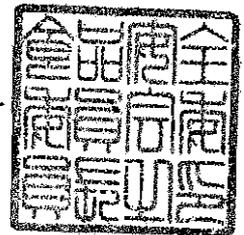


府食第790号  
平成21年8月20日

厚生労働大臣  
舛添 要一 殿

食品安全委員会  
委員長 小泉 直子



食品健康影響評価の結果の通知について

平成15年7月1日付け厚生労働省発食安第0701015号をもって貴省から当委員会に意見を求められた清涼飲料水中のクロロホルムの規格基準改正に係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第23条第2項の規定に基づき通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細は別添のとおりです。

記

クロロホルムの耐容一日摂取量を12.9  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重/日 とする。

清涼飲料水評価書

ク口口ホルム

2009年8月

食品安全委員会

## 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	・・・ 3
・ 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	・・・ 24
3. 曝露状況	・・・ 29
III. 食品健康影響評価	・・・ 29
・ 本評価書で使用した略号一覧	・・・ 34
・ 参照	・・・ 35

### <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クロロ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）
2009年6月25日	より2009年7月24日 国民からの御意見・情報の募集
2009年8月18日	化学物質・汚染物質専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告
2009年8月20日	第298回食品安全委員会（報告） （同日付で厚生労働大臣に通知）

### <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)	(2009年6月30日まで)
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

(2009年7月1日から)

小泉直子（委員長）  
見上 彪（委員長代理\*\*\*）  
長尾 拓  
野村一正  
畑江敬子  
廣瀬雅雄  
村田容常

\*：2007年2月1日から

\*\*：2007年4月1日から

\*\*\*：2009年7月9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)

汚染物質専門調査会

安藤 正典

佐藤 洋 (座長)

千葉 百子

広瀬 明彦

前川 昭彦

化学物質専門調査会

太田 敏博

立松 正衛 (座長代理)

廣瀬 雅雄

(2007年9月30日まで)

汚染物質専門調査会

安藤 正典

佐藤 洋 (座長)

千葉 百子

広瀬 明彦

前川 昭彦

化学物質専門調査会

太田 敏博

渋谷 淳

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、クロロ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、イヌ）、生殖・発生毒性試験（マウス、ラット）、遺伝毒性試験等である。

ヒトにおいては、飲料水を通じてクロロホルムが慢性的に単独曝露された際の毒性や発がんに関する研究は行われていないが、塩素消毒された飲料水とがん（主に膀胱がん）との間に、弱い相関が認められている。

動物実験では、非発がん毒性が肝臓や腎臓で認められている。また、発がん性については、ラットの強制経口投与試験及び飲水投与試験において、腎臓がんが見られ、マウスの強制経口投与試験において、腎腫瘍と肝細胞がんの誘発が報告されている。

遺伝毒性試験は陰性であったことから、クロロ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、マウスを用いた発がん性試験による腎尿細管腫瘍に基づき、NOAEL は 14.6 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の不確実係数 10）を適用して、14.6 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、イヌを用いた経口投与試験による ALT の増加及び肝臓の脂肪性嚢胞の増加から LOAEL は 12.9 mg/kg 体重/日となり、不確実係数 1,000（種差 10、個体差 10、LOAEL を使用 10）を適用して、12.9 µg/kg 体重/日となった。

以上、クロロホルムの TDI を 12.9 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主要構成物質である（参照 1）。

### 2. 一般名

クロロホルム

### 3. 化学名

IUPAC

和名：トリクロロメタン

英名：trichloromethane

CAS No. : 67-66-3

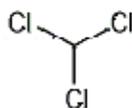
### 4. 分子式

$\text{CHCl}_3$

### 5. 分子量

119

### 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、揮発性、無色の液体

融点 (°C) : -64

沸点 (°C) : 62

比重 (水=1) : 1.48

水への溶解度 (g/100mL (20°C)) : 0.8

水オクタノール分配係数 (log Pow) : 1.97

蒸気圧 (kPa (20°C)) : 21.2

### 8. 現行規制等

#### (1) 法令の規制値等

水質基準値 (mg/L) : 0.06

その他基準 : 労働安全衛生法 : 作業環境評価基準 10 ppm

#### (2) 諸外国等の水質基準値またはガイドライン値

WHO (mg/L) : 0.2 (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

### 1. 毒性に関する科学的知見

WHO 飲料水水質ガイドライン、EPA/IRIS のリスト、ATSDR の毒性学的プロファイル、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 2,3,4,5,6,7,8,9,10,11)。

#### (1) 体内動態

##### ①吸収

動物実験によれば、クロロホルムの腸管からの吸収は迅速 (血中濃度の最高値は約 1 時間後) であり、高い割合 (64~98%) で吸収される。ヒトにおける実験結果は少ないが、吸収は迅速であり、高い割合で吸収されることが示されている (参照 5)。

##### ②分布

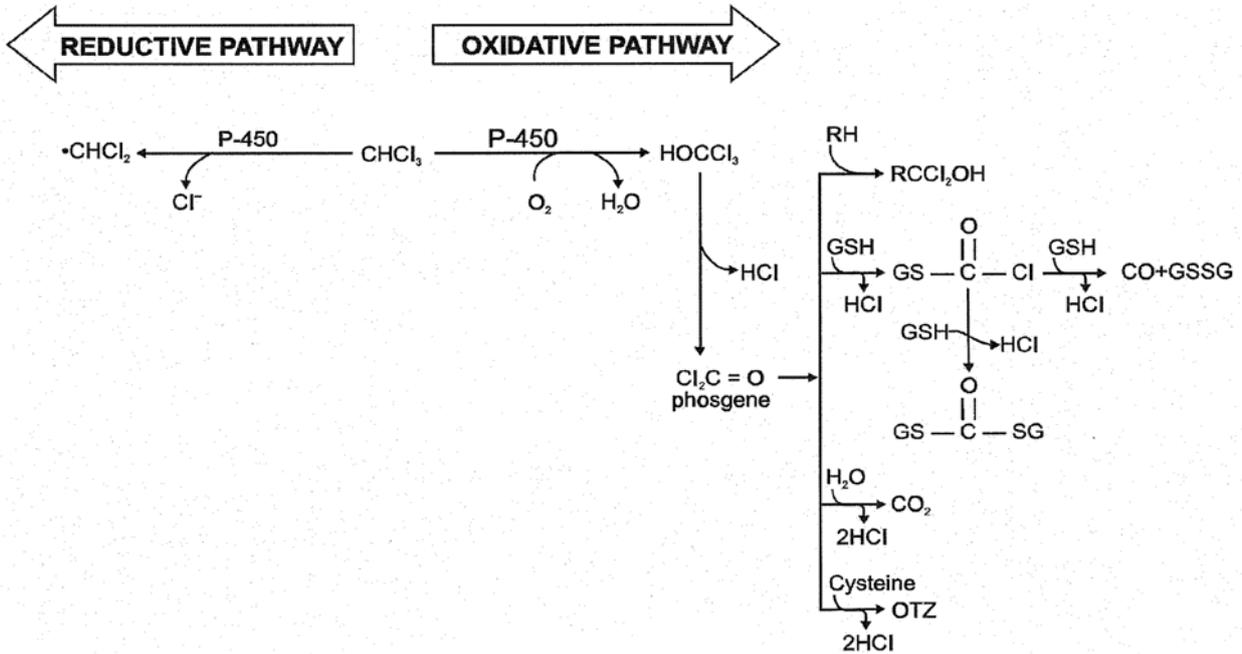
吸収されたクロロホルムは、体中で広範囲に分布することが知られている。8 名のヒトの剖検例においては、脂肪中のクロロホルム濃度 (5~68 g/kg) が最も高く、腎臓・肝臓・脳のクロロホルム濃度 (1~10 g/kg) は低かった (McConnell et al.,1975 ; 参照 5 から引用)。動物実験においては、クロロホルム曝露後、早期に肝臓及び腎臓に吸収されることが示されている (参照 5)。クロロホルムを強制経口投与したマウスの肝臓では、水を溶媒として投与された場合、クロロホルム濃度は 1.5 分後に最高値を示し、投与後 20 分間、コーン油を溶媒として投与された場合よりも高い値を示した (参照 12) 。150 mg/kg の濃度の <sup>14</sup>C クロロホルムを雄のマウスに腹腔内投与した場合、肝臓・腎臓・血液中における放射線測定値は 10 分後に最高値を示し、3 時間後に初期値に戻った (Gemma et al.,1996 ; 参照 5 から引用)。

##### ③代謝 (酸化経路及び還元経路)

クロロホルムの代謝経路を次頁に示す (参照 5)。

トリハロメタンは、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 4)。クロロホルムの毒性はその代謝物に起因することが示唆されている。クロロホルムの代謝については、*in vivo* のデータは限られているが、酸化経路と還元経路が存在することが明らかにされている。クロロホルムの代謝は、酸化反応、還元反応に関係なく、CYP に依存する活性化段階を通して進行する。酸化経路と還元経路とのバランスは、種、組織、用量及び酸素分圧によって決まる。クロロホルムの代謝は、肝臓、腎皮質、気管、気管支、嗅及び呼吸上皮鼻粘膜、食道、喉頭、舌、歯肉、頬、鼻咽腔、咽頭及び軟口蓋の粘膜などの組織で見られる。これらのうち、最も活性の高い器官は肝臓であり、次いで鼻、腎臓である。マウスの腎毒性感

受性の系統差及び性差は、腎臓のクロロホルム代謝能に依存する（参照 13）。



R = cellular nucleophile (protein, phospholipid, nucleic acid); GSH = reduced glutathione; GSSG = oxidized glutathione; OTZ = oxothiazolidine carboxylic acid; P-450 = cytochrome P-450

Source: Adapted from Stevens and Anders (1981), Tomasi et al. (1985), and ILSI (1997).

図 クロロホルムの代謝経路（参照 5）

クロロホルムは CYP の触媒作用によって酸化変換し、トリクロロメタノールが生成する。トリクロロメタノールから塩化水素が脱離すると、反応中間体としてホスゲンが生成される。ホスゲンは、水との反応により二酸化炭素が生成する場合と、グルタチオンやシステインを含むチオール類との反応により付加体が生成する場合がある。二酸化炭素は *in vivo* の酸化経路において生じる主要なクロロホルムの代謝物である。ホスゲン及び塩化水素は酸化活性化による生成物であり、組織の損傷を引き起こすことがある。ホスゲンの組織タンパク質との反応は、細胞損傷や細胞死と関連する。肝臓中でのグルタチオンの枯渇により、クロロホルム代謝物と組織タンパク質との共有結合が促進される（参照 13）。ホスゲンは細胞の求核分子と共有結合するが、クロロホルム代謝物と DNA の結合はほとんど観察されない。また、クロロホルムは、CYP を触媒とする還元変換により、（フェノバルビタール誘導の有無にかかわらず）ジクロロメチルラジカルが生成する。この物質は組織脂質と共有結合する（参照 4,13）。

二次代謝経路には、CYP2B1/2/E1 を介した還元的脱ハロゲン化（フリーラジカルを生成する）及びグルタチオン-S-トランスフェラーゼ T1-1 (GSST1-1) を介したグルタチオン抱合があり、後者は変異原性中間体を生成する。グルタチオン-S-トランスフェラーゼが媒介するクロロホルムのグルタチオンへの抱合は、非常に高濃

度や高用量のクロロホルムにおいてのみ起こる（参照 10）。極度にクロロホルム濃度が高くない場合には、還元型グルタチオンは、マウスの肝ミクロソームで生成する代謝物をすべて取り除くことができる（参照 13）。慎重に解釈すべき知見であるが、Delic ら（参照 14）は、マウスで 10 ppm（WHO 換算 50 mg/m<sup>3</sup>）の吸入曝露で生じる活性代謝物レベルに達するためには、ヒトでは吸入曝露によって 130 ppm（WHO 換算 645 mg/m<sup>3</sup>）のクロロホルムが必要であることを、PBPK モデルを用いて推定した（参照 14）。

