違いは、全血培養とリンパ球純培養の違いに原因があるとされた(Vian et al., 1995)が、この説は検証されていない。

抱水クロラールは *in vivo* 投与後に染色体異常の頻度を、マウス骨髄、精原細胞、第 1・第 2 精母細胞では増加させたが、卵母細胞では増加させなかった。*in vivo* 投与後のマウス骨髄赤血球に染色体異常を誘発した。これらのうち 1 件の試験では、抗動原体抗体の使用が全染色体と断片両方を含む小核の誘発を示唆していた。*in vivo* 投与マウスの精子細胞で小核を誘発した試験もある。*in vivo* 投与マウスの骨髄では異数性を誘発した。マウスの第 2 精母細胞では異数性形成率を増加させた。*in vivo* 投与マウスの骨髄、卵母細胞、第 1 精母細胞の一価の性染色体・常染色体に、倍数性を生じさせなかった。しかし、マウス卵母細胞の同調集団を成熟再開前に *in vitro* 暴露すると、倍数性と減数分裂の遅延を誘発した。

抱水クロラールの還元生成物トリクロロエタノールは、大腸菌 *E. coli* でラムダ(λ)プロファージを、ネズミチフス菌 *S. typhimuriumn* TA100 で突然変異を誘発しなかった。*in vitro* 投与により、マウス卵母細胞に紡錘体異常を引き起こした。

トリクロロ酢酸は、代謝活性化の有無に関わらず、大腸菌ではラムダプロファージを、ネズミチフス菌では変異原性を誘発しなかった。代謝活性化を用いたマウスリンフォーマ試験では、弱いながら陽性を示した。*in vitro* において、ヒトリンパ球では染色体損傷を、骨髄では小核を誘発しなかった。トリクロロ酢酸が *in vivo* で染色体損傷を誘発するかについては、陽性と陰性の結果が混在しているため明らかではない。

ジクロロ酢酸は、ネズミチフス菌の DNA 修復能欠損株では特異的毒性を誘発しなかったが、大腸菌ではラムダプロファージを誘発した。ネズミチフス菌株 TA100 および TA98 では、遺伝子突然変異を疑わせる結果を示した。*in vitro* マウスリンフォーマ試験では弱い変異原性を示し、染色体異常を誘発したが、小核や異数性は誘発しなかった。雄マウスに肝腫瘍を誘発する暴露量において、*in vivo* でマウス多染性赤血球に小核を、*in vivo* で $B6C3F_1$ 系トランスジェニックマウス(Big Blue マウス)の *lacI* 遺伝子座に突然変異を誘発した。ジクロロ酢酸が DNA 一次損傷を誘発するかについては、陽性と陰性の結果があるため明らかではない。

8.5.2 細胞増殖

Rijhsinghani ら(1986)は、15 日齢の雄マウス(C57BL × $C3HF_1$)を用いて肝細胞増殖への抱水クロラールの急性影響を調べた。蒸留水に加えた抱水クロラール 0、5、10 mg/kg 体重をマウス(1 群につきそれぞれ 9、10、6 匹)に強制投与し、24 時間後に屠殺した。細胞増殖は、肝切片から分裂指数(細胞核 100 個あたりの分裂数)を計算して評価した。肝細胞の分裂指数は、5 mg/kg 体重群(0.9235)で対照群(0.3382)より有意に増加し、10 mg/kg 体重群(0.7433)でも(統計的に有意ではないが)増加した。剖検時にいずれの投与群でも肝壊死は認められていない。

長期発がん性試験の一環として、George ら(2000)は雄 F344 ラットと雄 $B6C3F_1$ マウスで肝細胞増殖の評価を行った。暴露量は§ 8.4.2 に記載されている。ラットは 13、26、52、72 週時、マウスは 26、52、78 週時に屠殺したが、各屠殺の 5 日前にブロモデオキシウリジン(bromodeoxyuridine)を与えた。標識核を核上でのクロモゲン呈色で確認し、標識率を算出した。マウス肝内の腫瘍域を除いて、ラットやマウスの肝細胞増殖の増加を示す有意な証拠は得られなかった。

8.5.3 がん遺伝子の活性化

Velazquez (1994)は、プロトがん遺伝子 H-*ras* の突然変異誘発についてマウスで検討した。抱水クロラール 1 g/L(166 mg/kg 体重/日)を 2 年間飲水投与した雄 $B6C3F_1$ から、正常およ

び腫瘍肝組織の DNA を採取した。7 個の腫瘍のうち 1 個(14%)に、H-*ras* 遺伝子の突然変異が見つかった。突然変異スペクトルは、自然発生肝腫瘍のものと変わらなかった。以上のデータから、H-*ras* 活性化が抱水クロラールの発がんメカニズムであるとは考えにくい。

8.5.4　フリーラジカル生成と DNA 付加体形成

Ni ら(1994, 1995, 1996)は、雄 B6C3F$_1$ マウスのミクロソームを用い、抱水クロラールの代謝を *in vitro* 系で調べた。抱水クロラールの代謝は、電子スピン共鳴分光法で検出されるフリーラジカルを発生させ、内因性脂質過酸化を引き起こし、結果的にマロンジアルデヒド(malondialdehyde)、ホルムアルデヒド(formaldehyde)、アセトアルデヒド(acetaldehyde)を生じさせたが、これらの物質はすべてげっ歯類で肝腫瘍を発生させることで知られている。トリクロロ酢酸とトリクロロエタノールも、この系でフリーラジカルを生成し、脂質過酸化を誘発した。著者らは、フリーラジカルは Cl_3CCO_2・と Cl_3C・、またはそのいずれかであると推測した。ミクロソームおよび仔ウシ胸腺 DNA の存在下に抱水クロラール、トリクロロエタノール、トリクロロ酢酸をインキュベートすると、マロンジアルデヒド修飾 DNA 付加体が生じた。この研究グループはさらに、抱水クロラールが CYP2E1 を含むトランスジェニックヒトリンパ芽球系の *hprt* および *tk* 遺伝子座で、突然変異を増加させることを明らかにした。その一方、CYP2E1 を欠く親細胞株を同濃度の抱水クロラールで処理しても、どちらの遺伝子座でも突然変異は認められなかった。これらのデータは、主要なチトクロムサブファミリーとして、CYP2E1 が抱水クロラールの反応中間体への代謝に関わっていることを示している。

8.5.5　細胞間コミュニケーション

抱水クロラールへの 1、4、6、24、28、168 時間の暴露(0、1、5、10 mmol/L)が、クローン 9 細胞培養(正常ラット肝細胞)におけるギャップ・ジャンクション細胞間コミュニケーションに影響を及ぼすことが、Benane ら(1996)によって報告された。色素移動法による測定によって、暴露 1、4、6 時間時点での 1 mmol/L 群と対照群間で細胞間コミュニケーションに差はないと判断された。他の暴露群すべてと対照群との間では有意差がみられた。色素移動量を有意に減少させた最短暴露時間と最低暴露濃度は、1 mmol/L での 24 時間暴露群で認められた。

8.5.6　ペルオキシソーム増殖

マウスにおける長期発がん性試験の一環として、George ら(2000)は、シアン化物非感受性パルミトイル CoA オキシダーゼを用い、抱水クロラール 26 週間投与の雄マウスの肝臓

でペルオキシソーム増殖の証拠を見出さなかった。

8.6 生殖・発生毒性

Klinefelter ら(1995)は、F344 ラットに 0、55、188 mg/kg 体重/日の抱水クロラールを 52 週間飲水投与し、精子の形態・運動性への影響を評価した。また、精巣上体尾での精子運動パラメータと精巣や精巣上体の組織変化も検討した。抱水クロラールは明らかな全身毒性を引き起こさず、精巣上体や精巣の組織病理所見にも影響を及ぼさなかった。しかし、188 mg/kg 体重/日群の運動精子率は、対照群の 68%から 58%へと有意($P < 0.01$)な低下を示した。前進運動精子率も、対照群の 63%から 53%へと有意($P < 0.01$)に低下した。さらに、同暴露群での精子の平均直線移動速度の度数分布は、対照群と比較すると有意($P < 0.01$)に低値側へシフトしていた。本試験での NOAEL は 55 mg/kg 体重/日、LOAEL は 188 mg/kg 体重/日である。

Kallman ら(1984)は、雌雄 CD-1 マウスに 21.3 または 204.8 mg/kg 体重/日の抱水クロラールを飲水投与した。交配の 3 週間前から暴露を行った。雌(各群 5 匹)への暴露は、妊娠期間および新生仔の 21 日齢での離乳時まで続いた。肉眼的な奇形はみられず、妊娠期間、出産仔数、仔体重、死産仔数への有意な影響も観察されなかった。すべての出生仔(各群 15 匹)は数回の神経行動試験で同程度の発達や行動を示したが、204.8 mg/kg 体重/日群の出生仔のみが 23 日齢時の受動的回避学習試験で、1 時間および 24 時間の記憶保持能力に低下を示した($P < 0.05$)。受動回避学習の障害に基づき、本試験では神経発達毒性の NOEL を 21.2 mg/kg 体重/日、LOAEL を 204.8 mg/kg 体重/日とした。生殖およびその他の発生への影響に対する NOEAL を 204.8 mg/kg 体重/日(試験した最高暴露量)とした。

Johnson ら(1998)は Sprague-Dawley ラットで、抱水クロラールの発生毒性誘発能について検証した。ラット 20 匹に妊娠 1 日～22 日まで平均 151 mg/kg 体重/日の抱水クロラールを飲水投与した。対照群には蒸留水を与えた。母体毒性の証拠はなく、着床・吸収胚数、生存・死亡胎仔数、胎盤・胎仔重量、頭殿長に変化はなく、形態学的変化の増加も認められなかった。詳細な検査で心奇形の証拠も見つからなかった。この試験に基づくと、発生毒性に対する NOAEL は 151 mg/kg 体重/日(試験した最高暴露量)である。

