

正の有無において検討した。2,6-TDA 濃度をクレアチニンまたは尿比重 (1.020) で補正した場合、気中 2,6-TDI 濃度との相関は改善される。しかし 2,4-TDI の場合は曝露濃度が低いために、補正を行っても 2,4-TDA との相関の改善はみられなかった。2,6-TDI の場合、クレアチニン補正した 2,6-TDA と最も高い相関を示した (Table 2、Fig. 3B)。作業前の尿中 TDA 濃度も TDI 個人曝露濃度と有意な相関を示したが、その傾きは作業後の相関の場合の 60 から 70% であった。2,4-TDA 濃度は 2,6-TDA 濃度の約 1/10 以下であったが、両者は有意な相関を示した (Fig. 4)。

2. MDI 曝露の指標としての血清中 MDA の測定

Fig. 5 に MDA と 3,4-TDA 誘導体の TIC (total ion chromatogram) を示す。標準物質の濃度は $5 \mu\text{g/l}$ 、作業員血清の濃度は $0.67 \mu\text{g/l}$ である。曝露のない対照者の血清中には MDA は検出されなかった。

Fig. 6 に MDA の検量線である。水、血清の両者とも、MDA 濃度 $200 \mu\text{g/l}$ まで良好な直線性を示した。この検量線では血清についての MDA 回収率は平均 98% であった。尿に MDA を添加した場合の検量線も、良好な直線性を示した。対照者 10 名の血清にそれぞれ $50 \mu\text{g/l}$ 濃度になるように MDA を添加したところ、回収率は $96.6 \pm 10.9\%$ であった。特に回収率低い 1 名 (73%) を除くと平均 99.6% となった。よって MDA の測定は絶対検量線法でも可能と考えられる。対照者 10 名には MDA は検出されなかった。

Fig. 7 (A) は作業員 3 名の血清中 MDA の減衰曲線である。横軸は最初の採血日を 1 日とした日数の経過である。作業員 A, B, C の最初の検体中の MDA 濃度は、

それぞれ 0.67 、 0.33 、 $0.045 \mu\text{g/l}$ であった。MDA 濃度は対数的に減少し、相関係数は 0.96 超であった。作業員 A の回帰曲線において MDA 濃度を $y (\mu\text{g/l})$ 、経過日数を $x (\text{day})$ とすると、 $y = 0.5057 \times e^{-0.0316x}$ となる。この式から半減期を計算すると、21.9 日であった。同様に、B における MDA の半減期は 16.9 日、C では 42.5 日となった。

3. 有機リン系農薬の曝露指標としての尿中ジアルキルリン酸の測定

Fig. 8 および Fig. 9 に有機リン代謝物 (アルキルリン酸: 各 $200 \mu\text{g/l}$) のクロマトグラフを示す。Fig. 8 は QP-5050A による測定である。DMP、DEP、DETP、DEDTP、DBP の順に溶出し、それぞれについて、 $m/z = 125, 153, 169, 185, 209$ (分子イオン) を選択測定した。Fig. 9 は MAT95XP によるクロマトグラフである。アルキルリン酸の溶出順序は同じであり、それぞれ $m/z = 306, 334, 350, 366, 390$ (誘導体の分子イオン) を選択測定した。両測定とも各ピークの分離は良好であり、QP-5050A による検出限界 (単位 $\mu\text{g/l}$) は DMP=3、DEP=1、DETP=0.6、DEDTP=0.6 である。MAT95XP によるそれは DMP=0.6、DEP~DETP は 0.15 であり、後者の検出感度が優れていた。水および尿にアルキルリン酸を添加した場合、 $0 \sim 200 \mu\text{g/l}$ 相当まで直線性が認められた。しかし添加物の種類や尿の違いにより回収率にばらつきがあるため、尿中濃度の測定は標準添加法により行った。この方法により国際的外部精度管理に参加し、測定結果は良好であるとの認定を受けた。この際に配布される尿試料には 2 種類の濃度のアルキルリン酸が含まれ、ある回の低濃度試料中の DMP、DEP、DETP、DEDTP 濃度はそ

れぞれ、26.2, 14.1, 16.9, 11.5 ($\mu\text{g/l}$)、高濃度試料中のそれは149.1, 39.1, 37.7, 25.9 ($\mu\text{g/l}$)であった。

有機リン系農薬による体調不良を訴えて当センターを受診し、検査を希望する人の尿検体について、本研究で開発した方法によるジアルキルリン酸の測定を行った。症例①の代謝物である尿中 DETP、②は同じく DMP の測定を行ったが、結果は検出限界以下であった。

D. 考察

1. 尿中 TDA 測定法の改善と TDI 作業者の生物学的モニタリングへの応用

本研究による TDA 測定法の改善点の一つは、測定に必要な尿量を 0.1ml まで減じたことである。従来の方法では 1ml ~ 3ml の尿を使用していた。この理由の一つは、加水分解された TDA の抽出効率を高めたことである。我々は TDA を誘導体化せずに測定できる LC-MS 法を検討した際に、DCM による TDA の抽出効率が従来使用されてきたトルエンに比べて非常に高いことを確認した (Sakai ら、2002)。2,6-TDA と 2,4-TDA の DCM による抽出率はそれぞれ 76.2% と 74.6% であり、トルエンによるそれは 27.1% および 26.9% であった。

これまで報告された GC-MS 法の多くは、内部標準物質として TDA の重水素同位体を必要としていた。この物質は一般に入手するには高価であり、TDI 曝露の生物学的モニタリングに TDA 測定を応用する際の問題の一つであった。今回の研究では重水素同位体を使用せずに 3,4-TDA を内部標準物質に使用した。

実用的にはすべてのサンプルを 16 時間加水分解することは難しい。このことも TDA による生物学的モニタリングがル

ーチンに行われていない理由の一つと考えられる。これまでの方法では 2.5 倍希釈の尿を 16 時間または一晩という長時間の加水分解を行っているものが多い。我々は 1.1 倍希釈の尿を用いた場合、加水分解による TDA の収率は 4 時間でプラトーに達し、10 時間以上ではむしろ低下することを確認した (Sakai ら 2002)。よって尿を希釈しない場合、加水分解時間は 4 時間以下が適当である。一方、11 倍希釈の尿の場合、16 時間の加水分解で最高の収率を得られた。本研究において 1.5 時間の加水分解により得られる TDA 濃度は 16 時間の加水分解による値の半分以下であるが、両者は良く相関する。1.5 時間の加水分解によって得られた TDA の値は Fig. 2A の相関式によって変換できる。加水分解時間の短縮は多検体処理に適する。よって本研究では 11 倍希釈の尿を 1.5 時間加水分解する方法をルーチン化した。正確な TDA 濃度が知りたい時には 16 時間の加水分解を行うこともできる。しかし、TDI による健康障害を予防するために多くの作業者をモニターする場合、1.5 時間の加水分解で得られた値も十分利用可能である。