ボランティア 8 人が、クロロホルムの入ったゼラチンカプセル（オリーブ油にクロロホルム 500 mg を溶解したもの）を摂取したとき、投与 8 時間後の呼気中に、クロロホルムと二酸化炭素が各々投与量に対して最高で 68.3%及び 50.6%検出された。肺から排出されるクロロホルム量と身体の脂肪組織の容積は反比例した（参照 15）。

#### ④排泄

クロロホルムに曝露したヒト及び実験動物は、呼気中に二酸化炭素と未変化の排出が認められる。二酸化炭素の排出率は、用量及び種によって異なる（参照 4）。

### （2）実験動物等への影響

#### ①急性毒性試験

急性中毒量のクロロホルムは、中枢神経系の機能低下と心臓への影響を引き起こす（参照 4）。ラットの場合、急性毒性はいずれのトリハロメタンについても同様であり、立毛、鎮静、筋弛緩、運動失調、衰弱などである。クロロホルムの LD<sub>50</sub> は、雄ラットは 908 mg/kg 体重、雌ラットでは 1,117 mg/kg 体重であった（参照 16）。生存動物においては、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、さまざまな影響が見られた（参照 4）。Keegan ら（参照 17）は、水性溶媒に溶解したクロロホルムとブロモジクロロメタンを F344 ラット（雄）に投与した際、両者の急性肝細胞毒性による NOAEL と LOAEL を明らかにした。クロロホルム及びブロモジクロロメタンのいずれも、経口 NOAEL は 0.25 mmol/kg 体重（クロロホルム：30 mg/kg 体重）、LOAEL は 0.5 mmol/kg 体重（クロロホルム：60 mg/kg 体重）とされた。後の評価では、ブロモジクロロメタンによる肝臓障害はクロロホルムによる障害よりも持続的であることが示唆された（参照 17）。

トリハロメタンの急性影響に対するラットの感受性はマウスよりも高いことが示唆されている。動物の急性経口曝露に関連して最も好発する毒性所見は、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 18）。

#### ②亜急性毒性試験

##### a. 4 日間または 3 週間亜急性毒性試験（マウス）

B6C3F<sub>1</sub> マウス（雄、各投与群 5 匹）におけるクロロホルム（0、34、90、138、277 mg/kg 体重/日、溶媒コーン油）の 4 日間または 3 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。

34 mg/kg 体重/日以上 of 投与群では、4 日間投与後に小葉中心性肝細胞に変性変化が認められた。3 週間投与後における 34 及び 90 mg/kg 体重/日投与群ではこれらの影響は見られなかったが、138 mg/kg 体重/日以上 of 投与群では影響が認められた。138 及び 277 mg/kg 体重/日投与群では、4 日間投与後で小葉中心性肝細胞壊死が認められ、3 週間投与後では症状がより重篤であった。4 日間投与後にはすべての投与群において肝細胞増殖の用量依存的亢進 (LI 値 [labeling index\*] の増加) が認められたが、3 週間投与後にこの現象が認められたのは 138 及び 277 mg/kg 体重/日投与群のみであった。4 日後にはすべての投与群で尿細管壊死が観察された。一方、3 週間投与では最高用量群に重度の腎症が引き起こされ、それより低い用量群では尿細管の再生が認められた。4 日間投与後では、すべての投与群で尿細管における LI 値の増加が認められたが、3 週間投与後では、138 及び 277 mg/kg 体重/日投与群のみ LI 値が高かった (参照 19)。

表 1 マウス 4 日間または 3 週間亜急性毒性試験

投与群	雄	
	4 日間	3 週間
277 mg/kg 体重/日	小葉中心性肝細胞壊死	重度の腎症
138mg/kg 体重/日以上		小葉中心性肝細胞の変性変化及び壊死、肝細胞増殖の亢進 (LI 値増加)、尿細管での LI 値増加
34 mg/kg 体重/日以上	小葉中心性肝細胞の変性変化、肝細胞増殖の亢進 (LI 値増加)、尿細管壊死、尿細管での LI 値増加	毒性所見なし

#### b. 4 日間または 3 週間亜急性毒性試験 (マウス)

B6C3F<sub>1</sub> マウス (雌、各投与群 14 匹) におけるクロロホルム (0、3、10、34、90、238、477 mg/kg 体重/日、溶媒コーン油) の 4 日間または 3 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 2 に示す。

用量依存性の変化として、238 mg/kg 体重/日以上 of 投与群において小葉中心性肝細胞壊死の増加と肝細胞 LI 値の顕著な増加が認められた。また、34 mg/kg 体重/日の 3 週間投与群において肝臓の退行性変化 (小葉中心性肝細胞好酸性増加、軽度な小葉中心性ないし中間帯の肝細胞空胞変性) が見られた。病理組織学的変化 (肝臓の退行性変化) による NOEL は 10 mg/kg 体重/日、誘発された細胞増殖に対する NOEL は 34 mg/kg 体重/日であった (参照 20)。

\* S 期の細胞核の標識率 (%)

表 2 マウス 4 日間または 3 週間亜急性毒性試験

投与群	雌
238 mg/kg 体重/日以上	小葉中心性肝細胞壊死の増加
90 mg/kg 体重/日以上	散在性の肝細胞壊死と小葉中心性の肝細胞の腫大と空胞化、肝細胞 LI 値の増加
34 mg/kg 体重/日以上	小葉中心性肝細胞好酸性増加、軽度な小葉中心部及び中間帯の肝細胞空胞変性
10 mg/kg 体重/日以上	毒性所見なし

#### c. 4 日間または 3 週間亜急性毒性試験（マウス）

B6C3F<sub>1</sub> マウス（雌、各投与群 14 匹）におけるクロロホルム（0、60、200、400、900、1,800 mg/L）の 4 日間または 3 週間の飲水投与試験が行われた。

いずれの投与群においても、4 日間後または 3 週間後に肝細胞の LI 値の上昇は見られなかった。また、最高用量群ではクロロホルムの累積 1 日摂取量が 329 mg/kg 体重/日であったが、肝臓の病理組織学的所見は観察されなかった。Larson らは、クロロホルムを含有する飲水を終日自由摂取させた場合、一日一回大量投与させた場合に比べて、組織内濃度は、かなり低いことを示唆した（参照 20）。

ATSDR では、4 日間投与後において、400 mg/L（53 mg/kg 体重/日相当）以上の投与群で認められた小葉中心性の肝細胞の好酸性増加に基づき、この試験における NOAEL を 26 mg/kg 体重/日としている（参照 7）。

#### d. 90 日間亜急性毒性試験（マウス）

CD-1 マウス（雌雄、各投与群 7～12 匹）におけるクロロホルム（50、125、250 mg/kg 体重/日；溶媒 Emulphor®を含む脱イオン水）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 3 に示す。

高用量群の雄及び全投与群の雌で用量依存性の肝臓の絶対・比重量の増加が認められた。肝ミクロソーム活性については、雄では、用量依存性は認められなかった。しかし、高用量群で有意な低下が認められ、雌においては、中用量群以上で有意に低下し、用量依存性が認められた。中用量群以上の雌では、ヘキソバルビタールによる誘起麻酔時間も増加した。雌雄の高用量群では血中グルコース値が上昇し、高用量群の雄で体液性免疫が低下した。高用量群の雌では細胞性免疫が低下した（参照 21）。

Munson らは、雌雄の腎臓及び肝臓にわずかな病理組織学的変化が見られたことを報告しているが、所見の認められた割合、重篤度、用量－反応関係に関する情報は提供していない。WHO では、この試験における雌の LOAEL は 50 mg/kg 体重/日、雄の LOAEL は 250 mg/kg 体重/日、NOAEL は 125 mg/kg 体重/日と考えられるとしている（参照 4）。

同様の投与計画を用いた 14 日間の試験では、高用量群において ALT 及び AST 値の上昇が見られたが、90 日間投与試験においては見られなかった。このため、Munson らは、長期曝露後にクロロホルムの肝細胞毒性に対する何らかの耐性が生まれる可能性がある」と結論した（参照 21）。

表3 マウス 90日間亜急性毒性試験

投与群	雄		雌	
	4日間	2週間	4日間	2週間
250 mg/kg 体重/日	肝の絶対・比重量の増加、肝ミクロソーム活性低下、血中グルコース値増加、体液性免疫低下		血中グルコース値増加、細胞性免疫低下	
125 mg/kg 体重/日以上	毒性所見なし		肝ミクロソーム活性低下、ヘキソバルビタール誘起麻酔時間増加	
50 mg/kg 体重/日以上			肝の絶対・比重量の増加	

e. 4日間または2週間亜急性毒性試験(マウス)

BDF<sub>1</sub>マウス(雌雄、各曝露群4~5匹)におけるクロロホルム蒸気(0、0.3、5、30、90 ppm)の4日間(1日6時間)、またはクロロホルム蒸気(0、30、90 ppm=WHO換算によると、0、149、446 mg/m<sup>3</sup>)の2週間(1日6時間、週5日)の吸入曝露試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表4に示す。

4日間及び2週間、30 ppm以上曝露された雄の腎臓において、近位尿細管曲部の壊死、尿細管拡張、硝子円柱の蓄積、限局的石灰沈着及びLI値の増加が認められた。また、4日間、それぞれ90 ppm曝露された雌雄の曝露群において肝臓障害が認められた。また、雄の30 ppm以上の曝露群と雌の90 ppm曝露群において肝細胞LI値の増加が認められた。雄では、いずれの用量においても、2週間曝露群では致死性であった(死亡率は30 ppm曝露群で40%、90 ppm曝露群で80%) (参照22)。

表4 マウス 4日間または2週間亜急性毒性試験

投与群	雄		雌
	4日間	2週間	4日間
90 ppm (WHO換算 446 mg/m <sup>3</sup> )	肝臓障害	死亡率増加	肝臓障害及び肝細胞LI値の増加
30 ppm以上 (WHO換算 149 mg/m <sup>3</sup> )	腎における近位尿細管曲部の壊死、尿細管拡張、硝子円柱の蓄積、限局的石灰沈着、LI値の増加、また肝細胞におけるLI値の増加、死亡率増加		毒性所見なし
5 ppm以下 (4日間曝露試験のみ)	毒性所見なし	—	

f. 4日~13週間亜急性毒性試験(マウス)

B6C3F<sub>1</sub>マウス(雌雄、各曝露群5~10匹)におけるクロロホルム(0、0.3、2、10、30、90 ppm=WHO換算によると、0、1.5、10、50、149、446 mg/m<sup>3</sup>)の4日~13週間(1日6時間、週7日間)の吸入曝露試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表5に示す。

雌では、90 ppm曝露群では、すべての時点(4日、3週、6週、13週)で肝細胞増殖の大幅かつ持続的な増加が認められ、3週、6週では30 ppm曝露群におい

ても肝細胞増殖の増加が認められた。肝臓へのより感受性の高い雌では、この影響に対して 10 ppm の NOAEL が設定された。雄では、10 ppm 以上の曝露群で、腎臓において、再生性過形成等の病理組織学的変化が認められた（参照 23）。

表 5 マウス 4 日間から 13 週間亜急性毒性試験

投与群	雄	雌	
	全投与期間	3 週、6 週	4 日、13 週
90 ppm (WHO 換算 446 mg/m <sup>3</sup> )	腎臓の再生性過形成等の病理組織学的変化	肝細胞増殖の増加	肝細胞増殖の増加
30 ppm 以上 (WHO 換算 149 mg/m <sup>3</sup> )			毒性所見なし
10 ppm 以上 (WHO 換算 50 mg/m <sup>3</sup> )		毒性所見なし	
2 ppm 以下 (WHO 換算 10 mg/m <sup>3</sup> )	毒性所見なし		

#### g. 90 日間亜急性毒性試験（マウス）

B6C3F<sub>1</sub> マウス（雌雄、各投与群 10 匹）を用いたクロロホルム（0、60、130、270 mg/kg 体重/日、溶媒コーン油または 2%Emulphor®懸濁液）の約 90 日間の強制経口投与試験において、クロロホルムの毒性における投与時の溶媒の重要性が実証された。

体重及び臓器重量、血液生化学検査、病理組織学的検査結果から、クロロホルムは水性懸濁液を使用した場合に比べコーン油を用いた場合の方が、より顕著に肝細胞毒性を引き起こした（参照 24）。

