

20021429

別添2

厚生労働科学研究費補助金研究報告書表紙

厚生労働科学研究研究費補助金

労働安全衛生総合研究事業

産業中毒の予防と診断のための生体試料中有害物質及びその代謝物・付加体の
超微量分析手法の開発研究

平成14年度 総括研究報告書

主任研究者 坂井 公

平成15(2003)年4月

厚生労働科学研究費補助金研究報告書目次

目次

I.	総括研究報告書	
	産業中毒の予防と診断のための生体試料中有害物質及びその代謝物・付加体の 超微量分析手法の開発研究	1
	坂井 公	
	資料 (図 1 ~ 7)	
II.	研究成果の刊行に関する一覧表	21
III.	研究成果の刊行物・別刷	22

厚生労働科学研究費補助金総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（労働安全衛生総合研究事業）
研究報告書

産業中毒の予防と診断のための生体試料中有害物質及びその代謝物・付加体の
超微量分析手法の開発研究

主任研究者 坂井 公 労働福祉事業団・東京労災病院産業中毒センター長

研究要旨

本研究では新築医療機関での揮発性有機化合物（VOC）の発生量調査および有機溶剤作業所、トルエンジイソシアネート（TDI）工場の作業員、鉛作業員における生体試料中有害物質の超微量分析法を開発した。数 ppm 以下の低濃度有機溶剤使用職場の調査結果から有効な生物学的モニタリングとして血中トルエン・キシレンの有効性を明らかにした。新築棟の VOC 濃度は厚生労働省の室内空気汚染の指針値より低かった。ジクロロメタン（DCM）使用印刷工場作業員で尿中 DCM の微量測定法を開発し、尿の採取・保存法を明らかにした。尿中 DCM と個人暴露濃度との関係から生物学的許容値を確立した。TDI 暴露の尿中代謝物（トルエンジアミン）の超微量測定法を開発した。本法による作業員の尿で最高 28.5 $\mu\text{g/l}$ の代謝物が検出され、非暴露者では検出されなかった。ICP-MS を用いた簡便な測定により ppb レベルの血漿鉛の測定法開発し、血液や尿中の鉛濃度との関連を明らかにした。

A. 研究目的

東京労災病院産業中毒センターへの相談内容をもみても産業中毒は決して過去のものでなく、科学技術の進歩に伴い多様な形態で発生し、微量の化学物質による健康影響に悩む人の多いことがわかる。その特徴は、①中小企業で多く発生すること、②技術革新に伴う新規物質の導入だけでなく、既存物質も新用途・新技術で使用されること、③人により化学物質への感受性が異なる、④低濃度での健康

影響は未知のことが多く、将来大きな問題となる可能性があることなどがあげられる。

とくに、産業界に次々と導入される新規物質への低濃度慢性曝露が問題となり、ホルムアルデヒドや接着剤成分（VOC やフタル酸エステル類など）、有機リン系殺虫剤などによる化学物質過敏症に悩む相談や受診・検査を希望者する人が多く、プロモプロパンなどの環境ホルモン作用などに不安をもつ人も増加している。このような勤労者の健康問題の悩みと医療

に 대응するには体内の超微量の有害物質を特定・分析する手法の開発研究が必要となっており、労働安全総合研究事業の一つの課題と考えられる。

本研究の目的は新規多品種物質に慢性的に曝露される作業員や過敏症患者などにおいてその原因物質の超高感度検出とその体内動態の解明を行い、健康障害の予防と治療に役立つ検査法（生体影響指標、生物学的モニタリング）を開発することである。本研究の成果は、産業現場における化学物質過敏症などの健康障害の診断と治療に役立つ情報を提供し、起因物質の曝露低減化に役立つものである。これは勤労者の快適作業環境形成および有害物質取り扱い作業員の不安解消と健康問題解決に寄与し、勤労者の保健・医療の向上に貢献するものである。

初年度は血液や尿中で化学物質過敏症や感作性の原因となる VOC、ジクロロメタン、イソシアネート類、重金属類などを ppb～sub ppb レベルで測定する超微量分析法の開発を行った。

1. 有機溶剤および揮発性有機化合物 (VOC)

低濃度の有機溶剤を多種類使用する事業所として仏壇・漆器製造業がある。この業種における健康診断に有効な生物学的モニタリングの手法を確立する目的で取扱溶剤の調査、個人曝露濃度と血中溶剤濃度などの測定を行った。

新築建造物の、内装材（壁材、床、接着剤）や家具などから発生する VOC は、ヒトへの健康影響を及ぼす可能性があるとして注目されている。当施設では、昨年 4 月に新築棟への移転が行われたのを機会に、新築棟の VOC についての基礎データの収集を目的とし、室内 VOC 環境調査を行った。

2. ジクロロメタン

ジクロロメタン (DCM) は油脂、樹脂、ゴムなどの溶剤、冷媒、ペイント剥離剤などとして広く使用されている他、製造禁止となった 1,1,1-トリクロロエタンの代替溶剤として機械部品の脱脂洗浄としての用途が増加している。ジクロロメタンは高濃度曝露での中枢神経影響のほか、肝・腎での発がん性も疑われているため、低濃度曝露での生物学的モニタリングも必要と考えられる。この目的のため、本研究ではヘッドスペースガスクロマトグラフ法 (HS-GC) により DCM 作業員尿の高感度測定法を開発した。

3. トルエンジイソシアネート (TDI)

トルエンジイソシアネート (toluene diisocyanate) 略して TDI は、刺激臭があり、常温では白色～淡黄色の液体である。TDI にはイソシアネート基の位置により 6 種類の異性体があるが、産業現場では 2,4-、2,6- の 2 種類の異性体の混合物が使用されている。主な用途は、ポリウレタン樹脂、塗料、接着剤、ゴム、繊維処理剤等である。TDI には皮膚や粘膜の刺激作用があり、皮膚に直接接触すると、化学火傷、接触皮膚炎を起こすほか、眼に曝露すれば流涙、炎症、角膜炎を生じることがある。吸入した場合は咳、分泌亢進、胸痛、呼吸困難、重篤な場合は肺水腫を引き起こすこともある。また、TDI には感作性があり、職業性喘息を引き起こす物質としても知られている。我が国でも TDI による急性および慢性中毒例がいくつか報告されている。TDI は体内で代謝され、それぞれが対応するトルエンジアミン (toluenediamine, TDA) の異性体となるので、これらを測定することによる TDI の生物学的モニタリン

グが可能と考えられる。本研究では、超低濃度の TDA の測定法の開発をめざしてガスクロマトグラフ質量分析装置 (GC-MS) を用いた TDA の簡易な分離測定法を検討し、実際の作業者に適用した。

4. 重金属 (血漿鉛)

血漿鉛は活性鉛として細胞内鉛プールと平衡関係にあり、体内鉛のコンパートメント (骨、軟部組織、血球など) 間の鉛の移動に直接関与している。血漿鉛は体内を循環し、内因性鉛曝露に関与して軟部組織 (骨髄、腎、脳など) における鉛の毒性の原因となる。このように重要な血漿鉛であるが、血中鉛の 98% は赤血球中に存在するためにその濃度は低く、従来の原子吸光法による測定は低曝露濃度の検体測定は難しかった。本研究では、高感度分析機器である ICP-MS を用いて超低濃度の血漿鉛の測定法を開発し、血中鉛、尿中鉛との関連についても明らかにし、鉛の生物学的曝露指標としての血漿鉛の意義を明らかにした。

B. 研究方法

1. 有機溶剤および揮発性有機化合物 (VOC)