Johnson ら(1998)は Sprague-Dawley ラットで、トリクロロエタノールとトリクロロ酢酸の発生毒性誘発能についても検証した。プロトコルは抱水クロラールの試験と同一とした。トリクロロエタノールを平均 153 mg/kg 体重/日でラット 10 匹に投与したが、発生毒性の証拠は見つからなかった。対照的に、トリクロロ酢酸を平均 291 mg/kg 体重/日で 11 匹に投与した結果、発生毒性が認められた。平均胚吸収数、平均着床数、心奇形が統計的

に有意($P < 0.05$)に増加していた。トリクロロ酢酸での結果は、検出した具体的な心奇形が異なっていたものの、トリクロロ酢酸への 330 mg/kg 体重/日以上の暴露で発生への有害影響を認めた Smith ら(1989)の報告とおおむね一致していた。

Saillenfait ら(1995)は、ラットの全胚培養系を用いて、抱水クロラールの発生毒性誘発能について検証した。妊娠 10 日に Sprague-Dawley ラットの胚仔(各群 20 胚)を取り出し、抱水クロラールに 0、0.5、1、1.5、2、2.5 mmol/L の濃度(0、83、165、248、331、414 mg/L に相当)で 46 時間暴露した。2.5 mmol/L で全胚子が死亡したが、これより低用量では死亡はみられなかった。抱水クロラールは濃度に依存して、成長および分化を低下させ、形態異常胚の出現率を増加させた。0.5 mmol/L では、いずれのパラメータにも影響はみられなかった。1 mmol/L 以上では、頭殿長の短縮、胚子体節数の減少、胚仔のタンパク質・DNA 含有量の減少がみられた。1、1.5、2 mmol/L での奇形胚の出現率は、それぞれ 18%、68%、100%であった。これらの濃度では、脳・眼・耳の奇形が顕著であった。2 mmol/L では、体幹の奇形と心膜の拡張もみられた。この *in vitro* 試験系では、抱水クロラールはトリクロロ酢酸やジクロロ酢酸よりわずかに強い催奇形因子であった。

抱水クロラールは、ホルモン誘発による卵母細胞の成熟再開時期に成体マウスに投与しても減数分裂の遅延を起こさなかった(Mailhes & Marchetti, 1994)が、*in vitro* では卵母細胞の同調集団に成熟再開前に暴露すると有害影響を及ぼした(Eichenlaub-Ritter & Betzendahl, 1995; Eichenlaub-Ritter et al., 1996)。この試験系で抱水クロラールは、分裂終期Ⅰで遅延性染色体異常を誘発、分裂後期 B で紡錘体の伸長を阻害、分裂中期ⅠおよびⅡで紡錘体赤道面からの染色体移動を引き起こした。卵母細胞は、成熟前に抱水クロラールに暴露する、あるいは成熟の最初のまたは次の 8 時間に抱水クロラールが存在すると、成熟が不可逆的に停止した。卵母細胞をトリクロロエタノールで処置すると、紡錘体異常が観察された(Eichenlaub-Ritter et al., 1996)。

8.7 免疫系および神経系への影響

Kauffmann ら(1982)は、各群 11～12 匹からなる雄 CD-1 マウスに、14.4 または 144 mg/kg 体重/日の抱水クロラールを蒸留水に混ぜて 14 日間強制経口投与した。体液性あるいは細胞性免疫への影響は、どちらの投与群でも検出されなかった。

Kauffmann ら(1982)は、雌雄 CD-1 マウスに抱水クロラール 70 または 700 mg/L(16 または 160 mg/kg 体重/日に相当)を 90 日間飲水投与した。体液性免疫を、ヒツジ赤血球に対する脾臓抗体産生細胞数(対照群 12 匹、暴露群 8 匹)および赤血球凝集素価(対照群 20～21 匹、暴露群 13～16 匹)によって評価した。細胞性免疫を、ヒツジ赤血球に対する遅延性過

敏反応(対照群 17～20 匹、暴露群 15～16 匹)によって評価した。リンパ球反応を、T 細胞マイトジェン(Con A)および B 細胞マイトジェン(LPS)(対照群 17～22 匹、暴露群 13～16 匹)によって評価した。雄では、体液性免疫にも細胞性免疫にも両暴露群で影響はみられなかった。細胞性免疫への影響は、雌では両暴露群ともに認められなかった。雌では、脾臓 1 個当たりの抗体細胞産生細胞数で表した場合、両暴露群で体液性免疫機能が統計的に有意($P < 0.05$)な低下をきたした(低暴露群 36%、高暴露群 40%)。しかしこの低下は、脾細胞 100 万個当たりの抗体産生細胞数で表した場合には、高暴露群のみで統計的に有意であった(32%低下)。赤血球凝集素価にも B 細胞マイトジェンへの碑細胞反応にも、両暴露群で影響はみられなかった。高暴露雌の脾細胞 100 万個当たりの抗体産生細胞数の減少は、本試験では有害反応と考えられる。以上から、免疫毒性の NOAEL は 16 mg/kg 体重/日、LOAEL は 160 mg/kg 体重/日である。

Kallman ら(1984)は、蒸留水に加えた 50、100、200、300、400 mg/kg 体重の抱水クロラールを、各群 12 匹からなる雄 CD-1 マウスに強制経口投与した。全投与量で運動失調が急速に発生し、50%有効用量(ED_{50}) (動物の 50%に最大限の影響が現れる)は 5 分間(最大限の影響発現時間)で 84.2 mg/kg 体重であった。マウスは 2～3 時間以内に回復した。投与後 24 時間の検査で、筋肉の協調性に遅発性変化は検出されなかった。

Kallman ら(1984)は、蒸留水に加えた 14.4 または 144 mg/kg 体重/日の抱水クロラールを、各群 12 匹からなる雄 CD-1 マウスに強制経口投与し、行動毒性の評価を行った。暴露停止から 24～48 時間後の測定で、体重、自発運動、外観、行動、筋肉協応、耐久力への有意な影響は観察されなかった。

Kallman ら(1984)は、抱水クロラール 70 または 700 mg/L(16 または 160 mg/kg 体重/日に相当)を、各群 12 匹からなる雄 CD-1 マウスに 90 日間飲水投与した。暴露停止から 24 時間後の測定で、死亡率、体重、外観、行動、自発運動、反復協調運動学習、痛刺激への反応、筋力、耐久力、受動的回避学習への、投与に起因する影響は観察されなかった。両暴露群で、平均体温がおよそ 1℃低下した($P< 0.05$)。10 倍の暴露量でも影響が増大しなかったことと、低体温が抱水クロラールの副作用としてあるいは過量摂取によりヒトでは報告されていないことから、体温低下は有害影響とは考えられない。本試験では、神経行動毒性の NOAEL は 160 mg/kg 体重/日(試験した最高暴露量)である。

トリプタミン(tryptamine)と抱水クロラールの縮合生成物である 1-トリクロロメチル-1,2,3,4-テトラヒドロ-β-カルボリン(1-trichloromethyl-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carboline) (TaClo)が、抱水クロラールの投与を 2～7 日間受けた高齢患者の血中で検出された(Bringmann et al., 1999)。この代謝物を準長期試験でラットに投与すると、緩徐進行性の

神経変性を引き起こした(Gerlach et al., 1998)。しかし、ラットとマウスを用いた抱水クロラールの長期試験では、神経変性の証拠はみられなかった。

9. ヒトへの影響

抱水クロラールは、鎮静薬および催眠薬としてヒトで広く使用されている。トリクロロエタノールが薬理活性を担っている(Marshall & Owens, 1954; Breimer, 1977; Goodman & Gilman, 1985)。暴露情報については§6.2を参照のこと。

抱水クロラールは皮膚および粘膜刺激性があり、推奨用量で胃部不快感、吐き気、嘔吐を起こすことがある。ヒトでの感作は報告されていない。過剰摂取では、運動失調、嗜眠、深い昏睡、呼吸抑制、血圧低下、不整脈の症状が順に進行する。重篤な呼吸抑制、血圧低下、不整脈は生死に関わる。代表的な症例報告については、Marshall (1977)、Anyebun と Rosenfeld (1991)、Ludwigs ら(1996)、Sing ら(1996)を参照のこと。ヒトの経口致死量はおよそ 10 g(143 mg/kg 体重)と推定されるが、4 g での死亡例や、30 g 以上での生存例もある。長期使用によって、薬理効果への耐性と、身体依存あるいは嗜癖が現れることがある。

Shapiro ら(1969)は、抱水クロラール投与を受けた患者 1618 人の医療記録を調査した。投与量は、1 g(213 人、13%)、0.5 g(1345 人、83%)、その他(60 人、4%)であった。有害反応が 38 人(2.3%)で報告され、うち 4 人が 1 g、1 人が 0.75 g、33 人が 0.5 g の投与を受けていた。報告された有害反応の内訳は、胃腸症状(10 人)、中枢神経系(CNS)抑制(20 人)、皮膚発疹(5 人)、プロトロンビン時間延長(1 人)、徐脈(1 人)であった。抱水クロラールによる治療を停止すると、すべての患者で副作用は消退した。副作用と、年齢、体重、性別の間に因果関係の証拠はなかった。

Miller と Greenblatt(1979)は、抱水クロラールを 0.5 g(およそ 7～8 mg/kg 体重)あるいは 1 g(およそ 14～16 mg/kg 体重)の用量で投与を受けた 5435 人の医療記録を調査した。有害反応が 119 症例(2.2%)に認められた。中枢神経抑制がもっとも多く(58 人、1.1%)で、次いで発疹、そう痒、発熱、好酸球増加など軽度の感受性反応であった(19 人、0.35%)。ほかに、胃腸障害(0.28%)、中枢神経興奮(0.22%)もみられた。3 人(0.05%)は、中枢神経抑制、アステリクシス(不随意性の羽ばたき振戦)、血圧低下など重篤症状を有すると判断された。データから、50 歳以上の患者、入院中に死亡した患者、ベンゾジアゼピン系抗不安薬併用患者、血液尿素窒素高値患者では、用量の増加とともに中枢神経系の有害反応の頻度が高まることがわかった。