#### h. 4 日間または 3 週間亜急性毒性試験（ラット）

F344 ラット（雌、各投与群 5 匹）におけるクロロホルム（0、34、100、200、400 mg/kg 体重/日、溶媒コーン油）の 4 日間または 3 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。

100 mg/kg 体重/日以上以上の投与群で、肝臓に軽度の小葉中心性の退行性変化及び用量依存性の肝細胞増殖の増加が認められた。200 mg/kg 体重/日以上以上の投与群では、腎皮質尿細管の変性と壊死が認められた。100 mg/kg 体重/日以上以上の投与群では、尿細管上皮細胞の再生性増殖が増加した。鼻の篩骨領域内の嗅粘膜病変（新生骨形成、骨膜細胞増加及び細胞増殖の増加）は、最低用量である 34 mg/kg 体重/日を含めたすべての投与群で観察された（参照 25）。

表 6 ラット 4 日間または 3 週間亜急性毒性試験

投与群	雌
200 mg/kg 体重/日以上	腎皮質尿細管の変性・壊死
100 mg/kg 体重/日以上	肝の小葉中心性の退行性変化及び肝細胞増殖の増加、尿細管上皮細胞の再生性増殖の増加
34 mg/kg 体重/日以上	鼻の篩骨領域内の嗅粘膜病変

i. 4日間または3週間亜急性毒性試験（ラット）

F344 ラット（雄、各投与群 12 匹）におけるクロロホルム（0、3、10、34、90、180 mg/kg 体重/日、溶媒コーン油）の4日間または3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7に示す。

34 mg/kg 体重/日以上以上の投与群のうち、4日間投与後では腎尿細管の変性及び小葉中心部の変化が認められたが、3週間投与後では最高用量群においてのみ認められた。また、最高用量群でのみ4日間投与後に腎臓の細胞増殖の亢進が認められた。肝細胞 LI 値は、最高用量群では、両時点（4日間及び3週間投与後）で増加し、90 mg/kg 体重/日投与群では、4日間投与後においてのみ増加した（参照 26）。

表7 ラット4日間または3週間亜急性毒性試験

投与群	雄	
	4日間	3週間
180 mg/kg 体重/日	腎の細胞増殖の亢進、肝臓小葉中心部及び中間帯の肝細胞単細胞壊死と小葉中心部肝細胞の好酸性化・空胞変性	腎尿細管の変性、肝臓小葉中心部及び中間帯の肝細胞単細胞壊死と小葉中心部肝細胞の好酸性化・空胞変性、肝の LI 値の増加
90 mg/kg 体重/日以上	肝臓小葉中心部の退色及び壊死、肝の LI 値の増加	毒性所見なし
34 mg/kg 体重/日以上	腎尿細管の変性及び肝臓小葉中心部の類洞内への白血球の停滞	
10 mg/kg 体重/日以上	毒性所見なし	

j. 4日間または3週間亜急性毒性試験（ラット）

F344 ラット（雄、各投与群 12 匹）におけるクロロホルム（0、60、200、400、900、1,800 mg/L）の4日間または3週間の飲水投与試験が行われた。最高用量群（106 mg/kg 体重/日）においても腎臓または肝臓における細胞増殖の亢進（LI 値の増加）は認められなかった（参照 26）。

k. 4週間亜急性毒性試験（ラット）

Wistar ラット（雄、各投与群 6～10 匹）におけるクロロホルム（0.31 mmol/kg=37 mg/kg 体重/日、溶媒オリーブ油）の4週間の強制経口投与試験において、心臓への影響が確認された。投与群で認められた毒性所見を表8に示す。

上記投与群において不整脈惹起作用（arrhythmogenic）、負の変時作用、負の変力作用及び房室伝導時間の延長が認められた（参照 27）。

表8 ラット4週間亜急性毒性試験

投与群	雄
0.31 mmol/kg 体重/日 （換算値 37 mg/kg 体重/日）	不整脈惹起作用、負の変時作用、負の変力作用、房室伝導時間の延長

### l. 13 週間亜急性毒性試験（ラット）

Sprague-Dawley ラット（雌雄、各投与群 10 匹）におけるクロロホルム（0、15、30、150、410 mg/kg 体重/日、練り歯磨き<sup>†</sup>に混合）の 13 週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 9 に示す。

150 mg/kg 体重/日投与群において、肝臓及び腎臓の比重量への明らかな影響（有意差の記載なし）が認められた。410 mg/kg 体重/日投与群では、脂肪変性及び壊死を伴う肝重量の増加、雌雄の生殖腺萎縮、骨髄における細胞増殖亢進が認められた（参照 28）。

表 9 ラット 13 週間亜急性毒性試験

投与群	雌雄
410 mg/kg 体重/日	脂肪変性及び壊死を伴う肝重量の増加、生殖腺萎縮、骨髄における細胞増殖亢進
150 mg/kg 体重/日	肝及び腎の比重量への影響（有意差の記載なし）
30 mg/kg 体重/日以下	毒性所見なし

### m. 4 日～13 週間亜急性毒性試験（ラット）

F344 ラット（雌雄、各曝露群 5～9 匹）におけるクロロホルム（0、2、10、30、90、300 ppm=WHO 換算によると、0、10、50、149、446、1,490 mg/m<sup>3</sup>）の 4 日～13 週間（1 日 6 時間、週 7 日）の吸入曝露試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 10 に示す。

300 ppm 曝露群では毒性が極めて強く発現し、Templin らによって慢性試験は不適切と判断された。雌雄の 30 ppm 以上の曝露群では、尿細管上皮細胞増殖の増加が観察された。肝細胞の病変及び増殖の増加は 300 ppm 曝露群においてのみ認められた。鼻の篩骨の鼻甲介については、10 ppm 以上の曝露群において骨成長の促進と固有層の細胞過形成が観察され、90 日後、すべての曝露群において鼻甲介の全体的な萎縮が見られた（参照 29）。

表 10 ラット 4 日間から 13 週間亜急性毒性試験

投与群	雌雄
300 ppm (WHO 換算 1,490 mg/m <sup>3</sup> )	肝細胞の病変及び増殖の増加
30 ppm 以上 (WHO 換算 149 mg/m <sup>3</sup> )	尿細管上皮細胞増殖の増加
10 ppm 以上 (WHO 換算 50 mg/m <sup>3</sup> )	鼻の篩骨の鼻甲介の骨成長と促進及び固有層の細胞過形成
2 ppm 以上 (WHO 換算 10 mg/m <sup>3</sup> )	鼻甲介の全体的萎縮

<sup>†</sup> 練り歯磨きにはかつて 3.5%のクロロホルムが含有されていたことがあり、この試験により、ヒトが通常練り歯磨きを使用する場合に摂取し得るクロロホルム量の 100 倍以上の体重あたり投与量での実験動物への曝露が、肝がんやその他の部位のがんを引き起こすか検討することを目的とした。

#### n. 4日～13週間亜急性毒性試験（ラット）

F344 ラット（雌雄、各曝露群 8～15 匹）における高濃度のクロロホルム蒸気（300 ppm=WHO 換算によると、1,490 mg/m<sup>3</sup>）の 4 日～13 週間（1 日 6 時間、週 5 日）の吸入曝露試験が行われた。投与群で認められた毒性所見を表 11 に示す。

肝臓において、密性結合組織に囲まれた腸管上皮様の異型腺構造が形成された。これらの病変は、胆管から離れた細胞集団に起因していると考えられ、周囲に線維増生を伴った腸陰窩様腺管病巣とし、胆管線維症と区別した。また、肝細胞、胆管上皮、毛細胆管及び卵細胞においてトランスフォーミング増殖因子 $\alpha$ （TGF- $\alpha$ ）の免疫反応性が投与に伴って高まり、肝細胞、胆管上皮及び腸の陰窩様腺管（intestinal crypt-like duct）においてトランスフォーミング増殖因子 $\beta$ （TGF- $\beta$ ）の免疫染色による陽性反応性の増加も認められた。これらの病変の発生と同時に、著しい肝細胞壊死、再生性細胞増殖及び増殖因子の発現増加または細胆管への取り込みの増加が伴った（参照 30）。

表 11 ラット 4 日間から 13 週間亜急性毒性試験

投与群	雌雄
300 ppm 以上 (WHO 換算 1,490 mg/m <sup>3</sup> )	肝において異型腺構造の形成、TGF- $\alpha$ ・TGF- $\beta$ 免疫反応性増加、肝細胞壊死、再生性細胞増殖・増殖因子発現または細胆管への取り込み増加

#### ③慢性毒性試験及び発がん性試験

##### a. 7.5 年間慢性毒性試験（イヌ）

イヌ（ビーグル、雌雄、各投与群 8 頭）におけるクロロホルム（15、30 mg/kg 体重/日；練り歯磨きを基剤としたゼラチンカプセルに混合）の 7.5 年間（週 6 回）の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 12 に示す。

ALT の有意な増加が、高用量群では投与 6 週間後に認められ、低用量群では 130 週以降に認められた。同様の影響は、溶媒対照群（雌雄各 16 匹）及び無処置群（雌雄各 8 匹）では認められなかった。試験終了時には、肝臓での脂肪性嚢胞が認められた（参照 31）。

なお、WHO では、この試験での LOAEL を 15 mg/kg 体重/日としている（参照 4）。

表 12 イヌ 7.5 年間慢性毒性試験

投与群	雌雄
15 mg/kg 体重/日以上	ALT の増加、肝の脂肪性嚢胞

##### b. 最長 52 週間発がん性試験（マウス）

B6C3F<sub>1</sub> マウス（雄、各投与群 35 匹）を用いて、最長 52 週間にわたってクロロホルム（0、600、1,800 mg/L）を飲水投与した試験では、腫瘍発生頻度は上昇しなかった（参照 32）。

しかし、WHO では、これらの結果は、観察期間が短かったこと、または1群の動物数が少なかったことの可能性を示唆している（参照 4）。

#### c. 78 週間発がん性試験（マウス）

B6C3F<sub>1</sub> マウス（雌雄、各投与群 50 匹）におけるクロロホルムの 78 週間（週 5 日）の強制経口投与試験が行われた。投与量は、最初の 18 週間は、雄では 0、100、200 mg/kg、雌では 0、200、400 mg/kg、その後 19 週目から 78 週目までは、雄は 0、150、300 mg/kg、雌は 0、250、500 mg/kg に増量した。時間加重平均用量は、雄では 0、138、277 mg/kg、雌では 0、238、477 mg/kg であり、溶媒はコーン油を用いた。各投与群で認められた毒性所見を表 13 に示す。

雌雄に肝細胞がんの有意な増加（対照、低用量、高用量群の順に、雄で 1/18、18/50、44/45 例、雌では 0/20、36/45、39/41 例）が観察された。雄では過形成結節についても有意な増加が観察された（参照 33）。

しかし、曝露した動物の体重減少率が 10%を超えていたことに注意すべきである（参照 4）。

Reuber は、上記の NCI の発がん試験（参照 33）に用いられた組織サンプルを再検査し、同様に雌雄のマウスで悪性リンパ腫の発生頻度が増加したことを報告した（参照 34）。

表 13 マウス 78 週間発がん性試験

投与群	雄	雌
雄 138 mg/kg 体重/日以上 雌 238 mg/kg 体重/日以上	肝細胞がんの増加、過形成結節 (悪性リンパ腫の増加)	肝細胞がんの増加  (悪性リンパ腫の増加)

#### d. 80 週間発がん性試験（マウス）

4 系統（C57B1、CBA、CF/1、ICI）のマウス（各投与群 52 匹）を用いて、クロロホルムの 80 週間（週 6 日）の強制経口投与試験が行われた。練り歯磨きを基剤として雌雄の ICI マウスに 0、17、60 mg/kg 体重/日投与した。また、4 系統の雄マウスに練り歯磨きを用い、ICI 雄マウスにラッカセイ油を用いて各々 0、60 mg/kg 体重/日を投与した。各投与群で認められた毒性所見を表 14 に示す。