対象は東北地方の 5 つの仏壇・漆器工場とそこに働く 82 名の作業員である。健康診断時に使用溶剤の調査とそれに対応する尿中代謝物濃度の検査に加え、血中の溶剤濃度の測定による生物学的モニタリング実施した。有機溶剤の尿中代謝物濃度の測定は一般的な液体クロマトグラフ (HPLC) により、血中トルエンおよびキシレンはヘッドスペースガスクロマトグラフ (HS-GC) (機種: HS-40、横河-GC14A、島津) により測定した。ま

た有機溶剤の個人曝露濃度は有機ガスモニターにて呼吸域の空気を採取して測定した。各作業所で使用する有機溶剤、樹脂などについてヘッドスペースガスクロマトグラフ質量分析計 (HSGC-MS) (機種: AutoSystemXL、TurboMass、PerkinElmer 社) による成分の同定を行った。

新築医療機関の VOC 調査は東京労災病院の新棟において行った。調査した VOC 成分はトルエン、ホルムアルデヒドを中心とする 4 種類である。調査は 2002 年 4 月移転の後 6 月～9 月と、2003 年 1 月に実施した。新築棟は鉄筋 7 階建であり、地下 1 階 (病歴室、栄養管理室)、3 階 (事務室、検査室、シックハウススクリーンルーム)、6 階 (病室) の各部屋とその廊下で測定を行った。測定は厚生労働省の標準的な方法によった。トルエン、キシレン、スチレンは 30 分間に 3 リットルの空気を採取し、固相吸着-加熱脱着-ガスクロマトグラフ質量分析法によった。VOC の捕集には Supelco の AirToxics 管 (StainlessSteel, Prepacked ATDTubes Pk/10) を使い、加熱脱着-GC-MS 法により測定を行った。内部標準として d8-トルエンを使用した。ホルムアルデヒドはアルデヒドサンプラー (DNPH XPoSure、Waters 社) を用いて 30 分間、30L の空気を捕集し、HPLC (LC-10A、島津) により分析した。

2. ジクロロメタン (DCM)

対象は印刷工場の 95 名の作業員 (男子 50 名、女子 45 名) である。DCM は機械に付着したインクのふき取りやローラーや刷毛などの洗浄に使用されている。午後の作業終了後にスポット尿を採取した。数名については午前、午後の作業中を通してと、休憩後、夜の残業後、さらに翌朝までのスポット尿を採取した。空

気中の DCM の混入をできるだけ避け、紙のカップに採尿した後、1 分以内にテフロンスクリーキャップ付きのねじ口試験管 (16ml) にほぼ満杯に移した。この検体は測定まで冷蔵し、採尿当日から翌日にかけて測定を行った。一部は 4 日後に再測定し、保存の影響をみた。

尿中 DCM は HS-GS (HS-40、横河と GC-17A、島津) により測定した。尿 1 ml を 20ml の GC バイアルに入れ、60°C で 30 分保持した後、ヘッドスペースのガスを GC に注入した。カラムは J&W 社の DB-624 (60m、内径 0.32mm、膜厚 1 μ m) を使用し、注入口、検出器の温度はそれぞれ 200°C、250°C である。カラムは初温 60°C から 180°C まで毎分 10°C で昇温した。30 サンプルの測定の前後に 2mg/l の標準液 (水溶液) をはさんで検量を行った。

各作業者の呼吸域の気中 DCM の時間加重平均 (TWA) を求めるために、3 M のパンプサンプラー (#3500 と #3520) を作業時間中の各人の襟元に装着した。作業終了直後にバッチを回収し、二硫化炭素により DCM を抽出した。抽出液の 1 μ l を GC-FID (G3000、日立) に注入して DCM の測定を行った。カラムは GL Science 社の TC-WAX (100m、内径 0.53 mm、膜厚 1 μ m) を使用し、注入口、検出器の温度はそれぞれ 150°C、180°C である。カラムは初温 50°C で 10 分間保持し、50°C から 100°C まで毎分 2°C で昇温した。

3. トルエンジイソシアネート (TDI)

対象は TDI を使用する楽器製造工場の作業員 32 名 (暴露群) と非暴露者 9 名 (対照群) のスポット尿である。採尿後すみやかに冷凍し、解凍は測定直前に行った。TDA の標準品は東京化成工業の 2,4-TDA、3,4-TDA、2,6-TDA を用いた。内部標準

物質の m- および p-キシレンジアミン (m-, p-xylenediamine, m-, p-XDA) と誘導体化試薬のヘプタフルオロ-n-酪酸無水物 (heptafluoro-n-butyric anhydride, HFBA) も同様である。ジエチルエーテル、水酸化ナトリウム、硫酸は和光純薬工業の特級試薬を用いた。試薬の調整や前処理には Mill-Q システム (Millipore) による純水を使用した。

ふたつき試験管 (16ml) に尿 1ml をとり、内部標準物質として m-XDA、p-XDA 混液 (各 2ppm) 0.1ml と濃硫酸 0.2ml を加えてよく混和し、90 分間煮沸した。冷却後、8N の水酸化ナトリウム溶液 1ml を加えてよく混和し、ジエチルエーテル 2ml を加えて 20 分間振とう抽出した。5 分間の遠心分離 (3,000rpm) 後に上層を分取し、窒素を吹き付け濃縮乾燥した。これをトルエン 500 μ l で溶解し、HFBA を 25 μ l 加え 55°C 温浴中で 1 時間加熱し TDA、XDA を誘導体化した。これを再度窒素で濃縮乾燥してトルエン 200 μ l に再溶解し、GC-MS (QP5050A、島津) による測定に供した。

カラムは J&W 社の DB-5 (30m、内径 0.32mm、膜厚 1 μ m) を使用し、サンプル 1 μ l をスプリットレスで注入した。カラムは初温 150°C で 1 分保持の後、毎分 10°C で昇温し、終温 280°C で 1.5 分保持した。インターフェース温度は 280°C である。測定は陰イオン化学イオン化法 (negative ion chemical ionization: NCI) により選択イオン検出 (selective ion monitoring: SIM) を行い、反応ガスにイソブタンを使用した。XDA の誘導体は m/z = 508、TDA の誘導体は m/z = 494 を選択測定した。

4. 血漿鉛

対象はバッテリー解体工場とガラス工場に勤務する 69 名の男子鉛作業員であ

り、健康診断時にスポット尿と静脈血を採取した。尿は硝酸処理し超純水で洗浄したポリプロピレン容器に採取し、血液はヘパリン 5ml 管に真空採血を行った。血漿は全血を採血後 30 分以内に血漿を遠心分離し、硝酸処理済みのポリプロピレンチューブに保存した。尿、血液、血漿は測定まで-20℃で保存した。

前処理として、全血 30 μ l を 270 μ l の純水で溶血し、1.2ml の 0.15N 硝酸(超高純度試薬：TAMAPURE-AA-10、多摩化学)と混合した。同様に血漿 300 μ l を 1.2ml の 0.15N 硝酸と、尿は 30 μ l を 2.4ml の 0.15N 硝酸と混合した。内部標準物質としては Bi を添加した。測定は結合誘導プラズマ質量分析計 (ICP-MS) (機種：PMS-2000、横河)で行い、²⁰⁸Pb と ²⁰⁹Bi をモニターした。ICP-MS による測定値との比較のため、一部の検体については原子吸光法 (AAS) による測定も行った。

(倫理面への配慮)

本研究において使用した生体試料(尿及び血液)は特殊健康診断の際に採取されたものである。採血・採尿に当たっては作業員個人に研究目的と個人情報の保護について十分に説明した。具体的には当該項目以外の目的に使用せず研究の終了後には試料を破棄すること、結果については個人の情報として公表されることがなく不利益の生じないこと、採血による危険性のないことなどを説明し、承諾の得られた対象者にのみに限って試料の提供を受けた。従って、倫理面での問題が生じないと判断できる。