Greenberg ら(1991)は、コンピュータ・トモグラフィ(CT)を撮影するため鎮静薬として抱水クロラールを投与された小児患者で、さまざまな副作用を報告した。単回投与量 80～100 mg/kg 体重および最大総投与量 2 g を投与された 298 人(平均年齢 2.18 歳)からなる“高投与”群では、23 人(7%)に嘔吐(14 人)、多動(5 人)、喘鳴や分泌物の吸込みなど呼吸器症状(4 人)といった有害反応がみられた。心臓モニタリングで、いずれの小児にも異常や不整脈は認められなかった。“低投与”群の 111 人(平均年齢 1.9 歳)は 40～75 mg/kg 体重の投与を受けた。肝障害、腎障害、呼吸不全、中枢神経系抑制などをきたしていたからである。この群での有害な副作用や合併症の報告はない。重篤な肝疾患や腎疾患を有する、あるいは重篤な中枢神経系抑制が認められる小児には、抱水クロラールの投与は行われていない。

Lambert ら(1990)は、病院医療記録の後向き分析を行い、抱水クロラールの長期間投与(25～50 mg/kg 体重を最長 20 日間)を受けた新生児で、抱水クロラール投与と高直接ビリルビン血症(DHB)との因果関係の有無を調べた。直接ビリルビンは、血清中の遊離非抱合型ビリルビンの指標である。最初の分析で、DHB 症状を有する新生児 14 人のうち、原因が不明であった 10 人すべてが抱水クロラール投与を受けていた。第二の分析で、抱水クロラール投与を受けた新生児 44 人のうち、DHB を発症した 10 人での平均蓄積量は 1035 mg/kg 体重であった。対照的に、直接ビリルビン値が正常範囲の 34 人では、平均蓄積量は 183 mg/kg 体重であった。総ビリルビン値(遊離型＋抱合型)は、両群で差がなく正常範囲にあった。

Kaplan ら(1967)は、エタノール摂取が抱水クロラールの影響を増大させる可能性について調査した。体重 70～107 kg の男性被験者 5 人に、エタノール(880 mg/kg 体重)および抱水クロラール(1 g、9～14 mg/kg 体重)を単独あるいは併用で投与した。投与間で、血圧、心拍数が有意に異なることはなかった。エタノールの存在下では、血中トリクロロエタノール濃度がより迅速により高値に達したが、消失速度には有意な変化はなかった。トリクロロエタノール濃度の上昇は、催眠効果をいちじるしく増強するほどではなかった。6 時間の観察期間中、被験者は症状(傾眠、目まい、視野のぼけ)とその重症度を報告した。全時点で、影響度の強さはエタノール＋抱水クロラール＞エタノール＞抱水クロラールの順であった。

ヒトでの長期研究は見当たらない。抱水クロラールは習慣性があり、米国では規制物質(スケジュール IV)である。

10. 実験室および自然界の生物への影響

表2 抱水クロラールの細菌、藻類、原生動物への影響

試験系	影響	参考資料
細菌 *Pseudomonas putida*	16時間EC_3は1.6mg/L	Bringmann & Kuehn, 1980a
緑藻 *Scenedesmus quadricaudata*	7日間EC_3は2.8mg/L	Bringmann & Kuehn, 1980a
藍藻(藍色細菌) *Microcystis aeruginosa*	8日間EC_3は78mg/L	Bringmann & Kuehn, 1976
原生動物(鞭毛虫類) *Entosiphon sulcatum*	72時間EC_5は79mg/L	Bringmann & Kuehn, 1980a
原生動物(繊毛虫類) *Uronema parduczi*	EC_5は86mg/L	Bringmann & Kuehn, 1980b

細菌、藻類、原生動物を用いた細胞増殖阻害試験(毒性閾値)からのデータがいくつかあり、それらを表 2 にまとめた。

Schatten と Chakrabarti(1998)によると、0.1%(唯一の試験濃度)の抱水クロラールは、中心小体構成物質の変容と微小管の形状異常をカリフォルニアウニ(ムラサキウニ *Strongylocentrotus purpuratus* と *Lytechinus pictus*)に引き起こした。Chakrabarti ら(1998)も、抱水クロラール 4 mmol/L(660 mg/L、唯一の試験濃度)が初期胚期の *Lytechinus pictus* で繊毛喪失を誘発するのを明らかにした。本試験では、胞胚期(受精後 14 時間)に 30 時間の暴露を行った。

11. 影響評価

11.1 健康への影響評価

11.1.1 危険有害性の特定と用量反応の評価

抱水クロラールは鎮静薬および催眠薬として、ヒトおよび動物で広く使用されている。代謝物のトリクロロエタノールが薬理効果を担っている。皮膚および粘膜に刺激性があり、推奨用量で胃部不快感、吐き気、嘔吐を起こすことがある。急性過剰摂取では、運動失調、嗜眠、深い昏睡、呼吸抑制、血圧低下、不整脈の症状が順に進行する。1 回に致死量に近い量を摂取して生存した症例で肝障害が報告されているが、推奨臨床用量で肝障害が生じるとする説得力ある証拠はない。薬として長期使用されているにもかかわらず、臨床比較試験で長期暴露後の毒性に関する情報は報告されていない。

経口投与された抱水クロラールは、完全に吸収され迅速に代謝される。主要代謝物は、トリクロロエタノールとそのグルクロニド、およびトリクロロ酢酸である。ジクロロ酢酸が少量生成されるとのデータもある。ヒトでの半減期は、トリクロロエタノールとそのグルクロニドがおよそ 8 時間、トリクロロ酢酸がおよそ 4 日間である。トリクロロエタノールの半減期が、早期および満期産児では幼児や成人の数倍にもなるとのデータもある。抱水クロラール代謝物の主要排泄経路は尿中への排泄である。抱水クロラールとその代謝物が、抱水クロラールの投与を受けた女性の母乳中で検出されている。しかし、これらの物質の濃度は低く、授乳中の乳児に薬理学的影響を及ぼすことはない。

マウスへの急性投与は運動協調性の喪失(運動失調)を引き起こすが、これはヒトに同等の影響を与えるのとほぼ同じ暴露量による。マウスの 90 日試験では、行動学的変化や他の神経毒性の証拠はみられない。ラットとマウスの長期試験では、行動学的変化や神経組織の病理学的変化を示す所見は認められない。このような試験では、ヒトに推奨される臨床用量のおよそ 15 倍の暴露量を用いている。ラットとマウスの長期暴露では、軽度の肝毒性を示すある程度の証拠がある。体液性免疫のわずかな低下が、90 日暴露の雌マウスで認められた。抗体産生細胞の応答が体液性免疫の状態を示す優れた指標とみなされる理由は、複雑な細胞間共同作用が抗体産生に必要とされることと、抗体産生細胞数が定量化できることである。このような細胞数の減少が有害反応と考えられるのは、抗体産生が生体の防御に重要な役割を果たすことがあげられる。しかし、脾臓における抗体産生細胞の減少と循環抗体の濃度との定量的相関は不明である。本試験では、赤血球凝集素価で測定した循環抗体に減少がみられないため、宿主が防御抗体反応を開始する能力に著しい低下はないと考えられる。抱水クロラールでは、ラットとマウスで発生毒性試験が行われている。形態学的異常は認められていない。母マウスを交配前、妊娠期間中、哺乳期間中に暴露し、出生仔を 23 日齢で検査したところ、受動的回避学習にわずかな影響が観察された。二世代繁殖試験は行われていないが、生殖能力ならびに精子・卵母細胞への影響に関するデータから、生殖毒性が重要影響である可能性は高くないと考えられる。さらに、準長期あるいは長期試験で、げっ歯類の生殖器官への組織病理学的影響は認められていない。しかし、幼若雌に投与した抱水クロラールは、生殖能への潜在的な影響を及ぼす可能性を示唆する *in vitro* データもある。実験動物を用いたすべての試験で、発がん性以外の影響が現れたのは、ヒトに鎮静をもたらす用量をはるかに超えた暴露量においてである。暴露反応データの完全な概要を表 3 にまとめた。

抱水クロラールとエタノールの同時摂取は、抱水クロラールの鎮静作用および副作用を増大させる。その機序は、薬理活性代謝物であるトリクロロエタノールの濃度が、エタノールの存在下で上昇することである。したがってエタノール常用者では、抱水クロラール

表3　非腫瘍性影響

種	期間	エンドポイント	NOAEL (mg/kg 体重/日)	LOAEL (mg/kg 体重/日)	参考文献
ヒト	1日、3回	鎮静	—	10.7	Goodman & Gilman, 1985
ラット	90日間	軽度の肝壊死と血清酵素量の増加	96	168	Daniel et al., 1992b
ラット	104週間	—	162.6	—	George et al., 2000
ラット	124週間	肝肥大	45	135	Leuschner & Beuscher, 1998
ラット	52週間	精子運動性	55	188	Klinefelter et al., 1995
ラット	妊娠1～22日	発生	151	—	Johnson et al., 1998
マウス	14日間	肝重量増加	14.4	144	Sanders et al., 1982
マウス	90日間	肝重量増加	16	160	Sanders et al., 1982
マウス	104週間	肝重量増加と肝壊死	—	166[a]	Daniel et al., 1992a
マウス	104週間	—	146.6[b]	—	George et al., 2000
マウス	交配前3週間および妊娠中	生殖および発生	204.8	—	Kallman et al., 1984
マウス	交配前、妊娠中、哺乳中	出生仔の受動回避学習	21.3	204.8	Kallman et al., 1984
マウス	1日	運動失調	—	50	Kallman et al., 1984
マウス	14日間	神経行動	144	—	Kallman et al., 1984
マウス	90日間	神経行動	160	—	Kallman et al., 1984
マウス	14日間	免疫毒性	144	—	Kauffmann et al., 1982
マウス	90日間	体液性免疫	16	160	Kauffmann et al., 1982

