IPCS

UNEP//ILO//WHO

国際化学物質簡潔評価文書

Concise International Chemical Assessment Document

No.58　Chloroform(2004)

クロロホルム

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

2009

目 次

序 言
1. 要 約 …… 5
2. 物質の特定および物理的･化学的性質 …… 8
3. 分析方法 …… 8
4. ヒトおよび環境の暴露源 …… 10
4.1 自然界での発生源
4.2 人為的発生源
4.3 生産量と用途
5. 環境中の移動･分布･変換 …… 12
5.1 大 気
5.2 水 圏
5.3 底 質
5.4 土 壌
5.5 生物相
5.6 環境中の分布
6. 環境中の濃度とヒトの暴露量 …… 14
6.1 環境中の濃度
6.1.1 大 気
6.1.2 屋内空気
6.1.3 地表水
6.1.4 飲料水
6.1.5 底質および土壌
6.1.6 食 品
6.2 ヒトの暴露量:環境性
6.3 ヒトの暴露量:職業性
7. 実験動物およびヒトでの体内動態･代謝の比較 …… 21
7.1 一般的代謝
7.2 PBPK モデリング
8. 実験哺乳類および *in vitro* 試験系への影響 …… 27
8.1 単回暴露
8.2 短期暴露
8.2.1 経 口
8.2.2 吸 入
8.3 中期暴露

8.3.1　経 口
8.3.2　吸 入
8.4　長期暴露と発がん性
8.4.1　発がん性の概観
8.4.2　肝 臓
8.4.3　腎 臓
8.4.4　鼻
8.4.5　甲状腺
8.4.6　イニシエーション／プロモーション試験
8.5　遺伝毒性および関連エンドポイント
8.6　生殖毒性
8.6.1　生殖能への影響
8.6.2　発生毒性
8.7　他の毒性
8.8　作用機序
9.　ヒトへの影響 …… 44
10.　実験室および自然界の生物への影響 …… 45
10.1　水生環境
10.2　陸生環境
11.　影響評価 …… 48
11.1　健康への影響評価
11.1.1　危険有害性の特定
11.1.2　耐容摂取量／濃度の設定基準
11.1.3　リスクの総合判定例
11.1.4　ヒトの健康リスク評価における不確実性
11.2　環境への影響評価
11.2.1　評価項目
11.2.2　環境中リスクの総合判定例
11.2.2.1　陸生生物
11.2.2.2　水生生物
11.2.3　環境リスク評価における不確実性
12.　国際機関によるこれまでの評価 …… 59

REFERENCES …… 61

Appendix 1　SOURCE DOCUMENT …… 91

Appendix 2 CICAD PEER REVIEW 96
Appendix 3 CICAD FINAL REVIEW BOARD 97
Appendix 4 ABBREVIATIONS AND ACRONYMS 100
Appendix 5 DERIVATION OF TOLERABLE INTAKES/CONCENTRATIONS FOR CHLOROFORM 101

国際化学物質安全性カード ICSC0027 クロロホルム 109

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

No.58 Chloroform(クロロホルム)

序 言

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

1. 要 約

クロロホルムに関する本CICADは、カナダ環境保護法(*Canadian Environmental Protection Act*:CEPA)の下で優先化学物質評価計画(Priority Substances Program)の一環としてカナダ環境省(Environment Canada)およびカナダ保健省(Health Canada)が作成した資料に基づいて、Toxicology Advice & Consulting Ltdによって作成された。CEPAにおける優先化学物質評価の目的は、環境への影響のみならず、一般環境での間接的な暴露がヒトの健康に及ぼす影響を評価することにある。1999年10月の時点で確認されたデータが原資料(Environment Canada & Health Canada, 2001)で検討されている。原資料作成以降に公表された関連文献を確認するために、数種のオンラインデータベース他資料の網羅的な文献検索が2003年2月に行われた。原資料のピアレビューの経過および入手方法に関する情報をAppendix 1に、本CICADのピアレビュー関する情報をAppendix 2に示す。本CICADは2003年9月8～11日にブルガリア共和国Varnaで開催された最終検討委員会(Final Review Board)で国際評価として承認された。最終検討委員会の会議参加者をAppendix 3に示す。国際化学物質安全性計画(IPCS)が作成したクロロホルムに関する国際化学物質安全性カード(ICSC 0027) (IPCS, 2000a)も本CICADに転載する。

クロロホルム(CAS番号：67-66-3)は、心地よいエーテル臭を有する無色透明の揮発性液体である。

地球規模でのクロロホルムの環境中の総フラックスは年間およそ 66 万トンであり、排出量の約 90%は自然発生源によるものである。1990 年代の後半には、主として米国、欧州連合、および日本で毎年 52 万トン程度が製造された。クロロホルムは、冷媒(使用量は減少傾向)としてあるいはフッ素重合体の原材料(使用量は増加傾向)として使用されるクロロジフルオロメタン(HCFC-22)の製造時に主として使用され、HCFC-22 工場から環境中へ放出される可能性がある。その他のおもなクロロホルムの環境への放出は、パルプ・製紙工場や水処理施設における漂白および消毒目的の塩素系化学物質使用によって起こる。

クロロホルムは土壌や地表水から揮発しやすく、大気中で分解し、ホスゲン、ジクロロメタン、塩化ホルミル、一酸化炭素、二酸化炭素、および塩化水素を生成する。大気中での半減期は 55～620 日に及ぶ。水圏や土壌での生分解は遅い。水生生物では生物蓄積はそれほど起こらない。クロロホルムの大気中検出濃度は通常 1 μg/m^3 未満である。屋内空気中濃度は 10 倍前後に上昇することがあるが、換気不良のシャワー室で温水使用中に一時的に約 1000 μg/m^3 まで上昇することもある。カナダでは飲料水の平均クロロホルム濃度は約 10～90 μg/L と報告されている。食品、飲料水、および大気からの平均総摂取量は、およそ 0.6～10 μg/kg 体重/日であった。

クロロホルムは哺乳動物では経口、吸入、および経皮暴露後、速やかに吸収、代謝、排泄される。酸化的代謝(主として CYP2E1 依存性)によって、二酸化炭素のみならず有毒代謝物質のホスゲンおよび塩酸も生成される。クロロホルムの代謝はヒトよりマウスではるかに速い。

クロロホルム原液はヒトおよびウサギの眼、およびウサギの皮膚に刺激性を示す。ヒトが吸入すると麻酔作用を引き起こす。吸入あるいは経口暴露したラットやマウスで鼻部病変も認められている。動物試験によって、肝臓および腎臓がクロロホルムの毒性の重要な標的器官であることが確認されている。ヒトでも肝臓および腎臓がおそらく標的器官であることを示唆するデータがわずかではあるが存在する。クロロホルムに関する詳細な疫学的調査は公表されていない。実験動物試験において、クロロホルムは肝臓および腎臓で腫瘍を誘発している。ラットにおける発がん性の唯一の証拠は、クロロホルムをコーン油担体中または飲水中投与された雄での腎腫瘍の増加であった。腎腫瘍は、吸入あるいは練り歯磨きを担体とした経口摂取によって暴露した雄マウスでもみられた。さらに、クロロホルムをコーン油担体中強制経口投与した雌雄のマウスで肝腫瘍が発現した。クロロホルムの遺伝毒性に関する広範な研究ではほとんどの場合活性を確認できないが、ラットでの弱い遺伝毒性を示唆している試験もある。証拠の重みを勘案するとクロロホルムには有意な遺伝毒性は無いことが示唆された。マウスでみられた肝臓および腎臓の腫瘍は、持続性の細胞毒性(おそらくホスゲンや塩化水素のような代謝物による)および慢性的な代償性細胞増殖の結果二次的に生じるものであることを示す、有力な実験的証拠が存在する。雄ラットに腎腫瘍を発現させる同様のメカニズムに対する実験的裏付けはより限定的ではあるが、入手可能なデータは提案されたメカニズムと矛盾しない。さまざまな実験動物種を用いた生殖発生毒性試験から、クロロホルムが特異的発生毒性物質ではなく、母体毒性をもたらす用量でのみ胎児毒性を有することが示唆される。

動物試験における反復吸入暴露の最小影響量は、ラットおよびマウスの鼻腔組織の細胞増殖を引き起こした 9.8 mg/m^3 であった。反復経口暴露での最小影響量は 10～17 mg/kg 体重/日で、種々のエンドポイントに対して異なる動物種で類似していた。生理学に基づくファーマコキネティクス(PBPK)モデルおよび軽度の肝毒性(肝臓の脂質代謝障害を示唆する脂肪嚢胞)が認められたイヌの 7.5 年間の試験結果を用いて、リスクの 5%増加に関連する有毒代謝物質の tissue dose rate(組織内用量率[訳注：単位時間あたりの組織内生成量の意])算出のもとになる、ヒトの肝臓におけるクロロホルムの代謝速度(3.8 mg/L/時間)が予測された。この有毒代謝物質の tissue dose rate は、ヒトが生涯にわたり飲料水中 37 mg/L、または空気中 9.8 mg/m^3 のクロロホルムに暴露した結果生じると考えられる。これらの 95%信頼下限値はそれぞれ、12 mg/L および 3.4 mg/m^3 である。 1 日耐容経口摂取量の 0.015 mg/kg 体重/日および耐容濃度の 0.14 mg/m^3 空気がこれらの値から算出される。

さらに、PBPK モデルと、クロロホルムが雄ラットで腎腫瘍を誘発した試験結果を用いて、腫瘍と腫瘍前駆病変の発生率を 5%上昇させる代謝速度をヒトの場合に当てはめると、それぞれ毎時 3.9 と 1.7 mg/L と推定された。前者では、飲料水および空気を介した連続暴露の 95%信頼下限値は、それぞれ 2363 mg/L 飲料水および 74 mg/m^3 空気であった。後者の場合、代謝速度は 1477 g /L 水および 33.3 mg/m^3 空気への連続暴露(95%信頼下限値は示されていない)に相当した。

リスクの総合判定例では、クロロホルムの場合、カナダの一般住民の推定暴露量と、発がん影響および非発がん性影響に対する腫瘍発現用量およびベンチマーク用量の間の差は、各々2 桁以上であった。

ラットおよびマウスの鼻腔の細胞増殖を引き起こすと報告された最低濃度(9.8 mg/m^3)は、カナダにおける屋内空気中のクロロホルム推定値の中央値(2.28 μg/m^3)および推定値の 95 パーセンタイル値(8.0 μg/m^3)のそれぞれ 4298 倍 および 1225 倍である。

鳥類や野生哺乳類に対する毒性データは確認されなかったが、実験動物データはクロロホルムの大気中への排出は陸生の野生生物に対して著しいリスクをもたらさないことを示している。土壌中の有害濃度の推定に対して、直接関連するデータは入手できなかった。水生生物の場合、地表水中の濃度は感受性の高い生物種に対してさえも推定毒性閾値を超えることは稀である。パルプ・製紙工場、水処理施設、および埋立地のような産業浸出水発生源近辺での暴露レベル - 水生生物に対するリスクが起こり得るレベル - に関しては若干不確かである。

2. 物質の特定および物理的･化学的性質

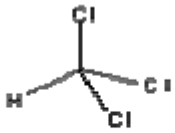

Fig. 1: Chemical structure of chloroform

クロロホルム(CAS No. 67-66-3)はトリクロロメタン(trichloromethane)、メタントリクロリド(methane trichloride)、トリクロロホルム(trichloroform)、三塩化メチル(methyltrichloride)、および三塩化ホルミル(formyl trichloride)としても知られる。

室温で心地よいエーテル臭を有する無色透明の揮発性液体である。代表的な物理的・化学的性質に関する報告値を Table 1 に示す。そのほかの性質は本文書に掲載の国際化学物質安全性カード(ICSC 0027)に記載されている。

空気中の変換係数[1](20℃、101.3 kPa)は下記のとおり：

1 ppm = 4.96 mg/m^3

1 mg/m^3 = 0.202 ppm

本 CICAD では 20℃のかわりに 25℃における変換係数を用いた原資料の変換に従う。

1 ppm = 4.9 mg/m^3

1 mg/m^3 = 0.204 ppm

3. 分析方法

水試料中のクロロホルムの一般的定量法は、事前に pH の調整をせず試料にチオ硫酸ナ

[1] 国際(SI)単位で測定値を表示する WHO の方針に従い、CICAD シリーズでは大気中の気体化合物の濃度をすべて SI 単位で表示する。原著や原資料が SI 単位で表示した濃度は、そのまま引用する。原著や原資料が容積単位で表示した濃度は、上記の変換係数(20°C、101.3 kPa)を用いて変換を行う。有効数字は 2 桁までとする。

Table 1: Physical and chemical properties of chloroform.

Property	Value[a]
Boiling point (°C) at 101.3 kPa	61.3
Vapour pressure (kPa) at 20 °C	21.3
Water solubility (g/litre) at 25 °C	7.2–9.3
Density (g/cm^3) at 25 °C	1.48
Henry's law constant (Pa·m^3/mol) at 20 °C	304
Log K_{ow}	1.97
Log K_{oc}	1.44–2.79

[a] Data listed in source document (Environment Canada & Health Canada, 2001).

トリウムを添加、保存し、電子捕獲検出器(ECD)、ハロゲン特異検出器、あるいは質量選択検出器付きガスクロマトグラフィー (GC)によって分析する。国際標準化機構によって推奨されている二つの方法がある(ISO, 1997)。ひとつはECDなどの適切な検出器付き液液抽出GCを使用する方法で、ペンタン、ヘキサン、石油エーテル、ヘプタン、あるいはキシレン水用)を抽出溶媒として用い、定量限界は0.05～0.3 µg/Lである。もうひとつはECDなどの適切な検出器付き静的ヘッドスペースGCによる方法で、定量限界は0.3 µg/Lである。米国環境保護庁(EPA)の推奨方法は、電解質伝導度あるいはミクロ電量検出器付きパージアンドトラップGC(EPA Method 502)または質量分析器(MS)付きパージアンドトラップGC (EPA Method 524)を用いるもので、定量限界は0.02～0.2 µg/Lである。

多くの分析法が、大気中のクロロホルム濃度の測定に用いられている。ECD、炎イオン化検出器、光イオン化検出器、あるいは質量分析器付きGC法がもっとも一般的である。クロロホルムは、大気を前処理せず測定器中に直接吸引あるいは注入し、直に測定することができる。これらの方法は簡単であるが、都市部における発生源地域など大気中にかなり高濃度で存在する場合にのみ使用可能である。2番目の吸着液脱着法では、大気試料を炭、Porapak-Nなどの活性吸着剤中に通し、吸着したクロロホルムを二硫化炭素やメタノールなど適切な溶媒で脱着し、GCに通して測定する。吸着加熱脱着法でも、大気試料をTenax-GC、Porapak-Q、Porapak-N、あるいは分子ふるい炭素など活性吸着剤中に通し、吸着したクロロホルムを加熱脱着し、GCカラムへ導き測定する。4番目の冷却トラップ加熱法は、大気試料を液体窒素あるいは液体酸素を冷却剤とする冷却トラップに注入し次にトラップを熱してクロロホルム分をGCカラムに移動させ、測定する。現在用いられている方法の詳細については、米国職業安全衛生局(OSHA)、英国健康安全局(HSE)、米国試験材料協会(ASTM)、米国国立職業安全衛生研究所(NIOSH)、および米国環境保護庁(EPA)から

得られる[2]。

分析法の検出感度は時とともに向上し、原資料で報告された検出下限は大気中0.1 μg/m^3 (T. Dann, personal communication, 1998)、水中0.001 μg/L (Comba et al., 1993)、乾燥食品中0.05 μg/kg(Page & Lacroix, 1993)、および飲料中0.02 μg/kg (McNeal et al., 1995)である。

4. ヒトおよび環境の暴露源

推定半減期および世界のさまざまな地域での測定値に基づき、大気中へのクロロホルムの総排出量は 1 年間で 47 万トンと推定された(Khalil & Rasmussen, 1999)。2003 年公表の総説によると、環境中のクロロホルムフラックスはおそらく 1 年間に 66 万トン程度と一定で、排出量の約 90%は自然発生源によるものである。この地球規模でのフラックスは、1 年間で沿岸水からの 36 万±9 万トン、土壌プロセスからの 22 万±10 万トン、他の自然発生源(火山活動、地質学的)からの＜2 万トン、および人為的活動による 6 万 6000±2 万 3000 トンから成っている(McCulloch, 2003)。

4.1 自然界での発生源

海藻によってクロロホルムが自然生産されることが報告されている(Nightingale et al., 1995; Scarratt & Moore, 1999)。実験室において有酸素状態下、有機物に富むトウヒの森の土壌から放出(1 日につき 12 μg/m^2)されたことは、クロロホルムが生命体によって生成されたことを示唆している(Haselmann et al., 2000)。クロロホルムの大気中の値は約 0.1 μg/m^3 と報告されているが、深さ 160 cm までの土壌の空気中では 20～30 μg/m^3 であった。放射標識塩化物(Na^{37}Cl)の土壌添加試験によって土壌中の自然生成が証明された。菌類がこの自然生成に重要な役割を果たしていると考えられた(Hoekstra et al., 1998)。

あるグループが、自然を発生源とするクロロホルムと人為的に発生するクロロホルムの大気中に占める割合はほぼ等しいとしている。このグループはクロロホルムフラックスを 1998 年アイルランドの 7 か所の泥炭地と 2 か所の常緑樹林沼沢地で測定し、地球規模のフラックスは 1 年間に泥炭地生態系から 4700 トン(100～15 万 1900 トン)、湿地帯全体か

---

[2] 現在用いられている方法は、次のとおり：OSHA SKC 2003、OSHA 05、MDHS 28、MDHS 88、MDHS 96、ASTM D 5466、NIOSH 1003、EPA 0030、EPA 0031、EPA 0040、EPA TO-1、EPA TO-14A、EPA TO-15A、EPA TO-17、EPA TO-2。

ら 2 万 4100 トン(範囲の記述なし)と推定した。既述のように、McCulloch (2003)の報告では、クロロホルムの地球規模の全流量は 1 年間に約 66 万トンで、排出量の約 90%は自然発生源によるものであるとされている。

4.2 人為的発生源

クロロホルムは、生産、貯蔵、運搬、使用などの過程から直接に、あるいは塩素を用いた紙の漂白や水の塩素処理過程でほかの物質から生成されて、環境中へ排出される。パルプ・製紙工場、公営下水処理施設、化学物質製造プラント、ごみ焼却場がクロロホルムの人為的発生源である(IPCS, 1994a)。とくに土壌や植物性材の分解から生じたフミン酸やフルボ酸など自然の水に存在するさまざまな有機物質が、飲料水の塩素化地域において"ハロホルム反応"を介するクロロホルムの生成に寄与すると考えられる(Environment Canada & Health Canada, 2001)。既述のように、McCulloch (2003)の報告では、人為的発生によるものは、1 年間に 6 万 6000 ± 2 万 3000 トンである。

カナダで行われた産業調査によって、23 のパルプ・製紙工場からのクロロホルムの 1996 年中の報告排出量は大気中へ 288 トン、水圏へ 15.6 トン、廃水処理施設へ 0.019 トン、および埋立て地へ 0.127 トンであることが明らかになった(Environment Canada, 1997a)。これらの工場の廃水中におけるクロロホルムの発生および濃度は、漂白工程で塩素元素の代わりに二酸化塩素を使用すると著しく減少する(Solomon et al., 1994; M. Henteleff, personal communication to Environment Canada, 1999)。

1996 年カナダ環境省全国汚染物質排出目録(Canadian National Pollutant Release Inventory)に報告されたクロロホルムの環境への総排出量は 208 トンであった。ほとんどがパルプ、製紙、および関連製品工場によってであり、96%を超える量が大気中、残りが水圏へ排出されていた(NPRI, 1999)。

量は測定されていないが、塩素を使用するカナダの公営下水処理施設の殺菌システムがクロロホルムの重要な発生源になり得る。クロロホルムは塩素とフルボ酸やフミン酸などの有機前駆体分子間の反応によって生成する(Environment Canada, 1999a; Environment Canada & Health Canada, 2001)。

クロロホルムは工場からも排出されると考えられる。カナダにおける調査によって、カナダ化学製品製造者協会(Canadian Chemical Producers' Association CCPA)に所属する 3 施設の 1996 年のクロロホルム総排出量は 145 kg で、88%が大気への放出であったことが明らかになった(Environment Canada, 1997a)。CCPA の推定によると、会員会社に

よる 1992 年の環境への排出量は 540 kg である(CCPA, 1992)。1993 年に HCFC-22 製造中の使用によって排出されたクロロホルム量は 31～1040 kg と推定された(Environment Canada & Health Canada, 2001)。

4.3 生産量と用途

クロロホルムは主として米国、欧州連合、日本で製造されており、1990 年代後半の世界総製造量は年に 52 万トンであった。1995 年、クロロホルムは 19 カヵ国で製造されていた。米国での製造量は、1991 年は 22 万 9000 トン、1993 年は 21 万 6000 トンであった(IARC, 1999)。カナダではもはや製造されていない(Environment Canada & Health Canada, 2001)。EU での総生産量は 31 万 6000 トンと推定されている(ECSA, 1997)。

クロロホルムのおもな用途は HCFC-22 生産であり、これが EU での使用量の 90～95%を占める(Zok et al., 1998)。HCFC-22 の冷媒としての使用量は減少傾向にあるが、ポリテトラフルオロエチレン(polytetrafluoroethylene)などのフッ素重合体の原材料としての使用量が増加傾向にあるということは、クロロホルムの需要量が比較的一定であることを意味する。以前の麻酔薬としての使用はカナダでは大部分は廃止されているが、一部の歯科処置やいくつかの製剤で限定的に使用されている。モントリオール議定書(修正)は HCFC-22 を 2010～2020 年に徐々に減少させるとしており、これによってクロロホルムの現在の市場の大半が事実上排除される(Environment Canada & Health Canada, 2001)。また、クロロホルムは世界中で、農薬製剤中で、脂質、油、ゴム、アルカロイド、ワックス、ガッタパーチャ、および樹脂の溶剤として、洗浄剤として、あるいは消火器やゴム業界中でも使用されている(ESCA, 1997; Budavari, 2001)。

5. 環境中の移動・分布・変換

5.1 大気

対流圏中では、排出されたクロロホルムは光化学的に生成されたヒドロキシラジカルとおもに反応する(Kindler et al., 1995)。反応生成物はホスゲン(phosgene)、ジクロロメタン(dichloromethane)、塩化ホルミル(formyl chloride)、一酸化炭素(carbon monoxide)、二酸化炭素(carbon dioxide)、および塩化水素(hydrogen chloride)である(Gürtler & Kleinermanns, 1994)。実験で求められたこの反応の速度定数は、1.0×10^{-13}～2.95×10^{-13} cm^3/分子/秒(25℃)である。分解速度は、温度、ヒドロキシラジカルの濃度、日照時間数など多くの要因に左右される。推定半減期は 55～620 日である(Derwent & Eggleton, 1978;

Singh et al., 1981; Klöpffer et al., 1988; Khalil & Rasmussen, 1999)。揮発によって大部分が大気へ戻るので、湿性沈着は少ないと考えられる(Diamond et al., 1994)。分解速度は1年間に北半球で25万～57万トン、南半球で12万～26万トンと推定される(McCulloch, 2003)。

5.2 水圏

地表水における主要な除去プロセスは、揮発である。モデル化試験によると、河川での推定半減期は1.5日、湖沼では9～10日であった（US EPA, 1984)。ほかのモデルによると、浅瀬で風速が高くよく混合できる場所のほうが半減期は短いことが示された(Kaczmar, 1979; Lyman et al., 1982)。大部分の試験で、25週間後まで好気的条件下の水系で生物分解はほとんどみられなかった(Bouwer et al., 1981; Wilson et al., 1981, 1983; Bouwer & McCarty, 1984)。地下水では、揮発が限定的で、嫌気的条件下での生物分解が遅く、ほとんどの好気的条件下で生物分解がみられないことから、クロロホルムはきわめて残留性が高いと考えられる(Environment Canada & Health Canada, 2001)。加水分解による半減期は1000年を超える(McCulloch, 2003)。

5.3 底質

数少ない試験によってだが、嫌気性のメタン生成条件下を除き、底質中の化学分解は急速には進行しないことが示されている。嫌気性条件下におけるおもな分解生成物は、二酸化炭素、メタン、および塩化水素と少量のジクロロメタンである。嫌気性条件下ではクロロホルムの半減期は10℃で12日、20℃で2.6日である(Van Beelen & Van Keulen, 1990)。嫌気性条件下で行われた別の試験では、泥の多い底質での半減期は2～37日であったが、砂の多い底質での分解は実証できなかった(Van Beelen & Van Vlaardingen, 1993)。

5.4 土壌

クロロホルムは揮発性が高く土壌吸着性が低いため、地表面での動態は濃度依存性の揮発が主流となる。クロロホルムを含む廃水を毎日土壌に加えたミクロコズム試験では、適用クロロホルムの75%が大気中へ揮発し、残りのクロロホルムは土壌から浸出した(Piwoni et al., 1986)。吸着量は土壌中の粘土含有量に相関する(Dural & Peng, 1995)。数少ない試験によってだが、嫌気性のメタン生成条件下を除き、土壌中の化学分解は急速には進行しないことが示されている。おもな嫌気性分解生成物は、二酸化炭素、メタン、および塩化水素と少量のジクロロメタンである(Van Beelen & Van Keulen, 1990; Van Beelen & Van Vlaardingen, 1993)。

5.5 生物相

クロロホルムのオクタノール／水分配係数(log K_{ow} = 1.97)は、クロロホルムが水系生物相ではそれほど生物蓄積しないことを示している(Anderson & Lusty, 1980; Zok et al., 1998)。生物濃縮係数は緑藻で690 (Mailhot, 1987)、魚(ブルーギル *Lepomis macrochirus*、ニジマス *Oncorhynchus mykiss*、オオクチバス *Micropterus salmoides*、およびブチナマズ *Ictalurus punctatus*)で1.4～10である(Veith et al., 1978; Anderson & Lusty, 1980; Barrows et al., 1980)。浄化は急速に進行し、前述の魚類すべてで半減期は1日未満である(Anderson & Lusty, 1980; Barrows et al., 1980)。

5.6 環境中の分布

土壌あるいは地表水中のクロロホルムは揮発しやすい。平衡状態で99%超が大気中に分配するとされている(Zok et al., 1998; McCulloch, 2003)。水溶性があることから、大気中のクロロホルムは多少湿性沈着もするが、続いて起こる再揮発の量が多いようである(Diamond et al., 1994)。有機炭素や脂質との親和性が低く、土壌や底質には十分には分配されない。モデル化によって、水中から底質へ移動するクロロホルムの割合は、＜0.06%(湖)～8%(池)と予測されている(Anderson et al., 1985)。媒体別分配は大気99.1%、水系0.9%、土壌0.01%、底質0.01%と報告されている(Zok et al., 1998)。

6. 環境中の濃度とヒトの暴露量

6.1 環境中の濃度

1.1 大気

土地によって、クロロホルムの濃度にかなりのばらつきがある。都市部や工業地域での平均濃度は 3.5 μg/m^3 にまで及び、ほとんどの濃度は 0.5～1.5 μg/m^3 の範囲内であった(McCulloch, 2003)。1991年、ポルトガル海岸のMadeira島およびドイツBlack Forestの大気中での中央値は0.2～0.6 μg/m^3 (0.07～8.7 μg/m^3 の範囲)であり、1975年に英国の農村地域で大気測定した結果は0.12～0.6 μg/m^3 と報告されている(McCulloch, 2003)。

1989～96年、カナダの7つの州の47ヵ所で24時間採取した、8807のサンプルのおよそ69%でクロロホルムが検出された(検出限界0.1 μg/m^3 以上)。この期間中、年間濃度の

中央値は＜0.1 ～0.18 μg/m^3、平均値は 0.12～0.23 μg/m^3 であった。濃度は農村地域でもっとも低く、都市部ではより高く、主要道路に隣接した場所でもっとも高かった。1989～92 年の 3344 サンプルと 1993～96 年の 5463 サンプルを比べると、より近年ほどクロロホルム濃度はわずかに低くなっていた。1996 年中の 24 時間平均濃度 0.75 μg/m^3 に比べ、それ以前に検出された最高濃度は 6.0 μg/m^3 であった(T. Dann, personal communication, 1998)。

米国での大気中クロロホルム濃度は、都市部で 0.1～10 μg/m^3、発生源の周辺地域で 1.4～110 μg/m^3 であった(ATSDR, 1996)。

南北両半球の極・中間緯度・熱帯地域の表面のクロロホルム濃度を 9 年にわたって測定した結果、いくつかの大陸部では年平均が 0.2 μg/m^3 までになったが、平均表面濃度は 0.09 μg/m^3 との報告がある。測定期間中、有意な傾向はみられなかった(Khalil & Rasmussen, 1999)。

南大西洋上の大気のクロロホルム濃度は 0.05～0.1 μg/m^3、北半球では 0.1～0.25 μg/m^3、貿易風帯では 0.04～0.07 μg/m^3 と低濃度であった。これらの数値は、1985 年ケープタウンからブレーマーハーフェンへのクルージング船で採取した下部対流圏のサンプル、および 1982 年アゾレス諸島、1984 年マディラ、1985 年バミューダ諸島で採取したサンプルからのものである(Class & Ballschmiter, 1986)。

6.1.2 室内空気

クロロホルムは 1991 年に、カナダの 9 州の 754 の住宅で採取した 24 時間サンプルの 11%で検出されている(検出限界 3.5 μg/m^3)。検出最大濃度は 68.6 μg/m^3 であった(Concord Environmental Corporation, 1992; Health Canada, 1999)。1996 年には Ontario 州(Toronto 大都市圏)、Nova Scotia 州、Alberta 州の 44 世帯中 8 世帯で(検出限界 2.3 μg/m^3)、1997 年には同じ地域の 50 世帯中 34 世帯で検出されている(検出限界 0.22 μg/m^3)。検出最大濃度は 14.1 μg/m^3 で、計 94 サンプルの推定平均濃度は 1.5 μg/m^3 であった(クロロホルム不検出のサンプルは検出限界濃度の 2 分の 1 の濃度と仮定した)。94 世帯すべてから得た個人の呼吸域サンプルの濃度は不検出(＜0.22 μg/m^3)～94.5 μg/m^3 で、全体の推定平均値は 2.6 μg/m^3 であった(Otson & Meek, 1996; Conor Pacific Environmental, 1998; Health Canada, 1999)。1991～92 年、Ontario 州 Windsor の 146 世帯中 89 世帯の室内空気中にクロロホルムが検出された(検出限界不明)。非喫煙世帯の室内空気中における最大平均濃度は 5.6 μg/m^3、間接喫煙が存在した場合はより高く 16 μg/m^3 であった(OMEE, 1994)。しかし、1962 年米国 New Jersey 州における調査では非喫煙 61 世帯と喫煙 32 世

帯の空気に濃度の差はみられず(各々、平均 0.60 、0.85 μg/m^3、中央値 0.28、0.23 μg/m^3)(Heavner et al., 1996)、タバコは IPCS によって重要な環境クロロホルム暴露源とは特定されなかった(IPCS (1994a)。米国の室内空気中の平均濃度は 0.17～43.9 μg/m^3(最大値 210 μg/m^3)と報告された(Samfield, 1992)。1987 年、米国カリフォルニア州ロサンゼルスの 248 家庭での平均濃度は 0.9～1.5 μg/m^3(最大値 13 μg/m^3)であった(Wallace, 1997)。

室内空気中のクロロホルム濃度は温水からの揮発によって短時間に上昇する。とくに、使用中のシャワー室での濃度は、50%を超える溶存クロロホルムの揮発によって 1000 μg/m^3 を超える可能性がある(Tancrède et al., 1992; Giardino & Andelman, 1996; Health Canada, 1999)。

6.1.3 地表水

外洋でのクロロホルム濃度は 0.002～0.015 μg/L と報告されている(Class & Ballschmiter, 1986; IPCS, 1994a; Zok et al., 1998)。ある総説では、1980 年代～1990 年代にかけての北海沿岸水およびヨーロッパ(フランス、ドイツ、スウェーデン、および英国)の河口域の水中の濃度は 0.004 ～11.5 μg/L としている。工業地域あるいは公営下水処理施設からの排出点周辺の河川では最大 10 μg/L まで検出されたが、非工業地域の河川中の標準的なバックグランドレベルは一般的に 0.5 μg/L 未満であった(Zok et al., 1998)。ヨーロッパの河口域について、排出点源での局所的な高濃度を含めてクロロホルム濃度は< 0.01～70 μg/L であると報告されている(McCulloch, 2003)。

1990～95 年にかけてカナダの Alberta 州の地表水および井戸水からの 59 サンプルを分析したところ、2 サンプルのみが 2 および 7 μg/L と検出限界 1 μg/L を超えていた(Alberta Environment, 1996)。1990～96 年の Alberta 州からの 321 サンプル中、数サンプルでのみクロロホルムが検出され(検出限界 1 μg/L)、最大濃度は 2 μg/L であった(Environment Canada, 1996)。1991 年に採取された Superior 湖の水 192 サンプルのクロロホルム濃度は＜0.001～4.2 μg/L(中央値 0.064 μg/L)とさまざまで(Comba et al., 1993)、1990～93 年の Niagara 川からの 293 サンプルにみられた最大濃度は 0.19 μg/L であった(Environment Canada, 1996)。1990～93 年に採取された Quebec 州の地表水 107 サンプルの濃度は検出不能(＜0.2 μg/L)～44 μg/L であった(MENVIQ, 1996)。カナダの 4 州全域での 984 測定値の中央値は＜0.2 μg/L、95 パーセンタイル値は＜1 μg/L、99 パーセンタイル値は 2.94 μg/L であった(Environment Canada & Health Canada, 2001)。

カナダの地表水について、とくに塩素漂白を用いるパルプ・製紙工場近辺で、たとえば

Table 2: Concentrations of chloroform in drinking-water in Canada during the 1990s.

