<論文>

ホルムアルデヒドの経口および吸入暴露による毒性と 水道水における安全性の評価

広瀬 明彦* 鎌田 栄一* 西川 秋佳*
紅林 秀雄* 江馬 眞** 安藤 正典***
黒川 雄二* 長谷川 隆一*

Toxicity Evaluation of Formaldehyde and Its Risk Assessment for Drinking Water Via Oral and Inhalation Exposure

Akihiko HIROSE*, Eiichi KAMATA*, Akiyoshi NISHIKAWA*,
Hideo KUREBAYASHI*, Makoto EMA**, Masanori ANDO***,
Yuji KUROKAWA* and Ryuichi HASEGAWA*

* Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences, 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

** Osaka Branch, National Institute of Health Sciences, 1-1-43 Hoenzaka, Chuo-ku, Osaka, 540-0006, Japan

*** Division of Environmental Chemistry, National Institute of Health Sciences, 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

Abstract

Humans could be exposed to formaldehyde, a by-product of drinking water disinfectants, by both oral intake and inhalation. The guideline value of formaldehyde in drinking water was established by WHO in 1992, and the guideline for air quality was also published by WHO in 2000. However, the inhalation exposure was not incorporated into WHO drinking water guideline establishment. In this article, we re-evaluated oral toxicity and inhalation toxicity studies in addition to the latest information, and calculated Tolerable Daily Intake (TDI) via oral administration and tolerable air concentration via inhalation. Then, the human health risk of formaldehyde was assessed via an oral administration and via an inhalation, separately.

For oral administration, TDI for general toxicity was calculated as $0.15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ from NOAEL of $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, divided by uncertainty factor (UF) of 100 because of the lack of oral carcinogenicity. A 10% benchmark dose of $0.3 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ in general inhalation toxicity and a NOAEL of $2.5 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ in inhalation carcinogenicity were selected as the starting points for calculation of tolerable air concentration. The tolerable air concentrations based on general toxicity and carcinogenicity study were calculated as $0.037 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ divided by UF of 8 and $0.031 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ divided by UF of 80, respectively. Based on the above TDI or tolerable air concentrations, we assessed the risk of formaldehyde in drinking water, using two exposure scenario, and concluded that the detected levels of formaldehyde in the recent national investigation reports might not affect to human health.

Key Words: formaldehyde, disinfectant by-product, drinking water, toxicity evaluation, risk assessment

1. はじめに

飲料水中には各種の環境汚染化学物質の存在することが知られており、これらの化学物質の毒性評価を行うことは、飲料水の安全性を確保するうえで非常に重要なことである。ホルムアルデヒドは、オゾン処理により生成される消毒副生成物の一つで、WHO 飲料水ガイドライ

ン¹⁾では暫定値として $0.9 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 、日本の水道法では監視項目の指針値として $0.08 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ となっている。一般にホルムアルデヒドの毒性研究はその性状から吸入暴露による検討が数多く行われており、げっ歯類では鼻部に炎症傷害や発がん性を示すことが知られ、IARC の評価でもグループ 2 A (ヒトに対しておそらく発がん性あり) に分類されている。しかし、これらの毒性は吸入暴露に特

* 国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター 〒158-8501 東京都世田谷区上用賀 1-18-1

** 国立医薬品食品衛生研究所大阪支所 〒540-0006 大阪市中央区法円坂 1-1-43

*** 国立医薬品食品衛生研究所環境衛生化学部 〒158-8501 東京都世田谷区上用賀 1-18-1

異的で、経口暴露では認められていない。水道水中ホルムアルデヒドの安全性を評価するためには、主たる暴露経路である経口摂取による毒性評価を行う必要があるが、水道水の様々な使用形態を考慮すると揮発性の高いホルムアルデヒドは吸入によっても暴露されると考えられることから、水道水中のホルムアルデヒドの安全性評価には暴露経路ごとの評価が必要であると考えられる。吸入暴露に関しては、最近、大気中のホルムアルデヒド濃度の基準値に関する見直しがWHOで行われた。そこで、WHOや日本の基準値改定の際に検討された毒性情報に加え、その後数年間に発表された新しいデータを収集し、毒性の再評価を行うと共に、水道水中のホルムアルデヒドによる安全性評価を経口摂取および吸入暴露の観点から検討した。

2. 方 法

毒性情報の収集および評価方法は原則として以前に報告した方法²⁾で行い、同様にヒトおよび動物での吸収・分布・代謝・排泄、ヒトでの毒性発現、実験動物での急性毒性および亜急性毒性、実験動物での慢性毒性および発がん性、遺伝毒性、生殖発生毒性について、データを詳細に解析・評価するとともに、内容を整理・要約した。キーワードを用い、主としてTOXLINE、MEDLINEの検索を行うとともに、最新情報としてはCurrent Contentsを検索した。それらの要約から、毒性評価に用いるために適切と考えられる情報を選択し、原著を入手するとともに、それぞれの試験結果の簡潔な要約、無毒性量(NOAE: No Observed Adverse Effect Level)の判断およびその根拠を取りまとめた。最終的に、一般毒性、発がん性および生殖発生毒性について、NOAEを決定するとともに、このNOAEをヒトへの外挿係数としての不確定係数(UF: Uncertainty Factor)で割ることにより、耐容1日摂取量(TDI: Tolerable Daily Intake)を求めた。吸入暴露において暴露濃度を基準に評価する場合は、気中濃度に対してUFを適用し、許容気中濃度を算出した。

UFは通常100を用いるが、これはヒトと動物との種差の10、およびヒトの個体差の10からなっている。WHOの暴露基準値の設定方法に関する提言によれば、これらの種差と個体差に対するそれぞれのデフォルト値10は、科学的な知見に基づいて化学物質に対する生体の感受性に関する因子としての“トキシコダイナミクス”と化学物質の生体内動態に関する因子としての“トキシコキネティクス”の2つの因子に分割して扱うことが可能であるとしている³⁾。これによれば、種差の10はトキシコダイナミクス: 2.5 ($=10^{0.4}$) とトキシコキネティクス: 4.0 ($=10^{0.6}$) の積で代替えされ、同様に個体差の10はトキシコダイナミクスと3.2 ($=10^{0.5}$) とトキシコキネティクス: 3.2 ($=10^{0.5}$) の積で代替えされることになる。さらに、試験条件、たとえば、実験期間が不十分な場合や、最小毒性発現量(LOAE: Lowest Observed Adverse Effect Level)しか得られなかった場合、さらにNOAEの根拠となった発現毒性の質(器質的变化を伴った神経毒性、遺伝子傷害性を介さないと考えられる機構で生じた発がん性、母体毒性の発現しない状況下で生じた催奇形性)や体内動態に応じて追加UFを用いる

ことがある。今回の評価においても以上の考えを取り入れ、トキシコダイナミクス及びトキシコキネティクスの各因子や追加のUFの必要性を検討してUFを設定し、TDIの算定に使用した。

以上のように算出されたTDIまたは許容気中濃度の値と現状での推定暴露量を経路別(経口摂取および吸入暴露)に推定した値を比較し、水道水中のホルムアルデヒドの安全性について暴露評価を行った。

