

有 害 性 評 価 書

Ver. 1.1

No.15

ジクロロメタン

Dichloromethane

化学物質排出把握管理促進法政令号番号：1-145

CAS 登録番号：75-09-2

新エネルギー・産業技術総合開発機構

委託先 財団法人 化学物質評価研究機構

委託先 独立行政法人 製品評価技術基盤機構

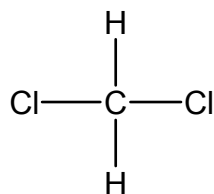
目 次

1. 化学物質の同定情報.....	1
1.1 物質名	1
1.2 化学物質審査規制法官報公示整理番号	1
1.3 化学物質排出把握管理促進法政令号番号	1
1.4 CAS 登録番号	1
1.5 構造式	1
1.6 分子式	1
1.7 分子量	1
2. 一般情報	1
2.1 別 名	1
2.2 純 度	1
2.3 不純物	1
2.4 添加剤又は安定剤	1
2.5 現在の我が国における法規制	1
3. 物理化学的性状	2
4. 発生源情報	2
4.1 製造・輸入量等	2
4.2 用途情報	3
4.3 排出源情報	3
4.3.1 化学物質排出把握管理促進法に基づく排出源	3
4.3.2 その他の排出源	4
4.4 排出経路の推定	5
5. 環境中運命	5
5.1 大気中での安定性	5
5.2 水中での安定性	5
5.2.1 非生物的分解性	5
5.2.2 生分解性	5
5.2.3 下水処理による除去	6
5.3 環境水中での動態	6
5.4 生物濃縮性	6
6. 環境中の生物への影響	6

6.1 水生生物に対する影響.....	6
6.1.1 微生物に対する毒性	6
6.1.2 藻類に対する毒性.....	7
6.1.3 無脊椎動物に対する毒性	8
6.1.4 魚類に対する毒性.....	9
6.1.5 その他の水生生物に対する毒性	10
6.2 陸生生物に対する影響.....	11
6.2.1 微生物に対する毒性	11
6.2.2 植物に対する毒性.....	12
6.2.3 動物に対する毒性.....	12
6.3 環境中の生物への影響 (まとめ)	12
7. ヒト健康への影響.....	13
7.1 生体内運命	13
7.2 疫学調査及び事例.....	18
7.3 実験動物に対する毒性.....	26
7.3.1 急性毒性	26
7.3.2 刺激性及び腐食性.....	27
7.3.3 感作性	27
7.3.4 反復投与毒性.....	27
7.3.5 生殖・発生毒性.....	32
7.3.6 遺伝毒性	34
7.3.7 発がん性	41
7.4 ヒト健康への影響 (まとめ).....	50
文 献	52
有害性評価実施機関名, 有害性評価責任者及び担当者一覧	72
有害性評価報告書外部レビュー一覧	72

1. 化学物質の同定情報

- 1.1 物質名 : ジクロロメタン
1.2 化学物質審査規制法官報公示整理番号 : 2-36
1.3 化学物質排出把握管理促進法政令号番号 : 1-145
1.4 CAS登録番号 : 75-09-2
1.5 構造式



- 1.6 分子式 : CH_2Cl_2
1.7 分子量 : 84.93

2. 一般情報

2.1 別名

塩化メチレン、二塩化メチレン、メチレンクロリド、メチレンジクロリド

2.2 純度

99%以上 (一般的な製品)

(化学物質評価研究機構, 2002)

2.3 不純物

不明

2.4 添加剤又は安定剤

2-メチル-2-ブテン (一般的な製品)

(化学物質評価研究機構, 2002)

2.5 現在の我が国における法規制

化学物質排出把握管理促進法 : 第一種指定化学物質

化学物質審査規制法 : 指定化学物質 (第二種監視化学物質)

労働安全衛生法 : 第二種有機溶剤、変異原性が認められた既存化学物質、名称等を表示すべき有害物、名称等を通知すべき有害物、指針を公表した化学物質
管理濃度 10 ppm

環境基本法 : 水質汚濁に係る環境基準 0.02 mg/L

地下水の水質汚濁に係る環境基準 0.02 mg/L

土壌汚染に係る環境基準 0.02 mg/L (溶出試験検液濃度)

大気の汚染に係る環境基準 0.15 mg/m³ (年平均)

水道法：水質基準 0.02 mg/L
下水道法：水質基準 0.2 mg/L
水質汚濁防止法：排水基準 0.2 mg/L
大気汚染防止法：指定物質、有害大気汚染物質 (優先取組物質)
環境基準 0.15 mg/m³ (年平均値)
土壤汚染対策法：特定有害物質、土壤溶出量基準 0.02 mg/L
海洋汚染防止法：有害液体物質 D 類
船舶安全法：毒物類
航空法：毒物
廃棄物処理法：特別管理産業廃棄物
判定基準 2 mg/L (廃酸・廃塩基、含有量)・0.2 mg/L (汚泥など、溶出量)

3. 物理化学的性状

外 観：無色液体 (Merck, 2001)
融 点：-95°C (Merck, 2001)
沸 点：39.75°C (Merck, 2001)
引 火 点：引火点なし (引火せず) (NFPA, 2002)
発 火 点：556°C (IPCS, 2000)
爆 発 限 界：12~25 vol% (空気中) (IPCS, 2000)
比 重：1.3255 (20°C/4°C) (Merck, 2001)
蒸 気 密 度：2.93 (空気 = 1)
蒸 気 圧：46.4 kPa (20°C)、66.5 kPa (30°C) (Verschueren, 2001)
分 配 係 数：オクタン-1/水分配係数 log Kow = 1.25 (測定値)、1.34 (推定値) (SRC:KowWin, 2002)
解 離 定 数：解離基なし
スペクトル：主要マススペクトルフラグメント
m/z 49 (基準ピーク=1.0)、84 (0.64)、47 (0.14) (NIST, 1998)
吸 脱 着 性：土壤吸着係数 Koc = 24 (推定値) (U.S.NLM:HSDB, 2002)
溶 解 性：水：13 g/L (20°C) (IPCS, 2000)
アルコール、エーテル、ジメチルホルムアミドなどの有機溶媒：自由に混和
(U.S.NLM:HSDB, 2002)
ヘンリー定数：329 Pa・m³/mol (3.25×10⁻³ atm・m³/mol) (25°C、測定値) (SRC:HenryWin, 2002)
換 算 係 数：(気相、20°C) 1 ppm = 3.53 mg/m³、1 mg/m³ = 0.283 ppm

4. 発生源情報

4.1 製造・輸入量等

ジクロロメタンの 1997 年から 2001 年までの 5 年間の製造量、輸入量等は表 4-1 の通りである (通商産業省, 1998-2000; 経済産業省, 2001-2002; 財務省, 2003)。

表4-1 ジクロロメタンの製造・輸入量等 (トン)

年	1997	1998	1999	2000	2001
製造量	101,994	97,265	84,699	79,896	70,022
輸入量	7,886	7,189	10,980	17,907	10,71
輸出量	5,787	5,398	4,733	4,318	3,089
国内供給量	104,093	99,056	90,946	93,485	77,684

(製造量: 通商産業省, 1998-2000; 経済産業省, 2001-2002, 輸出入量: 財務省, 2003)

4.2 用途情報

ジクロロメタンの用途及びその使用割合は表 4-2の通りである (製品評価技術基盤機構, 2002)。約 5 割がプリント基板や金属脱脂の洗浄剤として使用されており、残りは各種溶剤として使用されている。

表4-2 ジクロロメタンの用途別使用量の割合

用途	割合 (%)
洗浄剤 (プリント基板、金属脱脂)	50
医薬・農薬溶剤	16
エアゾール噴射剤、塗料剥離剤	9
ポリカーボネートの反応溶剤	6
ウレタンフォーム発泡助剤	5
繊維・フィルム溶剤	5
接着剤	4
その他溶剤	5
合計	100

(製品評価技術基盤機構, 2002)

4.3 排出源情報

4.3.1 化学物質排出把握管理促進法に基づく排出源

化学物質排出把握管理促進法に基づく「平成 13 年度届出排出量及び移動量並びに届出外排出量の集計結果」(経済産業省, 環境省, 2003a) (以下、2001 年度 PRTR データ) によると、ジクロロメタンは 1 年間に全国で届出事業者から大気へ 27,116 トン、公共用水域へ 19 トン、土壌に 39 kg 排出され、廃棄物として 10,032 トン、下水道に 1 トン移動している。また届出外排出量としては対象業種の届出外事業者から 56,634 トンと推計されている。非対象業種、家庭、移動体からの排出量は推計されていない。

a. 届出対象業種からの排出量と移動量

2001 年度 PRTR データに基づき、ジクロロメタンの対象業種別の環境媒体 (大気、水域、土壌) への排出量と移動量を表 4-3に整理した。その際、経済産業省及び環境省による届出外事業者からの排出量推計値は環境媒体別とはなっていないため、業種ごとの大気、水域、土壌への配分は届出データと同じ配分と仮定し、環境媒体別の排出量を推定した (製品評価技術基盤機

構, 2004)。

表4-3 ジクロロメタンの届出対象業種別の環境媒体への排出量等 (トン/年)

業種名	届出					届出外			届出と届出外の排出量合計	
	排出量			移動量		排出量 (推計) ¹⁾			排出計 ³⁾	割合 (%)
	大気	水域	土壌	下水道	廃棄物	大気	水域	土壌		
金属製品製造業	3,697	0	0	<0.5	622	19,501	14	0	23,212	28
輸送用機械器具製造業	3,847	<0.5	0	0	658	6,183	4	0	10,035	12
一般機械器具製造業	930	<0.5	0	<0.5	183	6,144	4	0	7,078	8
化学工業	5,837	8	<0.5	1	6,037	856	1	<0.5	6,702	8
電気機械器具製造業	2,492	<0.5	0	<0.5	402	3,926	3	0	6,421	8
プラスチック製品製造業	2,895	<0.5	0	<0.5	689	2,173	2	0	5,070	6
その他の製造業	1,396	<0.5	<0.5	<0.5	260	2,154	2	<0.5	3,552	4
鉄鋼業	789	0	0	0	196	2,249	2	0	3,040	4
洗濯業	—	—	—	—	—	2,868	2	0	2,870	3
その他 ²⁾	5,232	11	0	0	985	10,538	8	<0.5	15,789	19
合計 ³⁾	27,116	19	<0.5	1	10,032	56,593	40	<0.5	83,769	100

(製品評価技術基盤機構, 2004)

1) 大気、水域、土壌への配分を届出データと同じ配分と仮定し、推計した。

2) 「その他」には、上記以外の届出対象業種の合計排出量を示した。

3) 四捨五入のため、表記上、合計があっていない場合がある。

-: 届出なし又は推計されていない。

0.5 トン未満の排出量及び移動量はすべて「<0.5」と表記した。

なお、2001年のジクロロメタンの製造量及びその製造する段階でのジクロロメタン排出原単位 (日本化学工業協会, 2002) からジクロロメタンの製造段階における排出量は、大気へ114トンと推定される (製品評価技術基盤機構, 2004)。

したがって、2001年度PRTRデータに基づく届出対象業種からの排出量の多くは、ジクロロメタンの製造段階ではなく、使用する段階での排出と考えられる。

b. 非対象業種、家庭及び移動体からの排出量

2001年度PRTRデータでは、ジクロロメタンの非対象業種、家庭、移動体からの排出量は推計対象となっていない (経済産業省, 環境省, 2003b)。

4.3.2 その他の排出源

調査した範囲では、2001年度PRTRデータで推計対象としている以外のジクロロメタンの排

出源の情報は入手できなかった。

4.4 排出経路の推定

ジクロロメタンは、洗浄剤及び溶剤として使用されているという用途情報及び 2001 年度 PRTR データ等から判断して、主たる排出経路は、ジクロロメタンあるいはジクロロメタンを含む製品を使用する段階からの大気への排出と考えられる。

ジクロロメタンの放出シナリオとして、1 年間に全国で、大気へ 83,709 トン、水域へ 59 トン、土壌へ 100 kg 排出されると推定した。なお、水域への排出量には、下水処理場及び廃棄物処理施設で処理された後の排出量が含まれている。

5. 環境中運命

5.1 大気中での安定性

a. OH ラジカルとの反応性

対流圏大気中では、ジクロロメタンと OH ラジカルとの反応速度定数が $1.42 \times 10^{-13} \text{ cm}^3/\text{分子}/\text{秒}$ (25°C、測定値) である (SRC: AopWin, 2003)。OH ラジカル濃度を $5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6 \text{ 分子}/\text{cm}^3$ とした時の半減期は 2~4 か月と計算される。

b. オゾンとの反応性

ジクロロメタンと硝酸ラジカルとの反応性については、調査した範囲内では報告されていない。

c. 硝酸ラジカルとの反応性

対流圏大気中では、ジクロロメタンと硝酸ラジカルとの反応速度定数が $1.66 \times 10^{-17} \text{ cm}^3/\text{分子}/\text{秒}$ (25°C、測定値) である (SRC: AopWin, 2003)。硝酸ラジカル濃度を $2.4 \times 10^8 \sim 2.4 \times 10^9 \text{ 分子}/\text{cm}^3$ (10~100 ppt) とした時の半減期は 0.6~6 年と計算される。

d. 直接光分解性

ジクロロメタンは 290 nm 以上の光を吸収しないので、大気環境中では直接光分解されない (U.S.NLM:HSDB, 2002)

5.2 水中での安定性

5.2.1 非生物的分解性

ジクロロメタンは一般的な環境水中では加水分解を受け難く、加水分解半減期の最も短い報告でも 18 か月である (U.S. NLM: HSDB, 2002)。ジクロロメタンは 290 nm 以上の光を吸収しないので、表層水中では太陽光に 1 年以上暴露されても光分解されない (U.S. NLM: HSDB, 2002)。

5.2.2 生分解性

ジクロロメタンは化学物質審査規制法に基づく揮発性物質用改良型培養瓶を用いた好氣的生

分解性試験では、被験物質濃度 100 mg/L、活性汚泥濃度 30 mg/L、試験期間 4 週間の条件において、生物化学的酸素消費量 (BOD) 測定での分解率は 13% であり、難分解性と判定されている。なお、ガスクロマトグラフ (GC) 測定での分解率は 1% であった (通商産業省, 1986)。

しかし、馴化した条件では生分解速度は速くなるとの報告がある (U.S. NLM: HSDB, 2002)。

嫌気性菌を用いた実験では、分解半減期は 11 日であったとの報告がある (U.S. NLM: HSDB, 2002)。

以上から、ジクロロメタンは馴化を行った特定の好气的条件及び嫌气的条件では生分解されると考えられる。

5.2.3 下水処理による除去

ジクロロメタンは下水処理場 (活性汚泥法) において 6 時間～7 日間で完全に分解される (U.S. NLM: HSDB, 2002)。また下水処理場での除去率は 95% (揮散 2.6%、生物変換 92.4%) の報告もある (Verscheren, 2001)。

5.3 環境水中での動態

ヘンリー一定数を基にした水中から大気中へのジクロロメタンの揮散については、水深 1 m、流速 1 m/秒、風速 3 m/秒のモデル河川での半減期は 1 時間で、水深 1 m、流速 0.05 m/秒、風速 0.5 m/秒のモデル湖水での半減期は 4 日間と推算される (Lyman et al., 1990)。

ジクロロメタンの蒸気圧は大きく (46.4 kPa、20°C)、ヘンリー一定数も大きい (329 Pa・m³/mol、25°C) (3章参照)。土壤吸着係数 K_{oc} は 24 (3章参照) と小さいので土壤には吸着されないと考えられる。

以上及び 5.2.2 より、環境水中にジクロロメタンが排出された場合は、高い揮発性のために、生分解されるよりも速やかに大気に揮散される考えられる。

5.4 生物濃縮性

ジクロロメタンは化学物質審査規制法のコイを用いた 6 週間の濃縮度試験で、水中濃度が 0.25 mg/L 及び 0.025 mg/L における濃縮倍率はそれぞれ 2.0～5.4 及び 6.4 未満～40 であり、濃縮性がない又は低いと判定されている (経済産業省, 1986)。

6. 環境中の生物への影響

6.1 水生生物に対する影響

6.1.1 微生物に対する毒性

ジクロロメタンの微生物に対する毒性試験結果を表 6-1 に示す。

種々の細菌や原生動物に対する毒性試験が行われているが、最も低い濃度の毒性値は、細菌ではアンモニア酸化細菌のアンモニア消費阻害を指標とした 24 時間 EC_{50} の 1.2 mg/L (Blum and Speece, 1991)、原生動物では鞭毛虫類の増殖阻害を指標とした 48 時間または 72 時間毒性閾値 (EC_5) の 8,000 mg/L 超 (Bringmann, 1978b, Bringmann et al., 1980) であった。

表 6-1 ジクロロメタンの微生物に対する毒性試験結果

生物種	温度 (°C)	エンドポイント		濃度 (mg/L)	文献
細菌 <i>Microcystis aeruginosa</i> (藍色細菌)	27	8 日間毒性閾値 ¹⁾	生長阻害	550 (n)	Bringmann & Kuhn, 1978a
<i>Pseudomonas putida</i> (シェードモナス)	25	16 時間毒性閾値 ¹⁾	増殖阻害	500 (n)	Bringmann & Kuhn, 1977
活性汚泥	24-26	30 分 EC ₅₀	呼吸阻害	>1,000	Volskay & Grady, 1988
<i>Nitrosomonas</i> (アンモニア酸化細菌)	25	24 時間 EC ₅₀	アンモニア消費阻害	1.2 (n)	Blum & Speece, 1991
Methanogen (メタン生成細菌)	35	96 時間 EC ₅₀	嫌気ガス生成阻害	7.2 (n)	
Aerobic heterotroph (好氣的従属栄養細菌)	25, 35	15 時間 EC ₅₀	酸素消費阻害	320 (n)	
<i>Photobacterium phosphoreum</i> (海洋性発光細菌)	15	5 分間 EC ₅₀	発光阻害	2,812 (n)	Kaiser & Palabrica, 1991
原生動物 <i>Entosiphon sulcatum</i> (鞭毛虫類)	25	72 時間毒性閾値 ²⁾	増殖阻害	>8,000 (n)	Bringmann, 1978b
<i>Uronema parduczi</i> (繊毛虫類)	25	20 時間毒性閾値 ²⁾	増殖阻害	>16,000 (n)	Bringmann & Kuhn, 1980
<i>Chilomonas paramecium</i> (鞭毛虫類)	20	48 時間毒性閾値 ²⁾	増殖阻害	>8,000 (n)	Bringmann et al, 1980
その他 河川底生微生物	20	1 時間 EC ₅₀	電子伝達系 (ETS) 活性阻害	> 66,500 mg/kg 底質	Trevors, 1985
7 日間 EC ₅₀ (CO ₂ 放出)		微生物の呼吸阻害	15,500 mg/kg 底質		
7 日間 EC ₅₀ (O ₂ の取り込み)		26,500 mg/kg 底質			

ND: データなし、(n): 設定濃度

- 1) 対照区と比較して 3% の影響を与える濃度 (EC₃)
- 2) 対照区と比較して 5% の影響を与える濃度 (EC₅)

6.1.2 藻類に対する毒性

ジクロロメタンの藻類に対する毒性試験結果を表 6-2 に示す。

藻類の生長阻害における EC₅₀ は淡水種のセレナストラムと海産種のスケルトネマの報告があり、ともに 662 mg/L 超であった (U.S. EPA, 1978)。その他、緑藻のセネデスムス、クロレラ、クラミドモナスに関する報告があるが、いずれの毒性値も 1,000 mg/L 超であった。また、調査した範囲では生長阻害を指標とした NOEC の報告はなかった。

表 6-2 ジクロロメタンの藻類に対する毒性試験結果

生物種	試験法/ 方式	温度 (°C)	エンドポイント		濃度 (mg/L)	文献
淡水						
<i>Selenastrum capricornutum</i> ¹⁾ (緑藻、セテナストラム)	止水	ND	96 時間 EC ₅₀	生長阻害 クロロフィル a 細胞数	> 662 > 662	U.S. EPA, 1978
<i>Scenedesmus quadricauda</i> (緑藻、セネデスムス)	止水 閉鎖系	27	8 日間毒性閾値 ¹⁾	生長阻害	1,450 (n)	Bringman & Kuhn, 1977, 1978a
<i>Chlorella vulgaris</i> (緑藻、クロレラ)	止水	19	3 時間 EC ₅₀	光合成阻害 CO ₂ 吸収	2,300 (n)	Hutchinson et al., 1978
<i>Chlamydomonas anglosa</i> (緑藻、クラミドモナス)	止水	19	3 時間 EC ₅₀	光合成阻害 CO ₂ 吸収	1,500 (n)	
海水						
<i>Skeletonema costatum</i> (珪藻、スケルトネマ)	止水	ND	96 時間 EC ₅₀	生長阻害 クロロフィル a 細胞数	> 662 > 662	U.S. EPA, 1978

ND: データなし、(n): 設定濃度、閉鎖系: 試験容器や水槽にフタ等をしているが、ヘッドスペースはある状態

1) 現学名: *Pseudokirchneriella subcapitata*、2) 対照区と比較して 3% の影響を与える濃度 (EC₃)、

3) 対照区と比較して 5% の影響を与える濃度 (EC₅)

6.1.3 無脊椎動物に対する毒性

ジクロロメタンの無脊椎動物に対する毒性試験結果を表 6-3 に示す。

無脊椎動物に対するジクロロメタンの急性毒性については、淡水種としてオオミジンコの報告があり、このうち信頼ができるデータはジクロロメタンの揮発性を考慮して、試験を半止水あるいは止水方式の閉鎖系又は密閉方式で実施したもの、あるいは試験液中の被験物質濃度を測定し、その測定濃度で毒性値を示したものである。オオミジンコの 48 時間 LC₅₀ は 136 ~ 1,250 mg/L、24 時間及び 48 時間 EC₅₀ は 1,682 ~ 2,100 mg/L であった。

海産甲殻類のミシッドシュリンプとグラスシュリンプに対する毒性試験の報告があり、48 時間及び 96 時間 LC₅₀ は 108.5 ~ 256 mg/L であった (Burton and Fischer, 1990; U.S. EPA, 1978)。

淡水、海水無脊椎動物への長期毒性試験の報告は調査した範囲ではなかった。

表 6-3 ジクロロメタンの無脊椎動物に対する毒性試験結果

生物種	大きさ/ 成長段階	試験法/ 方式	温度 (°C)	硬度 (mg CaCO ₃ /L)	pH	エンドポイント	濃度 (mg/L)	文献
淡水								
<i>Daphnia magna</i> (甲殻類、 オオミジンコ)	生後 24 時間以内	U.S. EPA 止水 閉鎖系	22 ±1	173	7.4- 9.4	48 時間 LC ₅₀	220 (n)	LeBlanc, 1980
		止水	20	ND	8.0 ± 0.2	24 時間 EC ₅₀ 遊泳阻害	2,100 (n)	Bringmann & Kuhn, 1982
		止水	ND	ND	ND	48 時間 LC ₅₀	1,250 (n)	Bringman & Meinck, 1964

生物種	大きさ/ 成長段階	試験法/ 方式	温度 (°C)	硬度 (mg CaCO ₃ /L)	pH	エンドポイント	濃度 (mg/L)	文献
		DIN ¹⁾ 38412-2 止水 閉鎖系	20	ND	ND	24 時間 EC ₅₀ 48 時間 EC ₅₀ 遊泳阻害	1,959 1,682 (n)	Kuhn et al., 1989
		止水 閉鎖系	23 ±2	ND	ND	48 時間 LC ₅₀	136 (n)	Abernethy et al., 1986
		閉鎖系	18- 20	11.7	8	48 時間 LC ₅₀ 48 時間 NOEC	480 100	RIVM, 1986
海水								
<i>Americamysis bahia</i> (甲殻類、 ミツヅシユリゾフ、 アミ科)	ND	止水	ND	ND	ND	96 時間 LC ₅₀	256 (n)	U.S. EPA, 1978
<i>Palaemonetes pugia</i> (甲殻類、 グラスシュリゾフ、 テナガエビ科)	体長 20mm 以内の 幼生	ASTM ²⁾ 止水 密閉	20±2	塩分濃度: 8-12‰	6.1- 8.0	48 時間 LC ₅₀	108.5 (m)	Burton & Fischer, 1990

ND: データなし、(m): 測定濃度、(n): 設定濃度、閉鎖系: 試験容器や水槽にフタ等をしているが、ヘッドスペースはある状態、密閉: 試験容器上端まで試験液を満たしてヘッドスペースはない状態

1) ドイツ規格協会 (Deutsches Institut für Normung) テストガイドライン、2) 米国材料試験協会 (American Society for Testing and Materials) テストガイドライン

6.1.4 魚類に対する毒性

ジクロロメタンの魚類に対する毒性試験結果を表6-4に示す。

信頼できるデータは、ジクロロメタンの揮発性を考慮して試験を流水、半止水あるいは止水方式の閉鎖系又は密閉方式で実施したもの、あるいは試験液中の被験物質濃度を測定し、その測定濃度で毒性値を示したものである。淡水魚としては、ファットヘッドミノー、メダカ、ブルーギル及びニジマスに関する急性毒性データがある。その 96 時間 LC₅₀ は 193.0~502 mg/L の範囲にある。

長期毒性としては、ファットヘッドミノーの初期生活段階毒性試験での致死と成長を指標とした32日間NOECがそれぞれ142 mg/Lと82.5 mg/L (Dill et al.,1987)、ファットヘッドミノー及びニジマスの受精卵からふ化後4日まで暴露した試験でのLC₅₀がそれぞれ約34 mg/Lと13.2 mg/L (Black et al., 1982)、さらにメダカの致死を指標とした3週間のNOECが75 mg/L (RIVM, 1986) の報告がある。

海水魚としては、マミチヨグに対する試験報告があり、その48時間LC₅₀は97.0 mg/L (Burton and Fischer, 1990) であった。

表 6-4 ジクロロメタンの魚類に対する毒性試験結果

生物種	大きさ/ 成長段階	試験法/ 方式	温度 (°C)	硬度 (mg CaCO ₃ /L)	pH	エンドポイント	濃度 (mg/L)	文献
淡水								
<i>Pimephales promelas</i> (フットヘッドミノ)	受精後 24 時間 以内の卵	ASTM ¹⁾ 流水	25±1	73-82	7.6- 8.1	96 時間 LC ₅₀ 192 時間 LC ₅₀	502 471 (m)	Dill et al., 1987
					6.8- 8.6	32 日間 NOEC 致死 32 日間 NOEC 成長	142 82.5 (m)	
	平均体長 4.9mm、 平均体重 1.04g	流水	12	ND	7.8- 8.0	96 時間 LC ₅₀ 96 時間 EC ₅₀ 平衡喪失等	193.0 99.0 (m)	Alexander et al., 1978
<i>Lepomis macrochilus</i> (ブルーギル)	受精後 2-8 時間 以内の卵	流水 閉鎖系	20.4± 0.6	95.3±0.8	7.8± 0.02	5.5 日間 LC ₅₀ (ふ化 0 日目)	>34	Black et al., 1982
						9.5 日間 LC ₅₀ (ふ化 4 日目)	約 34 (m)	
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (ニジマス)	受精後 30 分以内 の卵	流水 閉鎖系	13.3± 0.3	106±1.5	7.8± 0.07	23 日間 LC ₅₀ (ふ化 0 日目) 27 日間 LC ₅₀ (ふ化 4 日目)	13.5 13.2 (m)	Black et al., 1982
<i>Poecilia reticulata</i> (グッピー)	2-3 か月 齢	半止水 閉鎖系 助剤 ²⁾	22±1	25	ND	14 日間 LC ₅₀	295 (n)	Konemann, 1981
<i>Oryzias latipes</i> (メダカ)	卵-仔魚	半止水	25±1	11.7	7.6- 8.4	3 週間 LC ₅₀ 3 週間 NOEC 致死	106 75	RIVM, 1986
海水								
<i>Fundulus heteroclitis</i> (マシヨク、 メダカ科)	稚魚 ふ化後 23 日以内	ASTM ¹⁾ 止水 密閉	20±2	塩分濃度: 8-12‰	6.1- 8.0	48 時間 LC ₅₀	97.0 (m)	Burton & Fischer, 1990

ND: データなし、(m): 測定濃度、(n): 設定濃度、閉鎖系: 試験容器や水槽にフタ等をしているが、ヘッドスペースはある状態、密閉: 試験容器上端まで試験液を満たしてヘッドスペースはない状態

1) 米国材料試験協会 (American Society for Testing and Materials) テストガイドライン、2) 種類は未確認

6.1.5 その他の水生生物に対する毒性

ジクロロメタンの両生類に対する毒性試験結果を表 6-5に示す。

初期生活段階のカエルやサンショウウオを用いた報告がある。両生類であるウシガエル、アメリカトノサマガエル、ファウラーヒキガエルの受精卵を用いて受精後2～6時間からふ化後4日間までジクロロメタンに暴露して、ふ化後のLC₅₀、ふ化率、奇形の発現などの影響について調べた。その結果、ふ化4日後のLC₅₀は17.8～32 mg/L超であった (Birge et al., 1980)。

さらに、ヨーロッパアカガエル、ヒョウガエル、アフリカツメガエル及びノースウエスタンサンショウウオを用いたほぼ同様な試験では、ふ化後4日目のLC₅₀はカエル類で16.9～48 mg/L超、ノースウエスタンサンショウウオで17.8 mg/Lであった (Black et al., 1982)。

表 6-5 ジクロロメタンの両生類に対する毒性試験結果

生物種	大きさ/ 生長段階	暴露 方式	温度 (°C)	硬度 (mg CaCO ₃ /L)	pH	エンドポイント	濃度 (mg/L)	文献
<i>Rana catesbeiana</i> (ウシガエル)	受精後 2-6 時間の 卵	流水 閉鎖系	20.7 ± 0.57	106.8±1.3	7.9± 0.02	4 日間 LC ₅₀ (ふ化 0 日目)	30.6	Birge et al., 1980
8 日間 LC ₅₀ (ふ化 4 日目)			17.8 (m)					
<i>Rana palustris</i> (アメリカノサマガエル)			21.5 ± 0.01			4 日間 LC ₅₀ (ふ化 0 日目)	> 32	
<i>Bufo fowleri</i> (フウレーヒキガエル)	21.5 ± 0.01	3 日間 LC ₅₀ (ふ化 0 日目)	> 32					
<i>Rana temporaria</i> (ヨーロッパアカガエル)	受精後 30 分以内 の卵	流水 閉鎖系	18.6 ± 0.3	97.9±0.7	7.7± 0.02	5 日間 LC ₅₀ (ふ化 0 日目)	23.0	Black et al., 1982
9 日間 LC ₅₀ (ふ化 4 日目)			16.9 (m)					
<i>Rana pipiens</i> (ヒョウガエル)			20.3 ± 0.4			5 日間 LC ₅₀ (ふ化 0 日目)	> 48	
9 日間 LC ₅₀ (ふ化 4 日目)			> 48 (m)					
<i>Xenopus laevis</i> (アフリカツメガエル)	18.6 ± 0.3	2 日間 LC ₅₀ (ふ化 0 日目)	> 29					
<i>Arabyostoma gracile</i> (ノースウエスタンシヨウウ ウ)	18.6 ± 0.3	6 日間 LC ₅₀ (ふ化 4 日目)	> 29 (m)					
5.5 日間 LC ₅₀ (ふ化 0 日目)	23.9							
9.5 日間 LC ₅₀ (ふ化 4 日目)	17.8 (m)							

