

厚生労働省科学研究費補助金
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

(研究課題番号 H14-労働-20)

平成14年度～16年度 総合研究報告書

主任研究者 那 須 民 江

平成17 (2005) 年 3 月

目 次

I. 総合研究報告	
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.....	31
III. 研究成果の刊行物・別刷.....	35

厚生労働科学研究費補助金（労働安全衛生総合研究事業）
総合研究報告書

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-ブロモプロパン(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が、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-ブロモプロパン(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。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。ラットを用いた実験の結果は、ヒト症例における中枢神経症状、感覚障害の原因が1-ブロモプロパン曝露によるものであることを強く示唆する。内分泌系の攪乱は存在するが、そのメカニズムは今年度の研究では明らかにされなかった。雌生殖系においては卵胞の発達の障害を引き起こし、異性体2-ブロモプロパンとは違ったメカニズムで毒性を発揮することが明らかとなった。卵巣ろ胞卵胞の減少が200ppmで起こることが明らかとなった（LOAEL：最小毒作用量）。内部暴露指標である尿中N-Acetyl-S-propylcysteine、血液グロビン中蛋白付加物S-propylcysteineが、暴露を反映するすぐれた指標であることがInVivoで明らかにされ、特に後者は、長期暴露マーカーとして有効であることが明らかとなった。1-ブロモプロパン曝露労働者の症状の解析では、中枢神経系の関与を疑わせる症状の他に粘膜刺激症状も顕著であった。また、1-ブロモプロパン曝露によって、精巣組織中の α エノラーゼが量依存的に増加することがEnzyme Immuno Assay (EIA)法によって明らかとなった。同時に抗 α 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 α 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 α 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 α 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-ブ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がわかっている。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が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、 α -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 γ -エノラーゼが増加した。 γ -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。 γ -エノラーゼの精巣上体における局在は特異性は少ないが、この γ -エノラーゼの変化は1-ブ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、これが1-ブ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ビン蛋白中およびニューロフィラメント中1-ブ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-ブ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-ブ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とを証明しており、1-ブ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。

In Vitro 実験において、1-ブロモプロパンはミクロゾ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利用が有効であると考えられた。1-ブ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。

F344 ラットにおいて1-ブロモプロパン 1000ppm、4週間曝露によって、大脳皮質および中脳の重量が有意に減少することがわかった。一方、WsitarNagoya (WNA) ラットにおいては、CaudatePutamen が有意に減少し、系統によって萎縮の場所が異なることが示唆された。また、F344 ラットは1-ブロモプロパン 1000ppm 曝露に対して WNA ラットよりも早期に遠位潜時を延長させたが、精子濃度、精子運動率低下の程度に差は無かった。50ppm の1-ブロモプロパン 4週間曝露したラットから、継時的に頸静脈より採血を行い、グロビン蛋白付加物 S-Propylcysteine を LC-MS/MS を用いて測定した結果、グロビン付加物は時間依

存的に増加することが明らかとなり、長期曝露指標として有効であることが明らかとなった。1-ブロモプロパンに曝露された40人の労働者と性、年齢を一致させた40人の非曝露労働者との比較において、曝露群は対照群に比べて有意に下肢運動神経伝導速度が低下し、遠位潜時が延長していることがわかった。また、血清総蛋白が高いこともわかった。これらの変化はラットにおいても既に確認されているが、運動神経伝導速度と血清総蛋白の変化のヒトでの報告はこれが初めてである。

1-ブロモプロパン使用職場の調査によって50ppm以下の曝露濃度により神経伝導速度に悪影響を与える可能性が示唆されたが、過去においてより高い濃度の1-ブロモプロパンに曝露されていた可能性も高い。曝露濃度は変動があり、また、個々の労働者の作業が固定されていないため、長期の曝露濃度の評価が正確な量-反応関係の確定のためには必要である。

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 助教授
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-ブロモプロパン(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ができた。一方、異性体1-ブロモプロパン(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 症例の解析から推測される毒性の動物での量-反応関係の解明