3. 結 果

3.1 吸収・分布・代謝・排泄

ホルムアルデヒドは、消化管から容易に吸収され、酸化酵素により素早く代謝されギ酸となり最終的に二酸化炭素と水になるが、一部は生体中のメチオニン、セリン等の生合成過程で1炭素成分として取り込まれる。ラット及びマウスの実験ではミルクタンパクと共に経口投与した¹⁴C-ホルムアルデヒドは、32時間以内にその放射活性の63-67%が尿及び糞中に、24-28%が呼気中に排泄され、血中消失半減期は約27時間である⁴⁾。一方、ラットに腹腔内注射した場合は48時間以内に呼気中に約80%が二酸化炭素として、約714%が尿中にチアゾリジン-4-カルボン酸、N-ホルミルシステイン、N-ヒドロキシメチル尿素とN-N'-ビス(ヒドロキシメチル)尿素として排泄された^{5,6)}。¹⁴C-ホルムアルデヒドをマウスに静注すると、唾液腺、腎、肝、腸内壁、脊椎骨に分布し、また、胎盤を通過して胎児に移行した。肝細胞に取り込まれた¹⁴C-ホルムアルデヒドは母体肝細胞では20%が、胎児肝細胞では50%がDNA画分に認められ、24時間後でも変わらなかった⁷⁾。

3.2 ヒトへの健康影響

皮膚暴露による刺激性あるいはアレルギー性接触皮膚炎が起きたとの報告がある。また、呼吸器系への刺激作用もあり、最近のWHO/EUROでのホルムアルデヒドの再評価では、ヒトの鼻腔粘膜への傷害性が報告された平均暴露濃度は $0.02 \sim 2.4 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ (短時間でのピーク値は $5 \sim 18 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$)で、短期間暴露で鼻やのどに刺激を感じる最低濃度は $0.1 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ であるとされている⁸⁾。IARCによれば、吸入暴露による鼻咽頭がんや鼻腔の扁平上皮がんとの疫学的な関連性に関して、ホルムアルデヒド暴露との因果関係を推定しているが、肯定的な報告と否定的な報告とが両方存在することやコホート研究と患者・対照研究との結果に一貫性がないことより、限定的なものであると結論づけられている⁹⁾。一方、経口摂取した場合の影響に関するデータはない。

3.3 短期毒性

3.3.1 経口摂取

ラットの経口LD₅₀は $800 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、モルモットでは $260 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ である。

Tilら¹⁰⁾は雌雄各群20匹のWistarラットにホルムアルデヒドを5, 25, $125 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ で4週間飲水投与した。 $125 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 投与群の雌雄で前胃に角化症および腺胃に限局性胃炎が、また、同群の雄でのみ血清総蛋白およびアルブミンの軽度の減少を認めた。NOAEは $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ である。

Johannsenら¹¹⁾は、SDラットに飲水で50, 100, $150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ のホルムアルデヒドを、ビーグル犬には混

餌で50, 75, 100mg・kg⁻¹・d⁻¹のホルムアルデヒドを91日間投与したが、両種とも高用量群で体重減少が認められたものの、臨床検査及び病理組織学的検査では検体投与による影響を認めなかった。NOAELはそれぞれ100および75mg・kg⁻¹・d⁻¹である。

3.3.2 吸入暴露

Woutersen ら¹²⁾は雌雄各群20匹のWistarラットにホルムアルデヒドを1, 10, 20ppmで13週(週5日, 6時間/日)暴露した。20ppmでは雌雄ともに非協調性運動と興奮が暴露開始後の30分間に見られ、また体重増加抑制、血漿蛋白の減少、鼻気道上皮の重度で広範な角化扁平上皮化生、時として嗅覚上皮の角化を伴う局所的変性および扁平上皮化生が認められた。雄でのみGOT, GPTおよびアルカリホスファターゼの増加および咽頭上皮の扁平上皮化生が認められた。10ppmで認められた傷害は鼻の気道上皮における中等度の扁平上皮化生であった。1ppm群の20匹中3匹に鼻中隔および上顎鼻甲介の気道上皮の軽度の局所性上皮過形成および扁平上皮化生が認められたが、ホルムアルデヒドの影響かどうかは判断されていない。

Wilmer ら¹³⁾は雄のWistarラットにホルムアルデヒドを13週(1及び2ppmで週5日, 8時間/日又は2及び4ppmで週5日, 30分ごとに30分間暴露を8回/日)暴露した。組織学的変化は4ppmの間欠暴露群でのみ、鼻腔の基底細胞過形成を伴う扁平上皮細胞異常および気道上皮の角化が見られた。また、この群では鼻の気道上皮での軽度の細胞増殖の増加が認められた。著者らによれば、これらの変化は総暴露量よりも濃度が重要であると結論している。

3.4 長期毒性及び発がん性

3.4.1 経口摂取

Til ら¹⁴⁾は雌雄各群70匹のWistarラットに、雄には1.2, 15, 82mg・kg⁻¹・d⁻¹を、雌には1.8, 21, 109mg・kg⁻¹・d⁻¹のホルムアルデヒドを2年間飲水投与した。雌雄ともに最高用量群にのみ、摂餌、摂水、体重の減少、胃粘膜壁の不規則な肥厚が認められた。病理組織学的に、過角化症と限局性潰瘍を伴う前胃の乳頭状上皮過形成、および潰瘍と腺胃の慢性萎縮性胃炎が観察された。さらに、腎相対重量の増加と腎乳頭壊死の発現増加が認められた。しかし、胃を含め、諸臓器に腫瘍発生は認められなかった。NOAELは、雌雄で15および21mg・kg⁻¹・d⁻¹である。

Tobe ら¹⁵⁾は雌雄各群20匹のWistarラットに10, 50, 300mg・kg⁻¹・d⁻¹のホルムアルデヒドを24カ月飲水投与し、中間の12, 18カ月に各群6匹を解剖した。300mg・kg⁻¹・d⁻¹群の雌雄は体重減少および死亡率の増加が著しく、18カ月で約70%が死亡した。12カ月の検査では、この群の雌雄に胃のびらん、潰瘍、扁平上皮過形成、角化症が認められた。また、50mg・kg⁻¹・d⁻¹群でも前胃の角化症が18カ月の雄の6匹中に1匹、24カ月の雌の8匹中に1匹認められたため、NAOELは10mg・kg⁻¹・d⁻¹となる。

Soffritti ら¹⁶⁾は雌雄各群50匹のSDラットに、10, 50, 100, 500, 1,000, 1,500, 2,500mg・l⁻¹(1-150mg・kg⁻¹・d⁻¹)のホルムアルデヒドを生涯飲水投与した。無処置対照群に比べ、5mg・kg⁻¹・d⁻¹以上の群で投与量に依存して白血病(リンパ芽球性白血病, リンパ肉腫, 免疫芽球

性リンパ肉腫の合計)の増加が、また、投与量依存性はないものの胃小腸腫瘍(乳頭腫, 棘細胞腫, 腺腫, 扁平上皮がん, 腺がん, 平滑筋腫, 平滑筋肉腫の合計)の発生率が増加した。しかし、メタノール15mg・l⁻¹を投与した群を対照とした場合は白血病の発症率に有意差はなかった。

