

(案)

清涼飲料水評価書

ブロモホルム

2009年6月

食品安全委員会化学物質・汚染物質専門調査会

目 次

・ 審議の経緯	・・・ 2
・ 食品安全委員会委員名簿	・・・ 2
・ 食品安全委員会汚染物質・化学物質専門調査会 合同ワーキンググループ専門委員名簿	・・・ 2
・ 食品安全委員会化学物質・汚染物質専門調査会専門委員名簿	・・・ 3
・ 要約	・・・ 4
I. 評価対象物質の概要	・・・ 5
1. 用途	・・・ 5
2. 一般名	・・・ 5
3. 化学名	・・・ 5
4. 分子式	・・・ 5
5. 分子量	・・・ 5
6. 構造式	・・・ 5
7. 物理化学的性状	・・・ 5
8. 現行規制等	・・・ 5
II. 安全性に係る知見の概要	・・・ 6
1. 毒性に関する科学的知見	・・・ 6
2. 国際機関等の評価	・・・ 12
3. 曝露状況	・・・ 16
III. 食品健康影響評価	・・・ 16
・ 本評価書で使用した略号一覧	・・・ 19
・ 参照	・・・ 20

<審議の経緯>

2003年7月1日	厚生労働大臣より清涼飲料水中のプロモホルムの規格基準改正に係る食品健康影響評価について要請、関係書類の接受
2003年7月18日	第3回食品安全委員会（要請事項説明）
2009年3月13日	第3回化学物質・汚染物質専門調査会清涼飲料水部会
2009年4月13日	第4回化学物質・汚染物質専門調査会清涼飲料水部会
2009年6月11日	第5回化学物質・汚染物質専門調査会幹事会
2009年6月25日	第291回食品安全委員会（報告）

<食品安全委員会委員名簿>

(2006年6月30日まで)	(2006年12月20日まで)	(2006年12月21日から)
寺田雅昭（委員長）	寺田雅昭（委員長）	見上 彪（委員長）
寺尾允男（委員長代理）	見上 彪（委員長代理）	小泉直子（委員長代理*）
小泉直子	小泉直子	長尾 拓
坂本元子	長尾 拓	野村一正
中村靖彦	野村一正	畑江敬子
本間清一	畑江敬子	廣瀬雅雄**
見上 彪	本間清一	本間清一

*：2007年2月1日から

**：2007年4月1日から

<食品安全委員会汚染物質・化学物質専門調査会合同ワーキンググループ 専門委員名簿>

(2007年3月31日まで)	(2007年9月30日まで)
汚染物質専門調査会	汚染物質専門調査会
安藤 正典	安藤 正典
佐藤 洋（座長）	佐藤 洋（座長）
千葉 百子	千葉 百子
広瀬 明彦	広瀬 明彦
前川 昭彦	前川 昭彦
化学物質専門調査会	化学物質専門調査会
太田 敏博	太田 敏博
立松 正衛（座長代理）	渋谷 淳
廣瀬 雅雄	立松 正衛（座長代理）

<食品安全委員会化学物質・汚染物質専門調査会専門委員名簿>

(2007年10月1日から)

佐藤 洋 (座長)

立松正衛 (座長代理)

阿部宏喜

安藤正典*

井口 弘

圓藤吟史*

圓藤陽子*

太田敏博*

大前和幸

奥田晴宏

香山不二雄

川村 孝

河野公一

佐々木久美子

渋谷 淳*

千葉百子**

津金昌一郎

遠山千春*

永沼 章

長谷川隆一**

広瀬明彦*

前川昭彦*

安井明美

鰐淵英機

* : 幹事会

* : 清涼飲料水部会

要約

清涼飲料水の規格基準改正に係る化学物質として、ブロモホルムの食品健康影響評価を行った。

評価に供した試験成績は、急性毒性試験（マウス、ラット）、亜急性毒性試験（マウス、ラット）、慢性毒性試験及び発がん性試験（マウス、ラット）、神経毒性試験（マウス）、生殖・発生毒性試験（マウス、ラット）、遺伝毒性試験等である。

発がん性については、発生頻度は高くないが、ラットの強制経口投与において、大腸に腺腫様ポリープ及び腺がんが誘発されている。また、遺伝毒性は、*in vivo* 試験で弱い陽性の結果が一つ報告されているが、マウス及びラットを用いた多くの小核試験や染色体異常試験で陰性であったことから、ブロモホルムに遺伝毒性はなく、TDI の算出が可能であると判断した。

発がん性に関する TDI は、ラットを用いた強制経口投与試験による雌ラットの大腸の腺腫様ポリープ及び腺がんの発現率からベンチマークドースは 124 mg/kg 体重/日となり、不確実係数 1,000（種差 10、個体差 10、安全側に立った発がん性 10）を適用して、124 µg/kg 体重/日となった。

非発がん毒性に関する TDI については、ラットを用いた強制経口投与試験による肝細胞空胞形成の増加から、NOAEL は 17.9 mg/kg 体重/日となり、不確実係数 1,000（種差 10、個体差 10、亜急性毒性試験 10）を適用して、17.9 µg/kg 体重/日となった。

以上、ブロモホルムの TDI を 17.9 µg/kg 体重/日と設定した。

I. 評価対象物質の概要

1. 起源

浄水過程で、水中のフミン質等の有機物質と消毒剤の塩素が反応して生成されるトリハロメタンの構成物質であり、その生成量は原水中の臭素イオン濃度により大きく変化する（参照 1）。

2. 一般名

ブロモホルム

3. 化学名

IUPAC

和名 : トリブロモメタン

英名 : tribromomethane

CAS No. : 75-25-2

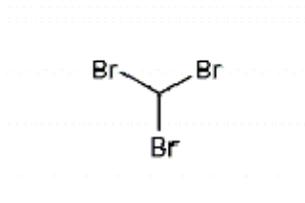
4. 分子式

CHBr_3

5. 分子量

252.7

6. 構造式



7. 物理化学的性状

物理的性状 : 特徴的な臭気のある無色の液体。光や空気に曝露すると黄色になる。

融点 (°C) : 8.3

沸点 (°C) : 149~152

比重 : 2.9

水への溶解度 (g/100mL (20°C)) : 0.1

水オクタノール分配係数 (log Pow) : 2.38

蒸気圧 (kPa (20°C)) : 0.7

8. 現行規制等

(1) 法令の規制値等

水質基準値 (mg/L) : 0.09

(2) 諸外国等の水質基準値またはガイドライン値

WHO (mg/L) : 0.1 (第3版)

