

C. TeBDD を経口投与したラットの肝臓および脂肪組織中の TeBDD 濃度変化

日本バイオアッセイセンターで行った毒性評価動物実験（平成 14 年度 厚生労働科学研究費補助金「臭素化ダイオキシン類の毒性評価に関する研究」）に用いた 2,3,7,8-TeBDD を経口投与した実験動物の肝臓および脂肪組織の分析を行い、動物中の臭素化ダイオキシン類の曝露後の生体内濃度変化に関する知見を得た。また、これらの試料は比較的高濃度の 2,3,7,8-TeBDD を含むため、測定過程で分析方法の最適化を併せておこなうことが出来ると考えた。

臭素化ダイオキシン投与実験と臓器試料の概要を表 2 に示す。

表 2. 臭素化ダイオキシン投与実験の条件

動物種	ラット (Crj:Wistar、日本チャールス・リバー株式会社) 投与時 6 週齢、雄、雌
投与方法	強制経口投与
投与溶液	2,3,7,8-TeBDD をトルエンに溶解し、各設定濃度になるよう コーン油に加え、混合したもの
投与量	体重 1kg あたり 2,3,7,8-TeBDD を 10, 30, 100 および 300 μ g
臓器の採取	投与後、2 日、7 日、36 日目に麻酔、と殺、解剖し、下記の各 臓器を
臓器試料	採取した 下記の臓器を解剖時に採取 肝臓 左葉の先端側 約 1/2 脂肪 腎臓周囲の脂肪組織 血液 後大動脈から採血、全血、0.5mL 以上 (秤量はしていない) 脳 投与後 36 日に解剖した動物の一部について採取 (ホルマリン固定臓器、秤量はしていない)

1. 方法

1) 臓器試料

本研究で分析した臓器試料は、日本バイオアッセイ研究センターにおいて解剖時に採取した臓器のうち、10, 30, 100, 300 μ g/kg 体重の 2,3,7,8-TeBDD を投与後 2, 7, 36 日目、および TeBDD を投与していない対照動物（7 日目）のそれぞれ同一個体の肝臓と脂肪組織である（表 3）。

表 3. 分析臓器試料

2,3,7,8-TeBDD 投与量 (μ g/kg 体重)	経過日数 (日)	動物検体番号	臓器重量 (mg)	
			肝臓	脂肪
0	7	1008	1,480	2,910
10	2	1103	1,864	1,021
	7	1108	1,127	1,352
	36	1113	1,879	1,440
30	2	1205	1,455	1,675
	7	1208	1,619	1,554
	36	1213	1,750	1,426
100	2	1305	1,648	1,087
	7	1310	1,261	1,263
	36	1315	2,478	1,301
300	2	1405	1,860	1,716
	7	1410	1,242	1,458
	36	1412	1,526	1,595

2) 臓器中の臭素化ダイオキシン分析方法

動物臓器中の臭素化ダイオキシン分析は昨年度とほぼ同じ方法で行った。

3) 前処理操作：

まずホモジナイザーで臓器試料を破碎・均質化した後、珪藻土とよく混合し、これを高速溶媒抽出装置で脂肪分を抽出した。溶媒留去の後、十分乾燥させ、脂肪質量を秤量した。得られた脂肪の 1/100 だけを分取し、クリーンアップスパイクを添加後、硫酸処理を行った。次に自動クリーンアップ装置 Power-Prep (FMS 社製) を用いて妨害物質を完全に除去し、ダイオキシン画分を分取した。得られたダイオキシン画分を濃縮後シリンジスパイクを添加し、HRGC-MS による分析試料とした。

HRGC-MS による測定：

HRGC-MS による測定条件を表 4 に示す。も基本的に昨年度と同様である。しかし、GC 部の分析カラムを臭素化ダイオキシン類用に新に開発された ENV-5MS (SGE 社製) に変更した。従来のカラムは臭素化ダイオキシン類の分析を繰り返すと著しく性能が劣化していたが、液相の結合方法などに改良を加えることでこの問題を解消した新しいカラム (江崎ら, 第 13 回環境化学討論会 2004 年, 発表予定) を用いた。

表 4. 臭素化ダイオキシンの高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計測定条件

	項目	条件など
MS 部	高分解能質量分析計	Micromass 社製 AutoSpec Ultima NT (二重収束型)
	分解能	10000 以上
	電子加速電圧	35 eV
	イオン化電流	0.5 mA
	イオン源温度	300°C
	検出方法	質量校正用標準物質 PFK を用いたロックマス方式による選択イオン検出 (SIM) 法
GC 部	高分解能ガスクロマトグラフ	Agilent 社製 HP6890
	注入方法	スプリットレス注入法 1 μ L
	分析カラム	SGE 社製 ENV-5MS (0.25mm ID \times 30m、膜厚 0.1 μ m)
	注入口温度	260°C
	キャリアガス	He, 150kPa (Constant Pressure Mode)
	カラムオープン昇温条件	120°C (1min hold) - <20°C/min> - 180°C (0min hold) - <5°C/min> - 320°C (10min hold)

2. 結果および考察

2,3,7,8-TeBDD を経口投与したラットの肝臓と脂肪組織の全てから 2,3,7,8-TeBDD が検出でき、その値は臓器重量当たり 2ng 程度から 500 ng 程度であった (表 5)。ラットの平均体重および肝臓の平均重量から始めに投与した

絶対量に対する肝臓中の TeBDD の割合を推定すると、投与後 2 日で 7~24%、投与後 36 日で 2~9%に相当する。経口投与であるので特に直後からの排泄物や、血液および他の臓器中の TeBDD も分析しなければ正確な議論はできないが、吸収率の参考値にはなる。

投与後の経過日数に対する肝臓および脂肪組織中の 2,3,7,8-TeBDD 濃度の変化をそれぞれ図 2 および図 3 に示す。減少の割合を指数回帰曲線に近似することで、TeBDD の半減期を求めた。測定点が少ないうえにバラツキもあるが、相関係数の良い 300 および 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重を投与したラットの肝臓からは、TeBDD の半減期が 17~18 日という結果が得られた。30 と 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重を投与したラットでは、12~13 日であった。一方、脂肪組織では肝臓に比べ半減期が長く、増加しているもの (300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重 投与) もあった。しかし、100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重を投与した脂肪組織は相関係数も良く、肝臓での半減期に近い 18 日という結果が得られた。特に脂肪組織中の TeBDD 濃度にバラツキが大きい原因としては、血流の多い肝臓に比べて TeBDD の取り込みおよび排出に時間がかかるためと考えられることや、1 匹当たりの臓器重量そのものに大きな個体差があることなどが考えられる。