[a] 166mg/kg体重/日で腫瘍
[b] 13.5、65、146.6mg/kg体重/日で過形成および腫瘍

の有害影響への感受性が若干高い。

早期および満期産児では、グルクロン酸抱合経路をはじめとする肝代謝が未発達であることと、乳児の糸球体濾過率が低いことにより、トリクロロエタノールの半減期が長くなる。したがって、乳児では抱水クロラールの有害影響に対する感受性が若干高いと考えられる。幼児と成人では、感受性に違いがないようである。

肝臓への影響に対する感受性は、実験用げっ歯類では雄のほうが雌より高いようであるが、ヒトでは推奨用量での抱水クロラールの鎮静作用や副作用について性別による影響を示す証拠はない。

ヒトでの発がん性データはない。ラットを用いた 2 件のバイオアッセイでは、いずれの部位でも腫瘍は増加していない。認められた毒性がラット肝で軽微にとどまっていたため、これらの試験は限定的である。1 件目の試験では最高暴露量でわずかな肥大が認められたが、2 件目では最高暴露量でも影響は認められなかった。雌マウスでのデータはないが、雄マウスでは 3 件の別々のバイオアッセイが肝腫瘍発生率の増加を示している。1 件目は、動物数は非常に限られているが、単回暴露で腫瘍の増加を示した。2 件目は、1 暴露量のみでの試験であったが、十分な数の動物を用いていた。3 件目は、3 暴露量それぞれで肝腫瘍の有病率および多重度の上昇を示している。腫瘍の前駆体である病変を特定するデータはない。用いたマウスは、肝腫瘍の自然発生率が非常に高い系である。抱水クロラールの 2 つの代謝物、トリクロロ酢酸とジクロロ酢酸は、げっ歯類で肝腫瘍を引き起こすことがわかって

いる。トリクロロ酢酸はマウスのみで腫瘍を発生させる。ジクロロ酢酸はラットとマウス両種で腫瘍を発生させる[4]。

抱水クロラールは遺伝毒性物質として広く研究されている。微生物による変異原性試験には陽性を示すものがあり、点突然変異誘発能が示唆された。マウスリンフォーマ試験でも *tk* 遺伝子座で突然変異が陽性であった。キイロショウジョウバエ *D. melanogaster* でも体細胞・生殖細胞突然変異を誘発した。哺乳類細胞では非常に弱い染色体異常誘発物質であることを示すデータもある。

抱水クロラールは、サッカロマイセス・セレヴィシエ *S. cerevisiae*、アスペルギルスニダランス *A. nidulans*、チャイニーズハムスター胎児線維芽細胞、チャイニーズハムスター初代培養細胞株 LUC2 および DON:Wg3h、ヒト末梢血リンパ球、マウス精母細胞、マウス精子細胞など、さまざまな細胞で異数性を誘発することがわかっている。*in vivo* データには陽性と陰性の結果が混在し、ある試験を他より重要であるとする理由がないことから、抱水クロラールが *in vivo* で遺伝子損傷誘発能をもつかどうかは明らかではない。標準プロトコルを用いて *in vivo* 試験をさらに行えば、遺伝子損傷のヒトの健康リスクアセスメントへの関連性を明確にするのに役立つ。

異数性への影響は、チュブリン結合性や微小管結合性のタンパク質阻害による、分裂期紡錘体の構造あるいは機能の崩壊から生じると考えられるが、両タンパク質は紡錘体装置の構成成分である。細胞内遊離カルシウム濃度の上昇を介して、抱水クロラールが紡錘体装置に作用することを示唆するデータもある。

他のいくつかの機序も、雄マウスの肝腫瘍誘発に関わっていると考えられる。抱水クロラールが DNA に直接損傷を与えるという説得力ある証拠はない。しかし、抱水クロラール、トリクロロエタノール、トリクロロ酢酸、およびマウスミクロソームを用いた *in vitro* 試験では、脂質過酸化ならびに共有結合した DNA 付加体の形成が認められる。これは、CYP2E1 によるフリーラジカル形成を介するようである。別の可能性としては、代償性過形成につながる細胞毒性も考えられる。抱水クロラールをマウスに単回投与すると、肝細胞で分裂指数の上昇を引き起こした。この細胞分裂の増加が、DNA 複製エラーの頻度を増す、あるいはイニシエーションした細胞をがん化させるとの説がある。発がんメカニズムの別の可

---

[4] 最終検討委員会後に公表された米国国家毒性計画の発がん性バイオアッセイでは、抱水クロラールの単回投与後に発がん作用は観察されなかった。生涯暴露後、雄では肝腫瘍の発生率が増加し、雌では下垂体腺腫の発生率がわずかに増加したが、統計的有意性はボーダーラインレベルであった。

能性として細胞間コミュニケーションの崩壊が考えられ、これが抱水クロラールによる影響であることが 1 件の実験で明らかになっている。

雄マウスにおける抱水クロラールの発がんメカニズムは明らかではない。プロトがん遺伝子 H- *ras* 活性とペルオキシソーム増殖の 2 つのメカニズムは、関わっていないと考えられる。

雄マウスで発がん性を示唆する証拠はあるが、証拠の重さは強くなく、腫瘍誘発を重要影響とは考えにくい。

11.1.2　耐容摂取量または指針値の設定基準

最低暴露量でヒトに現れる影響は軽度の鎮静である。これは、臨床の場以外の一般住民には意図されないあるいは好ましくない有害影響と考えられ、耐容摂取量の算出に用いられる。

マウスへの急性強制経口投与では神経学的影響(運動失調)が現れるが、これはヒトに同等の影響を与えるのとほぼ同じ暴露量による。感受性試験を用いたマウスの準長期試験では、神経行動学的変化は認められなかった。ラットとマウスの長期試験では、神経行動学的変化や神経組織の病理学的変化を示す所見はみられない。他の塩素化化合物と同様、長期暴露後に雄マウスの肝臓に発がん作用を示すある程度の証拠がある。

薬理学的活性用量から算出されるヒトの耐容摂取量は短時間暴露に対するものであるが、長期にわたる暴露でもこのレベル以下ならば発がん以外の影響はないと考えられる。したがって、短時間暴露の耐容摂取量を長期暴露に適用することは妥当である。

ヒトで NOAEL を算定するデータはない。鎮静に対する成人での推奨臨床用量は、250 mg を 1 日 3 回である(Goodman & Gilman, 1985)。この用量でも低頻度の副作用は発生する。LOAEL は 10.7 mg/kg 体重/日(体重を 70 kg と想定)である。薬物動態学的情報によると、抱水クロラールおよび薬理活性代謝物トリクロロエタノールは生物濃縮しない。

耐容摂取量(IPCS, 1994)の 0.1 mg/kg 体重/日は、LOAEL 10.7 mg/kg 体重/日に不確実係数 100 を適用して算出された。LOAEL から NOAEL への外挿ならびに種内変動に、それぞれ不確実係数 10 が適用された。長期暴露に対して不確実係数は適用されなかった。抱水クロラールと活性代謝物トリクロロエタノールは生物濃縮しない。半減期は、抱水クロラールが数分間、トリクロロエタノールが数時間である。したがって、連日暴露によって影

響が増強される可能性はない。最後に、抱水クロラールへの長期暴露は鎮静作用への耐性を招くという臨床使用からの情報がある。発生神経毒性をはじめとする発生毒性と免疫毒性は重要影響ではない。二世代繁殖試験は行われていないもののデータベースの限界について不確実係数が必要でないのは、生殖毒性が重要影響ではなさそうとする証拠を数件の試験が示しているからである。

指針値や耐容摂取量の設定に適している吸入試験は行われていない。

抱水クロラールが雄マウスで肝臓に腫瘍を発生させることを示すデータがある。この反応がヒトに当てはまるかどうかはわかっていない。

11.1.3　リスクの総合判定例

発がん以外の影響に対するヒトのリスクの量的推計は、鎮静のための推奨臨床用量ならびにこの用量での低い副作用発現頻度に基づいている。耐容摂取量は 0.1 mg/kg 体重/日である。ヒトを鎮静させるのに推奨される単回用量の 1%である。

雄マウスの肝臓で腫瘍形成を示唆する証拠と遺伝毒性を示す多少のデータはあるものの、腫瘍形成の作用機序はわかっていない。このような反応がヒトに当てはまるかどうかもわかっていない。

飲料水の塩素消毒で発生する抱水クロラールに、数億人もが日常的に暴露している。米国の上水道中での抱水クロラールの標準的濃度は 5 μg/L である。1 日摂水量を 2 L、体重を 70 kg と想定すると、暴露量は 0.14 μg/L/体重/日になる。これは耐容摂取量のおよそ 700 分の 1 である。

11.2　環境への影響評価

抱水クロラールからの環境へのリスクを評価するにはデータは不十分である。

12.　国際機関によるこれまでの評価

国際がん研究機関(IARC、1995)は、抱水クロラールの発がん性データを評価した。発がん性について、ヒトでの証拠は不十分、実験動物での証拠は限られていると結論づけた。それ故に、抱水クロラールはヒトに対する発がん性については分類できない物質(グループ

3)である。

国際化学物質安全性計画(IPCS、2000)は、水消毒剤や抱水クロラールなどその副生成物に関する毒性学的データを評価した。マウスの 90 日試験における用量 16 mg/kg 体重/日(Sanders et al., 1982; §8.4.1 参照)を LOAEL とし(本 CICAD のように NOAEL とはしない)、種内および種間外挿に 10 を、NOAEL ではなく LOAEL の使用に 10 を不確実係数として、タスクグループは抱水クロラールの耐容 1 日摂取量(TDI)を 16 μg/kg 体重/日と算出した。(本 CICAD では肝重量が増加した 16 mg/kg 体重/日を LOAEL ではなく NOAEL と考えたので、§11.1 で論じたように臨床研究から算出した耐容摂取量はより低値を示した。)

参考文献

Abbas R, Fisher JW (1997) A physiologically based pharmacokinetic model for trichloroethylene, and its metabolites, chloral hydrate, trichloroacetate, dichloroacetate, trichloroethanol, and trichloroethanol glucuronide in $B6C3F_1$ mice. *Toxicology and applied pharmacology*, 137:15-30.