1) 中枢神経障害の解析

①形態学的解析 ウィスター系雄ラットに200ppm、400ppm、800ppmの1-ブロモプロパンを12週間および1週間曝露し、ペントバルビタール麻酔下で、ザンボニ液を用いてPerfusionした。1時間氷上で固定後、脳、脊髄、後根神経節、末梢神経を切り出し、ザンボニ液に浸漬してさらに固定した後、パラフィン包埋またはエポン包埋を行い、HE染色またはトルイジンブルー染色を行い、障害部位の探索を行った。

②生化学的解析 脳各部位のCPK活性、SH基、グルタチオンを測定するとともに、酵素免疫法を用い、神経特異蛋白である γ -エノラーゼ、グリア特異蛋白である β -エノラーゼ、クレ

アチンキナーゼのアイソザイムを測定し、障害の局在を検索した。ウィスター系雄ラット36匹を9匹ずつの4群に分け、それぞれに200ppm、400ppm、800ppmの1-ブロモプロパンを一日8時間、週7日、12週間曝露し、実験終了時にペントバルビタール麻酔下で、腹部大動脈よりヘパリン採血を行い、脳、脊髄(横隔膜より上部2cm)を取り出し、 -80°C で凍結保存した。分析時、凍結した脳、脊髄を氷上で融解し、10倍量の中性緩衝液を加えてホモジェネートした後、45,000gで20分間遠心し、上清をCK活性、 γ Enolase、 β S100,CKB,CKM測定に用いた。グルタチオン、非蛋白SH基の測定には、上記上清にトリクロロ酢酸を5%になるように加え除蛋白したサンプルを用いた。蛋白SH基は沈殿を1%SDSと0.025%EDTAを含む40mMリン酸緩衝液(PH8.0)に溶解したものをを用いて測定した。SH基はDTMBを用いて吸光度で定量し、グルタチオン量は、酵素サイクリング法を用いて測定した。酸化型グルタチオンGSSGは、アクリルニトリルを最終濃度が295mMになるように加え、プレインキュベートした後、同様の方法で測定した。

2) 内分泌系の解析

ウィスター系雄ラット36匹を9匹ずつの4群に分け、1-ブロモプロパン200ppm、400ppm、800ppmおよび新鮮空気に一日8時間、週7日、12週間曝露を行った。曝露終了時にネンブター

ル麻酔下で腹部大動脈より採血し、血漿中 LH,FSH,テストステロンを測定する。雌ラット 36 匹も同様に 4 群に分け、1-ブロモプロパン 200ppm、400ppm、800ppm および新鮮空気に一日 8 時間、週 7 日、12 週間曝露を行い、血漿中 LH,FSH を測定した。

3) 生殖系の解析

ウィスター系雌ラット 36 匹を 9 匹ずつの 4 群に分け、1-ブロモプロパンを 200ppm、400ppm、800ppm、一日 8 時間、週 7 日、12 週間曝露し、性周期を調べるとともに、卵巣連続切片を作成し、各発達段階の卵胞を計測した。

4) 1 週間曝露による神経、雄生殖器の標的（高感受性細胞）の検索と影響指標としての検討を行った。ウィスター系雄ラット 36 匹を 9 匹ずつの 4 群に分け、1-ブロモプロパンを 200、400、800ppm 一日 8 時間、週 7 日、1 週間曝露し、各群 8 匹をペントバルビタール麻酔下で脳、脊髄を取り出し、凍結した。凍結した脳、脊髄は、I と同様の方法で生化学的解析を行った。同時に精巣上体尾部を取り出し、ハンクス液内で細切、ろ過を行い、光学顕微鏡下で運動精子率、精子数を計測した。また、精子スメアを作り、形態異常を調べた。各群残りの 1 匹をザンボニ液を用いて Perfusion した。1 時間氷上で固定後、脳、脊髄、後根神経節、末梢神経、精巣を切り出し、ザンボニ液に浸漬してさらに固定した後、パラフィン包埋またはエポキシ包埋を行い、HE 染色またはトルイジンブルー染色を行い、早期障害部位の探索を行った。

