

イソシアネートに着目したプラスチック製品由来 化学物質の曝露実態と健康有害性に関する研究

(所内公募型提案研究)

Study on the exposure and health hazards of chemicals derived from plastic products focusing on isocyanates

令和4～6年度
FY2022～2024

NIES



国立研究開発法人 国立環境研究所

NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

<https://www.nies.go.jp/>

国立環境研究所研究プロジェクト報告 第153号

NIES Research Project Report, No.153

SR－153－2025

イソシアネートに着目したプラスチック製品由来 化学物質の曝露実態と健康有害性に関する研究

(所内公募型提案研究)

Study on the exposure and health hazards of chemicals derived from plastic products focusing on isocyanates

令和4～6年度
FY2022～2024

国立研究開発法人 国立環境研究所

NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

<https://www.nies.go.jp/>

所内公募型提案研究

「イソシアネートに着目したプラスチック製品由来化学物質の曝露実態と健康有害性に関する研究」

(期間：令和4～6年度)

課題代表者：小池 英子

執 筆 者：小池 英子、高澤 嘉一、藤谷 雄二、鈴木 剛、柳澤 利枝

編 者：小池 英子

序

本報告書は、令和4～6年度3年間にわたって実施した所内公募型提案研究「イソシアネートに着目したプラスチック製品由来化学物質の曝露実態と健康有害性に関する研究」の研究成果をとりまとめたものです。

プラスチック関連化学物質の問題については、これまでに可塑剤のフタル酸エステル類や樹脂原料のビスフェノール類等が注目され、多くの研究によりそれらの曝露および有害性に関する知見は蓄積されてきました。一方、イソシアネートは、アレルギーの原因となる物質（感作性物質）であることから、これを主原料とするポリウレタンの製造・使用にかかわる職業性曝露で大きな問題となって以降、作業環境の改善からその健康被害は減少しましたが、一般環境における曝露状況は不明でした。ポリウレタンは、その優れた機能性から、マットレスやストレッチ素材の衣類、建材、自動車製品（シート他内装品や部品）の他、マイクロカプセルの膜材としての利用（消臭・芳香剤、殺虫剤、農薬、肥料等）などその用途は多岐にわたります。このようにポリウレタンを含有する製品は生活環境中に多数存在しており、イソシアネートの発生源となり得ると考えられます。具体的には、製品中未反応物としての残留や分解による放出、製品の劣化や摩擦により生じる微小な細片（二次マイクロプラスチック）や、ポリウレタンを膜材とするマイクロカプセル（一次マイクロプラスチック）を介した曝露が予想されます。以上より、我々は、ポリウレタン製品に由来するイソシアネートへの日常的な曝露が、アレルギーをはじめとする健康障害のリスクとなる可能性を考え、本研究に至りました。

本研究では、未だ十分な評価がなされていないイソシアネートの曝露実態と既報実験にはない連続的な複数経路曝露の影響も含めた科学的知見を提供すること、加えてマイクロプラスチックを介した曝露も想定した評価系を提案することを目指し取り組みました。その結果、各分析・解析手法を確立した上で、室内や自動車内における曝露状況の推定と経路別・複数経路曝露による健康有害性を提示することができました。また、これを事例に、新たな吸入曝露システムや曝露経路・形態を反映した評価体系を提案しました。本研究成果が、プラスチックおよび関連化学物質全般の新たな評価研究への展開に繋がることを期待しています。

最後に、本研究を進めるにあたり、研究所内外の多くの方々にご協力とご支援をいただきました。ここに深く感謝申し上げます。

令和7年12月

国立研究開発法人 国立環境研究所

理事長 木 本 昌 秀

目 次

1 研究の概要.....	1
1.1 研究全体の目的、目標、構成等	1
1.2 研究の概要.....	2
2 研究の成果.....	3
2.1 サブテーマ1：イソシアネートの曝露実態に関する化学的、物理的評価	3
2.1.1 目的と経緯.....	3
2.1.2 方法.....	4
2.1.3 結果と考察	10
2.1.4 まとめ	20
2.2 サブテーマ2：イソシアネートの曝露経路・形態と健康有害性に関する評価	23
2.2.1 目的と経緯.....	23
2.2.2 方法.....	23
2.2.3 結果と考察	27
2.2.4 まとめ	36
2.3 サブテーマ3：MP等新規吸入曝露システムの確立.....	38
2.3.1 目的と経緯.....	38
2.3.2 方法.....	38
2.3.3 結果と考察	39
2.3.4 まとめ	46
2.4 全体のまとめ	47
[資 料]	
1 研究の組織と研究課題の構成.....	50
1.1 研究の組織.....	50
1.2 研究課題と担当者.....	50
2 研究成果発表一覧.....	51
2.1 誌上発表	51
2.2 口頭発表	52

1 研究の概要

1.1 研究全体の目的、目標、構成等

イソシアネートは、汎用プラスチックの1つであるポリウレタン（PU）の主原料であるが、それ自体がアレルギーの原因となる感作性物質として知られている。PUを含有する製品は生活環境中に多数存在しており、イソシアネートの発生源となり得る。実際に近年、室内ダスト中のイソシアネートの存在^{1,2)}や製品中の未反応物の残留³⁾が示され、関連製品の使用に伴う非職業性曝露による健康影響が懸念されている。しかしながら、一般環境における曝露と健康影響の実態は明らかにされていない（図1-1）。そこで本研究では、PU製品が存在する室内や自動車内におけるイソシアネートの曝露実態と健康有害性を明らかにすることを目的とした。まず、これに対応した分析・解析手法を確立し、次にそれらを用いた実環境・模擬環境試料とPU製品の化学分析や形状解析から製品に由来する曝露状況を把握すること、イソシアネートの毒性学的観点から重要な曝露経路である経皮と経気道の経路別及び複合曝露による健康影響を解明すること、マイクロプラスチック（MP）としての曝露も視野に曝露実験システムを確立することにより、他のプラスチック関連化学物質にも適用可能な評価体系を提案することを目標とした。

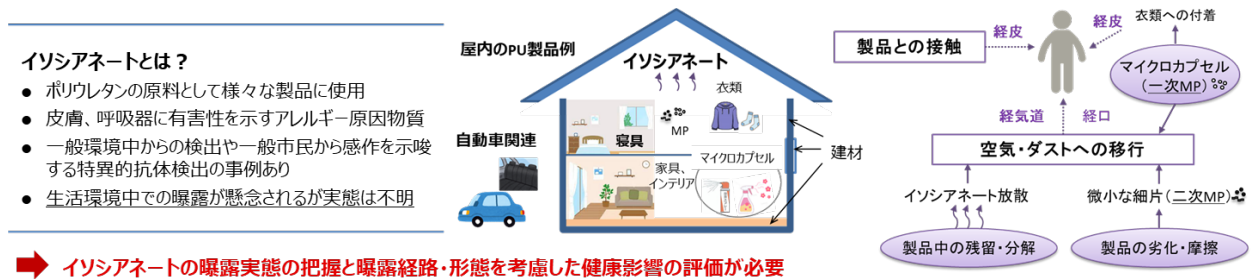


図1-1 研究の背景

本研究は3サブテーマで構成し、（1）イソシアネートの曝露実態に関する化学的、物理的評価、（2）イソシアネートの曝露経路・形態と健康有害性に関する評価、（3）MP等新規吸入曝露システムの確立に取り組んだ（図1-2）。

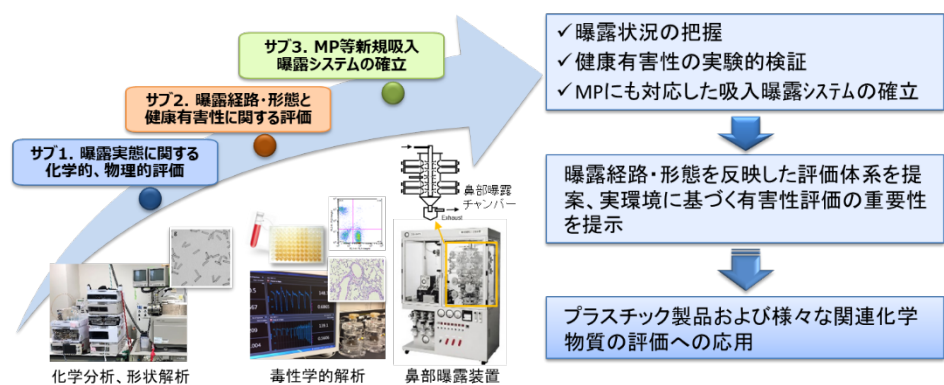


図1-2 研究構成

サブテーマ1：PU製品や環境試料を対象とした化学的、物理的評価、放散試験・劣化・微細化試験のため、最適な分析法、実験手法を確立し、イソシアネート類の定性的・定量的な分析、MP形状、PU劣化・微細化の解析等、製品由来イソシアネートの曝露動態について検討した。化学的評価は高澤、粒子の物理的評価、放散試験は藤谷、製品劣化・微細化試験とMP評価は鈴木が担当した。

サブテーマ2：イソシアネートの継続的な経皮曝露及び経気道曝露（気管内投与または吸入）による影響を評価するため、動物実験モデル、解析手法を確立し、有害性評価を実施した。また、各曝露経路の影響に加え、経皮＋経気道の複合曝露影響を評価した。さらに、PU模擬MPを対象とした評価も試みた。経皮曝露実験は小池、経気道曝露実験は柳澤が担当した。

サブテーマ3：イソシアネート及びPU模擬MPの吸入曝露システムを確立するため、鼻部曝露装置の本研究仕様への改造等整備を行い、これを用いてサブテーマ2の吸入曝露実験を実施した。サブテーマ3はサブテーマ2と連携して藤谷が担当した。

また、サブテーマ1に関する所内協力者として、資源循環領域の倉持副領域長（物性と曝露動態について）、梶原上級主幹研究員（放散試験について）、松神主幹研究員（代謝物解析を含む化学分析について）に協力いただいた。サブテーマ1と2に関する所外協力者としては、産業医科大学の辻真弓教授、一瀬豊日准教授に疫学知見の情報提供や自動車シート用PUフォームの入手について協力いただいた。このように所内外の研究協力者も含め、サブテーマ間で連携を図りながら研究を進め、小池が全体統括を行った。

1.2 研究の概要

本研究では、一般環境中での曝露とその健康影響について未だ不明な点が多く残されているイソシアネートを対象とし、その曝露実態と健康有害性を明らかにするため、環境試料やPU含有製品等の分析による生活環境における曝露状況の把握と実験動物を用いた健康有害性評価を実施した。また、製品に由来するMPとしての曝露も視野に実環境での曝露経路・形態を反映した評価系構築にも研究を展開した。

1年目（2022年度）はPU含有製品や環境試料を対象とした化学的、物理的評価、劣化・微細化試験の整備、イソシアネートの経皮曝露と経気道曝露による有害性評価に着手し、解析手法や実験系を確立し、基礎データを取得した。また、吸入曝露装置の本研究仕様への改造等整備と曝露システムの検討に着手した。

2年目（2023年度）は、製品及び環境試料中のイソシアネート類の定性的・定量的な分析、劣化・微細化試験におけるMPの形状解析、サブテーマ1の分析結果も踏まえて選定した2,4トルエンジイソシアネートの経皮曝露及び経気道曝露（吸入）による影響を明らかにした。また、MPに対応した吸入曝露システムを最終年度にかけて確立した。

3年目（2024年度）は、製品由来イソシアネートの曝露動態に関する解析を進めた。また、イソシアネートの経皮曝露＋経気道曝露（吸入）の複合影響の評価、PU模擬MPの経皮曝露及び経気道曝露（気管内投与）による影響評価、加えて確立したMP吸入曝露システムを用いた実験も試みた。

全体を通して、プラスチック製品由来化学物質としてのイソシアネートについて、各分析・解析手法を確立した上でMP経由の曝露も考慮し、生活環境中（室内・自動車内）における曝露状況の推定と経路別・複数経路曝露による健康有害性を示した。また、これを事例とし、新たな吸入曝露システムや曝露経路・形態を反映した評価体系を提案した。

引 用 文 献

- 1) Bekki, K., Uchiyama, S., Kunugita, N. (2018). Analysis of isocyanates in indoor dust. Anal Bioanal Chem 410, 4247-4251.
- 2) Castro, G., Rodríguez, I., Ramil, M., Cela, R., 2019. Assessment of gas chromatography time-of-flight mass spectrometry for the screening of semi-volatile compounds in indoor dust. Sci Total Environ 688, 162-173.
- 3) Franklin, G., Harari, H., Ahsan, S., Bello, D., Sterling, D.A., Nedrelov, J., Raynaud, S., Biswas, S., Liu, Y., 2016. Residual Isocyanates in Medical Devices and Products: A Qualitative and Quantitative Assessment. Environ Health Insights 10, 175-190.

2 研究の成果

2.1 サブテーマ1：イソシアネートの曝露実態に関する化学的、物理的評価

2.1.1 目的と経緯

イソシアネート類は、汎用プラスチックの1つであるポリウレタン（PU）の主原料として、PU製品の製造に不可欠な化学物質であり、発泡剤、塗料、接着剤、断熱材などに広く使用されている。これらの製品は産業現場だけでなく、一般家庭やオフィスなどの室内環境にも普及しており、そこで発生するイソシアネートの放出が環境モニタリングの観点から注目されている。イソシアネート類の主な化合物には、トルエンジイソシアネート（TDI）、メチレンジフェニルジイソシアネート（MDI）、ヘキサメチレンジイソシアネート（HDI）、イソシアネ酸（ICA）、メチルイソシアネート（MIC）、エチルイソシアネート（EIC）、プロピルイソシアネート（PIC）などがあり、これらは気化しやすい性質を持ちながら空気中や塵中に存在する¹³⁾。過去の研究では、これらの物質の室内環境での存在が確認されており、PU製品の劣化や熱分解により放出されることが報告されている。例えば、PUフォーム（PUF）ベースのマットレスや断熱材から ng/g レベルのイソシアネートが検出されるケースが複数ある⁴⁾。

イソシアネート類の分析法の開発史を振り返ると、初期は主に産業労働環境での空气中濃度測定に焦点が当てられ、色比色法やアンペロメトリーが用いられた。米国国家労働安全衛生研究所（NIOSH）や職業安全衛生局（OSHA）により、標準法（例：OSHA 42/47, NIOSH 5525）が確立され、これらはフィルタやインピンジャーによる空気サンプリングと高性能液体クロマトグラフィー（HPLC）-UV 検出を組み合わせたものである。これらの方法は比較的高濃度のイソシアネートを定量するのに有効だが、室内環境での微量（ppb レベル以下）検出には感度が不足しているという欠点があった¹⁾。たとえば、NIOSH 5522 法では、tryptamine を誘導体化試薬として用い、HPLC に電気化学/UV 検出器を組み合わせるが、サンプリング時間が長く室内塵中の多成分分析には適さない（120L 空気通過）。

2000 年代以降は分析法の進展が著しく、液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析（LC-MS/MS）や受動サンプラの導入が進んだ。これにより、室内空気中の ICA、MIC、EIC、PHI などの微量定量が可能になった。たとえば、Bekki et al. (2018) では、室内塵中のイソシアネート分析法を開発し、誘導体化試薬-LC-MS/MS により 5 種のイソシアネートを検出した上で 3 種を定量している⁵⁾。誘導体化試薬として、N-メチル-1-ナフチルアミン（NMA）やトリプタミン（TRYP）が用いられ検出限界を向上させた。また、Bekki et al. (2024) では、受動サンプラ（PSG-DBA）を用いた長期監視法を提案し、7 日間の室内空気サンプリングで ICA 濃度を 0.21 ppb（夏季）、MIC を 0.0052 ppb と測定した⁶⁾。この方法は、従来の能動サンプリングより簡便で疫学調査に適している。

空気サンプリング手順は、一般的に試料採取、誘導体化、試料調製、分析のステップから構成される。試料採取の例では、Midget Impinger SKC ガラスサンプラを用いて、2 L/min で 2 時間サンプリングし DMSO-tryptamine 溶液へ捕捉する手法も報告されている。例えば、イランでの PU 工場調査では、この方法で MDI 濃度を 93–101 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ と算出、NIOSH 基準（50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ）の超過を確認した⁷⁾。室内環境では、季節変動（温度変動）を考慮したサンプリングが重要で、夏季の温度上昇が放出を増大させる可能性が指摘されている⁸⁾。

これらの既存研究の限界として、(1) 産業環境偏重で室内実試料のデータ不足、(2) 分析法の感度が ng/m^3 レベルで不十分、(3) 濃度算出時の環境変動（温度、湿度）の考慮不足が挙げられる。たとえば、PU 製品の不完全硬化や劣化がイソシアネート放出を増大させるが、定量モデルには検討の余地がある。また、疫学データでは室内濃度と放出源の関連が十分解析されていない。これに対し、最近のレビュー（2023）では、新たな誘導体化試薬の開発とリアルタイムセンサーの統合が提案されているが、PU 製品に特化した方法は極めて少ない⁹⁾。

また、プラスチックは、製造・使用・リサイクル・廃棄処分といったライフサイクルの各段階を通じて環境中へ流出しており、汚染が社会問題となっている。2022 年 2 月に開催された国連環境総会では、プラスチック汚染を終わらせるための国際条約（プラスチック汚染条約）の策定にむけた政府間交渉委員会が設置され、条約制定を目指して議論が継続している。効果的な対策のためには、発生源ごとの流出量と汚染実態の把握が不可欠である¹⁰⁾。

環境や海洋への流出量の推計は、流出抑制対策に際して優先順位をつけるために有用である。発生源や品目別に、生産量、使用量、処分量といった活動量に、そこでのマイクロプラスチック（MP）やマクロプラスチックの生成係数や発生係数を乗じて、流出量あるいは排出量として推計されている¹¹⁻¹³。現在の流出量の推計では、水環境へ直接流出する可能性が高い発生源や品目を優先的に評価しており、さまざまなプラスチック製品が使用されている室内環境で発生したMPの排出は今のところ考慮していない。

室内環境におけるMPの研究は、海洋MPと比較すると実施例が少ないものの、2020年以降に研究数が増加し始めている。主な対象は、室内空気及び沈降ダストであり、これらの調査からは、大気環境と比較して室内環境におけるMP濃度が高い傾向が示されつつあり、人への曝露との関連も検討されている¹⁴⁻¹⁶。発生源としては、主に繊維状MPが検出されていることから、繊維製品に関心が集まっている。PUについても繊維状MPの報告が中心であり、PUF由来の粒子状MPを材質同定まで実施した研究は、現在までに確認されていない。特に、自動車室内に限定すると、その状況はより顕著である。PUFのうち、軟質PUFについては、自動車シート、寝具、家具、クリーナー、緩衝材等として室内環境で広く使用されている。しかし、使用過程でこれらが劣化・微細化しないのか、劣化・微細化した粒子が室内環境中に放出されていないのか、または現行の採取・前処理・材質同定の手法では検出できていないのか、その実態は明らかになっていない。

そこで本研究では、PU製品に由来するMPも考慮し、イソシアネートの曝露実態を明らかにすることを目的とし、次に示す化学的・物理的評価を実施した。

特に室内環境評価において、従来法の感度向上を目指して高感度LC-MS/MSをベースに室内空気及びPU製品に含まれるイソシアネート類の一斉分析を可能とする手法を開発し、実試料へ適用した。具体的には、ジブチルアミン（DBA）を誘導体化試薬として用いて多成分（TDI, MDI, HDI, ICA など）のイソシアネート類の一斉分析を実現し、これにより実試料（室内空気やPU製品など）での濃度算出を行った上で、日常生活で使用するPUF製品（自動車シート、枕など）から放散されるイソシアネート類（主にTDI, MDI, ICA）が室内空気や車内空気に与える影響を検討した。PU製品から排出されるイソシアネート類の排出係数を評価するための放散試験手法を確立し、それらを用いた実環境・模擬環境試料とPU製品の評価から曝露状況を把握した。

また、室内でのPUF製品の使用を想定し、温湿度劣化試験と繰り返し圧縮を実施した。これにより、PUF由来粒子状MPの生成の有無とその特性（個数・粒子サイズ）を実験的に評価すると共に、室内及び自動車室内におけるPUFの劣化・微細化を通じた生成実態を明らかにし、人への曝露や環境流出評価の必要性和その意義について考察した。

2.1.2 方法

（1）室内空気及びPU製品に含まれるイソシアネート類の分析

本研究は、室内空気及びPU製品中に含まれるイソシアネート類の分析手法を確立し、実際の製品からの放散と空气中濃度を評価することを目的とした。対象物質はイソシアン酸（ICA）、イソシアン酸メチル（MIC）、エチルイソシアネート（EIC）、プロピルイソシアネート（PIC）、フェニルイソシアネート（PHI）、1,6-ヘキサメチレンジイソシアネート（1,6-HDI）、2,4-トルエンジイソシアネート（2,4-TDI）、2,6-トルエンジイソシアネート（2,6-TDI）、trans-イソホロンジイソシアネート（trans-IPDI）、cis-イソホロンジイソシアネート（cis-IPDI）、4,4'-メチレンジフェニルジイソシアネート（4,4'-MDI）であり、これらはPU製造の主要原料として知られている。方法の検討は国立環境研究所内にて実施され、PU製品の一部試料は産業医科大学の協力により入手した。

PU製品の入手と保管

PUF製品の入手は、自動車関連と寝具関連に分けて行った。自動車シート用PUFは、国内の某自動車関連ウレタン樹脂工場から廃棄予定の座席用シートを供与していただいた。工場長の下承を得て、座面（柔らかい方）と背面のフォームを採取した。製造日は2022年7月27日で、製造後15分程度で梱包された大きなブロックと、数時間経過したものを含んでいる。発送は冷蔵便で行われ、2022年7月29日に到着後、冷蔵保管した。資材はアルミ袋に入れた後、ジッ

パー付きビニル袋で密封し揮発成分の漏出を防いだ。一方、寝具用として、3種類の PUF 枕を購入した：(1)低反発 PUF（中国製）、(2)高低反発 PUF（製造元不明）、(3)低反発 PUF（中国製）である。入手後はジッパー付きアルミ袋に入れて冷蔵保管した。これにより、製品からの自然放散を最小限に抑えて分析時の再現性を確保した。試料として自動車シートと寝具の両方をカバーすることにより、日常生活での曝露シナリオを模している（図 2.1-1）。

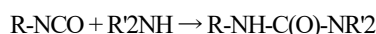


図 2.1-1 検討に用いた自動車座面シート（左）と低反発枕（右）の一例

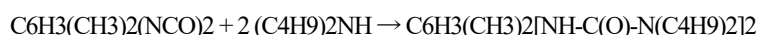
室内空気及び大気中のイソシアネートの捕集

イソシアネート類の反応性が高く安定的な回収が困難であることから、捕集時に安定な誘導体へ変換するジブチルアミン（DBA）誘導体化法を採用した。ジブチルアミン（DBA、CAS 111-92-2、分子式 C₈H₁₉N）は二次アミンであり、疎水性が高く抽出効率が良いため LC-MS/MS 分析には適しているものと考えられる。反応メカニズムはヌクレオフィル求核付加となっており -NCO の炭素に DBA の窒素がアタックすることで、ウレア結合 (-NH-C(O)-NH-) を生成する。例えば、PU 製造の主要原料であり芳香族ジイソシアネートである 2,4-トルエンジイソシアネート（2,4-TDI）は、ベンゼン環の 2 位と 4 位にイソシアネート基 (-NCO) が付いており、高い反応性を有している。特に、水分やアミン類と迅速に反応するが、誘導体化により化学的な安定化が可能である。2,4-TDI の DBA 誘導体化では、2 つの -NCO 基に対して 2 分子の DBA が反応することでビスウレア誘導体が形成される。この反応は室温で速やかに、pH 中性条件で進行する。

・反応式：



・2,4-TDI の場合：



本研究では、室内空気及び大気中のイソシアネート類を捕集するために市販の陽イオン交換樹脂（InertSep SCX）に DBA を含浸させて小型カートリッジを自作した上で捕集を行った。カートリッジを可搬型ポンプに取り付け、0.1 L/min の速度にて 12～24 時間吸引することで室内空気及び大気中のイソシアネート類を捕集した。捕集後のカートリッジはアセトニトリル 10 mL で抽出を行い、濃縮し 5 mL へ定容したものを LC-MS/MS 測定溶液に用いた（図 2.1-2）。



図 2.1-2 室内空気および大気の分析フロー

PU 製品の抽出

PU 製品（自動車シート用 PUF 及び枕）からイソシアネートを抽出するため、トルエン/DBA を溶媒として使用した。溶媒湿潤した PU 製品を高速溶媒抽出装置（Thermo Fisher Scientific 製：ASE350）で高温・高圧下（10 分間静置）で処理して抽出効率を高めた。具体的には、PU 製品（約 3g）を細かく切断し ASE350 によりトルエン/DBA 混合溶媒 50 mL で

抽出した。得られた抽出液に DBA を 5 mL 添加した上で粗抽出液を振り混ぜて一定時間静置した後、濃縮シアセトリトリル 5 mL へ転溶・定容したものを LC-MS/MS 測定溶液に用いた。

LC-MS/MS 分析

DBA により誘導体化したイソシアネート類の定量は LC-MS/MS にて実施した。LC 分離条件の最適化として、カラム液相、内径、グラジエント条件、移動相を検討し、各イソシアネート類のピーク分離と形状を改善させた。使用した機器の条件を表 2.1-1 に示す。

表 2.1-1 LC-MS/MS の機器条件

使用機種	Nexera X3, LC/MS-8050 (島津製作所)
カラム	CAPCELL PAK ADME-HR (2.1 mm i.d. x 50 mm) (大阪ソーダ)
移動相	A: 10 mM NH ₄ HCOO in 0.1% HCOOH
	B: CH ₃ OH
流速	0.3 mL/min
オープン	40°C
注入量	5 µL
イオン化法	ESI-positive

定量には絶対検量線法を用いており、繰り返し測定により検出下限値を確認したところ、各 DBA 誘導体化イソシアネート類の値は以下のとおりであった。イソシアン酸：ICA (検出下限値：0.05 ng/mL)、メチルイソシアネート：MIC (0.005 ng/mL)、エチルイソシアネート：EIC (0.003 ng/mL)、プロピルイソシアネート：PIC (0.004 ng/mL)、フェニルイソシアネート：PHI (0.003 ng/mL)、1,6-ヘキサメチレンジイソシアネート：1,6-HDI (0.005 ng/mL)、2,6-トルエンジイソシアネート：2,6-TDI (0.001 ng/mL)、2,4-トルエンジイソシアネート：2,4-TDI (0.001 ng/mL)、4,4'-メチレンジフェニルジイソシアネート：4,4'-MDI (0.002 ng/mL)、trans-イソホロンジイソシアネート：trans-IPDI (0.01 ng/mL)、cis-イソホロンジイソシアネート：cis-IPDI (0.008 ng/mL)。図 2.1-3 に DBA 誘導体化イソシアネート類標準溶液 (1 ng/mL、注入量 1 µL) のトータルイオンクロマトグラムを、図 2.1-4 にその選択イオンクロマトグラムを示す。

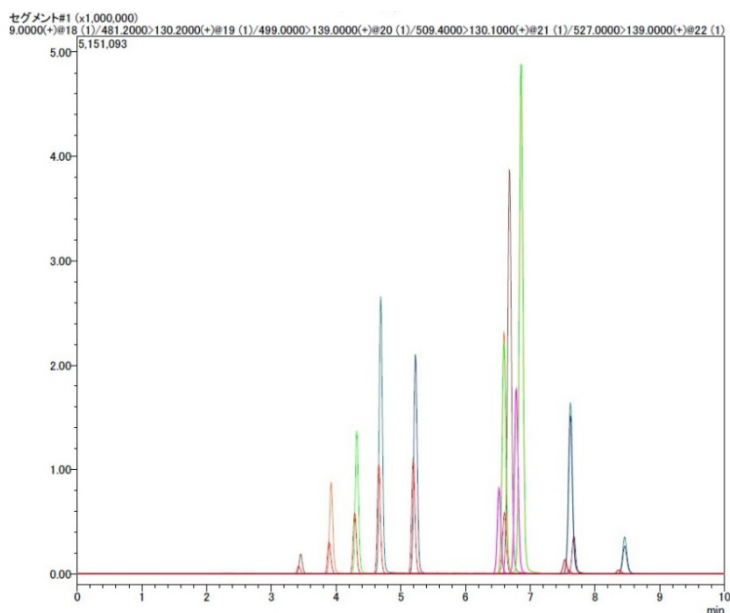


図 2.1-3 LC-MS/MS における DBA 誘導体化イソシアネート類標準溶液 (1 ng/mL、注入量 5 µL) のトータルイオンクロマトグラム

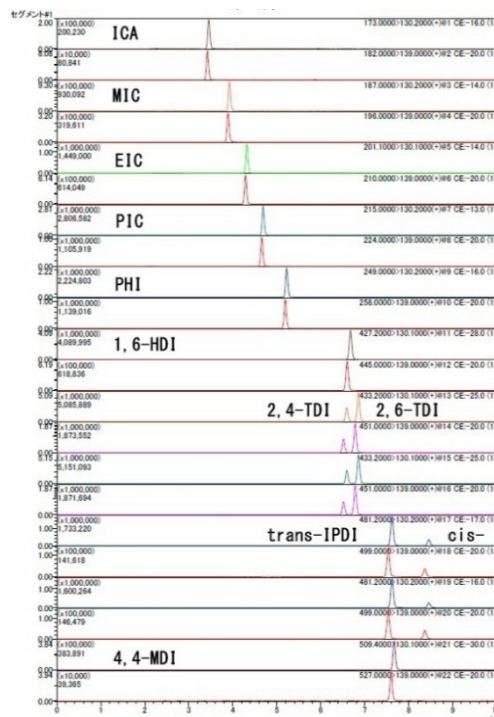


図 2.1-4 選択イオンクロマトグラム

(2) PU 製品からのイソシアネート類放散量評価

PU 製品は自動車の座面シートと枕を対象とし、その試験片から放散されるイソシアネート類を評価対象とした。放散試験は JIS 法である建材から放出される半揮発性有機化合物 (SVOC) を評価するマイクロチャンバ法¹⁷⁾を参考に、既存の装置を活用しつつ手法を確立した。放散速度は図 2.1-5 に示す要因で決定されるため、本研究では温度、湿度、換気回数、試験負荷率 (試験片の表面積とチャンバ体積の比) を調整して放散試験を行うこととした。試験系を図 2.1-6、2.1-7 に、試験時の写真を図 2.1-

