

Fig. 4 Relationship between 2,4-TDA (y) and 2,6-TDA (x) in urine from workers. The data include both pre-shift and post-shift (n=36)

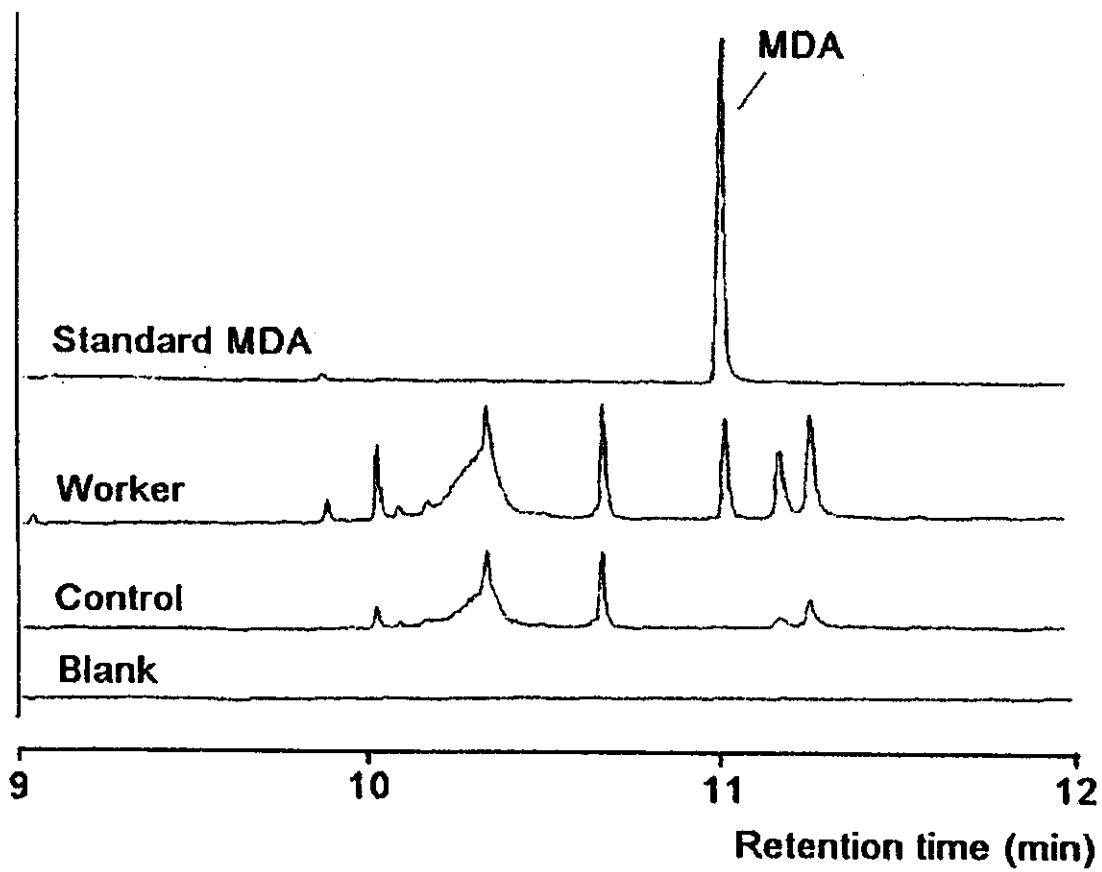


Fig. 5 Chromatographic separation of MDA.

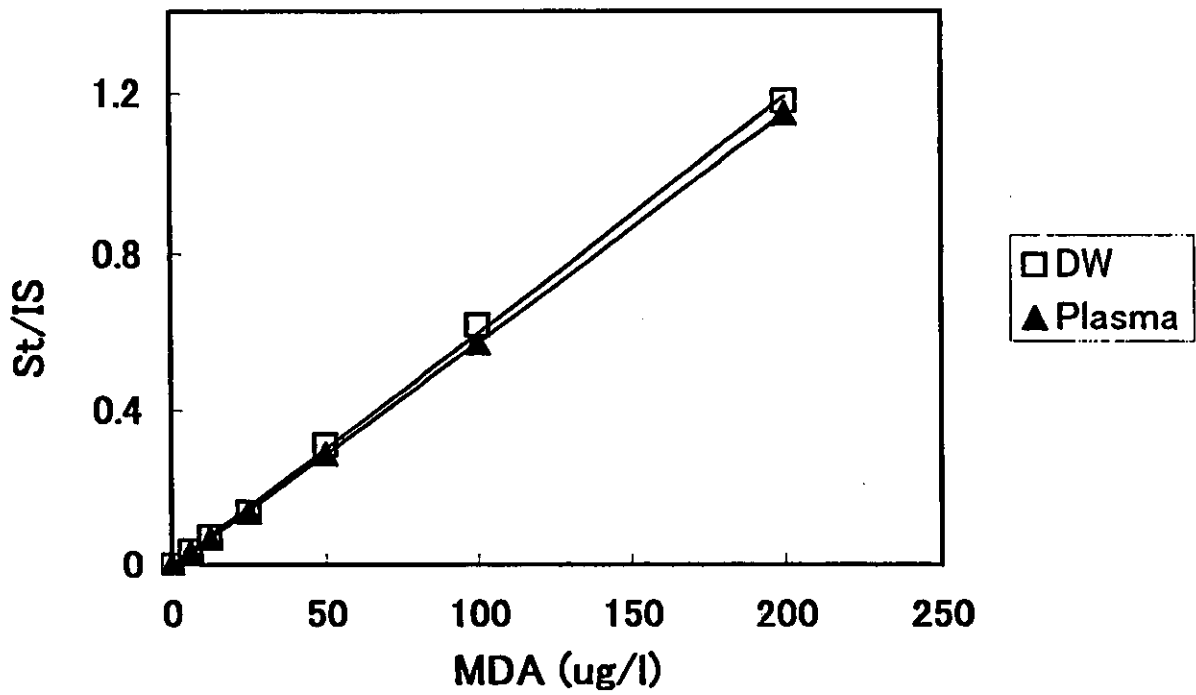


Fig. 6 Calibration curves for DCM in distilled water (DW) and serum from a non-exposed subject