Takahashi ら¹⁷⁾の雄Wistarラットを用いた2段階胃癌がん試験の中で、0.5%のホルムアルデヒド(300mg・kg⁻¹・d⁻¹)のみを32週間飲水中投与した群において、10匹中8匹に前胃の乳頭腫が認められている。

3.4.2 吸入暴露

Kerns ら¹⁸⁾は雌雄各群約120匹のB6C3F₁マウスにホルムアルデヒドを2.0, 5.6, 14.3ppm(2.5, 6.9, 17.6mg・m⁻³)で1日6時間, 週5日, 24カ月間暴露した。動物の検索は暴露6, 12, 18, 24カ月後およびその後の回復期間を含めた27および30カ月後に行われた。有害影響は鼻腔および気管隣接部に限定されており、鼻炎、上皮形成異常、扁平上皮化生が中・高用量群に認められたが、鼻腔の扁平上皮がんは高用量群の雄2匹に認められたのみであった。NOAELは2.0ppmである。

Albert ら¹⁹⁾は99匹の雄SDラットにホルムアルデヒドを14.7ppm(18.1mg・m⁻³)で1日6時間, 週5日, 生涯暴露し、28匹に鼻腔の扁平上皮がんが、66匹に鼻粘膜の扁平上皮異常が発現することを示した。また、Sellakumar ら²⁰⁾は雄SDラット100匹を用いて、ほぼ同様の実験条件で、38匹に鼻腔の扁平上皮がんが、10匹にポリープ/乳頭腫の生じることを示した。

Kerns ら¹⁸⁾は雌雄各群約120匹のF-344ラットにホルムアルデヒドを2.0, 5.6, 14.3ppm(2.5, 6.9, 17.6mg・m⁻³)で1日6時間, 週5日, 24カ月間暴露した。動物の検索は暴露6, 12, 18, 24カ月後およびその後の回復期間を含めた27および30カ月後に行われた。有害影響はマウスと同様に鼻腔および気管隣接部に限定されており、鼻炎、上皮形成異常、扁平上皮化生はすべての群で認められた。高用量群での死亡率は顕著に増加した。鼻腔の扁平上皮がんは高用量群の雄に51匹、雌に52匹、中用量群の2匹に認められた。さらに、雄では用量依存性はないものの鼻腔のポリープ状腺腫が認められた。NOAELは求められなかった。

Feron ら²¹⁾は雄のWistarラットにホルムアルデヒドを0, 10または20ppmで4, 8および13週間(1日6時間, 週5日)暴露し、126週まで観察した。20ppmのほとんどの動物は鼻の気道および嗅覚上皮に非腫瘍性組織傷害が見られた。10ppmの少数の動物にも軽度ではあるが同様の変化が見られた。鼻の腫瘍は20ppmでの13週暴露にのみ見られ、その頻度は4.5%(6/132)であり、そのうち4例が扁平上皮がん、2例がポリープ状腺腫であった。この腫瘍の原因は組織傷害が再生せず、その一部が腫瘍になったと結論されている。

Woutersen ら²²⁾は雄ラットにホルムアルデヒドを0, 0.1, 1.0または10ppm(1日6時間, 週5日)で28カ月暴露および3カ月暴露後25カ月回復試験を行った。人工的に鼻粘膜の傷害を両側鼻腔内電気凝固により起こした480匹の動物と無処置の240匹の動物を実験に使用した。鼻腔および嗅覚粘膜の変性、炎症性および過形成変化は無処置の10ppm暴露で見られたが、1.0および0.1ppmで

は見られなかった。鼻への人工的な電気凝固処置は、鼻炎、気道上皮の過形成・化生および嗅覚上皮の変性、過形成、化生を増加させた。腫瘍発生においては、10ppmで28カ月の暴露により鼻の扁平上皮がんが、鼻に人工的な傷害を与えた動物（58匹中15匹）のみに見られたが、それ以外の条件では認められていない。著者らは、鼻粘膜への重度な傷害が腫瘍発生の原因であると結論した。

Monticello ら²³⁾は、雄 F-344 ラットにホルムアルデヒドを 0, 0.7, 2, 10 または 15ppm (1 日 6 時間, 週 5 日) で 24 か月間吸入暴露し、鼻部の病理組織学的検査を行った。6 ppm 以上の投与群の鼻腔に、用量依存的な扁平上皮がんやポリープ状腺腫などの腫瘍の発生が認められた。腫瘍発生に対する NOAEL は 2 ppm であった。

Kamata ら²⁴⁾は、各群 32 匹の雄 F-344 ラットにホルムアルデヒドを 0.3, 2.0, 15.0ppm (0.37, 2.46, 18.46mg・m⁻³) の濃度で、28 か月間 (1 日 6 時間, 週 5 日) 吸入暴露した結果、暴露全群に鼻腔の過形成、扁平上皮化生が見られた。また、15.0ppm を暴露した動物では体重減少、血清トリグリセライドと肝臓重量の減少および鼻腔の扁平上皮乳頭腫と扁平上皮がんが見られた。

また、雌雄の F-344 ラットに加えて雌雄のシリアンハムスターと雄のカニクイザルに同時に吸入暴露した実験が報告されている。0, 0.19, 0.98 または 2.95ppm の暴露濃度で 26 週間 (1 日 22 時間, 週 7 日) 暴露したところ、2.95ppm 群のラットとカニクイザルにおいてのみ、鼻甲介の扁平上皮化生が認められた。一方、ハムスターにおいては、これらの暴露濃度では有害影響は認められなかった。ラットとカニクイザルに対する NOAEL は 0.98 ppm であると考えられる²⁵⁾。

3.5 生殖発生毒性

マウスの妊娠 6-15 日にホルムアルデヒドを 185mg・kg⁻¹・d⁻¹ で経口投与すると、母獣は 34 匹中 22 匹が死亡したが、奇形は認められなかった²⁶⁾。また、マウスの妊娠 8-12 日に 540mg・kg⁻¹・d⁻¹ を経口投与すると、母獣は 30 匹中 11 匹が死亡したが、胎児の発育、生存には影響がなかった²⁷⁾。イヌを用いた混餌投与実験では生殖、発生毒性は示されなかった²⁸⁾。一方、妊娠ハムスターに塗布した実験では吸収胚数の増加は認められたものの、骨格異常などの催奇形性は認められなかった²⁹⁾。

妊娠 6-15 日に 2-10ppm または 20 日に 5-40ppm のホルムアルデヒドを SD ラットに吸入暴露した実験が報告されているが、母動物の体重増加抑制やこの母動物の毒性に起因する胎児重量の減少以外に生殖発生毒性学的なパラメータに変化は認められなかった^{30,31)}。

一方、雄生殖器官に対しては、100 および 200mg・kg⁻¹ のホルムアルデヒドを雄ラットに単回経口投与し 11 日後に検索すると、高用量群で精子の異常が認められた³²⁾。しかし、マウスに 100mg・kg⁻¹・d⁻¹ を 5 日間経口投与しても精子に異常は認められなかった³³⁾。