ここで分析した肝臓および脂肪試料は比較的高濃度の PBDDs を含むため、測定過程で分析方法の最適化を併せておこなうことができた。またこれら肝臓および脂肪試料のうち一部は、(同一個体の試料かどうかは不明であるが) 同条件の肝臓および脂肪の TeBDD 濃度をサンプル提供元でも測定しており、クロスチェックが可能である。その分析結果 (厚生労働科学研究費補助金「臭素化ダイオキシン類の毒性評価に関する研究」平成 14 年度 総括研究報告書, p.29, 表 13. 体内負荷量) を表 6 として転載した。この結果から、本分析方法がそれほど大きな誤差を有していないと考え、ここで得られた知見を基に血液中の PBDDs 測定の手順を確定した。

3. 今後の予定

更に PBDDs の分析精度を上げるよう、引き続き分析法の改良に勤める。それと共に、残りの肝臓および脂肪試料を分析して測定点を増やすことで、動物の臓器その他の中の PBDDs の半減期をより正確に調べる。また一部のラットについては、ごく少量ではあるが、血液あるいはまた脳を提供してもらっているので、それらの PBDDs 分析を行う。

表 5. TeBDD 経口投与ラットの肝臓および脂肪組織中の TeBDD 濃度変化

		TeBDD 投与量				
		0 (control)	10 μ g/kg 体重	30 μ g/kg 体重	100 μ g/kg 体重	300 μ g/kg 体重
サンプル数	2day	0	1	1	1	1
	7day	1	1	1	1	1
	36day	0	1	1	1	1
肝臓中の TeBDD 濃度 (ng/g liver)	2day	-	9.2	91	289	479
	7day	N.D.	10	32	237	495
	36day	-	1.8	8.8	74	143
	半減期 (day)	-	13.4	11.5	17.3	18.2
脂肪中の TeBDD 濃度 (ng/g lipid)	2day	-	9.0	44	220	299
	7day	N.D.	8.2	42	178	469
	36day	-	7.0	16	61	473
	半減期 (day)	-	103	22.7	18.4	(-77.4)

表 6. 体内負荷量 (厚生労働科学研究費補助金「臭素化ダイオキシン類の毒性評価に関する研究」

平成 14 年度 総括研究報告書 p.29 表 13 より転載)

		TeBDD 投与量								
		0 (control)	10 μ g/kg 体重	30 μ g/kg 体重	100 μ g/kg 体重	300 μ g/kg 体重	1000 μ g/kg 体重	3000 μ g/kg 体重	10000 μ g/kg 体重	
サンプル数	2day	2	0	2	2	2	2	2		
	7day	0	0	0	2	2	2	2		
	36day	0	0	0	2	2	2	2		
肝臓中の TeBDD 濃度 (ng/g liver)	2day	0.0095	0.012	-	61	74	250	250	540	630
	7day	-	-	-	-	-	230	200	650	280
	36day	-	-	-	-	-	27	56	110	130
脂肪中の TeBDD 濃度 (ng/g lipid)	2day	0.0045	0.025	-	41	52	130	120	470	410
	7day	-	-	-	-	-	210	190	730	270
	36day	-	-	-	-	-	27	51	110	130

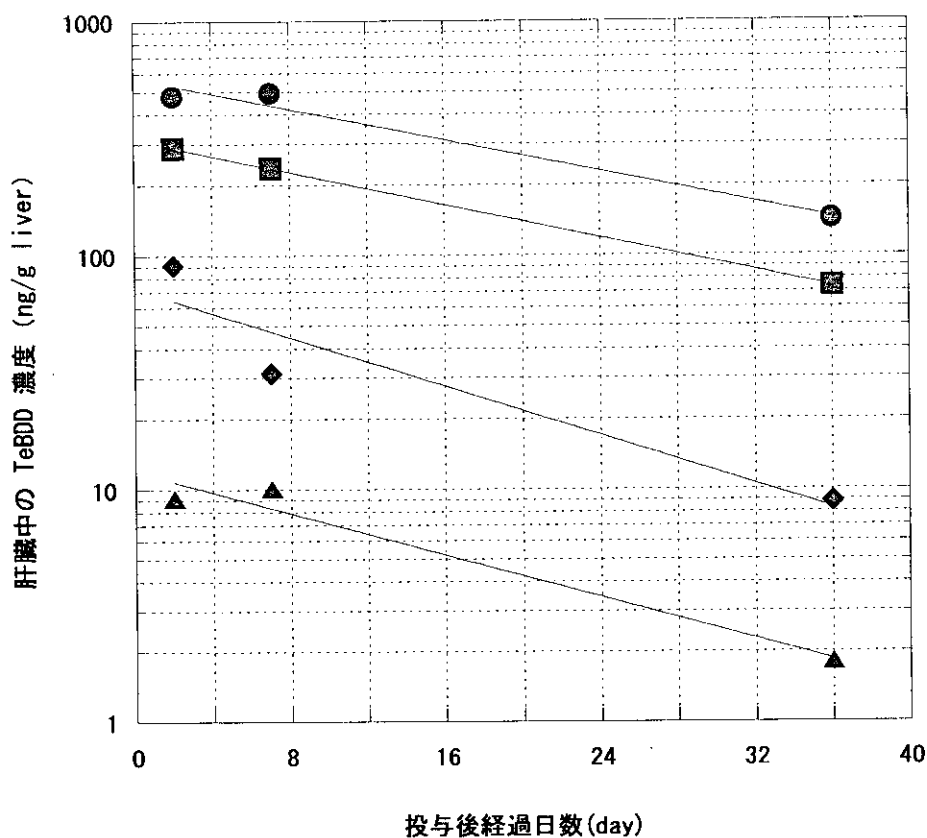


図 2. TeBDD投与実験におけるラット肝臓中のTeBDD濃度変化

- 300 μg/kg

— $y = 572.94 * e^{(-0.038013x)}$ $R = 0.96383$

半減期 $T(1/2) = \ln 2 / 0.038013 = 18.2$ (day)
- 100 μg/kg

— $y = 313.52 * e^{(-0.040175x)}$ $R = 1$

半減期 $T(1/2) = \ln 2 / 0.040175 = 17.3$ (day)
- ◆— 30 μg/kg

— $y = 72.324 * e^{(-0.060099x)}$ $R = 0.88641$

半減期 $T(1/2) = \ln 2 / 0.060099 = 11.5$ (day)
- ▲— 10 μg/kg

— $y = 11.956 * e^{(-0.051729x)}$ $R = 0.93194$

半減期 $T(1/2) = \ln 2 / 0.051729 = 13.4$ (day)

