

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

# フロン代替溶剤1-ブロモプロパンのリスク評価

平成15年度 総括研究報告書

主任研究者 那 須 民 江

平成16（2004）年4月

目 次

I 総括研究報告	
フロン代替溶剤1-ブロモプロパンのリスク評価 .....	1
那須 民江	
II 研究成果の刊行に関する一覧表 .....	65
III 研究成果の刊行物 別刷 .....	67

厚生労働科学研究費補助金（労働安全衛生総合研究事業）  
総括研究報告書

主任研究者 那須 民江 名古屋大学大学院医学系研究科教授

研究要旨 1995年、韓国においてフロン代替溶剤として導入された2-プロモプロパン(2-BP)に曝露された労働者の中に、生殖障害、造血障害が発見されたか、動物実験による原因物質の解明により2-BPの溶剤としての使用は急速に減少した。一方、異性体1-プロモプロパン(1-BP)が新しいフロン代替溶剤として日本、米国を中心に導入された。1-BPは最近、その使用量が増加しているにもかかわらず、許容濃度が勧告されておらず、そのリスク評価は厚生労働行政の観点から重要かつ緊急性の高い課題と考えられる。本研究は、ヒト症例から推測される障害に関する動物実験による因果関係の証明、毒性機序の解明、動物からヒトへの外挿の際に有用な内部曝露マーカーの確立、ヒト調査を行うことによって総合的に1-BPのリスク評価を行い、衛生基準の設定のための科学的基礎資料を提供するものである。平成15年度のラットを用いた実験の結果、1-プロモプロパン曝露によって、精巣組織中の $\alpha$ エノラーゼが量依存的に増加することか Enzyme Immuno Assay (EIA) 法によって明らかとなった。同時に抗 $\alpha$ エノラーゼを用いた精巣組織の免疫染色を行った。驚くべきことに $\alpha$ エノラーゼはセルトリ細胞に特異的に存在し、精子形成細胞には存在しないことが明らかとなった。すなわち、精巣において $\alpha$ エノラーゼはセルトリ特異蛋白であり、EIA法による精巣組織中の $\alpha$ エノラーゼの上昇は、セルトリ細胞特異的な変化を示唆している。過去のIchiharaら(2000)の研究によると、1-プロモプロパン曝露によってラット精巣精細管上皮からの精子放出障害が引き起こされることかわかっている。精子放出のプロセスにはセルトリ細胞が深く関わっていることか形態学的に予測されていることを考え合わせると、今回のセルトリ細胞特異蛋白の変化は、以前の形態学的変化を説明するものとして興味深い。また、 $\alpha$ エノラーゼがセルトリ細胞を標的とする一連の化学物質の影響を評価するための新しいバイオマーカーとして応用可能であるかもしれない。精巣上体においては $\gamma$ -エノラーゼが増加した。 $\gamma$ -エノラーゼは中枢神経系においてはニューロン特異蛋白として知られている。 $\gamma$ -エノラーゼの精巣上体における局在は特異性は少ないか、この $\gamma$ エノラーゼの変化は1-プロモプロパンによる精巣上体に対する影響を示唆している。

内部曝露指標として開発された尿中N-Acetyl-S-propylcysteineの量依存性、曝露時間との関係がラットを用いた実験によって検討された。その結果、尿中N-Acetyl-S-propylcysteineは曝露量依存的に増加し、これか1-プロモプロパ

ン曝露の優れた曝露マーカーであることが明らかとなった。また、さらにラット赤血球グロヒン蛋白中およびニューロフィラメント中 1-フロモプロパンが形成する蛋白付加物 S-propylcysteine が LC-MS/MS 法によって検出され、有効な長期曝露指標として利用可能であると考えられた。この蛋白付加物は 1-フロモプロパンのリスク評価において重要な意味をもつ。これまでの多くの労働衛生学的研究においては、曝露評価が必ずしも十分ではなかった。体内蓄積が行われやすい重金属などと違い、相対的に代謝が早く、蓄積性も高くない多くの有機溶剤においては、曝露評価が容易ではなかった。我々が測定法を確立した蛋白付加物は、長期の曝露蓄積を反映する、優れたバイオマーカーであることが期待される。また、同時に、この蛋白付加物のニューロフィラメントにおける検出は、1-フロモプロパンが神経組織中において、蛋白と共有結合を作ること を証明しており、1-フロモプロパンの毒性メカニズムを解明する上でも大きな意義があると考えられる。