Abbas R, Seckel CS, Kidney JK, Fisher JW (1996) Pharmacokinetic analysis of chloral hydrate and its metabolism in $B6C3F_1$ mice. *Drug metabolism and disposition*, 24:1340-1346. See also Erratum, *Drug metabolism and disposition*, 25:1449 (1997).

Allen BC, Fisher JW (1993) Pharmacokinetic modeling of trichloroethylene and trichloroacetic acid in humans. *Risk analysis*, 3:71-86.

Anyebuno MA, Rosenfeld CR (1991) Chloral hydrate toxicity in a term infant. *Developments in pharmacological therapy*, 17:116-120.

Badalaty MM, Houpt MI, Koenigsberg SR, Maxwell KC, Desjardins PJ (1990) A comparison of chloral hydrate and diazepam sedation in young children. *Pediatric dentistry*, 12:33-37.

Beland FA, Schmitt TC, Fullerton NF, Young JF (1998) Metabolism of chloral hydrate in mice and rats after single and multiple doses. *Journal of toxicology and environmental health*, 54:209-226.

Benane SG, Blackman CF, House DE (1996) Effect of perchloroethylene and its metabolites on intercellular communication in clone 9 rat liver cells. *Journal of toxicology and environmental health*, 48:427-437.

Bernstine JB, Meyer AE, Bernstine RL (1954) Maternal blood and breast milk estimation following the administration of chloral hydrate during the puerperium. *Journal of obstetrics and gynaecology of the British Commonwealth*, 63:228-231.

Breimer DD (1977) Clinical pharmacokinetics of hypnotics. *Clinical harmacokinetics*, 2:93-109.

Breimer DD, Ketelaars HCJ, Van Rossum JM (1974) Gas chromatographic determination of chloral hydrate, trichloroethanol, and trichloroacetic acid in blood and urine employing head-space analysis. *Journal of chromatography*, 88:55-63.

Bringmann G, Kuehn R (1976) Vergleichende Befunde der Schadwirkung wassergerfahrden der Stoffe gegen Bakterien (*Pseudomonas putida*) und Blaualgen (*Microcystis aeruginosa*). *Gas- und Wasserfach: Wasser/Abwasser*, 117:410-413.

Bringmann G, Kuehn R (1980a) Comparison of the toxicity thresholds of water pollutants to bacteria, algae and protozoa in cell multiplication inhibition tests. *Water research*, 14:231-241.

Bringmann G, Kuehn R (1980b) Bestimmung der biologischen Schadwirkung wassergefahrdender Stoffe gegen Protozoen II Bakterienfressende Ciliaten. *Zeitschrift für Wasser und Abwasser Forschung*, 1:26-31.

Bringmann G, God R, Fähr S, Feines D, Fornadi K, Fornadi F (1999) Identification of the dopaminergic neurotoxin 1-trichloromethyl-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carboline in human blood after intake of the hypnotic chloral hydrate. *Analytical biochemistry*, 270:167-175.

Bull RJ, Sanchez IM, Nelson MA, Larson JL, Lansing AJ (1990) Liver tumor induction in B6C3F$_1$ mice by dichloroacetate and trichloroacetate. *Toxicology*, 63:341-359.

Chakrabarti A, Schatten H, Mitchell KD, Crosser M, Taylor M (1998) Chloral hydrate alters the organization of the ciliary basal apparatus and cell organelles in sea urchin embryos. *Cell and tissue research*, 293:453-462.

Daniel FB, DeAngelo AB, Stober JA, Olson GR, Page NP (1992a) Hepatocarcinogenicity of chloral hydrate, 2-chloroacetaldehyde, and dichloroacetic acid in the male B6C3F$_1$ mouse. *Fundamental and applied toxicology*, 19:159-168.

Daniel FB, Robinson M, Stober JA, Page NP, Olson GR (1992b) Ninety-day toxicity study of chloral hydrate in the Sprague-Dawley rat. *Drug and chemical toxicology*, 15:217-232.

DeAngelo AB, Daniel FB, Stober JA, Olson GR (1991) The carcinogenicity of dichloroacetic acid in the male B6C3F$_1$ mouse. *Fundamental and applied toxicology*, 16:337-347.

DeAngelo AB, Daniel FB, Most BM, Olson GR (1996) The carcinogenicity of dichloroacetic acid in the male Fischer 344 rat. *Toxicology,* 114:207-221.

DeAngelo AB, Daniel FB, Most BM, Olson GR (1997) The failure of monochloroacetic acid and trichloroacetic acid administered in the drinking water to produce liver cancer in male F344/N rats. *Journal of toxicology and environmental health*, 52:425-445.

Eichenlaub-Ritter U, Betzendahl I (1995) Chloral hydrate induced spindle aberrations, metaphase I arrest and aneuploidy in mouse oocytes. *Mutagenesis*, 10:477-486.

Eichenlaub-Ritter U, Baart E, Yin H, Betzendahl I (1996) Mechanisms of spontaneous and chemically-induced aneuploidy in mammalian oogenesis: Basis of sex specific differences in response to aneugens and the necessity for further tests. *Mutation research*, 372:274-294.

Elfarra AA, Krause RJ, Last AR, Lash LH, Parker JC (1998) Species- and sex-related differences in metabolism of trichloroethylene to yield chloral and trichloroethanol in mouse, rat, and human liver microsomes. *Drug metabolism and disposition*, 26:779-785.

Ferreira-Gonzalez A, DeAngelo AB, Nasim S, Garrett CT (1995) Ras oncogene activation during hepatocarcinogenesis in B6C3F$_1$ male mice by dichloroacetic and trichloroacetic acid. *Carcinogenesis*, 16:495-500.

Fisher JW, Mahle D, Abbas R (1998) A human physiologically based pharmacokinetic model for trichloroethylene and its metabolites: trichloroacetic acid and free trichloroethanol. *Toxicology and applied pharmacology*, 152:339-359.

Fox BE, O'Brien CO, Kangas KJ, Murphree AL, Wright KW (1990) Use of high dose chloral hydrate for ophthalmic exams in children: A retrospective review of 302 cases. *Journal of pediatric ophthalmology and strabismus*, 27:242-244.

Fung K, Grosjean D (1981) Determination of nanogram amounts of carbonyls as 2,4-dinitrophenylhydrazones by high-performance liquid chromatography. *Analytical chemistry*, 53:168-171.

George MH, Kilburn S, Moore T, DeAngelo AB (2000) The carcinogenicity of chloral hydrate administered in the drinking water to the male B6C3F$_1$ mouse and F344/N rat. *Toxicologic pathology* (in press).

Gerlach M, Xiao A-Y, Heim C, Lan J, God R, Feines D, Bringmann G, Riederer P, Sontag K-H (1998) 1-Trichloromethyl-1,2,3,4-tetrahydro-ß-carboline increases extracellular serotonin and stimulates hydroxyl radical production in rats. *Neuroscience letters*, 257:17-20.

Goldenthal EI (1971) A compilation of LD$_{50}$ values in newborn and adult animals. *Toxicology and applied pharmacology*, 18:185-207.

Goodman LS, Gilman A (1985) *The pharmacological basis of therapeutics*, 7th ed. New York, NY, The Macmillan Co.

Gorecki DKJ, Hindmarsh KW, Hall CA, Mayers DJ, Sankaran K (1990) Determination of chloral hydrate metabolism in adult and neonate biological fluids after single-dose administration. *Journal of chromatography*, 528:333-341.

Gosselin RE, Smith RP, Hodge HC (1981) Clinical toxicology of commercial products. Baltimore, MD, Williams & Wilkins.

Green T, Mainwaring GW, Foster JR (1997) Trichloroethylene-induced mouse lung tumors: Studies of the mode of action and comparisons between species. *Fundamental and applied toxicology*, 37:125-130.

Greenberg MS, Burton GA Jr, Fisher FW (1999) Physiologically based pharmacokinetic modeling of inhaled trichloroethylene and its oxidative metabolites in B6C3F$_1$ mice. *Toxicology and applied pharmacology*, 154:264-278.

Greenberg SB, Faerber EN, Aspinall CL (1991) High dose chloral hydrate sedation for

children undergoing CT. *Journal of computer assisted tomography*, 15:467-469.

Gupta RN (1990) Determination of trichloroethanol, the active metabolite of chloral hydrate, in plasma by liquid chromatography. *Journal of chromatography*, 500:655-659.

HSDB (1999) *Hazardous substances data bank*. Micromedex Inc. (CD-ROM version).

Helrich K, ed. (1990) *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, 15th ed. Vol. 1. Arlington, VA, Association of Official Analytical Chemists, p. 562.

Henderson GN, Yan Z, James MO, Davydova N, Stacpoole PW (1997) Kinetics and metabolism of chloral hydrate in children: identification of dichloroacetate as a metabolite. *Biochemical and biophysical research communications*, 235:695-698.

Herren-Freund SL, Pereira MA, Khoury MD, Olson G (1987) The carcinogenicity of trichloroethylene and its metabolites, trichloroacetic acid and dichloroacetic acid, in mouse liver. *Toxicology and applied pharmacology*, 90:183-189.

Hindmarsh KW, Gorecki DKJ, Sankaran K, Mayers DJ (1991) Chloral hydrate administration to neonates: Potential toxicological implications. *Canadian Society of Forensic Science*, 24:239-245.

Hobara T, Kobayashi H, Kawamoto T, Sato T, Iwamoto S, Hirota S, Sakai T (1986) Biliary excretion of trichloroethylene and its metabolites in dogs. *Toxicology letters*, 32:119-122.

Hobara T, Kobayashi H, Kawamoto T, Iwamoto S, Sakai T (1987a) The cholecystohepatic circulation of trichloroethylene and its metabolites in dogs. *Toxicology*, 44:283-295.