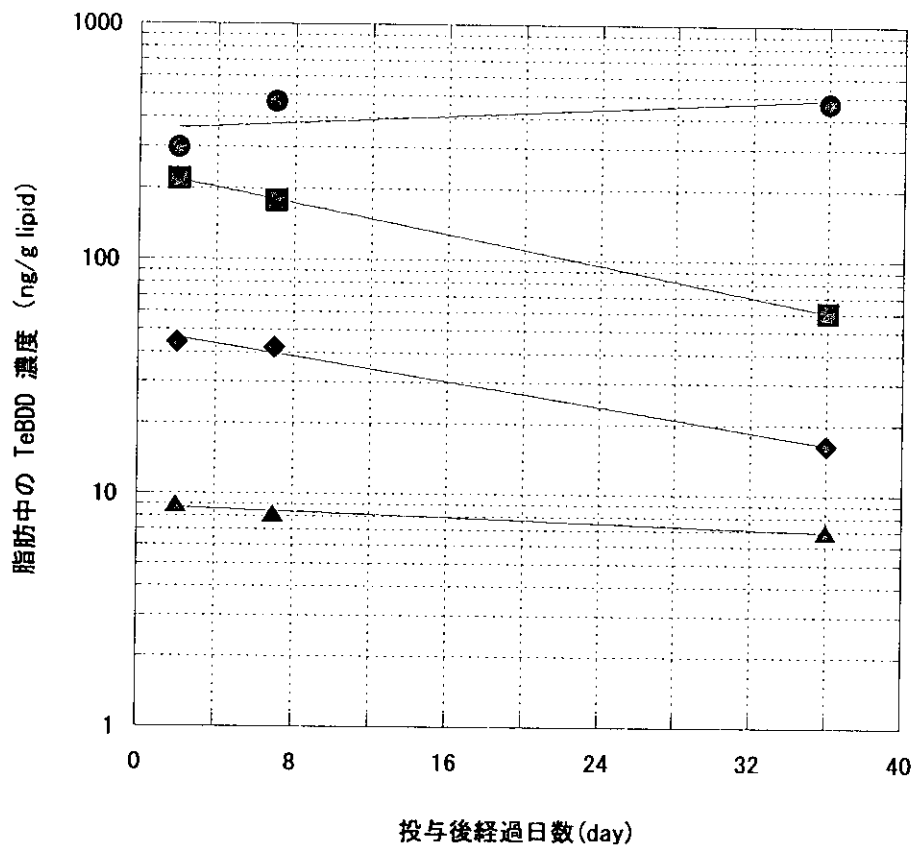


図 3. TeBDD投与実験におけるラット脂肪組織中のTeBDD濃度変化

- 300 μg/kg

— $y = 354.12 * e^{(0.0089527x)}$ $R = 0.61501$

半減期 $T(1/2) = \ln 2 / (-0.0089527) = -77.4$ (day)
- 100 μg/kg

— $y = 234.69 * e^{(-0.037572x)}$ $R = 0.99963$

半減期 $T(1/2) = \ln 2 / 0.037572 = 18.4$ (day)
- ◆— 30 μg/kg

— $y = 49.42 * e^{(-0.030494x)}$ $R = 0.98927$

半減期 $T(1/2) = \ln 2 / 0.030494 = 22.7$ (day)
- ▲— 10 μg/kg

— $y = 8.8435 * e^{(-0.0067444x)}$ $R = 0.96411$

半減期 $T(1/2) = \ln 2 / 0.0067444 = 103$ (day)

D. 血中 PBDDs 分析手法の最適化と一般勤労者の血中 PBDDs 濃度測定

TeBDD を経口投与したラット臓器中の TeBDD 分析で得られた知見を基に、血液中の PBDDs 測定の手順を確定した。この方法により廃棄物処理や臭素系難燃剤を扱っていない勤労者の血液 90g の PBDDs 分析を試みたところ、2378TeBDD 異性体を検出した。

1. 方法

1) 血液試料

実際のヒト血液試料として先ず、廃棄物処理や臭素系難燃剤を扱っていない一般勤労者の血液を分析した。PBDDs は、血液中に非常に少ないと予想していたこと、および実際の分析では、臭素数が増えるほど質量数が飛躍的に増大し、HRGC-MS での感度が悪くなることがわかっていた。また HRGC-MS における大量注入法も PBDDs に合わせた設定条件が十分検討できていないため、可能な限り多くの血液を用いることとした。

塩素化ダイオキシン類ならば血液 5g で分析可能であったが、本実験ではインフォームドコンセントの得られた当研究所職員の血液を合わせ、いわゆる「プール血液」試料 90g を被験試料とした。

2) ヒト血液中の臭素化ダイオキシン類分析方法

基本的な分析法は図 1 に示した方法と同様である。

しかし本実験は 10 倍近い 90g の血液から抽出しなければならず、高速溶媒抽出装置用の抽出セル 1 本にそれだけの血液をしみ込ませた珪藻土を入れるのは不可能である。そこで一番大きい抽出セル（内容量 99mL）4 本に分割することで対応した。またこれまで抽出セルの底には円形のろ紙を敷いていたが、今回から筒状のろ紙を用いることで、細かい不溶物の流出を抑えることができた。これは更に、抽出後のセルの内側の汚れを抑え、洗浄作業の軽減にも貢献した。

また、血液 10g の抽出でさえも前処理を煩雑にしていた抽出液中の水分が、本実験では更に大きな問題となることが予想された。そこで抽出前に凍結乾燥することで予め水分を除いておくことを試みた。血液をそのまま凍結乾燥する方が確実に水分を除去できるであろうが、粉末状にした血液を扱うことは感染症などの観点から非常に危険である。凍結乾燥後はほぼそのまま高速溶媒抽出装置に仕掛けられるよう、珪藻土にしみ込ませ、抽出セルに詰めた状態で凍結乾燥させた。

