

清涼飲料水に係る汚染物質の食品健康影響評価

番号 4 4 抱水クロラール (案)

. 当該化学物質の概要

水質基準の見直しの際の資料 (厚生労働省 2003) を基にその概要を整理した。

1. 物質特定情報

名 称	トリクロロアセトアルデヒド 1 水和物 (別名 抱水クロラール)
CAS No.	302-17-0
分子式	$C_2H_3Cl_3O_2$ / $Cl_3CCH(OH)_2$
分子量	165.4

(日本語版 ICSC)

2. 物理化学的性状

物理的性状	特徴的な臭気のある、無色透明の結晶
沸点(分解) ()	97
融点 ()	57 ~ 60
密度 (g/cm ³)	1.9
水への溶解性	非常によく溶ける
水オクタノール分配係数 (log Pow)	0.99

(日本語版 ICSC)

3. 生成の仕組み・用途

- (1) 生成の仕組み：浄水過程で、水中の有機物質と消毒剤の塩素が反応して生成される（H4 専門委員会報告監視項目）
- (2) 用途：医薬品原料

4. 現行規制等

(1) 法令の規制値等

水質基準値 (mg/L): なし

水質管理目標 (mg/L): 0.03(P)

環境基準値 (mg/l) なし

要監視項目 (mg/l) なし

その他基準 (mg/L) 薬品基準 ×、資機材基準 ×、給水装置基準 ×

(2) 諸外国等の水質基準値又はガイドライン値

WHO (mg/L): 0.01(P: 暫定値) (第2版) 0.01 (第3版ドラフト)

EU (mg/L): なし

USEPA (mg/L): なし

5. 毒性に関する科学的知見

WHO飲料水水質ガイドライン（第2版、第3版ドラフト）及びWHO環境保健クライテリア（番号216 消毒剤及び消毒副生成物（1999年）；以下「WHO IPCS」という。）を基に、毒性に関する科学的知見を整理した。

1. 体内動態及び代謝

トリクロロアセトアルデヒド（クロラール）は、水中及び体内で水和し抱水クロラールを形成する。ほとんどの毒性及び代謝の研究は、水和前のアルデヒドでなく抱水クロラールを用いて実施されている。（EHC 216）

抱水クロラールは主に還元されてトリクロロエタノールになり、少ないが有意な量が酸化されて TCA (トリクロロ酢酸) となる (EHC 216)。初期においてはトリクロロエタノールへの代謝が優勢であるが、これは、細胞内において酸化還元電位が還元に有利であるためである (Kawamoto et al. 1987)。この初期の傾向は、トリクロロエタノールが急速にグルクロン化されるため、さらに強化される (Marshall & Owens 1954)。しかし、トリクロロエタノールのグルクロニドの腸肝循環の結果、グルクロニドは加水分解されてトリクロロエタノールとなり、これはさらに酸化されて中間体である抱水クロラールを經由して TCA となる (Stenner et al. 1996)。生理的条件下では TCA の形成は不可逆的であり、有意な量のトリクロロエタノールが腸肝循環に入る限り、抱水クロラールの TCA への転換は継続する (図 1)。

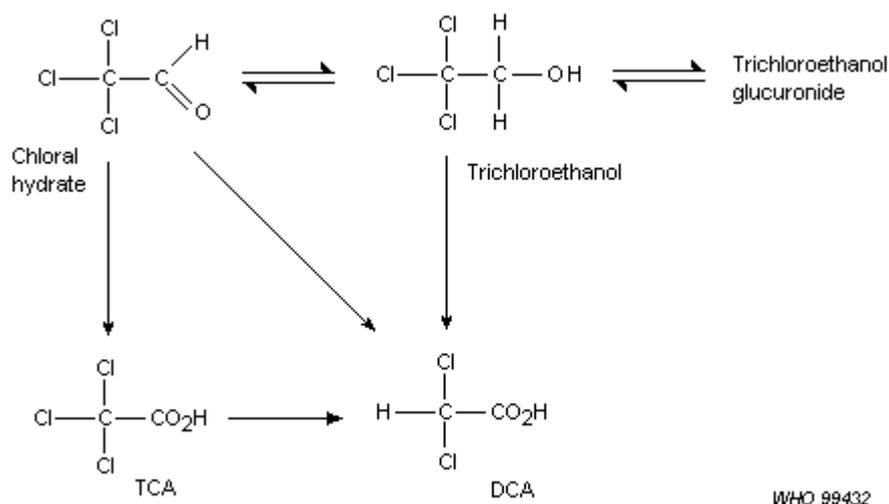


図 1 ホ乳類における抱水クロラールの代謝 (Marshall & Owens 1954, Kaplan et al. 1967)

抱水クロラールは直接及び間接的に他の薬剤と相互作用する可能性がある。最も一般的なものはアルコールとの相乗作用であり、いわゆる「ミッキーフィン (Mickey Finn: 酒に睡眠薬や下剤等を入れて一服盛ること)」に関係している (Gilman et al. 1991)。この現象は、抱水クロラールとアルコールが代謝において共通のステップに相互作用することによると考えられている (Gessner & Cabana 1970, Sellers et al. 1972)。アルコールとの混合暴露は、代謝物のトリクロロエタノールのグルクロン化及びトリクロロ酢酸 (TCA) への変換を阻害するようである (Kaplan et al. 1967, Sellers et al. 1972)。他の主な相互作用は代謝物、特に TCA が、血清タンパク質の結合部位に競合することによるものであ

る。

抱水クロラールはイヌ及びヒトにおいて、急速に吸収され、投与量の大半は、トリクロロエタノールのグルクロニドおよび少量の遊離のトリクロロエタノールとして、残りはトリクロロ酢酸塩として尿中に排泄された(Marshall & Owens 1954^(44W2-7), Butler 1948^(44W2-8))。