InVitro 実験において、1-フロモプロパンはミクロソームによってほとんど代謝を受けないことが明らかになり、むしろグルタチオン系の関与が疑われた。第二相薬物代謝酵素を制御する転写因子 Nrf2 ノックアウトマウス の利用が有効であると 考えられた。1-フロモプロパン使用職場における健康調査では、170ppm 以下の曝露濃度で末梢神経、中枢神経系に影響がある可能性が示唆された。

#### 分担研究者

市原 学 名古屋大学大学院医学系

研究科 助教授

上島通浩 名古屋大学大学院医学系

研究科 講師

柴田英治 愛知医科大学 医学部

助教授

小川康恭 産業医学総合研究所 部

長

毛利一平 産業医学総合研究所 主

任研究官

平田 衛 産業医学総合研究所 主

任研究官

齋藤宏之 産業医学総合研究所 主

任研究官

#### A 研究目的

オゾン層保護等のため 1996 年以降特定フロン (CFC) 類は先進諸国での生産が禁止された。これらの溶剤は、電子・精密機械工業等で金属部品の洗浄剤として大量に用いられてきたため、その代替溶剤の開発が急がれた。1995 年、韓国においてフロン代替溶剤として導入された 2-フロモプロパン (2-BP) に曝露された労働者の中に、生殖障害、造血障害が発見された (Kim 1997)。動物実験による原因物質の解明 (Ichihara, 1996, 1997, Yu 1997) および労働省 (当時) の行政通達により日本での 2-BP による中毒を未然に防ぐことかてきた。一方、異性体 1-

フロモプロパン(1-BP)は、2-BP よりも変異原性が低く、毒性が一般に低いと考えられたため、新しいフロン代替溶剤として日本、米国を中心に導入された。1-BP は最近、その使用量が増加しているにも関わらず、許容濃度が勧告されておらず、そのリスク評価は厚生労働行政の観点から重要かつ緊急性の高い課題と考えられる。我々は2-BP との比較実験において1-BP の神経毒性、生殖毒性を発見するとともに(Yu 1998, Ichihara 2000ab)、3つのヒト症例を報告した (Ichihara, 2002)。しかし、これらの症例は数に限りがあり、そのヒトにおける量-反応関係の推定、衛生基準設定のための科学的基礎資料は十分でない。本研究は、1-BP の衛生基準の設定に資し、この重要なフロン代替溶剤の安全な使用のための指針をつくり、労働者の健康を守るという厚生労働行政に寄与することになる。さらに、より安全な代替溶剤の開発に貢献し予防的な厚生労働行政のための科学的基礎資料を提供する。

## B 研究方法

### 1 精巣上体精子および雄生殖器のCK活性に対する影響の評価

ウィスター系雄ラット48匹を12匹ずつの4群に分け、1-プロモプロパンを200, 400, 800ppm、1日8時間、14日間曝露を行った。ペントバルビタール麻酔下で解剖し、精巣上体尾部を取り

出し細切した後、精子を遠心で集め、凍結保存した。精巣、精巣上体は凍結保存を行う。分析時、凍結した精子および臓器を融解し、ホモシエネートを得た。遠心分離の後、クレアチンキナーゼ活性、クレアチン蛋白アイソサים発現量ならびに、神経特異蛋白として知られる $\gamma$ -エノラーゼ、 $\alpha$ -エノラーゼ、 $\beta$ S100,  $\alpha$ S100 蛋白質をサントイッチタイプのEIA法にて測定した。

### 2 1-プロモプロパンが形成する蛋白付加物の解析とCytochromeP450系代謝物の解析

(実験1) Wistar系雄ラット36匹を9匹ずつの4群に分け、1-プロモプロパン50ppm、200ppm、800ppm、1日8時間、14日間曝露し、曝露終了後麻酔下で腹部大動脈よりヘパリンを用いて全血採血を行い、脊髄を取り出した。血液を遠心、血漿分離、除去後、赤血球を等張リン酸緩衝液にて3回洗浄、Buffycoatを取り除いた。洗浄後の赤血球に低張リン酸緩衝液を等量入れて溶血させ、アスコルビン酸を加えた後、オキサロ酢酸-アセトン混合液にてクロヒン蛋白を沈殿させた。アセトン溶液にて3回洗浄後、窒素下で乾固させた。クロヒン蛋白1mgを計量し、6Nの塩酸を加えて、PicoTagを用いて無酸素下で110°C、20時間反応させ、酸加水分解を行った。酸をスピートハックを用いて減圧化でエタノールとともに蒸発させた。内部標準のS-(d7-propyl)cysteineを添加した後、トリエチルアミンで中和した。50mM