C. 結果

1. 有機溶剤および揮発性有機化合物

(VOC)

仏壇・漆器製造工程は大きく①木地、②吹き付け・塗装、③研磨、④下地・木地修理、⑤金箔貼り、⑥組立に分けられ、②ではスチレン・キシレン、④ではスキレンを含むペースト状のパテ、⑤ではホワイトガソリンが多用されていた。②の工程は別室で局所排気装置の中で防護マスクをつけて行われているが、これ以外の作業は同じ部屋で行われていた。尿中馬尿酸、メチル馬尿酸濃度は比較的 low、1 名のみが分布 2 となった。トルエンの個人曝露濃度は 6ppm 以下であり、尿中馬尿酸濃度との間には相関がみられず、血中トルエン濃度との間に相関が認められた(図 1)。キシレンの個人曝露濃度と尿中メチル馬尿酸濃度および血中キシレン濃度とは良く相関したが、後者については一部の作業場によっては相関がみられない所もあった。使用溶剤などの成分分析の結果は図 2 に示す。ホワイトガソリンの成分としてベンゼンやヘキサンも含まれていることがわかった。スチレン樹脂を利用したパテからはスチレンが高濃度で検出された。

新築医療機関において 6 月後半に行った VOC の調査では、すべての測定値は厚生労働省による室内空気汚染の指針値(トルエン 70ppb、キシレン 200ppb、スチレン 50ppb、ホルムアルデヒド 80ppb)の範囲内にあった(図 3)。6 階では、病室(個室)と病室廊下の VOC 濃度はほぼ同じであり、トルエン、ホルムアルデヒドが約 20ppb、キシレン 2.5ppb、スチレンは 1ppb 未満であった。一方、病室のクローゼット内のスチレン濃度は 5.2ppb となり、病室の 7-10 倍であったが、指針値のほぼ 1/10 の濃度であった。3 階の事務室は病室よりも低い値であった。シックハウス科クリーンルーム(診察室)の VOC はトルエン 0.2ppb、

ホルムアルデヒド 0.6ppb、キシレン・スチレンともに 0 であった。病理検査室では、キシレン濃度が高く 82.3ppb であったが指針値未満である。病歴室、廊下ともに奥で高い濃度となり、病歴室奥は病室と同程度、栄養管理室は事務室と同程度であった。3階事務室で室内への供排気口で空域汚染物質の濃度を測定したところ、供気口のトルエン濃度は外気のそれ (2.0ppb) とほぼ同じであった。しかし排気口では 10ppb 程度となり、この差は室内からの発生によると考えら得る。部屋の換気回数 (4回/時間) と室内気積をもとに室内トルエンの発生量を試算した結果、時間あたり 6.4mg のトルエンの発生が考えられた。

一日の中での VOC の変動を調べると、多くの場合は午前よりも午後に高濃度となった。7月後半の外気温が 30℃を越える晴れの日には VOC の測定では主要な VOC であるトルエンは時間の経過とともに上昇し、夕方 16 時には病室と廊下でそれぞれのピーク濃度である 82.6ppb、70.8ppb が測定された。この 2 点は指針値 70ppb を超えるものであったが、今回の調査のすべての測定値において指針値を越えたのはこの 2 点だけである。いずれも翌朝には 20ppb~30ppb に低下した。同時に測定したキシレン、スチレンも経時的に上昇したが、翌朝にはトルエン同様に低下した。8月と 9月の測定では病室、廊下ともに最高値が 30ppb 程度にまで低下し、2003年 1月の測定では 10ppb 以下となった。

旧棟の採液室は 7月末に内装工事があり塗装が行われたので、その日を 0日としてトルエン濃度を経時的に測定した所、1週間後に 30ppb 超であったが 2ヶ月で約 5ppb にまで低下した。

2、ジクロロメタン(DCM)

標準液および作業尿のクロマトグラフでは、DCM の保持時間はおよそ 5.75 分であった。尿に添加した DCM(0.6mg/l) の回収率は 99.8 ± 5.3%(n=10)、検出限界は 0.01mg/l (S/N=2)、検量線は 2mg/l まで直線性を示した。尿をテフロンスクリーキャップ付きのねじ口試験管に 95%以上満たした状態で 4℃保存した場合、4日間以内では DCM の減少はほとんどみられずに測定可能であった。

作業の前後での尿中 DCM 濃度を経時的に測定した作業尿では、尿中 DCM 濃度は午前の作業開始と共に上昇し、昼休み、夕食の休みには曝露の低下に伴い速やかに低下した。3名の作業尿について夜の 9 時以降の減衰曲線から半減期を計算すると 210 分から 400 分であった。

DCM の個人曝露濃度 (x) と尿中 DCM 濃度 (y) との相関 ($y=ax+b$) は、全体 (n=95) で $y=0.0037x+0.0545$ ($r=0.924$) (図 4)、男子は $y=0.0038x+0.0442$ ($r=0.887$)、女子は $y=0.0036x+0.0680$ ($r=0.941$) となり、男女間に相関の有意差はなかった。この場合の相関係数は男女共に、尿を比重およびクレアチニンにより補正しても改善されず、むしろ低下傾向にあった。

3、トルエンジイソシアネート(TDI)

ジエチルエーテルによるトルエンジアミン (TDA) の抽出効率に及ぼす抽出液の pH の影響をみるために、抽出の前に加えるアルカリの量を検討した。加水分解後の尿 (約 2ml) に種々の量の水酸化ナトリウム溶液 (10N) と水を計 2ml となるように加えて抽出した時の、GC-MS クロマト上の TDA ピーク面積の変化を調べた。尿に添加した TDA の抽出では、水酸化ナトリウム (10N) が 1.6ml、水 0.4ml の場合が最も高いピーク面積と

なったため、ルーチン測定には加水分解後の尿（約 1ml）に 8Nの水酸化ナトリウム溶液 1mlを加えることとした。TDAを水に添加した場合も同様の結果が得られた。一方、複数の尿に TDA を添加して測定を行ったところ回収率に違いがみられた。これらの結果より、尿検体の測定には標準添加法を用いることとした。また抽出溶剤にトルエンを使用したところ、抽出効率が低下した。

TDA3 種の誘導体の検出にはすべて $m/z=494$ を測定するが、3,4-, 2,6-, 2,4-の順に溶出するため、分離測定が可能である（図 5）。XDA2 種の誘導体は $m/z=508$ を用い、どちらも内部標準として用いることが可能である。TDA 誘導体の保持時間は、3,4-, 2,6-, 2,4-の順にそれぞれ 6.7 分、7.4 分、7.6 分である。水と尿に 2,6-TDA と 2,4-TDA を添加して検量線を検討したところ、水・尿ともに $40 \mu\text{g/l}$ まで直線性を示した。検出限界は $0.1 \mu\text{g/l}$ である。

TDA 作業（暴露群）32 名の 2,6-TDA の範囲は $0.1\sim 28.5$ （平均 1.95 ） $\mu\text{g/l}$ 、2,4-TDA は $0\sim 5.1$ （平均 0.79 ） $\mu\text{g/l}$ であった（図 6）。非暴露者（対照群）9 名のうち 8 名の 2,6-TDA、2,4-TDA 濃度は検出限界以下であり、1 名のみが約 $0.1 \mu\text{g/l}$ であった。

4、血漿鉛

水、全血、尿に鉛を添加して ICP-MS による測定を行ったところ、全血は $250\sim 1500 \mu\text{g/l}$ まで、尿は $25\sim 2500 \mu\text{g/l}$ まで直線性を示した。血漿はより低濃度の範囲を検討し、 $0.5\sim 20 \mu\text{g/l}$ まで直線性を示した。検出限界（blank の SD の 3 倍）は $0.05 \mu\text{g/l}$ である。20 名の血漿に $10 \mu\text{g/l}$ 相当の鉛を添加した時の回収率は $105.9\pm 4.3\%$ 、12 名の血液に $500 \mu\text{g/l}$ 相当を添加した場合は $100.0\pm 1.2\%$ 、

