

クロロホルムに係る健康リスク評価について（案）

1. 物質に関する基本的事項

(1) クロロホルムの物理化学的性質

クロロホルムは、揮発性を有する無色透明の液体で、蒸気には甘味がある。常温で日光に長時間さらされたり、暗所でも空気が存在すると徐々に分解し、有毒なホスゲンを生じる。クロロホルムの主な物理化学的性質は表 1のとおりである。

表 1 クロロホルムの物理化学的性質

分子量	: 119.4
比重	: 1.484 (20/20)
融点	: - 63.5
沸点	: 61 ~ 62
蒸気圧	: 21.3 kPa (20)
溶解性	: 7.2 ~ 9.3 g/L (25)
分配係数	: log Pow = 1.97
換算係数	: 1 ppm = 4.90 mg/m ³ 、1 mg/m ³ = 0.204 ppm (25 、 1,013hPa)

(2) クロロホルムの用途・使用実態

クロロホルムは、主に化学品の製造原料として使用され、フッ素系冷媒やフッ素樹脂の原料、医薬品（消毒剤）、ゴムやロウなどの溶剤、抽出溶媒等に用いられる。また、上下水道水の塩素処理によっても発生する。「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」に基づき届け出られた製造量及び輸入量の合計値は、平成15年度53,883 tと報告されている。

(3) 代謝及び体内動態

クロロホルムは、経口、吸入、経皮のいずれのルートで投与されても急速に吸収されて体内各部に分布し、未変化体あるいは二酸化炭素として呼気から排泄される。Fryら（1972）は、8名のボランティアにカプセルに入れたクロロホルム0.5 gを経口投与したところ、投与量の約18～67%が8時間以内に未変化体のまま呼気から排出された。さらに、そのうちの男女各1名では投与量の約50%が7.5時間以内に二酸化炭素として排出された。血液中のクロロホルム濃度のピークは1.5時間後で、排泄はツーコンパートメントモデルに従い、半減期は13分と90分であった。また、¹⁴Cでラベルしたクロロホルム約5 mgをボランティアに単回吸入させたところ、約80%が吸収され、その後の1時間で体内の10%が肺から排泄されたと報告されている（Morganら 1970）。

クロロホルムは、酸素存在下ではチトクロームP450（CYP）により酸化され、反応性物質ホスゲン（O=CCl₂）を生成する。また、ホスゲンと水の反応からはCO₂とHClが生成する。ホスゲンは一級・二級アミン、水酸基、チオールなどの求核基と反応する。また、肝臓の還元型グルタチオンと反応し、肝グルタチオン量を減少させる。ホスゲンは、酵素、蛋白、リン脂質の極性部分のような細胞内巨大分子の求核基（-SH、-OH、-NH₂）とも反応し、細胞機能の低下や細胞死を引き起こす。一方、クロ

クロロホルムは、無酸素下ではCYPによる還元的脱塩素化をうけて、dichloromethyl free radicalとなり、ミクロソーム酵素やリン脂質の脂肪酸部分に付加し、ミクロソーム酵素の活性低下や質過酸化を引き起こす。殆ど全ての組織にクロロホルム代謝活性はあるが、肝臓、腎臓、鼻腔上皮で代謝能が高い(米国環境保護庁; USEPA、2001b)。図1にクロロホルムの代謝経路図を示す。

クロロホルムの蓄積性については殆ど資料がないが、代謝・排泄が非常に早いことや検死体組織中で検出されるクロロホルムが低レベルであることから、クロロホルムには著明な蓄積性・残留性はないと言える(USEPA 2001b)。

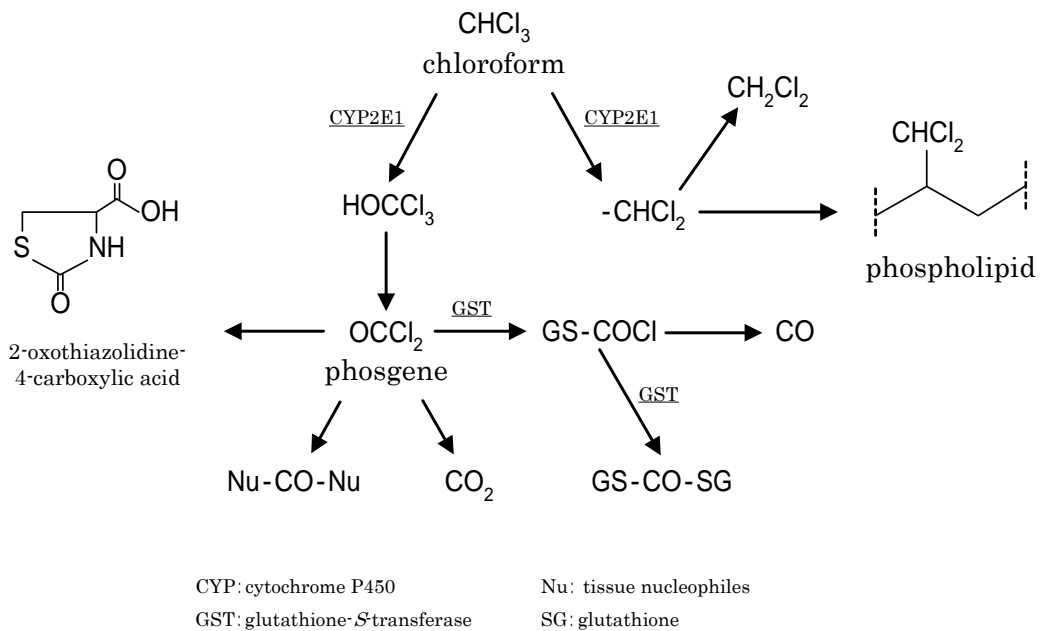


図1 クロロホルムの代謝経路 (WHO (2004) 一部改変)

クロロホルムの毒性発現にはCYP2E1による代謝が重要な役割を果たす。Constanら(1999)が、クロロホルム曝露による細胞毒性発現における代謝酵素CYP、特にCYP 2E1の寄与を調べている。彼らは雄のB6C3F₁マウス、SV/129野生型(CYP2E1+/+)マウス、SV/129 CYP2E1 ノックアウト型(CYP2E1-/-)マウスを用いて、90 ppmのクロロホルムに1日6時間で連続4日間の吸入曝露実験を行った。CYP2E1-null(-/-)マウスを除いて、曝露前に非可逆的CYP阻害剤(1-aminobenzotriazole: ABT)を投与し、その影響を調べたところ、ABT投与を受けていないB6C3F₁及びSV/129野生型マウスでは、広範な肝臓及び腎臓の壊死と再生性細胞増殖が見られたが、ABTの投与は、肝臓、腎臓、鼻腔におけるクロロホルムの毒性発現を完全に抑制した。CYP2E1-null(-/-)マウスでは、病理学的変化及び再生性細胞増殖はなかった。これらの結果から、クロロホルムの吸入によって生じる肝臓、腎臓、鼻腔における毒性には、代謝過程が不可欠であり、CYP2E1が第一の関連酵素と考えられるとしている。

ヒト肝ミクロソームを用いた実験で、酸化反応はCYP2A6とCYP2E1が、還元反応はCYP2E1が主要

な代謝酵素であると報告されているが、CYP2A6は実際の組織中ではあり得ない高濃度のときに活性を示し、また、還元反応もクロロホルム濃度が高く（1 mM）、低酸素の状態でおきる（Gemma ら 2003）。すなわち、クロロホルムはCYPにより酸化と還元の両方の代謝を受けるが、低濃度曝露の時には酸化反応（CYP2E1）が主であり、還元反応は生理学的条件化では起こらないか、起こっても僅かである。酸化反応では、組織との反応性が高い代謝物（特にホスゲン）を産生し、組織障害や細胞死を引き起こす。親電子代謝物のホスゲンが、リン脂質、グルタチオン、遊離のシステイン・ヒスチジン・メチオニン・チロシン以外にも、組織蛋白や細胞内巨大分子と反応することにより、細胞毒性を引き起こす。

ヒトにおける毒性発現機序は、マウスと同様に、CYP2E1によるホスゲン産生とそれに引き続く細胞内分子との反応による細胞機能の低下及び細胞死によるものと考えられる。Ametら（1997）によると、CYP2E1はヒトの肝臓には発現しているが、ヒトの腎臓には発現していないと報告している。さらにCYP2E1 mRNAの発現も、ヒト組織では肝臓で最も高く、腎臓では相対的に低く（Nishimuraら 2003）、鼻腔での発現は明らかではない（Ding and Kaminsky 2003）。

（４）種差・個体差について

クロロホルムの代謝能には、種差・系統差が認められる。クロロホルムの種差・個体差に関する主要な知見を表 2にまとめた。Taylorら（1974）などによると、全身の代謝率は、マウス>ラット>リスの順とされている（Taylorら 1974；Minkら 1986；Brownら 1974a）。また、ミクロソームにおけるクロロホルム代謝率の種間比較では、肝臓では、ハムスター>マウス>ラット>ヒトの順に、肝臓より活性が低い腎臓では、マウス>ハムスター>ラット>ヒトの順に代謝率が減少し、ヒト腎ミクロソームでは代謝活性が認められなかったと報告されている（Corleyら 1990）。さらにマウスでも、DBA/2JマウスとC57BL/6Jマウスで腎ホモジネートにおける代謝速度に2倍の差があったと報告されている（Pohlら 1984）。ヒトのクロロホルム代謝能は低く、ヒトの個体差を考慮してもマウスやラットには及ばないと計算されている（Delicら 2000）。また、ヒトの個体差については、5名のヒト肝ミクロソームにおける¹⁴C]クロロホルムからホスゲン付加リン脂質産生能が、0.46～3.63（平均1.19）¹⁴C/mg phospholipid と約8倍の相違がある（Gemma ら 2003）とされているが、それ以外には殆どデータはない（WHO 2004）。

以上をまとめると、前述のとおりクロロホルム毒性発現には代謝産物の生成が必要である一方、ミクロソームにおけるクロロホルム代謝率は、肝臓、腎臓ともにマウス>ラット>ヒトの順で、肝臓の方が腎臓より活性が高く、ヒト腎ミクロソームでは代謝活性が認められない。したがって、ヒトにおける感受性はマウス、ラットより低いと考えられる。

表 2 種差・個体差に関する知見

<p>Brownら (1974a) は、リスザル、SDラット、C57BL、CF/LP及びCBAマウスを用いたクロロホルムの代謝についての比較実験から、リスザルでは18%、ラットでは66%、マウスでは80%がCO₂として排出されたと報告している。</p>
<p>Taylorら (1974) は、クロロホルムを経口投与した後に、体内各組織への分布について、3系統のマウス (CF/LP、CBA、C57) を用いて全身オートラジオグラフィにより調べたところ、雄マウスでは肝臓と腎臓 (皮質) での分布が高かったのに対して、雌マウスでは、腎臓よりも肝臓、腸、膀胱に高い濃度での分布が認められたと報告している。</p>
<p>Clemensら (1979) は、雄DBA/2Jマウスと雄C57BL/6Jマウスの感受性比較で、腎ミクロソーム蛋白とクロロホルムとの共有結合がC57BL/6JマウスよりもDBA/2Jマウスで多く認められたと報告しており、この結果は、DBAマウスがクロロホルムによる腎毒性に高感受性であることと一致している。</p>
<p>Smith & Hook (1983 ; 1984) による代謝に関する腎臓皮質スライスを用いた雌雄比較実験では、ICRマウスにおける雄の高感受性に対応する結果が得られている。</p>
<p>Pohlら (1984) の報告によると、雄DBA/2Jマウスの腎ホモジネートのクロロホルム代謝速度は雄C57BL/6Jマウスの2倍であった。</p>
<p>Minkら (1986) は、ラベルしたクロロホルムを雄B6C3F₁マウス (150 mg/kg) 及び雄SDラット (100 mg/kg) の胃に注入し、その後8時間の呼気中への排出を調べている。その結果、マウスでは、40 ~ 81%がCO₂として、また、5 ~ 26%が代謝されずにそのままの形で排出されたのに対して、ラットでは4 ~ 18%がCO₂として、41 ~ 67%がそのままの形で排出され、クロロホルムの代謝率はラットよりもマウスで高いことが示されたと報告している。</p>
<p>Corleyら (1990) は、ミクロソームにおけるクロロホルム代謝率の種間比較を行ったところ、肝臓ではハムスター > マウス (B6C3F₁) > ラット (Osborn-Mendel) > ヒトの順に、肝臓より活性が低い腎臓ではマウス > ハムスター > ラット > ヒトの順に代謝率が減少し、ヒト腎ミクロソームでは代謝活性が認められなかったとしている。また、肝臓と腎臓の蛋白質に対するクロロホルム代謝物の共有結合性付加について、マウスとラットを比較したところ、マウスで付加体が多かったとしている。</p>
<p>Delicら (2000) は、PBPK モデル (生理学的速度論モデル) を用いてヒトにおけるクロロホルムの代謝がマウスと比較して、かなり低いと報告している。B6C3F₁ マウスに NOAEL である 10ppm (Larson et al. 1996) を 曝露したときの、肝における予測平均最高代謝速度は 391 nmol/h/g であり、ヒトにおいてそれと同じ代謝速度を得るには 130 ppm (13 倍) の曝露が必要であると推定している。さらに、ヒトの代謝能には個人差があるが、最も代謝速度が速いと考えられるヒトでも、マウス・ラットに明らかな毒性を引き起こすレベルの代謝物を産生する能力はないとしている。</p>

2. 有害性評価

2-1 発がん性及び遺伝子障害性(変異原性)

(1) 定性評価

a. 発がん性

<発がんに関する疫学研究>

クロロホルムのヒトへの発がん性に関する主要な疫学研究を表3にまとめた。

これらの研究の殆どは、飲用水の塩素処理に伴って発生するクロロホルムとヒトへの発がん性の関係を調べたものである。幾つかの研究では、塩素処理水の曝露(飲用)と膀胱がんの発生との間に弱い因果関係を認めていたが、塩素処理に伴って発生する物質はクロロホルムのみならず、他の副産物を含んでおり、クロロホルムのみが発がん性の証拠としては不十分である(USEPA 2001b)。また、WHO(2004)においても、クロロホルムを含む塩素処理水の長期間摂取と膀胱がんの増加に関し、多く報告がなされているが、結論としてはクロロホルム以外の副産物を考慮する必要があるため、クロロホルムのみが発がん性についての説明は不可能であるとまとめている。職業曝露による発がん性の研究では、Siemiatycki(1991)及びHeinemanら(1994)の2つの研究結果が報告されているが、後者については脳腫瘍との間に関係は認められず、前者については、IARC(1999)により、信頼性に足る知見ではないと評価されている。

以上のことから、ヒトへの発がん性に関する疫学研究については、IARC(1999)の結論と同様に、不十分な証拠しか存在しないと判断される。

表3 ヒトの疫学に関する概要

<p>Alavanjaら(1980)は、米国のニューヨーク州で1968~1970年にかけて移民が少なく、過去15年間に飲料水の供給源が変らなかった7地域を選び、消化管がんと尿路がんが死亡した3,446名(男性1,851名、女性1,595名)を患者群、これとマッチングした3,444名を対照群として症例対照研究を行った。この7地域を飲料水の供給源によって3区分(塩素処理を行った地下水、塩素処理を行った表層水、塩素処理を行っていない地下水)に分類した。患者群あるいは対照群の常住地によって曝露状態を把握した。男性・女性ともに曝露オッズ比が1より大きかったのは食道がん、胃がん、大腸がん、直腸がん及び肝臓がんであり、腎臓がん、膵臓がん及び膀胱がんについては、男性のみで曝露オッズ比が1より大きかった。また、男性では、肺がんのオッズ比は1.8($p < 0.005$)で、都市部に限ると3.2($p < 0.005$)であった(ただし、この研究では、交絡因子の調整が不明であり、クロロホルム濃度は不明)。</p>
<p>Brennimanら(1980)は、米国のイリノイ州で1973~1976年に胃腸及び尿路がんが死亡した3,208名(患者群)とがん以外の原因で死亡した43,666名(対照群)について症例対照研究を行った。また、居住地が塩素処理を行った地下水を供給している地域か、塩素処理を行っていない地下水を供給している地域かによって対照群を2群に分けた。性、年齢、都市部と地方、大都市とそれ以外で調整してオッズ比を計算した。塩素処理を行った地下水(クロロホルム濃度は不明)でオッズ比の増加(オッズ比; 1.2, $p < 0.05$)が認められたのは、女性の結腸・直腸がんと全消化管がんであった。また、胃腸がんと尿路がんが多かったのは大都市に居住していた女性(オッズ比; 1.3, $p < 0.025$)と都市部に居住していた女性(オッズ比; 1.2, $p < 0.05$)であった。</p>
<p>Gottliebら(1981)、GottliebとCarr(1982)、Gottliebら(1982)は、1960~1975年にかけて米</p>

国の南ルイジアナ州で症例対照研究を行った。がん死亡者の各々に対し、性、年齢、人種、死亡年でマッチングした対照を各々選んだ。死亡時の居住地が塩素処理を行った飲料水を用いていることを曝露の指標とした。塩素濃度（クロロホルム濃度ではない）が1.09 ppmより高い場合、直腸がんではオッズ比が1.7（95%CI；1.2～2.4）、塩素濃度が1.09 ppmより低い場合は1.3（95%CI；0.9～1.8）となり、塩素濃度とがん死亡の間に量 - 反応関係が認められた。結腸がん、膀胱がんについてはリスクは認められなかった。また、飲料水が塩素処理か非塩素処理かでオッズ比を計算すると、直腸がん（オッズ比；1.8、95%CI；1.3～2.6、 $p < 0.01$ ）、肺がん（オッズ比；1.4、95%CI；1.0～1.8、 $p < 0.05$ ）、乳がん（オッズ比；1.5、95%CI；1.2～2.0、 $p < 0.01$ ）で過剰がん死亡が認められた。なお、胃腸又は尿路のがんについては過剰リスクは認められなかった。

WilkinsとComstock（1981）は、Washington Countyに25年以上居住する14,553名の男性と16,227名の女性を追跡調査した。1963～75年におけるがんの発生率と死亡率を2つのサブコホートにおいて検討した。1群は塩素処理を行った表層水（平均クロロホルム濃度：107 $\mu\text{g/L}$ ）の使用者で、他の1群は塩素処理を行わない深層地下水の使用者である。年齢、婚姻、教育、喫煙、教会出席、住居環境、1部屋あたりの居住人口を調整してリスクを計算した。男女ともに、肝臓がん、腎臓がん、膀胱がんの発生率は表層水と地下水使用群の間に差はなかった。塩素処理を行った表層水を使用している群に有意に多かったのは、乳がんの死亡率であった（相対リスク（ rr ）= 2.3、95%信頼区間（95%CI；1.2～4.9））。有意ではないが大きな相対リスクを示したのは、肝臓がんの死亡率（男女合わせて）であった（ $rr = 3.0$ 、95%CI；0.9～15）。

Youngら（1981）、Kanarek & Young（1982）は、米国のウィスコンシン州で、1972～1977年にかけて、がん死亡前に15～20年間一定の地域に居住していた8,029名の白人女性について、症例対照研究を行った。対象となった地域は、過去20年間の移民による人口増加率が10%以下で、塩素処理を行った飲料水と塩素処理を行っていない飲料水の両方が供給されていた28地域である。飲料水の塩素処理を曝露ありとして曝露オッズ比を計算した（クロロホルム濃度は不明）。有意に高い（ $p < 0.05$ ）オッズ比を示したがんの部位は、結腸（オッズ比；1.5、 $p < 0.02$ ）と脳（オッズ比；4.7、 $p < 0.03$ ）であった。

Cantorら（1987）は、米国の10地域で、21～84歳の間に膀胱がんと診断された（1977～1978年に病理組織学的に確診）2,805名（男性2,116名、女性689名）を患者群、性、年齢、居住地でマッチングした5,258名を対照群として症例対照研究を行った。各対象者に家庭でインタビューを行い、インタビュー前1年間の典型的な1週間の水道水の使用について回答を得た。また、各対象者の居住歴と飲料水の水源を確認した。さらに1,102の給水施設について、期間毎に給水の塩素処理 / 非処理を確認した。対照者の居住歴と1年毎の給水源を照らし合わせて曝露量を求めた。ロジスティック回帰分析を用いて、性、年齢、喫煙、職業、居住地域、居住地域の人口で調整したオッズ比を計算した。塩素処理を行った表層水が供給された地域での居住期間が統計学的に有意（ $p = 0.02$ ）となったのは、水道水の使用量が中央値より多い女性、水道水の使用量が中央値より少ない非喫煙の女性、水道水の使用量が中央値より多い非喫煙の男性であった（飲料水中のクロロホルム濃度は不明。）。

Lawrenceら（1984）は、1962～78年に米国のニューヨーク州の白人女性教師に発生した395名の結腸・直腸がん（結腸319名、直腸76名）を患者群とし、他のがんで死亡し、年齢と死亡時期でマッチングした395名を対照群として症例対照研究を行った。塩素処理を行った表層水を飲用している人（患者群）とトリハロメタンを殆ど含まない地下水を使用している人（対照群）とを比較したオッズ比は1.1（90%CI；0.79～1.4）であった。水源の種類、居住地の人口密度、婚姻状況で調整してもオッズ比は変らなかった。

Youngら (1987) は、塩素処理水が結腸がんの過剰リスクであるという調査の結果 (Kanarek and Young 1982) に基づいて、347名の結腸がん患者を患者群、消化器がんと尿路がんを除いた639名のがん患者と611名の一般人を対照群として症例対照研究を行った。患者群は、35歳から90歳の間に結腸がんと診断された白人の男性と女性である。自己記入式の質問紙を用いて、過去の水源、飲料水の飲用習慣と入浴習慣、家庭での水道水の処理、医療、職業歴、社会活動、生活習慣を尋ねた (回収率 ; 65%)。また、各対象者のトリハロメタン曝露をウィスコンシン州の給水方式、給水場の記録、居住歴、飲料水の使用方法などから推定した。平均トリハロメタン濃度が10~40 µg/Lあるいは40 µg/Lを超えた場合でも、10 µg/L以下に比べ、結腸がんの過剰リスクは認められなかった。トリハロメタンの生涯曝露に基づいて計算を行った場合でも、トリハロメタンによる過剰リスクは認められなかった。

Zierlerら (1988) は、1978~84年に米国のマサチューセッツ州に住み、塩素又はクロラミン処理をされた飲料水を使用していた人で、45歳以上で膀胱がんが死亡した614名について調査を行った。クロラミン処理によるトリハロメタン濃度は、塩素処理に比べて極端に低いが (Lykins and Koffskey 1986)、マサチューセッツ州では1938年から飲料水のクロラミン処理も行われていた。心血管疾患、脳血管疾患、慢性閉塞性呼吸器疾患、リンパ系腫瘍で死亡した人の中から1,074名を選んで対照群とした。居住地が塩素処理を行った飲料水の供給を受けていた地域とクロラミン処理の飲料水の供給を受けていた地域とで死亡オッズを計算した。各対照者の喫煙歴も考慮に入れた。ただし、患者群と対照群のほぼ半数は、情報提供者が得られないため対象から除外した。全体での塩素処理のクロラミン処理に対する膀胱がんのオッズ比は1.3 (95%CI ; 1.1~1.7) であった。性、年齢、喫煙量 (cigarette pack-year)、居住地の人口の少なくとも3%が職業性の膀胱がんと関係のある職場で働いているか否かで調整し、計算したオッズ比は、生涯曝露で1.6 (95%CI ; 1.2~2.1)、通常曝露で1.4 (95%CI ; 1.1~1.8) であった (飲料水中のクロロホルム濃度は不明。また、調査対象の約半数が脱落したことから、選択バイアスが結果に影響している可能性が大きい。)。

Siemiatycki (1991) は、カナダのモントリオール州でクロロホルムの職業曝露とがん発生に関する症例対照研究を行った。患者群は、1979~1985年の間に病理組織学的にがんと診断された35~70歳の男性3,730名とした。患者群と年齢でマッチングして選んだ対照群533名にインタビューをして、それぞれ82%と72%の回答を得た。患者群のがんの部位は、食道99名、胃251名、結腸497名、直腸257名、膵臓116名、肺857名、前立腺449名、膀胱484名、腎臓177名、皮膚メラノーマ103名、非ホジキンリンパ腫215名であった。それぞれのがんの部位について、対照群と他の部位のがん患者からなる2群の対照群が設定された。インタビューは生涯の職歴と他の交絡因子について行われ、クロロホルムを含む293物質からなるチェックリストを用いて職歴を曝露歴に変換した。約0.7%の調査対象者がクロロホルムに曝露していた。クロロホルムに曝露していた主な職業は看護補助者、病院用務員、歯科技工士、検査技師であった。調査対象となったがんに関して過剰リスクは認められなかったが、前立腺がん患者の6名に曝露歴があるとされ、そのオッズ比は4.0 (90%CI ; 1.4~12) であった。また、フランス系カナダ人の肺がん患者6名が曝露ありと判定され、オッズ比が8.8 (90%CI ; 1.2~65) であった (ただし、曝露の推定が不十分であるため、統計学的に有意とされたこれらのオッズ比が、生物学的に有意である可能性は低い。)。