の TEAB-アセトニトリル溶液 200  $\mu$ l に溶解し、Py1TC を加え、37°C で 1 時間インキュベーションを行った。10mM の HCl 200  $\mu$ l に溶解し、0.22  $\mu$ m のフィルターでろ過し、LC-MS/MS に導入した。ニューロフィラメントの抽出については以下のように行った。脊髄から髄膜を除き、g あたり 2cc のハフナー中で Homogenize した。4°C、Overnight で溶液を攪拌し、90,000g、30 分間遠心した。

(実験 2) 24 匹の Wistar 系雄ラットを 12 匹ずつの 2 群に分け、1-プロモプロパン 50ppm、一日 8 時間、週 5 日、4 週間曝露した。各週曝露開始前と、終了後に尿を代謝ケージで採取し、12 匹については麻酔下で全血採血した。残った 12 匹については、引き続き代謝ケージで採尿し、尿中代謝物の減衰を観察した。尿 100  $\mu$ l に内部標準 N-acetyl-S-(d7-propyl)cysteine を添加し、6N HCl を 2 滴加え、あらかじめ 10mM の HCl によって処理した Oasis-HLB カートリッジ (30mg) に Load した。10mM HCl で 2 回、10mM HCl-20% メタノール溶液で 2 回カラムを洗浄後、メタノールで 2 回に分けて溶出した。窒素で乾固した後、過剰のシアゾメタンによって誘導体化を行った。エーテルを蒸発させた後、5mM 蟻酸 10% アセトニトリルで溶解、LC-MS/MS に導入した。

(Cytochrome P450 系の代謝物の解析)

#### 1) 1,2-propanediol の測定

1-プロモプロパンと肝 microsome 200  $\mu$ g (蛋白質量) とをインキュベーション

した後、試験管に内部標準として、1,2-propanediol-d6 (IS) 水溶液

(10mM) 10  $\mu$ l を加えた。F 反応液に acetonitrile 10ml を加え、15 分間よく攪拌した後、遠心し、上清をとった。アセトニトリル層に、フェニルホロン酸誘導体化剤液を加え、vortex mixer でよく振とうし、15 分間放置して反応させた。脱水の目的で無水硫酸ナトリウム 1g を加え 15 分間放置後、上清を試験管に移し、遠心濃縮機を用いて濃縮させた。Hexane 100  $\mu$ l で抽出し、GC-MS で分析した。PD の抽出率は 119  $\pm$  24% (n=5) であった。

#### 2) propionic acid の測定

同様に 1-プロモプロパンとマイクロソームの反応液に内部標準として Propionic acid (以下 PA と略) -d5 (IS) 水溶液 (10mM) 10  $\mu$ l を加え、ethyl acetate 10ml にて抽出し、無水硫酸ナトリウムにて脱水した。上清を遠心濃縮機を用いて濃縮させ、にて誘導体化し、GC-MS で分析した。PA 抽出率は 92  $\pm$  3% (n=5) であった。

3 モデル動物を用いた代謝活性化メカニズムの解明と内部曝露指標の確立 C57BL6/J マウス、Balb/C を 1-プロモプロパン 800ppm、1000ppm に曝露し、毒性に対する感受性を調べた。

#### 4 1-プロモプロパン使用職場調査

(A 工場調査) 1-プロモプロパンを洗浄剤として使用している労働者 6 人および使用していない同じ職場の労働者 6 人を対象に、面接、神経内科的診

察、振動覚検査、神経行動学的検査、下肢末梢神経の電気生理学的検査（頸骨神経運動神経伝導速度、遠位潜時、F波伝導速度、腓腹神経感覚神経伝導速度）を行った。

#### （B工場調査）

1-プロモプロパンに曝露されている22人（男性11人、女性11人）の労働者および、対照群として、性年齢をマッチさせた非曝露労働者22人の健康調査を行った。A工場と同じ検診項目に加え、血液生化学検査