8、2.1-10 に示す。試験片を入れた石英ガラス製の気積 13L チャンバを、マルチオープン (ETTAS, MOV-300S) 内に設置し、チャンバの設置環境温度を制御した。リアルワールドを模すために、試験負荷率は、セダンタイプ乗用車の座面シート表面積と車内空間体積の比に近くなるように試験片を 1 辺 2 cm の立方体とした。試験用の空気は室内空気をコンプレッサで吐出し、HEPA フィルタ、活性炭フ

$$qA = p1 \times \frac{n}{L} + \frac{m2}{A \times t} = \frac{m1+m2}{A \times t} \quad [\mu\text{g}/(\text{m}^2 \cdot \text{h})]$$

qA : 単位面積当たりの放散速度 $[\mu\text{g}/(\text{m}^2 \cdot \text{h})]$

n : 換気回数 (回/h)

L : 試料負荷率 (m^2/m^3)

A : 試験片の表面積 (m^2)

t : 経過時間 (時間又は日数)

$m1$: 放散試験時の SVOC 捕集量 (μg)

$m2$: 加熱脱着時の SVOC 捕集量 (μg)

$p1$: 放散試験時の SVOC のチャンバー出口濃度 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)

図 2.1-5 放散速度

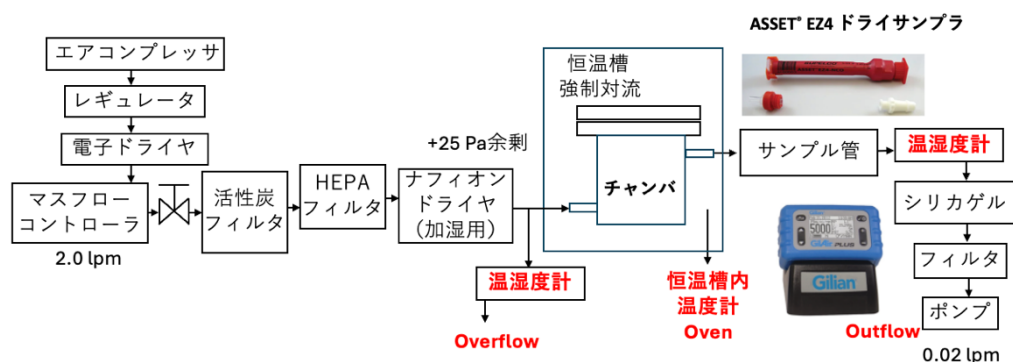


図 2.1-6 放散試験系 (捕集時)

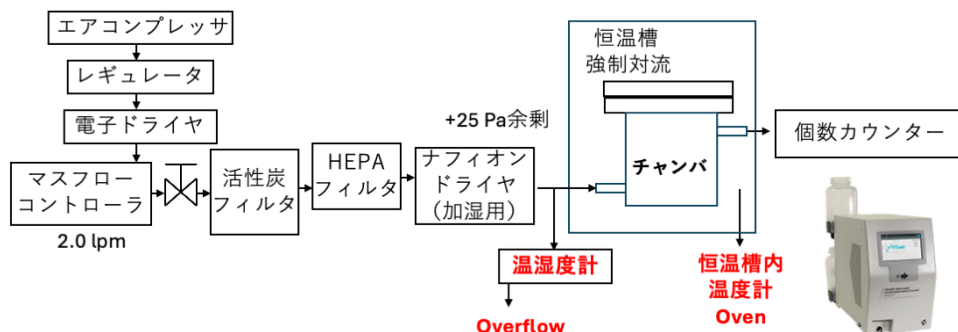
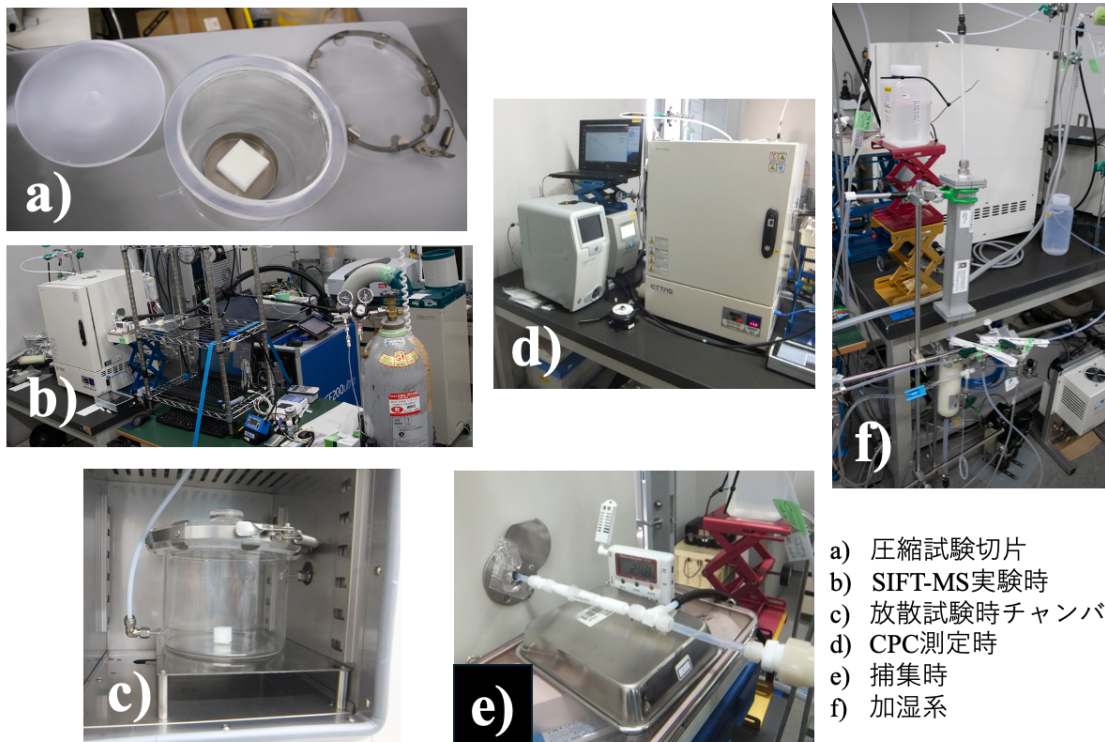


図 2.1-7 放散試験系 (発塵速度測定時)

た。放散試験時には温湿度が制御された加圧空気をチャンバの上流から 2 L min^{-1} で供給し、分岐して一方は大気解放、一方はチャンバを経由し、オープンの下流の位置でポンプ (ギルエアプラス) により 20 mL min^{-1} あるいは 200 mL min^{-1} で吸引した。前者の流量は JIS 法の流量条件に近い場合、後者は走行中内気循環としたときの車内空気の滞留時間¹⁸⁾に近くなる場合である。チャンバにその流量で 24 時間通気させ、オープンから出てきたあとの下流の位置で、試験片から発生した粒子やガスをサンプラ (事前の検討時は ASSET® EZ4 ドライサンプラ、放散試験本番は自前でジブチルアミン処理した捕集管) にて捕集した。チャンバの設置環境温度及び通気用空気の相対湿度 (RH) は、JIS 法の 28°C 、50% を基準とした。また放散量の湿度の影響をみるための模擬環境実験も行い、 28°C 、RH=10-20% の実験も行った。湿度の調整は Nafion チューブを利用し、湿潤空気と乾燥空気との流量バランスを取り調節した。さらに温度の影響をみるため、 45°C と 60°C の温度条件 (RH はそれぞれの温度において 20% と 10%、 28°C 換算ではいずれも RH=50%) でも実施した。 60°C 、RH=20% の条件は、直射日光が当たらない車内後部座席で夏季 (2022/8/10 つくば晴れ) に日中測定した最高温度及びその時の湿度の実測値を模擬している (図 2.1-9)。



a) 圧縮試験切片
b) SIFT-MS実験時
c) 放散試験時チャンバ
d) CPC測定時
e) 捕集時
f) 加湿系

図 2.1-8 実験時の写真

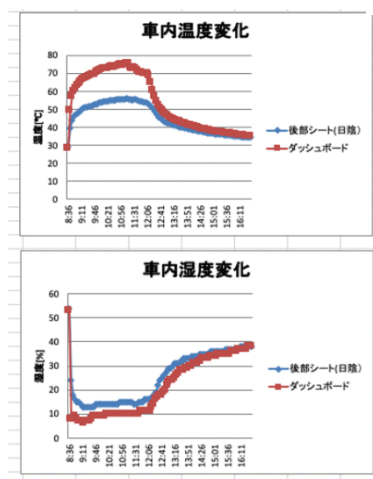


図 2.1-9 夏季車内温湿度測定結果



図 2.1-10 石英チャンバと蓋と本体間の固定器具

対象物質が半揮発性有機化合物であるため、放散試験時にチャンバの内壁に吸着し結果を過小評価する恐れがある。そこで JIS 法に準じて 24 時間の放散試験の捕集後に、窒素を 60 mL min^{-1} で通気させながらチャンバ設置環境を 200°C に加熱してチャンバ内の吸着成分を脱着させ、捕集管に追加で捕集した。

放散試験は通常 24 時間の工程で行われるが、本研究ではマルチ反応リアルタイム質量分析計（SIFT-MS）を用い、サンプラの代わりにチャンバの出口に接続し、24 時間を超える長時間にわたる放散量の時間変化を連続測定により評価した。SIFT-MS は複数のイオン源を選択できるため、事前検討として模擬的に 2,4-TDI 蒸気を測定し、本試験に最適なイオン源を選定した。あわせて、放散試験に用いる清浄空気としての適性も評価した。装置の流量は 24 mL min^{-1} であり、連続測定時のチャンバ下流の流量条件も同様である。

粒子の発塵試験では、同様に凝縮式粒子計数器（TSI, CPC model 3789）をチャンバ出口に接続し、粒径 2.2 nm 以上の粒子濃度個数を計測した。装置の流量は 300 mL min^{-1} であり、連続測定時のチャンバ下流の流量条件も同様である。

なお、実験系にはステンレスあるいはPFAチューブを用い、複数箇所にて微差圧計、温湿度計を設置して系内のそれらの状態を管理した。

(3) 室内での PUF 製品の使用を想定した劣化・微細化試験

試料：本研究では、自動車座面用と枕用の軟質 PUF 製品を入手し、直方体（5×5×2 cm）に切り出したものを、劣化・微細化試験の試験片とした。自動車座面と枕の試験片を図 2.1-11 に示す。

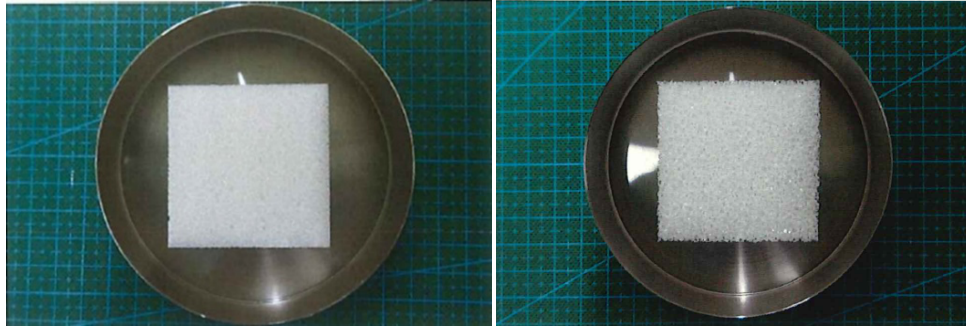


図 2.1-11 自動車座面（左）と枕（右）の試験片

劣化試験：試験片の劣化試験は、室内で使用する際の温度や湿度を考慮して設定した。具体的には、自動車座面の試験試料については夏季の車内環境を想定した模擬環境（温度 60℃、相対湿度 10%）を、枕の試験試料については JIS A 1904:2015¹⁹⁾に基づく放散試験の環境（温度 28℃、相対湿度 50%）を、それぞれ劣化試験とした。劣化試験の試験時間は、0 時間（未処理）、24 時間、72 時間、240 時間として、劣化試験片を調製した。

微細化試験：劣化試験片の微細化試験は、自動車座面や枕の使用状況を模擬するものとして、JIS K 6400-4 6.2 項 B 法（定変位法）²⁰⁾を参考にした繰り返し圧縮試験を採用して実施した。具体的には、ステンレス製シャーレ中央に設置した劣化試験片を、万能材料試験機 5566 型（インストロン社製）の加圧盤の下に置いて、繰り返し圧縮試験を実施した（図 2.1-12）。この時、加圧盤が劣化試験片に直接触れないようにアルミホイルで包んだ。繰り返し圧縮試験では、圧縮試験速度 100 mm/min、試験片圧縮率 50%、毎分 5 回の速さで、8 時間 2400 回繰り返し圧縮した。圧縮試験終了後、加圧盤を包んでいたアルミホイルを外し、このアルミホイルで劣化試験片とステンレス製シャーレを包み、その上からステンレス製シャーレの蓋をした。

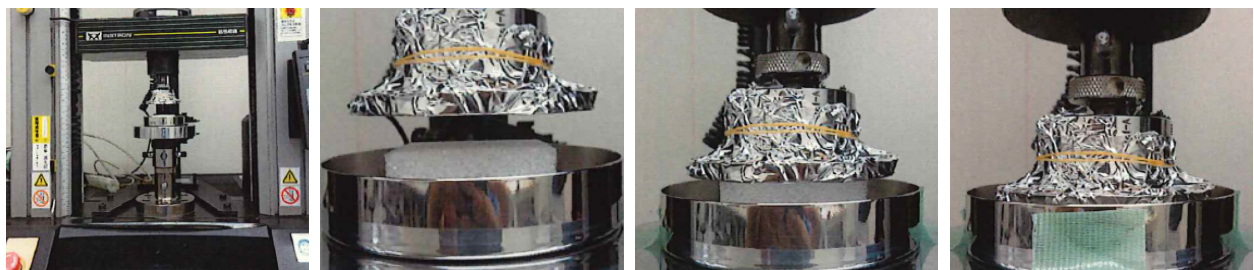


図 2.1-12 劣化試験片の繰り返し圧縮試験

左：万能材料試験機の全景、中央左：圧縮試験の様子、中央右：試験片圧縮率 0%、右：試験片圧縮率 50%

微細化物の回収：劣化試験片の微細化試験で生成した微細化物は、関連試料をガラス製ろう斗に載せて、75%エタノール溶液 100 ml で洗い流して回収した。関連試料としては、PUF と接していたアルミホイル、PUF、ステンレス製シャー

レがある。PUF は、洗浄後に、ろう斗に押し付けて、75%エタノール溶液を回収した。微細化物を含む 75%エタノール溶液を試料懸濁液は、材質分析を実施するまで冷蔵保存した。

顕微 FT-IR による材質分析：試料懸濁液については、ろ過器を用いて親水性 PTFE フィルタ（孔径：0.2 μm ）に通水してろ過し、微細化物を捕集した。捕集後、フィルタ上の微細化物を 75%エタノール溶液に再懸濁して 10 ml に定容し、そのうち 500 μl を分取して再び親水性 PTFE フィルタ上に捕集した。得られた試料について、顕微 FT-IR によりイメージング測定を実施した（図 2.1-13）。PU に特徴的な吸収帯をもとにケミカルイメージを作成し、MP の候補粒子をスクリーニングした。PU 候補粒子は、一粒ずつスペクトルを確認して同定し、個数を計測した。さらに、同定した PU 粒子について粒子解析を行い、粒子サイズを測定した。

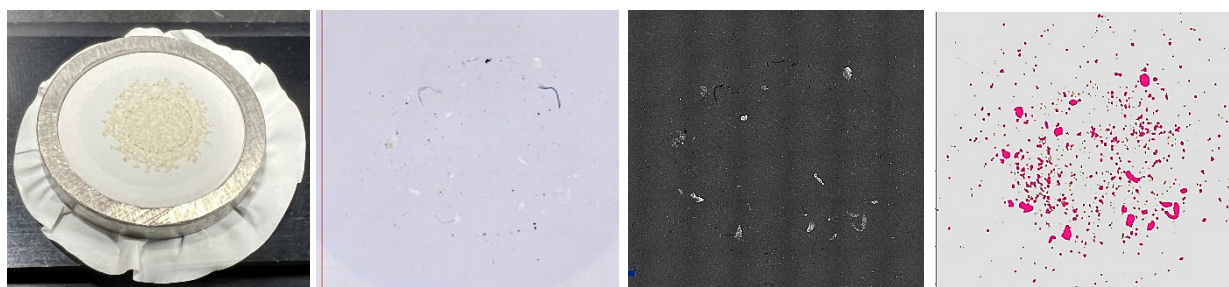


図 2.1-13 PTFE フィルタ上に捕集した微細化物のイメージング顕微 FT-IR 測定

左：フィルタ上に捕集した微細化物（一例）、中央左：フィルタ上微細化物のカラー画像、
中央右：フィルタ上微細化物のレーザー顕微鏡による合成画像、右：フィルタ上の PU のケミカルイメージ。

2.1.3 結果と考察

（１）室内空気及び PU 製品に含まれるイソシアネート類の分析

自動車シート用 PUF の分析結果

2 種類の PUF（A・B）について分析を実施した結果、トルエンジイソシアネート（2,4-TDI 及び 2,6-TDI）が他のイソシアネート類よりも顕著に含まれていた。この製品に含まれるイソシアネート含有量を推定した結果、試料 A における割合は 2,4-TDI（試料換算値：670～750 ng/g）>2,6-TDI（100～200 ng/g）>4,4'-MDI（23～71 ng/g）=ICA（20～23 ng/g）>PIC（3.6～5.7 ng/g）=MIC（1.3～1.5 ng/g）>PHI（0.13～0.61 ng/g）>EIC=1,6-HDI=IPDI-trans=IPDI-cis（定量下限値未満）であった。また、試料 B における割合は 2,4-TDI（550～1400 ng/g）>2,6-TDI（79～320 ng/g）>4,4'-MDI（42～64 ng/g）>ICA（20～25 ng/g）>PIC（1.9～3.5 ng/g）=MIC（1.0～1.7 ng/g）Fig.1 Toluene-2,4-diisocyanate>PHI（0.11～1.1 ng/g）>EIC=1,6-HDI=IPDI-trans=IPDI-cis（定量下限値未満）と見積られた。

自動車 PU シートのイソシアネート含有量に関する本結果は、試料 A と B とともに 2,4-TDI が最も高濃度（A:670～750 ng/g, B:550～1400 ng/g）で、次いで 2,6-TDI（A:100～200 ng/g, B:79～320 ng/g）、4,4'-MDI（A:23～71 ng/g, B:42～64 ng/g）、ICA（A:20～23 ng/g, B:20～25 ng/g）と続き、PIC、MIC、PHI が微量であり、EIC、1,6-HDI、trans/cis-IPDI が定量下限値未満というパターンを示している。この傾向は、PUF の製造プロセスを反映しており、TDI 系が柔軟フォームの主原料として用いられるため支配的であることと一致している。一方、他のイソシアネート類はプレポリマーや添加剤由来の残存と考えられる。自動車シート用 PUF は、座面や背面のクッション材として柔軟性が求められるため、TDI が主に使用されることが想定される。TDI の合計が数百 ng/g を超え、他のイソシアネート類を 1-2 桁上回っており。これは、TDI の反応残渣が PU マトリックス内に残存しやすいことを示唆している。MDI は剛性フォーム向けであるが、混合使用により検出され、ICA はこれらの分解生成物として存在していることが推測される。PIC、MIC、PHI、HDI が微量であることは、これらが自動車シートであまり用いられていないことを反映しており、試料間の濃度差（B の方が TDI 範囲広い）は、製造ロットや経時変化による可能性が高いと思われる。国内の厚生労働省補助金研究（2007 年）では、市販

軟質ウレタンフォーム（マットレスなど）のイソシアネート含有量を測定し、TDIを中心とした検出を報告している²¹⁾。そこではすべての試料からTDIが検出され、濃度は数十～数百 ng/g を示し本研究と類似していた。具体的には、軟質 PUF で 2,4-TDI 20～920 ng/g, 2,6-TDI 5～200 ng/g 程度で、MDIは低め（10～50 ng/g）の値となっていた。この研究は EU の限界値（1 mg/kg = 1,000,000 ng/g）を下回るが、本研究で入手した試料は製造から時間経過が少ない試料であり得られた結果も上限範囲に近いことから、残存するTDIが放散源となり得る可能性が示唆される。国際的比較では、2014年に発表された研究論文では PUF とコーティング製品のイソシアネートとアミンの定量を行い、2,4-TDI と 2,6-TDI が 0.02～0.92 mg/kg（20～920 ng/g）で検出されている²²⁾。幼児椅子やマットレスで 38.2～1570 ng/g の総イソシアネートが検出されており、アミン濃度はイソシアネート類の 18～630 倍ほど高かった。また、2016年に発表された研究論文では、医療デバイスに残存するイソシアネート類として MDI が極微量 0.52～140 pg/mg（0.00052～0.14 ng/g）で検出されている²³⁾。本研究における MDI（23～71 ng/g）は数百倍高い値を示しているが、これは医療用 PU が厳格な洗浄工程を経ており、自動車シートは消費者製品として残存許容が高いことを示す。さらに、2012年の研究論文におけるTDIリスク評価では、PUF（マットレス）からのTDI放散に基づいて曝露推定が行われており、そこでは残存するTDIは ng/g レベルであること、皮膚/吸入曝露が毒性ベンチマーク以下（MOS 200～3×10⁶）と結論付けられた²⁴⁾。自動車シートは接触面積が大きく高温環境になるため、本結果のTDI値は車内曝露を増大させる可能性が考えられる（表 2.1-2）。

表 2.1-2 LC-MS/MS の機器条件

研究/製品	2,4-TDI (ng/g)	2,6-TDI (ng/g)	4,4'-MDI (ng/g)	ICA (ng/g)	その他
試料A	670-750	100-200	23-71	20-23	PIC 3.6-5.7, MIC 1.3-1.5, PHI 0.13-0.61, 他LOQ未満
試料B	550-1400	79-320	42-64	20-25	PIC 1.9-3.5, MIC 1.0-1.7, PHI 0.11-1.1, 他LOQ未満
2007年：市販軟質PU	20-920	5-200	10-50	N/A	TDI中心
2014年：PUフォーム	20-920	5-200	N/A	N/A	総濃度：38.2-1570
2016年：医療デバイス	N/A	N/A	0.00052-0.14	N/A	低残存
2012年：マットレスPU	数百（推定）	低め	N/A	N/A	

表 2.1-2 から、本研究結果のTDI値は過去報告の上限近くにあることがわかる。自動車シートにおける柔軟性要求がTDI使用を増やしている可能性があり、MDIはTDIの1/10程度であることから混合系フォームの特徴が示唆される。その一方で、濃度変動の要因は複数存在するものと思われる。以下に想定要因を示す。(1) 製造プロセス: TDIは軟質PUで80/20混合（2,4-/2,6-）が標準であり、未反応モノマーが残存している。(2) 経年効果: 2015年の科研費報告では、PUの摩擦/加熱でイソシアネート類の発生増加（ng/gからμg/gへ）を確認している。自動車シートは高温車内で放散しやすく、本研究で用いられた製品は、ほぼ未使用新品であるために高めの定量値を示したことが考えられる。(3) 抽出方法: LC-MS/MS DBA 誘導体化により高感度な手法となっているが、トルエン抽出効率で変動する可能性があり得る。その一方で、過去にHPLC-UVを用いて測定された報告例では、低感度による過小評価の可能性も想定される。

自動車PUの放散試験結果

表 2.1-3 の試験結果は、自動車用 PUF からのイソシアネート放散を ng/L 単位で示しており、JIS 法（おそらく米国基準の標準試験）と模擬 1～3（環境条件を段階的に厳しくした試験）で比較している。その結果、TDIとMDI（メチレン

ジフェニルジイソシアネート) の放散が目立ち、他はLOQ未満となっている。これはPU製造でTDIが柔軟性を与える原料として常用されることに起因する可能性が高く、室内空気への放散は残存モノマーや熱分解の影響が考えられる。

表 2.1-3 自動車 PU の放散試験試料の分析結果

	ng/L (放散大気濃度換算値)										
	ICA	MIC	EIC	PIC	PHI	1,6-HDI	2,4-TDI	2,6-TDI	IPDI-trans	IPDI-cis	4,4-MDI
JIS法	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	0.14	0.021	>LOQ	>LOQ	0.023
模擬 1	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	0.32	0.076	>LOQ	>LOQ	0.14
模擬 2	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	0.84	0.22	>LOQ	>LOQ	0.14
模擬 3	0.28	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	1.5	0.46	>LOQ	>LOQ	0.35

国内研究では、神奈川県環境科学センターの 2015 年報告書にて、大気中ジイソシアネート (TDI, IPDI, HMDI) の測定法が開発され、検出下限は 0.03~0.04 ng/m³ (0.00003~0.00004 ng/L) と高感度に設定されている²⁵⁾。チャンバ試験で PU 製品からの放散を確認しているが自動車用 PU の値ではなく、一般大気で TDI 0.001~0.1225 ppm (0.007~0.85 mg/m³、7~850 ng/L) と高い事例が引用されている。本研究結果における濃度レベルはこれより低い。例えば、車内における密閉状況下では類似の濃度蓄積が起こり得るものと推測される。国立環境研究所の猪俣らの研究では、ウレタン製品 (自動車シート含む) からのイソシアネート放散を評価している。TDI 0.1~1 ng/L の室内濃度を報告しており、チャンバ試験で温度依存を確認した結果、28℃から 40℃の変化により放散が増加した傾向を示した²⁶⁾。2016 年の厚生労働省補助金研究では、VOC 放散データベースで自動車内装 PU の TDI 放散を µg/m² h 単位で測定し、換算 ng/L で 0.5~2 ng/L 相当であることを報告している²⁷⁾。これは本研究結果と類似しており、TDI の支配的パターンという特徴も共有している。東ソーの 2020 年報告では、MDI 系自動車シートフォームで VOC 放散を ng/g 単位で 200~10,000 ng/g と分析しており、TDI/MDI ブレンド比で TDI が強く放散される可能性が示唆されている²⁸⁾。一方、本結果で得られた MDI 0.023~0.35 ng/L は MDI 低減技術の影響など何らかの要因があるものと考えられる。

一方、海外で報告された研究では、NIST の 2015 年報告 (Characterization of Emissions from Spray Polyurethane Foam) が挙げられる²⁹⁾。PUF の放散をマイクロチャンバで測定しており、8 µg/m³ (8 ng/L) の HDI を検出した。自動車内装に類似しており、本研究結果の TDI/MDI 値よりも値は高くなっているが、おそらく塗布直後に濃度が集中的に高いことが原因と考えられる。Polyurethane Foam Association の概要では、自動車フォームのイソシアネート跡量放散を熱条件下で指摘しており、車内の高温下で揮発性有機化合物の増加を警告している³⁰⁾。2010 年の論文 (Identification of the isocyanates generated during the thermal degradation of a polyurethane car paint) では、自動車 PU 塗料の熱分解で生成するイソシアネート類を同定しており、濃度レベルは ng/m³ であった³¹⁾。また、2014 年の発表論文 (Quantification of isocyanates and amines in polyurethane foams) では、PUF 中の TDI 0.04~0.92 ng/g、MDI 0.03~0.3 ng/g を報告しており、空气中濃度換算で ng/L レベルの放散が確認された²²⁾。本研究結果において得られた放散値は、製品中濃度からの予測値と概ね合致しているものと思われる。

枕片の放散試験結果

寝具 PU 枕からのイソシアネート放散試験結果を表 2.1-4 に示す。この表を確認すると、ng/L 単位の低濃度放散を示しているが TDI の支配的傾向が顕著であった。

JIS 法 1 では 2,4-TDI 0.071 ng/L、2,6-TDI 0.014 ng/L、4,4-MDI 0.059 ng/L と微量で、他物質 LOQ 未満であった。JIS 法 2 でそれぞれ 0.089 ng/L、0.041 ng/L、0.026 ng/L、JIS 法 3 で 0.11 ng/L、0.054 ng/L、0.018 ng/L と試料間のばらつき小さい。一方、模擬 1 で 2,4-TDI 0.15 ng/L、2,6-TDI 0.035 ng/L、4,4-MDI 0.045 ng/L へ上昇、模擬 2 で 0.74 ng/L、0.16 ng/L、0.31 ng/L、模擬 3 で 1.3 ng/L、0.58 ng/L、0.42 ng/L となった。この増加は、模擬条件の厳格化 (温度上昇や湿度調整) によるもので、PU マトリックスの残存イソシアネートが環境要因で揮発しやすくなることを示唆している。TDI の 2,4/2,6-異性体比は

約 2-3:1 で、製造時の標準混合比（80/20）を反映していた。MDI の検出は混合ポリマーの可能性を示唆し、脂肪族イソシアネート（HDI、IPDI）の不在は低反発枕の芳香族 PU 組成によるものと推測される。

過去研究と比較すると、この ng/L レベルは一般的な濃度範囲であるが、試験条件の差で変動が大きい結果となった。国内では、2009 年の厚生労働省補助金研究では、市販 PUF 枕のイソシアネート含有量を ng/g 単位で測定し、TDI 400～850 ng/g、空気放散 0.05～0.15 ng/L 相当と見積もった³²⁾。本研究結果における増加傾向は、同研究の温度依存データと一致しており、28℃で低め、40℃で 2 倍増を示している。国際研究では、2021 年の論文（Viscoelastic Polyurethane Foams with Reduced Flammability）で、低反発 PU 枕における VOC 放散の研究が行われている³³⁾。ここでは TDI/MDI として 0.1～0.5 ng/L 相当を報告しており、難燃剤添加による放散量の低減が提案された。これをふまえると、本研究結果における高めの TDI 放散値は難燃剤無添加枕の特徴かもしれない。さらに 2022 年の論文（Environmental assessment of rigid polyurethane foam）では、PUF のライフサイクル放散が分析されており³⁴⁾、この論文で検討された熱負荷模擬試験の結果は本研究と比較的近い一致を示した。