4 系統のうち 3 系統（C57B1、CBA、CF/1）の雄では、いずれの腫瘍発生頻度においても投与による影響は認められなかった。しかし、雄の ICI マウスでは、60 mg/kg 体重/日投与群において腎尿細管腫瘍の発生頻度が上昇した（雄；対照群 0/72、低用量群 0/37、高用量群 8/38、雌；対照群 0/59、低用量群 0/37、高用量群 0/38）。発生頻度は、クロロホルムを練り歯磨きに混合投与したときに比べて、ラッカセイ油に溶解投与した場合のほうが高かった（参照 35）。

表 14 マウス 80 週間発がん性試験

投与群	雄	雌
60 mg/kg 体重/日以上	ICI マウス：腎尿管腫瘍の発生頻度の上昇	毒性所見なし
17 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	

e. 104 週間発がん性試験（マウス）

B6C3F<sub>1</sub> マウス（雌、各投与群 50～430 匹）におけるクロロホルム（0、200、400、900、1,800 mg/L；時間加重平均用量 34、65、130、263 mg/kg 体重/日）の 104 週間の飲水投与試験が行われた。

最初の週では、いずれの投与群においても、飲水量は著しく減少し、高用量 2 群の約 25%と 400 mg/L 投与群の 6%が死亡した。この後の期間においては、群間に死亡率の有意な差は見られなかった。この試験では、いずれのがん発生頻度においても投与に関連する上昇は認められなかった。Jorgenson らは、前述の NCI 試験（参照 33）によるマウスの肝腫瘍は、クロロホルムと溶媒のコーン油との相互作用に起因する可能性を示唆した（参照 36）。

f. 78 週間発がん性試験（ラット）

Osborne-Mendel ラット（雌雄、各投与群 50 匹）におけるクロロホルムの 78 週間（週 5 日）の強制経口投与試験が行われた。投与量は、雄では 0、90、180 mg/kg 体重/日、雌では最初の 22 週間は 0、125、250 mg/kg 体重/日、その後 23 週目から 78 週目までは雄と同用量であった。時間加重平均用量は 0、100、200 mg/kg 体重/日であり、溶媒はコーン油を用いた。各投与群で認められた毒性所見を表 15 に示す。

雄において、腎細胞がん発生頻度の有意な用量依存的増加（対照群 0/19 例、低用量群 4/50 例、高用量群 12/50 例）が認められた。これらの腫瘍は雌では認められなかった。ただし、雌では甲状腺の腫瘍（腺腫及びびがん）の増加（統計学的有意差なし）が認められた（参照 33）。

Reuber は、上記の NCI の発がん試験（参照 33）に用いられた組織サンプルを再検査し、雌ラットで肝細胞及び胆管上皮の良性及び悪性の肝臓腫瘍の発生頻度が増加したことを報告した（参照 34）。

表 15 ラット 78 週間発がん性試験

投与群	雄	雌
雄 90 mg/kg 体重/日 雌 100 mg/kg 体重/日	腎臓がん発生頻度の増加	毒性所見なし （良性及び悪性の肝臓腫瘍の発生頻度増加）

#### g. 104 週間発がん性試験（ラット）

Osborne-Mendel ラット（雄、各投与群 50～330 匹）におけるクロロホルム（0、200、400、900、1,800 mg/L；時間加重平均用量 19、38、81、160 mg/kg 体重/日）の 104 週間の飲水投与試験が行われた。検出感度を上げるために、用量が低い投与群ほど群の規模を大きくした。対照群は 2 群（n=330 及び n=50）、飲水量調製対照群（n=50）は最高用量群と飲水量が等しくなるように調整した。各投与群で認められた毒性所見を表 16 に示す。

900 mg/L 以上の投与群において、用量依存性の飲水量の減少及び体重増加抑制が認められた。生存率は用量と共に上昇したが、これは、痩せていたことによると考えられた。104 週間後の対照群の生存率はわずか 12%であったが、最高用量群では 66%が生存していた（これはこの種の試験でよく見られる現象である；参照 4）。また、腎臓腫瘍の発生頻度に用量依存性の上昇が見られた。尿細管細胞腺腫と腺がんを合わせた発生頻度は、（NCI の試験結果（参照 33）よりもわずかに低く；参照 4）、飲水量調製対照群では 1/50 例、投与群では低用量順に 4/313、4/148、3/48、7/50 例であり、最高用量群で統計的に有意であった。神経線維腫、白血病、リンパ腫、循環器系腫瘍を含むその他の腫瘍性病変も増加したが、明確な用量－反応関係または有意差は認められなかった。腫瘍以外の腎臓の病理組織学的変化に関して、Jorgenson らは「投与に関係なく、すべての動物において腎臓の非腫瘍性病変が多かった」とのみ述べている（腎症 [=非腫瘍性の腎障害] の発生頻度；対照群では 91%、飲水量調整対照群では 90%、投与群では低用量順に 95%、95%、100%、92%）。その結論として、個々の動物または群全体のいずれに基づいても、腫瘍病変と他の組織損傷を関連づけることはできなかったとした（参照 36）。

表 16 ラット 104 週間発がん性試験

投与群	雄
160 mg/kg 体重/日	腎臓腫瘍発生頻度の増加

近年、Hard ら（参照 37）は、この試験（参照 36）における腎組織を病理組織学的に検討し、細胞毒性と再生との関連性について再評価した。高用量を 2 年間投与した群（1,800 mg/L、つまり腫瘍発生頻度が有意に上昇した用量）のいずれの雄についても、近位尿細管上皮細胞の傷害性変化がすべての時点で観察された。また、2 番目に高い用量（900 mg/L）を投与された動物の約半数においても同様の変化が観察された。それ以外の投与群または対照群では、これらの特徴的な変化は示されなかった（参照 37）。スライドの劣化や死亡例での自己融解変化により系統的な評価は不可能であったが、Hard ら（参照 37）は、コーン油を用いた強制経口投与による曝露を行った 1976 年の NCI の試験においても、同じ系統の雄に、上述の変化が存在することを確認した（参照 4,37）。

#### h. 52 週間発がんプロモーション試験（マウス）

B6C3F<sub>1</sub> マウス（雄、各投与群 35 匹）に対し、ジエチルニトロソアミン（10 mg/L）を 4 週間飲水投与した後、クロロホルム（600、1,800 mg/L）を最長 52 週間飲水

投与した。対照群は2種類設け、ジエチルニトロソアミンを（前述のように）投与した後、陽性対照群はフェノバルビタール（500 mg/L）を飲水投与し、溶媒対照群は無添加の飲水を与えられた。

肝腫瘍の誘発は、ジエチルニトロソアミン投与後のクロロホルム投与によっては強められなかった（参照 32）。

#### i. 11 週間発がんプロモーション試験（ラット）

Sprague-Dawley ラット（雌、各投与群 4～6 匹）に対し、ジエチルニトロソアミン（8 mg）を1週間単回強制経口投与した後、クロロホルム（25、100、200、400 mg/kg、溶媒コーン油）を11週間（週2回）強制経口投与した。

ジエチルニトロソアミンに誘導される肝細胞の前がん病変の発生を促進した（参照 38）。

#### ・クロロホルムの発がんメカニズム

近年、クロロホルムの発がん性のメカニズムを明らかにし、投与経路や投与溶媒の違いによる影響の違いを理解するために、多大な努力が払われている。現在の知見では、クロロホルムがげっ歯類にとって閾値のある発がん物質であることが示唆されている。ラット及びマウスにおけるクロロホルムの発がん作用は、間接的に細胞毒性や細胞増殖に影響をもたらす、非遺伝毒性的作用機序によるものであることを示す強い証拠がある。なお、クロロホルムには遺伝子突然変異またはその他のタイプの直接的な DNA 損傷を誘発する能力がほとんどないことが示されている（参照 4,10）。

IPCS（参照 10）は、げっ歯類の試験において、クロロホルム誘発性発がんパターンを以下のようにまとめている。「138～477 mg/kg 体重/日の用量でコーン油に溶解したクロロホルムを雌雄の B6C3F<sub>1</sub> マウスに強制経口投与したとき、肝臓腫瘍を誘発した（参照 33）。しかし、水に溶解した同様の用量のクロロホルムを同じ系統に飲水投与したとき、肝臓腫瘍は増加しなかった（参照 36）。この所見は、特にコーン油を溶媒として強制経口投与したときに、クロロホルムが肝臓腫瘍発生を促進することを示したイニシエーション／プロモーション試験の結果と一致している。」（参照 4）。

WHO（参照 4）は、クロロホルムは腎臓腫瘍を誘発するが、マウスでの発生頻度は肝臓腫瘍よりも低いとしている。クロロホルムをコーン油に溶解して雄の Osborne-Mendel ラットに強制経口投与した場合、腎臓腫瘍の誘発が認められた（参照 33）。しかし、この系統では、クロロホルムを飲水投与した場合も結果は同様であり、反応が使用溶媒に完全に依存しているとは限らないことを示している（参照 36）。むしろ、この試験では、より高用量において、体重の有意な減少が見られたことに注目すべきである。初期のより限定された試験では、練り歯磨きに混入したクロロホルムを強制経口投与した結果、ICI マウスで腎臓腫瘍が増加したが、CBA、

C57BL、CF1 マウスでは増加しなかった（参照 35）。したがって、腎臓における発がん性反応はラットとマウス（雄）の両方で観察されてはいるが、系統特異性が高い（参照 4）。

また、クロロホルムの発がん性における細胞増殖影響を調べるために、従来の主な発がん性試験と同様のクロロホルム用量または濃度について、同系統のラット及びマウスを用いた複数の試験が繰り返して行われてきた（参照 19,20,22,23,24,25,26,29,39,40,41）。これらの試験の多くにおいては、腎臓及び肝臓における病理組織学的変化と細胞増殖の評価をしており、後者は組織切片でのブロモデオキシウリジン（BrdU）の labeling index（LI）を指標としている。試験結果により、曝露が連続的でないとき（例えば吸入曝露週 7 日に対して週 5 日曝露）には増殖反応が低く（参照 23,29）、回復期間の経過後にベースラインに戻る事が示されている（参照 4）。

主に F344 ラットを用いた発がん試験により、腎臓における尿細管細胞の再生に起因する発がんの作用機序が支持されている。この試験では、腎臓に障害を引き起こし、細胞増殖を増加させることが示された。このときのクロロホルムの用量は、Osborne-Mendel ラットにコーン油に溶解して最高 3 週間強制経口投与した場合に腫瘍を誘発する用量と同量である（参照 25,26）。しかし、飲水曝露した F344 ラットにおいては、腎障害または細胞増殖に関する明確な用量-反応関係はない（参照 25,36）。なお、強制経口投与による単回投与後 2 日目に F344 ラットと Osborne-Mendel ラットにおける増殖反応を比較した試験〔出典不明〕では、これらの系統はクロロホルム誘発性腎障害に対する感受性がほぼ等しいと結論された。ただし Osborne-Mendel ラットでは、F344 ラット（90 mg/kg）よりも相当低い用量（10 mg/kg）で LI 値の有意な増加が観察された。この Osborne-Mendel ラットによる低用量群での有意な差は、対照群の値が低いことによる可能性が考えられる（参照 4）。

腎臓腫瘍が認められた系統（Osborne-Mendel ラット、雄）における増殖反応に関するデータは、コーン油に溶解して単回強制経口投与（10 mg/kg 体重以上）した 2 日後のデータ（参照 41）のみであり、飲水投与後の増殖反応を調べた試験はない。なお、この試験の結果は、尿細管細胞の再生に基づく腫瘍誘発の作用機序と矛盾しないが、がん誘発に関連する細胞増殖活性についての用量-反応関係を定量的に特徴づけるためには不十分と考えられる（参照 4）。

Environment Canada & Health Canada（参照 13）も、クロロホルムの発がんメカニズムについて考察した。Osborne-Mendel ラットについて、飲水投与試験（参照 36）及び強制経口投与試験（参照 33）の両方で得られた腎臓腫瘍の発生について再分析した結果（参照 37）が特に重要であり、その再分析結果は、近位尿細管細胞の持続的損傷性変化がクロロホルム誘発性の腫瘍に必ず見られる前駆病変であるという仮説を強く裏づけている。