Morrisら (1992) は、10の疫学研究のメタアナリシスを行い、塩素消毒の副産物による膀胱がん及び直腸がん相対リスクを、それぞれ1.15 (95%CI ; 1.09 - 1.34)、1.38 (1.01 - 1.87)と計算している。

McGeehinら (1993) は、米国のコロラド州で1990~1991年に発生した327名の組織学的に確診された膀胱がん患者 (21~84歳、白人) を患者群、261名の膀胱がん以外のがん患者を対照群とした症例対照研究を行った。対象者に対して、居住地と飲料水の供給源について電話インタビューを行い、患

者群の78%、対照群の75%から回答が得られた。塩素処理を行った飲料水を34年以上使用している人のそれ以外に対するオッズ比は、非喫煙者で2.9 (95%CI ; 1.2 ~ 7.4)、喫煙者で2.1 (95%CI ; 1.1 ~ 3.8)であった。性、コーヒー摂取量、喫煙量、給水栓水使用量、近親者の膀胱がんの病歴、膀胱炎と腎結石の病歴を調整すると、30年を超える塩素処理水使用の曝露オッズ比は1.8 (95%CI ; 1.1 ~ 2.9)となった。トリハロメタンの平均生涯曝露濃度を給水施設のデータから算出すると、患者群の曝露濃度は620 µg/L、対照群は420 µg/Lであった ($p < 0.001$) (クロロホルム濃度は不明。)。

Heinemanら (1994) は、米国のルイジアナ州、ニュージャージー州、フィラデルフィア州において、塩素系脂肪族炭化水素の職業曝露と星状細胞腫瘍 (astrocytic brain cancer) に関する症例対照研究を行った。1978~81年に組織学的に確認された脳腫瘍で死亡した300名を患者群とし、年齢と死亡地域のマッチングを行った320名の死亡者を対照群とした。近親者から職歴に関する情報を得て、職種と職歴によってクロロホルムを含む7種類の塩素系炭化水素に対する曝露強度を推定した。ロジスティック回帰分析を用い、性、年齢、地域、電子部品の製造作業に従事したか否かで調整してオッズ比を計算したところ、曝露期間、累積曝露スコア、曝露強度のいずれもクロロホルムと脳腫瘍の関係を示唆する結果は得られなかった。

Doyleら (1997) は、米国のIowa Women's Health Studyにおいて、1986~1993年までの8年間、55~69歳の女性41,836名を追跡調査した。1989年に飲料水源を郵便で調査し、28,237名を対象に曝露とがんの関係を解析した。市水を10年以上飲用している人について、市水のクロロホルム濃度を検出限界以下 (対照群)、1~2、3~13、14~287 µg/Lの4段階に分類した。年齢、教育、喫煙、身体活動、果物と野菜の摂取量、エネルギー摂取量、BMI、ウエスト/ヒップ比 (W:H ratio) で調整し、クロロホルム濃度とがんの発生率の関係を評価したところ、クロロホルム濃度が最も高い群の発生率が対照群に比べて多いがんは結腸がん ($rr = 1.7, 95\%CI ; 1.1 \sim 2.5, p < 0.01$)、肺がん ($rr = 1.6, 95\%CI ; 0.97 \sim 2.6, p = 0.025$)、メラノーマ ($rr = 3.4, 95\%CI ; 1.3 \sim 8.6, p = 0.049$)、全がん ($rr = 1.3, 95\%CI ; 1.1 \sim 1.5, p < 0.01$) であった。

Poole (1997) は、Morrisら (1992) に3研究を加えて再検討し、それぞれの研究には、相当の不均等が存在するので、1つのまとめた評価を実施すべきではなく、リスクアセスメントへの利用も制限されるべきであると述べている。

Cantorら (1998) は、米国のアイオワ州の住民で40~85歳の膀胱がん患者に関する症例対照研究を行った。患者群は1986~89年のがん登録から得られた1,123名の膀胱がん患者で、対照群は1,983名とした。調査対象者に質問紙を送って電話インタビューを行ったが、患者群の10%は代理人とのインタビューであった。生年・家族構成などに関する事項、喫煙歴、職業歴、生活習慣、病歴、家の内外での水道水の飲用、生涯の居住歴とそれぞれの居住地での飲料水の水源を確認した。1,000名以上の給水人口を持つ280箇所の給水施設を調査して過去の情報を収集するとともに、各施設からサンプリングを行った水のトリハロメタン濃度を分析した。これらの情報に基づいて、各対象者についてトリハロメタンの生涯摂取量と生涯平均トリハロメタン曝露濃度を推定した。ロジスティック回帰分析を用いて、年齢、教育程度、喫煙、膀胱がんのリスクの大きい職業に就いたか等を調整して曝露オッズ比を計算した。男性においてのみ、曝露量が増え、曝露濃度が高くなるにつれて膀胱がんリスクが大きくなるという結果が得られた。トリハロメタン総量が2.4 gを超えると、男性の曝露オッズ比は1.8 (95%CI ; 1.2 ~ 2.7, $p = 0.05$) となり、生涯平均曝露濃度が46 µg/Lを超えた場合のオッズ比は1.5 (95%CI ; 1.0 ~ 2.4, $p = 0.02$) となった。女性の対応オッズ比は、それぞれ0.6 (95%CI ; 0.3 ~ 1.4, $p = 0.54$) と0.6 (95%CI ; 0.3 ~ 1.3, $p = 0.33$) であった。

Hildesheimら（1998）は、米国のアイオワ州の40～85歳の住民に関する結腸・直腸がんの症例対照研究を行った。患者群は1986～87年にState Health Registryに登録され、病理組織学的に確認された1,340名の男女の結腸・直腸がん（結腸685名、直腸655名）の患者とした。対照群は1,983名のアイオワ州の住民で、Cantorら（1998）の報告と同じである。対象者に質問紙を送り、電話インタビューを行った。患者群の15%は代理人とのインタビューであった。飲料水サンプル及びインタビューの結果から560名の結腸がん患者及び537名の直腸がん患者と1,983名の対照群のトリハロメタン生涯総曝露量（g）と生涯平均曝露濃度（ $\mu\text{g/L}$ ）を推定した。ロジスティック回帰分析を用いて解析し、性、年齢、研究期間、教育年数、高リスクの職業、喫煙量で調整し、オッズ比を計算した。直腸がんについて、生涯総曝露量 ≥ 2.4 gの曝露オッズ比は1.6（95%CI；1.0～2.6、 $p = 0.08$ ）であり、生涯平均曝露濃度 ≥ 46 $\mu\text{g/L}$ の曝露オッズ比は1.7（95%CI；1.1～2.6、 $p = 0.01$ ）であった。

USEPA（1998a；1998b）は、5つの疫学調査から塩素処理水の膀胱がんへの寄与危険度は2%～17%と計算している。一方で、クロロホルム曝露とがんリスクの増加との因果関係については、現在のデータでは不十分であるとしている。また、仮に塩素処理水と膀胱がんの増加との間に因果関係が証明されたとしても、塩素処理水はクロロホルム以外の複数の副産物を含んでいることから、クロロホルムがヒトに対する発がん性を有しているか否かの結論を導き出すことは無理であるとしている。

< 発がんに関する動物実験 >

クロロホルムの動物発がん実験に関する主要な知見を表 4にまとめた。

IARC（1999）は、マウスにおける経口投与（NCI（米国国立がん研究所）1976；Roeら1979）と吸入曝露（Naganoら1998、のちにYamamotoら（2002）として発表）の実験で尿細管腫瘍あるいは肝細胞腫瘍の発生が増加し、ラットにおける経口投与（NCI1976；Jorgensonら1985）実験においても、尿細管腫瘍の発生が増加したことから、実験動物においては発がん性の十分な証拠があるとされている。なお、イヌでは腫瘍の増加は認められていない。

USEPA（2001a）は、高濃度のクロロホルムは、雌雄マウスの肝腫瘍の発生及び雄マウス・雄ラットの腎腫瘍の発生を増加させ、動物における発がん性には十分な証拠があるとされている。

しかしながら、クロロホルムの発がん性について以下のように投与方法により異なった結果が報告されている。コーン油に混ぜての強制経口投与および吸入曝露により雌雄マウスに肝腫瘍を生じたが、飲水への混入投与、練り歯磨き粉による投与ではマウス肝への発がん性は認めなかった。腎腫瘍については、雄マウスへの吸入曝露路と練り歯磨き粉による投与で生じたが、コーン油に混ぜての強制経口投与では生じなかった。ラットを用いた実験でも、コーン油に混ぜての強制経口投与および吸入曝露のいずれも肝腫瘍を生じなかった。飲水への混入投与でも明快な結果は得られなかった。コーン油に混ぜての強制経口投与および飲水への混入投与のいずれも雄ラットに腎腫瘍を発生させたが、吸入曝露と歯磨き粉による投与では、腎腫瘍は生じなかった。

クロロホルムによる細胞障害に引き続く再生性増殖については、LI（注1）を指標として調べられており、腫瘍発生と関係が深いことが報告されている。

（注1）ラベリングインデックス（LI）は、bromodeoxyuridine（BrdU）の取り込みを免疫組織学的方法で調べることで、DNA合成期にある細胞の比率を求めるもので、細胞増殖の指標となる。

表 4 動物実験に関する概要

経口投与実験

<p>NCI (1976) は、クロロホルムをコーン油に混ぜて、Osborne-Mendelラット (50匹/群) の雄に0、90、180 mg/kg/日、雌に0、100、200 mg/kg/日 (22週まで0、125、250 mg/kg/日、以後は0、90、180 mg/kg/日) を78週間 (5日/週) 強制経口投与したところ、雄の90 mg/kg/日以上で腎上皮腫瘍の発生率に有意な増加を認めた。また、雌で甲状腺腫瘍の発生率に増加が見られたが、生物学的に有意ではなかった。肝腫瘍の発生は認めなかった。</p> <p>また、同様にB6C3F₁マウス (50匹/群) の雄に0、138、277 mg/kg/日 (18週まで0、100、200 mg/kg/日、以後は0、150、250 mg/kg/日)、雌に0、238、477 mg/kg/日 (18週まで0、200、400 mg/kg/日、以後は0、300、500 mg/kg/日) を78週間 (5日/週) 強制経口投与したところ、投与群の雄の98%、雌の95%、低投与群の雄の36%、雌の80%に肝細胞がんがみられ、対照群での発生は雄6%、メス0~1%とわずかであった。しかし、腎腫瘍の発生は認めなかった。</p>
<p>Heywoodら (1979) は、雌雄ビーグル犬 (8匹/群) に練り歯磨きを溶媒として0、15、30 mg/kg/日を7.5年間 (6日/週) 強制経口投与したが、腫瘍の発生増加は見られなかった。</p>
<p>Palmerら (1979) は、雌雄のSDラット (50匹/群) に練り歯磨きを溶媒として0、60 mg/kg/日を80週間 (6日/週) 強制経口投与したが、腫瘍の発生に増加は見られなかった。</p>
<p>Roeら (1979) は、雌雄のICIマウスに練り歯磨きを溶媒に用いて0、17、60 mg/kg/日を80週間強制経口投与 (6日/週) したところ、雄の60 mg/kg/日群で腎腫瘍の発生増加を認めた。また、同様に雄のICIマウスに60 mg/kg/日を投与した追試でも、腎腫瘍の増加が確認された。さらに、60 mg/kg/日を投与して雄マウスの系統差 (ICI、C57BL、CBA、CF/1) を見た実験 (ICIマウスでは溶媒として落花生油も用いた) では、60 mg/kg/日群の雄ICIマウスでのみ腎腫瘍の増加が認められ、落花生油を溶媒とした群で最大の腫瘍発生率となった (表 5)。</p>
<p>Jorgensonら (1985) は、雄のOsborne-Mendelラット (50~330匹/群)、雌のB6C3F₁マウス (50~430匹/群) に0、200、400、900、1,800 mg/Lの濃度 (ラットで0、19、38、81、160 mg/kg/日、マウスで0、34、65、130、263 mg/kg/日相当) で104週間飲水投与したところ、900 mg/L以上の群のラットで実験初期に25%の死亡が見られたが、その後の生存率に有意差はなかった。また、ラットの1,800 mg/L群で腎尿管腺腫及び腺がんの発生率に有意な増加を認めたが、マウスでは肝腫瘍、腎腫瘍の発生増加は見られなかった。この結果はNCI (1976) の結果と異なるが、著者はこの原因として投与方法の違い (一日一度の強制経口投与に対し、自由に少しずつ摂取できる飲水投与) をあげている。</p>
<p>Klaunigら (1986) は、雄のB6C3F₁マウス (35匹/群) に0、600、1,800 mg/Lの濃度で52週間飲水投与したところ、いずれの群でも肝臓及び肺で腫瘍の発生増加は見られなかった。</p>
<p>Tumasonisら (1987) は、雌雄のWistarラット (22~58匹/群) に0、2.9 g/Lの濃度で72週間、それ以後は1.45 g/Lの濃度で死亡するまで飲水投与したところ、対照群の生存期間が約145週であったのに対して、2.9 g/L群では約185週間まで生存した。2.9 g/L群の雌の肝臓で腫瘍性結節、雌雄で肝細胞腺線維症の発生率が有意に増加したが、これらが腫瘍であるかは不明であった。また、対照群に比べて雄でリンパ肉腫、雌で下垂体腫瘍、乳腺腫瘍の有意な減少がみられた。なお、クロロホルムの摂取量は雄で180 mg/kg/日、雌で240 mg/kg/日程度であった。</p>
<p>中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター (1997) は、雄のF344ラット (50匹/群) に0、1,000 ppm (0、45 mg/kg/日) の104週間飲水投与したところ、投与に関連した腫瘍の発生増加</p>

はなかった。

Melnickら（1998）は、雌のB6C3F₁マウス（10匹/群）にクロロホルム、プロモジクロロメタン、クロロジプロモメタン、プロモホルムを3週間（5日/週）強制経口投与し、肝毒性の諸指標、肝細胞における複製的DNA合成及び肝腫瘍発生に関する量 - 反応関係を比較検討した。肝重量、血清SDH及びGPT、肝細胞変性、肝細胞LI値（labeling index）に関する量 - 反応関係を比較したところ、クロロホルム、プロモジクロロメタン、クロロジプロモメタンでほぼ同様となり、これら3種類のトリハロメタンのデータを基に量 - 反応曲線を求めたところ、GPTと肝細胞LI値ではシグモイド型の量 - 反応関係、肝腫瘍発生（既存の研究データを使用）では低用量域で直線的な量 - 反応関係が得られ、1 mmol/kg以下の領域では肝腫瘍発生と肝細胞LI値の上昇に関連は見られなかった。プロモジクロロメタンとクロロジプロモメタンでは、肝細胞LI値にほとんど影響を与えない量での肝腫瘍の発生増加が示されており、トリハロメタンの発がん作用は単純に細胞毒性と再生性増殖の結果ではなく、GHS抱合反応や還元的代謝経路等を含めて、他の活性化経路の可能性を検討する必要があるとしている。

Delkerら（1999）は、雌雄のTg.ACマウスに0、140 mg/kg/日（雄）、240mg/kg/日（雌）を13週間（5日/週）強制経口投与したところ、雄の肝臓及び腎臓に組織障害と細胞増殖が見られた。

Coffinら（2000）は、雌のB6C3F₁マウス（10匹/群）に4種類のトリハロメタンを11日間強制経口投与（用量は2段階）又は飲水投与（飽和濃度の75%）し、肝臓の病理学的検索、肝細胞増殖への影響を見るためのLI値の測定、DNAメチル化の影響を見るための肝臓DNAメチルシトシンレベル及び発がん遺伝子・転写因子*c-myc*のプロモーター領域メチル化レベルの測定を行い、投与に用いた溶媒や経路の違いを検討した。その結果、強制経口投与でトリハロメタン類は肝毒性を示し、相対肝重量とLI値の増加が見られ、クロロホルムとプロモジクロロメタンが最も毒性が強く、肝重量を最も増加させたが、LI値の増加はクロロホルムとプロモホルムで最大となった。飲水投与によるトリハロメタン類の毒性は、強制経口投与における低用量と同様であり、クロロホルムのみが肝重量を有意に増加させ、LI値の増加はクロロホルムとプロモホルムで見られた。クロロホルムとプロモジクロロメタンは肝細胞DNAメチルシトシンレベルを約40%低下させ、*c-myc*遺伝子プロモーター領域のメチル化レベルも低下させたが、クロロホルムの強制経口投与では飲水投与よりも強く影響が現れたのに対し、他のトリハロメタンでは投与経路による差はなかった。クロロホルムでは、毒性発現、細胞増殖促進、メチル化レベル低下といった作用が飲水投与の場合に弱くなり、飲水投与で発がん性が見られないことと対応するとしている。

Hardら（2000）は、Jorgensenら（1985）のクロロホルムを104週間飲水投与した発がん性試験で得られた腎組織について、細胞毒性発現と細胞増殖に注目し、病理組織学的な検索と再評価を行った。その結果、腎尿細管腺腫及び腺がんの発生率に有意な増加を認めた雄Osborne-Mendelラットの160 mg/kg/日群では全数に持続性の細胞障害と再生性増殖を認め、81 mg/kg/日群でも同様の変化が見られたが、その頻度と程度は低く、対照群、19、38 mg/kg/日群ではこのような変化はなかった。また、腎腫瘍の発生を認めなかった雌のB6C3F₁マウスでは、腎尿細管障害の増加も有意でなかった。このことから、ラットの腎腫瘍発生の前段階として、クロロホルムによる持続的な細胞毒性と慢性的な再生性増殖が重要であることが示されたと結論している。

Sehataら（2002）は、CB6F₁の*rasH2*-transgenicマウス（15匹/群）の雄に0、28、90、140 mg/kg/日、雌に0、24、90、240 mg/kg/日、野生型の非transgenicマウス（15匹/群）の雄に0、140 mg/kg/日、雌に0、240 mg/kg/日を26週間（5日/週）強制経口投与したところ、*N*-メチル-*N*-ニトロソ尿素75 mg/kgを単回腹腔内投与した*rasH2*-transgenicマウス陽性対照群の大多数で前胃に腫瘍発生がみられ

たが、クロロホルム投与群で腫瘍性病変の有意な増加はなかった。両タイプの肝臓で細胞の腫脹、空胞化が見られ、雌の240 mg/kg/日では肝細胞巢の増加が見られたが、腎臓及び鼻腔への影響は見られなかった。著者らはこの結果から、*rasH2-transgenic*マウスモデルは非遺伝子毒性の発がん物質を検出することに適していない可能性が示唆されたとしている。

DeAngeloら（2003）は、雄のF344ラットにクロロホルムを添加した飲水を100週間投与したところ、腎臓がんの発生は見られず、800 mg/L群（78匹）で肝がんの誘発はなかったが、1600 mg/L（約160 mg/kg/日）群の肝臓で腺腫又はがんの有意な増加を認めた。

吸入実験

Yamamotoら（1994；2002）及びNaganoら（1998）は、雌雄のF344ラット（50匹/群）及びBDF₁マウス（50匹/群）に0、5、30、90 ppmを2年間（6時間/日、5日/週）吸入曝露させたところ、マウスでは30 ppm以上の群の雄で腎細胞腺腫又はがんの発生率に有意な増加を認め、雌で肝細胞腺腫又はがんの発生に有意な増加傾向を認めた。ラットでは雌雄ともに肝臓及び腎臓の腫瘍発生率に増加を認めなかったが、雌の90 ppm群で見られた腎細胞腺腫の発生率（1/49匹）は著者らの研究所での自然発生率（1/1,048匹）と比べて高かった（表6）。この結果から、マウスでの腎腫瘍をエンドポイントとしたNOAELは5 ppmとなる。

中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター（1997）は、雄のF344ラット（50匹/群）に0、25、50、100 ppmのクロロホルム、104週間吸入曝露（6時間/日、5日/週）させたところ、投与に関連した腫瘍の発生増加はなかった。また、0、25、50、100 ppmを同様に吸入させながら、1,000 ppm（45 mg/kg/日）の濃度で104週間飲水投与したところ、0 ppm（経口投与のみ）群では投与に関連した腫瘍の発生増加はなかったが、25 ppm以上の群の腎臓で腎細胞腺腫又は腎細胞がん、甲状腺で濾胞状腺腫又は濾胞状腺がんの発生に有意な増加傾向がみられ、100 ppm群の発生率に有意差を認めた。このため、これらの腫瘍については、吸入曝露と経口投与の影響が単に加算されたもの以上の影響と考えられた。

Templinら（1998）は、BDF₁マウスで報告された腎臓がん発生における性差（雄でのみ発生増加）について、細胞毒性の観点から検討した。BDF₁マウス（8匹/群）に0、1（雄のみ）、5、30、90 ppmを13週間（6時間/日、5日/週）吸入曝露したところ、30 ppm以上の群の雄で腎皮質の尿細管に暴露濃度に依存した再生像の増加が見られ、LI値は31倍にまで増加したが、雌では病理学的変化もLI値の増加も起こらなかった。しかし、肝臓では、雌の90 ppm群で小葉中心体から中間部にかけて空胞化、変性がみられ、肝細胞のLI値は7倍に増加した。この結果は、クロロホルムによる腫瘍発生が細胞毒性に伴う細胞増殖によって起こることを示しており、腎毒性、細胞増殖、腫瘍発生をエンドポイントとしたNOAELは5 ppmであった。

Constanら（2002）は、クロロホルムの曝露では細胞死と引き続き生じる細胞増殖にともなって腫瘍が発生するとの見方から、S期の細胞数の比率をLI値として求め、クロロホルム曝露と肝臓の細胞増殖の関係をマウスで検討した。雌のB6C3F₁マウス（5匹/群）に0、10、30、90 ppmを1日2、6、12、18時間で連続7日間曝露したところ、LI値の増加は30 ppm以上の群でのみ見られ、10 ppm群では曝露時間の長短に関わらず、LI値の増加は見られなかった。この結果から、B6C3F₁マウスにおけるNOAELは10 ppmとなるが、PBPKモデルによる種間外挿を行ったところ、ヒトの肝臓で細胞死・細胞増殖を起こすには100 ppm以上の曝露が必要と結論づけている。

既知の発がん性物質との組み合わせによる研究

<p>Pereiraら（1982）は、雄のSDラット（12匹/群）を用いてクロロホルムの発がんイニシエーション作用/プロモーション作用について検討した。肝臓の2/3を切除した後に1.5 mmol/kgのクロロホルムを単回強制経口投与し、その後47日間フェノバルビタールを含んだ飲水で飼育したところ、肝切除の有無に関わらずクロロホルムによる肝細胞の変化（変異小増殖巣の増加）は見られなかった。また、雄のSDラット（16匹/群）に<i>N</i>-nitrosodiethylamine（NDEA）の強制経口投与によるイニシエーション処置をした後、1.5 mmol/kgのクロロホルムを53日間（2回/週）強制経口投与したところ、クロロホルムによる肝細胞の変化（変異小増殖巣）の増強作用は見られなかった。</p>
<p>Pereiraら（1985）は、雌雄のCD-1 Swiss マウス（23～45匹/群）に0、5、20 mg/kgの<i>N</i>-ethyl-<i>N</i>-nitroso-urea（ENU）を腹腔内投与してイニシエーション処置を行った後、1,800 mg/Lのクロロホルムを5週齢から46週間飲水投与したところ、ENUによる肺腫瘍（雌雄）及び肝腫瘍（雌）の発生に対し、クロロホルム曝露の影響は見られなかった。また、雄では肝腫瘍が半減した。</p>
<p>DemlとOesterle（1985；1987）は、雌SDラット（4～6匹/群）にNDEAを強制経口投与してイニシエーション処置を行い、25～400 mg/kgのクロロホルムを11週間（2回/週）強制経口投与したところ、肝臓に変異小増殖巣の増加を認めたが、非NDEA処理群でこのような変化は生じなかった。</p>
<p>Klaunigら（1986）は、雄のB6C3F₁マウスに0、10 mg/Lの濃度でNDEAを4週間飲水投与してイニシエーション処置を行った後、35匹/群に分けて0、600、1,800 mg/Lの濃度でクロロホルムを52週間飲水投与したところ、イニシエーション処理群ではいずれの曝露濃度でも肝臓及び肺で腫瘍の発生率は増加したが、クロロホルムによる増加は見られなかった。</p>
<p>Danielら（1989）は、雄のF344ラット（40匹/群）に1,2-dimethylhydrazineを単回投与してイニシエーション処置を行った後、900、1,800 mg/Lのクロロホルムを39週間飲水投与したところ、消化器系腫瘍（胃、十二指腸、空腸、盲腸、結腸）発生の有意な低下（$p \leq 0.001$）を認め、結腸のみに限定するといずれの濃度においても有意（$p = 0.001$）な低下となった。</p>
<p>Reddyら（1992）は、雄のF344ラット（11～12匹/群）の肝臓を67%切除した後、NDEAの強制経口投与によるイニシエーション処置を行い、クロロホルム（1,800 mg/L）、フェノバルビタール（500 mg/L）、クロロホルム（200～1,800 mg/L）＋フェノバルビタール（650～950 mg/L）を12週間飲水投与したところ、クロロホルムによって肝臓の変異小増殖巣の発生が用量依存的に抑制された。</p>