8 名の尿に $200 \mu\text{g/l}$ 相当を添加した場合は $101.5\pm 2.2\%$ であった。

ICP-MS による測定では 69 名の血漿鉛濃度は 1.87 ± 2.26 （範囲 $0.25\sim 17.18$ ） $\mu\text{g/l}$ 、53 名の全血鉛は 276 ± 186 （範囲 $50\sim 698$ ） $\mu\text{g/l}$ 、尿鉛は 47.4 ± 42.6 （範囲 $7.3\sim 200.8$ ） $\mu\text{g/l}$ であった。全血は 53 名すべてにおいて AAS による測定を行い、測定値は 270 ± 183 （範囲 $32\sim 724$ ） $\mu\text{g/l}$ であった。血漿鉛と尿鉛はそれぞれ 19 名、15 名について AAS による測定も行い、ICP-MS による測定値とそれに対応する AAS による測定値は血漿鉛で 2.67 ± 1.34 （範囲 $0.58\sim 5.32$ ） $\mu\text{g/l}$ および 7.2 ± 2.7 （範囲 $3.2\sim 12.5$ ） $\mu\text{g/l}$ 、尿鉛で 95.7 ± 44.9 （範囲 $24.2\sim 200.8$ ） $\mu\text{g/l}$ および 92.5 ± 41.4 （範囲 $26.1\sim 175.9$ ） $\mu\text{g/l}$ であった。ICP-MS による測定値（x）と AAS による測定値（y）の関係については、全血鉛で $y=1.006x+7.89$ （ $r=0.987$ ）と非常に良い相関を示したが、血漿鉛では $y=1.41x+3.4$ （ $r=0.699$ ）と AAS 法で高い値となった。尿中鉛では $y=0.836x+12.5$ （ $r=0.934$ ）であり、低濃度で AAS 法による値が高くなる傾向があった。

ICP-MS による測定値で血漿、全血、尿中鉛の関係を図 7 に示す。血漿鉛（y）は全血鉛（x）の上昇に伴い指数関数的に上昇した（ $y=0.392e^{0.0039x}$ 、 $r=0.933$ 、 $n=53$ ）。尿中鉛（y）も全血鉛（X）の上昇に伴い指数関数的に上昇した（ $y=11.78e^{0.0035x}$ 、 $r=0.817$ 、 $n=49$ ）。血漿鉛（y）と尿中鉛（x）の相関は直線的であった（ $y=0.219x+0.481$ 、 $r=0.657$ 、 $n=49$ ）。

D. 考察

1. 有機溶剤および揮発性有機化合物

(VOC)

仏壇・漆器製造の各工程で使用されている主な溶剤の種類を調べれば、健康診断の際の生物学的モニタリングに役立てることができる。調査以前は、トルエン・キシレンの使用が予想されていただけであるが、調査の結果、スチレンとヘキサンの使用も多いことがわかった。この結果は今後の健康診断時の尿中代謝物の項目を設定するのに役立つこととなる。尿中馬尿酸はトルエン暴露以外の要因（安息香酸を含む飲食物）でも増加するため、今回対象となった作業場のように低濃度の暴露における生物学的モニタリングには適さないが、キシレンの代謝物である尿中メチル馬尿酸は飲食物の影響はほとんどないため、数 ppm 程度の暴露の場合でもモニタリングに有効であった。一方、血中トルエン・キシレンは数 ppm 程度の個人暴露濃度ともよく相関し、生物学的モニタリングとして有効である。一部の作業場で血中キシレンと個人暴露濃度との相関がみられないことがあったが、これは作業条件や採血のタイミングによると思われる。

新築棟の病室、廊下、シックハウス科、検査室、事務室、地下において VOC 測定を行い、VOC 濃度は現在いずれも指針値よりも大幅に低下していると考えられた。この中での特徴として、クローゼット内でスチレン、ホルムアルデヒドが高い傾向があったが、これはクローゼットからは溶剤が抜けにくいことを示している。病室の VOC よりも事務室のそれが低い理由として、事務室は人の出入りが激しいことと、換気回数が多いことにより VOC の減少も早いと思われる。シックハウス科クリーンルームは非常に VOC 濃度が低いことが証明された。病理検査室では使用溶剤を反映してキシレンが高値であった。病歴室、廊下ともに奥

で高い濃度となった原因として病歴室の奥には新設のカルテ棚が設置されていたため、それによる VOC の発生が高くなったと考えられた。気温の上昇とともに、VOC が上昇し、4 ヶ月間のべ数百回の測定で、7 月後半の 16:00 の病室と廊下の 2 点のみが基準値を超えていたが、翌朝には元のレベルにまで低下したことから換気の効率もよいことがわかる。8 月～9 月になると発生量も減少し、最高でも 30ppb 程度となり、2003 年 1 月の測定では 10ppb 以下と非常に低濃度となった。工事担当者に問い合わせた結果、新築棟の壁紙やタイル、天板、接着剤などは、デンプンのりや、グラスウールなどホルムアルデヒドの発生が少ない素材が使用されていることがわかった。塗料についても水溶性を使用し、乾いていく際の有機溶剤の発生を極力抑えていることがわかった。

2. ジクロロメタン (DCM)

本研究で開発した方法により尿中 DCM の HS-GC により簡便な測定が可能になった。尿中 DCM 濃度の検出限界は 0.01mg/l であった。DCM の個人暴露濃度（時間加重平均）と尿中 DCM 濃度との相関から、許容濃度の 50ppm 暴露に相当する尿中 DCM 濃度は 0.24mg/l と計算されることから、本法は DCM 暴露の検出に十分な正確性をもつといえる。これは ACGIH（アメリカ労働衛生専門家会議の TLV (Threshold Limit Value: 許容濃度) でもある 50ppm に対応する BEI (Biological Exposure Index: 生物学的暴露指標) が 0.2mg/l と定められていることと合致する。

本研究では尿中 DCM 濃度と個人暴露濃度との間に相関係数 0.924(n=95) の良好な関係がみられた。Ukai らは午後の 4 時間の作業中の個人暴露濃度(x) と作業

後の尿中 DCM 濃度(y) との間に $y = 0.00372x + 0.0173$ ($r=0.865$) の関係を報告しているが、これは今回の結果と合致する。Ghittori らも尿中 DCM と気中 DCM との関係を報告しているが、その相関式は今回のデータと Ukai らの報告とは異なる。

尿中 DCM 濃度と個人暴露濃度との相関係数は尿を比重やクレアチニンで補正することによっても向上せず、むしろ低下する。これはスポット尿が何も補正することなく DCM 暴露の評価に有効であることを示している。Ukai らの報告も同様である。尿を補正することにより気中溶剤との相関が低下する例として、メタノール、メチルエチルケトン、アセトン、トルエンなどが知られている。トルエンに関しては、代謝物である馬尿酸の場合は補正により相関係数の向上がみられる。一般的に溶剤の尿中排泄は水分バランスによって影響されないが、水溶性である代謝物は影響を受けるためと考えられる。

3. トルエンジイソシアネート (TDI)