(m): 測定濃度、閉鎖系: 試験容器や水槽にフタ等をしているが、ヘッドスペースはある状態

6.2 陸生生物に対する影響

6.2.1 微生物に対する毒性

ジクロロメタンの陸生微生物に対する毒性試験結果を表 6-6に示す。

ジクロロメタンの土壌微生物に対する酵素活性阻害について報告されている。

表 6-6 ジクロロメタンの陸生微生物に対する毒性試験結果

試験系	試験条件	エンドポイント		影響	文献
土壌 (真菌類、細菌類)の酵素活性	100g の土壌培養 0.1、1、10 mg/kg 乾土	8 週間 NOEC	ペーターグルコンターゼ [®] 酵素活性阻害	0.1 mg/kg 乾土	Kanazawa & Filip, 1987
		8 週間 LOEC		1 mg/kg 乾土	
土壌微生物	1-10 mg/kg 乾土	28 日間活性減少	ペーターグルコンターゼ [®] 、 ペーターセチルグルコサミンターゼ [®] 、 プロテイナーゼ [®] 酵素活性阻害	1-10 mg/kg 乾土	Kanazawa & Filip, 1986
		28 日間 NOEC		0.1 mg/kg 乾土	

6.2.2 植物に対する毒性

調査した範囲内では、ジクロロメタンの陸生植物に対する毒性に関する試験報告は得られていない。

6.2.3 動物に対する毒性

ジクロロメタンの陸生動物に対する毒性試験結果を表 6-7に示す。

昆虫類のヒラタコクヌストモドキとコクゾウムシに対する5時間LC₅₀は、それぞれ82及び380 mg/Lであった (Ferguson and Pirie, 1948; Negherborn, 1959)。また、シマミミズのろ紙接触試験では48時間LC₅₀が304 μg/cm²~1,000 μg/cm²超であるとの報告がある(Roberts and Dorough, 1984; Neuhauser et al., 1985)。

表 6-7 ジクロロメタンの陸生動物に対する毒性試験結果

	試験条件	エンドポイント		影響濃度 (mg/L)	文献
<i>Tribolium confusum</i> (昆虫類、ヒラタコクヌストモドキ成虫)	蒸気暴露	5 時間 LC ₅₀	致死	82	Ferguson & Pirie, 1948
<i>Calandra granaria</i> (昆虫類、コクゾウムシ)	蒸気暴露	5 時間 LC ₅₀	致死	380	Negherborn, 1959
<i>Eisenia fetida</i> (貧毛類、シマミミズ)	ろ紙接触試験	48 時間 LC ₅₀	致死	> 1,000 μg/cm ²	Roberts & Dorough, 1984
	ろ紙接触試験	48 時間 LC ₅₀	致死	304 μg/cm ²	Neuhauser et al., 1985

6.3 環境中の生物への影響 (まとめ)

ジクロロメタンの環境中の生物に対する影響については数多くのデータがあり、増殖阻害、生長阻害、致死、遊泳阻害、繁殖、成長、生理作用などを指標に検討が行われている。

ジクロロメタンは揮発性が高いことから、水生生物に関して信頼できるデータは試験を流水、閉鎖系又は密閉方式の半止水又は止水方式で実施したもの、あるいは試験液中の被験物質濃度を測定したものである。

微生物に関しては、細菌や原生動物についての報告があり、最も低い濃度での毒性値はアンモニア酸化細菌のアンモニア消費阻害を指標とした24時間EC₅₀の1.2 mg/Lであった

藻類の生長阻害試験では、セレナストラム、セネデスムス及びスケルトネマの報告があり、阻害濃度は662~1,450 mg/Lの範囲である。これらの値はGHS急性毒性有害性区分に該当しない。また、長期的な毒性指標としての生長阻害に関するNOECの報告はない。

無脊椎動物に対する急性毒性は、甲殻類のオオミジンコ、ミシッドシュリンプ、グラスシュリンプに対するものであり、108.5~2,100 mg/Lの範囲にある。これらの値もGHS急性毒性有害性区分に該当しない。長期毒性に関する報告はない。

魚類の急性毒性データ (48~96時間LC₅₀) は97.0~502 mg/Lの範囲にあり、マミチヨグに対する48時間LC₅₀ (97.0 mg/L) はGHS急性毒性有害性区分IIIに相当し、有害性を示す。長期毒性としては、ファットヘッドミノー、ニジマス及びメダカの報告があり、このうち最小値はニジ

マスの受精卵からふ化4日目まで暴露したときの27日間LC₅₀の13.2 mg/Lであった。

その他、両生類であるカエルやサンショウウオの受精卵からふ化4日目までジクロロメタンに暴露した時のLC₅₀が16.9～48 mg/L超の報告もある。

また、海産生物種に対する影響は、データが少なく明確ではないが、藻類、甲殻類及び魚類では同程度の影響があると推察される。

陸生生物に関しては、土壌細菌、昆虫類、ミミズに対する影響についての報告があるが、毒性の程度については明確ではない。

以上から、ジクロロメタンの水生生物に対する急性毒性は、魚類に対してGHS急性毒性有害性区分IIIに相当し、有害性を示す。

得られた毒性データのうち水生生物に対する最小値は、魚類であるニジマスに対する27日間LC₅₀の13.2 mg/Lである。

7. ヒト健康への影響

7.1 生体内運命

ジクロロメタンの生体内運命を表 7-1 に、代謝経路を図 7-1 に示す。

ジクロロメタンの物理化学的特性の蒸気圧が高いこと等で暴露経路として吸入が多く、主要吸収経路としての肺から迅速に吸収され全身へ循環する。ヒトの吸入暴露では濃度に依存して31～75%が吸収され (ACGIH, 2001)、血液中濃度は4時間で平衡に達し、暴露終了後は急速に消失する (Stewart and Kaplan, 1981a,b)。

液体の皮膚接触からも吸収されるが、他の暴露経路に比べて吸収速度は遅い (IPCS, 1996)。

吸収されたジクロロメタン及びその代謝物は、ラットのデータでは、肝臓、腎臓、肺、脂肪組織、筋肉、脳に分布する (Carlsson and Hultengren, 1975; McKenna et al., 1982)。

ジクロロメタンの代謝は、1) シトクロム P450 経路 (CYP 経路) 及び 2) グルタチオン S-転移酵素 (GST) 経路の2種により行なわれ、そのどちらか1つまたは両方を通して行なわれ、総代謝量は暴露量と動物の種が関連する (図 7-1参照)。

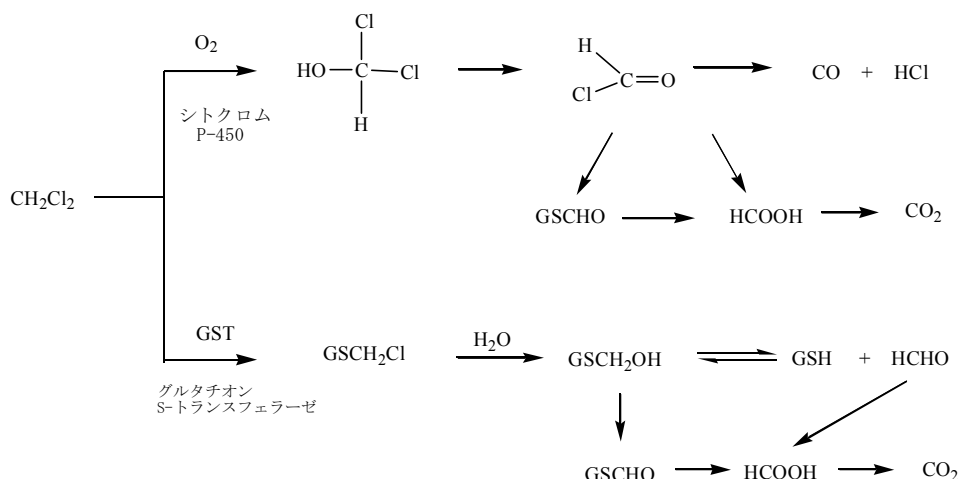


図 7-1 ジクロロメタンの代謝

比較的低濃度 [500ppm (1,800mg/m³) 程度] までは吸収されたジクロロメタンの大部分は未変化体のまま呼気に排出され、残りは通常の酸化代謝 (シトクロム P450 (CYP)) の経路で一酸化炭素、二酸化炭素、無機塩素に代謝される。これ以上の濃度では酸化代謝以外にグルタチオン転移酵素 (GST) の経路を含む代謝が行われる。GST の経路ではホルムアルデヒド、蟻酸を経て二酸化炭素に代謝される。この経路は酸化代謝経路が飽和する場合に作動する。肝細胞で比較した場合、シトクロム P450 経路の活性はマウスとハムスターは同程度で、ヒトとラットは低い。GST 経路についてはマウスでは高濃度暴露の場合に主代謝経路になり、活性はラットの 10 倍高く、またヒトとハムスターはラットに比べ代謝率はさらに低い (IPCS, 1996)。

シトクロム P450 (CYP) の経路ではミクロソームの代謝酵素 CYP 2E1 により酸化され、中間代謝物であるジクロロメタノール、塩化ホルミルを経て、一酸化炭素、二酸化炭素になる (IPCS, 1996)。この一酸化炭素とヘモグロビンが結合し、血液中にカルボキシヘモグロビン (CO-Hb) が形成される。ヒト (非喫煙者) にジクロロメタン 50、100、250 及び 500 ppm を 7.5 時間全身暴露した実験で、CO-Hb 形成率は 2.9、5.7、10.3 及び 11.7%であった (OSHA, 1997、日本産業衛生学会,1994)。

ヒト (ボランティア、男性、1 名) にジクロロメタン 213 ppm を 1 時間吸入させ、血中 CO-Hb 値を測定した実験で、暴露前には全ヘモグロビン量に対する CO-Hb 値は 0.4%であったが、暴露開始後直ちに上昇し 3 時間後には最大値 2.4%を示した (Stewart et al.,1972)。

ラット (SD 系、雄、4~9 匹) に ¹⁴C で標識したジクロロメタンを 6 時間吸入暴露した実験で、血中 CO-Hb 値は暴露開始直後 (約 30 分) から急速に上昇し、暴露終了時までほぼ一定のレベルに保たれた。500 ppm 以上の群で血中 CO-Hb 値の増加が認められない理由は、一酸化炭素生成が飽和状態となつたためと考えられる (McKenna et al., 1982)。

ジクロロメタンの代謝経路には種差があることが明らかにされており、低濃度暴露では CYP 経路がマウス、ラット、ヒトともに主代謝経路であり、この経路は、マウス、ラット、ハムスターではおよそ 500 ppm 程度で飽和すると推定 (IPCS, 1996) され、ヒトの場合は 200~1000

ppm で飽和する (OSHA, 1997)。

グルタチオン S-転移酵素 (GST) 経路は各種の組織・器官の細胞質に存在する GST によりグルタチオン抱合体が形成され、S-クロロメチルグルタチオン、ホルムアルデヒド、蟻酸等の中間代謝産物を経て二酸化炭素に代謝される。ジクロロメタンの代謝酵素として、GST θ クラスが関与している (IPCS, 1996; Meyer et al., 1991)。ヒト赤血球中の GST 活性の測定から、GST 活性に多型性があることがわかり、ヒトの 1/4 には活性がないことが確認された (Hallier et al., 1993)。

ヒトのジクロロメタン暴露の際の GST 経路によるホルムアルデヒド産生能について 22 人から肝臓生検試料を採取し、肝細胞の細胞質を分画し測定した結果、産生能のないグループ 3 例、産生能の低いグループ 11 例 (平均 0.31 nM/分/mg タンパク質)、産生能の高いグループ 8 例 (平均 1.03 nM/分/mg タンパク質) とヒトの間に個体差があることが確認した (Bogaards et al., 1993)。しかし最大産生能の例でもマウスより 1 桁低く (IPCS, 1996)、ラットの産生能の 5/7 倍 (同等以下) であることからジクロロメタンに対するヒトのリスク評価に肝臓 GST 活性の個体差の存在を考慮する必要はないとしている (Bogaards et al., 1993)。

ラット (F344)、マウス (B6C3F₁)、ハムスター (Syrian Golden)、ヒト (事故死者) の肝及び肺から、細胞質及びミクロゾーム画分を抽出後、ジクロロメタンを加え CYP 活性及び GST 活性を測定した結果、CYP 活性ではマウス、ラット、ハムスター、ヒトの順に、15.9、5.39、20.8、1.53~13.0 (4 名) nM 生産物/分/mg 細胞質タンパクであり、GST 活性では 118.2、計算不能、計算不能、6.04 ~7.05 (2 名) nM 生産物/分/mg 細胞質タンパクであった (Reitz et al., 1988)。

また、GST 経路で産生されるホルムアルデヒドを指標として、マウス (B6C3F₁)、ラット (F344)、ハムスター (Syrian Golden)、ヒト (事故死者) の肝臓、腎臓の細胞質中 GSTT1-1 活性を測定 (平均値、単位: nM/分/mg 細胞質タンパク) し、種差を検討した。肝臓では雌マウス (29.7) > 雄マウス (18.2) > ラット (3.71) > 抱合体高形成者 (HC) (1.60) > 抱合体低形成者 (LC) (0.62) > ハムスター (0.27) > 抱合体非形成者 (NC) (非検出) の順に活性を示した。腎臓では雌マウス (3.88) > 雄マウス (3.19) > HC (3.05) > ラット (1.71) / LC (1.38) > ハムスター (0.25) / NC (非検出) であった。ヒトの NC には活性は認められず、HC の活性は LC の約 2 倍あった。ヒトの GSTT1-1 活性は腎臓が肝臓より約 2 倍高かったが、マウス、ラット、ハムスターのでは肝臓が腎臓より高かった (2~7 倍) (Thier et al., 1998)。

ラット (SD 系、雄、4~9 匹) に 6 時間 ¹⁴C で標識したジクロロメタンを吸入暴露した場合、50 ppm の暴露では 48 時間後までに吸入したジクロロメタンの約 5% が未変化体として呼気中に排泄され、残りは一酸化炭素、二酸化炭素に代謝された。暴露濃度をあげて 500 及び 1,500 ppm では呼気中の未変化体の比率は高くなり、それぞれ吸入量の 30% と 55% に増加した。また、未変化体、一酸化炭素、二酸化炭素全体では各濃度 (50、500、15,000 ppm) それぞれ吸入量の 58%、71%、79% を示した。尿中排泄は 7~9%、糞中排泄は約 2% であった。また、48 時間後の体内残留 ¹⁴C 量は肝臓が最も高く、次いで腎臓、肺の順で、残留量はそれぞれ 8.4、3.3、及び 1.9 ppm (ジクロロメタン相当量) であった (McKenna et al., 1982)。

このように吸入されたジクロロメタンはきわめて早く排泄される。大部分は肺を経由して呼気から、比較的高濃度までは吸収された大部分のジクロロメタンは未変化体のまま呼気中に排出され、少量は尿や乳汁から排泄される。未変化体の尿中への排泄の割合は低く 2% 程度であ

った (IPCS, 1996)。

呼気中への排泄で急速排泄相の半減期は1分以内、第2相の半減期は1.5時間、第3相は10-15時間である。ヒトでは暴露30分後に呼気中の濃度は最大になる。また、脂肪組織中に分布したジクロロメタンは徐々に血液中に移行する。500 ppm (1,740 mg/m³) の短時間暴露では、CO-Hb値は数時間増加し続けた (Graves et al., 1994b; Graves et al., 1995, 1996)。

表 7-1 ジクロロメタンの生体内運命

動物種・試料等	実験条件	測定項目等	結 果	文献
ヒト (非喫煙男性 ボランティア A、:23-27歳) 3人	吸入 (座位) 暴露 7.5時間/日 1日又は5日 50、100、150、 200 ppm	ECG、一連の血液検査項目、血液生化学 血中ジクロロメタン濃度、血中CO-Hb値	初期吸収は急速:100~200 ppmの濃度で暴露開始1時間目までの血中濃度は0.6 mg/L (50 ppmで0.2 mg/L) 暴露中一暴露終了2時間目の血中ジクロロメタン平衡状態時の濃度は暴露濃度依存的。暴露開始4時間目に血中濃度は平衡状態になり暴露中止まで継続。暴露中止後、暴露濃度に対応し急速に血中から消失 暴露中止後7時間で暴露濃度150 ppmまでは血中濃度は0.1 mg/L以下。200 ppmでは16時間後に1.0 mg/L 肺の吸収は吸入量の70-75% 吸収されたジクロロメタンの25-34%が一酸化炭素として呼気中に排泄、未変化体の排泄は5%未満 肺の最大一回換気中と血液中のジクロロメタン及びCO濃度は暴露期間中不変。呼気中のジクロロメタン及び一酸化炭素濃度は各暴露濃度群で一定。各暴露濃度群の血中CO-Hb平均濃度は低暴露濃度群から1.9、3.4、5.3、6.8% 100 ppm8時間暴露では平均CO-Hb飽和血中濃度は約3%と推定でき、一酸化炭素の推奨TLVである35 ppm暴露で生じるCO-Hb血中濃度上昇以下	Stewart & Kaplan, 1981a,b
ヒト (健康男女 25-62歳、技術者)	経皮吸収 母指 (無傷) をビーカー (揮発を防ぐ) 中のジクロロメタンに2時間浸漬	ガスクロマトグラフによる肺胞呼気濃度測定) 皮膚の状態、症状の記録	最大ジクロロメタン濃度: 30分後3.1 ppm 2時間後呼気中ジクロロメタン濃度: 0.69 ppm 皮膚の状態、症状: 焼けるような感覚 (2分後) 焼けるような感覚とともに麻痺の感覚やさらに燃えるような感覚 (10分後) 皮膚の発赤 (ごく軽度)、ごく軽度の白色鱗屑	Stewart & Dodd, 1964
ラット SD 雄 10匹	¹⁴ C-ジクロロメタンを吸入 1,935 mg/m ³ (6,800 ppm) 1時間	血中、組織中のジクロロメタン、CO、CO-Hb値測定	ジクロロメタン及びその代謝物濃度: 暴露直終了後濃度: 白色脂肪組織が最高、以下肝臓、腎臓、副腎、脳に分布を確認 脂肪組織と脳のジクロロメタンとその代謝物は暴露終了後急速に消失 (2時間後に脂肪組織では90%以上消失) 2時間後に肝臓では約25%、脳では75%消失	Carlsson & Hultengren, 1975
ヒト (ボランティア A,男, 1名)	213 ppm 1時間吸入	血中CO-Hb値の測定	暴露前全ヘモグロビン量に対するCO-Hb値: 0.4%、暴露開始直後上昇し3時間後に最大値 (2.4%)	Stewart et al., 1972

動物種・試料等	実験条件	測定項目等	結 果	文献
ラット SD 雄 2-9匹	全身暴露 6時間 ¹⁴ C-ジ クロロメタン 50, 500, 1500 ppm 赤外線分光分 析法	ジクロロメタン、二酸化炭素、一酸化炭素 (放射能) 濃度: 全血、血漿、呼気、尿、糞、カーカス、皮膚、 肝臓、腎臓、肺、 脳、精巣上体脂肪、筋肉、精巣、	放射能の分布: 肝臓、腎臓、肺、脳、精巣上体脂肪、筋肉、精巣、等に分布 血中CO-Hb値は暴露開始 (約30分) 直後から急速に上昇し、暴露終了時までほぼ一定のレベルを保つ。500 ppm以上の群で血中CO-Hb値が増加しないのは、一酸化炭素生成が飽和したためと推定	McKenna et al., 1982
肝臓、肺 ラット (F344) マウス (B6C3F ₁) ハムスター (Syrian Golden) ヒト (事故死し臓器移植対象健康人)	肝臓/肺の細胞質画分, ミクロゾーム画分を分離	GST活性、 CYP活性の測定 測定結果及び文献値を用い PB-PK model によるリスク評価実施。	Vmax (nM産生物質/分/mgタンパク質) 最尤推定値は、マウス、ラット、ハムスター、ヒトの順に、 <u>GST活性</u> : 118.2、計算不能、計算不能、6.04 ~7.05 (2名の範囲) <u>CYP活性</u> : 15.9、5.39、20.8、1.53~13.0 (4名の範囲) 上記結果及び文献値を用いPB-PK数学モデルにより発がんリスクを計算 (PB-PK数学モデル: LMS モデル、ロジットモデル (logit model)、ワイブルモデル、プロビットモデル) LMS モデルが最も大きなリスクを示した。 吸入暴露での肝臓がん、肺がん、肝+肺がんのユニットリスクは、 3.8×10^{-8} 、 6.8×10^{-9} 、 3.7×10^{-8} であり、受容リスクを 10^{-5} とすると、肝+肺がんについては、 $270 \mu\text{g}/\text{m}^3$ となる。50 ppm ジクロロメタン職業暴露時のリスクは、 1.4×10^{-5} 、 3.7×10^{-7} 、 1.8×10^{-5}	Reitz et al., 1988
マウス B6C3F ₁ ラットF344、 ハムスター SG、 ヒト 細胞質中の GSTT1-1 活性測定	肝臓、腎臓、赤血球 (ヒトのみ)	細胞質中の GSTT1-1 活性測定 ヒトの分類 NC: 抱合体非形成者 LC: 抱合体低形成者 HC: 抱合体高形成者	種差を、ホルムアルデヒド産生を指標に比較: 肝臓での活性 (平均値、単位:nM/分/mg細胞質タンパク): 雌マウス (29.7) > 雄マウス (18.2) > ラット (3.71) > HC (1.60) > LC (0.62) > ハムスター (0.27) > NC (不検出)、 腎臓での活性 (平均値、単位: nM/分/mg細胞質タンパク): 雌マウス (3.88) > 雄マウス (3.19) > HC (3.05) > ラット (1.71) / LC (1.38) > ハムスター (0.25) / NC (不検出) ヒトのNCでは活性は検出されず、HCの活性はLCの2倍程度。マウス、ラット、ハムスターのGSTT1-1 活性は肝臓が腎臓の2~7倍、ヒトでは腎臓が肝臓より約2倍高い	Thier et al., 1998
マウス (B6C3F ₁) ラット (F344)	10~4,000 ppm 6時間	血液中ジクロロメタン、 CO-Hb、 呼気中二酸化炭素、一酸化炭素の測定	①血中ジクロロメタン濃度は、2,000、4,000 ppm 暴露で、ラットがマウスより5倍高い。 ②低濃度暴露では CYP 経路がマウス、ラットともに主代謝経路であり、マウス、ラットともに100~500 ppm を超えると代謝が飽和③ GST 経路はマウスのみでの主要代謝経路であり、4,000 ppm での活性はラットと比較すると1桁以上高い。 ④代謝経路は、暴露濃度に依存すると報告。マウス、ラット、ハムスター、ヒトの肝臓及び肺を用いた <i>in vitro</i> でのジクロロメタン最大代謝速度を測定した結果がまとめられており、CYP 経路活性の種差は大きくないが、GST 経路の活性はマウスが著明に高い。	IPCS, 1996 (Green, 1995) Green, 1995 (健康影響評価検討委員会, 1997から引用)
ヒト (非喫煙者)	50、100、250 及び500 ppm 7.5時間全身暴露	血液中CO-Hb	血液中CO-Hb濃度: 2.9、5.7、10.3、11.7%	OSHA, 1997、日本産業衛生学会, 1994

動物種・試料等	実験条件	測定項目等	結 果	文献
ラット肝臓 (Wistar, SD) ヒト肝臓 (FH47)	GSTの純化	各純化分画の活性測定 GST及びGSH過酸化酵素活性の測定による	ジクロロメタン代謝には、純化分画の中で GST θ class 酵素の関与を確認	Meyer et al., 1991; IPCS, 1996
ヒト赤血球の GST活性測定	GST活性測定		ヒト赤血球中のGST活性を測定した結果、ヒトの1/4には活性がなく、GST活性の多型性を確認。(GST family が未確定時点での研究)	Hallier et al., 1993
ヒト溶血血液	各種濃度のジクロロメタンを添加	生成するホルムアルデヒド濃度の測定	GSTT1-1により生成するホルムアルデヒド最大生成速度は180pM/分/mgHb、Kmは60mMであり、ハイリスク集団の存在に注意の要あり。	Hallier et al., 1994
死体腎臓移植時及び手術時の22例の肝臓生検試料	肝臓細胞質を分画	ジクロロメタンに対する肝臓 GST活性の測定	ヒトのホルムアルデヒド産生能に個体差あり [産生能なし: 3例、低産生能: 11例 (平均 0.31 n M/分/mgタンパク質)、高産生能: 8例 (平均 1.03 n M/分/mgタンパク質)]。最大産生能の例でもマウスより1桁低く (IPCS, 1996等)、ラットの産生能より1.4 倍低いことを確認 ジクロロメタンに対するヒトのリスク評価に肝臓GST活性の個体差の考慮の必要なしと結論	Bogaards et al., 1993
ヒト	呼気中濃度、脂肪組織中濃度、血液中濃度各測定、血液中 CO-Hb濃度測定		呼気中急速排泄相半減期:1分以内、第2相半減期:1.5時間、第3相:10-15時間 暴露30分後:最大呼気中濃度到達 脂肪組織中ジクロロメタン:徐々に血液中に移行 500 ppm (1,740 mg/m ³) 短時間暴露:CO-Hb数時間増加	Graves et al., 1994b; Graves et al., 1995, 1996

7.2 疫学調査及び事例

ジクロロメタンの疫学調査及び事例を表 7-2に示した。

他のハロゲン化炭化水素と同様ジクロロメタンは中枢神経の抑制作用と麻酔作用がある。事故例の急性症状としては、眩暈、気絶、軽い頭痛、過度の疲労感、頭痛、集中力の低下がみられ、肺の浮腫によると思われる吐き気、呼吸困難、チアノーゼ、呼吸困難もみられた。重篤な場合に意識喪失、眠気を伴う麻酔作用があらわれ、場合によっては死に至る (HSE, 1985)。また、ジクロロメタンは中枢神経の抑制作用とともに血中に CO-Hb を形成する (IPCS, 1996)。眼への飛沫侵入や衣類などへの付着のため揮散しにくい状態で皮膚へ接触することにより刺激作用があり、長期の接触は薬傷を起こす (IPCS, 1996)。2,000 ppm で 30 分以上の暴露では、吐き気、だるさ、眩暈などの軽度麻酔症状、7,000~10,000 ppm では四肢のしびれ、20,000 ppm では 30 分で深麻酔状態になる。事故例の死因はジクロロメタンの深麻酔作用であり、一酸化炭素中毒ではない (Leikin et al., 1990)。麻酔から回復する場合は完治すると考えられる (HSE, 1985)。なお、ジクロロメタンの嗅覚閾値は 150~600 ppm である (IPCS, 1996)。長期吸入暴露における標的器官は肝臓と中枢神経である。高濃度の暴露では、幻覚、てんかん発作、側頭葉変性等の不可逆的な中枢神経障害が発現する (IPCS, 1996)。

a. 非職業暴露

フィルム製造会社の工程から排出されたジクロロメタン暴露地域の白人 91,302 例の出産証明書に基づく分析の結果、推定最高濃度暴露 (50 μ g/m³) 地域でも出生時体重への有意な影響はみられなかった (Bell et al., 1991)。

メタノールを含むジクロロメタンを主成分とするペンキ剥離剤 (成分含有率不詳) 300 mL を摂取した女性は、チアノーゼを示し意識喪失した。血中には CO-Hb (カルボキシヘモグロビン) が生じ、1 時間後には 9%、2 日目までは高濃度を示したが 3 日以降は 1%以下に回復した。この患者は腎障害、肺炎、すい炎、胃・消化管の出血、敗血症等のため体調不順の状態が継続し、摂取 25 日目に死亡した。著者は死因を CO-Hb の生成による酸素欠乏よりもこの製剤の腐食性による胃・消化管の出血と考えている (Hughes and Tracey, 1993)。また、この症例以前に同系ペンキ剥離剤 0.5-1 L (推定) を摂取したが回復した事例もある (Roberts and Marshall, 1976)。

b. 職業暴露

ジクロロメタンを主成分とするペンキ剥離剤を使用し、吸入による急性中毒事例の報告を以下に記す。

家具塗料剥離工場 (中、小規模) におけるジクロロメタン主成分のペンキ剥離剤を使用中の事故で、死亡 2 例が発生し、生存した 3 例では不整脈がみられた。ジクロロメタン主成分のペンキ剥離剤の直接接触では 1 次性・2 次性の角膜の葉傷もみられ、この際に CO-Hb の濃度測定が実施され、8.6%以下であった。3 事例いずれも呼吸器保護器具は装着せず、換気状態は不適切であり、暴露濃度は不明である。著者は観察された毒性はジクロロメタンの麻酔作用に起因すると考えている (Hall and Rumack, 1990)。

換気不良の場所でペンキ剥離作業を行なった男性 (67 歳) に関する報告では、救急室搬入時、頭痛、胸部痛を訴え、見当識障害、進行性の警戒性の喪失を起こし、疲労感と無気力状態の亢進、記憶喪失、時間感覚の喪失がみられた (ATSDR, 1993)。

空井戸で作業中に 2 人が死亡した事例では、井戸の気中ジクロロメタン濃度は 583 mg/L であった。剖検時のジクロロメタンの血中濃度は 571 及び 601 mg/L であった。死後 24 時間の CO-Hb 値は約 30%であった (Manno et al., 1989)。

塗料剥離作業での 5 人の中毒事例があり、死亡したのは 5 人のうち 2 人であるが、ジクロロメタンを含む溶剤の麻酔作用に起因した昏睡とされている (Leikin et al., 1990)。

ジクロロメタンまたはこれを含むペンキ剥離剤の事故による暴露では中枢神経の抑制、嗜眠、眼と呼吸器の炎症、肺の浮腫がみられ、死に到る場合もあることが報告されている (Fagin et al., 1980)。