（CK, GOT, GPT, LDH, ALP,  $\gamma$ -GTP, ChE, 総蛋白、総コレステロール、BUN、クレアチニン、フルクトサミン、LH, FSH, Estradiol, Testosterone）を行った。同時に曝露濃度をパッシブサンプラー（柴田科学）によって評価した。

（C工場）1-プロモプロパンに曝露されている労働者23人ならびに、曝露されていない対照の労働者23人労働者を調査した。いずれも女性で、年齢差2年以内という条件で対照群を選択した。B工場と同様の検査を行い、対応のあるt検定を行い、曝露による影響を評価した。

### C 研究結果

#### 1 精巣上体精子および雄生殖器のCK活性に対する影響の評価

1-プロモプロパン2週間曝露により、精巣上体精子数は有意な変化を示さなかった(Fig 1)。しかし、精巣上体

精子運動率は量依存的に減少し、800ppm群で対照群に対して有意に減少した(Fig 2)。精巣において、 $\alpha$ -エノラーゼは有意に増加した(Fig 3)。400ppm、800ppm群において有意に増加したか、400ppmより800ppmの方が大きい値を示すということにはなかった。 $\alpha$ -エノラーゼは精巣においてセルトリ細胞に特異的局在し(Fig 11, 12)、精子形成細胞中には発現していないことがわかった。一方 $\gamma$ -エノラーゼは精巣においては有意な増加を示さなかった(Fig 4)。 $\alpha$ -S100蛋白(Fig 5)、 $\beta$ -S100蛋白(Fig 6)はともに1-プロモプロパン2週間曝露によって精巣における有意な変化を示さなかった。精巣上体において $\alpha$ -エノラーゼは有意な変化を示さなかった(Fig 7)。一方、神経特異蛋白として知られている $\gamma$ -エノラーゼは200ppm以上で有意な増加を示した(Fig 8)。精巣上体 $\alpha$ -S100蛋白質は有意な変化を示さなかったが(Fig 9)、 $\beta$ -S100蛋白質は800ppmで有意な上昇を示した(Fig 10)。精巣上体の免疫組織学的観察では、 $\beta$ -S100蛋白質が間質細胞で発現していることがわかったか(Fig 13, 14)、その細胞局在の特異性は明確でなかった。

#### 2 1-プロモプロパンが形成する蛋白付加物の解析とCytochromeP450系代謝物の解析

尿中N-acetyl-S-propylcysteineは誘導体化後(Fig 15)、LC-MS/MSにて分析され、曝露量依存的に増加することか

わかった (Fig 16)。今回、誘導体化試薬としてシアゾメタンを用い、イオン化効率を高め、LC-MS/MS 分析における感度を高めることを企図した

(Fig 15)。50ppm、週 5 日、4 週曝露では、曝露停止日 2 日の間に大半の N-acetyl-S-propylcysteine が排泄されることわかった (Fig 17, 18)。このように、この代謝物は内部曝露指標としては、比較的最近の曝露を反映することがわかった。

一方、グロヒン蛋白中から検出された蛋白付加物 S-propylcysteine は、PyITC にて誘導体し、LC-MS/MS にて分析可能であることがわかるとともに (Fig 19)、曝露量依存的に増加することがわかった (Fig 20)。ニューロフィラメントにおいても曝露量依存的に増加した (Fig 21)。

(Cytochrome P 4 5 0 系代謝物)

In vitro の Incubation では、1, 2-プロパンシオールならびにプロピオン酸は検出限界以下であった。

### 3 モデル動物を用いた代謝活性化メカニズムの解明

C57BL/6J および Balb/c では、800 ppm 以上、一日 8 時間、2 日曝露で衰弱し、死亡した。これらのマウス系統は Wistar ラットに比へ、1-プロモプロパン曝露に対する感受性が高いことわかった。

### 4 1-プロモプロパン使用職場調査 (A 工場)

1-プロモプロパンに曝露された労働

者は、曝露されていない労働者に比へ、振動覚、神経行動学的検査、下肢末梢神経の電気生理学的検査 (頸骨神経運動神経伝導速度、遠位潜時、F 波伝導速度、腓腹神経感覚神経伝導速度) で有意な差はなかった。残念ながら今回は曝露評価ができなかったが、1回の作業時間は 30 分、一日に 6 回繰り返す事例も見られた。正確な曝露評価は次年度 5 月に行うこととなった。