TDI には感作性があるためその許容濃度は非常に低く設定されている。日本産業衛生学会では、2,4-TDI と 2,6-TDI の和として、許容濃度 (1日8時間、1週40時間の場合の当該物質の平均暴露濃度) を 0.005ppm ($0.035\text{mg}/\text{m}^3$)、最大許容濃度 (この暴露濃度以下ならば健康上の悪い影響がみられないとされる濃度、実際には最大暴露濃度を含む5分までの測定で得られる最大値) を 0.02ppm ($0.14\text{mg}/\text{m}^3$) と提案している。ACGIH は 2,4-TDI の TLV を 0.005ppm 、STEL (Short Term Exposure Limit: 短時間暴露限界、15分間) を 0.02ppm と勧告している。近年、実際に体内にとりこまれた TDI 量を測定して健康障害の予

防に役立つ生物学的モニタリングの手法の開発が試みられてきている。この目的のため代謝産物である尿中 TDA の測定が行われているが、TDI の許容濃度が低いことから尿中 TDA の濃度も ppb レベルと非常に低く、測定には煩雑で時間のかかる前処理が必要とされてきた。

Sandstrom らは 2ml の尿を 3ml の 6 N 塩酸で処理したが、加水分解に overnight (=16 時間程度) と長い時間を要し、水酸化ナトリウムで強アルカリ化した TDA をトルエンで抽出し GC-MS で測定している。その後、Maitre らは 12N の塩酸を用いて加水分解時間を 2 時間に短縮したが、トルエンによる 2 回の抽出を必要としている。Lind らは加水分解に硫酸を用いたが 16 時間の加水分解とトルエン抽出を行っている。本研究では、加水分解に硫酸を用い、有機溶剤への抽出効率を検討し、トルエンに替えてジエチルエーテルで抽出を行った。これにより抽出効率が向上し、測定に必要な尿量を 1ml に減じ、加水分解時間も 1.5 時間に短縮することができた。本法による TDA の検量線は水、尿ともに良好であり、3 種の TDA は分離測定可能であった。

本研究で確立した方法によって TDI 暴露群と非暴露対照群の尿中 TDA の測定を行ったところ、暴露群の尿中には TDA が測定されたが、対照群にはほとんど検出されなかった。Maitre らは気中 2,6-TDI 濃度の時間加重平均が 9.5 から $94\mu\text{g}/\text{m}^3$ の工場で 9 名の作業者について尿中 TDA による生物学的モニタリングを行い、尿中 2,6-TDA 濃度は 6.5 から $31.7\mu\text{g}/\text{gCre}$ であったと報告している。本研究では工場の気中 TDI 濃度の測定を行っていないが、Maitre らの工場よりも低い暴露であったと予想される。

4. 血漿鉛

本研究で開発した方法により3種類の鉛暴露指標、血漿鉛 (PbP)、血液鉛 (PbB)、尿中鉛 (PbU) の ICP-MS による簡便な測定が可能となった。測定のための前処理は血漿、全血、尿をそれぞれ 0.15N 硝酸で5倍、50倍、80倍に希釈するのみである。この3指標は AAS による測定も行い、測定値の比較を行った。全血については ICP-MS と AAS による値は良く相関したが、血漿鉛の場合、AAS の値が2倍程度高くなった。特に低濃度の場合の差は顕著で最高で9倍にも達した。AAS による測定は血漿から鉛をキレート抽出する必要があるため、そのための操作の煩雑であるために前処理中に外部鉛による汚染が起こる可能性が高いためと思われる。尿中鉛についての関係では、低濃度の場合、AAS では灰化などの操作により汚染の比重が大きくなり測定値が高くなる可能性があるが、高濃度では ICP-MS よりも低くなっている。このように ICP-MS による測定は簡易かつ低濃度の測定も可能であることから、将来的により広く使用されるようになると考えられる。

Schutz らは ICP-MS による測定により、PbB の増加と共に PbP/PbB 比が増加すること、すなわち PbB と PbP の間に対数関係があることを報告している。本研究の結果はこれと一致する。また 400 $\mu\text{g/l}$ の PbB に対応する PbP は 2.2 $\mu\text{g/l}$ であるとしており、これも本研究での値 1.9 $\mu\text{g/l}$ に近い。しかし彼らはその報告の中で PbU については検討していない。PbP は生物学的活性鉛であり、すべての組織や器官の細胞外鉛プールと平衡を保っている。一般に PbP 濃度は PbB 濃度の 1% 未満と低いが、この比率は PbB の上昇と共に増加する。Bergdahl らは PbP、PbB と骨鉛の測定を行い、骨

鉛の上昇によっても PbP/PbB 比が増加することを示した。彼らは 400 $\mu\text{g/l}$ の PbB に対応する PbP として 6.7 $\mu\text{g/l}$ を報告しているが、これは本研究や Schutz らの報告の 2-3 倍の値である。

成人では体内鉛の 90% 以上は骨に存在し、また骨鉛の半減期は数年以上と非常に長いため、骨鉛は内因性の鉛の指標であり、外部暴露の指標には適さない。一方、血漿鉛はごく最近の鉛暴露の指標であり、PbB よりもむしろ PbU に直接関係している。内因性鉛と外因性鉛の関係を検討するためには、PbP、PbB、骨鉛のほかに PbU との関係もみる必要がある。本研究は、ICP-MS による高感度な測定を行った結果、PbP、PbB、PbU の3指標の関係を明らかにできた。

Hirata らも PbP、PbB、PbU の3指標の関係を検討しているが、方法に AAS を用いている。彼らは PbB と PbP との関係を直線関係としており、本研究および Schutz ら、Bergdahl らによる対数関係の結果とは異なる。また、400 $\mu\text{g/l}$ の PbB に対応する PbP は 4.5 $\mu\text{g/l}$ と計算され、これも本研究と Schutz、Bergdahl らの値の約2倍である。同様に 400 $\mu\text{g/l}$ の PbB に対応する PbU は 99 $\mu\text{g/l}$ で本研究での値 (48 $\mu\text{g/gCre}$) の倍である。これらの違いは測定法の違いと研究対象集団の PbB 濃度に低濃度暴露者がいないこと (PbB 濃度 308~1020 $\mu\text{g/l}$) などによると考えられる。

E. 結論

低濃度有機溶剤暴露の生物学的モニタリングとして血中トルエン・キシレンの有効性が確認されたが、採血時の条件などには注意を払う必要がある。使用溶剤の成分を調査することにより尿中代謝物

の測定項目の見直しの必要なことが分かった。

調査した新築医療機関の VOC 濃度は厚生労働省の室内空気汚染の指針値よりも大幅に低下しており、有機溶剤の発生が少ないクロス、天井、壁塗り、タイルを使用している効果である。

DCM 使用作業者の生物学的モニタリングのため、HS-GC による尿中 DCM の簡便な測定法を開発した。尿採取と保存法の検討により採尿後 4 日以内であれば測定が可能となった。本法による尿中 DCM と個人暴露濃度は良く相関し、尿濃度を補正する必要はない。

本研究で得られた方法を尿中 TDA の測定に応用することにより、従来法に比べ使用する尿量と加水分解時間を減らすことができた。本法により実際の尿検体の測定を行ったところ、TDI 作業者の尿には代謝物である TDA が検出され、非暴露者にはほとんど検出されなかった。本法により TDI 作業者の生物学的モニタリングが可能と考えられる。

ICP-MS を用いた簡便な測定により、血液、血漿、尿中の 3 つの暴露指標の関係を検討することができた。前処理は硝酸希釈するだけの簡便な方法であるため、汚染の影響も少なく、特に血漿鉛において AAS よりも正確な測定が可能となった。ICP-MS 法の導入により体内の鉛動態のより正確なモニタリングが可能になると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

(a) 学会誌など

1) Sakai T, Morita Y, Wakui C.

Biological monitoring of workers exposed to dichloromethane, using

head-space gas chromatography. *J Chromatogr B* 778: 245-250, 2002.

2) Sakai T, Morita Y, Araki T. Determination of lead in plasma, whole blood, and urine by ICP-MS and the relationships among the three exposure indices. *Jpn J Occup Med Traumatol* 51: 50-57, 2003.