表 2.1-4 枕片の放散試験試料の分析

	ng/L (放散大気濃度換算値)										
	ICA	MIC	EIC	PIC	PHI	1,6-HDI	2,4-TDI	2,6-TDI	IPDI-trans	IPDI-cis	4,4-MDI
JIS法 1	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	0.071	0.014	>LOQ	>LOQ	0.059
JIS法 2	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	0.089	0.041	>LOQ	>LOQ	0.026
JIS法 3	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	0.11	0.054	>LOQ	>LOQ	0.018
模擬 1	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	0.15	0.035	>LOQ	>LOQ	0.045
模擬 2	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	0.74	0.16	>LOQ	>LOQ	0.31
模擬 3	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	1.3	0.58	>LOQ	>LOQ	0.42

車内及び室内空気におけるイソシアネート類の分析結果

試料は車内、リビング、洗濯場、寝室から採取した。図 2.1-14 のアルファベット（K、F など）は試料採取を実施した各個人宅を表している。車内では K 宅 2024 年 6 月に ICA+TDI+MDI の合計値が約 3 ng/L、Y 宅 2024 年 8 月に 2 ng/L

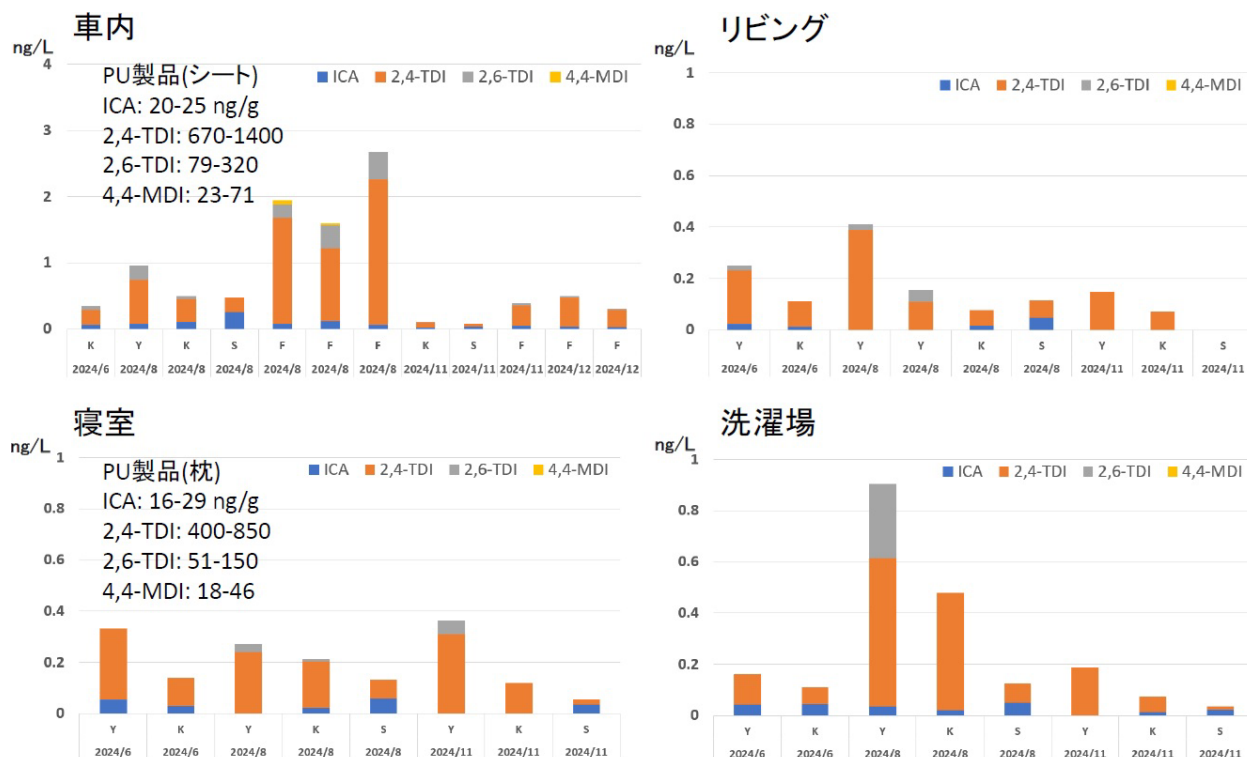


図 2.1-14 車内および室内空気におけるイソシアネート類の分析結果

超と大きな変動を示した。リビングではY宅2024年6月に0.8 ng/L、S宅2024年11月に0.2 ng/Lと低めであった。寝室はK宅2024年8月に0.6 ng/L、洗濯場はY宅2024年6月に0.8 ng/Lと全体的に低濃度レベルであった。この結果は、PU製品中濃度（シートICA 20～25 ng/g, 2,4-TDI 670～1400, 枕ICA 16～29, 2,4-TDI 400～850）は放散源を示す基準値であって空気への移行率は低い、その一方で場所差（車内は高め）は高温や密閉状況下に起因するものと推測される。過去研究との比較で、このng/Lレベルの検出濃度は一般的ではあるが、測定法や環境要因で変動する可能性が高い。厚生労働省補助金研究（2009年）では、市販PUFにおいてTDI 20～920 ng/g、空気放散0.05～0.15 ng/L相当であり、本研究結果のPU中濃度と合致しているが³²⁾、リビングや寝室での低い値は換気効果や家具配置が変動要因となっているかもしれない。その一方で、2023年の研究論文では柔軟性PUの放散試験により経時減少を確認しており、イソシアネート類として0.1～1 ng/Lの放散濃度を推定している³⁵⁾。これは、本研究結果における月減少傾向（11月と12月に低い値）と類似しており、およその検出濃度レベルとしては、妥当なものであることが示唆された。

（2）PU製品からのイソシアネート類放散量評価

石英チャンバの蓋と本体の間から系外空気が漏れ混むことが明らかになったため、まずはその問題の解決を図った。チャンバに接続するチューブ径と長さ、供給用空気圧力を調整した上で、蓋と本体をシリコンパッキンではさむこととし、蓋と本体のフランジの留め具には、一体型クランプと独立型クランプで試した（図2.1-10）。これらの条件でチャンバ前後の流量差の確認（表2.1-5）、及びゼロガス導入時にCPCによる系内の粒子個数濃度の確認を行うことで系外空気の漏れ込みの度合いを確認した（図2.1-15）。クランプとシリコンパッキンを用いることでチャンバ前後の流量差が小さくなり、漏れ込みが小さくなることを確認した。なお、マイナスの値は漏れ込みがあることを示す。CPCによるチャンバ内粒子濃度の確認結果については、上流に抵抗があるとき（すなわち系内が陰圧になる）は、濃度が減衰しない結果であった。すなわち、チャンバ本体と蓋の間に漏れる箇所があり、継続して室内空気に含まれる粒子がチャンバに流入される状態であった。図2.1-15には系内のゲージ圧を+25Paとした上で加圧空気導入時の漏れ込み確認を行った時のチャンバ内粒子濃度の経時変化を示す。いずれの条件でも濃度が減衰する結果であり、固定条件で大差ない結果であったが、D（シリコンパッキンと一体型クランプによる固定）の条件が最も減衰速度が早い結果となった。よって、放散試験はD（シリコンパッキンと一体型クランプによる固定）の固定方法で実施することとした。次に温湿度を制御するための条件設定（加湿空気と乾燥空気の流量調整等）を行った。図2.1-16にチャンバに流す流量を200 mL min⁻¹時で温湿度を制御した結果を示すが、温度湿度がコントロール出来ることを確認した。

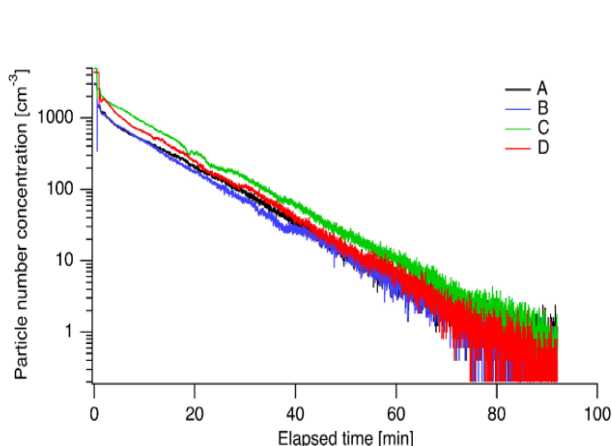


図 2.1-15 CPCによるリークチェック
（凡例は表1に示した通り）

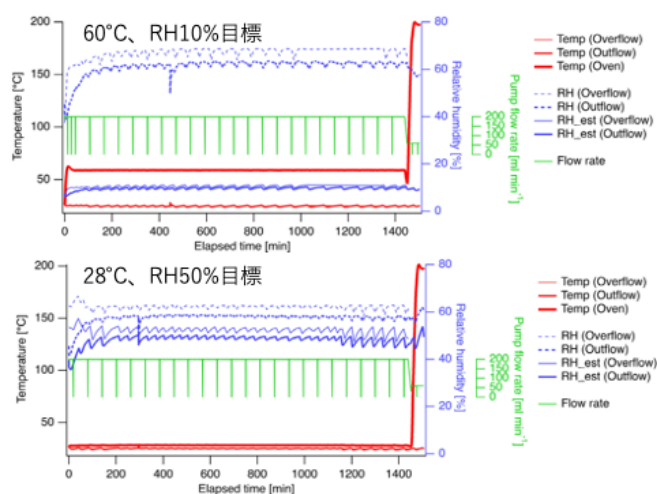


図 2.1-16 温湿度制御の結果

表 2.1-5 チャンバ前後の流量差

(チャンバ上流における計測値 - チャンバ下流における計測値)

上流条件		抵抗有	加圧空気導入25Pa	加圧空気導入25Pa
下流条件		吸引 200ml/min	吸引 200ml/min	吸引 20ml/min
固定方法		流量差 ml/min		
A	無し	-36.6	-9.6	-8.92
B	独立型クランプ	-19.4	-7.6	-5.95
C	独立型クランプ+シリコンパッキン	-2.9	-2.8	0.41
D	一体型クランプ+シリコンパッキン	-3.2	-2.7	-1.45

表 2.1-6 座面シート片試験時温湿度等結果

環境曝露試験／放散試験（24時間）					設定値	計算値									
Exp	°C 温度	% 相対湿度	ml/min 流量	実施開始日	Temp	ave RH	Temp	ave RH	Temp	ave RH	Temp	ave RH	Temp	ave RH	ave GilAir Flow (cc/min)
					チャンバー内	ベントライン	捕集管(出口)	恒温槽	室内(捕集管付近)						
1 放散試験×JIS法	28	50	20	2024/8/14	28	49.84	25.30	60.35	25.19	54.65	28.57	25.48	58.83		19.21
2 放散試験×JIS法	28	50	20	2024/8/15	28	50.33	25.30	60.35	24.90	50.92	28.41	25.24	58.89		19.23
3 放散試験×JIS法	28	50	20	2024/8/19	28	49.51	25.06	59.95	25.09	54.32	28.32	25.40	53.97		19.20
4 模擬環境試験 1	45	10-20	20	2024/8/20	45	20.83	25.09	59.60	25.10	53.22	44.05	25.94	52.70		19.19
5 模擬環境試験 2	60	10-20	20	2024/8/21	60	12.63	24.96	75.24	24.99	60.83	58.85	26.61	51.50		19.23
6 模擬環境試験 3	28	10-20	20	2024/8/22	28	14.26	24.94	17.35	25.04	20.71	28.27	25.32	54.52		19.24
12 圧縮試験用試料作成 24時間	28	50	20	2024/7/23	28	44.18	26.07	53.10	26.06	52.08	29.23	26.37	54.92		19.19
13 圧縮試験用試料作成 72時間	28	50	20	2024/7/23	28	45.01	26.05	54.30	26.08	50.72	29.27	26.38	52.26		19.19
14, 15 圧縮試験用試料作成 240時間	28	50	20	2024/7/23	28	45.52	25.82	55.20	25.86	49.85	29.12	26.13	50.18		19.18

表 2.1-7 枕片試験時温湿度等結果

環境曝露試験／放散試験（24時間）					設定値		計算値								
Exp	℃ 温度	％ 相対湿度	ml/min 流量	実施開始日	ave	ave	ave	ave	ave	ave	ave	ave	ave	ave	
					Temp	RH	Temp	RH	Temp	RH	Temp	RH	Temp	RH	GilAir Flow (cc/min)
					チャンバ内			ベントライン			捕集管(出口)				
1	放散試験＋JIS法	28	50	20	2024/8/14	28	49.84	25.30	60.35	25.19	54.65	28.57	25.48	58.83	19.21
2	放散試験＋JIS法	28	50	20	2024/8/15	28	50.33	25.30	60.35	24.90	50.92	28.41	25.24	58.89	19.23
3	放散試験＋JIS法	28	50	20	2024/8/19	28	49.51	25.06	59.95	25.09	54.32	28.32	25.40	53.97	19.20
4	模擬環境試験 1	45 10-20		20	2024/8/20	45	20.83	25.09	59.60	25.10	53.22	44.05	25.94	52.70	19.19
5	模擬環境試験 2	60 10-20		20	2024/8/21	60	12.63	24.96	75.24	24.99	60.83	58.85	26.61	51.50	19.23
6	模擬環境試験 3	28 10-20		20	2024/8/22	28	14.26	24.94	17.35	25.04	20.71	28.27	25.32	54.52	19.24
12	圧縮試験用試料作成 24時間	28	50	20	2024/7/23	28	44.18	26.07	53.10	26.06	52.08	29.23	26.37	54.92	19.19
13	圧縮試験用試料作成 72時間	28	50	20	2024/7/23	28	45.01	26.05	54.30	26.08	50.72	29.27	26.38	52.26	19.19
14, 15	圧縮試験用試料作成 240時間	28	50	20	2024/7/23	28	45.52	25.82	55.20	25.86	49.85	29.12	26.13	50.18	19.18

以上の検討を経て、試験片を石英チャンバに入れて放散試験を行った。試験の一覧と、その際の各場所の温度湿度等の測定結果の一覧を表 2.1-6、2.1-7 に示す。捕集試料の分析を行い、PU 製品からのイソシアネート類の放散試験においては、11 種の分析のうち、2,4 トルエンジイソシアネート (2,4-TDI)、2,6-TDI 及び 4,4'-ジフェニルメタンジイソシアネート (4,4'-MDI) の検出に至った。これらの放散速度等の結果を図 2.1-17-2.1-19 に示す。JIS 法に準ずる温度湿度 (28 度 50%) 条件で放散速度を求めると、2,4-TDI の放散速度は 25-67 ng/m²/hour であった。相対湿度を固定し、45 度、60 度と雰囲気温度を上げるにつれて放散速度も速くなり、60 度では 28 度時に比べ 20 倍程度となった。夏季の車内を模擬した温度である 60 度における放散速度から推定した車内 2,4-TDI 濃度は走行時内気循環を仮定すると 19ppt となった。一方 12 時間窓を閉めきり状態で停車の場合は 800ppt となり、夏季車内測定の実測とオーダーが一致した。これは、環境省第 14 次環境リスク初期

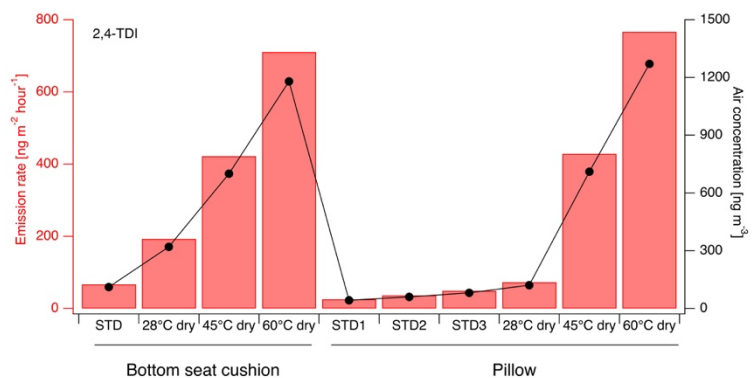


図 2.1-17 2,4-TDI の放散試験結果

評価³⁶⁾の評価値 180ppt より高い値である（評価の根拠データとなったヒト吸入曝露の NOAEL 900ppt と同程度）。さらにはその状態が 3 日間以上続くと作業環境の許容濃度 5ppb を上回る濃度になることが推定された（12 日間で最大許容濃度 20ppb 相当）³⁷⁾。また、温度が同じ場合、湿度の低下で放散速度が速くなった。2,6-TDI、4,4'-MDI についても検出され、放散速度は 2,4-TDI、2,6-TDI、4,4'-MDI の順であった。2,4-TDI を含めた成分間の放散速度の大小関係は、各成分の元の材質中含有率や物質の蒸気圧の積の大小関係と類似していることが分かった（図 2.1-20）。すなわち、材質中含有量が多い成分ほど、また、成分の蒸気圧が高い成分ほど、放散速度が大きくなることが明らかになった。ただ 4,4'-MDI は他の成分と異なる傾向であり、含有量や、その蒸気圧にしては放散量が相対的に大きい傾向にあった。含有量に対する放散量の収支をみると 4,4'-MDI、2,6-TDI、2,4-TDI の順で収支が高く、1%-87% の範囲となった。すなわち、4,4'-MDI は元の材料から放出されやすいという結果であった。座面シート片と枕片で傾向は同様であった。

SIFT-MS の事前の検討結果を図 2.1-21 に示す。清浄空気で値が低いこと、また、TDI 測定時に反応することから TDI+ (TDI;NO+) ($m/z=204$) で測定した結果を採択することとした。座面シート試験片を用いて雰囲気気温度が 60 度の条件で 2,4-TDI 濃度を 24 時間以上モニタした（図 2.1-22）。概ね最初の 12 時間で濃度は低減する様子が見えた。また JIS で規定されているチャンバ内壁吸着分回収のための 200 度に加温するプロセスでは、大きく濃度が増大し、脱着する様子も見られた。従って放散試験に準じた方法で放散速度を実態に即した状態で評価できることが確認された。

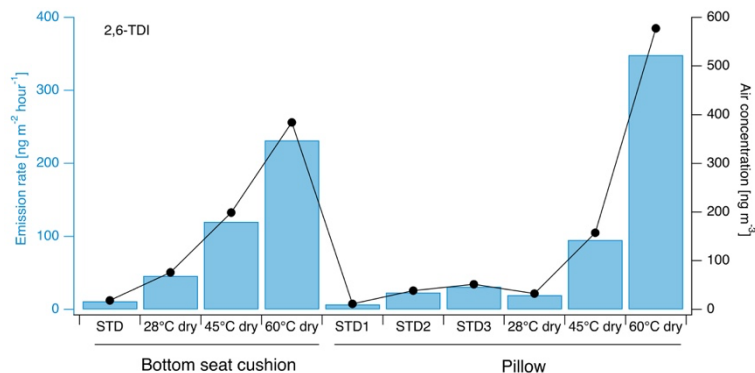


図 2.1-18 2,6-TDI の放散試験結果

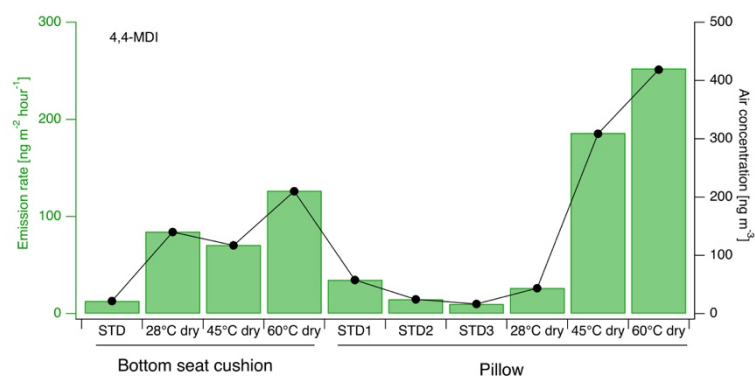


図 2.1-19 4,4'-MDI の放散試験結果

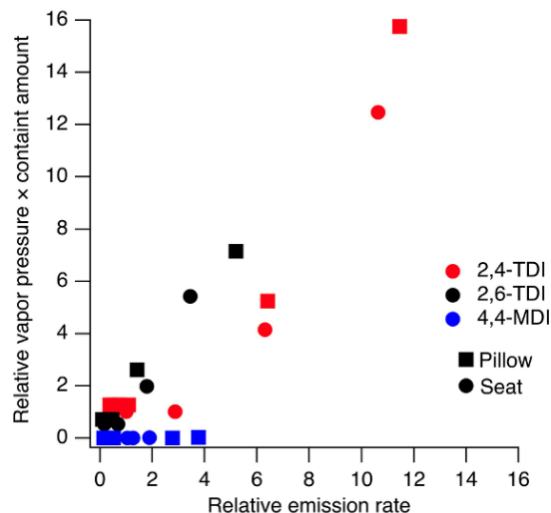


図 2.1-20 2,4-TDI (28°C・50%RH・座面シート片) を基準とした相対蒸気圧×相対含有量と相対放散速度の比較

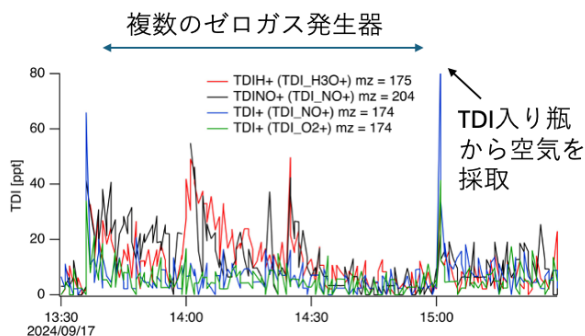


図 2.1-21 SIFT-MS 測定条件検討結果

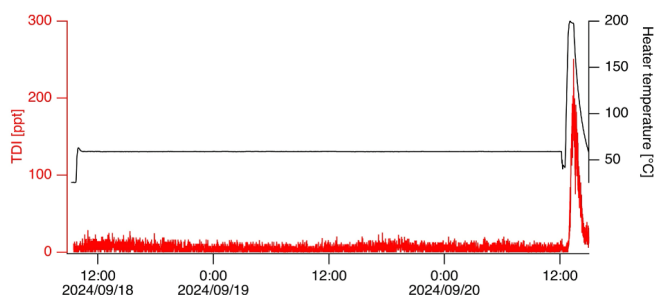


図 2.1-22 座面シート片を用いた SIFT-MS による TDI 測定結果

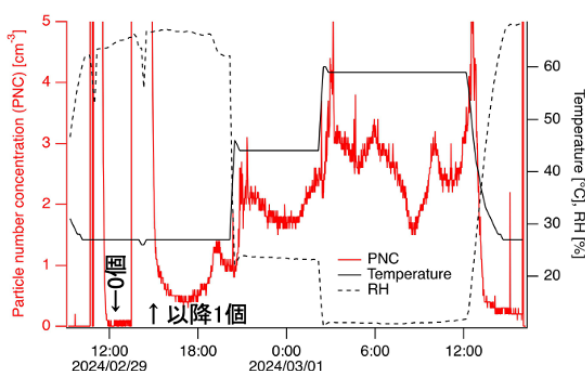


図 2.1-23 座面シート片発塵試験結果

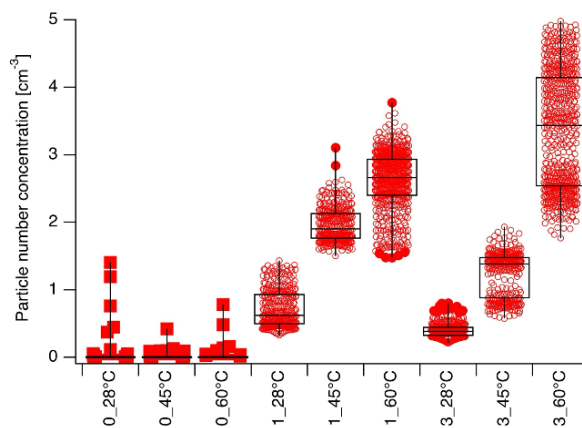


図 2.1-24 座面シート片発塵試験結果（頭の数字はチャンバに入れたウレタン片の数を示す。28°Cの湿度条件は50%）

CPC による発塵試験の結果については自動車座面シートの試験片から粒径 2.2 nm 以上の粒子の発塵が確認され、雰囲気温度を上げるにつれて発塵量が増えた（図 2.1-23、2.1-24）。チャンバ内に試験片を含めない場合は、個数濃度がゼロになる時間帯が大半であった。試験片を 1 つ、あるいは 3 つ含めた場合は粒子個数濃度が増え、系の温度を上げると粒子個数濃度が増える傾向が見られた。試験片を 3 つにした場合は、1 つの試験時に比べ粒子個数濃度が 3 倍に増える訳ではなく、むしろ 28 度、45 度条件の場合は、試験片 1 つの時に比べて低い濃度となった。いずれにしても PU 片から粒子が発塵することが確認された。発塵時の濃度を基に計算すると、PU 片単位面積あたりからの放出速度は 1.24×10^6 個 $\text{m}^2 \text{hour}^{-1}$ であった。28 度、試験片 1 つの結果を用いて、セダンタイプの乗用車車内の濃度を推定した。内気循環（換気回数 3.7 回 時^{-1} ）とし、換気以外の消失源を考慮しない場合、定常状態の濃度は 1.2 個 cm^3 と推定された。この推定濃度は、一般的な大気環境中濃度の 1000 分の 1 程度である。一方で、枕の試験片からは発塵は確認されなかった（図 2.1-25）。試験片は、自動車座面シート片では新品を用いたが、枕片では圧縮試験を経た切片で行ったが発塵しなかったことになる。PU の充填率など、試験片の性状の違いによる可能性が示唆された。

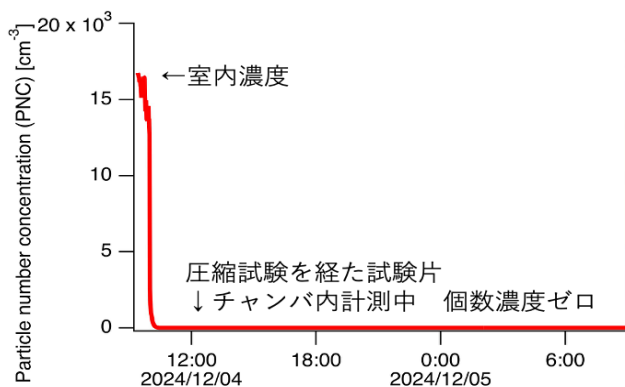


図 2.1-25 枕片発塵試験結果

(3) 室内での PUF 製品の使用を想定した劣化・微細化試験

本研究で微細化試験と位置付けた繰り返し圧縮試験は、製品の耐久性評価に用いられる試験法である。本試験では、加圧盤による負荷により試験片の圧縮率が 50%に達するまでに必要な荷重 (N) を測定した。また、負荷を除荷し (負荷をやめて荷重を取り除くこと)、荷重が 0.05 N に戻った時点での変位量 (繰り返し圧縮試験を実施する前の試験片の高さとの差、mm) を求めた。本研究では、これらの数値を比較することにより、繰り返し圧縮試験の前後における試験片の“へたり”を評価した。自動車座面及び枕の試験片について、劣化条件ごとに実施した繰り返し圧縮試験の 1 サイクル目 (試験開始時) と 2,400 サイクル目 (試験終了時) における負荷最大荷重及び 0.05 N 時の変位の結果を表 1 に示す。負荷最大荷重の範囲は、自動車座面で 20.17~29.40 N、枕で 4.338~5.712 N となり、自動車座面の方が圧縮に要する荷重が大きいことが示された。最大荷重及び変位の差には劣化時間との明確な関連性は認められず、本研究で設定した劣化及び微細化試験の条件下では、いずれの試験片にも“へたり”は生じていないと考えられた。また、微細化試験の前後で試験片の外観を比較しても、顕著な変化は観察されなかった。

表 2.1-8 自動車座面と枕の試験片の劣化条件別の繰り返し圧縮試験の結果

測定項目	単位	自動車座面 試験片*					枕 試験片**			
		未処理-1	未処理-2	24 h	72 h	240 h	未処理	24 h	72 h	240 h
試験開始時 負荷最大荷重	N	29.40	21.27	27.01	24.26	23.75	5.712	5.351	5.421	5.422
試験終了時 負荷最大荷重	N	25.63	23.01	23.01	20.68	20.17	4.729	4.414	4.338	4.351
最大荷重の差	N	3.77	4.00	4.00	3.58	3.58	0.983	0.937	1.083	1.071
試験開始時 除荷 0.05 N 時変位	mm	0.272	0.657	0.657	0.364	0.364	1.149	1.581	1.574	1.070
試験終了時 除荷 0.05 N 時変位	mm	0.941	1.299	1.299	1.172	1.115	1.977	2.258	2.345	1.723
変位の差	mm	-0.669	-0.642	-0.642	-0.808	-0.751	-0.828	-0.677	-0.771	-0.653

*劣化試験：温度 60℃、相対湿度 10%、**劣化試験：温度 28℃、相対湿度 50%

劣化試験片に対して実施した微細化試験により生成した PU の MP の生成個数及び粒子サイズ分布を、図 2.1-26 と 2.1-27 に示す。生成個数は、自動車座面について 140~900 個、枕で 7,400~12,800 個となり、自動車座面と比較して枕で 1 桁以上多かった。微細化試験及び回収処理の再現性、ならびに自動車座面の劣化 72 時間試料の結果を考慮する必要があるものの、いずれの試験片においても劣化時間の増加に伴い、粒子の生成数が増加する傾向が示された。粒子サイズについては、自動車座面で中央値 50~94 μm 、平均値 52~103 μm を示し、劣化 0 時間 (未処理-2、平均値：103 μm) 及び劣化 24 時間 (中央値：73 μm) と比較して、劣化 240 時間では平均値 52 μm 、中央値 50 μm と有意に小さくなった (Mann-Whitney 検定または Student's t 検定、 $P < 0.001$)。このことから、高温・低湿条件が PUF のセル壁の脆化・破断を通じて微細化を促進した可能性が示唆される。一方、枕では中央値が 58~75 μm 、平均値が 62~91 μm であり、劣化時間による粒径の有意な変化は認められなかった。