Hobara T, Kobayashi H, Kawamoto T, Iwamoto S, Hirota S, Sakai T (1987b) Extrahepatic metabolism of chloral hydrate, trichloroethanol, and trichloroacetic acid in dogs. *Pharmacology and toxicology*, 61:58-62.

Hobara T, Kobayashi H, Kawamoto T, Iwamoto S, Sakai T (1988a) Intestinal absorption of chloral hydrate, free trichloroethanol, and trichloroacetic acid in dogs. *Pharmacology and toxicology*, 62:250-258.

Hobara T, Kobayashi H, Kawamoto T, Iwamoto S, Sakai T (1988b) The absorption of trichloroethylene and its metabolites from the urinary bladder of anesthetized dogs. *Toxicology*, 48:141-153.

IARC (1995) Chloral and chloral hydrate. *IARC (International Agency for Research on Cancer) monographs*, 63:245-269.

IPCS (1993) *International Chemical Safety Card* — Chloral hydrate. Geneva, World Health Organization, International Programme on Chemical Safety (ICSC 0234).

IPCS (1994) *Assessing human health risks of chemicals: derivation of guidance values for health-based exposure limits*. Geneva, World Health Organization, International Programme on Chemical Safety (Environmental Health Criteria 170).

IPCS (2000) *Disinfectants and disinfectant by-products*. Geneva, World Health Organization (Environmental Health Criteria 216).

Johnson PD, Dawson BV, Goldberg SJ (1998) Cardiac teratogenicity of trichloroethylene metabolites. *Journal of the American College of Cardiology*, 32:540-545.

Kallman MJ, Kaempf GL, Balster RL (1984) Behavioral toxicity of chloral in mice: An approach to evaluation. *Neurobehavioral toxicology and teratology*, 6:137-146.

Kaplan HL, Forney RB, Hughes FW, Jain NC, Crim D (1967) Chloral hydrate and alcohol metabolism in human subjects. *Journal of forensic sciences*, 12:295-304.

Kauffmann BM, White KL, Sanders VM, Douglas KA, Sain LE, Borzelleca JF, Munson AE (1982) Humoral and cell-mediated immune status in mice exposed to chloral hydrate. *Environmental health perspectives*, 44:147-151.

Ketcha MM, Stevens DK, Warren DA, Bishop CT, Brashear WT (1996) Conversion of

trichloroacetic acid to dichloroacetic acid in biological samples. *Journal of analytical toxicology*, 20:236-241.

Klinefelter GR, Suarez JD, Roberts NL (1995) Preliminary screening test for the potential of drinking water disinfectant by-products to alter male reproduction. *Reproductive toxicology*, 9:571-578.

Køppen B, Dalgaard L (1988) Determination of trichloroethylene metabolites in rat liver homogenates using headspace gas chromatography. *Journal of chromatography*, 442:325-332.

Lambert GH, Muraskas J, Anderson CL, Myers TF (1990) Direct hyperbilirubinemia associated with chloral hydrate administration in the newborn. *Pediatrics*, 86:277-281.

Leuschner J, Beuscher N (1998) Studies on the mutagenic and carcinogenic potential of chloral hydrate. *Arzneimittel-Forschung drug research*, 48:961-968.

Lipscomb JC, Mahle DA, Brashear WT, Garrett CM (1996) A species comparison of chloral hydrate metabolism in blood and liver. *Biochemical and biophysical research communications*, 227:340-350.

Lipscomb JC, Confer PD, Miller MR, Stamm SC, Snawder JE, Candiera SM (1998) Metabolism of trichloroethylene and chloral hydrate by the Japanese medaka (*Oryzias latipes*) *in vitro*. *Environmental toxicology and chemistry*, 17:325-332.

Ludwigs U, Divino-Fiiho JC, Magnusson N (1996) Suicidal chloral hydrate poisoning. *Journal of clinical toxicology*, 344:97-99.

Mailhes JB, Marchetti F (1994) Chemically induced aneuploidy in mammalian oocytes. *Mutation research*, 320:87-111.

Marshall AJ (1977) Cardiac arrhythmias caused by chloral hydrate. *British medical journal*, 2:994.

Marshall EK, Owens AH (1954) Absorption, excretion and metabolic fate of chloral hydrate and trichloroethanol. *Bulletin of the Johns Hopkins Hospital*, 95:1-18.

Mayers DJ, Hindmarsh KW, Sankaran K, Gorecki DKJ, Kasian GF (1991) Chloral hydrate disposition following single-dose administration to critically ill neonates and children. *Developments in pharmacological therapy*, 16:71-77.

Merdink JL, Conzalez-Leon A, Bull RJ, Schultz IR (1998) The extent of dichloroacetate formation from trichloroethylene, chloral hydrate, trichloroacetate, and trichloroethanol in B6C3F$_1$ mice. *Toxicological sciences*, 45:33-41.

Merdink JL, Stenner RD, Stevens DK, Parker JC, Bull RJ (1999) Effect of enterohepatic circulation on the pharmacokinetics of chloral hydrate and its metabolites in F344 rats. *Journal of toxicology and environmental health*, 56:357-368.

Miller RR, Greenblatt DJ (1979) Clinical effects of chloral hydrate in hospitalized medical patients. *Journal of clinical pharmacology*, 19:669-674.

Newman LM, Wackett LP (1991) Fate of 2,2,2-trichloroacetaldehyde (chloral hydrate) produced during trichloroethylene oxidation by methanotrophs. *Applied and environmental microbiology*, 57:2399-2402.

Ni Y-C, Wong T-Y, Kadlubar FF, Fu PP (1994) Hepatic metabolism of chloral hydrate to free-radical(s) and induction of lipid peroxidation. *Biochemical and biophysical research communications*, 204:937-943.

Ni Y-C, Kadlubar FF, Fu FF (1995) Formation of malondialdehyde-modified 2'-deoxyguanosinyl adduct from metabolism of chloral hydrate by mouse liver microsomes. *Biochemical and biophysical research communications*, 205:1110-1117.

Ni Y-C, Wong T-Y, Lloyd RV, Heinze TM, Shelton S, Casciano D, Kadlubar FF, Fu PP (1996) Mouse liver microsomal metabolism of chloral hydrate, trichloroacetic acid, and trichloroethanol leading to induction of lipid peroxidation via a free radical mechanism. *Drug metabolism and disposition*, 24:81-90.

NTP (2000a) *Toxicology and carcinogenesis studies of chloral hydrate in B6C3F$_1$ mice (gavage studies)*. Research Triangle Park, NC, National Institutes of Health, National Toxicology Program (NTP TR 502).

NTP (2000b) *Toxicology and carcinogenesis studies of chloral hydrate (ad libitum and dietary controlled) in male B6C3F1 mice (gavage study)*. Research Triangle Park, NC, National Institutes of Health, National Toxicology Program (NTP TR 503).

Odum J, Foster JR, Green T (1992) A mechanism for the development of clara cell lesions in the mouse lung after exposure to trichloroethylene. *Chemico-biological interactions*, 83:135-153.

Owens AH, Marshall EK (1955) Further studies on the metabolic fate of chloral hydrate and trichloroethanol. *Bulletin of the Johns Hopkins Hospital*, 97:320-326.

Pereira MA (1996) Carcinogenic activity of dichloroacetic acid and trichloroacetic acid in the liver of female B6C3F1 mice. *Fundamental and applied toxicology*, 31:192-199.

Reimche LD, Sankaran K, Hindmarsh KW, Kasian GF, Gorecki DKJ, Tan L (1989) Chloral hydrate sedation in neonates and infants — clinical and pharmacologic considerations. *Developments in pharmacological therapy*, 12:57-64.

Richmond RE, Carter JH, Carter HW, Daniel FB, DeAngelo AB (1995) Immunohistochemical analysis of dichloroacetic acid (DCA)-induced hepatocarcinogenesis in male Fischer (F344) rats. Cancer letters, 92:67-76.

Rijhsinghani KS, Abrahams C, Swerdlow MA, Rao KVN, Ghose T (1986) Induction of neoplastic lesions in the livers of C57BL × C3HF1 mice by chloral hydrate. *Cancer detection and prevention*, 9:279-288.

Saillenfait AM, Langonne I, Sabate JP (1995) Developmental toxicity of trichloroethylene, tetrachloroethylene and four of their metabolites in rat whole embryo culture. *Archives of toxicology*, 70:71-82.

Sanders VM, Kauffman BM, White KL, Douglas KA, Barnes DW, Sain LE, Bradshaw TJ, Borzelleca JF, Munson AE (1982) Toxicology of chloral hydrate in the mouse. *Environmental health perspectives*, 44:137-146.

Schatten H, Chakrabarti A (1998) Centrosome structure and function is altered by

chloral hydrate and diazepam during the first reproductive cell cycles in sea urchin eggs. *European journal of cell biology*, 75:9-20.

Shapiro S, Stone D, Lewis GP, Jick H (1969) Clinical effects of hypnotics. II. An epidemiological study. *Journal of the American Medical Association*, 209:2016-2020.

Simpson KL, Hayes KP (1998) Drinking water disinfection by-products: an Australian perspective. *Water research*, 32:1522-1528.

Sing K, Erickson T, Amitai Y, Hryhorczuk D (1996) Chloral hydrate toxicity from oral and intravenous administration. *Journal of toxicology and clinical toxicology*, 34:101-106.

Smith MK, Randall JL, Read EJ, Stober JA (1989) Teratogenic activity of trichloroacetic acid in the rat. *Teratology*, 40:445-451.

Stenner RD, Merdink JL, Stevens DK, Springer DL, Bull RJ (1997) Enterohepatic recirculation of trichloroethanol glucuronide as a significant source of trichloroacetic acid. *Drug metabolism and disposition*, 25:529-535.