3) 森田陽子、坂井 公、Yangho Kim. GC-MS によるトルエンジイソシアネート尿中代謝物の測定. *日本職業・災害医学会会誌* 51, 2003. (印刷中)

4) Sakai T, Morita Y, Kim Y, Tao Y. LC-MS determination of urinary toluenediamine in workers exposed to toluenediisocyanate. *Toxicol Letter* 134: 259-264, 2002.

5) Sashiyama H, Irie Y, Ohtake K, Nakajima K, Yoshida H, Sakai T. Acute renal failure and hearing loss due to sodium bromate poisoning: a case report and review of literature. *Clin Nephrol* 58: 455-457, 2002.

6) 坂井 公、大菅俊明、森田陽子. 産業中毒領域における労災病院専門センターとしての産業中毒センターと産業保健推進センターおよび産業保健推進センターとの連携活動について. *日本職業・災害医学会会誌* 50:385-39, 2002.

7) 森田 陽子、坂井 公、大菅俊明. 産業中毒センターの情報提供と分析活動. *日本職業・災害医学会会誌* 50:340-344, 2002.

8) 市川博雄、坂井 公、堀部有三、利栄治、河村 満. 大脳基底核と脳幹に左右対称性の MRI 病変をみとめた慢性臭化メチル中毒の 1 例. *臨床神経学* 41: 77-81, 2002.

(b) 一般・啓蒙誌

- 1) 坂井 公. 産業中毒. 働く人の安全と健康 3: 396-397, 2002
 - 2) 坂井 公. 最近の産業中毒相談物質とその特徴. 働く人の安全と健康 3: 672-674, 2002.
 - 3) 坂井 公. 産業中毒データベースの構築と活用. 働く人の安全と健康 3: 776-778, 2002.
 - 4) 坂井 公. 産業中毒分野における生物学的モニタリングの活用. 働く人の安全と健康 3: 880-882, 2002
 - 5) 坂井 公. 身近で起きる化学物質中毒. 安全スタッフ, 4.15号, p.8-15, 2002.
 - 6) 坂井 公. アセトニトリル. 安全スタッフ, 5.15号, p.32-33, 2002.
 - 7) 坂井 公. 臭化メチル. 安全スタッフ, 5.25号, p.32-33, 2002.
 - 8) 坂井 公. アクリロニトリル. 安全スタッフ, 6.5号, p.32-33, 2002.
 - 9) 坂井 公. ヒ素. 安全スタッフ, 6.25号, p.28-29, 2002
 - 10) 坂井 公. 水銀. 安全スタッフ, 7.5号, p.32-33, 2002.
 - 11) 坂井 公. 鉛. 安全スタッフ, 7.25号, p.30-31, 2002.
 - 12) 坂井 公. ダイオキシシン. 安全スタッフ, 8.5号, p.46-47, 2002.
 - 13) 坂井 公. 化学物質過敏症. 安全スタッフ, 9.5号, p.34-35, 2002.
 - 14) 坂井 公. シンナー・有機溶剤. 安全スタッフ, 9.15号, p.30-31, 2002.
 - 15) 坂井 公. トルエン. 安全スタッフ, 10.5号, p.34-35, 2002.
 - 16) 坂井 公. トリクロロエチレン. 安全スタッフ, 10.15号, p.30-31, 2002.
 - 17) 坂井 公. ジクロロメタン. 安全スタッフ, 11.5号, p.34-35, 2002.
 - 18) 坂井 公. メチルエチルケトン. 安全スタッフ, 11.15号, p.32-33, 2002.
 - 19) 坂井 公. ヘキサン. 安全スタッフ, 12.5号, p.32-33, 2002.
 - 20) 坂井 公. N,N-ジメチルホルムアミド. 安全スタッフ, 12.15/25号, p.38-39, 2002.
2. 学会発表
- 1) Sakai T, Nakajima Y, Morita Y et al. Application of ICP-MS method to biological monitoring of workers to metallic mercury. The 14th Korea-Japan-China joint Conference on Occupational Health, Pusan, 2002.5
 - 2) Sakai T et al. Effects of occupational inorganic mercury exposure on CD4+CD45RO+ T lymphocytes and interleukin-6. The 14th Korea-Japan-China joint Conference on Occupational Health, Pusan, 2002.5
 - 3) Sakai T, Morita Y et al. Blood and urinary porphyrin levels in workers exposed to metallic mercury. The 6th International Porphyrin-Heme Symposium in Association with 9th International SPACC Symposium, Tokyo, 2002.7
 - 4) Morita Y, Sakai T et al. Assessment of urinary cotinine as a marker of nicotine exposure from tobacco leaves: a study on tobacco-growing farmers in Malaysia. 17th Asian Conference on Occupational Health, Taipei, 2002.11
 - 5) 坂井 公、中嶋義明、森田陽子ほか. ICP-MSによる無機水銀作業者の尿中、血中水銀の測定. 第72回日本衛生学会、津、2002.4
 - 6) 坂井 公、森田陽子、荒木高明. トルエンジイソシアネート代謝物の高感度・迅速測定. 第75回日本産業衛生学会、神戸、2002.4

- 7) 森田陽子、坂井 公ほか、イオンクロマトグラフによる尿中および血清中チオシアンとの測定。第 75 回日本産業衛生学会、神戸、2002.4
- 8) 坂井 公、中嶋義明、森田陽子。ICP-MS による中毒患者の血清および尿中臭素の分析。第 24 回日本中毒学会、京都、2002.7
- 9) 坂井 公、大菅俊明、森田陽子。産業中毒センターと産業保健推進センター・地域産業保健センターとの連携活動について（1）－産業中毒センターの周知度と連携活動として期待されるもの。第 50 回日本職業・災害医学会、北九州、2002.10
- 10) 森田陽子、坂井 公、大菅俊明産業中毒センターと産業保健推進センター・地域産業保健センターとの連携活動について（2）－各センターにおける産業化学物質に関する相談物質と相談内容。第 50 回日本職業・災害医学会、北九州、2002.10
- 11) 坂井 公、森田陽子、中嶋義明ほか。仏壇・漆器製造業における取扱有機溶剤調査と生物学的モニタリング。第 50 回日本職業・災害医学会、北九州、2002.10
- 12) 坂井 公、中嶋義明、森田陽子ほか。塩化マンガン投与ラット血液中の Mn のゲルろ過パターン。第 73 回日本衛生学会、大分、2003.3
- 13) 森田陽子、坂井 公、中嶋義明、吉田友彦、永田直一。新築医療施設での VOC 濃度とその推移。第 73 回日本衛生学会、大分、2003.3
- 14) 坂井 公、森田陽子ほか。タバコ葉からのニコチン吸収マーカーとしての尿中コチニンの分析：マレーシアのタバコ栽培作業者を対象として。第 73 回日本衛生学会、大分、2003.3
- 15) 坂井 公。GC-MS、LC-MS による TDI 尿中代謝物の測定について。北京市予防医学研究センター、北京、中華人民共和国、2002.12.10.
- 16) 坂井 公。日本における産業化学物質問題。天津職業病防治院、天津、中華人民共和国、2001.12.13.
- 17) 坂井 公。化学物質のリスク評価のためのばく露および影響指標の開発。産業医学総合研究所主催、働く人の健康を考える公開シンポジウム、新宿安田生命ホール、東京、2002.11.1.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
該当するものなし。
2. 実用新案登録
該当するものなし。
3. その他
該当するものなし。

血液トルエン($\mu\text{g/l}$)