ボランティアによる急性暴露実験では、200 ppm で 1.5~3 時間暴露、300 ppm 95 分暴露で神経系への影響がみられた (Fodor and Winneke, 1971; Putz et al., 1976)。690 ppm で 1 時間の暴露では視覚誘発反応 (Visually evoked responses: 視覚機能の代替測定法の一つ) に影響がみられた。血液中の CO-Hb 値の上昇が認められたが、血液検査、尿検査には異常はなかった (Stewart et al., 1972)。また、710 ppm では警戒行動の障害はみられなかった (Kozena et al., 1990)。

ジクロロメタン暴露作業者に関するヘキスト社の研究では、平均濃度 475 ppm、10 年以上の吸入暴露で肝臓及び神経系への影響はみられず (Soden, 1993)、平均 60~475 ppm の暴露濃度では循環器系への影響もみられなかった (Ott et al., 1983)。

13 年間にわたるコダック社のコホート研究では、100 ppm 程度の暴露では神経系や循環器系に対する慢性毒性による死亡率への影響はなかった (Friedlander et al., 1978)。この疫学研究をさらに延長 (総期間 23 年) した結果、肺がん、肝臓がん、虚血性心疾患による死亡がみられた

が死亡率に統計学的有意差はみられなかった (Friedlander et al., 1978; Hearne et al., 1987; Hearne et al., 1990)。

平均 82~236 ppm の濃度で 22 年間以上暴露した退職者に中枢神経の影響は検出されていない (Lash et al., 1991)。75~100 ppm の暴露で神経行動学的障害や運動神経伝導速度の変化はなかった (Cherry et al., 1981)。

ジクロロメタンに暴露された作業員で中枢神経機能障害を起こし来院した 8 人は下腹部の痛み (前立腺が原因と判明) を訴え、精子の奇形率の上昇、精子数の減少及び運動性の低下などの影響が生じた (Kelly, 1988)。この作業環境濃度は NIOSH により 68 ppm と測定されているが、中枢神経機能障害が生じたこと、作業状況及び CO-Hb 値 (5.6% (最終暴露 24 時間後に測定、以下の括弧内数値は測定までの時間)、6.4% (16)、5.1% (16)、1.2% (8)、1.2% (90) 、11.0% (4)) から、経皮・経気道的にこれ以上の濃度で暴露されたと考えられている (日本産業衛生学会, 2000)。

石油精製工場や化学工場密集地域の 300 の症例について行なわれた症例対照研究で、推定暴露レベルと脳星状細胞腫発現が関連する傾向が認められたと報告されている (Heineman et al., 1994)。

表 7-2 ジクロロメタンの疫学調査及び事例

対象集団 性別・人数	暴露状況	暴露量	結 果	文 献
非職業暴露				
製造工程から周辺環境への排出	暴露と出産時体重との関連調査	50 µg/m ³ 推定最高濃度	91,302 例 (白人の単児出産) を対象 暴露の推定に関する問題があったものの有意な悪影響はなし	Bell et al., 1991
56 歳女性 ペンキ剥離剤 (主成分: ジクロロメタンとメタノール)	経口摂取 (主成分の濃度の記載なし)	推定 300mL/ヒト	摂取約 1 時間後、CO-Hb 値 9% (2 日目まで 2.5-12%、その後 1%以下)、14 時間後に意識回復 その後 3 週間以上、進行性腎臓障害、肺炎、すい臓炎、胃・消化管への出血、敗血症、摂取 25 日後死亡。死因はこの剤の腐食性と結論	Hughes & Tracey, 1993
職業暴露 (急性的暴露) 事例報告				
家具塗料剥離工場作業員 5 名 その他 3 事故例	塗料剥離剤 (主成分ジクロロメタン) への直接接触	暴露濃度不明	死亡は 2 例、生存例は心拍の不規則性、角膜葉傷 (1 度・2 度)、CO-Hb 値 8.6%以下 呼吸器保護具装着なし、換気不適切。ジクロロメタンの麻酔作用に起因すると結論。	Hall & Rumack, 1990
家具塗料剥離工場の事故例 男子 2 名	剥離剤組成 ジクロロメタン: 65-85%, MeOH: 6-12%,その他 空気採取 聞き取り調査、剖検	暴露濃度不明	ジクロロメタン主成分のペンキ剥離剤を使用中の吸入により急性中毒死する場合あり。大部分のケースでは暴露濃度は不詳であるが、中毒死者の各種組織からジクロロメタンを検出	Novak & Hain, 1990

対象集団 性別・人数	暴露状況	暴露量	結 果	文 献
塗料剥離作 業	2名の事故 及びその救 助者3名の 事故	OSHAの算定 4.5%~14%	患者①29歳男性: 救急病院での処置の効果なく 搬入15分後死亡。剖検: 肺の出血を伴う浮腫、 皮膚の炎症、剖検後のCO-Hb値:6%、組織ジ クロロメタン濃度: 血清:15.5 mg/L、尿中:22 μ g/g、肝臓:35 μ g/g、脳:109 μ g/g、脾臓:58 μ g/g、 腎臓:40 μ g/g 患者②32歳男性: 救急病院での処置の効果なく 搬入4日後死亡。血清ジクロロメタン濃度:55 mg/L、剖検: 硬化を伴う肺炎、小脳扁桃ヘルニア を伴う大脳浮腫 患者③~⑤: 生存 5例の中毒はジクロロメタンを含む溶剤の麻酔作 用による昏睡(一酸化炭素中毒ではない)によると 考えられる。	Leikin et al., 1990
空井戸内作 業	作業環境で の暴露	583 mg/L、低濃度 ないし痕跡濃度の 他の溶剤が存在	ジクロロメタンの血中濃度は571及び601 mg/L 他溶剤(数mg/L)も検出。 死後24hCO-Hb値は約30%。	Manno et al., 1989
67歳男性 ペンキ剥離 作業	作業環境で の暴露 換気不十分	暴露濃度不明	主訴: 頭痛、胸部痛、症状: 見当識障害、警戒性 喪失、疲労感と無気力の亢進、記憶喪失、時間感 覚喪失	ATSDR, 1993
植物成分抽 出釜作業員 4名	作業環境で の暴露 換気不十分	暴露濃度不明	中枢神経抑制、麻酔、眼の刺激、気管/肺の浮腫 及び死亡	Moskowitz & Shapiro, 1952
ペンキ剥離 剤使用 芸術大女子 学生20歳	換気不十分 な無暖房室 内で使用	暴露濃度不明	嘔吐、激頭痛を感じ、眩暈、気持ち悪さのため1 時間後部屋を出た直後気を失う。 橈骨脈拍: 98/分、血圧120/70 mmHg 循環器、呼吸 器、腹部は正常、ヘモグロビン濃度:13.7g/L、白 血球数: $7.3 \times 10^9/L$ 、CO-Hb値(搬入時):50%、胸 部X線及び心電図検査は正常 60%の酸素吸入(4L/分)を12時間実施時点 でのCO-Hb値は20%となる。4日後退院 この例の搬入時CO-Hb値(50%)は異常に高か ったが症状は軽度。	Fagin et al., 1980
ペンキ剥離 作業員3名 約8か月以 上	作業環境で の暴露 換気不十分	1,300 ppm (4,511 mg/m ³ 相当)	1事例: 心筋梗塞による死亡	Stewart et al., 1976
エアゾル 防臭剤 75名の男女	2回/週 12週間使用	暴露濃度不明	軽度の発赤	Meltzer et al., 1977
直接の皮膚 接触		接触量・範囲不明	灼熱痛	Stewart & Dodd, 1964
ジクロロメ タンとメタ ノール混合 物の桶に転 落		15分間全身浸漬	広範の病変皮膚表面の薬火傷、表皮の強度の損 傷、強度角結膜炎	Weber et al., 1990
作業員の容 器内転倒	容器内にジ クロロメタ ンの蒸気が 充満	暴露濃度不明	気を失って容器底に転倒し約2Lのジクロロメタ ン入りのバケツを倒す。容器内に約30分留まる。 意識喪失の間体重を支えた両脚に2-3度の薬火 傷。退院後この部分は乾燥、皮膚移植は不要	Wells & Waldron, 1984
ヒト志願者を用いた吸入毒性研究				
吸入	300 ppm (1040 mg/m ³ 相当) 95分間		視覚機能検査のうち臨界 flicker frequency の減少	Fodor & Winneke, 1971
吸入	200 ppm (700 mg/m ³ 相当) 1.5-3時間		神経行動学的な影響(警戒心の混乱、複合警戒追 跡行動の障害)	Putz et al., 1976

対象集団 性別・人数	暴露状況	暴露量	結 果	文 献
吸入	二重盲検法 志願者数の記載なし 710 ppm (2,500 mg / m ³ 相当) 暴露時間/暴露人数の記載なし		警戒行動の障害は発現せず。	Kozena et al., 1990
職業暴露 症例研究及び疫学研究				
アセテート 工場の従業員 における 吸入暴露 (症例研究)	調査対象志願者は米国のアセテート工場 (ジ及びトリ) の暴露 暴露群: 266 名 (参加率 61%) 対照群: 251 名 (参加率 55%) 8 時間荷重平均暴露濃度: 職場により異なる。 約 60 ppm: 11 名、 約 140 ppm: 162 名、 約 280 ppm: 28 名、 約 475 ppm: 65 名 アセトン (110~1000 ppm) への 同時暴露あり (60 ~475 ppm 群)		考慮事項: 喫煙習性、人種、性別、年齢、暴露量、 静脈穿刺の回数 検査項目 :RBC、Hb、Ht、MCV、MCH、MCHC、 CO-Hb、AST、ALT、LDH、ALP、総ビリルビン、 アルブミン CO-Hb 値の上昇 (ジクロロメタン暴露群で 4.9~ 5.2%,対照群: 1.1~1.5%) 475 ppm に暴露の白人女性の赤血球数とヘマトク リット値の増加、 血清ビリルビン量の濃度相関的増加 (他の肝機 能指標/溶血との関連なく意義不明 暴露群男 24 名 (3 名)、参考群男: 26 名 (8 名) () 内は心臓病歴者数 24 時間の心電図検査: 暴露に関連した心室性/上室性期外収縮の増加な し、偶発性 ST 間部下降なし	Ott et al., 1983
13 年間に暴 露した 751 名の従業員 23 年間に暴 露した 1,013 名の 従業員 (死亡率、発 がん率の研 究/疫学研 究)	フィルム製造業 13 年間の TWA8h: 10-114 ppm (35.3-402 mg/m ³) 平均暴露濃度: 26 ppm (90 mg/m ³ 相当) (Hearne et al., 1987).		100 ppm 程度の暴露では神経系や循環器系の慢 性影響による死亡率、発がん率への影響は見られ ず (統計的有意差なし)。 肺がん、肝臓がん、虚血性心疾患による死亡があ ったが死亡率に統計学的有意差なし	Friedlander et al., 1978 Hearne et al., 1987 Hearne et al., 1990
(罹患率の 研究)	28-4,800 ppm (100 -17 000 mg/m ³ 相当)		尿中に蟻酸排泄。その他 (内部検査, 神経系, 目, laboratory examinations) に変化はなし	Kuzelova & Vlasak, 1966
10 年以上 ジクロロメ タンに暴露 した従業員: 150 名 対照群: 年齢、性、 人種に関し て暴露群と 対応した近 隣の工場従 業員: 260 名 (症例研究)	暴露濃度: 475 ppm (1,677 mg/m ³ 相当) (8 時間 TWA) 同時暴露 (アセトン、メタノール) の 8 時間荷重平均暴露濃度 各 900/100 ppm		検査項目: 既往歴・暴露歴質問票、胸部 X 線撮影、 心電図、尿検査、呼吸機能検査、聴力検査 (26 項 目の血清生化学及び完全な末梢血検査) 循環器系、神経系、肝への影響、自覚症状 (胸部 不快感、脈拍不整、頭痛、四肢異常、記憶障害、 めまい) に対する質問の回答、肝機能、末梢 検査結果: 群間に差はなし。	Soden, 1993

対象集団 性別・人数	暴露状況	暴露量	結 果	文 献
一航空会社 の一労働組 合に所属し た退職航空 機整備工 1758名 (症例研究)	諸作業者の暴露濃度平均値: 82 ~236 ppm (290~830 mg/m ³ 相 当)		1,758名中、航空機塗料剥離、修理/塗装等のオー バーホール作業に6年以上従事、且つ塗料剥離作 業で平均225 ppm、非剥離作業でジクロロメタン 平均100 ppmへ暴露整備工(最大濃度826 ppm) 25名の調査(対照群に有機溶剤暴露のなかった 作業員21名をランダム選抜) 中枢神経影響残存の有無を調査。選抜漏れ退職者 特性を選抜群と比較(2方法)、大差なし。 検査項目: WAIS、Beck抑うつ度調査、自己評価 質問票、主に神経系に関する33項目の自覚症状 調査票、握力、P300事象関連電位、嗅覚閾値、 色覚、脳波検査、神経行動検査、心理検査(短期 視覚記憶、視覚再生、言語記憶、数字記入、運動 機能、注意力等) 検査結果: 両群間で有意差なし、退職後に中枢 神経系影響の残存している証拠なし	Lash et al., 1991
年齢に対応 した対照を 設置 アセテート フィルム製 造工場: 作業員46名 を調査 (症例研究)	数年(平均2年) 作業は三交代制 75~100 ppm (260~350 mg/m ³ 相 当) ジクロロメタン以外に全量の 10%がメタノール		46名にジクロロメタン起因すると考えられる神 経行動学的障害、運動神経伝導速度、心電図、臨 床検査実施〔対照: 同一工場の同一交代制の作業 員(ジクロロメタンの暴露なし) 作業員12名〕: 対照と暴露群との間に差はなし。 補足試験として上記検査者46名のうちの29名と 対照として同数の年齢に対応するジクロロメタ ン暴露のない同系工場の作業員について、ECG、 神経生理検査、心理学検査実施。: 対照と暴露群 との間に差はなし。	Cherry et al., 1981
中枢神経機 能障害で通 院した同一 工場の8名 (年齢20~ 47才、暴露 期間0.4~ 2.9年) (症例研究)	8名ジクロロメタンの入りバケ ツに手を浸漬、ジクロロメタン を自動車用プラスチック部品に 振りかけ、接着作業前の表面ふ き取り作業に従事。 環境測定データ(NIOSH実施-測 定実施の詳細情報なし)を引用: 平均68 ppm(範囲3.3~154.4)。 スチレンへの同時暴露あり。		主訴: 精巣、精巣上部、下腹部の痛み(前立腺が 原因と判明)。ジクロロメタン暴露作業開始以降 避妊処置せずも不妊状態。非喫煙者6人各々暴露 終了から採血までの時間及びCO-Hb値: 24時間- 9.6%、16時間-6.4%、16時間-5.1%、8時間-1.2%、 90時間-1.2%、4時間-11.0%。精液採取協力者4 名の精子数は、1mlあたり200万~2,600万個/ mL(明らかに減少)、運動精子数2,000万個以下、 精子奇形率高し(生殖器の外傷、感染症の既往・ 現症なし)。既婚者3人中2人はジクロロメタン 暴露作業以前に子供が生まれ、1名(暴露期間2.9 年)は全4回の検査で精子数・活動度減少。 ※本報告は、ジクロロメタンに精巣毒性があるこ との示唆しているが、NIOSHの環境測定値はこ の職場の暴露濃度が単に他に比し高いことを示 すための引用であり、暴露と影響の関係の考察 には用いていず。また、CO-Hb値の生物学的半減 期が13時間(IPCS,1996)であること、報告されて いるCO-Hb値などから判断し、経皮及び経気道 呼吸あわせこの測定を上回る高濃度のジクロロ メタンの吸収があったと判断。	Kelly, 1988
男性1名 (症例研究)	2,290-12,500 mg/m ³ 5年		幻聴・幻覚を伴う中枢神経の不可逆的損傷	Weiss, 1967
男性1名 (症例研究)	500-1,000 ppm (1,800-3,500 mg/m ³ 相当) 3年		側頭葉両側の変性	Barrowcliff & Kneil, 1979
精神錯乱と 癲癇発作の 発生した1 人 (症例研究)	精神錯乱と癲癇発作の 発生した1人の症例 4年		12か月の病歴: 断続的頭痛、吐き気、眼のちらつ き、息切れ、一過性の記憶障害がみられた。 神経心理学、脳波検査で右脳の障害を確認 作業環境から隔離することにより全症状と体調 不良は消失	Tariot, 1983
小集団の職 業暴露 (症例研究)	TWA: 32 ppm (114 mg/m ³ 相当)		CO-Hb値: 0.8-2.5%。 臨床化学検査、血液検査、心電図では影響なし。	Di Vincenzo & Kaplan, 1981a

対象集団 性別・人数	暴露状況	暴露量	結 果	文 献
症例研究 46 症例に関する分析	46 症例に関する分析 6-34 mg/m ³ 数年間		消化器障害の多数発生 (有意性なし)、低血圧発生 胆嚢の病変、肝臓の腫大頻発 飲酒、喫煙の状況不明	Kashin et al., 1980
石油精製工場や化学工場密集地域の 300 の症例 (症例対照研究)	対照: 320 例		脳星状細胞腫に関して 四塩化炭素、ジクロロメタン、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレンの暴露は関連有り クロロホルム、1,1,1-トリクロロエタンの暴露は関連なし ジクロロメタンは、ロジスティック解析による年齢等の調整後、高濃度・長期暴露群のオッズ比は 8.5 (95%CI 1.3-55.5) で、推定暴露レベルと脳星状細胞腫発現の可能性の間に関係のある傾向を認める。一方、累積暴露濃度と脳星状細胞腫発現の可能性の間に関係ある傾向は認められずと結論。	Heineman et al., 1994
米国 24 州 〔症例対照研究 (乳がんリスク)〕	死亡記録及び職業コード (1984-89 年) に基づいた研究 社会経済的因子などの調整後、関連性が示唆された化合物: スチレン、ジクロロメタン、四塩化炭素、ホルムアルデヒド、金属酸化物 (数種)、酸ミスト		乳がん発症例は 33,509 例、対照として 117,794 例を抽出 ジクロロメタンのオッズ比 暴露可能性を 4 段階 (1~4) に区分した場合、順に、白人で 0.94 (95%CI: 0.9-0.98) 、1.15 (1.1-1.2) 、1.05 (0.97-1.1) 、0.76 (0.3-2.0)、黒人で 1.09 (0.93-1.09)、1.02 (0.9-1.1)、1.13 (0.9-1.4) 、NA 、暴露レベルを 3 段階 (1~3) に区分した場合、順に、白人で 0.95 (95%CI 0.9-0.98) 、1.04 (0.97-1.1)、1.17 (1.1-1.3)、黒人で 1.01 (0.9-1.1)、1.12 (0.9-1.3)、1.46 (1.2-1.7)。 以上オッズ比はジクロロメタンの暴露は乳がんとの関連を示唆する。	Cantor et al., 1995
フィンランドの製薬工場勤務女性 44 名の流産 1973 (1975) - 1980 (症例対照研究)	妊娠の情報: 病院から取得 暴露の情報: 工場から取得 健康人のデータ 対照として 2.5 年以内に出産し 症例との年齢合致者 3 例を選択 暴露濃度の記載なし		流産とジクロロメタンとの関連の調査 (11 名) 単変量解析 (univariate analysis) によるオッズ比: 2.3 (95% CI =0.6-6.6): ロジスティック解析 (matched logistic analysis) によるオッズ比: 暴露回数 1 回/週 以下: 2.0 (95% CI = 1.0-5.7): 暴露回数 1 回/週 以上: 2.8 (95% CI = 0.8-9.5) 流産とジクロロメタン暴露には関連があると結論	Taskinen et al., 1986
2 化学工場 で 1 年以上 作業従事した 1,919 名 (コホート研究 - 死亡調査)	暴露濃度の記載なし		作業による暴露分類、暴露年数と過剰死亡に関連なし	Ott et al., 1985
化学会社酢酸セルソール繊維製造 作業でジクロロメタン 暴露の男女 1,271 名 (後ろ向きコホート研究)	3 カ月以上作業従事者		SMR: 胆管がん+肝がん 4 例: 5.75 (95%CI 1.82-13.78) 胆管がん 3 例のみ: 20 (95%CI 5.2-56) 4 例の就業期間:10 年以上、1 例は暴露 1 年以内。 がん組織型: Vater 乳頭胆管がん、肝及び総胆管がん、総胆管がん、肝腺がん。	Lanes et al., 1990
上欄同一集団を 1990 年 12 月まで追跡した最新結果 (コホート研究)	1977~1978 年の暴露濃度は、 8 時間荷重平均で 140~745 ppm (Ott et al., 1983) 同時暴露: アセトン、メタノール		SMR (標準人口として同一郡 (米国) を使用): 全死因 : 0.90 (95%CI 0.77-1.04) 全悪性新生物 : 0.82 (95%CI 0.58-1.52) 虚血性心疾患 : 0.90 (95%CI 0.65-1.21)。 胆管・肝がん : 2.98 (観察死亡 4 例、95%CI 0.81-7.63) やや過剰 コホート研究 (前報告) における膀胱がん (1 例) の SMR は 0.65 。 著者らは暴露による過剰死亡はないと結論。	Lanes et al., 1993

対象集団 性別・人数	暴露状況	暴露量	結 果	文 献
化学会社の ロールコー ティング作 業場の男性 常勤労働者 1,013名 (後ろ向きコ ホート研究)	最低1年間勤務 26ppm (range 10 ~114ppm) 23年間の8時間荷重平均 同時暴露: アセトン、メタノール、1,2-ジク ロロエタン、1,2-ジクロロプロバ ン		平均追跡年数は33年(1988年まで追跡、追跡率 99%以上)。 標準集団として、ニューヨーク州人口及び当該化 学会社の当該工場職員を使用。 SMRは全死因で有意な減少、観察当初は有意な SMRを示した膀胱がんは、観察数8、期待数4.2(両 標準集団とも)で多い発現だが有意性はなし (Hearne et al., 1987を引用)。 暴露レベル(ppm-年)解析、期間(暴露開始-発症) 解析では、有意性なし。	Hearne et al., 1990
酢酸セルロ ース製造作 業者3,211 名 (男2,187名、 女1,024名) (コホート研 究)	3か月以上従事者 暴露段階の分類 非暴露群、 低濃度群(50-100ppm) 高濃度群(350-700ppm)		男性: 前立腺がんの過剰死亡を観察(有意性なし)。 特定集団に限定した場合の前立腺がんのSMR 高濃度群20年以上暴露群: 2.084(有意) 高濃度群連続20年以上暴露群: 2.909(有意) 女性: 低濃度群において子宮頸がんで過剰死 亡を観察(有意性なし)。 特定集団に限定した場合の子宮頸がんのSMR 20年以上の群: 8.022(有意) 疫学の結果に一貫性がなく、動物実験では観察さ れていないこと、他の化学物質への暴露があるこ と等から、前立腺がん、子宮頸がんの増加はジク ロロメタンに起因するとは考えられず。	Gibbs, 1992
ランプ製造 作業 者 (後ろ向きコ ホート研究)	最低6か月間作業従事 作業環境測定データなし この集団の雇用開始時の使用化 学物質については不明		ジクロロメタンとトリクロロエチレン使用のコ イル・針金製造作業従事者の女性のがんの増加。 5年間以上の暴露で、15年間以上従事女性は、原 発性乳がん及び生殖器がんのSMRが3.0(95%CI 129-590)。	Shannon et al., 1988
酢酸セルロ ースフィル ム製造工場 男性作業 者 1,473名 (コホート研 究)	1946~88年の従事者 平均作業期間9年(1994年末ま で) 平均暴露濃度 19ppm(70mg/m ³ 相当)		肺がんのSMR: 0.48 活動的作業の冠動脈疾患のSMR: 0.83 累積暴露の最高群(>800ppm/年)でも過剰死亡 なし	Tomenson et al., 1997
航空機整備 作業14,457 名 (1990年末ま で) 比較群: ユタ州の人 口 〔コホート 研究(死亡 調査)〕	最短1年以上業従事者 トリクロロエチレン等種々溶剤 に暴露		全死亡のSMR: 0.97(期待値とほぼ一致)、 がん死亡のSMR: 0.96(期待値とほぼ一致)。 有意な過剰死亡SMR: 虚血性心疾患: 1.08(95%CI: 103-113) ぜん息: 1.60(95%CI: 102-251) 骨がん: 2.77(95%CI: 108-476) ジクロロメタン等種々溶剤への暴露従業員の死 亡率比の算定、 ジクロロメタンの死亡率: 非ホジキンリンパ腫: 3.0(95%CI: 0.9-10.0、男 性) 多発性骨髄腫: 3.4(95%CI: 0.9-13.2、男性) 乳がん: 3.0(95%CI: 1.0-8.8、女性) その他の発がんについては報告なし。 この研究の特徴は、大規模のコホート研究、多数 の女性データを分析、産業医が潜在的暴露の可能 性を分析/算定。複雑な労働環境中暴露のため、 複合的暴露から各種要因の分離が不可能で、個々 化学物質へのリスクの評価は不可能と判断。	Blair et al., 1998

SMR: 標準化死亡率 (Standardized Mortality Rate)

7.3 実験動物に対する毒性

7.3.1 急性毒性

実験動物に対するジクロロメタンの急性毒性試験結果を表 7-3に示す。また、また、個別のデータはデータ数が多数のため、LD₅₀を主として取り扱った試験結果を付表 1 に、死亡以外の急性的影響を取り扱った試験結果を付表 2 として文書末に添付する。

6 時間吸入暴露の LC₅₀ はラットで 15,000 ppm (Bonnet et al., 1980)、マウスで 14,000~16,000 ppm (Gradiski et al., 1978; Scott et al., 1979)、モルモットで 11,000 ppm (Balmer et al., 1976)、ラットの経口投与の LD₅₀ は 1,710~2,250 mg/kg (Carreon, 1981; Klimmer, 1971; Kimura et al., 1968; Laham, 1978) の範囲にある。

表 7-3 ジクロロメタンの急性毒性試験結果

	マウス	ラット	モルモット	イヌ
吸入 LC ₅₀ (6 時間暴露)	14,000-16,000 ppm (53,000-56,000 mg/m ³)	15,000 ppm (53,000 mg/m ³)	11,000 ppm (39,000 mg/m ³)	ND
経口 LD ₅₀	ND	1,710-2,250 mg/kg	ND	ND
経皮 LD ₅₀	ND	ND	ND	ND
腹腔内 LD ₅₀	448-1,990 mg/kg	ND	ND	1,260 mg/kg
皮下 LD ₅₀	6,500 mg/kg	ND	ND	ND

ND: データなし

吸入急性毒性の症状として中枢神経の抑制 (Clark and Tinston, 1982) に関連した痙攣 (Laham, 1978)、感覚麻痺 (Schumacher and Grandjean, 1960)、体性感覚惹起反応 (Mattsson et al., 1988)、脳波への影響 (Rebert et al., 1989)、脳波や睡眠に対する影響 (Fodor and Winneke, 1971; Fodor et al., 1973)、中枢神経抑制による昏睡 (回復性を伴う) (Aviado et al., 1977a,b; Svirbely et al., 1947) 等がみられる。これらのうち比較的低濃度の影響は 500 ppm 3 時間暴露である。また、短時間の高濃度暴露の影響としてはマウス (Swiss-Webster) に 47,500 ppm を 20 秒間暴露した場合、暴露 1~4 日後に学習能力、単純受動回避行動の減少がみられた (Alexeef and Kiglore, 1983)。

吸入暴露によるこの他の急性毒性影響は、呼吸器及び循環器への影響はラット (Laham, 1978; Schumacher and Grandjean, 1960)、モルモット (Balmer et al., 1976)、ウサギ (Truhaut et al., 1972)、イヌ (Von Oettingen et al., 1950) でみられ、肝臓への影響としてはマウス肝細胞の脂肪化 (Svirbely et al., 1947)、モルモットの肝臓中性脂肪の増加 (Balmer et al., 1976) 及び肝細胞の脂肪滴様変化 (Morris et al., 1979) 等がみられている。100 ppm の濃度で 5 分間、5 回暴露では、ラットの肝細胞のベータグルクロシダーゼが肝のミクロゾームで増加、ライソゾームで減少がみられた (Kurppa et al., 1981)。また、500 ppm 以上の暴露で中間代謝物である一酸化炭素 (CO) とヘモグロビンが結合した CO-Hb 値の血中濃度の上昇がみられている (MacEwen et al., 1972)。

吸入経路の他にラットに対する経皮投与試験 (Janssen and Pot, 1988; Schutz, 1960)、ラット、マウスやイヌに対する腹腔内投与試験があり、中枢神経の抑制が 1,060 mg/kg のラットでみら

れ (Masuda et al., 1980)、その他 CO-Hb 値の増加、肝臓・腎臓への影響など吸入暴露と同様な影響がみられている (Cornish et al., 1973; Corsi et al., 1983; Klaassen and Plaa, 1966; Klaassen and Plaa, 1967; Kluwe et al., 1982; Pankow et al., 1979; Plaa and Larson, 1965)。

吸入暴露以外の経路による急性的影響は吸入経路でみられた所見とほぼ同様である。

7.3.2 刺激性及び腐食性

a. 皮膚刺激性

ウサギに 0.5 ml を 24 時間半閉塞貼付した場合、損傷皮膚、正常皮膚いずれにも壊死及び表皮肥厚を伴う重度の発赤及び浮腫がみられた (Duprat et al., 1976)。また、ウサギに 0.5 ml を 4 時間パッチによる閉塞貼付した場合、他の塩素系溶剤の存在の有無にかかわらず中等度の刺激性がみられたが、皮膚に対する腐食性はなかった (Van Beck, 1990)。液体のジクロロメタンの皮膚に対する刺激性は中等度である (IPCS, 1996)。この判定は、気化をしない状態の場合である。

反復吸入全身暴露動物実験では皮膚の刺激性の報告はない。

b. 眼刺激性

ウサギに液体 0.1 mL 点眼した試験で、角膜の肥厚、眼内圧の亢進を伴う結膜、眼瞼の中等度ないし重度の炎症、眼内圧の亢進がみられ、結膜、眼瞼の炎症は 2 週間後にも回復しない例 (2/6 例) が見られた。少量の飛散を想定した 0.01 mL の点眼でも同様な炎症反応がみられたが、0.1 mL 点眼に比べ短期間で回復した (Ballantyne et al., 1976)。また、SD ラットに対する 10,000 ppm の吸入暴露終了後に結膜の発赤が 1~10 時間継続した (Leuschner et al., 1984)。