(B 工場)

1-プロモプロパンに曝露されている 22 人 (男性 11 人、女性 11 人) の労働者および、対照群として、性・年齢をマッチさせた非曝露労働者 22 人の健康調査 1-プロモプロパン曝露男性労働者と対照群との間に年齢では有意な差はなく、良く年齢がマッチングされていた (Fig 22)。年齢 (Fig 23)、体重 (Fig 24) も有意な差はなかった。振動覚、神経行動学的検査、下肢末梢神経の電気生理学的検査 (頸骨神経遠位潜時 (Fig 25)、運動神経伝導速度 (Fig 26)、F 波伝導速度、腓腹神経感覚神経伝導速度) で有意な差はなかった。血液学的検査では、WBC (Fig 27)、RBC (Fig 28)、Hb (Fig 29)、Plt (Fig 30) で有意な差はなかった。血液生化学検査 (CK, GOT, GPT, LDH, ALP,  $\gamma$ -GTP, ChE, 総蛋白、総コレステロール、BUN、クレアチニン、フルクトサミン、LH, FSH, Estradiol, Testosterone) では有意な差はなかった (Fig 31-46)。女性についても、男性とほぼ同様に年齢 (Fig 47)、身長 (Fig 48)、体重 (Fig 49)、電気生理学的指標



(Fig 50, 51)、血液生化学指標 (Fig 56-71)において曝露群と対照群との間の有意な差はなかったか、血液学的検査では女性においてWBCが曝露群で対照群に比べて有意に少なかった (Fig 52)。他の血液学的指標では変化はなかった (Fig 53-55)。パッシフサンプラーによる個人曝露量評価では1-フロモプロパン0.06-106.4 ppm (平均7.05、中央値1.00) ppm、2-フロモプロパン0.004-106.4 ppm (平均1.1、中央値0.027) ppmであった。

(C工場)パッシフサンプラーによる曝露濃度評価では、最大値49.19 ppm、中央値1.61 ppm、最小値0.34 ppm、幾何平均値2.92 ppmであった。年齢 (Fig 72)、身長 (Fig 73)については、曝露群と対照群との間に有意な差はなかった。1-フロモプロパン曝露群は対照群に比して有意に遠位潜時が長かった (Fig 75)。一方、運動神経伝導速度 (Fig 76)、F波伝導速度 (Fig 77)は有意な変化はなかった。感覚神経伝導速度 (Fig 78)は曝露群が有意に対照群に比して低い値を示した。23人の曝露労働者のうち、15人が下肢振動覚低下を示したが、対照群の労働者には振動覚低下を示したものはなかった。神経行動学的検査では、Digit Span (Fig 80, 81)、Benton (Fig 85)、Pursuit aiming test (Fig 86)において、曝露群のスコアが対照群に比して低い値を示したか、単純反応時間 (Fig 79)、Santa Ana (Fig 82, 83)、Digit Symbol

(Fig 84)については有意な変化はなかった。感情プロフィール検査では、Tension (Fig 87)、Depression (Fig 88)、Anxiety (Fig 89)、Fatigue (Fig 91)、Confusion (Fig 92)において、曝露群のスコアが対照群に比して低い値を示した。一方、Vigor (Fig 90)に関しては有意な変化はなかった。重心動揺計を用いた検査 (Fig 93-104)では、開眼におけるX軸のパワースペクトルの2.0-10 Hz成分 (Fig 95)、閉眼時のY軸パワースペクトル0.02-0.2 Hz成分 (Fig 102)において、曝露群は対照群に比して低値を示す一方、閉眼時のY軸パワースペクトル0.2-2.0 Hz成分 (Fig 103)において曝露群は対照群に比して高値を示した。