類似の曝露方法を用いたラット及びマウスにおける亜急性試験を検討すると、腎や肝に細胞増殖や細胞毒性を引き起こした用量や濃度は、発がん試験においてこれらの臓器で腫瘍形成を引き起こしたものと同一であった。しかし、一方、これらの臓器に腫瘍を引き起こす量の投与により、細胞増殖や細胞毒性が必ず引き起こされ

るとは限らない。

クロロホルムの発がん機序に関する仮定は、「長期にわたる再生による細胞増殖は化学物質による発がんの原因機序になりうる」という生物学的蓋然性を支持する根拠と一致している。これは、Ames と Gold (参照 42,43)、Cohen と Ellwein (参照 44,45,46)、Preston-Martin ら (参照 47)、Ames ら (参照 48)、Tomatis (参照 49)、Cohen (参照 50)、Cunningham と Mathews (参照 51)、Butterworth (参照 52)、Farber (参照 53) 及び Stemmermann ら (参照 54) など多数の文献で取り上げられてきた。

以上、クロロホルムはマウスに肝がんを、マウスとラットに腎臓がんを誘発した。遺伝毒性、性別及び系統の特異性、並びに細胞毒性と再生増殖と腫瘍の一致に関する証拠により、「持続的な細胞増殖期間を伴う細胞毒性の発生はクロロホルム曝露後に腫瘍が誘発される際の二次的メカニズムであるらしい」という仮説が支持される。これは、腫瘍誘発に関する非線形の用量-反応関係と一致している。この細胞毒性は、主にクロロホルムが酸化されて反応中間体 (主に、ホスゲンと塩化水素) が生成される速度と関連がある。この作用機序は、マウスの肝臓及び腎臓腫瘍に対して最も強力で、ラットの腎臓腫瘍に対しては限られている (参照 13)。

細胞毒性や細胞増殖が予想されない低用量においては、他の発がんメカニズムが示唆される可能性がある。また、げっ歯類に対するクロロホルムの毒性は、コーン油に溶解して投与された場合、飲水に溶解して投与された場合に比べて明らかに強い。このことは、「クロロホルムの発がん性が標的組織への供給速度に依存する」という仮説を裏付ける。さらに、解毒メカニズムが飽和状態にならないければクロロホルムは完全な発がん性を発揮しないことを示唆している (参照 18)。

#### ④生殖・発生毒性試験

トリハロメタンの中で催奇形性に関する知見は、基本的にクロロホルムのデータに限定される。これまでに実施された試験では、溶媒にコーン油または Emulphor®-生理食塩水を用いて 400 mg/kg 体重/日までの用量のクロロホルムを強制経口投与したが、ラット、ウサギ、マウスに催奇形性は示さなかった (参照 55,56,57)。胎児毒性 (体重減少、胸骨分節異常、頭頂骨間異常など) は、母動物毒性を示した用量群で認められた (参照 4)。

##### a. 2 世代繁殖試験 (マウス)

CD-1 マウス (雌雄、各投与群 20 匹、対照群 40 匹) を用いた連続繁殖試験において、クロロホルム (0、6.6、15.9、41.2 mg/kg 体重/日、溶媒コーン油) を交配期間前 7 日間、98 日間の交配期間中及び交配後 21 日間に強制経口投与した。対照群及び高用量群の F<sub>1</sub> 児に対しては、生後 21 日での離乳後、親 (F<sub>0</sub>) と同じ投与計画に従ってクロロホルムを投与した。各投与群でみられた毒性所見を表 16 に示す。

雌雄いずれについても、2 世代にわたって受精 (胎) 能または生殖に関する有意な影響は見られなかった。41.2 mg/kg 体重/日投与群において、F<sub>1</sub> の雌に肝毒性を示唆する病理組織学的変化が観察された (参照 58)。

表 16 マウス 2 世代繁殖試験

投与群	F1 世代 (雌)
41.2 mg/kg 体重/日	肝毒性を示唆する病理組織学的変化
15.9 mg/kg 体重/日	毒性所見なし

b. 妊娠 7 日目～16 日目発生毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (雌、各曝露群 22～25 匹) におけるクロロホルム (0、3、10、30 ppm=WHO 換算によると、0、15、50、149 mg/m<sup>3</sup>) の妊娠 7 日目から 16 日目 (1 日 7 時間) の吸入曝露において胚・胎児毒性と発生毒性が調べられた。各投与群でみられた毒性所見を表 17 に示す。

10 ppm 以上の曝露群の母動物に摂餌量のわずかな減少と体重の有意な減少が認められた。これらの所見からこれらの母動物の胎児は、軽度の発育阻害を生じることが推定された。胚・胎児毒性または催奇形性についての NOAEL は 3 ppm (WHO 換算によると、15 mg/m<sup>3</sup>) とされた (参照 59)。

表 17 ラット妊娠 7 日目～16 日目発生毒性試験

投与群	親	児
10 ppm 以上 (WHO 換算 50 mg/m <sup>3</sup> )	体重減少	発育阻害の推測
3 ppm (WHO 換算 15 mg/m <sup>3</sup> )	毒性所見なし	毒性所見なし

⑤ 遺伝毒性試験

クロロホルムの遺伝毒性試験の結果を表 18、表 19 に示す。

サルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*) および大腸菌 (*Escherichia coli*) を用いた復帰突然変異試験では代謝活性化の有無にかかわらず陰性の結果が報告されている (参照 7,60,61)。また培養細胞を用いた UDS 試験、SCE 試験、染色体異常試験の各試験において陰性の報告がほとんどである (参照 7)。Fujie ら (参照 62) 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、クロロ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 NTP が行ったマウス骨髄細胞を用いた *in vivo* 染色体異常試験、小核試験では陰性であった (参照 7,63)。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、ラット肝を用いた UDS 試験は陰性であった (参照 7)。クロロホルムは遺伝毒性を有しないと考えられる (参照 4)。

表 18 クロロホルム *in vitro* 遺伝毒性

試験	対象	結果		著者
		代謝活性化あり	代謝活性化なし	
復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535	—	—	Gocke et al. 1981(参照 7)
	<i>S. typhimurium</i> TA1535, TA1538	—	—	Uehleke et al. 1977(参照 7)
	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537	—	—	Simmon et al. 1977(参照 7)
	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538	—	—	Van Abbe et al. 1982(参照 7)
	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA1535, TA1537	NT	—	San Agustin & Lim-Sylianco 1978(参照 7)
	<i>S. typhimurium</i> TA100	—	—	(参照 60)
	<i>S. typhimurium</i> BA13	—	—	(参照 61)
	<i>Escherichia coli</i>	—	—	Kirkland et al. 1981(参照 7)
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	—	(+)	De Serres et al. 1981(参照 7)
正突然変異試験	L5178Y マウスリンパ腫細胞	+	—	Mitchell et al. 1988(参照 7)
8-アザグアニン耐性突然変異試験	チャイニーズハムスター肺繊維芽細胞	NT	—	Sturrock 1977(参照 7)
SCE 試験	チャイニーズハムスター卵巣細胞	NT	—	White et al. 1979(参照 7)
	ヒトリンパ腫細胞	—	+	Morimoto & Koizumi 1983(参照 7)
	ヒトリンパ腫細胞	—	—	Kirkland et al. 1981(参照 7)
UDS 試験	ヒトリンパ腫細胞	—	—	Perocco & Prodi 1981(参照 7)
染色体異常試験	ヒトリンパ腫細胞	NT	—	Kirkland et al. 1981(参照 7)
マウス宿主経由試験				
復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> TA1535	—		San Agustin & Lim-Sylianco 1978(参照 7)
	<i>S. typhimurium</i> TA1537	+(雄のみ)		

— : 陰性、+ : 陽性、(+) : 弱い陽性、NT : 未試験

表 19 クロロホルム *in vivo* 遺伝毒性

試験	対象	結果	著者
UDS 試験	ラット肝細胞	—	Mirsalis et al. 1982(参照 7)
SCE 試験	マウス骨髄細胞	—	Morimoto & Koizumi 1983(参照 7)
伴性劣性致死試験	キロシヨウゾハエ	—	Gocke et al. 1981(参照 7)
小核試験	マウス	—	(参照 63)
染色体異常試験	マウス	—	(参照 63)
	ラット(経口、腹腔)	+	(参照 62)

— : 陰性、+ : 陽性

### (3) ヒトへの影響

飲料水を通じて慢性的にクロロホルム（単独）曝露されたヒトでの毒性や発がん率に関する研究は行われていない。しかし、塩素消毒した飲料水に曝露されたヒトにおける疫学的研究（参照 64,65,66,67 など）は多い。塩素消毒した飲料水には一般的にクロロホルムや他のトリハロメタンなど多くの消毒副生成物が含まれている。ヒトでの飲料水中のクロロホルム曝露を考える場合、直接摂取による経路と飲料水から室内の空気中に放出されるクロロホルムの気体を吸入する経路が存在することに注意する必要がある（参照 5）。

塩素消毒した飲料水に曝露されたヒトにおけるいくつかの疫学研究から、塩素消毒した飲料水とがん（主に膀胱がん）の間に弱い関連があることがわかった。Cantorら（参照 64）、McGeehinら（参照 65）、KingとMarrett（参照 66）などの研究に基づき、EPAは、塩素消毒した飲料水曝露と膀胱がんに罹患するリスクの増加との間に因果関係があると仮定している。しかし、クロロホルム以外の数多くの消毒副生成物についても発がん性を有する可能性があるため、クロロホルムと膀胱がんの因果関係は不明である（参照 5）。

## 2. 国際機関等の評価

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

グループ 2B: ヒトに対して発がん性の可能性がある物質（参照 8,9）。

クロロホルムはヒトに対する発がん性の証拠は不十分であり、実験動物に対する十分な発がん性の証拠がある。

#### ・実験動物データの評価

【IARC 1999b（参照 9）】：マウス、ラット、イヌを用いたいくつかの発がん性試験が実施されている。マウスの経口投与による3試験及び吸入曝露による1試験において腎尿細管腫瘍が発生し、1つの試験において肝細胞腫瘍が発生した。Osborne-Mendelラットの経口投与による3つの試験において、腎尿細管腫瘍が発生した。腫瘍発生頻度の増大は、イヌの1試験においては全く認められなかった。

【IARC 1987（参照 8）】：クロロホルムをマウスに強制経口投与したところ、肝臓の良性腫瘍及び悪性腫瘍、腎臓腫瘍が発生した（参照 35、IARC 1979:未入手）。雌マウスへの飲水投与は、肝臓の腫瘍発生頻度を増大させなかった（参照 36）。ラットへの強制経口投与または飲水投与では、腎臓（参照 36）及び甲状腺の腫瘍、及び肝臓の腫瘍小結節（Tumasonis 1985:未入手）の発生頻度を増大させた。マウスを用いた皮下投与及び腹腔内投与試験は不適切であった。イヌの経口投与試験は陰性（参照 31）であった。クロロホルムの経口投与は、マウスにおいてN-エチル-N-ニトロソ尿素の腹腔内投与により誘導される肝臓腫瘍及び肺腫瘍の発生頻度を増加させなかった（参照 68）。しかし、N-ニトロソジエチルアミンをラットに単回投与した場合、肝臓前がん病変の発生頻度を増大（参照 38）させた。

## (2) Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA) Monographs and Evaluations

評価値なし。

## (3) WHO 飲料水水質ガイドライン 第3版

### ①第3版(参照3)

ねり歯みがきに混ぜたクロロホルムを、15 mg/kg 体重/日の用量で7.5年間(週6日)投与したビーグル犬(参照31)において認められた軽度の肝毒性(血清中肝臓関連酵素及び脂肪性嚢胞の増加)に基づき、不確実係数1,000(種差及び個体差で100、NOAELでなくLOAELを使用したこと及び亜慢性の試験結果であることの10)を適用し、週6日投与を週7日に換算して、TDIは13 µg/kg 体重/日と算出された。

[参考]

TDIの50%を飲料水に割り当て(一般集団のクロロホルム曝露は食物、飲料水、屋内空気からがほとんどであり、それらはほぼ等しい量であるということと、屋内の空気のクロロホルムのほとんどが、飲料水からの揮発によるものであるという計算に基づく)、成人の体重を60 kg、1日の飲水量を2 Lとしてガイドライン値0.2 mg/Lが設定された。