5,000 ppm の濃度の暴露は軽度の角膜の肥厚と眼内圧の上昇がみられる。液体のジクロロメタンの眼に対する刺激性は中等度である (IPCS, 1996)。

7.3.3 感作性

調査した範囲内で、ジクロロメタンの実験動物に対する感作性に関する報告はない。

7.3.4 反復投与毒性

ジクロロメタンの実験動物に対する反復投与毒性試験結果を表 7-4 に示す。

ジクロロメタンに対する動物を用いた発がん性試験との併合試験として行なわれた慢性毒性試験を含む反復投与毒性試験が多く実施されている。

ジクロロメタンの中枢神経への影響 (Briving et al., 1986; Heppel et al., 1944; Nitschke et al., 1988a; Rosengren et al., 1986; U.S. NTP, 1986; 伊藤ら, 1990) 及び肝臓への影響 (Condie et al., 1983; Eisenbrandt and Reitz, 1986; Haun et al., 1972; Heppel et al., 1944; Hext et al., 1986; Kirschman et al., 1986; Kjellstrand et al., 1986; Loyke, 1973; Nitschke et al., 1981; U.S. NTP, 1986; Weinstein and Diamond, 1972; 伊藤ら, 1990; 竹下ら, 1991) が反復暴露の主な標的であり、この他に血液系への影響 (Haun et al., 1972; Kirschman et al., 1986; MacEwen et al., 1972) や肺への影響 (Eisenbrandt and Reitz, 1986; Kanno et al., 1993)、腎臓への影響 (Condie et al., 1983; Kirschman,

1986) が報告されている。肺及び肝臓に対する発がん作用もみられている。なお、発がん性に関しては別の項で述べる。

吸入暴露

ジクロロメタンを実験動物に 1,000 ppm 以上を 1 か月間以上吸入暴露すると、血中や神経組織内のジクロロメタン濃度の上昇 (伊藤ら, 1990)、可逆性の中枢神経への影響 (Heppel et al., 1944; Rosengren et al., 1986; U.S. NTP, 1986)、軽度の眼の刺激性 (Leuschner et al., 1984) がみられている。ラット、マウスでは 13,000 ppm の吸入暴露を 1 日 6 時間繰り返すと 20 日以内に一部の動物は死亡する (U.S. NTP, 1986)。また、ラットでは 1,000 ppm、マウスでは 5,000 ppm 以上で体重の減少がみられた (IPCS, 1996)。

一方、ラットに 2,000 ppm を 3 か月間暴露しても神経系の反応 (閃光反応、聴覚脳幹、体性感覚神経、尾神経) に影響はなく、神経の組織学的検査でも影響はなかった (Mattsson et al., 1990)。

ラットに 0、525、1,050、2,100、4,200、8,400 ppm (0、1,850、3,700、7,400、14,800、29,700 mg/m³) の用量で 6 時間/日、5 日/週、3 か月間吸入暴露した試験で、4,200 ppm (雄は 8,400 ppm のみ) 以上で、肝臓の脂肪/肝重量比の有意な減少を、また 8,400 ppm で死亡、体重増加の抑制、異物性肺炎がみられた (U.S. NTP, 1986)。ラットに 0、50、200、500 ppm (0、180、700、1,800 mg/m³) の用量で 6 時間/日、5 日/週、2 年間吸入暴露した試験で、200 ppm (700 mg/m³) では肝臓に対する影響はみられなかった (Nitschke et al., 1988a)¹⁾。マウスに 37、75、150、300 ppm (130、260、530、1,100 mg/m³) の用量で 1 か月間昼夜連続して吸入暴露した試験で、75 ppm で肝臓に脂肪の蓄積、肝臓重量の増加、血中ブチリルコリンエステラーゼ量の上昇がみられ (Kjellstrand et al., 1986)、また、マウス及びラットに 0、25 及び 100 ppm (0、88、350 mg/m³) の濃度で (100 日間) 連続吸入暴露した試験で、25 ppm 以上で軽度の肝細胞空胞化等がみられており、著者らは本試験での LOAEL を 25 ppm としている (Haun et al., 1972)。

1) ATSDR (2000) では NOAEL 50 ppm としているが、本評価書では原著者の判断に従い NOAEL を 200 ppm とした。

以上のデータから、吸入暴露の LOAEL はジクロロメタンの毒性標的の一つとして明らかにされている肝細胞空胞化、肝細胞脂肪染色陽性が認められたマウス及びラットの 100 日間連続吸入暴露試験での 25 ppm (88 mg/m³) (Haun et al., 1972) である。

経口投与

マウスへの経口投与では、0.15% (226 mg/kg/日相当) 以上で肝細胞の空胞化 (Kirschman, 1986)、250 mg/kg/日以上で肝臓の脂肪変性 (Serota et al., 1986b) がみられた。

ラットに 0、0.15、0.45、1.50% (雄 ; 0、166、420、1200 mg/kg/日、雌 ; 0、209、607、1469 mg/kg/日) の用量で 3 か月間経口 (飲水) 投与した試験で、主に肝臓に対する軽度の影響 (ALT の上昇) が 166 mg/kg/日の投与群で認められている (Kirschman et al., 1986)。

F344 ラットに 0、5、50、125、250 mg/kg/日の用量で 104 週間飲水投与した発がん性試験では、50 mg/kg 以上の群で雌雄にヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数の増加、肝細胞の変異細巣がみられ、250 mg/kg 群では ALP、クレアチニン、血清尿素窒素、総タンパク、コ

レステロール値の低下がみられている (Serota et al., 1986a)。本評価では本試験での NOAEL は 5 mg/kg/日と判断した。

以上のデータから、ジクロロメタンの反復経口投与の NOAEL はラットの試験 (Serota et al., 1986a) での 5 mg/kg/日である。

表 7-4 ジクロロメタンの反復投与毒性試験結果

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結果	文献
マウス B6C3F ₁ 雄 匹数未記載	吸入 (全身 暴露)	単回及び 3週 6時間/日	4,000 ppm (14,100 mg/m ³)	1日後: 肺の病変 気管支、細気管支上皮細胞の壊死、クラ ラ細胞の腫大と空胞化、細胞分裂の軽度 亢進 3日後: 肝臓重量の増加 2~3週間後: 肝臓の細胞分裂活性の亢進 気管支、細気管支上皮細胞の壊死、周辺 リンパ組織の反応性肥大-	Eisenbrandt & Reitz, 1986
マウス B6C3F ₁ 雌雄 5匹/群	吸入 (全身 暴露)	19日 6時間/日	1,625、3,250、 6,500、13,000、 16,000 ppm (5,740、11,500、 22,900、 45,900、56,500 mg/m ³)	用量依存的な活動性の亢進、 暴露に関連する肉眼的病理変化なし 13,000 ppm以上: 死亡、生存個体は体重の減 少(雌)、又は増加抑制(雄)	U.S. NTP, 1986
マウス NMRI 10-11匹/群	吸入 (全身 暴露)	30日間 24時間/日 7日/週 (低濃度連 続)	37、75、150、 300 ppm (130、 260、530、1,100 mg/m ³)	観察項目: 血中ブチリルコリンエステラーゼ濃度、 器官重量(肝臓、腎臓、脾臓) 75 ppm 以上: 血中ブチリルコリンエステラーゼ濃度の 上昇(雄) 肝臓重量の増加(雄)、肝細胞に脂 肪蓄積 150 ppm以上: 肝臓重量増加(雌)	Kjellstrand et al., 1986
マウス ICR 雌 16匹/群	吸入 (全身 暴露)	70日 24時間/日 7日/週 (低濃度連 続)	0、100 ppm (0、350 mg/m ³)	3週目: 対照群に比べた体重の減少 (増加抑 制) 及び肝臓重量の減少 10週目まで: 肝細胞の脂肪浸潤、空胞変性、 核の肥大、可逆性の血漿中性脂肪の増加	Weinstein & Diamond, 1972
マウス B6C3F ₁ 雌雄 10匹/群	吸入 (全身 暴露)	13週 6時間/日 5日/週	0、525、1,050、 2,100、4,200、 8,400 ppm (0、1,850、 3,700、7,400、 14,800、 29,700 mg/m ³)	4,200 ppm(雌) 及び8,400 ppm(雌雄): 肝臓中心性水腫変性 8,400 ppm(雌雄): 平均体重、肝臓脂肪/肝臓重量の減少 死亡例散見-	U.S. NTP, 1986
マウス B6C3F ₁ 雌 4-6週齢 5匹/群	吸入 (全身 暴露)	1,2,3,4週 6時間/日 5日/週	0、2,000、8,000 ppm (0、7,060、 28,240 mg/m ³)	2,000、8,000 ppm: 繊毛性細気管支細胞、非繊毛性細気管支細胞 細胞、終末細気管支細胞は異常なし、AB-PAS で粘液含有細胞に染色性は正常。気管支領域 の組織に肥大、萎縮、壊死、異形化なし。	Kanno et al., 1993
		13, 26, 52, 78週 6時間/日 5日/週	2,000 ppm (7,060 mg/m ³)	肺 type II 細胞の過形成、肺泡/気管支の腫瘍、 気管支/細気管支への炎症細胞の軽度から中 等度の浸潤、気管支/細気管支上皮細胞の粘 液細胞化生	
マウス CD-1 ラット SD ラット F-344	吸入 (全身 暴露)	暴露期間 は濃度と 併記 6時間/日、 5日/週	0 (19日間), 2,500 (18日間), 5,000(19日間), 8,000(7日間) ppm (0、8,800、 17,700、28,200 mg/m ³)	マウス 2,500 ppm: 掻爬行動の亢進(対照群との比較) 5,000 ppm: AST 上昇(雌) 肝臓重量増加(雌) ラット 2,500 ppm: 掻爬行動の亢進(対照群との比較) 5,000 ppm: AST 増加 軽度の麻酔作用、体重の減少(雄)、 肝臓重量の増加	Nitschke et al., 1981

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結果	文献
ハムスター Golden Syrian				8,000 ppm: 麻酔作用、体重の減少 ハムスター 2,500 ppm: 搔爬行動の亢進(対照群に比べた) 5,000 ppm: 肝臓重量の増加(雌)	
ラット Wistar 匹数未記載	吸入 (全身 暴露)	15日 2時間/日	1,000 ppm (3,500 mg/m ³)	体重の減少、肝脂肪の過酸化亢進、脳内ジクロロメタン濃度の上昇、暴露直後の脂肪組織、脳、腎臓、血中濃度上昇	伊藤ら, 1990
ラット Wistar 雄 匹数未記載	吸入 (全身 暴露)	20日(連続)及び 2時間/日	1,000 ppm 可逆的(3,500 mg/m ³)	肝細胞の肥大、脂肪過酸化反応亢進、グルタチオン過酸化酵素活性亢進	竹下ら, 1991
ラット F344 雌雄 5匹/群	吸入 (全身 暴露)	19日 6時間/日	1,625、3,250、 6,500、13,000、 16,000 ppm (5,740、11,500、 22,900、45,900、 56,500 mg/m ³)	6,500 ppm以上: 断続的搔爬、運動失調、活動性亢進 13,000 ppm以上: 呼吸困難、知覚麻痺、死亡	U.S. NTP, 1986
ラット F344	吸入 (全身 暴露)	10日 6時間/日	200、400 ppm (7,100、14,100 mg/m ³)	200、400 ppm: 光学顕微鏡、電子顕微鏡検査で肝臓、肺に変化なし(ごく限局的変化はみられる)	Hext et al., 1986
ラット 系統の記載 なし	吸入 (全身 暴露)	28日 5時間/日	250 ppm (880 mg/m ³)	肝臓への影響なし	Norpoth et al., 1974
ラット SD 雌雄各20匹/ 群	吸入 (全身 暴露)	90日 6時間/日 7日/週	10,000 ppm (35,000 mg/m ³)	血液学検査、臨床化学検査、尿指標、組織学検査 日々の暴露終了後に結膜の発赤が1-10時間継続	Leuschner et al., 1984
ラット F344 雌雄 各10匹/群	吸入 (全身 暴露)	13週 6時間/日 5日/週	0、525、1,050、 2,100、4,200、 8,400 ppm (0、 1,850、3,700、 7,400、14,800、 29,700 mg/m ³)	4,200 ppm以上雌(雄は8,400 ppmのみ) 肝臓の脂肪/肝重量比の有意な減少(雌) 8,400 ppm: 異物性肺炎(4,200 ppmの雌1例にも) 死亡(雌雄各1匹) 体重増加の抑制	U.S. NTP, 1986
ラット F344 雌雄 12匹/群	吸入 (全身 暴露)	13週 6時間/日 5日/週	50、200、2,000 ppm (177、710、 7,100 mg/m ³)	感覚誘発能検査(閃光反応、聴覚脳幹、体性感覚神経、尾神経)、神経病理検査に影響なし	Mattsson et al., 1990
ラット/ 性別、系統 の記載なし 総数20匹 マウス 性別、系統 の記載なし 20匹/群	吸入 (全身 暴露)	100日 24時間/日 7日/週 (低濃度連続)	0、25、100 ppm (0、88、350 mg/m ³)	ラット 25 ppm以上: 肝細胞脂肪染色陽性、軽度肝細胞空胞化 マウス 25 ppm以上: 肝細胞脂肪陽性、軽度肝細胞空胞化、P450濃度の減少 LOAEL 25 ppm	Haun et al., 1972
ラット SD 雌雄 90-108匹/群	吸入 (全身 暴)	2年 6時間/日、 5日/週、	0、50、200、 500 ppm (0、180、700、 1800 mg/m ³)	50、200 ppm: 影響なし(但し、用量依存的なCO-Hb値の上昇) 500 ppm: 雌雄 暴露群で肝細胞空胞化 雌: 暴露群で多核肝細胞の増加 NOAEL 200ppm	Nitschke et al., 1988a
ラット、ウサギ、イヌ、サル、モルモット	吸入 (全身 暴露)	6か月 7時間/日 5日/週	5,000、10,000 ppm (17,700、35,000 mg/m ³)	10,000 ppm: ラット、ウサギ、モルモット、イヌ、サルで中枢神経の抑制、イヌで肝小葉中心性脂肪変性。 5,000 ppm: モルモットで肝中心性脂肪変性、肺炎以外、他種では暴露に関連した変化はなし。	Heppel et al., 1944
イヌ beagle 雌雄 3匹/群	吸入 (全身 暴露)	90日 6時間/日	5,000 ppm (17,700 mg/m ³)	血液検査、臨床生化学検査、尿検査、ECG、循環器検査、組織学検査 暴露期間通期: 軽度の鎮静 各暴露終了後から10時間: 軽度の発赤 死亡なし、その他の毒性兆候なし。	Leuschner et al., 1984

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結果	文献
サル (アカゲザル)	吸入 (全身暴露)	28日	5,000 ppm (17,700 mg/m ³)	CO-Hb値の上昇(24時間暴露後にはヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度赤血球数に変化はなし). 肝細胞の軽度の変化(脂肪変性、空胞化) がみられた	MacEwen et al., 1972; Haun et al., 1972
スナネズミ	吸入 (全身暴露)	3 か月	100 ppm (350 mg/m ³)	脳内神経伝達物質量の減少	Briving et al., 1986
スナネズミ	吸入 (全身暴露)	3か月 (無暴露期 4 か月) 追加)	350 ppm (1,240 mg/m ³)	二種の脳神経膠タンパク濃度の上昇と海馬と小脳のDNA量の減少 神経細胞の減少	Rosengren et al., 1986
マウス B6C3F ₁ 雌雄 20 匹/群	経口 (飲水)	3 か月	0、0.15、0.45、 1.50% (雄:0、226、 587、1911 mg/kg/日、 雌:0、231、586、 2030 mg/kg/日)	死亡率、臨床観察、摂餌量、剖検所見にジクロロメタン投与の影響はみられず。 <u>0.15%以上:</u> 雌 : 網状赤血球数の増加 雌雄: 肝細胞の空胞化(殆どの例で空胞内に脂肪はない) <u>0.45%以上:</u> 雌 : 肝小葉中心性壊死、肉芽巣、セロイド/リポフスチンの蓄積、細胞質の好酸性化 雌雄: 体重の軽度の減少 <u>1.50% (雄 1911, 雌 2030 mg/kg/日):</u> 雌 : 腎臓重量の増加 雌雄 体重の軽度の減少、血糖低下、コレステロール、中性脂肪の低下、尿 pH の低下	Kirschman, 1986
マウス B6C3F ₁ (7 週齢) 雄雌 650/4,350 匹 構成: 対 照 1-雄/雌 60/50 匹、 対照 2-雄/ 雌 65/50 匹、 60 mg/kg - 雄/雌 200/ 100 匹, 125 及 び 185 mg/kg - 雄/雌 100/50 匹、 250 mg/kg - 雄/雌 125/50 匹	経口 (飲水)	104 週	0、60、125、 185、250 mg/kg/日 (2対照群)	250 mg/kg/日: 肝細胞にオイルレッド O 陽性物質の増加、 死亡率、体重増加、摂水量、血液検査への影響なし	Serota et al., 1986b
マウス CD-1 雄 5匹/群	経口 コーン油	14 日	133、333、665 mg/kg/日	<u>133 mg/kg/日以上:</u> PAH(パラアミノ馬尿酸)の腎臓皮質スライスへの取り込み阻害、血清 BUN クレアチニン量 ALT は対照群と同程度。 <u>333 mg/kg/日以上:</u> 肝臓に軽度の空胞変性	Condie et al., 1983
ラット F344 雌雄 20匹/群	経口 (飲水)	3 か月	0、0.15、0.45、 1.50% (雄: 166、420、 1200 mg/kg/日、 雌: 209、607、 1469 mg/kg/日)	<u>0.15%以上:</u> 雄 : ALT 上昇 雌 : ヘモグロビン濃度の上昇 雌雄: 血糖低下、コレステロール、中性脂肪の低下、尿 pH 低下、肝細胞の空胞化 <u>0.45%以上:</u> 雌 : DH 上昇、肝小葉中心性壊死、肉芽巣、セロイド/リポフスチンの蓄積、細胞質の好酸性化 雄 : 体重の軽度の減少 (減少率 6%以内) 雌雄: 血糖低下、肝細胞の空胞化(殆どの例で空胞内には脂肪はない) <u>1.50%:</u>	Kirschman et al., 1986

動物種	投与方 法	投与期間	投与量	結 果	文 献
				雄：肝小葉中心性壊死、肉芽巣、セロイド/ リポフスチンの蓄積、細胞質の好酸性 化 雌：AST 上昇、LDH 上昇、腎臓重量の増加、 体重の軽度の減少 雌雄：ヘモグロビン濃度の上昇、血清タンパク の低下、赤血球数の増加(平均赤血球ヘ モグロビン濃度の低下を伴う) LOAEL:166 mg/kg/日	
ラット Wistar 30 匹/群	経口 (飲水)	13 週	0、125 mg/L	体重増加、行動への影響なし。血液検査、生 化学(血糖、中性脂肪)、尿検査に異常はなか った(雄のみで実施した)。性周期(膣スミア) は正常であった。下垂体、副腎、卵巣重量は 対照群と同等、下垂体、副腎、卵巣、精巣、心 臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、膀胱、胃、腸の組 織学検査で影響なし	Bornmann & Loeser, 1967
ラット Fischer 344 7 週齢 雌雄 各 85/群 第 2 対照 群は雌雄 各 50/群 回復試験 群として 78 週 250 mg/kg/日 投与+26 週 回復 雌雄各 25 匹 /群	経口 (飲 水)	104 週 [78 週目 解剖グル ープ(雌 雄各 20/ 群) 設置 250 mg /kg/ 日 の み 26、52、 78 週に中 間屠殺]	0、5、50、125、 250 mg/kg/日 (2 対照群)	50 mg/kg/日以上: 雌雄: ヘマトクリット値、 ヘモグロビン量、赤血球数の増加、肝細 胞の変異細胞(巣/領域) 125 mg/kg/日以上: 雌雄: 低い体重及び体重 増加抑制、低い摂水量/摂餌量 250 mg/kg/日: 雌雄 ALP、クレアチニン、血清尿素窒素、総タ ンパク、コレステロール各値の低下。 死亡率、臨床症状、眼底検査、尿検査、器官 重量への影響はなし NOAEL 5 mg/kg/日 (本評価書の判断)	Serota et al., 1986a
ラット SD 正常血圧/ 高血圧動物 総数27匹	皮下	17 週 2 日/週	2,000 mg/kg	高血圧ラット 収縮期血圧の低下 肺と肝臓の極軽度の変化 正常血圧ラット 影響なし	Loyke, 1973

7.3.5 生殖・発生毒性

ジクロロメタンの生殖・発生毒性試験結果を表 7-5 に示す。

a. 生殖毒性

一群雌雄 30 匹のラット (F344, F₀) に 0、100、500、1,500 ppm (0、350、1,770、5,300 mg/m³) のジクロロメタンを 14 週間 (1 日 6 時間、5 日/週) 吸入暴露後、交尾させて生まれた児(F₁) の雌雄 30 匹を選択し、17 週間ジクロロメタンを暴露し、交尾させ F₂ を得た。受精能、1 母動物あたりの産児数、児の成育状況、生存率を検査し、組織病理学的検索を行った。F₀、F₁ (親として)、F₁、F₂ (児として) いずれに最高暴露濃度 (1,500 ppm) まで異常はみられなかった (Nitschke et al., 1988b)。

ラット (系統不明) に 125 mg/L の濃度で交尾前 13 週間飲水投与した試験で、雌の受胎率、産児数、産児の 4 週間生存率、胚の生死への影響はみられなかった (Bornmann and Loeser, 1967)。

b. 発生毒性

SD ラットあるいは Swiss マウスを用い、妊娠 6-15 日目にジクロロメタン 1,250 ppm (4,400 mg/m³) の濃度で吸入暴露した試験で、ラット及びマウスの母親には CO-Hb 値の増加、肝臓重量の増加がみられ、ラットの胎児では腎盂の拡張増加、胸骨化骨遅延、マウスの胎児では過剰胸骨がみられたが、奇形発現数の増加は認められなかった (Schwetz et al., 1975)。

LE ラットを用い、妊娠 0-17 日目 (妊娠前暴露約 21 間を含む) にジクロロメタン 4,500 ppm (16,250 mg/m³) の濃度で吸入暴露した試験で、胎児の異常はみられなかった (Hardin and Manson, 1980)。

ラットで、母動物の体重抑制が見られる用量で妊娠 6-15 日に強制経口投与した場合にも児に対する影響はみられなかった (Narotsky et al., 1992)。

LE ラットにジクロロメタンを妊娠 0-17 日目 (妊娠前暴露 12 ないし 14 日間を含む) に、4,500 ppm (16,250 mg/m³) の濃度で吸入暴露した試験で、生後 10 日齢以後の雌雄に従来の生育環境から移動させた場合の習慣性行動の変化など一般活動性の変化がみられた。児の雄(F₁) では 150 日までも一般活動性の変化がみられた。これはジクロロメタンの直接的な影響とはいえないが、母(F₀) の CO-Hb 値、ジクロロメタン濃度の上昇が児 (F₁) に作用した可能性が指摘されている (Bornschein et al., 1980)。

Wistar ラットで、妊娠 0-20 日目にジクロロメタンを 0、0.04、0.4、4.0% (0-20 日の総摂取量: 0、134、1,394、13,626 mg) の濃度で混餌投与した試験で、4.0%群で母(F₀) の体重増加の抑制がみられたが、児(F₁) には奇形の発現はなかった (西尾ら, 1984)。

以上、ジクロロメタンの生殖・発生毒性試験が数多く報告されているが、いずれの報告でも影響はみられていない。

表 7-5 ジクロロメタンの生殖・発生毒性試験結果

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文献
生殖器官への毒性					
マウス	吸入(全身暴露)	102 週 6 時間/日, 5 日/週	0、2,000、4,000 ppm (0、7,100、 14,100 mg/m ³)	2,000、4,000 ppm : 精巣萎縮 発現率(対照: 0%、2,000 ppm: 8%、4,000 ppm : 62%) 卵巣萎縮 発現率(対照: 12%、2,000 ppm: 60%、4,000 ppm : 74%) 4,000 ppm: 子宮萎縮 発現率(対照: 0%、2,000 ppm: 2%、4,000 ppm : 17%)	U.S. NTP(1986)
生殖毒性					
ラット F-344(F ₀) 雌雄 1 群 30匹 6週齢	吸入(全身暴露)	F ₀ への暴露: 交尾前暴露 14 週、6時間/日、 5日/週 各群F ₁ への暴 露: F1雌雄ラ ット30匹のラン ダム選択後 交尾前暴露 17 週間、6時間/日、 5日/週 F ₂ への暴露: なし(検査観 察のみ)	0、100、500、 1,500 ppm (0、350、1,770、 5,300 mg/m ³)	受精能、産児数、産児の成育、産児の 生存、親の肉眼的病理検査 受精能、児のサイズと成長、生存率を 調べ、一部の児については組織病理学 的検索実施。 親としてのF ₀ 、F ₁ 、児としてのF ₁ 、 F ₂ ともに異常所見なし、 1500 ppmまで繁殖性への影響なし	Nitschke et al., 1988b

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文 献
ラット	飲水	交尾前13週	125 mg/L(体重当たりの投与量不明)	繁殖指数、産児数、産児の4週間生存、吸収胚の増加なし	Bornmann & Loeser, 1967
発生毒性					
マウス Swiss-Webster	吸入(全身暴露)	10日(妊娠6~15日) 7時間/日	0、1,250 ppm (0、4,400 mg/m ³)	母: 肝臓重量の増加、CO-Hb 値の増加(3, 10 日目)-10 日目の暴露終了 24 時間後には対照と同レベル 児: 過剰胸骨個体増加 発生毒性なし	Schwetz et al., 1975
ラット SD				母: 肝臓重量の増加、CO-Hb 値の増加(3, 10 日目): 10 日目の暴露終了 24 時間後には対照と同レベル 児: 腎盂の拡張個体増加、胸骨化骨遅延個体増加。 発生毒性なし。	
ラット Long-Evans	吸入(全身暴露)	妊娠0~17日(妊娠前暴露12~14日), 6時間/日	0、4,500 ppm (16,000 mg/m ³)	体重の減少 死亡胎児・吸収胚・骨格奇形・内臓奇形の増加なし	Hardin & Manson, 1980
ラット Long-Evans	吸入(全身暴露)	妊娠0~17日(妊娠前暴露約21日)	4,500 ppm (16,250 mg/m ³)	体重増加、摂餌・摂水量・輪回し行動・回避行動の学習への影響なし 雌雄 F ₁ 10 日齢以後の活動性の変化。 (雄 F ₁ では 150 日まで継続)。 ジクロロメタンの直接的影響とは考えられないが、母(F ₀) のカルボキシヘモグロビン、ジクロロメタン濃度の上昇に起因した可能性あり	Bornschein et al., 1980.
ラット F-344 使用動物数の記載なし	経口 媒体: コーン油	妊娠6~15日	母動物に対する毒性発現のため高用量を選択(用量記載なし)	母動物の体重増加抑制(軽度) がみられたが児への影響はなし	Narotsky et al., 1992 (学会抄録)
ラット Wistar	混餌	妊娠0~20日 新生児は出産20日目に解剖 新生児の成育を産後8週間まで観察	0、0.04、0.4、4.0% (0~20日の総摂取量: 0、134、1,394、13,626 mg)	母: 0.04、0.4%: 影響なし 4.0%: 体重増加の有意な抑制 児: 4.0%: 20 日目の雌胎児の体重低下 いずれの群でも奇形(骨格・内臓) の発現なし、化骨遅延・腎盂拡張なし	西尾ら, 1984
ラット SD 妊娠10.5日の胎児	器官(胚培養)液に添加	受精10.5日の胎児(12~15 somite期)に暴露開始 暴露時間: 1、2、4、8、16、32、40時間	3.46、6.54、9.79、11.88 M/mL:	6.54 μ M/mL: 卵黄囊には明らかな影響のない、胚発育の遅延 11.88 μ M/mL: 卵黄囊の血管発育の遅延、胚発育と発達の重度の遅延 発育程度を観察: 頭/臀間距離の測定 このNOELと、ヒトの暴露後の死亡例での血液中濃度の文献値、6 μ M/mL (Bonbebtre et al., 1977)、3.51 μ M/mL (Winek et al.(1981))、6.73と7.08 μ M/mL (Manno et al.(1992)) を比較すると、母胎が死亡する暴露レベルに相当し、ヒトでの生殖毒性はほとんど発現しないと結論できる。	Brown-Woodman et al., 1998

7.3.6 遺伝毒性

ジクロロメタンの遺伝毒性試験結果を表 7-6に、また、遺伝毒性の発現メカニズムに関する試験結果を表 7-7 に示す。

in vitro 試験では、ネズミチフス菌又は大腸菌による復帰突然変異試験において、ガス状ジクロロメタン暴露の条件下で S9 添加及び不添加にかかわらず陽性結果を示している (Barber et al., 1980; Dillon et al., 1992; Gocke et al., 1981; Green, 1983; Jongen et al., 1982; Longstaff et al., 1984; McGregor, 1979; Nestmann et al., 1980; Rapson et al., 1980; Simmon et al., 1977; Zeiger et al.,

1990)。ネズミチフス菌 TA100 株とそのグルタチオン欠損株 (TA100/NG -11) を用いて行われた実験で突然変異の誘発がグルタチオン依存性であったため、ジクロロメタンのグルタチオン抱合体に変異原活性があることが示唆されている (Graves et al., 1994a)。*S. cerevisiae* や *A. nidulans* を用いた体細胞組換え試験で陽性の結果が報告されている (Callen et al., 1980; Crebelli et al., 1988, 1992)。