表 5 クロロホルムの経口投与を受けた ICI マウスにおける腎腫瘍及びがん発生数
(Roe ら 1979)

処 置	性	腎腫瘍発生数
練り歯磨き	雄	0/72
クロロホルム 17 mg/kg/日*	雄	0/37
クロロホルム 60 mg/kg/日*	雄	8/38
練り歯磨き	雌	0/59
クロロホルム 17 mg/kg/日*	雌	0/35
クロロホルム 60 mg/kg/日*	雌	0/38
無処置	雄	1/45
練り歯磨き (1)	雄	6/237
練り歯磨き (2)	雄	2/51
クロロホルム 60 mg/kg/日*	雄	9/49
無処置	雄	0/83
練り歯磨き	雄	1/49
落花生油	雄	1/50
クロロホルム 60 mg/kg/日*	雄	5/47
クロロホルム 60 mg/kg/日 (落花生油溶媒)	雄	12/48

* : 練り歯磨きに混ぜての経口強制投与

表 6 クロロホルムの 104 週間吸入曝露マウス及びラットにおける腫瘍発生率
(Yamamoto ら 2002)

(A) マウス

グループ	雄				Peto	雌				Peto
	対照	5 ppm	30 ppm	90 ppm		対照	5 ppm	30 ppm	90 ppm	
被験動物数	50	50	50	48		50	49	50	48	
肝臓										
肝細胞腺腫	5	7	6	8		1	1	4	3	
肝細胞がん	10	0**	7	10	↑	1	1	0	3	↑
肝細胞腺腫 + がん	14	7	12	17	↑	2	2	4	6	↑↑
肝血管腫	0	0	1	0		0	0	0	0	
肝血管肉腫	3	0	2	1		2	0	0	1	
組織球性肉腫	2	0	0	0		0	0	1	0	
腎臓										
腎細胞腺腫	0	0	3	1		0	0	0	0	
腎細胞がん	0	1	4	11**	↑↑	0	0	0	0	
腎細胞腺腫 + がん	0	1	7*	12**	↑↑	0	0	0	0	

(B) ラット

グループ	雄				Peto	雌				Peto
	対照	10 ppm	30 ppm	90 ppm		対照	10 ppm	30 ppm	90 ppm	
被験動物数	50	50	50	50		50	50	50	49	
肝臓										
肝細胞腺腫	0	0	0	0		1	0	2	1	
腎臓										
腎細胞腺腫	0	0	0	0		0	0	0	1	
下垂体										
腺腫	22	23	21	17		24	20	18	11*	

* : P < 0.05, ** : P < 0.01
(Fisher Exact Test)

↑ : P < 0.05, ↑↑ : P < 0.01
(Peto's Test)

b. 遺伝子障害性（変異原性）

クロロホルムの遺伝子影響の研究は多数行われており、表 7 に変異原性試験に関する代表的な報告を示す。

IARC（1999）は、約80の試験結果をレビューし、クロロホルムの遺伝子障害性に関して、細菌では変異原性はなく、酵母・カビ・哺乳類細胞を用いた *in vitro* 試験及び *in vivo* 生物試験では、遺伝子障害性を示す弱い証拠があると結論している。なお、ヒトに対する遺伝子障害性のデータはない。

USEPA（2001a）は、クロロホルムの遺伝子障害性に関して、次のように総括している。多くの試験で変異原性試験は陰性であり、陽性の結果となった試験の多くに疑問が存在する。証拠の重さから考えて、変異原性を明確に排除できないものの、クロロホルムには強い遺伝子障害性はなく、また、クロロホルムやその代謝物はDNAと容易に結合しない。さらにクロロホルムはその特異的変異原作用により発がん性を示すものではない。

以上のことから、クロロホルムには直接の遺伝子障害性はないか、あっても弱いものであり、高濃度曝露あるいは連続曝露による細胞障害に引き続く再生・増殖過程で生じる遺伝子障害ではないかと考えられる。

表 7 遺伝子障害性に関する概要

in vitro の変異原性試験

Simmonら（1977）は、最高で5 mg/plate（2.5 mg/mL）を添加したAmes試験で、S9mixの存在の有無に係わらず、 <i>Salmonella typhimurium</i> TA100、TA98、TA1535、TA1537、TA1538で陰性を示したとしている。
San Augstin & Lim-Sylianco（1978）は、 <i>Salmonella typhimurium</i> TA1535、TA1537、TA98では代謝活性化系の非存在下で陰性を示したが、 <i>Bacillus subtilis</i> のRec assayでは代謝活性化系の非存在下で陽性を示したとしている。
Gockeら（1981）は、最高で3,600 µg/plateを添加したAmes試験で、S9mixの存在の有無に係わらず、 <i>Salmonella typhimurium</i> TA100、TA98、TA1535、TA1537、TA1538で陰性を示したとしている。
Kirklandら（1981）は、 <i>Escherichia coli</i> , WP2p 及びWP2uvrAで、S9mixの存在の有無に係わらず、0.1、1、10、100、1,000、10,000 µg/plateで遺伝子突然変異を誘発しなかったとしている。また、S9mixの存在下で50、100、200、400 µg/mLを添加したヒト末梢血リンパ球（ <i>in vitro</i> ）で、染色体切断の増加はみられず、25、50、75、100、200、400 µg/mL（S9mix存在下）を添加した姉妹染色分体交換（SCE）試験でも、用量に依存したSCE頻度の上昇はみられず、すべて陰性を示したとしている。
Gualandi（1984）は、 <i>Aspergillus nidulans</i> 35 及びP1に0.5%v/v（S9mix非存在下）を添加した結果、それぞれ遺伝子突然変異、有糸分裂時の染色体分離異常の誘発はみられなかった。
Mehta & von Borstel（1981）は、 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> XV185-14Cの遺伝子突然変異試験で、代謝活性化系の存在の有無に係わらず、111.1～1111 µg/mLで陰性であったとしている。
Kassinovaら（1981）は、 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> T1の有糸分裂組換え試験で、代謝活性化系の存在の有無に係わらず、1,000 µg/mLで陰性であったとしている。

<p>Jagannathら (1981) は、<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D4の有糸分裂組換え試験で、代謝活性化系の存在の有無に係わらず、0.33 ~ 333.33 µg/plateで陰性であったとしている。</p>
<p>Callenら (1980) は、<i>Saccharomyces cerevisiae</i> D7に代謝活性化系の非存在下で、21、41、54 mMを添加した結果、54 mMで <i>trp5</i> 座位で遺伝子変換、<i>ade2</i> 座位で有糸分裂組換え、<i>ilv1</i> 座位で遺伝子突然変異の増加がみられたとしている。</p>
<p>Perocco & Prodi (1981) は、ヒト末梢血リンパ球に、2.5、5、10 µL/mLを添加して不定期DNA合成(UDS)試験を行った結果、S9mixの存在の有無に係わらず、陰性であったとしている。</p>
<p>Morimoto & Koizumi (1983) は、ヒトリンパ球を用いてSCEを調べ、クロロホルムがトリハロメタンの中で最もSCE誘導能が低かったとしている。</p>
<p>Mitchellら (1988) は、マウスリンフォーマ (L5178Y) 試験で、S9mixの非存在下では陰性 (0.39 ~ 1.5µL/mL) だったが、S9mixの存在下では陽性 (0.007 ~ 0.06 µL/mLであったとしている。</p>
<p>Larsonら (1994d) は、マウス初代培養肝細胞に0.01 ~ 3 mMのクロロホルム (3H-thymidine添加) を添加した不定期DNA合成試験の結果は陰性であった。なお、10 mMでは強い細胞毒性が認められたとしている。</p>
<p>Le Curieuxら (1995) は、<i>Salmonella typhimurium</i> TA100のAmes試験 (復帰突然変異試験) で代謝活性化系の存在の有無に係わらず、30 ~ 10,000 µg/mLで陰性を示したとしている。</p>
<p>Le Curieuxら (1995) は、<i>Escherichia coli</i> PQ37のSOS修復試験で、代謝活性化系の存在の有無に係わらず、10 ~ 10,000 µg/mLで陰性を示したとしている。</p>
<p>Pegramら (1997) は、ヒトGSTT1-1遺伝子を組み込んだ<i>Salmonella typhimurium</i> TA1535を用いた復帰試験を行い、19,200 ppmと25,600 ppmという極めて高濃度の場合においてのみ、陽性の結果を得たとしている。</p>
<p>Brennan & Schiest (1998) は、クロロホルム、四塩化炭素、1,1,1-トリクロロエタンの遺伝子障害性について、酵母菌を用いた染色体内相同組換えによる遺伝子欠失を調べる試験 (DEL recombination assay) を行った。クロロホルムと四塩化炭素は遺伝子障害性による組換えを同程度の強さで引き起こしたが、1,1,1-トリクロロエタンでは最大用量でも弱い反応しか得られなかった。使用した菌では、クロロホルムと四塩化炭素から、酸化型のフリーラジカルが生成されることが示され、またフリーラジカルスカベンジャーである<i>N</i>-アセチルシステインは、クロロホルムによる毒性と組換えを抑制することが示された。このことから、クロロホルムと四塩化炭素が酵母菌において遺伝子障害性を示すこと、DEL recombination assay が通常の遺伝子障害性短期試験方法では検出されないような遺伝子障害性のスクリーニング法として有効なことが示されたとしている。</p>
<p>Arakiら (2004) は、<i>Salmonella typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、TA1537及び<i>Escherichia coli</i> WP2uvrA/pKM101、WP2/pKM101を用いて、S9mixの存在下、非存在下さらにはグルタチオン補充S9mix存在下で、クロロホルム (ガス状で曝露) の変異原性試験を行った。その結果、WP2/pKM101株ではS9mixの存在下のみで遺伝子障害性が認められたが、TA98、TA100、TA1535、TA1537、WP2uvrA/pKM101株では、S9mixの存在下、非存在下さらにはグルタチオン補充S9mix存在下のいずれの条件でも、遺伝子障害性は認められなかった。</p>

in vivo の変異原性試験

<p>San Augstin & Lim-Sylianco (1978) は、マウス宿主経路法では雄にクロロホルム700 mg/kgを投与したケースで<i>Salmonella typhimurium</i> TA1537について陽性を示したが、雌では陰性を示し、</p>
--

TA1535では雌雄ともに陰性を示した。また、100～900 mg/kgを腹腔内投与されたマウス骨髄で、700 mg/kgでのみ小核誘発の上昇がみられた。
Diaz Gomez & Castro (1980) は、A/Jマウスの雄、SDラットの雄に、 ¹⁴ Cでラベルしたクロロホルム (spec. act. 13.15 μCi/mmol) を屠殺6時間前に投与した結果、マウス肝臓ではDNA、RNAとの共有結合は検出されなかったが、ラット肝臓では核タンパク質との共有結合がみられた。
Tsuchimoto & Matter (1981) は、CD-1マウスに0.015、0.03、0.06 mL/kgを2回腹腔内投与した骨髄小核試験で、小核の誘発はみられなかった。
Pereiraら (1982) は、クロロホルムの肝DNA及び腎DNAへの結合はジメチルニトロソアミンの0.1%のレベルであったとしている。
Kitchin & Brown (1989) は、雌のSDラットに、コーン油に溶かしたクロロホルム0、54、160、480 mg/kg/日を屠殺21、4時間前の2回強制経口投与した結果、肝におけるDNA鎖切断等のDNA傷害は認められなかった。
Fujieら (1990) は、Long-Evansラット雌雄に0.01、0.1、1 mmol/kgを腹腔内投与したラット骨髄小核試験の結果、0.01 mmol/kg (1.2 mg/kg) 以上の群で、小核の誘発 (染色体異常) に有意な上昇を認めた。また、Long-Evansラット雄に0.01、0.1、1 mmol/kgを24時間間隔で5回経口投与し、18時間後に屠殺して骨髄を調べた結果、用量に依存した小核誘発の上昇を認め ($p<0.001$)、1 mmol/kgで有意差を認めた。
Larsonら (1994d) は、B6C3F ₁ マウスに238、477 mg/kgのクロロホルムを経口投与し、その後肝細胞を取り出しUDSを調べたところ、DNA修復は認められなかったとしている。
Le Curieuxら (1995) は、イモリ幼生 (<i>Pleurodeles walt</i>) に12.5、25、50 μg/mLを投与した結果、末梢血赤血球の小核誘発の増加はみられなかった。
Butterworthら (1998) は、ラットへの4 mmol/kgの経口投与で、腎臓に小核形成の増加が認められたとしている。
Butterworthら (1998) は、 <i>lacZ</i> 遺伝子を導入したB6C3F ₁ 雌マウスにクロロホルム (0、10、30、90 ppm) を6時間/日、7日/週吸入曝露し、10、30、90、180日後の <i>lacZ</i> 遺伝子の変異を調べたところ、いずれの時点でも <i>lacZ</i> 遺伝子の変異発生頻度に増加は認められなかった。また、細胞毒性に引き続く、二次性のDNA変化も認められなかった。
Robbianoら (1998) は、ラットへの4 mmol/kgの経口投与で腎臓に小核形成の増加が認められたとしている。

(2) 定量評価

国際機関等による定量評価に関する概要を表8にまとめた。

発がんリスクに係る既存の定量評価として、WHO (2000) によるラットにおける腎腫瘍の発症をエンドポイントとしてのユニットリスク $4.2 \times 10^{-7}/(\mu\text{g}/\text{m}^3)$ とカリフォルニア州環境保護庁 (CalEPA; 2005) による同じくラットにおける腎腫瘍の発症をエンドポイントとしてのユニットリスク $5.3 \times 10^{-6}/(\mu\text{g}/\text{m}^3)$ の2つが示されている。ただし、両機関ともにユニットリスクは算出しているが、実質安全用量 (VSD)は算出していない。また、これらの定量評価は、経口投与のデータから吸入曝露へ換算しリスク評価を行っている。

クロロホルムはヒトへの発がん性を示す可能性が高いと考えられるが、疫学研究では量 - 反応関係

を示す十分な知見がなく、ヒトにおける知見から発がん性を定量的に評価することは不可能である。動物試験では、ラットおよびマウスに対する経口・吸入実験のいずれにおいても量 - 反応性の肝細胞がんあるいは腎尿細管がんの発生増加を認めている。

クロロホルムの発がんの機序は、下記の 1) ~ 3) の根拠から、クロロホルムの代謝物による持続的な細胞障害とそれに引き続く再生性増殖によるものであり、クロロホルムによる発がんには閾値があると考えられる。

- 1) クロロホルムは細胞毒性や再生性細胞増殖を引き起こすに十分な濃度で、必ずしもがんを発生させるわけではないが、腫瘍の増加が認められるすべての試験例に再生性細胞増殖が認められる(表 9)。
- 2) 細胞の再生率が高いこと自体ががんの原因になるのではなく、死んだ細胞に取って代わる細胞増殖ががんの有意なリスク因子になることは、納得できる説明であり、一般的に認められている (Correa 1996)。
- 3) クロロホルムの変異原性試験結果のほとんどが陰性であり、陽性となった試験は高濃度か他の妨害要因によるものと考えられる。

一方、クロロホルムの発がん性に関しては、次の 1) ~ 3) のように、細胞の再生性増殖以外の因子の関与を示す報告もある。

- 1) Rossiら (1999) は、それを示唆する資料として、雄B6C3F₁マウスでは、腎尿細管細胞で大量の壊死と代償性細胞増殖が生じる量の投与でも腎臓がんの発生が見られない (Gemmaら 1996 ; Larsonら 1994c ; NCI 1976)、同マウスにおいて、クロロホルムによるがん発生部位と考えられる肝臓で一時的な細胞増殖が認められるものの肝細胞壊死は見られない (NCI 1976 ; Gemmaら 1996)、飲用水中のクロロホルム投与を受けた雌雄のF344ラットでは、肝臓のラベリングインデックス値 (LI値) の有意な増加が観察されるものの、腎臓では細胞増殖が殆どない (Larsonら 1994a ; 1995a)、といった知見をあげ、さらに クロロホルムの発がん性が遺伝子障害によるものではないという仮説の最大の根拠は、変異原試験が陰性であることだが、近年では変異原試験陽性の結果 (Robbianoら 1998) もいくつか報告されていると述べている。
- 2) Melnickら (1998) は、プロモジクロロメタンとクロロジプロモメタンでは、肝細胞LI値に殆ど影響を与えない量での肝腫瘍の増加が示されており、同じトリハロメタンであるクロロホルムの発がん作用も単純に細胞毒性と再生性増殖の結果ではないと報告している。しかしながら、この報告はクロロホルムが細胞毒性とそれに続く修復・増殖過程を介さず発がん性を示すことを直接証明したものではない。

以上の結果を総合的に勘案すると、クロロホルムの発がんの機序は、クロロホルムの代謝物による持続的な細胞障害とそれに引き続く再生性増殖によるものであり、クロロホルムによる発がんには閾値が存在するものと結論づけられる。

表 8 国際機関等の定量評価の概要

Goldenら(1997)は、クロロホルムの発がん性に係るリスク評価において、1)クロロホルムが遺伝子障害性を示す証拠はない、2)クロロホルムによる腎臓及び肝臓における発がんは両組織において明確な毒性が認められる程度の長期曝露で初めて確認される、3)クロロホルムがある種の動物で発がんを示す量は当該動物での最大耐量(MTD)より相当大きい、4)クロロホルムによる細胞毒性・代償性細胞増殖が生じる曝露レベルとがんが生じる曝露レベルには関連がある、5)先行する細胞毒性なしにクロロホルムが発がん性を示した試験例はない、6)細胞毒性に続く細胞増殖や炎症が発がんを誘発すると考えることは生物学的に合理的である、7)クロロホルムの細胞毒性・細胞増殖にはNOAELが存在する、といった点を考慮すべきであるとし、従って線型多段階(linearized multistage: LMS)モデルの適用は望ましくなく、作用機序を考慮したアセスメントが必要であるとしている。

Fawell(2000)は、クロロホルムを含むトリハロメタン類は、ラットあるいはマウスの肝臓、腎臓、大腸における腫瘍を増加させることが示されているとした上で、クロロホルムは非遺伝子障害性物質であり、組織に損傷が生じた場合にのみ腫瘍が発生すると思われるデータが存在することから、閾値に基づいた評価法が飲料水中の安全レベル決定法として妥当であるとしている。

USEPA(2001)は、クロロホルムによる発がん性は細胞毒性や再生性の増殖に続く二次的なものとし、非発がん性毒性に対するRfD以下の曝露では、細胞死やその先のがんの増加に繋がらないと述べている。従って、非発がん毒性(細胞死や再生性増殖を含む。)を防ぐ観点から算出されたRfD0.01 mg/kg/日(2-2(2)参照)で、がんの増加を防ぐことができるとしている。

WHO(2000)は大気質ガイドラインの中で、ラットにおける腎腫瘍の発症をエンドポイントにしてユニットリスク 4.2×10^{-7} ($\mu\text{g}/\text{m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$)を設定しているが、これはEHC 163(WHO 1994)を引用したものである。WHOは実質安全用量(VSD)を計算していないが、 10^{-5} レベルは約 $24 \mu\text{g}/\text{m}^3$ となる。

WHO(2004)は、クロロホルムによる実験動物における発がん性は、遺伝子への直接影響により起こるのではなく、持続的な組織障害と細胞増殖による2次的結果としている。従って、適切な研究から求められたNOAEL(あるいはLOAEL)に不確実係数をかけて算出された曝露値では、がんを引き起こさないであろうとしている。また、Heywoodら(1979)のイヌの肝脂肪嚢胞発生データを用いて、TC(Tolerable Concentration) = $0.14 \text{ mg}/\text{m}^3$ と算出している。

また、Jorgensonら(1985)のラットへの経口投与による腎臓腫及び腎臓がん発生研究における腎臓の平均代謝速度をもとに、ヒトでの曝露反応評価を行ったところ、PBPKモデルによるヒトの5%腫瘍増加濃度(TC₀₅)は $3.9 \text{ mg}/\text{L}/\text{hr}$ であった。これを生涯飲水濃度及び大気濃度に計算すると、それぞれ $3,247 \text{ mg}/\text{L}$ 、 $147 \text{ mg}/\text{m}^3$ であり、その95%信頼下限値は、飲料水で $2,363 \text{ mg}/\text{L}$ 、大気では $74 \text{ mg}/\text{m}^3$ であった。しかし、この値はイヌ肝脂肪嚢胞の5%発生増加(TC₀₅)よりはるかに高く、細胞毒性発現に基づいた安全レベルの決定がより予防的であると述べている。

CalEPA(2005)は、Jorgenson et al.(1985)とNCI(1976)の報告におけるラット腎腫瘍を指標としてカリフォルニア州健康局(1990)とBogenら(1989)により算出されたユニットリスク、及びその他の参考結果を平均した、 5.3×10^{-6} ($\mu\text{g}/\text{m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$)がもっともよく評価されたユニットリスクと結論している。CalEPAは実質安全用量(VSD)を計算していないが、 10^{-5} レベルは約 $2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ となる。

表 9 発がん性と再生性細胞増殖の関係

標的 臓器	動物種	性	曝露 経路	発がん性			細胞再生の証拠				
				系統	結果	投与レベル ^{a)}	引用文献	系統	結果	投与レベル ^{a)}	引用文献
肝臓	マウス	雄	強制経口	B6C3F ₁	+	138 mg/kg/日	NCI (1976)	B6C3F ₁	+(LI)	34 mg/kg/日 (4日)	Larsonら (1994c)
			吸入	BDF ₁	-	90 ppm	Yamamotoら (2002)	BDF ₁	+(LI)	90 ppm (7週間)	Templinら (1998)
		雌	強制経口	B6C3F ₁	+	238 mg/kg/日	NCI (1976)	B6C3F ₁	+(LI)	238 mg/kg/日 (4日)	Larsonら (1994a)
	ラット	雄	飲料水	B6C3F ₁	-	263 mg/kg/日	Jorgensonら (1985)	B6C3F ₁	-(LI)	329 mg/kg/日 (4日~3週間)	Larsonら (1994a)
			吸入	BDF ₁	± ^{b)}	90 ppm	Yamamotoら (2002)	BDF ₁	+(LI)	90 ppm (3~13週間)	Templinら (1998)
		雌	強制経口	OM	-	180 mg/kg/日	NCI (1976)	OM	-(LI)	477 mg/kg/日 (1日)	Templinら (1996b)
腎臓	マウス	雄	飲料水	OM	-	160 mg/kg/日	Jorgensonら (1985)	F-344	-(LI)	106 mg/kg/日 (4日~3週間)	Larsonら (1995a)
			吸入	F-344	-	90 ppm	Yamamotoら (2002)	F-344	+(LI)	300 ppm (4日~13週間)	Templinら (1996c)
		雌	強制経口	OM	-	200 mg/kg/日	NCI (1976)	F-344	+(LI)	100 mg/kg/日 (4日~3週間)	Larsonら (1995b)
	ラット	雄	吸入	F-344	-	100 ppm	Yamamotoら (2002)	F-344	+(LI)	300 ppm/日 (3~13週間)	Templinら (1996c)
			雌	強制経口	B6C3F ₁	-	277 mg/kg/日	NCI (1976)	B6C3F ₁	+(LI)	34 mg/kg/日 (4日)
		ラット	雄	吸入	BDF ₁	+	30 ppm	Yamamotoら (2002)	BDF ₁	+(LI)	30 ppm (7~13週間)
雌	強制経口			B6C3F ₁	-	477 mg/kg/日	NCI (1976)	B6C3F ₁	+(LI)	477 mg/kg/日 (4日)	Larsonら (1994a)
ラット	雄		飲料水	B6C3F ₁	-	263 mg/kg/日	Jorgensonら (1985)	B6C3F ₁	+(LI)	43 mg/kg/日 (3週間)	Larsonら (1994a)
		吸入	BDF ₁	-	90 ppm	Yamamotoら (2002)	BDF ₁	-(LI)	90 ppm (3~13週間)	Templinら (1998)	
		雌	強制経口	OM	+	180 mg/kg/日	NCI (1976)	OM	+(LI)	10 mg/kg/日 (1日)	Templinら (1996b)
	ラット	雄	飲料水	OM	+	160 mg/kg/日	Jorgensonら (1985)	F-344	+(HP)	17 mg/kg/日(3週間)	Larsonら (1995a)
			吸入	F-344	-	90 ppm	Yamamotoら (2002)	OM	+(HP)	81 mg/kg/日 (6~24ヶ月)	Hardら (2000)
		雌	強制経口	OM	-	200 mg/kg/日	NCI (1976)	F-344	+(LI)	100 mg/kg/日 (4日~3週間)	Larsonら (1995b)
ラット	雄	吸入	F-344	-	90 ppm	Yamamotoら (2002)	F-344	+(LI)	30 ppm (3~13週間)	Templinら (1996c)	
		雌	強制経口	OM	-	200 mg/kg/日	NCI (1976)	F-344	+(LI)	100 mg/kg/日 (4日~3週間)	Larsonら (1995b)
ラット	雄	吸入	F-344	-	90 ppm	Yamamotoら (2002)	F-344	+(LI)	30 ppm (3~13週間)	Templinら (1996c)	