Province/territory	Period	No. of samples	Frequency of detection (%)	Mean concentration (µg/litre)	Maximum concentration (µg/litre)
Newfoundland	1995–1996	51	100	9.6	29.8
New Brunswick	1994–1996	410	100	9.4	77.4
Quebec	1991–1995	165	95	51.9	440
Ontario	1991–1997	3332	98	35.0	390
Manitoba	1990–1995	832	94	89.4	1125
Alberta	1990–1997	1765	92	60.6	1224
Northwest Territories	1990–1992	52	75	27.5	258
All data for 1990s		6607	96	47.3	1224

1986 年に工場下方で 80～200 µg/L など、高濃度が報告されることもある（OMOE, 1990)。同様に、1970 年代米国の高度工業化都市の河川で採取されたサンプル中の最大が 394 µg/L であったとの報告がある(IPCS, 1994a)。

1990 年代ドイツの Black Forest 地域で実施された 2 調査で、雨水中の濃度は 11～17 ng/L、最大濃度は 97 ng/L と報告された（McCulloch, 2003)。

6.1.4 飲料水

クロロホルムは、塩素-クロラミン、塩素-塩素、オゾン-塩素処理など、水の消毒プロセスのおもな副生成物である。濃度は未処理水中の有機物質濃度によって大きく異なり、処理方法、温度、および pH によっても影響を受ける。配水システムに沿って水が移動するにつれ、さらには家庭用熱湯タンク中で、クロロホルム濃度は夏季に上昇する(Environment Canada & Health Canada, 2001)。カナダで集められたデータの大部分は、水処理施設および配水システム中の測定値からのものであり、消費者の蛇口での濃度に関する情報はほとんどない。1990 年代のカナダのいくつかの地域の飲料水のクロロホルム濃度測定値(検出限界 0.1～1.0 µg/L)を Table 2 に示す。これらのデータを用いて 95 パーセンタイル値が 166 µg/L と算出された。(“想定しうる最悪の事例”を設定するため)最高濃度の 2 地域からのデータだけを使用すると、95 パーセンタイル値は 220 µg/L であった(Health Canada, 1999)。

より小規模の全国的調査からより限られた量のデータがある。1993 年、カナダ 9 州の 53 水処理施設からの 214 サンプルの全サンプルでクロロホルムが検出され(＞0.2 µg/L)、中央値 13.4 µg/L、平均値 27.6 µg/L、最大値 336 µg/L と記録されている。州間の濃度の算術平均は 6.5～62.1 µg/L とさまざまで、夏期は冬期のおよそ 2 倍であった(Williams et

al., 1995; Health Canada, 1999)。

クロロホルムが冷水中に冬季 6 μg/L あるいは夏季 12 μg/L 含まれたとき、シャワー温水中の測定値は 24 μg/L であった(Benoit et al., 1997)。

1992 年に実施されたカナダの調査では、ミネラルウォーター61 ボトルのいずれにもクロロホルムは認められず(検出限界 0.5～3.0 μg/L)、86 の湧き水サンプル中 1 サンプルのみで検出された(3.7 μg/L)。含炭酸水、脱塩水、脱イオン水、再生水、および蒸留水を含む、35 の容器入り飲料水サンプルのうち 10 サンプルでクロロホルムが検出された(Page et al., 1993)。

6.1.5 底質および土壌

確認されたデータは限られているが、クロロホルムは底質や土壌中にそれほど吸着するとは考えられず、したがってこれらの媒体に多量に蓄積するとは考えにくい(Environment Canada, 1999a; Environment Canada & Health Canada, 2001)。

6.1.6 食品

食品中のクロロホルム源は明確に解明されていないが、クロロホルムの包装材中の残留溶剤、接着剤、およびインクからの移行が報告され、塩素処理水で洗浄した包装材表面からこの表面に接触する脂質を含む食品への移動が一つの可能性として考えられている。ある種の飲み物にクロロホルムが認められることは、清涼飲料メーカーなどのボトリング工場における塩素処理水の使用によって説明できると考えられる。塩素処理された飲料水の使用の結果、食品の下処理中に取り込まれたクロロホルムは、調理中に揮発によっておそらく除去され、既製食品中ではその濃度は低下する(Environment Canada & Health Canada, 2001)。

カナダのオンタリオ州オタワで 購入された 13 の飲料中 11 でクロロホルムが検出されたが(最大 14.8 μg/kg)、乾燥食品では検出されなかった(検出限界 0.05 μg/kg)。その後採取した 47 の食品および飲料サンプルのうち 41 のサンプルでクロロホルムが検出された(23～129 μg/kg)。もっとも高濃度(50～129 μg/kg)の 3 サンプルはバターからのものであった(Page & Lacroix, 1993)。

カナダオンタリオ州ウィンザーの小売店から購入した食料品を 33 の食品群に分け分析したところ、チーズ／バター、缶詰肉、つる野菜、ソフトドリンク、粉末スープの 5 群で

Table 3: Deterministic estimates of average daily intakes for the general population.[a]

Exposure medium	Average daily intake (µg/kg body weight per day) for age groups in the general population					
	0–6 months	7 months – 4 years	5–11 years	12–19 years	20–59 years	60+ years
Outdoor air	0.002–0.034	0.004–0.072	0.003–0.056	0.002–0.032	0.001–0.027	0.001–0.024
Indoor air	0.559–0.744	1.197–1.596	0.933–1.244	0.531–0.708	0.456–0.608	0.396–0.528
Food	– (included in water data)	0.150–1.145	0.105–0.899	0.060–0.612	0.043–0.478	0.028–0.349
Drinking-water	1.003–9.536	0.424–4.037	0.334–3.172	0.190–1.806	0.199–1.891	0.209–1.987
Subtotal	1.56–10.31	1.78–6.85	1.38–5.37	0.78–3.16	0.70–3.00	0.63–2.89
Showering[b]	–	–	–	0.43–4.06	0.36–3.40	0.35–3.35

[a] Further details on the basis for estimated figures are given in Environment Canada & Health Canada (2001).
[b] Inhalation and dermal intake from daily showering.

クロロホルムが検出された。最大濃度は 67 µg/L であった(Enviro-Test Laboratories, 1992)。(同様の)35 の食品群の同様の調査では、ソフトドリンクおよびアルコール群でのみクロロホルムが検出された(検出限界は飲料で 1 µg/L、食品で 5 µg/kg) (Enviro-Test Laboratories, 1993)。

限られてはいるが米国からもデータは得られる。米国食品医薬品局(FDA)のマーケットバスケット法から得られた既製食品サンプル 231 中クロロホルムは 94 サンプルで検出され、最大濃度はチェダーチーズでの 312 µg/kg であった(Daft, 1988)。穀物製品の分析では、クロロホルム濃度は 0.5 µg/kg(ラザニア)～3400 µg/kg(小麦)であった(Heikes & Hopper, 1986)。既製食品サンプル 18 中 10 サンプルで検出され、最大濃度はバターでの 670 µg/kg であった(Heikes, 1987)。Washington, DC で採取されたバター36 サンプルでは 30～255 µg/kg が認められた(Miller & Uhler, 1988)。234 の食品サンプルを分析した結果、クロロホルムはマーガリン(7.3 µg/kg)、バター(38.9 µg/kg)、およびクリームチーズ(110 µg/kg)など 44 サンプルで検出された(検出限界 5 µg/kg) (Heikes et al., 1995)。

米国の 5 病院で授乳期間中の母親からの母乳 42 サンプル中 40 サンプルで、濃度 0.1～65 µg/L のクロロホルムが検出された(Erickson et al., 1980)。

6.2 ヒトの暴露量: 環境[3]

カナダの大気(全国調査)、カナダおよび米国の食品、ならびに飲料水(州および準州のデ

[3] Measurement data and assumptions that form the basis of these calculations can be found in the source document. これらの計算のもととなる測定データおよび前提は原資料で確認できる。

Table 4: Deterministic upper-bounding estimates of daily intake for the general population.[a]

Exposure medium	Upper-bounding estimates of intake (µg/kg body weight per day) for age groups in the general population					
	0–6 months	7 months – 4 years	5–11 years	12–19 years	20–59 years	60+ years
Outdoor air	0.21	0.45	0.35	0.20	0.17	0.15
Indoor air	16.81	36.02	28.08	15.97	13.72	11.92
Food	– (included in water data)	2.87	2.36	1.58	1.25	0.89
Drinking-water	130.6	55.28	43.43	24.73	25.90	27.20
Subtotal	147.6	94.62	74.22	42.48	41.04	40.16
Showering[b]	–	–	–	55.64	46.61	45.90

[a] Further details on the basis for estimated figures are given in Environment Canada & Health Canada (2001).
[b] Inhalation and dermal intake from daily showering.

ータ)での測定値に基づいて、1 日摂取量の平均確定的推定値および上界推定値が算出された(Environment Canada & Health Canada, 2001)。これらを Table 3 および Table 4 に示す。

確定的推定値は前述のモニタリングデータおよび体重、吸入量、食品や水の摂取量の参照値から算出された。食品、飲料水、および空気からの平均摂取量は 0.6～10 µg/kg 体重/日とさまざまである。上界の推定値は水、食品、および空気中で報告された最大濃度を用いて 40～95 µg/kg 体重/日と算出されたが、最大クロロホルム濃度が報告された飲料水で調製された粉ミルクのみを与えられた乳児では、最大 148 µg/kg 体重/日であった。毎日のシャワー使用によって推定値が 50～100％上昇したグループもある(Environment Canada & Health Canada, 2001)。詳細は原資料に記載されている (Environment Canada & Health Canada, 2001)。

さらに、カナダの大気および水からのクロロホルム 1 日摂取量の確率論的推定値が、一般住民の平均的暴露と想定しうる最悪の事例の 2 つのシナリオについて算出されたが、食品摂取やシャワー使用から確率論的暴露推定値を算出するにはデータが不十分と考えられた。1Monte Carlo 乱数法および Latin Hypercube 法をそれぞれ 5 回ずつ用いて、10000 回試行のシミュレーションが行われた。2 つのサンプリング法から類似の推定値が得られ、摂取量の上位パーセンタイル値の相対標準偏差(n = 5、10000 回試行のシミュレーション)は 5%を超えず、高度の再現性を示した。 一般住民の平均的暴露のシナリオは、大気については 1990 年代に採取された 8807 サンプルのクロロホルムの分布、室内空気についてはカナダの 754 家庭からのサンプルの仮定対数正規分布の幾何平均および標準偏差推定値、飲料水についてはカナダの州および準州からの 6607 サンプルの分析に基づいている。飲料水の吸入および経口摂取による摂取量の 95 パーセンタイル値は、0.5 歳～60 歳代の一般住民の年齢別 5 グループで 4.9～12.9 µg/kg 体重/日であった(Health Canada, 1999)。乳

児の飲料水 1 日摂取量のデータが少ないため(EHD, 1998)、このグループの確率論的推定値は算出できなかった。

想定しうる最悪の事例は、大気については 1990 年代にカナダの主要道路隣接地域 4 カ所で採取された 800 サンプル、室内空気についてはカナダの 754 家庭からのサンプルの仮定対数正規分布の幾何平均および標準偏差推定値、飲料水については報告された値が最も高かった 2 州での 2527 サンプルに基づいている。飲料水の吸入および経口摂取によって摂取された量の 95 パーセンタイル値は 0.5 歳～60+歳の一般住民の年齢別 5 グループで 7.0～19.1 µg/kg 体重/日であった(Health Canada, 1999)。乳児の飲料水 1 日摂取量のデータが少ないため(EHD, 1998)、このサブグループの確率論的推定値は算出できなかった。

米国で採取されたヒト血液 979 サンプルの 54%でクロロホルムが検出されたが(検出限界 0.1 µg/L)、濃度は測定されなかった(Ashley et al., 1994)。米国、ニュージャージー州の健康な男性の尿中濃度は 36.5～48.7 µg/L であった(Youssefi et al., 1978)。

6.3 ヒトの暴露量: 職業

HSDB(2003)ではクロロホルムの暴露量について、Rocky Mountain Arsenal の Shell Chemical Company(農薬製造工場)の製造オペレーター、ドラム/ボトル充てん職人、および整備/施設係の暴露時間加重平均値(TWA)はそれぞれ 13 mg/m^3、2 mg/m^3、1 mg/m^3、ポーランドの製薬工場では 10～1000 mg/m^3、警察法医学研究所での 8-時間加重平均値は 77.4 mg/m^3(13～227 mg/m^3)、クロロホルム 22%含有溶剤使用のフィルム製造工場では 1968～72 年に 34～830 mg/m^3(平均 230 mg/m^3、サンプル数 79) (Santodonato et al., 1985)と簡単に言及している。

7. 実験動物およびヒトでの体内動態･代謝の比較

7.1 一般的代謝

クロロホルムは、哺乳類への経口、吸入、あるいは経皮暴露後、急速、容易に吸収、代謝、排泄される(IPCS, 2000b)。ヒトに 0.5g を単回経口投与したところ、投与量の約 50～52%が吸収され、吸収量のほとんどすべてが二酸化炭素に代謝された。 血中濃度は、1.5 時間後にピークに達して、半減期が 13 分と 90 分の 2 コンパートメントモデルに従いそれぞれ低下した(Fry et al., 1972)。[^{38}Cl]-クロロホルム約 5 mg を単回吸入した被験者でおよそ 80%が吸収された(Morgan et al., 1970)。取込み量の推定にシャワー使用後の呼気濃度

を用い、シャワーを浴びる個人の皮膚および肺からの取込み量が総取込み量に占める割合について調べた。その結果、通常のシャワー使用では 6～21 μg/m^3、シャワー中の暴露が吸入に限られた場合("吸入のみ"シャワー)では 2.4～10 μg/m^3 であった。この相違は統計的に有意であり、経皮暴露と吸入暴露の寄与率はほぼ等しいことを示している(Jo et al., 1990)。

種差がみられる。ラット、マウス、およびサルに放射能標識したクロロホルム 60 mg/kg 体重を経口投与したところ、およそ 90%が吸収され、投与後 48 時間で 3 種すべてにおいて呼気へ排泄された。しかしながら、 マウスでは 85%が二酸化炭素、5%が未変化体として、サルでは 18%のみが二酸化炭素、79%が未変化体として呼気へ排泄された。ラットは両者の中間で、67%が二酸化炭素、20%が未変化体として呼気へ排泄された。糞尿中への排泄は合計でマウスおよびサルでは投与量のおよそ 2～3%、ラットではおよそ 8%であった(D.M. Brown et al., 1974)。クロロホルムの代謝はヒトよりマウスのほうがかなり速い。たとえば、49 mg/m^3 の吸入暴露における平均のピーク代謝速度は、ヒトではマウスの場合の約 78 分の 1 と予測されている(Delic et al., 2000)。

Corley ら(1990)は、ラットおよびマウスへの様々な濃度での(マウスへ 49、440、および 1790 mg/m^3 ；ラットへ 460、1740、および 5100 mg/m^3)6 時間吸入暴露の 48 時間後に、呼気、尿、糞便、カーカスならびに皮膚、およびケージ洗液の放射能を測定した。低濃度では、代謝は両種で広範囲に及んだ。マウスでは、呼気中の二酸化炭素、呼気中のクロロホルム、尿中、および糞便中の代謝物質はそれぞれ 7.22、0.03、0.95、および 0.05 mg 相当/kg 体重、ラットではそれぞれ 31.84、0.76、3.34、および 0.04 mg 相当/kg 体重であった。しかしながら、およそ 1800 mg/m^3 で代謝の部分飽和が認められ、これらの値を換算するとマウスではそれぞれ 217.85、23.03、21.24、および 3.84 mg 相当/kg 体重、ラットでは それぞれ 54.85、16.15、6.53、および 0.81 mg 相当/kg 体重であった(Corley et al., 1990).

マウスへの[^{14}C]クロロホルム(用量 280 mg/kg 体重)の 10 分間吸入暴露直後または 2 時間後に実施された全身オートラジオグラフィでは、脂肪、血液、肺、肝臓、腎臓、脊髄ならびに脊髄神経、髄膜、および小脳皮質中に、高濃度が認められた。非揮発性の放射能が気管支、鼻粘膜、肝臓、腎臓、唾液腺、および十二指腸中に、高レベルの揮発性あるいは抽出性の放射能が睾丸、包皮腺、および精巣上体に認められた(Bergman, 1984)。経胎盤移行が、ラット、マウス、およびモルモットで実証されている(Nicloux, 1906; Withey & Karpinski, 1985; Danielsson et al., 1986)。

クロロホルムの代謝では酸化、還元両経路とも確認されているが、*in vivo* データは数少

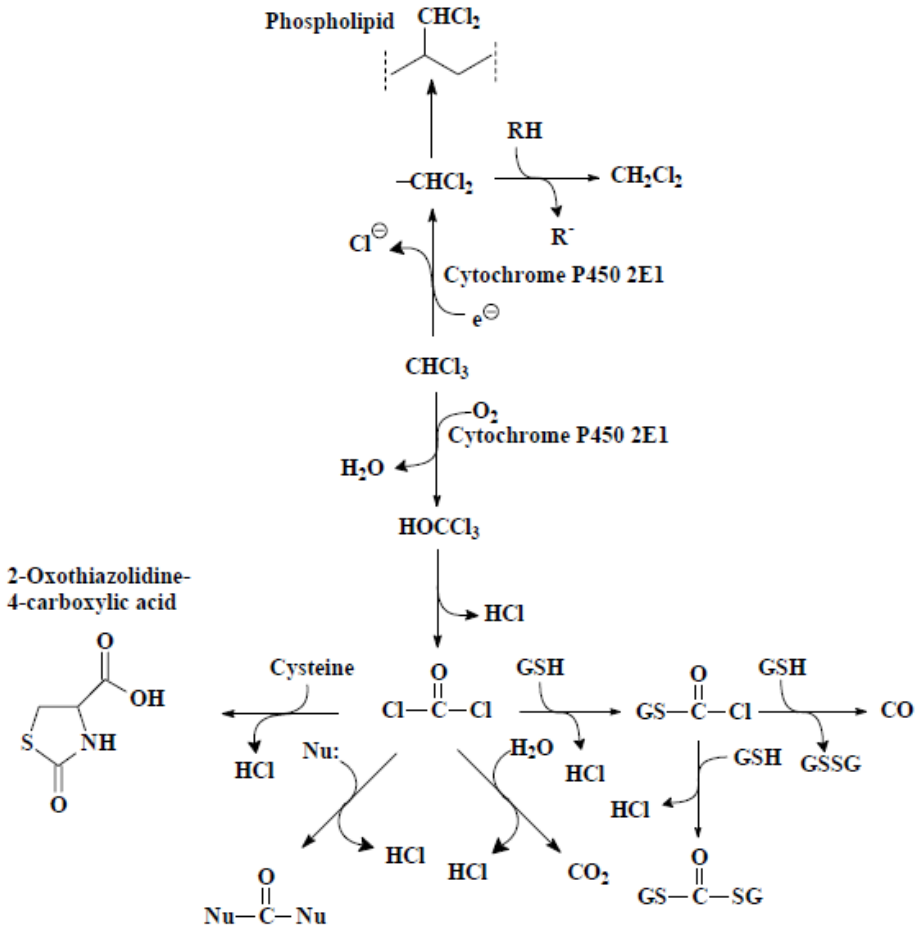

Fig. 2: Metabolism of chloroform
(GSH = glutathione; GSSG = bis(gamma-glutamyl-L-cysteinylglycine) disulfide; Nu = tissue nucleophiles; R = alkyl group)

ない。二酸化炭素は *in vivo* の酸化経路のおもな代謝産物である。酸化経路はホスゲンなど(Pohl et al., 1977; Pohl & Krishna, 1978)反応性代謝物も生成し(フェノバルビタール誘発し *in vitro* で測定)、還元経路はジクロロメチルカルベン遊離基を生成する(フェノバルビタール誘発の有無にかかわらず *in vitro* および *in vivo* で測定)(Wolf et al., 1977; Tomasi et al., 1985; Testai & Vittozzi, 1986)。酸化経路、還元経路ともシトクロム P450(CYP)-依存性酵素活性化段階を経て進行する。酸化経路と還元経路のバランスは種、組織、用量、および酸素分圧によって異なる。無傷哺乳類では、酸素圧はおそらく還元経路のどのような重要な代謝をも排除する(Testai & Vittozzi, 1986; Ammann et al., 1998)。クロロホルムの酸化的脱塩素反応によりトリクロロメタノールが生成、さらにそれが自然に脱塩化水素し、ホスゲンが生成される(Mansuy et al., 1977; Pohl et al., 1977)。トリクロロメタノールの脱 塩化水素により塩酸 1 分子が、ホスゲンの加水分解によりさらに 2 分子が生成され、結果としてクロロホルムから二酸化炭素への変換中に 3 分子の塩酸が生

成されることになる。

求電子的代謝産物のホスゲンは、組織タンパクの求核部分と共有結合する(Pohl et al., 1980)。また、ほかの細胞内求核物質と相互作用し(Uehleke & Werner, 1975)リン脂質の極性頭部にある程度結合する(Vittozzi et al., 1991)。あるいは、水と反応し、二酸化炭素および塩酸を放出する(Fry et al., 1972; B.R. Brown et al., 1974; D.M. Brown et al., 1974)。ホスゲンとグルタチオン(glutathione)の相互作用により *S*-クロロカルボニルグルタチオン(*S*-chlorocarbonyl glutathione)が生成される。*S*-クロロカルボニルグルタチオンは、さらにグルタチオンと相互に作用して、ジチオ炭酸ジグルタチオニル(diglutathionyl dithiocarbonate) (Pohl et al., 1981)あるいはグルタチオンジスルフィド(glutathione disulfide)および一酸化炭素(Ahmed et al., 1977; Anders et al., 1978)を生成する。マウスの腎臓ミクロソームとグルタチオンをインキュベートすると、クロロホルムからのこれらの生成物が増加し、タンパク質への不可逆性結合および二酸化炭素へのさらなる代謝の低下がみられた(Smith & Hook, 1984)。クロロホルム濃度がそれほど高くない場合、還元性グルタチオンは本質的にはマウス肝臓ミクロソームとのインキュベートで生成されたすべてのクロロホルム代謝物質を捕捉・除去できる(Vittozzi et al., 1991)。ホスゲン代謝のマイナー経路の相対的な重要性は、グルタチオン、他のチオール、ヒスチジン・システインなどほかの求核物質をどの程度利用できるかによって決まる (Figure 2 参照)。

酸化的代謝は、重要な役割を果たしている CYP2E1(ヒトを含む哺乳類の肝臓に存在するエタノール起因のモノオキシゲナーゼイソ酵素系)とともに、低暴露におけるおそらく唯一の重要な *in vivo* 経路であり、酸化的代謝が毒性において重要な役割を果たしていることを入手できるデータが示している。クロロホルムから有毒代謝産物への代謝における CYP2E1 の主要な役割が、酵素誘発剤あるいは酵素抑制剤で処置した動物に対する試験のほかにも CYP2E1 欠損マウスにおける試験でも明らかにされた(Brady et al., 1989; Guengerich et al., 1991; Nakajima et al., 1995a,b; Constan et al., 1999; §8.8 も参照)。抗 CYP2E1 モノクロナールタンパクを用いた免疫阻害試験によって、CYP2E1I はアセトン処理ラットの肝臓ミクロソームにおいて低濃度(0.5 mmol/L)のクロロホルムで評価された代謝の 81%を担っていることが示された(Brady et al., 1989)。最大濃度 5 mmol /L のクロロホルムと *in vitro* でインキュベートされたラットおよびマウス肝細胞への毒性は、CYP2E1 抑制剤の添加あるいは低酸素分圧下では発現されず、毒性における酸化的代謝の重要性を強調している(Ammann et al., 1998)。ラットおよびマウスでの肝病変の局在分布は CYP2E1 およびグルタチオンの肝臓分布と相関している(Smith et al., 1979; Ingelman-Sundberg et al., 1988; Tsutsumi et al., 1989; Johansson et al., 1990; Dicker et al., 1991; Nakajima et al., 1995a,b)。

組織内クロロホルム濃度が低い場合は、マイナーな代謝になりやすいが、CYP2B1 もクロロホルムの代謝に関与する可能性がある(studies reviewed inEnvironment Canada & Health Canada, 2001)。しかしながら、組織内濃度が高い場合は(たとえば経口投与 0.5 ml/kg 体重の結果)、クロロホルムの肝毒性は非誘発のコントロールに比べ、CYP2B1 誘発剤のフェノバルビタール処理 Wistar ラットで著しく増強されたが、CYP2E1 誘発剤の *n*-ヘキサン処理ラットでは増強されなかった(Nakajima et al., 1995b)。

[^{14}C]クロロホルムに暴露したラットで、肝臓がもっとも代謝活性があり、次いで鼻および腎臓に活性が認められた。代謝活性は代謝産物の蓄積と相関性があった(Löfberg & Tjälve, 1986)。

7.2 PBPK モデリング

最初のクロロホルムに関する詳しい PBPK モデルでは、クロロホルムの代謝部位として肝臓および腎臓について別々に解析された。腎臓における最大代謝速度は肝臓での最大代謝速度を基準に評価され、代謝酵素の破壊および再合成を考慮するため条件が導入された(Corley et al., 1990)。このモデルは肝細胞毒性の解析を取り入れるため修正された(Reitz et al., 1990)。後に、Gearhart ら(1993)が、組織-血液分配係数を温度によって修正し、酵素破壊および再合成について解析する必要のないガス取込みを組み入れた。その後、ほかの研究者たちが、胃からだけでなく胃腸管からの吸収を組み入れ、胃内容排泄時間についても明らかにした (Dix et al., 1994; Dix & Borghoff, 1995)。1996 年、腎臓および肝臓のモデルコンパートメントが高代謝活性および低代謝活性領域に細分された (Lilly, 1996)。この取り組みと Dix & Borghoff (1995)の 2-コンパートメント吸収モデルを組み合わた結果が、"ハイブリッド"[4]種における最近の PBPPK モデルである(ILSI, 1997)。

カナダ保健省は、Brown ら(1997)の生理学的・解剖学的パラメータを用いて、イヌの PBPK モデルを作成した。ただし、代謝に関するパラメータはラットおよびヒトのパラメータの平均に基づくものである。肝臓の画分容積については、ILSI(1997)によってラットについて報告されたものと同じであると想定された(Environment Canada & Health Canada, 2001)。

カナダ保健省はヒトのモデルも作成した。生理学的パラメータは、推定呼吸量 23 m^3 空気/日に関連する肺換気量、心拍出量を除いて、Brown ら(1997)から得られたものである。ILSI (1997)は分配係数および速度定数の情報源として用いられた。肝臓の画分容積はラットのものと同一と想定され、腎臓は皮質対非皮質が 70:30 の割合で細分された。ヒトの代

[4] 人工繁殖動物種(ILSI, 1997; Environment Canada & Health Canada, 2001)

Table 5: PBPK model physiological and metabolic parameter values in rats, dogs, and humans.