2 内部曝露指標としての分子マーカーの検討

尿中 N-acetyl S-propylcystein, N-acetyl-S-2-hydroxypropylcystein を TBDMS 誘導体化し、GC マススペクトロメーター（Agilent5897N）で測定する（Ichihara2001）。血液中グロビン蛋白は酸加水分解の後、LC-MS/MS（Finnigan、TSQ）にて分析した。さらにプロパンジオールおよび HNE（4-hydroxynonenal）のフィールド研究で応用可能な測定法を確立し、バイオマーカーとしての有効性を検討した。

3 1-BP 使用職場調査 I

1-BP 使用職場、1-BP 製造工場 A,B,C の労働者を対象に、作業内容、作業時間、活性炭パッシブサンプラーによる曝露時間加重平均値を測定し、曝露状況、健康影響を把握した。症例の解析もあわせて行った。

4 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-ブロモプロパンを 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、ホモジェネートを得た。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ザイム発現量ならびに、神経特異蛋白とし

で知られる γ -エノラーゼ、 α -エノラーゼ、 β S100, α S100 蛋白質をサンドイッチタイプの EIA 法にて測定した。

5 1-ブ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-ブロモプロパン 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。洗浄後の赤血球からグロビン蛋白を抽出し、無酸素下で酸加水分解を行った。内部標準の S-(d7-propyl)cysteine を添加し、誘導体化後、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 のバッファー中で 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-ブロモプロパン 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 μ l に内部標準 N-acetyl-S-(d7-propyl)cysteine を添加し、Oasis-HLB カートリッジ (30mg) に

よる精製後、LC-MS/MS に導入した。

(CytochromeP450 系の代謝物の解析)

1)1,2-propanediol の測定

1-ブロモプロパンと肝 microsome200 μ 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 μ l を加えた。F 反応液に acetonitrile1.0ml を加え、15 分間よく攪拌した後、遠沈し、上清をとった。アセトニトリル層に、フェニルボロン酸誘導体化添加後、Hexane100 μ 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

同じく 1-ブロモプロパンとマイクロゾームの反応液に内部標準として Propionicacid (以下 PA と略) -d5(IS) 水溶液(10mM)10 μ l を加え、ethyl acetate1.0ml 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、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。

6 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-ブロモプロパン 800ppm、1000ppm に曝露し、毒性に対する感受性を調べた。

7 1-ブロモプロパン使用職場調査 II

(D 工場調査) 1-ブ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。

(E 工場調査)

1-ブ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。D工場と同じ検診項目に加え、血液生化学検査

(CK,GOT,GPT,LDH,ALP, γ -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。(F工場)1-ブ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。

8 中枢神経系影響の定量的評価

1-ブロモプロパンの中枢神経系への影響、標的を評価する上で、連続切片による再構築法を当初計画していたが、技術的困難が伴ったため、代替法として、重量法を採用した。F344ラット18匹を9匹ずつの2群に分け、曝露群と対照群とした。また、Wistar系から特別なセレクションを経ずに確立したInbred Rat、Wistar Nagoya(WNA)18匹を9匹ずつの2群に分け、曝露群と対照群とした。各系統曝露群

に1-ブロモプロパン1000ppm1日8時間、週7日、4週間曝露の後、断頭した。脳をすみやかに取り出し、大脳皮質、Amygdala、海馬、Caudate Putamen、中脳、橋-延髄、小脳に分割し、重量を測定した。

9 高感受性モデル動物を用いた検討

Nrf2 マウスの遺伝的バックグラウンドが不安定であることがわかったため、F344ラットとWNAラットの尾運動神経伝導速度、遠位潜時を測定し、感受性の差を検討した。