EU (mg/L) : [総トリハロメタンとして、0.1 mg/L]

U.S. EPA (mg/L ; Maximum Contaminant Level) :

[総トリハロメタンとして、0.080 mg/L]

II. 安全性に係る知見の概要

WHO 飲料水水質ガイドライン、EPA/IRIS のリスト、IARC のモノグラフ、WHO IPCS 等を基に、毒性に関する主な科学的知見を整理した (参照 2,3,4,5,6,7)。

1. 毒性に関する科学的知見

(1) 体内動態

概要

一般に、トリハロメタン類は、ほ乳類では、吸収、代謝されやすく、経口または吸入曝露で速やかに排泄される (参照 7)。

① 分布 (臭素化トリハロメタン類として)

臭素置換された臭素化トリハロメタンは、クロロホルムよりも脂溶性が高く、その脂溶性が組織への溶解性に影響を与えると考えられる (参照 3)。Mink らは、ブロモジクロロメタン濃度が高い臓器は肝臓、胃、腎臓としている (参照 8)。Mathews らは、ラットにブロモジクロロメタンを反復投与しても組織内分布には影響は及ぼさないとしている (参照 9)。一方、Lilly らは、ブロモジクロロメタンを雄のラットに水溶液で投与した場合、コーン油に溶解して投与した場合に比べて肝臓と腎臓でのブロモジクロロメタンの最高濃度がわずかに高くなることを報告している (参照 10)。

② 代謝

トリハロメタン類は、主として二酸化炭素及び/または一酸化炭素に代謝される (参照 3)。

・臭素化トリハロメタン類として

トリハロメタン類の *in vivo* 及び *in vitro* における一酸化炭素への代謝速度は、一般にハロゲン原子量に従い、その原子量が高いほど早い (*halide order*)。すなわち、ブロモホルム ≫ ジブロモクロロメタン > ブロモジクロロメタン ≫ クロロホルムの順である (参照 3)。臭素化トリハロメタンは塩素化トリハロメタンよりも迅速かつ大量に代謝される (参照 7)。この仮定はブロモジクロロメタンに関しては正しいかもしれないが、ジブロモクロロメタンやブロモホルムについては、数少ない現在の知見からは判定し難い (参照 3)。

ブロモホルムをコーン油に混合し 100 mg/kg (ラット) または 150 mg/kg (マウス) 強制経口投与した結果、曝露 36~48 時間後にラット及びマウスの尿から検出された量は総標識体の 10%未満であった。ラット及びマウスの尿中排泄物は、クロロホルムが最も多く、次いでブロモホルム、ブロモジクロロメタン、ジブロモクロロメタンの順であった。著者らは、マウスにおけるこれらの化合物の代謝量はラットを 4~9 倍上回ると考察した (参照 8)。しかし、WHO では、この実験では投与

量が高かったとし、より低い適切な用量を投与した場合には、ラット及びマウスにおける代謝が完全になることに注意すべきとしている（参照 3）。

DeMarini らは、GSTT1-1 が各種トリハロメタンの変異原性に及ぼす影響を調べ、グルタチオン-S-トランスフェラーゼによって触媒されるヌクレオチド転位（GC→AT）が起きることを報告している。このトリハロメタンの突然変異誘発性は、ブロモホルムとジブロモクロロメタンではほぼ等しく、ブロモジクロロメタンはこれらより低いことを示した（参照 11）。

ブロモホルムはブロモジクロロメタンよりも代謝されやすく、ブロモジクロロメタンよりも強い突然変異誘発物質である。しかし、NTP（参照 12,13）の試験結果及びその他の多数の *in vivo* 毒性試験結果によれば、毒性及び発がん性は強くないと推測される。これは、ブロモホルムは親油性が高いため、投与溶媒としてコーン油を使用した場合、バイオアベイラビリティが小さくなることに起因すると考えられる。ブロモホルム代謝物の親油性やと反応性が大きいことは、ブロモホルムの標的部位への到達を防いだ可能性がある（参照 3）。さらに、ラットにブロモホルム（溶媒：コーン油）を腹腔内注射した場合には、他のトリハロメタンよりも代謝が速かった（参照 14）が、強制経口投与した場合には、ブロモホルムはトリハロメタンの中で最も代謝されにくかった（参照 8）。

（2）実験動物等への影響

① 急性毒性試験

ラットの場合、急性毒性は、いずれのトリハロメタンも同様に、立毛、鎮静、筋弛緩、運動失調、衰弱などが見られる。ブロモホルムの LD₅₀ は、雄ラットでは 1,388 mg/kg 体重、雌ラットでは 1,147 mg/kg 体重であった（参照 15）。生存動物では、摂餌量の減少、成長の遅れ、肝臓及び腎臓の重量増加、血液学的及び生化学的影響、肝臓及び腎臓の組織学的変化などの影響が見られた（参照 3）。

トリハロメタンの急性影響に対する感受性はマウスよりもラットで高いことが示唆されている。動物の急性経口曝露による最も鋭敏なエンドポイントは、標的臓器に関係なく、細胞変性、損傷及び／または壊死である（参照 16）。

② 亜急性毒性試験

a. 13 週間亜急性毒性試験（マウス）

B6C3F₁ マウス（雌雄、各投与群 10 匹）におけるブロモホルム（0、25、50、100、200、400 mg/kg 体重/日、溶媒：コーン油）の 13 週間（週 5 日）強制経口投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 1 に示す。

雄の最高用量群ではわずかな体重減少が認められたが、その他の用量では成長に及ぼす影響はなかった。雄の 200 mg/kg 体重/日以上以上の投与群では、少数の細胞に“軽微～中等度”の肝細胞の空胞形成が認められた。この所見は雌では認められなかった（参照 17）。

WHO では、雄の NOAEL を肝細胞の空胞形成に基づき、100 mg/kg 体重/日とした（参照 3）。

表1 マウス 13 週間亜急性毒性試験

投与群	雄	雌
400 mg/kg 体重/日	体重減少	毒性所見なし
200 mg/kg 体重/日	軽微～中程度の肝細胞空胞形成	
100 mg/kg 体重/日以下	毒性所見なし	

b. 13 週間亜急性毒性試験（ラット）

F344/N ラット（雌雄、各投与群 10 匹）におけるプロモホルム（0、12、25、50、100、200 mg/kg 体重/日、溶媒：コーン油）の 13 週間（週 5 日）強制経口投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 2 に示す。

