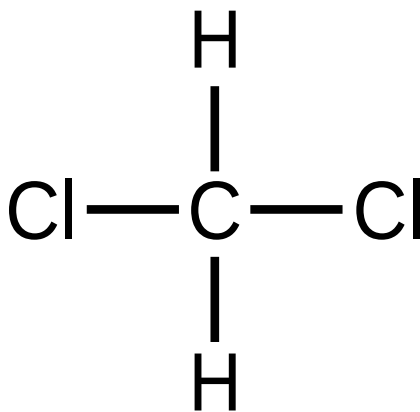


(案)

優先評価化学物質のリスク評価(一次)
人健康影響に係る評価
有害性情報の詳細資料

ジクロロメタン(別名塩化メチレン)

優先評価化学物質通し番号 7



平成 29 年 1 月

厚生労働省

目 次

1	1 有害性評価(人健康)	1
2	1-1 有害性評価値に関する国内外の評価	1
3	1-1-1 一般毒性.....	1
4	(1) 経口	1
5	(2) 吸入	2
6	1-1-2 生殖発生毒性.....	3
7	1-1-3 発がん性.....	3
8	(1) 経口	4
9	(2) 吸入	5
10	1-2 一般毒性	6
11	1-2-1 経口暴露.....	6
12	(1) ヒトへの影響	6
13	(2) 動物への影響	6
14	1-2-2 吸入暴露.....	7
15	(1) ヒトへの影響	7
16	(2) 動物への影響	8
17	1-2-3 一般毒性のメカニズム	10
18	1-2-4 有害性評価値の導出	10
19	1-3 生殖・発生毒性.....	11
20	1-3-1 経口暴露.....	11
21	(1) ヒトへの影響	11
22	(2) 動物への影響	11
23	1-3-2 吸入暴露.....	12
24	(1) ヒトへの影響	12
25	(2) 動物への影響	12
26	1-3-3 その他の情報.....	13
27	1-3-4 有害性評価値の導出	13
28	1-4 変異原性(遺伝毒性)	13
29	1-4-1 ヒトへの影響	13
30	1-4-2 変異原性に関する試験	13
31	(1) <i>In vitro</i> 試験	14
32	(2) <i>In vivo</i> 試験	14
33	1-4-3 変異原性のメカニズム関連情報	16
34	1-4-4 変異原性の評価.....	17
35	1-5 発がん性	17
36	1-5-1 経口暴露.....	17
37	(1) ヒトへの影響	17
38	(2) 動物への影響	18
39	1-5-2 吸入暴露.....	18
40	(1) ヒトへの影響	19
41	(2) 動物への影響	21
42	1-5-3 発がんのメカニズム	22
43		

1	1-5-4 有害性評価値の導出	23
2	1-6 その他の有害性に関する情報	24
3	1-6-1 生体内運命（体内動態）	24
4	(1) 吸収	25
5	(2) 分布	25
6	(3) 代謝	25
7	(4) 排泄	26
8	1-6-2 急性毒性.....	27
9	(1) ヒトに関する情報.....	27
10	(2) 動物に関する情報.....	28
11	1-6-3 刺激性及び腐食性.....	29
12	(1) ヒトへの影響	29
13	(2) 動物への影響	29
14	1-6-4 感作性	30
15	1-7 有害性評価値のまとめ.....	30
16	1-8 文献	32
17	1-9 （参考）BMD 算出データ	43
18		
19		
20		
21		

1 有害性評価（人健康）

1-1 有害性評価値に関する国内外の評価

1-1-1 一般毒性

(1) 経口

入手した全ての評価書が、一般毒性の経口経路の評価として、肝臓毒性(肝細胞変異)を指標にラットの2年間の飲水投与試験(Serota et al., 1986a)をキースタディとして選定していた。しかし、PODの設定や不確実係数の設定が異なり、評価値は6 µg/kg/day ~ 60 µg/kg/dayであった。

● ATSDR (2000)

ラットを用いた2年間の飲水投与試験(Serota et al., 1986a)における肝毒性に基づくNOAEL:6 mg/kg /day を不確実係数100(種差及び個体差:100)で除して長期MRLを0.06 mg/kg/dayとしている。

● WHO 飲料水水質ガイドライン 第3版(WHO, 2004); 我が国の水質汚濁に係る環境基準(2003); 我が国の食品健康影響評価(食品安全委員会, 2008)

ジクロロメタンは、評価時においては、経口投与による遺伝毒性及び発がん性があるとは判断できず、非発がん毒性に関するTDIに、不確実係数で発がんの可能性を考慮することが、適切であると判断された。各毒性試験結果より、ラットを用いた104週間飲水投与試験における肝毒性のNOAEL:6 mg/kg /day が非発がん毒性に関して得られた無毒性量の最小値であった。したがって、ジクロロメタンのTDIは、このラットの肝毒性を根拠に、不確実係数1000(種差・個体差各10、毒性の重篤性〔発がんの可能性〕10)を適用して、6 µg/kg /dayと判断した。

● カナダ水質基準(Health Canada, 2011)

ラットを用いた2年間の飲水投与試験(Serota et al., 1986a)における肝臓への影響を基にBMDL₁₀を推定し(マルチステージ:雄4.2 mg/kg/day) BMDL₁₀をデータベース不足の不確実係数3を種差及び個体差100に併せた300で除した0.014 mg/kg/dayをTDIとして設定している。水道水の基準値は体重70kgのヒトが4Lの水(20%が水道水から)を摂取する事を想定し、0.05 mg/Lとされている。

● 米国 EPA Integrated Risk Information System (IRIS) (EPA, 2011)

ラットの2年間の飲水投与試験(Serota et al., 1986a)における肝毒性の影響について、PBPKモデルを用いラット及びヒトの肝臓における暴露量を考慮し、ラット体内BMDL₁₀(51.42 mg/kg/day: Logisticモデル)からヒト体内BMDL₁₀(13.31 mg/kg/day)と推定した(scaling factor: 4.09 (ヒト体重/ラット体重)^{0.25})。このヒト体内BMDL₁₀の値をヒト等価用量(HED)に換算した0.19 mg/kg/dayを不確実係数30(体内動態種差:3、体内動態個体差:3、データベース不足:3)で除した6×10⁻³ mg/kg/dayをRfDとしている。

(2) 吸入

一般毒性の吸入経路の評価としては、ヒトの中枢神経に対する影響を指標としている評価と、ラットの肝臓への影響を指標とした2年間の吸入暴露試験(Nitschke et al., 1988a)をキースタディとして評価値を導出している評価書があった。評価値としてはヒトの中枢神経影響を指標にした我が国の環境基準の 0.15 mg/m^3 が最も低い値であった。

● US. Occupational Safety and Health Administration(OSHA) (OSHA, 1997)

中枢神経系への影響を考慮して短時間暴露許容濃度を 2000 ppm から 125 ppm に引き下げたが、ヒトの暴露 175 ppm (8-h TWA) 以下で中枢神経への影響が認められている事(Cherry et al., 1983)から、現在設定している短時間暴露許容濃度(STEL)の 125 ppm が十分であるかは引き続き調査が必要であるとしている。

● ACGIH(1988)、日本産業衛生学会(1999)、労働安全衛生法 (2004)

CO-Hb(一酸化炭素ヘモグロビン)生成による中枢神経系への影響を防止し、遺伝毒性発現リスクおよび発がんリスクが実質的に無視できる濃度として、許容濃度: 50 ppm (170 mg/m^3)、最大許容濃度: 100 ppm (340 mg/m^3)が提案されている。我が国の労働安全衛生法は ACGIH (1988) 及び日本産業衛生学会 (1999) の提案内容を精査し、「理由が妥当であると考えられる」とし、管理濃度を 2004 年に 100 ppm から 50 ppm に引き下げている。

● WHO air quality (WHO, 2000)

CO-Hb 生成をヒトでのクリティカルエンドポイントとして、24 時間暴露した際に CO-Hb の増加が 0.1% 以内となる 3 mg/m^3 を指針値としている。CO-Hb の半減期を考慮し、1 週間あたりでは、 0.45 mg/m^3 と定めている。

● 我が国の環境基準 (環境省, 2000)

ヒトの発がん性の可能性を完全に除外できないものの、その可能性は小さいと判断し、発がん性以外の毒性に関するデータを基本として、指針値を定めることが妥当とした。発がん性以外の毒性 (神経系への影響等) については、労働環境において健康への影響の見られない濃度レベルは 300 mg/m^3 程度の濃度域に存在しているとし、これに不確実係数 (最大限の不確実性 1000 に更に 2 を乗じた) 2000 で除して得た数値 0.15 mg/m^3 (年平均値) を指針として提案した。なお、不確実係数 2 の根拠は、その程度を明確にすることは困難が伴うものの、発がん性以外の毒性の NOAEL を明確にすることが困難である事、ヒトに対する発がん性を完全に除外できない事、限定的であるが生殖影響を示す事としている。

● 環境有害物質・特定疾病対策庁(ATSDR, 2000)

Haun et al (1972)の、ラット 14 週間暴露で認められた肝臓に対する影響の LOAEC を 25 ppm を不確実係数 90 (3: LOAEL、3: 種差、10: 個体差) で除した 0.3 ppm を中期 MRL として設定している。一方、Nitschke et al. (1988a)の 2 年間試験の NOAEL=50 ppm を基に暴露状況(6 時間/日、5 日/週)で補正した 8.92 ppm を不確実係数 30 (3: 種差、10: 個体差) で除した 0.3 ppm を長期 MRL として設定している。

● 産業技術総合研究所 (2005年)

Nitschke et al. (1988a) のラット 2 年間試験で認められた肝毒性の影響について、元文献の情報を統計処理し NOAEL 200ppm と判定し、200 ppm 連続暴露に換算した 35.7 ppm を POD と

して採用した。不確実係数は 100 (種差・個体差) で十分と判断している。

● 米国. EPA Integrated Risk Information System (IRIS) (EPA, 2011)

Nitschke et al. (1988a) のラット 2 年間試験で認められた肝毒性の影響について、PBPK モデルを用いラット及びヒトの肝臓における暴露量を考慮し、ラット体内 BMDL₁₀ (531.82 mg/m³: Log-probit モデル) からヒト体内 BMDL₁₀ (130.03 mg/m³) を推定した。このヒト体内 BMDL₁₀ の値をヒト等価用量 (HED) に換算した 17.2 mg/m³ を不確実係数 30 (体内動態種差: 3、体内動態個体差: 3、データベース不足: 3) で除した 0.6 mg/m³ を RfC としている。

1-1-2 生殖発生毒性

既知件を整理した結果、非発がん影響の評価値として生殖発生毒性を指標にした評価は、経口、吸入いずれの経路でも得られなかったが、US EPA(EPA, 2011)が、非発がん性影響として肝毒性、神経毒性との比較を行った際に用いた生殖発生毒性影響の評価値が得られたので紹介する。また、評価値の導出は行っていないものの OECD の SIDS 評価文書で、信頼性の有る情報 (キースタディ) として SIAP に掲載されている生殖発生毒性の概要についても下記する。

● 米国. EPA Integrated Risk Information System (IRIS) (EPA, 2011)

経口経路は、ラットの混餌による発生毒性試験の母体体重減少による NOAEL338 mg/kg/day を POD とし、不確実係数 300 (種差 10、個体差 10、データベース不足 3) を適用し、RfD を 1.1 mg/kg/day としている。一方、吸入経路は、雄マウスの吸入による精巣毒性影響を調べた試験の受胎率低下による NOAEL20.7 mg/m³ を POD とし不確実係数 100 (種差 3、個体差 10、データベース不足 3) を適用し RfC を 0.21 mg/m³ としている。

● OECD Initial Assessment Profile (2011 年)

ラットの二世世代繁殖試験において、最高濃度の 5300 mg/m³ において生殖発生毒性影響が認められなかったことから NOAEC を 5300 mg/m³ 以上としている。また、ラット及びマウスの発生毒性試験において、最高濃度の 4300 mg/m³ において児に影響は認められなかったとしている。

1-1-3 発がん性

ジクロロメタンの発がん性について国内外の機関の分類を表 1-1 に示す。IARC 及び日本産業衛生学会では近年の疫学調査(非ホジキンリンパ腫の症例対照研究、胆管がんの症例報告)の結果を基に以下のような変更があった。

- IARC は 2014 年に分類を 2B (ヒトに対して発がん性を示す可能性がある) から 2A (ヒトに対して恐らく発がん性を示す) に変更した (Benbrahim-Tallaa et al., 2014)。
- 日本産業衛生学会は 2015 年に、2B (ヒトに対して恐らく発がん性があると考えられる物質 (証拠が不十分)) という分類から、証拠がより十分である (疫学研究からの証拠は十分とは言えないものの、更に前回提案時及びその後の動物実験から動物での発がんの証拠は十分である) 2A に変更することを提案した (日本産業衛生学会, 2015)。

表 1-1 ジクロロメタンの発がん性に関する国内外機関の分類

評価機関	評価年	分類
------	-----	----

IARC	2014	2A:ヒトに対して恐らく発ガンを示す
米国 EPA	2005	ヒト発がん性の可能性が高い物質
EU	不明	2: ヒトに対する発ガン性が疑われる物質
米国 NTP	1989	R: ヒト発がん性があると合理的に予測される物質
ACGIH	1996	A3: 動物に対して発がん性が確認された物質であるが、ヒトへの関連性は不明
日本産業衛生学会	2015	2A(暫定): ヒトに対して恐らく発がん性があると判断できる物質(証拠がより十分な物質)

(2016.1 月現在)

(1) 経口

- 我が国における水質基準(厚労省, 2003)、WHO 飲料水水質ガイドライン 第 3 版(WHO, 2004)、我が国の食品健康影響評価(食品安全委員会, 2008)

ラットを用いた 2 年間の飲水投与試験(Serota et al., 1986a)における肝腫瘍の増加(施設背景データでは正常範囲内であるが対照に比べ増加したこと)を根拠に、NOAEL は、6 mg/kg /day とされた。TDI は、NOAEL : 6 mg/kg /day に不確実係数 1000 (種差及び個体差に 100、吸入暴露による発がん性を考慮して 10) を適用して、6 µg/kg /day と算定された。

- カナダ水質基準(Health Canada, 2011)

経口投与による発がん性試験で十分な情報が得られなかったため、NTP の吸入発がん性試験(NTP, 1986)の情報を基にリスク評価を行っている。PBPK モデルを用いて計算した 10^{-6} リスクは 0.169 mg/L と推定され、この値が非発がん性で算出した基準値(0.05 mg/L)より高いため、発がん性・非発がん性を含めた基準値は 0.05 mg/L となっている(本評価書による算出 : 0.169 mg/L を 70 kg の成人が 1 日 0.8 L (4L の 20%) を水道水から摂取するというカナダの評価書で用いている値を利用すると 10^{-5} リスクは、0.0193 mg/kg/day と算出される)。

- 米国. EPA Integrated Risk Information System (IRIS) (EPA, 2011)

B6C3F1 マウス飲水投与試験(Serota et al., 1986b; Hazleton Laboratories, 1983)の雄の肝臓の腺種とがんのデータに基づいて、発がんリスクの定量的評価を行った。Serota et al. (1986)では、雄マウスの肝臓がんを毒性影響として採用していないが、EPA は Hazleton Laboratories (1983)の元データを基に、腺種とがんの発現を併せて再解析し、用量相関のある毒性として評価した。マウス PBPK モデル(Marino et al., 2006)を基に、GST 経路の代謝によるジクロロメタン肝臓暴露量を算出した。60、125、185、250 (実際の摂取量 : 61、124、177、244)mg/kg/day 投与における肝臓 GST で代謝されるジクロロメタン量は、17.5、63.3、112.0、169.5 mg/L(肝)/day となり、マウス肝臓暴露 BMDL₁₀ は 39.6 mg/L(肝)/day (マルチステージモデル)となった。この値をヒトに補正するために allometric scaling factor : $7[(\text{ヒト体重}/\text{マウス体重})^{0.25}]$ で除しヒト肝臓暴露 BMDL₁₀ = 5.66 mg/L(肝)/day が得られた。この時、内部暴露量のスロープファクター (SF) は 1.77×10^{-2} (0.1/BMDL₁₀) と算出された。この値を用い、確率的ヒト PBPK モデル(David et al., 2006)で、感受性の高いヒト(GST-T1^{+/+})での体重当たりの外部暴露量の SF は、 1.7×10^{-3} / mg/kg/day と算出された(ヒトの BMDL₁₀ は、60 mg/kg/day 相当)。最終的な SF はこの値を丸めて 2×10^{-3} / mg/kg /day と定められた。

(2) 吸入

● カナダ環境保護法 (CEPA) (CEPA, 1993)

NTP のマウス発がん性試験(NTP, 1986)の肝臓・肺の腺腫・がんの影響を基に、PBPK モデルを用いて GST 経路の代謝を考慮した $TD_{0.05}$ は、マルチステージモデルにより 645ppm(2238 mg/m^3 雌：肺影響) ~ 4106 ppm (14248 mg/m^3 雄：肝臓影響) と推定された。この値を基に求めた EPI(Exposure/Potency Index)は、 0.1×10^{-6} から 7.2×10^{-6} となり、更なる政策の必要性は低から中と判断されている。

● 米国. Occupational Safety and Health Administration(OSHA) (OSHA, 1997)

NTP のマウス発がん性試験(NTP, 1986)における雌の肺がんのデータを基に PBPK で解析しリスク評価を行っている(肺がんのデータが肝臓がんより優れているという事ではなく、どちらの所見でもよいと考えた結果であるとしている)。今回の PEL (Permissible exposure limits) 25 ppm 暴露(就業期間全体)では 3.62/1000 の発がんによる死亡リスクと考えられ、以前の PEL 設定値である 500 ppm 暴露の発がんによる死亡リスク(126/1000)に比べて十分なリスクの削減が期待されるとしている。

● 産業技術総合研究所 (産総研、2005)

NTP のマウス発がん性試験(NTP, 1986)における肝臓がんについて線形多段階モデルを適用し、PB-PKモデルによって導出されたユニットリスク $2.7 \times 10^{-10}/\mu g/m^3$ を生涯連続暴露に補正した値 $1.5 \times 10^{-9}/\mu g/m^3$ を採用している。

● 米国. EPA Integrated Risk Information System (IRIS) (EPA, 2011)