8週齢の雄F344ラット18匹を9匹ずつの2群、同週齢の雄WNAラット18匹を9匹ずつの2群に分け、F344の1群、WNAの1群を1000ppmの1-ブロモプロパンに1日8時間、週7日、4週間チャンバー内で曝露を行い、残りの群には同様のチャンバー内で新鮮空気のみを与えた。曝露開始直前、2週間曝露後、4週間曝露後にラット尾運動神経伝導速度、遠位潜時を測定した。ラット尾を37°Cに保持した流動パラフィン内に浸し、4分経過後に電気刺激を与え、遠位の筋電図を測定した。

10 動物からヒトへの外挿する上での内部曝露指標の応用

24匹のWistar系雄ラットを12匹ずつの2群に分け、1-ブロモプロパン50ppm、一日8時間、週5日、4週間曝露した。曝露開始直前、曝露1週後、2週後、3週後、4週後、曝露終了後1週の時点において、12匹については麻酔下で、0.5mL外頸静脈から採血した。

残った 12 匹については曝露終了後 1 週間新鮮空気のみを与え、蛋白付加物の減衰を観察した。全血採血は麻酔下で腹部大動脈よりヘパリンを用いて行った。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。洗浄後の赤血球からグロビン蛋白を抽出し、酸加水分解後、LC-MS/MS に導入した。

1.1 1-BP 曝露労働者調査 III 工場 G における時間加重平均暴露量および神経伝導速度などの生体影響との関係を検討した。

H 事業所における 1-BP の曝露状況の把握を行った。E 電気機械器具事業所において 1-BP を用いた部品洗浄作業に従事している 3 名（男性 2 名、女性 1 名）を対象とした。各作業者は生産用機械の部品に付着したシリコンをホーロー製バケツに入れた 1-BP に浸して洗浄する作業を必要に応じて行っており、作業時間は一回あたり 10 分程度、作業頻度は概ね 1 週間に 1 回程度であった。1-BP を用いた洗浄作業を通常行っている方法・時間に準じて模擬的に行ってもらった（作業時間は作業員 A が 13 分、作業員 B, C が各 5 分）。作業員の左右の耳、肩、胸にシリカゲルを充填したパッシブサンプラーを装着し、作業中の曝露濃度を測定した。サンプラーに捕集された 1-BP は加熱脱着後、ガスクロマトグラフにて測定した。また、作業開始 10 分前および作業後 60 分後に採尿し、作業前後の尿中 1-BP 濃度を測定した。尿中 1-BP 濃度はパーミアンドトラップ

法によるガスクロマトグラフにて測定した。

1.2 ヒトにおける量-反応関係を、動物実験とヒトデータより総合的に検討した。

C. 研究結果

1 症例の解析から推測される毒性の動物での量-反応関係の解明

1) 中枢および末梢神経障害の解析

①形態学的解析

1-ブロモプロパン 800ppm、一日 8 時間、12 週間曝露により、延髄薄束核軸索前末端の腫大、末梢神経ミエリンの変性が観察された。

1-ブロモプロパン 800ppm、一日 8 時間、1 週間曝露により、延髄薄束核にミエリン鞘に暗色物質を含む軸索前末端の腫大が観察された (Fig.1)。小脳、脊髄後根神経節、胸髄において有意な変化は観察されなかった。

1-ブロモプロパン 800ppm、一日 8 時間、1 週間曝露したラットから得た後頭骨神経筋枝のエポン包埋切片標本、および解きほぐし標本において、とりわけ RanvierNode 近くのミエリン鞘の腫脹、濃染塊、シュワン細胞細胞質の肥大、シュミットランターマン切痕の神経単位長さあたりの出現頻度が減少していた (Fig. 2)。