Maitre ら (1993) は TDI 濃度 (2,6-TDI と 2,4-TDI の合計) と TDA 濃度 (2,6-TDA と 2,4-TDA の合計) とが直線的に相関することを発表した。TDI 濃度は 9.5 から 94 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (1.33~13.2ppb) であった。TDA 濃度は 6.5~31.7 $\mu\text{g}/\text{gCre}$ であり、38 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (5.34ppb) の TDI 濃度は 18 $\mu\text{g}/\text{gCre}$ の TDA 濃度に相当していた。しかしそのサンプル数は 9 であった。本研究では、Fig. 2B の相関式から 5.34ppb の 2,6-TDI に相当する 2,6-TDA 濃度は 33.8 $\mu\text{g}/\text{gCre}$ と計算される。曝露濃度が等しい場合、本研究で得られる TDA 濃度は Maitre による値の約 1.9 倍と高くなるが、この理由として、我々は 11 倍希釈尿を使用したこ

とと、加水分解の酸濃度が高いために加水分解効率が高いことが考えられる。Maitre らは 1.28 倍希釈の尿を使用し、最終塩酸濃度 2.3mol/l で 2 時間の加水分解を行っている。またサンプル数が小さいことも関係している可能性がある。今後は我々や Maitre の研究よりも高曝露濃度において引き続き調査することが望ましい。

Brorson ら (1991) は 2 名のボランティアについてテストチャンバーによる TDI 曝露実験を行った。TDI 曝露濃度 (x ppb) と尿中 TDA 濃度 (y μ g/gCre) との相関は 2,6-異性体について $y = 8.29x - 10.2$ ($n=6, r=0.942$)、2,4-同位体について $y = 3.97x - 1.33$ ($n=6, r=0.990$) であった。この曝露濃度と尿中代謝物との相関関係は、本研究のそれ、すなわち $y = 6.6x - 1.43$ ($n=18, r=0.905$) および $y = 3.19x + 0.385$ ($n=18, r=0.639$) に近似している (Table 2)。彼らの研究における曝露時間は 4 時間と短い、5 ppb の TDI 曝露に相当する TDA 濃度は我々のそれと近い。この理由として、彼らは長時間 (一晚) の加水分解を行っていることがある。

ACGIH および日本産業衛生学会は TDI の TLV を 0.005ppm に設定している。TDI の TLV に相当する TDA レベル (生物学的許容値) を決定できれば、TDI による健康障害を予防するために、複雑な手法を要する TDI 測定の代わりに簡便な尿中 TDA 測定を用いることができる。TDA 濃度による生物学的モニタリングは、気道、皮膚、消化管などを経る TDI の全取り込み量を推定するのに役立つ。また、症状が発症した時の気中 TDI 濃度が測定されていなかった場合も TDA の測定により TDI 曝露を証明できる可能性がある。

Fig3.a の未補正の尿の場合、TDI 曝露濃度から推定される TDA 濃度は広い範囲を持ち、特に TLV の 5ppb 以上でばら

つきが大きい。Fig.3 b の回帰式の信頼区間は小さく、TDI 濃度から TDA 濃度を推定するには尿をクレアチニン補正するのがよい。回帰式より TLV レベルの TDI 濃度 (5ppb) に相当する 2,6-TDA は 31.6 μ g/gCre と計算される。TDA レベルと喘息との関係はアンケートや健康診断、IgE テスト、TDA および TDI の測定により検討中である。

本研究では、作業前の TDA レベルも TDI レベルと有意な相関を示したが、作業前の相関式の傾きは、作業後の場合の傾きの 60-70% であった (Table 2)。これは各作業者が毎日一定して TDI に曝露しており、前日の作業による TDA が作業前の尿中にも排泄されていることを示している。Tinnerberg ら (1997) は弾性ウレタン製造工場における研究で、作業開始前の月曜日の朝の尿からも加水分解により相当量の TDA が検出されることを報告した。作業前の TDA 濃度は作業日が続くにつれて次第に増加した。このことは TDA を生成する化合物が、アルブミンのようなタンパク質との付加体の形で体内に蓄積していくことを示唆している。Tinnerberg らの報告では、作業前の尿中 2,6-TDA 濃度は作業後のその約半分であり、本研究の知見と一致する。しかし、作業場の曝露濃度が日により一定でない場合、作業前の TDA と作業後の TDA の間に相関はみられないという。

本研究の対象工場では 2,4-TDA と 2,6-TDI の 80:20 の混合物を使用しているが、TDI の個人曝露濃度と尿中代謝物濃度共に、2,4-異性体は 2,6 異性体の 1/10 以下であった。これは重合反応の際に 2,4-TDI の反応性が高いためであり、重合反応の終了時に発生している主要な異性体は 2,6-TDI である (Rando ら 1984)。2,4-TDA と 2,6-TDI の 80:20 の混合物を使用する弾性ウレタン製造工場では、作

業者の 2,6-TDA 濃度は 2,4-TDA 濃度の 10 倍以上である (Tinnerberg ら 1997) との報告とも合致する。

2. MDI 曝露の指標としての血清中 MDA の測定

血清 MDA の測定法については、1 ml の血清を加水分解し、内部標準物質として MDA の重水素体を使用し、トルエンで抽出を行うという報告 (Skarping ら 1995) がある。誘導体化試薬はペンタフルオロプロピオン酸であった。その方法では標準物質の入手が一般的でなく、トルエンでは抽出効率が低い可能性がある。本研究では標準物質は市販の 3,4-TDA を用い、測定に必要な血清量も少なくすることができた。

Skarping らは呼吸困難と鼻粘膜炎を生じた 1 名の MDI 作業員の血清中 MDA を測定し、その半減期を 21 日と報告した。彼らは尿中 MDA の半減期を 70~80 時間であると計算し、血清での半減期が長い原因としてタンパク質への付加をあげている。本研究では 3 名の作業員において MDA 測定を行い、半減期について Skarping らとほぼ一致する結果を得た。血清中 MDA は尿中 MDA よりも半減期が長いことから、曝露から時間が経過した場合でも曝露を推定できることがある。今後さらに例数を増やして検討を行う予定である。

3. 有機リン系農薬の曝露指標としての尿中ジアルキルリン酸の測定

有機リン化合物は農薬、防虫剤、防カビ剤として使用され、コリンエステラーゼ活性を阻害することにより神経毒性を発揮する。農薬使用者に中毒や体調不良を引き起こすことがあるだけでなく、住