	Rat (ILSI, 1997)	Rat (ILSI, 1997, modified)	Dog	Human
Weights				
Body (kg)	0.40	0.40	15.0	70.0
% of body weight				
Fat	0.063	0.124	0.145	0.2142
Kidney	0.0071	0.0073	0.0055	0.0044
Liver	0.0253	0.0366	0.0329	0.0257
Rapidly perfused	0.0439	0.0621	0.0836	0.0709
Slowly perfused	0.77	0.594	0.548	0.4368
Fractional tissue subvolumes				
Liver periportal	0.58	0.58	0.58	0.58
Liver centrilobular	0.42	0.42	0.42	0.42
Kidney cortical	0.76	0.76	0.73	0.70
Kidney non-cortical	024	0.24	0.27	0.30
Flows (litre/h)				
Alveolar ventilation (litre/h for 1-kg animal)	15.0	24.2	28.5	24.0
Cardiac output (litre/h for 1-kg animal)	15.0	14.4	30.9	16.5
% of cardiac output				
Fat	0.05	0.07	0.07	0.052
Kidney	0.25	0.141	0.173	0.175
Liver	0.25	0.183	0.297	0.227
Slowly perfused	0.19	0.336	0.277	0.249
Partition coefficients				
Blood/air	20.8	20.8	20.8	7.43
Fat/air	203	203	203	280
Kidney/air	11	11	11	11
Liver/air	21.1	21.1	17.0	17.0
Rapidly perfused/air	21.1	21.1	21.0	17.0
Slowly perfused/air	13.9	13.9	13.9	12.0
Metabolic constants				
V_{maxC} for liver (mg/h for 1-kg animal)	6.44	6.44	11.025	15.7
K_m for liver (mg/litre)	0.543	0.543	0.496	0.448
V_{maxC} for kidney (mg/h for 1-kg animal)	0.094	0.067	0.078	0.089
K_m for kidney (mg/litre)	0.543	0.543	0.496	0.448
Absorption rate constants for water (/h)				
k_{SL} (from stomach)	2.5	2.5	NA	5.0
k_{IL} (from upper gastrointestinal tract)	0.5	0.5	NA	0.0
k_{SI} (from stomach to upper gastrointestinal tract)	3.5	3.5	NA	0.0
Absorption rate constants for oil gavage (/h)				
k_{SL}	1.5	1.5	1.5	NA
k_{IL}	0.5	0.5	0.5	NA
k_{SI}	1.8	1.8	1.8	NA

謝パラメータは Corley ら(1990)によって報告されたように、*in vitro* においてヒト肝臓 8 サンプルで決定されていた。腎臓の速度定数は、Corley ら(1990)によって報告された *in vitro* での結果に基づいた、肝ミクロソーム画分においてみられた活性と、腎ミクロソーム画分においてみられた活性の関係に基づいており、Amet ら(1997)によって報告された、18 人のヒトの腎および肝ミクロソーム画分の CYP2E1 の既知 2 基質の代謝データによって裏づけられている。代謝用量に基づいているので、このモデルは、ヒトと(この場合ハイ

ブリッド)実験動物の間の代謝の相違を明らかにしている(Environment Canada & Health Canada, 2001)。

ヒトモデルからの結果は、クロロホルムをオリーブ油あるいはゼラチンカプセルに入れて男女の被験者に投与した、Fry ら(1972)の研究での総クロロホルム代謝産物および呼気
の
クロロホルムに関するデータと比較された。呼気中のクロロホルムは投与後 8 時間まで測定され、呼気中の未変化量の総割合は無限時間まで外挿によって計算された。経口摂取の単一コンパートメント解析を用いて行われたヒトモデルシミュレーションは、マルチコンパートメント解析を用いて推定したものより Fry ら(1972)の所見に近かった。したがって、ラットモデルにはマルチコンパートメント解析が必要であったが、ヒトに対する濃度の推定には経口摂取の単一コンパートメント解析が用いられた(Environment Canada & Health Canada, 2001)。 大気、水、および食物など考えられるすべての暴露源からの暴露の評価を可能にするためにこのモデルも修正された。暴露シナリオ(§11.1.3 参照)は 24 時間の範囲内でモデル化され、10 分間のシャワー1 回、就寝前の短時間の洗い物、食物および水それぞれの消費時間からの吸入・経口・経皮暴露、ならびにさまざまな濃度のクロロホルム吸入を含んでいた。(ICF Kaiser, 1999; Environment Canada & Health Canada, 2001)。

PBPK モデルを実行するために用いるラット、イヌ、およびヒトの生理学的および代謝パラメータの値を Table 5 に掲載する。クロロホルムの腎臓における V_{max}、あるいは肝臓や腎臓への親和性(K_m)の相違はわずかであるが、肝臓における代謝の V_{max} はヒトのほうがラットより 2 倍速い(Table 5 参照)。詳細は原資料(Environment Canada & Health Canada, 2001)で得られる。

8. 実験哺乳類および *in vitro* 試験系への影響

8.1 単回暴露

クロロホルムはラットに対する中程度の急性経口毒性物質であり、LD_{50} は 0.45～2.0 g/kg 体重である(Kimura et al., 1971; Chu et al., 1980)。マウスでは 36～1366 mg/kg 体重と急性毒性値 LD_{50} は広範囲に及ぶ(IPCS, 1994a)。げっ歯類では急性経口投与によって昏睡および麻酔状態を引き起こした(IPCS, 1994a)。10 および 90 mg/kg 体重をそれぞれ強制経口投与された雄 Osborne-Mendel ラットおよび F344 ラットで腎細胞増殖の亢進がみられた(Templin et al., 1996a)。雄 F344 ラットでは、急性強制経口投与後の肝障害を示

す血清酵素の変化に対する無毒性量(NOAEL)および最小毒性量(LOAEL)はそれぞれ 30 mg/kg 体重および 60 mg/kg 体重と設定された(Keegan et al., 1998)。0、67、135、または 338 mg/kg 体重をオリーブ油中強制経口投与された雄 Wistar ラットで、用量依存的に肝小葉中心領域の壊死肝細胞数が増加し、血漿アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALAT)値が有意に上昇した(Nakajima et al., 1995b)。250 mg/kg 体重を強制経口投与されたラットでは、肝臓および腎臓に変化がみられた(Torkelson et al., 1976)。150 mg/kg 体重を強制経口投与された雄 B6C3F1 マウスは、肝臓および腎臓に細胞増殖を生じ、腎臓には重度の壊死もみられた(Gemma et al., 1996)。240 mg/kg 体重を単回強制投与された雄マウスで投与 48 時間後に肝壊死がみられた(Reitz et al., 1982)。66 mg/kg 体重を胃内投与された雄マウスに投与 4 日後小葉中心のわずかな腫大がみられた(Moore et al., 1982)。90 mg/kg 体重をコーン油中強制経口投与後の F344 ラットおよび Osborne-Mendel ラットに、鼻腔の損傷および上皮細胞増殖がみられた(Templin et al., 1996a)。

ラットの吸入 LC_{50}(6 時間暴露)は 9.2 g/m^3 と報告されている(Bonnet et al., 1980)。6 時間暴露した F344 ラット(各濃度雌雄 10 匹ずつ)では、濃度 5 g/m^3 まで死亡例はみられなかったが、10 g/m^3 で 20 匹中 17 匹が死亡した Kasai et al., 2002)。中枢神経の機能低下が急性吸入毒性のおもな症状であり、2.1 g/m^3 に 4 時間吸入暴露したラットで有意な半麻酔状態が認められた(Frantík et al., 1998)。

雌 OF1 マウスでは、吸入 LC_{50}(6 時間暴露)は 6.2 g/m^3 と報告されている(Gradiski et al., 1978)。10 匹の雌 BDF1 マウス群は 6 時間暴露で濃度 2.5 g/m^3 までは生存したが、40 g/m^3 で死亡し、肝小葉中心壊死を呈していた。雄マウスはクロロホルムの急性吸入毒性の影響をはるかに受けやすく、59 mg/m^3 および 120 mg/m^3 に 6 時間単回暴露後、それぞれ 10 匹中 1 匹および 10 匹中 8 匹が死亡した。雄の死因は腎臓の近位尿細管壊死であった(Kasai et al., 2002)。

1 g/kg 体重を 24 時間被覆適用後のウサギに尿細管変性がみられたが、肝臓の肉眼的変化はみられなかった(Torkelson et al., 1976)。

8.2 短期暴露

8.2.1 経口

34 mg/kg 体重/日を 4～5 日間コーン油中強制経口投与された雌 F344 ラットで、嗅上皮の病変および上皮細胞増殖、鼻腔の変化が認められ、投与 3 週間後にはこれらの影響は 100 mg/kg 体重/日で認められたが、34 mg/kg 体重/日では認められなかった(Larson et al.,

1995a; Dorman et al., 1997)。

37 mg/kg 体重/日を 14 日間強制経口投与されたマウスで、腎臓の組織変化(石化、過形成、および巨大細胞)および肝臓の組織変化(炎症)がみられた(Condie et al., 1983)。

8.2.2 吸入

F344 ラットおよび BDF1 マウス(各濃度各種雌雄 10 匹ずつ)を 0、2.5、5、10、20、または 40 g/m^3 に 6 時間/日・5 日間/週・2 週間暴露させた。ラットは 5 g/m^3 までは生存したが 10 g/m^3 以上ではすべて 2 日以内に死亡した。雌マウスは 2.5 g/m^3 では生存したが、5 g/m^3 では 4 日後から死亡が認められた。雄マウスでは、2.5 g/m^3 の 1 匹と 5 g/m^3 の 1 匹の、計 2 匹のみ生存した。死亡したラットは肺にうっ血と炎症がみられ、心血管系毒性の結果として生じたものと考えられた。マウスの死因は、雄は近位尿細管の壊死、雌は肝小葉壊死であった。生存ラットには近位尿細管および肝中心領域の空胞形成のほかにも嗅上皮の落屑、萎縮、配列不整および鼻腔固有層浮腫が認められた。生存雄マウスには近位尿細管壊死､肝の軽度の腫脹と空胞形成､および嗅上皮の萎縮と呼吸上皮化生がみられた。生存雌マウスには肝臓の壊死と空胞形成および嗅・呼吸上皮の壊死と配列不整がみられたが、腎臓に変化はなかった(Kasai et al., 2002)。

雄 F344 ラットへの 9.8 mg/m^3・6 時間/日・4 日間の吸入暴露後、鼻部篩骨域の細胞増殖が認められた。49 mg/m^3 で微小～軽度の病変がみられた(Templin et al., 1996b)。雄 F344 ラットへの 50 mg/m^3・6 時間/日・7 日間の連続暴露後、下鼻甲介内の中心、近位、末端領域の細胞増殖の亢進、中鼻甲介の組織学的変化など、鼻甲介の病変がみられた(Larson et al., 1994a; Mery et al., 1994)。

雌 B6C3F1 マウスへの 10 mg/m^3・6 時間/日・7 日間/週・3 週間の暴露で、鼻甲介に細胞増殖がみられたが、1.5 mg/m^3 ではみられなかった(Larson et al., 1996)。雌 B6C3F1 マウスへの 49 mg/m^3・6 時間/日・7 日間の連続暴露で、鼻腔の下鼻甲介の細胞増殖の亢進がみられた(Mery et al., 1994)。雌 B6C3F1 マウスへの 6 時間/日・7 日間の連続暴露で、1500 mg/m^3 までは鼻腔に微小損傷はみられなかった。細胞増殖については調べていない(Larson et al., 1994a)。

標的器官の細胞毒性および再生細胞増殖を調べるためにとくにデザインされた調査については、§8.8 に簡単に述べる(実験について詳述せず)。

8.3 中期暴露

8.3.1 経口

B6C3F1マウスへの60 mg/kg体重/日以上(ほかの投与量は130mg/kg体重/日および270 mg/kg体重/日)・90日間のコーン油中強制経口投与で、雌雄に肝重量の増大、肝での脂質の蓄積および空胞形成がみられた。担体が Emulphor の場合、最小濃度(60 mg/kg 体重/日)でみられた唯一の影響は、雌での肝重量増大であった。クロロホルムに関連した腎臓の組織病理学的変化はみられなかった(Bull et al., 1986)。

雌雄の CD1 マウス 7～12 匹のグループへの 0、50、125、または 250 mg/kg 体重/日・90 日間の強制経口投与で、すべての濃度において、肝重量の増大および肝ミクロソーム活性の上昇(雌)、肝細胞変性や限局性リンパ球集簇巣など肝組織の顕微鏡的変化、および炎症細胞の管間集簇など腎組織の顕微鏡的変化(雌雄)がみられた(Munson et al., 1982)。

雌 B6C3F1 マウスへの 90 日間飲水投与で、263 mg/kg 体重/日において肝脂肪変化がみられた(US EPA, 1980)。

雄 Osborne-Mendel ラットへの 90 日間飲水投与で、81 mg/kg 体重/日において肝コレステロール値の有意な上昇がみられた(US EPA, 1980)。

雌雄のビーグル犬への 15 または 30 mg/kg 体重/日(ゼラチンカプセル練り歯磨き中)・6 日/週・7.5 年間の投与で、肝臓への影響が報告されている。投与終了後 19～23 週に殺処分した。プロトコルには練り歯磨きコントロール、未処置コントロール、クロロホルム非含有の別の練り歯磨きコントロールが含まれた。各群は雌雄それぞれ 8 匹であったが、練り歯磨きコントロール群のみ例外で雌雄それぞれ 16 匹であった。高濃度では投与 6 週で血清アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALAT)値が有意に上昇した。低濃度では血清 ALAT 値の有意な上昇は 34 週以降にみられた。試験の最後には両用量群に肝臓の“脂肪嚢胞”が認められた。雄では、中等度もしくは著しく重度の脂肪嚢胞発生率は、練り歯磨きコントロール、低濃度、および高濃度でそれぞれ 1/15、6/7、および 6/7 であった。同様に雌では 0/12、3/8、および 7/8 であった(Table 6 参照)。投与による腫瘍の発生増加はみられなかった(Heywood et al., 1979)。脂肪嚢胞は肝細胞機能の軽度の慢性障害を反映する可能性がある。肝細胞はリポタンパク、トリグリグセリドの合成および輸送、および脂肪酸の代謝にきわめて重要な役割を果たす。これら脂肪嚢胞(肉芽腫)は老犬によくみられ、

Table 6: Fatty cyst incidence in dog study.[a]

Group	No. of dogs examined histologically	No. of dogs with fatty cysts	
		Occasional/minimal	Moderate/marked
Males			
30 mg/kg body weight per day	7	1	6
15 mg/kg body weight per day	7	0	6
Vehicle control	15	7	1
Untreated	7	2	0
Alternative toothpaste without chloroform	8	2	0
Females			
30 mg/kg body weight per day	8	0	7
15 mg/kg body weight per day	8	2	3
Vehicle control	12	3	0
Untreated	5	1	0
Alternative toothpaste without chloroform	7	0	0

[a] From Heywood et al. (1979).

脂肪蓄積細胞の破裂や癒合後におそらく形成される。続いて起こるマクロファージ反応の結果、類洞、門脈三管間質、肝細静脈に、泡沫(化したマクロファージの)凝集が、おそらく脂肪破壊による多核巨細胞およびセロイド色素を伴ってみられる(D. Malarkey, personal communication to Health Canada, 2003)。**[LOAEL = 15 mg/kg 体重/日]**

8.3.2 吸入

ラットへの(各濃度群雌雄各 10～12 匹；系統不明)120、240、または 420 mg/m^3・7 時間/日・5 日/週・6 ヵ月間の吸入暴露で、全濃度群の雄に相対的腎重量の増大、腎尿細管上皮の混濁腫脹、および肝に限局性壊死がみとめられた(Torkelson et al., 1976)

雌 B6C3F1 マウスへの 1.5、9.8、49、147、または 441 mg/m^3・6 時間/日・13 週間に及ぶ吸入暴露試験で、鼻腔への影響がみとめられた。3 週間後、9.8 mg/m^3 以上で鼻甲介固有層のわずかな増殖亢進、49 mg/m^3 以上で軽度～わずかな鼻腔病変が認められた。13 週間後、49 および 147 mg/m^3 では鼻腔への影響はわずかであったが、441 mg/m^3 では細胞増殖が持続していた(Larson et al., 1996)。**[LOAEL = 49 mg/m^3]**

BDF1 マウス(各暴露濃度群雌雄各 10 匹)への 0、59、123、245、490、または 980 mg/m^3・6 時間/日・5 日/週・13 週間の吸入暴露で、雌はすべて生き残ったが、雄にはすべての暴露群で成育遅延および死亡が認められた。980 mg/m^3 暴露群で、肝臓および腎臓の重量が増大した。雄マウスは、全濃度(59 mg/m^3 以上)で腎臓(近位尿細管壊死)および鼻腔(骨肥厚と嗅上皮の変性)への影響がみられた。雌マウスは、全濃度で鼻腔毒性(骨肥厚、嗅上皮お

よび呼吸上皮の好酸性変化)が認められた。245 mg/m^3 までは雌雄とも肝臓は正常であったが、490 mg/m^3 群雌で細胞異型、980 mg/m^3 群で腫脹あるいは壊死がみられた(Kasai et al., 2002)。**[LOAEL = 59 mg/m^3]**

雄 F344 ラットへの 6 時間/日・13 週間の連日暴露で、鼻腔組織の軽度の変性が 9.8 mg/m^3 で、骨成長の増進を伴う細胞増殖の亢進が 49 mg/m^3 で認められた。147 mg/m^3 以上では、腎臓皮質近位尿細管の上皮細胞増殖が亢進した。1470 mg/m^3 では、細胞増殖など肝臓障害が認められた(Templin et al., 1996b)。**[LOAEL = 9.8 mg/m^3]**

F344 ラット(各暴露群雌雄各 10 匹)への 0、123、245、490、980、または 1960 mg/m^3・6 時間/日・5 日/週・13 週間の吸入暴露で、245 mg/m^3 以上で成長抑制および肝臓と腎臓の重量増大がみられた。鼻腔が最も影響を受けやすい標的組織で、すべての濃度で気道上皮の石化および萎縮、980 mg/m^3 以上で壊死がみられた。245 mg/m^3 までは腎臓、肝臓ともに顕微鏡的に正常であったが、490 mg/m^3 で腎臓の空胞形成、肝細胞崩壊/肝細胞喪失がみられた(Kasai et al., 2002)。**[LOAEL = 123 mg/m^3]**

8.4 長期暴露と発がん性

8.4.1 発がん性

クロロホルムは、雌雄のマウスではコーン油を担体とする強制経口投与によって、あるいは雄マウスでは練り歯磨きを担体とする経口投与によって、肝腫瘍を誘発したが、飲水投与あるいは吸入暴露した場合は、マウスの肝臓に対する発がん性はみられなかった。雄マウスへの吸入暴露あるいは練り歯磨きを担体とする経口暴露(4 系統のうち 1 系統において)によって腎腫瘍を誘発したが、コーン油を担体とした場合は誘発しなかった。雌マウスにはクロロホルム誘発の腎臓がんは認められなかった。

クロロホルムをコーン油担体および飲水投与された雄ラットの 1 系統で腎腫瘍が誘発されたが、飲水投与した別の系統のラットでは誘発されなかった。クロロホルムは、吸入試験あるいは練り歯磨き中経口投与では発がん性は認められなかった。雌ラットにはクロロホルム誘発の腎臓がんは認められなかった。クロロホルムはコーン油による投与あるいは吸入暴露では肝腫瘍を誘発しなかったが、雌のみ 1、雄のみ 1 の計 2 件の飲水投与試験で、限定的だが肝臓における発がん性の証拠が認められた。

これらの報告には腫瘍標的器官の非腫瘍性病変に関する明確な記述はない。その結果、研究活動は標的器官において長期試験で活性を示した用量での早期の変化を調査する段階

に入っている。さらに、Jorgenson ら(1985)の腎臓組織のスライドについて再評価が行われており、NCI(1976)の雄ラットからの腎組織についてごく限られた再評価も取り入れられている。

8.4.2 肝臓

雌雄の B6C3F1 マウスへのクロロホルム 138 mg/kg 体重/日以上(コーン油担体)・78 週間の強制経口投与によって、肝腫瘍が誘発された(NCI, 1976)が、雌だけへの最大で 1800 mg/L・104 週間(最大 263 mg/kg 体重/日)の飲水投与では誘発されなかった(Jorgenson et al., 1985)。雌雄の ICI マウスあるいは雄 V C57BL、CBA、または CF1 マウスへ 60 mg/kg 体重/日までは、6 日/週・80 週間・強制経口投与(練り歯磨き中)で、肝腫瘍の発生率の有意な上昇はみられなかった(Roe et al., 1979)。441 mg/m^3・6 時間/日・5 日/週・104 週間の吸入暴露によって、肝腫瘍(腺腫および癌腫の合計)の統計的にわずかに有意な上昇が雌 BDF1 マウスでみられたが、雄ではみられなかった(Yamamoto et al., 2002)。

クロロホルムは、雌雄の Osborne-Mendel ラットへの最大濃度 200 mg/kg 体重/日まで 111 週間の強制経口投与(NCI, 1976)、雄 Osborne-Mendel ラットへの最大濃度 160 mg/kg 体重/日までの飲水投与(Jorgenson et al., 1985)、雌雄 Sprague-Dawley ラットへの最大濃度 165 mg/kg 体重/日まで 80 週間の練り歯磨き中経口投与(Palmer et al., 1979)、または雌雄 F344 ラットへの 441 mg/m^3、6 時間/日・5 日/週・104 週間の吸入暴露(Yamamoto et al., 2002)では、肝腫瘍を誘発しなかった。Wistar ラットへの飲水投与(＞100 mg/kg 体重/日、185 週間まで)で、雄は肝腫瘍を発現しなかったが、雌では、おそらく前腫瘍性病変を示す、異型細胞巣の統計的に有意な増加が認められた。しかし、コントロール群が 22 匹と少数で、コントロール群の生存期間が 145 週であったのに対して暴露された雌では 185 週まで生存したことから、遅発腫瘍の発生率を比較するための根拠がなく、この所見とクロロホルムの関連性は判別しにくい(Tumasonis et al., 1987)。最近の要約によると、800 mg/L を 100 週間、飲水投与された 1 群の雄 F344 ラット 78 匹でがんは誘発されていないが、最大用量(1600 mg/L 水、おそらく約 160 mg/kg 体重/日)では、ラットの腺腫やがん腫などの肝細胞腫瘍の発生率が上昇した(17%対 5.1%；P ＜0.05)。この結果の有意性はデータによる提示が限られているので明確にできない(DeAngelo et al., 2003)。

雌雄の野生型およびトランスジェニック(*ras*H2-Tg)CB6F1 マウスに 5 日/週・26 週間・コーン油中強制経口投与した試験で、濃度 140 mg/kg(雄)または 240 mg/kg(雌)までは発がん能の証拠はみられなかった。肝臓を含むさまざまな器官が検査され、トランンスジェニックおよび非トランスジェニックマウスに肝細胞の腫脹および空胞形成が、雌マウス(トランスジェニックおよび野生型)に最大用量で肝細胞増殖巣発生率の上昇がみられた

(Sehata et al., 2002)。別の試験で、トランンスジェニック(Tg.AC 半接合体)マウスへの同用量・5 日/週・13 週間・コーン油中強制経口投与で、肝臓に V-Ha-*ras* 遺伝子の発現は誘発されなかったが、肝組織損傷および細胞増殖を示す証拠が認められた(Delker et al., 1999)。(これらトランスジェニックマウスのモデル試験は、この種の発がん性化学物質のプロトタイプモデル発がん物質としてクロロホルムを用いて、主として“げっ歯類の肝臓および腎臓に対する非遺伝毒性細胞毒性の発がん物質”の腫瘍原性を証明するバイオアッセイとしての適合性／妥当性を検査するために実施された。)

8.4.3 腎臓

雄 BDF1 マウスへの 147 もしくは 441 mg/m^3・6 時間/日・5 日/週・104 週間の吸入暴露によって、尿細管細胞がんが誘発された。 最小濃度の 25 mg/m^3 では明確な反応はみられなかった(Yamamoto et al., 2002)。雄 ICI マウスへの 60 mg/kg 体重/日・80 週間・練り歯磨き担体中投与によって、悪性副腎腫と良性皮質腺腫が混在して誘発された(Roe et al., 1979)。雌雄 B6C3F1 のマウスへの最大濃度 477 mg/kg 体重/日まで・78 週間のコーン油中強制経口投与(NCI, 1976)、雌 B6C3F1 マウスへの最大濃度 263 mg/kg 体重/日まで・104 週間の飲水投与 (Jorgenson et al., 1985)、雌 BDF1 マウスへの最大濃度 441 mg/m^3 まで・104 週間の吸入暴露(Yamamoto et al., 2002)、または雌 ICI、雄 C57BL、CBA、CF/1 マウスへの 60 mg/kg 体重/日・80 週間・練り歯磨き中投与(Roe et al., 1979)では、腎腫瘍は引き起こされなかった。

クロロホルムは、雄 Osborne-Mendel ラットへの 180 mg/kg 体重/日・111 週間のコーン油中強制経口投与で腎上皮腫瘍(NCI, 1976)、雄 Osborne-Mendel ラットへの 1800 mg/L・104 週間の飲水投与(160 mg/kg 体重/日)で尿細管細胞腺腫および腺がん(Jorgenson et al., 1985; Table 7 参照)を誘発した。雄 F344 ラットへの最大濃度 1600 mg/L まで・飲水投与(おそらく約 160 mg/kg 体重/日)・100 週間(DeAngelo et al., 2003)、雌 Osborne-Mendel ラットへの最大濃度 200 mg/kg 体重/日まで・111 週間コーン油中投与(NCI, 1976)、雌雄 F344 ラットへの最大濃度 441 mg/m^3 まで・6 時間/日・5 日/週・104 週間の吸入暴露(Yamamoto et al., 2002)、雌雄 Wistar ラットへの最大濃度 2900 mg/L までの 185 週に及ぶ飲水投与(Tumasonis et al., 1987)、雌雄 Sprague-Dawley ラットへの最大濃度 165 mg/kg 体重/日まで・80 週間練り歯磨き中投与(Palmer et al., 1979)によって、腎臓がんは引き起こされなかった。

要約のみが確認できた試験で、トランスジェニック p53$^{+/-}$(変異原性発がん物質感受性)および p53$^{+/+}$野生型マウスの雄雌それぞれに、最大濃度 140 または 240 mg/kg 体重/日までのコーン油中強制投与を 26 週間に及び実施したところ、雄では尿細管の再生・増生が

認められたが、腎臓がん発生率の上昇はみられなかった(Gollapudi et al., 1999)。雌雄の野生型および CB6F1 トランンスジェニック(*ras*H2-Tg)CB6F1 マウスへ最大濃度 140 mg/kg 体重/日(雄)または 240mg/kg 体重/日(雌)まで・5 日/週・26 週間のコーン油中強制経口投与した別の試験で、発がん性の証拠はみられなかった。腎臓を含むさまざまな器官が検査されている(Sehata et al., 2002)。トランスジェニック(Tg.AC 半接合体)マウスへ、同用量・5 日/週・13 週間のコーン油中強制経口投与した別の試験で、腎臓中に V-Ha-*ras* 遺伝子の発現は誘発されていなかったが、雄に腎組織損傷と細胞増殖の証拠が認められた(Delker et al., 1999)。

発がん性に関する証拠が最小濃度あるいは最小用量でみられ、ヒトの場合と同様の暴露に関わるバイオアッセイは、Jorgenson ら(1985)の試験である。雄 Osborne-Mendel ラットへクロロホルム 0、200、400、900、または 1800 mg/L を 2 年間飲水投与した。グループサイズはそれぞれ 330、330、150、50、および 50 匹で、時間加重平均 1 日摂取量はそれぞれ 0、19、38、81、および 160 mg/kg 体重/日であった。50 匹の対応コントロール群には 1800 mg/L 群と等量の飲水(クロロホルム非含有)を与えた。Environment Canada & Health Canada (2001)によると、臨床化学検査でコントロール群の腎機能障害、200 および 400 mg/L 群の軽度の腎機能障害が判明したが、900 および 1800 mg/L 群では障害は見られなかった。このことは、随意摂取(カロリー過多)の結果としてのコントロール群の重度の慢性腎症、および飲水量低減の結果としての高用量群の摂餌量低減に対する防護作用と一致する。これらの結果と一致しているのは、対応コントロール群での致死率低下であり、致死率は暴露濃度に反比例していた。臓器重量の記載はない。唯一明白な用量依存性有害作用は尿細管細胞の腺腫および腺がんの発生率上昇で, 高用量では合計発生率は有意に上昇しており(P<0.01)、0、19、38、81、および 160 mg/kg 体重/日に対する合計発生率はそれぞれ 4/301、4/313、4/148、3/48、7/50 であった(P<0.001 傾向分析)。対応コントロール群では 1/50 であった (Jorgenson et al., 1985)。

この試験の腎組織が顕微鏡を用いて再評価され、1800 mg/L 群では 6、12、18、および 24 ヵ月に 6 ヵ月の 1 匹を除きすべてのラットで、900 mg/L 群では 18 および 24 ヵ月に半数で近位尿細管上皮細胞の損傷が確認されたが、他の群では確認されなかった。わずかな好塩基球の増加、細胞質空胞化、巨大核、核大小不動、核の密集、軽度の尿細管過形成などの変化がみられた。細胞毒性尿細管病変、たまにみられる異型尿細管過形成巣、初期尿細管腫瘍はすべて皮質～深層に限局していた(Hard & Wolf, 1999; H ard et al., 2000) (Table 7 参照)。

同様の変化が同じ系統の雄での NCI (1976)の強制経口投与試験でみられたが、組織系統だった再評価は可能ではなかった。NCI の試験でみられた腎腫瘍は、Jorgenson ら(1985)

Table 7: Histopathology in kidneys of male Osborne-Mendel rats in drinking-water bioassay of Jorgenson et al. (1985).[a]

Group	Exposure time (months)	Number of rats examined for cytotoxicity	Percentage of rats with lesions[b]	Percentage of rats with renal adenomas and carcinomas
Untreated control	24	24	0	1.3
	18	19	0	
	12	20	0	
	6	20	0	
Water-matched control	24	0		2.0
	18	18	0	
	12	19	0	
	6	19	0	
200 mg/litre	24	0		1.3
	18	16	0	
400 mg/litre	24	40	0	2.7
	18	19	0	
900 mg/litre	24	48	50	6.3
	18	10	58	
	12	20	33	
	6	20	25	
1800 mg/litre	24	46	100	14.0
	18	17	100	
	12	18	100	
	6	20	95	

[a] From Hard et al. (2000).
[b] Lesions indicative of tubule injury included nuclear crowding, cytoplasmic vacuolation, and faint basophilia in the mid to deep cortex.

の飲水試験でみられたものよりも直径で少なくとも 2 倍の大きさだった(Hard et al., 2000)。

8.4.4 鼻

F344 ラットへの 0、49、147、または 441 mg/m^3、BDF1 マウスへの 0、25、147、または 441 mg/m^3 の 6 時間/日・5 日/週・104 週間暴露の長期試験において、すべての暴露濃度で鼻甲介(ラット)および鼻中隔(マウス)の骨化、嗅上皮の委縮および呼吸上皮化生が報告されている(Yamamoto, 1996; Yamamoto et al., 2002)。鼻腔内での明白な毒性および細胞増殖亢進にもかかわらず、この試験を含むいかなる長期試験においても、鼻の腫瘍は認められていない。

雌雄の野生型およびトランスジェニック(*ras*H2-Tg)CB6F1 マウスへ最大濃度 140 mg/kg 体重/日(雄)または 240 mg/kg 体重/日(雌)まで・5 日/週・26 週間のコーン油中強制経口投与した試験で、発がん能の証拠はみられなかった。鼻腔を含むさまざまな器官が調べられた(Sehata et al., 2002)。

8.4.5 甲状腺

雌雄の Osborne-Mendel ラットへ平均 0、100、または 200 mg/kg 体重・5 日/週・78 週間強制経口投与し、111 週間後殺処分した。雌でそれぞれ 1/19、8/49、および 10/46 と甲状腺腫瘍発生率の上昇がみられたが、統計的に有意ではなかった(NCI, 1976)。

8.4.6 イニシエーション／プロモーション試験

クロロホルムには腫瘍のイニシエーション作用がないことを示唆する試験が 2～3 確認できる。たとえば、雄の Sprague-Dawley ラットおよび B6C3F1 マウスへの単回経口投与(180 または 360 mg/kg 体重)しても、肝臓においてイニシエーション作用は示されなかった。フェノバルビタールをプロモーターとして用いた(Pereira et al., 1982; Herren-Freund & Pereira, 1986)。

クロロホルム 0.6～1.8 g/L・51～52 週間の飲水投与で、前もってジエチルニトロソアミンまたはエチルニトロソ尿素でイニシエートされたマウスの肝あるいは肺がんをプロモートしなかった(Pereira et al., 1985; Klaunig et al., 1986)。ジエチルニトロソアミンまたはエチルニトロソ尿素をイニシエーターとした B6C3F1 マウスおよび雄 Sprague-Dawley ラット(ラットでは肝部分切除)へのクロロホルム 1.8 g/L・48 週間の飲水投与によって、肝臓の腫瘍はプロモートされなかった(Herren-Freund & Pereira, 1986)。

ラットでの 1 試験によって、オイルを担体としたクロロホルムは肝腫瘍の発生をプロモートする恐れがあることが示唆されている。ジメチルニトロソアミンでイニシエートされた雌 Sprague-Dawley ラットへ、クロロホルム 25～400 mg/kg 体重を週 2 回・11 週間・ オリーブ油中強制経口投与したところ、肝臓中に ATPase 陰性、gamma-グルタミントランスペプチターゼ(GGTase)陽性、およびグリコーゲン貯蔵細胞巣の用量依存的増加が認められた(Deml & Oesterle, 1985, 1987)。プロモーション作用に関するそれ以前の調査では、プロモーターとしてクロロホルムを 180 mg/kg 体重(トリカプリリン中)・週 2 回・53 日間投与したところ、GGTase 陽性巣の少量だが統計的に有意な増加が認められた(Pereira et al., 1982)。

F344 ラットへの 900 または 1800 mg/L・39 週の飲水投与では、ジメチルヒドラジンにイニシエートされた胃腸腫瘍が有意に減少した(Daniel et al., 1989)。1800 mg/L・30 日間の飲水投与では、B6C3F1 マウスの近位結腸において、胃腸管の 3 つの発がん物質であるベンゾ*(a)*ピレン、1,2-ジメチルヒドラジン、および メチルニトロソ尿素の核異常誘発を抑制した(Daniel et al., 1991)。ほかの試験では、雄 F344 ラット肝臓において、ジエチルニ

トロソアミンでイニシエートされ、フェノバルビタールでプロモートされた GGTase 陽性および胎盤型グルタチオン-S-トランスフェラーゼ陽性巣の発生を抑制することが明らかにされた(Reddy et al., 1992)。クロロホルムは、若齢マウスにおいてエチルニトロソ尿素でイニシエートされた肝臓の腫瘍成長も抑制するとの報告がある(Pereira et al., 1985)。

これらのイニシエーション／プロモーション試験におけるイニシエーション作用の欠落は、クロロホルムは遺伝毒性のない物質であるという証拠の重み付けによる結論を裏付けている(§8.5 参照).