2. ヒトへの影響

抱水クロラールの経口摂取による主な影響は中枢神経系の抑制であり、そのために治療用薬剤として使用されるようになった。鎮静剤としての通常の投与量は 250 mg の 1 日 3 回投与である。催眠剤としての投与量は、一般に 500 ~ 1000 mg であるが、成人の大半に効果がある量は 2000 mg である (Gilman et al. 1991)。新生児に対しては、しばしば 30 ~ 40 mg/kg の用量が用いられる (Lambert et al. 1990)。近年、抱水クロラールは、特に子供に対し、CT スキャン、脳波図 (EEG) 及び心電図 (ECG) などの検査遂行の助けとして、鎮静目的で用いられるようになっており、比較的高用量 (32 ~ 80 mg/kg (Silver & Steir 1971)、100 mg/kg (Farber & Abramow 1985)) で用いられている。

抱水クロラールのヒトに対する最も重要な急性毒性影響は心不整脈である。研究報告の多くは中毒例や過剰摂取例の報告であるが、小児科において脳波図 (EEG) 検査時の不整脈誘発を厳密に研究した報告が 1 件ある (Silver & Steir 1971)。用量範囲は 32 ~ 80 mg/kg であり、12 例中 2 例にのみ抱水クロラール投与に起因した洞性不整脈が認められた。これらの用量範囲の最低量がおよその閾値であると示唆される。子供では 96 mg/kg 以上の投与により、一貫して不整脈が認められる (Nordenberg et al. 1971, Farber & Abramow 1985, Hirsch & Zauder 1986)。子供の用量 32 mg/kg は、成人では体重を 70 kg とすると 2240 mg の投与量になる。

抱水クロラールを投与された新生児に関する研究で、直接性過ビリルビン血症の発生が高いことが示されている (Lambert et al. 1990)。この症状は急性投与よりも連続投与に関係していた。新生児に影響が認められた用量 (40 mg/kg) と認められなかった用量 (33 mg/kg) には有意な違いはなかったが、影響が認められた子供への総投与量は 1035 mg で、影響が認められなかった子供への総投与量は 135 mg であった。このように、抱水クロラール

ルの長期的使用は、明らかに過ビリルビン血症の原因となる。新生児は過ビリルビン血症に対して一般に感受性が高いと考えられるため、この影響は成人ではあまり心配ないと考えられる。

抱水クロラールの高用量の経口摂取により肝障害の誘発が報告されている (van Heijst et al. 1977、Gilman et al. 1991)。マウスの短期試験 (Sanders et al. 1982) の結果より、ヒトで肝障害が生じるのは非常に高濃度になった場合であると考えられる。肝障害に関するヒトの感受性がマウスと同程度であると仮定すると、長期暴露 (例えば数か月) によりある程度の肝腫大が生じうる。しかし、この影響が生じる用量は、ほとんどの塩素処理飲料水から摂取が予想される抱水クロラールレベルである $1 \mu\text{g}/\text{kg}$ の何分の1かよりもかなり高い。臨床的文献は、ヒトは肝臓の抱水クロラールに対する感受性がラットに近いことを示唆している。

固定型皮膚発疹 (fixed cutaneous eruptions) についての報告例がある (Miller et al. 1966)。この報告では、57歳の男性へ治療目的で抱水クロラールを 500 mg 投与したことと関連づけられている。この病変は繰り返し暴露で体の同位置に発生する傾向があったため "fixed" (固定型) とよばれている。同様の報告例が 1878 年にもある。これは、抱水クロラールの希な副作用であると思われ、完全に回復可能である。その他に、抱水クロラールの経口摂取による皮膚反応が報告されているが、これもやはり比較的希である (Almeyda & Levantine 1972)。

3. 実験動物及び *in vitro* 試験系での影響

(1) 急性毒性試験

抱水クロラールのマウスによる急性経口 LD_{50} は $1265 \sim 1442 \text{ mg}/\text{kg}$ 体重であった (Sanders 1982^(44W2-9))。ラットはマウスよりも感受性が高く、急性経口 LD_{50} は、新生児ラットでは $285 \text{ mg}/\text{kg}$ 体重、成熟ラットでは $479 \text{ mg}/\text{kg}$ 体重であった (Goldenthal 1971^(44W2-10))。

(2) 短期毒性試験

1) ラット (13週間 反復投与試験)

雌雄各群 10 匹の Sprague-Dawley ラットに対する、0.2、2、20、200 ppm の抱水クロラールの 13 週間にわたる飲水投与試験が実施された (Poon et al., 2002)。暴露動物の体重および主要臓器重量には有意な変化は認められなかった。最高濃度群である 200 ppm に暴露された雄で、視神経のミエリン鞘に軽度の空胞化が認められたが、それ以外には明白な組織学的変化は認められなかった。生化学的検査において、200 ppm に暴露された雌雄のラットで、肝臓のアルデヒド脱水素酵素 (ALDH) の有意な低下およびアニリン水酸化酵素 (AH) レベルの有意な増加が認められた。2 ppm 以上に暴露された雄ラットで肝臓のカタラーゼレベルの有意な増加が認められたが、この影響はペルオキシソーム増殖を介していると考えられることから、ヒトには当てはまらなないと著者らは判断している。

ALDH レベルの低下および視神経のミエリン鞘の軽度の空胞化にもとづき、著者らは無影響量 (NOEL) を 20 ppm と判断した。このレベルは雌雄各ラットの実測飲水量に基づくと、雄では 1.89 mg/kg 体重/日、雌では 2.53 mg/kg 体重/日に相当する。

2) ラット (90 日間 反復投与試験)

雌雄の Sprague-Dawley ラットを用いて、300、600、1200、2400 mg/L (雄では、それぞれ 24、48、96、168mg/kg 体重/日に相当する。) の抱水クロラールの 90 日間にわたる飲水投与試験が実施された。肝細胞の壊死が、1200 又は 2400 mg/L 群の雄 10 匹中 2 匹に認められた。雌では肝傷害は認められなかった。壊死は、1200 mg/L 群よりも最高濃度の 2400 mg/L 群でより強く、用量相関性が示唆された。しかし、これらの投与群でも他の低濃度投与群でも抱水クロラールによる肝腫大の兆候は認められなかった (Daniel et al. 1992b)。著者らは、この肝臓への影響に基づき、NOAEL を 96mg/kg 体重/日としている。

3) マウス (14 日間 反復投与試験)