雄では、用量に依存した肝細胞での空胞形成の増加が示されたが（対照群から順に 3/10、6/10、5/10、8/10、8/10、10/10 例）、雌では示されなかった（参照 17）。

WHO では、肝細胞の空胞形成が 50 mg/kg 体重/日投与群で統計学的に有意であったとし、雄の NOAEL をこれに基づき、25 mg/kg 体重/日とした（参照 3）。

表2 ラット 13 週間亜急性毒性試験

投与群	雄	雌
50 mg/kg 体重/日	肝細胞空胞形成の増加	毒性所見なし
25 mg/kg 体重/日以下	毒性所見なし	

③ 慢性毒性試験及び発がん性試験

a. 52 週間（= 1 年間）慢性毒性試験（マウス）

詳細な試験内容は記載されていないが、B6C3F₁ マウス（雄、動物数不明）におけるプロモホルム（0.08、0.4、0.8 g/L；WHO EHC 換算によると 8.3、39、73 mg/kg 体重/日相当、溶媒：0.25%Emulphor®）の 52 週間の飲水投与試験が実施され、腎毒性が検討された。各投与群で認められた毒性所見を表 3 に示す。

全ての投与群で、尿中タンパク*及び BUN が上昇し、0.4 g/L 以上の投与群では尿中 N-アセチル-β-グルコサミニダーゼ（NAG）†が上昇した。マウスでは、プロモホルムの腎毒性影響における感受性はプロモジクロロメタンよりも高かった（参照 18）。

表3 マウス 1 年間慢性毒性試験

投与群	雄
飲水濃度 0.4 g/L 以上 （検体摂取濃度 39 mg/kg 体重/日）	NAG の上昇
飲水濃度 0.08 g/L 以上 （検体摂取濃度 8.3 mg/kg 体重/日）	尿中タンパク及び BUN の上昇

* 尿中タンパク；糸球体損傷の指標

† NAG；腎尿細管損傷の指標

b. 52 週間 (= 1 年間) 慢性毒性試験 (ラット)

詳細な試験内容は記載されていないが、F344 ラット (雄、動物数不明) におけるブロモホルム (0.12、0.6、1.2 g/L; WHO EHC 換算によると 6.2、29、57 mg/kg 体重/日相当、溶媒: 0.25%Emulphor®) の 52 週間の飲水投与試験が実施され、腎毒性が検討された。各投与群で認められた毒性所見を表 4 に示す。

全ての投与群において尿中タンパクの値が上昇し、高用量群でのみ NAG の上昇が認められた (参照 18)。

表 4 ラット 1 年間慢性毒性試験

投与群	雄
飲水濃度 1.2 g/L 以上 (検体摂取濃度 57 mg/kg 体重/日)	NAG の上昇
飲水濃度 0.12 g/L 以上 (検体摂取濃度 6.2 mg/kg 体重/日)	尿中タンパクの上昇

c. 103 週間慢性毒性/発がん性併合試験 (マウス)

B6C3F₁ マウス (雌雄、各投与群 50 匹) におけるブロモホルム (雄 0、50、100 mg/kg 体重/日、雌 0、100、200 mg/kg 体重/日、溶媒: コーン油) の 103 週間 (週 5 日) の強制経口投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 5 に示す。

雌では、両用量群で、体重増加の抑制、生存率低下 (一部は子宮-卵巣感染に起因する) 及び肝臓の脂肪変性の発生頻度が上昇し、高用量群においては、甲状腺濾胞上皮細胞過形成の発生頻度が上昇した。

また発がん性については、雌雄いずれにおいても発がん性を示す証拠はなかった (参照 17)。

表 5 マウス 103 週間慢性毒性/発がん性併合試験

投与群	雄	雌
雄 100 mg/kg 体重/日 雌 200 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	甲状腺濾胞上皮細胞過形成の発生頻度上昇
雄 50 mg/kg 体重/日以上 雌 100 mg/kg 体重/日以上		体重増加抑制、生存率低下、肝脂肪変性発生頻度上昇

d. 103 週間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)

F344/N ラット (雌雄、各投与群 50 匹) におけるブロモホルム (0、100、200 mg/kg 体重/日、溶媒: コーン油) の 103 週間 (週 5 日) の強制経口投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 6 に示す。

両用量群の雄と高用量群の雌において体重増加が抑制され、高用量群の雄の生存率は対照に比べて有意に低下した。また、唾液腺 (扁平上皮化生及び慢性活動性炎症: 両用量群の雌雄)、前立腺 (扁平上皮化生: 両用量群の雄)、前胃 (潰瘍: 両用量群の雄)、肺 (慢性活動性炎症: 両用量群の雄) 及び脾臓 (色素沈着: 高用量群の雌) において用量に依存した非腫瘍性影響が観察された。ただし、唾液腺及び肺の病変はラットコロナウィルス感染に特徴的な症状であった。この試験の初期段階

でコロナウイルスに対する陽性の血清反応が認められた。

発がん性について、雄については発がん性を示す若干の証拠があり、雌については明確な証拠があると判断された。雌雄における稀な腫瘍（大腸の腺腫様ポリープ及び腺がん）の発生頻度の上昇が低いながらも認められた。雌におけるこれらの稀な腫瘍の発生頻度は、対照群、低用量群、高用量群でそれぞれ 0/50、1/50、8/50 例であり、雄では 0/50、0/50、3/50 例であった。雌におけるこれらの腫瘍発生頻度は、NTP が行ったプロモジクロロメタンに関する試験での発生頻度と同様であったが、雄における発生頻度はかなり低かった。しかし、高用量群における雄の生存率の低下は、発がん性を検知するための試験感度を低下させた可能性がある（参照 17）。

表 6 ラット 103 週間慢性毒性／発がん性併合試験

投与群	雄	雌
200 mg/kg 体重/日	生存率低下、大腸の腺腫様ポリープ及び腺がんの発生頻度上昇	脾臓の色素沈着
100 mg/kg 体重/日以上	唾液腺の扁平上皮化生及び慢性活動性炎症、前立腺の扁平上皮化生、前胃の潰瘍、肺の慢性活動性炎症	体重増加抑制、唾液腺の扁平上皮化生及び慢性活動性炎症、大腸の腺腫様ポリープ及び腺がんの発生頻度上昇