8.5 遺伝毒性および関連エンドポイント

クロロホルムはさまざまな短期間スクリーニング試験で遺伝毒性について広く研究されている。入手できるデータがより詳細に表形式で原資料に示されている(Environment Canada & Health Canada, 2001)。

クロロホルムには、*Salmonella typhimurium* および *Escherichia coli* における数多くの試験のうちの大半で変異原作用の証拠は認められていないが、2 つの論文でそれぞれ *Salmonella* 4 株(Varma et al., 1988)および *Salmonella* 1 株(Pegram et al., 1997)の毒性／致死濃度における弱い変異原作用が報告されている。明らかにクロロホルムは培養ヒトリンパ球で染色体異常を引き起こさなかった。姉妹染色分体交換(SCE)試験では結果はまちまちであったが、 不定期 DNA 合成(UDS)試験ではさまざまなヒトおよび実験動物細胞における変異原作用の証拠は一貫して認められなかった。*in vivo* では、4 件のマウス骨髄小核試験のうち 3 件で明らかに認められず(Gocke et al., 1981; Salamone et al., 1981; Tsuchimoto & Matter, 1981)、4 件目ではあいまい(Agustin & Lim-Sylianco, 1978)であった。ラットの腎臓(Robbiano et al., 1998)および肝臓(Sasaki et al., 1998)で小核形成、ラットの骨髄(Fujie et al., 1990 で染色体損傷(異常)を誘発した。ハムスターの骨髄染色体異常試験も弱い作用の証拠を示した(Hoechst, 1987)。ラットの肝臓および腎臓(Pereira et al., 1982)、マウスの腹腔内投与後の腎臓、肺、肝臓、および胃(Colacci et al., 1991)で弱い DNA 結合が報告され、マウスの精子異常についての結果はさまざまで(Topham, 1980, 1981; Land et al., 1981)、マウス骨髄では SCE が陽性であった(Morimoto & Koizumi, 1983)。ラットおよびマウスの肝細胞の USD、マウス肝臓の DNA 付加物、メチル化、鎖切断と修復、ラット肝臓と腎臓の DNA 損傷など、ほかのエンドポイントに関する *in vivo* での結果は否定的であった(Petzold & Swenberg, 1978; Diaz-Gomez & Castro, 1980; Mirsalis et al., 1982; Reitz et al., 1982; Larson et al., 1994d; Potter et al., 1996; Butterworth et al., 1998; Pereira et al., 1998)。

要するに、大部分の試験はクロロホルムの遺伝毒性を確認していない。数少ない非標準的試験の結果によって、ラットでの弱い陽性反応の可能性が示唆されている。しかし概して、証拠の重みから、クロロホルムは重大な遺伝毒性をもたないことがわかる。

8.6 生殖毒性

マウス、ラット、およびウサギでの経口暴露を含む生殖・発生毒性試験が確認された。催奇形性の明らかな証拠はなく、胎仔への影響は母体毒性の用量レベルでのみ観察されている。

8.6.1 生殖能への影響

CD-1 マウスの継続繁殖試験において、F_1 世代では生殖能または生殖への影響はなかった。これらのマウスは *in utero* および授乳中(母獣への処置のため)に暴露され、次いで青年期には強制経口投与 41 mg/kg 体重/日(コーン油中)によって暴露された。この用量で、雌で肝細胞の変性が認められた(EHRT, 1988)。**[NOAEL(生殖毒性) = 41 mg/kg 体重/日；LOAEL(毒性) = 41 mg/kg 体重/日]**

8.6.2 発生毒性

Sprague-Dawley ラットへの 50 mg/kg 体重/日・妊娠 6～15 日・強制経口投与(コーン油中)で、摂餌量減少、成長遅滞、脂肪肝が認められた。126 mg/kg 体重/日では、胎仔体重の減少がみられたが、催奇形作用は認められなかった(Thompson et al., 1974)。**[NOAEL(発生毒性) = 126 mg/kg 体重/日；LOAEL(母体毒性) = 50 mg/kg 体重/日]**

同様の試験において、100 mg/kg 体重/日で母体毒性(成長遅滞および肝重量増大)および軽度の胎仔毒性(低体重)が引き起こされたが、400 mg/kg 体重/日では催奇形性はみられなかった(Ruddick et al., 1983)。**[NOAEL(発生毒性) = 400 mg/kg 体重/日；LOAEL(母体毒性)= 100 mg/kg 体重/日]**

最大濃度 50 mg/kg 体重/日まで・妊娠 6～18 日・強制経口投与(コーン油中)では、最大濃度で母獣の体重増加量の減少が認められたが、生殖あるいは胎仔発生への用量依存性の影響は認められなかった(Thompson et al., 1974)。**[NOAEL(発生毒性) = 50 mg/kg 体重/日；LOEL (母体最小作用量)= 50 mg/kg 体重/日]**

確認された少数の吸入試験全体の結果はかなり一致している。Sprague-Dawley ラット

への 0、150、450、または 1430 mg/m^3 の暴露では、最小濃度で母獣の有意な体重減少が認められた(Schwetz et al., 1974)。[5]**[LOEL(母体) = 150 mg/m^3]**　Wistar ラットへの同一の暴露では、150 mg/m^3 で摂餌量の減少および母獣の体重増加量の減少が認められた(Hoechst, 1988)。**[LOAEL(母体) = 150 mg/m^3]**　どちらの試験においても 150 mg/m^3 で胎仔の頭殿長の有意な減少が認められたが、前の試験では用量依存性ではなかった。Schwetz ら(1974)によって骨格および内臓への有害影響が報告されていたが、用量依存性ではなく、催奇形性は認められていない(Hoechst, 1988)。より低い濃度で繰り返された試験では、50 mg/m^3 で生殖発生への影響はみられず、母獣の体重増加量の減少が認められた(Hoechst, 1990, 1993)。**[NOAEL(発生毒性)= 50 mg/m^3 ; LOAEL(母体毒性)= 50 mg/m^3]**

8.7 他の毒性

クロロホルム原液はウサギに点眼すると、重度の刺激を引き起こす(Duprat et al., 1976; Torkelson et al., 1976)。ウサギの皮膚にコットンパッドを用いクロロホルムを適用すると、24 時間後に中等度の壊死および痂皮形成が認められた(Torkelson et al., 1976)。

8.8 作用機序

CYP2E1 はクロロホルムを塩化水素やホスゲンなどの有毒代謝物質へと代謝するので、CYP2E1 を含む組織はクロロホルムの毒性の標的となる。ホスゲンは求電子性が強く細胞タンパク質やリン脂質の極性頭部や脂肪アシル鎖に共有結合し、細胞機能の喪失や細胞死をもたらす(IPCS, 1994a, 2000b; Ammann et al., 1998)。十分に高い組織内濃度に継続暴露すると、持続性の細胞毒性や慢性的な新生細胞増殖の連鎖を招く。これらの事象はクロロホルムによるげっ歯類の肝臓・腎臓腫瘍誘発メカニズム(経路)の重要な特徴であるという、確たる証拠がある。この見解はクロロホルムおよびその代謝物質はいかなる直接の遺伝毒性もないという証拠の重みによる結論によって裏づけられる(IPCS, 1994a, 2000b; Templin et al., 1998; Constan et al., 2002)。

ラットおよびマウスへの反復暴露後、最小濃度あるいは用量でもっとも一貫してみられる影響は、細胞毒性および再生細胞増殖である。標的器官は肝臓(小葉中心領域)および腎臓(皮質領域)である。クロロホルムはマウスで肝臓および腎臓の腫瘍を、ラットで腎臓の腫瘍を引き起こす。さらに、吸入および経口暴露したラットおよびマウスの鼻腔の病変を

---

[5] 原資料は測定濃度ではなく名目濃度を用いているので、ここに記載の濃度は原資料とは異なっている。

誘発する。揮発性が高く、ヒトは空気中のクロロホルムに暴露する。暴露作業員からのデータはヒトの標的器官は肝臓であることを示している。

クロロホルムの毒性は、おそらく低濃度における唯一の重要な *in vivo* 経路である、酸化的代謝による代謝物質(とくにホスゲン)に起因する(Testai & Vittozzi, 1986; Ade et al., 1994; Ammann et al., 1998; Environment Canada & Health Canada, 2001)。野生型の Sv/129 または B6C3F1 マウスのいずれにも重度の肝臓・腎臓病変を引き起こした濃度による暴露試験で、両系統の CYP2E1 null マウスには細胞毒性や細胞増殖がみられなかったことから、CYP2E1 の重要な役割が証明された(Constan et al., 1999)。クロロホルム誘発の細胞毒性および増殖性損傷が認められる器官(肝臓、腎臓、鼻腔)は、生物種間および生物種内のいずれの CYP2E1 分布とも関連している(Löfberg & Tjälve, 1986)。Wistar ラット(未処置または CYP2E1 インデューサー処置)では、クロロホルム誘発の肝細胞傷害が観察された小葉中心は、CYP2E1 の類似の分布と関連していた。CYP2B1 インデューサーであるフェノバルビタール処置後、肝傷害は小葉中心部、中層部、門脈周辺に広がり、CYP2B1 酵素発現の均等分布と合致していた(Nakajima et al., 1995b)。

酸化的代謝がマウスの肝臓および腎臓に細胞毒性を引き起こす証拠として、DBA/2J マウスの肝臓および腎臓で、代謝物質のリン脂質分子の極性頭部への結合とタンパク結合の直接相関が観察される(Ade et al., 1994)。

クロロホルム誘発の肝壊死の範囲は、雌雄のラットおよび雄マウスにおける肝臓タンパクへの共有結合の範囲と関連がある(Ilett et al., 1973; B.R. Brown et al., 1974)。この共有結合は壊死部位内でより多くみられる(Ilett et al., 1973; Tyson et al., 1983)。*in vitro* 試験の結果は、ラットおよびヒトの肝ミクロソームにおける高分子との非可逆的結合はクロロホルムが前もって代謝されていなければならない点で一致している(Cresteil et al., 1979)。

マウスでは、クロロホルムの腎タンパクおよびミクロソームへの共有結合は尿細管壊死の程度と相関性がある(Ilett et al., 1973; Smith & Hook, 1983, 1984)。腎毒性に対するマウスの感受性に関する系統および性による相違も、腎臓のクロロホルム代謝能と相関する(Taylor et al., 1974; Clemens et al., 1979; Pohl et al., 1984; Smith et al., 1984; Mohla et al., 1988; Henderson et al., 1989; Hong et al., 1989)。

それぞれの腫瘍タイプについて考えられる腫瘍誘発機序は同様であるが、根拠となる証拠の量にはいくらかばらつきがある。

B6C3F1 マウスへのコーン油中強制経口投与後、肝腫瘍が認められたが(NCI, 1976)、飲水投与では同じ 1 日用量で腫瘍は認められなかった(Jorgenson et al., 1985)。ボーラス(強制経口)投与は連続投与よりも代謝物質の tissue dose rate(組織内用量率[訳注:単位時間あたりの組織内生成量の意])を増加させ、より重大な組織損傷をもたらすようである。がんのバイオアッセイにおいてコーン油中強制経口投与後腫瘍が確認された用量は、より短期の試験で同様に暴露した同系統マウスの肝臓では毒性および増殖反応を持続させた(Larson et al., 1994b,c; Pereira, 1994; Melnick et al., 1998)。長期バイオアッセイにおいて肝腫瘍発生率の上昇を誘発しない濃度(Jorgenson et al., 1985)では、短期飲水中摂取後の肝における増殖反応の持続的な亢進は確認されなかった(Larson et al., 1994c)。

したがって、B6C3F1 マウス肝臓での反応性中間代謝産物への代謝、細胞毒性、再生細胞増殖、および腫瘍成長の関係を示す確たる証拠があるといえる。

クロロホルムは肝腫瘍誘発率よりも低率ではあったが、BDF1 マウスへの吸入暴露後(Yamamoto et al., 2002)、あるいは ICI マウスへの練り歯磨き中強制経口投与による暴露(Roe et al., 1979)で腎腫瘍を誘発した。誘発には性差があり、雄にのみ起こった。マウスの腎臓における反応性中間代謝産物への代謝、細胞毒性、再生細胞増殖、および腫瘍成長の関連性の証拠は十分であるが、腫瘍感受性系統における増殖反応亢進の持続に関するデータは限られている。長期吸入試験で BDF1 マウス雄に腎腫瘍を引き起こす濃度(Yamamoto et al., 2002)では、再生の兆候として標識細胞指数の増加だけではなく持続的な細胞質好塩基性化の増加も(Templin et al., 1996c; Kasai et al., 2002; Yamamoto et al., 2002)雄の腎臓で認められたが、雌では認められなかった。

雄ラットにおける腫瘍誘発機序の仮説に対する証拠は、おもに腎腫瘍の増加が認められた唯一の系統(Osborne-Mendel)における中間代謝産物のエンドポイントに関するデータが限られているので、マウスの肝臓および腎臓に関する証拠よりも少ない。腎腫瘍の増加はコーン油中強制経口投与あるいは飲水投与後報告されている(NCI, 1976; Jorgenson et al., 1985)。ラットにおけるクロロホルム代謝と腎損傷誘発の関係に関する情報も非常に限られている。雄 F344 ラットへの短期試験で、Osborne-Mendel ラットで腫瘍を誘発する用量に等しい用量を投与したところ、コーン油中強制経口投与では持続性の増殖反応の亢進が認められたが飲水投与では認められなかった(Larson et al., 1995a)。ある要約の報告によると、雄 F344 は長期飲水試験では腎腫瘍を発現していない(DeAngelo et al., 2003)。標識細胞指数(細胞増殖の量的測定値)の持続性増大が、147 mg/m^3 以上を毎日、441 mg/m^3 以上を 5 日/週暴露した F344 ラットの近位尿細管で認められた(Templin et al., 1996b)。しかし、腎腫瘍の発生は、この系のラットへの最大濃度 441 mg/m^3 まで・6 時間/日・5 日/週の暴露という唯一の吸入バイオアッセイでは認められなかった(Yamamoto et al.,

2002)。したがって、主として F344 ラット(腎腫瘍がみられなかった系)で行われた短期試験のデータから、細胞毒性および尿細管細胞再生に基づく Osborne-Mendel ラットの腎臓の発がんの作用機序は妥当であると考えられる。Osborne-Mendel ラットについて、飲水バイオアッセイ(Jorgenson et al., 1985)および強制経口投与試験(NCI, 1976)の双方からのオリジナルの腎組織の再分析の結果は(Hard & Wolf, 1999; Hard et al., 2000)きわめて重要である。この再分析の結果は、これらの腫瘍誘発の機序が持続性の尿細管細胞傷害がクロロホルム誘発腫瘍の前駆病変に不可欠との考えに一致するという主張の強力な裏づけとなっている。

したがって、調査したすべての場合、がんバイオアッセイにおいて肝臓あるいは腎臓に腫瘍を誘発する濃度あるいは用量を用いた短期試験で、同様な方法で暴露した同じマウスおよびラットの系統の肝臓および腎臓で持続性の細胞毒性および細胞増殖が認められた。種および器官を問わず反応の一貫したパターンは、クロロホルムが腫瘍を引き起こす場合は、毒性および代償性過形成が必須の前駆段階であるという仮説と一致する。この仮説は、クロロホルムが重大な遺伝毒性の兆候をほとんどもたらさないことを示す証拠の重み付けによって、広く裏付けられている。

持続性の細胞増殖が必然的に腫瘍を引き起こすわけではないことに注目しなければならない。たとえば、B6C3F1 マウス(NCI, 1976; Jorgenson et al., 1985)および F344 ラット(Yamamoto et al., 2002)での長期バイオアッセイにおいて腎腫瘍は誘発されなかったが、同じ方法、類似の濃度、同じ系／種における短期暴露試験では持続性の腎傷害の増進およびその結果としての細胞増殖が認められていた(Larson et al., 1994b, 1995a,b; Templin et al., 1996b)。しかしながら、細胞複製の増進がみられるときには必ず腫瘍が予想されるわけではないと考えられる。細胞毒性により腫瘍を引き起こす多数の感受性因子は組織特異性因子に左右され、種および系によって異なると考えられる。たとえば、ラット、マウス双方の鼻腔上皮組織での明白な毒性や持続性の細胞増殖亢進にもかかわらず、鼻腔組織が注意深く評価された吸入試験をはじめ、いかなる長期試験でもこの組織に腫瘍は認められていない(Yamamoto et al., 2002)。

クロロホルムの発がん機序に関する仮説は、長期に及ぶ再生細胞増殖が化学物質による発がんの原因メカニズムであり得るという、生物学的妥当性を裏付ける一連の増大する証拠を踏まえたものである。細胞増殖の亢進は、不忠実な DNA 複製に起因するエラーあるいは内因性 DNA 変化の遺伝性変化への変換による、遺伝子損傷の自然発生頻度の増加につながり得る(Cohen & Ellwein, 1990, 1991, 1996; Ames et al., 1993; Cohen, 1995)。さらに、細胞複製の間に、遺伝子発現の変化をもたらし発がんに寄与する、遺伝性、非変異原性のゲノム修飾が起こることがある(US EPA, 1996)。細胞回転の亢進と発がん反応の完

全な一致が必ずしも実証できるとは限らないので、細胞増殖が発がんの一つのリスクファクターであるというこの見解は一般に受け入れられているわけではない(Melnick, 1992; Farber, 1996)。しかし、上述したように、発がんプロセスにかかわる要因の複雑な相互作用を考慮すると、細胞増殖の急上昇がいつも一対一の相関関係を示すとは限らないのは、意外なことではない。考慮すべき要因には、細胞増殖、細胞分化、および細胞死の間のバランス、非標的細胞のものと比べた標的細胞コンパートメントでの増殖、明白な組織毒性によって生じる結果などがある。

要約すると、クロロホルムはマウスに肝腫瘍を、マウスおよびラットに腎腫瘍を誘発する。腫瘍反応における性および系統特異性・細胞毒性・再生細胞増殖・腫瘍の一致、および非遺伝毒性の証拠の重みは、持続性の細胞増殖期間を伴う顕著で持続性の細胞毒性が、クロロホルム暴露後の腫瘍誘発の二次的なメカニズムを表す可能性があるという説と一致している。このことは腫瘍誘発の用量反応関係が非線形であることと一致する。この細胞毒性はおもに、クロロホルムの反応性中間物質(主としてホスゲンおよび塩酸)への酸化速度に関連する。この作用機序に対する証拠の重みは、マウスの肝腫瘍および腎腫瘍に対してもっとも強力で、ラットの腎腫瘍に対してはより限定されている。

9. ヒトへの影響

一般に、クロロホルムは実験動物と同じ毒性症状をヒトでも引き起こす。従来は麻酔の誘導(24～73 g/m^3 空気)や維持(12～48 g/m^3 空気)に用いられたが、呼吸性不整脈や心不整脈、呼吸不全や心不全による死亡例が認められたため、これらの実施は中止された(IPCS, 1994a)。クロロホルム誘導の麻酔後、何人かの患者が肝機能異常のため、吐き気、嘔吐、衰弱、黄疸、および昏睡を引き起こした。剖検では肝壊死・変性が認められた(Goodman & Gilman, 1970)。麻酔剤としてのクロロホムの使用に起因する、腎尿細管壊死、腎機能障害の珍しい症例報告がある(Kluwe, 1981)。2.5 g/m^3・1 時間の暴露では影響が認められ、10 g/m^3 では重度の影響、0.25 g/m^3 未満では不快感をもたらす可能性があるとの報告がある(Verschueren, 1983)。経口摂取した場合の症状は、吸入後みられる症状と類似していた。7.5 g の経口摂取後に重篤な症状を呈した。成人の平均経口摂取致死量は約 45 g と推定される(Winslow & Gerstner, 1978)。眼部への偶然の跳ねは炎症を引き起こし、濃縮蒸気は眼の刺痛を引き起こすと報告されている(Winslow & Gertsner, 1978; IPCS, 1994a)。

中毒性肝性黄疸が 80～160 mg/m^3 に 4 ヵ月未満暴露した作業員で報告されたが(Phoon et al., 1983)、短期間暴露なのでこの結論は不確実である。研究者らは初期のレポートで、中毒性黄疸の発生と" 1950 mg/m^3 を超える"、"6 ヵ月未満"の暴露を関連付けていた(Phoon

et al., 1975)。別の研究では、1～4 年間、10～1000 mg/m^3 に暴露した作業員で、予想より高い頻度で肝炎が認められた(Bomski et al., 1967)。

塩素処理飲料水とがん発生率の関係について評価を試みた報告は多い。クロロホルムは、水中で塩素が有機物質と反応する際生成する多くの副産物のひとつである。いくつかの試験で塩素処理飲料水の長期摂取およびトリハロメタンへの累積暴露による膀胱がんのリスクの増加が認められているが、結果は男女間、喫煙非喫煙者間で矛盾していた(IPCS, 2000b)。そのうえ、関連研究には暴露の情報がほとんど含まれておらず、いかなる過剰リスクもクロロホルムに特異的な原因があるとすることはできない(ILSI, 1997; IARC, 1999; IPCS, 2000b)。特異的なリスクは他の消毒副産物、副産物の混合物、ほかの水汚染物質、または塩素処理飲料水もしくはトリハロメタンが代理物質となる他の要素に起因すると考えられる(IPCS, 2000b)。

10. 実験室および自然界における他の生物への影響

10.1 水生環境

クロロホルムの毒性は水生細菌、藻類、無脊椎動物、魚、両生類で試験されている。

微生物はクロロホルムに対しきわめて感受性が高い可能性がある。下水汚泥の嫌気的分解が 0.1 mg /L で抑制された(Jackson & Brown, 1970)。0.5 mg/L では非順化微生物の抑制が認められ、順化微生物では 15 mg/L まで耐性が認められた試験もある。この試験では、初期濃度 0.5、1、2、2.5 mg/L のクロロホルム含有汚泥を加え、酢酸塩を強化したメタン生成性培地からのメタン生成を検討した。この播種培地を無酸素の血清瓶に入れ、一括式または半連続形式(固形物滞留時間[SRT]50、25、12.5 日間)で処理したところ、すべての濃度でメタン生成は抑制された。濃度 0.5 mg/L では、すべての SRT で 3 日後にはメタン生成の回復が認められた。1 mg/L のほうが回復はゆっくりであった(一括式および半連続式で SRT50、25、12.5 日に対し、それぞれ 2.5、4、11、25 日)。クロロホルムは液相および気相に 3.1:1 で分配され(平衡後、初期のクロロホルムの 68%が液相に残留)、液体排出とメタン生成による放出によっても次第に減少した。別の試験で、毎日クロロホルムを徐々に加えたところ、10 mg/L ではメタン生成に影響はなかったが、15 mg/L では最初の抑制が認められた。20 mg/L では、80 日以内に回復はみられなかった(Yang & Speece, 1986)。

淡水と海藻に関する試験がいくつか入手可能である。クロロホルムへの 6 日間暴露期間

に、濃度 185 mg/L で藍藻類 *Microcystis aeruginosa* の細胞増殖の最初の低減が報告された(Bringmann & Kühn, 1977, 1978)。緑藻 *Scenedesmus subspicatus* のバイオマスに対する 48 時間 EC_{10} が 225 mg/L(EC_{50} 560 mg/L)と観察された(Kühn & Pattard, 1990)。細胞数、バイオマス、二酸化炭素取込み(光合成)などのエンドポイントに対し報告された EC_{50} には、*Chlamydomonas angulosa* の 382 mg/L(Hutchinson et al., 1980)、*Selenastrum capricornutum* の＞1000 mg/L(Cowgill et al., 1989)などがある。スクリーニング試験のごく短い報告で、細胞分裂の抑制に対する 7 日間 EC_{50} が、4 種の海洋性植物プランクトンの *Skeletonema costatum*(フィラメント状の珪藻)、*Glenodinium halli*(渦鞭毛藻)、*Thalassiosira pseudonana*(単細胞珪藻)、および *Isochrysis galbana*(微小鞭毛虫)で、検査した最高濃度 32 mg/L を超えていた(Erickson & Freeman, 1978)。*S. costatum* を用いた静止試験で、細胞数に対する 5 日間無影響濃度(NOEC)および EC_{50} はそれぞれ 216 および 477 mg/L であった(Cowgill et al., 1989)。クロロホルムの揮発予防にガス気密装置を用いた最近の試験で、淡水緑藻クラミドモナス(*Chlamydomonas reinhardtii*)の増殖抑制に対する 72 時間 EC_{10} は 3.61 mg/L、72 時間 EC_{50} は 13.3 mg/L であった。十分な二酸化炭素供給量を確保するため、この試験でも 2 コンパートメント型培養フラスコが用いられた(Brack & Rottler, 1994)。

唯一確認された維管束植物への試験で、2 種のウキクサ *Lemna gibba* およびコウキクサ(*Lemna minor*)4 クローンに対する濃度 28～1000 mg/L の暴露では影響がみられなかった(Cowgill et al., 1991)。

水生無脊椎動物では、ツボワムシ(*Brachionus calcyciflorus*)で 1 時間 LC_{50} が 2 mg/L と明らかに感受性がとりわけ高かったが、暴露期間が短かったためこの試験の信頼度は低くなる(Snell et al., 1991)。オオミジンコ(*Daphnia magna*)の場合、48 時間 LC_{50} は 28.9 mg/L(US EPA, 1978)～353 mg/L(Cowgill & Milazzo, 1991)で、ほとんどの結果は 28.9 mg/L を示した。密閉容器における 24 時間暴露で、オオミジンコの EC_0 および EC_{50} はそれぞれ 48 および 79 mg/L(名目濃度)であった(Kühn et al., 1989)。オオミジンコの成長をエンドポイントとすると、16 日間 EC_{50} が 59.8 mg/L、16 日間 NOEC が 15 mg/L と報告された(Hermens et al., 1985)。オオミジンコの 21 日間生殖試験で、密閉容器で名目濃度 1.6～200 mg/L への暴露では、NOEC は 13 mg/L(名目濃度)であった。培地は週 2 回取り替えられ、NOEC の最低分析濃度は 6.3 mg/L であった(Kühn et al., 1989)。海洋性ピンクシュリンプ(*Penaeus duorarum*)では、72 時間 LC_{50} および NOEC はそれぞれ 81.5 および 32 mg/L と報告されている(Bentley et al., 1979)。海洋性シュリンプの一種 *Artemia salina* の孵化 30 時間後の幼生では、遊泳阻害に対する 24 時間 EC_{50} が 30 mg/L と報告された(Foster & Tullis, 1984)。カキ(*Crassostrea virginica*)の幼生に関する急性毒性試験では、48 時間 EC_{50} の 1 mg/L と、50 μg/L といった低濃度での生存への影響が報告された

(Stewart et al., 1979)。しかし、分析法に欠陥があるため、この試験の有効性には疑問が残る(Zok et al., 1998)。

クロロホルムの魚への影響を解明するため、いくつかの流水試験が行われている。ニジマス(*Oncorhynchus mykiss*)では、孵化4日後のLC_{50}は1.24 mg/L(炭酸カルシウム200 mg/L)～2.03 mg/L(炭酸カルシウム 50 mg /L)である(Birge et al., 1979)。ブルーギル(*Lepomis macrochirus*)の場合、流水試験での 96 時間 LC_{50} は 18.2 mg/L であった(Anderson & Lusty, 1980)。流水試験では、海水魚の 1 種小ガレイ(*Limanda limanda*)で 96 時間 LC_{50} が 28 mg/L であった(Pearson & McConnell, 1975)。流水試験でおよそ 21 mg/L のクロロホルムに 96 時間、あるいは最大 0.151 mg/L までに 9 ヵ月間暴露したメダカ(*Oryzias latipes*)では毒性はみられなかったが、長期試験で濃度 1.463 mg/L への暴露では、胆嚢の病変および胆管異常(増生および過形成など)が認められた。肝臓がんは誘発されなかった(Toussaint et al., 2001)。

両生類はクロロホルムに対しかなり感受性が高いとみられる。7 種の両生類の 7～9 日間暴露による初期生育段階毒性試験で、孵化 4 日後の LC_{50} は 0.27 mg/L(トリゴエアマガエル[*Hyla crucifer*])～＞68 mg/L(アフリカツメガエル[*Xenopus laevis*])であった。トリゴエアマガエルの孵化 4 日後の LC_1 および LC_{10} は、それぞれ 0.0019 および 0.0177 mg/L、次に感受性の高い両生類であるヒョウガエル(*Rana pipiens*)の LC_{50} および LC_{10} は、それぞれ 4.16 および 0.383 mg/L であった(Birge et al., 1980; Black et al., 1982)。

10.2 陸生環境

陸生微生物へのクロロホルムの毒性に関する情報は、ごく限られている。シルトロームに 1000 mg/kg を単回適用すると、微生物の呼吸を数日間増大させ(例、4 日目: CO_2 $efflux_{treatment}/CO_2$ $efflux_{control}$ = 1.39)、6 日後にコントロールレベルに戻った。砂質土も同様に処置すると、初期の微生物呼吸の低下に続き刺激期間が認められ(例、4 日目: CO_2 $efflux_{treatment}/CO_2$ $efflux_{control}$ = 1.77)、処置の 6 日後にコントロールレベルに戻った(Walton et al., 1989)。クロロホルムによる燻蒸処理(濃度不明)では微生物集団は除去されないようであった(Alphei & Scheu, 1993)。

陸生無脊椎動物に対するクロロホルムの毒性データも同じく数少ない。2 研究がミミズとクロロホルムを加えたろ紙を用いて接触試験を行った(Neuhauser et al., 1985, 1986; Callahan et al., 1994)。別の研究では、クロロホルムを用いた燻蒸処理(濃度不明)によって土壌から原生動物が排除されたが、線虫は排除されないことが実証された(Alphei & Scheu, 1993)。これらの試験はいずれも、土壌中の有害濃度の推定に直接関連があるとは

考えられない。

鳥類または野生の哺乳動物に対するクロロホルムの毒性情報は確認できなかった。実験動物への影響に関するデータを§8に示す。

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

ヒトにおけるクロロホルムの毒性データはきわめて限定的だが、ヒトでも実験動物と同じ毒性症状をもたらすことが示唆される。肝臓および腎臓毒性の報告がある。ヒトにおける発がん性については、入手できるデータから結論を導くことはできない。

入手できるヒトのデータが少ないため、危険有害性の判定や用量反応分析は主として実験動物での試験に基づいている。

ラットでの急性経口毒性は中等度である。ラットおよびマウスへの単回強制経口投与の結果、ラットに中枢神経系の抑制および鼻腔の病変が、両種に肝傷害が認められた。ラットおよび雌マウスにおける急性吸入毒性は低いが、雄マウスはより感受性が高い。

短期経口暴露によってラットに鼻腔の病変が、マウスに肝臓および腎臓の組織変化が引き起こされた。最大7日間の吸入暴露で、ラットおよびマウスの鼻腔組織に増殖反応がみられた。

クロロホルムを90日間マウスに強制経口投与または飲水投与すると、肝臓への影響(重量増加、ミクロソーム酵素活性の亢進、脂質の集積と空胞化)が認められた。7.5年間経口投与されたイヌで、酵素活性の亢進や脂肪嚢胞の発現など肝臓への影響がみられた。4～6ヵ月間吸入暴露したラットで、肝傷害(壊死)および腎臓重量の増加がみられた。13週間クロロホルムを吸入したラットとマウスの鼻腔組織に、細胞増殖が認められた。

長期毒性／発がん性試験で、コーン油を担体としてクロロホルムを強制経口投与したところ、マウスに肝臓腫瘍が誘発された。飲水投与、練り歯磨きを担体とした強制経口投与、または吸入投与では、マウスの肝臓にがんが誘発されなかった。雄マウスへの吸入暴露ま