ラットとは異なり、雄の CD-1 マウスを用いた試験では、144 mg/kg 体重/日の 14 日間の経口投与で肝腫大が認められた。14.4 mg/kg 体重/日 群では影響は認められなかった。剖検時の肉眼所見では他の臓器は正常であり、血清中の酵素値 (LDH 又は血清中のグルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (SGPT) 値など) や血中尿素窒素 (BUN) 値に変化は認められなかった (Sanders et al. 1982)。

WHO は、この試験の NOAEL を 14.4 mg/kg 体重/日としている (WHO 1996)。

4) マウス (90 日間 反復投与試験)

マウス (雌雄各群 140 匹) を用いて 70、700 mg/L での 90 日間の飲水投与試験が実施された。平均摂取量は雌で 18、173 mg/kg 体重/日、雄で 16、160 mg/kg 体重/日であった。雄では両投与群とも投与開始 90 日に肝腫大が認められた。また、700 mg/L 群で LDH 及び血清中グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (SGOT) の軽度ではあるが統計的に有意な上昇が認められた。雌では雄に認められたような肝腫大は認められなかったが、肝ミクロソームパラメータの変化は認められた (Sanders et al. 1982)。

著者らはこの試験より、抱水クロラールの LOAEL は肝腫大を基に 16 mg/kg 体重/日 (試験した最低用量) としている (なお、EPA(2000) は、肝ミクロソームパラメータの変化を含め、NOAEL を 16mg/kg 体重/日、LOAEL を 160mg/kg 体重/日としている。)

(3) 長期毒性試験

1) マウス (2 年間 反復投与試験)

雄の B6C3F1 マウス (1 群 40 匹) に、0 又は 1 g/L (0 又は 166 mg/kg 体重/日相当) の抱水クロラールを 104 週間飲水投与して、2 年の慢性毒性試験を行った。病変は主として肝臓に限られており、肝細胞の壊死、炎症及び細胞肥大も見られた。臓器の重量変化も顕著であり、処理期間を通して肝臓の絶対重量及び相対重量が増加した。脾臓、腎臓及び精巢の重量及びこれらの臓器の病理学的変化は対照群と同等であった (Daniel et al. 1992a⁽⁴⁴⁾⁽²⁻¹¹⁾)。

(4) 生殖・発生毒性試験

1) マウス

雌の CD-1 親マウスに、交配前から離乳まで、抱水クロラールを 21.3 又は 204.8 mg/kg 体重/日で飲水投与した。児に外表奇形は認められず、妊娠期間、出生児数、児の体重、死産児数にも顕著な影響は認められなかった。高用量群を除くすべての児マウスが数回の神経行動試験で同程度の発達及び行動を示した。高用量群では受動的回避学習試験で記憶力の低下が見られた (Kallman et al. 1984)。WHO は、本試験における発達影響に

関して NOAEL を 21.3 mg/kg 体重/日とした。

(5) 遺伝毒性試験

1) *in vitro*

抱水クロラールに関し多くの変異原性試験が実施されているが、多くの研究者が試験物質の純度を記載しておらず、これらの試験データの幾つかについては解釈が困難である (EHC IPCS)。

抱水クロラールは、ネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*) の TA100 株で陽性の傾向があるものの、TA98 株 (Waskell 1978) 及び TA1535 株 (Bignami et al. 1980) では陰性である。微生物の突然変異試験の結果は陽性であり、点突然変異を誘発しうることを示した (Waskell 1978, Haworth et al. 1983, Giller et al. 1995)。また、Tk 遺伝子座の変異を評価するマウスリンフォーマアッセイでも陽性である (Harrington-Brock et al. 1998)。なお、Keller & Heck は、単離したラットの肝臓の核への抱水クロラール処理では DNA-蛋白の架橋形成の証拠はないと報告している (Keller & Heck 1988)。

多くの研究が抱水クロラールに *in vitro* での異数性を含む染色体異常誘発性を示している (Bronzetti et al. 1984, Crebelli et al. 1985, Sora & Carbone 1987, Furnus et al. 1990, Vagnarelli et al. 1990, Natarajan 1993, Warr et al. 1993, Sbrana et al. 1993, Lynch & Parry 1993, Ferguson et al. 1993)。

2) *in vivo*

抱水クロラールが *in vivo* で遺伝毒性を誘発するかどうかは明らかではない。*in vivo* の試験結果は陽性・陰性が混在している。マウス精母細胞で異数性を誘発することが報告されている (Russo & Levis 1992)。2 つの異なるグループが、精原幹細胞を暴露した試験で、マウス精子細胞で小核の増加を報告している (Allen et al. 1994, Nutley et al. 1996)。マウス骨髄赤血球を用いた小核試験で小核の増加が認められたとの報告がある (Russo et al. 1992)。他の *in vivo* 試験は陰性と報告されている (Xu & Adler 1990, Adler 1993)。これまでのところ、マウス卵母細胞を用いた試験では陰性である (Mailhes et al. 1993)。

WHO-IPCS は、抱水クロラールは多様な遺伝毒性（突然変異、染色体の異数性及び構造異常）を誘発しうるが、その強さは非常に弱いとしている。

(6) 発がん性試験

抱水クロラールが雄の B6C3F₁ マウスに肝腫瘍を生じることが報告されている。

1) マウス (92週 単回投与)

第1の試験では、雄の15日齢の B6C3F₁ マウス 20 及び 25 匹に、それぞれ 5 又は 10 mg/kg 体重の抱水クロラールが単回経口投与された (Rijhsinghani et al. 1986)。10 mg/kg 体重群では、投与後 48 ~ 92 週間の腫瘍の発生頻度が有意に上昇したとしているが、この結果は 8 匹の動物に 3 例の腺腫及び 3 例のがんが認められたことに基づいている。さらに、この交配種の雄の背景データにおける肝腫瘍の自然発生頻度は、一般に約 25% であり 40% を越す報告もある。従って、動物数が少ないため、この研究の結果に大きな信用を置くことは困難である。

2) マウス (104週 反復投与)