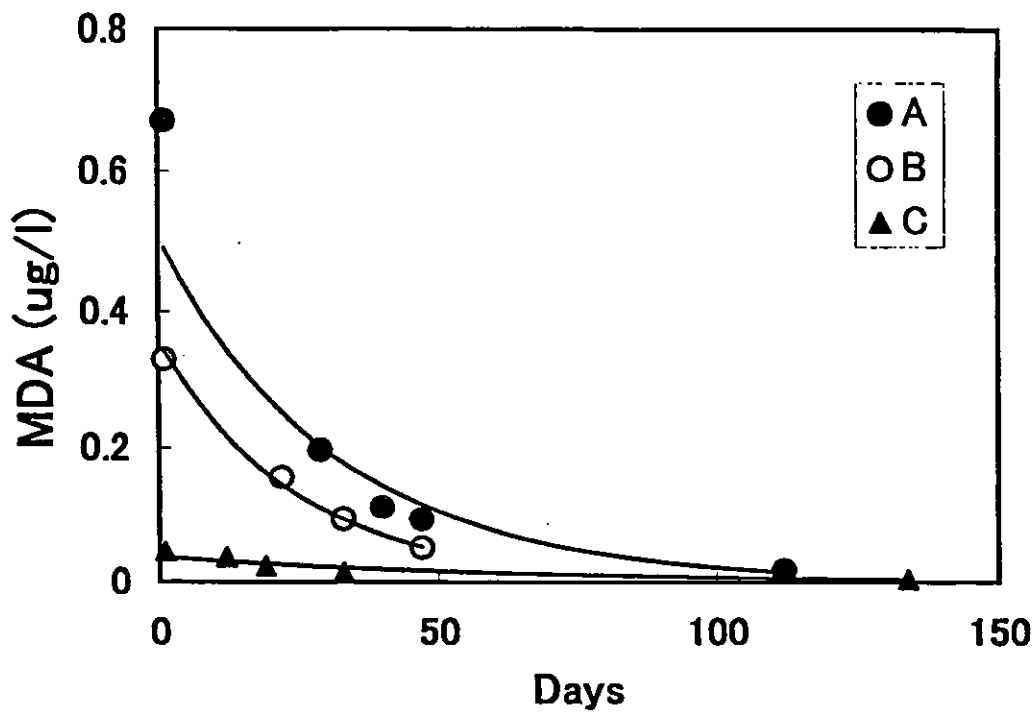


Fig. 7 Decay curves of serum MDA in the three workers after consultation

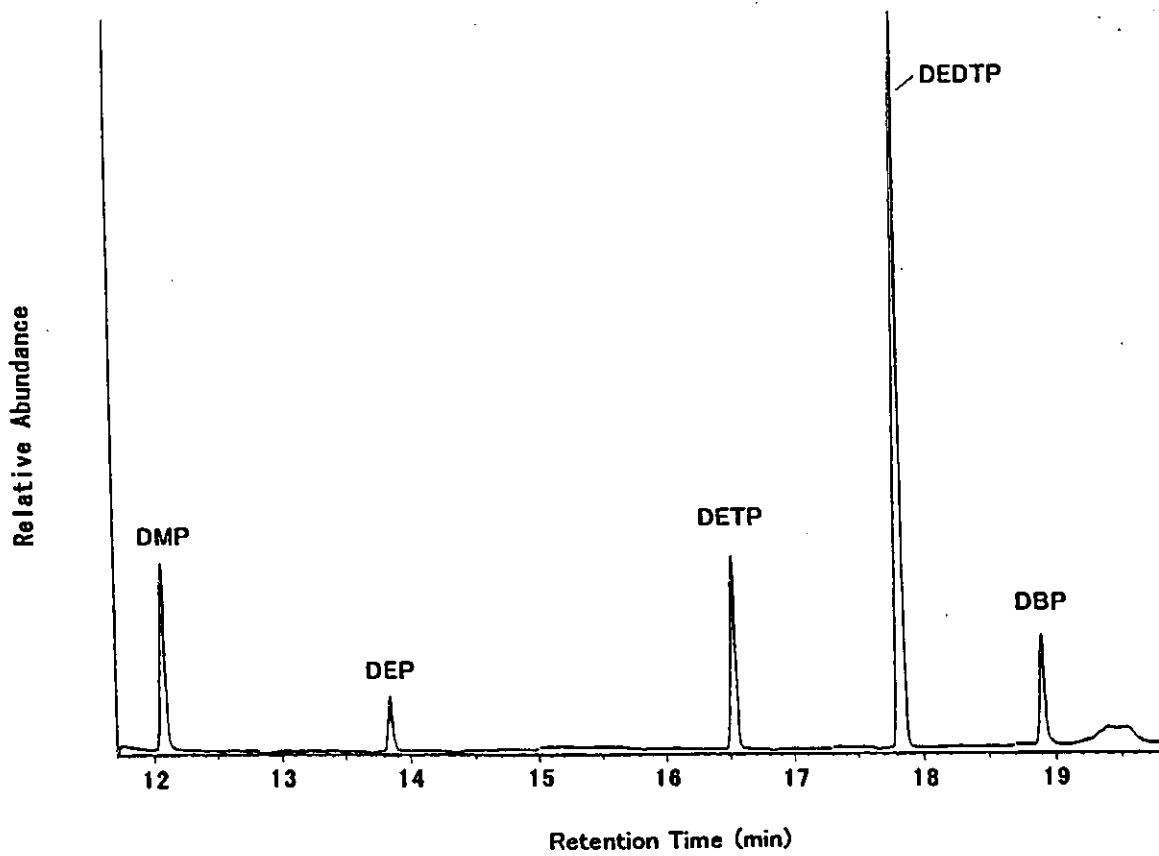


Fig. 8 Chromatographic separation of 5 kinds of dialkyl phosphate
(GC-MS: QP5050-A)

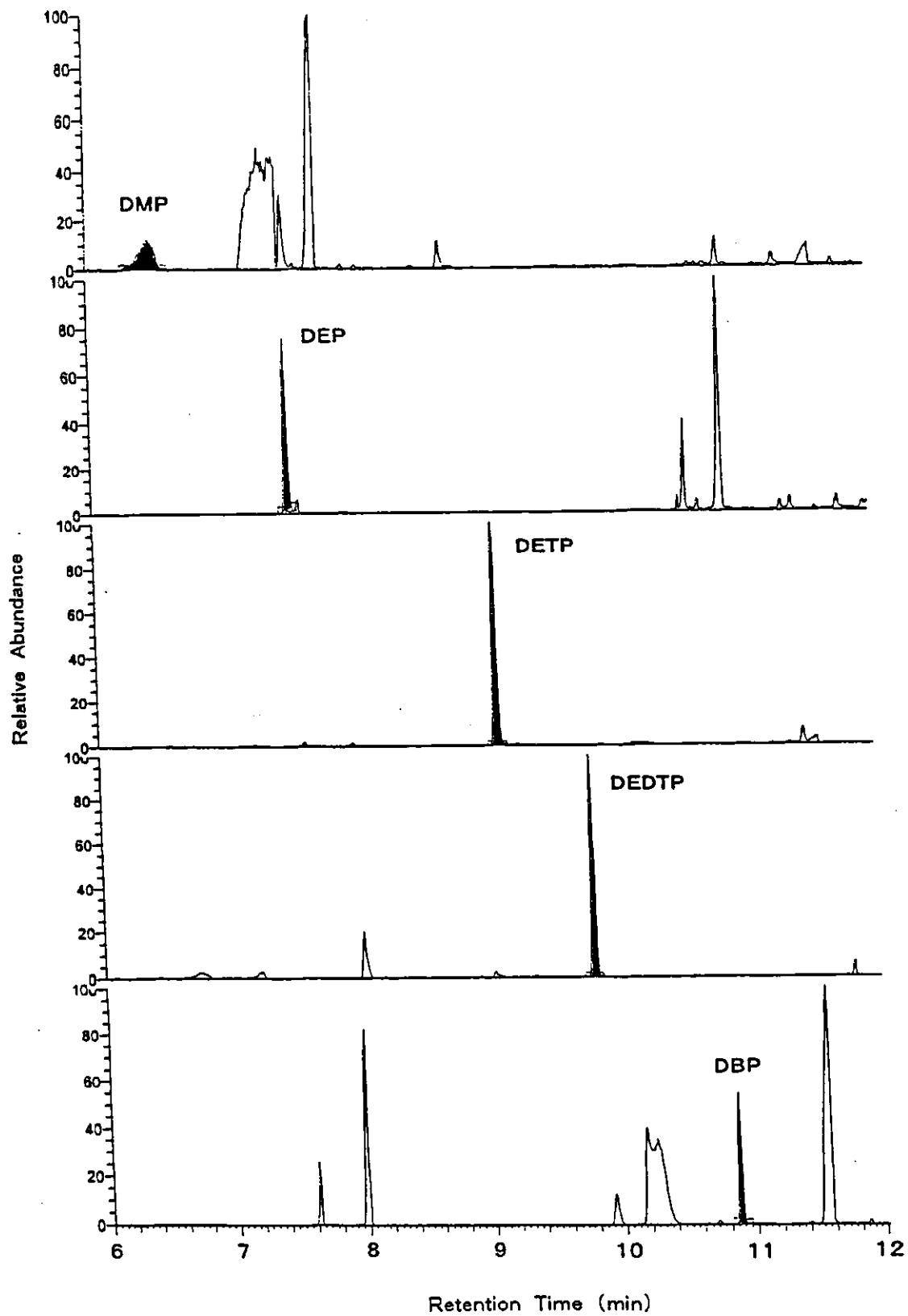


Fig. 9 Chromatographic separation of 5 kinds of dialkyl phosphate (GC-MS: MAT 95XP)

厚生労働科学補助金（労働安全衛生総合研究事業）

分担研究報告書

尿中ジフェニルアルシン酸の測定法の確立に関する研究

分担研究者 圓藤陽子 （独）労働者健康福祉機構
東京労災病院産業中毒センター センター長

研究要旨

旧日本軍が投棄した化学兵器のうち、ヒ素系のルイサイト、トリクロロアルシン、ジフェニルクロロアルシン、ジフェニルシアノアルシンの処理作業では、急性中毒だけでなく、慢性中毒の発生もあり得るので、曝露の管理が必要とされる。しかしながら、作業状況からみると、通常的环境管理法は使えないので、生物学的モニタリングによる曝露管理方法について検討した。測定対象物質として、トリクロロアルシン、ルイサイトの曝露については加水分解産物である尿中無機ヒ素を選び、ジフェニルクロロアルシン、ジフェニルシアノアルシンの曝露についてはそれらの分解物である尿中ジフェニルアルシン酸(DPAA)を選んだ。分析機器としては、ヒ素の高感度検出と分離分析ができる HPLC-ICP-MS を選び、一斉分析ができる分離カラムの検討を行った。陰イオンカラムでは 60 分まで DPAA のピークを認めなかったが、陽イオンカラムでは 23 分に DPAA のピークが見られた。後者のカラムにおいては、検出下限は $0.3 \mu\text{g/L}$ 、検量線は $0-100 \mu\text{g/L}$ で標準液および尿添加試料とも良好な直線性が得られた。以上の結果から、尿試料を用いた、陽イオンカラムによる HPLC-ICP-MS 分析法が、化学兵器処理作業における生物学的モニタリング法として一斉分析ができるので適切であることが明らかになった。このモニタリング法を作業者に採用するために、作業前後における尿中濃度の変化を観察することとした。作業前においては、DPAA および MPAA は検出されなかったが、海産物摂取と関係するヒ素化合物が高濃度に検出され、諸外国で使われている無機ヒ素とメチル化ヒ素の合計濃度を日本人におけるヒ素曝露の指標として用いると、ジメチルアルソン酸の影響が大きいので、これを入れることは適切ではないと考えられた。作業後の尿中濃度については、まだ採尿が終わっておらず、検討は今後の課題である。