宅の防虫剤に用いられることによるシックハウス症候群や化学物質過敏症の原因ともなる。有機リン曝露の指標はコリンエステラーゼ活性の低下であるが、この活性は肝疾患、膵疾患などでも低下する。一方、有機リン化合物は代謝により解毒されるが、その経路には P-O-aryl 結合、P-S-aryl 結合の加水分解によるアルキルリン酸の生成がある。よって最近では有機リン化合物の特異的なモニタリング指標として、尿中代謝物であるジアルキルリン酸の測定が試みられている。しかしこの物質は濃度が低く測定が煩雑なため、日本には未だルーチンに測定できる施設は無い。本研究はこの測定法の実用化をめざすものである。海外においても測定可能な機関が少なく、内部標準物質、誘導体化法、検出法などの検討が続いている。本研究では実際に有機リン剤の影響を心配する患者の尿中代謝物の測定を行ったが、曝露から数ヶ月経過していたので既に排出されたと考えられ、検出限界以下であった。

厚生労働省の室内空気汚染の指針値では有機リン剤のうちクロルピリホス、ダイアジノンについて定められている。この 2 種の農薬は代謝により DETP を生じる。本研究によりこれら代謝物の測定が可能となったが、速やかに排泄されるため、曝露当日の尿を入手することが望ましい。今後は、測定法の簡便化をめざすと共に、さらに 2 つの代謝物 (dimethylthio phosphate, dimethyl-dithio phosphate : DETP, DMDTP) についても測定を進める予定である。

E. 結論

尿中 TDA の測定法を検討し、ルーチン分析可能な簡便で高感度な測定法に改善した。すなわち、分析に必要な尿量を

0.1ml、加水分解時間を 1.5 時間に減じ、内部標準物質には市販の試薬を用いた。この方法を TDI 作業者に応用したところ、作業後の尿中 TDA 濃度は TDI の個人曝露濃度と良く相関した。尿をクレアチニンや比重で補正した場合には、2,6-TDI の個人曝露濃度と尿中 2,6-TDA との相関に改善が見られた。しかし 2,4-TDI の場合は曝露濃度が 1/10 以下と低いために改善されなかった。作業後の 2,6-TDA 濃度と個人曝露濃度との相関式から、5ppb の TDI 曝露に相当する尿中 2,6-TDA は $31.6 \mu\text{g/gCre}$ と計算された。作業前の TDA 濃度も TDI の個人曝露濃度を有意な相関を示した。曝露濃度と尿中代謝物濃度共に 2,4-異性体は 2,6-異性体の 1/10 以下であったが、2,4-TDA と 2,6-TDA は有意な相関を示した。本測定法による TDI 作業者の生物学的モニタリングが可能であり、TDI による健康障害の予防にも有効であると考えられる。

血清中 MDA の測定について、内部標準物質に市販の試薬を用い、0.1ml の血清で測定可能な高感度測定法を開発し、MDI に暴露した作業者に応用した。

MDI による健康障害が疑われる 3 名の血清中 MDA 濃度は対数的に減少し、半減期は 16.9、21.9、42.5 日であった。本測定法は、MDI 作業者の生物学的モニタリングにも使用可能である。血清中 MDA の半減期の長さからタンパク質へ付加していることが考えられ、過去の曝露の推定にも役立つ可能性がある。

有機リン剤の代謝物であるジアルキルリン酸のうち、DMP、DEP、DETP、DEDTP の測定法を開発した。今後は残る 2 種 (DMTP、DMDTP) の測定を進め、測定法の簡便化もめざす予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表

(a) 学会誌など

- 1) 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*, in press, 2005.
- 2) Morita Y, Sakai T, Park S. Blood and urinary porphyrin levels in workers exposed to metallic mercury. *Porphyrins*, in press, 2005.
- 3) 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-ヘキサンジオンの有用性. *日本職業・災害医学会会誌* 52:308-314, 2004.
- 4) 中村陽一、小倉英郎、坂井 公、森田陽子、西中川秀太 ほか. 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.

(b) 一般・啓蒙誌

- 1) 坂井 公、森田陽子. 化学物質の管理と健康障害の防止. *産業医の手引* (第 7 版). 2005 (印刷中)

2. 学会発表

- 1) Sakai T, Mraz J, Morita Y, Kim Y. LC/MS determination of specific adducts of 2,4- and 2,6- toluene diisocyanate (TDI) with globin and its application to biological monitoring of exposure to TDI. *The 6th International Symposium on Biological Monitoring in*

Occupational & Environmental Health, Heidelberg, 2004.9.

- 2) Morita Y, Sakai T, Nakamura Y, Manabe A, Yamanaka S, Kamada Y. GC-MS determination of serum 4,4'-methylenedianiline (MDA) in the workers exposed to 4,4'-methylenediphenyl diisocyanate (MDI). The 6th International Symposium on Biological Monitoring in Occupational & Environmental Health, Heidelberg, 2004.9.
- 3) 坂井 公、森田陽子、Kim Y. トルエンジイソシアネート作業者の生物学的モニタリング. 第 77 回日本産業衛生学会、名古屋、2004.4
- 4) 森田陽子、坂井 公、中村陽一. メチレンジフェニルジイソシアネート曝露の指標としての血清中メチレンジアニリンの測定. 第 77 回日本産業衛生学会、名古屋、2004.4
- 5) 中村陽一、小倉英郎、森田陽子、坂井 公、西中川秀太. メチレンジフェニルイソシアネート曝露による急性および慢性症状を呈した 3 例に関する検討. 第 77 回日本産業衛生学会、名古屋、2004.4
- 6) 北村文彦、横山和仁、錦谷まりこ、Woo KH、Lee BK、坂井 公、朴 商会、朴 喜燦、佐藤 元、荒記俊一. 鉛の認知および臭覚機能への影響. 第 77 回日本産業衛生学会、名古屋、2004.4
- 7) 中村陽一、三木真理、小倉英郎、真鍋亜希子、坂井 公. メチレンジフェニルジイソシアネート曝露による化学物質過敏症が疑われた 3 例に関する検討. 第 16 回日本アレルギー学会春季臨床大会、前橋、2004.5
- 8) 森田陽子、坂井 公、圓藤陽子、中嶋

義明. 産業中毒センターへの問い合わせから明らかになった高濃度ジクロロメタン曝露. 第 52 回日本職業・災害医学会、岡山、2004.11

- 9) 坂井 公、森田陽子、村田勝敬、中嶋義明、井上 修、小野崎幾之助、西中川秀太. 低濃度有機溶剤曝露職場における体調不良に関するアンケート調査. 第 52 回日本職業・災害医学会、岡山、2004.11
- 10) 圓藤陽子、竹中靖人、西中川秀太、森田陽子、中嶋義明、坂井 公、圓藤吟史. 医学部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) 中嶋義明、坂井 公、圓藤陽子、森田陽子. ひ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
- 12) 北村文彦、横山和仁、久永直見、森田陽子、坂井 公、荒記俊一. 最近の中毒外来から一鉛曝露者の報告. 第 52 回日本職業・災害医学会、岡山、2004.11
- 13) 井上 修、葛西清美、森田陽子、坂井 公. 仏壇漆器製造業とガソリンスタンド従業員およびベンゼン非曝露者の尿中 t,t-ムコン酸でみた職業別ベンゼン曝露. 第 52 回日本職業・災害医学会、岡山、2004.11

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.