3) 前処理操作：

先ず、200mL ビーカー中の珪藻土 17g に血液 20~25g を秤量し、十分混ぜ合わせた後、高速溶媒抽出装置用の抽出セル（内容量 99mL）に移した。

これを4本準備した。抽出セルの上側のキャップはせずにアルミ箔でふたをし、これをマイナス 30℃の冷凍庫に一晩静置した。完全に凍らせた抽出セルを真空デシケーターへ移し、真空ポンプで一晩減圧し続けた。抽出セルの重量は凍結乾燥前後で、秤量した血液重量の 50%程度の減少であった。それ以上の減量はあまり見られなかったため、次の操作へと移した。

凍結乾燥後は、昨年度と同様、クリーンアップスパイクを添加した後、高速溶媒抽出装置で脂肪分を抽出した。抽出液を無水硫酸ナトリウムで脱水しながらろ過した後、ロータリーエバポレーターで減圧濃縮した。しかしこれでも脱水が不十分であったため、完全に乾燥し切れず、そのままでは脂肪質量を秤量できなかった。再度ヘキサンに溶解し、無水硫酸ナトリウムによる脱水を繰り返した。溶媒留去の後、十分乾燥させ、脂肪質量を秤量した。得られた脂肪を再びヘキサンに溶解後、硫酸処理を行った。次に自動クリーンアップ装置 Power-Prep を用いて妨害物質を完全に除去し、ダイオキシン画分を分取した。得られたダイオキシン画分を濃縮後シリンジスパイクを添加し、HRGC-MS による分析試料とした。

4) HRGC-MS による測定：

HRGC-MS による測定条件は、第4章の動物臓器中の臭素化ダイオキシン分析と同じである。

2. 結果および考察

一般勤労者の血液中臭素化ダイオキシン類の測定結果、および血液中臭素化ダイオキシン類の検出下限・定量下限を表7に示す。臭素化ダイオキシン類についてはその毒性について不明な点が多く、国際的に同意が得られた毒性等価係数 (TEF) はない。しかし、IPCS (国際化学物質安全性計画) の環境保健クライテリアにおいて、ある種の臭素化ダイオキシン類同族体とそれに対応する塩素化物の間には毒性学的な類似性が存在するように考えられており、塩素化ダイオキシン類同族体に用いられている TEF を、対応する臭素化ダイオキシン類同族体に暫定的に適用してもよいのではないかと考えられている。このため本研究では、臭素化ダイオキシン類の実測値とともに、対応する塩素化ダイオキシン類の WHO-TEF (1998) を実測値にかけた毒性等量 (TEQ) 相当値についても参考値として併記した。

血中臭素化ダイオキシン類の測定の結果、最も毒性が強いと考えられる 2,3,7,8-TeBDD が 50pg/g-lipid と非常に高濃度で検出された。その他の臭素化ダイオキシン類についても比較的高い値が得られた。毒性等量 (TEQ) 換算値の合計値 (87pg-TEQ/g-lipid) で比較しても、常人の血中塩素化ダイオキシン類の平均的な値 (20pg-TEQ/g-lipid) の 4~5 倍にもなる。

第3章の動物血液に臭素化ダイオキシン類を加えた模擬試料を用いたクロス

チェックでもそうであったが、高速溶媒抽出装置を用いた本研究では総じて高めに検出されるようである。このことは、以前から高速溶媒抽出装置を用いて油症患者の血液中塩素化ダイオキシン類を分析してきた福岡県保健環境研究所の飯田隆雄氏も指摘していることである (Iida, T. and Todaka, T., *Industrial Health*, **41**, 197-204 (2003)、および私信)。その理由は明らかではないが、従来法と高速溶媒抽出装置を用いた方法とでは、抽出されてくる脂質成分に違いがあるためと考えられている。あるいはダイオキシン類そのものの、特に多塩素化体の、抽出されやすさが異なるためとも考えられている。

しかし本研究の結果はそれだけが原因ではなく、むしろ昨年度から問題にしている測定器の感度の悪さによるところが大きいと考えられる。昨年度より大分改善したが、それでも依然として高質量側の感度は悪い。その故、ほんの少しの測定値（面積値）の違いが大きな定量値の違いとなって現れるためと考えられる。

表 7. 一般勤労者の血中臭素化ダイオキシン類測定結果

Compound	毒性係数 TEF	実測濃度 (pg/g-lipid)	毒性等量* (pg-TEQ/g-lipid)	検出下限 (pg/g-lipid)	定量下限 (pg/g-lipid)
2378-TeBDD	1	50	50	1.0	1.4
12378-PeBDD	1	13	13	1.1	1.8
123478- & 123678-HxBDD	0.1	175	18	7.0	12
123789-HxBDD	0.1	0	0	10	17
Total PBDDs	-	238	81		
2378-TeBDF	0.1	2.2	0.22	0.8	1.0
12378-PeBDF	0.05	7.0	0.35	1.2	1.9
23478-PeBDF	0.5	8.7	4.4	1.0	1.7
123478-HxBDF	0.1	9.7	0.97	4.6	7.5
1234678-HpBDF	0.01	14	0.14	7.0	13
Total PBDFs	-	41	6.0		
Total PBDDs+PBDFs	-	279	87		

*) 毒性等量は、WHO-TEF (1999) による PCDDs/PCDFs の TEF に準じて算出した参考値である。

検出・定量下限が高く、分析器の感度も悪いとは言え、一般勤労者の血液から臭素化ダイオキシン類を検出できることが確認できた。そこでこの分析法を用い、次章に示す清掃工場従事労働者の血中臭素化ダイオキシン類を分析することとした。

E. 清掃工場従事労働者の血中 PBDDs 濃度

この分析法の疫学研究への応用の手始めとして一般ゴミを扱う清掃工場に勤める 20 人から採取した血液を、臭素系難燃剤であるポリ臭素化ジフェニルエーテル (PBDEs) の血中濃度で四群に分けた、いわゆる「プール血液」試料 50g 中の PBDDs 濃度を測定した。

1. 方法

1) プール血液試料

清掃工場従事労働者の血液として、同じ厚生労働科学研究費補助金「臭素化ダイオキシン類に係る労働現場のリスク評価研究」の分担研究グループ (小川ら) によって、既に PBDEs および塩素化ダイオキシン類などについて分析されている清掃工場従事労働者 20 人の血液を用いた。