研究協力者

中嶋義明 （独）労働者健康福祉機構 東京労災病院・臨床検査科

A. 研究目的

旧日本軍が投棄した化学兵器による健康障害が住民および労働者に発生している。これら化学兵器のうち、ヒ素系のルイサイト、トリクロロアルシン、ジフェニルクロロアルシン、ジフェニルシアノアルシンの処理作業では、急性中毒だけでなく、慢性中毒の発生もあり得る。

これらの取扱作業は、海中からの引き上げやその後の無毒化処理など屋内外における様々な作業があることから、曝露の管理としては、作業環境測定による環境管理法は不可能なので、生物学的モニタリングによる方法を確立する必要がある。

本研究においては、適切な生物学的モニタリング法の確立を目指し、検査対象試料の選定および分析方法を検討した。

処理作業における曝露の評価法として、作業前後の尿中濃度測定を考えた。今回は採尿が終了している作業前の尿中濃度を測定し、検討を加えた。

B. 研究方法

生物学的モニタリング法に用いる試料は、作業員への侵襲がないことおよび不定な作業場と作業時間に対応できるサンプリングが必要とされることから、尿試料とし、トリクロロアルシン、ルイサイトの曝露については加水分解産物である尿中無機ヒ素を選び、ジフェニルクロロアルシン、ジフェニルシアノアルシンの曝露につ

いてはそれらの分解物である尿中ジフェニルアルシン酸(DPAA)を選んだ。

尿試料は純水で5倍希釈した。HPLCはHP-1100(Agilent, USA)を使用した。陽イオン交換カラムとしては、Shodex Rspak NN-614を用い、移動相として5.0 mM HNO₃, 6.0 mM NH₄NO₃, 1.5 mM ピリジンジカルボン酸を用いた。陰イオン交換カラムとしては、日立化成 Gelpak GL IC-A15を用い、移動相として2.0 M PBS, 0.2 mM EDTA (pH6.0)を用いた。流量は1 mL/min、試料注入量は50 μLで、化学形態別分離を行い、ICP-MS (HP4500, Agilent, USA)に導入し、m/z=75で検出した。

C. 研究結果

陰イオンカラムでは60分までにDPAAの流出ピークを認めなかったが、陽イオンカラムでは図1に示すように標準液および尿添加試料ともに、23分にDPAAのピークが検出された。後者のカラムにおいては、図2に示すようにDPAA水標準液および尿添加標準液のいずれにおいても検量線は0-100 μg/Lで良好な直線性が得られ、CV 4.0% (n=10)、検出下限は0.3 μg/Lであった。DPAAを20 μg/L濃度で尿に添加したときの回収率は92.9 ± 6.2% (n=20)であった。

66名の作業員における作業前の尿中濃度を測定した結果を表1に示した。これは、非曝露者の尿中濃度に相当する。DPAAは検出されず、最も多く検出されたヒ素化合物は総ヒ素化合

物の 62%を占めるアルセノベタイン ルアルシン酸(DMA)であった (AsBe)で、ついで 34%を占めるジメチ

図 1. 陽イオン交換樹脂による一斉分析のクロマトグラム

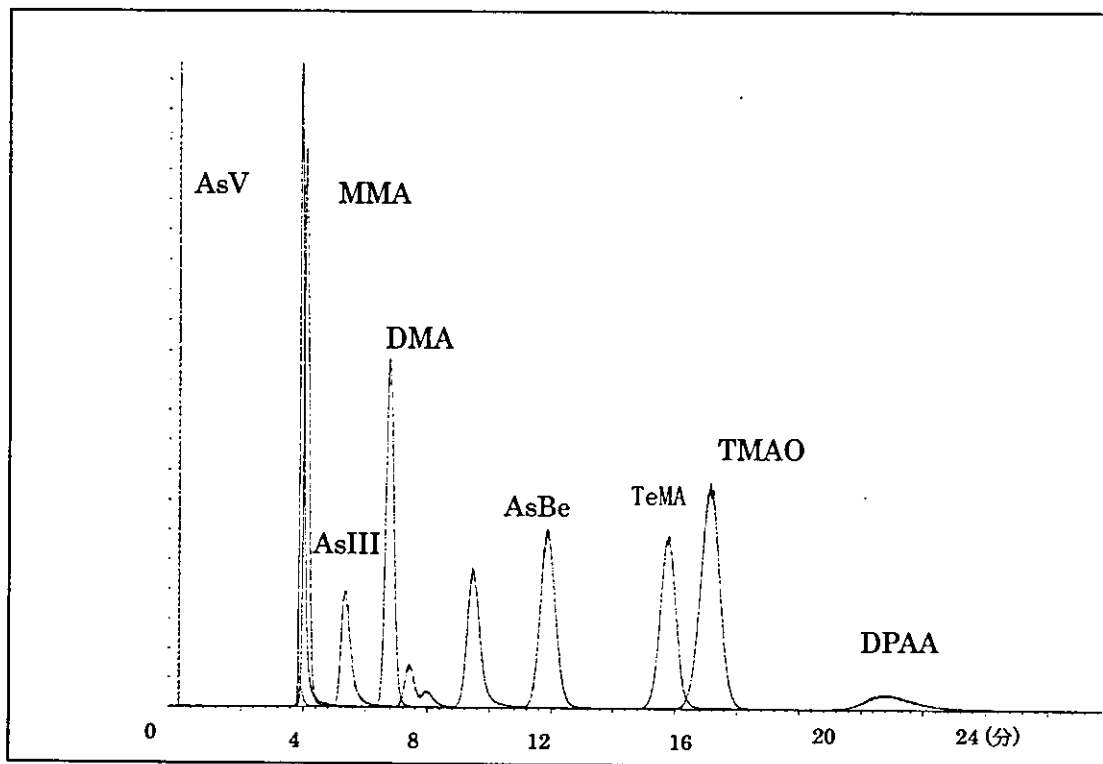
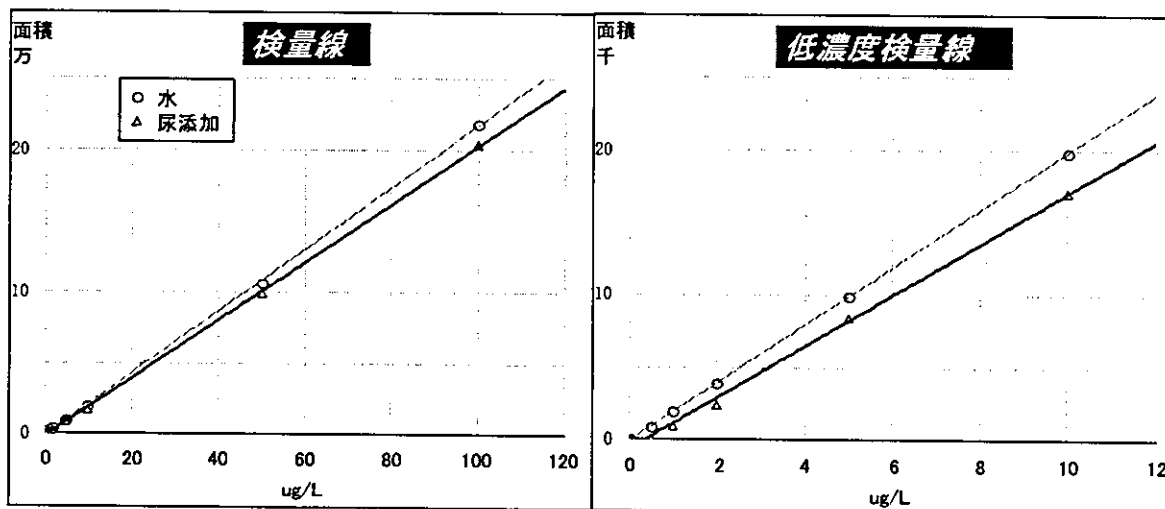


図 2. DPAA 検量線



水	$r=0.99992$	$n=8$	水	$r=0.99997$	$n=6$
	$Y=2.18e+3X-780$			$Y=2e+3X-78.3$	
尿添加	$r=0.99985$	$n=8$	尿添加	$r=0.99819$	$n=6$
	$Y=2.04e+3X-1.6e+3$			$Y=1.77e+3X-657$	

表 1. 尿中ヒ素代謝物濃度 (N=66, $\mu\text{g/L}$)

ヒ素化合物	平均 \pm 標準偏差	範囲
無機ヒ素 (5 価)	0.5 \pm 1.1	<0.1 - 46.6
無機ヒ素 (3 価)	5.3 \pm 11.0	<0.1 - 49.6
メチルアルソン酸	3.1 \pm 4.8	<0.1 - -28.5
ジメチルアルシン酸	64.4 \pm 46.6	5.4 - 198
アルセノベタイン	1193 \pm 102	11.0 - 351
ジフェニルアルシン酸	<0.3	<0.3
総ヒ素量	217 \pm 147	24.9 - 707