④ 神経毒性試験

30 日～最長 90 日間神経毒性試験（マウス）

ICR マウス（雄、成獣、各投与群 8 匹）におけるプロモジクロロメタン水溶液（0.9、9.7 mg/kg 体重/日、溶媒：Emulphor®）の 90 日間強制経口投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 7 に示す。

さまざまな行動試験で異常は認められなかった。また、100 mg/kg 体重/日（1 群 16 匹）を 30 日間強制経口投与した場合、受動的回避学習に影響を及ぼさなかった。100 または 400 mg/kg 体重/日（各投与群 6～13 匹）を 60 日間強制経口投与した場合、両投与群で、オペラント行動試験において応答速度の低下を示した。この応答速度の低下は投与初期に最も大きく、その後、低下の進行は認められなかった（参照 19）。

表 7 マウス 60 日間神経毒性試験

投与群	雄
100 mg/kg 体重/日以上	オペラント行動試験において応答速度の低下

⑤ 生殖・発生毒性試験

a. 105 日間生殖毒性試験（マウス）

CD-1 マウス（各投与群 20 ペア）におけるプロモホルム（0、50、100、200 mg/kg 体重/日）の（WHO EHC によると、105 日間）強制経口投与試験が行われ、プロモホルムが受精（胎）能力及び生殖に及ぼす影響を調べた。

親と F₁ 世代のいずれについても、受精または生殖に対する明らかな影響（1 ペアあたりの児数、一腹あたりの生存児数、児の体重等）は、認められなかった（参照 20）。

WHO では、この試験における生殖影響についての NOAEL を 200 mg/kg 体重/

日とした（参照 3）。

b. 妊娠 6～15 日生殖毒性試験（ラット）

F344 ラット（雌）におけるブロモホルム（200 mg/kg 体重/日、溶媒コーン油）の妊娠 6～15 日の強制経口投与試験が行われた。投与群で認められた毒性所見を表 8 に示す。

全同腹児吸収（full-litter resorption）が生じた（参照 21）。

表 8 ラット 6～15 日間生殖・発生毒性試験

投与群	雌
200 mg/kg 体重/日	全同腹児吸収

⑥ 遺伝毒性試験

ブロモホルムの遺伝毒性試験の結果を表 9、表 10 に示す。

細菌（*Salmonella typhimurium*）を用いた復帰突然変異試験では、弱い陽性の報告もあるが、ほとんどの試験において陰性である。また培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験や染色体異常試験においても弱い陽性結果と陰性結果が混在し確定的ではない（参照 5,6,16,17,22）。

Fujie ら（参照 23）はラット骨髄細胞を用いた *in vivo* 染色体異常試験において、ブロモホルムを含むトリハロメタン 4 種がいずれも陽性であると報告している。一方、ブロモホルムは、マウス、ラット骨髄の小核試験（参照 7,24）、ラットの肝臓の UDS 試験（参照 25,26）及びマウス骨髄の染色体異常試験（参照 24）の複数の *in vivo* 試験で陰性を示した。キイロショウジョウバエを用いた伴性劣性致死突然変異試験は陰性であった（参照 17）。

表 9 ブロモホルム *in vitro* 遺伝毒性

試験	対象	結果		出典
		代謝活性化あり	代謝活性化なし	
突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA100, TA98, TA1535, TA1537, TA102, TA97	—	—	(参照 6,7,22)
	<i>S. typhimurium</i> TA100	, -	(+)	
	<i>S. typhimurium</i> TA97, TA98	-	+	
	マウスリンパ腫 L5178Y 細胞	+	-	(参照 6)
		?	-	
	(+)	(+)	(参照 17)	
染色体異常試験	チャイニーズハムスター CHO 細胞, CHL 細胞	-	-	(参照 6,17)
		+	(+)	
		-	(+)	

—：陰性、 +：陽性、 (+)：弱い陽性 ?：不明確

表 10 プロモホルム *in vivo* 遺伝毒性

試験	対象	用量 ^a	結果	出典
SCE 試験	マウス CR/SJ 雄 4 日間経口投与	25 mg/kg 体重/日	+	(参照 27)
	マウス B6C3F1 腹腔内投与	200 mg/kg	(+)	(参照 17)
小核試験	マウス ddY 腹腔内投与 (溶媒: オリーブ油)	500 mg/kg 体重/日	-	Ishidate et al. 1982 (参照 7)
	マウス MS 腹腔内投与 (溶媒: オリーブ油)	500 mg/kg 体重/日	-	Ishidate et al. 1982 (参照 7)
	ラット Wistar 腹腔内投与 (溶媒: オリーブ油)	500 mg/kg 体重/日	-	Ishidate et al. 1982 (参照 7)
	マウス ddY 単回腹腔内投与 (溶媒: コーン油)	1400 mg/kg 体重	-	Hayashi et al. 1988 (参照 7)
	マウス B6C3F1 腹腔内投与	800 mg/kg	-	(参照 24)
	マウス単回経口投与, 骨髄	1000mg/kg	-	(参照 6)
染色体異常試験	ラット単回腹腔内投与, 骨髄	25.3mg/kg 体重	+	(参照 23)
	ラット 5 日間経口投与, 骨髄	25.3mg/kg 体重/日	+	
	マウス B6C3F1 腹腔内投与	800 mg/kg	-	(参照 24)
UDS 試験	ラット 経口投与, 肝臓	379 mg/kg 体重/日 (1.5 mmol/kg 体重/日)	-	(参照 25)
	ラット経口投与, 肝臓	1080 mg/kg 体重/日	-	(参照 26)
DNA 鎖切断試験	ラット F344 雄 7 日間経口投与, 腎臓	379 mg/kg 体重/日 (1.5 mmol/kg 体重/日)	-	(参照 28)
伴性劣性致死突然変異試験	キイロショウジョウバエ	3000 ppm	-	(参照 17)

a 表の用量は影響が認められた最低用量、陰性の場合には最高用量。 - : 陰性 + : 陽性 (+) : 弱い陽性

(3) ヒトへの影響

プロモホルムは 19 世紀の後期及び 20 世紀初頭には百日咳の鎮咳剤として子供に使用されていた。患者の典型的服用量は 1 日 3~6 回、各 1 滴 (約 180 mg) である。一般的に子供では緩やかな鎮静効果が得られている。ごくまれに不慮の過剰投与によると考えられる死亡やそれに準じた事故例が報告されている。臨床症状に基づき、体重が 10~20 kg である子供の致死量は約 300 mg/kg 体重で、鎮静作用の最低用量は約 50 mg/kg 体重/日である (参照 7)。