^{a)} 経口投与は mg/Kg/日, 吸入曝露では ppm、^{b)} Fisher の検定では有意な差はないが、Peto の検定で有意差あり。

LI: Labeling Index

HP: 組織病理学

2 - 2 発がん性以外の有害性

(1) 定性評価

a. 急性毒性

表 10 に急性毒性に関する主要な知見を示した。

クロロホルムのヒトに対する主たる急性毒性は麻酔作用である。また、稀に肝壊死、腎尿細管壊死による肝不全、腎不全を引き起こす。さらに心筋の断裂、不整脈等による心不全は致命的毒性である。

また、動物実験においても、麻酔作用、神経行動影響、肝細胞壊死、腎尿細管壊死を認め、単回経口投与による LD₅₀ 値は、120 mg/kg (DBA/2J マウス) から 1,300 mg/kg (雄 SD ラット)、吸入曝露による LC₅₀ (6 時間) は 6.2 mg/m³ (雌 OF1 マウス) であった。

クロロホルムは皮膚および目に対して刺激性を認めるが、感作性に関する報告は、調査した範囲内ではなかった。

表 10 急性毒性に関する概要
ヒトに関するデータ

Goodman & Gilman (1970) によると、クロロホルムの麻酔により、吐気、嘔吐、疲れ、肝不全による黄疸、昏睡を認められる患者がいた。さらに生検では肝壊死と変性が認められた。
Winslow & Gerstner (1978) によると、経口摂取による症状は吸入と同様であり、経口致死量は平均で約45 gと推定された。
Kluwe (1981) によると、クロロホルムの麻酔による腎尿細管壊死や腎不全が稀に見られた。
Vershueren (1983) によると、2.5 g/m ³ 、1時間のクロロホルム吸入曝露でヒトへの影響が認められ、10 g/m ³ で顕著になり、0.25 g/m ³ で不快感を引き起こすと報告されている。
Haradaら (1997) によると、クロロホルムの吸入による致死的毒性は、心筋の断裂、不整脈、心機能の低下に伴う心不全を引き起こすと報告されている。

動物実験データ (経口投与実験)

Kimuraら (1971) によると、雄のSDラット (6~12匹/群) への単回経口投与によるLD ₅₀ 値は、440 mg/kg (14日齢)、1,300 mg/kg (young adult)、1,200 mg/kg (older adult) であった。
Ilettら (1973) によると、雄雌のC57BL/6マウスに腹腔内投与したところ、雄マウスでは肝臓と腎臓の蛋白質と代謝物との共有結合性反応が生じるが、雌では腎臓の壊死作用に対する抵抗性が見られ、蛋白質との結合も少なかった。
Hillら (1975) によると、単回経口投与によるLD ₅₀ 値は、マウスでは120 mg/kg (DBA/2Jマウス) から490 mg/kg (雄C57BL/6Jマウス) の値を示し、系統による差が認められた。
Vesellら (1976) は、雄のDBA/2マウス、C57BL/6マウス及び両者のF1を用いた実験で、腎蛋白との結合量の差異は、腎障害に対する感受性の系統差と対応していることを示した。
BalsterとBorzelleca (1982) は、雄のICRマウスを用いて神経系への急性影響 (運動失調、協調運動低下、麻酔作用) を調べたところ、480 mg/kgの用量で半数以上のマウスに影響が現れ、致死作用以外の急性影響では、麻酔作用、神経行動影響が重要と思われた。
Kitchin & Brown (1989) は、雌のSDラットに0、54、160、480 mg/kg/日をコーン油に混ぜて強制経口投与し、屠殺後に肝臓のDNA傷害、オルニチン脱炭素酵素 (ODC) 活性、P-450活性、グルタ

チオン濃度及び血清GPT活性を測定した結果、160 mg/kg/日以上以上の群でODC活性の上昇 (p<0.01)、480 mg/kg/日群でGPT活性の上昇 (p<0.01) 及びP-450活性の低下 (p<0.01) を認めた。
RaymondとPlaa (1997) は、SDラットにクロロホルムを単回経口投与したところ、腎毒性は溶媒 (10 mL/kg) として乳化剤 (EL 620 emulphor) を使用した場合に比べ、コーンオイルを使用した場合の方がより強く発現した。
Keeganら (1998) は、90日齢の雄F344ラットに0~1.5 mmol/kgを水性溶媒 (10% Alkamuls EL-620) に混ぜて単回投与し、血清酵素の変化から肝毒性を検討した結果、LOAELは0.5 mmol/kg (60 mg/kg)、NOAELは0.25 mmol/kg (30 mg/kg) であったと報告している。

動物実験データ (吸入曝露実験)

Deringerら (1953) は、種々の系統のマウスに5g/m ³ を単回 (1~3時間) 吸入曝露させたところ、腎尿管細胞の壊死はマウスの週齢に応じて増加し、系統別に見るとC3H、C3H _f 、A、HRは感受性が高いが、C57BL、C57L、C57BR/cd、STでは抵抗性が見られた。
Scholler (1968) は、SDラットに単回吸入曝露 (5時間) させたところ、肝臓の粗面小胞体の拡張やリボゾームの遊離、中心小葉における顆粒状変性が見られた。肝臓の薬物代謝酵素に影響を与える処理により、クロロホルムの肝毒性は修飾されたことから、肝細胞の壊死はクロロホルムの代謝物に起因すると推定される。
Gradiskiら (1978) によると、吸入曝露によるLC ₅₀ (6時間) は、雌のOF1マウスで6.2 mg/m ³ であった。
Frantikら (1998) は、中枢神経系の機能低下はクロロホルムの急激な吸入による主要な症候であり、ラットへの2.1 g/m ³ 、4時間の吸入曝露で、明らかな半麻酔状態 (significant subnarcotic effect) が観察された。
Kasaiら (2002) は、雌雄のBDF ₁ マウス及びF344ラットに500~8,000 ppmを2週間 (6時間/日、5日/週) 吸入曝露したところ、ラットでは1,000 ppm群で死亡は見られなかったが、2,000 ppm群では、17/20匹がその日のうちに死亡した。マウスでは雄の500 ppm群で9/10匹が2日、雌の1,000 ppm群で9/10匹が4~6日に死亡した。病理組織学的検索の結果、マウスの雄で腎毒性、雌で肝毒性が死因として考えられたが、ラットでは雌雄ともに肝毒性及び腎毒性が見られ、マウスの場合ほど死因は明確でなかった。

腐食性・刺激性に関する試験

Trokelsonら (1976) は、ウサギの皮膚へクロロホルムを24時間適用したところ、皮膚にわずかな充血、表皮剥離、痂皮形成を認めた。また、ウサギの眼に対しては、結膜への刺激、角膜炎、角膜の半透明化および化膿性出血様排泄物が観察された。

b. 亜慢性 (亜急性) 毒性及び慢性毒性

表 11に亜慢性 (亜急性) 毒性及び慢性毒性に関する主要な知見を示した。

ヒトに対する慢性影響については、肝炎や黄疸が報告されている (Bomskiら 1967)。Liら (1993) が、NOAELを13 mg/m³と報告しているが、論文中の数値や統計処理等に疑問点が多い。

動物実験では、Larsonら (1994a, b; 1996)、Templinら (1996a; 1998)、Kasaiら (2002)、Yamamotoら (2002) (詳細データは同一の研究を報告した中央労働災害防止協会 日本バイオアッセ

イ研究センター（1994）を参照した。）等多くの研究により、腎臓、肝臓、鼻腔上皮に障害を与えることが報告されている。これらの組織は、クロロホルム代謝活性が高いことがわかっている（WHO 2004）。肝臓及び腎臓では臓器重量の変化に加え、組織学的には、脂肪浸潤、変性、壊死、空胞化も報告されている。さらに、血清中の酵素レベル（トランスアミナーゼなど）の変化の他、雄ビーグル犬では、肝脂肪嚢胞（fatty cysts formation: fat accumulation）の発生が報告されている。WHO（2004）は、鼻腔への影響として、クロロホルムの慢性吸入はラット及びマウスの鼻組織の骨化、壊死、増生、化生を引き起こすが、鼻腔の腫瘍は生じないとまとめている。クロロホルムの毒性発現には種差、系統差、性差があり、これはクロロホルム代謝活性と関連しているとも報告している。

表 11 亜慢性（亜急性）毒性及び慢性毒性に関する概要
ヒトに関するデータ

<p>Bomskiら（1967）は、10～1000 mg/m³のクロロホルムに1～4年間曝露された労働者68人の調査で、肝腫大と診断された労働者17人のうちの3人で中毒性肝炎がみられ、この他にも10人で脾腫がみられており、クロロホルムに曝露された労働者では、肝炎の罹患リスクは一般集団に比べて10倍高かったと報告している。</p>
<p>クロロホルムが黄疸を引き起こす濃度と曝露期間に関する報告は、80～160 mg/m³で4ヶ月以内（Phoonら 1983）、1950 mg/m³で6ヶ月以内（Phoonら 1975）、10～1000 mg/m³で1～4年（Bomskiら 1967）と報告されている。</p>
<p>Phoonら（1983）は、シンガポールの電子機器工場で集団発生した2件の中毒性黄疸を報告した。1件は400 ppmを超えるクロロホルムの曝露があった作業現場の労働者13人で、初期にはウィルス性肝炎と診断されており、血中のクロロホルム濃度は0.1～0.29 mg/100mLであった。他の1件は接着剤としてクロロホルムを使用していた現場の全員（18人）で、同様の症状となった。気中クロロホルム濃度の測定では14.4～50.4 ppmであったとされているが、発症時との関連は不明である。これらの労働者では発熱及びB型肝炎表面抗原が見られなかったことから、ウィルス性肝炎でないと考えられた。</p>
<p>Liら（1993）は、クロロホルムの曝露を受けた労働者（幾何平均濃度20.5 mg/m³、4.3～141 mg/m³、平均曝露年数7.8年、1～15年）を対象とした調査で、労働者を平均濃度13.5 mg/m³（14人）、29.5 mg/m³（46人）の低/高の2群に分けて検討した結果、高濃度群の労働者で血清プレアルブミン及びトランスフェリンの病的な高値で示される軽度の肝障害がみられ、神経行動テストでの影響を認めたが、低濃度群の労働者に13 mg/m³では影響が認められなかったと報告している。</p>
<p>Aikingら（1994）は、過去5年間に週10時間以上の練習をしているオランダの競泳選手20人を、室内プールのみを利用する群10人、夏には屋外プールを利用する群8人に分け、対照群としてコーフボールの選手12人とともに、練習前に採尿してγ-2-ミクログロブリン、クレアチニン、終了後に採血をしてGOT、GPT、γ-GT、クレアチニンを測定した。その結果、腎障害を示唆するγ-2-ミクログロブリンは室内プール利用者群でわずかだが有意に高く、年齢で調整した後も高い傾向にあった。なお、クロロホルム濃度は練習中の室内プール水で24.0 μg/L、屋外プール水で18.4 μg/Lであった。対照者群及び屋外プール利用者群の血中クロロホルム濃度は検出限界値（0.5 μg/L）未満であるのに対し、室内プール利用者群で0.6～1.8 μg/Lであった。</p>

動物実験データ
経口投与実験

<p>Ilettら (1973) は、雌雄のC57BL/6マウスを、SmithとHook (1983) は雄のICRマウスを用いた実験から、クロロホルムによる腎尿細管の壊死は、蛋白質と代謝物との共有結合に関連することを示した。</p>
<p>UehlekeとWerner (1975) は、マウス、ラット、ウサギの肝ミクロソームと四塩化炭素、クロロホルム、ハロセンとの不可逆性結合を調べ、クロロホルムでは、ウサギ>マウス>ラットの順であったと報告している。なお、四塩化炭素、ハロセンには明らか種差を認めなかった。</p>
<p>Heywoodら (1979) は、雌雄のビーグル犬 (6~18匹/群) にクロロホルム0、15、30 mg/kg/日を7.5年間 (6日/週) 強制経口投与 (練り歯磨き溶媒として) した結果、肝脂肪嚢胞 (fatty cysts formation:fat accumulation) の発生、SGPTの上昇を認め、これらは肝機能障害の初期の徴候を示すとして、LOAELは15 mg/kg/日であるとした。なお、どの種類の新生物の発生も増加していなかった。表 12に肝臓の組織学的変化を示す。</p>
<p>Larsonら (1993; 1994a) によると、クロロホルムは、発がん性を示すのと同量の強制経口投与 (コーンオイル溶媒) で、雌B6C3F₁マウス (14匹/群) の肝臓に持続的な細胞障害・再生増殖反応を生じさせたとしている。一方、総投与量が同程度でも、飲水投与では肝細胞障害・増殖、肝腫瘍発生が認められなかったとの報告もある (Jorgensonら 1985; Larsonら 1994a)。</p>
<p>Larsonら (1995a, b) は、雌雄F344ラット (5~12匹/群) を用いた実験で、クロロホルム濃度60~1,800 ppmの飲水投与 (6~110 mg/kg/日相当) に比べて、強制経口投与 (コーンオイル溶媒、10~180 mg/kg/日、5日/週、3週間) の方が肝・腎毒性は強く、細胞障害・再生増殖反応が投与経路に依存することを示した。肝臓への影響については雌雄で感受性の差はなかったが、腎毒性については、増殖性変化を含め、雌においてより大きな影響が認められた。</p>
<p>中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター (1997) は、雄のF344ラット (50匹/群) に0、1,000 ppm (45 mg/kg/日) の濃度でクロロホルムを104週間飲水投与したところ、1,000 ppm群の嗅上皮の萎縮及び呼吸上皮化生、篩骨甲介骨の肥厚、嗅腺の減少など、腎臓で好塩基性変化、尿管拡張、肝臓で脂肪変性炎症性、細胞集簇巣の発生率に有意な増加を認めた。</p>
<p>Ammannら (1998) は、雄のB6C3F₁マウス及び雄のF344ラットの肝細胞におけるクロロホルムの量 - 反応関係を調べ、グルタチオンの枯渇をもたらす閾値 (1 mmol/L) 以上のクロロホルム濃度で、濃度に依存した細胞毒性が生じること、毒性発現にはP450による代謝とグルタチオンの枯渇が関与することを示した。</p>

吸入実験

Torkelsonら（1976）は、雌雄のラット（12匹/群）、モルモット（8～12匹/群）、ウサギ（2～3匹）に0、25、50、85 ppmを、イヌに25 ppmを6ヶ月間（7時間/日、5日/週）吸入曝露させたところ、全種の雌雄の肝臓で曝露濃度及び動物種に依存した病理変化（軽度から重度の小葉中心体顆粒変性、空胞化、限局性壊死、線維症）を認め、雄ラットの感受性が最も高く25 ppmで影響がみられ、モルモットの感受性が最も低かった。また、25 ppm群の全種の腎臓で尿細管上皮の混濁腫脹、間質性腎炎、尿細管性腎炎がみられ、85 ppm群の雄ラット、雌モルモット、雄ウサギ、25 ppm群の雌ウサギでは肺炎もみられた。

Larsonら（1996）は、雌雄のB6C3F₁マウス（5～15匹/群）に0、0.3、2、10、30、90 ppmを4日～13週間吸入曝露（6時間/日、5日/週あるいは7日/週）し、細胞障害・再生増殖反応を調べた。曝露濃度及び曝露期間に応じた損傷・再生増殖反応が雌雄の肝臓に生じたが、腎臓の障害は雄のみであり、鼻腔の障害は一過性で4日曝露群にのみ見られた。90 ppm群では再生増殖反応の指標であるLI値（S期の細胞数の比率）の有意な増加が持続し、雌の30 ppm以上の群及び雄の90 ppm群で肝臓相対重量の有意な増加を認めた。一方、10 ppm群では有害作用は認められなかった。

Templinら（1996c）は、F344ラット（5～9匹/群）に0、2、10、30、90、300 ppmを4日～13週間吸入曝露（6時間/日、5日/週あるいは7日/週）したところ、雌の10 ppm以上の群、雄の90 ppm以上の群で体重増加の有意な抑制を認めた。腎臓が主要な標的臓器となり、近位尿細管上皮細胞における細胞増殖指標（LI値）の有意な増加（7日/週では30 ppm以上、5日/週では90 ppm以上）など、濃度に依存した影響を雌雄で認めた。肝細胞の変化は、90 ppm群又は300 ppm群で観察された。鼻腔への影響では、曝露の初期には10 ppm以上の群で篩骨甲介の骨成長と細胞数増加、嗅上皮の呼吸上皮化生などを認め、90日後には2 ppm以上の群で篩骨甲介上皮の萎縮を認めたが、2 ppm群での萎縮は最小限（minimal）のものであった。

Jamisonら（1996）は、雌雄のF344ラット（5～9匹/群）に0、2、10、30、90、300 ppmを13週間（6時間/日、7日又は5日/週）吸入曝露したところ、300 ppm群のみに肝内胆管構造の変化（胆管周囲の線維化を伴う腸腺窩様胆管）、TGF- α 、（Transforming Groth Factor-alpha. beta）の免疫反応亢進が見られた。

中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター（1997）は、雄のF344ラット（50匹/群）に0、25、50、100 ppmを104週間吸入曝露（6時間/日、5日/週）させたところ、25 ppm以上の群の鼻腔で嗅上皮の萎縮及び呼吸上皮化生、篩骨甲介骨の肥厚、嗅腺の減少など、50 ppm以上の群の腎臓で尿細管拡張、近位尿細管の核膨化、100 ppm群の腎臓で炎症性細胞集簇巣の発生率に有意な増加を認めた。また、0、25、50、100 ppmを同様に吸入させながら、1,000 ppm（45 mg/kg/日）の濃度で104週間飲水投与したところ、0 ppm（経口投与のみ）群及び25 ppm以上の群で、吸入曝露のみと同様に見られた病変の他にも、肝臓で脂肪変性、炎症性細胞集簇巣の発生率に有意な増加を認め、このうち鼻腔の病変については、吸入曝露と経口投与の影響が単に加算されたもの以上の影響と考えられた。

Templinら（1998）は、BDF₁マウス（8匹/群）に0、1（雄のみ）、5、30、90 ppmを13週間（6時間/日、5日/週）吸入曝露して腎臓及び肝臓への影響を検討したところ、雄では曝露濃度に依存した体重増加の抑制傾向がみられたが、雌でそのような変化はなかった。肝臓では、30 ppm以上の群の雄、90 ppm群の雌で相対重量の有意な増加を認め、雌雄の30 ppm群で肝小葉中心体の腫脹、90 ppm群で小葉中心体から中間部にかけて空胞化、変性がみられ、肝細胞のLI値は有意に増加した。一方、腎臓

<p>では重量の変化はなく、雌では病理学的変化もLI値の増加も起こらなかったが、30 ppm以上の群の雄で腎皮質の尿細管に暴露濃度に依存した再生像の増加が見られ、LI値は有意に増加した。</p>
<p>Kasaiら（2002）は、F344ラット（10匹/群）及びBDF₁マウス（10匹/群）を13週間吸入曝露（6時間/日、5日/週）したところ、肝臓で腫脹、細胞の異型化、崩壊など、腎臓で尿細管細胞の壊死、変性、空胞化など、鼻腔で嗅上皮の変性、骨肥厚、好塩基性変化、石灰化などの病変を認めた。このため、肝臓をエンドポイントとしてラット及びマウスの雌で50 ppm、雄で100 ppmがNOAEL、腎臓では雄マウスで12 ppmがLOAEL、雌ラットで100 ppm、雄ラット及び雌マウスで200 ppmがNOAEL、鼻腔ではラット及びマウスの雌雄で12 ppmがLOAELであった。</p>
<p>Yamamotoら（2002）（鼻腔の所見に関し不明確な内容は、著者らに確認するとともに、詳細データは同一の研究を報告した中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター（1994）を参照した。）は、雌雄のF344ラット（50匹/群）に0、10、30、90 ppmを2年間（6時間/日、5日/週）吸入曝露させたところ、雄の90 ppm群で体重は一貫して有意に低く、肝臓重量は有意に高かった。また、雌雄の10 ppm以上の群の鼻腔で骨肥厚、嗅上皮の萎縮及び呼吸上皮化生、30 ppm以上の群の腎臓で近位尿細管の核膨化、尿細管食腔の拡大、90 ppm群の雄の肝臓で空胞化細胞巢の発生率に有意な増加を認めた（表 13、表14）。この結果から、腎組織病変をエンドポイントとして、NOAELは10 ppmになるとしている。</p> <p>また、雌雄のBDF₁マウス（50匹/群）に0、5、30、90 ppmを2年間（6時間/日、5日/週）吸入曝露させたところ、5 ppm以上の群の雌雄で体重は有意に低かったが、雌の5 ppm群は52週、30 ppm群は94週までに回復した。また、5 ppm以上の群の雌雄の鼻腔で骨肥厚、5 ppm以上の群の雌、90 ppm群の雄で嗅上皮の萎縮及び呼吸上皮化生、30 ppm以上の群の雄の腎臓で近位尿細管の核膨化、尿細管食腔の拡大、90 ppm群の雌雄の肝臓で脂肪変性、雌で肝細胞腺腫とがんに関係すると考えられる変異細胞巢の発生率に有意な増加を認めた（表 13、表 14）。この結果から、腎臓組織病変をエンドポイントとし、NOAELは5 ppmになるとしている。</p>

表 12 強制経口投与(7.5年間)によるビーグル犬における肝組織変化(変性肝細胞結節と肝脂肪嚢胞)
(Heywoodら 1979)

投与 (mg /kg/日)	雌雄	組織学的検索	結節を有する	脂肪嚢胞を有するイヌ数	
		イヌ数	イヌ数	偶発的・極少	中等度・顕著
30	雄	7	0	1	6
	雌	8	4	0	7
15	雄	7	1	0	6
	雌	8	1	2	3
練り歯磨き (コントロール)	雄	15	0	7	1
	雌	12	3	3	0
未処置	雄	7	1	2	0
	雌	5	1	1	0
クロロホルム 非含有練り歯磨き	雄	8	0	2	0
	雌	7	1	0	0

表 13 吸入曝露（104 週間）によるマウス及びラットの鼻腔病変の発生率
 （労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター 1994）

(A) マウス

グループ	雄				雌			
	対照	5 ppm	30 ppm	90 ppm	対照	5 ppm	30 ppm	90 ppm
被験動物数	50	50	50	48	50	49	50	48
篩骨甲介の骨肥厚（骨化生）	0	49**	37**	42**	0	37**	32**	34**
嗅上皮のエオジン好性変化	9	1**	6	6	4	7	9	18**
呼吸上皮のエオジン好性変化	25	0**	12**	10**	27	30	31	36*
嗅上皮の萎縮及び呼吸上皮化生	12	15	20	21*	4	21**	14**	25**
鼻腺の呼吸上皮化生	34	29	29	14**	3	4	20**	18**