D. 考察

化学兵器の処理作業で最も問題となる曝露は、ヒ素系のジフェニルアルシン化合物である。この化学物質暴露による生物学的モニタリング法としては、今回の尿試料による陽イオンカラムを用いた HPLC-IC-MS 分析法により、代謝物である DPAA の検出感度も良く、検量線の直線性も良く、安定した高感度分析が可能となった。

一方、ルイサイトなどの曝露においては、尿中無機ヒ素が対象物質となるので、ヒ素化合物の分離分析が必要となる。本研究において、無機ヒ素から

DPAA までのヒ素化合物の一斉分析が可能であることが示されたので、化学兵器処理作業者の生物学的モニタリング法として、本方法が適切であることが明らかになった。

この方法により、作業前の尿中濃度測定を実施した結果、DPAA は検出されなかった。この結果は、通常環境においてはジフェニルアルシン化合物が存在しないことを示しており、予想通りであった。しかしながら、尿中ヒ素化合物濃度は表 1 に明らかなように総ヒ素量としては高濃度であった。ヒ素化合物のうち、AsBe が総ヒ素量のほぼ 2/3 を占めたのは、彼らが、海岸

部に居住するため、海産物摂取が多いからだと推定された。また、メチル化ヒ素のうち DMA が総ヒ素量の約 1/3 を占めていた。無機ヒ素は体内でメチル化され、その代謝物としてはモノメチルアルソン酸(MMA)と DMA が尿中に排泄される。今回、高濃度の DMA が尿中から検出されたが、他の無機砒素および MMA の合計量は総ヒ素量の約 5%と DMA よりかなり少ないので、検出された DMA は無機ヒ素由来ではなく海産物由来だと推定される。

米国 ACGIH は無機ヒ素曝露の許容濃度

として TLV-TWA $0.01\text{mg}/\text{m}^3$ を勧告し、

生物学的許容値(BEI)に無機ヒ素とメチル化ヒ素の合計濃度として $35\mu\text{g As}/\text{L}$ を設定している。また、ドイツ

(DFG) は管理濃度 $0.01\text{mg}/\text{m}^3$ に対

応する尿中ヒ素濃度(無機ヒ素+メチル化ヒ素)として $50\mu\text{g As}/\text{L}$ を設定している。日本人においては、本研究でも明らかなように海産物摂取によるヒ素濃度の上昇が顕著で、尿中 DMA 濃度も高いことが知られている。今回の結果においても、66 名の DMA 平均値はこれだけでいずれの国の勧告値も超えてしまっている。

以上のごとく、日本人においては、海産物摂取と関係するヒ素化合物が高濃度に検出され、諸外国で使われている無機ヒ素とメチル化ヒ素の合計濃度を日本人におけるヒ素曝露の指標として用いると、DMA の影響が大きいことから、無機ヒ素曝露の指標に

DMA を入れることは、日本人においては適切ではないと考えられた。作業後の尿中濃度については、まだ採尿が終わっておらず、検討は今後の課題である。

E. 結論

- 1) ヒ素系化学兵器曝露評価には、尿を用いた生物学的モニタリングをする必要がある。
- 2) 測定対象物質としてはトリクロロアルシン、ルイサイトの曝露については加水分解産物である尿中無機ヒ素、ジフェニルクロロアルシン、ジフェニルシアノアルシンの曝露についてはそれらの分解物である尿中 DPAA とした。
- 3) 陽イオン交換カラムを用いた HPLC-ICP-MS 分析により、尿中の DPAA と無機ヒ素の分離分析を 30 分で実施できた。
- 4) DPAA の検出下限は $0.3\mu\text{g}/\text{L}$ 、検量線は $0-100\mu\text{g}/\text{L}$ において直線性が得られ、再現性も $\text{CV}=4\%$ と良好であった。
- 5) 尿に DPAA を $20\mu\text{g}/\text{L}$ 濃度で添加したときの回収率は $92.9 \pm 6.2\%$ ($n=20$) であった。
- 6) 日本人では、非曝露者においても尿中総ヒ素は高濃度であった。
- 7) 無機ヒ素曝露の指標に、DMA を入れることは問題がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 東実千代、磯田憲生、疋田洋子、宮崎竹二、竹内靖人、河合俊夫、圓藤陽子：室内のフタル酸エステル濃度と健康影響に関する事例研究、家政学研究 50(2) : 1-10, 2004.
- 2) 池田浩己、中澤浩子、河本光平、山下敏夫、圓藤陽子、芝埜彰、嶽良博、榎本雅夫：光触媒装置により軽快を認めたシックハウス症候群の1例、アレルギーの臨床 24 (6) : 478-481, 2004.
- 3) Kuroda K, Yoshida K, Yoshimura M, Endo Y, Wanibuchi H, Fukushima S, Endo G: Microbial metabolite of dimethylarsinic acid is highly toxic and genotoxic. Toxicol Appl Pharmacol. 198(3):345-53, 2004
- 4) Kuroda K, Yoshida K, Yoshimura M, Endo Y, Wanibuchi H, Fukushima S, and Endo G: Genotoxicity of dimethylarsinous acid: high induction of tetraploids. Appl Organometal Chem. 19: 221-225, 2005
- 5) 圓藤吟史、中嶋義明、圓藤陽子：海産物のヒ素-その健康リスク、医学のあゆみ 212(9) : 846-847, 2005
- 6) 圓藤陽子、圓藤吟史：酸無水物による健康障害、産業医学レビュー、17(4) : 179-190, 2005
- 7) Nakazawa H, Ikeda H, Yamashita T, Hara I, Kumai Y, Endo G, Endo Y: A

Japanese office worker. Ind Health press, in press.

2. 学会発表

- 1) 池田浩己、中澤浩子、圓藤陽子、榎本雅夫、山下敏夫：アレルギー外来からみたシックハウス症候群及び化学物質過敏症、第13回日本臨床環境医学会総会、旭川、2004. 7. 2-3.
- 2) 圓藤陽子、竹内靖人、西中川秀太、森田陽子、中嶋義明、圓藤吟史：医学教員におけるホルムアルデヒド曝露、第52回日本職業災害医学会、岡山、2004.11. 11-12
- 3) 中嶋義明、坂井 公、圓藤陽子、森田陽子。ヒ素系化学兵器の生物学的モニタリングの検討。第52回日本職業・災害医学会、岡山、2004.11. 11-12
- 4) 安部 みき子、中島 裕司、木山 博資、圓藤 陽子、圓藤 吟史：肉眼解剖学実習の準備作業における教員のホルムアルデヒド曝露、第110回日本解剖学会総会・全国学術集会、岡山、2005. 3. 28-30
- 5) 圓藤吟史、安部みき子、中島裕司、木山博資、圓藤陽子、宮崎竹二、竹内靖人、小松晃雄：光触媒蛍光灯による肉眼解剖学準備室の環境中ホルムアルデヒド濃度の低減化、第110回日本解剖学会総会・全国学術集会、岡山、2005. 3. 28-30

G. 知的所有権の取得状況

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル	発表誌名	巻名	ページ	出版年
坂井 公、中嶋義明、森田陽子、井上 修、村田勝敬、小野崎幾之助	低濃度n-ヘキサン曝露の指標としての遊離および総2,5-ヘキサジオンの有用性	日本職業・災害医学会誌	52	308-314	2004
中村陽一、小倉英郎、真鍋亜希子、山中清香、竹林 優、小川博久、坂井 公、森田陽子、西中川秀太、永田直一、吉田成二	メチレンジフェニルイソシアネート曝露による急性呼吸器症状および慢性化学物質過敏症状を呈した3例に関する検討	産業医学ジャーナル	28	19-23	2005
Sakai T, Morita Y, Roh J, Kim H, Kim Y	Improvement in the GC-MS method for determining urinary toluene-diamine and its application to the biological monitoring of workers exposed to toluene-diisocyanate.	Int Arch Occup Environ Health	78	in press	2005
Kuroda K, Yoshida K, Yoshimura M, Endo Y, Wahibuchi H, Fukushima S,	Micobial metabolite of dimethylarsinic acid is highly toxic and genotoxic	Toxicol Appl Pharmacol	198	345-353	2004
Kuroda K, Yoshida K, Yoshimura M, Endo Y, Wahibuchi H, Fukushima S,	Genotoxicity of dimethylarsinous acid: high induction of detraploids	Appl Organometal Chem	19	221-225	2005
圓藤吟史、中嶋義明、圓藤陽子	海産物のヒ素—その健康リスク	医学のあゆみ	212	846-847	2005

低濃度 n-ヘキサン曝露の指標としての遊離および 総 2, 5-ヘキサンジオンの有用性

坂井 公^{1,2)}, 中嶋 義明³⁾, 森田 陽子^{1,2)}

井上 修⁴⁾, 村田 勝敬⁵⁾, 小野崎幾之助⁶⁾

¹⁾ 東京労災病院産業中毒センター, ²⁾ 同 産業中毒研究センター, ³⁾ 同 検査科, ⁴⁾ 東北労災病院検査科,

⁵⁾ 秋田大学医学部環境保健学, ⁶⁾ 秋田産業保健推進センター

(平成16年6月17日受付)

要旨: n-ヘキサンに低濃度 (16.1ppm以下) 曝露する作業員において, 尿中代謝物 2, 5-ヘキサンジオン (HD) を加水分解して測定した総HD (tHD) と加水分解しないで得られる遊離のHD (fHD) を測定して個人曝露濃度と比較した. n-ヘキサンは仏壇製造工場の金箔張りの工程で使用され, その工程に従事する作業員 (直接曝露する比較的高濃度群, A群) とその周辺の作業員 (周辺で曝露する低濃度群, B群) を対象とした. 有機溶剤に曝露しない別の事業所の作業員 (C群) についてfHDを測定したが検出限界以下であった. A, B群の個人曝露濃度の平均はそれぞれ7.59, 0.409ppmであり, fHDは0.110, 0.019mg/l, tHDは0.620, 0.292mg/lであった. tHDおよびfHDとも個人曝露濃度と相関し, 生物学的モニタリングとして有効であることが明らかとなった. fHDは補正なし, tHDはクレチニン補正する方が個人曝露濃度との間で良い相関が得られ, A, B群間の差も明確であった.