Mennear et al (1988); NTP (1986)のマウス 102 週間吸入試験の雄の肝臓、肺における発がん影響について、マウス PBPK モデル(Marino et al., 2006)を基に、GST 経路の代謝による肝臓及び肺暴露量を算出した。2000 ppm 及び 4000 ppm 暴露の肝臓 GST 代謝によるジクロロメタン内部暴露量は、2363.7 及び 4972.2 mg/L (肝)/day、肺は、475.0 及び 992.2 mg/L (肺)/day となった。マルチステージキャンサーモデルにより肝臓及び肺の $BMDL_{10}$ の値が得られ、これらの値をヒトに補正するために allometric scaling factor : $7[(\text{ヒト体重}/\text{マウス体重})^{0.25}]$ で除しヒト肝臓暴露 $BMDL_{10}=77.8 \text{ } mg/L(\text{肝})/\text{day}$ 、ヒト肺暴露 $BMDL_{10}=7.0 \text{ } mg/L(\text{肺})/\text{day}$ が得られた。ここでユニットリスクを算出し、ヒト肝臓 ($0.1/\text{肝臓 } BMDL_{10} = 1.29 \times 10^{-3}$) 及びヒト肺 ($0.1/\text{肺 } BMDL_{10} = 1.44 \times 10^{-2}$) の値が得られた。次に確率的ヒト PBPK モデル(David et al., 2006)を用い、感受性の高いヒト (GST-T1^{+/+}) での体重当たりの外部暴露量のユニットリスクを推定した結果、肝臓 $8.5 \times 10^{-9} / \mu g/m^3$ 、肺 $5.6 \times 10^{-9} / \mu g/m^3$ が得られた。ここで、肝臓及び肺の発がんに対するリスクを各々独立したものと仮定し、両リスクを併せる必要があると考え、ヒト肝臓及び肺の BMD_{10} を基に算出したユニットリスク(ユニットリスクの中心傾向)の合算からの 90%信頼区間の上限が計算された(正規分布と仮定し、90%信頼区間の t 統計量 1.645 を用いて算出)。具体的には、肝臓及び肺のユニットリスクの各々の分散の和の平方根(両ユニットリスクの combined SD)に 1.645 を乗じた値に、(GST-T1^{+/+}) の肝臓と肺ユニットリスク中心傾向の和を足した $[2.2 \times 10^{-9}(\text{combined SD}) \times 1.645 + (5.1 \times 10^{-9} / \mu g/m^3 (\text{肝}) + 4.4 \times 10^{-9} / \mu g/m^3 (\text{肺})) = 1.3 \times 10^{-8}]$ 。この値を丸めて、ユニットリスクは、 $1 \times 10^{-8} / \mu g/m^3$ と定められた。

1-2 一般毒性

1-2-1 経口暴露

表 1-2 経口経路による一般毒性影響の国内外のリスク評価概要

評価機関	キースタディ	P O D	不確実係数	評価値
環境有害物質・特定 疾病対策庁 (ATSDR, 2000)	ラット2年間飲水投 与 (Serota et al., 1986a)	肝 毒 性 NOAEL:6 mg/kg /day	100 (種差 10、個体差 10)	MRL : 60 μg/kg/day
WHO 飲料水水質ガ イドライン 第 3 版 (WHO, 2004) 我が国の水質汚濁に 係る環境基準 (2003 年) 我が国の食品健康影 響評価 (食品安全委 員会, 2008)	ラット2年間飲水投 与 (Serota et al., 1986a	肝 毒 性 NOAEL : 6 mg/kg /day	1000 (種差 10、個体 差 10、毒性の重篤性 〔発がんの可能性〕 10)	TDI : 6 μg/kg/day
カ ナ ダ 水 質 基 準 (Health Canada, 2011)	ラット2年間飲水投 与 (Serota et al., 1986a	肝毒性 BMDL ₁₀ : 4.2 mg/kg/day	300 (種差 10、個体差 10、D B 不足 3)	TDI : 14 μg/kg/day
EPA Integrated Risk Information System (IRIS) (EPA, 2011)	ラット2年間飲水投 与 (Serota et al., 1986a	肝 毒 性 : BMDL ₁₀ (HED) 0.19 mg/kg/day	30(体内動態種差 : 3、 体内動態個体差 : 3、 D B 不足 : 3)	RfD : 6 μg/kg/day

(1) ヒトへの影響

調査した範囲内で、ヒトに対する経口経路での一般毒性の情報はなかった。

(2) 動物への影響

既知見の整理を行った結果、ジクロロメタン反復経口投与の主な標的臓器は肝臓である事が示された。ラット及びマウスの14日間強制経口投与で、それぞれ肝細胞壊死(Berman et al., 1995)及び肝細胞の空胞化が認められている(Condie et al.,1983)。また、マウス及びラットの3ヶ月飲水投与では、マウスに肝細胞の空胞化、ラットに肝細胞空胞化、尿のpH低下が認められた(Kirschman et al, 1986)。更に、マウス及びラットの104週間飲水投与でも肝臓組織への影響が認められているが(Serota et al., 1986ab)、最小NOAELはラットの試験で得られた。

各国の評価でキースタディとして選定されていた Serota et al., (1986a)の試験は、雌雄 F344 ラット（一群 5-20 匹/性）に 0、5、50、125、250 mg/kg/day の設定用量で 104 週間飲水投与し、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、肝細胞の変異がみられ、125 mg/kg 群以上では、総タンパク、コレステロール値の低下がみられた。

一般毒性のNOAELは5 mg/kg/day（推定摂取量：6 mg/kg/day）であった。

一方、ジクロロメタンの一般毒性のもう一つのターゲットとして、代謝物のCOによる神経毒性影響があり、F 344雄ラットに14日間強制経口投与し機能観察総合評価(FOB)を行った試験で感覚運動の指標であるクリック反応の成績で有意な低値が認められ、LOAEL337 mg/kg/day、NOAEL101 mg/kg/dayという値が得られている（Moser et al. 1995）。

我が国の食品安全委員会（食品安全委員会, 2008）及び水道水質基準(2003年)では、Serota et al., (1986a)の6 mg/kg/dayをPODとし発がん性の影響を考慮した不確実係数1000を適用しTDIを6 µg/kg/dayと定めている。本評価書では発がん性の影響は4-5で検討するため、ここでは発がん性の影響を考慮せず、不確実係数100（種差・個体差）を適用した60 µg/kg/dayを肝臓に対する影響の評価値とした。一方、神経毒性影響に対する評価値はPODを101 mg/kg/dayとし、不確実係数6000（種差：10、個体差：10、影響の重大性（神経毒性）：10、暴露期間：6）を適用し、17 µg/kg/dayと算出された。

両者を比較した結果、経口経路の一般毒性のキースタディは、より低い評価値の得られた神経毒性影響を指標にしたMoser et al.（1995）が適切であると考えられた。なお、米国EPA（EPA, 2011）及びカナダの水質基準(Health Canada, 2011）が公表された後の新知見として、2009年以降の情報について文献検索を行った結果、新たな情報は得られなかった。

1-2-2 吸入暴露

(1) ヒトへの影響

表 1-3 吸入経路による一般毒性影響（中枢神経）の国内外のリスク評価概要

評価機関	POD	不確実係数	評価値
米国. Occupational Safety and Health Administration(OSHA) (OSHA, 1997)	中枢神経系影響	-	短時間暴露許容濃度:125 ppm (441 mg/m ³)
ACGIH(1988) 日本産業衛生学会(1999)	CO-Hb 生成による中枢神経系への影響	-	許容濃度: 50 ppm (177 mg/m ³)
労働安全衛生法（2004）	学術団体が示すばく露限界及び各国のばく露規制のための基準等の動向を参考に、作業環境管理技術の実用可能性を考慮して設定		管理濃度: 50 ppm (177 mg/m ³)
WHO air quality (WHO, 2000)	CO-Hb の増加が 0.1% 以内	-	指針値: 3 mg/m ³

我が国の環境基準（環境省、2000）	ヒト NOAEL：300 mg/m ³ (推定)	2000	指針値：0.15 mg/m ³
--------------------	-------------------------------------	------	----------------------------

ヒトの吸入暴露による一般毒性は、神経毒性影響が主要なエンドポイントであると判断された。ジクロロメタンの反復吸入の症例では、継続的な暴露により意識障害の進行が認められ(ATSDR, 1995)、また、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(Tariat, 1983) 幻聴・幻覚を伴う中枢神経の不可逆的損傷が報告されている(Weiss, 1967 ; ドイツ語 WHO, 1996 二次引用)。職業暴露による中枢神経系への影響を調べた研究では、平均濃度 8h-TWA 475 ppm で 10 年以上吸入暴露(Soden, 1993)、平均 TWA 82 ~ 236 ppm の濃度で 22 年間以上暴露した退職者(神経毒性の継続性の確認のため)(Lash et al., 1991)、空気中の濃度 75 ~ 100 ppm で 10 年以上若しくは 10 年未満暴露群(Cherry et al., 1981)、28-4,800 ppm (100 -17000 mg/m³ 相当)で平均 2 年暴露した作業員(この試験は対照群の設定はない)(Kuzelova & Vlasak, 1966 ; チェコ語 WHO, 1996 二次引用)では影響は認められなかったとされている。しかし、28-173 ppm (98.8 mg/m³-611 mg/m³; 暴露時間など不明) でジクロロメタンに暴露していた計 36 名と非暴露対照との比較では、暴露群に嗜眠、肉体的・精神的疲労が有意に認められた(Cherry et al., 1983)。また、ジクロロメタンを 6-34 mg/m³ で数年間職業暴露した 46 人に対する報告では、消化機能の障害や低血圧の他、肝臓や胆嚢の病変が認められたとの報告がある(Kashin et al.,1980 ロシア語 : WHO, 1996 二次引用)。

上述の通り、有害性評価値の算出に用いられる信頼性のあるヒトを対象とした数値データは得られなかったが、我が国の環境基準（環境省、2000）では、労働環境におけるヒトの神経毒性への影響のNOAELは300 mg/m³程度に存在すると推定し、不確実係数2000で除した0.150 mg/m³を指針値としている。本評価書ではヒトにおける吸入暴露による一般毒性の評価値を0.150 mg/m³とし、後述の動物への影響と比較しキースタディを定めるものとする。

(2) 動物への影響

表 1-4 吸入経路による一般毒性影響（肝毒性）の国内外のリスク評価概要

評価機関	キースタディ	P O D	不確実係数	評価値
環境有害物質・特定疾病対策庁 (ATSDR, 2000)	ラット 14 週間吸入 (Haun et al 1972)	肝毒性：LOAEC=25 ppm	90 (3 : LOAEL、3 : 種差、10 : 個体差)	中期 MRL : 0.3 ppm (1.06 mg/m ³)
	ラット 2 年間吸入 (Nitschke et al., 1988a)	肝毒性：NOAEC=50 ppm (暴露補正 8.92 ppm)	30 (種差 3、個体差 10)	長期 MRL : 0.3 ppm (1.06 mg/m ³)
産総研 (2005)	ラット 2 年間吸入 (Nitschke et al.,	肝毒性：NOAEC=200 ppm (暴露補正 35.7 ppm)	MOE=100 (種差 10、個体差 10)	0.357 ppm (1.26 mg/m ³)*

	1988a)			
米 国 . EPA Integrated Risk Information System (IRIS) (EPA, 2011)	ラット 2 年間吸入 (Nitschke et al., 1988a)	肝 毒 性 : BMDL ₁₀ (HED) 17.2 mg/m ³	30 (体内動態種差 3 体内動態個体差 3 D B 不足 3)	RfC : 0.6 mg/m ³

*本評価による算出

経口投与と同様、吸入暴露の主な標的臓器は肝臓であり、ラット及びマウスの 13 週間・2 年間吸入試験で、ラット 13 週間 (肝臓脂質重量/肝重量比減少)、マウス 13 週間 (肝臓脂質重量/肝重量比減少)、ラット 2 年間 (肝細胞の空胞化・壊死、胆管線維化)、マウス 2 年間 (肝細胞変性という結果が得られている (NTP, 1986、Mennear et al., 1988))。また、近年報告されたラット 2 年間吸入暴露試験(OECD TG451)においても、好酸性細胞巣及び好塩基性細胞巣が認められている (Aiso et al., 2014 ; JBRC 2000)。Burek ら (1984) によるハムスター又はラットの 2 年間吸入試験において、ハムスターでは最高用量で毒性影響が認められなかったが、ラットでは最低用量で肝細胞の空胞化が認められ肝臓毒性の種差が確認されている。一方、イヌ、サル、ラット、マウスの 14 週間連続暴露では、ラット、マウスと同様にイヌ、サルにも肝臓の組織学的変化が認められている(Haun et al., 1971, 1972, MacEwen et al., 1972)。その他、多くの試験結果でジクロロメタンの肝臓への影響が報告されている (Weinstein et al., 1972、Weinstein and Diamond 1972、Kjellstrand et al., 1986、伊藤ら 1990、竹下ら 1991)。

ジクロロメタンの一般毒性としては、マウスの肺 (マウスの発がん器官) への影響も認められており、マウス2年間吸入暴露試験(OECD TG451)の高用量において肺の絶対・相対重量の増加、肺の終末細気管支の上皮過形成が認められている(Aiso et al., 2014 ; JBRC 2000)。また、マウス3週間暴露では、肺の細胞の壊死、空胞化が報告されている(Eisenbrandt and Reitz, 1986)。

ATSDR(2000)、産総研 (2005) 及び米国-EPA(EPA, 2011)が吸入暴露のキースタディに定めた Nitschke ら (1988a) は、上述先行研究の 2 年間吸入暴露試験 (NTP, 1986、Mennear et al., 1988 ; Burek et al., 1984) が最低用量(500 ppm 又は 1000 ppm)で肝臓への影響を示し NOAEC が定められなかったことから、NOAEC を定めるために暴露量を設定し実施されたものである。一群あたり雄 90 匹、雌 108 匹の SD ラットに 0、50、200、500 ppm (0、176、706、1530 mg/m³) を 2 年間 (6 時間/日、5 日/週)吸入暴露し、1525 mg/m³ の雌雄で肝細胞の空胞化 (脂肪変性) と雌で多核細胞の増加が観察されたことから、NOAEC は、706 mg/m³ と考えられた。また、24 時間/日、7 日/週に補正した値 (以下補正值とする) として 126 mg/m³ が得られた。この試験で、血中 CO-Hb は 176 mg/m³(補正值 : 31 mg/m³)以上で増加し用量相関も認められたが (LOEC)、一般観察で行動などに影響は認められなかった。

その他の反復吸入暴露による影響としては、実験動物を用いた高濃度暴露試験による引っ掻き行動、活動亢進など中枢神経への影響も報告されている (NTP, 1986、Nitschke et al., 1981 ; WHO 1996より2次引用、Thomas et al., 1972、Heppel and Neal, 1944、Heppel et al., 1944) が、信頼性を個別に検討した結果、記載不十分により信頼性の有る情報と判断されるものはなかった。従って、吸入暴露による最小NOAECは、肝臓に対する毒性を指標にしたNitschke et al. (1988a) で得られた126 mg/m³であり、この試験を動物試験のキースタディとすることが妥当であると考えられた。前述のヒトの吸入暴露の影響との比較については、5-1-4有害性評価値の導出におい

て、考察する。なお、米国EPA (EPA, 2011) が公表された後の新知見として、2009年以降の情報について文献検索を行った結果、新たな情報は得られなかった。

1-2-3 一般毒性のメカニズム

一般毒性影響についてのメカニズムについては、EPA (2011) より以下の知見が得られた。

ジクロロメタンの一般毒性の標的臓器は肝臓であるが、その毒性メカニズムは分かっていない。一方、肺に対する影響としては、マウスの肺クララ細胞の空胞化は、4000 ppm 暴露の急性影響として認められるが、13 週間まで連続暴露すると CYP の代謝飽和に伴う活性低下に比例して減少するため、CYP 経路の代謝物が毒性に関与しているものと考えられる。ジクロロメタンの神経毒性は CYP 経路の代謝による CO の生産が関与していると考えられるが、CO-Hb レベルが同等になるようにジクロロメタン又は CO を暴露した時、暴露時間が長くなるにつれてジクロロメタン暴露群の神経毒性影響がより顕著であることから、CYP 経路が飽和した後のジクロロメタンそのものの影響、若しくは GST 経路による代謝物の関与も示唆されている。ジクロロメタン暴露により、脳内の神経伝達物質に(長期的な)変化が認められるため、脳内のレセプターを刺激または抑制することにより、神経行動への影響が現れるものと考えられている。

EPA(2011)以降の知見としては、ヒト肺繊維芽細胞を用いてジクロロメタンの細胞毒性の影響を調べた試験で、ジクロロメタンによる肺の細胞毒性は認められなかったとの報告がある(Kawasaki et al., 2015)。

1-2-4 有害性評価値の導出

経口経路については、ヒトのデータがないため、実験動物のデータを基に定量的評価を行った。ジクロロメタンの一般毒性の毒性の標的は肝臓及び神経毒性影響であり、肝臓影響を指標に最小毒性値が得られた Serota et al. (1986a) の評価値と、神経毒性影響を指標に最小毒性値が得られた Moser et al. (1995) の評価値の比較を行った。本評価では、Moser et al. (1995) をキースタディとし、ラット14日間経口投与でのFOBの成績低下 (NOAEL:101 mg/kg/day) を指標に、不確実係数6000 (種差: 10、個体差: 10、影響の重大性 (神経毒性): 10、暴露期間: 6、) を適用し、 1.7×10^{-2} mg/kg/day と算出された。

吸入経路については、ヒトで神経毒性影響を示す情報が得られたが、有害性評価値の算出に用いられるデータはなかった。しかし、我が国の労働安全衛生法の管理濃度、日本産業衛生学会の許容濃度は共に50 ppm (177 mg/m³)と定められている。また、我が国の環境基準 (環境省、2000) では、労働環境におけるヒトの神経毒性への影響のNOAELは300 mg/m³程度に存在すると推定し、不確実係数2000で除した0.150 mg/m³を指針値としている。一方、実験動物の吸入経路で最小毒性値が得られたのは、ラットの2年間吸入試験であり、肝細胞の空胞化、脂肪変性、多核細胞の増加をもとにNOAECは126 mg/m³ であった。この値はヒト暴露量に換算すると234

吸入試験における毒性値の曝露補正及び経口曝露換算は、「化審法における人健康影響に関する有害性データの信頼性評価等について」(平成23年9月15日付)に基づいて行った。