(B) ラット

グループ	雄				雌			
	対照	10 ppm	30 ppm	90 ppm	対照	10 ppm	30 ppm	90 ppm
被験動物数	50	50	50	50	50	50	50	49
甲介の癒着	0	1	0	8**	0	0	1	3
石灰化	4	4	9	8	1	2	5	0
篩骨甲介の骨肥厚（骨化生）	0	35**	44**	38**	0	39**	43**	28**
杯細胞過形成	4	15**	23**	36**	0	6*	18**	35**
嗅上皮の炎症	1	9**	28**	38**	0	8**	12**	31**
嗅上皮の萎縮及び呼吸上皮化生	0	42**	50**	43**	0	43**	48**	45**
嗅上皮の壊死	0	0	1	6*	0	0	0	0

* : P < 0.05, ** : P < 0.01 (Chi square Test)

表 14 吸入曝露（104 週間）によるマウス及びラットの肝臓と腎臓における
非腫瘍性病変の発生率（Yamamoto ら 2002）

(A) マウス

グループ	雄				雌			
	対照	5 ppm	30ppm	90ppm	対照	5ppm	30ppm	90ppm
被験動物数	50	50	50	48	50	49	50	48
肝臓								
中心性壊死	0	0	0	3	1	0	1	2
巣状壊死	1	2	6	2	0	0	2	3
脂肪変性	4	2	6	24**	0	0	0	6*
変異細胞巣総数	10	1**	1**	5	0	1	2	6*
明細胞巣	6	0*	0*	3	0	1	0	3
好塩基細胞巣	3	1	1	1	0	0	1	2
混合細胞巣	1	0	0	1	0	0	1	1
腎臓								
近位尿細管の核膨化	0	3	43**	42**	0	0	0	4
細胞質の好塩基性の程度 ^{a)} +	33	40	8**	9**	0	4	3	5*
2+	7	1	36	34	0	0	0	2
3+	0	0	2	0	0	0	0	0
異型性尿細管過形成	0	0	11**	14**	0	0	0	0
近位尿細管壊死	0	0	1	2	1	0	0	0

(B) ラット

グループ	雄				雌			
	対照	10ppm	30ppm	90ppm	対照	10ppm	30ppm	90ppm
被験動物数	50	50	50	50	50	50	50	49
肝臓								
変異細胞巣総数	11	16	16	18	15	9	20	26
明細胞巣	4	4	5	6	4	1	2	7
好酸性細胞巣	2	5	2	3	0	1	0	1
好塩基細胞巣	4	6	8	8	7	5	10	4
混合細胞巣	1	1	1	1	4	2	6	9
空胞化細胞巣	0	0	0	0	0	0	2	5*
腎臓								
近位尿細管の核膨化	0	0	5*	32**	0	0	6*	34**
尿細管食腔の拡大	0	0	9*	27**	0	0	5*	38**
慢性進行性腎臓病の程度 ^{b)} +	3	11*	10*	17**	8	19**	27**	15**
2+	6	10	24	14	15	7	5	3
3+	19	15	8	2	14	3	3	1
4+	19	8	2	1	4	2	0	2

* : P < 0.05, ** : P < 0.01 (Chi square Test)

a) 細胞質の好塩基性の程度は次のスコアで示す。+ : 全視野で1つの尿細管中にわずかな病変を認める。2+ : 全視野で2つ以上の尿細管に4つ以上の病変を認める。3+ : 全視野で2つ以上の多数の病変を認める。

b) 慢性進行性腎臓病の程度はKawaiらの分類に従い、4つのグレードに分けて示した。

c. 生殖発生毒性

クロロホルムの生殖発生毒性に関する主要な知見を表 15にまとめた。

ヒトに対する毒性については、職業性曝露による明らかな影響は報告されていない。塩素処理された水道水の飲用が子宮内発育遅延や死産と関係があるという報告があるが、同時にクロロホルム以外のトリハロメタンにも曝露されていることや個人レベルの曝露評価でないことなど不確定な点も多い。

また、動物実験については、ラット・マウス・ウサギに対するクロロホルムの吸入曝露あるいは経口強制投与で、母動物への有害影響、発生毒性（胎児のサイズ・体重の減少、骨格形成の遅れ）が認められている。また、催奇形性については、マウス及びラットの吸入曝露実験では認められているが、ラット及びウサギの経口投与試験では認められていない。

催奇形性については、その可能性を示す明らかな証拠はなく、胎児への影響は母動物に毒性を生じるレベルで観察され、胎児が母動物より感受性が高いという研究はない。WHO(2004)も同様なまとめを行っている。

表 15 生殖発生毒性に関する概要
ヒトに関するデータ

<p>Kramerら（1992）は、米国のアイオワ州の人口1,000～5,000人の町で、1989～1990年の出生記録にあった低体重（2,500 g未満）、早産（37週未満）、子宮内発育遅延（IUGR；5パーセントイル未満）と母親の居住地の水道水水質記録（1987年当時）の関係を調べたところ、クロロホルムが検出限界値未満（1 µg/L）の対照群でIUGRは935例であったが、母親の年令や経産回数等で調整後のIUGRのオッズ比はクロロホルム濃度1～9 µg/L群で1.3（95%CI；0.9～1.8）、10 µg/L以上の群で1.8（95%CI；1.1～2.9）であり、プロモジクロロメタンについても、10 µg/L以上の群でIUGRのオッズ比は1.7（95%CI；0.9～2.9）であった。IUGR以外の項目やその他のトリハロメタン類で関連は見られなかった。なお、個人レベルでの曝露評価でないことなどから、誤分類の可能性を著者も指摘している。</p>
<p>Wennborgら（2000）は、1945年以降に生まれ、1990～1994年の間にスウェーデンの研究所の研究部門又は非研究部門で1年以上働いたことのある女性を対象に、各種溶剤等の曝露と妊娠状況を検討した。その結果、この間に856例の妊娠があり、クロロホルム曝露群（86例）では、年令及び流産経験で調整後の自然流産のオッズ比（2.3、95%CI；0.7～5.2）に弱い関連がみられただけであった。なお、具体的な曝露濃度等については把握されていない。</p>
<p>Kingら（2000）は、カナダのNova Scotiaで1988～1995年に記録のあった死産197例（500 g以上の単胎出産）について水道水のトリハロメタン類との関係を調べたところ、母親の年令、喫煙で調整後の相対リスク（RR）は総トリハロメタン100 µg/L以上の群で1.66（44例、95%CI；1.09～2.54）、クロロホルム100 µg/L以上の群で1.56（37例、1.04～2.34）、プロモジクロロメタン20 µg/L以上の群で1.98（21例、1.23～3.49）であり、有意に高かった。また、死産の原因が不明であった77例でトリハロメタン類とRRに有意な関係は見られなかったが、窒息関連の死産65例では、総トリハロメタン100 µg/L以上の群で4.57（21例、1.93～10.77）、クロロホルム100 µg/L以上の群で3.15（20例、1.64～6.03）、プロモジクロロメタン10～19 µg/L群で2.32（12例、1.18～4.55）であり、RRは有意に高かった。なお、対象群は総トリハロメタン、クロロホルムが50 µg/L未満、プロモジクロロメタンが5 µg/L未満の群であり、個人レベルでの曝露評価の不備は著者も指摘している。</p>
<p>Dodds & King（2001）は、Nova Scotiaで1988～1995年に記録のあった出生時欠損と水道水のト</p>

リハロメタン類との関係を調べたところ、母親の年令及び収入で調整後の神経管欠損のRRは、プロモジクロロメタン20 µg/L以上の群で2.5 (10例、95%CI ; 1.2 ~ 5.1) と有意に高かったが、クロロホルムでは100 µg/L以上の群でも1.2 (17例、0.7 ~ 2.3) であった。また、染色体異常のRRはクロロホルム75 ~ 99 µg/L群で1.9 (19例、1.1 ~ 3.3) と有意に高かったが、100 µg/L以上の群では1.4 (14例、0.8 ~ 2.8) であり、心血管系異常のRRは100 µg/L以上の群でも0.7 (47例、0.5 ~ 1.0)、口蓋裂のRR (これのみ、母親の年令で調整) は100 µg/L以上の群でも1.5 (16例、0.8 ~ 2.8) で、有意差はなかった。なお、対象群はクロロホルムが50 µg/L未満、プロモジクロロメタンが5 µg/L未満の群であった。

動物実験データ 経口投与実験

Thompsonら (1974) は、雌のDutch-beltedウサギ (15匹/群) に0、20、35、50 mg/kg/日を妊娠6日から18日まで強制経口投与したところ、50 mg/kg/日群で体重増加の抑制を認め、肝毒性により4匹の死亡がみられた。20及び50 mg/kg/日群の胎児で体重は有意に低く、20及び35 mg/kg/日群の胎児で頭蓋骨の骨化遅延の発生率が有意に増加したが、用量依存性がなく、一腹当りで比較した場合には有意差もなかったことから、これらの影響はクロロホルムの催奇形性又は胎児毒性を示す証拠とは考えられなかった。

BurkhalterとBalster (1979) は、雌雄のICRマウスに、0、31 mg/kg/日を交配の21日前から授乳期の終了まで強制経口投与し、さらに児動物にも生後7日から同様の投与を実験終了まで継続して種々の神経行動発生試験を実施したが、体重、神経行動発生試験とも影響は認められなかった。

Ruddickら (1983) は、雌のSDラット (15匹/群) に0、100、200、400 mg/kg/日を妊娠6日から10日間強制経口投与したところ、100 mg/kg/日以上以上の群の群で母動物の体重増加の抑制、肝臓重量の増加、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低下、400 mg/kg/日群で腎臓重量の増加に有意差を認め、400 mg/kg/日群では投与期間中に3/15匹が死亡した。妊娠22日の胎児では、400 mg/kg/日群で低体重・成長障害と胸骨・頭頂骨の奇形増加があり、これらは発生毒性によるものと考えられた。

NTP (1988) 及びAnon (1997) は、雌雄のCD-1マウス (20匹/群) に0、6.6、16、41 mg/kg/日を強制経口投与して実施した2世代繁殖毒性試験の結果、親世代の一般状態及び生殖機能 (児数・児体重等) に対する影響は見られなかった。F₁では、41 mg/kg/日群の雌で肝臓重量、雄で精巣上体重量の有意な増加を認め、雌では肝細胞の変性が見られたが、雄では精巣上体の精子に異常はなかった。

吸入実験

Schwetzら (1974) は、雌のSDラットに0、30、100、300 ppmを妊娠6日から15日間吸入曝露 (7時間/日) させたところ、妊娠13、21日の母動物の体重は100 ppm以上の群で有意に低く、妊娠13日の体重も30 ppm群で有意に低かった。また、妊娠21日の剖検では、300 ppm群で着床率の有意な低下、吸収胚の有意な増加を認めた。胎児では、300 ppm群で体重、頭腎長、一腹当りの生存胎児数の有意な低下を認め、100 ppm群で尾の短縮や欠損、鎖肛、皮下浮腫、肋骨の欠損、胸骨の骨化遅延が有意に増加した (300 ppm群では胎児数が少なく、統計検定はできなかった)。この結果から、クロロホルムの催奇形性は強くないが、発生毒性が強いと著者は結論づけている (母体のLOEL = 30 ppm)。

Murrayら (1979) は、雌のCF-1マウス (34 ~ 40匹/群) に0、100 ppmを妊娠1 ~ 7日、6 ~ 15日、又は8 ~ 15日に吸入曝露し、妊娠18日に胎児への影響を調べた結果、妊娠1 ~ 7日及び6 ~ 15日の100 ppm群で妊娠維持率の有意な低下を認めた。また、妊娠1 ~ 7日及び8 ~ 15日の100 ppm群で胎児の体重・頭腎長の有意な低下、8 ~ 15日の100 ppm群で口蓋裂の発生に有意な増加を認めた。

Landら（1981）は、雄の（C57B1/C3H）F₁マウス（5匹/群）に0、400、800 ppmを5日間連続吸入曝露（4時間/日）させ、曝露後28日に精子への影響を調べたところ、400 ppm以上の群で精子の形態異常の発生率に有意な増加を認めた。

雌のWistarラット（20匹/群）に0、3、11、30 ppmを妊娠7日から16日まで吸入曝露（7時間/日）させたところ、3 ppm以上の群で摂餌量の有意な減少が見られ、10 ppm以上の群の体重は有意に低かった。また、30 ppm群の母動物で肝臓重量の有意な増加、胎児で体重、頭殿長の有意な低下を認め、頭蓋骨の骨化遅延もみられた（Hoechst 1991；1993）。

in vitro の試験

Brown-Woodmanら（1998）は、SDラットの培養胚（妊娠10.5日、12～15体節期）に0、0.5、1.1、2.1、3.7 $\mu\text{mol/mL}$ を40時間曝露したところ、2.1 $\mu\text{mol/mL}$ 以上の群で胚発生に有意な遅滞が生じた。3.7 $\mu\text{mol/mL}$ では、曝露4時間以内に卵黄嚢の血管分布に遅延が生じ、16時間後には神経上皮細胞死が広汎に見られた。

（2）定量評価

国際機関等による定量評価の概要を表 16にまとめた。

一般毒性リスクに係る吸入曝露の定量評価では、WHO（2004）がイヌ経口投与における肝脂肪嚢胞をエンドポイントとして耐容濃度（TC）140 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ を、CalEPA（2000）がラット吸入曝露における肝臓および腎臓の病理学的変化のLOAELから、Chronic Referenced Exposure Level 300 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ を提言している。

日本産業衛生学会は、マウス吸入曝露におけるNOAELから、許容濃度 14.7 mg/m^3 を提言している。これらの機関における定量評価の特徴は、クロロホルムによる発がんは細胞障害と組織の再生の過程で引き起こされるもので、一般毒性を抑える濃度であれば、発がんも抑えるという理論（閾値あり）である。

表 17は、クロロホルムによる細胞毒性と細胞増殖を整理したものである。飲水投与では、LOAELとして、17～40 $\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$ （200 mg/L ）の3週間投与でラット及びマウスに腎再生性の増殖が認められ（Larsonら 1994a；1995a）、58 $\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$ の4日投与で肝臓の病理変化（Larsonら 1995a）が認められた。強制経口投与では、10 $\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$ の4日間投与でラット肝重量の増加や、ビーグル犬における15 $\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$ （7.5年）の投与で肝臓の脂肪嚢胞形成及びSGPT上昇が報告されている（LOAEL）。また、吸入曝露では、鼻腔影響に関しては、Yamamotoら（2002）（詳細データは同一の研究を報告した中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター（1994）を参照した。）によるBDF₁マウスで骨肥厚（骨化）、嗅上皮の萎縮及び呼吸上皮化生が観察された25 mg/m^3 （6時間/日、5日/週、2年）がLOAELであり、肝細胞増殖（LI）に関しては、Templinら（1998）によるBDF₁マウスでの25 mg/m^3 （6時間/日、5日/週、13週）がNOAELと考えられる。

なお、鼻腔への影響については、2 ppm（9.8 mg/m^3 ）を13週間（6時間/日、5日/週）吸入曝露させたF344ラットで鼻腔粘膜に最小限の萎縮（Templinら 1996c）が見られているが、この最小限の変化は可逆性の変化とも考えられる。

以上の結果を総合的に勘案すると、2年間（6時間/日、5日/週）の吸入曝露によってある程度の不可逆性変化を起こしていると考えられるBDF₁マウスでの5 ppm（25 mg/m^3 ）をLOAELとするのが適当

と考えられる。

また、PBPKモデルを用いた計算から、ヒトはラット・マウスに比べて、クロロホルムに対する感受性が低いと推測されている (Delicら 2000)。

表 16 国際機関等における吸入曝露の定量評価についての概要

<p>Wolfら (1997) は、クロロホルム及びその代謝物には遺伝子障害性がなく、活性代謝物が細胞死をもたらすような条件でなければ発がんは認められないとして、マウス実験のNOAEL 10 ppm (Larsonら 1996) から不確実係数 (3ヶ月曝露亜慢性10×種差10×個体差10) を用いて、ヒトでの環境目標値0.01 ppm (49.8 µg/m³) が算出できるとしている。</p>
<p>Delicら (2000) は、職業曝露に関わるリスク評価におけるPBPKモデルの利用を検討する中でクロロホルムを取り上げている。英国の職業曝露基準値 (OES) は、動物実験で得られたNOAEL値と不確実係数で決定されているが、クロロホルムと四塩化炭素について、PBPKモデルとモンテカルロ法を併用したシミュレーションにより、動物実験におけるNOAELからヒトでのNOAELを推定し、不確実係数に基づいて決定されている現行OES値と比較を行った。クロロホルムについては、B6C3F₁マウスとヒトについてPBPKモデルを設定し、代謝物の生成が有害生体影響発現の要因と考え、1時間当たりの代謝率を推定した。モンテカルロ法を導入して、ヒト及びマウスの代謝 (率) の個体間分布も考慮した。PBPKモデルで予測されたマウス・ラットにおけるクロロホルムの代謝は、ヒトの予測値よりもはるかに大きく、マウスにおけるNOAEL値 (10 ppm) あるいはOES値 (2 ppm) での曝露と代謝率が等しくなるヒトでの曝露条件は、各々130 ppmと23 ppmに相当した。OES値でのクロロホルム曝露による1時間当たりの推定代謝率は、マウスの場合78 nmol/gでヒト5 nmol/gの15.6倍となった。モンテカルロ法で得られた分布からは、集団の中で最も高い代謝 (率・量) を示すヒトの場合も、マウス・ラットで毒性を発現するレベルの代謝物は生成されないことが示された。これらの結果から、不確実性を考慮して設定された現行のOES値はPBPKモデルとモンテカルロ法を用いた予測値と比較して非常に低いレベルに設定されていると結論している。</p>
<p>Constanら (2002) は、LI値を用いて雌B6C3F₁マウス (5匹/群) でクロロホルム曝露と肝臓の細胞増殖の関係を検討しているが、LI値の増加は30及び90 ppm群 (1日2、6、12、18時間、7日間連続曝露) においてのみ認められ、NOAELは10 ppmとなるとしており、PBPKモデルによる種間外挿から、ヒトの肝臓で細胞死・細胞増殖を起こすには100 ppm以上の曝露が必要と推定している。マウスからヒトへの種間外挿に不確実係数は必要ないこととなる。</p>
<p>松本ら (2003) は、Yamamotoら (2002) の試験結果をもとにBMDL₁₀を求めたところ、雌雄マウスの腎臓腫瘍で19.2 ppm、異型尿細管過形成で15.4 ppm、雌マウスの肝臓腫瘍で43.2 ppm、肝小増殖巣で39.1 ppm、雄ラットの腎尿細管拡張で18.6 ppm、雌ラットの腎臓の核増大で21.9 ppm、肝臓空胞性小増殖巣で52.7 ppmとなり、BMDL₁₀の多くはNOAEL値と近い値となったとしている。</p>
<p>CalEPA (2000) は、Torkelsonら (1976) のラットを用いた6ヶ月の吸入曝露実験で、25 ppm群の肝臓及び腎臓に病理学的変化を認めたことからLOAELを25 ppmとし、これを曝露期間調整して5.3 ppm、さらにヒト等価濃度に換算した15.9 ppmに、LOAELで10、個体差10、種差3の計300の不確実係数を採用し、慢性の吸入REL (Chronic Referencd Exposure Level) を0.05 ppm (300 µg/m³) としている。</p>

WHO (2000) は、大気質ガイドラインの中で、ラットにおける腎腫瘍の発症をエンドポイントにしてユニットリスク 4.2×10^{-7} /($\mu\text{g}/\text{m}^3$) を設定している。WHOは実質安全用量 (VSD) を計算していないが、 10^{-5} レベルでは約 $24 \mu\text{g}/\text{m}^3$ となる。

WHO (2004) は、Heywoodら (1979) のデータをもとにPBPKモデルを用いてヒトへ外挿し、肝脂肪嚢胞5%増加の95%信頼限界の下限値として、 $3.4 \text{ mg}/\text{m}^3$ を求めている。これに不確実係数25 (個体差10、種差2.5) として、耐容濃度 (TC) を $3.4 \text{ mg}/\text{m}^3 \div 25 = 0.14 \text{ mg}/\text{m}^3$ と算出している。

日本産業衛生学会 (2005) は、クロロホルムには遺伝子障害性がなく、動物実験における発がん性は細胞障害性と組織の再生の過程で引き起こされる (nongenotoxic-cytotoxic mode of action) と考え、さらに量 - 反応関係を明らかにした疫学的知見がないことから、げっ歯類の吸入毒性試験における肝臓又は腎臓の非腫瘍性病変を予防すべき影響とし、2年間の毒性試験 (Yamamotoら 2002) から雄マウスのNOAEL 5 ppmをもとに許容濃度3 ppm ($14.7 \text{ mg}/\text{m}^3$) を求めた。なお、ミクロソームを用いたクロロホルム代謝活性などの報告から、ヒトではげっ歯類より感受性が低いとしている。

表 17 クロロホルムによる細胞毒性と細胞増殖のまとめ

文献	雌雄	曝露期間	肝				腎				鼻腔上皮					
			組織学的検査		LI		組織学的検査		LI (皮質)		組織学的検査		LI			
			NOAEL (ppm)	LOAEL (ppm)	NOAEL (ppm)	LOAEL (ppm)	NOAEL (ppm)	LOAEL (ppm)	NOAEL (ppm)	LOAEL (ppm)	NOAEL (ppm)	LOAEL (ppm)	NOAEL (ppm)	LOAEL (ppm)		
Larsonら (1996)	マウス B6C3F ₁	雄	13週間 ^{a)}	10	30	30	90	10	30	10	30	90	-	90	-	
			13週間 ^{b)}	10	90	10	90	10	90	-	10	90	-	90	-	
		雌	13週間 ^{a)}	10	30	30	90	90	-	90	-	90	-	90	-	
			13週間 ^{b)}	10	90	10	90	90	-	90	-	90	-	90	-	
Templinら (1996c)	ラット F344	雄	13週間 ^{a)}	30	90	90	300	30	90	10	30	-	2 ^{d)}	2	10	
			13週間 ^{b)}	30	90	90	300	90	300	30	90	-	30	-	30	
		雌	13週間 ^{a)}	30	90	90	300	90	300	10	30	-	2 ^{d)}	2	10	
			13週間 ^{b)}	90	300	90	300	90	300	30	90	-	30	-	30	
Templinら (1998)	マウス BDF ₁	雄	13週間 ^{b)}	5	30	30	90	5	30	5	30	NA	NA	NA	NA	
		雌	13週間 ^{b)}	5	30	30	90	90	-	90	-	NA	NA	NA	NA	
Yamamotoら (2002)	マウス BDF ₁	雄	104週間 ^{c)}	30	90	NA	NA	5	30	NA	NA	30	90 ^{e)}	NA	NA	
		雌	104週間 ^{c)}	30	90	NA	NA	30	90	NA	NA	-	5 ^{e)}	NA	NA	
		ラット	雄	104週間 ^{c)}	90	-	NA	NA	10	30	NA	NA	-	10 ^{f)}	NA	NA
		F344	雌	104週間 ^{c)}	90	-	NA	NA	10	30	NA	NA	-	10 ^{f)}	NA	NA

a) 7日/週 曝露

b) 5日/週 曝露

c) 6時間/日 × 5日/週 曝露

d) 篩骨甲介の萎縮

e) 嗅上皮の萎縮及び呼吸上皮化生

f) 骨化生

LI : labeling index

3. 曝露評価

(1) 大気中のクロロホルムの起源

クロロホルムの自然起源は知られておらず、専ら人間活動に伴って環境中に排出されると考えられる(WHO 1994)。クロロホルムの我が国における生産量は2003年度で37,000 tと推定され、15,728 tが輸入され、2,103 tが輸出されている(化学工業日報社 2005)。一方、水処理における塩素滅菌において、クロロホルムを主体とするトリハロメタンが生成することが知られている。「特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の促進に関する法律(化管法)」に基づく届出外排出量の推計によると、上水道事業主体別のトリハロメタン濃度と有収水量を基に水道に係るクロロホルムの2003年度の生成量を93 tと推定している(経済産業省・環境省 2005b)。この他に、1,2-ジクロロエタンやテトラクロロエチレンの合成の際にクロロホルムが非意図的に生成し、パルプの塩素漂白、プールの塩素消毒、都市下水への塩素の添加、冷却水のスケール付着防止などによっても、クロロホルムが発生することが知られており、1994年の推計では浄水処理による生成も含めて意図的な製造・使用に近い量のクロロホルムが非意図的に生成していたと考えられる(日本環境協会 1995)。