(日職災医誌, 52: 308—314, 2004)

—キーワード—

n-ヘキサン, ヘキサンジオン, 遊離ヘキサンジオン, 生物学的モニタリング

はじめに

n-ヘキサンは接着剤, 塗料, 精密機械の洗浄などとして使用される他¹⁾, ホワイトガソリンの成分としても含まれる²⁾. これら n-ヘキサンを使用する作業現場では n-ヘキサンは主として経気道的に吸収されるが, 皮膚や消化管からの吸収もあると考えられる. 吸収された n-ヘキサンは, 代謝により 2, 5-ヘキサンジオン (HD), 4, 5-ジヒドロキシ-2-ヘキサノン, 2, 5-ジメチルフランなどとなり, 大部分は抱合体として尿中に排泄されるが, 一部は遊離の状態でも排泄される³⁾. 主要な尿中代謝物, HDの尿中排泄の半減期は13~14時間とされている⁴⁾⁵⁾. n-ヘキサンによる末梢神経障害はn-ヘキサンの主要代謝物であるHDによると考えられている⁶⁾⁷⁾.

n-ヘキサン曝露者の生物学的モニタリングとしては一般には尿中を酸加水分解して得られる抱合体HDと遊離のHD (fHD) を合わせた総HD (tHD) が測定される.

加水分解により尿中に検出されるHDの大部分は4, 5-ジヒドロキシ-2-ヘキサノンのグルクロン酸の抱合体に由来すると考えられている⁸⁾⁹⁾. 有機溶剤中毒予防規則によるn-ヘキサン曝露者の生物学的モニタリングでも加水分解して得られるtHDにより評価される. しかし, 日本産業衛生学会は生物学的許容値として酸加水分解なしで測定するfHDの許容値も提案している³⁾.

本研究では管理濃度以下の低濃度n-ヘキサン曝露作業員の生物学的モニタリングとしてtHDとfHDの測定を行い, 両測定値を比較し曝露評価としての有用性を検討した.

材料と方法

対象は仏壇製造業に従事する作業員60名 (男子32名, 女子28名) で, 作業は, 研磨, 金箔張り, 組み立て, 営業などに分かれていた. n-ヘキサンを扱う作業は金箔張りに限られ (直接曝露する比較的高濃度群, A群, 19名), 他の工程の作業員 (周辺で曝露する低濃度群, B群, 41名) では, 吹き付け作業にキシレン, 研磨にはスチレンを主に使用していた. このほか, n-ヘキサンを使用しない他の事業所の対照作業員 (C群, 30名) につ

Total and free 2,5-hexanedione in urine as the biological monitoring indices for workers exposed to n-hexane at low levels

いても尿を採取した。

60名の作業場で、先に報告した酸加水分解法¹¹⁾によりtHDを測定したほか、利用可能な尿量のある検体、34名(A群10名、B群24名)については酸加水分解なしに測定する方法でも測定してfHDを得た。酸加水分解する方法では、尿3mlに塩酸0.3mlを添加して2時間沸騰水中で加水分解した後、ジクロロメタンにより抽出した。分析はオートサンプラーとFID検出器を付けたガスクロマトグラフ(島津GC17)にて行った。用いたキャピラリカラムはTC1701(GLサイエンス社製、30m、0.53mmID、1μm)である。加水分解しない方法では酸添加の有無による測定への影響を比較した。酸無添加、加水分解なしではジクロロメタンによる抽出の際にエマルジョンとなるため、1gの塩化ナトリウムを添加して遠心分離し抽出した。尿中fHD、tHDはクレアチニン(Cre)および比重の測定も行い補正した。クレアチニンおよび比重の測定はそれぞれヤッフェ法、蛋白屈折計(エルマ製D型)によった。

n-ヘキサンの個人曝露濃度は活性炭入り個人サンプラー(3M製)により捕集を行いジクロロメタンによる脱着後、ガスクロマトグラフ質量分析計(パーキンエルマ社、オートシステムガスクロマトグラフ、Q-マス910)にて測定した。カラムはスペルコワックス10(スペルコ社製、60m、0.32mmID、0.5μm)を用いた。

結 果

n-ヘキサンの代謝物である2, 5-ヘキサジオン(HD)を加水分解なしで測定する方法では、酸を添加すると無添加に比べわずかに高い値を示す検体もあり、HD以外の物質の測りこみのあることが考えられた(Fig.1)。このため加水分解なしで測定する方法では酸を添加しないこととした。この方法では非曝露対照者、C群では検出限界(ND=0.01mg/l)以下であった。

今回調査した仏壇製造業ではn-ヘキサンは金箔貼りの工程で使用されるホワイトガソリンに含まれていた。この工程(A群、10名)のn-ヘキサンの平均曝露濃度は7.59ppmで、その範囲は0.01~16.1ppmであった。これ

以外の周辺の工程(B群、24名)でも平均0.409ppm、その範囲は0.01~1.7ppmの曝露が認められた。

34名のAおよびB群の個人曝露濃度、tHD、fHDの平均とSDをTable 1に示す。AB群間ではn-ヘキサン個人曝露濃度、tHD、fHDのいずれも有意差が認められた。しかし、tHDでは両群間の差は未補正(p<0.01)に比べクレアチニン、比重補正(p<0.001)でより明確になるが、fHDでは逆に補正なし(p<0.001)の方がクレ

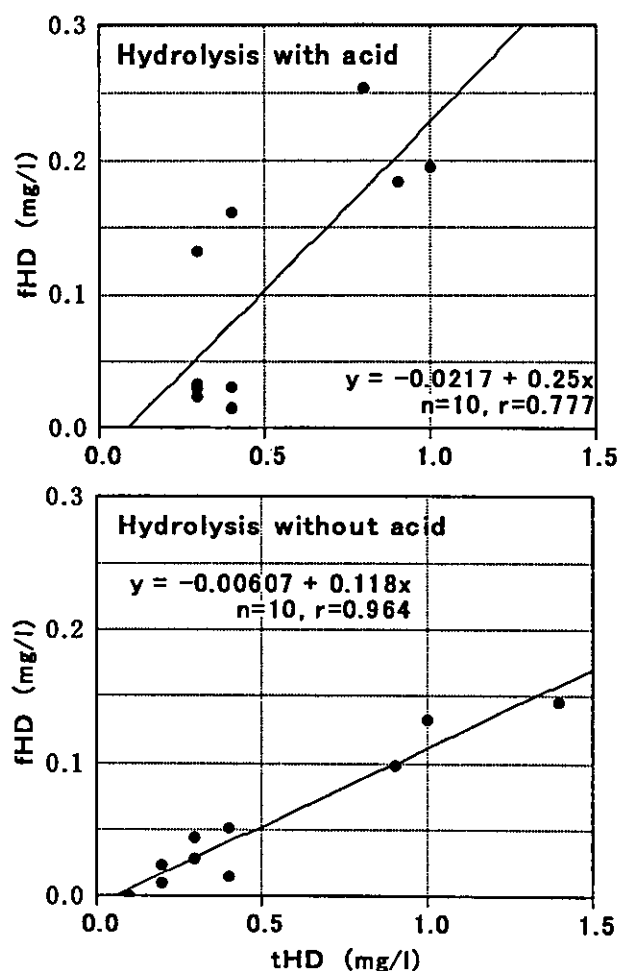


Fig. 1 Relationship between fHD and tHD in hydrolysis with or without acid.

Table 1 Average levels and SD of personal exposure levels of n-hexane, tHD and fHD levels in exposure groups.