本研究で実施した PUF 製品の劣化試験片に対する繰り返し圧縮試験は、製品の耐久性に明確な影響を及ぼしていないと考えられた (表 2.1-8)。一方で、製造初期段階の PUF 製品であっても粒子状 MP が生成することが示され、さらに製品使用機関の経過に伴い生成数が増加する可能性が示唆された。また、自動車座面と枕の試験片間では、PU 粒子の生成個数に 10 倍以上の差が見られた。この差は、図 2.1-8 に示すように、試料間の空隙率の違いに起因している可能性がある (自動車座面は空隙率が低く高反発、枕は空隙率が高く低反発。)。空隙率は単位体積あたりの PU の樹脂量と関連しており、空隙率が高い場合には PU 樹脂量が少なく、逆に空隙率が低い場合には樹脂量が多くなると考えられ

る。従って、空隙率が高い PUF 製品は、空隙率が低いものと比較して、単位体積あたりに荷重をうける樹脂量が少なくなる。本研究の結果は、空隙率が高い PUF 製品ほど荷重による物理的劣化が進行しやすく、結果として微細化しやすい可能性を示唆している。粒子サイズについては、自動車座面において劣化 240 時間後に粒子サイズが小さくなる傾向が確認された。これは、PUF 製品が高温かつ低湿度の環境下で劣化すると、より微細な粒子を生成しやすくなることを示唆している。本研究の結果は、PUF 製品の使用に伴い 300 μm 未満の PU の MP が生成すること、さらに荷重、温度、相対湿度が生成粒子の数やサイズに影響を及ぼすことを示した。

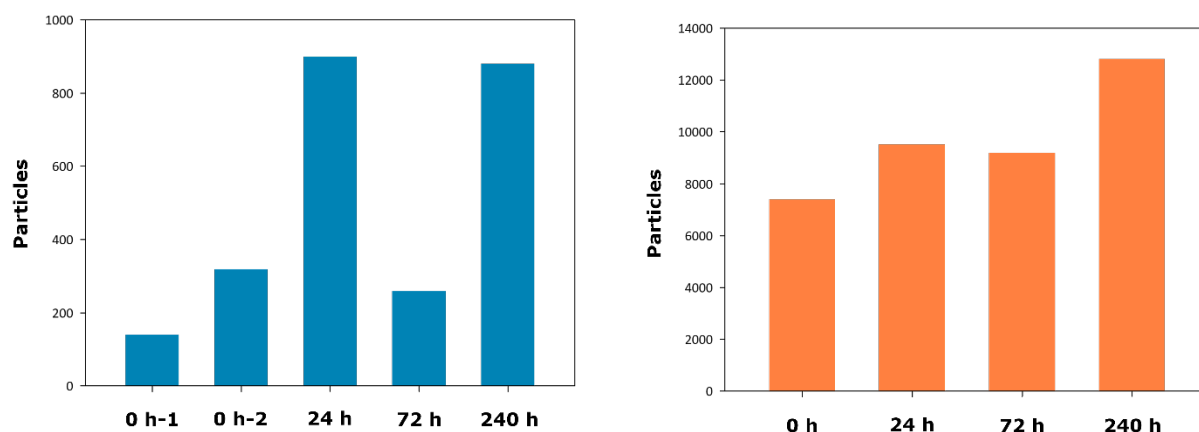


図 2.1-26 劣化試験片の微細化試験を通じて生成した PU の MP の個数
左：自動車座面、右：枕

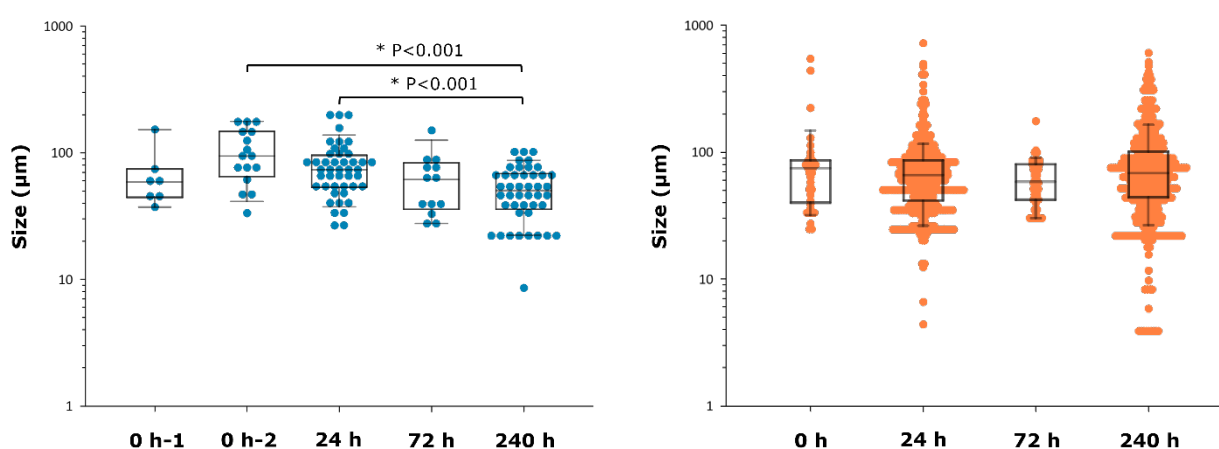


図 2.1-27 劣化試験片の微細化試験を通じて生成した PU の MP の粒子サイズ
左：自動車座面、右：枕

室内における MP の検出例は多数報告されているが、PU については主に繊維状の MP の報告例が主であり、PUF 由来の粒子状 MP を材質同定まで行って示した研究は、現在までに見当たらない³⁸⁻⁴²⁾。さらに、自動車室内に限定すると、PUF 由来の粒子状 MP の報告は極めて少ない。この現状が、室内環境に PUF 由来の粒子状 MP が実際に存在しないことを意味するのか、あるいは測定・同定上のバイアスにより検出されていないのかは判然としない。一方で、本研究では低反発 PUF 及び自動車シート用 PUF を対象に繰り返し圧縮試験を実施し、実験室条件下で PUF 由来の粒子状 MP が容易に生成することを確認した。これは、室内や自動車室内で容易に起こりうる特有の反復圧縮・温湿度変動・振動といった日常のストレスが PUF の微細化を導出することを機構的に裏づける結果である。したがって、室内 PUF 製品

が使用される室内・自動車内は、人への曝露源であると同時に、清掃や換気を介した屋外流出源となり得る可能性が高く、PUF由来粒子状MPに焦点を当てた実態把握が求められる。これにより、PUF由来の粒子状MPの発生係数の設定、室内・自動車室内曝露量の推計、及び清掃・換気経路を通じた流出評価の定量化の導出が期待される。

2.1.4 まとめ

化学分析の結果から、室内空気においては、洗濯機置き場での濃度は低かった一方で、その他の場所では夏季に高く冬季に低い季節変動性を示した。また、自動車座席用シート及び寝具枕のPUFからイソシアネート類の揮発・放散が低濃度ながら発生することが示された。イソシアネート類放散量評価では、自動車座面シートと枕に使用されているPU片から放出されるイソシアネート類の放出係数評価のため、マイクロチャンバ法を参考にした放散試験手法を確立した。試験片を1辺2cmの立方体にし、温度、湿度、換気回数、試験負荷率を調整し、さらに漏れを防ぐ手立てを施した上で試験を行った。PU製品からのイソシアネート類放散試験では、2,4-TDI、2,6-TDI、4,4'-MDIがLOQ以上で検出され、放散の持続性が確認された。このような低濃度の持続的な蓄積懸念は過去の研究事例でも指摘されている。揮発・放散メカニズムは主に製造残存モノマー由来であると推測され、製品の使用環境が揮発・放散の変動要因となっており温度上昇では促進される。実際に、本研究でも温度上昇や湿度低下で放散速度が増加した。夏季車内を模擬した条件下の車内2,4-TDIの推定濃度は19pptとなり、12時間窓閉め切り状態で3日以上続くと作業環境許容濃度を超えることが推定された。車内では高温環境下で放散が増加、枕の密着使用では経皮曝露のリスクが高まる可能性も示唆された。

発塵試験では、座面シート片から粒径2.2nm以上の粒子の発塵が確認され、温度上昇で発塵量が増えたが、枕片からは発塵が確認されなかった。

劣化・微細化試験では、室内使用条件（温湿度）と日常荷重（繰り返し圧縮）の組合せにより、PUF製品から300µm未満の粒子状PUが継続的に生成することを示した。生成個数と粒子サイズはPUF製品の種類、温度や相対湿度に依存し、特に高温・低湿で微細化が促進される可能性が示唆された。これは、室内や自動車内で生じる日常のストレスにより、PUF製品から粒子状MPが生成することを示している。今後、発生係数の整備、室内や自動車室内での実地採取による直接同定を通じた実態把握、人への曝露量や環境への流出量の推計を進めることで、曝露源・環境流出源としての重大性を定量的に評価できる。

引用文献

- 1) Kibby J, et al. (2009). Personnel Exposure to Airborne Isocyanates and Solvents During Shipboard Painting with 2-Pack Polyurethane Paints. DSTO-TR-2228, Defence Science and Technology Organisation, Australian Government.
- 2) Bello et al. (2007). Skin Exposure to Isocyanates: Reasons for Concern. *Environmental Health Perspectives*, 115, 3, 328-335.
- 3) Mirmohammadi M, et al. (2009). Evaluation of methylene diphenyl diisocyanate as an indoor air pollutant and biological assessment of methylene dianiline in the polyurethane factories. *Indian Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 13, 1, 38-42.
- 4) Mutsuga M, et al. (2014). Quantification of isocyanates and amines in polyurethane foams and coated products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Science & Nutrition*, 2, 2, 156-163. DOI: 10.1002/fsn3.88.
- 5) Bekki K, et al. (2018). Analysis of isocyanates in indoor dust. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410, 18, 4247-4251.
- 6) Bekki K, et al. (2024). A novel passive sampler for long-term monitoring of isocyanates in air. *Atmospheric Environment*, 338, Issue C, Article 120816.
- 7) Mirmohammadi M, et al. (2014, approximate based on context). Air sampling procedures for isocyanates. *Iranica Journal of Energy & Environment*, full article in PDF.

- 8) Kakimoto Y, et al. (2024). Determining the Exposure Routes and Risk Assessment of Isocyanates in Indoor Environments. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 87, 4, 460-468. DOI: 10.1007/s00244-024-01097-3.
- 9) Hu J. (2023). Recent Advances on Determination of Airborne Isocyanate Exposure. Australian Institute of Occupational Hygienists Inc 38th Annual Conference & Exhibition Proceedings, (conference paper).
- 10) 鈴木剛, 朝倉賢. 2025. 連携プラットフォームを活用した環境流出プラスチックごみの発生抑制に資する研究. *水環境学会誌*, 48(8), 260-264.
- 11) UNEP, 2018. Mapping of global plastics value chain and plastics losses to the environment.
- 12) OECD, 2024. Global Plastics Outlook.
- 13) 環境省. 2024. 令和5年度検討結果 日本の海洋プラスチックごみの流出量の推計.
- 14) Kannan, K., & Vimalkumar, K. (2021). A Review of Human Exposure to Microplastics and Insights Into Microplastics as Obesogens. *Frontiers in endocrinology*, 12, 724989.
- 15) Eberhard, T., Casillas, G., Zarus, G. M., & Barr, D. B. (2024). Systematic review of microplastics and nanoplastics in indoor and outdoor air: identifying a framework and data needs for quantifying human inhalation exposures. *Journal of exposure science & environmental epidemiology*, 34(2), 185-196.
- 16) O'Brien, S., Rauert, C., Ribeiro, F., Okoffo, E. D., Burrows, S. D., O'Brien, J. W., Wang, X., Wright, S. L., & Thomas, K. V. (2023). There's something in the air: A review of sources, prevalence and behaviour of microplastics in the atmosphere. *The Science of the total environment*, 874, 162193.
- 17) Kashfi, F, S, et al. (2022) Occurrence and exposure assessment of microplastics in indoor dusts of buildings with different applications in Bushehr and Shiraz cities, Iran. *Science of The Total Environment*, 829, 154651.
- 18) 小笠原邦彦, 木下慎, 飯田智朗, 森知美, 信太秀哉, 藤井修二 (2013) 自動車走行時の換気性能に関する浮遊粉じん計測による評価, *エアロゾル研究*, 28, 44-54
- 19) JIS A 1904:2015 建築材料の準揮発性有機化合物 (S V O C) の放散測定方法—マイクロチャンバー法
- 20) JIS K 6400-4:2004 軟質発泡材料—物理特性の求め方—第4部：圧縮残留ひずみ及び繰返し圧縮残留ひずみ
- 21) 厚生労働省科学研究費補助金報告 (2007). 軟質ウレタンフォーム製品のイソシアネート含有量調査. Health and Labor Sciences Research Grant, (Project ID: 200734047A)
- 22) Karlsson, J., Dalene, M., Skarping, G., Marand, Å. (2014). Quantification of isocyanates and amines in polyurethane foams and coated products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 406, 7, 1901-1907.
- 23) Franklin, G., Harari, H., Ahsan, S., Bello, D., Sterling, D. A., Nedrelow, J., Raynaud, S., Biswas, S., Liu, Y. (2016). Residual Isocyanates in Medical Devices and Products: A Qualitative and Quantitative Assessment. *Environmental Health Insights*, 10, 175-182.
- 24) Arnold, S. M., Collins, M. A., Graham, C., Jolly, A. T., Parod, R. J., Poole, A., Schupp, T., Shiotsuka, R. N., Woolhiser, M. R. (2012). Risk assessment for consumer exposure to toluene diisocyanate (TDI) derived from polyurethane flexible foam. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 63, 3, 504-515.
- 25) Hasegawa, A. (2015). Determination of diisocyanates in ambient air. Kanagawa Prefectural Institute of Environmental Sciences Research Report, No.38, 21-25.
- 26) Inomata, S., Tanimoto, H., Fujitani, Y., Sekimoto, K. (2017). Development of measurement method of isocyanates in ambient air and application to the evaluation of emissions from polyurethane products. *Proceedings of the 42nd Symposium on Aerosol Science and Technology*, pages not specified.
- 27) Ministry of Health, Labour and Welfare (2016). Health and Labor Sciences Research Grant: Survey on Indoor Air Concentrations and Risk Assessment of Chemicals with Respiratory Irritancy. Health and Labor Sciences Research Grant Report, Project ID: 201624009A, pages not specified.
- 28) Yoshii, N., Ishibashi, K., Izumi, N., Yamamoto, J., Kudou, D. (2020). Development of MDI based polyurethane flexible foam for automotive seat: Current situation and prospects. *TOSOH Research & Technology Review*, 64, 35-46.

- 29) Poppendieck, D. G., Schlegel, M. C., Connor, A. S., Peel, A. M. (2015). Characterization of Emissions from Spray Polyurethane Foam. NIST Technical Note, 1849, 1-109.
- 30) Polyurethane Foam Association (2019). Flexible Polyurethane Foam Emissions. Technical Bulletin, TB 117-2013, 1-8.
- 31) Boutin, M., Lesage, J., Ostiguy, C., Pauluhn, J., Devanthery, A. (2010). Identification of the isocyanates generated during the thermal degradation of a polyurethane car paint. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 88, 2, 213-219.
- 32) Fujitani, Y. et al. (2009). Survey of Content and Elution Amounts in Commercially Available Polyurethane Foam Products. Health and Labor Sciences Research Grant Report, Project ID: 200939017A, pages not specified.
- 33) Czlonka, S., Strakowska, A., Strzelec, K., Kairytė, A., Kremensas, A. (2021). Viscoelastic Polyurethane Foams with Reduced Flammability and Cytotoxicity Using Green Flame Retardants. *Polymers*, 13, 2065.
- 34) Quintana, A., Pueyo, F., Clemente, A., Castellà, M. D., Urdampilleta, I., Barreneche, C., Cabeza, L. F. (2022). Environmental assessment of different strategies to produce rigid polyurethane foams using unrefined crude glycerol. *Journal of Cleaner Production*, 371, 133554.
- 35) Vangronsveld, E., Berckmans, S., Spence, M. (2023). Emission and time-resolved migration rates of aromatic diamines from two flexible polyurethane foams. *Toxicology and Industrial Health*, 39, 6, 298-312.
- 36) 環境省 (2016), 第 14 次環境リスク初期評価
- 37) 日本産業衛生学会 (2017), 許容濃度等の勧告(2017 年度), 日本産業衛生学雑誌, 59 (5), 153-185
- 38) Ageel, H. K., Harrad, S., Abdallah, M. A. E. (2025). Microplastics in settled indoor dust: Implications for human exposure. *Emerging Contaminants*, 11(3), 100506.
- 39) Haque, M. R., Ahmed, W., Islam Rayhan, M. R., & Rahman, M. M. (2024). Microplastics in indoor dust at Dhaka city: Unveiling the unseen contaminants within our homes. *Frontiers in Environmental Science*, 12, 1437866.
- 40) O'Brien, S., Rauert, C., Ribeiro, F., Okoffo, E. D., Burrows, S. D., O'Brien, J. W., Wang, X., Wright, S. L., Thomas, K. V. (2023). There's something in the air: A review of sources, prevalence and behaviour of microplastics in the atmosphere. *The Science of the total environment*, 874, 162193.
- 41) Peng, C., Zhang, X., Li, M., Lu, Y., Liu, C., & Wang, L. (2023). Source apportionment of microplastics in indoor dust: Two strategies based on shape and composition. *Environmental pollution*, 334, 122178.
- 42) Soltani, N. S., Taylor, M. P., Wilson, S. P. (2022). International quantification of microplastics in indoor dust: prevalence, exposure and risk assessment. *Environmental pollution*, 312, 119957.

2.2 サブテーマ2：イソシアネートの曝露経路・形態と健康有害性に関する評価

2.2.1 目的と経緯

イソシアネートの職業性曝露の問題は作業環境の整備や防護策により改善されたが、先述の通り一般環境中でPU製品に由来した曝露が想定されることから、その健康影響が懸念されている。加えて、以前は一般の人から検出されなかったトルエンジイソシアネート（TDI）に対する特異的抗体が、2019年の調査では、乳幼児から高齢者まで幅広い年齢層で検出され、その値はアトピー性皮膚炎患者で上昇し、特に重症例で高値となる傾向や、TDI特異的IgE値が高い人は総IgE値も高いことを示すことが報告されている¹。これより、生活環境中のPU含有製品を介したイソシアネートへの継続的な曝露がアレルギーの発症・進展の促進をはじめとする健康障害の一因となっている可能性が考えられた。

イソシアネートのアレルギー誘発に関する実験的報告はあるが、免疫をする「感作」と一定期間を置いて免疫反応を誘発する「惹起」を前提とした投与スケジュールであり、経皮感作+経皮惹起で皮膚炎症状、経皮感作+経気道（点鼻投与）惹起で喘息症状を呈することは示されているものの^{2,3}、複数経路からの連続的な曝露が想定される実環境を反映した実験ではない。曝露経路については、経皮と経気道以外に経口経路もあり得るが、イソシアネート類は加水分解されやすいため、経口曝露で感作が成立する確率は低く、有害性の観点からも経皮と経気道曝露の寄与が高いと考えられる。これより、連続的な経皮と経気道の複数経路曝露の影響に関する評価が重要である。また、イソシアネートは、製品中の未反応物としての残留や分解により放出される他、製品の劣化や摩擦により生じる微小な細片といったMPを介した曝露も想定されることから、曝露形態を踏まえた評価も必要である。

そこで本研究では、実環境での曝露を考慮し、イソシアネートの健康有害性を明らかにすることを目的とした。マウスに対してイソシアネートを経皮・経気道それぞれに反復曝露、加えて複合的に反復曝露を行う実験系を確立し、アレルギー病態や免疫指標を中心とした解析を実施した。さらに、PU製の模擬MPも評価対象とし、経皮・経気道的に反復曝露しイソシアネート曝露実験と同様の解析も実施した。

2.2.2 方法

実験動物と対象物質

実験動物は、雌性BALB/cまたはBALB/cJマウスを4-6週齢で導入し、6-8週齢から曝露実験に使用した。マウスの系統については、BALB/cが研究期間途中で生産終了となったため、以降の実験には後継のBALB/cJを使用したものである。マウスは曝露実験終了後にペントバルビタールナトリウムの腹腔内過量投与により安楽死させ、心採血後に各実験に応じて組織（肝臓、腎臓、脾臓、肺、耳介、耳介リンパ節等）を採取し、種々の解析に供した。肝臓、腎臓、脾臓、耳介リンパ節については組織重量を定量した。血液からは血清を回収し、測定時まで-80℃で保存した。

対象物質のイソシアネートは、製品中含有量及び環境中存在量の割合が高い代表的なジイソシアネート類の2,4-TDIとPU製模擬MPとしてPU膜マイクロカプセル（PUMC）を使用した。

PUMCの構成は、PU以外の材料が結果に影響を与えないよう考慮して物質を選定し、芯物質はミリスチン酸イソプロピル、乳化剤はポリビニルアルコール、分離防止剤は未添加とした（これらについて協議の上、株式会社日本カプセルプロダクツに作製を委託）。規格では、固形分20%、粒径は5-20μmであったが、サブテーマ3の測定からナノサイズの含有も確認された（サブテーマ3で提示）。PUMC溶液（原液）の概算重量濃度は200mg/mLであった。

血液生化学検査及びIgE抗体量、サイトカイン量、細胞増殖能の測定

血液生化学検査では、血清中の総タンパク（TP）、アルブミン（ALB）、尿素窒素（BUN）、クレアチニン（CRE）、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）、アルカリフォスファターゼ（ALP）、乳酸脱水素酵素（LDH）の指標について、TPはBiuret法、ALBはBCG法、UNはウレアーゼGLDH法、CREは酵素法、ASTとALTはJSCC標準化対応法、ALPとLDHはIFCC対応法により生化学自動分析装置を用いて測定した（オリエンタル酵母工業株式会社に委託）。

血清中の総 IgE 抗体 (Total IgE) 及び TDI 特異的 IgE 抗体 (TDI-IgE) の含有量、血清中または細胞培養上清中のアレルギー反応に関わるサイトカイン (IL-4、IL-5、IL-13 等) の含有量は ELISA 法により測定した。TDI-IgE については、検出に必要な 2,4-TDI-マウス血清アルブミン複合体を作製し、これを用いた ELISA システムを構築して測定した。

細胞増殖能は、DNA 合成期の細胞内への BrdU の取り込みを ELISA 法で検出することにより測定した。

病理組織学的評価

採血後に、各実験内容に応じ、組織 (肝臓、腎臓、肺、耳介等) を採取した。組織は 10% 中性緩衝ホルマリン液に浸して固定した後、切り出し、パラフィン包埋した。パラフィンブロックから 4 µm で薄切した組織切片を Hematoxylin-Eosin (HE) で染色し組織学的変化を観察した。

2,4-TDI の経皮曝露実験-1

雌性 BALB/c マウスを使用し、2,4-TDI を経皮投与した。2,4-TDI は、溶媒のアセトン・オリーブオイル溶液 (4:1 v/v) に溶解後、イソフルラン麻酔下でマウスの耳介背側 (両耳) に塗布した (25 µL/ear、50 µL/mouse)。投与液を皮膚に浸透させるため、塗布後も一定時間イソフルラン麻酔下で維持し、マウスが耳に触れないようにした。実験群は、溶媒のみ (Vehicle) 及び 2,4-TDI:0.001%、0.01%、0.1%、0.26% の計 5 群を設定した。6 週齢から本物質を 1-2 日おきに計 12 回経皮曝露した (週 3 回、4 週間)。体重と耳介厚は経時的に測定した。最終曝露 2 日後に、血液、耳介、耳介リンパ節、肝臓、腎臓、脾臓を採取し、血清中 IgE 抗体や組織重量、病理組織学的変化を評価した。また、耳介リンパ節細胞を調製し、細胞数を測定した。

2,4-TDI の経皮曝露実験-2

雌性 BALB/c マウスを使用し、2,4-TDI 経皮投与は上述と同様の手順で実施した。6-7 週齢時に 2,4-TDI の経皮投与による事前感作を行い (週 1 回、計 2 回)、8 週齢から本物質を 1-2 日おきに計 12 回経皮曝露した。実験群は、事前感作 2 用量 (0.1%、0.5%) の条件下で、溶媒のみ (Vehicle) 及び 2,4-TDI:0.001%、0.01% の計 6 群: 1) 0.1%/Vehicle、2) 0.1%/0.001%、3) 0.1%/0.01%、4) 0.5%/Vehicle、5) 0.5%/0.001%、6) 0.5%/0.01% を設定した。体重と耳介厚は経時的に測定した。最終曝露翌日に、血液、耳介、耳介リンパ節、肝臓、腎臓、脾臓を採取し、血液生化学検査及び血清中 IgE 抗体、組織重量、病理組織学的変化を評価した。また、耳介リンパ節細胞を調製し、細胞数を測定した後、T 細胞の活性化を刺激する抗 CD3/CD28 抗体存在下で 1 日培養し、細胞増殖能とサイトカイン産生 (IL-4、IL-5、IL-13) を測定した。

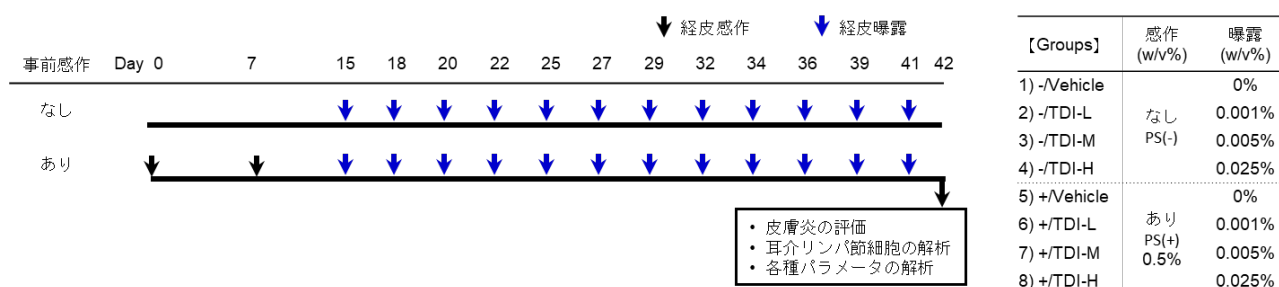


図 2.2-1 2,4-TDI 経皮曝露実験のスケジュール (実験-3)

2,4-TDI の経皮曝露実験-3

雌性 BALB/cJ マウスを使用し、2,4-TDI 経皮投与は上述と同様の手順で実施した。6-7 週齢時に 2,4-TDI の経皮投与による事前感作を行い (0.5%、週 1 回、計 2 回)、8 週齢から本物質を 1-2 日おきに計 12 回経皮曝露した (図 2.2-1)。実験群は、事前感作なし (PS(-)) または事前感作あり (PS(+)) の条件下で、溶媒のみ (Vehicle) 及び 2,4-TDI:0.001%

(TDI-L)、0.005% (TDI-M)、0.025% (TDI-H) の計 8 群：1) PS(-)/Vehicle、2) PS(-)/TDI-L、3) PS(-)/TDI-M、4) PS(-)/TDI-H、5) PS(+)/Vehicle、6) PS(+)/TDI-L、7) PS(+)/TDI-M、8) PS(+)/TDI-H を設定した。体重と耳介厚は経時的に測定した。最終曝露翌日に、血液、耳介、耳介リンパ節、肝臓、腎臓、脾臓を採取し、血液生化学検査及び血清中の IgE 抗体、IL-5、組織重量、病理組織学的変化を評価した。また、耳介リンパ節からは細胞を調製し、細胞数を測定した後、抗 CD3/CD28 抗体の存在下で 1 日培養し、細胞増殖能とサイトカイン産生 (IL-4、IL-5、IL-13) を測定した。

2,4-TDI の経気道曝露実験 (吸入曝露)

BALB/c 雌性マウスを使用し、7 週齢より 2,4-TDI の吸入曝露を実施した。2,4-TDI 曝露濃度は 20 ppb とし、週 2 回、計 8 回、2hr の条件下で、サブテーマ 3 で確立した鼻部曝露チャンバを用いて曝露した (図 2.2-2)。対照群 (Control Air (CA)) には清浄空気を吸入した。最終吸入曝露の 24 時間後に塩化メサコリン吸入刺激による気道反応性の変化を DSI 社製の呼吸・肺機能評価システム FinePointe™ を用いて、Whole Body Plethysmography 法にて測定した。48 時間後に気管支肺泡洗浄液中の細胞数の算定及び病理組織学的評価を実施した。また、血液生化学検査及び血清中 IgE 抗体量を測定した。

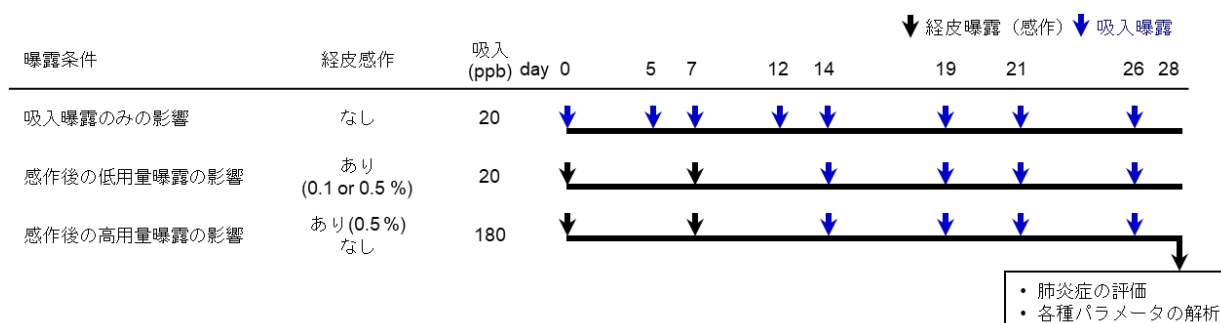


図 2.2-2 2,4-TDI 吸入曝露実験のスケジュール

2,4-TDI 経皮感作後の低用量吸入曝露実験

BALB/c 雌性マウスを使用し、7-8 週齢時に 0.1 あるいは 0.5% 2,4-TDI の経皮投与による感作を行った (週 1 回、計 2 回、経皮投与は経皮曝露実験と同様の手順)。2 回目の感作から 1 週間後に、20 ppb の 2,4-TDI を週 2 回、計 4 回、2hr の条件下で吸入曝露した (図 2.2-2)。CA 群には清浄空気を吸入させた。最終吸入曝露の 24 時間後に気道反応性の測定、48 時間後に肺炎の評価及び血清中 IgE 抗体量を測定した。