表 8. 清掃工場従事労働者の血中 Total PBDEs 濃度によるグループ分け

Sample ID	1234678-HpCDF (pg/g-lipid)	YF への分配 血液量 (mL)	Group YF-No.	Total PBDEs (pg/g-lipid)	YB への分配 血液量 (mL)	Group YB-No.
Y9	3.7	20	4	776.7	25	1
Y11	2.1	23	2	780.0	25	1
Y20	6.3	20	4	851.6	25	1
Y12	0.0	16	1	858.0	25	1
Y13	6.3	20	4	1047.8	15	2
Y1	0.0	16	1	1073.6	15	2
Y14	3.4	20	3	1085.0	15	2
Y5	0.0	16	1	1206.5	15	2
Y18	3.9	20	4	1230.5	15	2
Y8	0.0	16	1	1304.7	15	2
Y15	3.7	20	4	1356.2	15	2
Y2	3.0	20	3	1760.4	20	3
Y16	2.3	25	2	1778.8	20	3
Y19	2.5	25	2	1819.5	20	3
Y6	0.0	16	1	1973.4	20	3
Y7	2.3	25	2	1988.6	20	3
Y4	3.1	20	3	2660.2	25	4
Y3	2.9	20	3	2743.6	25	4
Y17	3.0	20	3	2767.2	25	4
Y10	0.0	16	1	4464.1	25	4

表 8 に示すように、血液を Total PBDEs および 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF の濃度順にグループ分けを行い、各グループが 100mL になるよう YB-1~4 および YF-1~4 のプール血液を作成した。

今回は先ず、臭素化ダイオキシン類の前駆物質として考えられている PBDEs の濃度でグループ分けしたプール血液 YB-1~4 の分析を行った。

2) プール血液中の臭素化ダイオキシン類分析方法

前処理操作および HRGC-MS による測定条件は、第 5 章の一般勤労者の血中臭素化ダイオキシン類分析と同様である。

ただし各プール血液は 100mL ずつしかないので、再測定などに備え半分残しておくこととし、今回は各々 50mL を用いた。

2. 結果および考察

Total PBDEs 濃度の順でグループ分けした清掃工場従事労働者のプール血液 YB-1~4 の PBDDs 分析結果を表 9 に示す。ここでもやはり、最も毒性が強いと考えられる 2,3,7,8-TeBDD が 10~24pg/g-lipid と非常に高濃度で検出された。また、2,3,7,8-TeBDD と同じく最も毒性が強いと考えられる 1,2,3,7,8-PeBDD も 8.6pg/g-lipid と高濃度な試料もあった。HxBDDs/Fs や HpBDF などの臭素数の多い化合物は 20~30 pg/g-lipid 検出される試料と、検出限界以下の試料との両極端な結果となった。これは検出下限が高いためと考えられる。

プール血液中の PBDEs の加重平均濃度に対して、PBDDs および PBDFs 濃度をプロットし (図 4, 5)、臭素化ダイオキシン類の前駆物質として考えられている PBDEs との関係を調べたが、顕著な相関は見られなかった。PCDDs/Fs の TEF を対応する PBDDs/Fs に暫定的に適用した毒性等量 (TEQ) 相当値についても、PBDEs の加重平均濃度に対してプロットしてみたが (図 6)、やはり顕著な相関は見られなかった。

3. 今後の予定

引き続き検出・定量下限および、分析器の感度の改善に努めると共に、HpCDF の濃度順でグループ分けしたもう一方のプール血液についても PBDDs 分析を行い、HpCDF との相関を調べる。

表 9. 清掃工場従業員のプール血液中 PBDDs/Fs 分析結果

Sample		YB-1		YB-2		YB-3		YB-4	
PBDEs 加重平均 濃度(pg/g-lipid)		817		1186		1864		3159	
Compound	毒性 係数 TE F	実測濃度	毒性等量*	実測濃度	毒性等量*	実測濃度	毒性等量*	実測濃度	毒性等量*
		(pg/g- lipid)	(pg-TEQ /g-lipid)	(pg/g- lipid)	(pg-TEQ /g-lipid)	(pg/g- lipid)	(pg-TEQ /g-lipid)	(pg/g- lipid)	(pg-TEQ /g-lipid)
2378-TeBDD	1	10	10	9.9	9.9	24	24	20	20
12378-PeBDD	1	4.5	4.5	2.5	2.5	8.6	8.6	N.D.	0
123478- &	0.1	18	1.8	N.D.	0	25	2.5	30	3.0
123678-HxBDD									
123789-HxBDD	0.1	27	2.7	N.D.	0	N.D.	0	N.D.	0
Total PBDDs	-	59	19	12	12	58	35	50	23
2378-TeBDF	0.1	3.0	0.30	2.6	0.26	3.0	0.30	3.5	0.35
12378-PeBDF	0.05	16	0.81	6.6	0.33	11	0.53	9.9	0.49
23478-PeBDF	0.5	12	6.2	6.1	3.1	11	5.3	12	5.9
123478-HxBDF	0.1	11	1.1	9.5	0.95	9.0	0.90	N.D.	0
1234678-HpBDF	0.01	N.D.	0	20	0.20	N.D.	0	21	0.21
Total PBDFs	-	43	8.5	45	4.8	33	7.0	46	7.0
Total PBDDs+PBDFs	-	102	27	57	17	91	42	96	30