哺乳動物の培養細胞を用いた試験では、マウスリンフォーマ細胞やチャイニーズハムスターの細胞等による遺伝子突然変異試験の結果は陰性を示し、ラットの初代培養肝細胞やヒトリンパ球等を用いた不定期 DNA 合成試験の結果も陰性である (Andrae and Wolff, 1983; Jongen et al., 1981; Perocco and Prodi, 1981; Thilagar et al., 1984a,b; Trueman et al., 1987)。チャイニーズハムスターの培養細胞による細胞遺伝学的試験で小核の誘発は認められず (Gu and Wang, 1988)、姉妹染色分体交換について陰性であるが (Anderson et al., 1990; Jongen et al., 1981; Thilagar and Kumaroo, 1983; Thilagar et al., 1984a)、染色体異常について陽性の結果が示されている (Thilagar and Kumaroo, 1983; Thilagar et al., 1984 a,b)。マウスの BALB/c3T3 や C3H/10T1/2 による形質転換試験では陰性の結果であるが (Price et al., 1978; Thilagar et al., 1984a)、シリアンハムスターの胎児細胞を用いた場合には形質転換がみられている (Hatch et al., 1983)。DNA への結合性については、チャイニーズハムスターの CHO 細胞を本物質に暴露した実験で、別にマウス肝臓をミクロソームと細胞質 (S100) に分画し、細胞質分画を添加した場合のみ、DNA 一本鎖切断がみられた。この所見は、DNA 一本鎖切断には、グルタチオン-S-転移酵素による代謝を受けて生成するグルタチオン抱合体が関与していることを示唆している。また、マウス、ラット、ハムスター及びヒトの肝細胞をジクロロメタンで処理すると、マウス及びラットの肝細胞で DNA 一本鎖切断が観察されるが、ジクロロメタンの濃度がマウスでは 0.4 mM であるのに対しラットでは 30 mM と高濃度であることが報告されている (Graves et al., 1994b, 1995, 1996)。さらに、マウス、ラット、ハムスター及びヒトの肝細胞にジクロロメタンを 10,000 ppm 以上の濃度 (5mM) で暴露した後、DNA-たん白複合体形成、DNA 一本鎖切断、RNA-HCHO 付加物 (RFA) の産生を調べる実験で、DNA-タンパク複合体はマウス肝細胞でのみ検出され、RFA はマウスでの生成量に比べラットは 1/4、ハムスターは 1/14、ヒトは 1/7 を示し、その生成量はグルタチオン-S-転移酵素の T1 遺伝子や M1 遺伝子によって支配されていると考えられる。しかし、T1 遺伝子が小規模ながら存在する場合には HCHO への代謝経路は存在し、DNA タンパク複合体が生じる可能性があると考えられている (Casanova et al., 1997)。

in vivo 試験では、マウスへの腹腔内、皮下投与では骨髄細胞に染色体異常の誘発はみられていないが (Allen et al., 1990; Westbrook-Collins et al., 1988, 1989, 1990)、吸入暴露では骨髄細胞及び肺細胞で軽度の染色体異常が観察されている (Allen et al., 1990; Westbrook-Collins et al., 1989, 1990)。なお、ラットへの吸入暴露では骨髄細胞に染色体異常はみられていない (Burek et al., 1984)。マウスによる小核試験において、経口投与では骨髄細胞に小核の誘発は認められないが (Sheldon et al., 1987)、吸入暴露した場合に末梢血の赤血球で小核の誘発頻度に軽度な上昇がみられている (Allen et al., 1990; Westbrook-Collins et al., 1988, 1989)。マウスによる優性致死試験の結果は陰性であった (Raje et al., 1988)。ショウジョウバエを用いた試験として、伴性劣性致死試験、体細胞変異試験、遺伝子組換え試験の報告があるが、いずれも陰性の結果を示している (Kramers et al., 1991)。

DNA との結合性に関しては、ホルムアルデヒド捕獲剤添加で DNA-タンパク複合体の形成は抑制されたが、DNA 一本鎖切断は発現した。マウスをグルタチオン枯渇剤(ブチオニンスルフォキシミン)で前処理すると、DNA 障害のレベルが下がった。これらの結果から、DNA-タンパク複合体形成にはホルムアルデヒドが関与し、DNA 一本鎖切断にはグルタチオン抱合体が関与していることが報告されている (Graves et al., 1994b; Graves et al., 1995, 1996)。

表 7-6 ジクロロメタンの遺伝毒性試験結果

	試験名	試験材料	処理条件	用量	結果 1)	文献
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	ネズミチフス菌 TA100, TA98	±30%ラット又はハムスター肝臓 S9 蒸気暴露-デシケーター法	0.1-1.0mL/暴露室	+	Zeiger et al., 1990
		ネズミチフス菌 TA100, TA1535	ND	ND	+	Nestmann et al., 1980
		ネズミチフス菌 TA1535, TA100, TA1538, TA98, TA1537	±S9	最大 750 μ L/デシケーター(9L)	+	Gocke et al., 1981
		ネズミチフス菌 TA100	±S9	0-1.4%	+	Jongen et al., 1982
		ネズミチフス菌 TA100, 100gsh (glutathione deficient)	±S9 蒸気暴露	0-5% 2, 4, 6, 48 時間	+	Dillon et al., 1992
		ネズミチフス菌 TA100	S9	2.8% v/v	+	Green, 1983
		ネズミチフス菌 TA100	-S9 蒸気暴露	0, 50-800 μ L/デシケーター(9L) (約 18-318 mg/m ³) 7 時間	+	Simmon et al., 1977
		ネズミチフス菌 TA98, TA100	±S9 蒸気暴露	0, 20, 100-201,000 mg/m ³ (5 濃度) 48 時間	+	Jongen et al., 1978
		ネズミチフス菌 TA98, TA100	±S9 蒸気暴露	0, 125, 250, 500, 750 μ L/デシケーター(9L) (0-293 mg/m ³) 8 時間	+	Rapson et al., 1980
		ネズミチフス菌 TA100	±S9 蒸気暴露	0, 28,000, 50,000, 8,4000 ppm(0, 98,800, 177, 000, 297,000 mg/m ³) 3 日間 ②トル	+	Green, 1983
		ネズミチフス菌 TA 1535	蒸気暴露	0, 7,000, 12,000, 23,000, 46,000, 94,000 ppm(0, 24,700, 42,400, 81,200, 162,400, 331,800 mg/m ³): ジクロロメタンの凝集物が寒天平板上にみられた	+	McGregor, 1979
		ネズミチフス菌 TA1535, TA98, TA100	±S9 蒸気暴露	0, 38, 76, 96, 115 μ M/plate (0-38,500 mg/m ³ 蒸気ガス気密暴露室)	+	Barber et al., 1980
		ネズミチフス菌 TA1535, TA100	+S9 蒸気暴露	濃度範囲の記載なし; 72 時間	+	Longstaff et al., 1984

試験名	試験材料	処理条件	用量	結果 1)	文献
	大腸菌 WP2uvrA,pKM101	±S9 蒸気暴露	0-5% r 2, 4, 6, 48 時間	+	Dillon et al., 1992
	ネズミチフス菌 TA1535, TA1537, TA1538, TA98, TA100	蒸気暴露	0.5ml/デシケーター (容積不詳)	-	Nestmann et al., 1980
	ネズミチフス菌 TA100, TA1535, TA1537, TA97, TA98	± 10%又は 30% ラット又はハム スター肝臓 S9	100-10,000 µ g/ plate	-	Zeiger et al., 1990
	ネズミチフス菌 TA1535, TA1537, TA1538, TA98, TA100	± S9 plate-incorporatio n assay	最大 26 mg /plate, DMSO に溶解	-	Nestmann et al., 1980
	ネズミチフス菌 TA100	plate-incorporatio n assay	0.1-1000 µ g /plate (5 濃度), 1 plate/濃 度	-	Rapson et al., 1980
遺伝子突然変 異試験	チャイニーズハ ムスター細胞	6-チオウラシル に対する前進変 異	0.5-5% v/v	-	Jongen et al., 1981
	上皮細胞 (V79)	-S9	0、10,000-40,000 ppm (0、35,000 -141,000 mg/m ³) (4 濃度 1 時間): 観察は 6 日後	-	
	マウスリンフ ォーマ細胞 L5178Y	ND	ND	-	Thilagar et al., 1984 a,b
	HGPRT-deficient V79 チャイニー ズハムスター肺 細胞	ND	0-4%	-	Jongen et al., 1981
	マウスリンフ ォーマ細胞 L5178Y	±S9	0-3000 µ L/ml	±	Myhr et al., 1990
	真菌類 サッカロミセス セレビスエビ シエ D7	ND	0-209mM	+	Callen et al., 1980
	真菌類 アスペルギルス ニズランス ディプロイド P1	ND	0-0.8% v/v	+	Crebelli et al., 1988, 1992
不定期 DNA 合成試験	ラット 初代肝細胞	ND	ND	-	Trueman et al., 1987
	ヒトリンパ球	±S9	2.5-10.0 µ L/ml	-	Perocco & Prodi, 1981
	チャイニーズハ ムスター V79 細胞	ND	0-5%	-	Jongen et al., 1981
	ラット 初代肝培養細胞	ND	0.7-16.0 mM	-	Andrae & Wolff, 1983
	ラット初代肝培 養細胞	ND	ND	±	Thilagar et al., 1984a
姉妹染色分体 交換試験	チャイニーズハ ムスターCHO 細 胞	±S9	0-5000 µ g/ml	-	Anderson et al., 1990
	チャイニーズハ ムスターCHO 細 胞	±S9	0-15 µ L/ml	-	Thilagar & Kumaroo , 1983
	チャイニーズハ ムスター V79 細 胞	ND	0-4%	±	Jongen et al., 1981

	試験名	試験材料	処理条件	用量	結果 1)	文献
	染色体異常試験	ヒト末梢リンパ細胞、CHO 細胞、マウスリンフォーマ L5178Y 細胞	ND	ND	+	Thilagar et al., 1984 a,b
		ヒト末梢リンパ球、CHO 細胞、マウスリンフォーマ細胞 L5178Y	ND	ND	+	Thilagar et al., 1984 a,b
		チャイニーズハムスター CHO 細胞	±S9	0-15 μ L/ml	+	Thilagar & Kumaroo, 1983
		チャイニーズハムスターCHO 細胞	±S9	0-5000 μ g/ml	-	Anderson et al., 1990
	小核試験	チャイニーズハムスターV79 細胞	ND	ND	-	Gu & Wang, 1988
	形質転換試験	マウス BALB/C-3T3	ND	0.01%	-	Price et al., 1978
		マウス C3H-10T1/2 CL8	ND	ND	-	Thilagar et al., 1984 a
		シリアンハムスター初代胚細胞	ND	0.5 ml/4.6 L 暴露室	-	Hatch et al., 1983
	<i>in vivo</i>	染色体異常試験	マウス C57BL/6 雄 骨髓細胞	ND	i.p.: 0-2,000 mg/kg	-
マウス B6C3F ₁ 雌 骨髓細胞			ND	s.c.: 2500、5000 mg/kg	-	Westbrook-Collins et al., 1989 Allen et al., 1990
マウス B6C3F ₁ 雌 骨髓細胞			吸入	4,000、8,000 ppm (14 100、28,200 mg/m ³) 10 日間	±	Westbrook-Collins et al., 1989; Allen et al., 1990
ラット骨髓細胞			吸入	500、1,000、3,500 ppm (1770、3500、12,400 mg/m ³) 6h/d, 5d/w, 6 か月間暴露	-	Burek et al., 1984
マウス C57BL/6 雄 骨髓細胞			ND	i.p: 0-2000 mg/kg	-	Westbrook-Collins et al., 1988; Westbrook-Collins et al., 1990
マウス B6C3F ₁ 雌 骨髓細胞			ND	s.c.: 2500、5000 mg/kg	-	Westbrook-Collins et al., 1989; Allen et al., 1990
マウス B6C3F ₁ 雌 肺細胞 梢血リンパ細胞			吸入	4,000、8,000 ppm (14,100、28,200 mg/m ³) 10 日間暴露	±	Westbrook-Collins et al., 1989; Allen et al., 1990

	試験名	試験材料	処理条件	用量	結果 1)	文献
		マウス B6C3F ₁ 雌 肺細胞	吸入	2,000 ppm (7,100 mg/m ³) 3 か月間暴露	±	Westbrook- Collins et al., 1989; Allen et al., 1990
	小核試験	マウス B6C3F ₁ 雌 末梢赤血球	吸入	4,000、8,000 ppm (14,100、28,200 mg/m ³) 10 日間暴露	±	Westbrook- Collins et al., 1989; Allen et al., 1990
		マウス B6C3F ₁ 雌 末梢赤血球	吸入	2,000 ppm (7,100 mg/m ³) 3 か月間暴露	±	Westbrook- Collins et al., 1988; Allen et al., 1990
		マウス C57BL/6 骨髄細胞	経口 (コーン油)	最大 4 g/kg	—	Sheldon et al., 1987
		不定期 DNA 合成試験	ラット Alpk 雄 肝細胞	経口	100、500、1000 mg/kg 投与後 4、12 時間目 にオートラジオ グラフィ	—
		マウス B6C3F ₁ 雄 肝細胞	経口 (コーン油)	100 mg/kg	—	Lefevre & Ashby, 1989
		ラット Fischer-344 雄, マウス B6C3F ₁ 雄 肝細胞	吸入	2,000、4,000 ppm (7,100、14,100 mg/m ³) 2 又は 6 時間暴 露	—	Trueman & Ashby, 1987
		マウス B6C3F ₁ 雄 肝細胞	吸入	4,000 ppm mg/m ³ 2 時間暴露	—	Lefevre & Ashby, 1989
	優性致死試験	マウス Swiss-Webster 雄	皮下 (コーン油)	5 ml/kg 5% 又は 10% 3 日/週 4 週間暴露	—	Raje et al., 1988
			吸入	350、530、710 mg/m ³ , 2 時間/日、5 日/週、 6 週間暴露	— 組織学的 病変なし	Basso et al., 1987 Raje et al., 1988
	伴性劣性致死 試験 体細胞変異 試験 遺伝子組み替 え試験	ショウジョウバ エ Berlin K、Basc	ND	0-14,260 mg/m ³ 6 時間、1 又は 2 週 間	—	Kramers et al., 1991
	Basc 試験	ショウジョウバ エ Berlin K、Basc	ND	125, 620 mM	+ 劣性致死 の頻度増 加	Gocke et al., 1981

1)+: 陽性、-: 陰性、±: 不明確又は未決定
ND: データなし

表 7-7 ジクロロメタンの遺伝毒性メカニズム試験結果

試験・試験材料		結果		文献
復帰突然変異試験	ネズミチフス菌 TA100 (野生株) TA100/NG-11 (グルタチオン 欠損 90%)	±S9 蒸気暴露	TA100 は TA100/NG-11 に比較しジクロロメタン暴露で 2 倍の変異発生 (1 mM のグルタチオン含有寒天平板上ではこの差はなし) TA100 はホルムアルデヒドに感受性がないため、サルモネラの遺伝子障害物質は、GSH 抱合体 (S-クロロメチルグルタチオン) と推定	Graves et al., 1994a
復帰突然変異試験/ 細胞致死試験	大腸菌 K12 (野生株) uvrA (DNA 修復能欠損株) recA/uvrA (DNA 修復能欠損株)		K12: マウス肝S9添加のみ+ uvrA, recA/uvrA: 細胞致死作用 結論: 細胞致死作用は代謝産物ホルムアルデヒドに起因。 ラット肝 S9 添加により遺伝子障害性/細胞死滅作用消失	
B6C3F ₁ マウス、 SG ハムスター	¹⁴ C で標識したジクロロメタンを暴露	¹⁴ C -ホルムアルデヒドと DNA の crosslink を測定し、マウスの肝臓でのみ DNA-protein crosslink 検出	Casanova et al., 1992	
F344 ラット、 B6C3F ₁ マウス、 SG ハムスター、 ヒト (3 例) の遊離肝細胞	ジクロロメタン 10,000 ppm (5mM) 以上の濃度で暴露し、DNA タンパク複合体 (DPX) 形成、RNA-HCHO 付加物 (RFA) の生成を測定	DPX は B6C3F ₁ マウス肝細胞でのみ検出され、F344 ラット、SD ラット、SG ハムスター、ヒト肝細胞では暴露濃度換算 10,000 ppm でも検出されず。 RFA は GSTT1 遺伝子や GSTM1 遺伝子が欠損していない動物では検出され、マウスでの RFA の産生量に比べると、同じ暴露濃度ではラットで 1/4 倍、ヒトで 1/7 倍、ハムスターで 1/14 倍	Casanova et al., 1997	
肝細胞 DNA 一本鎖 切断試験	マウス (B6C3F ₁) 雄及びラット (Alpk) 雄の肝細胞 CHO 細胞 マウス B6C3F ₁ .	ジクロロメタン添加による DNA 一本鎖切断発現濃度: マウス肝細胞 0.4 mM、ラット肝細胞 30mM。ラット肝細胞で高濃度ホルムアルデヒド添加でも DNA 一本鎖切断が発現するが、ジクロロメタンが代謝されて発生するホルムアルデヒドの量程度では DNA 一本鎖切断は発現しない。 ハムスター肝細胞/ヒト肝細胞にジクロロメタン 5 ~ 90 mM 添加では DNA 一本鎖切断発現せず。 GSH 枯渇剤 (ブチオニンスルフォキシミン) 前処理マウス: DNA 障害程度の低減。 CHO 細胞を用いた DNA 損傷試験: ジクロロメタンとマウス肝画分 (S9) 添加により DNA 一本鎖切断と DNA タンパク複合体発現。 肝画分分離 (マイクロゾーム画分、細胞質画分 (S100 画分)): 細胞質画分でのみ DNA 障害が発生 (GST 経路の関与を示唆)。 ホルムアルデヒド捕獲剤 (セミカルバジド) によるホルムアルデヒドと GSH 抱合体の作用の分離: DNA タンパク複合体の形成は捕獲剤添加で抑制、DNA 一本鎖切断は発現。 ホルムアルデヒド添加で濃度依存的 (0.125 ~ 0.25mM) DNA 一本鎖切断発生。 0.5mM 以上で DNA タンパク複合体の形成。 結論: GSH ₂ Cl が DNA 損傷性 (DNA 一本鎖切断) に関与、ホルムアルデヒドが DNA タンパク複合体形成に関与	Graves et al., 1994b; Graves et al., 1995; Graves et al., 1996	
ヒト ボランティア	血液採取 PCR とサザンプロット法を用いた GSTT 遺伝子の測定	ヒトの θ クラス GSTT をエンコードする cDNA シーケンスの 82% がラットの θ クラス rGSTT1-1 と共通。GSTT1 の cDNA をクローニングし、ヒトの 38% は θ クラス GSTT 遺伝子は欠損していること、GSTT1 遺伝子欠損者とジクロロメタン代謝の表現型は一致することを確認。	Pemble et al., 1994	

7.3.7 発がん性

ジクロロメタンの発がん性試験結果を表 7-8 に示す。

a. 吸入暴露

雌雄各 1 群 50 匹 (投与開始時 8-9 週齢) の B6C3F₁ マウスに、0、2,000、4,000 ppm のジクロロメタンを 102 週間吸入暴露 (6 時間/日、5 日/週) した実験で、雌雄ともに肺・肝臓の発がんによる寿命の短縮が観察された。0 (対照)、2,000 及び 4,000 ppm の各暴露群で、肺胞・気管支がんはそれぞれ雄で 2 例 (4%)、10 例 (20%) 及び 28 例 (56%)、雌で 1 例 (2%)、13 例 (27%)、29 例 (60%) と用量依存的な発生の増加がみとめられ、肺胞及び気管支腺腫がそれぞれ雄で 3 例 (6%)、19 例 (38%) 及び 24 例 (48%)、雌で 2 例 (4%)、23 例 (48%) 及び 28 例 (58%)、肝細胞変性が雄で 0 (0%)、0 (0%)、22 例 (45%) 及び雌で 0 (0%)、23 例 (48%)、21 例 (44%) の発生が見られた。肝細胞腺腫または肝細胞がんの発生はそれぞれ雄で 22 例 (44%)、24 例 (49%) 及び 33 例 (67%)、雌で 3 例 (6%)、16 例 (33%) 及び 40 例 (83%) であった。また、暴露群では肺、肝臓ともに発生個体あたりのがん発生総数の増加がみられた (U.S. NTP, 1986)。

雌雄各 1 群 50 匹 (投与開始時 7~8 週齢) の F344/N ラット (雌雄各 50 匹/群) に 0、1,000、2,000、4,000 ppm のジクロロメタンを 102 週間吸入暴露 (6 時間/日、5 日/週) した実験で、乳腺の腺腫及び線維腺腫が雌雄で用量依存的に増加 (雄: 0/50、0/50、2/50、5/50、雌: 5/50、11/50、13/50、23/50) し、乳腺周辺の皮下の線維腫、線維肉腫(雄のみ)も増加した。雌で肝臓の腫瘍結節及び肝細胞がんがやや増加傾向 (対照群、1,000、2,000、4,000 ppm それぞれ 2/50、1/50、4/50、5/50) にあったが、雄ではこの傾向はなかった。なお対照群を含む全群の雄で、暴露期間終了時の雄の生存率が (対照群、1,000、2,000、4,000 ppm それぞれ 16/50、16/50、17/50、9/50) と低く、多くの死亡は暴露期間終了前 16 週以内に発生した。この試験で死亡率が高かったのは、対照群を含めて高率で発生 [雄: 対照群: 68% (34/50)、1,000 ppm 群: 52% (26/50)、2,000 ppm 群: 64% (32/50)、4,000 ppm 群: 70% (35/50)、雌: 対照群: 34% (17/50)、1,000 ppm 群: 34% (17/50)、2,000 ppm 群: 46% (23/50)、4,000 ppm 群: 46% (23/50)] した単核球性白血病のためと考えられた (U.S. NTP, 1986)。U.S. NTP が実施した試験の単核球性白血病の自然発生率は、雄では 26.5% (458/1,727)、雌では 17.3% (307/1,772) であった (U.S. NTP, 1986)。

雌雄 SD ラットに 0、50、200、500 ppm のジクロロメタンを 2 年間 (6 時間/日、5 日/週) 暴露した実験で、500 ppm 群で雌雄に肝細胞空胞化、雌で多核肝細胞の増加がみられ、良性乳腺腫瘍は自然発生率と同程度の発生がみられた。なお、悪性腫瘍は観察されなかった (Nitschke et al., 1988 a)。

ジクロロメタンによる肺及び肝臓がんの発がんメカニズムを追求する目的で、雌 B6C3F₁ マウス 1400 匹に 2,000 ppm のジクロロメタンを 6 時間/日、5 日/週、最長 104 週間吸入暴露実験を実施した。暴露マウスの 104 週間後の肺腺腫、肺がん、肝臓腺腫及び肝臓がんの発生率は、それぞれ 26.9%、46.3%、35.5% 及び 51.5% で、対照群のマウスでの発生率はそれぞれ 1.5%、6%、12% 及び 16% よりいずれも有意に高率であった (Maronpot et al., 1995)。

雌 B6C3F₁ マウス 364 匹/群に 0、2,000 ppm のジクロロメタンを 6 時間/日、5 日/週の割合で 104 週間全身吸入暴露した実験で、肺胞/細気管支及び肝細胞の腺腫、がんの発生数の増加がみられ、暴露開始 1 年以内では肝臓の増殖性病変がみられたが肺の病変はみられなかった。暴露開始 1 年以後から肺胞/細気管支の腺腫、がんの発生数が徐々に増加した。暴露開始 1 年以後肝

腫瘍の発生率は比較的一定 (40~60%) である。腫瘍発生動物数は経時的に増加した (Kari et al., 1993)。

またこの試験とは別に、雌 B6C3F₁ マウス 68 匹/群に 0、2,000 ppm のジクロロメタンを 6 時間/日、5 日/週の割合で全身吸入暴露した実験で、ジクロロメタンの吸入暴露期間に加えて、その前又は後にジクロロメタンを含まない空気の吸入期間を設置し、両期間を合わせた 2 年間を実験期間とした。すなわち、この 2 年間の前半に 26、52、78、104 週間のジクロロメタン暴露を行った (実際は 104 週間暴露群には空気のみ吸入期間はない) 試験区を設定し、この試験区とは別に別に後半にジクロロメタン暴露を同様に行った試験区を設定した。短期間 (26 週間) の暴露で十分肺がんが発生したことにより、ジクロロメタンが早期かつ持続的に肺細胞の成長制御機構を破壊することが示唆され、一方、肝臓がんでは暴露が長くなるにつれて発生率が高くなったことから、ジクロロメタンへの継続的暴露は肝臓の発がんを促進することが示唆された。ジクロロメタンは肝臓がんより肺がんの強い誘導物質であり、発がん性に関するリスクアセスメントを実施する際には、肺がん発生データのを使用することが望ましいとしている (Kari et al., 1993)。

雌雄 SD ラット 1,032 匹及び雌雄 SG ハムスター 866 匹に 0、500、1,500 及び 3,500 ppm のジクロロメタンを 2 年間 (6 時間/日、5 日/週) 吸入全身暴露した実験で、雌雄ラットともに、発生した腫瘍の総数が暴露用量に応じて増加し (雄: 8/92、6/95、11/95 及び 17/97、雌: 165/96、218/95、245/96 及び 287/97)、良性乳腺腫瘍の発生率の上昇はなかった (雄: 7/92、3/95、7/95、14/97、雌: 79/96、81/95、80/96、83/97)。また、暴露開始初期の 2 か月間、雌雄ラットのすべてのジクロロメタン暴露群でも、唾液腺及び鼻涙腺の重篤な限局性炎症と壊死を伴ったラット SDA ウイルスによる唾液腺と涙腺炎が発生した。ハムスターでは、CO-Hb 値が用量依存的に上昇した以外は明確な影響はなかった (Burek et al., 1984)。

b. 経口投与

F344 ラットに反復投与毒性及び発がん性を検査する目的で、雌雄各 500 匹を 0、5、50、125、250 mg/kg (2 対照群、ジクロロメタン投与 4 群の計 6 群) のジクロロメタンを 104 週間水に混合して強制経口投与した。250 mg/kg の用量では別にジクロロメタンを 78 週間投与群 (この群には 26 週毎の検査のために屠殺する衛星群及び 26 週間回復群を置く) を設置した。50 及び 250 mg/kg 投与群の雌で肝臓腫瘍の発生は自然発生率の範囲内であった。体重への影響、飲水量や摂餌量の減少が 50 mg/kg 以上の群で観察された (Serota et al., 1986a)。

B6C3F₁ マウス雌雄各 1,000 匹を 6 群に分け、0、60、125、185、250 mg/kg (2 対照群、ジクロロメタン投与 4 群の計 6 群) のジクロロメタンを 104 週間飲料水に混合して投与した実験で、最大濃度投与群で肝臓での病変が観察され、雄では軽度の増殖性肝細胞病変があったが、投与量との関連はなく、雌では観察されなかった。これらの報告では、ラット、マウス共にがんの発生はなかった (Serota et al., 1986a,b)。

吸入暴露による動物試験で発がん性があるとする複数の報告が見られるが、経口投与 (飲水投与) 試験では発がん性を示す報告はない。B6C3F₁ マウスでは肺がん、肝臓がん発生の感受性が高く系統の特異性を考慮する必要がある。ラットでは良性乳腺腫瘍の増加は観察されている

ものの、悪性腫瘍の増加は観察されていない。発がん性には種差がみられ、マウスに対しては発がん性を示すと考えられるが、ラット、ハムスターに対しては明らかな発がん性はみられていない。

表 7-8 ジクロロメタンの発がん性試験結果

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文献
マウス B6C3F ₁ 雌雄 8-9 週齢 各 50 匹/群	吸入 (全身 暴露)	102 週 6 時間/日 5 日/週	0、2,000、 4,000 ppm (0、7,100、 14,100 mg/m ³)	102 週目の 0、2,000、4,000 ppm 全群の生存率低下 雄 39/50、24/50、11/50 雌 25/50、25/49、8/49 主に肺・肝臓がんの二次的影響 0、2,000、4,000 ppm 各群の発生率 肺胞・気管支腺腫(%): 雄 3/50 (6)、19/50 (38)、24/50 (48) 雌 2/50 (4)、23/48 (48)、28/48 (58) (自然発生率: 雄 12.1%、雌 4.9%) 肺胞・気管支がん(%): 雄 2/50 (4)、10/50 (20)、28/50 (56) 雌 1/50 (2)、13/48 (27)、29/48 (60) (自然発生率: 雄: 4.9%、雌: 2.0%)。 肝細胞腺腫又は肝細胞がん(%): 雄 22/50 (44)、24/49 (49)、33/49 (67) 雌 3/50 (6)、16/48 (33)、40/48 (83) (自然発生率: 雄 30.3%、雌 8.3%) 暴露群では肺・肝臓とも担がんマウ スのがん個体数が多い。	U.S. NTP, 1986; Mennear et al., 1988
ラット F-344/N 雌雄 7-8 週齢 各50匹/群	吸入 (全身 暴露)	102 週 6 時間/日 5日/週	0、1,000、 2,000、4,000 ppm (0、3,500、 7,100、 14,100 mg/m ³)	雄の試験終了時生存率低下: 0、1,000、2,000、4,000 ppm でそ れぞれ 16/50、16/50、17/50、9/50。 大部分は暴露最終 16 週以内の死 亡 乳腺腺腫及び線維腺腫の増加: 0、1,000、2,000、4,000 ppm でそ れぞれ雄: 0/50、0/50、2/50、5/50 雌: 5/50、11/50、13/50、23/50。 乳腺領域皮下線維腫・線維肉腫の増 加: 雄: 1/50、1/50、2/50、5 ^a /50 a) 1 例肉腫	U.S. NTP, 1986
ラット SD 6-8 週齢 雄: 90 匹/群 雌: 108 匹/群	吸入 (全身 暴露)	2年 6時間/日 5日/週、	0、50、200、 500 ppm (0、 177、710、 1,770 mg/m ³)	500 ppm: 雌: 自然発生率の範囲での悪 性化傾向のない乳腺腫瘍、悪性腫瘍 の発生なし	Nitschke et al., 1988a

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文献
マウス B6C3F ₁ 雌 1,400 匹以上	吸入 (全身 暴露)	0 (無暴露) 2,000 ppm (7,100 mg/m ³) (暴露) ①104 週暴露区 ②104 週無暴露区 ③26 週暴露 +78 週無暴露区 ④78 週無暴露 +26 週暴露区 ⑤52 週暴露 +52 週無暴露区 ⑥52 週無暴露 +52 週暴露区 ⑦26 週無暴露 +78 週暴露 ⑧78 週暴露 +26 週無暴露区		24 か月後の肺腺腫、肺がん、肝臓 腺腫、肝臓がん発生率: 26.9%、 46.3%、35.5%、51.5%、対照マウス の発生率 1.5%、6%、12%、16%より 有意に高率。 ①ジクロロメタンの 2 年以下の吸 入暴露で肺/肝臓がんは発現 ②肺と肝臓がんではジクロロメタ ンの影響に差、肺がんは短期間暴 露 (26 週間) で十分発生し、これ は早期不可逆的な肺細胞の正常 成育機構の消滅を示唆。肝がんは 暴露期間と発生率が比例するこ とから、肝がんには継続的暴露 が促進的に作用することを示唆。 ③肝臓がんより肺がん発現能が高 いため、ヒトの健康リスク評価に は肺がんを基本にすべし。 ④細胞毒性を伴わず肺/肝臓がん発生	Maronpot et al.,1995
マウス B6C3F ₁ 雌 364 匹/群	吸入 (全身 暴露)	104 週 6 時間/日 5 日/週 462、494、 515、529、 571、597、 618、639、 660 日目に暴 露群 10 匹、 対照群 5 匹 (無作為抽 出)を検査	0、2,000 ppm (0、7,100 mg/m ³)	肺胞/細気管支及び肝細胞の腺腫、がんの発生数増加 暴露開始 1 年以内では肝臓の増殖性 病変がみられたが肺の病変なし 暴露開始 1 年以後から肺胞/細気管 支の腺腫、がんの発生数漸増 暴露開始 1 年以後肝臓腫瘍の発生 率は比較的一定 (40-60%)、経時 的には担腫瘍動物数は増加。	Kari et al., 1993
マウス B6C3F ₁ 雌 68 匹/群	吸入 (全身 暴露) 全観察期間 は 104 週前 半暴露期と 後半暴露期 の 2 相を設 定 非暴露期 間は空気 のみ	26、52、78、 104 週 6 時間/日 5 日/週	0、2,000 ppm (0、7,100 mg/m ³)	前半暴露相では肺胞/細気管支及び 肝細胞の腺腫、腺がんの発生率経 時的上昇 後半暴露相では 78 週間以上のみで 肺及び肝臓腫瘍発生率の顕著な 上昇 暴露開始初期には肺腫瘍のみがみ られ肝臓腫瘍発現はなし 肺腫瘍は肝臓腫瘍と異なり、暴露 中止後も発生 (率) が増加するこ とを示唆	