#### D 考察

当初、雄生殖毒性マーカーの探索においては、クレアチンキナーゼ (CK) に我々は注目していた。なせなら、CKは中枢神経系において、1-フロモプロパン曝露に対して最も敏感に影響を受けた生化学指標であることが我々の前年度の研究でわかっていたからである (Wang 2002, 2003)。しかしながら、CKB、CKMは我々の予想に反して優位な変化を見せず、 $\alpha$ -エノラーゼが精巣において有意に増加した。また、 $\alpha$ -エノラーゼはセルトリ細胞に特異的に局在し、EIA法による $\alpha$ -エノラーゼの増加は、セルトリ細胞における変

化を反映していると考えられる。これは、過去の1-プロモプロパン曝露による雄生殖器への影響の解析

(Ichihara2000)において、1-プロモプロパンは精細管からの精子放出を阻害し、これがセルトリ細胞の機能異常を示唆した。今回の精巣におけるセルトリ細胞特異的蛋白 $\alpha$ -エノラーゼの変化は1-プロモプロパンのセルトリ細胞への影響と関係があるかもしれない。セルトリ細胞を標的とする化学物質は少なくなく、精巣における $\alpha$ -エノラーゼがセルトリ細胞への影響マーカーとして有用であることが示唆された。

精巣上体においては $\gamma$ -エノラーゼ、 $\beta$ -S100蛋白質が増加していたが、その意義付けはこの研究では明らかにされなかった。

(1-プロモプロパンが形成する蛋白付加物の解析と CytochromeP450 系代謝物の解析)

1-プロモプロパン2週間曝露により、1-プロモプロパンはグロビンおよび脊髄から抽出したニューロフィラメント蛋白に、Adduct (付加物)を形成し、Adduct量は曝露濃度依存的であった。これまで、有機溶剤曝露の長期にわたる曝露量を評価するのは簡単ではなかった。重金属や、ダイオキシンなど、排泄速度が遅い物質では血液中濃度を測定することによって、体内曝露負荷量を知ることができのに対し、多くの有機溶剤では、未変化体は呼気または尿から排泄を受け、代謝されたものはやはり尿、胆汁などから排

泄されるなど、比較的 TurnOver の早いものか多く、長期にわたる曝露負荷を評価することは困難であった。我々は、赤血球クロビン蛋白の付加物測法を確立し、これを長期の内部曝露指標として有効であることを示した。赤血球の Turnover は比較的遅いことか知られており、長期の曝露指標として有効であると考えられる。また血球成分は、多くの血液検査では、血漿分離後廃棄されることか多いため、生体試料を有効に使うという観点からも本法は社会的に受容される可能性か大きいと考えられる。

(CytochromeP450 系代謝物) 平成 15 年度の InVitro の研究では、1-プロモプロパンの CytochromeP450 系代謝物は多くなく、1-プロモプロパンの代謝において CytochromeP450 系か大きな役割を果たしていないことか明らかとなった。反対に、1-プロモプロパンはグルタチオンと反応し、グルタチオンを枯渇させることを通して様々な毒性を発揮している可能性か示唆された。

(モデル動物を用いた代謝活性化メカニズムの解明)

前記の研究により、1-プロモプロパンは CytochromeP450 系よりもグルタチオン系によって主に代謝されることかわかったか、代謝活性化の可能性についてはまた明らかにされていない。Nrf-2 ノックアウトマウスは、グルタチオン系代謝酵素を制御している転写因子を欠損しているため、このマウスを用いることにより 1-プロモプロ

パンかグルタチオン抱合を受けることにより活性化するか、否か明らかになる。平成15年度においてWild型か予期に反して1-プロモプロパンに対して強い感受性を持ち、亜急性の曝露により死亡したため、改めて濃度の調節を行った後、再実験をする予定である。

(1-プロモプロパン使用職場調査) 3つの工場て1-プロモプロパンによる神経影響の有無を調べた。A工場では曝露評価が行われなかったため、曝露量と影響との関係は不明であるが、B工場では、100ppm以下の曝露濃度で明らかかな下肢末梢神経の電気生理学的指標の変化はなかった。一方、C工場では50ppm以下の曝露濃度であったか、遠位潜時、感覚神経伝導速度の変化が見られた。B工場とC工場との結果は矛盾しているように見えるか、C工場においては、過去の曝露濃度かもっと高かった(170ppm)時期もあり、そのころの曝露影響の結果である可能性も否定できない。さらに、C工場調査における神経行動学的検査結果は、1-プロモプロパンか中枢神経系にも影響を与えることを示唆している。重心動揺の異常については、一意的な解釈か容易でないか、アメリカの症例において起立、歩行時のよろめきなとか報告されていることから、1-プロモプロパンによる中枢-末梢神経障害を反映している可能性も否定できない。