腹腔内投与では、ラットにホルムアルデヒドを 8 および 16mg・kg⁻¹・d⁻¹ で 10 日腹腔内注射すると、精巣の変性、精子形成の抑制、雄生殖器の重量減少が生じた。また、ラットに 10mg・kg⁻¹・d⁻¹ の用量で 30 日間腹腔内注射したところ、精子の運動性や生存率が有意に低下すると共に、精巣、前立腺、精巣上体などにおける DNA 量やタンパク量が減少していた³⁴⁾。この精子の運動性や生存率の低下

は、*in vitro* でのホルムアルデヒドの暴露 (5 ng・ml⁻¹) によっても認められた³⁴⁾。さらに、ラットに 0, 0.125, 0.250, 0.500mg・kg⁻¹ で 5 日間腹腔内投与したところ、0.125mg・kg⁻¹ から精子頭部の形態異常が有意に認められた。また、優性致死突然変異の増加や受精率の低下も 0.125mg・kg⁻¹ から観察された³⁵⁾。

3.6 遺伝毒性

ホルムアルデヒドは、蛋白、RNA 及び DNA と容易に結合し、DNA-蛋白クロスを形成する。また、一重鎖 DNA 切断を引き起こす。*in vitro* の原核および真核生物細胞を用いた変異原性試験、ショウジョウバエを用いた試験で陽性である。しかし、ほとんどの *in vivo* 試験では陰性の結果が得られている³⁶⁻⁴⁰⁾。

4. 総合評価と考察

ホルムアルデヒドは吸収後速やかに代謝されるが、刺激性が強く、主に局所（暴露部位）に毒性を示す。げっ歯類を用いた毒性試験では、吸入暴露では鼻部に、経口暴露では胃に変化が認められている。吸入暴露では発がん性が鼻部に限定して認められるが、経口暴露では発がん性は認められない。以上のようなホルムアルデヒドによる局所刺激に基づく毒性症状を考慮すると、吸入暴露による毒性評価と経口摂取による毒性評価は分けて考える必要がある。一方、ヒトにおいては吸入暴露による発がん性の疫学的研究が数多く行われているが、未だヒトに対する発がん性を積極的に示唆する報告がないと共に、経口暴露に関する疫学的研究はまったくない。変異原性試験では、細胞への直接的な影響を見る *in vitro* の試験では陽性の結果を示しているが、ほとんどの *in vivo* 試験では陰性の結果が示されている。以上の知見を踏まえると、ホルムアルデヒドのヒトでの毒性を評価するためには、実験動物を用いた毒性試験系を用いることが必須である。

4.1 経口摂取における毒性評価と TDI の算定

経口摂取による一般毒性としては、ほとんどが胃への変化に限られている。短長期を含めた実験の中で最も低い NOAEL は Tobe ら¹⁵⁾ のラットの慢性試験に基づく 10mg・kg⁻¹・d⁻¹ である。しかし、すぐ上の用量：50mg・kg⁻¹・d⁻¹ 群での毒性影響は最小の変化（前胃の角化症が雌雄に各 1 例）であることと、Til ら¹⁴⁾ のラットを用いた発がん性試験での NOAEL が 15mg・kg⁻¹・d⁻¹ と近い値をとっていることを考え合わせると、Til らの 15mg・kg⁻¹・d⁻¹ を一般毒性の NOAEL とするのが適当であると考えられる。

発がん性の評価に関しても、Til ら¹⁴⁾ のラットの 2 年間の飲水投与実験が最も信頼性が高く、ホルムアルデヒドの品質、1 群の動物数、投与用量、試験期間とも十分な条件を備えていると考えられる。この結果と Tobe ら¹⁵⁾ の慢性毒性試験結果に基づき、ホルムアルデヒドの経口摂取（飲水投与）による発がん性はないと判断される。一方、Soffritti ら¹⁶⁾ の結果は発がん性を示唆しているが、問題点も指摘されている⁴¹⁾。白血病に関してはメタノールを投与した群との有意差はなく、発症率が背景データの範囲内であること、胃小腸腫瘍に関しては発現した腫瘍の種類が不自然に多く、他の経口摂取の実験^{14,15,17)} ではこのような広範な種類の胃小腸腫瘍は報告

されていないことや、他の経口投与の実験結果を引用、考察していないことが指摘されている。また、Takahashiらは雄 Wistar ラットを用いた2段階発がん試験で、N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジンによるイニシエーションに対してホルマリン（37%ホルムアルデヒド水溶液）がプロモーター作用を示すことを示した¹⁷⁾。しかし、ホルマリンには安定化剤として10-15%のメタノールが添加されているため、このプロモーター作用の情報の取扱いには注意が必要であるとされている¹⁾。以上の実験結果から、1992年のWHO飲料水ガイドラインでも、ホルムアルデヒドの経口摂取による発がん性はないと判断している¹⁾。

生殖発生毒性に関しては、生殖機能に及ぼす影響は調べられていないが、雄ラットへの200mg・kg⁻¹の単回投与により精子への影響が認められている。しかし、精巣の組織に変化は認められず、100mg・kg⁻¹では影響は認められていない³²⁾。また、マウスの高用量の投与で母動物への影響が認められるが、胚/胎児の発育、生存には影響がなく²⁷⁾、ラットでの中・長期試験でも生殖器官への影響は報告されていない。イヌを使った実験でも生殖発生毒性学的影响は認められていない²⁸⁾。したがって、経口摂取により高用量の投与で母動物や精子への影響が認められるものの、生殖発生毒性に対するNOAELは100mg・kg⁻¹であると考えられる。一方、投与経路は異なるが、腹腔内投与によりかなり低用量（0.125mg・kg⁻¹・d⁻¹）から精子の形態異常や生殖機能への影響が認められている³⁴⁾。しかし、投与経路が腹腔内であることと、ホルムアルデヒドの局所的な毒性を考慮すると精巣への直接暴露の可能性が強いことから、経口摂取に対するNOAELに対して影響を与えるものではないと考えられる。

以上のことから経口摂取に関しては、Tilらの一般毒性によるNOAEL：15mg・kg⁻¹・d⁻¹をTDI算定の出発点とすることが妥当である。したがって、TDIは、種差と個体差を考慮したUF：100を適用し0.15mg・kg⁻¹・d⁻¹となる（Table 1）。なお、平成4年の日本の評価では、吸入暴露による発がん性を考慮し、追加の係数10を用いているが、ここでは前述したように暴露経路の違いによる毒性発現が異なることを考慮し追加の係数は必要ないと判断した。

4.2 吸入暴露における毒性評価と許容気中濃度の算定

吸入暴露による有害影響は鼻腔及び気管隣接部に限定されており、ラットを用いた13週の吸入暴露試験では1ppmで鼻の気道上皮に軽度の局所性上皮過形成及び扁平上皮化生が認められた報告¹²⁾と1あるいは2ppm