Groups	Personal exposure level (ppm)	tHD mg/l	tHD mg/l (SG=1.02)	tHD mg/g Cre	fHD mg/l	fHD mg/l (SG=1.02)	fHD mg/g Cre
A + B average n=34	2.521	0.388	0.425	0.443	0.046	0.054	0.063
SD	4.232	0.278	0.263	0.322	0.050	0.064	0.086
A average n=10	7.590	0.620	0.723	0.845	0.110	0.136	0.167
SD	5.146	0.262	0.223	0.331	0.049	0.067	0.101
B average n=24	0.409	0.292	0.301	0.275	0.019	0.020	0.020
SD	0.530	0.228	0.163	0.102	0.016	0.014	0.016

a: p < 0.001 between group A and B b: p < 0.01 between group A and B

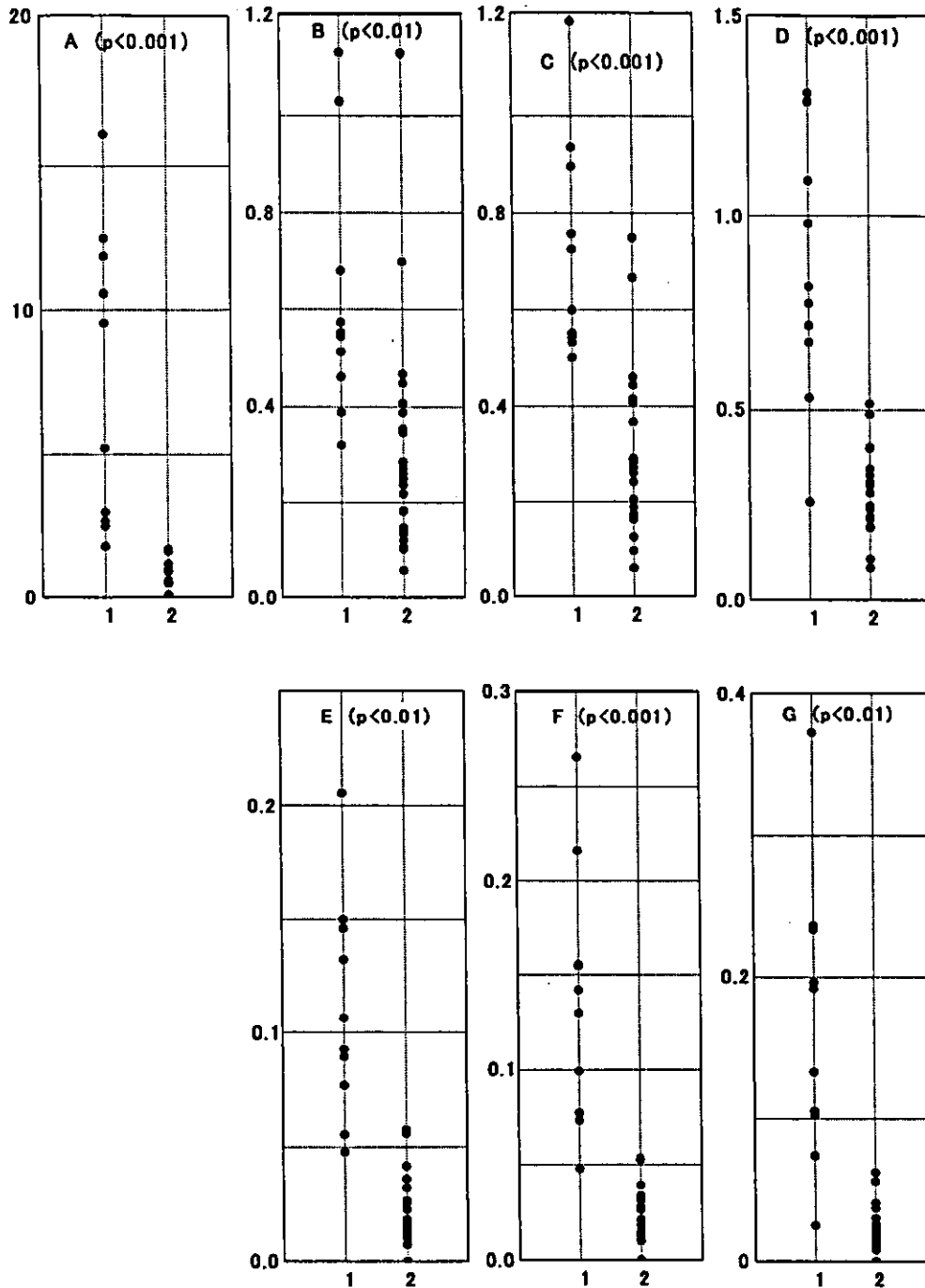


Fig. 2 Comparison of personal exposure levels, tHD and fHD levels in two groups.
 1: Exposed group, 2: Non-exposed group. A: Personal exposure levels of n-hexane (ppm). B: tHD (mg/l), C: tHD (mg/l, SG=1.020). D: tHD (mg/g Cre). E: fHD (mg/l), F: fHD (mg/l, SG=1.020), G: fHD (mg/g Cre).

アチニン補正 ($P < 0.01$) より両群間の差がはっきりする (Fig. 2).

A群とB群をあわせてfHD (y) 値と加水分解によるtHD (x) とを比較すると、両者の間には $y = -0.00562 + 0.132x$ ($n = 34$, $r = 0.730$) の関係が得られた (Fig. 3). A群のみでは $y = 0.0296 + 0.13x$ ($n = 10$, $r = 0.703$), B群では $y = 0.00587 + 0.0443x$ ($n = 24$, $r = 0.640$) となり、B群ではtHDに対するfHDの割合が低下する傾向

にあった。tHDに対するfHDの割合はA群とB群でそれぞれ18.7% (9.6~29.1%), 7.3% (0~21.1%)であった。

Fig. 4はfHDおよびtHDとn-ヘキサン個人曝露濃度と関連を示す。両者の間には良好な相関が認められ、後者では比重およびクレアチニン補正で相関の改善が認められるが、前者では補正なしの方がより良い相関を示し、補正による相関の改善は認められなかった。

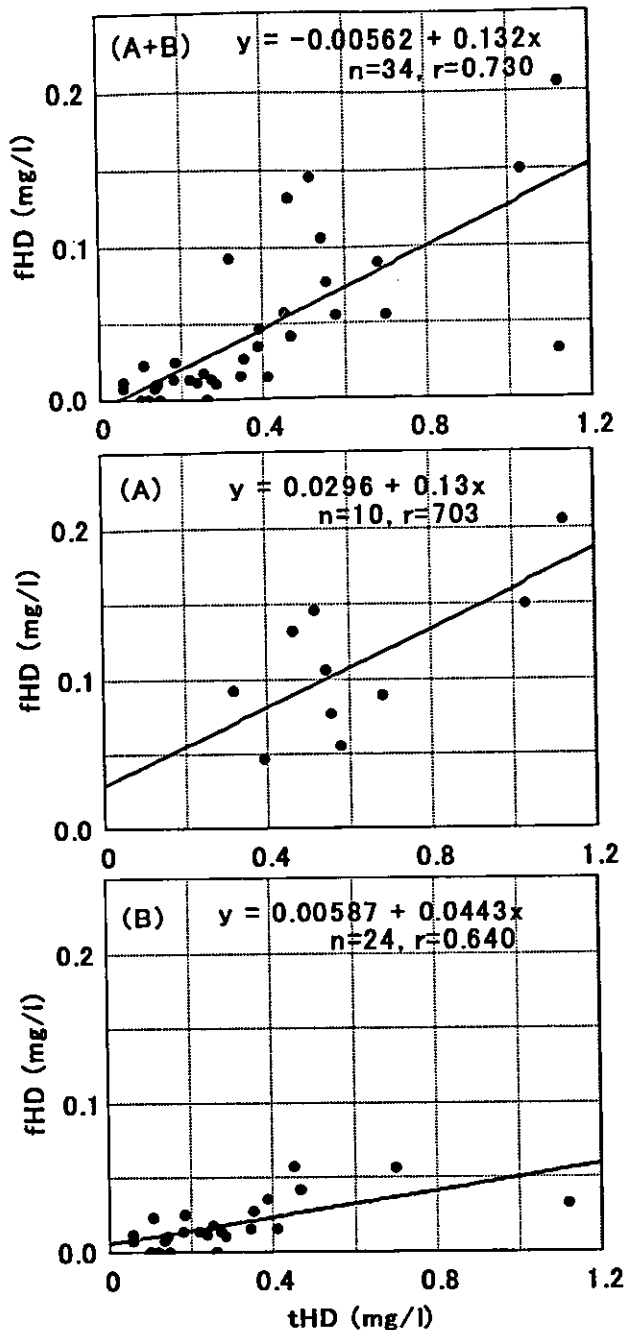


Fig. 3 Relationships between fHD and tHD in groups A+B, A, and B.