2. 国際機関等の評価

(1) International Agency for Research on Cancer (IARC)

グループ 3: ヒトに対する発がん性について分類できない物質 (参照 5,6)。

プロモホルムの発がん性は、実験動物では限定的な証拠があるが、ヒトへの発がん性は十分な証拠はないと結論付けている。

- 動物実験の限られた証拠

雌雄の B6C3F₁ マウス及び F344/N ラットを用いたプロモホルムの 2 年間強制経口投与による発がん性試験 (参照 17) において、雌雄のラットの大腸に腺腫

様ポリープ及び腺がんを誘導したが、マウスに腫瘍発生頻度の増加をもたらさなかった。腹腔内投与によるスクリーニング試験（参照 29）では、A 系統マウスの中用量群の肺腫瘍数の平均にわずかな増加が認められた。

(2) Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA) Monographs and Evaluations
評価書なし。

(3) WHO 飲料水水質ガイドライン

① 第 3 版（参照 2）

適切に実施されたラットの 90 日間投与試験（参照 17）において肝臓の病理組織学的所見を起こさない用量（NOAEL 25 mg/kg 体重/日の週 5 日投与を週 7 日投与に換算した用量）に、不確実係数 1000（種差及び個体差の 100、投与期間が短いこと及び発がんの可能性のための 10）を適用して TDI は 17.9 µg/kg 体重/日と算出された。

[参考]

TDI の 20%が飲料水に割り当てられ、成人の体重を 60 kg、1 日の飲水量を 2 L とし、ガイドライン値 0.1 mg/L が設定された。

② 第 3 版一次追補（参照 3）

1993 年以降に得られた疫学データでは、生殖への有害影響をトリハロメタン、特に臭素化トリハロメタンへの曝露と関連づけてきたが、総トリハロメタン濃度の上昇に伴うリスク上昇について、閾値や用量-反応関係が明らかであるという証拠は示していない（参照 30）。しかし、健康に対する有害な影響とトリハロメタン、特に臭素化トリハロメタンの潜在的関係を考慮し、飲料水中のトリハロメタン濃度をできる限り低く維持することが推奨される。

微生物に関するガイドラインを優先するのか、それとも、クロロホルムのような消毒副生成物に関するガイドラインを優先するのかを選択する必要がある場合、常に微生物学的な質を優先しなければならないことに注意すべきである。消毒効果について妥協すべきではない。

米国 NTP で行われた試験では、ブロモホルムにより雌雄のラットにおいて比較的まれな大腸腫瘍の発生が若干増加したが、マウスでは増加していない。ブロモホルムの遺伝毒性の様々な試験のデータはあいまいである。IARC（参照 5）はブロモホルムの発がん性をグループ 3 に分類している。

TDI は、適切に実施され文書化されたラットの 90 日間投与試験における肝臓の病理組織学的変化が認められなかった用量（NOAEL 25 mg/kg 体重/日）に基づいて算出された（参照 17）。この NOAEL は 2 つの慢性試験の結果でも裏付けられている。この試験の投与が週 5 日であることを補正し、不確実係数 1,000（個体差及び種差に 100、発がん性の懸念と亜急性の試験であることに 10）を適用して、TDI は 17.9 µg/kg 体重/日と算出された。

[参考]

TDI の飲料水への寄与率を 20%として、ガイドライン値は 100 µg/L（端数処理）と算出された。

(4) 米国環境保護庁 (U. S. EPA)

Integrated Risk Information System (IRIS) (参照 4)

EPA/IRIS では、化学物質の評価を、TDI に相当する経口リファレンスドース (経口 RfD) として慢性非発がん性の情報を提供している。また、一方で、発がん影響について、発がん性分類についての情報を提供し、必要に応じて、経口曝露によるリスクについての情報を提供している。

① 経口 RfD

影響 (Critical Effect)	用量	不確実係 数 (UF)	修正係 数 (MF)	参照用量 (RfD)
肝障害	NOAEL: 25 mg/kg 体重/日 (換算値*)	1000**	1	2×10 ⁻² mg/kg 体重/ 日
ラットの亜慢性強制経口 投与試験 (参照 17)	LOAEL: 50 mg/kg 体重/日 (換算値*) 35.7 mg/kg 体重/日			

* 換算値：週 5 日投与から週 7 日への換算値

** 種差 10×個体差 10×亜慢性試験データ使用 10

② 発がん性

・発がん性分類

EPA はプロモホルムを B2 (ヒトに対しておそらく発がん性あり ; probable human carcinogen) に分類している。それは、ヒトにおける不十分なデータ及び動物における十分な証拠 (ラット経口投与及びマウス腹腔内投与による腫瘍発生頻度の増加) に基づいている。また、プロモホルムはいくつかの試験系で遺伝毒性を示し、発がん性が恐らくある、または可能性ありとされている他のトリハロメタン (クロロホルム、ブロモジクロロメタン、ジブロモクロロメタン) と構造的に類似していることによる。

・経口曝露によるリスク評価

EPA はプロモホルムによる過剰発がんリスクをモデル外挿法により推定した。その際、EPA は F344/N (雌) を用いたプロモホルムの強制経口投与試験における大腸腫瘍 (参照 17) に基づいて、発がんリスクの定量的評価を行った。その結果、当該物質に体重 1 kg あたり 1 mg の用量で生涯にわたり経口曝露した時にこの曝露に関係してがんが生じるリスク (経口傾斜係数 : Oral Slope Factor、高い方の 95% 信頼限界で表す) は 7.9×10^{-3} となった。

この値に基づき、成人体重を 70 kg、1 日の飲水量を 2 L と仮定して、飲料水ユニットリスク (当該物質を 1 L あたり 1 µg 含む飲料水を生涯にわたり摂取するときの過剰発がんリスク) を算出したところ、 2.3×10^{-7} となる。また、この値に基づき、摂取したときに一定のリスクレベルとなる飲料水中の濃度を算出すると下表のようになる。

- ・経口傾斜係数 : 7.9×10^{-3} /mg/kg 体重/日
- ・飲料水ユニットリスク : 2.3×10^{-7} /µg/L
- ・外挿方法 : 線形マルチステージモデル、過剰リスク
- ・特定リスクレベルに対する飲料水中濃度

リスクレベル	濃度
1×10 ⁻⁴ (10,000 分の 1)	400 µg/L
1×10 ⁻⁵ (100,000 分の 1)	40 µg/L
1×10 ⁻⁶ (1,000,000 分の 1)	4 µg/L