では影響は認められなかったとの報告¹³⁾がある。一方、24カ月以上の長期暴露において、マウスでは2ppmで影響が認められなかったが、ラットでは0.3ppmでも鼻腔の過形成、扁平上皮化生が認められている²⁴⁾。したがって、一般毒性に関しては0.3ppm（0.37mg・m⁻³）をLOAELと見なすことができる。しかし、この実験群での発現頻度に統計学的有意差はなく、またその頻度も低いことを考慮すると、LOAELをNOAELの代わりに使用した場合にTDIの算定に通常適用される追加のUF：10は過大評価になると思われる。そこで、実験の濃度設定に依存せずにNOAEL相当の値を導き出すことのできる“benchmark dose”法⁴²⁾を取り入れることが妥当であると考えた。したがって、LOAELが示されているKamataら²⁴⁾の報告の中で算出されている“benchmark dose”：0.24ppm（0.30mg・m⁻³）をTDI算定の出発点とした。

発がん性に関しては、鼻腔の扁平上皮がんやポリープ/乳頭腫が再現性良く発生しており^{18-22,24)}、これらの報告の中で腫瘍の認められない最も低い用量はKernsら¹⁸⁾、Monticelloら²³⁾のラットを用いた試験での2ppmである。ホルムアルデヒドはin vitroの遺伝毒性試験では陽性の結果が得られているものの、Feronら²¹⁾及びWoutersenら²²⁾の実験に基づけば、鼻粘膜への重度な傷害性が腫瘍発生の主要原因であると考えられる。このように、げっ歯類で明らかに発がん性が認められるものの、その発生は鼻部に限局しており、その発生機序も一般毒性に基づく鼻粘膜への直接傷害によって引き起こされた細胞の過剰増殖が重要な役割を演じていることが推定され、ホルムアルデヒドによる鼻部の発がん性には閾値が存在すると考えられる。また、Monticelloら²³⁾による腫瘍発生の用量依存性の解析によっても、用量反応曲線は非線形であることが示されている。したがって、発がん性に関するNOAELを2ppm（2.5mg・m⁻³）とすることが妥当である。

発生毒性に関しては、2～40ppmを妊娠ラットに暴露させた実験で、母動物への毒性に起因する影響以外は認められず^{30,31)}、胚/胎児の発生には影響を与えないものと考えられる。したがって、NOAELは40ppm（50mg・m⁻³）であると考えられるが、この濃度は母体への影響が認められている濃度であり、さらに一般毒性のNOAELがこれより2桁以上低いことを考慮すると、TDI算定のための根拠とするには不相当である。一方、生殖毒性に関しては情報が不足しており、現時点では評価できない。

TDIの算定に当たっては、吸入暴露の場合は大気中濃度（mg・m⁻³）から一日摂取量（mg・kg⁻¹・d⁻¹）への換算を行うことになるが、ホルムアルデヒドの吸入暴露によ

Table 1 経路ごとのTDIまたは許容気中濃度の算定

	NOAELの根拠となった毒性	NOAEL	不確実係数	TDIまたは許容気中濃度
経口摂取				
一般毒性	ラットー前胃の過角化症・乳頭状上皮過形成・潰瘍、腺胃の慢性萎縮性胃炎	15 mg・kg ⁻¹ ・day ⁻¹	100	0.15 mg・kg ⁻¹ ・day ⁻¹
生殖毒性	ラットー精子の異常	100 mg・kg ⁻¹ ・day ⁻¹	—	—
発生毒性	ラットー毒性発現なし*	540 mg・kg ⁻¹ ・day ⁻¹	—	—
吸入暴露				
一般毒性	ラットー鼻腔の上皮過形成、扁平上皮化生	0.3 mg・m ⁻³ **	8	0.037 mg・m ⁻³
発がん性	ラットー鼻腔の扁平上皮癌	2.5 mg・m ⁻³	80	0.031 mg・m ⁻³
発生毒性	ラットー毒性発現なし	50 mg・m ⁻³	—	—

*：ベンチマークドーズ母動物には影響あり（30例中11例死亡）；**：10%発症率；—：算定せず

る毒性が、暴露局所に限って認められることを考慮すると1日摂取量に変換するTDI法は不適切である。そこで、前述した吸入暴露濃度であるNOAELに対して不確実係数を適用し、TDIの代わりに許容気中濃度を算出することが適当であると考えた。しかし、長期の吸入実験の多くは、1日6時間で週5日という間欠的な暴露を行っている。この場合、摂取量換算のTDI法では総暴露量を1日平均暴露量に換算するが、前述したようにホルムアルデヒドの毒性が暴露局所濃度に依存すると考えられるので、得られたNOAELを変換せずにそのまま使用した。また、通常は不確実係数として種差と個体差に基づくUFとして100を適用するが、作用機序が刺激性による局所細胞傷害性に基づくと考えられることから、種差と個体差に対するUFのうち体内での吸収、分布、代謝、排泄などのトキシコキネティクスに基づく因子は不要であると判断した。つまり、種差と個体差に関しては、トキシコダイナミクスに基づくそれぞれの係数2.5及び3.2のみを用い、UF: 8 (=2.5×3.2)を適用することが妥当であると考えられる。したがって、一般毒性に関しては、NOAEL: 0.3mg・m⁻³にUF: 8を適用し、許容気中濃度は0.037mg・m⁻³と算出された。また、発がん性に関しては、毒性の重篤性を考慮したUF: 10がさらに必要であり、NOAEL: 2.5mg・m⁻³にUF: 80 (=8×10)を適用すると、許容気中濃度は0.031mg・m⁻³となる。最終的には、一般毒性と発がん性に関する許容気中濃度は同様の値で約0.03mg・m⁻³となり、WHOのAir Quality Guidelineの基準値⁸⁾や厚生省の室内濃度指針値⁴³⁾である0.1mg・m⁻³(30分間平均濃度)の約3分の1という値となった。(Table 1)。この違いは、WHOおよび厚生省の基準値がヒトに対する刺激性を根拠としているのに対して、今回は動物実験を根拠にしているために生じたものである。

4.3 暴露評価

経口摂取の場合、TDI: 0.15mg・kg⁻¹・d⁻¹に基づいて、飲料水中の消毒副生成物に対してWHOの水質ガイドラインで適用されている配分率(全暴露量に占める飲料水経由の割合): 20%を適用し、成人の平均体重: 60kg及び平均摂水量: 2 lより、ホルムアルデヒドの許容濃度は0.9mg・l⁻¹と算出される。一方、我が国の水道浄水中ホルムアルデヒドの検出濃度は、平成6～8年度に行われた監視項目の検出結果(インターネットホームページアドレス: <http://ygnet.mizudb.or.jp/ippan/>)によると、すべての調査地点の値が監視項目の基準値0.08mg・l⁻¹以下であり、今回提案する許容濃度0.9mg・l⁻¹を十分に下回っている。このことは、水道水中のホルムアルデヒドによる経口摂取の観点からみた安全性は十分に保たれていることを示している。

吸入暴露の評価については、水道水を発生源とする室内空気汚染による暴露のほかに、特に近年では室内における建築建材等からの揮発暴露等による問題も含むことになり、水道水からの寄与率を単純に決定することは困難である。さらに、ホルムアルデヒドは手・食器洗い、洗濯、水まき、入浴など様々な場面で揮発してくると想定され、それぞれに対応した暴露評価モデルが必要になる。その中でも、シャワー中の暴露モデルはトリクロロエタンなどの揮発性有機物に対して比較的良好に研究されてい