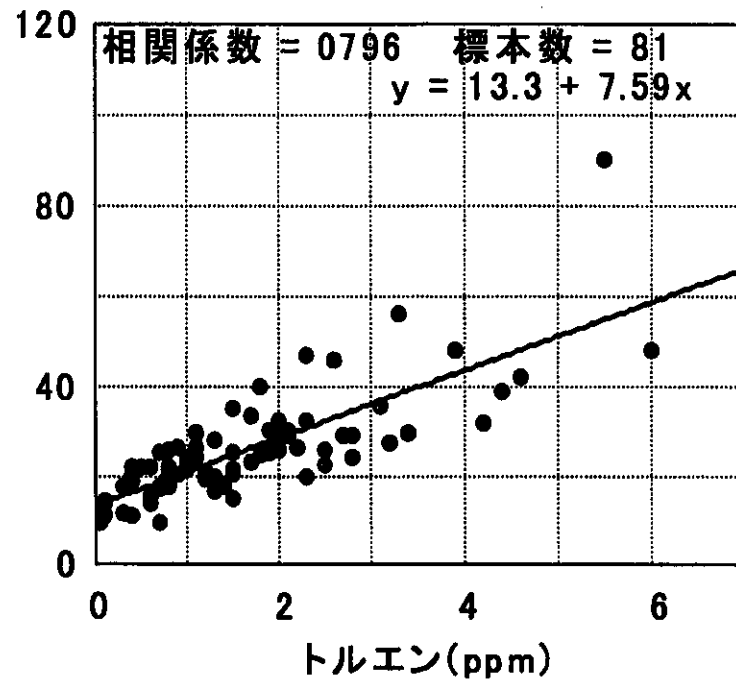
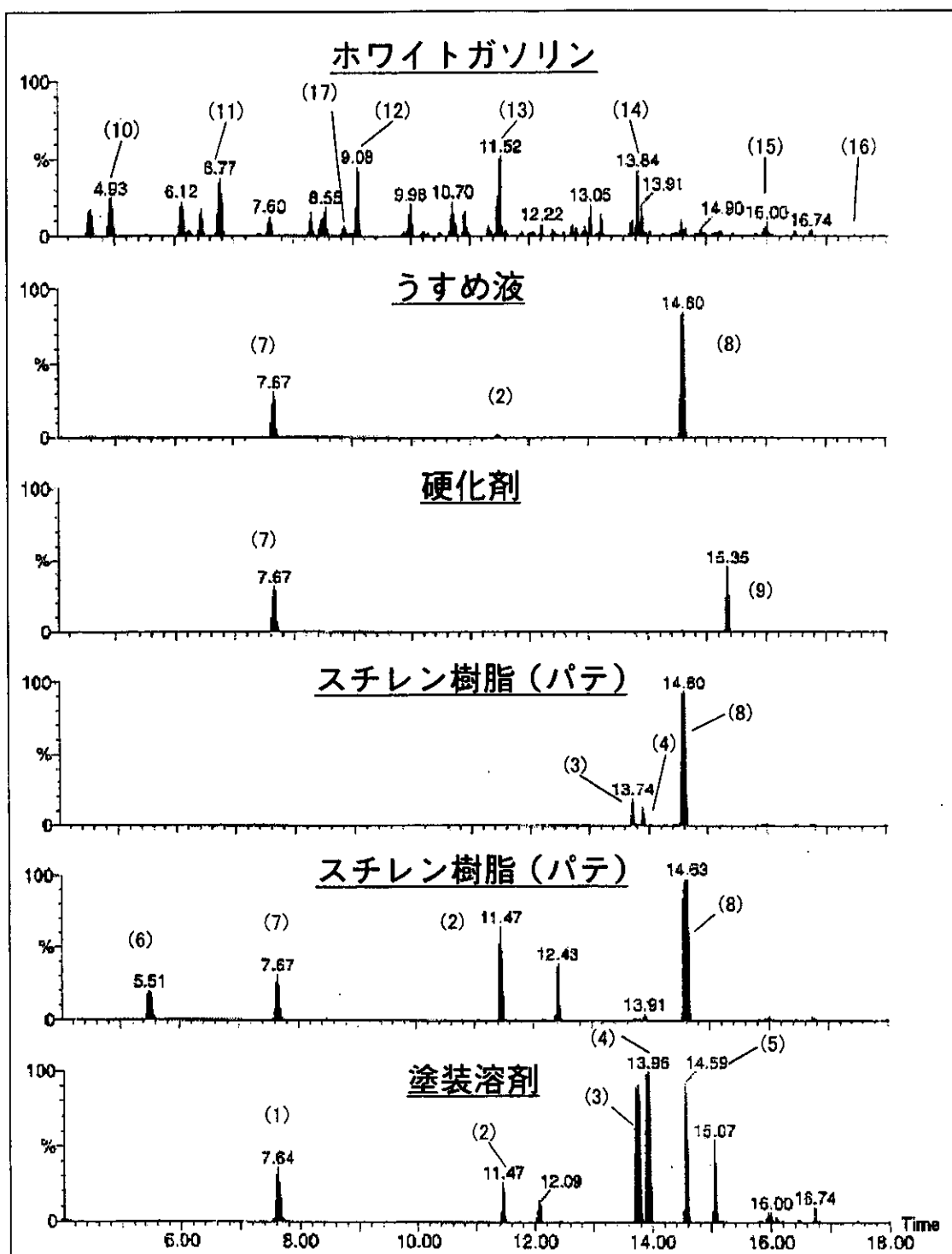


図1 血中トルエン濃度と個人暴露濃度との関係



- (1) MIBK、(2) トルエン、(3) エチルベンゼン、(4) m+p-キシレン、(5) o-キシレン、
 (6) アセトン、(7) 酢酸エチル、(8) スチレン、(9) シクロヘキサノン、
 (10) n-ペンタン、(11) n-ヘキサン、(12) n-ヘプタン、(13) n-オクタン、
 (14) n-ノナン、(15) n-デカン、(16) n-ウンデカン、(17) ベンゼン