Fig. 5は全作業員 $n = 60$ におけるtHDとn-ヘキサン個人曝露濃度との関連である。この場合(tHD)も比重またはクレアチニン補正によって相関の改善が認められた。

考 察

加水分解して測定する場合(tHD)は、未補正に比べ補正(比重またはクレアチニン)によりA群とB群の差がより明確になり、加水分解なし(fHD)では逆に補正しない方がより両群間の差がはっきりすることがFig. 2

で示された。これはFig. 4の相関図によっても裏付けられる(後述)。即ち、加水分解した場合にはクレアチニン補正が有効であるが、加水分解しない場合には補正によらない方が曝露の有無をより明らかに示すことが明らかになった。

ヘキサン曝露の指標として、ACGIHは2000年までは加水分解によるtHDのクレアチニン補正値を採用¹⁰⁾していたが、2003年にはBEI(生物学的曝露指標)としてfHDをクレアチニン補正しないで0.4mg/lと設定した¹¹⁾。日本産業衛生学会ではtHDのみならず、fHDをもクレアチニン補正してそれぞれ、3mg/gCre, 0.33mg/gCreの生物学的許容値を提案している³⁾。これらの尿中代謝物濃度は許容濃度40ppmに対応するものとして設定されているものと考えられる。一方、我が国のn-ヘキサンの特殊健康診断では加水分解したtHDをクレアチニン補正せず、2および5mg/lにより分布区分、評価している。この様に、n-ヘキサン代謝物の評価には加水分解とクレアチニン補正に関連して未だ統一した見解が得られていない。

今回の測定では個人曝露濃度とクレアチニン補正した尿中tHDまたはfHDとの間の回帰式はいずれもよい相関係数($r > 0.8$)を示していた(Fig. 4)。この回帰式から計算すると、tHD、fHDの許容濃度対応値はそれぞれ2.8, 0.7mg/gCreとなる。前者は日本産業衛生学会の生物学的許容値に近いが、後者はより高値となった。この理由の一つとしてfHDをクレアチニン補正値で比較する問題があげられる。即ち、fHDはクレアチニン補正を行わない方が曝露濃度との相関が良好であった(Fig. 4)。このことはfHDについてはクレアチニン補正によらない2003年のACGIHの見解(BEIとしてfHDを0.4mg/lと設定¹¹⁾)を支持するものでもある。ACGIHのBEI値は50ppmのn-ヘキサンのTLVに対応するものと考えられる。50ppmに対応するfHDは、今回の未補正の相関式よると0.57mg/lとなるが、他方、Kawaiら¹²⁾の相関式からは0.3mg/lと計算される。ACGIHの0.4mg/lはこの中間的な値となっている。

本研究ではtHDにおけるfHDの割合はA群とB群でそれぞれ平均18.7%, 7.3%であった。しかし、その範囲はA群とB群でそれぞれ9.6~29.1%, 0~21.1%と著しく大きな変動幅を示していた。我々は先に尿中のfHDはtHDの約20%で、その変動幅も0.4~28.4%であると報告しているが²⁾、今回の結果もほぼこれに合致する結果であった。個々の作業員におけるfHDの割合が変動するにもかかわらず、fHDおよびtHDともn-ヘキサン個人曝露濃度と良好な相関を示した。

tHDとn-ヘキサン個人曝露濃度との相関ではこれまで多くの報告がある¹²⁾⁻¹⁷⁾。今回の相関式により計算すると40ppmに対応する尿中tHD濃度は2.8mg/g Cre ($n = 34$, Fig. 4) または2.0mg/g Cre ($n = 60$, Fig. 5)とな

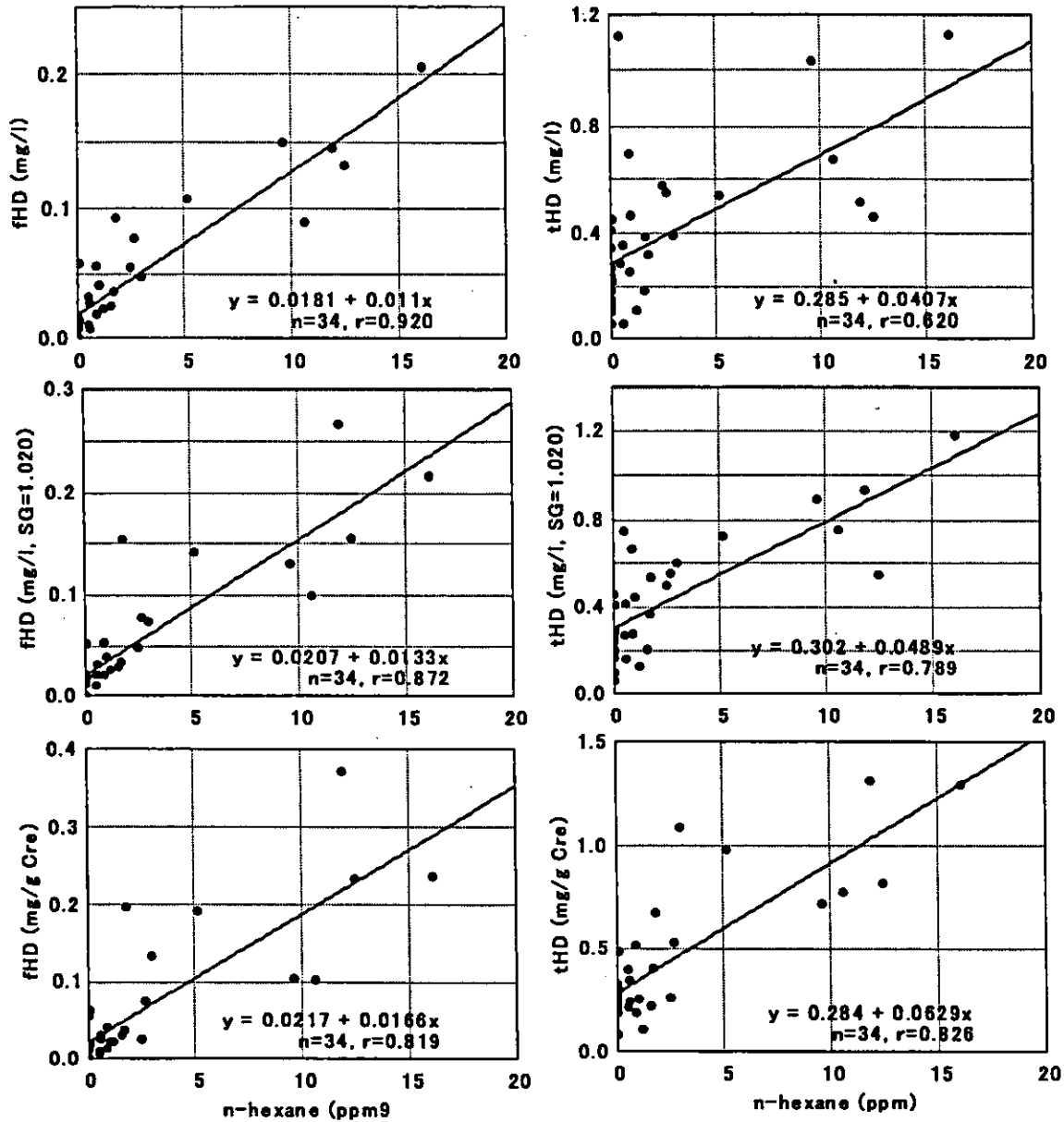


Fig. 4 Relationships between personal exposure levels and fHD or tHD (n=34).

る。これまでに報告のある相関式よりクレアチニン補正して計算した値は3.2¹³⁾, 1.8¹⁴⁾, 2.0¹⁵⁾, 2.9¹⁶⁾, 1.8¹⁷⁾, 2.0¹²⁾ mg/g Creであり、今回の値とはほぼ一致する。

fHD (y mg/l) と n-ヘキサン個人曝露濃度 (x ppm) との相関ではこれまで Kawai ら¹²⁾ の報告があるのみである。両者は $y = 6.3x - 3.6$ の相関を示し、40 ppm に相当する尿中 fHD はクレアチニン補正しないで 0.25 mg/l となり、今回の 0.46 mg/l の約半値である。Kawai ら¹²⁾ は HD と個人曝露濃度との相関を比較して fHD の方が tHD より良く相関することを示している。本研究でも同様な結果が得られた。これは fHD のバックグラウンド値が ND 以下であること、曝露者でのみ fHD が検出されることによると考えられる。

結 論

本研究の調査対象者は許容濃度の半分以下 (16.1 ppm 以下) という低濃度 n-ヘキサン曝露であったが、tHD および fHD とも個人曝露濃度を相関し、生物学的モニタリングとして有効であることが明らかとなった。fHD は補正なし、tHD はクレアチニン補正の方が個人曝露濃度との間で良い相関が得られ、直接曝露 (A) 群と周辺曝露 (B) 群との間の差が明確であった。

(本研究の一部は、平成 15 年度厚生労働科学研究費補助金 (H14-労働-11) および独立行政法人労働者健康福祉機構「労災疾病等 12 分野医学研究開発普及事業」による。)