化管法に基づくクロロホルムの2003年度の全国の届出排出量・移動量の集計結果によると、大気と公共用水域へ1,455 tのクロロホルムが排出され、排出量を上回る2,396 tが主に廃棄物として事業場から移動されている(表 18、経済産業省・環境省 2005a)。そのうち、大気への排出量は1,293 tで、55%がパルプ・紙・紙加工品製造業から、18%が化学工業から、5%が電気機械器具製造業から排出され、そのほか高等教育機関、倉庫業、自然科学研究所、飲料・たばこ・飼料製造業、非鉄金属製造業、精密機械器具製造業からも大気への排出が届け出られている。

一方、届出外の発生源から318 tのクロロホルムが環境中に排出されたと見積もられている(表 19、経済産業省・環境省 2005b)。届出対象業種で取扱量が裾切り未満の事業所からの排出量が245 tと最も多く、これに次いで家庭でも57 tのクロロホルムが排出されたと見積もられている。届出対象外からの排出については排出先の媒体ごとの排出量は見積もられていないが、その起源から考えて大部分が大気中に排出されたと考えられる。家庭からの排出はすべて水道由来の見積もりであり、その他の届出外の排出源も含め、水道由来で77 tのクロロホルムが環境中へ排出され、そのうち70 tが大気へ排出されたと見積もられている。

有害大気汚染物質の排出を計画的に削減している業界団体の報告では、1期目に1995年度の2,219 tから1999年度の1,538 tへと31%削減されており、2期目には新たに確認された排出源を含め、1999年度の1,842 tから2003年度の1,025 tへと44%削減されている(経済産業省 2005)。

表 18 化管法に基づきクロロホルムの排出・移動を届け出た主な業種（2003年度）

(t/年)

業 種	大気への排出	公共用水域への 排 出	廃棄物としての 移 動	下水道への移動
パルプ・紙・紙加工品	676.200	95.760	0.0	0.0
化学工業	427.721	65.912	1956.927	14.179
非鉄金属	1.500	0.0	0.610	0.0
一般機械器具	0.0	0.0	1.600	0.0
電気機械器具	126.800	0.0	26.000	0.0
精密機械器具	0.494	0.0	15.100	0.0
倉庫業	13.009	0.0	0.0	0.0
計量証明	0.0	0.0	2.0	0.0
高等教育機関	25.055	0.002	143.700	0.333
自然科学研究所	11.644	0.086	134.581	0.367
合 計	1293.423	161.780	2380.818	14.879

表 19 化管法に基づく届出外のクロロホルムの排出量の見積もり（2003年）

(t/年)

排出源	届出外排出量					届出排出量
	対象業種	非対象 業種	家 庭	移動体	計	
排出量	244.630	17.017	56.755	0.0	318.402	1455.202

（２）大気モニタリング

我が国の大気中のクロロホルム濃度については、化学物質環境実態調査の中で、1979年度、1980年度及び1983年度の計3回の調査が行われている（環境庁環境保健部保健調査室 1980；1981：1984）。1979年度及び1980年度の調査では、それぞれ22/44検体、57/132検体からクロロホルムが検出されただけであったが、1983年度の調査では、全調査地点において88/108検体からクロロホルムが検出された（表 20）。検出された濃度範囲は0.05～11 µg/m³であり、1979年度及び1980年度とほぼ同じ濃度レベルであった。

また、クロロホルムについては、化学物質環境実態調査の中で、指定化学物質等検討調査として、環境残留性が継続的に調査されている（図 2、環境省環境保健部環境安全課 2003）。この調査における大気中のクロロホルムの検出濃度範囲は0.018～22µg/m³で、1979年度、1980年度及び1983年度の調査結果とほぼ同じ濃度レベルであった。調査地点や分析精度等が異なるため単純な比較はできないが、各年度の幾何平均値の変化を見ると、1990年度と1997年度には高い値を示すものの、それ以外はほぼ横這いで推移している。

表 20 化学物質環境汚染実態調査におけるクロロホルムの検出状況 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)

調査年度	調査検体数	検出検体数	最高検出値	最低検出値
1979	44	22	25	0.11
1980	132	57	23	0.084
1983	108	88	11	0.050

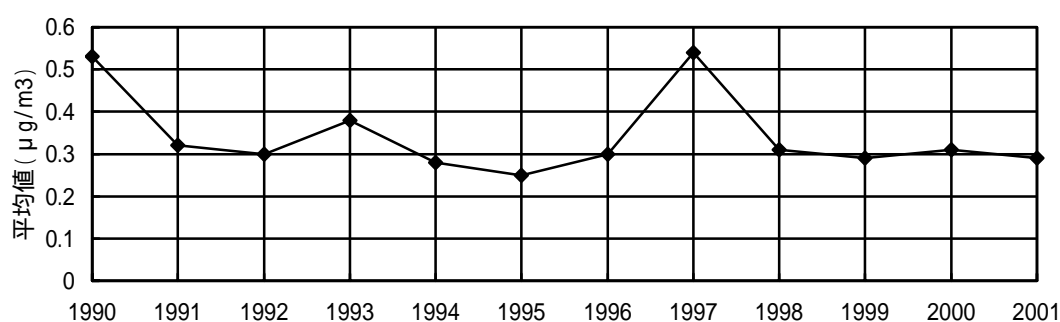


図 2 環境残留性調査のクロロホルムの大気濃度の幾何平均値の推移

1997年度からは、大気汚染防止法に基づき、地方公共団体等による有害大気汚染物質の大気環境モニタリングが開始され、この中でクロロホルムの大気濃度も継続的にモニタリングされている（環境省環境管理局大気環境課・自動車環境対策課 2005）。毎年約320～370地点で約2,100～4,300の検体が調査されている。各測定地点の年間平均濃度の全国平均値は、2000年度までは1998年度の $0.46 \mu\text{g}/\text{m}^3$ を除いて $0.35 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 前後で推移し、横這いであったが、2001年度に低下し、それ以降は再び横這いで、2004年度には $0.26 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であった（表 21）。継続調査地点における推移を見ると、大気中のクロロホルム濃度は1999年度から低下し、2002年度からは横這いで推移している（図 3）。

有害大気汚染物質モニタリング調査では、調査地点を一般環境、発生源周辺及び沿道の3つの地域分類に分けている。2004年度の調査結果を見ると、一般環境では平均で $0.24 \mu\text{g}/\text{m}^3$ （229地点： $0.069 \sim 1.7 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ）、発生源周辺（注2）では平均で $0.34 \mu\text{g}/\text{m}^3$ （72地点： $0.082 \sim 1.8 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ）、沿道においては平均で $0.24 \mu\text{g}/\text{m}^3$ （65地点： $0.063 \sim 1.3 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ）であった（表 22）。平均値、最大値とも発生源周辺が最も大きく、濃度分布を見てもクロロホルムの大気濃度は発生源周辺で高い傾向を示している（図 4）。

（注2） 測定対象物質のいずれかを製造・使用等している工場・事業場の周辺で行われたモニタリング結果である。必ずしもクロロホルムを製造・使用等している工場・事業場の周辺とは限らない。

表 21 有害大気汚染物質モニタリング調査におけるクロロホルム年平均濃度の経年変化

年 度	地点数	検体数	平均値 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	最小値 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	最大値 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)
1997	325	2,147	0.36	0.010	4.7
1998	337	3,530	0.46	0.030	16
1999	341	3,667	0.34	0.045	4.8
2000	346	3,810	0.35	0.019	4.7
2001	350	3,779	0.29	0.0060	3.1
2002	354	3,982	0.27	0.039	4.2
2003	371	4,313	0.24	0.027	2.3
2004	366	4,239	0.26	0.063	1.8

測定地点：一般環境、発生源周辺、沿道

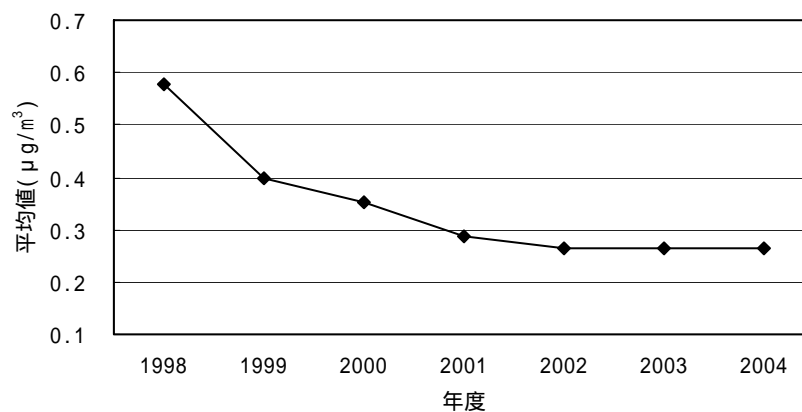


図 3 有害大気汚染物質モニタリング調査の継続測定地点におけるクロロホルム年平均濃度の推移

表 22 2004 年度有害大気汚染物質モニタリング調査における地域分類別のクロロホルム年平均濃度

	地点数	平均値 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	最小値 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	最大値 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)
全地区	366	0.26	0.063	1.8
一般環境	229	0.24	0.069	1.7
沿 道	65	0.24	0.063	1.3
発生源周辺	72	0.34	0.082	1.8

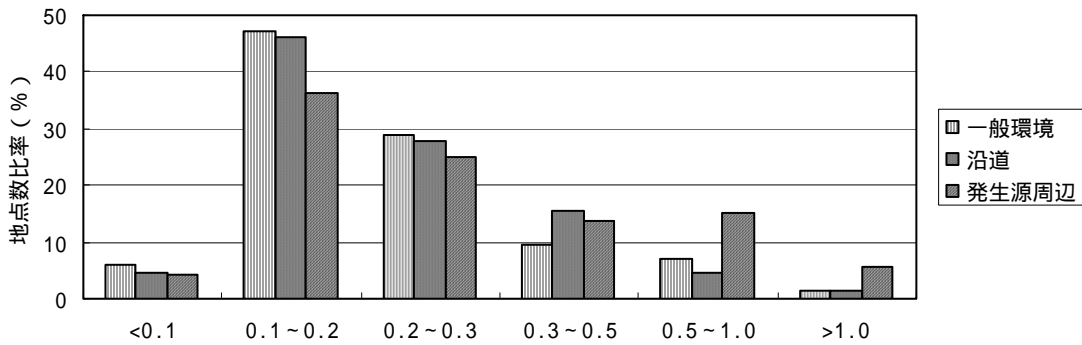


図 4 2004 年度有害大気汚染物質モニタリング調査におけるクロロホルムの年平均濃度分布

(3) 発生源周辺

2003年度の地方公共団体による有害大気汚染物質モニタリング調査結果（環境省環境管理局大気環境課・自動車環境対策課 2004）で、最高の年平均濃度の $2.3\mu\text{g}/\text{m}^3$ を示したのは、石油コンビナートに位置する発生源周辺の調査地点である。この地点は周囲5km以内にクロロホルムを多量に排出する事業所が存在している。1998年度の調査で過去最高の $16\mu\text{g}/\text{m}^3$ の年平均濃度を示した地点は一般環境のモニタリング地点であり、周辺にクロロホルムの排出量を届け出ている事業所がない場合でも、クロロホルム濃度が高い地点が存在する。2002年度の有害大気汚染物質モニタリング調査では、周囲10 km以内にクロロホルムの排出量を届け出た事業所がない地点でも $1\mu\text{g}/\text{m}^3$ を超える年平均濃度を示している。

なお、環境省及び地方公共団体が実施した1993年度～2004年度までの調査結果を収集・解析したところでは、事業場敷地内（注3）の大気中濃度は、幾何平均で $8.5\mu\text{g}/\text{m}^3$ （43地点： $0.10\sim1,500\mu\text{g}/\text{m}^3$ ）であり、これは、有害大気汚染物質モニタリング調査の発生源周辺調査で検出された最大値よりも数倍程度高い値であった。

（注3） クロロホルムを製造・使用等している工場・事業場敷地内の敷地境界付近で行われた測定結果であり、24時間平均濃度である。

(4) クロロホルムの曝露評価

クロロホルムは、化学物質環境汚染実態調査の中で、その曝露量が1994年度から継続的に調査されている（表 23、環境省環境保健部環境安全課）。室内空気の濃度が屋外の大気濃度よりも数倍高く、また飲料水を含む食事からの曝露が屋外大気を24時間吸入したときとほぼ同じレベルにあることが他の揮発性有機化合物と異なる特徴となっている。

表 23 指定化学物質等検討調査におけるクロロホルムの経路別曝露量の推移

($\mu\text{g}/\text{人}\cdot\text{日}$)

年度	屋外大気		室内空気		食 事	
	幾何平均値	曝露量範囲	幾何平均値	曝露量範囲	幾何平均値	曝露量範囲
1991	8.9	4.0 ~ 45	14	6.2 ~ 55	7.2	2.1 ~ 29
1992	3.5	0.16 ~ 15	11	1.9 ~ 44	6.2	tr ~ 21
1993	7.6	3.8 ~ 21	16	5.2 ~ 41	6.3	4.8 ~ 22
1994	5.1	ND ~ 19	10	5.9 ~ 34	5.1	3.1 ~ 23
1995	6.4	1.7 ~ 58	15	4.6 ~ 75	3.8	4.1 ~ 25
1996	6.1	2.8 ~ 160	8.7	5.3 ~ 270	6.1	tr ~ 18
1997	8.1	4.5 ~ 62	19	6.3 ~ 40	7.2	3.6 ~ 23
1998	8.3	1.9 ~ 110	19	8.6 ~ 68	6.4	3.5 ~ 14
1999	6.8	1.2 ~ 53	16	5.2 ~ 37	6.9	tr ~ 16
2000	6.7	2.6 ~ 130	16	6.0 ~ 130	7.6	tr ~ 28
2001	5.5	2.8 ~ 73	15	3.9 ~ 73	8.3	4.4 ~ 18

屋外（一般環境）大気からの曝露については、2004年度の有害大気汚染物質モニタリング調査結果に基づいて、呼吸量を大人 $15\text{ m}^3/\text{日}$ 、子供 $6\text{ m}^3/\text{日}$ とし、24時間屋外大気に曝露されたとすると、呼吸に伴う曝露量は、一般環境の平均値に対して、大人 $0.072\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、子供 $0.144\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ と算定され、発生源周辺で検出された最大値に対しては、大人 $0.54\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、子供 $1.08\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ と算定される(表 24)。

表 24 屋外大気からのクロロホルムの曝露量の算定 ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$)

	大人		子供	
	平均値	最大値	平均値	最大値
曝露量	0.072	0.54	0.144	1.08

室内空気からの曝露については、一般的に、水道水を利用する際にクロロホルムが空気中に揮発し、呼吸を通じて曝露されるおそれがあることが言われている。特に塩素消毒した水道水に含まれるクロロホルムや、プール水中で生成するクロロホルムは、室内空気中に揮発し、呼吸を通じて曝露されるおそれがあることが指摘されている。そのため、水道水を用いる室内では、屋外大気よりも一般にクロロホルム濃度が高いと言われている。環境省の指定化学物質等検討調査では、1991年度から家庭でのクロロホルムの曝露量を継続的に調べているが、家庭の室内空気のクロロホルム濃度は屋外大気と比べて高く、1.6倍から3倍程度の濃度が検出されている(環境省保健環境部環境安全課 2003)。また、家庭において炊事等でより多くの水を扱う主婦は、クロロホルムの曝露量が高くなることが指摘されている。

水道水中のクロロホルムの揮発は、その使用方法によっても大きく異なると考えられる。シャワーのように噴霧したり、風呂のお湯のように温めると、水中のクロロホルムが室内空気に揮発し易くなる。また、シャワーや風呂などは比較的狭い空間で行われるため、室内空気のクロロホルム濃度が一層高くなることが予想される。

シャワーに伴う室内空気中のクロロホルムの曝露については、幾つかの報告がある。5~36 µg/Lのクロロホルム濃度の水で10分間シャワーを浴びた6名の呼気を分析したところ、シャワー前には0.86 µg/m³以下であったクロロホルム濃度が6.0~21 µg/m³に増加していた (Joら 1990)。この時のシャワー室内空気中のクロロホルム濃度は、平均で157µg/m³であったと報告されている。一方、Levespueら (2002b) は、ケベック市の居住者18名が10分間シャワーを使用したときのクロロホルムの吸収を調べている。この時のシャワー室内空気中のクロロホルム濃度は147±56.2 µg/m³と、環境省調査 (環境省保健環境部環境安全課 2003) による我が国の室内空気の平均濃度と比べ1桁高い値となっているが、シャワーを浴びて30分経過した後の肺胞気中のクロロホルム濃度は直後に比べて1/10に低下している。

一方、塩素消毒されたプールで泳ぐ際には、一般的にプール水から揮発したクロロホルムに曝露されることが言われている。ドイツのプレーメンの室内プールで水面上の空気中のクロロホルム濃度を11ヶ月間にわたって観測した結果では、10~380µg/m³、平均約100µg/m³のクロロホルムが検出されている (Batjerら 1980, Lahlら 1981)。Levesqueら (2000a) も、塩素消毒されたプールで泳ぐ際のクロロホルムへの曝露評価を試みているが、その時のプール水中のクロロホルム濃度は18~80 µg/L、プール室内気中濃度は78~329 µg/m³であった。この室内空気の濃度は環境省の指定化学物質等検討調査での室内空気の平均濃度に比べ、数倍高い濃度であった。

その他、塩素を含む水に触れることにより、皮膚からクロロホルムが吸収される可能性も指摘されている。クロロホルム濃度60 µg/Lの水に全身を入れると150 µg/時間のクロロホルムを吸収し、入浴や皿洗いなどで水に接する時間を0.2時間とすると、皮膚吸収によるクロロホルムの吸収量は30 µg/日と見積もられる (Perwakら 1980)。5~36 µg/Lのクロロホルムを含む水で10分間シャワーを浴びると、室内空気の吸入と皮膚吸収によって0.5 µg/kgのクロロホルムを吸収すると見積もられている (Joら 1990)。

食事からの曝露については、食品からのクロロホルムの検出例として、乳製品 (チーズ、バター) に1 µg/g前後の高濃度で含まれる場合があること (Heikesら 1987)、小麦でも平均で0.829 µg/g検出されること (Heikes & Hopper 1986)、豆腐、白滝等からも高濃度のクロロホルムが検出されること (眞柄 1990、斉藤 1990)、コーヒー (20 µg/g)、オリーブ油 (28 µg/g)、豚肉 (10 µg/g)、ソーセージ (17 µg/g) から検出されること (Bauer 1981) などが報告されている。米国でのマーケットバスケット調査では、549試料の68%から0.002~0.83 µg/gのクロロホルムが検出され、食品中のクロロホルムの平均濃度が0.071 µg/gと報告されている (Daft 1989)。また、清涼飲料中からは3~50 µg/Lのクロロホルムが検出されている (Abdel-Rahman 1982, Entzら 1982, Wallaceら 1984)。WHOは、これらの調査結果に基づき、大人の食事によるクロロホルムの体重あたりの曝露量を1µg/kg/日としている (WHO 1994)。

一方、2002年度の水道水中のクロロホルムの平均濃度は75%の浄水場で不検出 (6 µg/L以下) であったが、1つの浄水場では60 µg/Lの水道水水質基準を超えて検出されている (日本水道協会 2005)。

仮に水道水水質基準と同じクロロホルムを含む水道水を大人が2 L、子供が1 L飲むとすると、飲み水によるクロロホルムの曝露量は、大人が120 µg/日、子供が60µg/日となる。しかし、大部分の浄水場では水道水中のクロロホルム濃度は6 µg/L以下であったので、飲み水によるクロロホルムの平均曝露量は、大人が12 µg/日以下、子供が6 µg/日以下と算定される。

これらの結果を総合すると、クロロホルムは屋外大気、室内空気、食事など多様な経路から曝露されると考えられる。しかし、どの経路が大きな曝露をもたらすかは、それぞれの媒体の汚染状況によって大きく変化する。高濃度のクロロホルムを含んだ水を用いると、シャワーやプールなどでの呼吸や皮膚吸収によりクロロホルムの曝露量がさらに大きくなる可能性がある。

4. 総合評価

近年、大気環境中の有機化合物の測定及び健康影響に関する研究の進歩は著しく、多くの知見が集積されているが、なお不明確なところもあり、今後の解明を待つべき課題が少なくない。中央環境審議会大気環境部会健康リスク総合専門委員会ではこのことを十分認識しつつ、現段階でのクロロホルムの健康影響に関する知見から、現時点におけるクロロホルムのヒトへの健康影響に関する判定条件について、以下の評価を行った。

(1) 代謝及び体内動態について

クロロホルムは、経口、吸入、経皮のいずれの経路からも急速に吸収され、体内各部に分布した後、そのままの形あるいは二酸化炭素として呼気から排出される。クロロホルムはチトクロームP450 (CYP) により酸化と還元の両方の代謝を受けるが、低濃度曝露の時には酸化反応 (CYP2E1) が主であり、還元反応は生理学的条件化では起こらないか、起こっても僅かである。酸化反応では、組織との反応性が高い代謝物 (特にホスゲン) を産生し、組織障害や細胞死を引き起こす。半減期は13分から90分と短く、蓄積性・残留性もない。

(2) 種差・個体差について

クロロホルムは、マウス、ラットでは肝臓及び腎臓で代謝されるが、ヒト肝ミクロソームにおける代謝能はマウスやラットに比べると大幅に低く、ヒト腎ミクロソームでは代謝活性が認められない。生理学的速度論 (PBPK) モデルを用いた計算によると、10 ppm 曝露時のマウスにおける代謝速度と等しくなるためのヒトへの曝露濃度は、マウスの10倍以上であった。ヒトの個体差に関する目立った知見はない。

また、クロロホルムは、それ自体ではなく、その代謝産物が有害性を発現することから、クロロホルムの代謝能が、有害性の発現の程度と関係している。よって、クロロホルムのヒトに対する有害性の発現の程度についてはマウスやラットに対するものよりも弱いと考えられる。

(3) 発がん性について

(3-1) 発がん性の有無について

クロロホルムについては、以下の理由により、ヒトに対する発がん性に関する情報が必ずしも十分ではないものの、ヒトへの発がん性の可能性があると判断する。

- ・ 幾つかのヒトの疫学研究では、クロロホルム以外の副産物の影響は完全に無視できないものの、塩素処理水の飲用によって膀胱がんの発生を認めていること。
- ・ 動物実験では、イヌに対する経口投与実験において、発がんを認めなかったとする知見があるものの、マウスに対する経口投与実験及び吸入曝露実験においては、尿細管腫瘍あるいは肝細胞腫瘍の発生が有意に増加したとする知見があり、また、ラットに対する経口投与実験においても、尿細管腫瘍の発生が有意に増加したとする知見があることなど、発がん性を示す十分な証拠があること。

- ・発がんのメカニズムについては、多くの動物実験や変異原性試験などから、クロロホルムの代謝産物が肝臓及び腎臓において細胞毒性を発現し、その修復過程において細胞増殖を介する発がんが起こるとするメカニズムの存在が強く示唆されていること。
- ・マウス及びラットとヒトとの間に、クロロホルムに係る代謝メカニズムや発がんメカニズムの違いを示す明確な知見はないこと。
- ・ヒトへの発がん性を否定する目立った知見はないこと。

(3-2) 閾値の有無について

クロロホルムについては、以下の理由により、発がん性に係る閾値が存在するものと判断する。

- ・変異原性試験においては、陰性の結果を示す知見が多く、遺伝子障害性がない、又はあっても弱いと考えられること。
- ・クロロホルムの代謝産物が、肝臓及び腎臓において細胞毒性を発現し、その修復過程において細胞増殖を介する発がんが起こるとする発がんのメカニズムの存在が強く示唆されること。

(4) 発がん以外の有害性について

ヒトの疫学研究からは、クロロホルムの吸入曝露による主たる急性毒性として、麻酔作用が認められ、稀に肝壊死、腎尿細管壊死による肝不全、腎不全や心筋の断裂、不整脈等による心不全が認められている。また、慢性毒性としては、一部で黄疸等が報告されているが、量 - 反応関係に疑問点が多いと評価されている。ヒトの生殖発生毒性に関する目立った知見はない。

動物実験においては、主たる急性毒性として、吸入曝露及び経口投与のいずれにおいても、麻酔作用、神経行動影響、肝細胞壊死、腎尿細管壊死が認められている。また、慢性毒性としては、吸入曝露及び経口投与のいずれにおいても、肝臓・腎臓内の組織学的な変化、血清中の酵素レベルの変動、鼻腔における骨化・壊死・増生・化生等が認められている。さらに、吸入曝露実験では、肝臓及び腎臓の重量変化も認められている。動物実験における生殖発生毒性に関する目立った知見はない。