Table 1. Correlation equation ($y = ax + b$) among TDA values (x and y) by various hydrolysis conditions (A, B and C)

	Urine used	Hydrolysis	a	b	r
2,6-TDA	Post-shift urine (n=18)	A	0.477	-0.313	0.984
		B	1.120	0.389	0.973
		C	0.395	0.138	0.942
	Pre-shift urine (n=18)	A	0.424	0.071	0.929
		B	1.120	-0.232	0.985
		C	0.353	0.735	0.879
	Both urine (n=36)	A	0.461	-0.247	0.966
		B	1.130	0.025	0.977
		C	0.381	0.360	0.923
2,4-TDA	Post-shift urine (n=18)	A	0.396	-0.072	0.839
		B	1.320	0.201	0.902
		C	0.307	-0.225	0.952
	Pre-shift urine (n=18)	A	0.326	-0.227	0.642
		B	0.430	0.285	0.683
		C	0.511	-0.547	0.633
	Both urine (n=36)	A	0.378	-0.193	0.778
		B	0.695	0.322	0.713
		C	0.360	-0.260	0.723

a: slop, b: intersects the y-axis, and r: correlation coefficient

x and y: TDA levels ($\mu\text{g/l}$)

A: 1.5 hours hydrolysis (y) vs 16 hours hydrolysis (x) with 11-fold diluted ur

B: 11-fold diluted (y) vs 1.1-fold diluted (x) with 1.5 hours hydrolysis urine

C: 1.5 hours hydrolysis of 1.1-fold diluted urine (y) vs 16 hours hydrolysis of 11-fold diluted urine (x)

Table 2. Correlation equation ($y = ax + b$) between urinary TDA levels (y) and personal exposure levels of TDI (x)

	Urine used	Correction	a	b	r
2,6-TDA vs 2,6-TDI (n=18)	Post-shift urine	A	10.160	-1.160	0.701
		B	6.600	-1.430	0.905
		C	8.130	-1.190	0.807
	Pre-shift urine (n=18)	A	6.090	-0.306	0.614
		B	4.930	-1.690	0.856
		C	5.920	-1.450	0.811
2,4-TDA vs 2,4-TDI (n=18)	Post-shift urine	A	8.330	0.231	0.835
		B	3.190	0.385	0.639
		C	5.340	0.334	0.782
	Pre-shift urine (n=18)	A	5.010	0.174	0.785
		B	2.900	0.124	0.847
		C	4.020	0.152	0.844

a: slop, b: intersects the y-axis, and r: correlation coefficient

x: personal exposure levels of TDI (ppb)

y: TDA levels in various correction of urine (A, B, and C) as follows:

A: No correction ($\mu\text{g/l}$)

B: Creatinine correction ($\mu\text{g/gCre}$)

C: Specific gravity (1.020) correction ($\mu\text{g/l}$).

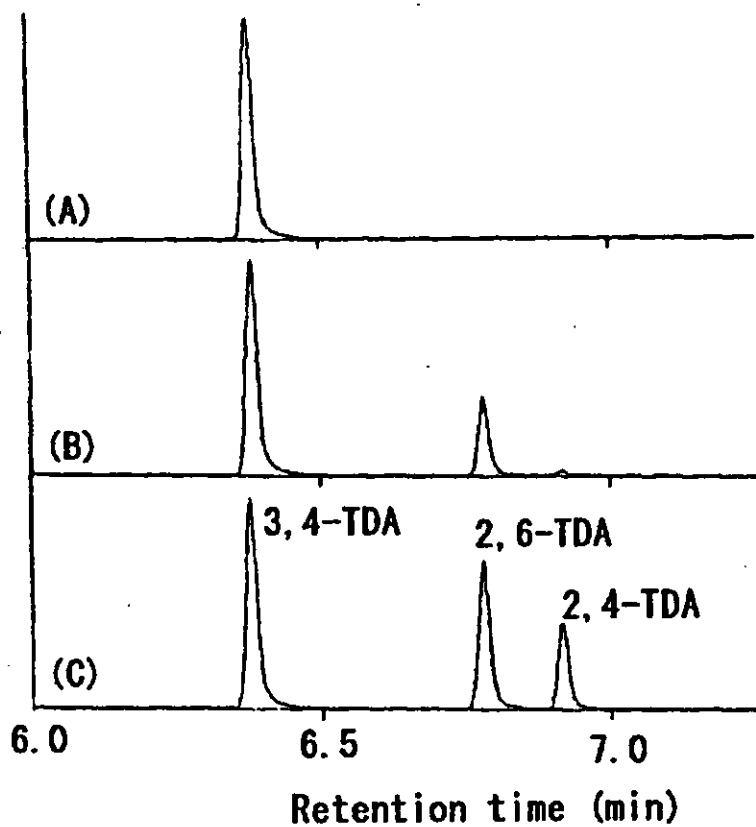


Fig. 1 Chromatographic separation of TDA isomers
(A) Control subjects, (B) TDI worker, (C) Standard TDIs.