たは練り歯磨きを担体とした経口暴露(4 系統中 1 系統で)によって腎臓腫瘍が誘発されたが、コーン油を担体にすると誘発されなかった。ラットの場合、コーン油での経口投与または吸入暴露では肝臓腫瘍は誘発されず、飲水投与では肝臓への発がん性の説得力のある証拠はみられなかった。雄ラットでは、コーン油を担体とした投与あるいは飲水投与で腎臓腫瘍が誘発されたが、吸入暴露または練り歯磨きでの経口投与では誘発されなかった。雌のラットおよびマウスでは腎臓がんは誘発されなかった。長期吸入暴露では、ラットおよびマウスの鼻腔組織に骨化、壊死、過形成、化成を引き起こしたが、鼻腫瘍は引き起こさなかった。

生殖および発生への毒性に関しては数少ない情報しか入手できなかった。強制経口投与したマウスの受胎能および生殖能は正常であった。母体に対する毒性量を妊娠ラットおよびウサギに投与したところ、次世代で報告された影響はラットの胎仔体重の減少のみであった。妊娠ラットへの反復吸入暴露で、胎仔への一貫性のない有害影響が母体への毒性濃度でのみ認められた。

クロロホルムは、遺伝毒性に関するさまざまな短期スクリーニング試験で詳細に検査されている。調査したエンドポイントは、細菌・酵母・ショウジョウバエの突然変異、ヒトおよび実験動物の培養細胞における突然変異・SCE・UDS・細胞形質転換、ラット･マウス･ハムスターのさまざまな組織における染色体損傷、DNA 結合、および精子異常などである。少数の *in vivo* 試験がラットへの弱い染色体損傷誘発能を示しているが、遺伝毒性試験の結果は大半が陰性である。証拠の重みから、クロロホルムには直接的遺伝毒性はないと考えられる。

11.1.2　耐容摂取量／濃度の設定基準

入手できるデータから、高濃度のクロロホルムに職業暴露した人々の標的器官は、実験動物のものと同様である(肝臓)ことが示唆されるが、ヒトで影響(機能不全および壊死)が生じる濃度の報告は十分ではなく、暴露反応関係の解明に対する重要な根拠としては適切ではない。腫瘍性および非腫瘍性エンドポイントに対する耐容暴露レベルを別個に設定するため、実験動物のデータが用いられている。Appendix 5 に詳細を示す。

数件のバイオアッセイでマウスおよび雄ラットに腫瘍が誘発されたが、現在入手できるデータから、腫瘍誘発機序は直接 DNA 損傷によるものではなく、またクロロホルムが遺伝毒性発がん物質ではないとの見解に対し納得できる裏付けが得られる。したがって、クロロホルムへのヒトの耐容暴露レベル算出のベースとして最適であるのは、適切な安全係数をしかるべき実験動物試験で得られた NOAEL や LOAEL に適用することである。

肝臓がヒトにおける標的器官として実証されているため、15 mg/kg 体重/日・6 日/週の 7.5 年にわたる経口投与で、イヌの肝臓に脂肪嚢胞を認めた試験が重要な試験として選択された。イヌ用に作成された PBPK モデルと脂肪嚢胞誘発の用量反応データを用い、ヒトのリスクの 5%上昇が、肝小葉中心領域単位体積あたりの平均代謝速度(VMRATEL[6])の毎時 3.8 mg/L(95%信頼下限値＝1.3 mg/L/時、カイ二乗＝0.00、自由度＝1、P = 1.00)と関連があると推定された。この有毒代謝物の肝 tissue dose rate(組織内用量率[訳注：単位時間あたりの組織内生成量の意])は、ヒトが生涯にわたり飲料水中 37 mg/L、または空気中 9.8 mg/m^3 のクロロホルムに暴露した場合に達せられるであろうことが予測された。これらの数値の信頼下限値は、それぞれ 12 mg/L および 3.4 mg/m^3 である。

ヒトの耐容一日摂取量(TDI)算出には、適切な実験動物試験による NOAEL に、不確実係数 100 を適用させるのが一般的である。この不確実係数は、種間の外挿に対する係数 10 とヒトにおける感受性の個人差に対する係数 10 といった 2 つの係数で構成される。最初の係数自体が、実験種とヒトの間のトキシコキネティクスおよびトキシコダイナミクスの差に対する 2 つの係数 4 および 2.5 からなっている(Health Canada, 1994; IPCS, 1994b)。この場合、PBPK モデルの使用によって組織内代謝物用量に基づく数値を用いることができるため、ヒトと実験動物におけるトキシコキネティクスの差に対する係数 4 が当てられる。したがって、TDI の算出には、不確実係数の約 25(トキシコキネティクスおよびトキシコダイナミクスの種内差に対する 10 とトキシコダイナミクスの種間差に対する 2.5)を、PBPK モデルからの数値に適用するのが適切である。肝臓嚢胞の増加に基づくと、経口暴露に対する TDI は：

$$\frac{12\ mg/\ \mathrm{L}}{25} \times \frac{2\ \mathrm{L}}{64\ kg} = 0.015\ mg/kg\ \text{体重}$$

・12 mg/L は、肝臓嚢胞発生率 5%に対する 95%信頼下限値
・25 は不確実係数
・2L は 1 日に摂取される飲料水の設定量
・65 kg は成人の標準体重

吸入暴露に対する耐容濃度(TC)は：

[6] VMRATEL とは化学物質の肝小葉中心領域単位体積あたりの平均代謝速度であり、肝における代謝速度の 1 つの測定指標である。

$$\frac{3.4\ mg/m^3}{25} = 0.14\ mg/m^3$$

・3.4 mg/m^3 は肝臓嚢胞発生率 5%に対する 95%信頼下限値
・25 は不確実係数
となる。

クロロホルムは遺伝毒性発がん物質ではないため、重要な非腫瘍性病変を誘発する濃度より低い暴露では、がんのリスクはないと考えられているが、腫瘍データに基づきリスク評価を行ない、その結果を非腫瘍データに基づく上述の評価から得られた耐容暴露濃度と比較するのは有益と考えられる。Jorgenson ら(1985)のラットの腎腺腫と腺がんをあわせた発生率に対する暴露反応評価、ならびに腎臓の平均代謝率(VMRATEK[7])を用い、ヒトで腫瘍リスクをバックグラウンドレベルより 5%上昇(TC_{05})させる VMRATEK を PBPK モデルに基づき予測すると、3.9 mg/L/時(95%信頼下限値＝2.5 mg/L/時、カイ二乗＝0.04、自由度＝1、P=0.84)となる。この VMRATEK に関連する毒性代謝物の tissu e dose rate(組織内用量率[訳注：単位時間あたりの組織内生成量の意])は、3247 mg/L 含有飲料水への生涯暴露もしくは濃度 147 mg /m^3 の空気に連続暴露の結果と考えられる。これらの数値に対する信頼下限値は、それぞれ 2363 mg/L および 74 mg/m^3 である。これらの数値はイヌの試験データを用いて算出した 12 mg/L および 3.4 mg/m^3 より高く、後者がクロロホルムによるヒトの発がんリスクに対しても安全側に立っていることが示唆される。

同様に、Jorgenson ら(1985)によるスライドの 1 セットを再分析し、ラット腎臓の組織(学的)病変に対するベンチマーク用量(BMD)が作成された。細胞毒性を特徴とした組織病変をバックグラウンドレベルより 5%増加させるヒトの平均代謝速度(VMRATEK)は、1.7 mg/L/時(95%信頼下限値＝1.4 mg/L/時、カイ二乗＝3.9、自由度＝2、P=0.14)であった。この VMRATEK に関連する毒性代謝物の tissue dose rate は、濃度 1477 mg/L の飲料水への生涯暴露、または 33.3 mg/m^3 の空気(95%信頼下限値は不明)への連続暴露による結果と考えられる。これらの数値もまた、イヌの試験データを用いて算出した 12 mg/L および 3.4 mg/m^3 より高く、後者が腫瘍発生の前駆となる腎臓傷害に対し安全側に立った数値であることを示している。

11.1.3 リスクの総合判定例

---

[7] VMRATEK とは化学物質の腎単位体積あたりの平均代謝速度であり、腎における代謝速度の 1 つの測定指標である。

原資料では、室内・屋外の空気からの吸入と、食物および水道水からの摂取に 10 分間のシャワーからの皮膚暴露を加えた、カナダ人の 24 時間暴露シナリオの作成について解説している。このシナリオは、屋外大気、室内空気、シャワー室の空気、シャワー後の浴室の空気、水道水、および食物中の濃度の中点および 95 パーセンタイル値に基づいている。濃度の中点は、屋外大気(バックグラウンド) 0.14 μg/m^3、屋外大気(通勤時) 0.27 μg/m^3、室内空気 2.28 μg/m^3、シャワー室の空気 833 μg/m^3、シャワー後の浴室の空気 5 μg/m^3、水道水 47.3 μg/L、食物 0.0035 μg/g であり、対応する 95 パーセンタイル値はそれぞれ 0.31 μg/m^3、0.66 μg/m^3、8.0 μg/m^3、1950 μg/m^3、18 μg/m^3、166 μg/L、0.0298 μg/g であった。24 時間内のクロロホルム暴露でもっとも高い割合を占めたのは、シャワー中の吸入／皮膚暴露によるものであった(Environment Canada & Health Canada, 2001)。

上述したヒトの暴露シナリオの結果としての組織内用量を、作成された PBPK モデルを用いてモデル化した。環境媒体中濃度の 95 パーセンタイル値に基づき 1 日暴露量が予測され、腎臓組織内用量が、がんに対する腫瘍誘発濃度(TC_{05})と関連する用量の 1794 分の 1(95%信頼下限値 570)と推定された。がん以外の影響では、環境中での暴露から生じるヒトの肝臓組織内濃度予測値と、BMD_{05} での暴露による予測値との差は 591(95%信頼下限値 165)であった。上述したように、がんに対する腫瘍誘発用量およびがん以外に対するベンチマーク用量は代謝された用量に基づいており、したがってヒトと(この場合はハイブリッドの)実験動物との間のトキシコキネティクスのあらゆる相違が考慮されることになる。結果的に、耐容摂取量算出に対する適切な不確実係数はおよそ 25 である。クロロホルムの場合、暴露推定値と、がんに対する腫瘍誘発量およびがん以外のベンチマーク用量との差は、25 よりかなり大きい。したがって、一般住民の暴露は、生涯にわたって毎日暴露しても有害影響がないと考えられるレベルよりかなり低いと結論された(Environment Canada & Health Canada, 2001)。

さらに、短期試験でラットおよびマウスの鼻腔に細胞増殖を誘発すると報告された最低濃度(9.8 mg/m^3)は、カナダにおける室内空気中のクロロホルム濃度の中点および 95 パーセンタイル推定値より明らかに高い。これらの数値は、腎臓および肝臓に対するヒトモデル実行のために選択された数値と同じであった。中点および 95 パーセンタイル推定値は、ラットおよびマウスで増殖反応を誘発すると報告された最低値の、それぞれ 4298 および 1225 分の 1 である(室内空気の中点＝2.28 μg/m^3、95 パーセンタイル＝8.0 μg/m^3)。シャワー使用中の濃度の中点および 95 パーセンタイル推定値との比較は、このような暴露が断続的で、1 日のうちごく限られた時間のみであるため、根拠がないと考えられた。

WHO は、塩素消毒した室内プールを使用中にクロロホルムに暴露する泳者のリスク評価を行っている。ヨーロッパ数ヵ国の室内プールの予備データでは、平均クロロホルム濃

度は 11～198 μg/L(最大 980 μg/L)とされていた。水面上の空気中平均濃度は、30～214 μg/m³(最大 1630 μg/m³)であった。水泳中の経口・吸入・経皮経路による取込み量が、軽度、中等度、および最悪の暴露条件下の泳者(小児、趣味での成人泳者、競泳者)に関して推定された。中等度暴露条件下の小児では、クロロホルムの総取込み量は 0.035 mg/kg 体重と推定され、経皮、経口、吸入経路がそれぞれ 81%、14%、5%を占めていた。最悪条件下では、総取込み量が推定 0.2 mg/kg 体重と上昇した。中等度暴露条件下の成人では、推定総取込み量は 0.009 mg/kg 体重で、経皮、経口、吸入経路がそれぞれ 93%、1%、6%に相当した。最悪の暴露シナリオでは、推定総取込み量は 0.047 mg/kg 体重となる。競泳者では、推定取込み量は、体重ベースで小児のものと類似していた。水中および空気中のクロロホルム濃度が比較的高い場合は、プール使用者の取込み量は TDI を超える可能性があると結論された(WHO, 2000)。

11.1.4　ヒトの健康リスク評価における不確実性

多くの人々にとって、主たるクロロホルム暴露源はシャワーの使用と考えられる。シャワーヘッドから出る水中の濃度が、流入する冷たい水道水の濃度と同様であるか、あるいは、水処理工場や供給システムでの測定濃度が消費者の蛇口の濃度を表すか否かははっきりしない。室内空気に関しては、限定的なサンプリングおよび分析感度の限界が問題である。特定の食品に関し入手できる限定的なデータがその食品の全般的濃度を表すと想定することから、食物からの経口摂取に関する不確実性が生じる。しかし、クロロホルムの脂溶性は中等度で、食物連鎖において著しい生物濃縮はみられないため、食物中に高濃度には認められないことはかなり確実である。調整乳や即席食品に比較した母乳の摂取量が不確実であるため、幼児が毎日経口摂取するクロロホルムの推定量に対する信頼度は低い。

クロロホルムの毒性に関してヒトのデータは限定されているが、実験動物では肝臓が標的器官であり、ヒトでも同様と考えられる。他の肝毒性物質(化学性、食事性、感染性)との相互作用が、クロロホルムのような肝毒性物質への肝臓の感受性における大きな個人差のおもな原因であろう。クロロホルムは多くの一般的化学物質、とくに化学工場の近傍で地下水盆に蓄積する塩素化炭化水素と、予想される肝毒性のメカニズムを共有する。動物種への重要影響が、現存するデータベースで十分明らかにされていることに対する信頼度は高い。実際、さまざまな暴露経路による多くの実験動物試験で、腎臓、肝臓、および鼻部への影響が、一貫して最低用量で観察されている。影響の本質は、酸化代謝産物による反復性の細胞毒性と、その結果としての持続性再生増殖が関与する作用機序と類似し、概して一致している。クロロホルムの発がん性において、持続性の細胞毒性および修復性細胞増殖が果たす不可欠な役割を裏付けるデータベースへの信頼度も高いが、多少の不確実

性は残る。この点では、証拠の重みはマウスの肝臓および腎臓腫瘍に関してもっとも強く、ラットの腎臓腫瘍では限定的である。

全体的には、証拠の重みを考慮すると、クロロホルムの遺伝毒性は否定される。非標準的ラット試験で、少数の陽性所見が得られている。

PBPK モデルを使用する際の主たる限界は、ヒトの代謝、とくに腎臓における代謝の解明の基礎とするには、入手できるデータが少ないことに関連がある。ヒトの個人差に関するデータはごく限られている。

11.2 環境への影響評価

11.2.1 評価項目

クロロホルムはほぼ完全に空気中へ放出されるが、多少は地表水へも放出される。また、地下水でもとくに埋立地近傍の地下水にも認められる。したがって、環境評価のためのエンドポイントは、産業発生源近傍に生息する陸生動物、淡水の漂泳性生物、地下水に生息する生物と関連がある(Environment Canada & Health Canada, 2001)。海洋のリスク評価の結果(Zok et al., 1998)も本文書に記載する。

11.2.2 環境中リスクの判定例

各エンドポイントに対しては安全側に立った予測暴露量(EEV[8])が選択され、予測無影響量(ENEV[9])は critical toxicity value(CTV、最小毒性値)を不確実係数で除して算定される。原資料作成国(カナダ)における生態リスクの可能性を解明するため、各エンドポイントについて安全側に立った計算(EEV/ENEV)がなされた。これらの商が 1 未満の場合、その物質は環境に重大なリスクをもたらさないと結論され、リスク評価は完結する。しかし、特定のエンドポイントに対して商が 1 を超える場合、当該エンドポイントのリスク評価はより現実に基づいた分析へと進み、影響の確率および規模が検討される。後者の方法では、リスク分析におけるばらつきや不確実性の原因がより徹底的に考察される。EEV、CTV、ENEV、およびリスク比を Table 8 にまとめる。

[8] EEV はカナダの原資料で使用されており、PEC(予測暴露濃度)と同一である。
[9] ENEV はカナダの原資料で使用されており、PNEC(予測無影響濃度)と同一である。

Table 8: Summary of risk quotients for chloroform.

Environmental compartment	Estimated exposure value (EEV)	Critical toxicity value (CTV)	Application factor	Estimated no-effects value (ENEV)	Risk quotient (EEV/ENEV)
Terrestrial wildlife	110 µg/m^3	9.8 × 10^3 µg/m^3	10	9.8 x 10^2 µg/m^3	0.11
Freshwater pelagic biota	44 µg/litre	65.7 µg/litre	10	6.57 µg/litre	6.7
Groundwater biota	13.8 µg/litre	500 µg/litre	10	50 µg/litre	0.28

11.2.2.1　陸生生物

クロロホルムは生物蓄積しないので、生物相は大気経由で暴露される。最も高い濃度が都市の大気中でみられることから、都会の野生生物がクロロホルムに暴露する可能性がもっとも高い。シカネズミなどの小型哺乳類がもっとも高度に暴露されるのは、呼吸数が多く、代謝率が高いからである。野生動物のデータは確認されていないが、影響に関するデータは実験哺乳動物などの代理のデータが入手できる。

クロロホルムに吸入暴露する陸生生物では、安全側に立った EEV は 110 µg/m^3 で、米国で報告された大気中濃度でもっとも高い(ATSDR, 1996)。これはきわめて安全を重視した数値で、カナダで報告された大気濃度よりはるかに高い。大気中のクロロホルムは長距離を移動する可能性があるが、カナダにおける大気中の濃度は、環境中での転換や分散によって EEV よりはるかに低いと考えられる。

CTV は 9.8 × 10^3 µg/m^3 で、実験動物を用いた吸入毒性試験で有害影響を引き起こすと報告されたもっとも低い濃度である(Templin et al., 1996b)。この CTV を不確実係数 10(実験室から野外条件への外挿、および種間・種内の感受性のばらつきに対し)で除すると、ENEV の 9.8 × 10^2 µg/m^3 が得られる。

$$\text{リスク比} \quad \frac{EEV}{ENEV} = \frac{110\,\mu g/m^3}{9.8\times10^2\,\mu g/m^3} = 0.11$$

安全側に立ったリスク比が 1 未満であるため、クロロホルムの放出がカナダの陸生野生生物に有害影響を引き起こすとは考えにくい。

11.2.2.2　水生生物

1)　淡水および海洋生物相

カナダの地表水で過去にもっとも高いレベルが観察されたのは、塩素漂白剤を使用しているパルプおよび製紙工場近くであった。1989 年の Northwood Pulp and Timber の放流地点より下流の Fraser River、ならびに Thunder Bay にある Canadian Pacific Forest Products Kraft Mill の下流で 1986 年に認められた最高濃度は、それぞれ 83 µg/L および 200 µg/L であった。1989 年以降に採取されたカナダの地表水のクロロホルム濃度ははるかに低いものである。1990～1996 年にブリティッシュコロンビア、アルバータ、オンタリオ、ケベックの各州から採取した 984 の水サンプル中、報告された最大濃度は 44 µg/L で、この値が EEV として使用されている。

利用できる影響データに基づくと、もっとも感受性の高い淡水漂泳性生物相は、初期生活段階のトリゴエアマガエルである。トリゴエアマガエルの孵化 4 日後の LC_{50} は 0.27 mg/L(270 µg/L)であった(Birge et al., 1980; Black et al., 1982)。カナダ環境省(1997b)は、CTV に対する EC_{25} または LC_{25} を予測し、その予測値を、実験室から野外への外挿および種間・種内の感受性のばらつきから生じる不確実性に対する係数 10 で除することを推奨している。EC_{25} または LC_{25} を用いることで、毒性予測値が 5%未満(例 LC_1)の影響のレベルでよくみられるように、モデルに左右されることが確実に避けられる(Moore & Caux, 1997)。トリゴエアマガエルの孵化 4 日後の LC_{25} は 65.7 µg/L(95% 信頼区間 = 36.6～106 µg/L)であった。この値を 10 で除すると ENEV6.57 µg/L が得られる。

$$\text{リスク比} \quad \frac{EEV}{ENEV} = \frac{44\ \mu g\ /\ litre}{6.57\ \mu g\ /\ litre} = 6.7$$

この安全側に立ったリスク比が 1 を超えているので、淡水漂泳性生物にクロロホルムが害を及ぼす可能性を明らかにするため、暴露と影響のデータをより詳細に調査する必要がある。1990～1996 年にブリティッシュコロンビア、アルバータ、オンタリオ、ケベックの各州から採取した 984 の水サンプルでは、クロロホルム濃度の 99 および 95 パーセンタイル値はそれぞれ 2.94 µg/L および＜1 µg/L、中央値は＜0.2 µg/L であった。クロロホルム濃度が ENEV の 6.57 µg/L を超えていたのは 5 件のみで、ケベック 3 件(44、31.6、13 µg/L)、ブリティッシュコロンビア 1 件(18 µg/L)、アルバータ 1 件(7 µg/L)であった。したがって、カナダの地表水のクロロホルム濃度が ENEV を超えるのはまれである。

トリゴエアマガエルを用いた毒性試験で、LC_{50}、LC_{25}、LC_{10}、LC_1 はそれぞれ 270 µg/L、

65.7 µg/L、17.7 µg/L、1.9 µg/L であった。急性毒性試験プロトコルでは対照群に 10%の死亡率が認められているため、致死発現閾値(この濃度以上では対照群以上に死亡が発現するというもの)を表すものとして LC_{10} を使用することができる。984 の水サンプルのうち 2 サンプルのみが LC_{10} 値をかなり上回った濃度を含有しており、他のサンプルに含有された濃度は LC_{10} 値とほぼ同じであった。トリゴエアマガエルと共に検査された他の両生類は感受性が低かった。2 番目に感受性の高い両生類(ヒョウガエル[*Rana pipiens*])の LC_{10} は 383 µg/L であった。他の種類の水生生物(微生物、無脊椎動物、魚)はさらに感受性が低かった。

入手できる情報に基づくと、カナダの地表水のクロロホルム濃度が感受性の高い水生生物の予測毒性閾値を上回るのは稀である。したがって、クロロホルムがカナダの漂泳生物相に重大なリスクをもたらすとは考えられない。

重要な試験の選定には多少の相違はあるが、北海に面した数ヵ国の河川、沿岸、河口の水で測定したクロロホルム濃度に基づくヨーロッパのリスク評価でも、同様の結論に達している。入手できる毒性データの詳細な総説から、信頼できるもっとも低い急性毒性値は、藻類の EC_{50} である 13.3 mg/L と確認された(Brack & Rottler, 1994)。この値に評価係数 1000 を適用し、急性予測無影響濃度(PNEC[10])の 13 µg/L が得られた。カキの幼生で報告された信頼度の低い 48 時間 EC_{50} の 1 mg/L(この場合、致死率への影響が 50 µg/L という低濃度で認められた)に評価係数 1000 を適用すると、PNEC は 1 µg/L と算定される(Stewart et al., 1979)ことが注目された。反復暴露では、信頼できるもっとも低い毒性値は、藻類で見られた NOEC の 3.6 mg/L であった(Brack & Rottler, 1994)。評価係数 50(2003 年の EU の技術指針[technical guidance document][European Commission, 2003]に基づき)を適用し、PNEC の 72 µg/L が得られた。これを沿岸／河口水および河川水に対する一般的な予測環境濃度(PECs[11])(この場合は実測値から算定された)の 0.2 および 0.5 µg/L と比較した。さらに PNEC が最悪の PEC(実測値に基づく)である沿岸／河口水および河川水の 11.5 および 10 µg/L と比較された。すべての場合で PEC/PNEC 比は 1 未満であった(一般的状態 0.0028～0.007、最悪ケース 0.14～0.16)。海水に関する評価では、海には希釈作用があるため、PEC は低くなると考えられた。全体として、現在のクロロホルム濃度が水性環境へのリスクを表すものではないと結論された。PNEC がカキの幼生の試験から 1 µg/L と算定されるにしても、PEC/PNEC 比はやはり一般水の 1 より低いことになるが、最悪の場面では 1 を上回るであろうという指摘がなされた(Zok et al., 1998)。

全体として、現在の水中クロロホルム濃度が淡水や海洋生物に重大な毒性をもたらすと

[10] PNEC はヨーロッパで用いられる用語で、ENEV と同一である。
[11] PEC はヨーロッパで用いられる用語で、EEV と同一である。

は考えにくいと結論できる。

2) 地下水生物相

地下水に生息する生物相の毒性データは確認されていない。地下水棲息性生物相への影響へと無理なく外挿できる唯一の入手可能な毒性データは、廃水処理に用いる微生物に関する試験から得られる。Yang と Speece (1986)は、濃度 500 µg/L で、無酸素条件下での非順化培養菌の抑制を観察した。この CTV を不確実係数 10 で除し、安全側に立った ENEV を 50 µg/L と算定した。地下水棲息性無脊椎動物への影響濃度の予測に利用できるデータがないうえに、廃水中の微生物集団から地下水棲息集団へと外挿する必要があるため、この ENEV の信頼性は不明である。埋立地の特異的条件と関係のない地下水のクロロホルム濃度に関しては、入手できるデータはごく少ない。1987 年および 1989 年にカナダのブリティッシュコロンビア州で採取された、埋立地でみられる汚染とは関係のない一般的状態の地下水と考えられる 31 の地下水サンプルは、いずれも検出限界の 1 µg/L を下回っていた(B.C. MOE, 1996)。さらに、V. Carmichael は、カナダ環境省への personal communication(1996)で、1992 年と 1993 年に採取したブリティッシュコロンビアの地下水 16 サンプル中最大クロロホルム濃度は、13.8 µg/L と報告した。13.8 µg/L を EEV として用いると、安全側に立った計算は次のようになる：

$$\text{リスク比}\ \frac{EEV}{ENEV} = \frac{13.8\ \mu g / litre}{50\ \mu g / litre} = 0.28$$

したがって、カナダの汚染された埋立地の直近以外の場所では、クロロホルムは地下水棲息性生物相にほとんどリスクをもたらさないとみられる。

カナダの一部の埋立地の状況が一般の地下水にみられる状態とは非常に異なるのは、驚くに当たらない。これらの地域は汚染地とみなされ、一般に管理されるか浄化が行われている。また、一般にみられる状況とは異なるため、クロロホルムや他の物質の環境全般に及ぼす影響の評価に用いるには適切ではない。例えば、1981 年にオンタリオ州オタワの埋立地の地下水で最初に認められたクロロホルムの最大濃度は、53200 µg/L であった(Jackson et al., 1985)。この場所は以来大規模な浄化を受けており、1988 年には同じサンプリング場所の地下水のクロロホルム濃度が 97.1 µg/L で、およそ 50 m 離れた場所の地下水では 5.8 µg/L であった(C. Moralejo, personal communication to Environment Canada, 1999)。2 ヵ所の汚染地で報告されたもっとも高い濃度である、オンタリオ州 Sarnia 近くの化学薬品会社の埋立地からの浸出水の 950 µg/L、およびケベック州 Ville Mercier の地下水の 916 µg/L が、浄化場所の適用性の決定に用いられたおもな数値であっ

た。これらの場所から数値を算出しても、クロロホルムがカナダの環境にもたらすリスクのさらなる解明に役立つことはないと考えられる。

11.2.3　環境への影響評価における不確実性

この環境リスク評価には数々の不確実性の原因がある。産業への利用によるクロロホルムの直接の放出はかなり十分解明されているが、塩素消毒する廃水処理工場からカナダの環境へ放出されるクロロホルム量は不明である。取り扱う流速や工場の化学的条件によって、クロロホルムの放出には非常にばらつきがある。クロロホルムは塩素と有機化学物質との反応によっても環境中で生成されるが、これらの発生源からの放出量は不明である。

1980 年にパルプおよび製紙工場近傍の地表水で、高濃度のクロロホルムが報告された。以来、新たな規制によってこれらの施設による塩素元素の使用が阻止され、塩素化物質の放出が顕著に低減したと考えられている。例えば、パルプおよび製紙工場からのダイオキシンおよびブランの総排出量は、ほぼ 99%低減している。パルプおよび製紙工場近傍の水中クロロホルム濃度もかなり低減している可能性があるが、入手できるモニタリングデータは少ない。カナダ環境省の Environmental Effects Monitoring データベースによると、ブリティッシュコロンビアにある 4 つの製紙工場近傍で採取した 85 の地表水サンプルでは、クロロホルム濃度は検出限界 1 µg/L 未満であった(Environment Canada, 1999b)。

埋立地からの浸出液中には、かなり高濃度のクロロホルムが報告されている。オンタリオ州 Sarnia 近傍の化学薬品工場埋立地からの浸出液中に、950 µg/L と高い濃度(King & Sherbin, 1986)が報告されており、汚染による地下水の濃度上昇が、ケベック州 Ville Mercier で 916 µg/L(Pakdel et al., 1992)、オンタリオ州南部で最大 25 µg/L(Barker, 1988)と報告されている。修復作業が行われている埋立地もあり、地下水や地表水の汚染による脅威がかなり低減している。廃水中の微生物集団から地下水棲息集団への外挿が必要なことから、この場合もまた不確実性が生じる。しかし、廃水中の微生物はクロロホルムに容易に順化し、15 mg/L までの濃度に耐容できることが分かった。

陸生無脊椎動物に対するクロロホルムの毒性に関して現存する研究は少なく、土壌中の有害濃度の予測に直接関連性はない。鳥類や野生哺乳類への毒性についても情報は見当たらないが、実験動物に関するデータはある。

12.　国際機関によるこれまでの評価

1998 年、WHO Task Group は、飲料水の消毒に使用する化学物質とその副産物によってもたらされるリスクを評価した。クロロホルムに関しては、証拠の重みから、細胞毒性量への長期暴露によってのみ動物にがんが誘発され、飲料水中の低濃度への暴露では、ヒトへの発がんリスクは生じないと結論された。コーン油に混入したクロロホルムを 3 週間投与した後、マウス肝臓における細胞致死性および再生性過形成に対する NOAEL は 10 mg/kg 体重/日であった(Larson et al., 1994c)。クロロホルムの発がん性の作用機序の証拠に基づき、マウスの細胞毒性に対する NOAEL を用い、不確実係数の 1000(種内および種間差に対し各 10、短い試験期間に対し 10)を適用し、TDI は 10 µg/kg 体重と算出された(IPCS, 2000b)。

過去に、飲料水の水質指針に関する WHO Task Group は、クロロホルムを 7.5 年間与えたイヌで認められた LOAEL の 15 mg/kg 体重/日に不確実係数 1000 を適用し、TDI を 13 µg/kg 体重と算出した。これは週 6 日投与を補正した数値である。不確実係数は、種間差、個体差、および NOAEL ではなく LOAEL 使用に対するそれぞれの係数 10 からなる。体重 60 kg のヒトが 1 日に 2L の水を摂取すると想定し、この TDI の 50%を飲料水に割り当てると、クロロホルムに対する指針値は 200 µg/L 飲料水となる。WHO は、ラットの腎臓腫瘍の直線化多段階モデルによって予測された、10 万分の 1 のがんの過剰リスクに相当する飲料水濃度が、がん以外の影響に関して算定された飲料水濃度と類似していることに注目した(WHO, 1998)[12] 。

大気の質のガイドラインに関する報告書で、WHO は 1979 年のイヌの研究に基づき、非発がん性エンドポイントに対するクロロホルムの TDI を 15 µg/kg 体重/日とまとめた。発がん性に関しては、ラットの腎臓腫瘍データに基づき、単位リスク 4.2×10^{-7} µg/m^3 が提示された(WHO, 1999)。

国際がん研究機関(IARC, 1999)は、クロロホルムはヒトに対して発がん物質の可能性がある(Group 2B)と確認した。この結論は、クロロホルムの発がん性に対するヒトでの不十分な証拠と、実験動物での十分な証拠に基づいたものである。

Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA, 1979)は、食品添加物の総説で、クロロホルムを抽出溶媒として使用すべきではないと結論した。

[12] クロロホルムに対する飲料水の水質ガイドラインに関し、WHO による再評価が進行中である。

REFERENCES

Ade P, Guastadisegni C, Testai E, Vittozzi L (1994) Multiple activation of chloroform in kidney microsomes from male and female DBA/2J mice. *Journal of Biochemical Toxicology*, 9(6):289-295.