図2 使用溶剤のGC-MSによる成分分析

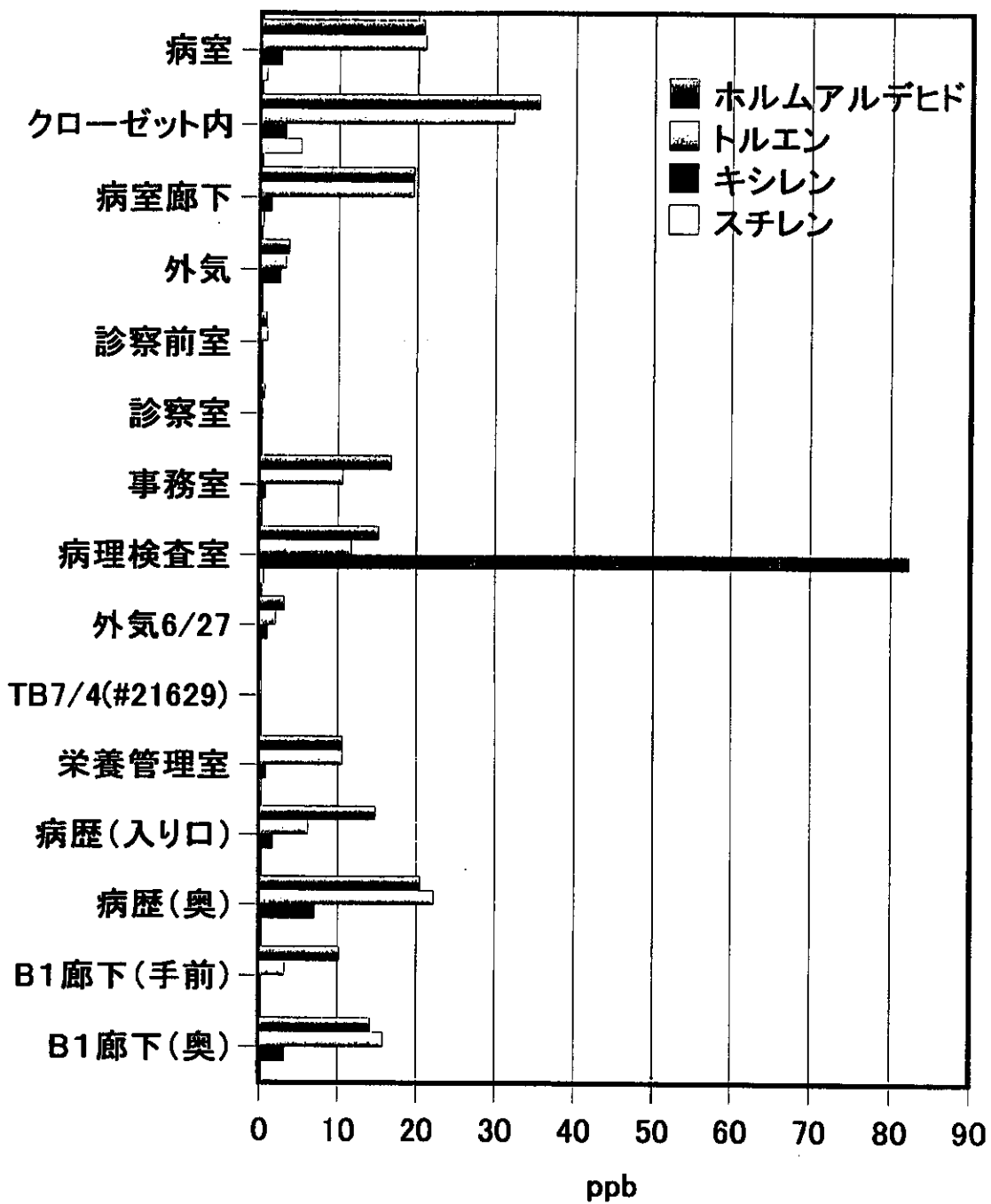


図3 各部屋のVOC濃度

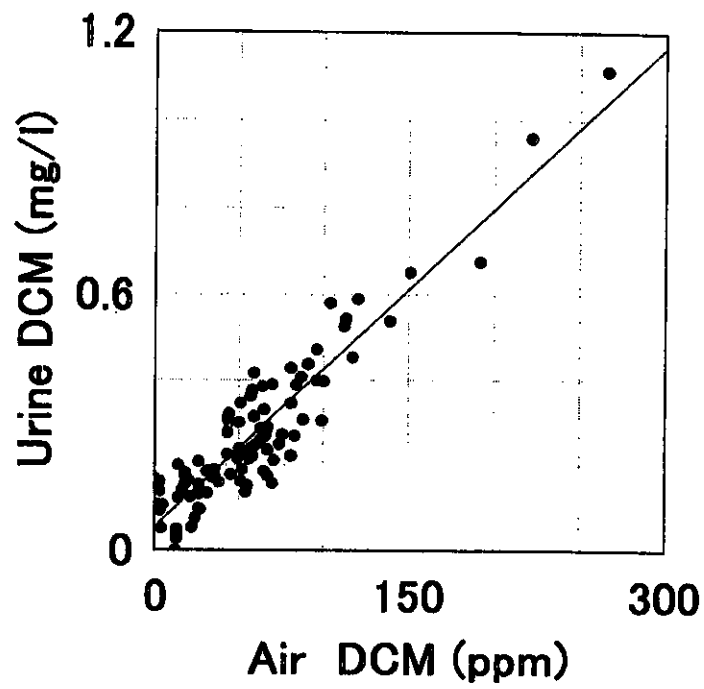


図4 尿中DCM濃度と個人曝露濃度との関係
 $y = 0.0037x + 0.00545$

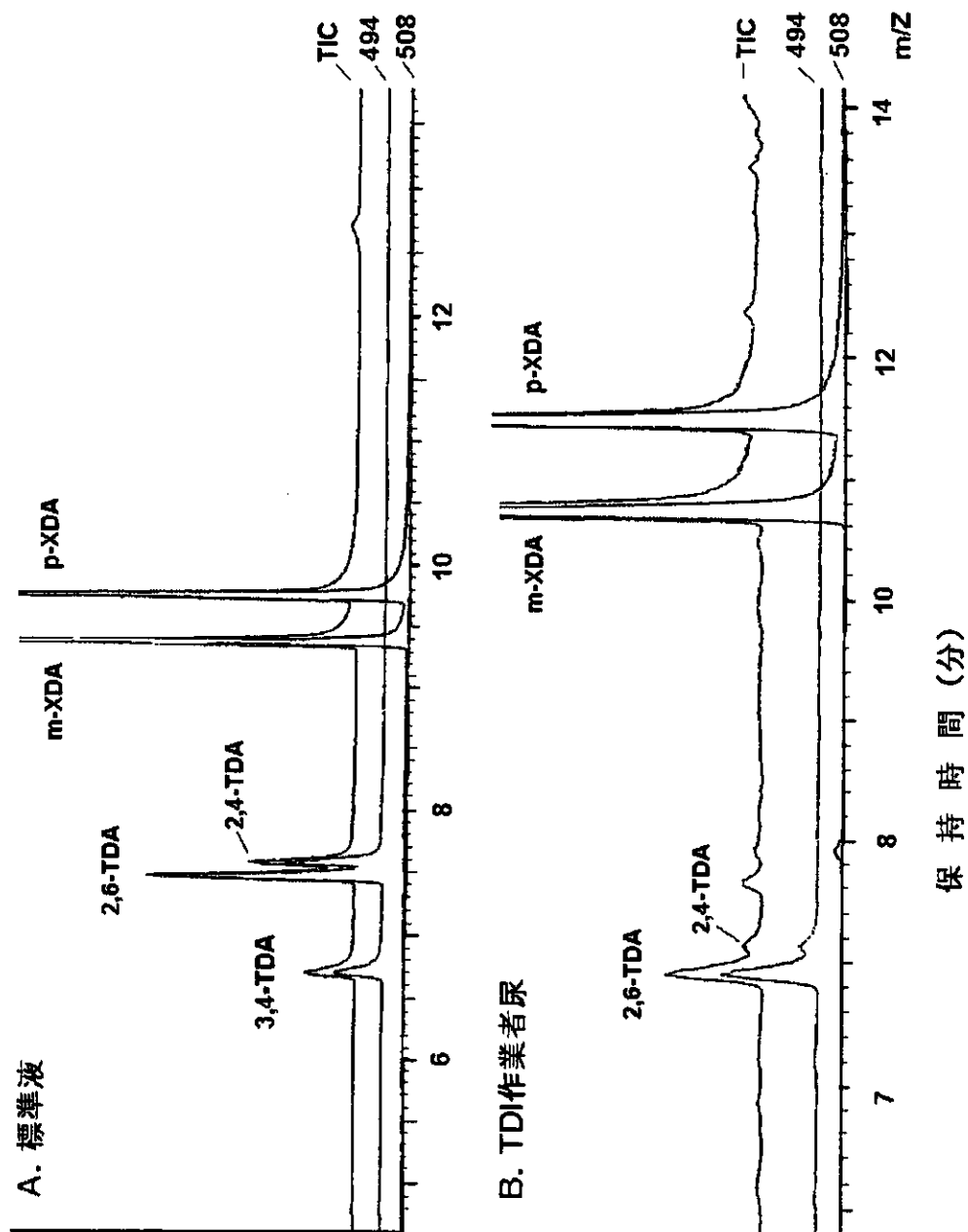


図5 TDA、XDAのHFBA誘導体のクロマトグラム