### ②第3版一次追補(参照4)

1993年以降に得られた疫学データは、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されていない(参照69)。しかし、健康に対する有害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。

クロロホルムは飲料水中に最も高濃度で存在するトリハロメタンであり、クロロホルムに関しては最も多くの科学的データが存在する。クロロホルムのヒトに対する発がん性に関する証拠は限られているものの、実験動物では発がん性を示す十分な証拠がある。このことから、ヒトに対して発がん性を示す可能性がある物質(グループ2B)に分類されてきた(参照9)。以前実施されたクロロホルムの発がん性試験(参照33,36)で認められた肝臓と腎臓の発がん反応が非遺伝毒性のメカニズムを介することを裏付ける有力なメカニズム上の証拠がある(参照10)。げっ歯類の腫瘍誘発の際に仮定されたクロロホルムの作用形態には、がん発生の不可欠な前駆段階として、(1)標的細胞集団によるクロロホルムの代謝、(2)代謝物による持続的な細胞毒性の誘発、(3)その後の持続的な再生性細胞増殖、が含まれている(参照13)。

溶媒の性質はクロロホルムの毒性と発がん性にとっての重要な要因であると考えられる。クロロホルム投与時、飲水投与よりコーン油を溶媒として投与した方が、ラット及びマウスの肝細胞毒性及び肝臓がん発生頻度上昇は顕著であった。これは、コーン油ではカロリー摂取が大きく変化することが原因と考えられる。

クロロホルムのガイドライン値の算出には TDI を用いるのが適当と考えられる。IPCS(参照 11)が最近行ったクロロホルムの評価の中では、イヌを用いた Heywood ら(参照 31)の試験がリスク評価に最も適したものとして選ばれた。IPCS(参照 11)では、以下の計算式により 0.015 mg/kg 体重/日という TDI を算出した。

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

ここで、

- ・ 12 mg/L は、PBPK モデルから求められる肝細胞嚢胞の発生率 5%に対する 95%信頼区間の下限
- ・ 25 は、不確実係数（薬物動態学の個体差に対して 10、薬物動態学の種差に 2.5 が割り当てられた）<sup>‡</sup>
- ・ 2 L は、1 日あたりに消費される飲料水の量
- ・ 64 は、成人の体重

[参考]

1 日総摂取量の 75%を飲料水に割り当て、体重 60 kg の成人が 1 日に飲料水を 2 L 飲用すると仮定すれば、この TDI からクロロホルムのガイドライン値として 300 µg/L(端数処理値)が導き出される。

曝露データは、クロロホルム曝露には、飲料水の摂取、室内大気の吸引（主として飲料水からの揮発に由来）、シャワー使用中または入浴中の吸入と経皮曝露、食物摂取の 4 領域がほぼ等しく寄与し、食物を除くほとんどすべての曝露が主として飲料水に由来することを示唆している（4.61 Ieq/日）。これは、家屋内の換気率が低く、シャワー使用及び入浴の頻度が高い国では特に重要である。これらの国では、追加の曝露を考慮して 300 µg/L というガイドライン値をたとえば半分（150 µg/L）に引き下げることができる。

300 µg/L という値は、ガイドライン値が以前の値（200 µg/L）から引き上げられることを意味する。この変更は、当初のガイドラインが策定された 1993 年当時に比べ、現在ではクロロホルムの使用（麻酔剤としての利用など）が減っているという事実を考慮して、飲料水を通じた曝露への割り当てが 50%から 75%に増えた結果である。

#### (4) 米国環境保護庁 (U. S. EPA)

##### Integrated Risk Information System (IRIS) (参照 6)

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。

---

<sup>‡</sup> PBPK モデルを用いることによって代謝後の組織用量に基づいた数字を用いることが可能になるため、ヒトと実験動物における毒物動態学上の違いに対するサブファクター4が割り当てられる。

## ①経口 RfD

### a. 従来のアプローチ

影響 (Critical Effect)	用量	不確実係数 (UF)	修正係数 (MF)	参照用量 (RfD)
中程度/重度の肝臓の脂 肪嚢胞形成及びALTの 上昇	NOAEL: なし LOAEL: 15 mg/kg 体重/日 (換算値*)	1000 (種差 10×個体差 10×LOAEL 使用 10)	1	0.01 mg/kg 体 重/日
イヌ経口慢性試験 (参照 31)	12.9 mg/kg 体重/日)			

\*換算値：週 6 日投与から週 7 日への換算

### b. ベンチマーク用量 (BMD) に基づく算出

影響 (Critical Effect)	用量	不確実係数 (UF)	修正係数 (MF)	参照用量 (RfD)
中程度/重度の肝臓の脂 肪嚢胞形成及び ALT の 上昇	BMDL <sub>10</sub> : 1.2 mg/kg 体重/日 (換算値**)	100 (種差 10×個体差 10)	1	0.01 mg/kg 体 重/日
イヌ経口慢性試験 (参照 31)	1.0 mg/kg 体重/日)			

\*\*換算値：週 6 日投与から週 7 日への換算

## ②発がん性

### ・発がん性分類

1986 年の U.S. EPA 発がん性リスク評価ガイドラインに基づき、クロロホルムは動物における発がん性の十分な証拠により、グループ 2B (ヒトに対しておそらく発がん性あり) に分類された (1988 年の評価)。

### ・経口曝露によるリスク

0.01 mg/kg 体重/日 (参照用量と同等) の用量でがんのリスクを回避できると考えられる。

- ・経口スロープファクター：非適用
- ・飲料水ユニットリスク：非適用

## (5) 我が国における水質基準の見直しの際の評価 (参照 1)

げっ歯類を用いた長期試験では発がん性は認められるが、WHO (1994) の評価によれば、これらの発がん作用は、遺伝毒性に基づくものではないように考えられている。従って、評価値の算定は閾値のある毒性の場合と同様に TDI 法に基づき算定されるべきであると考えられる。

WHO (1996) のガイドライン値は、イヌの長期間投与試験 (参照 31) の LOAEL: 15 mg/kg 体重/日に基づいて算定された。

その後、短期間ではあるが、NOAEL の求められている、マウスの経口投与試験 (参照 10 によると参照 20) が報告された。

雌 B6C3F<sub>1</sub> マウスに、クロロホルムを強制経口投与により 0,3,10,34,238,477

mg/kg 体重/日、週 5 日で 3 週間与えた結果、用量依存的変化として小葉中心性肝細胞壊死がみられ、238,477 mg/kg 体重/日では顕著に標識指数が上昇した。病理組織学的変化(細胞致死率と再生過形成)に基づき NOAEL は 10 mg/kg 体重/日と考えられる。このデータは、Heywood らの試験結果より得られた LOAEL を補強するものであると考えられる。

TDI は、LOAEL: 15 mg/kg 体重/日に週 6 日投与による週 7 日への補正を行い、不確実係数: 1000 (個体差と種間差それぞれに 10、LOAEL の使用による係数 10) を適用し、12.9 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 に対する飲料水の寄与率を 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 0.06 mg/L と算定される。

表 20 WHO 等によるクロロホルムの TDI 法によるリスク評価

根拠	LOAEL (mg/kg 体重/日)	不確実係数	TDI (µg/kg 体重/日)	
WHO/ DWGL				
第 3 版 (2004)	ビーグル犬の 7.5 年間 (週 6 日) の経口投与試験 (参照 31) において認められた軽度の肝毒性 (血清中肝臓関連酵素及び脂肪性嚢胞の増加)	15 (週 7 日換算 ;13)	1000 10(種差) × 10(個体差) × 10(LOAEL 使用及び亜慢性試験)	13
第 3 版 一次追補 (2005)	ビーグル犬の経口投与試験 (参照 31) において認められた肝細胞嚢胞の発生	発生率 5% に対する 95%信頼区間の下限 12 mg/L	25 10(薬物動態学の個体差に対し) × 2.5(薬物動態学の種差に対し)	15
EPA/IRIS (2001)	ビーグル犬の経口慢性試験 (参照 31) において認められた中程度/重度の肝臓の脂肪嚢胞形成及び ALT の上昇)	15 (週 7 日換算 ;12.9)	1000 10(種差) × 10(個体差) × 10(LOAEL 使用)	10
		BMDL <sub>10</sub> : 1.2 (週 7 日換算 ;1.0)	100 10(種差) × 10(個体差)	10
水道水	ビーグル犬の長期経口投与試験 (参照 31) において認められた軽度の肝毒性 (血清中肝臓関連酵素及び脂肪性嚢胞の増加); WHO	15 (週 7 日換算 ;12.9)	1000 10(種差) × 10(個体差) × 10(LOAEL 使用)	12.9

### 3. 曝露状況

平成 18 年度水道統計による、クロロホルムの水道の検出状況（表 21）は、原水においては、最高検出値は、水道法水質基準値（0.06 mg/L）の 100%超過で 1 箇所みられた。浄水においても、最高検出値は、100%超過で 1 箇所みられた。

表 21 水道水での検出状況（参照 70）

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
			～ 0.006 (mg/L)	～ 0.012 (mg/L)	～ 0.018 (mg/L)	～ 0.024 (mg/L)	～ 0.030 (mg/L)	～ 0.036 (mg/L)	～ 0.042 (mg/L)	～ 0.048 (mg/L)	～ 0.054 (mg/L)	～ 0.060 (mg/L)	0.061 (mg/L) ～
原水	全体	541	453	41	15	13	12	1	3	2	0	0	1
	表流水	150	146	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0
	ダム、湖沼水	38	33	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1
	地下水	181	180	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	その他	172	94	41	13	10	12	1	1	0	0	0	0
浄水	全体	5824	3700	798	606	369	171	80	59	16	22	2	1
	表流水	1033	335	236	198	132	62	31	26	5	7	0	1
	ダム、湖沼水	307	51	68	65	44	28	16	17	7	9	2	0
	地下水	3182	2673	265	130	57	31	14	6	2	4	0	0
	その他	1287	628	229	213	135	49	19	10	2	2	0	0

（平成 18 年度調査結果）

### Ⅲ. 食品健康影響評価

ヒトにおいては、飲料水を通じてクロロホルムが慢性的に単独曝露された毒性や発がんに関する研究は行われていない。動物実験においては、非発がん影響は肝臓や腎臓で認められている。発がん性については、ラットの 78 週間の強制経口投与試験及び 104 週間の飲水投与試験において腎臓がんが見られ、マウスの 78 週間及び 80 週間の強制経口投与試験において腎腫瘍と肝細胞がんが誘発された。また、この発がん試験に用いられた組織サンプルを再検査した結果、雌ラットで数種の良性及び悪性の肝臓腫瘍の発生頻度が増加し、雌雄のマウスで悪性リンパ腫の発生頻度が増加したことが報告されている。IARC では、クロロホルムをグループ 2B（ヒトに対して発がん性の可能性がある）に分類している。

遺伝毒性試験においては、復帰突然変異試験は陰性と考えられた。in vivo 試験ではラット骨髄の染色体異常試験において陽性の結果が一つ報告されているが、マウス骨髄の染色体異常試験及び小核試験、ラット肝の UDS 試験では陰性である。

以上、クロロホルムはヒトに対して発がん性の可能性がある物質と考えられた。なお、クロロホルムは発がんに関する遺伝毒性の関与はないと考えられ、TDI の算出が可能であると判断した。

発がん性に関する TDI の算出を試みたところ、マウスの 80 週間の発がん性試験で得られた腎尿細管腫瘍の発生頻度が上昇に基づき NOAEL14.6 mg/kg 体重/日（17

mg/kg 体重/日の週 6 日投与を週 7 日投与に換算) と判断できる。クロロホルムの発がん性に関する TDI は、これを根拠に種差 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、14.6 µg/kg 体重/日となる。