曝露補正值[mg/m³] = 吸入曝露濃度[mg/m³] × 曝露時間[時間] / 24[時間] × 曝露日数[日] / 7[日]
= 706[mg/m³] × 6[時間] / 24[時間] × 5[日] / 7[日] = 126 [mg/m³]

mg/m³ と算出され、不確実係数100 (種差・個体差) を適用した結果、評価値として2.34 mg/m³ が得られた。なお、米国 EPA (EPA, 2011) 及びATSDR (2000)は、同試験をキースタディとしそれぞれ評価値を0.6 mg/m³、1.06 mg/m³と算出している。本評価では、ヒト神経毒性の指標から定めた我が国の環境基準の0.150 mg/m³が、動物の肝臓毒性を指標に定めたこれらの評価値を下回っているため、有害性評価値を0.150 mg/m³とする。

1-3 生殖・発生毒性

表 1-5 生殖発生毒性の国内外のリスク評価概要

評価機関	経路	キースタディ	P O D	不確実係数	評価値
EPA(2011)	経口	ラット混餌 妊娠 6-19 日 (Narotsky and Kavlock, 1995)	母体体重減少、 NOAEL : 338 mg/kg/day	300 (種差 10、 個体差 10、D B 不足 3)	RfD:1.1 mg/kg/day
EPA(2011)	吸入	雄マウス吸入 交配 2 日前から 6 週間、 2 時間/日、5 日/週 (Raje et al., 1988)	受胎率低下 : NOAEL : 20.7 mg/m ³	100 (種差 3、個 体差 10、D B 不 足 3)	RfC:0.21 mg/m ³

1-3-1 経口暴露

(1) ヒトへの影響

調査した範囲では経口経路によるヒトの生殖発生毒性影響の情報はなかった。

(2) 動物への影響

既知見を整理した結果、米国 EPA (EPA, 2011)は、妊娠 6-19 日に 0、337.5、450 mg/kg/day で強制経口投与した試験を生殖発生性のエンドポイントのキースタディとしていた。この試験では、高用量で母体の体重抑制は認められたものの発生毒性は認められなかった。母体に対する NOAEL は 337.5 mg/kg/day と判断されたが、発生影響の NOAEL は 450 mg/kg/day(最高用量)と判断された(Narotsky and Kavlock, 1995)。

本評価においては、母体の体重低下は一般毒性影響でカバーされるエンドポイントとして、生殖発生毒性として評価値を導出する必要がないものと判断した。その他得られた情報として、ラットの交配前の強制経口投与(General Electric Company, 1976 ; unpublished study EPA 2011 二次引用)、飲水投与(Bornmann & Loeser, 1967 ; ドイツ語 WHO, 1996 二次引用)では、生殖能への影響は認められていない。更に、ラットの強制経口投与による発生毒性試験では、

人曝露量への換算：126[mg/m³] ×ラット呼吸量 0.26[m³/day]/ラット体重 0.35[kg]/人呼吸量 20[m³/day] ×人体重 50[kg] 234 mg/m³(ラット及び人の吸収率は 1.0 とした)

母体重の低下は認められたものの、発生毒性影響は認められていない(Narotsky et al., 1992、Narotsky and Kavlock, 1995、西尾ら, 1984)。

本評価ではこれらの情報を総合的に考慮し、経口経路については、キースタディに相当する情報はないと結論した。

1-3-2 吸入暴露

(1) ヒトへの影響

ヒトの吸入暴露による生殖発生毒性影響については、既知見として以下の情報が得られたが、評価値導出に用いられる情報はなく、米国-EPA (2011) 以降の新知見として2009年以降の情報を個別に検索したが新知見は得られなかった。

ジクロロメタンに暴露した男性労働者8名に前立腺への影響が認められ、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確認された。作業者のジクロロメタンの暴露量は平均68 ppm (3.3-154.4 ppm) 推定された (Kelly, 1988)。フィンランドの製薬工場に勤務していて流産した女性の症例対照研究で流産とジクロロメタン暴露のオッズ比が2.3 (95% CI =1.0-5.7; P=0.06)と高値を示した (Taskinen et al., 1986)。フィルム製造会社から排出されたジクロロメタンに暴露している地域の白人の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)地域では、出生時体重が非暴露地域と比べて18.7 g (95%CI= -51.6-14.2 g) 低かった(Bell et al., 1991)。

(2) 動物への影響

米国 EPA (EPA, 2011)の吸入暴露による生殖発生毒性のキースタディは、雄 Swiss-Webster マウス (20 匹/群) にジクロロメタンを交配 2 日前から 6 週間、0、100、150、200 ppm (2 時間/日、5 日/週) で吸入暴露させ交配させた試験 (交配期間は 2 週) で、150 ppm 群以上で受胎率の低下傾向が認められたものの、精巣病理所見に影響は認められず、また一腹当たりの生児数等に影響は認められなかった。この試験の生殖発生 NOAEC は最高用量の 200 ppm (補正值: 42 mg/m³)と判断された(Raje et al., 1988)。受胎率低下については、統計的な有意差も精巣に病理所見の影響はなく、一腹当たりの生児数等に影響は認められなかったため本評価においても、毒性影響と判断しなかった。

本評価で生殖発生毒性のキースタディと選定した試験は、OECD (2001) のキースタディと同様で、Fischer344 ラットの 2 世代繁殖試験で 0、100、500、1,500 ppm (353、1765、5300 mg/m³) のジクロロメタンを吸入暴露 (1 日 6 時間、5 日/週) した結果、F0、F1 (親として)、F1、F2 (児として)最高濃度まで生殖発生毒性に関する異常はみられなかった。この試験の NOAEC は最高濃度の 5300 mg/m³(補正值: 946 mg/m³)であった(Nitschke et al., 1988b)。

その他の情報として、ラットの 2 世代繁殖試験では、最高濃度暴露まで生殖発生毒性影響は認められていない(Nitschke et al., 1988b)。妊娠前及び又は妊娠期間の投与では、母体の肝毒性が認められる用量において児の体重低下が認められた (Hardin & Manson, 1980)。ラットあるいはマウスを用い、妊娠 6-15 日目にジクロロメタンを 1 日 7 時間 1250 ppm (4410 mg/m³) の濃度で吸入暴露した試験でも児に変異が認められたのみであった (Schwetz et al., 1975)。一方、児の神経毒性影響を調べた交配前から妊娠期間に吸入暴露を行った 1 用量 (4500 ppm; 1 日 6 時間) の試験では、生後 10 日齢以後の雌雄に新しい生育環境にした場合の習慣性行動の変化などがみられた。児の雄では 150 日まで行動の変化がみられたとの情報もあった

(Bornschein et al., 1980)。米国 EPA (EPA, 2011) が公表された後の新知見として、2009 年以降の情報について文献検索を行った結果、新たな情報は得られなかった。

1-3-3 その他の情報

NTP (1986) のマウス2年間吸入発がん性試験で、精巣、卵巣及び子宮萎縮が用量に依存して認められたが、NTPは肺や肝臓の腫瘍発生に伴う2次的な作用である可能性があると考察している。

ラット胚(12～15体節期；受精10.5日)の培養液に、3.46、6.54、9.79、11.88 $\mu\text{M}/\text{mL}$ のジクロロメタンを1～40時間添加した結果、6.54 $\mu\text{M}/\text{mL}$ 以上で胚発育の遅延がみられた(Brown-Woodman et al., 1998)。

ラット妊娠17日目にジクロロメタンを3000 ppmまでの濃度で暴露した試験で、ジクロロメタンが胎盤を通過する事が確認された (Withey and Karpinski, 1985)

1-3-4 有害性評価値の導出

経口経路については、ヒトの情報は得られなかった。また実験動物の情報で、交配前の投与及び妊娠中の投与において毒性影響は認められなかったものの、定量的評価が可能な情報は得られなかった。従って、吸入暴露試験の情報を基に経口経路による定量的評価を行うこととした。吸入経路によるヒトの情報は得られたが、有害性評価値の算出に用いられるデータは得られなかったため実験動物の情報を基に有害性評価を導出することにした。吸入暴露のキースタディはラットの二世代繁殖毒性試験で最高濃度でも生殖発生毒性影響が認められず、NOAECとして946 mg/m^3 が得られた。この濃度をラットの呼吸量0.26 m^3/day 、体重0.35 kg、吸収率1.0として内部暴露量を算出した結果、703 $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ が得られた。この値に不確実係数1000 (種差10、個体差10) を適用し、経口経路の有害性評価値として7.03 $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ が得られた。また、この値をヒトの呼吸量20 m^3/day 、体重50 kgと仮定して吸入暴露の濃度に変換し、吸入経路の有害性評価値を17.6 mg/m^3 と算出した。

1-4 変異原性 (遺伝毒性)

1-4-1 ヒトへの影響

調査した範囲で、ヒトに対する変異原性で信頼性のある情報は得られなかった。

1-4-2 変異原性に関する試験

ジクロロメタンの遺伝毒性試験については、数多く実施されているが、本評価書ではATSDR

吸入試験における毒性値の曝露補正及び経口曝露換算は、「化審法における人健康影響に関する有害性データの信頼性評価等について」(平成23年9月15日付)に基づいて行った。

曝露補正值 $[\text{mg}/\text{m}^3]$ = 吸入曝露濃度 $[\text{mg}/\text{m}^3]$ × 曝露時間 $[\text{時間}]$ / 24 $[\text{時間}]$ × 曝露日数 $[\text{日}]$ / 7 $[\text{日}]$
= 5300 $[\text{mg}/\text{m}^3]$ × 6 $[\text{時間}]$ / 24 $[\text{時間}]$ × 5 $[\text{日}]$ / 7 $[\text{日}]$ = 1946 $[\text{mg}/\text{m}^3]$

内部曝露換算値 = 946 $[\text{mg}/\text{m}^3]$ × 0.26 $[\text{m}^3/\text{day}]$ × 1.0 (吸収率) / 0.35 $[\text{kg}]$ = 703 $[\text{mg}/\text{kg}/\text{day}]$

経口経路の有害性評価値 = 703 $[\text{mg}/\text{kg}/\text{day}]$ / 100 = 7.03 $[\text{mg}/\text{kg}/\text{day}]$

吸入経路の有害性評価値 = 7.03 $[\text{mg}/\text{kg}/\text{day}]$ × 50 $[\text{kg}]$ / 20 $[\text{m}^3/\text{day}]$ = 17.6 $[\text{mg}/\text{m}^3]$

(2000)、食品安全委員会(2008)の内容を基に情報を整理し、「印刷事業場で発生した胆管がんの業務上外に関する検討会」報告書(厚労省、2013)の考察及び食品安全委員会(2008)以降の新知見を考慮し再評価を行った。

(1) *In vitro* 試験

細菌を用いた復帰突然変異試験のTA98 とTA100 株(Gocke et al., 1981)及び哺乳動物の細胞を用いた染色体異常試験(Thilagar and Kumaroo, 1983)の結果においては、代謝活性化の有無に関わらず、比較的強い陽性反応が得られているが、不定期DNA合成(UDS)試験は陰性と報告されている(Jongen et al., 1981、Perocco & Prodi, 1981)。一方、姉妹染色分体(SCE)試験では弱い陽性結果が得られている(Jongen et al., 1981)。

表 1-6 ジクロロメタンの *in vitro* の遺伝毒性試験のまとめ

試験	対象	結果		著者
		+ S9mix	-S9mix	
細菌を用いる復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100	+	+	Gocke et al., 1981
哺乳類細胞を用いる遺伝子突然変異試験	チャイニーズハムスターV79、CHO	Not tested	-	Jongen et al., 1981
染色体異常試験	チャイニーズハムスターCHO	+	+	Thilagar and Kumaroo, 1983
不定期DNA合成試験	ヒト初代繊維芽細胞	Not tested	-	Jongen et al., 1981
	チャイニーズハムスターV79	Not tested	-	
	ヒト末梢リンパ球	-	-	Perocco & Prodi, 1981
姉妹染色分体試験	チャイニーズハムスターV79	Not tested	(+)	Jongen et al., 1981
	チャイニーズハムスターCHO	-	-	Thilagar and Kumaroo, 1983

+ : 陽性、 - : 陰性、 (+) : 弱い陽性

(2) *In vivo* 試験

マウス及びラットの骨髄細胞を用いた染色体異常試験、小核試験(Gocke et al., 1981、Sheldon et al., 1987)、肝臓を用いたUDS試験(Trueman and Ashby, 1987)では陰性の結果が得られている。しかし、ジクロロメタンを10日間吸入暴露させたマウスの骨髄細胞と肺細胞で染色体異常が、末梢赤血球で小核の誘発が認められている。また3ヶ月間の吸入暴露でも末梢赤血球で小核の誘発が認められている(Allen et al., 1990)。

マウス及びラットにおいてはコメット試験、アルカリ溶出試験によって DNA 損傷性が試験されている。雄の CD-1 マウスに 1720 mg/kg 体重のジクロロメタンを単回投与した Sasaki らのコメット試験では、肝及び肺で DNA 損傷が認められたが、胃、腎臓、膀胱、脳、骨髄では DNA 損傷が認められなかった (Sasaki et al., 1998)。一方、アルカリ溶出試験においては、1275 mg/kg 体重のジクロロメタンを 17 時間の間において 2 回強制経口投与されたアルビノラットに、2 回目の投与 4 時間後に、肝で有意な DNA 損傷が認められ、*in vivo* の高濃度におけるジクロロメタン暴露で DNA 損傷が起こることが示された (Kitchin & Brown, 1989)。

表 1-7 ジクロロメタンの *in vivo* の遺伝毒性試験のまとめ

試験	対象	結果	著者
染色体異常試験	マウス (骨髄、肺細胞)	+	Allen et al., 1990
	ラット (骨髄細胞)	-	Burek et al., 1984
小核試験	マウス (末梢赤血球)	+	Allen et al., 1990
	マウス (骨髄細胞)	-	Sheldon et al., 1987
	マウス (骨髄細胞)	-	Gocke et al., 1981
	マウス (抹消赤血球)	-	Suzuki et al., 2014
姉妹染色分体試験	マウス (末梢リンパ球、肺細胞)	+	Allen et al., 1990
コメット試験	マウス (肝、肺)	+	Sasaki et al., 1998
	マウス (胃、膀胱、腎、脳、骨髄)	-	
	マウス (肝)	-	Suzuki et al., 2014
アルカリ溶出試験	ラット (肝)	+	Kitchin & Brown, 1989
不定期DNA合成試験	マウス (肝)	-	Trueman&Ashby, 1987
	ラット (肝)	-	
トランスジェニックマウス/ラット遺伝子突然変異試験	マウス (肝)	-	Suzuki et al., 2014
	ラット (肝)	-	Hirata et al., 2017
Pig-a遺伝子突然変異試験	マウス (赤血球)	-	Suzuki et al., 2014

1 + : 陽性、 - : 陰性、 (+) : 弱い陽性

2 その他、食品安全委員会 (2008) 以降の情報として得られた知見は以下の通りである。

3 マウスの 6 週間吸入暴露 (5 日/週、6 時間/日) によるジクロロメタン (150-1600 ppm (530-5650
4 mg/m³)) のコメットアッセイの結果では肝臓におけるDNA損傷について有意差は認められな
5 かった。小核試験(末梢血)、遺伝子突然変異検出系試験[Pig-aアッセイ](血液)では、陰性の結果が
6 得られた。gpt deltaマウスを用いた遺伝子突然変異試験においてジクロロメタン800 ppm単独暴
7 露では肝臓で遺伝子突然変異が認められなかった (Suzuki et al., 2014)。また、参考情報とし
8 て、1,2-ジクロロプロパンとの複合吸入暴露の結果ではコメットアッセイで陽性、gpt deltaマウ
9 ス遺伝子突然変異試験では突然変異が有意に増加した (Suzuki et al., 2014)。しかし、gpt delta
10 ラットを用いた強制経口投与による遺伝子突然変異試験では、1,2-ジクロロプロパンとの複合
11 暴露で陰性の結果が得られた(Hirata et al., 2017)。

12 13 1-4-3 変異原性のメカニズム関連情報

14 遺伝毒性発現のメカニズムに関連する情報については、厚生労働省が「印刷事業場で発生
15 した胆管がんの業務上外に関する検討会」報告書 (厚労省、2013) で報告しており、下記に
16 示す知見が得られた。

17 ネズミチフス菌TA100とTA100/NG-11(グルタチオン量が通常の10%の株)による復帰突然変
18 異試験で、TA100に認められた突然変異がTA100/NG-11で認められなかったことから、ジクロ
19 ロメタンのグルタチオン抱合体 (S-(クロロメチル)グルタチオン) が、突然変異に関与してい
20 ると考えられた (Graves et al., 1994a)。

21 肝細胞をジクロロメタンで処理しDNA一本鎖切断を観察した結果では、マウス肝細胞は0.4
22 mMで、ラット肝細胞は30 mMでDNA一本鎖切断が観察され、ハムスターとヒトの肝細胞では
23 90 mMまでDNA一本鎖切断は生じなかった。吸入暴露後の肝臓及び肺の細胞を調べた結果でも、
24 DNA一本鎖切断はマウスで検出された。また、上記*in vitro*及び*in vivo*試験でグルタチオン枯渇
25 剤の処理を行うとDNA一本鎖切断の検出量が減少することから、DNA一本鎖切断についてはグ
26 ルタチオン抱合体の関与が示唆されている (Graves et al., 1994b、1995)。

27 ジクロロメタン吸入暴露によるDNA-タンパク質架橋について調べた結果でも、マウスで約
28 500 ~ 4000 ppmの暴露で濃度に依存して検出されたが、ラット及びハムスターの吸入暴露では
29 検出されなかった (Casanova et al., 1996、1997)。ジクロロメタンのGST経路の代謝物には、
30 グルタチオン抱合体の他、ホルムアルデヒドも生成されるが、ホルムアルデヒドを用いた*in vitro*
31 試験との比較により、グルタチオン抱合体はDNA一本鎖切断に、ホルムアルデヒドはDNA-タ
32 ンパク質架橋の産生に関与していると推定された (Graves and Green, 1996)。一方、ジクロロ
33 メタンによるRNA - ホルムアルデヒド付加体の形成について観察した結果では、マウス、ラッ
34 ト、ヒト、ハムスターの肝細胞で観察された (Casanova et al., 1997)。

35 ジクロロメタンは、GST経路で代謝された際に生じる中間代謝物が胆管上皮細胞にDNA損傷
36 を起こすことにより発がん性が生じると考えられる。胆管上皮細胞における活発な代謝が長期
37 間行われる過程で、DNAを損傷させる多くの中間代謝物が生じてDNA損傷が生じるものと考え
38 られる (Sherratt et al., 1998)。このようにして生じたDNA損傷は、修復されても、修復の際に
39 エラーが生じたり、あるいは、DNA損傷が修復されずにそのまま残存したりする場合もあると
40 考えられ、その後、突然変異等の段階を経て、胆管上皮細胞のがん化、すなわち胆管がんの発