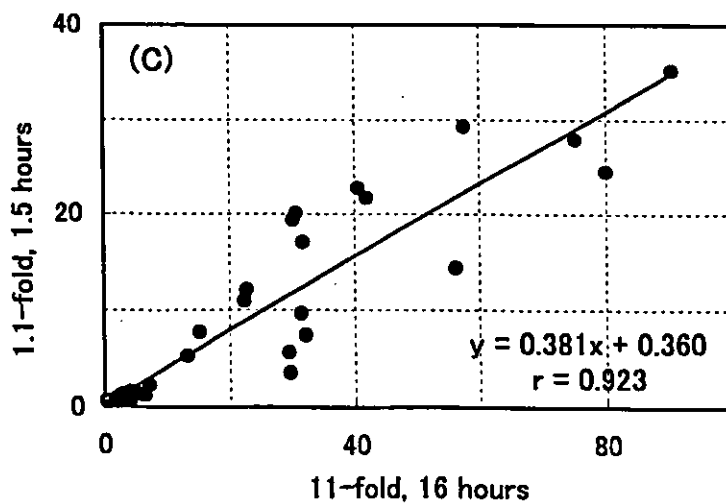
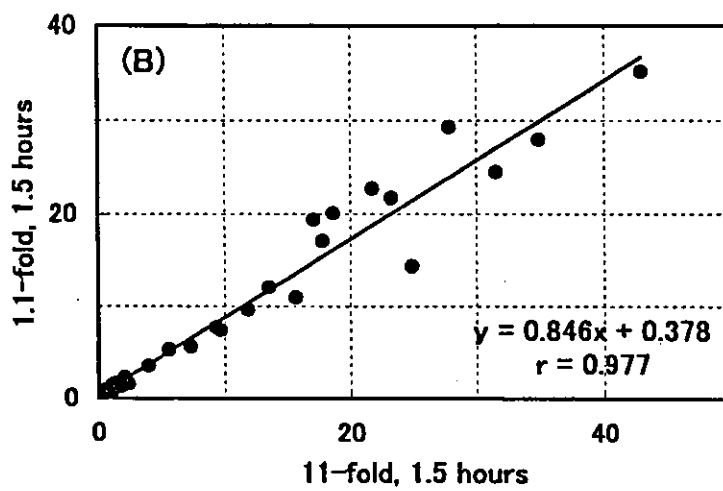
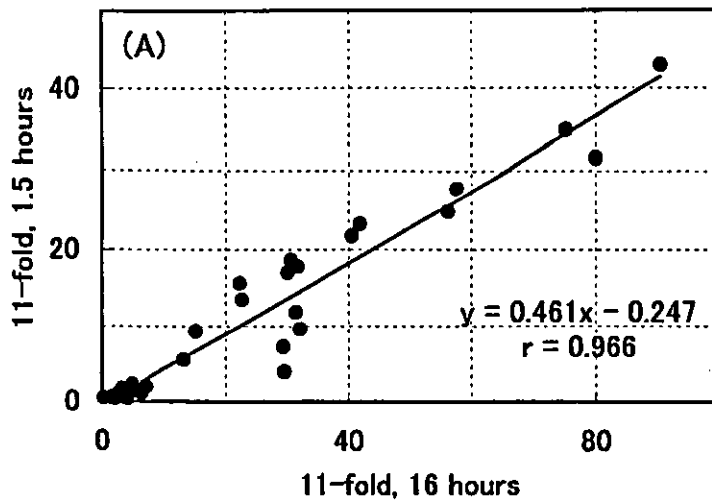


Fig. 2 Relationship between TDA values (x and y) by various hydrolysis conditions

Both pre-shift and post-shift urine (n=36) was investigated together.

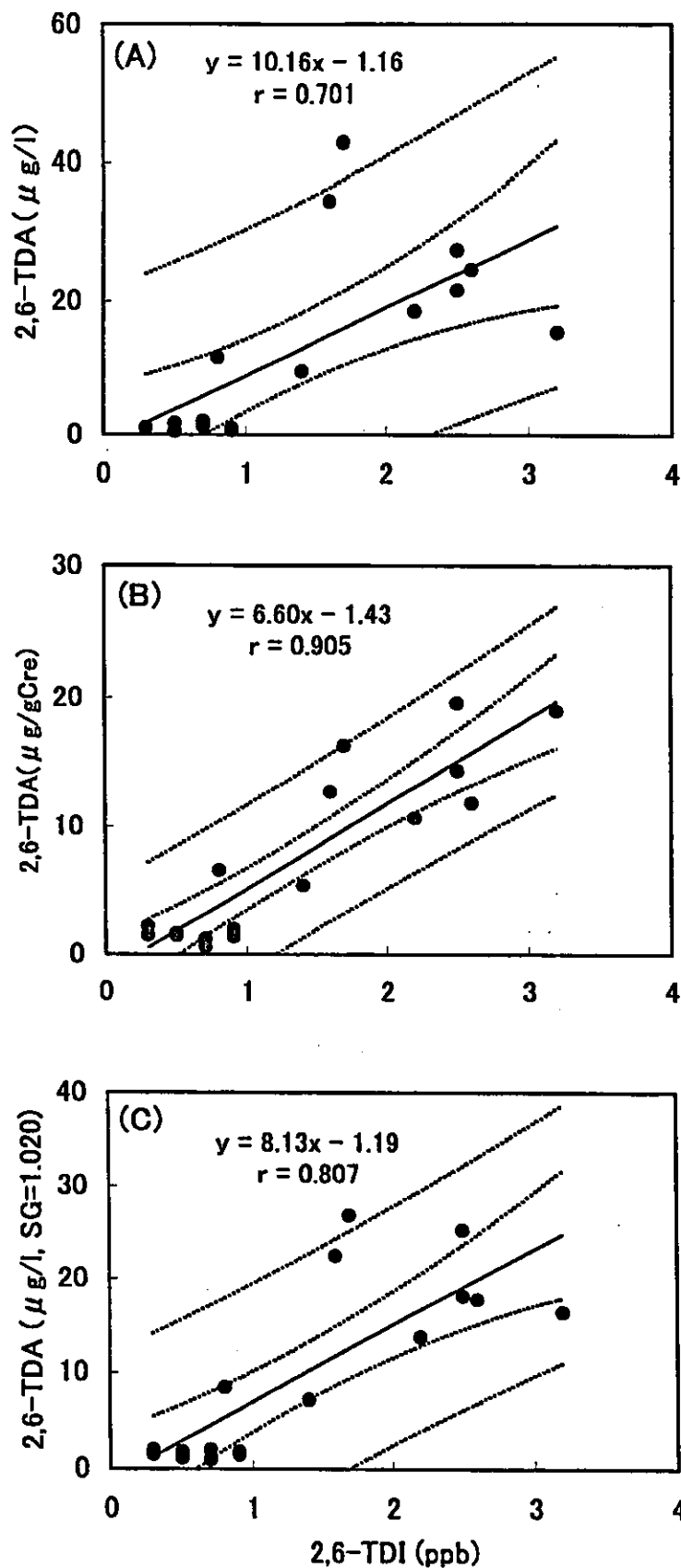


Fig. 3 Relationship between 2,6-TDA levels in post-urine (y) acquired by various corrections and personal exposure levels of 2,6-TDI (x) (n=18) Solid lines shows regression lines. Curves (dotted lines) close to the regression lines shows 95% confidence ranges of the regression line, and outermost curves (dotted line) indicate 95% predictive intervals of individual values.