2,4-TDI 経皮感作後の高用量吸入曝露実験

BALB/c 雌性マウスを使用し、7-8 週齢時に 0.5% 2,4-TDI の経皮投与による感作を行った (週 1 回、計 2 回、経皮投与は経皮曝露実験と同様の手順)。2 回目の感作から 1 週間後に、180 ppb の 2,4-TDI を週 2 回、計 4 回、3hr の条件下で吸入曝露した (図 2.2-2)。CA 群には清浄空気を吸入させた。最終吸入曝露の 24 時間後に気道反応性の測定、48 時間後に肺炎の評価、血清中 IgE 抗体量の測定、血液生化学検査を実施した。

2,4-TDI の経皮・経気道複合経路曝露実験

本実験では、既報に比べ低濃度の 2,4-TDI 反復曝露を実施した。雌性 BALB/cJ マウスに対し、経皮曝露実験-3 と同様に 6-7 週齢時に 2,4-TDI の事前感作 (0.5%、週 1 回、計 2 回) を行った後、8 週齢から 1-2 日おきに計 12 回の 2,4-TDI 経皮曝露 (0.025%) 及び 2,4-TDI 吸入曝露 (20ppb-2hr または 180ppb-3hr、鼻部曝露) を実施した (図 2.2-3)。吸入曝露のみ異なる 2 つの条件を設定し、実験 1 は 20ppb-2hr、実験 2 は 180ppb-3hr とした。経皮曝露と吸入曝露の対照群は、それぞれ溶媒のみ (Vehicle : Acetone/Olive oil, 4:1 v/v) と清浄空気 (Air) に曝露した。実験群は、実験 1、2 とともに、1) 無処置 (NT)、2) Air 吸入曝露+Vehicle 経皮曝露 (Air/V)、3) Air 吸入曝露+TDI 経皮曝露 (Air/TDI)、4) TDI 吸入曝露

+Vehicle 経皮曝露 (TDI/V)、5) TDI 吸入曝露+TDI 経皮曝露 (TDI/TDI) の計 5 群を設定した。体重と耳介厚は経時的に測定した。最終吸入曝露の 24 時間後に気道反応性を測定し、2 日後 (最後の経皮曝露の翌日) に、血液、肺、耳介、耳介リンパ節、肝臓、腎臓、脾臓を採取し、肺炎症の評価、血清中の血液生化学指標や IgE 抗体、組織重量、病理組織学的変化を評価した。また、耳介リンパ節及び気管支肺胞洗浄液中の細胞数を測定した。さらに、耳介リンパ節細胞については、抗 CD3/CD28 抗体の存在下で 1 日培養し、細胞増殖能とサイトカイン産生 (IL-4、IL-5、IL-13) を解析した。

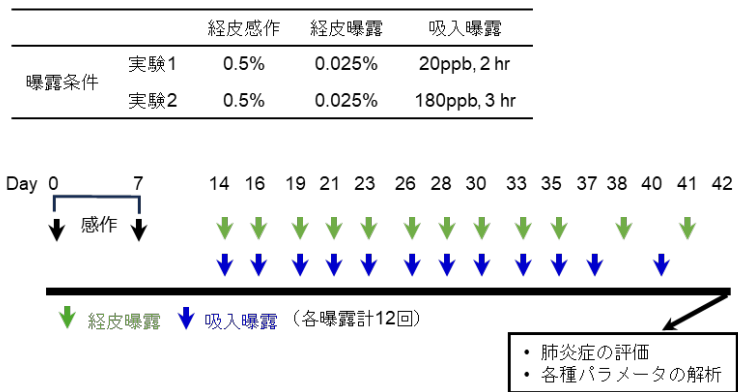


図 2.2-3 2,4-TDI の経皮及び経気道複合経路曝露実験のスケジュール

PUMC の経皮曝露実験

PUMC 溶液 (乳化剤含) は、溶媒の 250 mg/mL マクロゴール軟膏含有生理食塩水/50% EtOH エタノール溶液と混和して 20 倍希釈で使用した。雌性 BALB/cJ マウスに対し、経皮曝露実験-3 と同様に 6-7 週齢時に 2,4-TDI の事前感作 (0.5%、週 1 回、計 2 回) を行った後、8 週齢から PUMC を 1-2 日おきに計 12 回経皮曝露した (10 μ L/ear、20 μ L/mouse、200 μ g 相当/回)。PUMC 経皮曝露は、イソフルラン麻酔下で耳介背側へ塗布したが、事前にマウス耳介をキムワイプで拭いてからテープストリッピング (サージカルテープで 3 回処置) による角層除去を行った後、実施した。実験群は、事前感作なしまたは事前感作ありの条件下で、乳化剤含む溶媒 (Vehicle) 及び PUMC の計 4 群: 1) PS(-)/Vehicle、2) PS(-)/PUMC、3) PS(+)/Vehicle、4) PS(+)/PUMC を設定した。加えて、PUMC は実環境中では膜材が破れた状態で曝露されることが想定されることから、超音波処理による膜破砕を行った PUMC の評価も別途実施した。体重と耳介厚は経時的に測定した。PUMC の最後曝露翌日に、血液、耳介、耳介リンパ節、肝臓、腎臓、脾臓を採取し、血清中の血液生化学指標や IgE 抗体、IL-5、組織重量、病理組織学的変化を評価した。また、耳介リンパ節からは細胞を調製し、細胞数を測定した後、抗 CD3/CD28 抗体の存在下で 1 日培養し、細胞増殖能を解析した。

PUMC の経気道曝露実験 (気管内投与)

PUMC は膜破砕前後における影響の相違についても併せて検討した。PUMC 溶液及び溶媒 (乳化剤含) は生理食塩水で 50 倍希釈し、PUMC 溶液は超音波破砕機を用いて 30 分間処理した。投与群は、対照群 (Vehicle) 群、PUMC 群、PUMC 超音波処理群 (PUMC_US) の 3 群を設定した。BALB/cJ 雌性マウスを 6 週齢で導入し、7 週齢より、1-2 日おきに計 12 回、イソフルラン麻酔下で気管内投与を実施した (50 μ L/mouse、PUMC 及び PUMC_US 200 μ g 相当/回) (図 2.2-4)。最終吸入曝露の 24 時間後に気道反応性の変化を測定、48 時間後に肺炎症の評価を行った。また、RNA-seq による肺組織の網羅的遺伝子発現解析も実施した (アゼンタ株式会社以外注)。

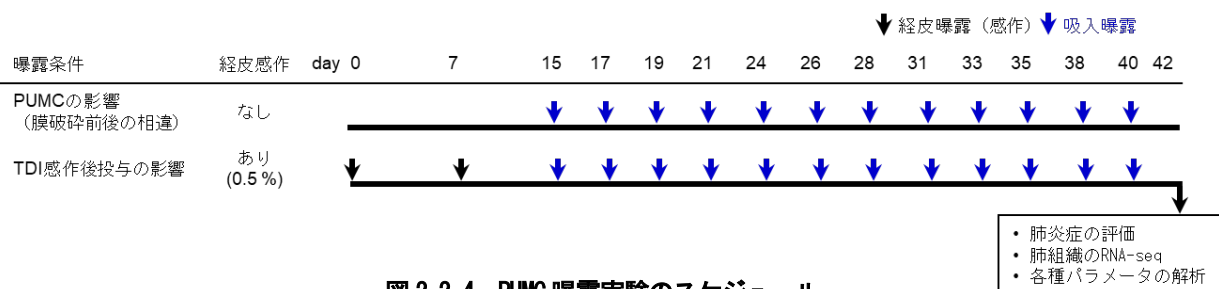


図 2.2-4 PUMC 曝露実験のスケジュール

2,4-TDI 経皮感作後の PUMC の経気道曝露実験（気管内投与）

BALB/cJ 雌性マウスを使用し、6-7 週齢時に 0.5% 2,4-TDI の経皮投与による感作を行った（週 1 回、計 2 回、経皮投与は経皮曝露実験と同様の手順）。2 回目の感作から 1 週間後より、1-2 日おきに計 12 回、イソフルラン麻酔下で気管内投与を実施した（50 μ L/mouse、PUMC 及び PUMC_US 200 μ g 相当/回）（図 2.2-4）。対照（Vehicle）群は、前述同様、乳化剤入りの溶媒を 50 倍希釈した溶液を投与した。最終吸入曝露の 24 時間後に気道反応性の変化を測定、48 時間後に肺炎症の評価を行った。また、RNA-seq による肺組織の網羅的遺伝子発現解析も実施した（アゼンタ株式会社に外注）。

PUMC の経気道曝露実験（吸入曝露）

BALB/cJ 雌性マウスを 6 週齢で導入し、8 週齢より PUMC の吸入曝露を実施した。投与群は、1) CA 群、3) ポリビニルアルコール（PVA）群（約 250 μ g/m³、溶媒に乳化剤として PVA が含まれているため）、3) PUMC 群（約 50 μ g/m³）の 3 群を設定した。1-2 日おきに計 12 回、2 hr の条件下で吸入曝露した。最終吸入曝露の 24 時間後に気道反応性の測定、48 時間後に肺炎症の評価、血清中抗体量、血液生化学検査を実施した。最終吸入曝露の 24 時間後に気道反応性の変化を測定、48 時間後に肺炎症の評価を実施した。

2.2.3 結果と考察

2,4-TDI の経皮曝露による影響

実験 1 では、2,4-TDI の曝露条件を比較的高濃度まで設定した結果（2,4-TDI: 0.001% - 0.26%）、耳介厚を含めた症状スコアが、2,4-TDI の濃度依存的に増加し、それに伴い病理組織学的な変化（上皮肥厚や炎症細胞浸潤等）も認め、0.26% 群では顕著な炎症病態が観察された（図 2.2-5(a, b)）。血清中の Total IgE の増加はみられなかったが、TDI-IgE は 0.1% 群、0.26% 群で増加傾向を示した（データ未提示）。

また、2,4-TDI 曝露は、体重変動及び肝臓、腎臓、脾臓の重量に顕著な影響を与えなかったが、耳介リンパ節の絶対・相対重量、総細胞数は、曝露により増加傾向を示した（データ未提示）。

実験 2 では、0.1% ではなく 0.5% 2,4-TDI の事前感作により耳介厚が増加したが、その後の曝露（2,4-TDI: 0.001%、0.01%）でさらに亢進されることはなく、病理組織学的な変化や血清中 Total IgE、TDI-IgE、血液生化学指標、体重変動への影響もみられなかった（データ未提示）。肝臓の絶対・相対重量は、0.1% 感作群に比し 0.5% 感作群で低下し、両感作群のいずれにおいても各 Vehicle に比し 0.01% 曝露（0.1%/0.01% 群と 0.5%/0.01% 群）で低下したが、腎臓と脾臓の重量に顕著な変化は認められなかった（データ未提示）。

一方で、耳介リンパ節の絶対・相対重量、総細胞数は、2,4-TDI 曝露により増加傾向を示した。また、抗 CD3/CD28 抗体存在下で培養した耳介リンパ節細胞の解析では、細胞増殖と IL-4 産生が、0.5%/Vehicle 群に比し 0.5%/0.001% 群で、IL-5 と IL-13 産生が、0.5%/Vehicle 群に比し 0.5%/0.001% 群、0.5%/0.01% 群で増加傾向を示した（データ未提示）。

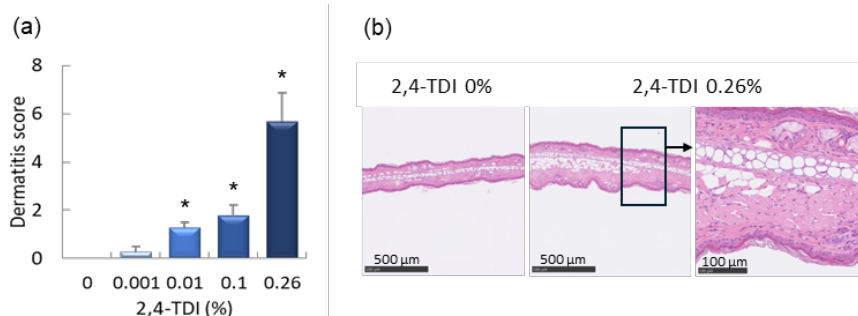


図 2.2-5 2,4-TDI 経皮曝露による影響（実験-1）

マウス耳介の皮膚炎症スコア (a) と耳介組織の HE 染色による病理組織画像 (b: 左は 0% 群、中央・右は 0.26% 群の代表例、右は中央黒枠領域の拡大画像)。(a) Data were expressed as means \pm SE for 5 animals per group. * $P < 0.05$, versus 0% (Vehicle) group.

実験3では、耳介厚は実験2と同様に0.5% 2,4-TDIの事前感作により増加した。さらに、3回目の2,4-TDI曝露翌日～最終曝露翌日（解剖日）における変化は、事前感作ありのPS(+)群において、PS(+)/Vehicleに比しPS(+)/TDI-M(0.005%)、PS(+)/TDI-H(0.025%)で増加または増加傾向を示した（図2.2-6）。病理組織学的解析では、PS(+)/TDI-H群の一部の個体で他群よりも上皮肥厚や肥満細胞の増加・脱顆粒を示した。感作なしのPS(-)群では、曝露による耳介組織の変化は認められなかった（データ未提示）。

血清中のTotal IgEは、事前感作により有意に上昇し、PS(+)/Vehicle群に比しPS(+)/TDI-H群で有意に上昇した。TDI-IgEは、PS(+)の各曝露群で対応するPS(-)の各曝露群に比し有意に上昇し、PS(+)群内ではPS(+)/Vehicleに比しPS(+)/TDI-M、PS(+)/TDI-Hで上昇傾向を示した（図2.2-7(a,b)）。血清中のIL-5は、PS(-)、PS(+)いずれの群においても2,4-TDI曝露により増加傾向を示したが、レベルは非常に低濃度であった（データ未提示）。血清中の肝機能障害指標（AST、ALT）と腎機能障害指標（尿素窒素/クレアチニン比）は、PS(+)/Vehicle群に比しPS(+)/TDI-M群で増加傾向であったが、総タンパクやアルブミン、ALPに変化はなく、総じて曝露による明確な影響は認められなかった（データ未提示）。

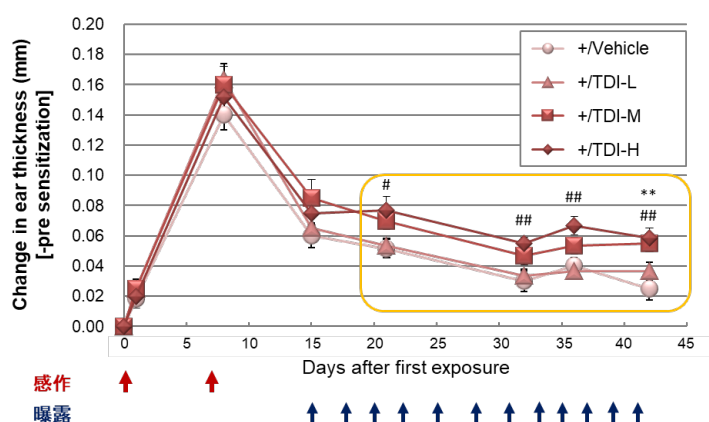


図2.2-6 2,4-TDI 経皮曝露による影響：
耳介厚の変化（実験-3）

Data were expressed as means \pm SE for 6 animals per group. * P <0.05, ** P <0.01, +/TDI-M group versus +/Vehicle group; # P <0.05, ## P <0.01, +/TDI-H group versus +/Vehicle group.

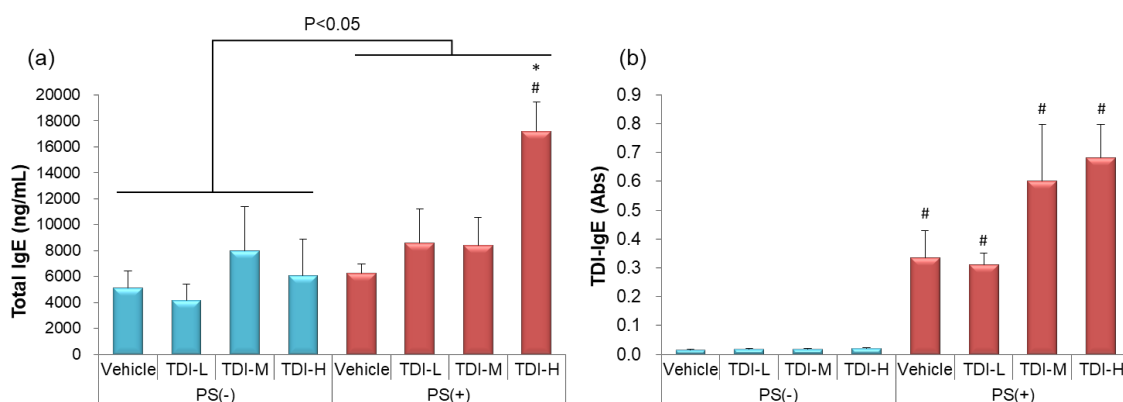


図2.2-7 2,4-TDI 経皮曝露による影響：血清中IgE抗体量の変化（実験-3）

(a) Total IgE、(b) TDI-IgE。Data were expressed as means \pm SE for 6 animals per group.

* P <0.05, versus +/Vehicle group; # P <0.05, each exposure group in PS(+) versus PS(-).

体重変動は、事前感作により有意な増加を認めたが、PS(-)、PS(+)いずれの群においても曝露による有意な変化は認められなかった（データ未提示）。組織の絶対・相対重量については、PS(-)、PS(+)両群で2,4-TDI曝露により肝臓重量が低下傾向、PS(+)群で腎臓重量が低下傾向、脾臓重量が増加傾向を示した（データ未提示）。耳介リンパ節の重量は、事前感作により有意に増加し、PS(-)、PS(+)両群それぞれにおいて、2,4-TDI曝露の濃度依存的に増加した（図2.2-8(a,b)）。

耳介リンパ節細胞においては、総細胞数が事前感作により有意に増加し、PS(-) 群内では PS(-)/Vehicle に比し PS(-)/TDI-H で増加傾向、PS(+) 群内では PS(+)/Vehicle に比し PS(+)/TDI-L、PS(+)/TDI-H で増加傾向、PS(+)/TDI-M で有意な増加を示した (図 2.2-9(a))。また、抗 CD3/CD28 抗体存在下の培養では、細胞増殖が PS(-)/Vehicle 群及び PS(+)/Vehicle 群に比し PS(+)/TDI-M 群、PS(+)/TDI-H 群で有意な増加または増加傾向を示した (図 2.2-9(c))。IL-5 産生は事前感作により有意に増加し、PS(+) 群内では PS(+)/Vehicle に比し PS(+)/TDI-H で有意に増加した (図 2.2-9(d))。IL-4 及び IL-13 産生も同様であった (データ未提示)。抗 CD3/CD28 抗体非存在下の培養では、細胞増殖が事前感作により有意に増加し (図 2.2-9(b))、IL-5 産生が PS(-)/Vehicle 群に比し PS(+)/TDI-H 群で有意な増加を示したが、その他の変化は認められなかった (データ未提示)。

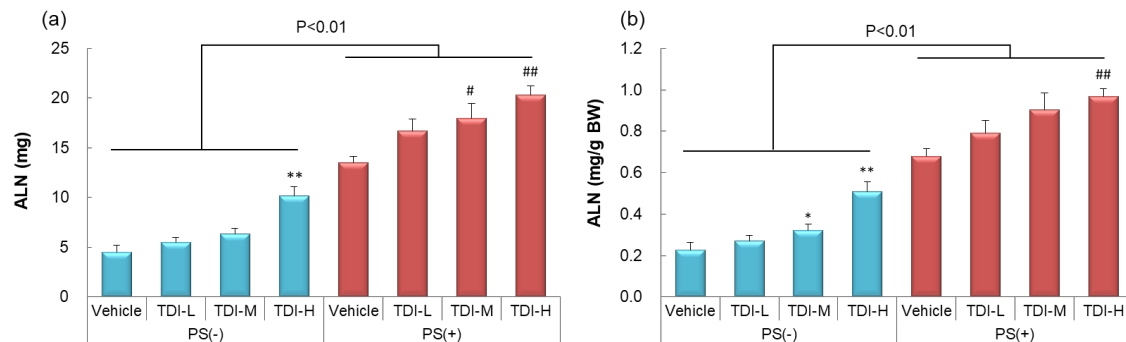


図 2.2-8 2,4-TDI 経皮曝露による影響：耳介リンパ節 (ALN) 重量の変化 (実験-3)

(a) 左右 ALN の絶対重量、(b) 左右 ALN の相対重量。Data were expressed as means \pm SE for 6 animals per group. * P <0.05, ** P <0.01, versus -/Vehicle group; # P <0.05, ### P <0.01, versus +/Vehicle group.

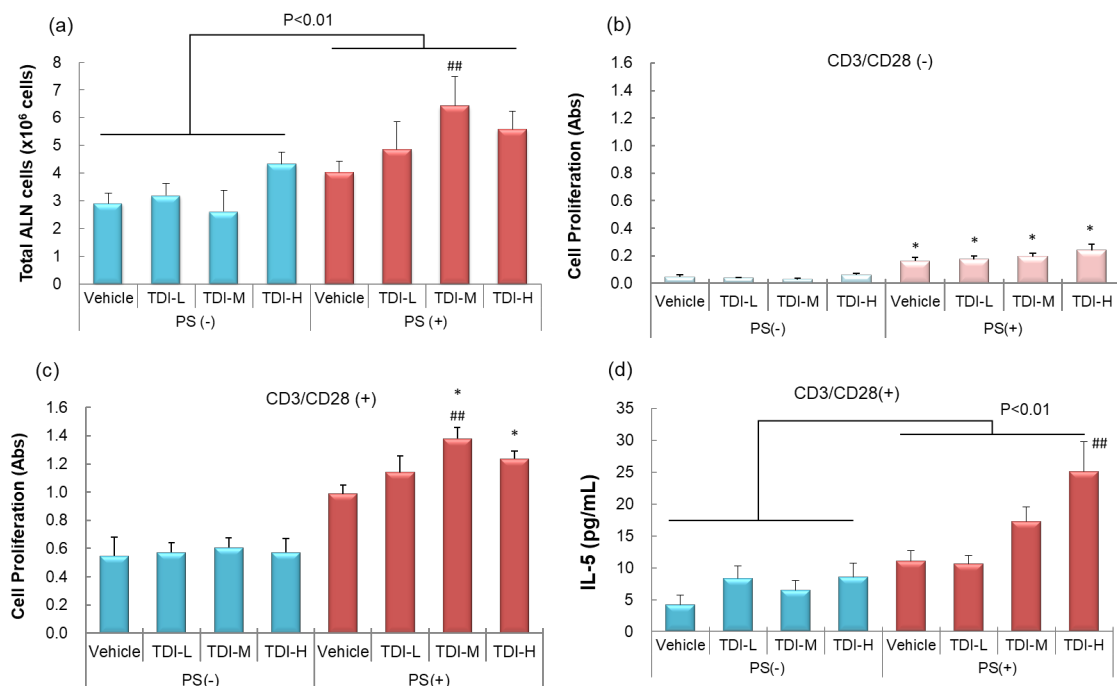


図 2.2-9 2,4-TDI 経皮曝露による影響：耳介リンパ節 (ALN) 細胞の変化 (実験-3)

(a) 左右 ALN の総細胞数、(b, c) ALN 細胞増殖能、(d) ALN 細胞培養上清中の IL-5 含有量。細胞増殖および IL-5 産生は、CD3/CD28 刺激 (T 細胞活性化刺激) なし (b)、あり (c, d) の条件下で 20 時間培養後に測定した。Data were expressed as means \pm SE for 6 animals per group. * P <0.05, ** P <0.01, versus -/Vehicle group; # P <0.05, ### P <0.01, versus +/Vehicle group.

2,4-TDIの吸入曝露による影響

2,4-TDI 曝露による気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中の細胞数には変化がなく (図 2.2-10(a))、病理組織学的にも炎症性変化は観察されなかった。また、塩化メサコリン吸入刺激による気道反応性についても顕著な変化はなかった (データ未提示)。TDI-IgE は検出下限値以下だったが、Total IgE 値は CA 群に比し有意に上昇した (図 2.2-10(b))。体重、肝臓、腎臓、脾臓の絶対重量に有意な変化はなかったが、肝臓の相対重量は 2,4-TDI 曝露群で有意に減少した (図 2.2-10(c))。血液生化学検査では、TP、ALB、UN、CRE、AST、ALT、ALP、LDH には有意な変化はなかったが、ALP 値が有意に上昇した (図 2.2-10(d))。本曝露条件では喘息様の病態は起こらなかったが、Total IgE は上昇していたことから、20 ppb という低濃度の経気道曝露のみでも感作が成立することが示された。肝臓の相対重量の減少、ALP 値の上昇、LDH 値も上昇傾向だったことから ($P=0.0781$)、2,4-TDI の低用量吸入曝露によって軽度の肝臓障害が誘導される可能性が示唆された。

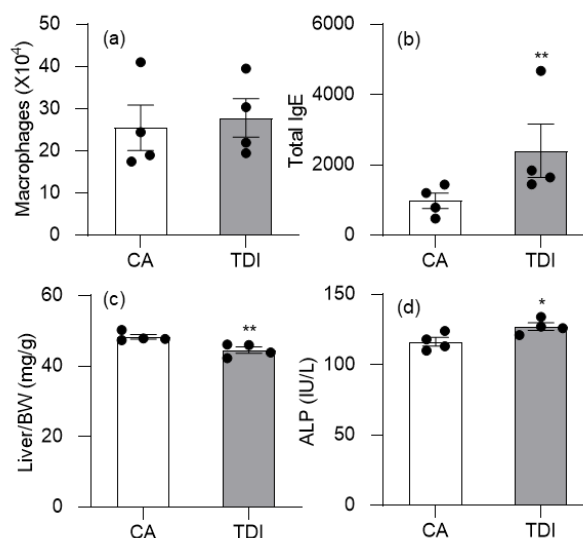


図 2.2-10 2,4-TDI 吸入曝露による影響

(a) 気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中のマクロファージ数、(b) 血清中 Total IgE 量、(c) 肝臓の相対重量、(d) 血清中 ALP 値。Data were expressed as means \pm SE for 5 animals per group, * $P < 0.05$ versus Control Air (CA) group. ** $P < 0.01$ versus CA group.

2,4-TDI 経皮感作後の低用量吸入曝露による影響

2,4-TDI 曝露のみでは呼吸器系への影響が検出されなかったことから、2,4-TDI による経皮感作成立後の吸入曝露による影響について検討した。その結果、経皮感作の 2,4-TDI 濃度 (0.1% (TDI-L)、0.5% (TDI-H)) に依存して、BALF 中のマクロファージ数の増加を認めたが (図 2.2-11(a))、好中球、好酸球、リンパ球は観察されなかった。気道反応性にも曝露による影響はなく、喘息様の病態変化は認められなかった。血清中 TDI-IgE は経皮感作の 2,4-TDI 濃度に依存して有意に上昇し (図 2.2-11(b))、Total IgE 値も上昇傾向を示した (データ未提示)。喘息病態の形成には至らなかったが、マクロファージ数は増加していたことから、経皮感作後の吸入曝露により肺における免疫応答が亢進する可能性が示唆された。

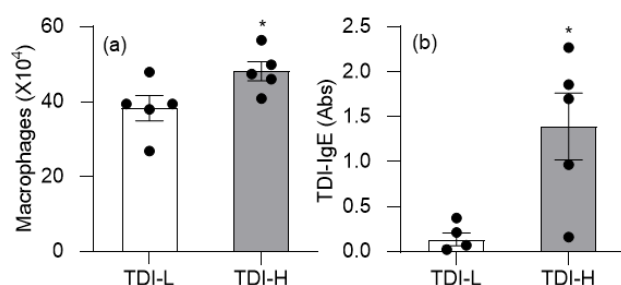


図 2.2-11 感作後の 2,4-TDI 低用量吸入曝露による影響

(a) BALF 中のマクロファージ数、(b) 血清中 TDI-IgE 量。Data were expressed as means \pm SE for 5 animals per group, * $P < 0.05$ versus TDI-L group.

2,4-TDI 経皮感作後の高用量吸入曝露による影響

2,4-TDI 経皮感作後の吸入曝露で呼吸器系への影響がほとんど認められなかったことから、陽性対照として、吸入曝露濃度及び曝露時間を 20 ppb から 180 ppb、2 hr から 3 hr に変更し再度検討したが、BALF 中のマクロファージ数を含め、肺における炎症性変化は認められなかった (図 2.2-12(a))。また、気道反応性にも曝露による影響も観察されなかった。血清中の TDI-IgE (図 2.2-12(b)) は経皮感作により有意に上昇し、Total IgE 値も増加傾向を示した。血液生化学

検査では、感作後の吸入曝露により血清中の CRE が有意に低下した (図 2.2-12(c))。本試験では、現行の吸入曝露システムで可能な最高濃度で実施したが、呼吸器系への影響は認められなかった。一方、感作後の吸入曝露により血清中 CRE が減少したことから、腎機能低下の可能性が考えられた。

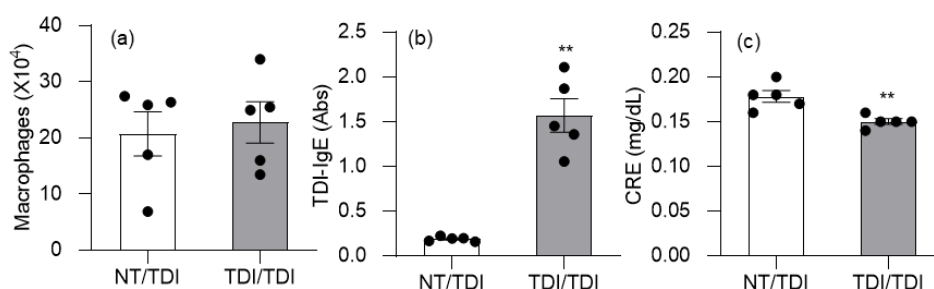


図 2.2-12 感作後の 2,4-TDI 高用量吸入曝露による影響

(a) BALF 中のマクロファージ数、(b) 血清中 TDI 特異的 IgE 量、(c) 血清中 CRE 値。

Data were expressed as means \pm SE for 5 animals per group, ** $P < 0.01$ versus NT/TDI group.