Agustin JS, Lim-Sylianco CY (1978) Mutagenic and clastogenic effects of chloroform. *Bulletin: Philippine Biochemical Society*, 1:17-23.

Ahmed AE, Kubic VL, Anders MW (1977) Metabolism of haloforms to carbon monoxide: I. *In vitro* studies. *Drug Metabolism and Disposition*, 5(2):198-204.

Alberta Environment (1996) *Alberta Environmental Protection database*. Edmonton, Alberta.

Alphei J, Scheu S (1993) Effects of biocidal treatments on biological and nutritional properties of a mull-structured woodland soil. *Geoderma*, 56(1-4):435-448.

Ames BN, Shigenaga MK, Gold LS (1993) DNA lesions, inducible DNA repair, and cell division: three factors in mutagenesis and carcinogenesis. *Environmental Health Perspectives*, 101(Suppl. 5):35-44.

Amet Y, Berthou F, Fournier G, Dreano Y, Bardou L, Cledes J, Menez J-F (1997) Cytochrome P450 4A and 2E1 expression in human kidney microsomes. *Biochemical Pharmacology*, 53:765-771.

Ammann P, Laethem CL, Kedderis GL (1998) Chloroform-induced cytolethality in freshly isolated male B6C3F1 mouse and F-344 rat hepatocytes. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 149(2):217-225.

Anders MW, Stevens JL, Sprague RW, Shaath Z, Ahmed AE (1978) Metabolism of haloforms to carbon monoxide: II. *In vitro* studies. *Drug Metabolism and Disposition*, 6(5):556-560.

Anderson DR, Lusty EW (1980) *Acute toxicity and bioaccumulation of chloroform to four species of freshwater fish*. Richland, WA, Batelle Pacific Northwest Laboratory (Report 701).

Anderson L, Bayliss D, Chen CW, Coleman JP, Davidson IWF, Gray DA, Lee SD, Rosenthal S, Sakai C, Wilbur SB (1985) *Health assessment document for chloroform*. Research Triangle Park, NC, US Environmental Protection Agency (EPA/600/8-84/004 F).

Ashley DL, Bonin MA, Cardinali FL, McGraw JM, Wooten JV (1994) Blood concentrations of volatile organic compounds in a nonoccupationally exposed U.S. population and in groups with suspected exposure. *Clinical Chemistry*, 40(7):1401-1404.

ATSDR (1996) *Toxicological profile for chloroform (update). Draft for public comment*. Atlanta, GA, Agency for Toxic Substances and Disease Registry.

Barker JF (1988) *Organic contaminants in groundwaters affected by landfill leachates*. Waterloo, Ontario, University of Waterloo, Department of Earth Sciences, Institute for Groundwater Research, pp. 200-206.

Barrows ME, Petrocelli SR, Macek KJ, Carroll JJ (1980) Bioconcentration and elimination of selected water pollutants by bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). In: Haque R, ed. *Dynamics, exposure, and hazard assessment of toxic chemicals*. Ann Arbor, MI, Ann Arbor Scientific Publications, pp. 379-392.

B.C. MOE (1996) *SEAM database system*. Victoria, British Columbia, British Columbia Ministry of Environment and Parks, Environmental Protection Service.

Benoit FM, Nicolidakis H, Cardinall C, Alleyne C, Mori B (1997) *Characterization of chloroform levels in the breathing zone of showers by GC/MS.* Presented at the 45th American Society for Mass Spectrometry Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics, Palm Springs, CA.

Bentley RE, Heitmuller T, Sleight BH, Parrish PR (1979) *Acute toxicity of chloroform to bluegill (Lepomis macrochirus), rainbow trout (Salmo gairdneri) and pink shrimp (Penaeus duorarum).* Washington, DC, US Environmental Protection Agency, Criteria Branch (WA-6-99-1414-B) [cited in US EPA, 2003].

Bergman K (1984) Application and results of whole-body autoradiography in distribution studies of organic solvents. *Critical Reviews in Toxicology*, 12:59-119.

Birge WJ, Black JA, Bruser DM (1979) *Toxicity of organic chemicals to embryo-larval stages of fish.* Washington, DC, US Environmental Protection Agency (EPA-560/11-79-007).

Birge WJ, Black JA, Kuehne RA (1980) *Effects of organic compounds on amphibian reproduction.* Lexington, KY, University of Kentucky, Water Resources Research Institute (Report No. 121).

Black JA, Birge WJ, McDonnell WE, Westerman AG, Ramey BA, Bruser DM (1982) *The aquatic toxicity of organic compounds to embryo-larval stages of fish and amphibians*. Lexington, KY, University of Kentucky, Water Resources Research Institute (Report No. 133).

Bomski HA, Sobdewska A, Strakowski A (1967) [Toxic damage of the liver by chloroform in chemical industry workers.] *Internationale Archiv für Gewerbepathologie und Gewerbehygiene*, 24:127-134 (in German).

Bonnet P, Francin J-M, Gradiski D, Raoult G, Zissu D (1980) Determination of the median lethal concentration of the main chlorinated aliphatic hydrocarbons in the rat. *Archives des Maladies Professionnelles de Médecine du Travail et de Sécurité Sociale*, 41(6-7):317-321.

Bouwer EJ, McCarty PL (1984) Modeling of trace organics biotransformation in the subsurface. *Ground Water*, 22:433-440.

Bouwer EJ, Rittmann BE, McCarty PL (1981) Anaerobic degradation of halogenated 1- and 2-carbon organic compounds. *Environmental Science and Technology*, 15(5):596-599.

Brack W, Rottler H (1994) Toxicity testing of highly volatile chemicals with green algae — a new assay. *Environmental Science and Pollution Research*, 1:223-228.

Brady JF, Li D, Ishizaki H, Lee M, Ning SM, Xiao F, Yang CS (1989) Induction of cytochromes P450IIE1 and P450IIB1 by secondary ketones and the role of P450IIE1 in chloroform metabolism. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 100:342-349.

Bringmann G, Kühn R (1977) Grenzwerte der schadwirkung wassergefahrdender stoffe gegen bakterien (*Pseudomonas putida*) und grunalgen (*Scenedesmus*

quadricauda) im zellvermehrungshemmtest. *Zeitschrift für Wasser und Abwasser Forschung*, 10:87-98.

Bringmann G, Kühn F (1978) Limiting values for the noxious effects of water pollutant material to blue algae (*Microcystis aeruginosa*) and green algae (*Scenedesmus quadricauda*) in the cell multiplication inhibition test. *Vom Wasser*, 50:45-60.

Brown BR, Sipes IG, Sagalyn MA (1974) Mechanisms of acute hepatic toxicity: Chloroform, halothane and glutathione. *Anesthesiology*, 41(6):554-561.

Brown DM, Langley PF, Smith D, Taylor DC (1974) Metabolism of chloroform. I. The metabolism of ^{14}C-chloroform by different species. *Xenobiotica*, 4(3):151-163.

Brown RP, Delp MD, Lindstedt SL, Rhomber LR, Beliles RP (1997) Physiological parameter values for physiologically based pharmacokinetic models. *Toxicology and Industrial Health*, 13:407-484.

Budavari S, ed. (2001) *The Merck index*, 13th ed. Whitehouse Station, NJ, Merck & Co., p. 2162.

Bull RJ, Brown JM, Meierhenry EA, Jorgenson TA, Robinson M, Stober JA (1986) Enhancement of the hepatotoxicity of chloroform in B6C3F1 mice by corn oil: implications for chloroform carcinogenesis. *Environmental Health Perspectives*, 69:49-58.

Butterworth BE, Templin MV, Constan AA, Sprankle CS, Wong BA, Pluta LJ, Everitt JI, Recio L (1998) Long-term mutagenicity studies with chloroform and dimethylnitrosamine in female lacI transgenic B6C3F1 mice. *Environmental and Molecular Mutagenesis,* 31(3):248-256.

Callahan CA, Shirazi MA, Neuhauser EF (1994) Comparative toxicity of chemicals to earthworms. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 13(2):291-298.

CCPA (1992) *Reducing emissions. 1992 emissions inventory and five year projections.* Ottawa, Ontario, Canadian Chemical Producers' Association.

Chu I, Secours V, Marino I, Villeneuve DC (1980) The acute toxicity of four trihalomethanes in male and female rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 52:351-353.

Class T, Ballschmiter K (1986) Chemistry of organic traces in air. VI: Distribution of chlorinated C1-C4 hydrocarbons in air over the northern and southern Atlantic oceans. *Chemosphere*, 15:413-427.

Clemens TL, Hill RN, Bullock LP, Johnson WD, Sultatos LG, Vessell ES (1979) Chloroform toxicity in the mouse: Role of genetic factors and steroids. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 48:117-130.

Cohen SM (1995) Role of cell proliferation in regenerative and neoplastic disease. *Toxicology Letters*, 82/83:15-21.

Cohen SM, Ellwein LB (1990) Cell proliferation in carcinogenesis. *Science*, 249:1007-1011.

Cohen SM, Ellwein LB (1991) Genetic errors, cell proliferation, and carcinogenesis. *Cancer Research*, 51:6493-6505.

Cohen SM, Ellwein LB (1996) Correspondence re: E. Farber, Cell proliferation as a major risk factor for cancer: a concept of doubtful validity. Cancer Res., 55: 3759-3762, 1995 [letter to editor]. *Cancer Research*, 56:4269-4270.

Colacci A, Bartoli S, Bonora B, Guidotti L, Lattanzi G, Mazzullo M, Niero A, Perocco P, Silingardi P, Grilli S (1991) Chloroform bioactivation leading to nucleic acids binding. *Tumori*, 77:285-290.

Comba ME, Palabricia VS, Kaiser KLE (1993) *Tracking bleached kraft mill effluent with volatile hydrocarbons: the Jackfish Bay example.* Burlington, Ontario, National Water Research Institute, Lakes Research Branch, Nearshore-Offshore Interactions Project (NWRI Contribution).

Concord Environmental Corporation (1992) *Results of a national pilot survey of airborne volatile organic compounds in Canadian residences. Vols. 1 and 2.* Downsview, Ontario, Concord Environmental Corporation (CE J2431).

Condie LW, Smallwood CL, Laurie RD (1983) Comparative renal and hepatotoxicity of halomethanes: bromodichloromethane, bromoform, chloroform, dibromochloromethane and methylene chloride. *Drug and Chemical Toxicology*, 6(96):563-578.

Conor Pacific Environmental (1998) *A report on multimedia exposures to selected PSL2 substances*. Prepared by Conor Pacific Environmental (formerly Bovar Environmental) and Maxxam Analytics Inc. for Health Canada, Ottawa, Ontario (Project No. 741-6705; Contract #DSS File No. 025SS.H4078-6-C574).

Constan AA, Sprankle CS, Peters JM, Kedderis GL, Everitt JI, Wong BA, Gonzalez FL, Butterworth BE (1999) Metabolism of chloroform by cytochrome P450 2E1 is required for induction of toxicity in the liver, kidney, and nose of male mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 160:120-126.

Constan AA, Wong BA, Everitt JI, Butterworth BE (2002) Chloroform inhalation exposure conditions necessary to initiate liver toxicity in female B6C3F1 mice. *Toxicological Sciences*, 66:201-208.

Corley RA, Mendrala AL, Smith FA, Staats DA, Gargas ML, Conolly RB, Andersen ME, Reitz RH (1990) Development of a physiologically based pharmacokinetic model for chloroform. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 103:512-527.

Cowgill UM, Milazzo DP (1991) The sensitivity of *Ceriodaphnia dubia* and *Daphnia magna* to seven chemicals utilizing the three-brood test. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 20(2):211-217.

Cowgill UM, Milazzo DP, Landenberger BD (1989) Toxicity of nine benchmark chemicals to *Skeletonema costatum*, a marine diatom. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 8(5):451-456.

Cowgill UM, Milazzo DP, Landenberger BD (1991) The sensitivity of *Lemna gibba* G-3 and four clones of *Lemna minor* to eight common chemicals using a 7-day test. *Research Journal of the Water Pollution Control Federation*, 63(7):991-998.

Cresteil T, Beaune P, Leroux JP, Lange M, Mansuy D (1979) Biotransformation of chloroform by rat and human liver microsomes: *in vitro* effect on some enzyme activities and mechanisms of irreversible binding to macromolecules. *Chemico-Biological Interactions*, 24:153-165.

Daft JL (1988) Rapid determination of fumigant and industrial chemical residues in food. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 71(4):748-760.

Daniel FB, DeAngelo AB, Stober JA, Pereira MA, Olson GR (1989) Chloroform inhibition of 1,2-dimethylhydrazine-induced gastrointestinal tract tumours in the Fischer 344 rat. *Fundamental and Applied Toxicology*, 13:40-45.

Daniel FB, Reddy TV, Stober JA, Olson GR (1991) Site specific modulation of carcinogen-induced gastrointestinal tract nuclear anomalies in B6C3F1 mice by chloroform. *Anticancer Research*, 11:665-670.

Danielsson BRG, Ghantous H, Dencker L (1986) Distribution of chloroform and methyl chloroform and their metabolites in pregnant mice. *Biological Research in Pregnancy*, 7:77-83.

DeAngelo AB, George MH, Kilburn S, Geter DR (2003) The failure of chloroform administered in the drinking water to induce renal cell cancer in the F344/N rat. *Toxicologist*, S-1:84 (Abstract 405).

Delic JI, Lilly PD, MacDonald AJ, Loizou GD (2000) The utility of PBPK in the safety assessment of chloroform and carbon tetrachloride. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 32(2):144-155.

Delker DA, Yano BL, Gollapudi BB (1999) V-Ha-*ras* gene expression in liver and kidney of transgenic Tg.AC mice following chemically induced tissue injury. *Toxicological Sciences*, 50:90-97.

Deml E, Oesterle D (1985) Dose-dependent promoting activity of chloroform in rat liver foci bioassay. *Cancer Letters*, 29:59-63.

Deml E, Oesterle D (1987) Dose-response of promotion by polychlorinated biphenyls and chloroform in rat liver foci bioassay. *Archives of Toxicology*, 60:209-211.

Derwent RG, Eggleton AEJ (1978) Halocarbon lifetimes and concentration distributions calculated using a two-dimensional tropospheric model. *Atmospheric Environment*, 12(6-7):1261-1269.

Diamond ML, Poulton DJ, Mackay D, Stride FA (1994) Development of a mass balance model of the fate of 17 chemicals in the Bay of Quinte. *Journal of Great Lakes Research*, 20(4):643-666.

Diaz-Gomez MI, Castro JA (1980) Covalent binding of chloroform metabolites to nuclear proteins: No evidence for binding to nucleic acids. *Cancer Letters*, 9:213-218.

Dicker E, McHugh T, Cederbaum AI (1991) Increased catalytic activity of cytochrome P-450IIE1 in pericentral hepatocytes compared to periportal hepatocytes isolated from pyrazole-treated rats. *Biochimica Biophysica Acta*, 1073:316-323.

Dimmer CH, Simmonds PG, Nickless G, Bassford MR (2001) Biogenic fluxes of halomethanes from Irish peatland ecosystems. *Atmospheric Environment*, 35:321-330.

Dix K, Borghoff SJ (1995) Comparison of gavage vehicle-dependent chloroform ($CHCl_3$) tissue dosimetry in mice and rats. *Toxicologist*, 15:268 (abstract).

Dix K, Murphy JE, Borghoff SJ (1994) Vehicle dependence of chloroform ($CHCl_3$) tissue dosimetry following oral gavage in male F344 rats. *Toxicologist*, 14:275 (abstract).

Dorman DC, Miller KL, D'Antonio A, James RA, Morgan KL (1997) Chloroform-induced olfactory mucosal degeneration and osseous ethmoid hyperplasia are not associated with olfactory deficits in Fischer 344 rats. *Toxicology*, 122(1-2):39-50.

Duprat P, Delsaut L, Gradiski D (1976) Pouvoir irritant des principaux chlorés aliphatiques sur le peau et les muqueuses oculaires du lapin. *European Journal of Toxicology and Environmental Health*, 9:171-177 [cited in IPCS, 1994a].

Dural NH, Peng D (1995) *Competitive adsorption of chlorinated aliphatic hydrocarbons from aqueous mixtures onto soil.* Cleveland, OH, Cleveland State University, Department of Chemical Engineering, pp. 528-537.

ECSA (1997) Personal communication from the European Chlorinated Solvent Association [cited in Zok et al., 1998].

EHD (1998) *Exposure factors for assessing total daily intake of priority substances by the general population of Canada.* Ottawa, Ontario, Health Canada, Environmental Health Directorate, Priority Substances Section (unpublished report).

EHRT (1988) *Chloroform reproduction and fertility assessment in CD-1 mice when administered by gavage*. Prepared by Environmental Health Research and Testing Inc., Lexington, KY, for National Toxicology Program, National Institutes of Health, Research Triangle Park, NC (Study No. NTP-86-FACB-052; NTIS Publication No. PB89-148639).

Environment Canada (1996) *NAQUADAT summary report. Surface water data.* Ottawa, Ontario, Environment Canada.

Environment Canada (1997a) *Results of the CEPA Section 16 notice respecting the second Priority Substances List and di(2-ethylhexyl) phthalate.* Hull, Quebec, Environment Canada, Commercial Chemicals Evaluation Branch, Use Patterns Section.

Environment Canada (1997b) *Environmental assessments of Priority Substances under the Canadian Environmental Protection Act. Guidance manual version 1.0 — March 1997.* Hull, Quebec, Environment Canada, Commercial Chemicals Evaluation Branch, Chemicals Evaluation Division (EPS 2/CC/3E).

Environment Canada (1999a) *Canadian Environmental Protection Act — Priority Substances List supporting document for the environmental assessment of chloroform*. Hull, Quebec, Environment Canada, Commercial Chemicals Evaluation Branch.

Environment Canada (1999b) *EEM (Environmental Effects Monitoring) database*. Hull, Quebec, Environment Canada.

Environment Canada, Health Canada (2000) Publication after assessment of a substance — chloroform — specified on the Priority Substances List (Subsection 77(1) of the *Canadian Environmental Protection Act, 1999*). *Canada Gazette*, Part I, 3 June 2000, pp. 1709-1711.

Environment Canada, Health Canada (2001) *Canadian Environmental Protection Act, 1999. Priority Substances List assessment report. Chloroform.* Ottawa, Ontario, Minister of Public Works and Government Services Canada.

Enviro-Test Laboratories (1992) *Windsor area background study: analysis of food products for target organic and inorganic parameters*. Prepared for the National Contaminated Sites Remediation Program, Health Protection Branch, Health and Welfare Canada, Ottawa, Ontario, 8 May 1992 (Reference No. 92-E1052.REP).

Enviro-Test Laboratories (1993) *Ville-Mercier background study: analysis of food products for target organic and inorganic parameters.* Prepared for the National Contaminated Sites Remediation Program, Health Protection Branch, Health and Welfare Canada, Ottawa, Ontario, 14 June 1993 (Reference No. E3-02-147.REP).

Erickson SJ, Freeman AE (1978) Toxicity screening of fifteen chlorinated and brominated compounds using four species of marine phytoplankton. In: Jolley RL, Gorchev H, Hamilton DH, eds. *Water chlorination: Environmental impact and health effects*. Ann Arbor, MI, Ann Arbor Scientific Publications, pp. 307-310.

Erickson MD, Harris BSH, Pellizzari ED, Tomer KB, Wadell RD, Whitaker DA (1980) *Acquisition and chemical analysis of mother's milk for selected toxic substances*. Research Triangle Park, NC, Research Triangle Institute, December (Report No. 560/13-80-029).

European Commission (2003) *Technical Guidance Document (Edition 2). Technical Guidance Document in support of Commission Directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substances, Commission Regulation (EC) No. 1488/94 on risk assessment for existing substances and Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market.* Ispra, European Commission, Joint Research Centre. Available at http://ecb.jrc.it/php-bin/reframer.php?B=/TGD.

Farber E (1996) Correspondence re: E. Farber, Cell proliferation as a major risk factor for cancer: a concept of doubtful validity. Cancer Res., 55: 3759-3762, 1995 [reply to letter to editor]. *Cancer Research*, 56:4272-4274.

Foster GD, Tullis RE (1984) A QSAR between partition coefficients and the acute toxicity of naphthalene derivatives in *Artemia*. *Aquatic Toxicology*, 5(3):245-254.

Frantík E, Vodičková L, Hornychová M, Nosek M (1998) Relative subnarcotic potency of solvents predicted by partition coefficients. *Central European Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 4:25-35.

Fry BJ, Taylor T, Hathway DE (1972) Pulmonary elimination of chloroform and its metabolite in man. *Archives of International Pharmacodynamics and Therapeutics*, 196:98-111.

Fujie K, Aoki T, Wada M (1990) Acute and subacute cytogenetic effects of the trihalomethanes on rat bone marrow cells *in vivo*. *Mutation Research*, 242:111-119.

Gearhart JM, Seckel C, Vinegar A (1993) *In vivo* metabolism of chloroform in B6C3F1 mice determined by the method of gas uptake: The effects of body temperature on tissue partition coefficients and metabolism. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 119:258-266.

Gemma S, Facioli S, Chieco P, Sbraccia M, Testai E, Vittozzi L (1996) *In vivo* $CHCl_3$ bioactivation, toxicokinetics, toxicity, and induced compensatory cell proliferation in B6C3F1 mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 141:394-402.

Giardino NJ, Andelman JB (1996) Characterization of the emissions of trichloroethylene, chloroform, and 1,2-dibromo-3-chloropropane in a full-size experimental shower. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology*, 6(4):413-423.

Gocke E, King M-T, Eckhardt K, Wild D (1981) Mutagenicity of cosmetics ingredients licensed by the European Communities. *Mutation Research*, 90:91-109.

Gollapudi BB, Yano BL, Day SJ, Linscombe VA, Jackson KM, Bus JS (1999) Response of the transgenic p53+/- mouse 26-week carcinogenicity assay to chloroform. *Toxicologist*, 48(1-S):369 (Abstract 1740).

Goodman LS, Gilman AG (1970) *The pharmacological basis of therapeutics*. New York, NY, McMillan Co.

Gradiski D, Bonnet P, Raoult G, Magadur JL (1978) Toxicité aiguë comparée par inhalation des principaux solvents aliphatiques chlorés. *Archives des Maladies Professionnelles de Médecine du Travail et de Sécurité Sociale*, 39:249-257.

Guengerich FP, Kim DH, Iwasaki M (1991) Role of human cytochrome P-450 IIE1 in the oxidation of many low molecular weight cancer suspects. *Chemical Research in Toxicology*, 4:168-179.

Gürtler KR, Kleinermanns K (1994) Photooxidation of exhaust pollutants: ii. Photooxidation of chloromethanes, degradation efficiencies, quantum yields and products. *Chemosphere*, 28(7):1289-1298.

Hard GC, Wolf DC (1999) Re-evaluation of the chloroform 2-year drinking water bioassay in Osborne-Mendel rats indicates that sustained renal tubule injury is associated with renal tumor development. *Toxicologist*, 48(1-S):30 (Abstract 140).

Hard GC, Boorman GA, Wolf DC (2000) Re-evaluation of the 2-year chloroform drinking water carcinogenicity bioassay in Osborne-Mendel rats supports chronic renal tubule injury as the mode of action underlying the renal tumor response. *Toxicological Sciences*, 53(2):237-244.

Haselmann KF, Laturnus F, Svensmark B, Gron C (2000) Formation of chloroform in spruce forest soil — results from laboratory incubation studies. *Chemosphere*, 41(11):1769-1774.

Health Canada (1994) *Canadian Environmental Protection Act. Human health risk assessment for Priority Substances*. Ottawa, Ontario, Minister of Supply and Services Canada, 36 pp. (Catalogue No. En40-215/41E; ISBN 0-662-22126-5).

Health Canada (1999) *Canadian Environmental Protection Act. Priority Substances List. Supporting documentation for chloroform: exposure assessment.* Ottawa, Ontario, Health Canada, Environmental Health Directorate, Priority Substances Section, November.

Heavner DL, Morgan WT, Ogden MW (1996) Determination of volatile organic compounds and respirable suspended particulate matter in New Jersey and Pennsylvania homes and workplaces. *Environment International*, 22(2):159-183.

Heikes DL (1987) Purge and trap method for determination of volatile halocarbons and carbon disulfide in table-ready foods. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 70(2):215-226.

Heikes DL, Hopper ML (1986) Purge and trap method for determination of fumigants in whole grains, milled grain products, and intermediate grain-based foods. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 69(6):990-998.

Heikes DL, Jensen SR, Fleming-Jones ME (1995) Purge and trap extraction with GC-MS determination of volatile organic compounds in table-ready foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43:2869-2875.

Henderson CJ, Scott AR, Yang CS, Wolf RC (1989) Testosterone-mediated regulation of mouse renal cytochrome P-450 isoenzymes. *Biochemical Journal*, 278:499-503.

Hermens J, Broekhuyzen E, Canton H, Wegman R (1985) Quantitative structure activity relationships and mixture toxicity studies of alcohols and chlorohydrocarbons: Effects on growth of *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology*, 6(3):209-217.

Herren-Freund SL, Pereira MA (1986) Carcinogenicity of by-products of disinfection in mouse and in rat liver. *Environmental Health Perspectives*, 69:59-66.

Heywood R, Sortwell RJ, Noel PRB, Street AE, Prentice DE, Roe FJC, Wadsworth PF, Worden AN, Van Abbé NJ (1979) Safety evaluation of toothpaste containing chloroform. III. Long-term study in beagle dogs. *Journal of Environmental Pathology and Toxicology*, 2:835-851.

Hoechst (1987) *Chloroform. Detection of gene mutations in somatic cells in culture. HGPRT-test with V79 cells*. Frankfurt, Pharma Research Toxicology and Pathology, Hoechst Aktiengesellschaft Laboratory (Project ID 86.1085; Hoechst Report No. 87.0692; TSCA Document No. FYI-OTS-0988-0635; Microfiche No. OTS0000635).

Hoechst (1988) *Inhalation embryotoxicity study of chloroform in Wistar rats.* Frankfurt, Pharma Research Toxicology and Pathology, Hoechst Celanese Group. Submitted to Dow Chemical Company. *Toxic Substances Control Act* submission. "Initial submission: Inhalation embryotoxicity study with chloroform in Wistar rats with cover letter dated 072492" (Document ID 88-920005781; Microfiche No. OTS0544564).

Hoechst (1990) *Chloroform: Supplementary inhalation embryotoxicity study in Wistar rats*. Frankfurt, Pharma Development Toxicology, Hoechst Celanese Group. Submitted to Dow Chemical Company. *Toxic Substances Control Act* submission. "Initial submission: Chloroform: Supplementary inhalation embryotoxicity study in Wistar rats (final report) with attachments and cover letter dated 122491" (Document ID 88-920000566; Microfiche No. OTS0535017).

Hoechst (1993) *Supplementary inhalation embryotoxicity study of chloroform in Wistar rats.* Frankfurt, Hoechst Celanese Group. *Toxic Substances Control Act* submission. "Support: Supplementary inhalation embryotoxicity study of chloroform in Wistar rats — study amendments, with cover letter dated 062593" (Document ID 89-930000184; Microfiche No. OTS0535017-1).

Hoekstra EJ, de Leer EWB, Brinkmann UAT (1998) Natural formation of chloroform and brominated trihalomethanes in soil. *Environmental Science and Technology*, 32:3724-3729.

Hong JY, Pan J, Ning SM, Yang CS (1989) Molecular basis for the sex-related difference in renal *N*-nitrosodimethylamine demethylase in C3H/HeJ mice. *Cancer Research*, 49:2973-2979.

HSDB (2003) *Hazardous substances data bank*. Bethesda, MD, National Library of Medicine. Available at http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB.

Hutchinson TC, Hellebust JA, Tam D, Mackay D, Mascarenhas RA, Shiu WY (1980) The correlation of the toxicity to algae of hydrocarbons and halogenated hydrocarbons with their physical-chemical properties. *Environmental Science and Research*, 16: 577-586.

IARC (1999) Chloroform (Group 2B). In: *International Agency for Research on Cancer (IARC) — Summaries & evaluations*. Lyon, International Agency for Research on Cancer, pp. 131-182 (IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Vol. 73). Available at http://www.inchem.org/documents/iarc/vol73/73-05.html.

ICF Kaiser (1999) *Development of a PBPK model for chloroform for human health risk assessment*. Ruston, LA, The K.S. Crump Group, Inc., ICF Kaiser (contract report for Health Canada).

Ilett KE, Reid WD, Sipes IG, Krishna G (1973) Chloroform toxicity in mice: correlation of renal and hepatic necrosis with covalent binding of metabolites to tissue macromolecules. *Experimental and Molecular Pathology*, 19:215-229.

ILSI (1997) *An evaluation of EPA's proposed guidelines for carcinogen risk assessment using chloroform and dichloroacetate as case studies: Report of an expert panel.*

Washington, DC, International Life Sciences Institute, Health and Environmental Institute (ISBN 1-57881-002-70).

Ingelman-Sundberg M, Johansson I, Penttilä KE, Glaumann H, Lindros KO (1988) Centrilobular expression of ethanol-inducible cytochrome P-450 (IIE1) in rat liver. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 157(1):55-60.

IPCS (1994a) *Chloroform*. Geneva, World Health Organization, International Programme on Chemical Safety, 174 pp. (Environmental Health Criteria 163).

IPCS (1994b) *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 (2000a) *Chloroform.* Geneva, World Health Organization, International Programme on Chemical Safety (International Chemical Safety Card 0027).

IPCS (2000b) *Disinfectants and disinfectant by-products*. Geneva, World Health Organization, International Programme on Chemical Safety (Environmental Health Criteria 216).

ISO (1997) *Water quality — Determination of highly volatile halogenated hydrocarbons — Gas-chromatographic methods*. Geneva, International Organization for Standardization (ISO 10301:1997). Available at http://www.iso.ch/iso/en/stdsdevelopment/tc/tclist/TechnicalCommitteeStandardsListPage.TechnicalCommitteeStandardsList?COMMID=3671.

Jackson RE, Patterson RJ, Graham BW, Bahr J, Belanger D, Lockwood J, Priddle M (1985) *Contaminant hydrogeology of toxic chemicals at a disposal site, Gloucester, Ontario. 1. Chemical concepts and site assessment*. Ottawa, Ontario, Environment Canada, Inland Waters Directorate, National Hydrology Research Institute (NHRI Paper No. 23).

Jackson S, Brown VM (1970) Effects of toxic wastes on treatment processes and watercourses. *Water Pollution Control*, 69:292-313.

JECFA (1979) Chloroform. In: *Summary of evaluations performed by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*. Rome, Food and Agriculture

Organization of the United Nations, and Geneva, World Health Organization, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA Technical Report Series 648-23/19 and Food Additive Series 14-23/24). Available at http://www.inchem.org/documents/jecfa/jeceval/jec_329.htm.

Jo WK, Weisel CP, Lioy PJ (1990) Routes of chloroform exposure and body burden from showering with chlorinated tap water. *Risk Analysis*, 10:575-580.

Johansson I, Lindros KO, Eriksson H, Ingelman-Sundberg M (1990) Transcriptional control of CYP2E1 in the perivenous liver region and during starvation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 173(1):331-338.