るが、ホルムアルデヒドを対象とした研究はシャワールーム中での実測値を含めて報告されていない。そこで、様々な場面での生活環境水から気化した揮発有機化学物質の暴露量を推定するために一般化されたモデルとして以下に示すWilkesら⁴⁴⁾の方法の使用し、シャワー中の経時的な暴露濃度のシミュレーションを試みた。

$$S = fv \cdot Fw \cdot (Cw - Ca/H) \quad (1)$$

[S: 気化量 (mg・min⁻¹); Ca: 大気中濃度 (mg・m⁻³); Cw: 水中の濃度 (mg・m⁻³); H: ヘンリー定数 (平衡状態におけるCa/Cw); Fw: 水の流速 (mg・m⁻³); fv: 気化係数 (0～1)]

大気中の濃度はWHOのAir Quality Guideline⁸⁾に記載されている大気中の最低濃度(0.001μg・m⁻³)を初期濃度とし、水の流速はWilkesら⁴⁴⁾の報告の最大値: 0.015 m³・min⁻¹を使用した。ホルムアルデヒドのヘンリー定数: HはSander⁴⁵⁾のデータのうちから水温35°Cでの平衡状態の気中濃度が高くなる方の値(詳細は以下に記す)を使用した。また、前述したように監視項目検査では浄水中ホルムアルデヒド濃度が0.08mg・l⁻¹(80mg・m⁻³)を越えていないことよりこの値をCwとして(1)式に代入して、経時的な室内濃度(Ca)を算出するためにシャワー室の容積を2 m³とした⁴⁴⁾。気化係数は不明であるが、安全サイドでの評価を行うためにfv=1としシミュレーションしたところ、シャワー室の気中ホルムアルデヒド濃度は1秒以内には約0.001mg・m⁻³で平衡状態となるという結果になった(Fig. 1)。また、fv=0.1とした場合でも、約4秒でほぼ平衡状態になるという結果になり、平衡状態に達する時間は極めて短いことが示された。

したがって、このように極めて早く平衡状態に達する物質の場合は、平衡状態における気中濃度を推定し、暴露評価を行うことが妥当であると考えられる。ヘンリー定数はその定義の仕方により様々な値と単位をとるが、Sander⁴⁵⁾によると、水中濃度と気中濃度の比だけで表される無次元 (dimensionless) のヘンリー定数: k_H^{cc} として以下のように定義される。

$$k_H^{cc} = Cw/Ca = k_H \times RT \quad (2)$$

[Cw: 水中の濃度; Ca: 気中の濃度; R: 気体定数 (0.0082 l・atm・mol⁻¹・K⁻¹); T: 絶対温度 (K)]

この式の中の k_H も水中の濃度 (mole・l⁻¹) と気中の分圧 (atm) の比で示されるヘンリー定数の別の定義であるが、Sander⁴⁵⁾のデータベースでは、ホルムアルデヒドの k_H は、 $3.0 \times 10^3 \sim 1.4 \times 10^4$ となっている。たとえば、シャワーの温度を35°Cとしたときの k_H^{cc} は、 $7.5 \times 10^4 \sim$

Fig. 1 シャワー中の暴露時間とホルムアルデヒドの気中濃度

Table 2 浄水中の最大ホルムアルデヒド検出濃度分布（平成6～8年度）と平衡状態における気中濃度（35℃*）

浄水中の最高濃度 ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)	測定地点数 (3198 ポイント)	測定地点全体に占 める割合 (%)	平衡状態における気中濃度 $k_H=3.0 \times 10^3$ ** ($\text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$)	平衡状態における気中濃度 $k_H=1.4 \times 10^4$ ** ($\text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$)
0.080 ～	0	0	0.00105 ～	0.00023 ～
0.056 ～ 0.080	4	0.13	0.00074 ～ 0.00105	0.00016 ～ 0.00023
0.040 ～ 0.056	2	0.06	0.00053 ～ 0.00074	0.00011 ～ 0.00016
0.024 ～ 0.040	11	0.34	0.00032 ～ 0.00053	0.00007 ～ 0.00011
0.008 ～ 0.024	177	5.53	0.00011 ～ 0.00032	0.00002 ～ 0.00007
～ 0.008	3004	93.93	～ 0.00011	～ 0.00002

*: 25℃時の気中濃度は上記の値に $298.15 / 308.15 = 0.96755$ を乗じる; **: Sander ⁴⁰⁾ (1999)

3.5×10^5 と計算される。ちなみに、上記の Wilkes ら⁴⁴⁾の式で使用したヘンリー定数: H は、Sander⁴⁵⁾の定義: k_H^{cc} の逆数である。そこで、この(2)式を用いて水道水由来のホルムアルデヒド気中濃度を計算すると、水道水中濃度が $0.08 \text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ では気中濃度が $0.001 \sim 0.00023 \text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$ と算出される。また、平成6～8年度に行われた監視項目の検出結果によると、94%以上の測定地点での最高濃度が基準値の10% ($0.008 \text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$) 以下であり、気中濃度10%以下となる (Table 2)。このように推定されたホルムアルデヒドの水道水由来の気中濃度は、最高でも $0.001 \text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$ 以下であるので、今回算定した許容気中濃度: $0.031 \sim 0.037 \text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$ を十分に下回るものであった。

一方、上記の吸入による暴露評価では、気体としてのホルムアルデヒドに暴露された場合を想定しているが、シャワー室のような環境では、むしろミストとして水滴中に含まれるホルムアルデヒドによる暴露も考慮する必要があると考えられる。ミストに関しては粒子径によって呼吸器系の毒性発現部位が異なることが知られている。また、ミストの発生量や粒子径分布は、その発生環境に大きく左右されるものであり、実際の吸入暴露量を把握することは極めて困難なものである。

あえて考察を試みれば、上記のモデルに従い容積 2 m^3 のシャワー室内で $0.015 \text{m}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ の水流で20分間シャワーを浴びた場合、300lの水がシャワー室内に流入してくることになる。たとえばそのうちに1%がミストとなったと仮定すると、20分後には容積 1 m^3 あたり1.5lの水がミストとして存在することになり、水道水中濃度が $0.024 \text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ の場合では、気中ミスト濃度は $0.036 \text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$ となり、今回算出した許容気中濃度とほぼ同じレベルになる。また、水道水中濃度を $0.028 \text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ とすると気中ミスト濃度は $0.012 \text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$ となる。1%という値が妥当かどうかは別として、容積 1 m^3 あたり約1.5l前後の水がミストとして存在すると仮定すると、状況によっては今回算定した許容気中濃度を越える可能性があること示している。しかし、平成6～8年度に行われた浄水中濃度測定地点の99.5%が $0.024 \text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 未満であり、また94%が $0.008 \text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 未満であることから、ほとんどの場合で許容気中濃度を越える可能性が低いと考えられる。また、存在するミストのすべてが呼吸器の気道中に吸着されるわけではなく、ミスト濃度も時間と共に上昇することから、許容気中濃度を越えるような場合でも、有害影響が現れる可能性は低いと考えられる。