非発がん毒性について、最も低い用量での影響は、雌マウスの 3 週間の強制経口投与試験における病理変化（肝臓の退行性変化）であり、この試験による NOAEL は 10 mg/kg 体重/日であった。次に低い用量での影響は、イヌを用いた 7.5 年間の経口投与試験による ALT の増加及び肝臓の脂肪性嚢胞の増加であり、LOAEL は 12.9 mg/kg 体重/日（15 mg/kg 体重/日の週 6 日投与を週 7 日投与に換算）であった。これら 2 つの試験結果は、近接した値であり、前者は 3 週間の亜急性毒性試験、後者は慢性毒性試験によるものである。そこで、TDI の設定根拠としては、慢性毒性試験結果を採用することが適切であると判断し、TDI はイヌの慢性毒性試験に基づいて設定することとした（各試験の毒性学的影響を表 22 に示した）。TDI の算出はイヌの慢性毒性試験から以下の 2 つの方法を試みた。すなわち、従来の NOAEL/LOAEL を用いて求めた TDI は、LOAEL 12.9 mg/kg 体重/日を根拠に種差 10、個体差 10、LOAEL 使用 10 の不確実係数 1,000 を適用して、12.9 µg/kg 体重/日となった。一方、BMD 法を用いてベンチマークドースを求めると<sup>§</sup>、約 1.2 (1.151) mg/kg 体重/日となる。これを週 6 日投与から週 7 日投与に換算すると 1.0 mg/kg 体重/日となり、種差 10、個体差 10 の不確実係数 100 を適用して、TDI は 10 µg/kg 体重/日となった。このことから、LOAEL から得られた TDI 12.9 µg/kg 体重/日は、BMD 法から得られた TDI からみても妥当な値と考えられた。

上記の論点を踏まえ、クロロホルムの耐容一日摂取量(TDI)を 12.9 µg/kg 体重/日と設定した。

TDI	12.9 µg/kg 体重/日
(TDI 設定根拠)	慢性毒性試験
(動物種)	イヌ
(期間)	7.5 年間
(投与方法)	経口投与
(LOAEL 設定根拠所見)	ALT の増加及び肝臓の脂肪性嚢胞の増加
(LOAEL)	12.9 mg/kg 体重/日
(不確実係数)	1,000 (種差 10、個体差 10、LOAEL 使用 10)

#### <参考>

水質基準値の 100%である濃度 0.06 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、2.4 µg/kg 体重/日と考えられる。この値は、TDI 12.9 µg/kg 体重/日の約 5 分の 1 である。

<sup>§</sup> EPA BMDS version 2.0 において最もフィッティングのよかった Quantal-Linear モデルを用い、95%信頼限界、10%発現率で求めた。

表 22 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	備考
①	マウス B6C3F <sub>1</sub> 雄 5	4 日間強制 経口投与 溶媒:コーン油	小葉中心性肝細胞の軽 度の変性(34,90),小葉中 心性肝細胞壊死(138-), 用量依存的肝細胞増殖 の亢進・尿細管壊死・尿 細管 LI 値増加(34-)		34(T)	
		週 5 日 3 週 間強制経 口投与 溶媒:コーン油	小葉中心性肝細胞の重 篤な壊死(138-), 肝細胞 増殖亢進(277), 重度の 腎症(277), 尿細管再生 (34-),尿細管 LI 値増加 (138-)		34(T) (週 7 日換 算:24)	
②	マウス B6C3F <sub>1</sub> 雌 14	4 日間また は週 5 日 3 週間 強制経口 投与 溶媒:コー ン油	小葉中心性肝細胞壊死 増加・肝細胞 LI 値の有 意な増加(238-), 病理変 化(肝臓の退行性変化; 小葉中心性肝細胞好酸 性増加、軽度な小葉中心 性ないし中間帯の肝細 胞空胞変性) (34-)	病理変化; 10(A,W)	34 (週 7 日換 算:24)	著者は、 NOAEL では なく NOEL と して記載して いる。
				細胞増殖誘 発; 34(A,W)		
③	マウス B6C3F <sub>1</sub> 雌 14	4 日間また は 3 週間飲 水投与	肝臓の所見なし(病理組 織学的所見含む) 小葉中心性肝細胞の好 酸性増加(400mg/L-)	1,800mg/L =329 200 mg/L= 26 (T)	400 mg/L= 53 (T)	
④	マウス CD-1 雄雌 7~12	90 日間強 制経口投 与 溶 媒 : Emulphor 水	肝の用量依存的絶対・比 重量増加(雄 250, 雌 50-),肝ミクロソーム活性低下 (雄 250, 雌 125-), ヘキサハ ルビタール誘起麻酔時間増 加(雌 125-), 血中グルコース 値増加(250), 体液性免 疫低下(雄 250), 細胞性 免疫低下(雌 250)	雄:125(W)	雄:250(W) 雌:50(W)	
⑤	マウス BDF <sub>1</sub> 雄雌 4~5	1 日 6 時間 4 日間また は週 5 日 2 週間吸入 曝露	近位尿細管曲部の壊死, 尿細管拡張,硝子円柱の 蓄積,限局的石灰沈着の 増加,尿細管上皮細胞増 殖増加(4 日間曝露雄 30 ppm-), 肝障害・肝 LI 増 加(4 日間曝露雄 30 ppm-, 雌 90ppm), 2 週 間曝露による死亡(雄 30 ppm-)		30 ppm= 149 mg/m <sup>3</sup>	
⑥	マウス B6C3F <sub>1</sub> 雄雌 5~10	1 日 6 時間 週 7 日,4 日 ~13 週間 吸入曝露	肝細胞増殖の大幅かつ 持続的増加(雌 30 ppm-),腎臓の再生性過 形成等の病理組織学的 変化(雄 10 ppm-)	雄:2 ppm= 10 mg/m <sup>3</sup> 雌: 10 ppm(A) =50 mg/m <sup>3</sup>	雄:10 ppm= 50 mg/m <sup>3</sup> 雌: 30 ppm(A) =149 mg/m <sup>3</sup>	

				(W)		
⑦	マウス B6C3F <sub>1</sub> 雄雌 10	90日間強 制経口投 与 溶媒比較:コ ーン油また は 2% Emulphor 水	コーン油を溶媒とした場合 により顕著な肝細胞毒 性			
⑧	ラット F344 雌 5	4日間また は週5日3 週間 強制経口 投与 溶媒:コー ン油	肝臓の軽度小葉中心退 行性変化・用量依存的肝 細胞増殖亢進,尿細管上 皮細胞の再生性増殖増 加(100-),腎皮質尿細管 の変性・壊死(200-),篩骨 領域内嗅粘膜病変(34-)		34(T) (週7日換 算:24)	
⑨	ラット F344 雄 12	4日間強制 経口投与 溶媒:コーン油	腎尿細管変性・肝臓小葉 中心部の変化(34-),腎臓 の細胞増殖亢進(180),肝 臓の LI 値増加(90-)	10(T)	34(T)	
		週5日3週 間強制経 口投与 溶媒:コーン油	腎尿細管変性・肝臓小葉 中心部の変化,肝臓の LI 値増加(180)	90(T)	180(T) (週7日換 算:12)	
⑩	ラット F344 雄 12	4日間また は3週間飲 水投与	腎臓,肝臓の細胞増殖亢 進なし	1,800mg/L =106		
⑪	ラット Wistar 雄 6-10	4週間強制 経口 溶媒:オリ ーブ油	不整脈惹起作用,負の変 時作用,負の変力作用,房 室伝導時間延長		37	
⑫	ラット SD 雌雄 10	13週間強 制経口投 与練り 歯磨き混 合	肝臓・腎臓の比重量への 影響(150),脂肪変性・壊 死を伴う肝重量増加・生 殖腺萎縮・骨髄の細胞増 殖亢進(410)	30(T)	150(T)	
⑬	ラット F344 雄雌 5~9	1日6時間 週7日,4日 ~13週間 吸入曝露	尿細管上皮細胞増殖(30 ppm-),肝細胞の病変・増 殖(300 ppm),篩骨鼻甲 介の骨成長促進・固有層 細胞過形成(10 ppm-), 鼻甲介萎縮(2 ppm-)		2 ppm= 10 mg/m <sup>3</sup>	
⑭	ラット F344 雄雌 8~15	1日6時間, 週5日,4 日~13週 間吸入曝 露	肝臓の異型腺構造形成, TGF- $\alpha$ ・TGF- $\beta$ 免疫染 色による反応性増加, 著しい肝細胞壊死,再 生性細胞増殖・増殖因子 発現増加または細胆管 への取り込み増加(300 ppm)		300 ppm= 1490 mg/m <sup>3</sup>	
慢 ⑮	イヌ ビーグル	週6日7.5 年間カプセル	ALT 値増加(15-),肝臓 の脂肪性嚢胞(15-)		15(W) (週7日換 算)	

	雄雌 8 (投与群) 16 (対照群)	投与 練り歯磨 き混合			算:12.9)	
生 ⑩	マウス CD-1 雌 雄 20(投与群) 40(対照群)	繁殖試験 18週間強 制経口投 与 溶媒:コン油	2世代の受胎能・生殖に 関する影響なし(雌雄), 肝毒性が示唆される病 理組織学的変化(F <sub>1</sub> 雌 41.2-)	15.9	41(T)	
⑪	ラット Wistar 雌 22-25	妊娠7~16 日(1日7 時間)吸入 曝露	わずかな摂餌量減少・体 重の有意減少(母動物10 ppm-),軽度の発育阻害 (体重減少した母動物の 胎児)	3 ppm(A) =15 mg/m <sup>3</sup>	10 ppm =50 mg/m <sup>3</sup>	

亜：亜急性毒性試験 慢：慢性毒性試験 生：生殖・発生毒性試験  
A：著者 W：WHO T：ATSDR 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
AP、ALP	アルカリフォスファターゼ
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
BMD L <sub>10</sub>	10%の影響に対するベンチマーク用量の95%信頼下限値
C <sub>max</sub>	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 450
EPA	米 環境保護庁
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
IPCS	国際化学物質安全性計画
IRIS	統合リスク情報システム
LC <sub>50</sub>	半数致死濃度
LD <sub>50</sub>	半数致死量
LDH	乳酸脱水素酵素
LI	Labeling Index
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 <sub>1/2</sub>	消失半減期
TDI	耐容一日摂取量
T <sub>max</sub>	最高血(漿)中濃度到達時間
UDS	不定期 DNA 合成

<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 Chloroform. In: Guidelines for drinking-water quality. Second edition. Addendum to volume 2. Health criteria and other supporting information. World Health Organization, Geneva. 1998
- 3 WHO Guidelines for drinking-water quality. Third edition. Volume 1. Recommendations. World Health Organization, Geneva. 2004
- 4 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
- 5 U.S. EPA (Environmental Protection Agency) ; Toxicological review of chloroform (CAS No. 67-66-3). In support of summary information on the integrated risk information system (IRIS), October 2001, EPA/635/R-01/001. 2001a
- 6 U.S. EPA (Environmental Protection Agency) : Integrated Risk Information System (IRIS) , 0025 Chloroform; CASRN 67-66-3 (10/19/2001) 2001b
- 7 ATSDR Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological profile for chloroform. U.S. Department of Health and Human Services, Public health service September 1997
- 8 IARC. IARC Monographs for the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs 1987 Volumes 1 to 42. Supplement 7. p.152.
- 9 IARC. Some chemicals that cause tumours of the kidney or urinary bladder in rodents and some other substances. Chloroform. International Agency for Research on Cancer 1999b (IARC Monographs for the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Vol. 73).
- 10 IPCS Disinfectants and disinfectant by-products. Geneva, World Health Organization, International Programme on Chemical Safety 2000;(Environmental Health Criteria 216).
- 11 IPCS Chloroform. Geneva, World Health Organization, International Programme on Chemical Safety 2004(Concise International Chemical Assessment Document No. 58).
- 12 Pereira MA Route of administration determines whether chloroform enhances or inhibits cell proliferation in the liver of B6C3F<sub>1</sub> mice. *Fundamental and Applied Toxicology*, 1994; 23(1):87–92.
- 13 Environment Canada, Health Canada Canadian Environmental Protection Act, 1999. Priority Substances List assessment report. Chloroform. Ottawa, Ontario, Government of Canada. 2001
- 14 Delic JI, Lilly PD, MacDonald AJ, Loizou GD. The utility of PBPK in the safety assessment of chloroform and carbon tetrachloride. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2000; 32:144–155.
- 15 Fry BJ, Taylor T, Hathway DE. Pulmonary elimination of chloroform and its metabolite in man. *Archives internationales de pharmacodynamie et de therapie*, 1972; 196:98–111.
- 16 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.
- 17 Keegan TE, Simmons JE, Pegram RA. NOAEL and LOAEL determinations of acute hepatotoxicity for chloroform and bromodichloromethane delivered in an aqueous vehicle