第2の試験は、雄の B6C3F₁ マウス 40 匹を用いて 1 g/L (166 mg/kg 体重/日) での 104 週間の飲水投与により実施されたが、71% に肝腫瘍 (腺腫及びがんの合計) が認められた (Daniel et al. 1992a)。本試験では、Rijhsinghani が用いたと同一の交配種マウスの腫瘍誘導に、ずっと高用量が必要であった。このことは、Rijhsinghani らの試験 (Rijhsinghani et al. 1986) に疑問を生じるが、この週齢のマウスは腫瘍イニシエーターに非常に感受性が高いことが知られている (Vesselinovich et al. 1974)。

いずれにせよ、Daniel らの試験は生涯にわたり暴露した場合、抱水クロラールが B6C3F₁ マウスに腫瘍を誘導しうることを明確に示している (Daniel et al. 1992a)。

3) ラット (2年間 反復投与)

Sprague-Dawley ラット (雌雄各群 50 匹) を用いた 2 年間にわたる抱水クロラールの経口投与試験が行われた。抱水クロラールを飲料水に溶解し、15、45、135 mg/kg 体重/日の用量で毎日、雄に対しては 124 週、雌に対しては 128 週にわたり投与した。生存率、外見、行動、剖検時の観察では投与に関係する異常は認められなかった。肝、肺、腎、

脳等を含む主要臓器および耳（内耳、外耳）、眼と視神経等について顕微鏡的検査が行われたが、135 mg/kg 体重/日群の雄で肝肥大が有意に増加していた他は投与に関係した病変は認められなかった。また、腫瘍発生率、腫瘍の組織分布も投与群と対照群で違いは認められなかった（Leuschner and Beuscher, 1998）。

最近、B6C3F₁ マウスを用いた抱水クロラールの発がん性の新しい3つの試験結果が発表された（George et al. 2000, NTP 2000a, b）。

4) ラット/マウス（2年間 反復投与）

雄の F344 ラットおよび雄の B6C3F₁ マウスを用いて、抱水クロラールを含む濾過脱イオン水の2年間飲水投与試験が実施された。

F344 ラット各78匹への0、120、580、2510 mg/L（7.4、37.4、162.6 mg/kg 体重/日相当）の抱水クロラールの104週にわたる投与では、摂水量、生存率、体重および臓器重量には投与に関係する変化は認められなかった。また、投与に関係した肝及び他の臓器での腫瘍の発生頻度（腫瘍をもつ個体の割合）および個体当たりの腫瘍発生数の増加は認められなかった。

B6C3F₁ マウス各72匹への0、120、580、1280 mg/L（13.5、65.0、146.6 mg/kg 体重/日相当）の投与でも摂水量、生存率、体重および臓器重量には投与に関係する変化は認められなかったが、最高投与群で、肝細胞がん（hepatocellular carcinoma）の発生頻度及び発生数の有意な増加が認められた。また、肝腺種の発生頻度及び発生数は抱水クロラール投与群すべてで有意に増加していた。著者らは、抱水クロラールは生涯飲水投与で雄マウスに発がん性を示すが、雄ラットに対しては発がん性でないと結論している（George et al. 2000）。

5) マウス（2年間 反復投与）

B6C3F₁ マウスを用いた抱水クロラールの発がん性試験が5種類行われた。

試験 A においては、雌の B6C3F₁ マウス（各群48匹）に、抱水クロラール0、25、50、100 mg/kg 体重を週5回、104週にわたり経口投与した。

試験 B においては、雌の B6C3F₁ マウス48匹に、抱水クロラール100 mg/kg 体重を週

5 回経口投与し、8 匹ずつを投与開始後 3、6、12、24 か月に剖検し、残りの動物は投与なしで投与開始後 2 年（104 週）まで飼育した。

試験 C では 28 日齢の雌の B6C3F₁ マウス（各群 48 匹）に抱水クロラール 0、10、25、50 mg/kg 体重を単回経口投与し 104 週まで飼育した。

試験 D と E では、それぞれ、15 日齢の雌または雄の B6C3F₁ マウス 48 匹に抱水クロラール 0、10、25、50 mg/kg 体重を単回経口投与し 104 週まで飼育した。

試験 A で 100 mg/kg 体重の投与を受けた雌では脳下垂体前葉の腺腫の発生率が有意に増加した。

また、試験 B で 24 か月にわたり 100 mg/kg 体重の投与を受けた雌でも時間に関係して腺腫の発生率が増加し、24 か月投与群では有意であった。

単回投与群（試験 C、D、E）では腫瘍の増加は認められず、また、いずれの投与群でも肝がんの発生率の上昇は認められなかった。

NTP は、本試験は雌の B6C3F₁ マウスの 2 年間継続暴露における抱水クロラールの発がん性について、あいまいな証拠を示しているとしている（NTP 2000a）。

6) マウス（2 年間 反復投与）

雄の B6C3F₁ マウスを用いて蒸留水に加えた抱水クロラール 0、25、50、100 mg/kg 体重の週 5 回、2 年間の経口投与試験が実施された。各投与群は摂餌の方法により、自由摂餌グループ及び制限給餌グループ 2 グループにわけ、各グループ、各群 60 匹とした。投与開始 15 か月に各グループの各群 12 匹を用いて中間評価を行った。自由摂餌グループではラウリン酸 -ヒドロキシラーゼ活性や CYP4A タンパク質の有意な活性化は見られなかったが、制限給餌グループの 100 mg/kg 群ではラウリン酸 -ヒドロキシラーゼ活性や CYP4A タンパク質の有意な活性化が認められた。また、制限給餌グループでの CYP4A タンパク質誘導プロファイルは 2 年後の肝がん発生率の増加と同様であり、100 mg/kg 群で最も高かった。自由摂餌グループの全投与群で、肝の腫瘍（腺腫及びがんの合計）の発生頻度が増加し、25 mg/kg 体重群では統計的に有意な上昇が認められた。また、制限給餌グループでは、100 mg/kg 群で肝臓がんの発生頻度が有意に上昇し、腫瘍（腺腫及びがんの合計）の発生頻度も有意ではないが上昇傾向が認められた。その他の臓器では腫瘍の発生頻度の上昇は認められなかった。

