

# ガス有害性試験におけるマウスの行動停止時間と血中 CO-Hb 飽和度及び HCN 濃度の相関性について

防火研究グループ 主任研究員 趙 玄素

## I はじめに

現在、防火材料に関する国土交通大臣認定の性能評価においては、発熱性試験などの他にガス有害性試験が定められている。ガス有害性試験では、22cm 角の材料片を加熱して発生した燃焼ガスにマウスを曝露し、その行動停止時間を基準値 6.8 分と比較することによってガスの有害性を評価している。

ガス有害性試験は動物試験であるため、動物の個体差による影響が大きいことや、燃焼生成ガスの定量化ができないなど、様々な問題点が挙げられ、動物愛護の観点からも好ましいものではない。従って、動物試験に代わる評価手法の提案が求められている。

既往の研究では<sup>1)</sup>、燃焼生成ガスの成分分析手法を用いて代替手法案を提案するため、火災時に各種建材から生成する燃焼ガスの種類や濃度とマウスの行動停止時間の関係について調べてきた。しかしながら、燃焼ガスの生成種類は複雑で、個体差のあるマウスに対して様々なメカニズムで作用するため、ガス有害性試験における燃焼生成ガスとマウスの挙動の関係性を解明するには至っていない状況にある。また、火災時の燃焼生成ガスの影響を評価した国際規格である ISO13344 および ISO13571 において、それぞれガスの毒性を評価したモデルが定められているが、いずれのモデルもクライテリアが異なるため、短期の曝露を受けるマウスの行動停止時間を評価することが難しい。

本研究では、マウスの行動停止に大きく影響を及ぼす一酸化炭素 (CO) とシアン化水素 (HCN) に着目し、ガス有害性試験におけるマウスが行動停止に至るメカニズムについて検討することとした。実験においては、マウスが曝露される燃焼生成ガスの成分分析結果を踏まえた、行動停止したマウスの血中濃度と行動停止時間との関係、行動停止時間と燃焼生成ガス濃度の関係性について調べることにした。

## II 実験の概要

指定性能評価機関の定める業務方法書<sup>2)</sup>に従いガス有害性試験の試験装置を用いて加熱試験を行った。本研究では、既

往の試験<sup>1)</sup>の結果から各種試験体に対してマウスが行動停止した時間を参照し、試験時間を 10 分とした。また、通常 8 匹のマウスが一度の実験で使用されるのに対し、血液サンプルの採取に時間がかかるため、マウスの死後硬直が始まる時間を考慮し、4 匹のマウスを用いた。試験終了後に被験箱の扉を開けてマウスを取り出し、すぐに血液サンプルを採取した。採血時のマウスは全て呼吸停止状態であった。試験体は、アクリルクロス、MDF (中密度繊維板)、ウレタンフォーム、赤ラワンの 4 種類とした。

血液サンプルは抗凝固剤を加えてから冷蔵保存したのち、 $-80^{\circ}\text{C}$  の環境下で冷凍保存し、血中濃度を測定する当日に解凍を行なった。マウスから採取した血液について、血中 CO-Hb 飽和度と HCN 濃度を測定した。血中 CO-Hb 飽和度には吸光度測定法<sup>3)</sup>を用い、血中 HCN 濃度はピリジン-ピラゾロン法によるシアン化物イオンの比色定量法<sup>4)</sup>を用いて測定を行なった。

燃焼生成ガス成分は、被験箱中央(マウスを存する高さと同等の高さ)より 4 L/min でサンプリングし、FT-IR (Gasmeter 社, DX-4000) を用いて測定を行った。

## III 実験結果

FT-IR による測定結果から CO 及び HCN の Ct 値 (Concentration-time) を計算した。Ct 値とは、ガスの濃度と曝露時間の積から算出されるものである。本来マウスが曝露された濃度を評価するためには、呼吸停止時間までに曝露された濃度を用いることが望ましいが、その計測ができなかったため、本研究では、各マウスが行動停止した時間までに曝露されたガス濃度から算出した。図 1 に各マウスの CO の Ct 値と CO-Hb 飽和度の比較を示す。また、Ct 値とマウスの平均行動停止時間及び血中 CO-Hb 飽和度の平均値、HCN 濃度の平均値の関係をそれぞれ図 2、3 に示す。なお、アクリルクロス以外の試験体における FT-IR による測定で結果は、未知成分の生成による濃度の影響を精査する前の値であり、Ct 値の正確さへの影響が考えられる。