2,4-TDI の経皮・経気道複合経路曝露による影響

実験 1 (吸入曝露条件: 20 ppb, 2 hr) では、NT 群に比し 2,4-TDI の事前感作により体重と脾臓の絶対・相対重量が低下傾向を示したが、その後の 2,4-TDI 曝露による変化は、肝臓、腎臓の絶対・相対重量も含め認められなかった (データ未提示)。肺炎症は観察されず (図 2.2-13(a))、気道反応性も各群間における変化はなかった。皮膚炎の所見、顕著な病理組織学的変化も認められなかった (データ未提示)。

血清中 Total IgE、TDI-IgE は、NT 群及び Air/V 群に比し Air/TDI 群、TDI/V 群、TDI/TDI 群で有意に増加したが、2,4-TDI 曝露は経皮経路のみの Air/TDI 群が最も高値であり、複合経路曝露による相加あるいは相乗的な影響はなかった (図 2.2-14(a, b))。血清中 ALP は事前感作により低下したが、その中で経皮・経気道複合経路曝露の TDI/TDI 群は Air/V 群よりも低い傾向であった (図 2.2-14(c))。また、Air/V 群に比し、血清中 ALT は Air/TDI 群、TDI/V 群、TDI/TDI 群で増加傾向、BUN/CRE 比は Air/TDI 群で有意な増加を示した (データ未提示)。

耳介リンパ節の絶対・相対重量及び総細胞数は、NT 群と Air/V 群に比し Air/TDI 群、TDI/V 群、TDI/TDI 群で増加し、特に TDI/TDI 群で顕著であった (NT < Air/V < TDI/V < Air/TDI < TDI/TDI) (図 2.2-15(a))。耳介リンパ節細胞の抗 CD3/CD28 抗体存在下の培養では、Air/V 群に比し、細胞増殖は Air/TDI 群でのみ増加傾向を認め (図 2.2-15(b))、サイトカイン産生 (IL-4、IL-5、IL-13) は Air/TDI 群、TDI/V 群、TDI/TDI 群で増加傾向を示し Air/TDI 群が最も高値であった (Air/V < TDI/V < Air/TDI < TDI/TDI、データ未提示)。

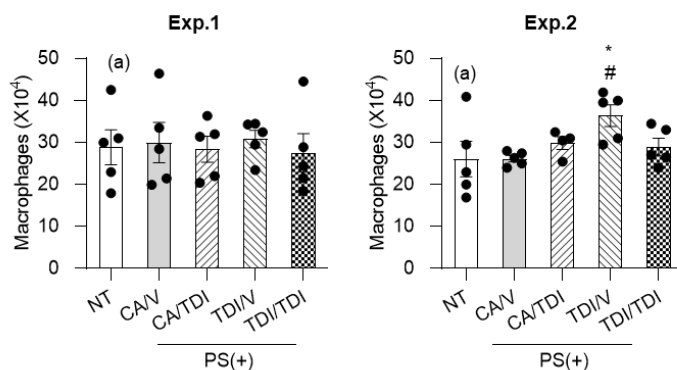


図 2.2-13 2,4-TDI の経皮・経気道複合経路曝露による影響: BALF 中マクロファージ数の変化

(a) 実験 1 の BALF 中マクロファージ数、(b) 実験 2 の BALF 中マクロファージ数。Data were expressed as means \pm SE for 5 animals per group, * $P < 0.05$ versus NT group, # $P < 0.05$ versus CA/V group.

実験 2 (吸入曝露条件: 180 ppb, 3 hr) では、吸入曝露量を上げて検討した結果、NT 群に比し 2,4-TDI の事前感作により体重と肝臓及び脾臓の絶対・相対重量が低下傾向を示し、TDI/TDI 群の肝臓及び腎臓の絶対・相対重量は Air/V 群よ

りも有意に低下した（脾臓も低下傾向）。肺においては、TDI/V 群においてマクロファージ数の増加傾向を認めたが、アレルギー性肺炎症は誘導されず（図 2.2-13(b)）、気道反応性も各群間における変化はなかった。皮膚炎の所見や顕著な病理組織学的変化も認められなかった（データ未提示）。

血清中 Total IgE、TDI-IgE は、NT 群及び Air/V 群に比し Air/TDI 群、TDI/V 群、TDI/TDI 群で増加したが、2,4-TDI 曝露は経気道経路のみの TDI/V 群が最も高値であり、実験 1 と同様に複合経路曝露による相加あるいは相乗的な影響はなかった（図 2.2-14(d, e)）。血清中 ALP は事前感作により低下したが、その中で特に TDI/TDI 群は Air/V 群よりも低い傾向であった（図 2.2-14(f)）。また、Air/V 群に比し、血清中 AST と ALT は TDI/TDI 群で増加傾向、BUN/CRE 比は Air/TDI 群と TDI/TDI 群で増加傾向を示した（データ未提示）。

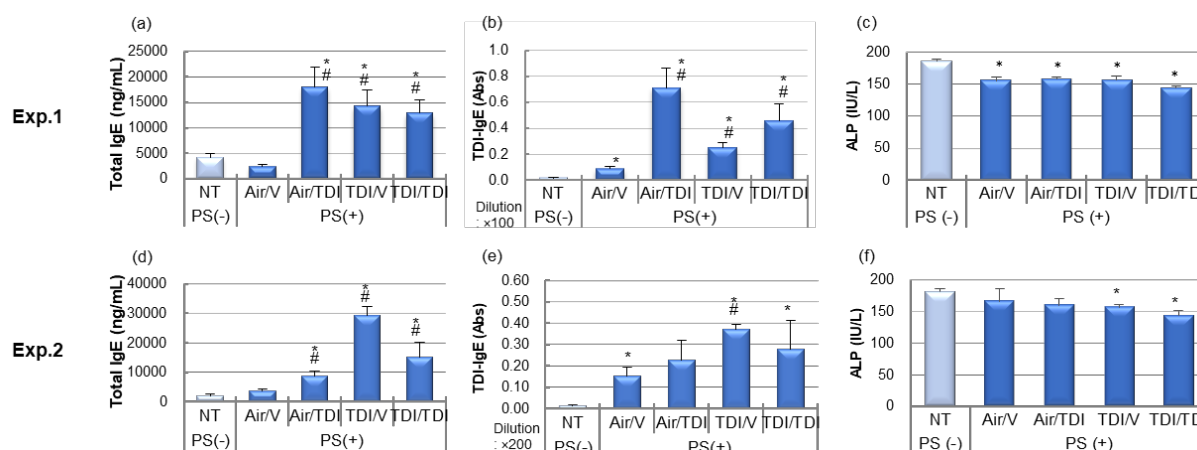
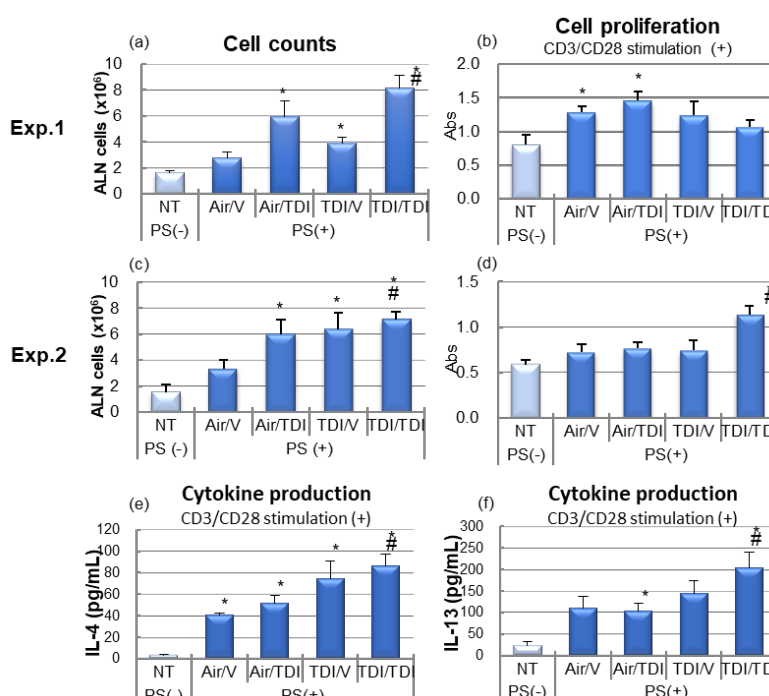


図 2.2-14 2,4-TDI の経皮・経気道複合経路曝露による影響：血清中 IgE 抗体量と ALP の変化

(a, c) 血清中総 IgE 抗体量、(b, d) 血清中 TDI 特異的 IgE 量、(a, b) 実験 1、(c, d) 実験 2。Data were expressed as means \pm SE for 5 animals per group, * $P < 0.05$ vs, NT group, # $P < 0.05$ versus Air/V group.

図 2.2-15 2,4-TDI の経皮・経気道複合経路曝露による影響：ALN 細胞の変化

(a, c) 左右 ALN の総細胞数、(b, d) CD3/CD28 刺激による ALN 細胞増殖能、(e) 培養上清中の IL-4 含有量、(f) 培養上清中の IL-13 含有量、(a, b) 実験 1、(c-f) 実験 2。Data were expressed as means \pm SE for 5 animals per group, * $P < 0.05$ vs, NT group, # $P < 0.05$ versus Air/V group.



耳介リンパ節の絶対・相対重量及び総細胞数は、NT 群と Air/V 群に比し Air/TDI 群、TDI/V 群、TDI/TDI 群で増加し、特に TDI/TDI 群で顕著であった（NT < Air/V < TDI/V < Air/TDI < TDI/TDI）（図 2.2-15(c)）。耳介リンパ節細胞の抗 CD3/CD28 抗体存在下の培養では、細胞増殖とサイトカイン産生（IL-4、IL-5、IL-13）が Air/V 群に比し TDI/TDI 群

で有意に増加し、IL-4はAir/TDI群とTDI/V群、IL-5はAir/TDI群、IL-13はTDI/V群でも増加する傾向であった（図2.2-15(d-f)）。

感作個体に対する2,4-TDIの反復曝露は、IgE抗体産生や耳介リンパ節の重量及び細胞数と活性の増加など一部のアレルギー反応を亢進したが、本研究で設定した曝露濃度においては、総じて経皮・経気道複合経路曝露でアレルギー病態を亢進する可能性は低く、抑制性の影響も観察された。また、経皮・経気道複合経路曝露では、血液生化学指標の変化（血清中ALPの低下等）や肝臓・腎臓・脾臓重量の低下が示されたことから、臓器の機能障害による全身性の影響を引き起こす可能性も示唆された。

PUMCの経皮曝露による影響

2,4-TDIの事前感作により耳介厚は増加したが、PUMC曝露で亢進されることはなく、病理組織学的な変化もみられなかった。PUMC曝露は、血清中のTotal IgE、TDI-IgEを増加する傾向であったが、IL-5は検出限界以下、ALTとALPはPS(-)/Vehicle群に比しPS(-)/PUMC群で増加傾向、その他の血液生化学指標や体重変動、肝臓・腎臓・脾臓重量への顕著な影響は観察されなかった。耳介リンパ節の絶対・相対重量及び総細胞数は、感作により有意に増加し、さらにPS(+)/Vehicle群に比しPS(+)/PUMC群で増加傾向を示した。加えて絶対・相対重量については、PS(-)/Vehicle群に比しPS(-)/PUMC群でも増加する傾向であった。抗CD3/CD28抗体存在下で培養した耳介リンパ節細胞の解析では、細胞増殖がPS(-)/Vehicle群に比しPS(-)/PUMC群で増加したが、PS(+)/PUMC群での亢進は認められなかった。

PUMCの経皮曝露は、局所のリンパ節において、PUMC単独曝露でも活性化傾向を示すなど免疫応答を一部増加したが、その影響は総じて軽微であり、PUMCの超音波処理による膜破碎後の影響もみられなかった（データ未提示）。

PUMCの経気道曝露による影響

超音波処理による膜破碎前後のPUMCの画像を図2.2-16(a)に示す。PUMC、PUMC_US群において、Vehicle群に比し、BALFの好中球、好酸球、リンパ球が増加した。特に、PUMC_US群で肺炎症がさらに亢進しており、好酸球の増加が顕著であった（図2.2-16(b-f)）。加えて、病理組織学評価では、PUMC、PUMC_US群において、気管支粘膜下、血管周囲に炎症細胞の集積が認められ、PUMC_US群ではPUMCの集積部位における肺胞壁の肥厚や、気道上皮の粘液産生細胞の増生が観察された（図2.2-16(g)）。

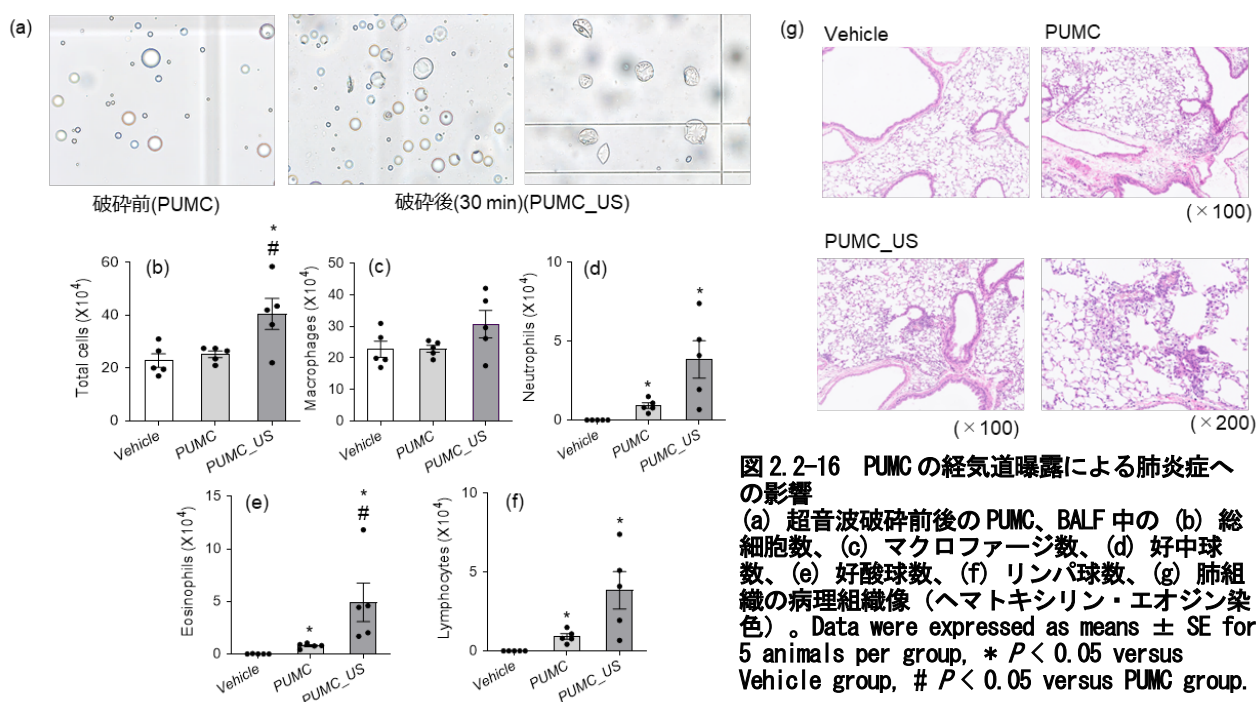


図2.2-16 PUMCの経気道曝露による肺炎症への影響
(a) 超音波破碎前後のPUMC、BALF中の (b) 総細胞数、(c) マクロファージ数、(d) 好中球数、(e) 好酸球数、(f) リンパ球数、(g) 肺組織の病理組織像（ヘマトキシリン・エオジン染色）。Data were expressed as means \pm SE for 5 animals per group, * $P < 0.05$ versus Vehicle group, # $P < 0.05$ versus PUMC group.

気道反応性は、PUMC、PUMC_US群において上昇する傾向を示したが（気道収縮指標の上昇、呼吸数の低下）、両群における差はなかった（データ未提示）。血清中の Total IgE 値は各群において有意な変化は認められず、TDI-IgE は検出下限値以下であった（データ未提示）。RNA-seq 解析では、Vehicle 群に比し、PUMC 群、PUMC_US 群において、発現変動を示したのがそれぞれ 197 遺伝子（up 181 遺伝子、down 16 遺伝子）、PUMC_US 群で 472 遺伝子（up 433 遺伝子、down 39 遺伝子）であり（図 2.2-17(a, b)）、共通する遺伝子が 175 遺伝子存在した。GO エンリッチメント解析の結果、PUMC 群及び PUMC_US 群に共通する遺伝子群として、[Molecular Function] では *chemokine activity*、*carbohydrate binding*、*receptor activity*、[Cellular Component] では *integral component of membrane*、*extracellular space*、*external side of plasma membrane*、[Biological Process] では *inflammatory response*、*immune response*、*innate immune response*、*neutrophil chemotaxis* などが上位に抽出された。これらの結果は、PUMC 曝露によりケモカインや受容体の発現亢進を伴う膜シグナル伝達、分泌経路の活性化が生じ、好中球を中心とした自然免疫応答及び炎症反応が誘導されたことを示唆するものである。PUMC 群と PUMC_US 群の 2 群間比較では、12 遺伝子（up 9 遺伝子、down 3 遺伝子）が変動しており（図 2.2-17(b, c)）、その内、*Parbp*、*Depdc1a*、*Knstrm*、*Gbp11*、*Ska3*、*Ngp* について RT-qPCR を実施した結果、同様の発現パターンであることを確認した（図 2.2-17(d)）。血清中 Total IgE は群間に差がなく、TDI-IgE は両群とも検出限界以下であった（データ未提示）。

PUMC の経気道曝露によって誘導される肺炎症は、実環境中で曝露される可能性の高い膜破砕後の状態により影響が強くなることが示された。また、RNA-seq 及び RT-qPCR の結果から、膜破砕後の PUMC 曝露において有意な発現変動を示した *Parbp* (Poly (ADP-ribose) polymerase-1 binding protein) ⁴⁾、*Depdc1a* (DEP domain containing 1a) ⁵⁾、*Knstrm*

(kinetochore-localized astrin/SPAG5-binding protein) ⁶⁾、*Ska3* (spindle and kinetochore associated complex subunit 3) ⁷⁾ は、いずれも肺腺癌において高発現することが報告されている遺伝子である。これらの分子の発現上昇は、膜破砕後の PUMC 曝露で認められた肺炎症の亢進や肺胞壁の肥厚といった器質的变化に関与している可能性が示唆された。*Ngp*

(Neutrophilic Granule Protein) は LPS-LBP 複合体に結合し、TLR4 との相互作用を阻害することにより、TLR4 経路の下流の活性化が抑制され抗炎症に作用することから ⁸⁾、NGP の発現低下が炎症亢進に一部寄与している可能性がある。発現が上昇していた *Igkv4-91*、*Igkv1-117*、*Igkv12-44* は、免疫グロブリン

κ 鎖可変領域

(Immunoglobulin kappa variable; *Igkv*) 遺伝子であり、これらは肺組織における B 細胞の浸潤や活性化、局所での抗体産生を誘導することが報告されていることから ⁹⁾、これらの遺伝子の発現上昇は、肺炎症の亢進に関与している可能性が示唆された。

膜破砕後の PUMC でより肺炎症が亢進した原因としては、未反応のイソシアネートが

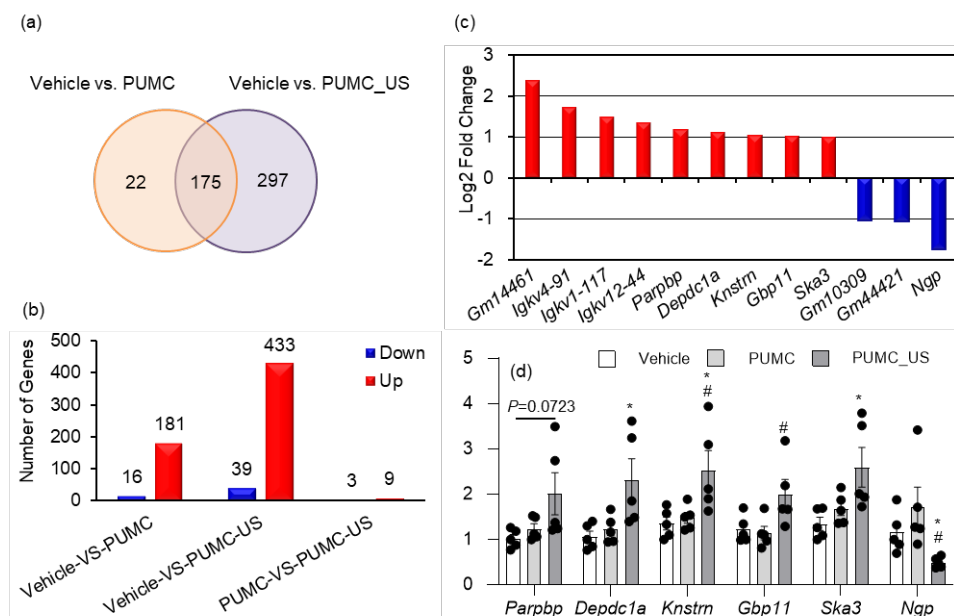


図 2.2-17 PUMC 経気道曝露後の肺組織の網羅的遺伝子解析

(a) 発現変動遺伝子数、(b) 発現変動遺伝子数、(c) 膜破砕後の遺伝子発現量の変化。

(d) RT-qPCR. Data were expressed as means \pm SE for 5 animals per group, * $P <$

0.05 versus Vehicle group, # $P <$ 0.05 versus PUMC group.

放出後加水分解され、トルエンジアミンが影響している可能性や、形状変化による物理的な作用等が考えられるが、詳細については今後の検討課題である。また、実環境中におけるマイクロカプセルの存在量や曝露動態の把握は非常に困難であるが、今回検討した曝露量はかなり高用量と考えられるため、低用量の長期曝露による影響評価が必要である。

2,4-TDI 経皮感作後 PUMC 経気道曝露による影響

2,4-TDI 感作後の PUMC 経気道曝露により、PUMC、PUMC_US 群において、Vehicle 群に比し、BALF 中のマクロファージ、好中球、好酸球、リンパ球が増加した（図 2.2-18(a-e)）。肺炎症は非感作時と同様に PUMC_US 群でより亢進傾向にあった。気道反応性は、PUMC、PUMC_US 群において上昇する傾向を示したが（気道収縮指標の上昇）、両群における差はなかった（データ未提示）。

血清中の Total IgE 値、TDI-IgE は感作によりいずれも上昇したが、各群間で有意な変化は認められなかった（データ未提示）。

RNA-seq 解析では、Vehicle 群に比し、PUMC 群において、発現変動を示したのが 438 遺伝子（up 390 遺伝子、down 48 遺伝子）、PUMC_US 群で 469 遺伝子（up 401 遺伝子、down 68 遺伝子）であり（図 2.2-19(a, b)）、共通する遺伝子が 360 遺伝子存在した。PUMC 群と PUMC_US 群との比較では、5 遺伝子（up 3 遺伝子、down 2 遺伝子）が変動していたが、肺炎症の亢進等病態に関連する可能性がある分子は含まれていなかった。

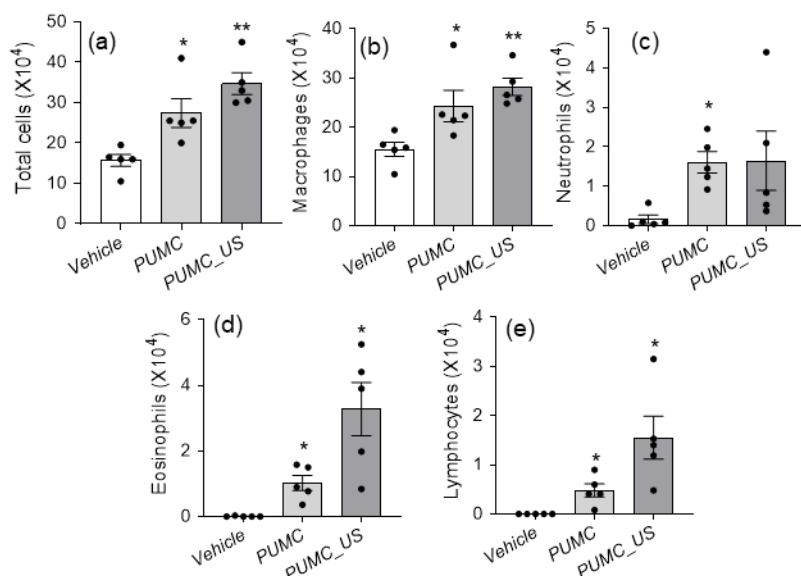


図 2.2-18 PUMC の経気道曝露による肺炎症への影響

BALF 中の (a) 総細胞数、(b) マクロファージ数、(c) 好中球数、(d) 好酸球数、(e) リンパ球数。Data were expressed as means \pm SE for 5 animals per group, * $P < 0.05$ versus Vehicle group, ** $P < 0.01$ versus Vehicle group.

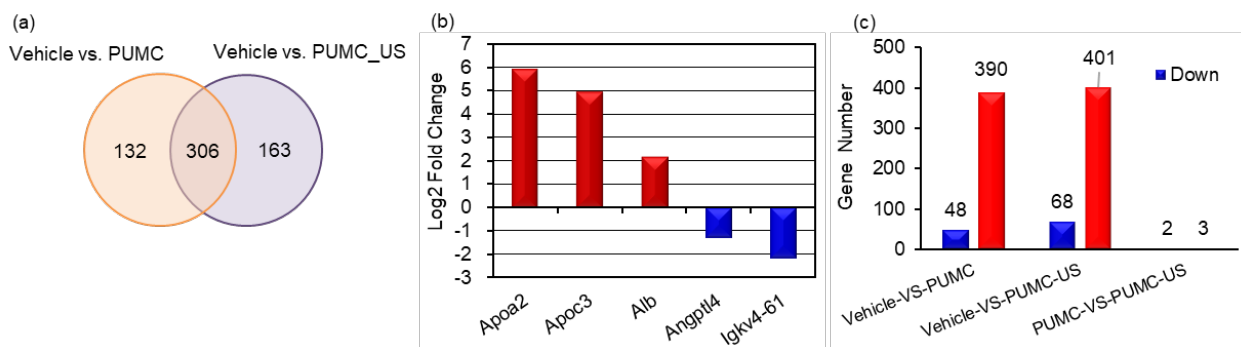


図 2.2-19 PUMC 経気道曝露後の肺組織の網羅的遺伝子解析

(a) 発現変動遺伝子数、(b) 発現変動遺伝子数、(c) 膜破碎後の遺伝子発現量の変化。

PUMC 吸入曝露による影響

PUMC の吸入曝露により、CA 群に比較し、BALF 中のマクロファージが有意に増加した（図 2.2-20）。一方、好酸球、好中球、リンパ球の浸潤は認められず、病理組織学変化にも炎症性変化は観察されなかった。塩化メサコリン吸入刺激による気道反応性についても、PVA、PUMC の吸入曝露で若干亢進傾向を認めたが、有意な変化はなかった。縦隔リンパ節については、CA 群及び PVA 群に比し、PUMC 群で総細胞数が増加傾向を示したが有意差は認められず、細胞

増殖能も亢進されなかった（データ未提示）。脾臓については、絶対・相対重量及び細胞増殖能ともに変化は認められなかった（データ未提示）。

これより、本曝露条件では喘息病態の形成には至らなかったが、BALF中のマクロファージ数は増加していたことから、PUMCの吸入曝露により肺における免疫応答が亢進する可能性が示唆された。

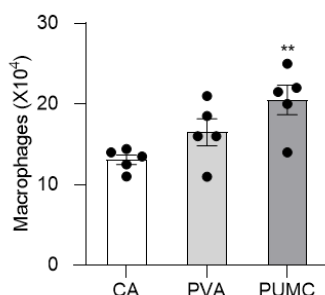


図 2.2-20 PUMC 吸入曝露による影響
BALF 中のマクロファージ数。Data were expressed as means \pm SE for 5 animals per group, ** $P < 0.01$ versus Control Air (CA) group.