NTP は、本試験の結果より、この 2 年間の経口投与試験で用いた条件下で、雄 B6C3F₁

マウスに対する抱水クロラールの発がん性について、ある程度の証拠があるとしている (NTP 2000b)。

WHO IPCS の報告書は、抱水クロラールの代謝物である TCA や DCA は B6C3F₁ マウスで肝腫瘍の比較的強い誘導を示すため、抱水クロラール自身が発がん影響に寄与しているか否かが極めて重要であり、この疑問は以下を示すことによってのみ解決できるとしている。

- (i) 抱水クロラールの染色体異常誘発作用が腫瘍形成過程に役割を果たす。
- (ii) TCA、DCA 又はその組合せが、初期のより強い代謝物の寄与がなくても、肝臓の腫瘍誘発を完全に説明できるだけの量が、産生される。

また、WHO IPCS の報告書は、抱水クロラールはマウスにおいてのみ肝腫瘍を誘導するようであり、TCA 作用の種特異性と一致していることから、その他の活性は恐らく関与していないであろうとしている (EHC IPCS)。

・国際機関等の評価

1 . International Agency for Research on Cancer (IARC)

(IARC 1995)

抱水クロラール : Group3(ヒトの発がん性に関して分類できない)

2 . Joint Expert committee on food Additives (JECFA) Monographs and Evaluations

評価書なし

3 . WHO 飲料水質ガイドライン

(1) 第 2 版 (1 9 9 6 年)

抱水クロラールはマウスに肝腫瘍を誘発する。 *in vitro* の短期試験で変異原性が示されているが、DNA とは結合しない。細胞分裂において染色体分離を中断することも証明されている。適切な長期試験のデータがないので、抱水クロラールに対するガイドライン値は、90 日間の飲水投与試験においてマウスに認められた肝臓への影響から得た LOAEL 16 mg/kg/day に基づいている (Sanders et al. 1982)。1.6 μ g/kg の TDI は、この LOAEL を使用し、10,000 の不確実係数 (個体差及び種差で 100、試験期間が短いことに対して 10、さらに NOAEL でなく LOAEL を使用したことに対して 10) を適用して算出した。

〔参考〕

TDI の飲料水からの寄与を 20% とし、暫定ガイドライン値は 10 μ g/L (端数処理値) とされた。このガイドライン値は利用可能なデータベースに限度があるので、暫定値とされている。

(2) 第 3 版ドラフト (2 0 0 3 年)

雄ラットを用いた 13 週間飲水投与試験の結果、視神経のミエリン鞘において軽度の空胞形成が認められている (出典推定 : Poon et al. 2002)。この影響についての NOAEL 1.89 mg/kg/day から、不確実係数 1,000 (個体差及び種差で 100、試験期間が短いことに対して 10) を適用して TDI は 1.89 μ g/kg/day と算出された。

〔参考〕

TDI の飲料水からの寄与率を 20% とし、成人の体重を 60 kg、飲水量を 1 日 2 L とし、ガイドライン値は 10 μ g/L とされている。(1996 年の値と同値であるが暫定値扱いではない。)

4. 米国環境保護庁 (US EPA)

(1) Integrated Risk Information System (IRIS)

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)
ヒトにおける中枢神経系の抑制及び消化管への刺激	NOAEL: None LOAEL: 10.7 mg/kg-day	100 (LOAEL 使用 10 × 個人差 10)	1	0.1 mg/kg-day

(Goodman & Gilman 1985)

*LOAEL は 250 mg の 1 日 3 回暴露 (総暴露量 750 mg) による中枢神経系の抑制 (鎮静作用) および消化管への刺激 (吐き気、嘔吐) に基づき、平均体重 70 kg として算出。

発がん性

EPA の 1986 年のガイドラインでは、抱水クロラールはグループ C (動物実験による限られた証拠のみあり、ヒトへの発がん性もやや低い物質) に相当する。

EPA の 1996 年に提案されたガイドラインによると、経口暴露において抱水クロラールにはヒトの発がん性の示唆的な証拠がある (shows suggestive evidence of human carcinogenicity) とされている。実際のヒトでの発がんデータはない。

5. 我が国における水質基準の見直しの際の評価

基本的には、WHO 第 2 版の評価を現在も支持。

マウスを用いた 90 日間の飲料水投与試験 (Sanders et al., 1982) において、肝臓への影響が認められたことから、LOAEL は 16 mg/kg 体重/日とし、不確実係数を 3000 (種内差及び種間差に対して 100、短期の試験であること、LOAEL を用いることについて 30) とし、TDI は 0.0053 mg/kg 体重/日とされている。

(平成 10 年の検討時には、) 新たな毒性知見として、ラットの 90 日間の飲料水投与試験 (Daniel et al., 1992) による一般毒性の NOAEL 96 mg/kg 体重/日が報告されているが、より安全側での評価となる上述の評価を継続。

(平成 10 年以降の知見として)、ラットに抱水クロラールを雄で用量 0, 0.02, 0.19, 1.89, 19.76 mg/kg 体重/日、雌で用量 0, 0.03, 0.24, 2.53, 23.57 mg/kg 体重/日を 13 週間、飲水で投与した研究が報告されている (Poon et al., 2002)。この研究では、最高用量での雌雄におけるアルデヒド脱水素酵素 (ALDH) の抑制とアニリン水酸化酵素の増加、最高用量での雄のミエリン鞘の軽度の空胞化に基づき、抱水ク

ロラールの飲水中無影響量 (NOEL) は、雄で 1.89 mg/kg 体重/日、雌で 2.53 mg/kg 体重/日であるとされている。この NOEL は、Daniel ら (1992) による試験の NOEL よりも低いものである。しかし、雄の高用量群だけに認められたミエリン鞘の軽度の空胞化は最小の変化であるとともに、他の神経系や脳内アミン濃度への影響は認められていない。また、ALDH の抑制は高用量曝露により蓄積した抱水クロラールの代謝産物であるアセトアルデヒドによるものと考えられ、飲料水中の抱水クロラール濃度のよ
うな低濃度曝露環境における有害影響に対する所見としては疑問が残るとして、評価値算定の基となる適切な NOEL は求められないとして上述の評価を継続。