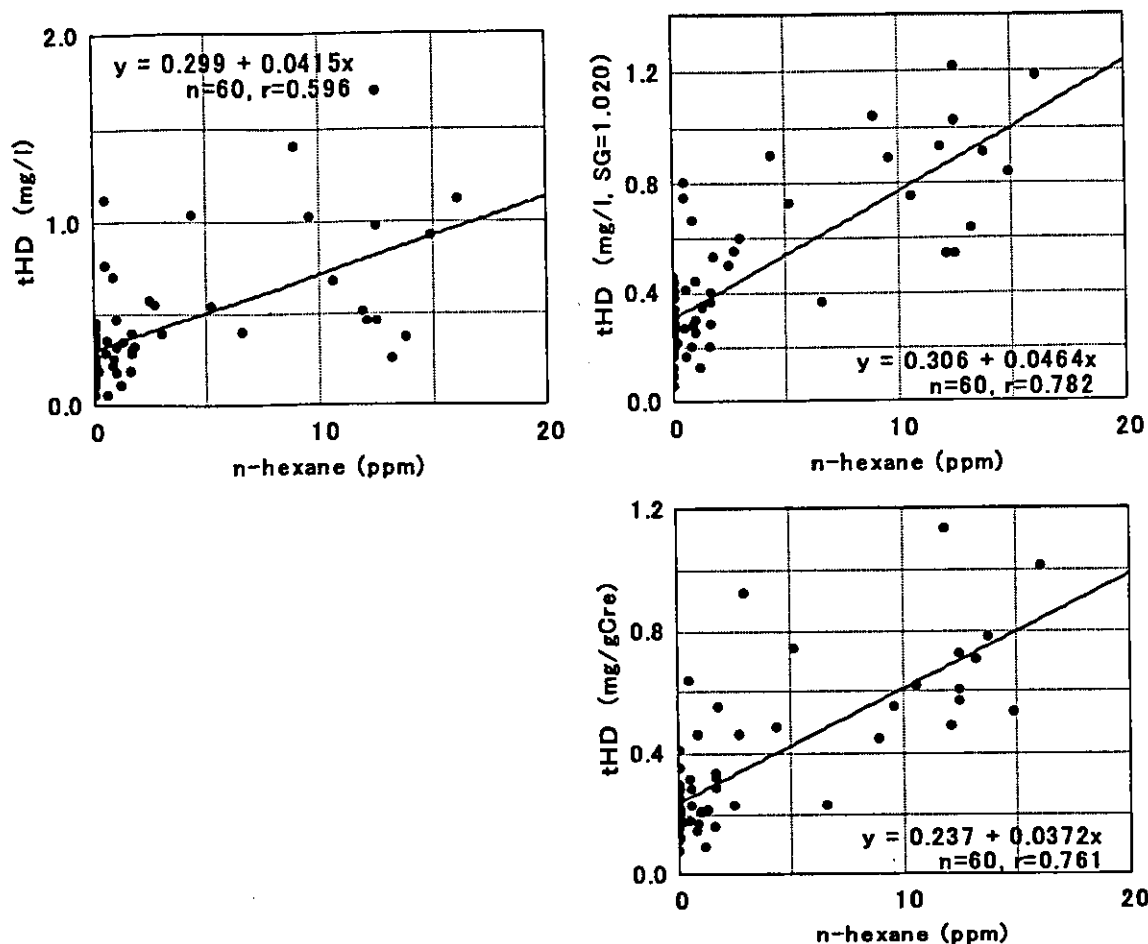


Fig. 5 Relationship between tHD and personal exposure level (n=60).

文 献

- 1) 坂井 公, 荒木高明, 牛尾耕一, 他 : 尿中2, 5-ヘキサンジオン (HD) のバックグラウンド値および作業員尿中HD濃度におよぼす加水分解条件の影響. 産業医学 34 : 440-447, 1992.
- 2) 労働福祉事業団秋田産業保健推進センター : 仏壇製造事業場における有機溶剤取扱作業の実態と健康影響調査 (その2). 平成13年度産業保健調査研究報告書, 2002.
- 3) 日本産業衛生学会 : 生物学的許容値の提案理由, ヘキサン. 産業医学 36 : 286-288, 1994.
- 4) Perbellini L, Mozzo P, Brugnone F, Zedde A : Physiologic-mathematical model for studying human exposure to organic solvents : Kinetics of blood/issue n-hexane concentrations and of 2,5-hexanedione in urine, Br J Ind Med 43 : 760-768, 1986.
- 5) Perbellini L, Mozzo P, Olivato D, Brugnone F : "Dynamic" biological exposure indexes for n-hexane and 2,5-hexanedione suggested by a physiologically based pharmacokinetic model. Am Ind Hyg Assoc J 51 : 356-362, 1990.
- 6) WHO : Environmental Health Criteria 122, n-Hexane. Geneva, World Health Organization, 1991.
- 7) 竹内康浩, 久永直見, 小野雄一郎, 井上 俊 : n-ヘキサンの毒性と量・反応関係. 産業医学 22 : 470-487, 1980.
- 8) Fedtke N, Bolt HM : The relevance of 4,5-dihydroxy-2-

- hexanone in the excretion kinetics of n-hexane metabolites in rat and man. Arch Toxicol 61 : 131-137, 1987.
- 9) Fedtke N, Bolt HM : Methodological investigation on the determination of n-hexane metabolites in urine. Int Arch Occup Environ Health 57 : 149-158, 1986.
- 10) ACGIH : 2000 TLVs and BEIs Threshold limit values and biological exposure indices, Cincinnati, American Conference of Governmental Industrial Hygienists, 2000, pp 98.
- 11) ACGIH : 2003 TLVs and BEIs (Threshold limit values and biological exposure indices), Cincinnati, American Conference of Governmental Industrial Hygienists, 2003, pp 90.
- 12) Kawai T, Yasugi T, Mizunuma K, et al : Dose-dependent increase in 2,5-hexanedione in the urine of workers exposed to n-hexane. Int Arch Occup Environ Health 63 : 285-291, 1991.
- 13) Perbellini L, Brugnone F, Faggionato G : Urinary excretion of the metabolites of n-hexane and its isomers during occupational exposure. Br J Ind Med 38 : 20-26, 1981.
- 14) Iwata M, Takeuchi Y, Hisanaga N, Ono Y : A study on biological monitoring of n-hexane exposure. Int Arch Occup Environ Health 51 : 253-260, 1983.
- 15) Mutti A, Falzoi M, Lucetini S, et al : n-Hexane metabolism in occupationally exposed workers. Br J Ind Med 41 :

533—538, 1984.

- 16) De Rosa E, Bartolucci GB, Perbellini L, et al : Environmental and biological monitoring of exposure to toluene, styrene, and n-hexane. *Appl Ind Hyg* 3 : 332—337, 1988.
- 17) Saito I, Shibata E, Huang J, et al : Determination of urinary 2,5-hexanedione concentration by an improved analytical method as an index of exposure to n-hexane. *Br J Ind Med* 48 : 568—574, 1991.

(原稿受付 平成16. 6. 17)

別刷請求先 〒143-0013 大田区大森南4-13-21
東京労災病院産業中毒センター
森田 陽子

Reprint request:

Yoko Morita
Occupational Poisoning Center, Tokyo Rosai Hospital
Omoriminami-4, 13-21, Ota-ku, Tokyo, 143-0013, Japan

TOTAL AND FREE 2,5-HEXANEDIONE IN URINE AS THE BIOLOGICAL MONITORING INDICES
FOR WORKERS EXPOSED TO N-HEXANE AT LOW LEVELS

Tadashi SAKAI^{1,2)}, Yoshiaki NAKAJIMA³⁾, Yoko MORITA^{1,2)}, Osamu INOUE⁴⁾,
Katsuyuki MURATA⁵⁾ and Ikunosuke ONOZAKI⁶⁾

¹⁾Occupation Poisoning Center, Tokyo Rosai Hospital, ²⁾Occupational Poisoning Research Center, Tokyo Rosai Hospital,
³⁾Clinical Laboratory, Tokyo Rosai Hospital,

⁴⁾Clinical Laboratory, Tohoku Rosai Hospital, ⁵⁾Environmental Health Sciences, Akita University School of Medicine,

⁶⁾Akita Occupational Health Promotion Center

We evaluated total and free 2,5-hexanedione (tHD and fHD) in urine as the biological monitoring indices for workers exposed to n-hexane at low levels, comparing to personal exposure levels. n-Hexane was contained in white gasoline which was used in the gold plating process of Buddhist altar factories. Workers engaged in the gold plating process (Group A, n=10) was exposed to n-hexane at an average level of 7.59 ppm, and workers in other manufacturing processes surrounding the plating process (Group B, n=24) were also exposed to very low levels of n-hexane at an average level of 0.409 ppm.

The average levels of fHD in group A and B were 0.110, 0.019 mg/l, respectively, and those of tHD were 0.620, 0.292 mg/l, respectively. In the workers not exposed to n-hexane (Group C), fHD was not detected (detection limit was 0.01 mg/l). Both of fHD and tHD levels were revealed to be useful for the biological monitoring of n-hexane at low levels less than half of TLV, because of well correlation with personal exposure levels of n-hexane. fHD without any correction and tHD corrected with creatinine showed highest correlation coefficient with personal exposure levels, and also clear difference between Group A and B.