## E 結論

$\alpha$ -エノラーゼは精巣においてはセルトリ細胞に特異的に存在し、1-プロモプロパン曝露によって増加した。 $\alpha$ -エノラーゼはセルトリ細胞を標的とする1-プロモプロパンの毒性影響を評価する優れたハイオマーカーであることが示唆された。1-プロモプロパンは蛋白に共有結合をつくり、ニューロフィラメントとグロビン蛋白中にS-propylcysteineという形の付加物を形成することかわかった。また、この蛋白付加物は1-プロモプロパンの長期曝露指標として有効であることか示唆された。職場調査では170ppm以下の曝露濃度で下肢の電気生理学的指標、振動覚、ならびに中枢神経系に影響を与えることか示唆された。

## F 健康危険情報

C工場の調査結果より、ヒトにおいても170ppm以下の曝露濃度で末梢神経、中枢神経に影響かある可能性かある。我々の過去の動物実験(Ichihara 2000)では200ppmかLOELであり、他の実験(WIL ResLab)もその結果を支持しているか、本研究か示すとおり、ヒトにおいても動物のLOELと同じかまたはより低い値か閾値である可能性かある。1-プロモプロパンは洗浄剤だけでなく、噴射剤、研究用マーカーの溶剤としても使われ始めているか、使用にあたっては十分な注意か必要である。

G 研究発表

2 学会発表

1 論文発表 1

1) Ichihara G, Li W, Ding X, Peng S, Yu X, Shibata E, Yamada T, Wang H, Itohara S, Kanno S, Sakai K, Ito H, Kanefusa K, Takeuchi Y A survey on exposure level, health status, and biomarkers in workers exposed to 1-bromopropane American Journal of Industrial Medicine 2004, 45 63-75

2

2) Wang H, Ichihara G, Ito H, Kato K, Kitoh J, Yamada T, Yu X, Tsuboi S, Moriyama Y, Takeuchi Y Dose-dependent biochemical changes in rat central nervous system after 12-week exposure to 1-bromopropane Neurotoxicology 2003, 24 199-206

3

3) Yamada T, Ichihara G, Wang H, Yu X, Maeda K, Tsukamura H, Kamijima M, Nakajima T, Takeuchi Y Exposure to 1-bromopropane causes ovarian dysfunction in rats Toxicological Sciences 2003, 71 96-103

4) Nakajima T, Yamanoshita O, Kamijima M, Kishi R, Ichihara G Generalized skin reactions in relation to trichloroethylene exposure a review from the viewpoint of drug-metabolizing enzymes Journal of

1) Ichihara G, Amarnath K, Amarnath V, Valentine H I, Li W, Wang H, Valentine WM Assessment of globin S-propylcysteine adducts and urinary N-acetyl S-propylcysteine as internal exposure markers of 1-bromopropane 43th annual meeting of Society of Toxicology (2004 3 21-25, Baltimore, Maryland, USA)

2) Li W, Kitagawa E, Iwahashi H, Wang H, Ichihara S, Ichihara G Altered gene profiles in rat testes after inhalation exposure to 1-bromopropane and 2-bromopropane 43th annual meeting of Society of Toxicology (2004 3 21-25, Baltimore, Maryland, USA)

3) Wang H, Ito H, Kato K, Li W, Takeuchi Y, Nakajima T, Ichihara G Neuro-specific proteins in reproductive organs as possible biomarkers for assessing adverse effects of 1-bromopropane 43th annual meeting of Society of Toxicology (2004 3 21-25, Baltimore, Maryland, USA)

4) Ichihara G, Amarnath K, Amarnath V, Valentine H I, Li W, Wang H, Valentine WM Assessment of globin S-propylcysteine adducts and urinary N-acetyl S-propylcysteine as internal exposure markers of 1-bromopropane

第2回分子予防環境医学研究会(2003年12月20-21日, 東京)

5) Li W, Kitagawa E, Iwahashi H, Wang H, Ichihara S, Ichihara G Altered gene profiles in rat testes after inhalation exposure to 1-bromopropane and 2-bromopropane 第2回分子予防環境医学研究会(2003年12月20-21日, 東京)