表1 WHO等による抱水クロラールのリスク評価

	根拠	NOAEL (mg/kg 体重/日)	LOAEL	不確実係数	TDI (μ g/kg 体重/日)
<u>1. WHO 飲料水ガイドライン</u>					
第2版	90日間の飲水投与試験においてマウスに認められた肝臓への影響 (Sanders et al., 1982)	-	16	$10 \times 10 \times 10 \times 10$ (種差 \times 個体差 \times 試験期間 (短期) \times LOAEL 使用)	1.6
第3版	13週間の飲水投与試験において雄ラットに認められたミエリン鞘への影響 (Poon et al., 2002)	1.89	-	$10 \times 10 \times 10$ (種差 \times 個体差 \times 試験期間 (短期))	1.89
<u>2. 米国EPA (IRIS)</u>					
	経口 ヒトにおける中枢神経系機能低下及び消化管への刺激 (Goodman & Gilman 1985)	-	10.7	10×10 (個体差 \times LOAEL 使用)	100(Rfd)
<u>3. 水質基準</u>					
	マウスを用いた90日間の飲水投与試験における肝臓影響 (Sanders et al., 1982)	-	16	$10 \times 10 \times 10 \times 3$ (種差 \times 個体差 \times 試験期間 (短期) \times LOAEL 使用)	5.3

食品健康影響評価

WHO 飲料水水質ガイドライン(第2版、第3版)、WHO IPCS 及び我が国の水質基準見直しの際の評価等に基づき、当該物質に係る食品健康影響評価を行った。

1. 遺伝毒性、発がん性

ヒトの発がんデータはない。マウスにのみ腫瘍を引き起こすとするいくつかの試験結果が報告されている。

抱水クロラール及び代謝物のトリクロロ酢酸(TCA)及びジクロロ酢酸(DCA)は、様々な突然変異を引き起こし得るが、その作用は非常に弱いことから、突然変異試験において陽性となるような影響を生じさせるには、高濃度の抱水クロラールや代謝物を必要とし、雌マウスに見られる下垂体腺腫や、雄マウスに見られる肝細胞種が遺伝毒性を介する作用機序によるものとは考えにくいとしている。

現時点において、抱水クロラールによるマウスの発がん性はあるものの、遺伝毒性との関係は明らかでないため、遺伝毒性を介した発ガン作用があるものとは考えにくい。

2. 耐容摂取量の設定

WHO 飲料水水質ガイドライン(第2版)及び我が国の水質基準等の評価においては、従来、実験動物における肝臓への影響に着目し、マウスを用いた90日間の飲水投与試験における肝臓への影響(Sanders et al., 1982)からのLOAELをもって当該物質の評価の根拠とされていたが、視神経の影響に関し、13週間の飲水投与試験において雄ラットに認められたミエリン鞘への影響(Poon et al., 2002)が報告されており、この所見に基づくNOAELを採用することが、現時点においては、適当であると考え(表2)。

このNOAELに不確実係数1000(種差(10)、個体差(10)、試験期間(短期)(10))を適用することにより、耐容摂取量(TDI)は1.89 µg/kg体重/日とした。

また、上記1のとおり、マウスにおいて、発ガン性について示唆的な証拠はあるが、現時点では、人におけるクリティカルエフェクトとして結論付けるには十分ではないとのEPA(2000)の評価は支持できるものとする。

表 2. 非腫瘍性影響のまとめ

番号	種	期間	エンドポイント	NOAEL mg/kg/day	LOAEL mg/kg/day	備考 (TDIの試算)		著者
						TDI (単位 μg/kg体重 /日)	UF (不確 実係数)	
1	ヒト	1日、3回服用	中枢神経系抑制、 消化管の刺激		10.7	107	100 (US/EPA)	Goodman & Gilman 1985
2	ラット	13週間	視神経のミエリン鞘の軽度な空胞化	1.89	18.9	1.89	1000 (WHO3rd)	Poon et al., 2002
3	ラット	90日間	肝の壊死及び血清中酵素値の上昇	96	168	96	1000	Daniel et al. 1992b
4	ラット	104週間		162.6		1626	100	George et al. 2000
5	ラット	124週間	肝細胞腫大	45	135	450	100	Leuschner & Beuscher 1998
6	マウス	14日間	肝重量増加	14.4	144	14.4	1000	Sanders et al. 1982
7	マウス	90日間	肝重量増加			1.6	10000 (WHO2nd)	Sanders et al. 1982
7-2						5.3	3000 (水道)	
8	マウス	104週間	肝重量増加及び壊死		166 ^a	166	1000	Daniel et al. 1992a
9	マウス	104週間		146.6 ^b		1466	100	George et al. 2000
10	マウス	104週間		71.4 ^c		714	100	NTP 2000a,b
11	マウス	交配前、妊娠期間及び授乳期間	児の受動回避学習	21.3	204.8	213	100	Kallman et al. 1984

^a 166 mg/kg/dayで肝細胞腺腫及びがんの発生頻度増加.

^b 13.5, 65, 146.6 mg/kg/dayで過形成及び肝細胞腺腫又はがんの増加.

^c 雌の下垂体前葉腺腫及び雄の肝細胞がんの増加 (100mg/kg体重 × 5日 / 7 = 71.4)