(5) 我が国における水質基準の見直しの際の評価 (参照 1)

平成 4 年の専門委員会以後、基準設定にかかわる新たな知見は報告されていない。IARC ではブロモホルムはグループ 3 (ヒトに対する発がん性について分類できない) に分類され (参照 6)、多くの試験では弱い変異原性しか確認されていない (参照 7)。従って、前回の評価時に使用した NTP (参照 17) で行われた 90 日間の試験における肝臓の組織病理学的損傷に基づく NOAEL : 25 mg/kg 体重/日を TDI の設定に使用することが妥当であると考えられる。

平成 4 年の評価と同様に、NOAEL : 25 mg/kg 体重/日を週 5 日曝露で補正し、不確実係数 1,000 (個体差・種間差 : 100、発がん性の可能性と短期間試験 : 10) を適用して、TDI は 17.9 µg/kg 体重/日と求められる。消毒副生成物であることにより、TDI に対する寄与率を 20% とし、体重 50 kg のヒトが 1 日 2 L 飲むと仮定すると、評価値は 0.09 mg/L と求められる。

表 11-1 WHO 等によるブロモホルムの TDI 法によるリスク評価

根拠	NOAEL (mg/kg 体重/日)	LOAEL	不確実係数	TDI (µg/kg 体重/日)
WHO/DWGL 第 3 版(2004) 及び 第 3 版一次追 補 (2005)	ラットの 90 日間 (週 5 日) の経口投与試験 (参照 17) における肝臓の病理組織学的所見 25 (週 5 日 換算; 17.9)	—	1000 10(種差)×10(個体差)×10(亜急性試験及び発がんの可能性のため)	17.9
EPA/IRIS (1991)	ラットの亜慢性強制経口投与試験 (参照 17) における肝障害 同上	50 (週 5 日 換算; 35.7)	1000 10(種差)×10(個体差)×10(亜慢性試験)	20
水道水	ラットの 90 日間 (週 5 日) の経口投与試験 (参照 17) における肝臓の病理組織学的所見 同上	—	1000 10(種差)×10(個体差)×10(亜急性試験 *及び発がんの可能性のため)	17.9

※ : 水質基準見直しの際の評価 (参照 1) では、短期試験との記載

表 11-2 モデル外挿法による過剰発がんリスクの定量的評価

	リスクレベル	濃度 (µg/L)	用量 (µg/kg 体重/日)
EPA/IRIS	10 ⁻⁴ (1/10,000)	400	12.7
	10 ⁻⁵ (1/100,000)	40	1.27
	10 ⁻⁶ (1/1,000,000)	4	0.13

3. 曝露状況

平成 18 年の水道統計におけるプロモホルムの水道水の検出状況（表 12）は原水においては、最高検出値は、水道法水質基準値（0.09 mg/L）の 20%超過 30%以下で 2 箇所みられたが、ほとんどが 10%以下（532/542 地点）であった。浄水において、最高検出値は、50%超過 60%以下で 2 箇所みられた。

表 12 水道水での検出状況（参照 31）

浄水／原水の別	水源種別	測定地点数	目標値に対する度数分布表											
			10%以下	10%超過 20%以下	20%超過 30%以下	30%超過 40%以下	40%超過 50%以下	50%超過 60%以下	60%超過 70%以下	70%超過 80%以下	80%超過 90%以下	90%超過 100%以下	100%超過	
			～ 0.009 (mg/L)	～ 0.018 (mg/L)	～ 0.027 (mg/L)	～ 0.036 (mg/L)	～ 0.045 (mg/L)	～ 0.054 (mg/L)	～ 0.063 (mg/L)	～ 0.072 (mg/L)	～ 0.081 (mg/L)	～ 0.090 (mg/L)	0.091 ～ (mg/L)	
原水	全体	542	532	8	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	表流水	149	149	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	ダム、湖沼水	38	38	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	地下水	183	181	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	その他	172	164	6	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
浄水	全体	5824	5669	123	23	7	0	2	0	0	0	0	0	0
	表流水	1033	1005	26	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	ダム、湖沼水	307	297	6	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	地下水	3182	3110	56	10	5	0	1	0	0	0	0	0	0
	その他	1287	1242	35	7	2	0	1	0	0	0	0	0	0

（平成 18 年度調査結果）

Ⅲ. 食品健康影響評価

プロモホルムは、ヒトにおいて百日咳の鎮咳剤として子供に使用されていた。一般的に子供では緩やかな鎮静効果が得られている。ごくまれに不慮の過剰投与によると考えられる死亡やそれに準じた事故例が報告されている。臨床症状に基づき、体重が 10～20 kg である子供の致死量は約 300 mg/kg 体重で、鎮静作用の最低用量は約 50 mg/kg 体重/日である。

発がん性に関しては、経口投与による試験はラットとマウスで各 1 試験のみが実施されており、強制経口投与により、雌雄のラットにおいて、大腸に腺腫様ポリープ及び腺がんを誘発したが、いずれも発生頻度は高くなかった。マウスにおいて、腫瘍発生頻度の上昇は見られなかった。IARC では、プロモホルムをグループ 3 に分類している。

遺伝毒性においては *in vitro* 試験で弱い陽性が疑われている。*in vivo* 試験ではラット骨髄細胞を用いた染色体異常試験において弱い陽性の結果が一つ報告されているが、マウス、ラットを用いた多くの小核試験や染色体異常試験などで陰性であることから、現時点においてはプロモホルムに遺伝毒性はないと考えられる。

以上、プロモホルムは、IARC ではグループ 3 の評価であるが、強制経口投与によりラットに弱い大腸発がん性が示されたため、ヒトに対して発がん性の可能性は否定できないと考えた。そのため、発がん性の可能性も含めたリスク評価を行うこととした。なお、プロモホルムは非遺伝毒性発がん物質と考えられ、TDI を算出することが適当であると判断した。

発がん性に関する TDI の算出を試みたところ、ラットを用いた 103 週間の強制経口投与試験において雌でみられた大腸の腺腫様ポリープ及び腺がんに基づく LOAEL 100 mg/kg 体重/日 が得られたが、この値は、がんの発生頻度から NOAEL に近い値と考えられた。また、雌ラットのこの発現率から BMD 法を用いてベンチマークドースを求めると、124 mg/kg 体重/日 となった。ブロモホルムの発がん性に関する TDI は、これに種差 10、個体差 10、安全側に立った発がん性 10 の不確実係数 1,000 を適用して、124 µg/kg 体重/日 となった。