動物実験で見られたこれらの発がん性以外の有害性については、クロロホルムに係る代謝メカニズムや有害性の発現メカニズムに関する種差の存在を積極的に示す知見はないことから、ヒトにおいても発現する可能性があるものと考えられる。

(5) 用量 - 反応アセスメント

クロロホルムに係る発がん性及び発がん性以外の有害性については、以下の理由により、ヒトの疫学研究を基本とした用量 - 反応アセスメントを行うことは困難であるものの、動物実験データを基本とした用量 - 反応アセスメントを行うことは可能であると考えられる。

- ・発がん性及び発がん性以外の有害性に関するヒトの疫学研究では、量 - 反応関係を示す知見が乏しいこと。
- ・実験動物を用いた吸入曝露実験では、発がん性及び発がん性以外の有害性に関する量 - 反応関係を示す知見が幾つか存在すること。
- ・クロロホルムに係る発がん性及び発がん性以外の有害性については、量 - 反応関係に種差は認め

られるものの、代謝メカニズムや発がん及び発がん性以外の有害性に係る発現メカニズムについては種差が認められる明確な知見はないこと。

具体的には、実験動物を用いた吸入曝露実験のうち、曝露点が多数あり、量 - 反応関係が明確であるとともに最新のデータであることなどの観点から、Yamamotoら(2002)(鼻腔の所見に関しては、詳細データは同一の研究を報告した中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター(1994)を参照した。)の知見を用いることとし、発がん性については雄マウスの腎がんに関する知見(NOEL(No Observed Adverse Effect Level; 無毒性量)5 ppm(25 mg/m³))を、発がん性以外の有害性については雄マウスの鼻腔の骨肥厚、萎縮及び嗅上皮の呼吸上皮化生に関する知見(LOEL(Lowest Observed Adverse Effect Level; 最小毒性量)5 ppm(25 mg/m³))をそれぞれ用いて、用量 - 反応アセスメントを行うこととした。

(6) 曝露評価について

クロロホルムは塩素処理によって水道水に含まれ、また食品にも含まれるため、呼吸だけでなく、飲料水や食品の摂取によっても曝露される。環境省の化学物質環境汚染実態調査では、環境大気の吸入と食事に伴う曝露量がほぼ同じレベルにあり、また、シャワー、風呂、炊事での水道水の利用などにより室内空気の濃度は環境大気よりも高く、環境大気の数倍のクロロホルムに曝露されている。

環境大気における曝露評価については、2004年度の有害大気汚染物質モニタリング調査結果の一般環境の平均値に基づけば、環境大気からの1日当たりのクロロホルムの平均的な曝露量は大人0.072µg/kg/日、子供0.144 µg/kg/日と見積もられる。

5. 指針値の提案について

(1) 発がん性に係る評価値の算出について

クロロホルムについては、ヒトへの発がん性の可能性があるものの、ヒトの疫学研究では量 - 反応関係を示す十分な知見が得られていないため、当該疫学研究から発がん性に係る評価値を算出することは困難である。

一方、動物実験では、既に発がん性に関する一定の知見が得られており、かつ、発がん性に係るメカニズムには種差があるという明確な知見がないことから、「今後の有害大気汚染物質対策のあり方について(中央環境審議会：第7次答申)」に定める「指針値算出の具体的手順」(以下「指針値算出手順」とする。)に従い、動物実験の結果をヒトに外挿することにより、有害性に係る評価値を算出することとする。

当該値の算出に当たっては、曝露点が多数あり、量 - 反応関係が明確であるとともに最新のデータであることなどから、Yamamotoら(2002)の雄マウスへの2年間の吸入曝露実験の結果を用いることとする。具体的には、当該動物実験の結果において、腎がんが有意な増加を示さない濃度である5 ppm(25 mg/m³)をNOELとし、トキシコカインेटィクス(体内動態)及びトキシコダイナミクス(感受性)を踏まえた種差、個体差(乳幼児や高齢者等を含む)並びに発がんの影響の重大性を考慮した不確実係数(250)に加え、断続曝露から連続曝露への補正(24時間/6時間×7日/5日=5.6)を加味し

た総合的な係数(1,400)を用いることが適当と考える。

以上より、クロロホルムの発がん性に係る評価値は $18 \mu\text{g}/\text{m}^3$ と算出される。

(2) 発がん性以外の有害性に係る評価値の算出について

クロロホルムについては、ヒトへの発がん性以外の有害性を示す知見が幾つか存在するものの、ヒトの疫学研究では量 - 反応関係を示す十分な知見が得られていないため、当該疫学研究から発がん性以外の有害性に係る評価値を算出することは困難である。

一方、動物実験では、既に発がん性以外の有害性に関する一定の知見が得られており、かつ、発がん性以外の有害性に係るメカニズムには種差があるという明確な知見がないことから、「今後の有害大気汚染物質対策のあり方について(中央環境審議会：第7次答申)」に定める「指針値算出手順」に従い、動物実験の結果をヒトに外挿することにより、有害性に係る評価値を算出することとする。

当該値の算出に当たっては、曝露点が多数あり、量 - 反応関係が明確であるとともに最新のデータであることなどから、雄マウスへの2年間の吸入曝露の結果(Yamamotoら 2002)(詳細データは同一の研究を報告した中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター(1994)を参照した。)を用いることとする。具体的には、当該動物実験の結果において鼻腔の骨肥厚、萎縮及び嗅上皮の呼吸上皮化生を引き起こす最低濃度である5 ppm ($25 \text{ mg}/\text{m}^3$)をLOAELとし、LOAELを用いること、トキシコカインेटィクス(体内動態)及びトキシコダイナミクス(感受性)を踏まえた種差並びに個体差(乳幼児や高齢者等を含む。)を考慮した不確実係数(250)に加え、断続曝露から連続曝露への補正($24\text{時間}/6\text{時間} \times 7\text{日}/5\text{日} = 5.6$)を加味した総合的な係数(1,400)を用いることが適当と考える。

以上より、クロロホルムの発がん性以外の有害性に係る評価値は $18 \mu\text{g}/\text{m}^3$ と算出される。

(3) 指針値の提案について

発がん性に係る評価値及び発がん性以外の有害性に係る評価値は、ともに $18 \mu\text{g}/\text{m}^3$ と算出された。よって、クロロホルムの指針値を年平均値 $18 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 以下とすることを提案する。

この指針値を大気濃度の調査結果と比較すると、有害大気汚染物質モニタリング調査では、2004年度までにこの指針値を超えて検出された例は見られない。

なお、この指針値については、現時点で収集可能な知見を総合的に判断した結果、提案するものであり、今後の研究の進歩による新しい知見の集積に伴い、随時、見直していくことが必要である。

文 献

- Abdel-Rahman HS (1982) The presence of trihalomethanes in soft drinks. *J Appl Toxicol* 2: 165-166.
- Aiking H, van Acker MB, Scholten RJ, Feenstra JF & Valkenburg HA (1994) Swimming pool chlorination: a health hazard? *Toxicol Lett* 72: 375-80.
- Alavanja M, Goldstein I and Susser M (1980) A case control study of gastrointestinal and urinary tract cancer mortality and drinking water chlorination. In: Jolley, R., Brungs, W.A. & Cumming, R.B., Eds, *Water Chlorination. Environmental Impact and Health Effects*, Vol. 3, Ann Arbor, Ann Arbor Science Publishers, pp.395-409.
- American Conference of Governmental Industrial and Hygienists (ACGIH) (2002) Documentation of TLVs and BEIs. Cincinnati, OH.
- Amet Y, Berthou F, Fournier G, Dreano Y, Bardou L, Cledes J and Menez JF (1997) Cytochrome P450 4A and 2E1 expression in human kidney microsomes, *Biochem Pharmacol* 53: 765-771.
- Ammann P, Laethem CL and Kedderis GL (1998) Chloroform-induced cytolethality in freshly isolated male B6C3F₁ mouse and F-344 rat hepatocytes. *Toxicol Appl Pharmacol* 149: 217-225.
- Anon (1997) Reproductive toxicology. Chloroform. *Environ Health Perspect* 105 (Suppl I) : 285-286.
- Araki A, Kamigaito N, Sasaki T and Matsushima T (2004) Mutagenicity of carbontetrachloride and chloroform in *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, and TA1537, and *Escherichia coli* WP2uvrA/pKM101 and WP2/pKM101, using a gas exposure method. *Environ Mol Mutagen* 43: 12-133.
- Balster RL and Borzelleca JF (1982) Behavioral toxicity of trihalomethane contaminants of drinking water in mice. *Environ Health Perspect* 46: 127-136.
- Batjer K, Gabel B, Koschorrek M, Lahl U, Lierse Kw, Stachel B and Thiemann W (1980) Drinking water in bremen tri halo methanes and social costs a case study of bromoform formation during chlorination of river water highly contaminated with bromide ions. *Sci Total Environ* 14: 287-292.
- Bauer U (1981) Human exposure to environmental chemicals-Investigations on volatile organic halogenated compounds in water, air, food and human tissues. . Communication: Results of investigations. *Zbl. Bakt. Hyg., 1. Abt Orig*, B174: 200-237.
- Beech JA (1980) Estimated worst case trihalomethane body burden of a child using swimming pool. *Medical Hypotheses* 6: 303-307.
- Bomski HA, Sobdewska A and Strakowski A (1967) [Toxic damage of the liver by chloroform in chemical industry workers.] *Int Arch Gewerbepathologie und Gewerbehygiene*. 24: 127-134 [in German]
- Brady JF, Li D, Ishizaki H, Lee M, Ning SM, Xiao F and Yang CS (1989) Induction of cytochromes P450IIE1 and P450IIB1 by secondary ketones and the role of P450IIE1 in chloroform metabolism. *Toxicol Appl Pharmacol* 100: 342-349.

- Brennan RJ and Schiestl RH (1998) Chloroform and carbon tetrachloride induce intrachromosomal recombination and oxidative free radicals in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutat Res* 397: 271-278.
- Brenniman GR, Vasilomanolakis-Lagos J, Amsel J, Namekata T and Wolff AH (1980) Case-control study of cancer deaths in Illinois communities served by chlorinated or nonchlorinated water. In: Jolley, R., Brungs, W.A. & Cumming, R.B., Eds, *Water Chlorination. Environmental Impact and Health Effects*, Vol. 3, Ann Arbor, Ann Arbor Science Publishers, pp.1043-1057.
- Brown DM, Langley PF, Smith D and Taylor DC (1974a) Metabolism of chloroform. I. The metabolism of [¹⁴C] chloroform by different species. *Xenobiotica* 4: 151-163.
- Brown-Woodman PD, Hayes LC, Huq F, Herlihy C, Picker K and Webster WS (1998) In vitro assessment of the effect of halogenated hydrocarbons: chloroform, dichloromethane, and dibromoethane on embryonic development of the rat. *Teratology* 57: 321-333.
- Burkhalter JE and Balster RL (1979) Behavioral teratology evaluation of trichloromethane in mice. *Neurobehav Toxicol* 1: 199-205.
- Butterworth BE, Templin MV, Constan AA, Sprankle CS, Wong BA, Pluta LJ, Everitt JI and Recio L (1998) Long-term mutagenicity studies with chloroform and dimethylnitrosamine in female lacI transgenic B6C3F1 mice. *Environ Mol Muagen* 31: 248-256.
- California Environmental Protection Agency (CalEPA) (2000) Chronic toxicity summary. Chloroform. Determination of noncancer chronic reference exposure levels batch 1B: A1-A8.
- Callen DF, Wolff CR and Philpot RM (1980) Cytochrome P-450 mediated genetic activity and cytotoxicity of seven halogenated aliphatic hydrocarbons in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutat Res* 77: 55-63.
- Cantor KP, Hoover R, Hartge P, Mason TJ, Silverman DT, Altman R, Austin DF, Child MA, Key CR and Marrett LD (1987) Bladder cancer, drinking water source, and tap water consumption: a case-control study. *J Natl Cancer Inst* 79: 1269-1279.
- Cantor KP, Lynch CF, Hildesheim ME, Dosemeci M, Lubin J, Alavanja M and Craun G (1998) Drinking water source and chlorination byproducts. I. Risk of bladder cancer. *Epidemiol* 9: 21-28.
- 中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター (1994) 厚生労働省 (旧労働省) 委託 クロロホルムのラット及びマウスを用いた吸入によるがん原性試験報告書.
- 中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター (1997) 複数媒体汚染化学物質環境安全性点検評価調査報告書、平成 8 年度環境省請負業務報告書.
- Clemens TL, Hill RN, Bullock LP, Johnson WD, Sultatos LG and Vesell ES (1979) Chloroform toxicity in the mouse: role of genetic factors and steroids. *Toxicol Appl Pharmacol* 48: 117-130.
- Coffin JC, Ge R, Yang S, Kramer PM, Tao L and Pereira MA (2000) Effect of trihalomethanes on cell proliferation and DNA methylation in female B6C3F1 mouse liver. *Toxicol Sci* 58:

243-252.

- Constan AA, Sprankle CS, Peters JM, Kedderis GL, Everitt JI, Wong BA, Gonzalez FL and Butterworth BE (1999) Metabolism of chloroform by cytochrome P450 2E1 is required for induction of toxicity in the liver, kidney, and nose of male mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 160: 120-126.
- Constan AA, Wong BA, Everitt JI, Butterworth BE (2002) Chloroform inhalation exposure conditions necessary to initiate liver toxicity in female B6C3F₁ mice. *Toxicol Sci* 66: 201-208.
- Corley RA, Mendrala AL, Smith FA, Staats DA, Gargas ML, Conolly RB, Andersen ME and Reitz RH (1990) Development of a physiologically based pharmacokinetic model for chloroform. *Toxicol Appl Pharmacol* 103: 512-527.
- Daft JA (1989) Determination of fumigants and related chemicals in fatty and non-fatty food. *J Agric Food Chem* 37: 560-564.
- Daniel FB, DeAngelo AB, Stober JA, Pereira MA and Olson GR (1989) Chloroform inhibition of 1,2-dimethylhydrazine-induced gastrointestinal tract tumors in the Fisher 344 rat. *Fundam Appl Toxicol* 13: 40-45.
- de Serres FJ and Ashby J (Eds) (1981) Evaluation of short-term tests for carcinogens : report of the international collaborative program / Progress in mutation research. Vol.1, New York : Elsevier/North-Holland, pp.827.
- DeAngelo AB, George MH, Kilburn S and Geter DR (2003) The failure of chloroform administered in the drinking water to induce renal cell cancer in the F344/N rat. *Toxicologist*, S-1: 84 (Abstract 405).
- Delic JI, Lilly PD, MacDonald AJ and Loizou GD (2000) The utility of PBPK in the safety assessment of chloroform and carbon tetrachloride. *Regul Toxicol Pharmacol* 32: 144-155.
- Delker DA, Yano BL and Gollapudi BB (1999) V-Ha-ras gene expression in liver and kidney of transgenic Tg.AC mice following chemically induced tissue injury. *Toxicol Sci* 50: 90-97.
- Deml E and Oesterle D (1985) Dose-dependent promoting activity of chloroform in rat liver foci bioassay. *Cancer Lett* 29: 59-63.
- Deml E and Oesterle D (1987) Dose-response of promotion by polychlorinated biphenyls and chloroform in rat liver foci bioassay. *Arch Toxicol* 60: 209-211.
- Deringer MK, Dunn TB and Heston WE (1953) Results of exposure of strain C3H mice to chloroform. *Proc Soc Exp Biol NY*. 83: 474-478.
- Deutsche Forschungsgemeinschaft (2003) List of MAK and BAT Values. Maximum concentrations and Biological Tolerance Values at the Workplace.
- Diaz-Gomez MI and Castro JA (1980a) Covalent binding of chloroform metabolites to nuclear protein-No evidence for binding to nucleic acids. *Cancer Lett* 9: 213-218.
- Ding X and Kaminsky LS (2003) Human extrahepatic cytochromes P450: function in xenobiotic metabolism and tissue-selective chemical toxicity in the respiratory and gastrointestinal tracts. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 43: 149-173.

- Dodds L and King WD (2001) Relation between trihalomethane compounds and birth defects. *Occup Environ Med* 58: 443-446.
- Doyle TJ, Zheng W, Cerhan JR, Hong CP, Sellers TA, Kushi LH and Folsom AR (1997) The association of drinking water source and chlorination by-products with cancer incidence among postmenopausal women in Iowa: a prospective cohort study. *Am J Public Health* 87: 1168-1176.
- Entz RC, Thomas KW and Diachenko GW (1982) Residues of volatile halocarbons in foods using headspace gas chromatography. *J Agric Food Chem* 30: 846-849.
- Environment Canada and Health Canada (ECHC) (1999) Priority substances list assessment report: Chloroform. Cat. no. En40-215/56E.
- Fawell J (2000) Risk assessment case study--chloroform and related substances. *Food Chem Toxicol* 38: S91-S95.
- Frantík E, Vodičková L, Hornychová M and Nosek M(1998) Relative subnarcotic potency of solvents predicted by partition coefficients. *Central European Journal of Occupational and Environmental Medicine* 4: 25-35.
- Fry BJ, Taylor T and Hathway DE (1972) Pulmonary elimination of chloroform and its metabolite in man. *Arch Int Pharmacodyn* 196: 98-111 (as cited in USEPA 2001b).
- Fujie K, Aoki T and Wada M (1990) Acute and subacute cytogenetic effects of the trihalomethanes on rat bone marrow cells in vivo. *Mutat Res* 242: 111-119.
- Fujie K, Aoki T. and Wada M. (1990) Acute and subacute cytogenetic effects of the trihalomethanes on rat bone marrow cells in vivo. *Mutat. Res.*, 242, 111-119
- Gemma S, Faccioli S, Chieco P, Sbraccia M, Testai E and Vittozzi L (1996) In vivo CHCl₃ bioactivation, toxicokinetics, toxicity, and induced compensatory cell proliferation in B6C3F₁ male mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 141: 394-402.
- Gemma S, Vittozzi L and Testai E (2003) Metabolism of chloroform in the human liver and identification of the competent P450s. *Drug Metab Dispos* 31: 266-274.
- Gocke E, King MT, Eckhardt K and Wild D (1981) Mutagenicity of cosmetics ingredients licensed by the European Communities. *Mutat. Res.*, 90, 91-109
- Golden RJ, Holm SE, Robinson DE, Julkunen PH and Reese EA (1997) Chloroform mode of action: implications for cancer risk assessment. *Regulatory Toxicol Pharmacol* 26: 142-155.
- Goodman LS and Gilman A (Eds.) (1970) *The pharmacological basis of therapeutics: a textbook of pharmacology, toxicology, and therapeutics for physicians and medical students.* 4th ed. New York, NY, McMillan Co. pp.1794.
- Gottlieb MS and Carr JK (1982) Case-control cancer mortality study and chlorination of drinking water in Louisiana. *Environ Health Perspect* 46: 169-177.
- Gottlieb MS, Carr JK and Clarkson JR (1982) Drinking water and cancer in Louisiana. A retrospective mortality study. *Am J Epidemiol* 116: 652-667.
- Gottlieb MS, Carr JK and Morris DT (1981) Cancer and drinking water in Louisiana: colon and rectum. *Int J Epidemiol* 10: 117-125.

- Gradiski D, Bonnet P, Raoult G and Magadur JL (1978) Toxicite aigue comparee par inhalation des principaux solvants aliphatiques chlores. Archives des Maladies Professionnelles de Medecine du Travail et de Securite Sociale 39: 249-257.
- Gualandi, G. (1984) Genotoxicity of the free-radical producers CC14 and lipoperoxide in Aspergillus nidulans. Mutat. Res., 136, 109-114.
- Harada K, Ichiyama T, Ikeda H, Ishihara T and Yoshida K (1997) An autopsy case of acute chloroform intoxication after intermittent inhalation for years. Nippon Hoigaku Zasshi 51: 319-323.
- Hard GC, Boorman GA and Wolf DC (2000) 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. Toxicol Sci 53: 237-244.
- Heikes DL and Hopper ML (1986) Purge and trap method for determination of fumigants in whole grains, milled grain products, and intermediate grainbased foods. J Assoc Off Anal Chem 69: 990-998.
- Heikes DL (1987) Purge and trap method for determination of volatile halocarbons and carbon sulfide in table-ready foods. J Assoc Off Anal Chem 70: 215-226.
- Heineman EF, Cocco P, Gomez MR, Dosemeci M, Stewart PA, Hayes RB, Zahm SH, Thomas TL and Blair A (1994) Occupational exposure to chlorinated aliphatic hydrocarbons and risk of astrocytic brain cancer. Am J Ind Med 26: 155-169.
- Heywood R, Sortwell RJ, Noel PR, Street AE, Prentice DE, Roe FJ, Wadsworth PF, Worden AN and Van Abbe NJ (1979) Safety evaluation of toothpaste containing chloroform. III. Long-term study in beagle dogs. J Environ Pathol Toxicol 2: 835-851.
- Hildesheim ME, Cantor KP, Lynch CF, Dosemeci M, Lubin J, Alavanja M and Craun G (1998) Drinking water source and chlorination byproducts. II Risk of colon and rectal cancers. Epidemiol 9: 29-35.
- Hill RN, Clemens TL, Liu DK, Vesell ES and Johnson WD (1975) Genetic control of chloroform toxicity in mice. Science 190: 159-161.
- Hoechst (1988) Inhalation embryotoxicity study of chloroform in Wistar rats. Frankfurt, Pharma Research Toxicology and Pathology, Hoechst Celanese Group. Submitted to Dow Chemical Company. Toxic Substances Control Act submission. "Initial submission: Inhalation embryotoxicity study with chloroform in Wistar rats with cover letter dated 072492" (Document ID 88-920005781; Microfiche No. OTS0544564).
- Hoechst (1990) Chloroform: Supplementary inhalation embryotoxicity study in Wistar rats. Frankfurt, Pharma Development Toxicology, Hoechst Celanese Group. Submitted to Dow Chemical Company. Toxic Substances Control Act submission. "Initial submission: Chloroform: Supplementary inhalation embryotoxicity study in Wistar rats (final report) with attachments and cover letter dated 122491" (Document ID 88-920000566; Microfiche No. OTS0535017).
- Hoechst (1993) Supplementary inhalation embryotoxicity study of chloroform in Wistar rats.

- Frankfurt, Hoechst Celanese Group. Toxic Substances Control Act submission. "Support: Supplementary inhalation embryotoxicity study of chloroform in Wistar rats - study amendments, with cover letter dated 062593" (Document ID 89-930000184; Microfiche No. OTS0535017-1).
- Ilett KF, Reid WD, Sipes IG and Krishna G (1973) Chloroform toxicity in mice: correlation of renal and hepatic necrosis with covalent binding of metabolites to tissue macromolecules. *Exp Mol Pathol* 19: 215-229.
- International Agency for Research on Cancer (IARC) (1979) Some halogenated hydrocarbons. IARC Monogr Eval Carcinog Risk Chem Hum. Vol 20, pp.401-427, Lyon.
- International Agency for Research on Cancer (IARC) (1999) Some chemicals that cause tumours of the kidney or urinary bladder in rodents, and some other substances. IARC Monogr Eval Carcinog Risk Chem Hum. Vol.73, pp.131-182. Lyon.
- Jagannath DR, Vultaggio DM and Brusick DJ (1981) Genetic activity of 42 coded compounds in the mitotic gene conversion assay using *Saccharomyces cerevisiae* strain D4. In: de Serres, F.J. & Ashby, J., eds, *Progress in Mutation Research, Vol. 1, Evaluation of Short-term Tests for Carcinogens. Report of the International Collaborative Program*, New York, Elsevier/North-Holland, pp. 456-467.
- Jamison KC, Larson JL, Butterworth BE, Harden R, Skinner BL and Wolf DC (1996) A non-bile duct origin for intestinal crypt-like ducts with periductular fibrosis induced in livers of F344 rats by chloroform inhalation. *Carcinogenesis* 17: 675-682.
- Jo WK, Weisel CP and Liroy PJ (1990) Chloroform exposure and health risk associated with multiple uses of chlorinated tap water. *Risk Anal* 10: 581-585.
- Jo WK, Weisel CP and Liroy PJ (1990) Chloroform exposure and health risk associated with multiple uses of chlorinated tap water. *Risk Anal* 10: 581-585.
- Jorgenson TA, Meierhenry EF, Rushbrook CJ, Bull RJ and Robinson M (1985) Carcinogenicity of chloroform in drinking water to male Osborne-Mendel rats and female B6C3F₁ mice. *Fund Appl Toxicol* 5: 760-769.
- 化学工業日報社 (2005) 14705 の化学商品、東京.
- Kanarek MS and Young TB (1982) Drinking water treatment and risk of cancer death in Wisconsin. *Environ Health Perspect* 46: 179-186.
- 環境省環境管理局大気環境課・自動車環境対策課 (2004) 平成 15 年度 地方公共団体等における有害大気汚染物質モニタリング調査結果.
- 環境省環境管理局大気環境課・自動車環境対策課 (2005) 平成 16 年度 地方公共団体等における有害大気汚染物質モニタリング調査結果.
- 環境省環境保健部環境安全課 (2003) 平成 14 年度版 化学物質と環境、財団法人 日本環境協会、東京.
- 環境庁環境保健部保健調査室 (1980) 昭和 55 年版 化学物質と環境、財団法人 日本環境協会、東京.
- 環境庁環境保健部保健調査室 (1981) 昭和 56 年版 化学物質と環境、財団法人 日本環境協会、東京.