Jorgenson TA, Meierhenry EF, Rushbrook CJ, Bull RJ, Robinson M (1985) Carcinogenicity of chloroform in drinking water to male Osborne-Mendel rats and female B6C3F1 mice. *Fundamental and Applied Toxicology*, 5:760-769.

Kaczmar SW (1979) *The occurrence and behavior of halomethanes in the aquatic environment* [MSc thesis]. East Lansing, MI, Michigan State University.

Kasai T, Nishizawa T, Arito H, Nagano K, Yamamoto S, Matsushima T, Kawamoto T (2002) Acute and subchronic inhalation toxicity of chloroform in rats and mice. *Journal of Occupational Health*, 44:193-202.

Keegan TE, Simmons JE, Pegram RA (1998) NOAEL and LOAEL determinations of acute hepatotoxicity for chloroform and bromodichloromethane delivered in an aqueous vehicle to F344 rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 55(1):65-75.

Khalil MAK, Rasmussen RA (1999) Atmospheric chloroform. *Atmospheric Environment*, 33(7):1151-1158.

Kimura ET, Ebert DM, Dodge PW (1971) Acute toxicity and limits of solvent residue for sixteen organic solvents. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 19:699-704.

Kindler TP, Chameides WL, Wine PH, Cunnold DM, Alyea FN, Franklin JA (1995) The fate of atmospheric phosgene and the stratospheric chlorine loadings of its parent compounds: CCl_4, C_2Cl_4, C_2HCl_3, CH_3CCl_3, and $CHCl_3$. *Journal of Geophysical Research*, 100(D1):1235-1251.

King L, Sherbin G (1986) Point sources of toxic organics to the upper St. Clair River. *Water Pollution Research Journal of Canada*, 21(3):433-446.

Klaunig JE, Ruch RJ, Pereira MA (1986) Carcinogenicity of chlorinated methane and ethane compounds administered in drinking water to mice. *Environmental Health Perspectives*, 69:89-95.

Klöpffer W, Haag F, Kohl E-G, Frank R (1988) Testing of the abiotic degradation of chemicals in the atmosphere: The smog chamber approach. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 15(3):298-319.

Kluwe WM (1981) The nephrotoxicity of low molecular weight halogenated alkane solvents, pesticides, and chemical intermediates. In: Hook JB, ed. *Toxicology of the kidney*. New York, NY, Raven Press, pp. 179-226.

Kühn R, Pattard M (1990) Results of the harmful effects of water pollutants to green algae (*Scenedesmus subspicatus*) in the cell multiplication inhibition test. *Water Research*, 24(1):31-38.

Kühn R, Pattard M, Pernak K-D, Winter A (1989) Results of the harmful effects of water pollutants to *Daphnia magna* in the 21 day reproduction test. *Water Research*, 23(4):501-510.

Land PC, Owen EL, Linde HW (1981) Morphologic changes in mouse spermatozoa after exposure to inhalational anaesthetics during early spermatogenesis. *Anesthesiology*, 54:53-56.

Larson JL, Wolf DC, Morgan KT, Mery S, Butterworth BE (1994a) The toxicity of 1-week exposures to inhaled chloroform in female B6C3F1 mice and male F-344 rats. *Fundamental and Applied Toxicology*, 22:431-446.

Larson JL, Wolf DC, Butterworth BE (1994b) Induced cytolethality and regenerative cell proliferation in the livers and kidneys of male B6C3F1 mice given chloroform by gavage. *Fundamental and Applied Toxicology*, 23(4):537-543.

Larson JL, Wolf DC, Butterworth BE (1994c) Induced cytotoxicity and cell proliferation in the hepatocarcinogenicity of chloroform in female B6C3F1 mice:

comparison of administration by gavage in corn oil vs *ad libitum* in drinking water. *Fundamental and Applied Toxicology*, 22:90-102.

Larson JL, Sprankle CS, Butterworth BE (1994d) Lack of chloroform-induced DNA repair *in vitro* and *in vivo* in hepatocytes of female B6C3F1 mice. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 23:132-136.

Larson JL, Wolf DC, Butterworth BE (1995a) Induced regenerative cell proliferation in livers and kidneys of male F-344 rats given chloroform in corn oil by gavage or *ad libitum* in drinking water. *Toxicology*, 95:73-86.

Larson JL, Wolf DC, Mery S, Morgan KT, Butterworth BE (1995b) Toxicity and cell proliferation in the liver, kidneys and nasal passages of female F-344 rats, induced by chloroform administered by gavage. *Food and Chemical Toxicology*, 33(6):443-456.

Larson JL, Templin MV, Wolf DC, Jamison KC, Leininger JR, Mery S, Morgan KT, Wong BA, Conolly RB, Butterworth BE (1996) A 90-day chloroform inhalation study in female and male B6C3F1 mice: implications for cancer risk assessment. *Fundamental and Applied Toxicology*, 30(1):118-137.

Lilly PD (1996) *A physiologically-based toxicity model of orally-administered bromodichloromethane* [PhD thesis]. Chapel Hill, NC, University of North Carolina.

Löfberg B, Tjälve H (1986) Tracing tissues with chloroform-metabolizing capacity in rats. *Toxicology*, 39:13-35.

Lyman WJ, Reehl WF, Rosenblatt DH (1982) *Handbook of chemical property estimation methods. Environmental behaviour of organic compounds*. New York, NY, McGraw-Hill Book Co., pp. 9-31.

Mailhot H (1987) Prediction of algal bioaccumulation and uptake of nine organic compounds by ten physicochemical properties. *Environmental Science and Technology*, 21:1009-1013.

Mansuy D, Beaune P, Cresteil T, Lange M, Leroux JP (1977) Evidence for phosgene formation during liver microsomal oxidation of chloroform. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 79:513-517.

McCulloch A (2003) Chloroform in the environment: occurrence, sources, sinks and effects. *Chemosphere*, 50:1291-1308.

McNeal TP, Hollifield HC, Diachenko GW (1995) Survey of trihalomethanes and other volatile chemical contaminants in processed foods by purge-and-trap capillary gas chromatography with mass selective detection. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists International*, 78(2):391-397.

Meek ME, Beauchamp R, Long G, Moir D, Turner L, Walker M (2002) Chloroform: exposure estimation, hazard characterization, and exposure-response analysis. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 5:283-334.

Melnick RL (1992) Does chemically-induced hepatocyte proliferation predict liver carcinogenesis? *FASEB Journal*, 6:2698-2706.

Melnick RL, Kohn MC, Dunnick JK, Leininger JR (1998) Regenerative hyperplasia is not required for liver tumor induction in female B6C3F1 mice exposed to trihalomethanes. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 148(1):137-147.

MENVIQ (1996) *Water quality database*. Quebec City, Quebec, Ministère de l'environnement du Québec.

Mery S, Larson JL, Butterworth BE, Wolf DC, Harden R, Morgan KT (1994) Nasal toxicity of chloroform in male F-344 rats and female B6C3F1 mice following a 1-week inhalation exposure. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 125(2):214-227.

Miller LJ, Uhler AD (1988) Volatile halocarbons in butter: elevated tetrachloroethylene levels in samples obtained in close proximity to dry-cleaning establishments. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 41:469-474.

Mirsalis JC, Tyson CK, Butterworth BE (1982) Detection of genotoxic carcinogens in the *in vivo-in vitro* hepatocyte DNA repair assay. *Environmental Mutagenesis*, 4:553-562.

Mohla S, Ahir S, Ampy FR (1988) Tissue specific regulation of renal *N*-nitrosodimethylamine-demethylase activity by testosterone in BALB/c mice. *Biochemical Pharmacology*, 37(13):2697-2702.

Moore DRJ, Caux PY (1997) Estimating low toxic effects. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16(4):794-801.

Moore DH, Chasseaud LF, Majeed SK, Prentice DE, Roe FJC, Van Abbé NJ (1982) The effect of dose and vehicle on early tissue damage and regenerative activity after chloroform administration to mice. *Food and Chemical Toxicology*, 20:951-954.

Morgan A, Black A, Belcher DR (1970) The excretion in breath of some aliphatic halogenated hydrocarbons following administration by inhalation. *Annals of Occupational Hygiene*, 13:219-233.

Morimoto K, Koizumi A (1983) Trihalomethanes induce sister chromatid exchanges in human lymphocytes *in vitro* and mouse bone marrow cells *in vivo*. *Environmental Research*, 32:72-79.

Munson AE, Sain LE, Sanders VM, Kauffmann BM, White KL, Page DG, Barnes DW, Borzelleca JF (1982) Toxicology of organic drinking water contaminants: trichloromethane, bromodichloromethane, dibromomethane and tribromomethane. *Environmental Health Perspectives*, 46:117-126.

Nakajima T, Elovaara E, Park SS, Gelboin H, Vainio H (1995a) Immunochemical detection of cytochrome P450 isozymes induced in rat liver by *n*-hexane, 2-hexanone and acetonyl acetone. *Archives of Toxicology*, 55:542-547.

Nakajima T, Elovaara E, Okino T, Gelboin H, Klockars M, Riihimäki V, Aoyama T, Vainio H (1995b) Different contributions of cytochrome P450 2E1 and P450 2B1/2 to chloroform hepatotoxicity in rat. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 133:215-222.

NCI (1976) *Report on carcinogenesis bioassay of chloroform*. Bethesda, MD, US Department of Health, Education and Welfare, National Institutes of Health, National Cancer Institute (NTIS Publication No. PB-264 018).

Neuhauser EF, Loehr RC, Malecki MR, Milligan DL, Durkin PR (1985) The toxicity of selected organic chemicals to the earthworm *Eisenia fetida*. *Journal of Environmental Quality*, 14:383-388.

Neuhauser EF, Loehr RC, Malecki MR (1986) Contact and artificial soil tests using earthworms to evaluate the impact of wastes in soil. In: Petros JK Jr, Lacy WJ,

Conway RA, eds. *Hazardous and industrial solid waste: fourth symposium*. Philadelphia, PA, American Society for Testing and Materials, pp. 192-203 (ASTM Special Technical Publication 886).

Nicloux MM (1906) Passage du chloroforme de la mère au foetus. *Comptes Rendus des Séances de la Societé de Biologie et de ses Filiales*, 60:373-375.

Nightingale PD, Malin G, Liss PS (1995) Production of chloroform and other low-molecular-weight halocarbons by some species of macroalgae. *Limnology and Oceanography*, 40:680-689.

NPRI (1999) *National pollutant release inventory.* Ottawa, Ontario, Environment Canada.

OMEE (1994) *Windsor air quality study: Ambient air monitoring activities.* Toronto, Ontario, Ontario Ministry of Environment and Energy.

OMOE (1990) Personal communication from N. Bazinet. Toronto, Ontario, Ontario Ministry of the Environment [cited in Canadian Council of Resource and Environment Ministers (1992) *Canadian water quality guidelines: update (March 1992). Appendix X*. Ottawa, Ontario, Environment Canada, Task Force on Water Quality Guidelines].

Otson R, Meek B (1996) *Multimedia exposure for PSL2. Bureau of Chemical Hazards proposal*. Ottawa, Ontario, Health Canada (Project No. 331312).

Page BD, Lacroix G (1993) Application of solid-phase microextraction to the headspace gas chromatographic analysis of halogenated volatiles in selected foods. *Journal of Chromatography*, 648:199-211.

Page BD, Conacher HBS, Salminen J, Nixon GR, Riedel G, Mori B, Gagnon J, Brouseau R (1993) Survey of bottled drinking water sold in Canada. Part 2. Selected volatile organic compounds. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists International*, 76(1):26-31.

Pakdel HG, Couture C, Roy A, Masson J, Locat J, Gelinas P, Lesage S (1992) Developing methods for the analysis of toxic chemicals in soil and groundwater: The case of Ville Mercier, Quebec, Canada. In: Lesage S, Jackson RE, eds. *Groundwater contamination and analysis at hazardous waste sites*. New York, NY, Marcel Dekker.

Palmer AK, Street AE, Roe FJC, Worden AN, Van Abbé NJ (1979) Safety evaluation of toothpaste containing chloroform. II. Long term studies in rats. *Journal of Environmental Pathology and Toxicology*, 2:821-833.

Pearson CR, McConnell G (1975) Chlorinated C1 and C2 hydrocarbons in the marine environment. *Proceedings of the Royal Society of London Series B*, 189:305-332.

Pegram RA, Andersen ME, Warren SH, Ross TM, Claxton LD (1997) Glutathione *S*-transferase-mediated mutagenicity of trihalomethanes in *Salmonella typhimurium*: contrasting results with bromodichloromethane and chloroform. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 144:183-188 [cited in ILSI, 1997].

Pereira MA (1994) Route of administration determines whether chloroform enhances or inhibits cell proliferation in the liver of B6C3F1 mice. *Fundamental and Applied Toxicology*, 23:87-92.

Pereira MA, Lin LC, Lippitt JM, Herren SL (1982) Trihalomethanes as initiators and promoters of carcinogenesis. *Environmental Health Perspectives*, 46:151-156.

Pereira MA, Knutsen GL, Herren-Freund SL (1985) Effect of subsequent treatment of chloroform or phenobarbital on the incidence of liver and lung tumours, initiated by ethylnitrosourea in 15 day old mice. *Carcinogenesis*, 6:203-207.

Pereira MA, Kramer PM, Ge R, Tao L (1998) Effect of chloroform and haloacetic acids on DNA methylation in liver and tumors of female B6C3F1 mice. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 31(Suppl. 29):53 (Abstract P103).

Petzold GL, Swenberg JA (1978) Detection of DNA damage induced *in vivo* following exposure of rats to carcinogens. *Cancer Research*, 38:1589-1594.

Phoon WH, Liang OK, Kee CP (1975) An epidemiological study of an outbreak of jaundice in a factory. *Annals of the Academy of Medicine Singapore*, 4:396-399.

Phoon WH, Goh KT, Lee LT, Tan KT, Kwok SF (1983) Toxic jaundice from occupational exposure to chloroform. *Medical Journal of Malaysia*, 38:31-34.

Piwoni MD, Wilson JT, Walters DM, Wilson BH, Enfield CG (1986) Behaviour of organic pollutants during rapid-infiltration of wastewater into soil: I. Processes,

definition, and characterization using a microcosm. *Hazardous Waste Materials*, 3(1):43-55.

Pohl LR, Krishna G (1978) Deuterium isotope effect in bioactivation and hepatotoxicity of chloroform. *Life Sciences*, 23:1067-1072.

Pohl LR, Bhooshan B, Whittaker NF, Krishna G (1977) Phosgene: A metabolite of chloroform. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 79:684-691.

Pohl LR, Martin JL, George JW (1980) Mechanism of metabolic activation of chloroform by rat liver microsomes. *Biochemical Pharmacology*, 29:3271-3276.

Pohl LR, Branchflower RV, Highet RJ, Martin JL, Nunn DS, Monks TJ, George JW, Hinson JA (1981) The formation of diglutathionyl dithiocarbonate as a metabolite of chloroform, bromotrichloromethane, and carbon tetrachloride. *Drug Metabolism and Disposition*, 9:334-339.

Pohl LR, George JW, Satoh H (1984) Strain and sex differences in chloroform induced nephrotoxicity. Different rates of metabolism of chloroform to phosgene by the mouse kidney. *Drug Metabolism and Disposition*, 12(3):304-308.

Potter CL, Chang LW, DeAngelo AB, Daniel FB (1996) Effects of four trihalomethanes on DNA strand breaks, renal hyaline droplet formation and serum testosterone in male F-344 rats. *Cancer Letters*, 106:235-242.

Reddy TV, Daniel FB, Lin EL, Stober JA, Olson GR (1992) Chloroform inhibits the development of diethylnitrosamine-initiated, phenobarbital-promoted gamma-glutamyltranspeptidase and placental form glutathione *S*-transferase positive foci in rat liver. *Carcinogenesis*, 13:1325-1330.

Reitz RH, Fox TR, Quast JF (1982) Mechanistic considerations for carcinogenic risk estimations: Chloroform. *Environmental Health Perspectives*, 45:163-168.

Reitz RH, Mendrala AL, Corley RA, Quast JF, Gargas ML, Andersen ME, Staats DA, Conolly RB (1990) Estimating the risk of liver cancer associated with human exposures to chloroform using physiologically based pharmacokinetic modeling. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 105:443-459.

Robbiano L, Mereto E, Morando AM, Pastore P, Brambilla G (1998) Increased frequency of micronucleated kidney cells in rats exposed to halogenated anaesthetics. *Mutation Research*, 413(1):1-6.

Roe FJC, Palmer AK, Worden AN, Van Abbé NJ (1979) Safety evaluation of toothpaste containing chloroform. I. Long-term studies in mice. *Journal of Environmental Pathology and Toxicology*, 2:799-819.

Ruddick JA, Villeneuve DC, Chu I, Valli VE (1983) A teratological assessment of four trihalomethanes in the rat. *Journal of Environmental Science and Health*, B18(3):333-349.

Salamone MF, Heddle JA, Katz M (1981) Mutagenic activity of 41 compounds in the *in vivo* micronucleus assay. In: De Serres FJ, Ashby J, eds. *Evaluation of short-term tests for carcinogens: Report of the international collaborative study*. Amsterdam, Elsevier/North-Holland, pp. 686-697 (Progress in Mutation Research, Vol. 1).

Samfield MM (1992) *Indoor air quality data base for organic compounds*. Research Triangle Park, NC, US Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, Air and Energy Engineering Research Laboratory, 73 pp. (EPA/600/13).

Santodonato J, Bosch S, Meylan W, Becker J, Neal M (1985) *Monographs on human exposure to chemicals in the workplace: Chloroform*. Syracuse, NY, Syracuse Research Corporation, Center for Chemical Hazard Assessment, 40 pp. (Report No. SRC-TR-84-650) [cited in HSDB, 2003].

Sasaki T, Suzuki M, Noda K, Noguchi T, Ishida R, Oda H, Araki A, Matsushima T (1998) Mutagenicity study of carbon tetrachloride and chloroform with microbial mutagenicity test and rat liver micronucleus test. *Journal of Toxicological Sciences*, 23(Suppl. II):305 (Abstract P-018).

Scarratt MG, Moore RM (1999) Production of chlorinated hydrocarbons and methyl iodide by the red microalga *Porphyridium purpureum*. *Limnology and Oceanography*, 44(3):703-707.

Schwetz BA, Leong BKJ, Gehring PJ (1974) Embryo- and fetotoxicity of inhaled chloroform in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 28:442-451.

Sehata S, Maejima T, Watanabe M, Ogata S, Makino T, Tanaka K, Manabe S, Takaoka M (2002) Twenty-six week carcinogenicity study of chloroform in CB6F1 *ras*H2-transgenic mice. *Toxicologic Pathology*, 30:328-338.

Singh HB, Salas LJ, Smith AJ, Shigeishi H (1981) Measurements of some potentially hazardous organic chemicals in urban environments. *Atmospheric Environment*, 15:601-612.

Smith JH, Hook JB (1983) Mechanism of chloroform nephrotoxicity. II. *In vitro* evidence for renal metabolism of chloroform in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 70:480-485.

Smith JH, Hook JB (1984) Mechanism of chloroform nephrotoxicity: III. Renal and hepatic microsomal metabolism of chloroform in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 73:511-524.

Smith JH, Maita K, Sleight SD, Hook JB (1984) Effect of sex hormone status on chloroform nephrotoxicity and renal mixed function oxidase in mice. *Toxicology*, 30:305-316.

Smith JH, Hewitt WR, Hook JB (1985) Role of intrarenal biotransformation in chloroform-induced nephrotoxicity in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 79:166-174.

Smith MT, Loveridge N, Wills ED, Chayen J (1979) The distribution of glutathione in the rat liver lobule. *Biochemistry Journal*, 182:103-108.

Snell TW, Moffat BD, Janssen C, Persoone G (1991) Acute toxicity tests using rotifers. III. Effects of temperature, strain, and exposure time on the sensitivity of *Brachionus plicatilis*. *Environmental Toxicology and Water Quality*, 6(1):63-75.

Solomon K, Bergman H, Huggett R, Mackay D, McKague B (1994) *A review and assessment of the ecological risks associated with the use of chlorine dioxide for the bleaching of pulp*. Erin, Ontario, Alliance for Environmental Technology.

Stewart ME, Blogoslawski WJ, Hsu RY, Helz GR (1979) By-products of oxidative biocides: toxicity to oyster larvae. *Marine Pollution Bulletin*, 10:166-169 [cited in Zok et al., 1998].

Tancrède M, Yanagisawa Y, Wilson R (1992) Volatilization of volatile organic compounds from showers — 1. Analytical method and quantitative assessment. *Atmospheric Environment*, 26A:1103-1111.

Taylor DC, Brown DM, Kebble R, Langley PF (1974) Metabolism of chloroform: II. A sex difference in the metabolism of [^{14}C]chloroform in mice. *Xenobiotica*, 4(3):165-174.

Templin MV, Jamison KC, Wolf DC, Morgan KY, Butterworth BE (1996a) Comparison of chloroform-induced toxicity in the kidneys, liver, and nasal passages of male Osborne-Mendel and F-344 rats. *Cancer Letters*, 104:71-78.

Templin MV, Larson JL, Butterworth BE, Jamison KC, Leininger JR, Mery S, Morgan KT, Wong BA, Wolf DC (1996b) A 90-day chloroform inhalation study in F-344 rats: profile of toxicity and relevance to cancer studies. *Fundamental and Applied Toxicology*, 32:109-125.

Templin MV, Jamison KC, Sprankle CS, Wolf DC, Wong BA, Butterworth BE (1996c) Chloroform-induced cytotoxicity and regenerative cell proliferation in the kidneys and liver of BDF1 mice. *Cancer Letters*, 108:225-231.

Templin MV, Constan AA, Wolf DC, Wong BA, Butterworth BE (1998) Patterns of chloroform-induced regenerative cell proliferation in BDF1 mice correlate with organ specificity and dose-response of tumor formation. *Carcinogenesis*, 19(1):187-193.

Testai E, Vittozzi L (1986) Biochemical alterations elicited in rat liver microsomes by oxidation and reduction products of chloroform metabolism. *Chemico-Biological Interactions*, 59:157-171.

Thompson DJ, Warner SD, Robinson VB (1974) Teratology studies on orally administered chloroform in the rat and rabbit. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 29:348-357.

Tomasi A, Albano E, Biasi F, Slater TF, Vannini V, Dianzani MU (1985) Activation of chloroform and related trihalomethanes to free radical intermediates in isolated hepatocytes and in the rat *in vivo* as detected by the ESR-spin-trapping technique. *Chemico-Biological Interactions*, 55:303-316.

Topham JC (1980) Do induced sperm-head abnormalities in mice specifically identify mammalian mutagens rather than carcinogens? *Mutation Research*, 74:379-387.

Topham JC (1981) Evaluation of some chemicals by the sperm morphology assay. In: De Serres FJ, Ashby J, eds. *Evaluation of short-term tests for carcinogens: Report of the international collaborative study*. Amsterdam, Elsevier/North-Holland, pp. 718-720 (Progress in Mutation Research, Vol. 1).

Torkelson TR, Oyen F, Rowe VK (1976) The toxicity of chloroform as determined by single and repeated exposure of laboratory animals. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 37:697-705.

Toussaint MW, Rosencrance AB, Brennan LM, Wolfe MJ, Hoffmann FJ, Gardner HS (2001) Chronic toxicity of chloroform to Japanese medaka fish. *Environmental Health Perspectives*, 109(1):35-40.

Tsuchimoto T, Matter BE (1981) Activity of coded compounds in the micronucleus test. In: De Serres FJ, Ashby J, eds. *Evaluation of short-term tests for carcinogens: Report of the international collaborative study*. Amsterdam, Elsevier/North-Holland, pp. 705-711 (Progress in Mutation Research, Vol. 1).

Tsutsumi M, Lasker JM, Shimizu M, Rosman AS, Lieber CS (1989) The intralobular distribution of ethanol-inducible P450IIE1 in rat and human liver. *Hepatology*, 10(4):437-446 [cited in ILSI, 1997].

Tumasonis CF, McMartin DN, Bush B (1987) Toxicity of chloroform and bromodichloromethane when administered over a lifetime in rats. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*, 7(4):55-64.

Tyson CA, Hawk-Prather K, Story DL, Gould DH (1983) Correlations of *in vitro* and *in vivo* hepatotoxicity for five haloalkanes. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 70:289-302.

Uehleke H, Werner T (1975) A comparative study on the irreversible binding of labelled halothane trichlorofluoromethane, chloroform, and carbon tetrachloride to hepatic protein and lipids *in vitro* and *in vivo*. *Archives of Toxicology*, 34(4):289-308.

US EPA (1978) *Ambient water quality criteria: Chloroform.* Washington, DC, US Environmental Protection Agency, Environmental Criteria and Assessment Office (PB-292 427).

US EPA (1980) *Effects of chloroform in the drinking water of rats and mice: Ninety-day subacute toxicity study*. Conducted by SRI International, Menlo Park, CA, for Office of Research and Development, US Environmental Protection Agency (Report No. EPA-600/1-80-030; NTIS Publication No. PB80-219108).

US EPA (1984) *Health assessment document for chloroform*. Washington, DC, US Environmental Protection Agency (Report No. EPA-6008-84-004A).

US EPA (1996) Proposed guidelines for carcinogen risk assessment; notice. US Environmental Protection Agency. *Federal Register*, 61:17960-18011.

US EPA (2003) *Ecotox database*. US Environmental Protection Agency. Available at http://www.epa.gov/ecotox/.

Van Beelen P, Van Keulen F (1990) The kinetics of the degradation of chloroform and benzene in anaerobic sediment from the river Rhine. *Hydrobiological Bulletin*, 24(1):13-22.

Van Beelen P, Van Vlaardingen PLA (1993) The mineralization of chloroform in river sediments. *Netherlands Journal of Aquatic Ecology*, 27(1):51-58.

Varma MM, Ampy FR, Verma K, Talbot WW (1988) *In vitro* mutagenicity of water contaminants in complex mixtures. *Journal of Applied Toxicology*, 8(4):243-248.

Veith GD, Macek KJ, Petrocelli SR, Carroll J (1978) An evaluation of using partition coefficients and water solubility to estimate bioconcentration factors for organic chemicals in fish. In: Eaton JG, Parrish PR, Hendricks AC, eds. *Aquatic toxicology. Proceedings of the 3rd Annual Symposium on Aquatic Toxicology.* Philadelphia, PA, American Society for Testing and Materials, pp. 116-129 (ASTM Special Technical Publication 707).

Verschueren U (1983) *Handbook of environmental data on organic chemicals*, 2nd ed. New York, NY, Van Nostrand Reinhold Company, pp. 367-369.

Vittozzi L, Testai E, De Biasi A (1991) Multiple bioactivation of chloroform: A comparison between man and experimental animals. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 283: 665-667.

Wallace LA (1997) Human exposure and body burden for chloroform and other trihalomethanes. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 27(2):113-194.

Walton BT, Anderson TA, Hendricks MS, Talmage SS (1989) Physicochemical properties as predictors of organic chemical effects on soil microbial respiration. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 8(1):53-64.

WHO (1998) *Guidelines for drinking-water quality*, 2nd ed. *Addendum to Volume 2.* Geneva, World Health Organization, pp. 255-275.

WHO (1999) *Air quality guidelines*. Geneva, World Health Organization.

WHO (2000) Chemical hazards. In: *Guidelines for safe recreational-water environments. Vol. 2. Swimming pools, spas and similar recreational-water environments*. Final draft for consultation, August. Geneva, World Health Organization. Available at http://www.who.int/water_sanitation_health/bathing/bathing2/en/.

Williams DT, Lebel GL, Benoit FM (1995) *A national survey of chlorinated disinfection by-products in Canadian drinking water*. Ottawa, Ontario, Health Canada, Environmental Health Directorate (Report 95-EHD-197; Catalogue H46-2/95-197E; ISBN 0-662-24295-5).

Wilson JT, Enfield CG, Dunlap WJ, Cosby RL, Foster DA, Baskin LB (1981) Transport and fate of selected organic pollutants in a sandy soil. *Journal of Environmental Quality*, 10(4):501-507.

Wilson JT, McNabb JF, Wilson BH, Noonan MJ (1983) Biotransformation of selected organic pollutants in ground water. In: *Proceedings of the 39th General Meeting of the Society of Industrial Microbiology, St. Paul, MN, 14-20 August 1982*. Arlington, VA, Society of Industrial Microbiology, pp. 225-233.

Winslow SG, Gerstner HB (1978) Health aspects of chloroform. A review. *Drug and Chemical Toxicology*, 1:259-275.

Withey JR, Karpinski K (1985) The fetal distribution of some aliphatic chlorinated hydrocarbons in the rat after vapour phase exposure. *Biological Research in Pregnancy*, 6:79-88.

Wolf CR, Mansuy D, Nastainczyk W, Deutschmann G, Ullrich V (1977) The reduction of polyhalogenated methanes by liver microsomal cytochrome P-450. *Molecular Pharmacology*, 13:698-705.

Yamamoto S (1996) *Carcinogenesis study of chloroform (inhalation).* Kanagawa, Japan Bioassay Research Center, Division of Experimental Toxicology (unpublished study).

Yamamoto S, Kasai T, Matsumoto M, Nishizawa T, Arito H, Nagano K, Matsushima T (2002) Carcinogenicity and chronic toxicity in rats and mice exposed to chloroform by inhalation. *Journal of Occupational Health*, 44:283-293.

Yang J, Speece RE (1986) The effects of chloroform toxicity on methane fermentation. *Water Research*, 20(10):1273-1279.

Youssefi M, Faust SD, Zenchelsky ST (1978) Rapid determination of light and halogenated hydrocarbons in urine. *Clinical Chemistry*, 24(7):1109-1111.

Zok S, Boutonnet J-C, de Rooij C, Garny V, Lecloux A, Papp R, Thompson RS, van Wijk D (1998) Euro Chlor risk assessment for the marine environment OSPARCOM region: North Sea — Chloroform. *Environmental Monitoring and Assessment*, 52:401-424.

APPENDIX 1 — SOURCE DOCUMENT[13]

Environment Canada, Health Canada (2001) *Canadian Environmental Protection Act, 1999. Priority Substances List assessment report. Chloroform.* Ottawa, Ontario, Minister of Public Works and Government Services Canada

Paper copies of the *Canadian Environmental Protection Act, 1999* Priority Substances List assessment report on chloroform are available upon request from:

Inquiry Centre
Environment Canada
351 St. Joseph Blvd.
Gatineau, Quebec
Canada K1A 0H3
1-800-668-6767

An electronic pdf version may be obtained by request from PSL.LSIP@ec.gc.ca.

Unpublished supporting documentation (Environment Canada, 1999a; Health Canada, 1999), which presents additional information, is available upon request from:

Commercial Chemicals Evaluation Branch
Environment Canada
14th Floor, Place Vincent Massey
351 St. Joseph Blvd.
Gatineau, Quebec
Canada K1A 0H3

or

Environmental Health Centre
Room 104
Health Canada
Tunney's Pasture
Ottawa, Ontario
Canada K1A 0L2

[13] Essentials of the source document are also presented in Meek et al. (2002)

The environmental sections of this report were produced by D. Moore and L. Pirie of the Cadmus Group, Inc. on behalf of Environment Canada and were revised by D. Caldbick and K. Taylor, Environment Canada. They were reviewed by the following members of the Environmental Resource Group, established by Environment Canada to support the environmental assessment:

P. Doyle, Environment Canada
W. Hayes, Dow Chemical
K. Kaiser, Environment Canada

Environmental sections of the assessment report and the environmental supporting documentation (Environment Canada, 1999a) were also reviewed by internal reviewers at Environment Canada — namely, P. Cureton and D. Dubé — as well as by external reviewers:

D. Averill, Water Technology International Corporation
W.J. Birge, University of Kentucky
N. Bunce, University of Guelph
D.B. Carlisle, Brez-Carlisle Inc.
L. Gammie, AQUALTA
D. Gessford, Dow Chemical Company
M.D. Kercher, University of Kentucky
D.J. Price, University of Kentucky

The health-related sections of this assessment report are based in part on the deliberations of two expert groups, in which staff of Health Canada participated. These were a Task Group on chloroform of the International Programme on Chemical Safety (IPCS, 1994a) and an Expert Panel convened by the International Life Sciences Institute (ILSI) to develop case-studies for chloroform and dichloroacetic acid in the context of the revised cancer guidelines released in 1996 by the US Environmental Protection Agency (EPA) (ILSI, 1997).