2.2.4 まとめ

2,4-TDI 及び PU 模擬 MP を対象とし、反復的な経皮または経気道曝露による影響を評価するための動物実験モデルを確立した。また、2,4-TDI の実験では、既報の高濃度曝露に対し、低濃度曝露の影響を評価するとともに、複数経路曝露による有害性評価といったこれまでにない実験系を構築した。2,4-TDI 経皮曝露実験では、既報よりも低濃度から皮膚炎病態やアレルギーにかかわる炎症性因子を誘導すること、さらに事前感作により感受性を高めた個体ではその影響が亢進されることが明らかとなった。2,4-TDI 吸入曝露実験では、本実験条件ではアレルギー性喘息病態までは検出されなかったが、鼻部曝露は1日の曝露時間の制約があることが影響している可能性が考えられた。2,4-TDI の複数経路曝露実験では、一部アレルギー反応の亢進も観察されたがその作用は軽微であり、本実験条件でアレルギー病態を亢進する可能性は低いと考えられた。一方で、全身性の影響をもたらす臓器機能障害を示唆する結果を示した。これより、複数経路曝露は単純な各経路の相加作用ではないことを提示した。加えて、実際の曝露を想定した濃度や経路での評価手法の検討が重要であると考えられた。また、以下の「2.4 全体のまとめ」において、曝露時間による補正を加えた本実験の TDI 吸入曝露レベルを算出し、一般環境中における TDI 吸入曝露の健康リスクについて考察した。

PU 模擬 MP の PUMC 反復曝露実験においては、経皮曝露では免疫応答の亢進は軽微であったが、経気道曝露（気管内投与）では肺炎症が誘導されること、さらに実環境中で曝露され得る膜破碎後の形態でより悪化する可能性を見出した。また、吸入曝露では喘息病態の形成には至らなかったものの、免疫応答を亢進する可能性が示唆された。MP 曝露については、実環境での曝露状況の把握とそれを考慮した曝露条件での有害性評価が必要であり、今後の課題である。本研究で確立した実験系は、他のプラスチック関連化学物質の健康有害性評価にも応用可能であり、今後の研究の発展が期待される。

引用文献

- 1) 角田和彦 (2020) 一般人のイソシアネート曝露増加によるトルエンジイソシアネート (TDI) IgE 値の上昇：柔軟剤や衣類でのウレタン樹脂の使用-新たな問題提起. 産業衛生学雑誌 62 巻, 臨時増刊号, 226.
- 2) Pollaris L, Van Den Broucke S, Decaestecker T, et al. (2019) Dermal exposure determines the outcome of repeated airway exposure in a long-term chemical-induced asthma-like mouse model. Toxicology. 421:84-92.
- 3) Scheerens H, Buckley TL, Muis TL, et al. (1999) Long-term topical exposure to toluene diisocyanate in mice leads to antibody production and in vivo airway hyperresponsiveness three hours after intranasal challenge. Am J Respir Crit Care Med. 159(4 Pt 1):1074-1080.
- 4) Xu D, Tao Z, Tang X, et al. (2019) Poly (ADP-ribose) polymerase-1 Binding Protein Facilitates Lung Adenocarcinoma Cell Proliferation and Correlates with Poor Prognosis. Ann Clin Lab Sci. 49(5):574-580.
- 5) Li C, Zhu X. (2024) DEP domain containing 1 as a biomarker for poor prognosis in lung adenocarcinoma. Heliyon. 10(9):e30642.

- 6) Deng P, Zhou R, Zhang J, et al. (2021) Increased Expression of KNSTRN in Lung Adenocarcinoma Predicts Poor Prognosis: A Bioinformatics Analysis Based on TCGA Data. *J Cancer*. 12(11):3239-3248.
- 7) Hu DD, Chen HL, Lou LM, et al. (2020) SKA3 promotes lung adenocarcinoma metastasis through the EGFR-PI3K-Akt axis. *Biosci Rep*. 40(2):BSR20194335.
- 8) Hong J, Qu P, Wuest TR, et al. (2019) Neutrophilic Granule Protein Is a Novel Murine LPS Antagonist. *Immune Netw*. 19(5):e34.
- 9) Martínez-Pérez A, Igea A, Estévez O, et al. (2021) Changes in the Immune Phenotype and Gene Expression Profile Driven by a Novel Tuberculosis Nanovaccine: Short and Long-Term Post-immunization. *Front Immunol*. 11:589863.

2.3 サブテーマ3：MP 等新規吸入曝露システムの確立

2.3.1 目的と経緯

本研究では、これまで十分に実施されてこなかったイソシアネート及びMP粒子の吸入曝露実験を新たに立ち上げ、マウスを用いた毒性評価を行うための実験系の構築を目的とした。従来、イソシアネート類やMPの吸入曝露実験は、国内では十分に確立された実験系が存在しておらず、吸入曝露による健康影響評価のためには、システムを新規に立ち上げる必要があった。そのため、本研究では、実験に必要な装置の開発・改造から試験物質の供給方法の確立まで、新たに整備するところから着手した。

まず、イソシアネート類の曝露実験に関しては、従来の鼻部曝露装置では影響評価を妨げる可能性のある塩化ビニル製部品をステンレス製部品に変更するなど、装置全体を改造した。また、2,4-TDI ガス曝露のための発生方法自体も確立されていなかったため、まずは発生法を検討した。その上で、気中濃度で約20ppbまたは180ppbに調整できる実験系を構築した。さらに、経時的に安定した濃度を維持できるよう、流量条件や供給条件を検討し、サブテーマ2と共同でマウスを用いた鼻部吸入曝露実験を実施した。

次に、MPの曝露実験についても新規に実験系を立ち上げた。MP曝露システムの立ち上げにあたっては、粒子の特性上、重力沈降や慣性衝突が生じやすい課題があった。本研究ではMPの模擬粒子として、PUMCを選定した。PUMCを懸濁液としてアトマイザでエアロゾル化し、気中に供する方法を試行錯誤しながら確立した。懸濁液中にはPUMCだけでなく乳化剤も含まれており、気中に放出するとPUMC以外の粒子も混在することが分かった。粒径分布を解析した結果、粒径600nm以上の粒径にPUMCが多く含まれ、それ以下の粒径には乳化剤由来の粒子が多いことが明らかになった。これを解決するため、粒径600nm以上の粒子を効率的に濃縮できるバーチャルインパクター（VI）を新たに設計・製作し、使用条件を最適化した。さらに、懸濁液を遠心分離器にかけて、PUMCが多く存在する分離層を突き止め、それを基に作成した希釈液を振とうしながら発生することで、PUMCの濃度が最大化することを見出した。以上により、対象粒子以外の粒子の混在を極力抑えたMPの吸入曝露実験が実現可能となった。

2.3.2 方法

2,4-TDI ガスの発生手法の確立と曝露実験

まず実験に先立ち、鼻部曝露装置改造を行った。すなわち、塩化ビニル製で作成されている部品をステンレスに変更し、イソシアネートを精緻に評価するための準備を行った。

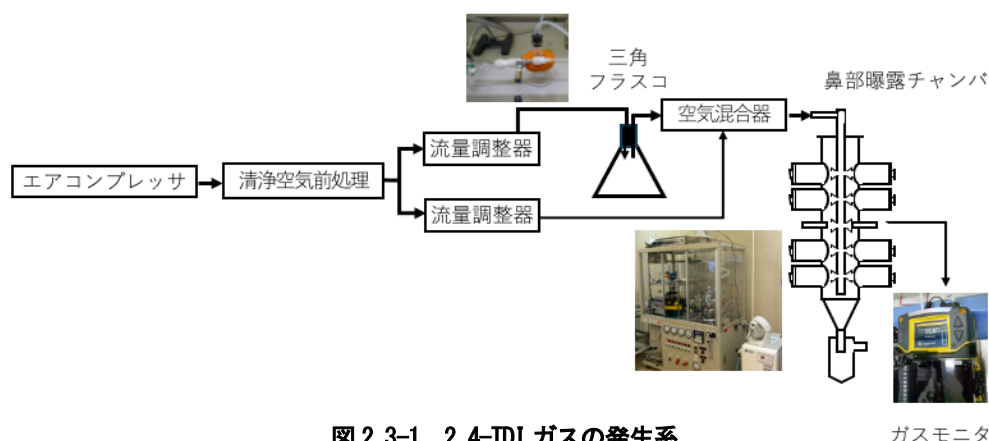


図 2.3-1 2,4-TDI ガスの発生系

図 2.3-1 に先行研究⁹⁾を参考に立ち上げた 2,4-TDI ガスの発生系を示す。1 mL の 2,4-TDI をガラス製の三角フラスコに入れ、シリコンゴムで蓋をした状態で、シリコンゴムに穴を開けて空気の出入り口を確保した。試験用の空気は室内空気をコンプレッサで吐出し、HEPA フィルタ、活性炭フィルタを経て 20 L min^{-1} で供給した。その空気を三角フラスコとバイパス空気に分け、それぞれに流量調整器を置いた。それらの流量比を調整することにより、目的とする濃度に調

整した。その後混合し、鼻部曝露に供給した。2,4-TDI のガス濃度は Honeywell 社製ガス検知器 SPM Flex を用いて測定した。これにイソシアネート用ケミカセットテープを設置し、 1 L min^{-1} で吸引して測定した。コントロール空气の曝露時は 2,4-TDI 入り三角フラスコをバイパスして直接鼻部曝露チャンバに 20 L min^{-1} で導入した。

PUMC 発生手法の確立

2.2.2 (サブテーマ 2 の方法) に示した通り、模擬 MP として PUMC を使用した。本物質の膜材は PU、芯物質はミリスチン酸イソプロピル、乳化剤としてポリビニルアルコールを含有し (分離防止剤は未添加)、PU 固形分は 20%、粒径は $5\text{--}20 \mu\text{m}$ という仕様の原液である。PUMC のみの曝露実験としたかったが、メーカーによると、乳化剤の混在は必須ということであったため、比較対象として、同濃度の乳化剤のみの原液の作成も依頼した。

液中粒子の性状を評価するために、光学顕微鏡 (Eclipse 80i, Nikon)、液中粒径分布測定機 (ELS-Z2, Photol Otsuka Electronics) により測定した。また曝露実験を想定し、空气中への発生法としてはアトマイザ法を選択した。アトマイザには一般的に、大きな水滴を除去するための除去板が設置されており、数 μm 以上の粒子が発生しない仕様のものが多い。当初の PUMC のメーカーの情報により、PUMC は粒径が $5 \mu\text{m}$ 以上ということであったため、除去板のないタイプを選定した。そのうち、材質は SUS304、ガラス、テフロンで構成され、部材による曝露実験への影響が小さいと予想されるアトマイザ (ミスト発生供給装置 NB-2N 型, 柴田科学) を選定し、用意した (図 2.3-2)。発生後の粒子は走査式モビリティパーティクルサイザー (SMPS3082, TSI) とパーティクルカウンタ (9300P, パーティクルプラス)、Aerodynamic Particle Sizer (APS 3321, TSI) による個数濃度及び粒径分布の連続測定、捕集後には SEM や TEM による形態観察を行った。これらの連続測定機では個数濃度が得られるが、質量濃度への変換は粒径情報と粒径毎の個数濃度から球形、密度 1 g cm^{-3} を仮定して行われた。

実験が進むにつれて仕様よりも小さい PUMC も存在することが判明した。特に粒径 600 nm 以上に PUMC が多く含むことが分かったため、空气中で空気力学粒径により分離することができる VI を設計、作成した。VI とは粒子の持つ慣性力で分級する器具である。VI を用いて分級後の濃度を評価した。さらには設計当初の分離条件を満たすためには VI の出口が大きく減圧雰囲気になることが分かった。そこで VI と吸入曝露装置への接続は難しく、吸入曝露実験への適用が難しいことが判明した。そこで VI を使用せず、原液を遠心分離機にかけ、PUMC が濃縮されている液層を用いて発生実験に使用することとした。原液 15 mL を遠心管に入れて遠心分離器 (CAX-370, トミー精工) により、 25°C で 2000 rpm の条件でかけ、PUMC が多く含まれる層を取り出した。その後、超純水で希釈液を作成し、曝露実験に供することとなった。曝露実験時の PUMC としての濃度の目標は $50 \mu\text{g m}^{-3}$ とした。

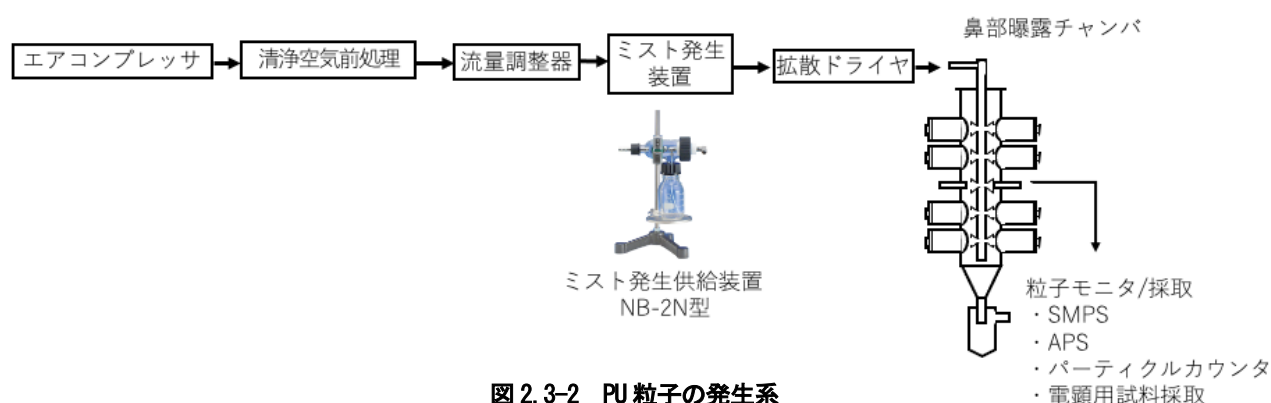


図 2.3-2 PU 粒子の発生系

2.3.3 結果と考察

2,4-TDI ガスの発生手法の確立と曝露実験

図 2.3-3 に合流後の空气の流量が 20 L min^{-1} になるように固定して、三角フラスコに流す流量を変化させた時のチャンバ内の濃度を示す。それぞれのラインの流量を調整することにより濃度を調整することが確認できた。図 2.3-4 に、濃度の安定性を確認した際の時系列データを示す。曝露実験 1 回あたり、2 時間から 3 時間の長さが想定されたが、その

間の濃度は安定しており、安定して発生することが確認できた。実際の曝露実験においては、対象濃度 20ppb あるいは 180ppb 濃度、2時間あるいは3時間の曝露実験を5期間にわたり実施することとなった。図 2.3-5 に各期間、各回の濃度のボックスプロット、表 1 に各回の2時間あるいは3時間の平均値をさらに期間毎に平均した結果を示す。表 1 に示すとおり、TDI 濃度は目標の濃度に近い濃度に合わせることができた。また、温度、相対湿度は曝露空気を測定した結果を示している。温度の調整は部屋の空調を使用した。冷却能力が不足した時期もあり、1回目の温度が若干高めであった。相対湿度は成り行きであり、全体的に乾燥状態の曝露実験となった。

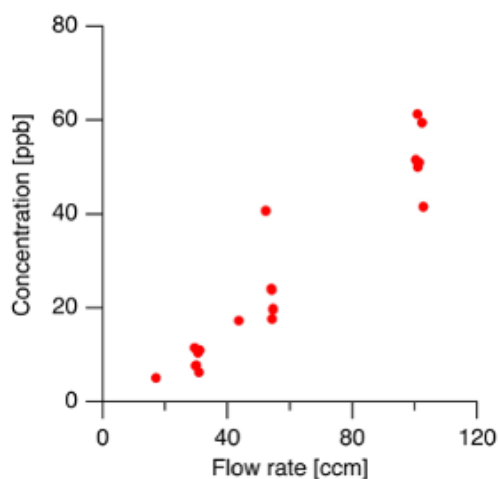


図 2.3-3 流量と 2,4-TDI 濃度の関係

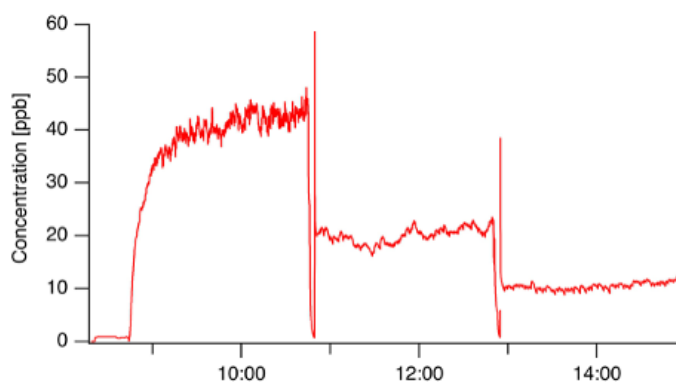


図 2.3-4 二時間の安定性試験

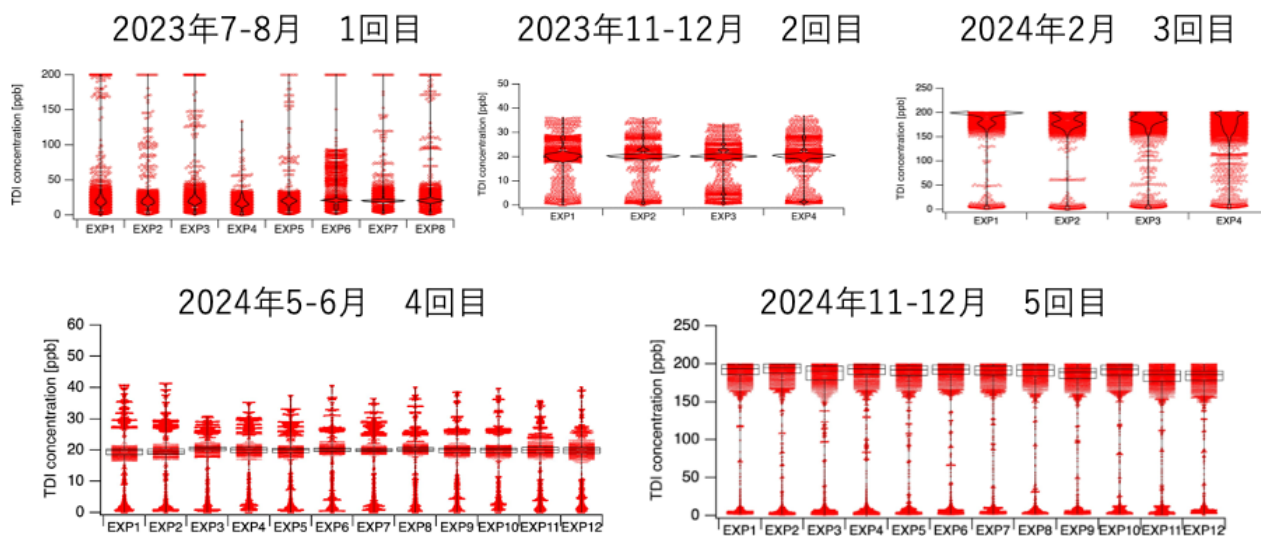


図 2.3-5 曝露実験時の 2,4-TDI 濃度

表 2.3-1 曝露実験時の統計値

		実験回数	曝露群			対象群		
			TDI濃度[ppb]	温度 [°C]	相対湿度 [%]	TDI濃度[ppb]	温度 [°C]	相対湿度 [%]
1回目	2023年7-8月	8	21.20	28.23	18.41	0.66	27.94	19.40
2回目	2023年11-12月	4	19.71	21.03	16.29	未実施	未実施	未実施
3回目	2024年2月	4	175.40	21.31	15.45	未実施	未実施	未実施
4回目	2024年5-6月	12	19.73	25.64	14.24	0.01	26.18	12.70
5回目	2024年11-12月	12	179.88	25.43	14.67	0.12	23.19	15.62

PUMC 発生手法の確立

図 2.3-6 に PUMC 含有液の写真を示す。光学顕微鏡では主に PUMC と考えられる粒子が見えた。顕微鏡写真上において肉眼で確認が可能な粒子について一つずつ粒径を確認し、粒径分布を作成した。粒径 2 μm 以上で粒子がカウントされ、仕様の粒径の粒子の存在が多いことが確認された。液中粒径分布測定機で測定した結果を図 2.3-7 に示す。溶液を 400 倍希釈して、PUMC の有無で比較した。その有無の差は見られ PUMC 含有液の方が大きな粒子が多く存在することが確認できたものの、頻度がゼロとなる場合が多く、本当の分布は得られていないと推測される結果であった。なお、装置の可測粒径範囲は 0.6 μm から 10 μm の範囲である。

40 倍希釈液をアトマイザで噴霧後にガラスプレートに捕集して光学顕微鏡で観察した結果を図 2.3-8 に示す。光学顕微鏡で見る限り、

PUMC の有無で差は分か

らなかったで次にさら

に高倍率で観察可能な

SEM で観察することにし

た。400 倍希釈液をアトマイザで発生後に孔径 1 μm のポリカーボネート製のニュークリポアフィルタを用いて捕集し、SEM で観察した結果を図に示す

(図 2.3-9)。まず 15000

倍で拡大して観察したと

ころ、乳化剤液の試料で

も粒径 100 nm 程度の球形粒子が存在することが分かった。

なお、図 2.3-9 の写真にはフィルタの孔もみえている。仮に、この倍率の視野で 1 μm 程度の大きさの粒子の存在量の違いを見るためには、多くの視野を見ないと差が分からないことになり、ちょうど難しい粒径領域である。もう少し低倍率の 5000 倍で観察した

結果を図 2.3-10 に示す。この倍率で初めて PUMC 含有液噴霧試料のみに、粒径数百 nm から数千 nm 程度の球体粒子が存在することが確認された。次に 11 倍希釈液を噴霧後の粒径分布の測定結果を図 2.3-11 に示す。個数粒径分布でみると、超純水液噴霧は粒径 100 nm 以下のみに存在するが、乳化剤液、PUMC 含有液の噴霧結果では粒径 400 nm 以下に非

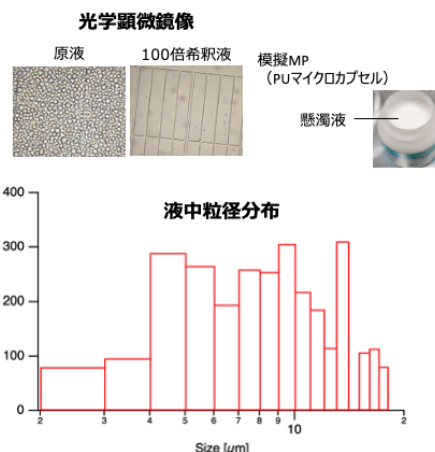


図 2.3-6 液中状態における測定結果

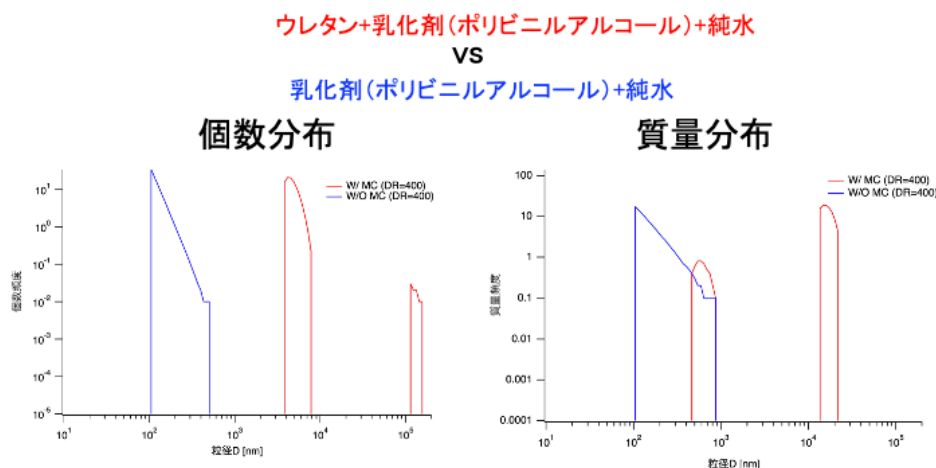


図 2.3-7 液中粒径分布

ウレタン+乳化剤(ポリビニルアルコール)+純水 乳化剤(ポリビニルアルコール)+純水

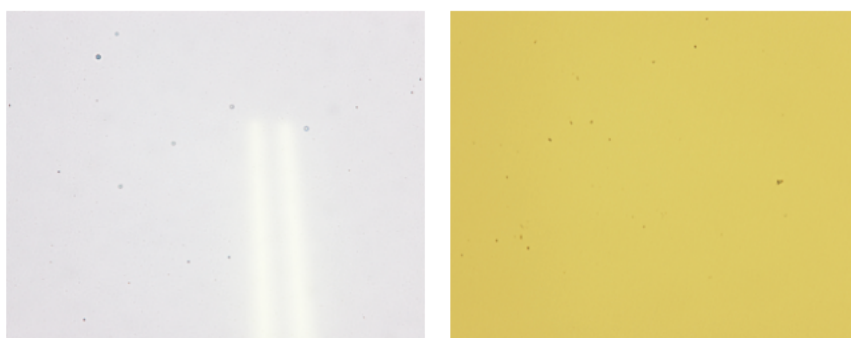


図 2.3-8 光学顕微鏡による観察

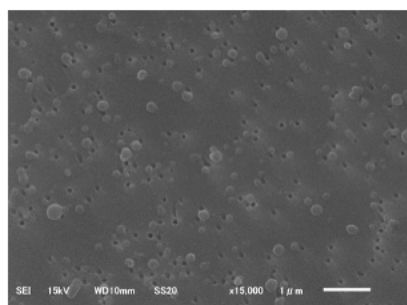
常に多くの個数濃度が確認された。これはいずれも乳化剤が混入しているため、その存在が影響していると考えられる。一方質量分布でみると、PUMC 含有液の方が、濃度が大きく差が出ている粒径範囲がある。原液濃度は合わせているため、この差の部分が PUMC の存在分と考えられる。特に、粒径 100 nm 以上で差が出始め、粒径 600 nm 以上では、PUMC 含有液のみで濃度が見られる。

以上の光学顕微鏡及び電子顕微鏡観察結果、液中粒径分布、噴霧後の粒径分布、また、PUMC 含有液と乳化剤液の比較により、乳化剤の存在はおおむね粒径

600 nm 以下、PUMC は粒径 600 nm 以上に顕著に存在していることが示唆された。ただし形状としては乳化剤、PUMC の両方とも球状であり、形状では両者の見分けが付かない。また PUMC の公称径は 5 μm 以上ということであったが、それよりも小さい PUMC が存在していることも明らかになった。このことから吸入曝露実験において吸入しうる粒径に存在することになり、吸入曝露して影響評価する意義を見いだすことができた。ここで、のちの結果と比較するために、SMPS で測定される粒径範囲 14-322 nm と、OPC で測定される粒径範囲 300-10000 nm の粒子質量の濃度比をとると、後者に対して前者が 111 倍の濃度となった。仮に前者が全て乳化剤由来で後者が PUMC 由来の濃度とすると、曝露した PUMC よりも遙かに高い濃度で乳化剤が存在することになる。

そこで、乳化剤濃度に対して、PUMC 濃度を高める手法を検討することとなった。まず空気中で空気力学粒径の違いによる分級可能な VI を試した。VI の分級性能を左右するパラメータには流量、ノズル径、分級箇所までのギャップなど、複数あるが、今回は入口流量 20 L min⁻¹ で 50% カット径が 600 nm となる条件で設計し、作成を依頼した (図 2.3-12)。完成後、入口流量、微小粒子側流量、粗大粒子側流量、液中濃度の条件を振って、粒径 600 nm 以上の粒子が最も濃縮される条件を実験的に評価した。

ウレタン+乳化剤(ポリビニルアルコール)+純水



乳化剤(ポリビニルアルコール)+純水

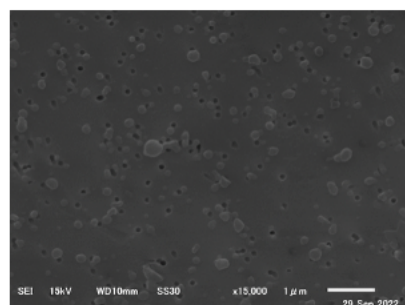
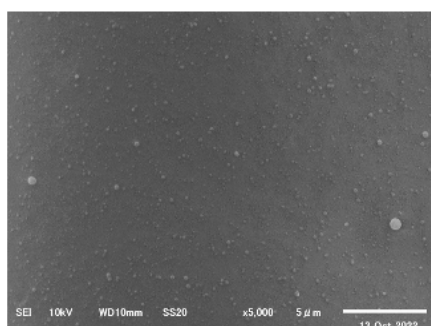


図 2.3-9 SEM による観察 (15000 倍)

ウレタン+乳化剤(ポリビニルアルコール)+純水



乳化剤(ポリビニルアルコール)+純水

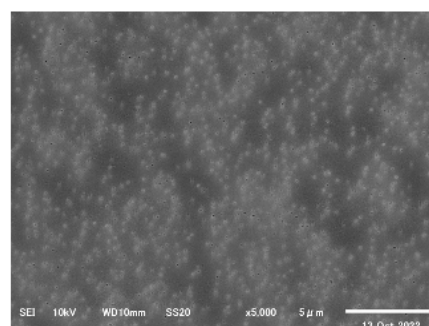


図 2.3-10 SEM による観察 (5000 倍)

ウレタン+乳化剤(ポリビニルアルコール)+純水
VS 乳化剤(ポリビニルアルコール)+純水
VS 純水

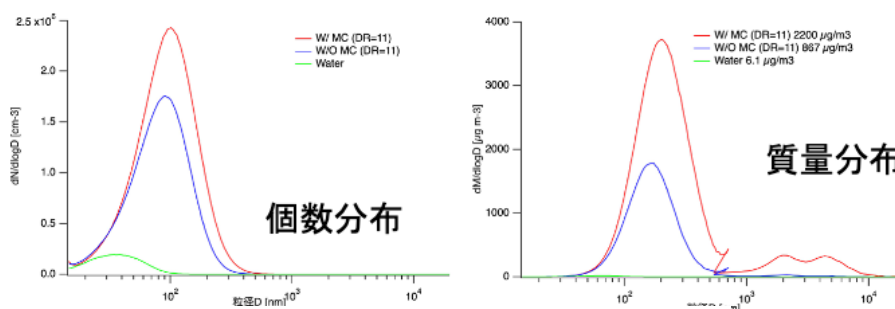
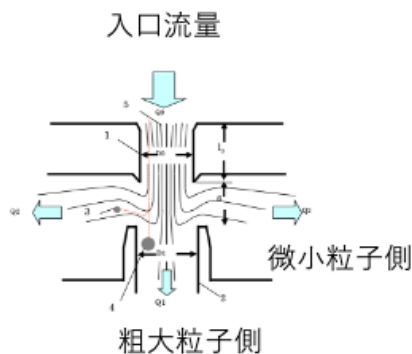


図 2.3-11 浮遊粒子の粒径分布測定結果

図 2.3-13 に入口流量 20 L min^{-1} 、微小粒子側流量、粗大粒子側流量をそれぞれ 10 L min^{-1} で VI を稼働し、30 倍希釈溶液を用いて PUMC 含有液と乳化剤液でそれぞれ噴霧させた場合の測定結果の差分をとった上での VI の使用時と非使用時の粒径分布を示す。粒径 600 nm 以上で、VI の使用と未使用で差が顕著になっており VI が機能していることが確認された。次に様々な条件でこの差について調べた。図 2.3-14 に、PUMC 含有液と乳化剤液でそれぞれ噴霧させた場合の差について、全粒径粒子に対する粒径 600 nm 以上の粒子の質量濃度比における VI