・まとめ

物質名：抱水クロラール

耐容一日摂取量（暫定値） 1.89 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日

（根拠）雄ラットを用いた13週間反復投与試験（Poon et al., 2002）による
視神経のミエリン鞘の軽度の空胞形成。

NOAEL 1.89 mg/kg 体重/日

不確実係数 1000（個体差、種差、試験期間（短期）：10 × 10 × 10）

参考文献

- 1 E216-11 Adler ID. 1993. Synopsis of the in vivo results obtained with the 10 known or suspected aneugens tested in the CEC collaborative study. *Mutation Research*, 287(1): 131-137.
- 2 E216-19 Allen JW, Collins BW, Evansky PA. 1994. Spermatid micronucleus analyses of trichloroethylene and chloral hydrate effects in mice. *Mutation Research*, 323(1-2): 81-88.
- 3 E216-20 Almeyda J and Levantine A . 1972. Cutaneous reactions to barbiturates, chloral hydrate and its derivatives. *The British Journal of Dermatology*, 86: 313-316.
- 4 E216-53 Bignami M, Conti G, Conti L et al. 1980. Mutagenicity of halogenated aliphatic hydrocarbons in *Salmonella typhimurium*, *Streptomyces coelicolor* and *Aspergillus nidulans*. *Chemico-Biological Interactions*, 30: 9-23.
- 5 E216-66 Bronzetti G, Galli A, Corsi C et al. 1984. Genetic and biochemical investigation on chloral hydrate in vitro and in vivo. *Mutation Research*, 141: 19-22.
- 6 44W2-8 Butler TC. 1948. The metabolic fate of chloral hydrate. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 92:49-58.
- 7 E216-146 Crebelli R, Conti G, Conti L et al. 1985 Mutagenicity of trichloroethylene, trichloroethanol and chloral hydrate in *Aspergillus nidulans*. *Mutation Research*, 155: 105-111.
- 9 E216-160 Daniel FB, DeAngelo AB, Stober JA et al. 1992a. Hepatocarcinogenicity of chloral hydrate, 2-chloroacetaldehyde, and dichloroacetic acid in male B6C3F₁ mouse. *Fundamental and Applied Toxicology*, 19: 159-168.
- 10 E216-161 Daniel FB, Robinson M, Stober JA et al. 1992b. Ninety-day toxicity study of chloral hydrate in the Sprague-Dawley rat. *Drug and Chemical Toxicology*, 15: 217-232.
- 11 E216-196 Farber B and Abramow A. 1985. Acute laryngeal edema due to chloral hydrate. *Israel Journal of Medical Sciences*, 21: 858-859.
- 12 E216-201 Ferguson LR, Morcombe P, Triggs CN. 1993. The size of cytokinesis-blocked micronuclei in human peripheral blood lymphocytes as a measure of aneuploidy induction by Set A compounds in the EEC trial. *Mutation Research*, 287(1): 101-112.
- 13 E216-219 Furnus CC, Ulrich MA, Terreros MC et al. 1990. The induction of aneuploidy in cultured Chinese hamster cells by propionaldehyde and chloral hydrate. *Mutagenesis*, 5: 323-326.
- 14 E216-225a George MH, Kilburn S, Moore T et al. 2000. The carcinogenicity of chloral hydrate administered in the drinking water to the male B6C3F₁ mouse and F344/N rat. *Toxicologic Pathology*, 28(4):610-8.
- 15 E216-226 Gessner PK and Cabana BE. 1970. A study of the interaction of the hypnotic effects and of the toxic effects of chloral hydrate and ethanol. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 174: 247-259.
- 16 E216-227 Giller S, Le Curieux F, Gauthier L et al. 1995. Genotoxicity assay of chloral hydrate and chloropicrine. *Mutation Research*, 348: 147-152.

- 17 E216-230 Gilman AG, Rall TW, Neis AS et al. 1991. Goodman and Gilman's pharmacological basis of therapeutics, 8th ed. New York, Pergamon Press, pp 364-365.
- 17a 44W2-10 Goldenthal EI. A compilation of LD50 values in newborn and adult animals. 1971. Toxicology and applied pharmacology, 18:185-207.
- 18 44I-17 Goodman LS and Gilman A. 1985. The pharmacological basis of therapeutics, 7th ed. New York: The Macmillan Co.
- 19 E216-266 Harrington-Brock K, Doerr CL, Moore MM. 1998. Mutagenicity of three disinfection by-products: di- and trichloroacetic acid and chloral hydrate in L5178Y/TK+/-3.7.2C mouse lymphoma cells. Mutation Research, 413: 265-276.
- 20 E216-273a Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K et al. 1983. Salmonella mutagenicity test results for 250 chemicals. Environmental Mutagenesis, 5: Suppl 1: 1-142.
- 21 E216-288 Hirsch IA and Zauder HL. 1986. Chloral hydrate: A potential cause of arrhythmias. Anesthesia and Analgesia, 65: 691-692.
- 23 E216-306 IARC (International Agency for Research on Cancer) 1995. Chloral and chloral hydrate. In: Dry cleaning, some chlorinated solvents and other industrial chemicals. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, Lyon, 63:245-269.
- 24 IRIS. 2000. U.S. Environmental Protection Agency, Integrated Risk Information System, Chloral hydrate (CASRN 302-17-0). <http://www.epa.gov/iris/subst/0304.htm>, Toxicological Review of Chloral hydrate. (EPA/635/R-00/006)
- 24-2 44W2-14 Kallman MJ, Kaempf GL, Balster RL. Behavioral toxicity of chloral in mice: an approach to evaluation. Neurobehavioral toxicology and teratology, 1992,19(2): 159-168.
- 25 E216-336 Kaplan HL, Forney RB, Hughes FW et al. 1967. Chloral hydrate and alcohol metabolism in human subjects. Journal of Forensic Sciences, 12: 295-304.
- 25a E216-343 Kawamoto T, Hobara T, Kobayashi H. et al. 1987. The metabolic ratio as a function of chloral hydrate dose and intracellular redox as a function of chloral hydrate dose and intracellular redox state in the perfused rat liver. Pharmacology & Toxicology, 60: 325-329.
- 26 E216-346 Keller DA and Heck HD. 1988. Mechanistic studies on chloral toxicity: relationship to trichloroethylene carcinogenesis. Toxicology Letters, 42: 183-191.
- 29 E216-405 Lambert GH, Muraskas J, Anderson CL et al. 1990. Direct hyperbilirubinemia associated with chloral hydrate administration in the newborn. Pediatrics, 86: 277-281.
- 29a 44N-S17 Leuschner J and Beuscher N. 1998. Studies on the mutagenic and carcinogenic potential of chloral hydrate. Arzneimittelforschung, 48(10): 961-968.
- 31 E216-455 Lynch AM and Parry JM. 1993. The cytochalasin-B micronucleus/kinetochore assay in vitro: Studies with 10 suspected aneugens. Mutation Research, 287(1): 71-86.
- 32 E216-465 Mailhes JB, Aardema MJ, Marchetti F. 1993. Investigation of aneuploidy induction in mouse oocytes following exposure to vinblastine-sulfate, pyrimethamine, diethylstilbestrol, or chloral hydrate. Environmental and Molecular Mutagenesis, 22(2): 107-114.
- 33 44W2-7 Marshall EK & Owens AH. 1954. Absorption, excretion and metabolic fate of chloral hydrate and trichloroethanol. Bulletin of the Johns Hopkins Hospital. 95:1-18.
- 34 E216-493 Miller LH, Brownstein MH, Hyman AB. 1966. Fixed eruption due to chloral hydrate.