総合的には、シャワー中のホルムアルデヒド暴露は気体とミストの複合暴露を評価する必要があるが、気体で

存在する量は上述したようにミストに比べて1桁以上低いので、気体暴露の影響はほとんど無視できる。したがって、上記のミスト暴露による考察により、濃度の算定にかなりの不確定要素を含んでいるとはいえ、現状の水道水中ホルムアルデヒド濃度は吸入暴露においても概ね安全なレベルにあるであろうと推定できる。

5. おわりに

水道水中のホルムアルデヒドによる経口摂取および吸入暴露についての毒性評価に加え TDI または許容気中濃度を算定し、それを基に水道水中のホルムアルデヒドの安全性評価を行った結果、経口摂取では、十分に安全は保たれており、また、吸入暴露については、ミスト暴露による不確定要素はあるものの、現段階では我が国の水道水のホルムアルデヒド濃度は概ね問題のないレベルであると結論できた。しかし、ミストとして暴露した場合の安全性評価においては、現状では十分な暴露状況を把握するための知見が少なく、適切なミスト暴露モデルの開発やシャワー室内中の実測調査などの暴露評価研究が必要である。

今回の毒性評価では、WHO や厚生省で設定されたもののより、経口摂取に関する TDI で約10倍高く、吸入暴露に関する基準値では約3分の1となるという結果になった。このうち経口摂取に関しては、発がん性の有無が評価の違いに大きく影響を与えている。この問題は、ヒトでの疫学調査等の情報不足という事情もあり、容易に結論がだせないであろう。しかし、我が国の水道水中のホルムアルデヒド濃度は、すべての測定地点で従来の基準値も十分下回っていることから、安全性の観点より、あえて今回の評価をもとに基準値を上げる必要はないと思われる。一方、吸入暴露に関しては、基準値の設定根拠となった毒性情報にヒトのものを使用したか動物のものをを使用したかによっている。しかし、どちらの情報源をもとにしても不確実性を排除することは不可能である。それより、その結果得られた基準値の差が約3倍しかなかったことは、結果として今回の評価結果は WHO や厚生省の評価を補強したものであるととらえることができる。したがって、今回の評価によって現在の基準値の見直しが必要になるとことはないであろう。

また、室内暴露全体を視野に入れたときには、水道水以外の発生源、特に建築用建材などから発生するホルムアルデヒドによる吸入暴露にも注目する必要がある。平成7年の厚生省の調査でも、一般住宅の居間でのホルムアルデヒドの気中濃度が WHO の Air Quality Guide-

line^{a)}や厚生省の室内空気濃度指針値⁴³⁾に基づく基準濃度 $0.1\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$ を越える例もあることが報告されている。このことは、室内におけるあらゆる暴露状況に応じた暴露評価研究が必要であることを示している。さらに、臓器への直接暴露的な傷害であると考えてTDIの算定根拠としなかった低濃度腹腔内投与での精子への影響や、吸入暴露時の生殖毒性に関する毒性研究の情報不足において、不明確な部分が残っている。さらなる発がんおよび生殖毒性に関するメカニズムの解析研究が望まれる。

謝 辞

本研究は、平成11年度厚生科学研究「水道における化学物質の毒性、挙動及び低減化に関する研究」として行われたものである。

(原稿受付 2000年10月12日)

(原稿受理 2001年3月5日)