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文献
ラット SD 雌雄 8週齢 95匹/群 (衛星群を含む 総使用数: 1,032 匹)	吸入 (全身 暴露)	2年 6時間/日、 5日/週	0、500、 1,500、 3,500 ppm (0、1,770、 5,300、 12,400 mg/m ³)	3,500 ppm 雌: 18か月以後死亡率上昇 雌: 良性乳腺腫瘍発生率の上昇なし (79/96、81/95、80/96、83/97)、 腫瘍総数は用量依存的に増加 (165/96、218/95、245/96、 287/97)。 雄: 良性乳腺腫瘍発生率の有意な 上昇なし (7/92、3/95、7/95、 14/97)、腫瘍総数は増加 (8/92、 6/95、11/95、17/97)。1,500 ppm 以上頸部唾液腺内及び周囲の 肉腫の増加 (1/92、0/95、5/95、 11/97)。 雌雄: 暴露開始2カ月間、どの暴 露濃度群でも SDA ウイルス (唾液腺涙腺炎ウイルス Sialodacryoadenitis) 感染による 唾液腺涙腺炎発生 (唾液腺 及び重症な鼻涙腺の限局性炎 症と壊死を伴う)。 試験期間生存率低下 (含対照群)。	Burek et al., 1984
ラット SD 妊娠雌 暴露群: 54匹/群 対照群: 60匹/群	吸入 (全身 暴露) 54-70匹/群	97週 4時間/日 5日/週 以後 7週 7時間/日 5日/週	0、100 ppm (0、350 mg/m ³)	死亡率の上昇なし 良性/悪性腫瘍発現率は母動物とそ の児いずれも上昇せず。 総悪性腫瘍数の軽度の増加 (統計 学的有意性なし)。	Maltoni et al., 1988
ハムスター Syrian golden 雌雄 8週齢 95匹/群 +衛星群 12~14 匹/群	吸入 (全身 暴露)	2年 6時間/日 5日/週	0、500、 1,500、3,500 ppm (0、1,770、 5,300、 12,400 mg/m ³)	リンパ肉腫の発現頻度が雌暴露群 が対照群よりやや高し (対照: 1/91: 500 ppm: 6/92: 1,500 ppm: 3/91: 3,500 ppm: 7/91: p = 0.032)。 良性腫瘍の増加は暴露群の生存率 が対照群より高いため	Burek et al., 1984
ラット Fischer 344 7週齢 雌雄各 85/群 第2対照群は雌 雄各 50/群 回復試験群と して 78週 250 mg/kg/日投与 +26週回復 雌雄各 25匹/群	経口 (飲水)	104週 [78週目 解剖グル ープ (雌 雄各 20/ 群) 設置 250 mg /kg/日のみ 26、52、78 週に中間 屠殺]	0、5、50、 125、250 mg/kg/日 (2対照群)	発がん性なし	Serota et al., 1986a
マウス B6C3F ₁ (7週齢) 雌雄 650/4,350 匹 構成: 対照 1- 雄/雌 60/50匹、 対照 2-雄/雌 65/50匹、 <u>60</u> <u>mg/kg</u> -雄/雌 200/ 100匹、 <u>125</u> 及 び <u>185 mg/kg</u> - 雄/雌 100/50 匹、 <u>250 mg/kg</u> - 雄/雌 125/50	経口 (飲水)	104週	0、60、 125、185、 250 mg/kg /日 (2対 照群)	発がん性なし	Serota et al., 1986b

動物種	投与方法	投与期間	投与量	結 果	文献
匹					
ラット SD (12 週齢) 雌雄各 50 匹/群 マウス Swiss (9 週齢) 雌雄各 50 匹/群 (対照群 60 匹/ 群)	経口 (強制) 媒体: オリ ーブ油	64 週 4-5 日/週	0、100、 500 mg/kg	ラット: 500 mg/kg (雌雄): 死亡率の上昇 100, 500 mg/kg: 腫瘍発生数の増加なし マウス: 100, 500 mg/kg: 死亡率の上昇、腫瘍発生数の増加 なし	Maltoni et al., 1988

c. 発がんメカニズム

動物を用いた発がん試験結果から、ジクロロメタンの発がん性に関する代謝特性には種差及び器官特異性があることが明らかであり、その発がんのメカニズムに関する報告を表 7-9に示す。

ジクロロメタンの発がん性については、GST 経路の中間代謝産物が関与していると考えられる (IPCS, 1996、OSHA, 1997)。さらに、 θ クラス GST 代謝酵素の一種 GSTT1-1 の局在と活性が発がんに関連をもつ (IPCS, 1996)。

ヒト

ヒトでは GSTT1 遺伝子を欠損する人種があり、その割合を集計した結果、中国人 (n=45) 64.4%、韓国人 (n=103) 60.2%、アフリカ系アメリカ人 (n=119) 21.8%、北米コーカサス人 (n=442) 20.4%、メキシコ系アメリカ人 (n=73) 9.7%となった (Nelson et al., 1995)。ヒトでは、GSTT1-1 の濃度は肝臓と腎臓が高く、脳、脾、骨格筋は肝臓の 10%、心、肺、脾、精巣は肝臓の 5%であった (Sherratt et al., 1997)。

マウス、ラット等

マウスの肝細胞における GST の代謝速度はラットより 1 桁以上早く、ラットの代謝速度はヒトより 1.4 倍以上早い (IPCS, 1996)。マウスの肝臓では、ジクロロメタンの主要代謝酵素 GST T1-1 mRNA が特定の細胞へ局在していた (Mainwaring et al., 1996a)。マウスでは肺にも GST T1-1 mRNA の特定細胞への集積がみられたが、ラットやヒトの肝臓では GST の m-RNA はマウスにみられるような特定の細胞での局在はなかった。

ジクロロメタンの吸入暴露実験で、B6C3F₁ マウスに肝臓がん及び肺がんの発生が確認されたが、ラット、ハムスターでの発生はみられていない。 θ クラス GST の活性レベルと局在に種差のあることから、ジクロロメタンの発がん性には種差があることを説明できると考える。

マウスの肺、肝臓、腎臓での GSTT-1 の細胞内分布を、ラット GSTT1-1 の C 末端から 5 個のアミノ酸 (マウスの GSTT1-1 と共通) ペプチドを合成し、その抗体を用いて調べた。腎臓の組織内での分布をみると、一部の集合管上皮細胞の細胞質が軽度の染色性を示し、肝臓では、全領域の核及び中心静脈付近の細胞質胆管上皮細胞及び小葉間細動脈内皮細胞の核及び核周囲の細胞質が強く染色された。肺では気管支上皮及び気管支平滑筋細胞、毛細血管内皮細胞が染色

され、肺野領域のタイプ II 肺胞上皮のみが染色された。器官の染色の分布と GSTT-1 の代謝活性の既知のデータがよく一致したことは、マウスの肺、肝臓に対しては発がん性を示すが、腎臓に対する発がん性はないことを示唆している (Quondamatteo et al., 1998)。

B6C3F₁ マウス雄にジクロロメタン 4,000 ppm を暴露し、この間に、肺の病理組織学的検査、免疫化学的染色を行い CYP2B1&2、NADPH-CYP 酸化還元酵素、mGSTT1-1 の測定、³H-チミジンを用いた S-phase 細胞の計数による DNA 合成の測定、肺細胞質及び ミクロゾームの測定、クララ細胞数及びクララ細胞内酵素活性の測定を実施した。初回暴露後にクララ細胞空胞形成がみられたが、5 日間連続暴露後に消失した。しかし 2 日間の暴露中断した後暴露を再開すると障害は再発したが、障害の程度の軽減がみられた。クララ細胞の障害の程度に関する変動は、免疫化学的細胞染色でみられたクララ細胞の CYP2B1 及び CYP2B2 の染色性の変化及び単離したクララ細胞の CYP モノオキシゲナーゼ活性の変化と一致がみられた。これらの結果は、クララ細胞はジクロロメタンを代謝する過程で CYP 酵素の不活化が生じ、ジクロロメタンに対する耐性が生じると考えられた。暴露初期に気管支細胞では S-phase 細胞が増加がみられ DNA 合成の亢進を示すと考えられた。他の肺細胞に傷害は発生せず、mGSTT1-1 の代謝系への影響は認められなかった (Foster et al., 1992)。

従来、ジクロロメタンによる肺腫瘍発生には、初期の DNA 合成抑制前 (暴露 4 週間以内) に肺胞や細気管支上皮細胞の増殖 (過形成) が高率で生じると報告されていたが、複製 DNA 合成に伴う強い細胞増殖は観察されず、ジクロロメタン吸入によるマウス肺腫瘍の前段階としての細胞増殖は生じなかった (Kanno et al., 1993)。

また、肝細胞の過剰増殖が肝臓がん発生メカニズムの一つとして考えられていることから、マウスにジクロロメタンを暴露し、DNA 合成期にある肝細胞を計数した結果、むしろ減少したため、肝細胞の過剰増殖が肝臓がん発生に関与する可能性は低いと考えられた (Foley et al., 1993)。

発がん遺伝子については、肝臓がん細胞の H-ras 遺伝子活性化及び肺がん細胞の K-ras 発がん遺伝子活性化ともに対照マウスと差はなく (Devereux et al., 1993)、腫瘍抑制遺伝子の点変異も検出されなかった (Hegi et al., 1993)。

表 7-9 ジクロロメタンの発がんメカニズムに関する実験結果

動物種	実験条件	結 果	文献
ヒト	アガロースゲル電気泳動による PCR 反応の測定 GSTT1 遺伝子の保有/欠損 分析	GSTT1 遺伝子欠損の割合: 中国人(n=45) 64.4%、韓国人 (n=103) 60.2%、アフリカ系アメリカ人 (n=119) 21.8%、北米コーカサス人 (n=442) 20.4%、メキシコ系アメリカ人 (n=73) 9.7%	Nelson et al., 1995.
マウス B6C3F ₁ 雄	電気泳動法により関連 GST を対照として θ クラス GST を確認後アミノ酸配列 (N 末端、内部) 実施	マウス肝臓では、ラット θ クラス GSTT1-1 類似の mGSTT1-1 が存在 (ジクロロメタンの主代謝酵素)	Mainwaring et al., 1996a.

動物種	実験条件	結 果	文献
ラット マウス ヒト 肝臓・肺試料	GSTT1-1のシークエンス及びクローニング Northern ブロット法及び細胞内ハイブリダイゼーション法による肝臓・肺試料中のmRNA 局在性の測定	マウス肝臓ではGSTT1-1のmRNAが中心静脈と胆管周囲の肝細胞にに局在し、細胞核内に高暴露群10匹、対照群5匹(無作為抽出)の検査度集積を確認。単離核を用いたassay でGST経路によるジクロロメタンの代謝を確認。ラット、ヒトの肝臓では、マウスにみられる GST T1-1mRNAの肝細胞での局在性は認められず。マウス肺では、他の細胞との比較で繊毛細胞/クララ細胞にGSTT1-1mRNAの高暴露群10匹、対照群5匹(無作為抽出)の検査度集積を確認。	Mainwaring et al., 1996b.
組み換えヒトGSTT1-1抗体	GSTT1-1サブユニットの組織内分布の測定	ヒトGSTT1-1は肝臓、腎臓で高濃度、脳、脾、骨格筋では肝臓の10%、心、肺、脾、精巣では肝臓の5%であることを確認。	Sherratt et al., 1997.
マウス B6C3F ₁ 雄	6 時間/日、5日/週、 13 週間 4,000 ppm暴露 2目~13 週間目に肺の病理組織学的検索、免疫化学的染色によるCYP2B1&2、NADPH- CYP酸化還元酵素、mGSTT1-1の検索、3H-チミジンを用いS-phase細胞のカウントによるDNA合成の検索、肺細胞質及びマイクロゾームの検索、単離クララ細胞数及びクララ細胞内酵素活性測定を実施	1回暴露後にクララ細胞の空胞形成、しかし5日間連続暴露後消失。2日間暴露中断後の再暴露で再発(程度は軽減)。クララ細胞障害は、肺の免疫化学的細胞染色によるクララ細胞内CYP2B1&2染色変動、新鮮単離クララ細胞CYPモノオキシゲナーゼ活性変動と相関(クララ細胞ではジクロロメタンの代謝の際CYPの不活化が生じ、その過程でジクロロメタン耐性を獲得することを示唆)。DNA合成については、暴露初期に気管支のS-phase細胞が増加した。TypeII細胞等、他のマウス肺細胞への障害発生なし、mGSTT1-1による代謝系は実験中不変。	Foster et al., 1992
マウス (NMRI) 免疫組織染色法による研究	ラットGSTT1-1のC末端から5つのアミノ酸(ラット、マウスは共通、ヒトは2つ相違)のペプチドを合成後抗体作成 GSTT-1のマウス細胞内分布の確認。	腎臓では、一部の集合管上皮の細胞質が軽度の染色性を示し、肝臓では、全領域の核及び中心静脈付近の細胞質、胆管上皮細胞及び小葉間動脈内皮細胞の核及び核周囲の細胞質が強く染色された。肺では、気管支上皮及び気管支平滑筋細胞、毛細血管内皮細胞が染色され、肺臓領域のタイプII肺胞上皮のみが染色された。これらの染色の分布がGSTT1-1の代謝活性の既知のデータと一致し、これは肺、肝臓に対して発がん性を有し腎臓への発がん性がないことを示唆している。	Quondamatteo et al., 1998
マウス B6C3F ₁ 雌	2,000 ppm 104週 吸入暴露 (6時間/日、5日/週)	肝臓がん、肺がんについて、細胞毒性が出現するより低い濃度で発生。ジクロロメタン暴露によりDNA合成期の肝細胞数が予測に反して減少したため、肝臓がんの発生メカニズムの一つと考えられる肝細胞の過剰の増殖は可能性は少ない。	Foley et al., 1993 (NIEHS)
マウス B6C3F ₁ 雌 4-6 週齢 5 匹/群	吸入(全身暴露) 1,2,3,4 週 6 時間/日 5 日/週 0, 2,000, 8,000 ppm (0, 7,060, 28,240 mg/ m ³) 13, 26, 52, 78 週 6 時間/日 5 日/週 2,000 ppm (7,060 mg/ m ³)	従来はジクロロメタンによる肺腫瘍発生には、初期のDNA合成抑制前(暴露4週間以内)に肺胞や細気管支上皮細胞の増殖(過形成)が必ず生じるとされていたが、複製的DNA合成に伴う強い細胞増殖は観察されず、ジクロロメタン吸入によるマウス肺腫瘍の初期段階に細胞増殖は必要ない。	Kanno et al., 1993
マウス B6C3F ₁ 雌145匹 + 雌235匹 (自然発生がんを得るため)	ジクロロメタン誘発腫瘍、自然発生腫瘍細胞のDNAの第1、第2 exonの変異の有無の確認のためにPCR(polymerase chain reaction)により増幅したDNA fragmentのK-ras遺伝子(肺がん)H-ras遺伝子(肝臓がん)を直接sequenceし解析	がん遺伝子については、肝臓がん細胞のH-ras 遺伝子活性化及び肺がん細胞のK-ras がん遺伝子活性化ともにコントロールマウスとの差なし。	Devereux et al., 1993

動物種	実験条件	結 果	文献
マウス B6C3F ₁ 雌 54例のジク ロロメタン 誘発肺がん 7例の自然発 生肺がん	第11染色体上のp53遺伝子 周辺のLOH (異形接合性の 消失) の発生の有無を Southern分析法及びPCR分 析法で検査	ジクロロメタンによるp53腫瘍抑制遺伝子点突然 変異は検出されず。	Hegi et al., 1993

d. 発がん性の他機関等での評価とまとめ

ジクロロメタンの国際機関等での発がん性評価を表 7-10 に示す。

ジクロロメタンの発がん性に関しては従来いくつかの機関で評価を行ってきている。

米国ハロゲン化溶剤協会等は代謝酵素の GSTT1-1 がマウスの肺・肝臓に局在することががんを発生する原因となり、従って、実験動物の肝臓がんは種特異的なものであり、肺がんも GST による代謝経路の活性が高いクララ細胞の増殖によるものであることからマウスの種特異的な発がんであるとしている (Green, 1995)。また、マウス、ラットでは高濃度暴露時に DNA 一本鎖切断が発現するが、ヒト、ハムスターでは発現しないこと、そのときの濃度はマウスではラットの 1/20 であることなど種差が非常に大きいため、動物実験の結果をヒトに当てはめることはできない。すなわち、B6C3F₁ マウスのデータはリスク評価に使用することは適切でないと主張した。

また、英国安全衛生局 (HSE, 1987) も同じ立場をとり、種差があり、B6C3F₁ マウスのデータをリスク評価に使用することは適切でないと考えている。

国際がん研究機関 (IARC, 1986) は実験動物の肝臓、肺の腫瘍はマウスで発生し、ラットでは発生しないことを説明できるデータはあるとしている。しかし暴露との明確な因果関係があることを説明できないものの、疫学研究でヒト発がんを肯定する報告があり、否定するための証拠が不足していることから、本化合物のヒト発がん性をグループ 2B (ヒトに対して発がん性が有るかもしれない) に分類している。

一方、米国労働安全衛生局 (OSHA, 1997) はマウスにみられたがんに関し、肝臓がんについて種特異性を主張する根拠については、直接 GSTT1-1 を測定したデータではないので判断を保留すべきであるとし、また、クララ細胞の増殖から発生する肺がんは一部であり、type II 細胞由来のものであること、ラットの良性乳腺腫瘍は悪性腫瘍に移行する可能性があること、DNA 一本鎖切断より遺伝子障害を判定する上で重要な、RNA 付加物等が検出されヒトに対して遺伝子障害性を有すると判断できることなどから、B6C3F₁ マウスのデータに基づきヒトの発がん性リスクの評価が可能と判断し、職業暴露での発がん物質と考えている。

以上を要約すると、動物実験により発がんメカニズム (GST 経路活性の発がん部位での局在及び活性レベルや代謝速度) に種差があることはほぼ明らかにされており、B6C3F₁ マウスの長期吸入暴露した EPA のデータをヒトにあてはめて発がん性を定量的評価することは適当ではない可能性がある。一方、ヒトではかなりの高濃度暴露でなければ遺伝子障害性指標が陽性とならず、低濃度レベルのジクロロメタンにヒトが暴露される場合は遺伝子障害性が生じる可能性は少ないが、GSTT1 遺伝子の発現がわずかでもあるかぎり遺伝子障害性がないと断定できな

い。すなわち、発がん性は完全には否定できないと考えられる。

米国 EPA (2002) は、経口のスロープファクターを $7.5 \times 10^{-3}/(\text{mg/kg})/\text{日}$ 、飲水でのユニットリスクを $2.1 \times 10^{-7}/(\mu\text{g/L})$ 、及び吸入暴露でのユニットリスクを $4.7 \times 10^{-7}/(\mu\text{g}/\text{m}^3)$ と算出している。

IARC は、グループ 2B (ヒトに対して発がん性がある可能性がある物質) に分類している。

表 7-10 ジクロロメタンの国際機関等での発がん性評価

機関/出典	分類	分類基準
IARC (1999)	グループ 2B	ヒトに対して発がん性がある可能性がある。
ACGIH (2001)	A3	ヒトへの関連性は不明であるが、実験動物で発がん性が確認された物質。
日本産業衛生学会 (2002)	第2群B	人間に対しておそらく発ガン性があると考えられる物質である。証拠が比較的十分でない物質。
U.S. EPA (1995)	B2	動物での発ガン性の十分な証拠があり、かつ、疫学研究から不十分な証拠、またはデータがない物質。
U.S. NTP (2002)	R	ヒトに対して発がん性があることが予想される物質。

7.4 ヒト健康への影響 (まとめ)

実験動物に対するジクロロメタンの吸入暴露による急性毒性試験の LC_{50} はラット・マウスで 15,000 ppm (6 時間)、経口投与による LD_{50} は 1,710 mg/kg である。動物実験でみられる吸入の急性毒性症状として中枢神経系の抑制、感覚麻痺、体性感覚誘発への影響、脳波や睡眠に対する影響等がある。その他、呼吸器、循環器への影響、体内 CO-Hb の生成、肝臓への影響等がみられる。ヒトに対しては暴露レベル 200 ppm ($700 \text{ mg}/\text{m}^3$) (1.5~3 時間) で神経系に影響がみられている。CO-Hb の生成については、100 ppm ($350 \text{ mg}/\text{m}^3$) 程度の暴露濃度レベルでは蓄積性はない。眼及び皮膚に対する刺激性はいずれも中等度である。皮膚に対する感作性に関する報告はない。

実験動物に対する反復投与では肺及び肝臓が毒性標的器官で、吸入暴露での NOAEL は求められなかったが、LOAEL はマウス及びラットに 100 日間 (24 時間暴露) 吸入暴露した試験結果から得られた 25 ppm ($88 \text{ mg}/\text{m}^3$) である。

経口暴露の NOAEL は、ラットに 2 年間飲料水に混合して投与した場合の肝臓及び血液への影響を指標とした試験結果から得られた $5 \text{ mg}/\text{kg}/\text{日}$ である。

ラット、マウスを用いた生殖発生毒性試験でジクロロメタンの影響はみられていない。

遺伝毒性については、ジクロロメタンは S9 添加の有無に関わらずバクテリア及び酵母の系で陽性を示す。また、培養細胞や哺乳動物個体を用いたアルカリ溶出試験、高濃度暴露した動物の染色体異常で陽性を示すが、培養細胞を用いた突然変異性試験及び染色体異常試験の多くが陰性を示す。GSTT1 遺伝子の発現する生物種や個体で遺伝子障害性が発生する可能性があることが知られている。

発がん性についてはヒトの暴露に関するいくつかの報告はあるが、発がん性を示す明確な証拠が得られていないこと、動物実験では吸入暴露でマウス (B6C3F₁) の肺及び肝臓に発がんが認められたことから、IARC は、グループ 2B (ヒトに対して発がん性がある可能性がある物質)

に分類している。発がん性については種差が大きいことが明らかとなっている。

文 献 (文献検索時期 : 2001 年 4 月) ¹⁾

- Abernethy, S., Bobra, A.M., Shiu, W.Y., Wells, P.G., and MacKay, D. (1986) Acute lethal toxicity of hydrocarbons and chlorinated hydrocarbons to two planktonic crustaceans: The key role of organism- water partitioning. *Aquat. Toxicol.*, **8**, 163-174.
- ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists (2001) Documentation of the threshold limit values and biological exposure indices., 7th ed. Cincinnati, OH.
- Alexander, H.C., McCarty, W.M., and Bartlett, E.A. (1978) Toxicity of perchloroethylene and methylene chloride to fathead minnows. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **20**, 344-352.
- Alexeef, G., and Kiglore, W., (1983) Learning impairment in mice following acute exposure to dichloromethane and carbon tetrachloride. *J. Toxicol. Environ. Health.*, **11**, 569-581. (IPCS, 1996 から引用)
- Allen, J., Kligerman, A., Campbell, J., Westbrook-Collins, B., Erexson, G., Kari, F., and Zeiger, E. (1990) Cytogenetic analysis of mice exposed to dichloromethane. *Environ. Mol. Mutagen.*, **15**, 221-228.
- Anderson, B.E., Zeiger, E., Shelby, M.D., Resnick, M.A., Gulati, D.K., Ivett, J.L., and Loveday, K.S. (1990) Chromosome aberration and sister chromatid exchange test results with 42 chemicals. *Environ. Mol. Mutagen.*, **16**, 55-137. (IPCS, 1996 から引用)
- Anderson, M.W. and Wiseman, R.W. (1993) Characterization of p53 mutations in methylene chloride-induced lung tumors from B6C3F₁ mice. *Carcinogenesis*, **14**, 803-810.
- Andrae, U. and Wolff, T. (1983) Dichloromethane is not genotoxic in isolated rat hepatocytes. *Arch. Toxicol.*, **52**, 287-290. (IPCS, 1996 から引用)
- ATSDR Agency for Toxic Substances and Disease Registry (1993) Toxicological profile for methylene chloride. TP-92/13. U. S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta. GA.
- Aviado, D.M., Zakhari, S., and Watanabe, T. (1977a) Methylene chloride. In: Goldberg L ed. Non-fluorinated propellants and solvents for aerosols. Cleveland, Ohio, CRC Press, pp 19-36. (IPCS, 1996 から引用)
- Aviado, D.M., Zakhari S. and Watanabe, T. (1977b) Interactions among hydrocarbon propellants, methylene chloride and ethanol. In: Goldberg, L. ed. Non-fluorinated propellants and solvents for aerosols. Cleveland, Ohio, CRC Press, pp 83-89. (IPCS, 1996 から引用)
- Ballantyne, B., Gazzard, M.F. and Swanston, D.W. (1976) The ophthalmic toxicology of dichloromethane. *Toxicology*, **6**, 173-187.
- Balmer, M.F., Smith, F.A., Leach, L.J. and Yuile, C.L. (1976) Effects in the liver of methylene chloride inhaled alone and with ethyl alcohol. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, **37**, 345-352. (IPCS, 1996 から引用)

¹⁾ データベースの検索を 2001 年 4 月に実施し、発生源情報等で新たなデータを入手した際には文献を更新した。また、2004 年 4 月に国際機関等による新たなリスク評価書の公開の有無を調査し、キースタディとして採用すべき文献を入手した際には追加した。

用)

- Barber ED, Donish, W.H. and Mueller, K.R. (1980) Quantitative measurement of the mutagenicity of volatile liquids in the Ames Salmonella/microsome assay. *Environ. Mutagen.*, **2**, 307 (Abstract P39). (IPCS, 1996 から引用)
- Barrowcliff, D.F. and Knell, A.J. (1979) Cerebral damage due to endogenous chronic carbon monoxide poisoning caused by exposure to methylene chloride. *J. Soc. Occup. Med.*, **29**, 12-14.
- Basso, M., Raje, R. and Greening, M. (1987) Evaluation of *in vivo* mutagenicity of methylene chloride following inhalation exposure in mice by dominant lethal test [abstract]. *Toxicologist*, **7**, 1034. (IPCS, 1996 から引用)
- Bell, B.P., Franks, P., Hildreth, N. and Melius, J. (1991) Methylene chloride exposure and birthweight in Monroe County, *Environ. Res.*, **55**, 31-39.
- Berger, M. and Fodor, G.G. (1968) CNS disorders under the influence of air mixtures containing dichloromethane. *Zentbl. Bakteriol.*, **215**, 517. (IPCS, 1996 から引用)
- Birge, W.J., Black, J.A. and Kuehne, R.A. (1980) Effects of organic compounds on amphibian reproduction. Lexington, Kentucky, Kentucky University, Water Resources Research Institute (Research Report No. 121; NTIS PB80-147523), Lexington, Kentucky, Kentucky University, Water Resources Research Institute (Research Report No. 121; NTIS PB80-147523). (Research Report No. 121; NTIS PB80-147523).
- Black, J.A., Birge, W.J., McDonnell, W.E., Westerman, A.G., Ramey, B.A. and Bruser, D.M. (1982) The aquatic toxicity of organic compounds to embryo-larval stages of fish and amphibians. Lexington, Kentucky, Kentucky University, Water Resources Research Institute (Research Report No. 133: NTIS PB82-224601).
- Blair, A., Hartge, P., Stewart, P.A., McAdams, M. and Lubin, J. (1998) Mortality and cancer incidence of aircraft maintenance workers exposed to trichloroethylene and other organic solvents and chemicals: extended follow up. *Occup. Environ. Med.*, **55**, 161-171.
- Blum, D.J.W. and Speece, R.E. (1991) Quantitative structure-activity relationships for chemicals toxicity to environmental bacteria. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **22**, 198-224.
- Bogaards, J.J.P., Van Ommen, B. and Bladeten, P.J. (1993) Individual differences in the *in vitro* conjugation of methylene chloride with glutathione by cytosolic glutathione S-transferase in 22 human liver samples. *Biochem. Pharmacol.*, **45**, 2166-2169.
- Bonnet, P., Francin, J.M., Gradiski, D., Raoult, G. and Zissu, D. (1980) Détermination de la concentration létale₅₀ des principaux hydrocarbures aliphatiques chlorés chez le rat. *Arch. Mal. Prof. Med.*, **41**, 317-321. (IPCS, 1996 から引用)
- Bornmann, G. and Loeser, A. (1967) The question of the chronic toxic action of dichloromethane. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **136**, 14-18.
- Bornschein, R.L., Hastings, L. and Manson, J.M. (1980) Behavioral toxicity in the offspring of rats following maternal exposure to dichloromethane. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **52**, 29-37.
- Bringmann, G. (1978b) Bestimmung der biologischen Schädwirkung wassergefährdender Stoffe gegen Protozoa. *Z. Wasser Abwasser Forschung*, **11**, 210-215.