1-ブロモプロパン 800ppm、一日 8 時間、12 週間曝露したラットにおいて大脳皮質の萎縮が観察され

た。これは大脳重量の有意な低下と対応している。

②生化学的解析

1-ブロモプロパン 12 週間曝露ラットにおいて、体重は 400ppm 以上で有意に減少していた (Fig.3 図は Mean を示し、ErrorBar は標準偏差を示す。以下同様)。800ppm で大脳重量が有意に低下していた (Fig.4) が、小脳、脳幹は重量の変化を示さなかった (Fig. 5, 6)。神経特異蛋白質 γ -エノラーゼは大脳において 400ppm 以上の濃度で有意に減少していた (Fig. 7) が、小脳、脳幹、脊髄においては有意な変化を示さなかった (Fig. 8-10)。グリア特異蛋白質 β S100 は大脳、小脳、脳幹、脊髄いずれの部位においても有意な変化を示さなかった (Fig. 11-14)。HeatShockProtein27 は、大脳においては有意な変化がなかった (Fig. 15) が、小脳、脳幹、脊髄において 800ppm で有意な上昇が観察された (Fig.16-18)。CK 活性は、大脳、小脳、脳幹のすべての部位で 400ppm 以上の濃度で有意な減少が観察され (Fig. 19-21)、脊髄においては 200ppm 以上の濃度で有意な減少が観察された (Fig. 22)。サンドイッチタイプの酵素抗体法によって測定したアイソザイム CK-B は、大脳、小脳、脳幹において 800ppm の曝露濃度で有意な減少を示し (Fig. 23-15)、脊髄では 200ppm 以上で有意な減少を示した (Fig. 26)。アイソザイム CK-M は、中枢神経系においては CK-B に比べて圧倒的に少量であるが、脳幹において 400ppm 以上で減少した (Fig. 29)。大脳、

小脳、脊髄においては有意な変化は示されなかった (Fig. 27, 28, 30)。CK-B に対する CK 活性の値、CK 活性/CK-B は、大脳、脳幹において 400ppm 以上で減少し (Fig. 31, 33)、脊髄において 800ppm の濃度で減少した (Fig. 34)。小脳においては有意な変化を示さなかった (Fig. 32)。

総グルタチオン量は、大脳、小脳、脳幹で、800ppm の曝露濃度で有意に減少した (Fig. 35-37) が、脊髄では反対に 800ppm で有意な増加を示した (Fig. 38)。酸化型グルタチオン GSSG は大脳において 800ppm で有意な増加が観察されたが (Fig. 39)、小脳、脳幹、脊髄では有意な変化が観察されなかった (Fig. 40-42)。非蛋白結合 SH 基は、大脳、脳幹において 800ppm で有意に減少していたが (Fig.43, 45)、小脳、脊髄では有意な変化が観察されなかった (Fig. 44, 46)。蛋白結合 SH 基は小脳では 400ppm 以上で (Fig. 48)、脳幹で 800ppm で (Fig. 49) 有意な減少が観察されたが、大脳、脊髄では有意な変化がなかった (Fig. 47, 50)。

可溶性蛋白は、大脳において 800ppm で有意な減少が示された (Fig. 51) が、小脳、脳幹、脊髄では有意な変化が示されなかった (Fig. 52-54)。

2) 内分泌系の解析

1-ブロモプロパン 12 週間曝露雄ラットでは、LH,FSH に有意な変化はなかったが、テストステロン濃度に有意な変化が見られた (Fig. 57-59)。雌ラットにおいては、LH,FSH に有意な変化

は観察されなかった(Fig. 55, 56)。

3) 生殖系の解析

雌 12 週間曝露実験では、800ppm 曝露群は体重減少が著しかったため、7 週で曝露を中断し、ペントバルビタール麻酔下で解剖した(Fig. 60)。

膣スメア検査では、800ppm 群において、正常な性周期をもつラットの数は最初の 3 週間で有意に減少した。さらに、次の 3 週間においては正常な性周期をもつラットはなかった。すべての性周期停止ラットは、Diestrus (発情間期) を示していた。400ppm 群において、性周期は 7-9 週から徐々に延長し不整性周期を示すラットのすべてが、Diestrus 期の延長を示していた。正常の性周期の数は、最後の 6 週間で有意に対照群に比して減少していた。すべての性周期停止ラットは 400ppm 群において一定の発情間期のスメアを示していた。200ppm 群では対照群に比して有意な性周期の変化は観察されなかった。200、400ppm の生殖臓器の重量は、対照群に比して有意な変化がなかった。肝臓と腎臓の重量は、200、400ppm において有意に上昇していた。400ppm 群における脳重量は、対照群に比して有意に低下していた。卵巣の病理組織学的検討では、800ppm 群で正常な成長卵胞および濾胞卵胞が著しく減少しており、新鮮黄体は認められず(Fig. 66)、始原卵胞は増加の傾向にあった(Fig. 66)。(Fig. 64 = 対照群) 400ppm 群(Fig. 65)では成長卵胞・濾胞卵胞の有意な減少が認められたが、始原卵胞には有意な数の変化はなかった(Fig. 65)。200ppm 群では組