未使用時に対する VI 使用時の増加率（濃縮率）を示す。図 2.3-14 では濃縮率が高いほど、乳化剤濃度に対して PUMC 濃度が高まっていることを示している。まず、微小粒子側流量と粗大粒子側流量の流量比は 1:1 となった方が濃縮することが分かった。入口流量条件の違いははっきりしない結果であったができるだけ多くの粒子量を供給したいことから流量が大きいほど良い。液濃度は 30 倍希釈の条件で、より高い濃縮率となった。以上のことから最も PUMC が濃縮された条件は 30 倍希釈溶液、1:1 で分岐した場合あり、入口流量が 20 L min^{-1} でその条件を繰り返すと、おおむね再現性の良い結果が得られた。PUMC 含有液について、その時の粒径 $14\text{--}322 \text{ nm}$ と、粒径 $300\text{--}10000 \text{ nm}$ の粒子質量の濃度

比をとると、後者に対して前者が 37 倍の濃度で存在した（先の 111 倍と比較すると濃縮比で約 3 であり、図 2.3-14 の濃縮率に相当する）。VI を用いることにより、元々の液に対して粒径 600 nm 以上の濃度が高まったことが分かる。だが、今回の設計では、粒径 600 nm となる分級条件を発揮するために、図 2.3-12 中に示されている加速ノズルの D0 や捕集ノズルの D1 の直径が 2 mm 以下になっており流す流量規模に対して狭い。よって吸引力が強いポンプで引く必要が



https://www.t-dylec.net/wp-content/uploads/2017/05/dylec_vi.pdf

図 2.3-12 パーチャルインパクト (VI) の原理の模式図と作成した VI

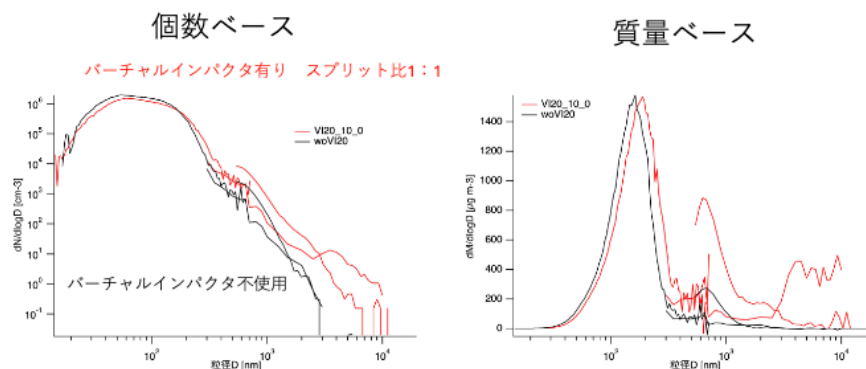


図 2.3-13 VI 使用時未使用時の PUMC 有無の差の粒径分布

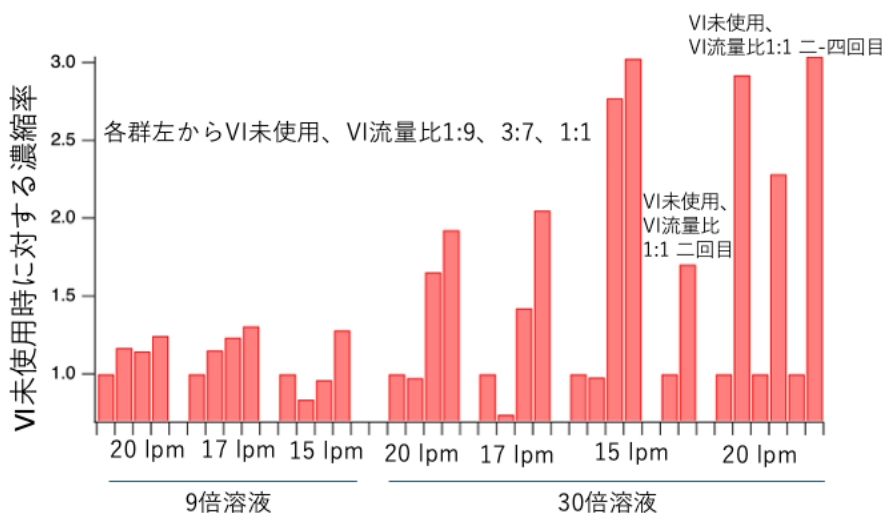


図 2.3-14 VI を使用することによる粒径 600 nm 以上の粒子の質量濃度濃縮率

あり、その結果、粗大粒子側の出口が非常に陰圧になることが分かった。これを曝露チャンバにつなげる場合には音がうるさく、動物にストレスを与える可能性がある。また、そのような陰圧の度合いが大きいと鼻部ノズルからの吹き出しが弱くなり、動物の鼻からの曝露が難しくなる恐れがあった。そこで、曝露実験のためには別の手段で濃縮化を行う事にした。

次に原液を遠心分離することにより乳化剤と PUMC が分離できるのではないかと考えた。図 2.3-15 に、PUMC 含有液、乳化剤液のそれぞれについて、静置時、瓶を振って攪拌後、遠心分離後について写真を示す。PUMC 含有液、乳化剤液の比較から白い色が PUMC と考えられる。遠心分離をすることにより、上澄みに PUMC が濃縮されていることが分かる。PUMC は内包しているミリスチン酸イソプロピルは比重が軽いため、遠心分離をすると上澄み液に多く含まれる結果になったと考えられる。逆に乳化剤の成分であるイソプロピルアルコールは比重が重い。

PUMC 含有液、乳化剤液のそれぞれ遠心分離機にかけ、上澄液及び沈殿液をそれぞれ希釈用の超純水で懸濁して約 30 倍に希釈して噴霧用の液を準備した。なお、上澄みの部分は、ある程度の固さがあり、液状というわけではない。遠心分離後に遠沈管の下部に穴を開け、下部の乳化剤を多く含む液を下から抜いた後、スパチュラを用いて白い PUMC を回収した。それぞれの液を噴霧させ測定した結果を図 2.3-16 に示す。まず PUMC の有無で差が大きく見えたのは粒径 300 nm 以上の範囲である。また、PUMC 含有液のうち、粒径 300 nm 以上の粒子濃度が最も高濃度になった液は、上澄み液であった。また、粒径 300 nm 以下では乳化剤



図 2.3-15 原液の各プロセスにおける写真

液でも高濃度となり、乳化剤を含む PUMC 含有液でも同様に高濃度になった。したがって、この粒径範囲では乳化剤の影響が大きいと考えられる。その時の粒径 14-322 nm と、粒径 300-10000 nm の粒子質量の濃度比をとると、後者に対して前者が 4 倍となり、VI での濃縮よりも濃縮率が大きくなった。なお、沈殿液で同様に比較すると、その値は 166 倍であった。図 2.3-17 に 4 種の液の噴霧時における粒子濃度の時系列データを示す。PUMC 含有液の上澄液噴霧時の時系列データをみると、発生初期の濃度が高く、時間とともに低下する傾向が見られた。中盤から濃度は安定するものの、時間が経つと、発生器の中にあ

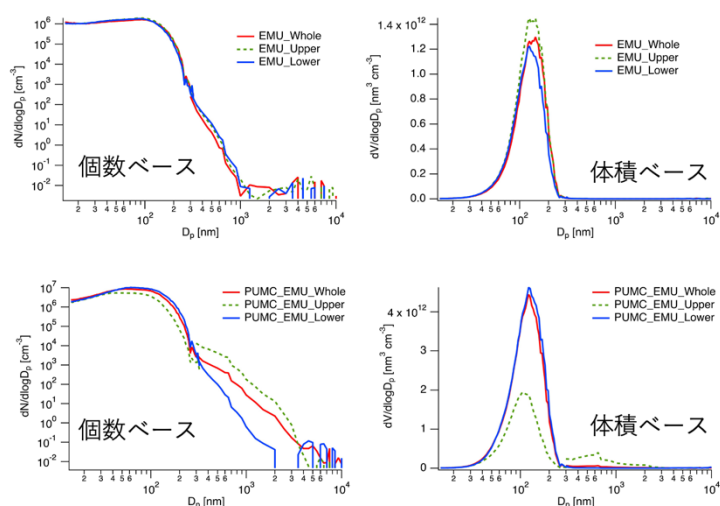


図 2.3-16 各種液噴霧による粒径分布

る噴霧液内で PUMC と乳化剤が分離する様子が見られた。よって、分離したうちの乳化剤液中に薄く存在する PUMC が継続して飛散し続けたと考えられた。そこで、分離させずに均質に混ざるように噴霧すれば、初期の PUMC の高濃度を維持できると予想された。そこで発生器をシェーカー (MMS-300, EYELA) で振とうしながら噴霧することで分離を防ぐことを行った。また乳化剤液も同じように振とうさせながら発生することにした。その際、乳化剤液と PUMC

含有液で、粒径 300 nm 以下の乳化剤と思われる粒径範囲の濃度を合わせるように、両者の原液の希釈濃度を調整した。それらの液を噴霧して得られた粒径分布を図 2.3-18 に示す。特に体積ベースの分布で比較すると、乳化剤由来と考えられる粒径 300 nm 以下の濃度は一致し、粒径 300 nm 以上のみ、PUMC 含有液噴霧時の方が顕著に高いことが分かる。またこの際の粒径 14-322 nm

と、粒径 300-10000 nm の粒子質量の濃度比を計算すると、後者に対して前者が 1.9 倍となり、これまで行った方法のうちで最も濃縮率が高まることが分かった。図 2.3-19 に噴霧中の時系列データを示す。振とうしない場合の濃度が安定した後の時間帯に比べてやや時間変動はあるが、PUMC が最も濃縮される条件ということで、本条件によって曝露実験をすることとした。最終的な液の調整条件であるが、PUMC 含有液は 15 mL を遠心し、上澄みを 1.706 g 取り分け、200 mL の超純水に分散させた。乳化剤液は同様に遠心分離機にかけたあとの上澄み液を 1310 μ L 取り分け、200 mL の超純水に分散させた。これで乳化剤の部分、PUMC 含有液と乳化剤液で同程度の濃度になり、PUMC 濃度として 50 μ g m^{-3} 程度となる。

サブテーマ 2 の吸入曝露実験には、新規に作成した PUMC 原液を使用した。図 2.3-20 及び表 2.3-2 に曝露実験時の濃度の結果を示す。曝露実験はおおむね PUMC 分としての濃度は目標の 50 μ g m^{-3} に近づけることが出来た。また、粒径 14-322 nm と、粒径 300-10000 nm の粒子質量の濃度比も事前の検討と同程度となり、乳化剤に対して、PUMC 分の濃度が上回る結果となった。ただ、乳化剤液と PUMC 含有液の乳化剤としての濃度差は約 17 μ g m^{-3} となり、やや差が大きくなってしまった。したがって、影響評価に際しては、PUMC の有無のみならず乳化剤の質量濃度の差についても考慮する必要性が示唆される。なお、連続測定機で仮定して得られる質量濃度の確認をするために、曝露実験条件において、フィルタ捕集を行い精密天秤により秤量を行った。捕集試料による秤量値（真値に近い）と、球形、密度 1 g cm^{-3} を仮定して得られる連続測定機（走査式モビリティパーティクルサイザー及びパーティクルカウンタ）による値の比較を行ったところ、連続測定機の値は秤量値に対して 30% 程度過小となった。よって質量濃度の真値は本報告書で示している値よりも 30% 程度小さいと考えられる。

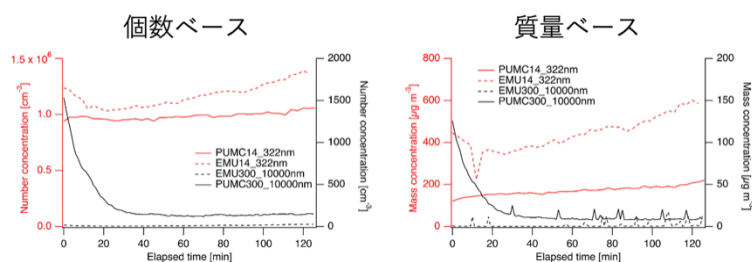


図 2.3-17 各種液噴霧による濃度の時系列データ

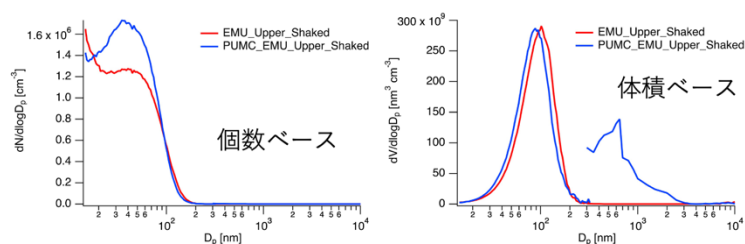


図 2.3-18 振とう時の各種液噴霧による粒径分布

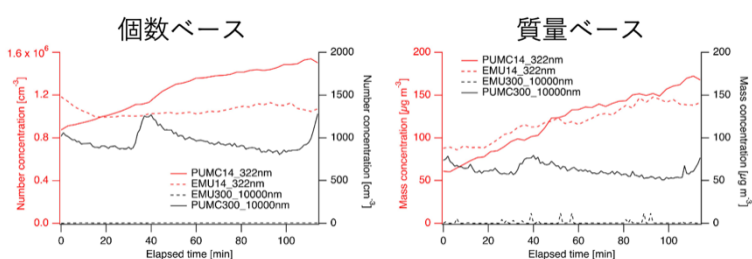


図 2.3-19 振とう時の各種液噴霧による濃度の時系列データ

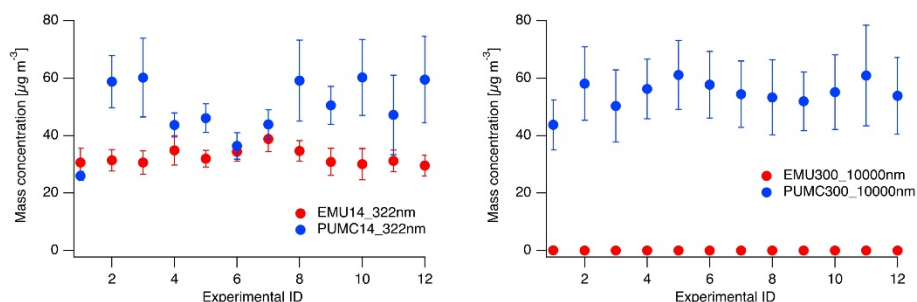


図 2.3-20 曝露実験時の粒子濃度

表 2.3-2 曝露実験時の統計値

実験回数		14-322nm	300-10000 nm	温度 [°C]	相対湿度 [%]	
		粒子濃度[μg/m3]	粒子濃度[μg/m3]			
2025年7-8月	12	対象群	0.00	0.01	26.25	17.13
		曝露群（乳化剤液）	32.40	0.01	25.71	57.32
		曝露群（PUMC含有液）	49.29	54.72	25.52	62.18
		乳化剤としての曝露群間差分	16.89	-	-	-
		PUMC分	-	54.70	-	-

2.3.4 まとめ

イソシアネート及びMP粒子の吸入曝露実験系を構築した。イソシアネート曝露実験では、装置改造と2,4-TDIガス発生法を確立し、対象とした濃度での曝露実験を実施した。MP曝露実験では、PUMCを模擬粒子とし、アトマイザ法でエアロゾル化、バーチャルインパクト（VI）の設計・製作、原液を遠心分離することによるPUMC濃縮を行った。電子顕微鏡観察や噴霧後の粒径分布測定によりPUMCは主に粒径600nm以上に存在することが確認された。VIの使用や、原液の遠心分離によるPUMC濃縮化により、乳化剤に対するPUMC濃度を極力高めることに成功した。その条件を確立した上で吸入曝露実験を行った。

このように、本研究では、これまで十分に行われてこなかったイソシアネート及びPU模擬MPの吸入曝露実験系を新たに立ち上げ、装置改造、発生系の確立、粒子濃縮技術の開発を総合的に進めることで、信頼性の高い曝露実験システムを整備した。今後、このシステムを活用することで、MPなどの呼吸器経由の曝露による健康影響の科学的評価の一層の発展が期待される。

引用文献

- 1) J. M. Matheson, V. J. Johnson and M. I. Luster (2005) Immune mediators in a murine model for occupational asthma: studies with toluene diisocyanate. Toxicol. Sci. 84 (1), 99-109

2.4 全体のまとめ

本研究では、MP 経由も視野に入れた PU 製品に由来するイソシアネートの曝露実態と健康有害性の評価に取り組み、生活環境中（室内、自動車内）におけるイソシアネート類の存在と種類及び PU 製品（自動車座面シート、枕）からのイソシアネート類の放散と MP 粒子の発塵などの実態を明らかにした。最も主要なイソシアネートは 2,4-TDI であったことから、2,4-TDI と PU 模擬 MP を対象とした動物実験を実施し、経皮と経気道の経路別、複数経路の反復曝露影響に関する知見を見出すことができた。図 2.4-1 に研究成果概要を示す。

TDI 吸入曝露レベルについては、表 2.4-1 に曝露時間を補正した本実験条件の濃度（経皮・経気道複合経路曝露（実験 1）補正後 0.7ppb、（実験 2）補正後 9.6ppb）と作業環境における許容濃度（補正後 1.2ppb）を示したが、これらの濃度の比較と本研究で得られた分析データ及び健康有害性データから判断すると、一般環境における 2,4-TDI の吸入曝露の健康リスクの懸念は低いと考えられた。しかしながら、実際に一般市民の中で TDI 感作が発生していることから、本研究でも有害性を検出した経皮曝露による影響や MP 曝露を介した影響が寄与している可能性も示唆された。また、複数種のイソシアネートが検出されていることや、気温の上昇に伴い放散量が増加すること、PU 製品の使用により MP としての曝露や健康影響の可能性があることなど、本研究から得られた知見は健康リスク評価において留意すべき事項の根拠データとなるものである。本研究は PU 製品由来イソシアネートに着目したが、これを事例に他のプラスチック製品や関連化学物質にも適用可能な曝露経路・形態を考慮した評価体系を提案する目標を達成することができた。図 2.4-2 にプラスチック関連化学物質の健康リスク評価に向けた提案をまとめて示す。MP 曝露も含めたプラスチックの健康影響評価研究の今後の発展とともに健康リスクへの理解が深まることが期待される。

表 2.4-1 曝露時間補正による TDI 吸入曝露レベル

【実験条件】	ppb	h/day	d/week	(補正後) ppb
実験1	20	2	3	0.7 (< 許容濃度)
実験2	180	3	3	9.6
【日本産業衛生学会 (2017)】作業環境における許容濃度				
許容濃度	5 ppb	1日 8時間、1週 40 時間の作業で許容される平均濃度		
最大許容濃度	20 ppb	作業中のどの時間をとっても、この数値以下であれば、健康にほとんど悪影響が見られないと判断される濃度		
	ppb	h/day	d/week	(補正後) ppb
許容濃度	5	8	5	1.2

経皮+吸入曝露実験における吸入曝露濃度および作業環境における許容濃度について、曝露時間補正による平均濃度（毎日 24 時間曝露とした場合）を算出した。

計算式：曝露濃度×1 日の曝露時間/24 時間×1 週間の曝露日数/7 日間

【参考】

- ・夏季車内（12 時間窓閉停車）の推定濃度：サブテーマ 1 の放散試験から試算した値は 0.8ppb
- ・環境省（2016）化学物質の環境リスク初期評価による評価値：ヒトの吸入の NOAEL（No Observed Adverse Effect Level）の 0.9ppb を曝露状況で補正した値は 0.18ppb

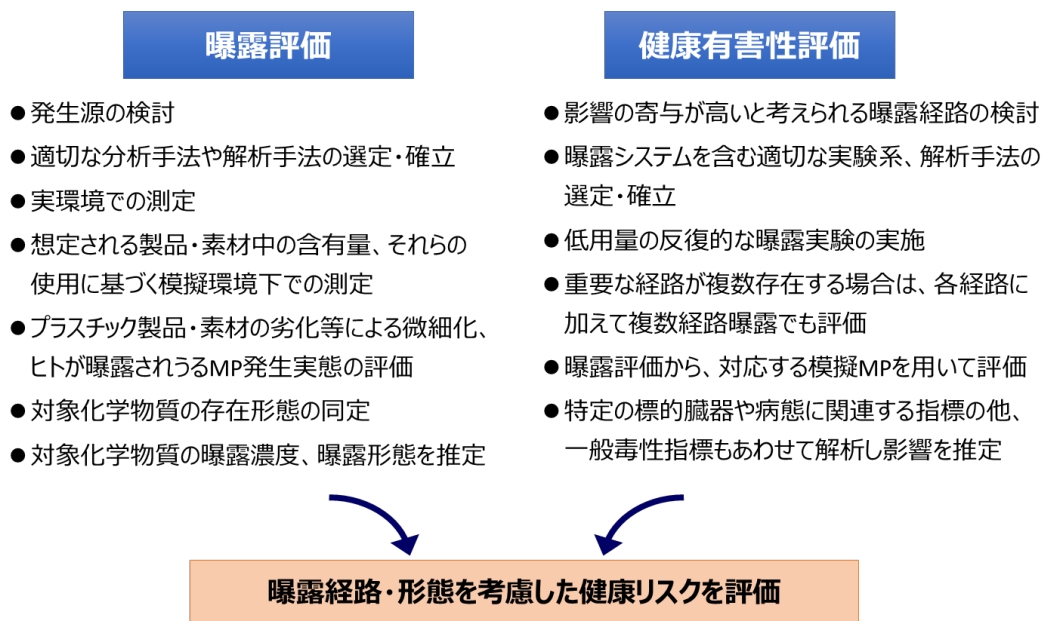
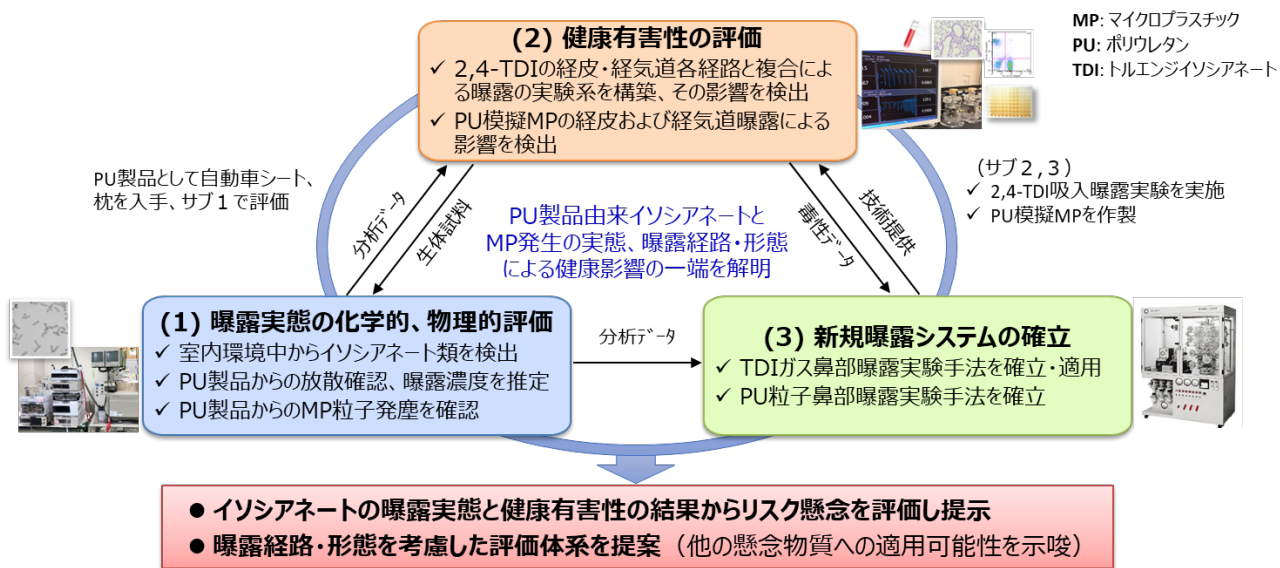


図 2.4-2 プラスチック関連化学物質の健康リスク評価に向けた提案

[資 料]

1 研究の組織と研究課題の構成

1.1 研究の組織

[A 研究担当者]

環境リスク・健康領域	小池英子 高澤嘉一 藤谷雄二 柳澤利枝
資源循環領域	鈴木剛

[B 客員研究員]

該当なし

[C 協力研究者]

倉持秀敏	(資源循環領域)	(令和4～6年度)
梶原夏子	(資源循環領域)	(令和4～6年度)
松神秀徳	(資源循環領域)	(令和4～6年度)
辻真弓	(産業医科大学 医学部)	(令和4～6年度)
一瀬豊日	(産業医科大学 医学部)	(令和4～6年度)

1.2 研究課題と担当者

サブテーマ1 イソシアネートの曝露実態に関する化学的、物理的評価

高澤嘉一、藤谷雄二、鈴木剛、倉持秀敏**、梶原夏子**、松神秀徳**、辻真弓**、一瀬豊日**

サブテーマ2 イソシアネートの曝露経路・形態と健康有害性に関する評価

小池英子、柳澤利枝、辻真弓**、一瀬豊日**

サブテーマ3 MP等新規吸入曝露システムの確立

藤谷雄二

(注) *客員研究員、**協力研究者

2 研究成果発表一覧

2.1 誌上発表

<雑誌>

発表者・(刊年)・題目・掲載誌・巻(号)・頁

小池英子 (2025) マイクロプラスチックによる健康影響の懸念とその要因. ビルと環境, 189, 41-44

小池英子, 鈴木剛 (2025) マイクロプラスチックに関する実施研究の紹介. ビルと環境, 189, 45-47

鈴木剛 (2025) マイクロプラスチックを含むプラスチックの環境流出と汚染実態. ビルと環境, 189, 36-40

<書籍等>

発表者・(刊年)・題目・出版社・総頁数

該当なし

<書籍等(分担執筆)>

発表者・(刊年)・題目・編著者名・書名・出版社・頁

該当なし

2.2 口頭発表

発表者・(暦年)・題目・学会等名称・予稿集名・頁

藤谷雄二, 高澤嘉一, 鈴木剛, 柳澤利枝, 小池英子 (2023) ウレタン製品からのイソシアネート類放散試験法の開発. 第 64 回大気環境学会年会, 同要旨集, 244

藤谷雄二, 高澤嘉一, 鈴木剛, 柳澤利枝, 小池英子 (2024) ウレタン製品からのイソシアネート類放散試験. 第 65 回大気環境学会年会, 同要旨集, 238

藤谷雄二, 高澤嘉一, 鈴木剛, 猪俣敏, 柳澤利枝, 小池英子 (2025) ウレタン製品からのイソシアネート類放散量評価, 第 42 回エアロゾル科学・技術研究討論会, 同要旨集, 100

Yuji Fujitani, Yoshikatsu Takazawa, Go Suzuki, Rie Yanagisawa, Eiko Koike (2025) Isocyanates emission tests from polyurethane products. American Association for Aerosol Research Annual Conference 2025, Abstracts, ページ番号なし

小池英子, 柳澤利枝, 藤谷雄二, 高澤嘉一, 鈴木剛 (2024) イソシアネートに着目したプラスチック製品由来化学物質の健康有害性評価. 第 65 回大気環境学会年会, 同要旨集, 250

小池英子, 足利太可雄 (2025) In vitro 呼吸器感作性試験の行政活用における国際動向と JaCVAM の取り組み. 第 32 回日本免疫毒性学会学術年会, 同要旨集, 46

小池英子, 柳澤利枝, 藤谷雄二, 高澤嘉一, 鈴木剛 (2025) トルエンジイソシアネートの反復的な経皮・吸入曝露の影響と評価手法に関する検討. 第 32 回日本免疫毒性学会学術年会, 同要旨集, 85

高澤嘉一, 藤谷雄二, 鈴木剛, 松神秀徳, 柳澤利枝, 小池英子 (2023) ポリウレタン製品中のイソシアネート分析. 第 2 回環境化学物質 3 学会合同大会, 同要旨集, 97

高澤嘉一 (2024) 大気中イソシアネート類の分析: 1. 令和 6 年度第 1 回地環研共同研究WS, 予稿集なし

高澤嘉一 (2024) 大気中イソシアネート類の分析: 2. 令和 6 年度第 2 回地環研共同研究WS, 予稿集なし

柳澤利枝, 小池英子, 藤谷雄二, 高澤嘉一, 鈴木剛 (2024) ポリウレタン膜マイクロカプセルの経気道曝露が肺炎症に与える影響. 第 31 回日本免疫毒性学会学術年会, 同要旨集, 75

柳澤利枝, 小池英子, 藤谷雄二, 高澤嘉一, 鈴木剛 (2025) ポリウレタン膜マイクロカプセルの経気道曝露が膜破碎前後で肺炎症に与える影響の相違. 第 95 回日本衛生学会学術総会, 第 95 回日本衛生学会学術総会講演集, 80, S274

柳澤利枝, 小池英子, 藤谷雄二, 高澤嘉一, 鈴木剛 (2025) ポリウレタン膜マイクロカプセルの経気道曝露が膜破碎前後で肺炎症に与える影響の相違と腸内細菌叢との関連. 第 32 回日本免疫毒性学会学術年会, 同要旨集, 86

国立環境研究所研究プロジェクト報告 第 153 号
NIES Research Project Report, No.153

(SR-153-2025)

イソシアネートに着目したプラスチック製品由来
化学物質の曝露実態と健康有害性に関する研究
(所内公募型提案研究)

令和 4～6 年度

Study on the exposure and health hazards of chemicals
derived from plastic products focusing on isocyanates
FY2022～2024

令和 7 年 12 月発行

編 集 国立環境研究所 企画部広報室
発 行 国立研究開発法人 国立環境研究所
〒305-8506 茨城県つくば市小野川 16 番 2
E-mail : pub@nies.go.jp

Published by the National Institute for Environmental Studies
16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305-8506 Japan
December 2025

無断転載を禁じます

国立環境研究所の刊行物は以下の URL からご覧いただけます。

<https://www.nies.go.jp/kanko/index.html>