- Bringmann, G. and Kuhn, R. (1977) Limiting values for damaging action of water pollutants to bacteria (*Pseudomonas putida*) and green algae (*Scenedesmus quadricauda*) in the cell multiplication inhibition test. *Z. Wasser. Abwasser Forsch.*, **10**, 87-98.
- Bringmann, G. and Kuhn, R. (1978a) Threshold values for the harmful effects of water pollutants on blue algae (*Microcystis aeruginosa*) and green algae (*Scenedesmus quadricauda*) in the cell reproduction inhibition test. *Vom Wasser*, **50**, 45-60.
- Bringmann, G. and Kuhn, R. (1980) Bestimmung der biologischen Schadwirkung wassergefährdender Stoffe gegen Protozoen II. Bakterienfressende Ciliaten. *Z. Wasser Abwasser Forschung*, **1**, 26-31.
- Bringmann, G., Kuhn, R. and Winter, A. (1980) Bestimmung der biologischen Schadwirkung wassergefährdender Stoffe gegen Protozoen III. Saprozoische Flagellaten. *Z. Wasser Abwasser Forschung*, **13**, 170-173.
- Bringmann, G. and Kuhn, R. (1982) Ergebnisse der Schadwirkung wassergefährdender Stoffe gegen *Daphnia magna* in einem weiterentwickelten standardisierten Testverfahren. *Z. Wasser Abwasser Forschung*, **15**, 1-6.
- Bringmann, G. and Meinck, F. (1964) Water toxicological assessment of industrial waste waters. *Gesundheits-Ingenieur*, **85**, 229-236.
- Briving, C., Hamberger, A., Kjellstrand, P., Rosengren, L., Karlsson, J.E., and Haglid, K.G. (1986) Chronic effects of dichloromethane on amino acids, glutathione and phosphoethanolamine in gerbil brain. *Scand. J. Work Environ. Health*, **12**, 216-220.
- Brown-Woodman, P.D., Hayes, L.C., Huq, F., Herlihy, C., Picker K. and Webster, W.S. (1998) *In vitro* assessment of the effect of halogenated hydrocarbons: chloroform, dichloromethane, and dibromoethane on embryonic development of the rat. *Teratology*, **57**, 321-333.
- Buccafusco, R.J., Eells, S.J. and Leblanc, G.A. (1981) Acute toxicity of priority pollutants to bluegill (*Lepomis macrochirus*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **26**, 446-452.
- Burek, J.D., Nitschke, K.D., Bell, T.J., Wackerle, D.L., Childs, R.C., Beyer, J.E., Dittenber, D.A., Rampy, L.W. and McKenna, M.J. (1984) Methylene chloride: A two-year inhalation toxicity and oncogenicity study in rats and hamsters. *Fundam. Appl. Toxicol.*, **4**, 30-47. (IPCS, 1996 から引用)
- Burton, D.T. and Fischer, D.J. (1990) Acute toxicity of cadmium, copper, zinc, ammonia, 3,3'-dichlorobenzidine, 2,6-dichloro-4-nitroaniline, methylene chloride, and 2,4,6-trichlorophenol to juvenile grass shrimp and killifish. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **44**, 776-783.
- Callen, D.F., Wolf, C.R. and Philpot, R.M. (1980) Cytochrome P450 mediated genetic activity and cytotoxicity of seven halogenated aliphatic hydrocarbons in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutat. Res.*, **77**, 55-63. (IPCS, 1996 から引用)
- Cantor, K.P., Stewart, P.A., Brinton, L.A. and Dosemeci, M. (1995) Occupational exposure and female breast cancer mortality in the United States. *J. Occup. Med.*, **37**, 336-348.
- Carlsson, A. and Hultengren, M. (1975) Exposure to methylene chloride, III. Metabolism of ¹⁴C-labelled methylene chloride in rat. *Scand. J. Work Environ. Health*, **1**, 104-108.
- Carreon, R. (1981) Methylene chloride: Acute oral toxicity. Midland, Michigan, Dow Chemical

- Company (Internal report). (IPCS, 1996 から引用)
- Casanova, M., Bell, D.A. and Heck, H. (1997) Dichloromethane metabolism to formaldehyde and reaction of formaldehyde with nucleic acids in hepatocytes of rodents and humans with and without glutathione S-transferase T1 and M1 genes. *Fundam. Appl. Toxicol.*, **37**, 168-180.
- Casanova, M., Deyo, D.F. and Heck, H.A. (1992) Dichloromethane (methylene chloride) :Metabolism to formaldehyde and formation of DNA-protein cross-links in B6C3F₁ mice and Syrian golden hamsters. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **114**, 162-165.
- Cherry, N., Venables, H., Waldron, H.A. and Wells, G.G. (1981) Some observations on workers exposed to methylene chloride. *Br. J. Ind. Med.*, **38**, 351-355.
- Clark, D.G. and Tinston, D.J. (1982) Acute inhalation toxicity of some halogenated and non-halogenated hydrocarbons. *Hum. Toxicol.*, **1**, 239-247. (IPCS, 1996 から引用)
- Condie, L.W., Smallwood, C.L. and Laurie, R.D. (1983) Comparative renal and hepatotoxicity of halomethanes: bromodichloromethane, bromoform, chloroform, dibromochloromethane and methylene chloride. *Drug Chem. Toxicol.*, **6**, 563-578.
- Cornish, H.H., Ling, B.P. and Barth, M.L. (1973) Phenobarbital and organic solvent toxicity. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, **34**, 487-492. (IPCS, 1996 から引用)
- Corsi, G.C., Valentini, F. and Bertazzon, A. (1983) Effects of subtoxic amounts of furan, acetylfuran and methylene chloride on some serum enzymes of rat. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, **59**, 1049-105. (IPCS, 1996 から引用)
- Crebelli, R., Andreoli, C., Carere, A., Conti, G., Conti, L., CottaRamusino, M. and Benigni, R. (1992) The induction of mitotic chromosome malsegregation in *Aspergillus nidulans*. Quantitative structure activity relationship (QSAR) analysis with chlorinated aliphatic hydrocarbons. *Mutat. Res.*, **266**, 117-134. (IPCS, 1996 から引用)
- Crebelli, R., Benigni, R., Franekic, J., Conti, G., Conti, L. and Carere, A. (1988) Induction of chromosome malsegregation by halogenated organic solvents in *Aspergillus nidulans*: unspecific or specific mechanism? *Mutat. Res.*, **201**, 401-411. (IPCS, 1996 から引用)
- Devereux, T.R., Foley, J.F., Maronpot, R.R., Kari, F. and Anderson, M.W. (1993) RAS proto-oncogene activation in liver and lung tumors from B6C3F₁ mice exposed chronically to methylene chloride. *Carcinogenesis*, **14**, 795-801.
- Di Vincenzo, G.D. and Kaplan, C.J. (1981a) Uptake, metabolism and elimination of methylene chloride vapor by humans. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **59**, 130-140.
- Di Vincenzo, G.D. and Kaplan, C.J. (1981b) Effect of exercise or smoking on the uptake, metabolism, and excretion of methylene chloride vapor. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **59**, 141-148.
- Dill, D.C., Murphy, P.G. and Mayes, M.A. (1987) Toxicity of methylene chloride to life stages of fathead minnow, *Pimephales promelas* Rafinesque. *Bull. Environ. Toxicol.*, **39**, 869-876. (IPCS, 1996 から引用)
- Dillon, D.M., Edwards, I.R., Combos, R.D., McConville, M. and Zeiger, E. (1992) The role of glutathione in the bacterial mutagenicity of vapor phase dichloromethane. *Environ. Mol. Mutagen.*, **20**, 211-217. (IPCS, 1996 から引用)

- Duprat, P., Delsaut, L. and Gradiski, D. (1976) Pouvoir irritant des principaux solvants chlorés aliphatiques sur la peau et les muqueuses oculaires du lapin. *J. Eur. J. Toxicol.*, **9**, 171-177. (IPCS, 1996 から引用)
- Eisenbrandt, D.L. and Reitz, R.H. (1986) Acute toxicity of methylene chloride: Tumorigenic implications for B6C3F₁ mice. *Toxicologist*, **6**, 662.
- Fagin, J., Bradley, J., and Williams, D. (1980) Carbon monoxide poisoning secondary to inhaling methylene chloride. *Br. Med. J.*, **281**, 1461.
- Ferguson, J. and Pirie, H. (1948) The toxicity of vapours to the grain weevil. *Ann. Appl. Biol.*, **35**, 532-550.
- Fodor, G.G. and Winneke, G. (1971) Nervous system disturbances in men and animals experimentally exposed to industrial solvent vapors. In: England HM ed. *Proceedings of the 2nd International Clean Air Congress*. New York, Academic Press, pp 238-243. (IPCS, 1996 から引用)
- Fodor, G.G., Schlipkötter, H.W. and Zimmermann, M. (1973) The objective study of sleeping behaviour in animals as a test of behavioural toxicity. In: Horvath M (ed.) *Adverse effects of environmental chemicals and psychotropic drugs: quantitative interpretation of functional tests*. London, Elsevier, pp 115-123. (IPCS, 1996 から引用)
- Foley, J.F., Tuck, P.D., Ton, T.V.T., Frost, M., Kari, F. and Anderson, M.W. (1993) Inhalation to a hepatocarcinogenic concentration of methylene chloride does not induce sustained replicative DNA synthesis in hepatocytes of female B6C3F₁ mice. *Carcinogenesis*, **14**, 811-817.
- Foster, J.R., Green, T., Smith, L.L., Lewis, R.W., Hext, P.M. and Wyatt, I. (1992) Methylene chloride-An inhalation study to investigate pathological and biochemical events occurring in the lung of mice over an exposure period of 90 days. *Fundam. Appl. Toxicol.*, **18**, 376-388.
- Friedlander, B.R., Hearne, T. and Hall, S. (1978) Epidemiologic investigation of employees chronically exposed to methylene chloride. *J. Occup. Med.*, **20**, 657-666.
- Gibbs, G.W. (1992) The mortality of workers employed at a cellulose acetate and triacetate fibers plant in Cumberland Maryland, a "1970" cohort followed 1970-1989. Final report by Safety Health Environmental International Consultants, Winterburn, Alberta.
- Gocke, E., King, M.T., Eckhardt, K. and Wild, D. (1981) Mutagenicity of cosmetic ingredients licensed by the European Communities. *Mutat. Res.*, **90**, 91-109. (IPCS, 1996 から引用)
- Gomez, M.R., Cocco, P., Dfosemeci, M. and Stewart, P.A. (1994) Occupational exposure to chlorinated aliphatic hydrocarbons: Job exposure matrix. *Am. J. Ind. Med.*, **26**, 171-183.
- Gradiski, D., Bonnet, P., Raoult, G., Magadur, J.L. and Francin, J.M. (1978) Toxicité aiguë comparée par inhalation de principaux solvants aliphatiques chlorés. *Arch. Mal. Prof. Méd. Trav. Sécur. Soc.*, **39**, 249-257. (IPCS, 1996 から引用)
- Graves, R.J., Callander, R.D. and Green T (1994a) The role of formaldehyde and S-chloromethyl glutathione in the bacterial mutagenicity of methylene chloride. *Mutat. Res.*, **320**, 235-243.
- Graves, R.J., Coutts, C., Eyton-Jones, H. and Green, T. (1994b) Relationship between hepatic DNA damage and methylene chloride-induced hepatocarcinogenesis in B6C3F₁ mice. *Carcinogenesis*, **15**, 991-996. (IPCS, 1996 から引用)

- Graves, R.J., Coutts, C. and Green, T (1995) Methylene chloride-induced DNA damage: an interspecies comparison. *Carcinogenesis*, **16**, 1919-1926.
- Graves, R.J. and Green, T. (1996) Mouse liver glutathione S-transferase mediated metabolism of methylene chloride to a mutagen in the CHO/HPRT assay. *Mutat. Res.*, **367**, 143-150. (IPCS, 1996 から引用)
- Green, T. (1983) The metabolic activation of dichloromethane in a bacterial assay using *Salmonella typhimurium*. *Mutat. Res.*, **118**, 277-288. (IPCS, 1996 から引用)
- Green, T. (1995) Methylene chloride induced mouse liver and lung tumors. An overview of research into the mechanism of action and its relevance to humans. Report No. CTL/R/1246. Zeneca Central Toxicology Laboratory, Alderley Park, Macclesfield, Cheshire, UK. (健康影響評価検討委員会 (有機塩素化合物・炭化水素類評価小委員会), 1997 から引用)
- Gu, Z. and Wang, Y. (1988) Evaluation of genotoxic effect of 16 chemicals using the micronucleus assay *in vitro*. *Weisheng Dulixue Zazhi*, **2**, 1-4 (in Chinese). (IPCS, 1996 から引用)
- Hall, A.H. and Rumack, B.H. (1990) Methylene chloride exposure in furniture-stripping shops: Ventilation and respirator use practices. *J. Occup. Med.*, **32**, 33-37.
- Hallier, E., Laughof, T., Dannappel, D., Leutbecher, M., Schroeder, K., Goergeus, H.W., Müller, A. and Bolt, H.M. (1993) Polymorphism of glutathione conjugation of methylbromide, ethylene oxide and dichloromethane in human blood: Influence of the induction of sister chromatid exchanges (SCE) in lymphocytes. *Arch. Toxicol.*, **67**, 173-178.
- Hallier, E., Schroeder, K.R., Admuth, K., Dommermuth, A., Aust, B., Goergens, H.W. (1994) Metabolism of dichloromethane (methylene chloride) to formaldehyde in human erythrocytes: influence of polymorphism of glutathione transferase theta (GST T1-1). *Arch. Toxicol.*, **68**, 423-427. (IPCS, 1996 から引用)
- Hardin, B.D. and Manson, J.M. (1980) Absence of dichloromethane teratogenicity with inhalation exposure in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **52**, 22-28.
- Hatch, G.G., Mamay, P.D., Ayer, M.L., Casto, B.C. and Nesnoro, S. (1983) Chemical enhancement of viral transformation in Syrian hamster embryo cells by gaseous volatile chlorinated methanes and ethanes. *Cancer Res.*, **43**, 1945-1950. (IPCS, 1996 から引用)
- Haun, C.C., Vernet, E.H., Darmer, K.I. and Diamond, S.S. (1972) Continuous animal exposure to low levels of dichloromethane. In: *Proceedings of the 3rd Annual Conference on Environmental Toxicology*. Dayton, Ohio, Wright-Patterson Air Force Base, Aerospace Medical Research Laboratory, pp. 199-208 (Paper No. 12; AMRL-TR-130).
- Hearne, F.T., Grose, F., Pifer, W.J., Friedlander, B.R. and Raleigh, R.L. (1987) Methylene chloride mortality study: Dose-response characterization and animal model comparison. *J. Occup. Med.*, **29**, 218-228.
- Hearne, F.T., Pifer, J.W. and Grose, F. (1990) Absence of adverse mortality effects in workers exposed to methylene chloride. *J. Occup. Med.*, **32**, 234-240.
- Hegi, M.E., Soderkvist, P., Foley, J.E., Schronhoven, R., Swenberg, J.A., Kari, F., Maronpot, R.R., Heineman, E.F., Cocco, P., Gomez, M.R., Dosemeci M, Stewart, P.A., Hayes, R.B., Zahim, S.H.,

- Thomas, T.L. and Blair, A. (1994) Occupational exposure to chlorinated aliphatic hydrocarbons and risk of astrocytic brain cancer. *Am. J. Ind. Med.*, **26**, 155-169.
- Heppel, L.A., Neal, P.A., Perrin, T.L., Orr, M.L. and Porterfield, V.T. (1944) Toxicology of dichloromethane (methylene chloride) . I. Studies on effects of daily inhalation. *J. Ind. Hyg. Toxicol.*, **26**, 8-16.
- Heppel, L.A. and Neal, P.A. (1944) Toxicology of dichloromethane (methylene chloride). II. Its effect upon running activity in the male rat. *J. Ind. Hyg. Toxicol.*, **26**, 17-21.
- Hext, P.M., Foster, J. and Millward, S.W. (1986) Methylene chloride (Dichloromethane): 10-day inhalation toxicity study to investigate the effects on rat and mouse liver and lungs. ICI Report No. CTL/P/1432. (IPCS, 1996 から引用)
- Howard, P.H. (1990) Handbook of Environmental Fate and Exposure Data for Organic Chemicals Vol. II, Lewis Publishers.
- HSE Health and Safety Executive (1985) Toxicity review 12-Dichloromethane (Methylene chloride), Her Majesty's Stationary Office, London, England.
- HSE Health and Safety Executive (1987) ACTS review: Dichloromethane, Her Majesty's Stationary Office, London, England.
- Hughes, N.J. and Tracey, J.A. (1993) A case of methylene chloride (nitremans) poisoning, effects on carboxyhaemoglobin levels. *Hum. Exp. Toxicol.*, **12**, 159-160.
- Hutchinson, T.C., Hellebust, J.A., Tam, D., MacKay, D., Mascarenhas, R.A. and Shiu, W.Y. (1978) The correlation of the toxicity to algae of hydrocarbons and halogenated hydrocarbons with their physical-chemical properties. *Environ. Sci. Res.*, **16**, 577-586.
- IARC, International Agency for Research on Cancer (1999) IARC monograph on the evaluation of the carcinogen risk of chemicals to humans. 41 some halogenated hydrocarbons and pesticide exposures, Lyon.
- IPCS, International Programme on Chemical Safety (1996) Environmental Health Criteria 164. Methylene chloride. WHO. Geneva.
(<http://www.ilo.org/public/english/protection/safework/cis/products/icsc/dtasht/index.htm>から引用)
- IPCS, International Programme on Chemical Safety (2000) ICSC, International Chemical Safety Cards.
- Janssen, P.J.M. and Pot, T.E. (1988) Acute oral toxicity study with dichloromethane in rats. Weesp, The Netherlands, Solvay Duphar (Unpublished document 56645/33/88). (IPCS, 1996 から引用)
- Jongen, W.M.F., Alink, G.M. and Koeman, J.H. J. (1978) Mutagenic effect of dichloromethane on *Salmonella typhimurium*. *Mutat. Res.*, **56**, 245-248. (IPCS, 1996 から引用)
- Jongen, W.M.F., Harmsen, E.G.M., Alink, G.M. and Koeman, J.H. (1982) The effect of glutathione conjugation and microsomal oxidation on the mutagenicity of dichloromethane in *Salmonella typhimurium*. *Mutat. Res.*, **95**, 183-189. (IPCS, 1996 から引用)
- Jongen, W.M.F., Lohman, P.H.M., Kottenhagen, M.J., Alink, G.M., Betends, F. and Koeman, J.H. (1981) Mutagenicity testing of dichloroethane in short-term mammalian test systems. *Mutat. Res.*, **81**, 203-213. (IPCS, 1996 から引用)

- Kaiser, K. L. E. and Palabrica, V. S. (1991) *Photobacterium phosphoreum* toxicity data index. Water Poll. Res. J. Canada, **26**, 361-431. (IPCS, 1996 から引用)
- Kanazawa, S. and Filip, Z. (1986) Effect of trichloroethylene, tetrachloroethylene and dichloromethane on enzymatic activities in soil. Appl. Microbiol. Biotechnol., **25**, 76-81.
- Kanazawa, S. and Filip, Z. (1987) Effects of trichloroethylene and dichloromethane on soil biomass and microbial counts. Zent.bl Bakteriolog. Hyg., **184**, 24-33.
- Kanno, J., Foley, J.F., Kari, F., Anderson, M.W. and Maronpot, R.R. (1993) Effect of methylene chloride inhalation on replicative DNA synthesis in the lungs of female B6C3F₁ mice. Environ. Health Perspect., **101** (Suppl 5), 271-286.
- Kari, F.W., Foley, J.F., Seilkop, S.K., Maronpot, R.R. and Anderson, M.W. (1993) Effect of varying exposure regimens on methylene chloride induced lung and liver tumors in female B6C3F₁ mice. Carcinogenesis, **14**, 819-826.
- Kashin, L.M., Makotchenko, V.M., Malinina-Putsenko, V.P., Mikhailovskaja, L.F. and Shmuter, L.M. (1980) Experimental and clinico-hygienic investigations of methylene chloride toxicity. Vrach. Delo., **1**, 100-103 (in Russian).
- Kelly, M. (1988) Case reports of individuals with oligospermia and methylene chloride exposures. Reprod. Toxicol., **2**, 13-17.
- Kimura, E.T., Ebert, D.M. and Dodge, P.W. (1971) Acute toxicity and limits of solvent residue for sixteen organic solvents. Toxicol. Appl. Pharmacol., **19**, 699-704. (IPCS, 1996 から引用)
- Kirschman, J.C., Brown, N.M., Coats, R.H. and Morgareidge, K. (1986) Review of investigations of dichloromethane metabolism and subchronic oral toxicity study as the basis for the design of chronic oral studies in rats and mice. Food Chem. Toxicol., **24**, 943-949.
- Kjellstrand, P., Bjerckemp, M., Adler-Maihofer, M. and Holmquis, B. (1986) Effects of methylene chloride on body and organ weight and plasma butyrylcholinesterase activity in mice. Acta Pharmacol. Toxicol., **59**, 73-79.
- Klaassen, C.D. and Plaa, G.L. (1966) Relative effects of various chlorinated hydrocarbons on liver and kidney function in mice. Toxicol. Appl. Pharmacol., **9**, 139-151. (IPCS, 1996 から引用)
- Klaassen, C.D. and Plaa, G.L. (1967) Relative effects of various chlorinated hydrocarbons on liver and kidney function in dogs. Toxicol. Appl. Pharmacol., **10**, 119-131. (IPCS, 1996 から引用)
- Klimmer, O.R. (1968) Working paper on dichloromethane. Presented to the Committee on Foreign Substances in Food of the German Research Council, Bad Godesberg, 5 July 1968. Bonn, Erman Research Council (in German). (IPCS, 1996 から引用)
- Kluwe, W.M., Harrington, F.W. and Cooper, S.E. (1982) Toxic effects of organohalide compounds on renal tubular cells *in vivo* and *in vitro*. J. Pharmacol. Exp. Ther., **220**, 597-603. (IPCS, 1996 から引用)
- Könemann, H. (1981) Quantitative structure-activity relationships in fish toxicity studies, part 1: Relationship for 50 industrial pollutants. Toxicology, **19**, 209-211.
- Kozena, L., Frantik, E. and Vodickova, A. (1990) Methylene chloride does not impair vigilance performance at blood levels simulating limit exposure. Acta Nerv. Super., **32**, 35-37.

- Kramers, P.G.N., Mout, H.C.A., Bissumbhar, B. and Mulder, C.R. (1991) Inhalation exposure in *Drosophila* mutagenesis assays: experiments with aliphatic halogenated hydrocarbons, with emphasis on the genetic activity profile of 1,2-dichloroethane. *Mutat. Res.*, **252**, 17-33. (IPCS, 1996 から引用)
- Kurppa, K., Kivisto, H. and Vainio, H. (1981) Dichloromethane and carbon monoxide inhalation : carboxyhaemoglobin addition and drug metabolising enzymes in rat. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.*, **49**, 83-87. (IPCS, 1996 から引用)
- Kutob, S.D. and Plaa, G.L.(1962) A procedure for estimating the hepatotoxic potential of certain industrial solvents. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **4**, 354-361. (IPCS, 1996 から引用)
- Kuzelova, M. and Vlasak, R. (1966) The effect of methylene chloride on the health of workers in production of film-foils and investigation of formic acid as a methylene-dichloride metabolite. *Prac. Lek.*, **18**, 167-170 (in Czech). (IPCS, 1996 から引用)
- Kühn, R., Pattard, M., Pernak, K.D. and Winter, A. (1989) Results of the harmful effects of selected water pollutants (anilines, aliphatic compounds) to *Daphnia magna*. *Water Res.*, **23**, 495-499.
- Laham, S. (1978) Toxicological studies on dichloromethane, a solvent simulating carbon monoxide poisoning. *Toxicol. Eur. Res.*, **1**, 63-73. (IPCS, 1996 から引用)
- Lanes, S.F., Cohen, A., Rothman, K.J., Dreyer, N.A. and Soden, K.J. (1990) Mortality of cellulose fiber production workers. *Scand. J. Work Environ. Health*, **16**, 247-251.
- Lanes, S.F., Rothman, K.G., Dreyer, N.A. and Soden, K.J. (1993) Mortality update of cellulose fiber production workers. *Scand. J. Work Environ. Health*, **19**, 426-428.
- Lash, A.A., Becker, C.E., So, Y. and Shore, M. (1991) Neurotoxic effects of methylene chloride: Are they long lasting in humans? *Br. J. Ind. Med.*, **48**, 418-426.
- Le Blanc, G.A. (1980) Acute toxicity of priority pollutants to water flea (*Daphnia magna*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **24**, 684-691. (IPCS, 1996 から引用)
- Lefevre, P.A. and Ashby, J. (1989) Evaluation of dichloromethane as an indicator of DNA synthesis in the B6C3F₁ mouse liver. *Carcinogenesis*, **10**, 1067-1072. (IPCS, 1996 から引用)
- Leikin, J.B., Kaufman, D., Lipscomb, J.W., Burda, A.M. and Hryhorczuk, D.O. (1990) Methylene chloride: Report of five exposures and two deaths. *Am. J. Emerg. Med.*, **8**, 534-537.
- Leuschner, F., Neumann, B.W. and Hubscher, F. (1984) Report on subacute toxicological studies with dichloromethane in rats and dogs by inhalation. *Arzneimittel forschung*, **34**, 1772-1774.
- Longstaff, E., Robinson, M., Bradbrook, C., Styles, J.A. and Purchase, I.F.H. (1984) Genotoxicity and carcinogenicity of fluorocarbons assessment by short-term *in vitro* tests and chronic exposure in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **72**, 15-31. (IPCS, 1996 から引用)
- Loyke, H.F. (1973) Methylene chloride and chronic renal hypertension. *Arch. Pathol.*, **95**, 130-131.
- Lyman, W.J. et al. (1990) Handbook of Chemical Property Estimation Methods. Amer. Chem. Soc., Washington, DC. (U.S. NLM: HSDB, 2004 から引用)
- MacEwen, J.D., Vernot, E.H. and Haun, C.C. (1972) Continuous animal exposure to dichloromethane. Dayton, Ohio, Wright Patterson Air Force Base. Aerospace Medical Research Laboratory (AMRL-TR-72-28).

- Mainwaring, G.W., Nash, J., Davidson, M. and Green, T. (1996a) Isolation of a mouse theta glutathione S-transferase active with methylene chloride. *Biochem. J.*, **314**, 445-448.
- Mainwaring, G.W., Nash, J., Williams, S.M., Foster, J.R., Tugwood, J. and Green, T. (1996b) The distribution of theta class glutathione S-transferase in the liver and lung of mouse, rat and human. *Biochem. J.*, **318**, 297-303.
- Maltoni, C., Cotti, G. and Perino, G. (1988) Long-term carcinogenicity bioassays administered by ingestion to Sprague-Dawley rats and Swiss mice and by inhalation to Sprague-Dawley rats. *Ann. NY Acad. Sci.*, **534**, 352-366.
- Manno, M., Chirillo, R., Danlotti, G., Cocheo, V. and Albrizio, F. (1989) Carboxyhaemoglobin and fatal methylene chloride poisoning. *Lancet*, **2** (8657), 274.
- Maronpot, R.R., Devereux, T.R., Hegi, M., Foley, J.F., Kanno, J., Wiseman, R. and Anderson, M.W. (1995) Hepatic and pulmonary carcinogenicity of methylene chloride in mice: a search for mechanisms. *Toxicology*, **102**, 73-81.
- Masuda, Y., Yano, I. and Murano, T. (1980) Comparative studies on the hepatotoxic actions of chloroform and related halogenomethanes in normal and phenobarbital-pretreated animals. *J. Pharm. Dyn.*, **3**, 53-64. (IPCS, 1996 から引用)
- Mattsson, J.L., Albee, R.R. and Streeter, C.M. (1988) Evaluation of the acute neuropharmacologic effects of dichloromethane in rats. Midland, Michigan, Dow Chemical Company (Internal Report). (IPCS, 1996 から引用)
- Mattsson, J.L., Albee, R.R. and Eisenbrandt, D.L. (1990) Neurotoxicologic evaluation of rats after 13 weeks of inhalation exposure to dichloromethane or carbon monoxide. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **36**, 671-681.
- McGregor, D.B. (1979) Practical experience in testing unknowns *in vitro*. In: Pagel GE (ed) *Mutagenesis in Submammalian Systems, Status and Significance*. MTP Press, pp 53-71. (IPCS, 1996 から引用)
- McKenna, M.J., Zempel, J.A. and Braun, W.H. (1982) The pharmacokinetics of inhaled methylene chloride in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **65**, 1-10.
- Meltzer, N., Rampy, L., Bielinski, P., Garofalo, M. and Sayad, R. (1977) Skin irritation, inhalation toxicity studies of aerosols using methylene chloride. *Drug Cosmet. Ind.*, **120**, 38-40.
- Menear, J.H., McConnell, E.E., Huff, J.E., Renne, R.A. and Giddens, E. (1988) Inhalation toxicology and carcinogenesis studies of methylene chloride (dichloromethane) in F344/N rats and B6C3F₁ mice. *Ann. NY Acad. Sci.*, **534**, 343-351.
- Merck (2001) *The Merck Index 13th ed.* Merck and Co., Whitehouse Station, NJ.
- Meyer, D.J., Coles, B., Pemble, S.E., Gilmore, K.S., Fraser, G.M. and Kitterer, B. (1991) Theta, a new class of glutathione transferases purified from rat and man. *Biochem. J.*, **274**, 409-414.
- Morris, J.B., Smith, F.A. and Garman, R.H. (1979) Studies on methylene chloride-induced fatty liver. *Exp. Mol. Pathol.*, **30**, 386-393. (IPCS, 1996 から引用)
- Moskowitz, S. and Shapiro, H. (1952) Fatal exposure to methylene chloride vapor. *Am. J. Ind. Hyg. Occup. Med.*, **5**, 116-123.