症につながるものと考えられる。

1 - 4 - 4 変異原性の評価

上述の通り、*in vitro* 系では不定期 DNA 合成試験で陰性であった。SCE 試験においても一部で疑陽性の結果があるが、その他は陰性であった。ほ乳類培養細胞を用いる遺伝子突然変異試験では代謝活性化系非存在下のみであるが陽性の結果は得られていない。しかし細菌の復帰突然変異試験では陽性結果が認められている。また、*in vivo* 系では、いくつかの試験で陰性の試験結果があるものの、マウスの発がん標的器官である肺又は肝臓の細胞について、染色体異常試験、SCE 試験、コメット試験が陽性の結果であり、ラットにおいても肝細胞で DNA 損傷性が示唆された。ジクロロメタンの暴露では GST 経路で生じる中間代謝物であるグルタチオン抱合体や、ホルムアルデヒドが直接 DNA 損傷や付加体形成に関与すると考えられ、これら代謝物が産生される肝臓において変異原性を示した結果の意義は大きいと考えられる。以上のことから、総合的に判断して本評価において、ジクロロメタンは DNA と反応して遺伝毒性を示す物質（変異原性物質）として評価することが妥当であると判断した。

1 - 5 発がん性

1 - 5 - 1 経口暴露

表 1-8 経口経路による発がん性の国内外のリスク評価概要

評価機関	キースタディ	P O D	基準値等	10 ⁻⁵ リスク
我が国における水質基準（厚労省，2003）	ラット飲水投与 104 週間 (Serota et al., 1986a)	肝細胞腫瘍の増加 NOAEL：6 mg/kg/day	TDI: 6 µg/kg/day	-
カナダ水質基準 (Health Canada, 2011)	マウス 2 年間吸入(NTP, 1986)	吸入発がん性試験の利用	10 ⁻⁶ リスク：0.169 mg/L	0.0193 mg/kg/day
米国 EPA Integrated Risk Information System (IRIS) (EPA, 2011)	マウス飲水投与 104 週間 (Serota et al., 1986b; Hazleton Laboratories, 1983 unpublished)	肝細胞腺腫とがん ヒト BMDL ₁₀ 相当：60 mg/kg/day	スロープファクター：2×10 ⁻³ / mg/kg/day	0.006 mg/kg/day

(1) ヒトへの影響

調査した範囲でヒトの経口暴露による発がん性の情報は得られなかった。

1 (2) 動物への影響

2 既知見の整理及び米国 EPA(2011)以降の情報として 2009 年以降の情報を個別検索した結果、
 3 新しい情報は得られず、米国 EPA (EPA, 2011)がキースタディとして選定した Serota et al.,
 4 (1986b)がキースタディとして妥当であると判断された。この試験は、B6C3F1 マウス(雌雄、
 5 各投与群 50～200 匹)におけるジクロロメタン目標用量 0、60、125、185、250 mg/kg /day
 6 として、104 週間飲水投与試験(推定摂取量、雄：0、61、124、177、244 mg/kg /day、雌：0、
 7 59、118、172、238 mg/kg/day)を行ったもので、雄に肝細胞がんの増加が認められ、肝細胞
 8 がん/腺腫の発生頻度が増加が認められた(24/125、51/200、30/100、31/99、35/125)。一方、
 9 雌では肝臓がんの発生率の上昇は認められなかった。発がん性の NOAEL は 234 mg/kg/day
 10 と判断された。(Serota et al., 1986b ; Hazleton Laboratories 1983)。

11 一方、我が国の水質基準に用いられたラットの発がん性試験は、F344 ラット(雌雄、各
 12 投与群 50～85 匹；最高用量の回復群：雌雄 25 匹)におけるジクロロメタンの目標用量 0、
 13 5、50、125、250 mg/kg/day として 104 週間飲水投与(推定摂取量、雄：0、6、52、125、
 14 235 mg/kg/day、雌：0、6、58、136、263 mg/kg/day)を行ったもので、発がん性については、
 15 雌の 50、250 mg/kg /day 投与群に、対照群に比較して高い肝細胞腫瘍の発生が認められたが、
 16 用量依存性は認められず、施設背景データの範囲内であったことから、投与に起因しない偶
 17 発的な変化と報告されている(Serota et al., 1986a)。本試験については、施設背景データで正
 18 常範囲内の発生であり、かつベンチマークドース法による詳細な解析を行うのに必要な情報
 19 が得られなかったため、本評価ではキースタディとして選定しなかった。

20 また、経口経路の情報が得られたため、吸入試験の情報を利用するカナダ水質基準(Health
 21 Canada, 2011)の評価手法は採用しなかった。

22 その他の情報として、Swiss マウス(雌雄、各投与群 50 匹)におけるジクロロメタン(0、
 23 100、500 mg/kg /day)の 64 週間(週 4～5 日)強制経口投与試験で生涯観察を行った結果、
 24 雄において、肺がんの発生率の上昇(対照群 8.3%、低用量群 12%、高用量群 18%)が認めら
 25 れたが、統計的に有意ではなかった。ただし、53 週間から 78 週間に死亡した雄の高用量群
 26 において肺がんの発生率は有意に上昇した($p < 0.05$)。また同じ文献で Sprague-Dawley ラッ
 27 ト(雌雄、各投与群 50 匹)におけるジクロロメタン(0、100、500 mg/kg /day)の 64 週間
 28 (週 4～5 日)強制経口投与・生涯観察の試験を行った結果では、雌において、乳がんの発
 29 生率(対照群 8%、低用量群 6%、高用量群 18%)の上昇が認められたが、統計的に有意では
 30 なかった(Maltoni et al., 1988)。

32 1-5-2 吸入暴露

34 表 1-9 吸入経路による発がん性の国内外のリスク評価概要

評価機関	キースタディ	POD	基準値等	10 ⁻⁵ リスク
カナダ環境保護法 (CEPA, 1993)	マウス 2 年間吸入 (NTP, 1986)	マウス肝臓・肺の腺腫・ がん TD _{0.05} :645ppm(2238 mg/m ³ 雌：肺影響) 4106 ppm(14248 mg/m ³ 雄：肝 臓影響)	ユニットリスク 相当(肺影響): 2.23×10 ⁻⁸ / μg/m ³	0.43 mg/m ³

米 国 Occupational Safety and Health Administration(OSHA) (OSHA, 1997)	マウス 2 年間吸入 (NTP, 1986)	マウス雌の肺がん PEL : 25 ppm (88 mg/m ³)	発がんリスク : 3.62/1000	-
産業技術総合研究所 (産総研, 2005)	マウス 2 年間吸入 (NTP, 1986)	マウス肝臓がん	ユ ニ ッ ト リ ス ク : 1.5×10 ⁻⁹ / μg/m ³	6.67 mg/m ³
米 国 . EPA Integrated Risk Information System (IRIS) (EPA, 2011)	マウス 2 年間吸入 (NTP, 1986 ; Mennear et al ,1988 unpublished)	マウス雄の肝、肺腺腫・がん BMDL ₁₀ (ヒ ト) : 7700 mg/m ³	ユ ニ ッ ト リ ス ク : 1×10 ⁻⁸ / μg/m ³	0.77 mg/m ³

(1) ヒトへの影響

既存の評価において、ヒトの疫学情報を基にユニットリスクを算出した既存の評価は存在しなかった。ジクロロメタンのコホート研究は、数多く存在するが、SMR に有意差が得られた情報は以下の通りであった。

アメリカのヘキスト・セラニーズ社サウスカロライナ工場で、1271人の労働者について健康状態やジクロロメタンの推定暴露量を調査し(Ott 1983)、労働者を追跡調査した結果、8時間加重平均で140～475ppmでジクロロメタンにばく露した労働者の死亡で、肝がんと胆管がんのSMR (標準化死亡比) は5.75 (95%信頼区間: 1.82～13.78)、胆管がんのみのSMRは20 (95%信頼区間: 5.2～56) であった (Lanes et al., 1990)。その後の追跡調査の結果では、SMRは2.98 (95%信頼区間: 0.81-7.63) と有意性が消失したが、10-20年以上勤務した労働者に限った解析では肝がんと胆管がんのSMRは5.83 (95%CI=1.59-14.92) であった (Lanes et al., 1993)。

アメリカのヘキスト・セラニーズ社メリーランド工場の3211名について調査では、高濃度群 (350-700 ppm) 男性の前立腺がん、SMRが1.79 (95%CI: 0.95-3.06) であった。特に初回暴露以降20年以上の群ではSMRが2.08 (P<0.5)、20年以上連続暴露している群ではSMRが2.91 (P<0.5) であった。女性では、低濃度群において子宮頸がん、過剰死亡が観察されたが有意ではなかった。しかし、初回暴露以降20年以上の群のみに限定すると、SMRが8.02 (P<0.01) と有意であった (Gibbs et al., 1996)。

アメリカの空軍基地で1990年までの間に航空機整備作業に従事していた14457名を対象にしたコホート研究で、ジクロロメタン暴露と非ホジキンリンパ腫、多発性骨髄腫、乳癌の率比 (Rate ratio) は、3.0 (95%CI: 0.9-10.0; 男性)、3.4 (95%CI: 0.9-13.2; 男性)、3.0 (95%CI: 1.0-8.8; 女性) であった (Blair et al., 1998)。追跡調査の結果では、それぞれの率比は2.02 (95% CI: 0.76-5.42; 男性)、2.58 (95% CI: 0.86-7.72; 男性)、2.35 (95% CI: 0.98-5.65; 女性) であった (Radican et al. (2008)。

その他のコホートでは有意な所見は得られていない (Friedlander et al., 1978, Hearne et al., 1987, Hearne et al., 1990, Hearne et al., 1999, Ott et al., 1985, Shannon et al., 1988, Tomenson et al., 1997, Tomenson et al., 2011)。

一方、ジクロロメタンの症例対象研究は、脳腫瘍 (Heineman et al., 1994、Cocco et al., 1999)、乳がん (Cantor et al., 1995)、すい臓がん (Kernan et al., 1999)、腎臓がん (Dosemeci et al., 1999)、直腸がん (Dumas et al., 2000)、非ホジキンリンパ腫 (Seidler et al., 2007、Wang et al., 2009、Barry et al., 2011、Miligi et al., 2006)、慢性リンパ性白血病 (Costantini et al., 2008)、多発性骨髄腫 (Gold et al., 2010) 及び小児症白血病 (Infante-Rivard et al., 2005) の報告がある。非ホジキンリンパ腫の症例対象研究で、オッズ比が優位な高値を示し (Wang et al., 2009、Barry et al., 2011、Miligi et al., 2006)、ジクロロメタン暴露の関与が示唆された。特に CYP2E1 の遺伝子型による溶媒代謝能の影響を調べた研究で、CYP2E1 の一塩基多型 (スニップ) rs2070673 の野生型 (TT) では、非ホジキンリンパ腫のオッズ比は 4.42 (95%CI: 2.03-9.62) と有意に高値であった (Barry et al., 2011)。

米国-EPA(2011)以降の新知見として、2009 年以降の情報を個別に検索した結果、以下の情報が得られた。

大阪のオフセット校正印刷会社で1,2-ジクロロプロパン及びジクロロメタンを含む洗浄剤に複合暴露された従業員 (元従業員を含む) の報告では、1991年から2006年までの間に1年以上勤務したと考えられる男性62人中、11人の肝内・肝外胆管がん患者の発症が確認され、1991年1月から2011年12月までに肝内・肝外胆管がんによる6人の死亡が確認された。生死不明者については2011年まで生存していると仮定し、胆管がん (肝内+肝外) のSMRを算出した結果、2900 (95%CI: 1100~6400) であった。胆管がんを発症した11人の1,2-ジクロロプロパンの暴露期間は7~17年、ジクロロメタンの暴露期間は1~13年であった。また、暴露濃度は1,2-ジクロロプロパン70~670 ppm、ジクロロメタン50~540 ppmと推定され、胆管がんの原因は1,2-ジクロロプロパン及び/又はジクロロメタンであることが示唆された (Kumagai et al., 2013)。

上記オフセット校正印刷会社のコホート(106人:男性86人;女性20人)で1996年から2012年までに胆管がんと診断された17人に対し、ジクロロメタンと1,2-ジクロロプロパンの累積暴露量と胆管がんのSIR(標準化罹患比)の関係を調べた結果では、ジクロロメタンと1,2-ジクロロプロパン暴露のSIRは、1319.9(95%CI=658.9-2361.7)、1,2-ジクロロプロパンのみの暴露で、1002.8 (95%CI=368.0-2182.8) であった。1,2-ジクロロプロパンの累積暴露量が増加するに従って、SIRは増加傾向を示したが、ジクロロメタン累積暴露量との関係は認められなかった (Sobue et al., 2015)。

日本の異なる印刷工場勤務し1,2-ジクロロプロパン及び/又はジクロロメタンなどの職業暴露による胆管がん発症と認められた19名について、その暴露量を推定した一連の研究で、4名の1,2-ジクロロプロパン及びジクロロメタンの暴露量 (シフトTWA) は、それぞれ62-240 ppm (219-847 mg/m³)、0-180 ppm (0-635 mg/m³)と推定され (Yamada et al., 2014)、別の4名の暴露量は、それぞれ0-210 ppm (0-741 ppm)、0-180 ppm (0-635 mg/m³)と推定された。また別の3名は1,2-ジクロロプロパンの暴露はなく、ジクロロメタン暴露は推定シフトTWA: 84-440 ppm (297-1553 mg/m³)であり、ジクロロメタンの胆管がんへの関与が示唆された (Yamada et al., 2015a)。同様に別の5名のそれぞれの暴露 (シフトTWA) は0-230 ppm (0-812 mg/m³)、20-470 ppm (71-467 mg/m³)であった (Yamada et al., 2015b)。なお、上述以外の労働者は、ジクロロメタンの暴露はなかったと報告されている。

以上のようにジクロロメタン暴露による胆管がん発症が示唆されており、その推定暴露量と

1 して3名の推定シフトTWA：84-440 ppm (297-1553 mg/m³)という値が得られている。また症
2 例対照研究ではジクロロメタンによる非ホジキンリンパ腫のRRの増加も認められている。
3 しかし、評価値の導出に必要な情報が十分得られていないため、ヒトの情報を基に評価値を
4 導出する事は現段階では不可能であると判断した。

5 6 (2) 動物への影響

7 カナダ(CEPA, 1993)、産業技術総合研究所(産総研、2005)及び米国(OSHA, 1977; EPA, 2011)
8 の評価でキースタディとされている試験は、B6C3F1 マウス(雌雄、各暴露群 50 匹)にお
9 けるジクロロメタン(0、2000、4000 ppm)の102週間(1日6時間、週5日間)の吸入暴露
10 試験で、雌雄の2000 ppm以上暴露群で肝細胞の腺腫/がん、肺胞・細気管支腺腫/がんの
11 発生率に統計的に有意な上昇が認められた。本試験の発がん性に対するLOAECは2000 ppm
12 (補正值：1261 mg/m³)と判断された(米国、NTP, 1986)。

13 一方、米国-EPA(2011)以降の新知見として、2009年以降の情報を個別に検索した結果、日
14 本バイオアッセイが行ったCrj: BDF1 マウス(雌雄、各暴露群 50 匹)におけるジクロロメタ
15 ン(0、1000、2000、4000 ppm; 0、3530、7060、14100 mg/m³)の2年間吸入暴露試験(1日6
16 時間、週5日間)の情報が得られた(Aiso et al., 2014; JBRC 2000)。この試験では、細気管支肺
17 胞の腺腫とがんを併せた発生率が用量に依存して増加し雄では1000 ppm以上、雌では2000
18 ppm以上で有意であった。また肝細胞の腺腫とがんも同様に雄で2000 ppm以上、雌で1000
19 ppm以上で有意であった。従って、本試験におけるマウスの発がん性に対するLOAECは1000
20 ppm(補正值：630 mg/m³)と判断された。

21 吸入経路による発がん性については、マウスの感受性が高く、ラット及びハムスターの試験
22 では以下の情報が得られている。

23 雌雄SDラット(良性乳腺腫瘍の自然発生のある系)の試験では、良性乳腺腫瘍の増加がみ
24 とめられるものの、背景データと比較し統計学的有意差が得られた試験はなかった(Burek et
25 al., 1984、Nitschke et al., 1988a、Maltoni et al., 1988)。一方、良性乳腺腫瘍自然発生がSDラッ
26 トより少ないF344/Nラットの吸入暴露試験で、雌雄ともに良性乳腺腫瘍の発生率が上昇し
27 (米国、NTP, 1986) F344/DuCrjラット吸入暴露試験では、雄で皮下組織(乳腺の分布領
28 域)の線維腫、乳腺の線維腺腫発生が有意に増加した。雌でも乳腺の線維腺
29 腫の発生が増加し(Aiso et al., 2014; JBRC, 2000)。ラットにおける発がん性は、完
30 全に否定されてはいない。一方、雌雄Golden Syrianハムスターの2年間吸入全身暴露
31 した実験では、発がん性は認められなかった(Burek et al., 1984)。

32 更に雌B6C3F1マウス計1400匹に2000 ppmのジクロロメタンを6時間/日、5日/週、様々
33 な投与期間(最長104週間)による吸入暴露実験を実施した試験では(Maronpot et al., 1995;
34 Kari et al., 1993)、肺がんが26週から1年までの比較的短い期間の暴露で増加が認められた。
35 一方、肝臓がんは暴露期間が長くなるにつれて対象群と比較し発生率が高くなった(Kari et
36 al., 1993)。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%、
37 46.3%、35.5%及び51.5%で、対照群(1.5%、6%、12%及び16%)よりいずれも有意に高かつ
38 た(Maronpot et al., 1995)。

39 これらの情報を総合的に判断し、キースタディはマウスの2年間発がん試験(米国、NTP,
40 1986、Aiso et al., 2014; JBRC 2000)のいずれかにする事が妥当であると判断された。キースタ
41 ディ選定に当たっては、それぞれの試験の肺または肝細胞の腺腫及び/又はがんの発生率を基

1 に BMCL₁₀ を推定し、最も低い値を比較した。その結果、米国、NTP (1986)の試験は雄の細気
2 管支肺がん及び腺腫(5/50、27/50、40/50)で BMCL₁₀ が 231 ppm (補正值：146 mg/m³)であり、
3 日本バイオアッセイ(Aiso et al., 2014; JBRC 2000)の雄の細気管支肺がん(1/50、14/50、22/50、
4 39/50)で BMCL₁₀ が 164 ppm(補正值：103 mg/m³)であったことから、日本バイオアッセイの
5 試験(Aiso et al., 2014; JBRC 2000)をキースタディとして選定した。