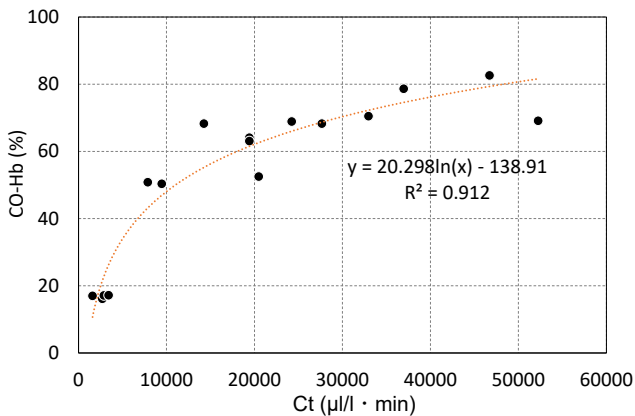


図1 COのCt値とCO-Hb飽和度の比較

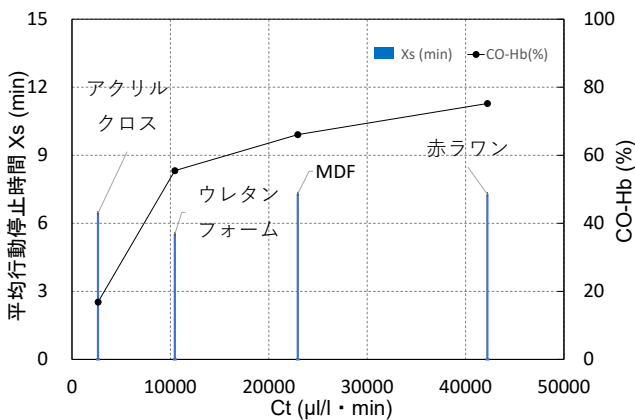


図2 COのCt値とマウスの平均行動停止時間とCO-Hb飽和度の比較

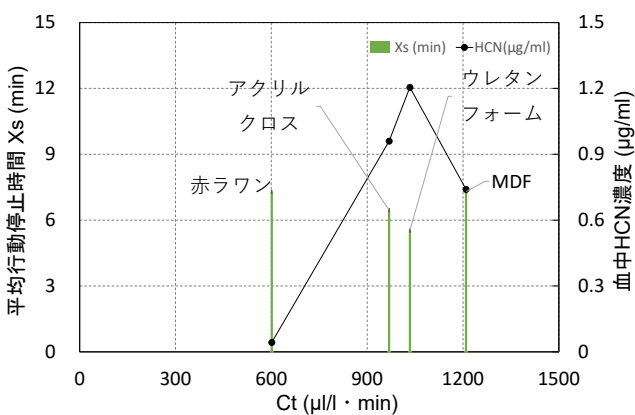


図3 HCNのCt値とマウスの平均行動停止時間とHCN濃度の比較

図1、2からは、COのガス濃度(Ct値)が高くなるほど、CO-Hb飽和度が高くなる傾向を示し、COのCt値とCO-Hb飽和度の関係は、図1中の回帰式で近似できる。

平均行動停止時間については、図2においてアクリルクロス、ウレタンフォームのCt値およびCO-Hb飽和度がMDFや赤ラワンより低い

値となったにもかかわらず、より短い時間で行動停止したことから、ガス濃度及びCO-Hb値のみでは決まらないことが明らかであり、HCNやその他のガスも影響しているといえる。

図3は、HCN濃度(Ct値)が増えると血中HCN濃度も増加する傾向を示すが、本実験ではCOのような関係性は見られなかった。その理由は不明であるが、ウサギを用いた既往の研究<sup>5)</sup>からは、HCNはCOと比較して、生体内では容易に拡散する傾向があることが理由として示唆されている。

行動停止時間との関係については、CO同様、HCNのCt値及び血中濃度と平均行動停止時間間に明確な関係性は見られなかった。

HCNはCOよりも影響が早く出ることが知られており、マウスやラットにおいては、CO-Hbの最小致死濃度は50~70%であり<sup>6)</sup>、血中HCN濃度0.61~0.97 μg/mlで行動不能に至り、1.5~4.67 μg/mlで死に至るため<sup>7)</sup>、本研究において、アクリルクロスがHCNの影響でマウスが行動停止に至り、赤ラワンがCOの影響でマウスが行動停止に至り、ウレタンフォームとMDFがCOとHCNの両方の影響で行動停止に至った可能性が高い。

#### IV まとめ、今後の課題

本研究ではガス有害性試験を行い、マウスの行動停止時間とガス成分分析及び血中濃度と比較し、COとHCN影響についてそれぞれ調べた。

CO及びHCNの2つのガス種を用いて人間の避難時間を評価した毒性モデルはISO13571で提案されているが、マウスの行動停止時間を評価した毒性モデルはまだないため、今後の課題として、FT-IRのデータを精査し、試験体のサンプル数を増やし、CO及びHCNがマウスの行動停止時間に与える影響についてさらに検討を行う予定である。

#### 謝辞

実験実施及び梗概執筆に際し、北岸宏亮教授、毛斉悦先生(同志社大)、福田泰孝氏(BL)、吉岡英樹教授(東大)、成瀬友宏G長(建研)より貴重なご支援をいただきました。記して謝意を表します。

#### 参考文献

- 1) X. Zhao, H. Y.oshioka, Experimental study on relationship between behavioral incapacitation time of mice and concentration of gases generated during toxicity test, AOSFST 2021
- 2) 一般財団法人建材試験センター:「防耐火性能試験・評価業務方法書」
- 3) F. L. Rodkey, T. A. Hill, L. L. Pitts, R. F. Robertson, "Spectrophotometric Measurement of Carboxyhemoglobin and Methemoglobin in Blood", CLIN. CHEM. 25/8, 1388-1393(1979).
- 4) Y. Okada, H. Miyaguchi, "Development of a handy microdiffusion device using two plastic test tubes for accurately quantifying cyanide in blood", Forensic Toxicology (2020) 38:542-546.
- 5) 藤原開天:「火災ガスの毒性に関する研究-COとHCNの単独および混合暴露の影響について」, 杏林医学誌, 27巻3号, 241-256, 1996
- 6) Acute Exposure Guideline Levels for Selected Airborne Chemicals: Volume 8
- 7) Acute Exposure Guideline Levels for Selected Airborne Chemicals Volume 2