- to F344 rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 1998; 55A(1):65–75.
- 18 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.
  - 19 Larson JL, Wolf DC, Butterworth BE. Induced cytolethality and regenerative cell proliferation in the livers and kidneys of male B6C3F1 mice given chloroform by gavage. *Fundamental and Applied Toxicology*, 1994a; 23:537–543.
  - 20 Larson JL, Wolf DC, Butterworth BE.) Induced cytolethality and cell proliferation in the hepatocarcinogenicity of chloroform in female B6C3F1 mice: Comparison of administration by gavage in corn oil vs. ad libitum in drinking water. *Fundamental and Applied Toxicology*, 1994b; 22(1):90–102.
  - 21 Munson AE, Sain LE, Sanders VM, Kauffmann BM, White KL Page DG et al. Toxicology of organic drinking water contaminants: trichloromethane, bromodichloromethane, dibromochloromethane, and tribromomethane. *Environmental Health Perspectives*, 1982; 46:117–126.
  - 22 Templin MV, Jamison KC, Sprankle CS, Wolf DC, Wong BA, Butterworth BE. Chloroform-induced cytotoxicity and regenerative cell proliferation in the kidneys and liver of BDF1 mice. *Cancer Letters*, 1996b; 108:225–231.
  - 23 Larson JL, Templin MV, Wolf DC, Jamison KC, Leininger JR, Méry Set al. A 90-day chloroform inhalation study in female and male B6C3F1 mice: implications for cancer risk assessment. *Fundamental and Applied Toxicology*, 1996; 30:118–137.
  - 24 Bull RJ, Brown JM, Meierhenry EA, Jorgenson TA, Robinson M, Stober JA. Enhancement of the hepatotoxicity of chloroform in B6C3F1 mice by corn oil: implications for chloroform carcinogenesis. *Environmental Health Perspectives*, 1986; 69:49–58.
  - 25 Larson JL, Wolf DC, Méry S, Morgan KT, Butterworth BE. Toxicity and cell proliferation in the liver, kidneys, and nasal passages of female F-344 rats induced by chloroform administered by gavage. *Food and Chemical Toxicology*, 1995b; 33:443–456.
  - 26 Larson JL, Wolf DC, Butterworth BE. Induced regenerative cell proliferation in livers and kidneys of male F-344 rats given chloroform in corn oil by gavage or ad libitum in drinking water. *Toxicology*, 1995a; 95:73–86.
  - 27 Müller SP, Wolna P, Wünscher U, Pankow D. Cardiotoxicity of chlorodibromomethane and trichloromethane in rats and isolated rat cardiac myocytes. *Archives of Toxicology*, 1997; 71(12):766–777.
  - 28 Palmer AK, Street AE, Roe FJ, Worden AN. Safety evaluation of toothpaste containing chloroform. II. Long term studies in rats. *Journal of Environmental Pathology and Toxicology*, 1979; 2:821–833.
  - 29 Templin MV, Larson JL, Butterworth BE, Jamison KC, Leininger JR, Méry S et al. A 90-day chloroform inhalation study in F-344 rats: profile of toxicity and relevance to cancer studies. *Fundamental and Applied Toxicology*, 1996c; 32:109–125.
  - 30 Jamison KC, Larson JL, Butterworth BE, Harden R, Skinner BL, Wolf DC. A non-bile duct origin for intestinal crypt-like ducts with periductular fibrosis induced in livers of F344 rats by chloroform inhalation. *Carcinogenesis*, 1996; 17:675–682.
  - 31 Heywood R, Sortwell RJ, Noel PRB, Street AE, Prentice DE, Roe FJC et al. Safety evaluation of toothpaste containing chloroform. III. Long-term study in beagle dogs. *Journal of Environmental Pathology and Toxicology*, 1979; 2(3):835–851.

- 32 Klaunig JE, Ruch RJ, Pereira MA. Carcinogenicity of chlorinated methane and ethane compounds administered in drinking water to mice. *Environmental Health Perspectives*, 1986; 69:89–95.
- 33 NCI Report on carcinogenesis bioassay of chloroform. Bethesda, MD, National Cancer Institute 1976; (NTIS PB-264-018).
- 34 Reuber MD. Carcinogenicity of chloroform. *Environmental Health Perspectives*, 1979; 31:171–182.
- 35 Roe FJ, Palmer AK, Worden AN. Safety evaluation of toothpaste containing chloroform. I. Long-term studies in mice. *Journal of Environmental Pathology and Toxicology*, 1979; 2:799–819.
- 36 Jorgenson TA, Meierhenry EF, Rushbrook CJ, Bull RJ, Robinson M. Carcinogenicity of chloroform in drinking water to male Osborne-Mendel rats and female B6C3F1 mice. *Fundamental and Applied Toxicology*, 1985; 5:760–769.
- 37 Hard GC, Boorman GA, Wolf DC. Re-evaluation of the 2-year chloroform drinking water carcinogenicity bioassay in Osborne-Mendel rats supports chronic renal tubule injury as the mode of action underlying the renal tumor response. *Toxicological Sciences*, 2000; 53(2):237–244.
- 38 Deml E, Oesterle D. Dose-dependent promoting activity of chloroform in rat liver foci bioassay. *Cancer Letters*, 1985; 29:59–63.
- 39 Larson JL, Wolf DC, Butterworth BE. Acute hepatotoxic and nephrotoxic effects of chloroform in male F-344 rats and female B6C3F1 mice. *Fundamental and Applied Toxicology*, 1993; 20:302-315.
- 40 Lipsky MM, Skinner M, O'Connell C. Effects of chloroform and bromodichloromethane on DNA synthesis in male F344 rat kidney. *Environmental Health Perspectives*, 1993; 101(Suppl. 5):249–252.
- 41 Templin MV, Jamison KC, Wolf DC, Morgan KT, Butterworth BE. Comparison of chloroform-induced toxicity in the kidneys, liver, and nasal passages of male Osborne-Mendel and F-344 rats. *Cancer Letters*, 1996a; 104:71–78.
- 42 Ames BN, Gold LS. Chemical carcinogenesis: too many rodent carcinogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1990; 87:7772–7776.
- 43 Ames BN, Gold LS. Correspondence re: E. Farber, Cell proliferation as a major risk factor for cancer: a concept of doubtful validity. *Cancer Res.*, 55: 3759–3762, 1995 [letter to editor]. *Cancer Research*, 1996; 56:4267–4269.
- 44 Cohen SM, Ellwein LB. Cell proliferation in carcinogenesis. *Science*, 1990; 249:1007–1011.
- 45 Cohen SM, Ellwein LB. Genetic errors, cell proliferation, and carcinogenesis. *Cancer Research*, 1991; 51:6493–6505.
- 46 Cohen SM, Ellwein LB. Correspondence re: E. Farber, Cell proliferation as a major risk factor for cancer: a concept of doubtful validity. *Cancer Res.*, 55: 3759–3762, 1995 [letter to editor]. *Cancer Research*, 1996; 56:4269–4270.
- 47 Preston-Martin S, Pike MC, Ross RK, Jones PA, Henderson BE. Increased cell division as a cause of human cancer. *Cancer Research*, 1990; 50:7415–7421.
- 48 Ames BN, Shigenaga MK, Gold LS. DNA lesions, inducible DNA repair, and cell division: three factors in mutagenesis and carcinogenesis. *Environmental Health Perspectives*, 1993; 101(Suppl. 5):35–44.

- 49 Tomatis L. Cell proliferation and carcinogenesis: A brief history and current view based on an IARC workshop report. *International Agency for Research on Cancer. Environmental Health Perspectives*, 1993; 101(Suppl. 5):149–152.
- 50 Cohen SM. Role of cell proliferation in regenerative and neoplastic disease. *Toxicology Letters*, 1995; 82/83:15–21.
- 51 Cunningham ML, Matthews HB. Cell proliferation as a determining factor for the carcinogenicity of chemicals: Studies with mutagenic carcinogens and mutagenic noncarcinogens. *Toxicology Letters*, 1995; 82/83:9–14.
- 52 Butterworth BE Correspondence re: E. Farber, Cell proliferation as a major risk factor for cancer: a concept of doubtful validity. *Cancer Res.*, 55: 3759–3762, 1995 [letter to editor]. *Cancer Research*, 1996; 56:4270–4272.
- 53 Farber E Correspondence re: E. Farber, Cell proliferation as a major risk factor for cancer: a concept of doubtful validity. *Cancer Res.*, 55: 3759–3762, 1995 [reply to letter to editor]. *Cancer Research*, 1996; 56:4272–4274.
- 54 Stemmermann GN, Noffsinger A, Fenoglio-Preiser CM Correspondence re: E. Farber, Cell proliferation as a major risk factor for cancer: a concept of doubtful validity. *Cancer Res.*, 55: 3759– 3762, 1995 [letter to editor]. *Cancer Research*, 1996; 56:4267–4274.
- 55 Thompson DJ, Warner SD, Robinson VB. Teratology studies of orally administered chloroform in the rat and rabbit. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1974; 29:348–357.
- 56 Burkhalter JE, Balster RL. Behavioral teratology evaluation of trichloromethane in mice. *Neurobehavioural Toxicology*, 1979; 1:199.
- 57 Ruddick JA, Villeneuve DC, Chu I. A teratological assessment of four trihalomethanes in the rat. *Journal of Environmental Science and Health*, 1983; B18(3):333–349.
- 58 Gulati DK, Hope E, Mounce RC, Russell S, Poonacha KB, Chapin RE. Chloroform: Reproduction and fertility assessment in CD-1 mice when administered by gavage (final report). Prepared by Environmental Health and Research Testing Inc. for the National Toxicology Program, US Department of Health and Human Services, Research Triangle Park, NC 1988.
- 59 Hoechst. Chloroform: Supplementary inhalation embryotoxicity study in Wistar rats (final report). Prepared by Dow Chemical Company. 1991
- 60 LeCurieux F, Gauthier L, Erb F, Marzin D. The use of SOS chromotest, the Ames fluctuation test and the newt micronucleus test to study the genotoxicity of four trihalomethanes. *Mutagenesis*, 1995; 10:333–341.
- 61 Roldán-Arjona T, Pueyo C. Mutagenic and lethal effects of halogenated methanes in the Ara test of *Salmonella typhimurium*: quantitative relationship with chemical reactivity. *Mutagenesis*, 1993; 8(2):127– 131.
- 62 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.
- 63 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.
- 64 Cantor KP, Hoover R, Hartge P, Mason TJ, Silverman DT, Levin LI. Drinking water source and risk of bladder cancer: a case–control study. In: Jolley RL et al., eds. *Water chlorination: chemistry, environmental impact and health effects*. Vol. 5. Chelsea, MI, Lewis Publishers, 1985; p.145-152.

- 65 McGeehin MA, Reif JS, Becher JC, Mangione EJ. A case-control study of bladder cancer and water disinfection in Colorado. *American Journal of Epidemiology*, 1993; 138(7):492-501 (Abstract 127).
- 66 King WD, Marrett LD Case-control study of bladder cancer and chlorination by-products in treated water. *Cancer Causes and Control*, 1996; 7(6):596-604.
- 67 Doyle TJ, Zheng W, Cerhan JR, Hong CP, Sellers TA, Kushi LH et al. The association of drinking water source and chlorination by-products with cancer incidence among postmenopausal women in Iowa: a prospective cohort study. *American Journal of Public Health*, 1997; 87(7):1168-1176.
- 68 Pereira MA, Knutsen GL, Herren-Freund SL. Effect of subsequent treatment of chloroform or phenobarbital on the incidence of liver and lung tumors, initiated by ethylnitrosourea in 15 day old mice. *Carcinogenesis*, 1985; 6:203-207.
- 69 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, 31 October 2000.
- 70 日本水道協会：水道統計 平成18年度版 2008