6 7 1-5-3 発がんのメカニズム

8 発がんのメカニズムについては、厚生労働省が「印刷事業場で発生した胆管がんの業務上
9 外に関する検討会」報告書(厚生労働省、2013)でまとめており、下記に示す知見が得られた。

10 ネズミチフス菌の突然変異にはS-(クロロメチル)グルタチオンの関与が推定されている(Graves
11 et al., 1994a)こと、また、遺伝子障害に関係すると考えられるDNA一本鎖切断やDPXの産生に
12 は、S-(クロロメチル)グルタチオンやホルムアルデヒドが関与していると考えられていること
13 (Graves et al., 1994b, 1995; Graves and Green et al., 1996)等から、実験動物においては、高濃度の
14 ジクロロメタンにばく露することによって、GST経路が活性化され、GST経路において代謝さ
15 れたときに生じる中間代謝物であるS-(クロロメチル)グルタチオンやホルムアルデヒドがDNA
16 損傷を引き起こすという発がんメカニズムが考えられている。

17
18 発がんに係る種差が現れる要因として、次の2点が考えられている。

19 20 ● GST経路の活性の種差

21 Green (1995) は、CYP 経路と GST 経路の肝臓組織での最大代謝速度を in vitro で測定した
22 結果、経路の活性の種差は、CYP 経路よりも GST 経路の方が大きく、しかも、GST 経路の
23 活性はマウスが著しく高く、ラットやハムスターでは非常に低く、ヒトではさらに低いとし
24 ている。

25 ● GSTT1-1の分布の種差

26 Mainwaringら(1996)は、マウス、ラット、ヒトから採取した肺、肝臓組織中のGSTT1-1のmRNA
27 の分布を調べたところ、マウスでは、肝臓の中心静脈と胆管周囲の肝細胞に局在し、核内に非
28 常に高濃度の集積がみられ、肺でも特定の細胞に集積がみられた。一方、ラットやヒトの肝臓
29 では、肝細胞での局在、核への集積は見られなかったとしている。

30 Quondamatteoら(1998)は、マウスの肺、肝臓の各細胞中のGSTT1-1の分布を調べたところ、
31 肺では気管支上皮及び型肺胞上皮、気管支平滑筋細胞、毛細血管内皮細胞にも分布し、肝臓
32 では特定部位の肝細胞の細胞質と核などに分布していたとしている。

33 Sherratt ら(1997)は、組み換え GSTT1-1 抗体を用いてヒト(男性)の全身における主要な
34 組織の GSTT1-1 の分布を調べたところ、GSTT1-1 の濃度は肝臓及び腎臓において高く、脳、
35 脾臓及び骨格筋では肝臓の10%、心臓、肺、脾臓及び精巣では肝臓の5%だったとしている。

36 Sherratt ら(2002)は、ヒトの肝臓組織切片について免疫組織化学検査を行い、GSTT1-1 の
37 分布を調べたところ、GSTT1-1 は胆管上皮細胞と門脈周辺部の肝細胞で最も高い発現が観察
38 され、特に、胆管上皮細胞では核内に GSTT1-1 が検出されたのに対して、肝細胞では核内又
39 は細胞質内に GSTT1-1 が検出されたとしている。

1 その他に得られた情報は以下の通りである。

2 有志者(ドイツ人・イギリス人計16名)による血液を調べた結果、38%はGSTT1遺伝子が欠損し
3 ており、GSTT1遺伝子欠損者の血液ではグルタチオン抱合が認められず、遺伝子の有無と代謝
4 の表現型が一致することが確認されている (Pemble et al., 1994)。なお、GSTT1遺伝子欠損の
5 割合は、中国人 (64.4%)、韓国人 (60.2%)、アフリカ系アメリカ人 (21.8%)、北米コーカシ
6 アン (20.4%)、メキシコ系アメリカ人 (9.7%) との報告もある (Nelson et al., 1995)。

7 EPA(2011)は、ジクロロメタンの発がん作用において、GSTT1によって生成される活性代謝
8 物は細胞質よりも核内で生成される方がDNAのアルキル化を起こしやすいと考えられること
9 から、GSTT1の細胞内局在の種差が、ジクロロメタンに対する感受性の種差に重要な役割を果
10 たすと推測している。

11 一方、印刷工場労働者の胆管がん発症例 (8名) の肝胆道の GSTT1 及び CYP2E1 の分布を免
12 疫染色で調べた試験では、対象群と比較してその分布に差は認められなかった。更に同じ報
13 告の中でマウス、ラット、ヒトの正常の肝胆道細胞での分布の比較を行った結果では GSTT1
14 の発現の程度に種差は認められたが、肝臓組織中の分布に種差は認められなかった。細胞内
15 局在に種差は認められず、核内への局在はなかった。CYP2E1 の分布解析では、ヒトの胆管
16 周囲付属腺 (4/30 人)、胆嚢 (5/15 人) に発現が認められたが、マウス及びラットでは同組
17 織における発現が認められなかった (Sato et al., 2014)。更に 1,2-ジクロロプロパンを用いた
18 最近の試験情報 (Gi et al., 2015ab; Zhang et al., 2015) を精査した報告でも CYP2E1 及び
19 GSTT1-1 の分布の違いで腫瘍発生部位の種差を説明することは困難であると考えられる (詳
20 細は、1,2 - ジクロロプロパンの優先評価化学物質のリスク評価書に記載) ことから、ジクロ
21 ロメタンに関しても同様である可能性が高いと考えられる。

23 1-5-4 有害性評価値の導出

24 ジクロロメタンは、*in vitro* 及び *in vivo* の遺伝毒性試験で陽性結果と陰性結果が拮抗している
25 ものの細菌を用いた復帰突然変異試験及び、標的臓器における *in vivo* 染色体異常試験、SCE試
26 験、DNA損傷試験で陽性の結果が得られていることから、DNAと反応して遺伝毒性を示す物質
27 (変異原性物質) と結論した。発がん性に関してもヒトの労働環境における発がん性の可能性
28 が報告されると共に、経口経路と吸入経路でマウスにおける発がん性が認められ、ラットにお
29 ける発がん性も示唆されている。従って、ジクロロメタンに関しては、閾値のない発がん物質
30 の有害性評価値として実質安全量 (ここでは 10^{-5} でのVSD(mg/kg/day)) を算出した。

31 一方、EPAではジクロロメタンの発がん性評価として内部暴露量の種差を考慮したPBPKモデ
32 ルを用いたリスク評価を行っている。そこで本評価では、通常のリスク評価で用いられている
33 外部暴露量をもとにした実質安全量の算出結果との比較を行い、より適切な評価値の導出を行
34 うこととした。

35 経口経路のキースタディ (Serota et al., 1986b) について、マウスの肝細胞腺腫及びがんの評
36 価を行った。外部暴露量を基に求めたBMDL₁₀は、89.7 mg/kg/day であり、原点までの直線外挿
37 でSFは 1.1×10^{-3} となった。一方、1-1-3に前述のEPAのPBPKモデルを用いた手法で試算した場

LogLogistic(restrict)モデルを採用した。モデルの選択は、技術ガイダンス ver.1.0 に基づき、ベンチマーク
ドース法の適用に関するガイダンス (http://dra4.nihs.go.jp/bmd/BMDS_guidance.pdf) に示された方法に従っ
た。

SF=0.1/BMDL₁₀=0.1/89.7 [mg/kg/day] 1.1×10^{-3} [mg/kg/day]⁻¹

合、同エンドポイントについて感受性が高いと考えられているヒト（GST-T1⁺⁺）のSFは 1.28×10^{-4} となった。PBPKモデルを用いて導出したSFの方が約一桁程度低い値となっているが、近年のヒトの疫学情報、特に胆管がんの症例から得られた暴露推定値や罹患人数の知見を考慮すると、必ずしもマウスに比べてヒトの感受性が低いとする評価を指示しない知見も報告されており、安全側に立った評価を行う事を念頭において、本評価では外部暴露量に基づいた計算方法で評価値を導出することが妥当であると考えられた。従って、SF： 1.1×10^{-3} より得られた経口経路の有害性評価値（リスクレベル 10^{-5} ）は、 9.0×10^{-3} mg/kg/day とした。

吸入経路のキースタディとして選定した日本バイオアッセイ研究センターの実施したマウス慢性毒性試験（JBRC, 2000; Aiso et al, 2014）では、最低用量の1000 ppm暴露マウスで肝細胞腺腫及びがん(雌)、気管支肺胞の腺腫及びがん（雄）の発生頻度の有意な増加が認められた。経口経路と同様にEPAが用いたPBPKモデル解析手法を利用し、EPAと同様の解析を行った結果、1000、2000、及び4000 ppm暴露のヒトの肝臓及び肺の内部暴露量は、それぞれ[雄：1029 mg/L、2212 mg/L、4901 mg/L；雌：1126 mg/L、2434 mg/L、5202 mg/L]、[雄：210 mg/L、444 mg/L、978 mg/L；雌：230 mg/L、489 mg/L、1038 mg/L]となった。これらの値を用いてベンチマークドース解析を行い、1-1-3に記述した通りの手法でURを算出した結果、 2.8×10^{-9} / μ g/m³ が得られた。一方、PBPKを用いない外部暴露量に基づいた計算方法では、最小のBMCL₁₀は、雄の気管支肺胞がん得られ、164 ppm（579 mg/m³）であった。これを暴露時間で補正すると103 mg/m³ となり、マウスの呼吸量0.05 m³/day、体重を0.03 kg、吸収率を1.0と仮定して体重1 kg当たりの1日内部暴露量に変換し、更にヒトの呼吸量20 mg/m³、体重50 kg、吸収率1.0としてヒトの吸入暴露濃度に変換すると431 mg/m³ となった。この値をPODとして原点までの直線外挿で、URは 2.3×10^{-7} / μ g/m³ と算出された。経口経路の検討と同様の理由により、本評価ではPBPKを用いない外部暴露量に基づいた評価手法で算出したURを採用する事が妥当であると考えられた。従って、発がん性の吸入経路の有害性評価値(リスクレベル 10^{-5})は、 4.3×10^{-2} mg/m³ となった。この値を基にヒトの1日経口摂取量として換算した内部暴露量は 1.7×10^{-2} mg/kg/day に相当する。

1-6 その他の有害性に関する情報

1-6-1 生体内運命（体内動態）

体内動態に関する知見については、EPA（2011）及び ATSDR（2000）の内容を取りまとめたものである。

EPA は、内部暴露量の補正值として Arometric scale の 7 を適用しているが、人内部暴露量と動物の内部暴露量が同じであるという前提条件により Arometric scale を適用せずに算出した値

発がん性の経口経路の有害性評価値(VSD at 10^{-5})= 10^{-5} /SF=BMDL₁₀ $\times 10^{-4}$ 9.0×10^{-3} [mg/kg/day]

Gamma (unrestrict)モデルを採用した。モデルの選択は、技術ガイダンス ver.1.0 に基づき、ベンチマークドース法の適用に関するガイダンス(http://dra4.nihs.go.jp/bmd/BMDS_guidance.pdf)に示された方法に従った。

暴露補正值 = $579[\text{mg}/\text{m}^3] \times 6[\text{時間}] / 24[\text{時間}] \times 5[\text{日}] / 7[\text{日}]$ $103[\text{mg}/\text{m}^3]$

マウス暴露量から人暴露量への換算値 = $103[\text{mg}/\text{m}^3] \times 0.05[\text{m}^3/\text{day}] \times 1.0(\text{吸収率}) / 0.03[\text{kg}] / 20[\text{m}^3/\text{day}] \times 1.0(\text{吸収率}) \times 50[\text{kg}]$ $431 [\text{mg}/\text{m}^3]$

UR= $0.1/431 \times 10^{-3}$ [μ g/m³] 2.3×10^{-7}

発がん性の吸入経路の有害性評価値(VSD at 10^{-5}) = 10^{-5} /UR= $10^{-5}/2.3 \times 10^{-7}$ 4.3×10^{-2} mg/m³

吸入暴露濃度から 1 日摂取量への換算値 = $4.3 \times 10^{-2} [\text{mg}/\text{m}^3] \times 20[\text{m}^3/\text{day}] \times 1.0(\text{吸収率})/50[\text{kg}]$ 1.7×10^{-2}

1 (1) 吸収

2 ジクロロメタンのヒトの主要暴露経路は吸入であり、定常状態に達するまでは 70-75% が
3 主に肺から吸収される。血中の定常状態濃度には、2-4 時間後に到達した。ラットやイヌを
4 用いた試験により、ジクロロメタンの吸収の割合は暴露時間、暴露濃度 (100-8000 ppm) に
5 より異なる事が示唆されている。

6 ヒトにおける経口暴露後のジクロロメタンの吸収に関する定量的なデータはないが、ジク
7 ロロメタンが吸収されることを示す定性的な事実として、ジクロロメタンを含む塗料剥離剤
8 を飲用したヒトが意識不明状態になった事例があった。動物では、特に水性溶媒を介して経
9 口暴露した場合、ジクロロメタンが消化管から容易に吸収されることが示唆されている。
10 B6C3F1 マウスにジクロロメタン水溶液を経口投与し、10 分後に上部消化管 (胃及び小腸)
11 組織及び内容物を分析したところ、投与量 (水溶液中 50 mg/kg 体重) の 24% が胃及び小腸
12 から回収された。しかし、投与 20 分後には、胃及び小腸には 2.2% しか認められず、40 分
13 後には 1% 未満しか残っていなかった。このように、投与量の約 75% が 10 分以内に吸収され、
14 投与量の約 98% が 20 分以内に吸収された。F344 ラットにジクロロメタン 50、200 mg/kg/day
15 を経口投与し、投与後 10 分、30 分、240 分のジクロロメタンの血中濃度を調べたところ、投
16 与 10 分後において、最高濃度を示した。

17 ヒトにおける経皮暴露後のジクロロメタンの吸収に関する定量的なデータはないが、ラッ
18 トを用いた試験により経皮投与による透過定数は 0.28 cm/h と報告されている。

19 (2) 分布

21 ジクロロメタンは、動物を用いた試験により体内に広く分布され则认为ており、ヒト乳
22 から検出される事からヒトの体内での分布も示唆されている。また、暴露経路による分布に
23 差はないものと考えられている。

24 C14 で標識したジクロロメタンを水溶液として 1 または 50 mg/kg の用量で Sprague-Dawley
25 ラットに単回強制経口投与し、48 時間後に組織を採取して調べたところ、放射能活性は肝臓、
26 腎臓、肺、脳、精巣上体の脂肪、精巣で検出された。いずれの投与群でも、最も濃度が高か
27 ったのは肝臓で、最も濃度が低かったのは脂肪であった。

28 C14 で標識したジクロロメタンを 50 または 200 mg/kg /day の用量で 14 日間経口投与した
29 F344 ラットにおいて、血液、肝臓、カーカスで、放射能活性が検出された。また、各組織
30 において、放射能活性は暴露後 240 分以内に急速に減少した。これらのデータは、ジクロロ
31 メタン及び / またはその代謝物はいずれの組織でも生体内に蓄積しないことを示唆している。

32 (3) 代謝

34 ジクロロメタンの代謝経路を図 1-1 に示す。動物におけるジクロロメタンの代謝は、吸入及び
35 経口暴露と同様であると考えられており、ジクロロメタンは二つの経路により代謝されることが
36 明らかにされている。一つの経路は P450 (CYP2E1) を介するものであり、一酸化炭素 (CO)
37 を生じる。もう一方の経路はグルタチオントランスフェラーゼ (GST) を介するものであり、
38 グルタチオン抱合体、ホルムアルデヒドなどの中間体を経て二酸化炭素 (CO₂) を生じる。CYP
39 経路においても、反応性中間代謝物 (ホルミルクロライド) が塩素イオンの除去及び CO 生成以
40 前に求核物質と反応する場合は、CO₂ を生じると考えられている。ヒトの吸入暴露後に CO-Hb

1 の血中濃度の上昇が認められることから、CYP経路がヒトの主要代謝経路と考えられるが、高濃
2 度暴露でCYP経路による代謝が飽和するとGST経路による代謝が増え、グルタチオン抱合体形
3 成が増加する。ヒトにおけるCYP経路は、400-500 ppmの暴露で飽和状態になると報告されてい
4 る。GST経路における代謝については、GST-T1遺伝子のタンパク産物であるGSTT1-1
5 と呼ばれるGST theta class酵素が関与することが明らかにされている。ヒトでは、GST-T1
6 遺伝子は、主に肝臓、腎臓に分布し、胆管上皮細胞の核内でも検出されている。肝細胞の酵
7 素活性を調べた結果からは、肝GST代謝活性は、マウス>ラット> = ヒト> ハムスター
8 と推定されている。

9 10 (4) 排泄

11 吸入暴露により吸収されたジクロロメタンは主に呼気から排泄される。有志者が 100 ppm
12 または 200ppm のジクロロメタンを 2 時間吸入暴露した 2 つの試験では、22.6 μg (0.003%)
13 又は 81.5 μg (0.006%)が 24 時間以内に尿中に排泄された。ラットが 50、500 または 1,500 ppm
14 暴露した試験では、呼気中にそれぞれ 58、71、79%排泄され、尿中への排泄は 7.2-8.9%、糞
15 中への排泄は 1.9-2.3%であった。

16 C14 で標識したジクロロメタンを水溶液として 1 mg/kg 体重または 50 mg/kg 体重の用量
17 で Sprague-Dawley ラットに単回経口投与したところ、48 時間後、呼気中に投与量の 78 ~ 90%
18 が排泄された。呼気中の放射能活性は、CO 及び CO₂ として、また呼出されたジクロロメタ
19 ンとしても検出された。呼気中のジクロロメタンの量は、投与量が 1 mg/kg から 50 mg/kg に
20 増加すると 12%から 72%へと増加した。尿中の放射能活性は、上記の暴露条件下では投与量
21 の 2 ~ 5%であり、糞中に認められたのは投与量の 1%未満であった。これらのデータは、経
22 口暴露条件下においても、肺がジクロロメタンの主要な排泄臓器であることを示唆している。