織学的には一見正常にみえたが、後述するように卵胞数を計測すると濾胞卵胞の有意な減少がみられた(Fig. 63)。連続切片法による評価では、量依存的な成長卵胞(Fig. 62)、ろ胞卵胞(Fig. 63)の減少が観察されたが、一方、始原卵胞は減少せず、むしろ 800ppm 群では対照群より有意に多かった(Fig. 61)。

4) 1 週間曝露による神経、雄生殖器の標的 (高感受性細胞) の検索と影響指標としての検討

1-ブロモプロパン 1 週間曝露ラットの体重に関しては曝露による有意な変化が観察されなかった(Fig. 67)。大脳、小脳、脳幹、脊髓重量は有意に変化を示さなかった(Fig. 68-71)。神経特異蛋白質 γ -Enolase は、大脳、小脳において、400ppm 以上で有意な減少を観察した(Fig. 72, 73)が、脳幹と脊髓では変化を示さなかった(Fig. 74, 75)。一方、グリア特異蛋白質ベータ S100 は大脳、小脳、脳幹、脊髓のいずれの部位においても有意な変化を示さなかった(Fig. 76-79)。クレアチンキナーゼ活性は、大脳では 400ppm 以上の濃度で(Fig. 80)、小脳では 800ppm で(Fig. 81)、脳幹、脊髓では (Fig. 82, 83)200ppm 以上の濃度で低下した。AST, LDH 活性は、大脳、小脳、脳幹、脊髓のいずれの部位においても変化を示さなかった(Fig. 84-91)。酵素抗体法によるアッセイでは、アイソザイム CK-B は大脳では 800ppm で低下を示した(Fig. 92)が、反対に脳幹では 800ppm で上昇(Fig. 94)、脊髓では 400ppm で上昇した(Fig. 95)。小脳では

有意な変化を示さなかった(Fig. 93)。アイソザイム CK-M は、大脳、小脳、脳幹、脊髄のいずれの部位においても有意な変化を示さなかった(Fig. 96-99)。

血漿 CK 活性は 400 以上で有意な減少を示した(Fig. 100)。血漿中のアイソザイム CK-M も 800ppm で有意な減少を示した(Fig. 101)。

総グルタチオンは大脳、小脳で 800ppm で有意な増加を示し(Fig. 102, 103)、反対に脊髄においては 200ppm 以上で有意に、量依存的に増加した(Fig. 105)。脳幹においては変化がなかった(Fig. 104)。

酸化型グルタチオン GSSG は、大脳、小脳、脳幹、脊髄のいずれの部位においても変化がなかった(Fig. 106-109)。非蛋白結合 SH は、大脳、小脳においては 800ppm で(Fig. 110, 111)、脳幹においては 400ppm 以上で(Fig. 112)有意な減少が観察された。一方、脊髄では 800ppm で有意な増加を示した(Fig. 113)。蛋白結合 SH 基は大脳、小脳、脳幹、脊髄のいずれの部位においても有意な変化が観察されなかった(Fig. 114-117)。

生殖系：精巣上体尾部精子数に有意な変化はなかった(Fig. 118)。運動精子率は、200ppm 以上で有意に、量依存的な増加を示した(Fig. 119)。尾欠損精子率は 800ppm で有意な増加を示した(Fig. 120)。形態異常頭部を有する精子は 400ppm 以上で有意な増加を示した(Fig. 121)。