- Archives of Dermatology, 94: 60-61.
- 35 E216-527 Natarajan AT, Duivenvoorden WC, Meijers M et al. 1993. Induction of mitotic aneuploidy using Chinese hamster primary embryonic cells: Test results of 10 chemicals. *Mutation Research*, 287(1): 47-56.
- 36 E216-539 Nordenberg A, Delisle G, Izukawa T. 1971. Cardiac arrhythmia in a child due to chloral hydrate ingestion. *Pediatrics*, 47: 134-135.
- 37 E216-544a NTP. 2000a. Toxicology and carcinogenesis studies of chloral hydrate in B6C3F₁ mice (gavage studies). Research Triangle Park, North Carolina, US department of Health and Human Services, National Toxicology Program (NTP-TR-502).
- 38 E216-544b NTP. 2000b. Toxicology and carcinogenesis studies of chloral hydrate (ad libitum and dietary controlled) in male B6C3F₁ mice (gavage study). Research Triangle Park, North Carolina, US department of Health and Human Services, National Toxicology Program (NTP-TR-503).
- 39 E216-548 Nutley EV, Tcheong AC, Allen JW et al. 1996. Micronuclei induced in round spermatids of mice after stem-cell treatment with chloral hydrate: Evaluations with centromeric DNA probes and kinetochore antibodies. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 28(2): 80-89.
- 39a 44W3draft-1 Poon R, Nakai J, Yagminas A et al. 2002. Subchronic toxicity of chloral hydrate on rats: a drinking water study. *Journal of Applied Toxicology*, 22(4): 227-36.
- 40 E216-602 Rijhsinghani KS, Abrahams C, Swerdlow MA et al. 1986. Induction of neoplastic lesions in the livers of C57BL × C3HF₁ mice by chloral hydrate. *Cancer Detection and Prevention*, 9: 279-288.
- 41 E216-617 Russo A and Levis AG .1992. Detection of aneuploidy in male germ cells of mice by means of a meiotic micronucleus assay. *Mutation Research*, 281(3): 187-191.
- 43 E216-619 Russo A, Stocco A, Majone F. 1992. Identification of kinetochore-containing (CREST+) micronuclei in mouse bone marrow erythrocytes. *Mutagenesis*, 5(3): 195-197.
- 44 E216-628, 44W2-9 Sanders VM, Kauffmann BM, White KL et al. 1982. Toxicology of chloral hydrate in the mouse. *Environmental Health Perspectives*, 44: 137-146.
- 45 E216-632 Sbrana I, Di Sibio A, Lomi A et al. 1993. C-mitosis and numerical chromosome aberration analyses in human lymphocytes: 10 known or suspected spindle poisons. *Mutation Research*. 287(1): 57-70.
- 47 E216-643 Sellers EM, Lang M, Koch-Weser J et al. 1972. Interaction of chloral hydrate and ethanol in man: I. Metabolism. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 13: 37-49.
- 48 E216-659 Silver W and Stier M .1971. Cardiac arrhythmias from chloralhydrate. *Pediatrics*, 48(2): 332-333.
- 49 E216-680 Sora S and Carbone MJ. 1987. Chloral hydrate, methylmercury hydroxide and ethidium bromide affect chromosomal segregation during meiosis of *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutation Research*, 190: 13-17.
- 49a E216-696 Stenner RD, Merdink JL, Templin MV et al. 1996. Enterohepatic recirculation of trichloroethanol glucuronide as a significant source of trichloroacetic acid in the metabolism of trichloroethylene. *Drug Metabolism and Disposition*, 25: 529-535.
- 50 E216-753 Vagnarelli P, De Sario A, De Carli L. 1990. Aneuploidy induced by chloral hydrate

- detected in b human lymphocytes with Y97 probe. *Mutagenesis*, 5: 591-592.
- 51 ^{E216-757} van Heijst AN, Zimmerman AN, Pikaar SA. 1977. [Chloral hydrate - the forgotten poison.] *Nederlands Tijdschrift Voor Geneeskunde* 121(40): 1537-1539 (in Dutch).
- 52 ^{E216-764} Vesselinovitch SD, Rao KV, Mihailovich N et al. 1974. Development of broad spectrum of tumors by ethylnitrosourea in mice and the modifying role of age, sex and strain. *Cancer Research*, 34: 2530-2538.
- 53 ^{E216-772} Warr TJ, Parry EM, Parry JM. 1993. A comparison of two in vivo mammalian cell cytogenetic assays for the detection of mitotic aneuploidy using 10 known or suspected aneugens. *Mutation Research*, 287(1): 29-46.
- 54 ^{E216-774} Waskell L. 1978. A study of the mutagenicity of anesthetics and their metabolites. *Mutation Research*, 57: 141-153.
- 55 WHO 1996. Guidelines for drinking water quality, second edition
- 56 WHO 2003. Guidelines for drinking water quality, third edition, draft guidelines. Chapter 8: Chemical aspects. Chloral hydrate (trichloroacetaldehyde).
- 59 ^{E216-802} Xu W and Adler ID. 1990. Clastogenic effects of known and suspect spindle poisons studied by chromosome analysis in mouse bone marrow cells. *Mutagenesis*, 5(4): 371-374.
- 60 厚生労働省 2003. 水質基準の見直しに係る検討対象項目(化学物質)根拠資料(抜粋)
- 61 WHO/IPCS(1999) Environmental Health Criteria (EHC) Monographs. DISINFECTANTS AND DISINFECTANT BY-PRODUCTS, Environmental Health Criteria 216