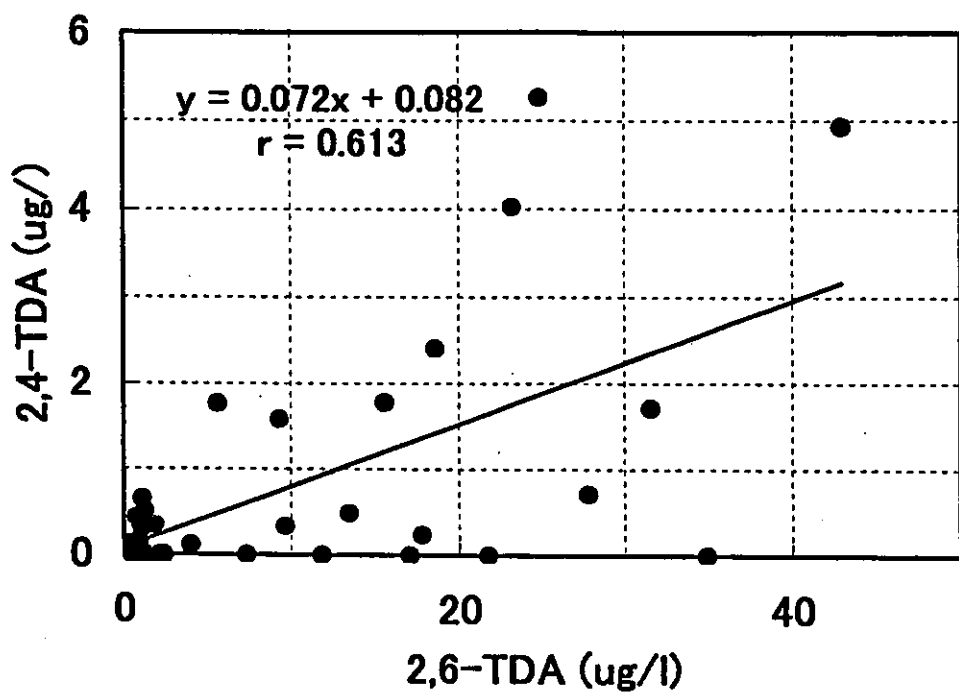


Fig. 4 Relationship between 2,4-TDA (y) and 2,6-TDA (x) in urine from workers. The data include both pre-shift and post-shift (n=36)

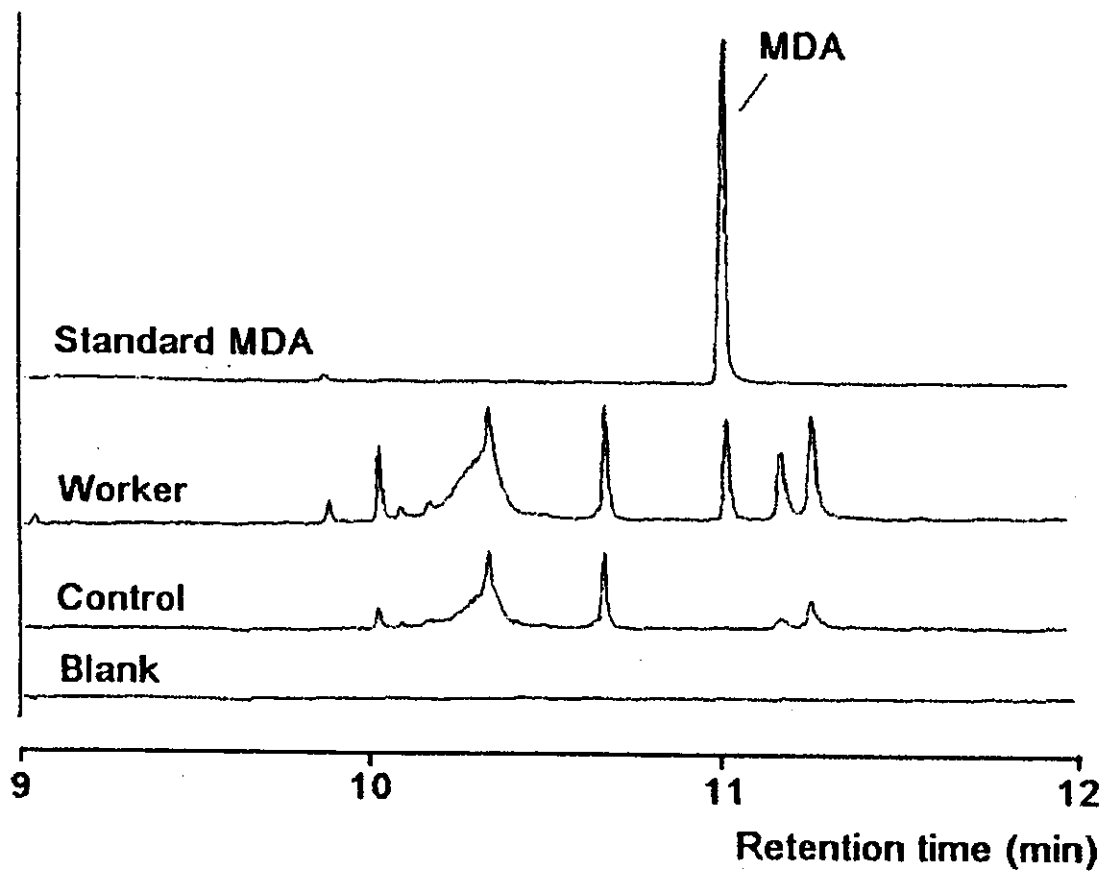


Fig. 5 Chromatographic separation of MDA.

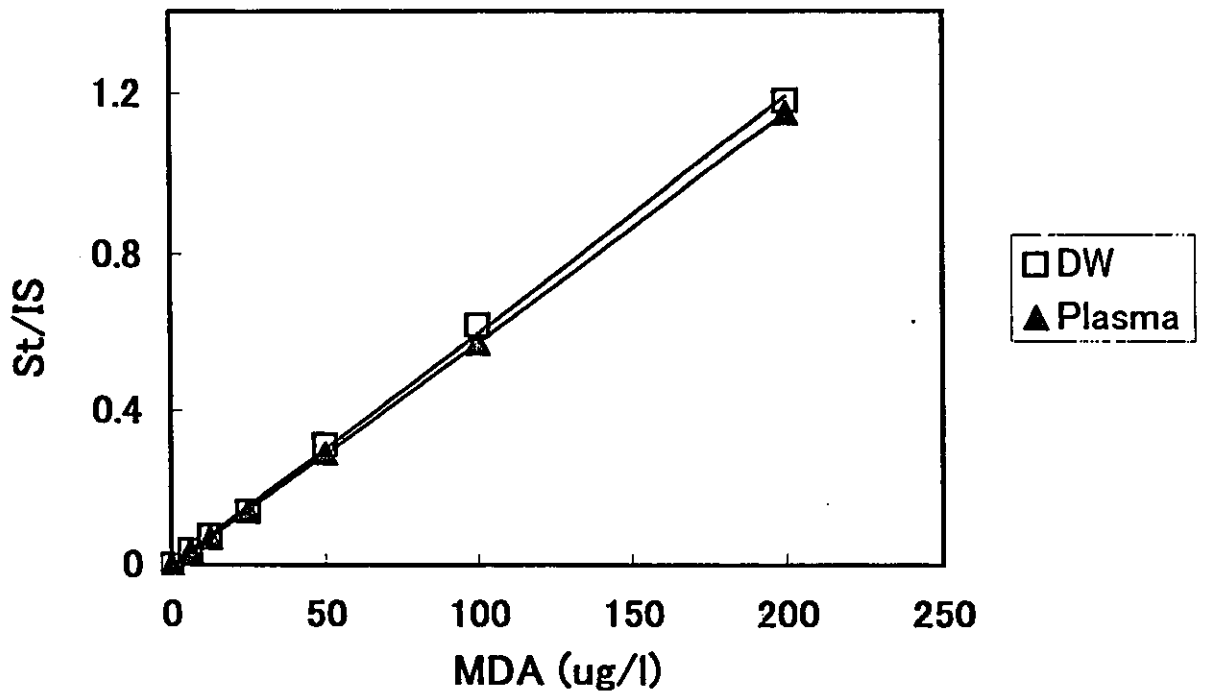


Fig. 6 Calibration curves for DCM in distilled water (DW) and serum from a non-exposed subject