京.

環境庁環境保健部保健調査室 (1984) 昭和 59 年版 化学物質と環境、財団法人 日本環境協会、東京.

Kasai T, Nishizawa T, Arito H, Nagano K, Yamamoto S, Matsushima T and Kawamoto T (2002) Acute and Subchronic inhalation toxicity of chloroform. *J Occup Health* 44: 193-202.

Kassinova GV, Kovaltsova SV, Marfin SV and Zakharov IA (1981) Activity of 40 coded compounds in differential inhibition and mitotic crossing-over assays in yeast. In: de Serres, F.J. & Ashby, J., eds, *Progress in Mutation Research, Vol. 1, Evaluation of Short-term Tests for Carcinogens. Report of the International Collaborative Program*, New York, Elsevier/North-Holland, pp. 434-455.

Keegan TE, Simmons JE and Pegram RA (1998) NOAEL and LOAEL determinations of acute hepatotoxicity for chloroform and bromodichloromethane delivered in an aqueous vehicle to F344 rats. *J Toxicol Environ Health A* 55: 65-75.

経済産業省 (2005) 産業構造審議会化学・バイオ部会リスク管理小委員会有害大気汚染物質対策 WG 資料.

経済産業省・環境省 (2005a) 平成 15 年度 PRTR データの概要 - 化学物質の排出量・移動量の集計結果 - .

経済産業省・環境省 (2005b) 平成 15 年度 PRTR 届出外排出量の推計方法等の概要.

Kimura ET, Ebert DM and Dodge PW (1971) Acute toxicity and limits of solvent residue for sixteen organic solvents. *Toxicol Appl Pharmacol* 19: 699-704.

King WD, Dodds L and Allen AC (2000) Relation between stillbirth and specific chlorination by-products in public water supplies. *Environ Health Perspect.* 108: 883-886.

Kirkland, D.J., Smith, K.L. & Van Abbe, N.J. (1981) Failure of chloroform to induce chromosome damage or sister-chromatid exchanges in cultured human lymphocytes and failure to induce reversion in *Escherichia coli*. *Food Cosmet. Toxicol.*, 19, 651-656.

Kitchin KT and Brown JL (1989) Biochemical effects of three carcinogenic chlorinated methanes in rat liver. *Teratog Carcinog Mutag* 9: 61-69.

Klaunig JE, Ruch RJ and Pereira MA (1986) Carcinogenicity of chlorinated methane and ethane compounds administered in drinking water to mice. *Environ Health Perspect* 69: 89-95.

Kluwe WM (1981) The nephrotoxicity of low molecular weight halogenated alkane solvents, pesticides, and chemical intermediates. In: Hook JB, ed. *Toxicology of the kidney*. New York, NY, Raven Press, pp. 179-226.

Kramer MD, Lynch CF, Isacson P and Hanson JW (1992) The association of waterborne chloroform with intrauterine growth retardation. *Epidemiology* 3: 407-413.

Lahl U, Baetjer K, Dueszelin JV, Gabel B, Stachel B and Thiemann W (1981) Distribution and balance of volatile halogenated hydrocarbons in the water and air of covered swimming pools using chlorine for water disinfection. *Water Res* 15: 803-814.

Land PC, Owen EL and Linde HW (1981) Morphologic changes in mouse spermatozoa after exposure to inhalational anesthetics during early spermatogenesis. *Anesthesiology* 54:

53-56.

- Larson JL, Templin MV, Wolf DC, Jamison KC, Leininger JR, Mery S, Morgan KT, Wong BA, Conolly RB and Butterworth BE (1996) A 90-day chloroform inhalation study in female and male B6C3F₁ mice: implications for cancer risk assessment. *Fundam Appl Toxicol* 30: 118-137.
- Larson JL, Wolf DC and Butterworth BE (1993) Acute hepatotoxic and nephrotoxic effects of chloroform in male Fischer 344 rats and female B6C3F₁ mice. *Fundam Appl Toxicol* 20: 302-315.
- Larson JL, Wolf DC and Butterworth BE (1995a) 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* 95: 73-86.
- Larson JL, Wolf DC, Butterworth BE (1994a) Induced cytotoxicity 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. *Fundam Appl Toxicol* 22: 90-102.
- Larson JL, Wolf DC, Mery S, Morgan KT and Butterworth BE (1995b) Toxicity and cell proliferation in the liver, kidneys and nasal passages of female F-344 rats, induced by chloroform administered by gavage. *Food Chem Toxicol* 33: 443-456.
- Larson JL, Wolf DC, Morgan KT and Butterworth BE (1994c) Induced cytolethality and regenerative cell proliferation in the livers and kidneys of male B6C3F₁ mice given chloroform by gavage. *Fundam Appl Toxicol* 23: 537-543.
- Larson JL, Wolf DC, Morgan KT, Mery S and Butterworth BE (1994b) The toxicity of 1-week exposures to inhaled chloroform in female B6C3F₁ mice and male F-344 rats. *Fundam Appl Toxicol* 22: 431-446.
- Larson JL, Sprankle CS and Butterworth BE (1994d) Lack of chloroform-induced DNA repair in vitro and in vivo in hepatocytes of female B6C3F₁ mice. *Environ. mol. Mutag* 23: 132-136.
- Lawrence CE, Taylor PR, Trock BJ and Reilly AA (1984) Trihalomethanes in drinking water and human colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 72: 563-568.
- Le Curieux, F., Gauthier, L., Erb, F. & Marzin, D. (1995) Use of the SOS chromotest, the Ames fluctuation test and the newt micronucleus test to study the genotoxicity of four trihalomethanes. *Mutagenesis*, 10, 333-341.
- Levesque B, Ayotte P, Tardif R, Charest-Tardif G, Dewailly E, Prud'Homme D, Gingras G, Allaire S and Lavoie R (2000a) Evaluation of the health risk associated with exposure to chloroform in indoor swimming pools. *J Toxicol Environ Health A* 61: 225-243.
- Levesque B, Ayotte P, Tardif R, Ferron L, Gingras S, Schlouch E, Gingras G, Levallois P and Dewailly E (2002b) Cancer risk associated with household exposure to chloroform. *J Toxicol Environ Health A* 65: 489-502.
- Li LH, Jiang XZ, Liang YX, Chen ZQ, Zhou YF and Wang YL (1993) Studies on the toxicity and maximum allowable concentration of chloroform. *Biomed Environ Sci.* 6: 179-186.
- Lykins BW and Koffsky W (1986) Products identified at an alternative disinfection pilot plant.

- Environ Health Perspect 69: 119-127.
- 松本道治、有藤平八郎、長野嘉介、山本清護、松島泰次郎 (2003) ラット及びマウスの腫瘍性・非腫瘍性病変を用いたクロロホルムのリスクアセスメント .産業衛生学雑誌 45(臨時増刊号): 557.
- 眞柄泰基 (1990) 飲料水を介する発がん関連物質の実態把握手法に関する研究 . 厚生科学研究 (対がん戦略研究事業) 生活環境における発がん関連物質への曝露実態の総合的把握と評価に関する研究 .
- McGeehin MA, Reif JS, Becher JC and Mangione EJ (1993) Case-control study of bladder cancer and water disinfection methods in Colorado. *Am J Epidemiol* 138: 492-501.
- Mehta RD and von Borstel RC (1981) Mutagenic activity of 42 encoded compounds in the haploid yeast reversion assay, strain XV185-14C. In: de Serres, F.J. & Ashby, J., eds, *Progress in Mutation Research, Vol. 1, Evaluation of Short-term Tests for Carcinogens. Report of the International Collaborative Program*, New York, Elsevier/North-Holland, pp. 414-423.
- Melnick RL, Kohn MC, Dunnick JK and Leininger JR (1998) Regenerative hyperplasia is not required for liver tumor induction in female B6C3F₁ mice exposed to trihalomethanes. *Toxicol Appl Pharmacol* 148: 137-147.
- Mink FL, Brown TJ and Rickabaugh J (1986) Absorption, distribution, and excretion of 14C-trihalomethanes in mice and rats. *Bull Environ Contam Toxicol* 37: 752-758.
- Mitchell, A; Myhr, B; Rudd, C; et al. (1988) Evaluation of the L5178Y mouse lymphoma cell mutagenesis assay: intra-laboratory results for sixty-three coded chemicals tested at SRI International. *Environ Mol Mutagen* 12(Suppl 13):37-101.
- Morgan A, Black A & Belcher DR (1970) The excretion in breath of some aliphatic halogenated hydrocarbons following administration by inhalation. *Ann Occup Hyg* 13: 219-233.
- Morimoto K and Koizumi A (1983) Trihalomethanes induce sister chromatid exchanges in human lymphocytes in vitro and mouse bone marrow cells in vivo. *Environ Res* 32: 72-79.
- Morris RD, Audet AM, Angelillo IF, Chalmer TC and Mosteller F (1992) Chlorination, chlorination by-products, and cancer : a meta-analysis. *Am J Public Health* 82: 955-963.
- Murray FJ, Schwetz BA, McBride JG and Staples RE (1979) Toxicity of inhaled chloroform in pregnant mice and their offspring. *Toxicol Appl Pharmacol* 50: 515-522.
- Nagano K, Nishizawa T, Yamamoto S and Matsushima T (1998) Inhalation carcinogenesis studies of six halogenated hydrocarbons in rats and mice. In: Chiyotani K., Hosoda, Y., Aizawa, Y., eds, *Advances in the Prevention of Occupational Respiratory Diseases*, Amsterdam, Elsevier, pp. 741-746.
- National Cancer Institute (NCI) (1976) Report on carcinogenesis bioassay of chloroform. Bethesda, MD, US Department of Health, Education and Welfare, National Institutes of Health, National Cancer Institute (NTIS Publication No. PB-264 018).
- National Toxicology Program (NTP) (1988) Chloroform reproduction and fertility assessment in CD-1 mice when administered by gavage, National Toxicology Program, NTP Report No. RACB87045, NTIS Publication No. PB89-148639.
- 財団法人 日本環境協会 (1996) 化学物質要覧作成調査 (3) クロロホルムの曝露アセスメントに関

する文献調査 .

日本産業衛生学会 (2005) 許容濃度の暫定値 (2005 年度) の提案理由. クロロホルム. 産業衛生学雑誌 47: 178-182.

社団法人 日本水道協会 (2004) 水道水質データベース、<http://www.jwwa.or.jp/mizu/>.

Nishimura M, Yaguti H, Yoshitsugu H, Naito S and Satoh T (2003) Tissue distribution of mRNA expression of human cytochrome P450 isoforms assessed by high-sensitivity real-time reverse transcription PCR. *Yakugaku Zasshi*. May 123: 369-375.

Palmer AK, Street AE, Roe FJ, Worden AN and Van Abbe NJ (1979) Safety evaluation of toothpaste containing chloroform. II. Long term studies in rats. *J Environ Pathol Toxicol* 2: 821-833.

Pegram RA, Andersen ME, Warren SH, Ross TM and Claxton LD (1997) Glutathione S-transferase-mediated mutagenicity of trihalomethanes in *Salmonella typhimurium*: contrasting results with bromodichloromethane and chloroform. *Toxicol Appl Pharmacol* 144: 183-188.

Pereira MA, Knutsen GL and Herren-Freund SL (1985) 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* 6: 203-207.

Pereira MA, Lin LH, Lippitt JM and Herren SL (1982) Trihalomethanes as initiators and promoters of carcinogenesis. *Environ Health Perspect* 46: 151-156.

Perocco P and Prodi G (1981) DNA damage by haloalkanes in human lymphocytes cultured in vitro. *Cancer Lett* 13: 213-218.

Perwak J, Goyer M, Harris J, Schimke G, Scow K and Wallace D (1980) An exposure and risk assessment for trihalomethanes. PB85-211977.

Phoon WH, Goh KT, Lee LT, Tan KT and Kwok SF (1983) Toxic jaundice from occupational exposure to chloroform, *Med J Malaysia* 38: 31-34.

Pohl LR, George JW and Satoh H (1984) Strain and sex differences in chloroform-induced nephrotoxicity. Different rates of metabolism of chloroform to phosgene by the mouse kidney. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem* 12: 304-308.

Poole C (1997) Analytical meta analysis of epidemiological studies of chlorinated drinking water and cancer. Quantitative review of re-analysis of the work published by Morris et al., *Am J Public Health* 82: 955-963. National Center for Environmental Assessment, Office of Research and Development, EPA, September 30, 1997.

Raymond P and Plaa GL (1997) Effect of dosing vehicle on the hepatotoxicity of CCl₄ and nephrotoxicity of CHCl₃ in rats. *J Toxicol Environ Health* 51: 463-476.

Reddy TV, Daniel FB, Lin EL, Stober JA and Olson GR (1992) Chloroform inhibits the development of diethylnitrosamine-initiated, phenobarbital-promoted gamma-glutamyltranspeptidase and placental form glutathione S-transferase-positive foci in rat liver. *Carcinogenesis* 13: 1325-1330.

Robbiano L, Mereto E, Migliazzi Morando A, Pastore P and Brambilla G (1998) Increased

- frequency of micronucleated kidney cells in rats exposed to halogenated anaesthetics. *Mutat Res* 413: 1-6.
- Roe FJ, Palmer AK, Worden AN and Van Abbe NJ (1979) Safety evaluation of toothpaste containing chloroform. I. Long-term studies in mice. *J Environ Pathol Toxicol* 2: 799-819.
- Rossi S, Gemma S, Fabrizi L, Testai E and Vittozzi L (1999) Time dependence of chloroform-induced metabolic alterations in the liver and kidney of B6C3F₁ mice. *Arch Toxicol* 73: 387-393.
- Ruddick JA, Villeneuve DC, Chu I and Valli VE (1983) A teratological assessment of four trihalomethanes in the rat. *J Environ Sci Health B* 18: 333-349.
- 斉藤行生 (1990) 食品を介する発がん関連物質の実態把握手法に関する研究. 厚生科学研究 (対がん戦略研究事業) 生活環境における発がん関連物質への曝露実態の総合的把握と評価に関する研究.
- San Agustin J and Lim-Sylianco CY (1978) Mutagenic and clastogenic effects of chloroform. *Bull Phil Biochem Soc* 1: 17-23.
- Scholler KL (1968) Electron-microscopic and autoradiographic studies on the effect of halothane and chloroform on liver cells. *Acta Anaesthesiol Scand Suppl* 32: 1-62.
- Schwetz BA, Leong BK and Gehring PJ (1974) Embryo- and fetotoxicity of inhaled chloroform in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 28: 442-451.
- Sehata S, Maejima T, Watanabe M, Ogata S, Makino T, Tanaka K, Manabe S and Takaoka M (2002) Twenty-six week carcinogenicity study of chloroform in CB6F₁ ras H2-transgenic mice. *Toxicologic Pathology* 30: 328-338.
- Siemiatycki J (Ed.) (1991) *Risk Factors for Cancers in the Workplace*, Boca Raton, FL, CRC Press.
- Simmon VF, Kauhanen K and Tardiff RC (1977) Mutagenic activity of chemicals identified in drinking water. In: Scott, D., Bridges, B.A. & Sobels, F.H., eds, *Developments in Toxicology and Environmental Science, Progress in Genetic Toxicology, Vol. 2*, Amsterdam, Elsevier/North-Holland, pp. 249-258.
- Smith JH and Hook JB (1983) Mechanism of chloroform nephrotoxicity. II. In vitro evidence for renal metabolism of chloroform in mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 70: 480-485.
- Smith JH and Hook JB (1984) Mechanism of chloroform nephrotoxicity. III. Renal and hepatic microsomal metabolism of chloroform in mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 73: 511-524.
- Smith MK, Zenick H and George EL (1986) Reproductive toxicology of disinfection by-products. *Environ Health Perspect* 69: 177-182.
- Taylor DC, Brown DM, Keeble R and Langley PF (1974) Metabolism of chloroform, II. A sex difference in the metabolism of [14C] chloroform in mice. *Xenobiotica* 4: 165-174.
- Templin MV, Constan AA, Wolf DC, Wang BA and Butterworth BE (1998) Patterns of chloroform-induced regenerative cell proliferation in BDF₁ mice correlate with organ specificity and dose-response of tumor formation. *Carcinogenesis* 19: 187-193.
- Templin MV, Jamison KC, Sprankle CS, Wolf DC, Wong BA and Butterworth BE (1996a)

- Chloroform-induced cytotoxicity and regenerative cell proliferation in the kidneys and liver of BDF₁ mice. *Cancer Lett* 108: 225-231.
- Templin, M.V., Jamison, K.C., Wolf, D.C., Morgan, K.T., Butterworth, B.E. (1996b) Comparison of chloroform-induced toxicity in the kidneys, liver, and nasal passages of male Osborne-Mendel and F-344 rats. *Cancer Lett* 104: 71-78.
- Templin MV, Larson JL, Butterworth BE, Jamison KC, Leininger JR, Mery S, Morgan KT, Wong BA and Wolf DC (1996c) A 90-day chloroform inhalation study in F-344 rats: profile of toxicity and relevance to cancer studies. *Fundam Appl Toxicol* 32: 109-125.
- Thompson DJ, Warner SD, Robinson VB (1974) Teratology studies on orally administered chloroform in the rat and rabbit. *Toxicol Appl Pharmacol* 29: 348-357.
- Torkelson T, Oyen F, and Rowe V. (1976) The toxicity of chloroform as determined by single and repeated exposure of laboratory animals. *Am Ind Hyg Assoc J* 37: 697-705.
- Tsuchimoto T and Matter BE (1981) Activity of coded compounds in the micronucleus test. In: de Serres FJ and Ashby J, eds, *Progress in Mutation Research, Vol. 1, Evaluation of Shortterm Tests for Carcinogens. Report of the International Collaborative Program*, New York, Elsevier/North-Holland, pp. 705-711.
- Tumasonis CF, McMartin DN and Bush B (1987) Toxicity of chloroform and bromodichloromethane when administered over a lifetime in rats. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 7: 55-63.
- Uehleke H and Werner T (1975) A comparative study on the irreversible binding of labeled halothane trichlorofluoromethane, chloroform, and carbon tetrachloride to hepatic protein and lipids in vitro and in vivo. *Arch Toxicol* 34: 289-308.
- United States Environmental Protection Agency (USEPA) (1998a) Health risk assessment/characterization of the drinking water disinfection byproduct chloroform. Prepared for Health and Ecological Criteria Division, Office of Science and Technology, Washington DC, by Toxicology Excellence for Risk Assessment, Cincinnati, OH, under Purchase Order No. 8W-0767-NTLX. November 4, 1998.
- United States Environmental Protection Agency (USEPA) (1998b) National primary drinking water regulations: disinfectants and disinfection byproducts. Final Rule. *Federal Register* 63: 69406-69407. Wed. Dec. 16, 1998.
- United States Environmental Protection Agency (USEPA) (2001a) Chloroform (CASRN 67-66-3), Integrated Risk Information System (IRIS).
- United States Environmental Protection Agency (USEPA) (2001b) Toxicological review of chloroform (CAS No. 67-66-3), In Support of Summary Information on the Integrated Risk Information System (IRIS), USEPA, Washington DC.
- Verschuere K (1983) *Handbook of environmental data on organic chemicals*, 2nd ed. New York, NY, Van Nostrand Reinhold Company, pp. 367-369.
- Vesell ES, Lang CM, White WJ, Passananti GT, Hill RN, Clemens TL, Liu DK and Johnson WD (1976) Environmental and genetic factors affecting the response of laboratory animals to

- drugs. *Fed Proc* 35: 1125-1132.
- Wallace LA, Pellizzari E, Hartwell T, Rosenzweig M, Erickson M, Sparacino, C and Zelon H (1984) Personal exposure to volatile organic compounds. I. Direct measurements in breathing-zone air, drinking water, food and exhaled breath. *Environ Res* 35: 293-319.
- Wennborg H, Bodin L, Vainio, H and Axelsson (2000) Pregnancy outcome of personnel in swedish biomedical research laboratories. *J Occup Environ Med* 42: 438-446.
- Wilkins JR 3rd and Comstock GW (1981) Source of drinking water at home and site-specific cancer incidence in Source of drinking water at home and site-specific cancer incidence in Washington County, Maryland. *Am J Epidemiol* 114: 178-190.
- Winslow SG and Gerstner HB (1978) Health aspects of chloroform. A review. *Drug and Chemical Toxicology* 1: 259-275.
- Wolf DC and Butterworth BE (1997) Risk assessment of inhaled chloroform based on its mode of action. *Toxicol Pathol* 25: 49-52.
- World Health Organization (WHO) (1994) Chloroform. *Environmental Health Criteria* 163, Geneva, International Programme on Chemical Safety.
- World Health Organization (WHO) (2000) *Guidelines for Air Quality*. Geneva. WHO.
- World Health Organization (WHO) (2004) *Concise International Chemical Assessment Document (CICAD) 58: Chloroform*. Geneva, WHO.
- 山本静護、相磯成敏、伊川直樹、松島泰次郎 (1994) クロロホルムの F344 ラット及び BDF₁ マウスを用いた吸入によるがん原性試験 . 第 53 回日本癌学会総会記事 : 89.
- Yamamoto S, Aiso S, Ikawa N & Matsushima T (1994) Carcinogenesis studies of chloroform in F344 rats and BDF₁ mice (abstract). *Proceedings of the Fifty-third Annual Meeting of the Japanese Cancer Association*.
- Yamamoto S, Kasai T, Matsumoto M, Nishizawa T, Arito H, Nagano K and Matsushima T (2002) Carcinogenicity and chronic toxicity in rats and mice exposed to chloroform by inhalation. *J Occup Health* 44: 283-293.
- Young TB, Kanarek MS and Tsiatis AA (1981) Epidemiologic study of drinking water chlorination and Wisconsin female cancer mortality. *J Natl Cancer Inst* 67: 1191-1198.
- Young TB, Wolf DA and Kanarek MS (1987) Case-control study of colon cancer and drinking water trihalomethanes in Wisconsin. *Int J Epidemiol* 16: 190-197.
- Zierler S, Feingold L, Danley RA and Craun G (1988) Bladder cancer in Massachusetts related to chlorinated and chloraminated drinking water: a case-control study. *Arch Environ Health* 43: 195-200.

(資料) クロロホルムの有害性評価・法規制等の現状について

- (1) 発がん性に関する評価
IARC (国際がん研究機関)
グループ 2B
EU (欧州連合)
カテゴリー 3
USEPA (米国環境保護庁)
グループ B2
ACGIH (米国産業衛生専門家会議)
グループ A3
DFG (ドイツ学術振興会)
カテゴリー 4
NTP (米国毒性プログラム)
R
日本産業衛生学会
2B
- (2) 大気に関する基準
該当なし
- (3) 職業曝露に関する基準
日本産業衛生学会 (2005)
許容濃度 3 ppm (14.7 mg/m³)
労働安全衛生法
作業環境評価基準 管理濃度 10 ppm
ACGIH (2002)
TWA 10 ppm (49 mg/m³)
DFG (2005)
MAK 2.5 mg/m³
- (4) その他法令による指定
海洋汚染及び海上火災の防止に関する法律 (有害液体物質 B類)
化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律 (第二種監視化学物質)
航空法 (危険物毒物 M等級3)
消防法 (貯蔵等の届出を要する物質)
特定化学物質の環境への排出量の把握及び管理の改善の促進に関する法律
(第一種指定化学物質)
特定有害廃棄物等の輸出入等の規制に関する法律 (バーゼル法) (特定有害廃棄物等)
毒物及び劇物取締法 (劇物)
労働安全衛生法
(有機溶剤 (第一種有機溶剤) 名称等を表示すべき有害物、名称等を通知すべき有害物)
船舶安全法 (危険物等級 6.1 毒物)