*) 毒性等量は、WHO-TEF (1999) による PCDDs/PCDFs の TEF に準じて算出した参考値である。

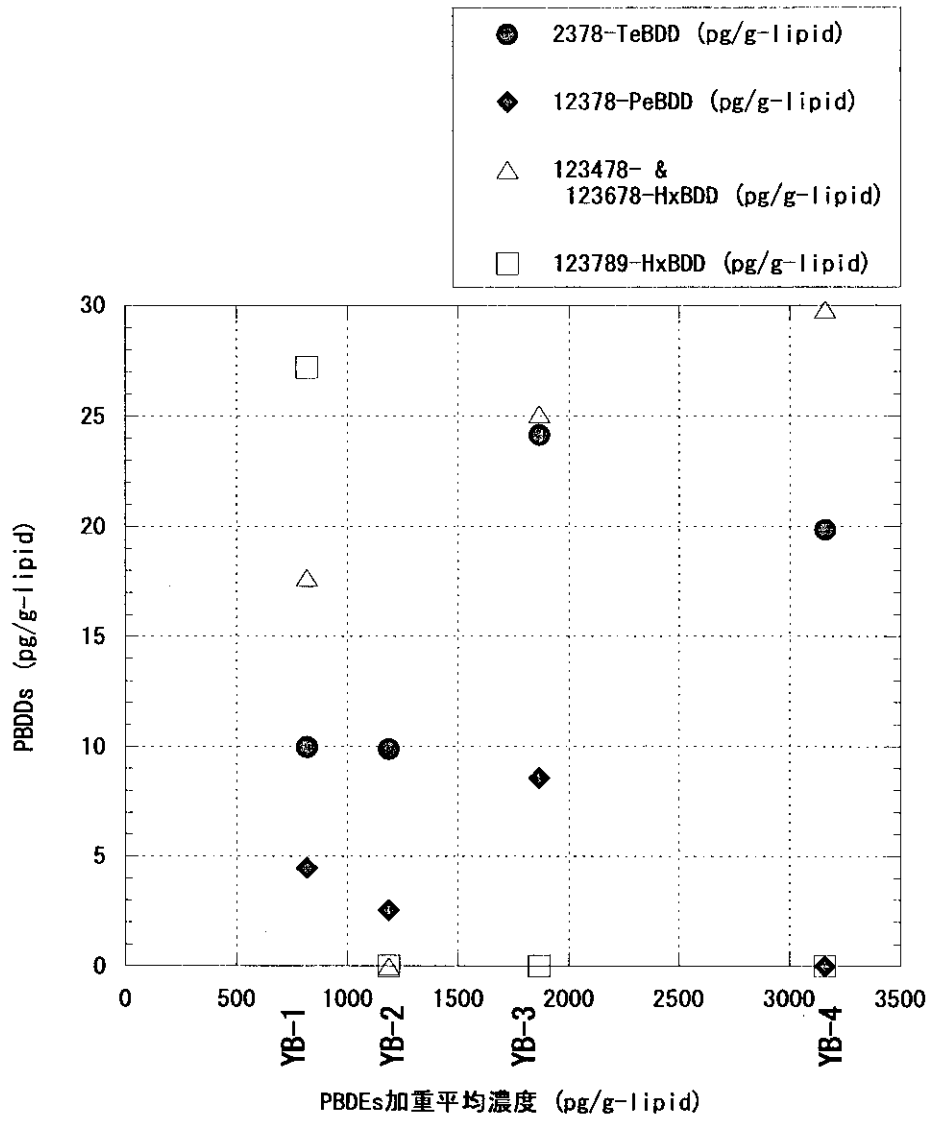


図 4. 清掃工場従業員のプール血液中 PBDDs 濃度

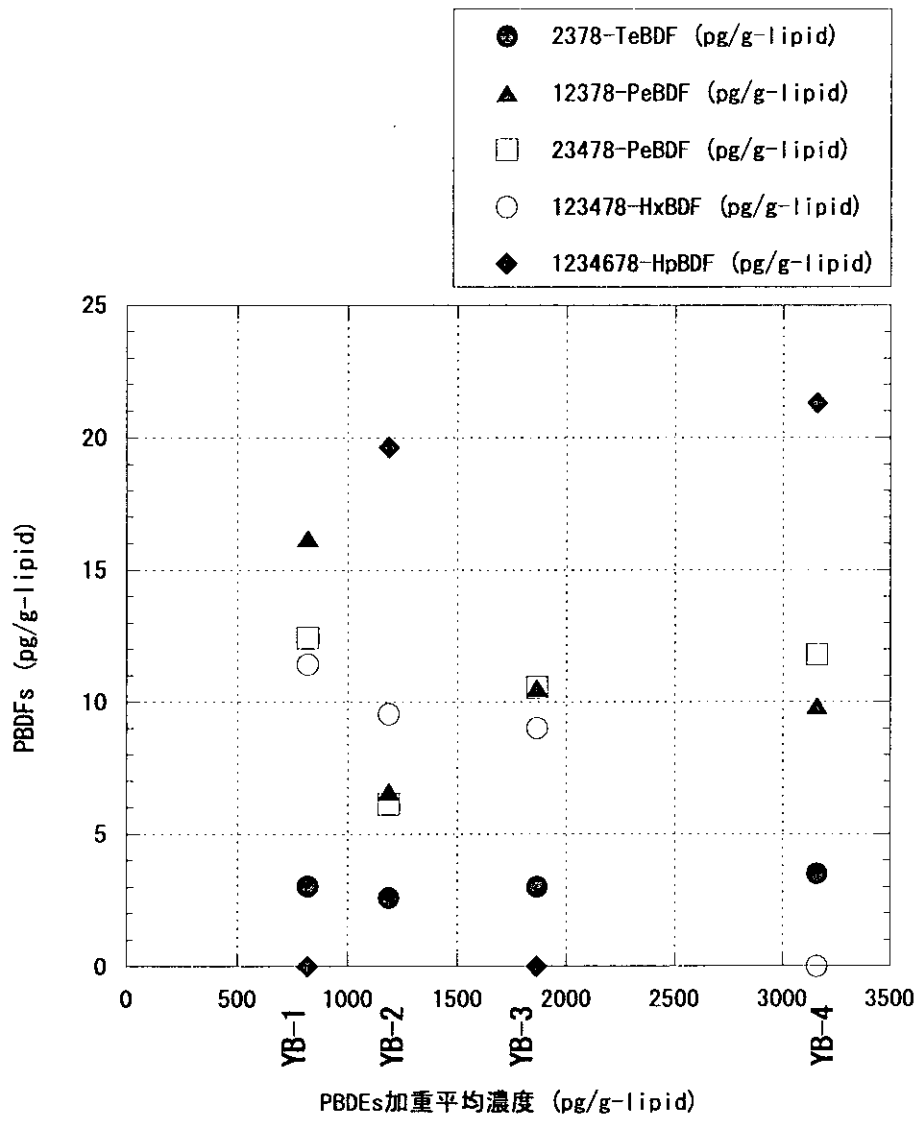


図5. 清掃工場従業員のプール血液中 PBDFs 濃度

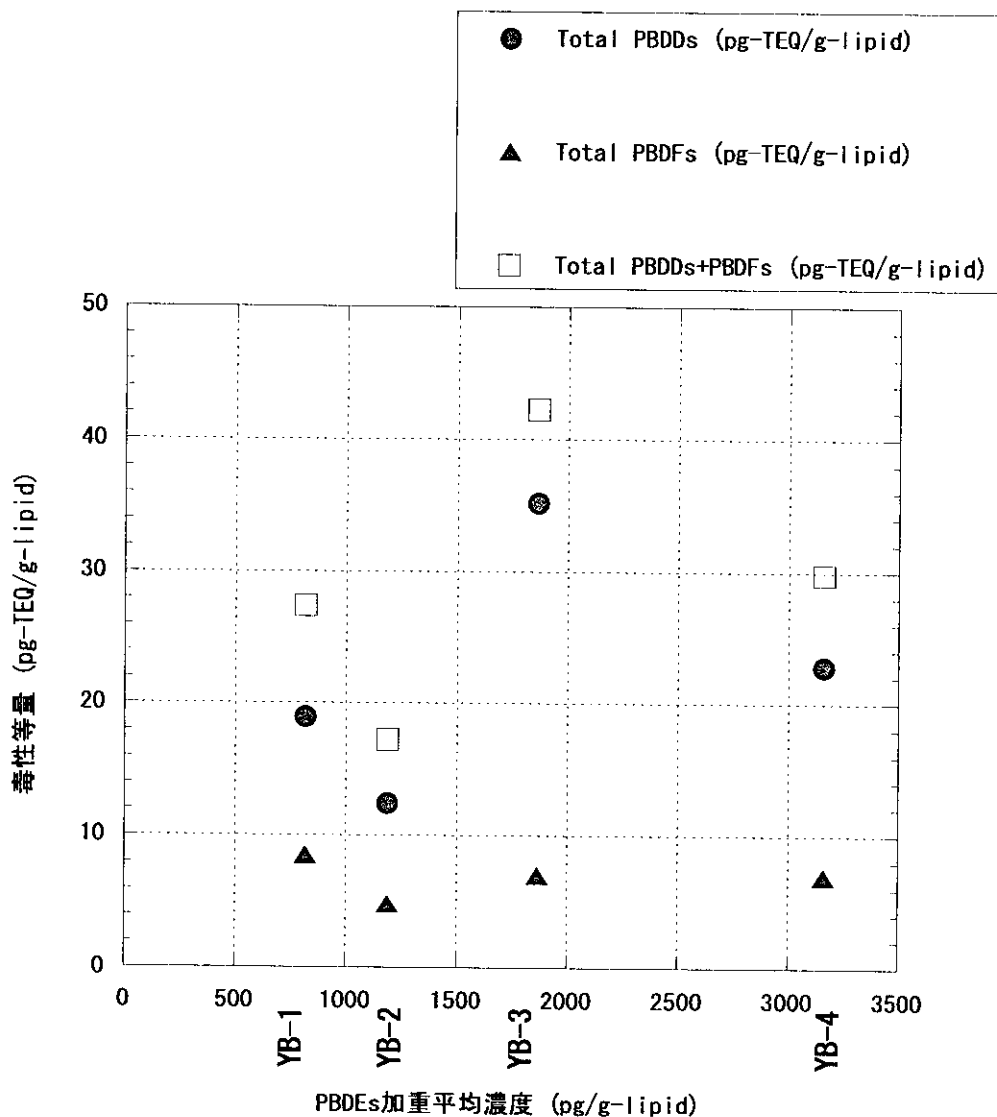


図6. 清掃工場従業員のプール血液中 PBDDs/Fs 毒性等量

F. まとめ

本年度は、昨年度ほぼ確立した試料処理方法に更に改良を加えてより完成に近づけた。そして、血中 PBDDs 分析法を他測定機関の測定結果と比較することにより精度評価を行った。一方、日本バイオアッセイ研究センターで行った毒性評価動物実験に用いた PBDDs を経口投与した実験動物の肝臓および脂肪組織の分析を行い、PBDDs 曝露後の動物体内の PBDDs の半減期を求めた。その結果、約 18 日という半減期が得られた。しかし、まだバラツキが大きく、確定的な半減期ではない。この動物実験試料は、比較的高濃度の PBDDs を含むため

測定過程で分析方法の最適化を行うこともできた。これらの知見を基に、血液中の PBDDs 測定の手順をほぼ確定した。

この方法により一般勤労者の血液 90g の PBDDs 測定を試みたところ、²³⁷⁸TeBDD はじめいくつかの PBDD の検出に成功した。この分析法の疫学研究への応用の手始めとして清掃工場に勤め廃棄物や臭素系難燃剤を扱っていると見られる 20 人から採取した血液を、臭素系難燃剤の血中濃度で四群に分けたいわゆる「プール血液」試料 50g 中の PBDDs 濃度を測定した。ここでも ²³⁷⁸TeBDD およびその他の PBDD の検出に成功したが、臭素系難燃剤の血中濃度とはあまり明瞭な相関は見られなかった。