- Myhr, B., McGregor, D., Bowers, L, Riach, C., Brown, A.G., Edwards, I., McBride, D., Martini, R. and Caspary W.J. (1990) L5178Y mouse lymphoma cell mutation assay results with 41 compounds. *Environ. Mol. Mutagen.*, **16** (Suppl 18), 138-167.
- Narotsky, M.G., Hamby, B.T., Mitchell, D.S. and Kavlock, R.J. (1992) Full-litter resorptions caused by low-molecular weight hydrocarbons in F-344 rats [abstract 67]. *Teratology*, **45**, 472.
- Negherborn, W.O. (1959) Methylene chloride. In: Negherborn, W.O. (ed.) *Handbook of toxicology III: insecticides, a compendium*. London, Saunders, pp. 485-486.
- Nelson, H.H., Wiencke, J.K., Christiani, D.C., Cheng, T.J., Zuo, Z.F., Schwartz, B.S., Lee, B.K., Spitz MR, Wang, M., Xu, X.P. and Kelsey, K.T.(1995) Ethnic differences in the prevalence of the homozygous deleted genotype of glutathione S-transferase theta. *Carcinogenesis*, **16**, 1243-1245.
- Nestmann, E.R., Lee, E.G.H., Matula, T.I., Douglas, G.R. and Mueller, J.C. (1980) Mutagenicity of constituents identified in pulp and paper mill effluents using the Salmonella/ mammalian-microsome assay. *Mutat. Res.*, **79**, 203-212. (IPCS, 1996 から引用)
- Neuhauser, E.F., Loehr, R.C., Malecki, M.R., Milligan, D.R. and Durkin, P.R. (1985) The toxicity of selected organic chemicals to the earthworm *Eisenia fetida*. *J. Environ. Qual.*, **14**, 383-388.
- NFPA, National Fire Protection Association (2002) *Fire Protection Guide to Hazardous Materials*, 13th ed., Quincy, MA.
- Nitschke, K.D., Burek, J.D., Bell, T.J., Kociba, R.J., Rampy, L.W. and McKenna, M.J. (1988a) Methylene chloride: A 2-year inhalation toxicity and oncogenicity study in rats. *Fundam. Appl. Toxicol.*, **11**, 48-59.
- Nitschke, K.D., Eisenbrandt, D.L., Lomax, L.G. and Rao, K.S. (1988b) Methylene chloride: Two-generation inhalation reproductive study in Fischer 344 rats. *Fundam. Appl. Toxicol.*, **11**, 60-67.
- Nitschke, K.D., Stevens, G.A., Kociba, R.J., Keyes, D.G. and Rampy, L.W. (1981) Methylene chloride: a four week inhalation toxicity study in rats, hamsters and mice. Midland, Michigan, Dow Chemical Co. (Internal report). (IPCS, 1996)
- Norpoth, K., Witting, U. and Springorum, M. (1974) Induction of microsomal enzymes in the rat liver by inhalation of hydrocarbon solvents. *Int. Arch. Arbeitsmed.*, **33**, 315-321.
- Novak, J.J. and Hain, J.O.R. (1990) Furniture stripping vapor inhalation fatalities: two case studies. *Appl. Occup. Environ. Hyg.*, **5**, 843-847.
- Ott, M.G., Skory, L.K., Holder, B.B., Bronson, J.M. and Williams, P.R. (1983) Health evaluation of employees occupationally exposed to methylene chloride. *Scand. J. Work Environ. Health*, **9** (Suppl 1), 1-38.
- Ott, M.G., Carlo, G.L., Steinberg, S. and Bond, G.G. (1985) Mortality among employees engaged in chemical manufacturing and related activities. *Am. J. Epidemiol.*, **122**, 311-322.
- Pankow, D., Gutewort, R., Glatzel, W. and Tieze, K. (1979) Effect of dichloromethane on the sciatic motor conduction velocity of rats. *Experientia (Basel)*, **35**, 373-374. (IPCS, 1996 から引用)
- Pemble, S., Schroeder, K.R., Spencer, S.R., Meyer, D.J., Hallier, E., Bolt, H.M., Ketterer, B., Taylor, J.B. (1994) Human glutathione S-transferase Theta (GST T1): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *Biochem. J.*, **300**, 271-276.

- Perocco, P. and Prodi, G. (1981) DNA damage by haloalkanes in human lymphocytes cultured *in vitro*. *Cancer Lett.*, **13**, 213- 218. (IPCS, 1996 から引用)
- Plaa, G.L. and Larson, R.E. (1965) Relative nephrotoxic properties of chlorinated methane, ethane, and ethylene derivatives in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **7**, 37-44. (IPCS, 1996 から引用)
- Price, P. J., Hassett, C.M. and Mansfield, J.I. (1978) Transforming activities of trichloroethylene and proposed industrial alternatives. *In Vitro*, **14**, 290. (IPCS, 1996 から引用)
- Putz, V.R., Johnson, B.L. and Setzer, J.V. (1976) A comparative study of the effects of carbon monoxide and methylene chloride on human performance. *J. Environ. Pathol. Toxicol.*, **2**, 97-112.
- Quondamatteo, F., Schulz, T.G., Bunzel, N., Hallier, E. and Herken, R. (1998) Immunohistochemical localization of glutathione S-transferase-T1 in murine kidney, liver, and lung. *Histochem. Cell Biol.* **110**, 417-423.
- Raje, R., Basso, M., Tolen, T. and Greening, M. (1988) Evaluation of *in vivo* mutagenicity of low-dose methylene chloride in mice. *J. Am. Coll. Toxicol.*, **7**, 699-703. (IPCS, 1996 から引用)
- Rapson, W.H., Nazar, M.A. and Butsky, V.V. (1980) Mutagenicity produced by aqueous chlorination of organic compounds. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **24**, 590- 596. (IPCS, 1996 から引用)
- Rebert, C.S., Matteuci, M. J. and Pryor, G.T. (1989) Acute effects of inhaled dichloromethane on the EEG and sensory-evoked potentials of Fischer-344 rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **34**, 619-629. (IPCS, 1996 から引用)
- Reitz, R.H., Mendrala, A.L., Park, C.N., Andersen, M.E. and Guengerich, F.P. (1988) Incorporation of *in vitro* enzyme data into the physiologically-based pharmacokinetic (PB-PK) model for methylene chloride: implications for risk assessment. *Toxicol. Lett.*, **43**, 97-116.
- RIVM, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiene (1986) Methylene chloride; 48 hour IC₅₀/EC₅₀ *Daphnia magna* (86/HO63) and embryotoxicity for *Oryzias latipes* (86/HO65) (Project No. 840820) Bilthoven, National Institute of Public Health and Environmental Protection, The Netherlands. (IPCS, 1996 から引用)
- Roberts, B.L. and Dorough, H.W. (1984) Relative toxicity of chemicals to the earthworm *Eisenia foetida*. *Environ. Toxicol. Chem.*, **3**, 67-78.
- Roberts, C.Y.C. and Marshall, F.P.P. (1976) Recovery after "lethal" quantity of paint remover. *Br. Med. J.*, **1**, 20-21.
- Rosengren, L.E., Kjellstrand, P., Aurell, A. and Haglid, K.G. (1986) Irreversible effects of dichloromethane on the brain after long term exposure: A quantitative study of DNA and the glial cell marker proteins S-100 and GFA. *Br. J. Ind. Med.*, **43**, 291-299. (IPCS, 1996 から引用)
- Schumacher, H. and Grandjean, E. (1960) Comparative investigations on the anaesthetic effect and acute toxicity of nine solvents. *Arch. Gewerbepathol. Gewerbehyg.*, **18**, 109-119. (IPCS, 1996 から引用)
- Schutz, E. (1960) Effects of organic liquids on the skin. *Arzeimittelforschung*, **10**, 1027-1029. (IPCS, 1996 から引用)

- Schwetz, B.A., Leong, B.K.J. and Gehring, P.J. (1975) The effect of maternally inhaled trichloroethylene, perchloroethylene, methyl chloroform, and methylene chloride on embryonal and fetal development in mice and rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **32**, 84-96.
- Scott, J.B., Smith, F.A. and Garman, R.H. (1979) Exposure of mice to CH₂Cl₂ and CH₃OH alone and in combination [abstract]. *Arch. Gewerbepathol. Gewerbehyg.*, **18**, 109-119. (IPCS, 1996 から引用)
- Serota, D.G., Thakur, A.K., Ulland, B.M., Kirschman, J.C., Brown, N.M., Cotts, R.G. and Morgareidge, K. (1986a) A two-year drinking-water study of dichloromethane in rodents. I. Rats. *Food Chem. Toxicol.*, **24**, 951-958.
- Serota, D.G., Thakur, A.K., Ulland, B.M., Kirschman, J.C., Brown, N.M., Cotts, R.G. and Morgareidge, K. (1986b) A two-year drinking-water study of dichloromethane in rodents. II. Mice. *Food Chem. Toxicol.*, **24**, 959-963.
- Shannon, H.S., Haines, T., Bernholz, C., Julian, J.A., Verma, D.K., Jamieson, E. and Walsh, C. (1988) Cancer morbidity in lamp manufacturing workers. *Am. J. Ind. Med.*, **14**, 281-290.
- Sheldon, T., Richardson, C.R. and Elliott, B.M. (1987) Inactivity of methylene chloride in the mouse bone marrow micronucleus assay. *Mutagenesis*, **2**, 57-59. (IPCS, 1996 から引用)
- Sherratt, P.J., Pulford, D.J., Harrison, D.J., Green, T and Hayes, J.D. (1997) Evidence that human class theta glutathione S-transferase T1-1 can catalyse the activation of dichloromethane: a liver and lung carcinogen in the mouse. *Biochem. J.*, **326**, 837-846.
- Simmon, V.F., Kauhanen, K. and Tardill, R.G. (1977) Mutagenic activity of chemicals identified in drinking water. *Dev. Toxicol. Environ. Sci.*, **2**, 249-258. (IPCS, 1996 から引用)
- Soden, K.J. (1993) An evaluation of chronic metylene chloride exposure. *J. Occup. Med.*, **35**, 282-286.
- SRC, Syracuse Research Corporation (2002) HenryWin Estimation Software, ver. 3.10, North Syracuse, NY.
- SRC, Syracuse Research Corporation (2002) KowWin Estimation Software, ver. 1.66, North Syracuse, NY.
- Stewart, R.D. and Dodd, H.C.(1964) Absorption of carbon tetrachloride, trichloroethylene, tetrachloroethylene, methylene chloride, and 1,1,1-trichloroethane through the human skin. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, **25**, 439-446.
- Stewart, R.D., Fisher T.N., Hosko M.J., Peterson J.E., Baretta, E.D. and Dodd, H.C. (1972) Experimental human exposure to methylene chloride. *Arch. Environ. Health*, **25**, 342-348.
- Stewart, R.D., Hake, C.L. and Wu, A.(1976) Use of breath analysis to monitor methylene chloride exposure. *Scand. J. Work Environ. Health*, **2**, 57- 70.
- Svirbely, J.L., Highman, B., Alford, W. and Von Oettingen, W.F. (1947) The toxicity and narcotic action of mono-chloro-mono-bromo-methane with special reference to inorganic and volatile bromide in blood, urine and brain. *J. Ind. Hyg. Toxicol.*, **29**, 382-389. (IPCS, 1996 から引用)
- Tariot, P.M. (1983) Delirium resulting from methylene chloride exposure: Case report. *J. Clin. Psychiatry*, **44**, 340-342.

- Taskinen, H., Lindbohm, M.L. and Hemminki, K. (1986) Spontaneous abortions among women working in the pharmaceutical industry. *Br. J. Ind. Med.*, **43**, 199-205.
- Thier, R., Wiebel, F.A., Hinkel, A., Burger, A., Bruning, T., Morgenroth, K., Senge, T., Wilhelm, M. and Schulz, T.G.(1998) Species differences in the glutathione transferase GST T1-1 activity towards the model substrates methyl chloride and dichloromethane in liver and kidney. *Arch. Toxicol.*, **72**, 622-629.
- Thilagar, A.K. and Kumaroo, P.V. (1983) Induction of chromosome damage by methylene chloride in CHO cells. *Mutat. Res.*, **116**, 361-367. (IPCS, 1996 から引用)
- Thilagar, A.K., Back, A.M., Kirby, P.E., Kumaroo, P.V., Pant, K.J., Clarke, J.J., Knight, R. and Haworth, S.R. (1984 a) Evaluation of dichloromethane in short-term *in vitro* genetic toxicity assays. *Environ. Mutagen.*, **6**, 418-419.(IPCS, 1996 から引用)
- Thilagar, A.K., Kumaroo, P.V., Clarke, J.J., Kott, S., Back, A.M. and Kirby, P.E. (1984b) Induction of chromosome damage by dichloromethane in cultured human peripheral lymphocytes, CHO cells and mouse lymphoma L5178Y cells. *Environ. Mutagen.*, **6**, 422. (IPCS, 1996 から引用)
- Tomenson, J.A., Bonner, S.M., Heijine, C.G., Farrar, D.G. and Cummings, T.F. (1997) .Mortality of workers exposed to methylene chloride employed at a plant producing cellulose triacetate film base. *Occup. Environ. Med.* **54**, 470-476.
- Trevors, J.T. (1985) Effect on methylene chloride on respiration and electron transport system (ETS) activity in freshwater sediment. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **34**, 239-245.
- Trueman, R.W. and Ashby, J. (1987) Lack of UDS activity in the livers of mice and rats exposed to dichloromethane. *Environ. Mol. Mutagen.*, **10**, 189-195. (IPCS, 1996 から引用)
- Trueman, R.W., Burlinson, B., Lefevre, P.A. and Ashby, J. (1987) Inactivity of methylene chloride as a UDS-initiating agent in mouse and rat hepatocytes exposed *in vivo* and *in vitro*. *Mutat. Res.*, 181, 346. [abstract]. (IPCS, 1996 から引用)
- Truhaut, R., Boudene, C., Jounany, J.M. and Bouant, A. (1972) The application of the physiogram to the investigation of the acute toxicity of chlorinated solvents. *Eur. J. Toxicol.*, **5**, 284-292. (IPCS, 1996 から引用)
- U.S. EPA, Environmental Protection Agency (1978) Statesment of bassis and purpose for an amendment to the national interium primary drinking water regulations on trihalomethanes, January, 1978. *Off. Water Supply*, Washington, DC. (U.S. EPA 1980 から引用)
- U.S. EPA, Environmental Protection Agency (1980) Ambient water quality criteria for halomethanes. Washington, DC, (EPA 440/5-80-051; NTIS PB81-117 624).
- U.S. EPA, Environmental Protection Agency (1995) Health assessment document for dichloromethane (methylene chloride). Final report. EPA /600/8-82/004F., Research Triangle Park, N.C. 1995.
- U.S. EPA, Environmental Protection Agency (2002) Integrated Risk Information System, National Library of Medicine, (<http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?IRIS> から引用).
- U.S. NIST, National Institute of Standards and Technology (1998) NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library, Gaithersburg, MD.
- U.S. NLM, National Library of Medicine (2002) HSDB, Hazardous Substances Data Bank. Bethesda,

- MD (<http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB> から引用).
- U.S. NTP, National Toxicology Program (1986) Toxicology and carcinogenesis studies of dichloromethane (methylene chloride) (CAS No. 75-09-2) in F344/N rats and B6C3F₁ mice (inhalation studies). NTP Technical Report No. 306, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 86-2562
- U.S. NTP, National Toxicology Program (2002) 9th Report on Carcinogens., U.S. Department of Health and Human Services Public Health Service.
- U.S. OSHA, Occupational Safety and Health Administration (1997) Occupational exposure to methylene chloride. Final rule. Federal Register, **62**, 1494-1619.
- Van Beck, L. (1990) Investigation of a possibility to reduce the use of rabbits in skin irritation tests; experiments with dichloromethane, trichloroethylene, tetrachloroethylene and 1,1,1-trichloroethane. Doc. 56645/34/90, rep. V 89.265. Zeist, The Netherlands, TNO-CIVO Institutes. (IPCS, 1996 から引用)
- Verschuieren, K. (2001) Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals, 4th ed., John Wiley & Sons, Inc., New York, NY.
- Volskay, V.T. and Grady, C.P.L. (1988) Toxicity of selected RCRA compounds to activated sludge microorganisms. J. Water Pollut. Control Fed., **60**, 1850-1856.
- Von Oettingen, W.F., Powell, C.C., Sharpless, N.E., Alford, W.C. and Pecora, L.J. (1950) Comparative studies on the toxicity and pharmacodynamic action of chlorinated methanes with special reference to their physical and chemical characteristics. Arch. Int. Pharmacodyn. Ther., **81**, 17-34. (IPCS, 1996 から引用)
- Weber, M., Martin, A., Bollaert, P.E., Bauer, P.h., Leroy, F., Meley, M., Mur, J.M., Carry, C. and Lambert, H. (1990) Intoxication aiguë par chlorure de méthylène et méthanol par voie percutanée. Arch. Mal. Prof., **51**, 103-106.
- Weinstein, R.S. and Diamond, S.S. (1972) Hepatotoxicity of dichloromethane (methylene chloride) with continuous exposure at a low dose level. In: Proceedings of the 3rd Annual Conference on Environmental Toxicology. Dayton, Ohio, Wright-Patterson Air Force Base, Aerospace Medical Research Laboratory (AMRL-TR-72-130, 209-220).
- Weiss, G. (1967) Toxic encephalosis in occupational contact with methylene chloride. Zent. bl Arbeitsmed. Arbeitsschutz, **17**, 282-285.
- Wells, G.G. and Waldron, H.A. (1984) Methylene chloride burns. Br. J. Ind. Med., **41**, 420.
- Westbrook-Collins, B., Campbell, J.A., Poorman, P.A., Sharief, Y. and Allen, J.W. (1988) SCE, chromosome aberration, and synaptonemal complex analyses in mice exposed to dichloromethane. Environ. Mol. Mutagen., **11**(Suppl 11), 112. [abstract 2741] (IPCS, 1996 から引用)
- Westbrook-Collins, B., Allen, J.W., Kligerman, A., Campbell, J.A., Erexson, G.L., Kari, F. and Zeiger, E. (1989) Dichloromethane-induced cytogenetic damage in mice. Environ. Mol. Mutagen., **14** (Suppl 15), [abstract 630]. (IPCS, 1996 から引用)

- Westbrook-Collins B, Allen JW, Sharief Y, & Campbell J (1990) Further evidence that dichloromethane does not induce chromosome damage. *J. Appl. Toxicol.*, **10**, 79-81. (IPCS, 1996 から引用)
- Zeiger, E., Haseman, J.K., Shelby, M.D., Margolin, B.H. and Tennant, R.W. (1990) Evaluation of four *in vitro* genetic toxicity tests for predicting rodent carcinogenicity: Confirmation of earlier results with 41 additional chemicals. *Environ. Mol. Mutagen.*, **16**, 1-14. (IPCS, 1996 から引用)
- 伊藤敦子, 川田文夫, 竹下智子, 伊藤順通 (1990) メチレンクロライドの生体影響に関する実験的研究. *法中毒*, **8**, 64-65.
- 化学物質評価研究機構編 (2002) 化学物質ハザード・データ集, 経済産業省化学物質管理課 監修, 第一法規出版, 東京 (http://www.cerij.or.jp/ceri_jp/koukai/sheet/sheet_indx4.htm, http://www.safe.nite.go.jp/data/index/pk_hyoka.hyoka_home に記載あり).
- 経済産業省 (2001) 平成 12 年度化学工業統計年報
- 経済産業省 (2002) 平成 13 年度化学工業統計年報
- 経済産業省, 環境省 (2003a) 特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の改善の促進に関する法律 (化学物質排出把握管理促進法)に基づく届出排出量及び移動量並びに届出外排出量の集計結果について〈排出年度:平成 13 年度〉.
- 経済産業省, 環境省 (2003b) 平成 13 年度 PRTR 届出外排出量の推計方法等の概要 (http://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/kohyo/todokedegaisanshutudata.htm から引用).財務省 (2003) 貿易統計 (<http://www.customs.go.jp/toukei/info/>から引用).
- 製品評価技術基盤機構 (2002) 化学物質のリスク評価及びリスク評価手法の開発プロジェクト/平成 13 年度研究報告書
- 製品評価技術基盤機構 (2004) 化学物質のリスク評価及びリスク評価手法の開発プロジェクト/平成 15 年度研究報告書
- 通商産業省(1986): 通商産業省公報(1986年 12月 27日; 製品評価技術基盤機構 化学物質管理情報 (<http://www.nite.go.jp> から引用).
- 通商産業省 (1998) 平成 9 年度化学工業統計年報.
- 通商産業省 (1999) 平成 10 年度化学工業統計年報.
- 通商産業省 (2000) 平成 11 年度化学工業統計年報.
- 健康影響評価検討委員会 (有機塩素化合物・炭化水素類評価小委員会) (1997) ジクロロメタンの健康影響について, *大気環境学会誌*, 特別号, 113-127.
- 西尾晃, 矢島純夫, 矢矧守, 佐々木幸良, 沢野芳範, 宮尾陟(1984) ジクロロメタンのラットに対する催奇形性. *鹿児島大学農学部学術報告*, **34**, 94-103.
- 竹下智子, 伊藤敦子, 川田文夫, 伊藤順通, 伊藤金次 (1991) メチレンクロライドの生体影響に関する実験的研究. *法中毒*, **9**, 100-101.
- 日本化学工業協会 (2002) (社) 日本化学工業協会のレスポンシブル・ケアによる PRTR の実施について—2002 年度化学物質排出量調査結果— (2001 年度実績).

- 日本産業衛生学会 (1994) 許容濃度提案理由書集、平成 6 年 9 月 30 日.
- 日本産業衛生学会 (2000) 許容濃度提案理由書集 増補版, 1994~2000 年, 46-51.
- 日本産業衛生学会 (2002) 許容濃度等の勧告, 産衛誌, **44**, 140-164.

付表1 ジクロロメタンの急性毒性試験結果 (LD₅₀ 又は LC₅₀ を対象)

動物種・系統・性別	投与経路	媒体	投与条件等	LD ₅₀ (ppmまたはmg/kg)	文献
ラット(SD) 雄	吸入	—	LC ₅₀ 6-時間	15,000 ppm (52,300 mg/m ³)	Bonnet et al., 1980
ラット (Alderley Park)	吸入	—	LC ₅₀ 15-分	56,000 ppm (197,790 mg/m ³)	Clark & Tinston, 1982
マウス (LF1) 雌	吸入	—	LC ₅₀ 6-時間	14,000 ppm(49,100 mg/m ³)	Gradiski et al., 1978
マウス (ICR) 雄	吸入	—	LC ₅₀ 6-時間	16, 100 ppm (55, 870 mg/m ³)	Scott et al., 1979
マウス (CF-1) 雄	吸入	—	LC ₅₀ 20-分	26,000 ppm (92,680 mg/m ³)	Aviado et al., 1977,a, b
モルモット	吸入	—	LC ₅₀ 6-時間	11,600 ppm(40,200 mg/m ³)	Balmer et al., 1976
ラット CDF (F-344)	経口	ND	ND	1,530-2,524	Carreon, 1981
ラット (Wistar) 雄	経口	ND	ND	1,710-2,250	Klimmer, 1968
ラット(SD) 雄	経口	ND	ND	2,120	Kimura et al., 1971
ラット(SD) 雄 雌	経口	ND	ND	雄; 2,280 雌; 1,410	Laham, 1978
マウス (CF-1) 雄	経口	ND	ND	1,987	Aviado et al., 1977,a, b
マウス (CF-1) 雄	腹腔内	ND	ND	448	
マウス 系統不明	腹腔内	ND	ND	500	Schumacher & Grandjean, 1960
マウス (Swiss-Webster)	腹腔内	コーン油	ND	1,990	Klaassen & Plaa, 1966
イヌ 系統不明	腹腔内	コーン油	ND	1,260	Klaassen & Plaa, 1967
マウス 系統不明	皮下	オリーブ油	ND	6,500	Kutob & Plaa, 1962

ND: データなし

付表2 ジクロロメタンの急性毒性試験結果 (毒性影響を対象)

動物種・系統・性別	投与経路	影響濃度または影響量 ppm mg/kg	所見等	文献
ラット (系統の記載なし)	吸入	4,800 ppm(17,000 mg/m ³) 1.5h	中枢神経系(CNS)の阻害	Heppel & Neal, 1944
ラット (SD)	吸入	8,000 ppm 以上(28,200 mg/m ³) 6h	体温低下、血圧低下、痙攣	Laham, 1978
ラット (Alderley-Park)	吸入	9,000 ppm (31,800 mg/m ³) (10-分 EC ₅₀)	中枢神経抑制	Clark & Tinston, 1982
ラット 雌	吸入	15,000 ppm(53,000 mg/m ³) 30-分	試験濃度; 15,000 ppm 感覚麻痺、呼吸困難	Schumacher & Grandjean, 1960
ラット (F344)	吸入	2,000 ppm 2.5h	体性感覚惹起反応と脳波に変化 (統計学的有意) ジクロロメタン 2,000 ppm は CO-Hb 濃度を 10%にする。これは CO 157 mg/m ³ への暴露と匹敵するが CO 157 mg/m ³ の暴露では体性感覚 惹起反応と脳波に変化はなかった ので、一酸化炭素(代謝物)ではなく ジクロロメタンの影響と考える。	Mattsson et al., 1988
ラット (F-344)	吸入	>4,800 ppm(>17,700 mg/m ³)	体性感覚誘発の変化	Rebert et al., 1989
ラット (Wistar)	吸入	500, 1000, 3000 ppm (1770, 3500, 10,600 mg/m ³) 3h	総睡眠時間と REM 睡眠時間間隔 の用量相関的延長 1,000、3,000 ppm ; REM 睡眠比率 の 20%低下	Fodor & Winneke, 1971 Fodor et al., 1973
ラット (系統の記載なし)	吸入	25,0 2,800~28,000 ppm (9,900~99,000 mg/m ³) 25,000~28,000 ppm (8,800~99,000 mg/m ³)1.5h または 16,000/18,000 ppm (54,000/64,000 mg/m ³) 6h 5,000~9,000 ppm(17,700~ 31,800 mg/m ³) 1.5h 5,000 ppm(17,7000 mg/m ³)以下	深麻酔を伴う初期興奮期の出現、 筋緊張と脳波活性の減少とその 結果の呼吸困難 活動電位の停止 長期睡眠(脳波の脱同調期なし) EEG(脳波)及 EMG(筋電位)活性に 計測可能な影響なし	Berger & Fodor, 1968
マウス (Swiss)	皮下	1,700 mg/kg <5,000 mg/kg.	フェノバルビタール 誘導睡眠時間の延伸 肝臓の機能及び組織に影響なし	Kutob & Plaa, 1962
マウス (CF-1)	吸入	10,000 ppm(35,300 mg/m ³) 20分	中枢神経の抑制による昏睡(回復性)	Aviado et al., 1977a,b
マウス (Swiss)	吸入	13,000(45,900 mg/m ³) 7h 16,000 ppm(56,500 mg/m ³) 7h	中枢神経の抑制による昏睡(回復性) 肝臓の脂肪化 (腎臓でも稀に生じた)	Svirbely et al., 1947
マウス (Swiss-Webster)	吸入	47,500 ppm (168,000 mg/m ³) 20秒.	学習能力、単純受動回避行動の減少 (暴露 1 - 4 日後)	Alexeef & Kiglore, 1983
モルモット	吸入	11,100 ppm(38,800 mg/m ³) 6h	CO-Hb 濃度の上昇、肝臓の中性脂肪 の増加(血漿では影響なし) 肺のうつ血及び出血、肝細胞の中	Balmer et al., 1976

動物種・系統・性別	投与経路	影響濃度または影響量 ppm mg/kg	所見等	文献
			心性脂肪化(軽度～中等度)、行動の変化	
モルモット	吸入	5,200 ppm(17,700 mg/m ³) 6h	肝臓細の胞脂肪滴様変化 中性脂肪量; 肝臓で増加(140%)、 血清中で減少(64%)	Morris et al., 1979
ウサギ	吸入	25,000 ppm(90,000 mg/m ³) 2h	血圧、心拍数、脳波への影響はなし。 血清 AST の増加	Truhaut et al., 1972
イヌ(ヒール)	吸入	40,000 ppm (141,200 mg/m ³) 7h 857 ppm(3,000 mg/m ³)	心電図の変化、血圧の低下、 心拍/呼吸数の減少 行動への影響(反射反応の減少)	Von Oettingen et al., 1950
ラット (Wistar)	吸入	140 ppm(500 mg/m ³) 3h	肝臓の P450 及び肝臓特有酵素への 影響なし	Kurppa et al., 1981
ラット (SD)	吸入	100 ppm(350 mg/m ³) 5 分間-5 回	肝細胞ベータグルクロシダーゼ; ミクロゾームで増加、ライソゾーム で減少	
モルモット	吸入	4,800 ppm(17,000 mg/m ³) 6h	試験濃度; 5,000—16,000 ppm 中性脂肪量; 増加-肝臓、減少-血清	Balmer et al., 1976
ラット (各種の 系統)	吸入	>500 ppm(1,770 mg/m ³)	試験濃度; 1,000 5,000 ppm CO-Hb 濃度の増加	MacEwen et al., 1972
ラット (Wistar)	経皮	2,000 mg/kg 24h の閉塞貼付	軽度の行動への影響、 肝臓の肉眼所見 (腫大) .	Janssen & Pot, 1988
ラット	経皮	2-20 分間 腹部皮膚を浸漬	血色素尿	Schutz, 1960
ラット (Wistar)	腹腔	1,060 mg/kg (フェノバル ビタール前処置)	中枢神経抑制	Masuda et al., 1980
ラット 雄	腹腔	510 mg/kg	坐骨運動神経伝導率の低下(11%) カルボキシヘモグロビン量の上 昇(6.8%)	Pankow et al., 1979
マウス (Swiss- Webster)	腹腔	致死濃度(2000 mg/kg) 2,000 mg/kg (コーン油)	軽度の肝臓の炎症 腎尿管の変化	Klaassen & Plaa, 1966
ラット マウス	腹腔	≥ 660 mg/kg	血清 AST,ALT 活性の用量相関的 増加、 グルコース-6-リン酸脱リン酸酵素活 性、シトクロム P450、BSP 排泄 試験では影響なし	Klaassen & Plaa, 1966 Cornish et al., 1973 Masuda et al., 1980 Corsi et al., 1983
イヌ (mongrel)	腹腔	800 mg/kg (コーン油) 1,300 mg/kg	ALT 活性の上昇 肝臓、腎臓の軽度の組織学的変化	Klaassen & Plaa, 1967
ラット (F344)	腹腔	1,330 mg/kg (コーン油)	腎尿管の変化	Kluwe et al., 1982
マウス (Swiss)	腹腔	1,300 mg/kg(コーン油)	腎尿管の変化なし	Plaa & Larson, 1965

有害性評価実施機関名，有害性評価責任者及び担当者一覧

有害性評価実施機関名：財団法人化学物質評価研究機構

有害性評価責任者及び担当者

有害性評価責任者	高月 峰夫
有害性評価担当者	
1. 化学物質の同定情報	林 浩次
2. 一般情報	林 浩次
3. 物理化学的性状	林 浩次
4. 発生源情報	独立行政法人 製品評価技術基盤機構
5. 環境中運命	高久 正昭
6. 生態影響評価	野坂 俊樹
7. ヒト健康影響評価	清水 康資

有害性評価報告書外部レビュー一覧

環境中の生物への影響

吉岡 義正 大分大学教育福祉科学部

ヒト健康への影響

白井 智之 名古屋市立大学大学院医学研究科

改訂記録

2002年3月 原案作成

2003年5月 Ver.1.0 経済産業省 化学物質審議会管理部・審査部会
第16回安全評価管理小委員会審議了承

2004年9月 Ver.1.1 初期リスク評価書作成指針等の変更による修正、
新たな情報の追加