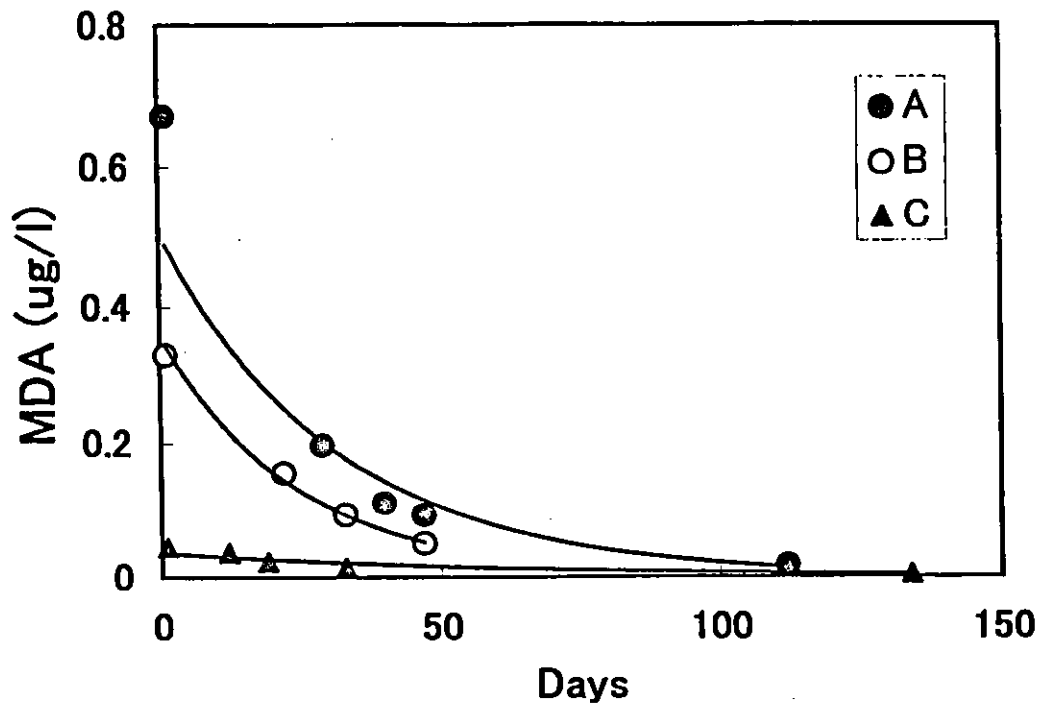


Fig. 7 Decay curves of serum MDA in the three workers after consultation

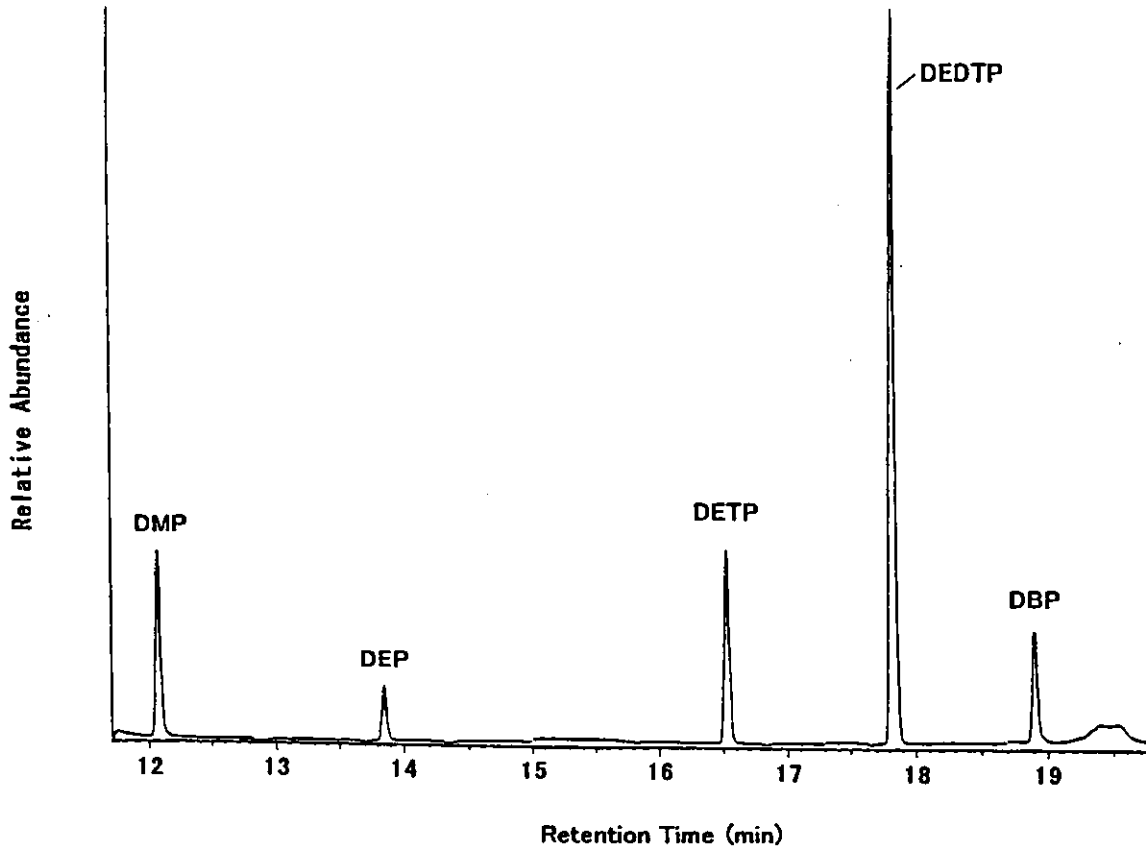


Fig. 8 Chromatographic separation of 5 kinds of dialkyl phosphate
(GC-MS: QP5050-A)