非発がん毒性について (各試験の毒性学的影響を表 13 に示す)、最も低い用量で影響が認められた指標は、マウス及びラットの 52 週間飲水投与した試験による尿タンパク及び BUN の上昇であり、LOAEL は 8.3 及び 6.2 mg/kg 体重/日 であった。しかし、この試験は、要旨のみの報告であるため詳細な試験内容が記載されておらず、得られたエンドポイントはバイオマーカーとしては鋭敏な指標ではあるが、TDI を設定するためのエンドポイントとしての毒性学的根拠に乏しいと考えられた。一方、次に低い用量で影響が認められた指標は、ラットを用いた 90 日間の強制経口投与試験における肝細胞空胞形成の増加であり、これを基に NOAEL 17.9 mg/kg 体重/日 (25 mg/kg 体重/日の週 5 日投与を週 7 日投与に換算) が求められた。ブロモホルムの非発がん毒性に関する TDI は、これを根拠に種差 10、個体差 10、亜急性毒性試験 10 とした不確実係数 1,000 を適用して、17.9 µg/kg 体重/日 を TDI と判断した。

上記の論点を踏まえ、ブロモホルムの耐容一日摂取量 (TDI) は非発がんに基づく 17.9 µg/kg 体重/日 と設定した。

TDI	17.9 µg/kg 体重/日
(TDI 設定根拠)	亜急性毒性試験
(動物種)	ラット
(期間)	90 日間
(投与方法)	強制経口投与
(NOAEL 設定根拠所見)	肝細胞空胞形成の増加
(NOAEL)	17.9 mg/kg 体重/日
(不確実係数)	1000 (種差 : 10、個体差 : 10、亜急性毒性試験 : 10)

<参考>

水質基準値の 100% である濃度 0.09 mg/L の水を体重 50 kg の人が 1 日あたり 2 L 摂水した場合、1 日あたり体重 1 kg の摂取量は、3.6 µg/kg 体重/日 と考えられる。この値は、TDI 17.9 µg/kg 体重/日の約 5 分の 1 以下である。

* EPA BMDS version 2.0 において最もフィッティングのよかったモデルのうち AIC 値の最も低いモデル (Multistage Model) を用いた場合の、10% 発現率における 95% 信頼下限値で求めた。

表 13 各試験における NOAEL 等

番号	動物種・ 系統・性・ 動物数/群	試験種	エンドポイント	NOAEL mg/kg 体重/日	LOAEL mg/kg 体重/ 日
①	マウス B6C3F ₁ 雌雄 10	13 週間(週 5 日)強 制経口投与 溶 媒: コーン油	軽微な体重減少(雄 400)、軽~中程度肝細 胞空胞形成(雄 200-)	100(W) =週 7 日換算 71.4	200
②	ラット F344 雌雄 10	13 週間(週 5 日)強 制経口投与 溶媒: コーン油	用量依存性の肝細胞空 胞形成増加(雄 50-)	25(W) =週 7 日換算 17.9	50(W)
③	マウス B6C3F ₁ 雄	52 週間飲水投与 溶媒: 0.25%Emulphor	尿タンパク・BUN 上昇 (8.3-)、NAG 上昇(39-)		8.3
④	ラット F344 雄	52 週間飲水投与 溶媒: 0.25%Emulphor	尿タンパク上昇(6.2-)、 NAG 上昇(57)		6.2
⑤	マウス B6C3F ₁ 雌雄 50	103 週間(週 5 日) 強制経口投与 溶 媒: コーン油	体重増加及び生存率減 少, 肝臓の脂肪変性の 発生頻度上昇(雌 100-)、甲状腺濾胞上皮 細胞過形成の発生頻 度上昇(雌 200)		100 =週 7 日換算 71.4
⑥	ラット F344/N 雌雄 50	103 週間(週 5 日) 強制経口投与 溶 媒: コーン油	体重増加抑制(雄 100- 、雌 200)、生存率低下(雄 200)、唾液腺の扁平上 皮化生及び慢性活動性 炎症(雌雄 100-)、前立 腺の扁平上皮化生、前 胃潰瘍、肺慢性活動性 炎症(雄 100-)、脾臓の 色素沈着(雌 200)		100 =週 7 日換算 71.4
⑦	マウス ICR 雄 6-16	30-90 日間強制経 口投与 溶媒: Emulphor 水	60 日試験におけるホ ラト行動試験応答速度低 下(投与初期に最大、低 下の進行なし)(100-)		100
⑧	マウス SD 20ペア	105 日間強制経口 投与	F ₀ と F ₁ で1ペアあたり の児数, 一腹あたりの 生存児数, 生存児の性 別, 児の体重等に影響 なし	200	
⑨	ラット F344 雌	妊娠 6-15 日強制 経口投与 溶媒: コ ーン油	全同腹児吸収(200-)		200

亜: 亜急性毒性試験 慢: 慢性毒性試験 神: 神経毒性試験 生: 生殖・発生毒性試験
A: 著者 W: WHO 無印: 食品安全委員会

本評価書中で使用した略号については次にならった

ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ, グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ, グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ
ATSDR	米 有害物質・疾病登録局
AUC	血中薬物濃度－時間曲線下面積
BMDL ₁₀	10%の影響に対するベンチマーク用量の 95%信頼下限値
BUN	血液尿素窒素
CHL	チャイニーズハムスター肺由来細胞株
CHO	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞株
C _{max}	最高血(漿)中濃度
CPK	クレアチンフォスフォキナーゼ
CYP	シトクロム P 4 5 0
GSH	グルタチオン
Hb	ヘモグロビン(血色素)
Ht	ヘマトクリット
IARC	国際がん研究機関
IRIS	統合リスク情報システム
LC ₅₀	半数致死濃度
LD ₅₀	半数致死量
LDH	乳酸脱水素酵素
LOAEL	最小毒性量
LOEL	最小作用量
MCV	平均赤血球容積
MLA	マウスリンフォーマ試験
NOAEL	無毒性量
NOEL	無作用量
SCE	姉妹染色分体交換
T _{1/2}	消失半減期
TBIL	総ビリルビン
TDI	耐容一日摂取量
T _{max}	最高血(漿)中濃度到達時間
UDS	不定期 DNA 合成
WBC	総白血球数