参 考 文 献

- 1) WHO (1993) Guidelines for Drinking-water Quality Volume 1: Recommendations (Second edition). World Health Organization, Geneva, pp.188.
- 2) 長谷川隆一, 広瀬明彦, 西川秋佳, 紅林秀雄, 江馬真, 黒川雄二 (1999) ジクロロ酢酸の毒性評価と経口摂取による耐容1日摂取量の算定. 水環境学会誌, **20**, 821-826.
- 3) WHO (1994) Assessing human health risks of chemicals: derivation of guidance values for health-based exposure limits, *Environmental Health Criteria*, **170**, World Health Organization, Geneva.
- 4) Galli, C.L., Ragusa, C., Resmini, P. and Marinovich, M. (1983) Toxicological evaluation in rats and mice of the ingestion of a cheese made from milk with added formaldehyde, *Food Chem. Toxicol.*, **21**, 313-317.
- 5) Neely, B.W. (1964) The metabolic fate of formaldehyde-¹⁴C intraperitoneally administered to the rat, *Biochem. Pharmacol.*, **13**, 1137-1142.
- 6) Manshford, P.M. and Jones, A.R. (1982) Formaldehyde metabolism by the rat: a re-appraisal, *Xenobiotica*, **12**, 119-124.
- 7) Katakura, Y., Kishi, R., Okui, T., Ikeda, T. and Miyake, H. (1993) Distribution of radioactivity from ¹⁴C-formaldehyde in pregnant mice and their fetuses, *Br. J. Ind. Med.*, **50**, 176-182.
- 8) WHO (2000) Guidelines for Air Quality, WHO, Geneva, 2000. (Internet address: <http://www.who.int/peh/air/Air-qualitygd.htm>)
- 9) WHO/IARC (1995) Formaldehyde, *IARC Monograph*, **62**, 217-362.
- 10) Til, H.P., Woutersen, R.A., Feron, V.J. and Clary, J.J. (1988) Evaluation of the oral toxicity of acetaldehyde and formaldehyde in a 4-week drinking-water study in rats, *Food Chem. Toxicol.*, **26**, 447-452.
- 11) Johannsen, F.R., Levinskas, G.J. and Tegeris, A.S. (1986) Effects of formaldehyde in the rat and dog following oral exposure, *Toxicol. Lett.*, **30**, 1-6.
- 12) Woutersen, R.A., Appelman, L.M., Wilmer, J.W., Falke, H. E. and Feron, V.J. (1987) Subchronic (13-week) inhalation toxicity study of formaldehyde in rats. *J. Appl. Toxicol.*, **7**: 43-49.
- 13) Wilmer, J.W., Woutersen, R.A., Appelman, L.M., Leeman, W.R. and Feron, V.J. (1989) Subchronic (13-week) inhalation toxicity study of formaldehyde in male rats: 8-hour intermittent versus 8-hour continuous exposures. *Toxicol. Lett.*, **47**, 287-293.
- 14) Til, H.P., Woutersen, R.A., Feron, V.J., Hollanders, V.H. M., Falke, H.E. and Clary, J.J. (1989) Two-year drinking-water study of formaldehyde in rats. *Food Chem. Toxicol.*, **27**, 77-87.
- 15) Tobe, M., Naito, K. and Kurokawa, Y. (1989) Chronic toxicity study of formaldehyde administered orally to rats. *Toxicology*, **56**, 79-86.
- 16) Soffritti, M. Maltoni, C., Maffei, F. and Biagi, R. (1989) Formaldehyde: an experimental multipotential carcinogen. *Toxicol. Ind. Health*, **5**, 699-730.
- 17) Takahashi, M., Hasegawa, R., Furukawa, F., Toyoda, K., Sato, H. and Hayashi, Y. (1986) Effects of ethanol, potassium metabisulfite, formaldehyde and hydrogen peroxide on gastric carcinogenesis in rats after initiation with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *Jpn. J. Cancer Res.*, **77**, 118-124.
- 18) Kerns, W.D., Pavcov, K.L. and Donofrio, D.J., Gralla, E.J. and Swenberg, J.A. (1983) Carcinogenicity of formaldehyde in rats and mice after long-term inhalation exposure, *Cancer Res.*, **43**, 4382-4398.
- 19) Albert, R.E., Sellakumar, A.R., Laskin, S., Kuschner, M., Nelson, N. and Snyder, C.A. (1982) Gaseous formaldehyde and hydrogen chloride induction of nasal cancer in the rat. *J. Natl. Cancer Inst.*, **68**, 597-603.
- 20) Sellakumar, A.P., Snyder, C.A., Solomon, J.J. and Albert, R.E. (1985) Carcinogenicity of formaldehyde and hydrogen chloride in rats, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **81**, 401-406.
- 21) Feron, V.J., Bruyntjes, J.P., Woutersen, R.A., Immel, H.R. and Appelman, L.M. (1988) Nasal tumours in rats after short-term exposure to a cytotoxic concentration of formaldehyde, *Cancer Lett.*, **39**, 101-111.
- 22) Woutersen, R.A., van Garderen Hoetmer, A., Bruijntjes, J. P., Zwart, A. and Feron, V.J. (1989) Nasal tumours in rats after severe injury to the nasal mucosa and prolonged exposure to 10 ppm formaldehyde, *J. Appl. Toxicol.*, **9**, 39-46.
- 23) Monticello, T.M., Swenberg, J.A., Gross, E.A., Leininger, J. R., Kimbell, J.S., Seilkop, S., Starr, T.B., Gibson, J.E. and Morgan, K.T., (1996) Correlation of regional and nonlinear formaldehyde-induced nasal cancer with proliferating populations of cells, *Cancer Res.*, **56**, 1012-22.
- 24) Kamata, E., Nakadate, M., Uchida, O., Ogawa, Y., Suzuki, S., Kaneko, T., Saito, M. and Kurokawa, Y. (1997) Results of a 28-month chronic inhalation toxicity study of formaldehyde in male Fisher-344 rats, *J. Toxicol. Sci.*, **22**, 239-254.
- 25) Rusch, G.M., Clary, J.J., Reinehart, W.E. and Bolte, H.E. (1983) A 26-week inhalation toxicity study with formaldehyde in the monkey, rat and hamster, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **68**, 329-343.
- 26) Marks, T.A., Worthy, W.C. and Staples, R.E. (1980) Influence of formaldehyde and Sonacide (potentiated acid glutaraldehyde) on embryo and fetal development in mice, *Teratology*, **22**, 51-58.
- 27) Seidenberg, J.M., Anderson, D.G. and Becker, R.A. (1987) Validation of an in vivo development toxicity screen in the mouse. *Teratogen. Carcinogen. Mutagen.*, **6**, 361-374.
- 28) Hurni, H. and Ohder, H. (1973) Reproduction study with formaldehyde and hexamethylenetetramine in beagle dogs, *Food Cosmet. Toxicol.*, **11**, 459-462.
- 29) Overman, O. (1985) Absence of embryotoxic effects of formaldehyde after percutaneous exposure in hamsters, *Toxicol. Lett.*, **24**, 107-110.
- 30) Martin, W.J. (1990) A teratology study of inhaled formaldehyde in the rat, *Reprod. Toxicol.*, **4**, 237-239.
- 31) Saillenfait, A. M., Bonnet, P. and Ceaurriz, J. (1989) The effects of maternally inhaled formaldehyde on embryonal and foetal development in rats, *Food. Chem. Toxicol.*, **27**, 545-548.
- 32) Cassidy, S.L., Dix, K.M. and Jenkins, T. (1983) Evaluation of a testicular sperm head counting technique using rats exposed to dimethoxyethyl phthalate (DMEP), glycerol alpha-monochlorohydrin (GMCH), epichlorohydrin (ECH), formal-

- dehyde (FA), or methyl methanesulphonate (MMS). *Arch. Toxicol.*, **53**, 71-78.
- 33) Ward, J.B.Jr., Hokanson, J.A., Smith, E.R., Chang, L.W., Pereira, M.A., Whorton, E.B.Jr., and Legator, M.S. (1984) Sperm count morphology and fluorescent body frequency in autopsy service workers exposed to formaldehyde, *Mutat. Res.*, **130**, 417-424.
- 34) Majumder, P.K. and Kumar, V.L. (1995) Inhibitory effects of formaldehyde on the reproductive system of male rats, *Indian. J. Physiol. Pharmacol.*, **39**, 80-82.
- 35) Odeigah, P.G.C. (1997) Sperm head abnormalities and dominant lethal effects of formaldehyde in albino rats, *Mutat. Res.*, **389**, 141-148.
- 36) O'Donovan, M.R. and Mee, C.D. (1993) Formaldehyde is a bacterial mutagen in a range of Salmonella and Escherichia indicator strains, *Mutagenesis*, **8**, 577-581.
- 37) Grafstrom, R.C., Hsu, I.C. and Harris, C.C. (1993) Mutagenicity of formaldehyde in Chinese hamster lung fibroblasts: synergy with ionizing radiation and N-nitroso-N-methylurea, *Chem. Biol. Interact.*, **86**, 41-49.
- 38) Zimmermann, F.K. and Mohr, A. (1992) Formaldehyde, glyoxal, urethane, methyl carbamate, 2,3-butanedione, 2,3-hexanedione, ethyl acrylate, dibromoacetonitrile and 2-hydroxypropionitrile induce chromosome loss in *Saccharomyces cerevisiae*, *Mutat. Res.*, **270**, 151-166.
- 39) Henderson, D.S. and Grigliatti, T.A. (1992) A rapid somatic genotoxicity assay in *Drosophila melanogaster* using multiple mutant mutagen-sensitive (mus) strains. *Mutagenesis*, **7**, 399-405.
- 40) Rasmuson, A. and Larsson, J. (1992) Somatic and germline mutagenesis assayed by the unstable zeste-white test in *Drosophila melanogaster*, *Mutagenesis*, **7**, 219-223.
- 41) Feron, V.J., Til, H.P., Woutersen, R.A. (1990) Letter to the editor, *Toxicol. Ind. Health*, **6**, 637-639.
- 42) Crump K.S. (1984) A new method for determining allowable daily intakes, *Fundam. Appl. Toxicol.*, **4**, 854-871.
- 43) 厚生省(1997)ホルムアルデヒドの室内濃度指針値,「快適で健康的な住宅に関する検討会議の健康住宅関連基準策定専門委員会」平成9年6月
- 44) Wilkes C.R, Small, M.J., Davidson, C.I. and Andelman, J.B. (1996) Modeling the effects of water usage and co-behavior on inhalation exposures to contaminants volatilized from household water, *J. Expo. Anal. Environ. Epidemiol.*, **6**, 393-412
- 45) Sander, R. (1999) Compilation of Henry's law constants for inorganic and organic species of potential importance in environmental chemistry (Version3) (Internet address: <http://www.mpch-mainz.mpg.de/~sander/res/henry.html>).