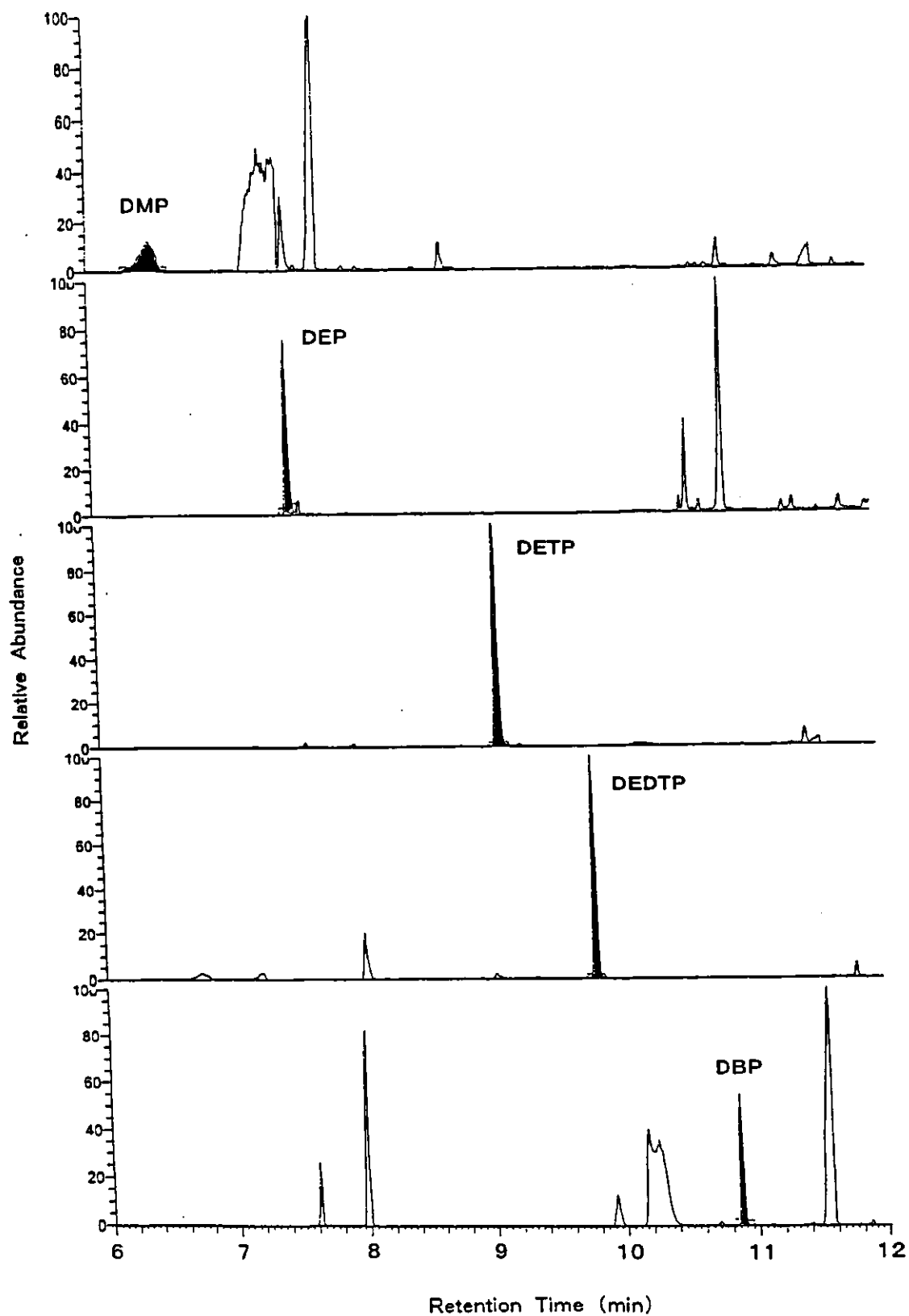


Fig. 9 Chromatographic separation of 5 kinds of dialkyl phosphate
(GC-MS: MAT 95XP)

2. 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ため、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处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

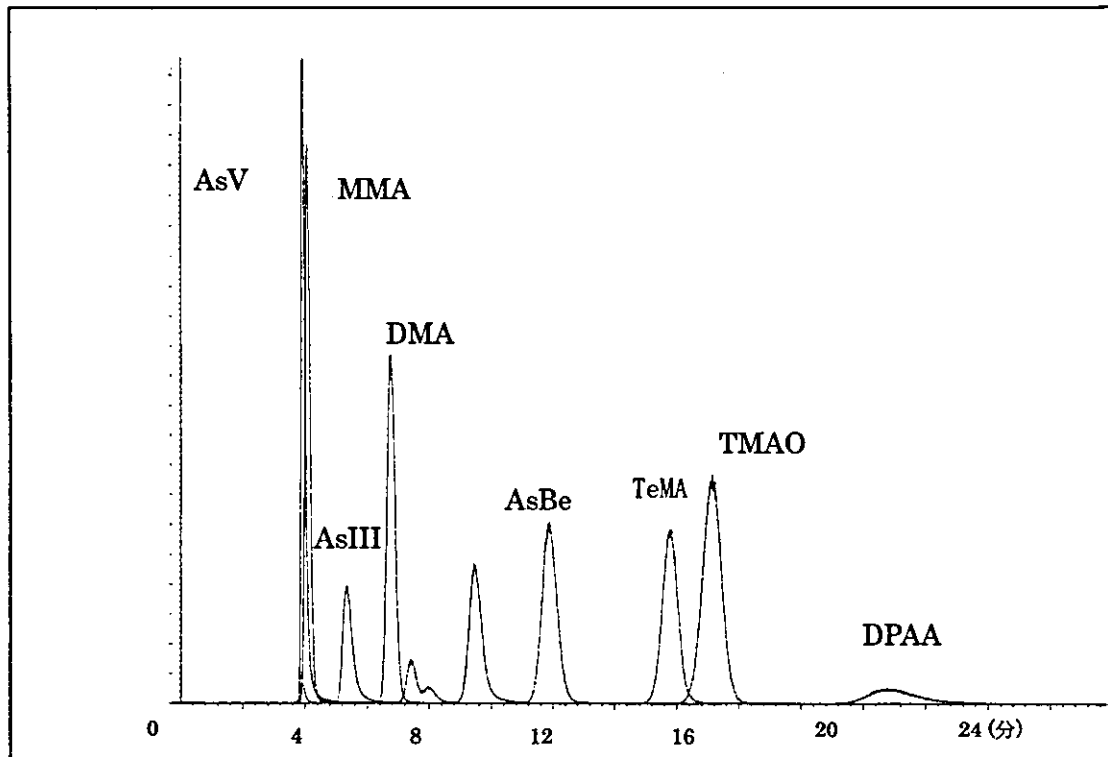


図 2. DPAA 検量線