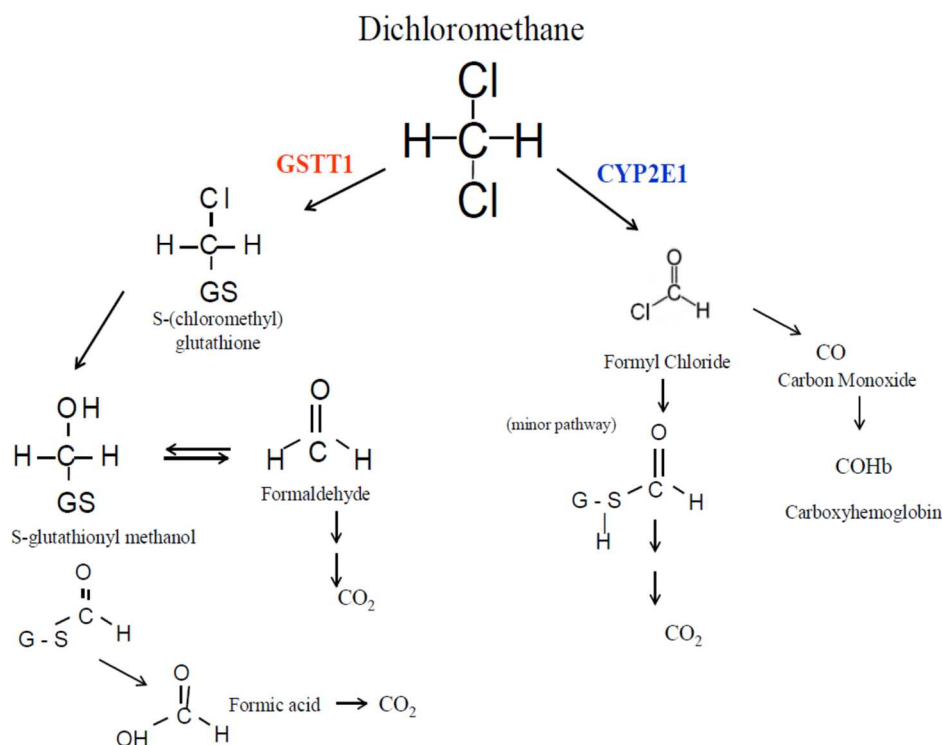


図 1-1 ジクロロメタンの代謝図(EPA 2011 より)

1-6-2 急性毒性

(1) ヒトに関する情報

経口

Nitromors (ジクロロメタンを 75～80%含む塗料剥離剤：ATSDR, 2000 による情報) を 300 mL 飲用し意識を失った女性の事例があり、この女性の血液中の CO-Hb 濃度は塗料剥離剤を摂取後一時間で、9%にまで上昇した (Hughes and Tracey, 1993)。

自殺を試みて Nitromors を 1～2 パイント (9000～18000 mg/kg：ATSDR, 2000 換算値) 飲用した男性の症例では、1 時間半後に意識不明となったが、14 時間後までに意識を回復し、脳障害も見かけ上は検出されなかった。また、この男性は、Hb 尿症、散発的な消化管出血及び十二指腸空腸潰瘍の症状を示し、6 ヶ月後に十二指腸空腸憩室を発症した。また、代謝性アシドーシスも検出されたが、利尿及びヒドロコルチゾンによる治療後に回復した (Roberts and Marshall, 1976)。

吸入

有志者による急性吸入暴露実験では、ジクロロメタンを 200 ppm で 4 時間吸入暴露した後、に視覚試験、二重課題、視覚警戒試験を行った結果、パフォーマンスの低下が認められた (Putz et al., 1976)。また、300 ppm で 3-4 時間暴露では視覚や運動機能に低下が認められた (Fodor and Winneke, 1971 入手不可；ATSDR, 2000 より 2 次引用)。さらに、ジクロロメタンを 300-800 ppm

の 4 時間暴露した 38 名の女性で行った 14 の機能検査では、10 項目で影響が認められた (Winneke, 1974 入手不可 : EPA、2011 より 2 次引用)。一方、1-2 時間の 500-1000 ppm の暴露では血液中の 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、1 時間の間に徐々に暴露量を上げ最高 720 ppm 暴露した試験では警戒行動 (ビジランス・パフォーマンス) の障害はみられなかった (Kozena et al., 1990)。

1984 年から 1988 年の間に家具塗料剥離工場 (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 1 例が発生し、生存した 3 例ではいずれも意識不明の状態で見えられた。ジクロロメタン主成分のペンキ剥離剤の直接接触のあった事例では 1 度及び 2 度の薬傷もみられ、CO-Hb の濃度測定結果は 8.6%であった (Hall and Rumack, 1990)。

家具塗料剥離工場の死亡事故で、男性 2 名の剥離剤 (組成 : ジクロロメタン 65-85%、MeOH : 6-12%、その他) の暴露が報告されている。いずれも 1 度及び 2 度の薬傷が認められた。暴露濃度は不明であるが、空気採取、聞き取り調査、剖検を行ったところ、中毒死者の各種組織からジクロロメタンを検出した (Novak & Hain, 1990)。

換気不十分な無暖房室内でペンキ剥離剤を使用した芸術大女子学生 (20 歳) の事例では、嘔吐、激頭痛を感じ、眩暈、気持ち悪さのため部屋を出た 1 時間後に気を失った。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であった。搬入時の CO-Hb 値 (50%) は異常に高かったが症状は軽度であった (Fagin et al., 1980)。

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。CO-Hb 値は約 30%であった (Manno et al., 1989)。

閉鎖的な空間でペンキ剥離剤を使用した二人の作業者は、心拍停止の状態 で病院に搬送され、後に死亡した。1 名の患者の CO-Hb 量は、酸素吸入の措置を行ったにもかかわらず 9 時間の間に 2% から 8% に増加した。またこの事故では、救助にあたったヒトにも吐き気、眩暈などの症状が認められた (Leikin et al., 1990)。

換気不良の場所でジクロロメタンの蒸気に暴露した植物成分抽出釜作業員 4 名の事故では、中枢神経抑制、麻酔、眼 / 呼吸器の刺激が認められ、死亡した 1 名の剖検では肺気腫、肝臓門脈の拡張などが認められた (Moskowitz & Shapiro, 1952)。

上述以外でも、ジクロロメタンを含むペンキ剥離剤使用者の事故例は数多く存在し、2000 年以降でも少なくとも 14 名の作業者の死亡が確認されている (OSHA, 2012)。こうした背景を受け、EU では、2012 年よりジクロロメタンを 0.1% 以上含む剥離剤の使用を禁止している (EU, 2006)。

(2) 動物に関する情報

動物実験による急性影響については、Environmental Health Criteria 164 (WHO, 1996) の内容を取りまとめた。

1 経口試験

2 ラットにおけるジクロロメタンの経口 LD₅₀ の範囲は 1410-2524 mg/kg で、マウス経口 LD₅₀ は
3 1987 mg/kg、イヌで 3000 mg/kg と報告されている。

5 吸入試験

6 6 時間吸入暴露の LC₅₀ はラットで >2800 mg/m³ 又は 5200 mg/m³、マウスで 49100 mg/m³ 又は
7 55870 mg/m³、モルモットで 40200 mg/m³ であった。

8 げっ歯類における吸入急性毒性の症状として中枢神経の抑制、痙攣、呼吸困難、感覚麻痺、
9 体性感覚惹起反応、脳波への影響、活動量の変化、CO-Hb 値の増加、睡眠時間や睡眠時の脳
10 波に対する影響、高濃度暴露による昏睡等がみられた。また、肝臓、腎臓の組織学的変化も
11 認められた。低濃度の急性影響として、ラットに 500 ppm で 3 時間暴露した時の睡眠中のレ
12 ム睡眠の減少が報告されており、短時間の高濃度暴露の影響としてはマウスに 47500 ppm を
13 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報告されてい
14 る。

16 経皮試験

17 ラットに対する経皮投与急性毒性試験においても、軽度の行動への影響、CO-Hb 値の増加、
18 肝臓の腫大、血色素尿が認められる。

20 1-6-3 刺激性及び腐食性

21 (1) ヒトへの影響

22 有志者によるジクロロメタンの経皮吸収試験の結果、直接の皮膚接触(親指)で 2 分以内に
23 灼熱痛が現れたとの報告がある(Stewart & Dodd, 1964)。男女 125 名がジクロロメタンを 20%
24 程度含む防臭剤(75 名)又は制汗剤(50 名)を 1 日 2 回、12 週間使用した試験では、軽度の発赤
25 がみられたが、浮腫は認められなかった(Meltzer et al.,1977)。

26 ジクロロメタンとメタノール混合物の桶に転落し、15 分間全身浸漬した例では、広範の病
27 変、皮膚表面の薬火傷、表皮の強度の損傷、強度角結膜炎がみられた(Weber et al.,1990)。
28 容器(直径 1 m、高さ 1.2 m)の底に約 2L のジクロロメタン入りのバケツを置き、容器の清
29 掃を行っていた作業者が、気を失いバケツを転倒した状態で容器内に約 30 分留まった例では、
30 意識喪失の間、体重を支えた両脚(脛)に 2-3 度の薬火傷を負った。この部分は乾燥、皮膚
31 移植は不要であったという報告がある(Wells & Waldron, 1984)。

32 (2) 動物への影響

33 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
34 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 フランス語; WHO, 1996 より 2 次引用)。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
35 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つ
36 た(Van Beck, 1990 unpublished ; WHO, 1996 より 2 次引用)。

38 ウサギにジクロロメタン溶液 0.1 mL を点眼した試験で、角膜の肥厚、眼圧の亢進を伴う結

膜、眼瞼の中等度ないし重度の炎症、眼圧の亢進がみられ、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。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。また、17500 ppm で 10 分間蒸気暴露した場合においても、角膜の肥厚及び眼圧の亢進が若干増加した(Ballantyne et al., 1976)。また、SD ラットに対する10000 ppm の 90 日間吸入暴露試験 (6h/day) では、結膜の発赤が暴露後 1～10 時間継続した(Leuschner et al., 1984)。

1-6-4 感作性

調査した範囲内で、ジクロロメタンの感作性に関する報告はなかった。

1-7 有害性評価値のまとめ

経口及び吸入経路の一般毒性、生殖・発生毒性、及び発がん性に関する有害性評価値を下の表 1-10にまとめた。ジクロロメタンは実験動物で発がん性を示し、ヒトにおける発がん性も示唆されている。ジクロロメタンは*in vitro*及び*in vivo*系において遺伝毒性を有し、DNAと反応して遺伝毒性を示す物質(変異原性物質)と判断された。従って、本評価では発がん性の有害性評価値導出は閾値のない発がん性物質として実施した。

経口暴露及び吸入暴露のいずれにおいても、最も感受性の高い指標は発がん性であった。発がん性の経口経路については、Serotaら(1986b)における雄マウスの肝細胞腺腫又はがんの発生頻度の増加に基づく、発がん性の経口経路の有害性評価値 $9.0 \times 10^{-3} \text{ mg/kg/day}$ を、ジクロロメタンの有害性評価における経口経路の有害性評価値とした。

発がん性の吸入経路については、JBRC(2000)、Aisoら(2014)のマウス2年間発がん性試験における雄の気管支肺胞がんの増加に基づく、発がん性の吸入経路の有害性評価値 $4.3 \times 10^{-2} \text{ mg/m}^3$ を有害性評価における吸入経路の有害性評価値とした。

ジクロロメタンは体内に吸収された後、経口及び吸入で同じメカニズムにより毒性が誘発される可能性が高い。このことから、本評価でのリスク推計においては、経口暴露推計量に基づくリスク比(経口暴露のそれぞれの有害性評価値に対する経口暴露推計量の比)と吸入暴露推計量に基づくリスク比(吸入暴露のそれぞれの有害性評価値に対する吸入暴露推計量の比)を合計した値を持って、当該物質のリスクを推計する事が毒性学的に妥当であると考えられる。

表 1-10 の有害性評価 のまとめ

暴露経路	有害性	有害性評価値
経口	一般毒性	$1.7 \times 10^{-2} \text{ mg/kg/day}$
	生殖・発生毒性	7.03 mg/kg/day (吸入暴露データからの換算値)
	発がん性	$9.0 \times 10^{-3} \text{ mg/kg/day}^*$
吸入	一般毒性	$1.5 \times 10^{-1} \text{ mg/m}^3$ (1日摂取量 $6 \times 10^{-2} \text{ mg/kg/day}$ に相当)

	生殖・発生毒性	17.6 mg/m ³ (1 日摂取量 7.03 mg/kg/day に相当)
	発がん性	<u>4.3 × 10⁻²mg/m³*</u> (1 日摂取量 1.7 × 10 ⁻² mg/kg/day に相当)

1 *各暴露経路における最小の有害性評価値

2

3

1 - 8 文献

- ATSDR: Agency for Toxic Substances and Disease Registry (1995) Environmental Medicine: Integrating a Missing Element into Medical Education Chapter: Case study24: Methylene Chloride Toxicity, 494
- ATSDR: Agency for Toxic Substances and Disease Registry (2000). Toxicological profile for methylene chloride. Atlanta, GA. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxpro2.html>.
- Aiso S, Take M, Kasai T, Senoh H, Umeda Y, Matsumoto M, Fukushima S. (2014). Inhalation carcinogenicity of dichloromethane in rats and mice. *Inhal Toxicol.* Jul;26(8):435-51.
- Allen J, Kligerman A, Campbell J, Westbrook-Collins B, Erexson G, Kari F et al. (1990) Cytogenetic Analyses of Mice Exposed to Dichloromethane. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 15:221-228
- Ballantyne, B., Gazzard, M.F. and Swanston, D.W. (1976) The ophthalmic toxicology of dichloromethane. *Toxicology*, 6,173-187.
- Barry, KH; Zhang, Y; Lan, Q; Zahm, SH; Holford, TR; Leaderer, B; Boyle, P; Hosgood, HD; Chanock, S; Yeager, M; Rothman, N; Zheng, T. (2011). Genetic variation in metabolic genes, occupational solvent exposure, and risk of non-hodgkin lymphoma. *Am J Epidemiol* 173: 404-413.
- Bell, B.P., Franks, P., Hildreth, N. and Melius, J. (1991) Methylene chloride exposure and birthweight in Monroe County, *Environ. Res.*, 55, 31-39.
- Benbrahim-Tallaa L, Lauby-Secretan B, Loomis D, Guyton KZ, Grosse Y, El Ghissassi F, Bouvard V, Guha N, Mattock H, Straif K (2014) International Agency for Research on Cancer Monograph Working Group. Carcinogenicity of perfluorooctanoic acid, tetrafluoroethylene, dichloromethane, 1,2-dichloropropane, and 1,3-propane sultone. *Lancet Oncol.* 15(9):924-5.
- Berman, E; Schlicht, M; Moser, VC; MacPhail, RC. (1995). A multidisciplinary approach to toxicological screening: I. Systemic toxicity. *J Toxicol Environ Health* 45: 127-143.
- 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.
- 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.
- 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.
- Burek, J. D. et al. (1984) Methylene chloride: A two-year inhalation toxicity and oncogenicity study in rats and hamsters. *Fundam. Appl. Toxicol.* 4, p. 30-47.

- 1 CEPA (1993) Canadian Environmental Protection Act, Priority Substances List Assessment Report,
2 Dichloromethane. Government of Canada, Environment Canada, Health Canada
- 3 Cantor, K.P., Stewart, P.A., Brinton, L.A. and Dosemeci, M. (1995) Occupational exposure and female
4 breast cancer mortality in the United States. *J. Occup. Med.*, 37, 336-348.
- 5 Casanova, M., Bell, D.A. and Heck, H. (1997) Dichloromethane metabolism to formaldehyde and
6 reaction of formaldehyde with nucleic acids in hepatocytes of rodents and humans with and
7 without glutathione S-transferase T1 and M1 genes. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 37, 168-180.
- 8 Casanova, Mercedes. et al. (1996) DNA-Protein Cross-Links (DPX) and cell proliferation in B6C3F1
9 mice but not Syrian golden hamsters exposed to dichloromethane: Pharmacokinetics and risk
10 assessment with DPX as dosimeter. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 31(1), p. 103-116.
- 11 Cherry, N., Venables, H., Waldron, H.A. and Wells, G.G. (1981) Some observations on workers
12 exposed to methylene chloride. *Br. J. Ind. Med.*, 38, 351-355.
- 13 Cocco, P; Heineman, EF; Dosemeci, M. (1999). Occupational risk factors for cancer of the central
14 nervous system (CNS) among US women. *Am J Ind Med* 36: 70-74.
- 15 Condie, L.W., Smallwood, C.L. and Laurie, R.D. (1983) Comparative renal and hepatotoxicity of
16 halomethanes: bromodichloromethane, bromoform, chloroform, dibromochloromethane and
17 methylene chloride. *Drug Chem. Toxicol.*, 6, 563-578.
- 18 Costantini, AS; Benvenuti, A; Vineis, P; Kriebel, D; Tumino, R; Ramazzotti, V; Rodella, S; Stagnaro,
19 E; Crosignani, P; Amadori, D; Mirabelli, D; Sommani, L; Belletti, I; Troschel, L; Romeo, L;
20 Miceli, G; Tozzi, G; Mendico, I; Maltoni, S; Miligi, L. (2008). Risk of leukemia and multiple
21 myeloma associated with exposure to benzene and other organic solvents: Evidence from the
22 Italian Multicenter Case-control study. *Am J Ind Med* 51: 803-811.
- 23 Dosemeci, M; Cocco, P; Chow, WH. (1999). Gender differences in risk of renal cell carcinoma and
24 occupational exposures to chlorinated aliphatic hydrocarbons. *Am J Ind Med* 36: 54-59.
- 25 Dumas, S; Parent, ME; Siemiatycki, J; Brisson, J. (2000). Rectal cancer and occupational risk factors: A
26 hypothesis-generating, exposure-based case-control study. *Int J Cancer* 87: 874-879.
- 27 Duprat, P., Delsaut, L. and Gradiski, D. (1976) Pouvoir irritant des principaux solvants chlorés
28 aliphatiques sur la peau et les muqueuses oculaires du lapin. *J. Eur. J. Toxicol.*, 9, 171-177.
- 29 EPA (2011). Toxicological review of dichloromethane(methylene chloride) (CAS No.75-09-2): In
30 support of summary information on the Integrated Risk Information System(IRIS). 2011,
31 EPA/635/R-10/003F. <http://www.epa.gov/iris/toxreviews/0070tr.pdf>
- 32 EU (2006) REGULATION (EC) No 1907/2006 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE
33 COUNCIL of 18 December 2006, P246
- 34 Eisenbrandt, D.L. and Reitz, R.H. (1986) Acute toxicity of methylene chloride: Tumorigenic
35 implications for B6C3F1 mice. *Toxicologist*, 6, 662.
- 36 Fagin, J., Bradley, J., and Williams, D. (1980) Carbon monoxide poisoning secondary to inhaling
37 methylene chloride. *Br. Med. J.*, 281, 1461.