G. 今後の予定

(1) 引き続き検出・定量下限および、分析器の感度の改善に努め、PBDDs の分析精度を更に上げ安定した結果が得られる分析法の確立を目指す。

(2) PBDDs を経口投与したラットの臓器試料については、残りの肝臓および脂肪試料を分析して測定点を増やすことで、動物臓器中での PBDDs の半減期をより正確に求める。またこの実験動物の一部のラットについては、ごく少量ではあるが、血液および脳の提供を受けているので、それらの PBDDs 分析を行い、体内での PBDDs の挙動を多面的に追跡する。

(3) 清掃工場従事労働者のプール血液については、HpCDF の濃度別にグループ分けしたもう一方のプール血液についても PBDDs 分析を行い、HpCDF と PBDDs との相関を調べる予定である。

(4) 一般人の血液中の PBDDs 測定例を増やし、バックグラウンドレベルを確定する。

H. 研究発表

HAGIWARA M*, TAKAYA M and KOHYAMA N(2004) : Analytical Method for Exposure Monitoring of Dioxins for Workers in Incinerator Plants, Solid Waste Recycles, and Others, Ind Health 42,(in preparation)

萩原 正義、鷹屋 光俊、神山 宣彦 (2004) : 血液中ダイオキシン類分析における試料血液量の少量化、第 77 回 日本産業衛生学会 P3031、392、名古屋