The IPCS monograph on the health effects of chloroform was published in 1994. The first draft was prepared by Dr J. de Fouw of the National Institute of Public Health and Environmental Protection, Bilthoven, Netherlands, and subsequently circulated to IPCS focal points for comment. The revised draft was subsequently finalized at a

meeting of the following Task Group members, held in Geneva on 15-19 November 1993:

M.W. Anders, University of Rochester, Rochester, NY, USA
D. Anderson, British Industrial Biological Research Association, Surrey, United Kingdom
R.J. Bull, Washington State University, Pullman, WA, USA
C.D. Carrington, Food and Drug Administration (FDA), Washington, DC, USA
M. Crookes, Building Research Establishment, Watford, United Kingdom
J. de Fouw, National Institute of Public Health and Environmental Protection, Bilthoven, Netherlands (*Rapporteur*)
E. Elovaara, Institute of Occupational Health, Helsinki, Finland
M.E. Meek, Health Canada, Ottawa, Canada (*Chair*)
R. Pegram, US EPA, Research Triangle Park, NC, USA
S.A. Soliman, King Saud University-Al-Qasseem, Bureidah, Saudi Arabia
L. Vittozzi, Istituto Superiore di Sanita, Rome, Italy
P.P. Yao, Chinese Academy of Preventive Medicine, Beijing, China

The ILSI Expert Panel, which first met in September 1996, was composed of the following members:

M. Andersen, ICF Kaiser International (*Chair*)
G. Boorman, National Institute of Environmental Health Sciences
D. Brusick, Covance Laboratories, Inc.
S. Cohen, University of Nebraska Medical Center
Y. Dragan, McArdle Laboratory for Cancer Research
C. Frederick, Rohm & Haas Company
J. Goodman, Michigan State University
G. Hard, American Health Foundation
M.E. Meek, Health Canada
E. O'Flaherty, University of Cincinnati

The final draft of the Expert Panel report on chloroform was reviewed externally by:

C. Klaassen, University of Kansas Medical Center
R. Melnick, National Institute of Environmental Health Sciences
L. Rhomberg, Harvard Center for Risk Analysis

The outcome of these assessments has been updated and considered in the context of the approach to assessment of "toxic" under Paragraph 64(c) of the *Canadian Environmental Protection Act, 1999*. In addition, the physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model for animals included in ILSI (1997) was refined and a human component developed by the K.S. Crump Group (ICF Kaiser, 1999).

The contents of the health-related sections of this assessment report and the supporting documentation (Health Canada, 1999) were prepared by the following staff of Health Canada:

R. Beauchamp
G. Long
M.E. Meek
D. Moir
L. Turner
M. Walker

The section related to genotoxicity was reviewed by D. Blakey, Environmental and Occupational Toxicology Division. The PBPK model incorporated herein was reviewed externally by M. Gargas, ChemRisk, McLaren Hart Inc.

The health-related sections on toxicity in the assessment report were reviewed externally by:

M. Andersen, Colorado State University
B. Butterworth, Chemical Industry Institute of Toxicology
J. Wiltse, Office of Water, US EPA
D. Wolf, National Health and Environmental Effects Research Laboratory, US EPA

The health-related sections of the assessment report were reviewed and approved by the Health Protection Branch Risk Management meeting of Health Canada. The entire assessment report was reviewed and approved by the Environment Canada/Health Canada CEPA Management Committee.

A draft of the assessment report was made available for a 60-day public comment period (3 June to 2 August 2000) (Environment Canada & Health Canada, 2000). Following consideration of comments received, the assessment report was revised as

appropriate. A summary of the comments and responses can be obtained by request from PSL.LSIP@ec.gc.ca.

The text of the assessment report was structured to address environmental effects initially (relevant to determination of "toxic" under Paragraphs 64(a) and (b)), followed by effects on human health (relevant to determination of "toxic" under Paragraph 64(c)).

In February 2003, a comprehensive literature search was conducted by Toxicology Advice & Consulting Ltd in order to identify critical data published since publication of the source document. Databases searched included ChemID*plus* (the ChemID*plus* system searches and/or identifies literature from a wide range of on-line databases and databanks, including ATSDR, CANCERLIT, CCRIS, DART/ETIC, GENE-TOX, HSDB, IRIS, MEDLINE, TOXLINE Core, TOXLINE Special, and TSCA); INCHEM (the INCHEM database consolidates information from a number of intergovernmental organizations, including the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, the Joint Meeting on Pesticide Residues, the International Agency on Research in Cancer, Chemical Inventory System, Environmental Health Criteria monographs, and Screening Information Data Sets); Registry of Toxic Effects of Chemical Substances; and EPA Toxicological Profiles.

A substantial amount of information has been published on chloroform in the last 3 years. However, judging from information presented in the above sources (usually only a title or abstract), few new papers appear to be critical in regard to the preparation of this CICAD. Critical papers were purchased, assessed, and included in the CICAD, where appropriate, by Toxicology Advice & Consulting Ltd.

APPENDIX 2 — CICAD PEER REVIEW

The draft CICAD on chloroform was sent for review to institutions and organizations identified by IPCS after contact with IPCS national Contact Points and Participating Institutions, as well as to identified experts. Comments were received from:

M. Baril, Institut de Recherche en Santé et en Sécurité du Travail, Montreal, Canada

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

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

C. Cowles, Health and Safety Executive, Bootle, Merseyside, United Kingdom

E. Elovaara, Institute of Occupational Health, Helsinki, Finland

E. Frantik, National Institute of Public Health, Prague, Czech Republic

R. Gatehouse, Environment Australia, Canberra, Australia

P. Howe, Centre for Ecology and Hydrology, Monks Wood, United Kingdom

E. Ohanian, Health and Ecological Criteria Division, US Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA

N. Sugawara, Japan Chemical Industry Association, Tokyo, Japan

G. Ungvary, National Centre for Public Health, Budapest, Hungary

K. Victorin, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden

J. Weder, National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme, Sydney, Australia

D. Wolf, Environmental Carcinogenesis Division, US Environmental Protection Agency, Research Triangle Park, NC, USA

K. Ziegler-Skylakakis, European Union, Luxembourg

APPENDIX 3 — CICAD FINAL REVIEW BOARD

Varna, Bulgaria
8-11 September 2003

Members

Dr I. Benchev, Sofia, Bulgaria

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

Dr C. De Rosa, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, USA

Dr S. Dobson, Centre for Ecology and Hydrology, Monks Wood, Abbots Ripton, Huntingdon, Cambridgeshire, United Kingdom

Dr G. Dura, National Institute of Environment, József Fodor Public Health Centre, Budapest, Hungary

Dr L. Fishbein, Fairfax, VA, USA

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

Dr R.F. Hertel, Federal Institute for Risk Assessment, Berlin, Germany

Mr P. Howe, Centre for Ecology and Hydrology, Monks Wood, Abbots Ripton, Huntingdon, Cambridgeshire, United Kingdom

Dr S. Ishimitsu, Division of Safety Information on Drug, Food and Chemicals, National Institute of Hygienic Sciences, Tokyo, Japan

Dr D. Kanungo, Central Insecticides Board, Directorate of Plant Protection, Quarantine & Storage, Ministry of Agriculture, Haryana, India

Dr J. Kielhorn, Fraunhofer Institute for Toxicology and Experimental Medicine, Hanover, Germany

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

Dr T. Morita, Division of Safety Information on Drug, Food and Chemicals, National Institute of Hygienic Sciences, Tokyo, Japan

Mr F.K. Muchiri, Directorate of Occupational Health and Safety Services, Nairobi, Kenya

Dr L. Olsen, Biological Monitoring & Health Assessment Branch, Division of Applied Research & Technology, National Institute for Occupational Safety and Health, Cincinnati, OH, USA

Dr N. Rizov, National Center of Hygiene, Medical Ecology and Nutrition, Sofia, Bulgaria

Dr P. Schulte, Education and Information Division, National Institute for Occupational Safety and Health, Cincinnati, OH, USA

Dr J. Sekizawa, Faculty of Integrated Arts and Sciences, Tokushima University, Tokushima, Japan

Dr F. Petrova Simeonova, Sofia, Bulgaria

Dr S. Soliman, Faculty of Agriculture, Alexandria University, El Shatby, Alexandria, Egypt

Dr J. Stauber, CSIRO Energy Technology, Centre for Advanced Analytical Chemistry, Bangor, NSW, Australia

Mr P. Watts, Toxicology Advice & Consulting Ltd, Surrey, United Kingdom

Ms D. Willcocks, National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme, Sydney, NSW, Australia

Dr K. Ziegler-Skylakakis, European Commission, Luxembourg

Observers

Dr S. Jacobi, Degussa AG, Fine Chemicals, Hanau-Wolfgang, Germany

Mr M. Southern, Shell International Petroleum Company Ltd, London, United Kingdom

Dr W. ten Berge, DSM, Heerlen, The Netherlands

Secretariat

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

Mr T. Ehara, International Programme on Chemical Safety, World Health Organization, Geneva, Switzerland

APPENDIX 4 — ABBREVIATIONS AND ACRONYMS

ALAT	alanine aminotransferase
ASTM	American Society for Testing and Materials
ATPase	adenosine triphosphatase
AVCL2	average concentration of chloroform in the non-metabolizing centrilobular region of the liver
BMC	benchmark concentration
BMD	benchmark dose
CAS	Chemical Abstracts Service
CEPA	*Canadian Environmental Protection Act*
CICAD	Concise International Chemical Assessment Document
CTV	critical toxicity value
CYP	cytochrome P450
DNA	deoxyribonucleic acid
EC_{50}	median effective concentration
ECD	electron capture detection
EEV	estimated exposure value
EHC	Environmental Health Criteria
ENEV	estimated no-effects value
EPA	Environmental Protection Agency (USA)
FDA	Food and Drug Administration (USA)
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
GC	gas chromatography
GGTase	gamma-glutamyl transpeptidase
HCFC	hydrochlorofluorocarbon
ILO	International Labour Organization
ILSI	International Life Sciences Institute
IPCS	International Programme on Chemical Safety
K_m	substrate concentration at which the velocity of metabolic reaction is 50% of V_{max}
K_{oc}	organic carbon/water partition coefficient
K_{ow}	octanol/water partition coefficient
LC_{50}	median lethal concentration
LD_{50}	median lethal dose
LOAEL	lowest-observed-adverse-effect level
LOEL	lowest-observed-effect level
MDHS	Methods for the Determination of Hazardous Substances (Health and Safety Executive, United Kingdom)
MS	mass spectrometry
NIOSH	National Institute for Occupational Safety and Health (USA)
NOAEL	no-observed-adverse-effect level
NOEC	no-observed-effect concentration
OSHA	Occupational Safety and Health Administration (USA)
PBPK	physiologically based pharmacokinetic
PEC	predicted environmental concentration
PIM	Poison Information Monograph
PNEC	predicted no-effect concentration
SCE	sister chromatid exchange
SI	Système international d'unités (International System of Units)
SRT	solids retention time
TC	tolerable concentration
TC_{05}	tumorigenic concentration$_{05}$, concentration causing a 5% increase in tumour incidence over background
TDI	tolerable daily intake
TWA	time-weighted average
UDS	unscheduled DNA synthesis
UNEP	United Nations Environment Programme
USA	United States of America
V_{max}	maximum velocity of metabolic reaction
VRAMCOR	maximum rate of metabolism in kidney cortex
VMRATEL	mean rate of metabolism in the liver
VMRATEK	mean rate of metabolism in the kidney
WHO	World Health Organization

APPENDIX 5 — DERIVATION OF TOLERABLE INTAKES/CONCENTRATIONS FOR CHLOROFORM

Available data indicate that the target organ in populations exposed occupationally to high concentrations of chloroform is similar to that in laboratory animals (i.e., the liver), but the levels at which effects occur (i.e., dysfunction and necrosis) in humans are not well documented and are inadequate as a basis to meaningfully characterize exposure-response. Laboratory animal data have been used to develop tolerable exposures for chloroform.

Although chloroform is carcinogenic in rodents under certain circumstances, the available data strongly support the view that chloroform induces tumours in laboratory animals as a secondary result of sustained tissue damage and persistent replicative cell proliferation, rather than as a result of direct effects on the genetic material. For such chemicals, it is probable that there is no cancer risk at exposures that do not cause the critical neoplastic damage, and tolerable exposures can be derived by application of a safety factor to a NOAEL (or LOAEL) from an appropriate study; this approach was adopted for chloroform. For comparison, tolerable exposures were also derived separately for neoplastic end-points.

Cancer

Chloroform has induced liver and kidney tumours in laboratory animals exposed by inhalation or by the oral route. There is considerable information on the potential mode of tumour induction. Available data are consistent with carcinogenicity of chloroform being a secondary consequence of sustained cytotoxicity, induced by oxidative metabolites, and associated persistent reparative cell proliferation. Hence, where chloroform caused tumours, oxidative metabolism in the target organs, sustained cytotoxicity, and persistent reparative hyperplasia are considered obligatory precursor steps.

The critical carcinogenesis bioassay is that of Jorgenson et al. (1985), in which renal tumours were observed in male Osborne-Mendel rats in an adequate and relevant study in which the route and pattern of exposure were similar to those of humans (i.e., continuously in drinking-water). In the other bioassays, liver tumours were induced in mice (males and females) only by administration of bolus doses in corn oil (NCI, 1976) or possibly (females only) following inhalation at high concentrations (Yamamoto et al.,

2002). Kidney tumours have been reported in male mice following ingestion in a toothpaste vehicle (Roe et al., 1979) or inhalation (Yamamoto et al., 2002), but at concentrations in the latter study that caused severe kidney necrosis.

Unfortunately, no data on precursor lesions such as cytotoxicity or regenerative hyperplasia were collected by Jorgenson et al. (1985). A recent re-examination of a proportion of the slides from several dose groups confirmed histopathological changes consistent with the hypothesis that sustained tubular cytotoxicity and regenerative hyperplasia led to renal tubular tumour induction (Hard & Wolf, 1999; Hard et al., 2000), but data amenable for quantification of exposure-response in this investigation were limited (incidences of histological changes indicative of tubular injury in slides from the animals sacrificed at 1.5-2 years were 0, 0, 0, 50, and 100% for the 0, 200, 400, 900, and 1800 mg/litre dose groups, respectively).

In the absence of good relevant data from the cancer bioassay, the possibility that shorter-term investigations of the proliferative response might be an adequate basis for dose-response estimation was examined. A number of these investigations have studied responses in the liver and kidney of various strains of mice and rats exposed to doses and concentrations of chloroform similar to those administered in the cancer bioassays in which tumours have been observed. Unfortunately, for renal tumours in rats, most of these investigations have been conducted in the F344 rather than the Osborne-Mendel strain in which increases in renal tumours have been observed. Limited available data indicate that the proliferative response in the F344 rat is not an appropriate surrogate for characterization of exposure-response for an intermediate end-point for renal tumours in the Osborne-Mendel rat. For example, there is no indication of sex-specific variation in the proliferative response in the kidney of F344 rats (Larson et al., 1995a,b), although the increase in renal tumours in Osborne-Mendel rats is sex specific (i.e., restricted to males). In addition, in metabolic studies in F344 rats, intrarenal activation by cytochrome P450 was not implicated as a determinant of nephrotoxicity (Smith et al., 1985). Available data are also inadequate as a basis of characterization of the relative sensitivity of the two strains to cytotoxicity. In the single study in which proliferative response was examined in Osborne-Mendel rats (Templin et al., 1996a), it was concluded that they were about as susceptible as F344 rats to chloroform-induced renal injury, based on comparison 2 days following a single gavage administration. However, a statistically significant increase in labelling index was observed at a much lower dose in the Osborne-Mendel rat (10 mg/kg body weight) than in the F344 rat (90 mg/kg body weight). This latter observation may have

been a function of the low value in controls for the Osborne-Mendel rats, attesting to the fact that these data are inadequate in themselves to characterize variations in sensitivity of the two strains. Rather, the results of this study contribute inasmuch as they are not inconsistent with a mode of action of induction of tumours involving tubular cell regeneration in Osborne-Mendel rats.

Since quantitative data on the incidence of precursor lesions for cancer in the strain of interest are inadequate to meaningfully characterize exposure-response, a tumorigenic concentration has been developed for this purpose, based on the incidence of tubular cell adenomas and adenocarcinomas in the bioassay of Jorgenson et al. (1985). In view of the weight of evidence for the role of oxidative metabolites in induction of requisite damage and resulting tumours, dose-response for cancer for chloroform is optimally expressed in terms of amounts or rates of formation of reactive metabolites in the target tissue. These rates have been estimated from pharmacokinetic models that include specific parameters related to metabolic rates, enzyme affinities, and enzyme tissue distribution.

Characterization of exposure-response for cancer associated with exposure to chloroform in the context of rates of formation of reactive metabolites in the target tissue is considered appropriate in view of the sufficiency of the evidence to support the following assumptions inherent in the PBPK modelling:

- Metabolism of chloroform by CYP2E1 is responsible for production of the critical reactive metabolite, phosgene, in humans and laboratory animals.
- The ability to generate phosgene and phosgene hydrolysis products determines which tissue regions in the liver and kidney are sensitive to the cytotoxicity of chloroform.
- This dose-effect relationship is consistent within a tissue, across gender, and across route of administration, and it may also be consistent across species.

The "hybrid" animal model (ILSI, 1997; ICF Kaiser, 1999; Environment Canada & Health Canada, 2001) investigated four dose metrics in relation to the labelling indices (assumed to be representative of response for cytotoxicity, the intermediate end-point in induction of cancer) in the liver and kidney of exposed F344 rats. As would be expected based on the hypothesized mode of action, the fit for two of these — namely, the total amount of phosgene produced and the maximum concentration of chloroform reached in each experimental dosing interval — with proliferative response was poor.

Of the other two — the mean and maximum rates of phosgene production during each experimental dosing interval — the fit with the labelling indices was best for maximum rate (ILSI, 1997).

Both maximum rate of metabolism per unit kidney cortex volume (VRAMCOR[15]) and mean rate of metabolism per unit kidney cortex volume during each dose interval (VMRATEK) were considered (Environment Canada & Health Canada, 2001). Although similar, the fit of the data on tumour incidence for VRAMCOR (P = 0.97) was slightly better than that for VMRATEK (P = 0.84). However, human equivalent concentrations for the former could be developed only for the 95% lower confidence limit of the tumorigenic concentration$_{01}$ (TC_{01}), since the maximum rate of human metabolism in the kidney is less than that in the rat. The maximum rate of metabolism that can be achieved in the human kidney, based on metabolic parameters included in the model (approximately 8.1 mg/litre per hour), was between the animal dose metrics associated with the benchmark concentration$_{01}$ (BMC_{01}) and the lower 95% confidence limit of the BMC_{05}.

An exposure-response assessment was carried out for the combined incidence of renal adenomas and adenocarcinomas in the Jorgenson et al. (1985) study versus the mean rate of metabolism in the kidney (VMRATEK), fit to the following model:

$$P(d) = q_0 \quad + \quad (1 - q_0) \times \left[1 - e^{-q_1 d - \cdots - q_k d^k}\right]$$

where d is dose, k is the number of dose groups, $P(d)$ is the probability of the animal developing the effect at dose d, and $q_i > 0$, $i = 1,\ldots, k$ is a parameter to be estimated. The model was fit to the incidence data, and the benchmark doses were calculated as the concentration D that satisfies:

$$\frac{P(D) - P(0)}{1 - P(0)} \quad = \quad 0.05$$

The results showed that VMRATEK in humans associated with a 5% increase in tumour risk (TC_{05}) estimated on the basis of the PBPK model is 3.9 mg/litre per hour (95% lower confidence limit = 2.5 mg/litre per hour, chi-square = 0.04, degrees of freedom = 1, P-value = 0.84). This dose rate would result from lifetime drinking of water containing chloroform at 3247 mg/litre or continuous exposure to 147 mg

chloroform/m^3 in air. Respective lower 95% confidence limits for these values are 2363 mg/litre and 74 mg/m^3.

For comparison (although data on dose-response were less robust than those for the cancer bioassay), a benchmark dose was developed for histological lesions in the kidney in the reanalysis of a subset of the slides from the Jorgenson et al. (1985) bioassay. The mean rate of metabolism (VMRATEK) in humans associated with a 5% increase in histological lesions characteristic of cytotoxicity was 1.7 mg/litre per hour (95% lower confidence limit = 1.4 mg/litre per hour, chi-square = 3.9, degrees of freedom = 2, *P* value = 0.14). This dose rate would result from lifetime drinking of water containing 1477 mg chloroform/litre or continuous exposure to chloroform at 33.3 mg/m^3 in air (95% lower confidence limits were not given).

Non-cancer effects

Repeated-dose toxicity was analysed for bolus dosing by gavage, continuous administration in drinking-water, and inhalation. Exposures were expressed as concentrations in the administered medium (for continuous administration by drinking-water and inhalation) and in mg/kg body weight, based on assumed volumes for inhalation and ingestion of drinking-water and body weights (Health Canada, 1994), with the exception of those studies in which effects were observed at site of contact (i.e., nasal lesions following inhalation).

Following exposure to chloroform by inhalation, effects at the site of contact are limiting, with proliferation in the nasal passages being reported at concentrations as low as 9.8 mg/m^3 in both rats and mice for 6 or 7 h/day, for 4-7 days (Larson et al., 1996; Templin et al., 1996b). At 25 mg/m^3, ossification of the nasal septum was observed in BDF1 mice exposed for 6 h/day on 5 days/week for 2 years (Yamamoto et al., 2000). At 49 mg/m^3, cell proliferation and histopathological lesions were reported in the nasal passages of rats exposed for 6 h/day for 1-3 days and mice exposed for 6 h/day for 4-7 days (Mery et al., 1994; Templin et al., 1996b); ossification of the nasal turbinates was reported in rats exposed to this concentration for 6 h/day on 5 days/week for 2 years (Yamamoto et al., 2002). In one study (Larson et al., 1994b), moderate hepatic changes were observed in mice exposed at 49 mg/m^3 for 6 h/day for 7 days. At concentrations of 123-147 mg/m^3, effects on the kidney and liver in rats and mice, including increases in organ weights, histopathological lesions, and increases in

proliferation, were observed following exposure for periods ranging from 4 days to 6 months (Torkelson et al., 1976; Larson et al., 1996; Templin et al., 1996c, 1998).

Following administration of chloroform in drinking-water, renal effects were reported at the lowest doses in rats and mice, with hepatic effects observed at higher doses. Regenerative proliferation was observed following 3 weeks' exposure to 17 and 40 mg/kg body weight per day in rats and mice, respectively (200 mg/litre in drinking-water) (Larson et al., 1994c, 1995a). Histological alterations in the liver of F344 rats were reported at 58 mg/kg body weight per day after 4 days' exposure (Larson et al., 1995a).

In protocols with bolus administration, the weight of the liver was affected in rats at the lowest dose following gavage in corn oil for 4 days (10 mg/kg body weight per day), while at higher doses (34 mg/kg body weight per day), there were histological changes in the liver (Larson et al., 1995a,b). At 15 mg/kg body weight per day, fatty cysts in the liver were observed in dogs exposed to chloroform in toothpaste base in gelatin capsules 6 days/week for 7.5 years. These changes are believed to possibly reflect mild toxicity to the hepatocytes (see main text for further discussion) (Heywood et al., 1979). At 34 mg/kg body weight per day, effects upon kidney and liver were reported in mice (Larson et al., 1994b); proliferation and lesions in the olfactory epithelium were observed at this dose in rats.

In summary, short-term exposure by inhalation resulted in cellular proliferation in nasal passages in rats and mice at concentrations as low as 9.8 mg/m^3, with ossification being observed at slightly higher concentrations following long-term exposure. In short-term studies, moderate hepatic changes were observed in mice at 49 mg/m^3; following both short- and long-term exposure at 123-147 mg/m^3, there were multiple adverse effects in the kidney and liver in both rats and mice in several studies. Following ingestion in drinking-water, regenerative proliferation was observed following short-term exposure of mice to doses as low as 17 mg/kg body weight per day. Following bolus dosing, increases in proliferation in the liver of rats have been observed following short-term exposure at 10 mg/kg body weight per day and fatty cysts in the liver of dogs at 15 mg/kg body weight per day.

For oral exposure, therefore, lowest reported effect levels in various species for different end-points are similar and occur following bolus dosing. One of the lowest dose levels at which effects on liver and kidney have been observed is that in dogs

reported by Heywood et al. (1979). As a result, a PBPK model in dogs was developed, since characterization of exposure-response for ingestion on the basis of this study is likely to be protective, although it should be considered in the context of an example, in view of the fact that effects on the liver of rodents have also been observed at similar dose levels.

Two dose metrics were investigated in exposure-response: the mean rate of metabolism per unit centrilobular region of the liver (VMRATEL) and the average concentration of chloroform in the non-metabolizing centrilobular region of the liver (AVCL2). The two dose metrics were selected in order to evaluate the possibility of the fatty cyst formation in the dogs being the result of either the solvent effects of chloroform or effects of a reactive metabolite.

The incidence of fatty cysts in this study (see Table 6 in section 8.3.1) versus VMRATEL and AVCL2 was fitted to the model in the manner described for the assessment of exposure-response for cancer described above. The fit of the data on the incidence of fatty cysts was better for VMRATEL ($P = 1$) than for AVCL2 ($P = 0.45$), supporting the assumption that a metabolite rather than chloroform itself was responsible for the observed effects. The mean rate of metabolism per unit centrilobular region of the liver (VMRATEL) in humans associated with a 5% increase in fatty cysts estimated on the basis of the PBPK model is 3.8 mg/litre per hour (95% lower confidence limit = 1.3 mg/litre per hour, chi-square = 0.00, degrees of freedom = 1, *P* value = 1.00). This dose rate would result from lifetime drinking of water containing 37 mg chloroform/litre or from continuous exposure to chloroform at 9.8 mg/m^3 in air. Respective lower 95% confidence limits for these values were 12 mg/litre and 3.4 mg/m^3.

The tumorigenic and benchmark doses for cancer and non-cancer, respectively, are based on metabolized dose and thus account for toxicokinetic differences between humans and laboratory animals. An appropriate uncertainty factor for derivation of a tolerable intake for both cancer and non-cancer effects would therefore be about 25 (10 for intraspecies differences in toxicokinetics and toxicodynamics and 2.5 for differences in interspecies toxicodynamics) (Health Canada, 1994).

The tolerable daily intake (TDI) for oral exposure, based on the increase in hepatic cysts, thus would be:

$$\frac{12\ mg/litre}{25} \times \frac{2\ litres}{64\ kg} = 0.015\ mg/kg \quad body\ weight\ per\ day$$

where:

- 12 mg/litre is the 95% lower confidence limit for the 5% incidence of hepatic cysts,
- 25 is the uncertainty factor,
- 2 litres is the default volume of drinking-water consumed per day, and
- 64 kg is the average body weight for an adult.

The tolerable concentration (TC) for inhalation exposure would be:

$$\frac{3.4\ mg/m^3}{25} = 0.14\ mg/m^3$$

where:

- 3.4 mg/m^3 is the 95% lower confidence limit for the 5% incidence of hepatic cysts, and
- 25 is the uncertainty factor.

国際化学物質安全性カード

クロロホルム　　ICSC番号：0027

クロロホルム
CHLOROFORM
Trichloromethane
Methane trichloride
Formyl trichloride
$CHCl_3$
分子量：119.4

CAS登録番号：67-66-3
RTECS番号：FS9100000
ICSC番号：0027
国連番号：1888
EC番号：602-006-00-4

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。 「注」参照。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：適切な消火手段を用いる。
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		**作業環境管理を厳密に！** **青少年、小児への暴露を避ける！**	
吸入	咳、めまい、嘴眠、頭痛、吐き気、意識喪失。	換気、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、痛み、皮膚の乾燥。	保護手袋、保護衣。	汚染された衣服を脱がせる。多量の水かシャワーで皮膚を洗い流す。医療機関に連絡する。
眼	発赤、痛み。	顔面シールド、また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。	口をすすぐ。多量の水を飲ませる。安静。医療機関に連絡する。

漏洩物処理	貯蔵	包装・表示
・危険区域から立ち退く! ・専門家に相談する! ・漏れた液やこぼれた液を密閉式の容器に出来る限り集める。 ・残留液を砂または不活性吸収剤に吸収させて安全な場所に移す。 ・**この物質を環境中に放出してはならない。** ・(個人用保護具：自給式呼吸器付完全保護衣)。	・食品や飼料、混触危険物質(「化学的危険性」参照)から離しておく。 ・床面に沿って換気。	・破損しない包装；破損しやすい包装のものは密閉式の破損しない容器に入れる。 ・食品や飼料と一緒に輸送してはならない。 ・EU分類 記号：Xn R：22-38-40-48/20/22 S：(2-)36/37 ・国連危険物分類(UN Haz Class)：6.1 ・国連包装等級(UN Pack Group)：Ⅲ

重要データは 次ページ参照

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

クロロホルム　　ICSC番号：0027

重要データ

物理的状態; 外観:
特徴的な良気のある、揮発性、無色の液体。

物理的危険性:
この物質の蒸気は空気より重い。

化学的危険性:
高温面や炎に触れると分解し、有毒で腐食性のフューム(塩化水素[ICSC0163]、ホスゲン[ICSC0007]、塩素フューム[ICSC0126])を生成する。強塩基、強力な酸化剤、ある種の金属(アルミニウム、マグネシウム、亜鉛など)と激しく反応し、火災や爆発の危険をもたらす。プラスチック、ゴム、被膜剤を侵す。

許容濃度:
TLV：10 ppm(TWA); A3(動物実験では発がん性が確認されているが、人との関連は不明な物質) (ACGIH 2004)

MAK：0.5 ppm；2.5 mg/m³；ピーク暴露限度カテゴリー：II(2); 皮膚吸収(H); 発がん性カテゴリー：4; 妊娠中のリスクグループ：C (DFG 2004)
(訳注：詳細は DFG の List of MAK and BAT values を参照)

暴露の経路:
体内への吸収経路：吸入、経皮、経口摂取。

吸入の危険性:
20℃で気化すると、空気が汚染されてきわめて急速に有害濃度に達することがある。

短期暴露の影響:
眼を刺激する。中枢神経系、肝臓、腎臓に影響を与えることがある。これらの影響は遅れて現われることがある。医学的な経過観察が必要である。

長期または反復暴露の影響:
この液体は皮膚の脱脂を起こす。肝臓、腎臓に影響を与えることがある。人で発がん性を示す可能性がある。

物理的性質

・沸点：62℃
・融点：−64℃
・比重(水=1)：1.48
・水への溶解度：0.8 g/100 ml(20℃)
・蒸気圧：21.2 kPa(20℃)
・相対蒸気密度(空気＝1)：4.12
・20℃での蒸気/空気混合気体の相対密度(空気＝1)：1.7
・log Pow (オクタノール/水分配係数)：1.97

環境に関するデータ

・水生生物に対して毒性が強い。

注

・少量の引火性物質の添加または空気中の酸素濃度の上昇により、可燃性となる。
・アルコール飲料の使用により有害作用が増大する。
・暴露の程度によっては、定期検診が必要である。
・許容濃度を超えても、臭気として十分に感じないので注意すること。
・**火や高温面の近くで、または溶接作業中に使用してはならない。**

Transport Emergency Card(輸送時応急処理カード)：TEC(R)−61G61c
NFPA(米国防火協会)コード：H(健康危険性)2；F(燃焼危険性)0；R(反応危険性)0；

付加情報

© 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。