- 1 Fodor, GG; Prajsnar, D; Schlipkoter, HW. (1973). Endogenous CO formation by incorporated
2 halogenated hydrocarbons of the methane series. *Gefahrst Reinhalt Luft* 33: 260-261.
- 3 Friedlander, B.R., Hearne, T. and Hall, S. (1978) Epidemiologic investigation of employees chronically
4 exposed to methylene chloride. *J. Occup. Med.*, 20, 657-666.
- 5 General Electric Company. (1976). Dichloromethane: Reproduction and ninety day oral toxicity study
6 in rats. (878210710). Mattawan, MI: International Research and Development Corporation.
- 7 Gi M, Fujioka M, Yamano S, Shimomura E, Ishii N, Kakehashi A, Takeshita M, Wanibuchi H.
8 (2015a) Determination of Hepatotoxicity and Its Underlying Metabolic Basis of
9 1,2-Dichloropropane in Male Syrian Hamsters and B6C3F1 Mice. *Toxicol Sci.*
10 May;145(1):196-208.
- 11 Gi M, Fujioka M, Yamano S, Shimomura E, Kanki M, Kawachi S, Tachibana H, Tatsumi K, Fang H,
12 Ishii N, Kakehashi A, Wanibuchi H. (2015b) Modifying effects of 1,2-dichloropropane on
13 N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine-induced cholangiocarcinogenesis in male Syrian hamsters.
14 *J Toxicol Sci.* 40(5):647-56.
- 15 Gibbs, GW; Amsel, J; Soden, K. (1996). A cohort mortality study of cellulose triacetate-fiber workers
16 exposed to methylene chloride. *J Occup Environ Med* 38: 693-697.
- 17 Gocke E, King M-T, Eckhardt K, Wild D(1981) Mutagenicity of cosmetics ingredients licensed by the
18 European Communities. *Mutation Research*, 90:91-109
- 19 Gold, LS; Stewart, PA; Milliken, K; Purdue, M; Severson, R; Seixas, N; Blair, A; Hartge, P; Davis, S;
20 De Roos, AJ. (2010). The relationship between multiple myeloma and occupational exposure to
21 six chlorinated solvents. *Occup Environ Med* 68: 391-399.
- 22 Graves, R.J. and Green, T. (1996) Mouse liver glutathione S-transferase mediated metabolism of
23 methylene chloride to a mutagen in the CHO/HPRT assay. *Mutat. Res.*, 367, 143-150.
- 24 Graves, R.J., Callander, R.D. and Green T (1994a) The role of formaldehyde and S-chloromethyl
25 glutathione in the bacterial mutagenicity of methylene chloride. *Mutat. Res.*, 320, 235-243.
- 26 Graves, R.J., Coutts, C. and Green, T (1995) Methylene chloride-induced DNA damage: an
27 interspecies comparison. *Carcinogenesis*, 16, 1919-1926.
- 28 Graves, R.J., Coutts, C., Eyton-Jones, H. and Green, T. (1994b) Relationship between hepatic DNA
29 damage and methylene chloride-induced hepatocarcinogenesis in B6C3F1 mice. *Carcinogenesis*,
30 15, 991-996.
- 31 Green T (1995). Methylene chloride induced mouse liver and lung tumors. An overview of research into
32 the mechanism of action and its relevance to humans. Report No. CTL/R/1246. Zeneca Central
33 Toxicology Laboratory. Alderley Park, Macclesfield, Cheshire, UK.
- 34 Green T, Provan WM, Collinge DC, Guest AE. (1988) Macromolecular interactions of inhaled
35 methylene chloride in rats and mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 93:1-10.
- 36 Hall, A.H. and Rumack, B.H. (1990) Methylene chloride exposure in furniture-stripping shops:
37 Ventilation and respirator use practices. *J. Occup. Med.*, 32, 33-37.

- 1 Hardin, B.D. and Manson, J.M. (1980) Absence of dichloromethane teratogenicity with inhalation
2 exposure in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 52, 22-28.
- 3 Haun, C.C., Vernot, E.H., Darmer, K.I. and Diamond, S.S. (1972) Continuous animal exposure to low
4 levels of dichloromethane. In: *Proceedings of the 3rd Annual Conference on Environmental*
5 *Toxicology*. Dayton, Ohio, Wright-Patterson Air Force Base, Aerospace Medical Research
6 Laboratory, pp. 199-208 (Paper No. 12; AMRL-TR-130).
- 7 Haun, CC; Harris, ES; Darmer, KI, Jr. (1971). Continuous animal exposure to methylene chloride. In
8 *Proceedings of the annual conference on environmental toxicology (2nd) held at Fairborn, Ohio*
9 *on 31 August, 1 and 2 September 1971 (pp. 125-135). (AMRL-TR-71-120, paper no. 10).*
10 Wright-Patterson AFB, OH: Aerospace Medical Research Laboratory.
- 11 Hazleton Laboratories. (1983). 24-month oncogenicity study of methylene chloride in mice: Final report.
12 (45-8303005). New York, NY: National Coffee Association.
- 13 Health Canada (2011) Guidelines for Canadian Drinking Water Quality, Guideline Technical Document,
14 Dichloromethane
- 15 Hearne FT, Pifer JW (1999) Mortality study of two overlapping cohorts of photographic film base
16 manufacturing employees exposed to methylene chloride. *J Occup Environ Med*, 41(12):1154-69
- 17 Hearne, F.T., Grose, F., Pifer, W.J., Friedlander, B.R. and Raleigh, R.L. (1987) Methylene chloride
18 mortality study: Dose-response characterization and animal model comparison. *J. Occup. Med.*,
19 29, 218-228.
- 20 Hearne, F.T., Pifer, J.W. and Grose, F. (1990) Absence of adverse mortality effects in workers exposed
21 to methylene chloride. *J. Occup. Med.*, 32, 234-240.
- 22 Heineman EF, Cocco P, Gómez MR, Dosemeci M, Stewart PA, Hayes RB, Zahm SH, Thomas TL, Blair
23 A. (1994) Occupational exposure to chlorinated aliphatic hydrocarbons and risk of astrocytic
24 brain cancer. *Am. J. Ind. Med.*, 26, 155-169.
- 25 Heppel, L.A., Neal, P.A., Perrin, T.L., Orr, M.L. and Porterfield, V.T. (1944) Toxicology of
26 dichloromethane (methylene chloride). I. Studies on effects of daily inhalation. *J. Ind. Hyg.*
27 *Toxicol.*, 26, 8-16.
- 28 Heppel, LA; Neal, PA. (1944). Toxicology of dichloromethane (methylene chloride): II: Its effect upon
29 running activity in the male rat. *J Ind Hyg Toxicol* 26: 17-21.
- 30 Hirata T, Cho Y.M, Toyoda T, Akagi J, Suzuki I, Nishikawa A and Ogawa K (2017) Lack of in vivo
31 mutagenicity of 1,2-dichloropropane and dichloromethane in the livers of *gpt* delta rats
32 administered singly or in combination. *J Applied Tox* 37: 683–691
- 33 Hughes, N.J. and Tracey, J.A. (1993) A case of methylene chloride (nitremans) poisoning, effects on
34 carboxyhaemoglobin levels. *Hum. Exp. Toxicol.*, 12, 159-160.
- 35 Infante-Rivard, C; Siemiatycki, J; Lakhani, R; Nadon, L. (2005). Maternal exposure to occupational
36 solvents and childhood leukemia. *Environ Health Perspect* 113: 787-792.
- 37 JBRC (2000) 中央労働災害防止協会日本バイオアッセイ研究センター：ジクロロメタンのがん

1 原性試験報告書

- 2 Jongen WMF, Lohman PHM, Kottenhagen MJ, et al. (1981) Mutagenicity testing of dichloromethane in
3 short-term mammalian test systems. *Mutat Res* 81:203-213.
- 4 Kari, F.W., Foley, J.F., Seilkop, S.K., Maronpot, R.R. and Anderson, M.W. (1993) Effect of varying
5 exposure regimens on methylene chloride induced lung and liver tumors in female B6C3F1 mice.
6 *Carcinogenesis*, 14, 819-826.
- 7 Kashin, L.M., Makotchenko, V.M., Malinina-Putsenko, V.P., Mikhailovskaja, L.F. and Shmuter, L.M.
8 (1980) Experimental and clinico-hygienic investigations of methylene chloride toxicity. *Vrach.*
9 *Delo.*, 1, 100-103 (in Russian).
- 10 Kawasaki Y, Tsuboi C, Yagi K, Morizane M, Masaoka Y, Esumi S, Kitamura Y, Sendo T.(2015)
11 Photoinitiators enhanced 1,2-dichloropropane-induced cytotoxicity in human normal
12 embryonic lung fibroblasts cells in vitro. *Environ Sci Pollut Res Int*, 22(6):4763-70
- 13 Kelly, M. (1988) Case reports of individuals with oligospermia and methylene chloride exposures.
14 *Reprod. Toxicol.*, 2, 13-17.
- 15 Kernan, GJ; Ji, BT; Dosemeci, M; Silverman, DT; Balbus, J; Zahm, SH. (1999). Occupational risk
16 factors for pancreatic cancer: A case-control study based on death certificates from 24 U.S. States.
17 *Am J Ind Med* 36: 260-270.
- 18 Kirschman, J.C., Brown, N.M., Coots, R.H. and Morgareidge, K. (1986) Review of investigations of
19 dichloromethane metabolism and subchronic oral toxicity study as the basis for the design of
20 chronic oral studies in rats and mice. *Food Chem. Toxicol.*, 24, 943-949.
- 21 Kitchin KT, Brown JL (1989) Biochemical effects of three carcinogenic chlorinated methanes in rat
22 liver. *Teratogenesis Carcinog Mutagen*; 9:61-69
- 23 Kjellstrand, P., Bjerkemp, M., Adler-Maihofer, M. and Holmquis, B. (1986) Effects of methylene
24 chloride on body and organ weight and plasma butyrylcholinesterase activity in mice. *Acta*
25 *Pharmacol. Toxicol.*, 59, 73-79.
- 26 Kozena, L., Frantik, E. and Vodickova, A. (1990) Methylene chloride does not impair vigilance
27 performance at blood levels simulating limit exposure. *Acta Nerv. Super.*, 32, 35-37.
- 28 Kubo S, Nakanuma Y, Takemura S, Sakata C et al., (2014) Case series of 17 patients with
29 cholangiocarcinoma among young adult workers of a printing company in Japan. *J*
30 *Hepatobiliary Pancreat Sci*, 21(7):479-88
- 31 Kumagai, S., Kurumatani, N., Arimoto, A., Ichihara, G. (2013) Cholangiocarcinoma among offset
32 colour proof-printing workers exposed to 1,2-dichloropropane and/or dichloromethane. *Occup.*
33 *Environ. Med.*, 70, 508-10.
- 34 Kuzelova, M. and Vlasak, R. (1966) The effect of methylene chloride on the health of workers in
35 production of film-foils and investigation of formic acid as a methylene-dichloride metabolite.
36 *Prac. Lek.*, 18, 167-170 (in Czech).
- 37 Lanes, S.F., Rothman, K.G., Dreyer, N.A. and Soden, K.J. (1993) Mortality update of cellulose fiber
38 production workers. *Scand. J. Work Environ. Health*, 19, 426-428.

- 1 Lash, A.A., Becker, C.E., So, Y. and Shore, M. (1991) Neurotoxic effects of methylene chloride: Are
2 they long lasting in humans? *Br. J. Ind. Med.*, 48, 418-426.
- 3 Leikin, J.B., Kaufman, D., Lipscomb, J.W., Burda, A.M. and Hryhorczuk, D.O. (1990) Methylene
4 chloride: Report of five exposures and two deaths. *Am. J. Emerg. Med.*, 8, 534-537.
- 5 Leuschner, F., Neumann, B.W. and Hubscher, F. (1984) Report on subacute toxicological studies with
6 dichloromethane in rats and dogs by inhalation. *Arzneimittel forschung*, 34, 1772-1774.
- 7 MacEwen, J.D., Vernot, E.H. and Haun, C.C. (1972) Continuous animal exposure to dichloromethane.
8 Dayton, Ohio, Wright Patterson Air Force Base. Aerospace Medical Research Laboratory
9 (AMRL-TR-72-28).
- 10 Mainwaring, G.W., Nash, J., Williams, S.M., Foster, J.R., Tugwood, J. and Green, T. (1996) The
11 distribution of theta class glutathione S-transferase in the liver and lung of mouse, rat and human.
12 *Biochem. J.*, 318, 297-303.
- 13 Maltoni, C., Cotti, G. and Perino, G. (1988) Long-term carcinogenicity bioassays administered by
14 ingestion to Sprague-Dawley rats and Swiss mice and by inhalation to Sprague-Dawley rats. *Ann.*
15 *NY Acad. Sci.*, 534, 352-366.
- 16 Manno, M., Chirillo, R., Danlotti, G., Cocheo, V. and Albrizio, F. (1989) Carboxyhaemoglobin and
17 fatal methylene chloride poisoning. *Lancet*, 2 (8657), 274.
- 18 Maronpot, R.R., Devereux, T.R., Hegi, M., Foley, J.F., Kanno, J., Wiseman, R. and Anderson, M.W.
19 (1995) Hepatic and pulmonary carcinogenicity of methylene chloride in mice: a search for
20 mechanisms. *Toxicology*, 102, 73-81.
- 21 Meltzer, N., Rampy, L., Bielinski, P., Garofalo, M. and Sayad, R. (1977) Skin irritation, inhalation
22 toxicity studies of aerosols using methylene chloride. *Drug Cosmet. Ind.*, 120, 38-40.
- 23 Mennear, J.H., McConnell, E.E., Huff, J.E., Renne, R.A. and Giddens, E. (1988) Inhalation toxicology
24 and carcinogenesis studies of methylene chloride (dichloromethane) in F344/N rats and B6C3F1
25 mice. *Ann, NY Acad. Sci.*, 534, 343-351.
- 26 Miligi, L; Costantini, AS; Benvenuti, A; Kriebel, D; Bolejack, V; Tumino, R; Ramazzotti, V; Rodella,
27 S; Stagnaro, E; Crosignani, P; Amadori, D; Mirabelli, D; Sommani, L; Belletti, I; Troschel, L;
28 Romeo, L; Miceli, G; Tozzi, GA; Mendico, I; Vineis, P. (2006). Occupational exposure to
29 solvents and the risk of lymphomas. *Epidemiology* 17: 552-561.
- 30 Moser, VC; Cheek, BM; MacPhail, RC. (1995). A multidisciplinary approach to toxicological
31 screening: III. Neurobehavioral toxicity. *J Toxicol Environ Health A* 45: 173-210.
- 32 Moskowitz, S. and Shapiro, H. (1952) Fatal exposure to methylene chloride vapor. *Am. J. Ind. Hyg*
33 *Occup. Med.*, 5, 116-123.
- 34 NTP: National Toxicology Program (1986). NTP technical report on the toxicology and carcinogenesis
35 studies of dichloromethane (methylene chloride) (CAS No. 75-09-2) in F344/N rats and B6C3F1
36 mice (inhalation studies). Research Triangle Park, NC: U.S. Department of Health and Human
37 Services; NTP-TR-306. NIH Pub No. 86-2562

- 1 Narotsky, M.G., Hamby, B.T., Mitchell, D.S. and Kavlock, R.J. (1992) Full-litter resorptions caused by
2 low-molecular weight hydrocarbons in F-344 rats [abstract 67]. *Teratology*, 45, 472.
- 3 Narotsky, MG; Kavlock, RJ. (1995). A multidisciplinary approach to toxicological screening: II.
4 Developmental toxicity. *J Toxicol Environ Health* 45: 145-171.
- 5 Nelson HH, Wiencke JK, Christiani DC, Cheng TJ, Zuo ZF, Schwartz BS, Lee BK, Spitz MR, Wang M,
6 Xu X, et al.(1995) Ethnic differences in the prevalence of the homozygous deleted genotype of
7 glutathione S-transferase theta. *Carcinogenesis*. 16(5):1243-5.
- 8 Nitschke, K.D., Burek, J.D., Bell, T.J., Kociba, R.J., Rampy, L.W. and McKenna, M.J. (1988a)
9 Methylene chloride: A 2-year inhalation toxicity and oncogenicity study in rats. *Fundam. Appl.*
10 *Toxicol.*, 11, 48-59.
- 11 Nitschke, K.D., Eisenbrandt, D.L., Lomax, L.G. and Rao, K.S. (1988b) Methylene chloride: Two-
12 generation inhalation reproductive study in Fischer 344 rats. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 11, 60-67.
- 13 Nitschke, K.D., Stevens, G.A., Kociba, R.J., Keyes, D.G. and Rampy, L.W. (1981) Methylene chloride:
14 a four week inhalation toxicity study in rats, hamsters and mice. Midland, Michigan, Dow
15 Chemical Co. (Internal report).
- 16 Novak, J.J. and Hain, J.O.R. (1990) Furniture stripping vapor inhalation fatalities: two case studies.
17 *Appl. Occup. Environ. Hyg.*, 5, 843-847.
- 18 OECD (2011) SIDS Initial Assessment Profile available at <http://webnet.oecd.org/hpv/ui/Search.aspx>
- 19 OSHA (1997). Occupational exposure to methylene chloride. Final rule. *Federal Register*, 68,
20 1494-1619.
- 21 OSHA (2012) Methylene Chloride Hazards for Bathtub Refinishers
22 https://www.osha.gov/dts/hazardalerts/methylene_chloride_hazard_alert.html
- 23 Ott, M.G., Carlo, G.L., Steinberg, S. and Bond, G.G. (1985) Mortality among employees engaged in
24 chemical manufacturing and related activities. *Am. J. Epidemiol.*, 122, 311-322.
- 25 Ott, M.G., Skory, L.K., Holder, B.B., Bronson, J.M. and Williams, P.R. (1983) Health evaluation of
26 employees occupationally exposed to methylene chloride. *Scand. J. Work Environ. Health*, 9
27 (Suppl 1), 1-38.
- 28 Pemble, S., Schroeder, K.R., Spencer, S.R., Meyer, D.J., Hallier, E., Bolt, H.M., Ketterer, B., Taylor,
29 J.B. (1994) Human glutathione S-transferase Theta (GST T1): cDNA cloning and the
30 characterization of a genetic polymorphism. *Biochem. J.*, 300, 271-276.
- 31 Perocco P, Prodi G. (1981). DNA damage by halokanes in human lymphocytes cultured in vitro. *Cancer*
32 *Lett* 13:213-218.
- 33 Putz, V.R., Johnson, B.L. and Setzer, J.V. (1976) A comparative study of the effects of carbon
34 monoxide and methylene chloride on human performance. *J. Environ. Pathol. Toxicol.*, 2,
35 97-112.
- 36 Quondamatteo, F., Schulz, T.G., Bunzel, N., Hallier, E. and Herken, R. (1998) Immunohistochemical
37 localization of glutathione S-transferase-T1 in murine kidney, liver, and lung. *Histochem. Cell*