萩原 正義・鷹屋 光俊・神山 宣彦 (2004) : 作業環境管理のための血液試料中ダイオキシン類濃度測定—前処理の自動化と試料量の少量化—、第 13 回 環境化学討論会

第三編 清掃工場労働者における臭素化ジフェニルエーテルの曝露状況

小川康恭、大場謙一、吉田吏江、松本由紀

独立行政法人産業医学総合研究所 作業条件適応研究部

毛利一平、北村文彦、斉藤宏之

独立行政法人産業医学総合研究所 有害性評価研究部

平田衛

独立行政法人産業医学総合研究所 企画調整部

A. 目的

現在難燃剤は建材、家具、電化製品等に幅広く使われている。この難燃剤の主役が臭素化難燃剤であり、その中でも臭素化ジフェニルエーテル (PBDE) がもっぱら使用されていた。一方この PBDE は、高熱が発生する状況においては臭素化ダイオキシン生成における基質として重要である。そこで本年度は前年度に引き続き家庭ごみを主として扱っている清掃工場労働者の PBDE 曝露の状況を調べることにより臭素化ダイオキシン曝露の危険性を有する集団を特定することを目的とした。

B. 対象

対象は3ヶ所の清掃工場で働く労働者72人、男性69人、女性3人、平均年齢45.3歳(22~64歳)であった。調査に先立ち調査説明会を行い、全員から調査協力同意書に署名を得た。

C. 方法

調査当日の朝、空腹状態で70 - 90 ml採血し、その後職歴・作業歴の聴取を行った。職歴・作業歴調査より飛灰曝露作業従事期間を算定した。採取した血液は塩素化ダイオキシン類およびPBDE測定に用いた。塩素化ダイオキシン類はWHO-TEQが示されている塩素化ジベンゾジオキシン(PCDD)7種類、塩素化ジベンゾフラン(PCDF)10種類、Co-PCB12種類の29種類を測定し、PBDEは25種類を測定した。

D. 結果

対象 72 人の性別、年齢別分布を表 1 に示す。また、このうち飛灰曝露作業従事者 (IV 群) は 55 人で平均従事期間は 101.0 月 (3~420 月)、中央値 49.33、平均年齢 45.8 歳 (23~63 歳) であった (表 2)。飛灰曝露作業従事期間による分布を表 3 に示す。従事期間が 5 年までの割合が高かった。

塩素化ダイオキシン類を PCDD、PCDF、Co-PCB の 3 分類にまとめてその TEQ 値を、また PBDE 25 種類の血中濃度を実測値で表 4 に示す。さらに PBDE 25 種類の実測値を総和した値の分布を表 5 に示す。全 72 検体のうち 3 分の 2 以上の検体で検出限界以上の測定値が得られたものは、PCDD では 12378PeCDD、123678HxCDD、1234678HpCDD、OCDD の 4 種、PCDF では 23478HxCDF、123678HxCDF の 2 種、Co-PCB では 33'44'5PeCB、33'44'55'HxCB、233'44'PeCB、2344'5PeCB、23'44'5PeCB、2'344'5PeCB、233'44'5HxCB、233'44'5'HxCB、2344'55'HxCB、233'44'55'HpCB の 10 種、PBDE では 244'TrBDE、23'4'6TeBDE、22'44'TeBDE、22'44'6PeBDE、22'44'5PeBDE、22'44'66'HxBDE、22'44'56'HxBDE、22'44'55'HxBDE の 8 種であった。

PCDD、PCDF、Co-PCB、PBDE の実測値の総和と飛灰曝露作業従事期間との間の相関係数を表 6 に示す。年齢で制御した偏相関係数では何れも有意とはならなかった。

以下では上記 24 種だけで解析を行った。PCDD、PCDF と Co-PCB の個別実測値間で計算された相関係数を表 7 に示す。ほぼ何れの項目とも明確な相関関係が認められた。PCDD、PCDF と PBDE の個別実測値間で計算された相関係数を表 8 に示す。23'4'6TeBDE、22'44'66'HxBDE に関しては PDD および PDF との間に相関を認め、23478PeCDF は 5 種の PBDE とで相関を認めた。しかしその他には相関関係は認められなかった。引き続き Co-PCB と PBDE の個別実測値間の相関係数を表 9 に示す。23'4'6TeBDE、22'44'66'HxBDE ばかりではなく 22'44'6PeBDE、22'44'55' HxBDE にも Co-PCB との相関が認められた。

E. 考察

今回調査できたのは清掃工場労働者 72 人で、そのうち 55 人が飛灰曝露作業従事経験者であった。平均従事期間は 101 カ月で短くはなかったが、中央値は 49 カ月であり 5 年未満であった。塩素化ダイオキシンの平均血中濃度は 20 pg-TEQ/g lipid (2.5~18.4 pg-TEQ/g lipid)、であり、環境省による 253 人を対象とした全国調査の結果である平均 18 pg-TEQ/g lipid (1.3~53 pg-TEQ/g

lipid) の範囲に入っており、過剰曝露の可能性を示す証拠はなかった。飛灰曝露作業従事期間との相関係数は年齢により調整すると、PCDD、PCDF、Co-PCB そして PBDE 何れの血中濃度とも有意な相関は示さなかった。この結果は厚生労働省の清掃工場労働者全国調査(対象 441 人)の結果とは一致しなかったが、その調査における血中濃度の結果、平均 25.5 pg-TEQ/g lipid (3.5~133 pg-TEQ/g lipid) よりは低く、焼却炉作業に伴う過剰曝露はほとんどなかったものと考えられる。

PCDD、PCDF、Co-PCB そして PBDE 相互の相関関係を検討した結果、PCDD、PCDF、Co-PCB 3 者の間には密接な関係があったが、PCDD、PCDF、Co-PCB と PBDE の間の関係はあまり強くなく、PCDD、PCDF と PBDE との関係、PCDD、PCDF と PBDE との関係の順で弱くなっていた。PCDD、PCDF、Co-PCB と PBDE とで曝露経路が異なっていることを示唆している。

昨年度報告書において難燃剤使用建材、プラスチック等の裁断に従事する者の調査が必要であると考察しているが、本年度末にプラスチック等不燃物処理作業に従事している労働者集団の調査を行うことができた。現在その結果を解析中である。また、血中 PBDE 高値者の詳細な検討が必要でありこれに関しても検討中である。