Stenner RD, Merdink JL, Fisher JW, Bull RJ (1998) Physiologically-based pharmacokinetic model for trichloroethylene considering enterohepatic recirculation of major metabolites. *Risk analysis*, 18:261-269.

US EPA (1994) National primary drinking water regulations; disinfectants and disinfection byproducts; proposed rule. US Environmental Protection Agency. *Federal register*, 59:38668-38829.

US EPA (2000) Toxicological review on chloral hydrate. Available from US Environmental Protection Agency's Risk Assessment Hotline [513-569-7254 (phone), 513-569-7159 (fax), rih.iris@epa.gov (e-mail address), or www.epa.gov/iris (Website)].

Velazquez SF (1994) *Activation of the H-ras oncogene by drinking water disinfection by-products.* Report submitted under the US Environmental Protection Agency's Small Grant Program. April 1994. 43 pp. (NTIS/PB95-200515).

Vian L, Van Hummelen P, Bichet N, Gouy D, Kirsch-Volders M (1995) Evaluation of hydroquinone and chloral hydrate on the *in vitro* micronucleus test on isolated lymphocytes. *Mutation research*, 334:1-7.

Watanabe M, Takano T, Nakamura K (1998) Effect of ethanol on the metabolism of trichloroethylene in the perfused rat liver. *Journal of toxicology and environmental health*, 55:297-305.

Wu WW, Chadik PA, Davis WM, Powell DH, Delfino JJ (1998) Disinfection byproduct formation from the preparation of instant tea. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46:3272-3279.

Yan Z, Henderson GN, James MO, Stacpoole P (1999) Determination of chloral hydrate in human plasma by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 19:309-318.

Zimmermann T, Wehling M, Schulz HU (1998) Untersuchungen zur relativen Bioverfugbarkeit und Pharmakokinetik von Chloralhydrat und seinen Metaboliten. [The relative bioavailability and pharmacokinetics of chloral hydrate and its metabolites.] *Arzneimittelforschung*, 48:5-12.

添付資料１　毒物動態分析

本毒物動態分析を用いて、抱水クロラール(CH)の胃腸管からの吸収と血中での代謝が、トリクロロ酢酸(TCA)およびトリクロロエタノール(TCEOH)の消失速度に比べて非常に迅速であると想定し、トリクロロ酢酸およびトリクロロエタノールのマウスとヒトにおける定常状態濃度を 1 コンパートメントモデルで推定した。この想定を裏づけるのは、Beland ら(1998)によるマウスのデータと、Breimer (1977)および Zimmermann ら(1998)によるヒトのデータである。

Beland ら(1998)によると、マウスでは抱水クロラールの投与量のうち 15%が直接トリクロロ酢酸に、77%がトリクロロエタノールに変換される。ヒトでは、Allen と Fisher(1993)の推定では、8%が直接トリクロロ酢酸に、92%がトリクロロエタノールに変換される。トリクロロエタノールからトリクロロ酢酸がさらに生成される。ヒトで生じるトリクロロ酢酸は、合計で抱水クロラール投与量のおよそ 35%となる。

ヒト推奨臨床用量でのマウスにおけるトリクロロ酢酸(TCA)の定常状態濃度の推定：

$[\mathrm{TCA}]_{\text{定常状態－血液}} = PK_o / VK_{el} = 2.5\ \mathrm{mg/L}$
$[\mathrm{TCA}]_{\text{定常状態－肝臓}} = [\mathrm{TCA}]_{\text{定常状態－血液}} \times PC = 3.0\ \mathrm{mg/L}$

- P は抱水クロラールのトリクロロ酢酸への変換率＝0.15(Beland et al., 1998)
- K_o は抱水クロラールの投与速度＝10.7 mg/kg 体重/日、0.446 mg/kg 体重/時に相当
- V は分布容積＝0.32 1L/kg(Beland et al., 1998)
- K_{el} はトリクロロ酢酸の一次消失速度定数＝0.0819/時(Beland et al., 1998)
- PC は肝臓／血液分配係数＝1.18(Abbas & Fisher, 1997)

推奨臨床用量でのヒトにおけるトリクロロ酢酸(TCA)の定常状態濃度の推定：

$[\mathrm{TCA}]_{\text{定常状態－血液}} = PK_o / VK_{el} = 55\ \mathrm{mg/L}$
$[\mathrm{TCA}]_{\text{定常状態－肝臓}} = [\mathrm{TCA}]_{\text{定常状態－血液}} \times PC = 36\ \mathrm{mg/L}$

- P は抱水クロラールのトリクロロ酢酸への変換率＝0.35(Allen & Fisher, 1993)
- K_o は抱水クロラールの投与速度＝10.7 mg/kg 体重/日、0.446 mg/kg 体重/時に相当
- V は分布容積＝0.102 L/kg (Allen & Fisher, 1993)
- K_{el} はトリクロロ酢酸の一次消失速度定数＝0.028/時(Allen & Fisher, 1993)
- PC は肝臓／血液分配係数＝0.66(Fisher et al., 1998)

耐容摂取量でのヒトにおけるトリクロロ酢酸(TCA)の定常状態濃度の推定：

$[\mathrm{TCA}]_{\text{定常状態－血液}} = PK_o / VK_{el} = 1.8$ mg/L
$[\mathrm{TCA}]_{\text{定常状態－肝臓}} = [\mathrm{TCA}]_{\text{定常状態－血液}} \times PC = 1.2$ mg/L

- P は抱水クロラールのトリクロロ酢酸への変換率＝0.35(Allen & Fisher, 1993)
- K_o は抱水クロラールの投与速度＝0.1 mg/kg 体重/日、0.004 mg/kg 体重/時に相当
- V は分布容積＝0.102 L/kg (Allen & Fisher, 1993)
- K_{el} はトリクロロ酢酸の一次消失速度定数＝0.0078/時(Allen & Fisher, 1993)
- PC は肝臓／血液分配係数＝0.66(Fisher et al., 1998)

166 mg/kg 体重/日でのマウスにおけるトリクロロエタノール(TCEOH)の定常状態濃度の推定：

$[\mathrm{TCEOH}]_{\text{定常状態－血液}} = PK_o / VK_{el} = 0.6$ mg/L

- P は抱水クロラールのトリクロロエタノールへの変換率＝0.77(Beland et al., 1998)
- K_o は抱水クロラールの投与速度＝166 mg/kg 体重/日、6.917 mg/kg 体重/時に相当
- V は分布容積＝1 L/kg(Beland ら[1998]による引用)
- K_{el} はトリクロロエタノールの一次消失速度定数＝9.24/時(Beland et al., 1998)

抱水クロラール 160 mg/kg 体重/日は、Kallman ら(1984)の 90 日間の神経行動試験で用いられた最高暴露量である。抱水クロラール 166 mg/kg 体重/日は、Daniel ら(1992a)による 104 週間のバイオアッセイにおける最高暴露量である。これらの暴露量はマウスにおける鎮静に対する NOAEL である。

臨床推奨用量でのヒトにおけるトリクロロエタノール(TCEOH)の定常状態濃度の推定：

$[\mathrm{TCEOH}]_{\text{定常状態－血液}} = PK_o / VK_{el} = 4.7$ mg/L

- P は抱水クロラールのトリクロロエタノールへの変換率＝0.92(Allen & Fisher, 1993)
- K_o は抱水クロラールの投与速度＝10.7 mg/kg 体重/日、0.446 mg/kg 体重/時に相当
- V は分布容積 ― 不明、1 L/kg と想定
- K_{el} はトリクロロエタノールの一次消失速度定数＝0.087/時(Breimer, 1977)

耐容摂取量でのヒトにおけるトリクロロエタノール(TCEOH)の定常状態濃度の推定：

$[\mathrm{TCEOH}]_{\text{定常状態－血液}} = PK_o / VK_{el} = 0.04\ \mathrm{mg/L}$

- P は抱水クロラールのトリクロロエタノールへの変換率＝0.92(Allen & Fisher, 1993)
- K_o は抱水クロラールの投与速度＝0.1 mg/kg 体重/日、0.004 mg/kg 体重/時に相当
- V は分布容積 ― 不明、1 L/kg と想定
- K_{el} はトリクロロエタノールの一次消失速度定数＝0.087/時(Breimer, 1977)

添付資料 2　　腫瘍発生に対するベンチマークドースの計算

腫瘍発生に対するベンチマークドース(ED)は、George ら(2000)が報告した腺腫とがん腫の合計発生率から算出した。ヒト相当用量の計算には(体重)$^{3/4}$を用いたが、ヒトで 70 kg、マウスで 0.035 kg と想定した。ED と腫瘍超過リスクの 10%増加に対応する 95%信頼限界の下限値(LED)を多段階モデルによって計算するため、EPA Benchmark Dose Software を使用した。

多段階モデル、*Version Number 1.1.0b*

確率関数：

$$P[\text{反応}] = (1 - \textit{バックグラウンド}) \times \left[1 - \left(e^{-\textit{beta}_1 \times \textit{dose}^1 - \textit{beta}_2 \times \textit{dose}^2}\right)\right]$$

ベータは正のパラメータとする。

従属変数＝発生率
独立変数＝用量

観察事項総数＝4
欠測値を含む報告総数＝0
モデルにおけるパラメータ総数＝3
指定パラメータの総数＝0
多項式次数＝2

最大反復数＝250
相対的な関数収束は 2.220 45e^{-16} に設定
パラメータ収束は 1.490 12e^{-8} に設定

初期パラメータのデフォルト値
バックグラウンド値＝0.698 863
ベータ値(1)＝0.043 897
ベータ値(2)＝0.000 400 241

パラメータ推定値

変数	推定値	標準誤差
バックグラウンド	0.691 141	0.073 072 3
ベータ(1)	0.053 218 1	0.084 548 3
ベータ(2)	0	0.004 035 19

パラメータ推定値の漸近的相関行列

	バックグラウンド	ベータ(1)	ベータ(2)
バックグラウンド	1	-0.6319	0.5007
ベータ(1)	-0.6319	1	-0.9507
ベータ(2)	0.5007	-0.9507	1

逸脱度分析表

モデル	対数(尤度)	逸脱度	自由度	*P*値
フルモデル	-81.2046			
適合モデル	-81.922	1.434 7	2	0.230 999
縮小モデル	-85.0504	6.256 83	2	0.043 787

適合度分析

投与量 (mg/kg 体重/日)	ヒト相当用量 (mg/kg 体重/日)	推定確率	期待値	観測値	サイズ
0	0	0.6911	29.028	27	42
13.5	2.0000	0.7223	33.227	36	46
65	9.7	0.8157	31.812	31	39
146.6	21.9	0.9037	28.919	29	32

カイ 2 乗 = 1.41、自由度 = 2、P値 = 0.4949.