<参照>

- 1 厚生労働省. 水質基準の見直しにおける検討概要 平成15年4月、厚生科学審議会、生活環境水道部会、水質管理専門委員会 2003
- 2 WHO. Guidelines for drinking-water quality. Third edition. Volume 1. Recommendations. World Health Organization, Geneva. 2004
- 3 WHO World Health Organization. Trihalomethanes in drinking-water. Background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality. WHO/SDE/WSH/05.08/64. English only. 2005
- 4 U.S. EPA (Environmental Protection Agency) : Integrated Risk Information System(IRIS). 0214 Bromoform; CASRN 75-25-2 (03/01/1991, 01/01/1991) : 1991b
- 5 IARC *Chlorinated drinking-water; chlorination by-products; some other halogenated compounds; cobalt and cobalt compounds*. Lyon, International Agency for Research on Cancer 1991; (IARC Monographs for the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Vol. 52).
- 6 IARC Re-evaluation of some organic chemicals, hydrazine and hydrogen peroxide. Lyon, International Agency for Research on Cancer 1999a; (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 71).
- 7 IPCS *Disinfectants and disinfectant by-products*. Geneva, World Health Organization, International Programme on Chemical Safety 2000; (Environmental Health Criteria 216).
- 8 Mink FL, Brown TJ, Rickabaugh J. Absorption, distribution, and excretion of ¹⁴C-trihalomethanes in mice and rats. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1986; 37:752-758.
- 9 Mathews JM, Troxler PS, Jeffcoat AR. Metabolism and distribution of bromodichloromethane in rats after single and multiple oral doses. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 1990; 30:15-22.
- 10 Lilly PD, Andersen ME, Ross TM, Pegram RA. A physiologically based pharmacokinetic description of the oral uptake, tissue dosimetry and rates of metabolism of bromodichloromethane in the male rat. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1998; 150:205-217.
- 11 DeMarini DM, Shelton ML, Warren SH, Ross TM, Shim JY, Richard AM et al. Glutathione S-transferase-mediated induction of GC → AT transitions by halomethanes in *Salmonella*. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 1997; 30:440-447.
- 12 NTP *Toxicology and carcinogenesis studies of chlorodibromomethane (CAS No. 124-48-1) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies)*. Research Triangle Park, NC, US Department of Health and Human Services, National Toxicology Program 1985; (NTP TR 282).
- 13 NTP *Toxicology and carcinogenesis studies of bromodichloromethane (CAS No. 75-27-4) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies)*. Research Triangle Park, NC, US Department of Health and Human Services, National Toxicology Program 1987; (NTP TR 321).
- 14 Anders MW, Stevens JL, Sprague RW, Shaath Z, Ahmed. Metabolism of haloforms to carbon monoxide. II. *In vivo* studies. *Drug Metabolism and Disposition*, 1978; 6(5):556-560.
- 15 Chu I, Secours V, Marino I, Villeneuve DC.. The acute toxicity of four trihalomethanes in male and female rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1980; 52:351-353.
- 16 GlobalTox. *Assessment of the toxicology of trihalomethanes (THMs) in drinking water. Final report*. Prepared by GlobalTox International Consultants Inc. for Health Canada, Ottawa, Ontario, 5 April 2002.
- 17 NTP *Toxicology and carcinogenesis studies of tribromomethane (bromoform) (CAS No.*

- 75-25- 2) in F344/N rats and B6C3F₁ mice (gavage studies). Research Triangle Park, NC, US Department of Health and Human Services, National Toxicology Program 1989; (NTP TR 350).
- 18 Moore TC, DeAngelo AB, Pegram RA. Renal toxicity of bromodichloromethane and bromoform administered chronically to rats and mice in drinking water. *Toxicologist*, 1994; 14:281.
 - 19 Balster RL, Borzelleca JF. Behavioral toxicity of trihalomethane contaminants of drinking water in mice. *Environmental Health Perspectives*, 1982; 46:127–136.
 - 20 NTP : Bromoform: Reproduction and fertility assessment in Swiss CD-1 mice when administered by gavage. Research Triangle Park, North Carolina, US Department of Health and Human Services, National Toxicology Program (NTP-89-068). Abstract. 1989b.
 - 21 Narotsky MG, Hamby BT, Mitchell DS, Kavlock RJ. Bromoform requires a longer exposure period than carbon tetrachloride to induce pregnancy loss in F-344 rats. *Toxicologist*, 1993; 13:255.
 - 22 Zeiger E. Mutagenicity of 42 chemicals in *Salmonella*. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 1990; 16(Suppl. 18):32–54.
 - 23 Fujie K, Aoki T, Wada M Acute and subacute cytogenetic effects of the trihalomethanes on rat bone marrow cells *in vivo*. *Mutation Research*, 1990; 242:111–119.
 - 24 Shelby MD, Witt KL. Comparison of results from mouse bone marrow chromosome aberration and micronucleus tests. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 1995; 25(4):302–313.
 - 25 Pereira MA, Lin LHC, Lippitt JM, Herren SL. Trihalomethanes as initiators and promoters of carcinogenesis. *Environmental Health Perspectives*, 1982; 46:151–156.
 - 26 Stocker KJ, Statham J, Howard WR, Proudlock RJ. Assessment of the potential *in vivo* genotoxicity of three trihalomethanes: chlorodibromomethane, bromodichloromethane and bromoform. *Mutagenesis*, 1997; 12(3):169–173.
 - 27 Morimoto K, Koizumi A. Trihalomethanes induce sister chromatid exchanges in human lymphocytes *in vitro* and mouse bone marrow cells *in vivo*. *Environmental Research*, 1983; 32:72–79.
 - 28 Potter CL, Chang LW, DeAngelo AB, Deniel FB. Effects of four trihalomethanes on DNA strand breaks, renal hyaline droplet formation and serum testosterone in male F344 rats. *Cancer Letters*, 1996; 106(2):235–242.
 - 29 Theiss JC, Stoner GD, Skimkin MB, Weisburger EK. Test for carcinogenicity of organic contaminants of United States drinking waters by pulmonary tumor response in strain A mice. *Cancer research*, 1977; 37:2717-2720.
 - 30 Reif JS, Bachand A, Andersen M. *Final report: Reproductive and developmental effects of disinfection by-products*. Unpublished report prepared for Bureau of Reproductive and Child Health, Health Canada, Ottawa, Ontario, 2000; 31 October.
 - 31 日本水道協会 水道統計 平成18年度 2008