- 1 Biol. 110, 417-423.
- 2 Radican, L; Blair, A; Stewart, P; Wartenberg, D. (2008). Mortality of aircraft maintenance workers
3 exposed to trichloroethylene and other hydrocarbons and chemicals: Extended follow-up. J
4 Occup Environ Med 50: 1306-1319.
- 5 Raje, R; Basso, M; Tolen, T; Greening, M. (1988). Evaluation of in vivo mutagenicity of low-dose
6 methylene chloride in mice. Int J Toxicol 7: 699-703.
- 7 Roberts CJC, Marshall FPF (1976) Recovery after "lethal" quantity of paint remover. Brit Med J:20-21
- 8 Sasaki YF, Saga A, Akasaka M, Ishibashi S, Yoshida K, Su YQ et al. (1998) Detection of in vivo
9 genotoxicity of haloalkanes and haloalkenes carcinogenic to rodents by the alkaline single cell
10 gel electrophoresis (comet) assay in multiple mouse organs. Mutat Res 419:13-20
- 11 Sato Y, Kubo S, Takemura S, Sugawara Y, Tanaka S, Fujikawa M, Arimoto A, Harada K, Sasaki M,
12 Nakanuma Y. (2014) Different carcinogenic process in cholangiocarcinoma cases epidemically
13 developing among workers of a printing company in Japan. Int J Clin Exp Pathol 7(8):4745-4754
- 14 Schwetz, B.A., Leong, B.K.J. and Gehring, P.J. (1975) The effect of maternally inhaled
15 trichloroethylene, perchloroethylene, methyl chloroform, and methylene chloride on embryonal
16 and fetal development in mice and rats. Toxicol. Appl. Pharmacol., 32, 84-96.
- 17 Seidler, A; Möhner, M; Berger, J; Mester, B; Deeg, E; Elsner, G; Nieters, A; Becker, N. (2007). Solvent
18 exposure and malignant lymphoma: A population-based case-control study in Germany. J Occup
19 Med Toxicol 2: 2.
- 20 Serota, D.G., Thakur, A.K., Ulland, B.M., Kirschman, J.C., Brown, N.M., Cotts, R.G. and Morgareidge,
21 K. (1986a) A two-year drinking-water study of dichloromethane in rodents. I. Rats. Food Chem.
22 Toxicol., 24, 951-958.
- 23 Serota, D.G., Thakur, A.K., Ulland, B.M., Kirschman, J.C., Brown, N.M., Cotts, R.G. and Morgareidge,
24 K. (1986b) A two-year drinking-water study of dichloromethane in rodents. II. Mice. Food Chem.
25 Toxicol., 24, 959-963.
- 26 Shannon, H.S., Haines, T., Bernholz, C., Julian, J.A., Verma, D.K., Jamieson, E. and Walsh, C. (1988)
27 Cancer morbidity in lamp manufacturing workers. Am. J. Ind. Med., 14, 281-290.
- 28 Sheldon T, Richardson CR, Elliott BM. (1987) Inactivity of methylene chloride in the mouse bone
29 marrow micronucleus assay. Mutagenesis: 2(1):57-59
- 30 Sherratt, Philip. J. et al. (1998) Increased bioactivation of dihaloalkanes in rat liver due to
31 induction of class theta glutathione S-transferase T1-1. Biochem. J. 335, p. 619-630.
- 32 Sherratt PJ, Williams S, Foster J, Kernohan N, Green T, Hayes JD (2002) Direct comparison of the
33 nature of mouse and human GST T1-1 and the implications on dichloromethane carcinogenicity.
34 Toxicol Appl Pharmacol 179(2):89-97
- 35 Sherratt, P.J., Pulford, D.J., Harrison, D.J., Green, T and Hayes, J.D. (1997) Evidence that human class
36 theta glutathione S-transferase T1-1 can catalyse the activation of dichloromethane: a liver and
37 lung carcinogen in the mouse. Biochem. J., 326, 837-846.

- 1 Sobue T, Utada M, Makiuchi T, Ohno Y, Uehara S, Hayashi T, Sato KK, Endo G (2015) Risk of
2 bile duct cancer among printing workers exposed to 1,2-dichloropropane and/or
3 dichloromethane. *J Occup Health*. 57(3):230-6
- 4 Soden, K.J. (1993) An evaluation of chronic methylene chloride exposure. *J. Occup. Med.*, 35, 282-286.
- 5 Stewart, R.D. and Dodd, H.C.(1964) Absorption of carbon tetrachloride, trichloroethylene,
6 tetrachloroethylene, methylene chloride, and 1,1,1-trichloroethane through the human skin. *Am.*
7 *Ind. Hyg. Assoc. J.*, 25, 439-446.
- 8 Stewart, R.D., Fisher T.N., Hosko M.J., Peterson J.E., Baretta, E.D. and Dodd, H.C. (1972)
9 Experimental human exposure to methylene chloride. *Arch. Environ. Health*, 25, 342-348.
- 10 Suzuki T, Yanagiba Y, Suda M, Wang RS (2014) Assessment of the Genotoxicity of
11 1,2-Dichloropropane and Dichloromethane after Individual and Co-exposure by Inhalation in
12 Mice. *J Occup Health*. 56(3):205-14
- 13 Tariot, P.M. (1983) Delirium resulting from methylene chloride exposure: Case report. *J. Clin.*
14 *Psychiatry*, 44, 340-342.
- 15 Taskinen, H., Lindbohm, M.L. and Hemminki, K. (1986) Spontaneous abortions among women
16 working in the pharmaceutical industry. *Br. J. Ind. Med.*, 43, 199-205.
- 17 Thilagar AK, Kumaroo V. (1983) Induction of chromosome damage by methylene chloride in CHO
18 cells. *Mutat Res*. 116(3-4):361-7.
- 19 Thomas, AA; Pinkerton, MK; Warden, JA. (1972). Effects of low level dichloromethane exposure on
20 the spontaneous activity of mice. In *Proceedings of the Annual Conference on Environmental*
21 *Toxicology (3rd) held in Fairborn, Ohio, on 25-27 October 1972 (pp. 223-226).*
22 (AMRLTR72130). Wright-Patterson AFB, OH: Aerospace Medical Research Lab.
- 23 Tomenson (2011) Update of a cohort mortality study of workers exposed to methylene chloride
24 employed at a plant producing cellulose triacetate film base. *Int Arch Occup Environ*
25 *Health*, 84:889–897
- 26 Tomenson JA, Bonner SM, Heijine CG, Farrar DG, Cummings TF (1997). Mortality of workers
27 exposed to methylene chloride employed at a plant producing cellulose triacetate film base. *Occup.*
28 *Environ. Med* 54: 470-476.
- 29 Trueman, R.W. and Ashby, J. (1987) Lack of UDS activity in the livers of mice and rats exposed to
30 dichloromethane. *Environ. Mol. Mutagen.*, 10, 189-195.
- 31 Van Beck, L. (1990) Investigation of a possibility to reduce the use of rabbits in skin irritation tests;
32 experiments with dichloromethane, trichloroethylene, tetrachloroethylene and 1, 1, 1-
33 trichloroethane. Doc. 56645/34/90, rep. V 89.265. Zeist, The Netherlands, TNO-CIVO Institutes.
- 34 WHO (1996) IPCS. Environmental health criteria 164, methylene chloride, second edition.
- 35 WHO (2000) Air Quality Guidelines for Europe, Second Edition, WHO Regional Publications,
36 European Series, No. 91
- 37 WHO (2003) Dichloromethane in Drinking-water Background document for development of WHO

- Guidelines for Drinking-water Quality, WHO/SDE/WSH/03.04/18, Originally published in Guidelines for drinking-water quality, 2nd ed. Vol.2. Health criteria and other supporting information. World Health Organization, Geneva, 1996.
- WHO (2004) Guidelines for Drinking Water Quality, Third edition http://cfpub.epa.gov/ncea/iris2/chemicalLanding.cfm?substance_nmbr=70 Air Quality Guidelines for Europe Second Edition
- Wang, R; Zhang, Y; Lan, Q; Holford, TR; Leaderer, B; Zahm, SH; Boyle, P; Dosemeci, M; Rothman, N; Zhu, Y; Qin, Q; Zheng, T. (2009). Occupational exposure to solvents and risk of non-Hodgkin lymphoma in Connecticut women. *Am J Epidemiol* 169: 176-185.
- 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).
- Weinstein, RS; Boyd, DD; Back, KC. (1972). Effects of continuous inhalation of dichloromethane in the mouse: morphologic and functional observations. *Toxicol Appl Pharmacol* 23: 660-679.
- 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]
- Winneke, G. (1974). Behavioral effects of methylene chloride and carbon monoxide as assessed by sensory and psychomotor performance. In C Xintaras; BL Johnson; I De Groot (Eds.), *Behavioral toxicology: Early detection of occupational hazards* (pp. 130-144). Cincinnati, OH: U.S. Department of Health, Education, and Welfare, National Institute for Occupational Safety and Health.
- Withey JR, Karpinski K.(1985)The fetal distribution of some aliphatic chlorinated hydrocarbons in the rat after vapor phase exposure.*Biol Res Pregnancy Perinatol.* 6(2):79-88.
- Yamada K, Kumagai S, Endo G (2015a) Chemical exposure levels in printing workers with cholangiocarcinoma (second report). *J Occup Health.* 57(3):245-52
- Yamada K, Kumagai S, Kubo S, Endo G (2015b) Chemical exposure levels in printing and coating workers with cholangiocarcinoma (third report). *J Occup Health.* 57(6):565-71
- Yamada K, Kumagai S, Nagoya T, Endo G (2014) Chemical exposure levels in printing workers with cholangiocarcinoma. *J Occup Health.* 56(5):332-8

- 1 Zhang L, Zong C, Ichihara S, Naito H, Toyokuni S, Kumagai S, Ichihara G. A trial to find appropriate
2 animal models of dichloropropane-induced cholangiocarcinoma based on the hepatic
3 distribution of glutathione S-transferases. J Occup Health. 2015 Dec 25;57(6):548-54.
- 4 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
5 的研究. 法中毒, 8, 64-65.
- 6 環境省 (2000) 今後の有害大気汚染物質対策のあり方について (第六次答申) 平成 12
7 年 12 月 19 日 中央環境審議会
- 8 厚労省 (2003) 水道水質基準ジクロロメタン
9 <http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/kenkou/suido/kijun/dl/k17.pdf>
- 10 厚労省 (2013) 「印刷事業場で発生した胆管がんの業務上外に関する検討会」報告書 化学物
11 質ばく露と胆管がん発症との因果関係について ~ 大阪の印刷事業場の症例からの検討
12 ~ 平成 25 年 3 月
- 13 食品安全委員会 (2008) 清涼飲料水評価書 ジクロロメタン 2008年11月
- 14 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
15 する催奇形性. 鹿児島大学農学部学術報告, 34, 94-103.
- 16 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
17 関する実験的研究. 法中毒, 9, 100-101.
- 18 日本産業衛生学会 (1999) 許容濃度等の勧告(1999年度) 産衛誌, 41, 46-51
- 19 日本産業衛生学会 (2015) 許容濃度等の勧告(2015年度) 産衛誌, 57, 146-217

20

1 - 9 （参考）BMD 算出データ

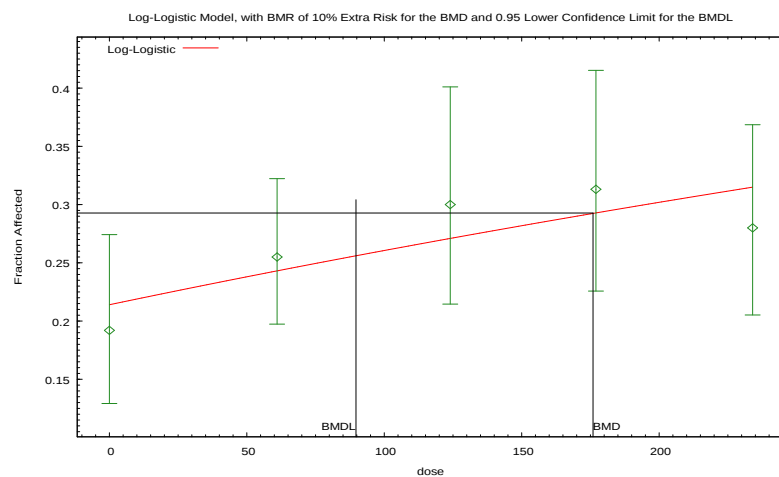
モデルの選択は、技術ガイダンス ver.1.0 に基づき、ベンチマークドース法の適用に関するガイダンス（http://dra4.nihs.go.jp/bmd/BMDS_guidance.pdf）に示された方法に従った。

○ マウス 104 週間飲水投与試験（Serota et al. 1986b）

雄マウス肝臓（がん + 腺腫）

Dose (mg/kg /day)	N	Effect
0	125	24
61	200	51
124	100	30
177	99	31
234	125	35

Model Name	Option File Name	BMD ₁₀ [mg/kg/day]	BMDL ₁₀ [mg/kg/day]	BMD ₁₀ / BMDL ₁₀	P-value	AIC
Gamma	Gam-BMR10-Restrict.opt	183.76	98.25	1.87	0.58	748.83
Logistic	Log-BMR10.opt	203.34	121.47	1.67	0.53	749.12
LogLogistic	LnL-BMR10-Restrict.opt	175.93	89.71	1.96	0.61	748.73
LogProbit	LnP-BMR10-Restrict.opt	239.05	151.20	1.58	0.30	750.57
Multistage	Mst2-BMR10-Restrict.opt	183.76	98.25	1.87	0.58	748.83
Multistage	Mst3-BMR10-Restrict.opt	183.76	98.25	1.87	0.58	748.83
Probit	Pro-BMR10.opt	200.99	118.61	1.69	0.53	749.08
Weibull	Wei-BMR10-Restrict.opt	183.77	98.25	1.87	0.58	748.83
Quantal-Linear	Qln-BMR10.opt	183.77	98.25	1.87	0.58	748.83
LogLogistic	LnL-BMR10-Unrestrict.opt	89.84			0.70	749.58
LogProbit	LnP-BMR10-Unrestrict.opt	90.11			0.70	749.57
Multistage	Mst2-BMR10-Unrestrict.opt	72.85	35.01	2.08	0.95	748.97
Multistage	Mst3-BMR10-Unrestrict.opt	81.58	28.45	2.87	0.97	750.87
Weibull	Wei-BMR10-Unrestrict.opt	89.83			0.70	749.59



1 ○ マウス 2 年間吸入暴露試験 (Aiso et al 2014, JBRC 2000)

2

3 雄マウスの気管支肺胞がん

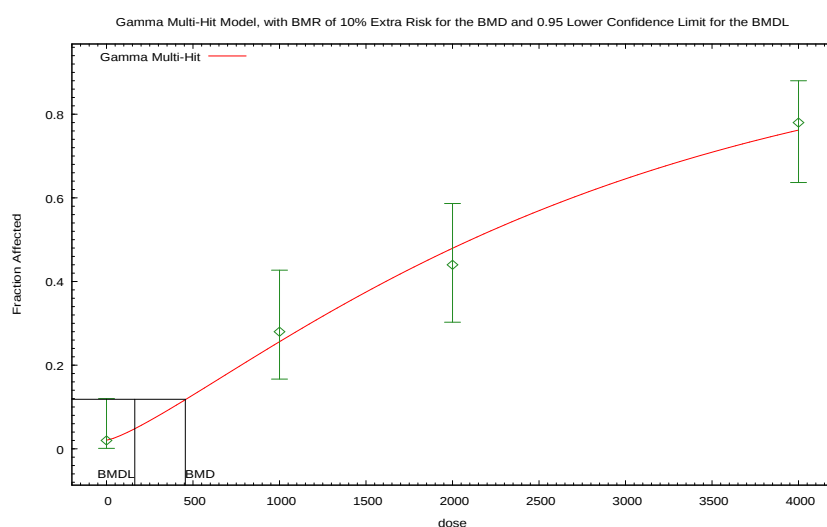
Dose (ppm)	N	Effect
0	50	1
1000	50	14
2000	50	22
4000	50	39

BMCL₁₀ = 164 ppm = 579 mg/m³
 曝露時間補正後 103 mg/m³

4

Model Name	Option File Name	BMC ₁₀	BMCL ₁₀	BMC ₁₀ / BMCL ₁₀	P-value	AIC
Gamma	Gam-BMR10-Restrict.opt	455.75	268.90	1.69	0.46	196.93
Logistic	Log-BMR10.opt	834.91	693.24	1.20	0.07	201.05
LogLogistic	Lnl-BMR10-Restrict.opt	538.57	261.48	2.06	0.29	197.50
LogProbit	Lnp-BMR10-Restrict.opt	571.58	473.71	1.21	0.29	197.52
Multistage	Mst2-BMR10-Restrict.opt	404.09	271.49	1.49	0.57	196.70
Multistage	Mst3-BMR10-Restrict.opt	381.44	273.00	1.40	0.66	196.57
Probit	Pro-BMR10.opt	789.67	662.69	1.19	0.09	200.19
Weibull	Wei-BMR10-Restrict.opt	444.96	269.67	1.65	0.49	196.86
Quantal-Linear	Qln-BMR10.opt	322.01	263.48	1.22	0.59	195.47
Gamma	Gam-BMR10-Unrestrict.opt	455.75	163.58	2.79	0.46	196.93
LogLogistic	Lnl-BMR10-Unrestrict.opt	538.57	261.48	2.06	0.29	197.50
LogProbit	Lnp-BMR10-Unrestrict.opt	571.58	293.37	1.95	0.29	197.52
Multistage	Mst2-BMR10-Unrestrict.opt	404.09	256.56	1.58	0.57	196.70
Multistage	Mst3-BMR10-Unrestrict.opt	293.74	129.92	2.26	NA	198.38
Weibull	Wei-BMR10-Unrestrict.opt	444.97	189.26	2.35	0.49	196.86

5



20:07 02/03 2016

6

7

8