6) Wang H, Ito H, Kato K, Li W, Takeuchi Y, Nakajima T, Ichihara G. Neuro-specific proteins in reproductive organs as possible biomarkers for assessing adverse effects of 1-bromopropane 第2回分子予防環境医学研究会(2003年12月20-21日, 東京)

7) Li W, Kitagawa E, Iwahashi H, Wang H, Ichihara S, Ichihara G Altered gene profiles in rat testes after inhalation exposure to 1-bromopropane and 2-bromopropane 第6回日本内分泌攪乱化学物質学会(2003年12月2, 3日, 仙台)

8) Wang H, Ito H, Kato K, Li W, Takeuchi Y, Nakajima T, Ichihara G. Neuro-specific proteins in reproductive organs as possible biomarkers for assessing adverse effects of 1-bromopropane 第6回日本内分泌攪乱化学物質学会(2003年12月2, 3日, 仙台)

9) 市原 学、竹田泰史、古橋功一、野見山哲生、宮内博幸、竹内康浩、上島通浩、那須民江、中野 功 有機溶剤曝露と関連した好酸球増加を伴う肝臓障害 第31回有機溶剤中毒研究会、2003年10月10, 11

日, 佐賀)

10) 市原 学, Amarnath K, Amarnath V, Valentine H I, Li W, Wang H, Valentine W M 1-プロモプロパン曝露ラットにおける Protein adduct の検出とその長期内部曝露マーカーとしての可能性の検討 第31回有機溶剤中毒研究会(2003年10月10, 11日, 佐賀)

11) 李 衛華、北河恵美子、岩橋 均、王海蘭、市原 学 cDNA マイクロアレイを用いた1-プロモプロパン、2-プロモプロパンの生体影響の検討 第31回有機溶剤中毒研究会(2003年10月10, 11日, 佐賀)

12) 伊藤由起、市原 学、王海蘭、日高涉、那須民江 GC-MSを用いた高感度かつ選択的なMEHP(Monoethylhexylphthalate)定量法の確立 第31回有機溶剤中毒研究会(2003年10月10, 11日, 佐賀)

13) 上島通浩、黄 漢林、王海蘭、李 来王、酒井 潔、柴田英治、黄 先青、梁 冰、陳 嘉斌、土山ふみ、久永直見、市原 学、竹内康浩、那須民江 トリクロロエチレン使用職場で発生する全身性皮膚障害 肝障害——作業者の使用溶剤と個人曝露濃度—— 第31回有機溶剤中毒研究会(2003年10月10, 11日, 佐賀)

14) 市原 学、糸原誠一朗、王海蘭、那須民江、竹内康浩、李 衛華、丁 訓誠、彭四盟、Amarnath K, Amarnath V, Valentine H I, Li W, Wang H, Valentine W M 1-プロモプロパンに曝露されたラットおよびヒト

の尿中 N-acetyl-S-propyl cysteine 第 76 回  
日本産業衛生学会 (2003 年 4 月、山口)

15) 山田哲也、市原 学、王 海蘭、兪 小  
忠、前多敬一郎、東村博子、上島通浩、那  
須民江、竹内康浩 1 プロモプロパン曝露  
はラット卵巢における卵胞発達を阻害する。  
第 76 回日本産業衛生学会 (2003 年 4 月、  
山口)

16) 王 海蘭、黄 漢林、上島通浩、李 来  
王、柴田英治、林 炳傑、梁 冰、黄 先  
青、久永直見、陳 嘉斌、市原 学、竹内

康浩、那須民江 トリクロロエチレン曝露  
作業者に発生する全身性皮膚・肝障害 第  
1 報 患者発生作業状況の調査 第 76 回日  
本産業衛生学会 (2003 年 4 月、山口)

17) 上島通浩、黄 漢林、王 海蘭、李 来  
王、柴田英治、林 炳傑、梁 冰、黄 先  
青、久永直見、陳 嘉斌、酒井 潔、黄 健  
勲、市原 学、竹内康浩、那須民江 トリ  
クロロエチレン曝露作業者に発生する全身  
性皮膚・肝障害 第 2 報 作業中の自覚症  
状と尿中代謝物量 第 76 回日本産業衛生  
学会 (2003 年 4 月、山口)