ベンチマークドースの計算

効果のサイズ	0.100 000
リスクタイプ	超過リスク
信頼水準	0.950 000
ED	1.979 786
LED	1.090 1

添付資料 3　　原資料

米国環境保護庁(2000): *Toxicological review on chloral hydrate*

コピー請求先：

EPA Risk Assessment Hotline
513-569-7254 (電話)
513-569-7159 (ファックス)
rih.iris@epa.gov (電子メールアドレス)
www.epa.gov/iris (ホームページ)

本文書はコロラド州デンバー、Region VIII の R. Benson によって作成された。

統合的リスク情報システム(Integrated Risk Information System)(IRIS)に関する資料および要約情報は、EPA および外部の科学者双方によるピアレビューを受けた。外部レビューおよびコメントを受け入れた後、全庁的な評価プロセスを経た上で、IRIS のプログラム責任者が Office of Research and Development; Office of Air and Radiation; Office of Prevention, Pesticides, and Toxic Substances; Office of Solid Waste and Emergency Response; Office of Water; Office of Policy, Planning, and Evaluation、および地域事務所の各機関から合意の承認を得た。

EPA 内部レビュアー:

National Center for Environmental Assessment), Washington, DC

J. Cogliano
C. Siegel Scott
V. Vu

National Health and Environmental Effects Research Laboratory), Research Triangle Park, NC

A. DeAngelo
R. Luebke

Office of Water, Washington, DC

A. Bathija

外部ピアレビュアー:

P.E. Brubaker、私的顧問

J.W. Fisher, Operational Toxicology Branch, Wright-Patterson Air Force Base

C.C. Willhite, Department of Toxic Substances Control, State of California

添付資料 4　　CICAD ピアレビュー

抱水クロラールの CICAD 原案は検討のため、各国の IPCS 窓口機関や参加機関と連絡を取った上で IPCS が認定した機関、組織、ならびに専門家に送られた。以下の関係各機関からコメントが寄せられた。

Centre of Industrial Hygiene and Occupational Diseases, Czech Republic

Department of Health, London, United Kingdom

Federal Institute for Health Protection of Consumers and Veterinary Medicine, Berlin, Germany

Fraunhofer Institute for Toxicology and Aerosol Research, Hannover, Germany

GSF Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit, GmbH, Oberschleissheim, Germany

Health and Safety Executive, Bootle, United Kingdom

Institut de Recherche en Santé et en Sécurité du Travail du Québec, Montreal, Canada

Institute of Occupational Medicine, Chinese Academy of Preventive Medicine, Beijing, People's Republic of China

National Center for Environmental Assessment, US Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA

National Center for Toxicological Research, US Food and Drug Administration, Jefferson, AK, USA

National Chemicals Inspectorate, Solna, Sweden

National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme (NICNAS), Sydney, Australia

National Institute for Occupational Safety and Health, Cincinnati, OH, USA

National Institute of Environmental Health Sciences, National Institutes of Health, Research Triangle Park, NC, USA

University of Bielefeld, Bielefeld, Germany

添付資料 5　　CICAD 最終検討委員会

オーストラリア・シドニー　1999 年 11 月 21 日～11 月 24 日

メンバー

Dr R. Benson, Drinking Water Program, US Environmental Protection Agency, Region VIII, Denver, CO, USA

Dr T. Berzins, National Chemicals Inspectorate (KEMI), Solna, Sweden

Dr R.M. Bruce, National Center for Environmental Assessment, US Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH, USA

Mr R. Cary, Health and Safety Executive, Merseyside, United Kingdom

Dr R.S. Chhabra, National Institute of Environmental Health Sciences, National Institutes of Health, Research Triangle Park, NC, USA

Dr S. Chou, Agency for Toxic Substances and Disease Registry,　Atlanta, GA, USA

Dr S. Dobson, Institute of Terrestrial Ecology, Monks Wood, Cambridgeshire, United Kingdom

Dr H. Gibb, National Center for Environmental Assessment, US Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA

Dr R.F. Hertel, Federal Institute for Health Protection of Consumers and Veterinary Medicine, Berlin, Germany

Dr J. Kielhorn, Fraunhofer Institute for Toxicology and Aerosol Research, Hannover, Germany

Dr S. Kristensen, National Occupational Health and Safety Commission (Worksafe), Sydney, NSW, Australia

Mr C. Lee-Steere, Environment Australia, Canberra, ACT, Australia

Ms M. Meek, Environmental Health Directorate, Health Canada, Ottawa, Ontario, Canada

Ms F. Rice, National Institute for Occupational Safety and Health, Cincinnati, OH, USA

Dr J. Sekizawa, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan

Dr D. Willcocks, National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme (NICNAS), Sydney, NSW, Australia （*議長*）

Professor P. Yao, Institute of Occupational Medicine, Chinese Academy of Preventive Medicine, Beijing, People's Republic of China

オブザーバー

Mr P. Howe, Institute of Terrestrial Ecology, Huntingdon, Cambridgeshire, United Kingdom

Dr K. Ziegler-Skylakakis, GSF-Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit, GmbH, Oberschleissheim, Germany

事務局

Dr A. Aitio, International Programme on Chemical Safety, World Health Organization, Geneva, Switzerland

Ms M. Godden, Health and Safety Executive, Bootle, Merseyside, United Kingdom

Dr M. Younes, International Programme on Chemical Safety, World Health Organization, Geneva, Switzerland

添付資料５　国際化学物質安全性カード

国際化学物質安全性カード

抱水クロラール　　ICSC番号:0234

抱水クロラール
CHLORAL HYDRATE
Trichloroacetaldehyde monohydrate
2,2,2-Trichloro-1,1-ethanediol
$C_2H_3Cl_3O_2$ / $Cl_3CCH(OH)_2$
分子量:165.4

CAS登録番号:302-17-0
RTECS番号:FM8750000
ICSC番号:0234
国連番号:2811
EC番号:605-014-00-6

災害／暴露のタイプ	一次災害／急性症状	予防	応急処置／消火薬剤
火災	不燃性。 火災時に刺激性もしくは有毒なフュームやガスを放出する。		周辺の火災時：適切な消火薬剤を使用する。
爆発			火災時：水を噴霧して容器類を冷却する。
身体への暴露		粉塵の拡散を防ぐ！	
吸入	錯乱、嗜眠、吐き気、意識喪失。	局所排気または呼吸用保護具。	新鮮な空気、安静。人工呼吸が必要なことがある。医療機関に連絡する。
皮膚	発赤。	保護手袋。	多量の水かシャワーで皮膚を洗い流す。
眼	発赤。	安全眼鏡、または粉末の場合には呼吸用保護具と眼用保護具の併用。	数分間多量の水で洗い流し(できればコンタクトレンズをはずして)、医師に連れて行く。
経口摂取	腹痛、嘔吐。 他の症状については「吸入」参照。	作業中は飲食、喫煙をしない。食事前に手を洗う。	口をすすぐ。水に活性炭を懸濁した液を飲ませる。医療機関に連絡する。

漏洩物処理	貯蔵	包装・表示
・こぼれた物質を容器内に掃き入れる；湿らせてもよい場合は、粉塵を避けるために湿らせてから掃き入れる。 ・残留分を注意深く集め、安全な場所に移す。 ・(個人用保護具：有毒粒子用P3フィルター付マスク)。	・強塩基、食品や飼料から離しておく。	・食品や飼料と一緒に輸送してはならない。 ・EU分類 記号：T R：25-36/38 S：(1/2-)25-45 ・国連危険物分類(UN Haz Class)：6.1

重要データは次ページ参照

ICSC番号:0234　　Prepared in the context of cooperation between the International Programme on Chemical Safety & the Commission of the European Communities © IPCS CEC 1993

国際化学物質安全性カード

抱水クロラール　　ICSC番号:0234

重要データ

物理的状態; 外観:
特徴的な臭気のある、無色透明の結晶

物理的危険性:

化学的危険性:
加熱すると分解し、塩化水素を含む有毒で腐食性のフュームを生じる。強塩基と反応し、クロロホルムを生じる。

許容濃度:
TLV は設定されていない。

暴露の経路:
体内への吸収経路：エーロゾルの吸入、経口摂取

吸入の危険性:
20℃で気化すると、空気が汚染されてやや遅く有害濃度に達する。

短期暴露の影響:
眼、皮膚、気道を刺激する。中枢神経系、心血管系、肝臓、腎臓に影響を与え、意識低下、心臓障害、機能障害を生じることがある。高濃度の場合、意識を喪失することがある。

長期または反復暴露の影響:

物理的性質
・沸点(分解)：97℃
・融点：57～60℃
・密度：1.9 g/cm^3
・水への溶解性：非常によく溶ける
・log Pow (オクタノール/水分配係数)：0.99

環境に関するデータ
・環境に有害な場合がある；水生生物への影響にとくに注意すること。

注
・アルコール飲料の使用により有害作用が増大する。
Transport Emergency Card(輸送時応急処理カード)：TEC(R)－61GT2-II

付加情報

ICSC番号:0234
更新日：1999.10
抱水クロラール

© IPCS, CEC, 1993

訳注：掲載の ICSC 日本語版は本 CICAD 日本語版作成時のものです。ICSC は更新されることがあります。http://www.nihs.go.jp/ICSC/　を参照してください。