精巣における標的：800ppm 群で、Postspermiation ステージ IX-XI の精細管において滞留精子 (ステップ 19) が

観察された(Fig. 122B)。 (Fig.122A は Control)

2 内部曝露指標としての分子マーカーの検討

1) 尿中 N-Acetyl-S-propylcysteine の定量

N-Acetyl-S-propylcysteine。の標準物質は市販されていないため、標準品の合成を行った。

【標準物質の合成】N-アセチルシステインと 1-ブロモプロパンとをさせた後、カラムクロマトグラフィーにて精製分離した。同様の方法で、重水素置換体 (d7) 1-ブロモプロパンを用いて、内部標準物質 N Acetyl-S- (d7) propylcysteine を合成した。CDCl₃ 内における ¹H NMR が過去のデータと一致していることを確認した。

標準物質 N-Acetyl-S-propylcysteine を TBDMS 誘導体化し GC-MS に導入した。検量線はすぐれた直線性を示した(Fig. 123)。曝露ラット尿において、量依存的に N-Acetyl-S-propylcysteine 排泄量が増加した(Fig. 124)。

2) 血液グロビン中蛋白付加物 S-PropylCysteine の検出

1-ブロモプロパンに曝露したラットから麻酔下でヘパリン採血を行った。赤血球からグロビン蛋白を抽出し、凍結保存した。付加物測定時、グロビン蛋白を無酸素条件下で酸加水分解させ、S-Propylcysteine を LC-MS/MS にて定量した (Fig.125) 曝露濃度とすぐれた直線的関係を示し、1-ブロモプロパンの長期曝露指標として有効であ

ることが示唆された。

3) 酸化ストレス指標、中間マーカーとしてのHNE (4-Hydroxynonenal) 測定法の確立

50 μ L の血漿に 250 μ l の 0.05MPFBHA HCl(O-(2,3,4,5,6-Pentafluorobenzyl) hydroxylamine hydrochloride) を加え、30 分、室温にてインキュベートする。0.5ml のメタノール、2ml のヘキサン、6 滴の濃硫酸を加え、攪拌し、ヘキサン層を別のガラス試験管に移し脱水後、BSTFA (N,O-bis(trimethylsilyl)-trifluoroacetamide) を加え、80℃で一時間インキュベートした。352、242、181 のいずれのイオンを用いてもすぐれた直線性が得られ、定量可能であることがわかった。

4) ヘキサンジオールの定量(Fig. 126)
500 μ l のサンプルに内部標準 d6-1,2-propanediol を加え 0.5ml のアセトニトリルで抽出を行った。フェニルボラン酸加え、無水硫酸ナトリウム 1 g を加え、混合した。上清を別の試験管に移し、窒素で乾固、アセトニトリル 50 μ l に溶解したものを GC-MS に導入した。20 μ M の微量のプロパンジオール測定が可能であることがわかり、かつ検量線も良い直線性が得られた(Fig. 126)。

3 1-BP 使用職場調査

1) A 精密株式会社訪問 平成 15 年 2 月 21 日 【会社の概要】昭和 61 年創業 【生産の内訳】時計部品 (全体の 1 割) インクジェットプリンタヘッド

携帯電話の時計制御用水晶振動子 9 ピンドットインパクトプリンタヘッド【1-BP の使用状況】

QDH ラインで使用 (1-BP 96~98%)。プリンタヘッド組立時に塗布するシリコン樹脂が治具の噴射口につまることがあった。これを洗浄除去するために 1-BP を使用する。シリコン塗布ラインは 2 ライン。ライン上で常時使用しているわけではなく、必要に応じて使用していた。1-BP は QDH ラインですべて使用 (1993 年~) 3 リットルホウロウビーカーに半分程度まで 1-BP を入れ、手製の簡易ドラフト (幅 1m, 奥行き 60cm, 高さ 50cm くらい、フレキシブルダクトにて排気) 中で導電性ゴム手袋をはめた作業者が治具につまったシリコン樹脂を洗浄。一回の作業は 10 分程度。細いドリルを使ってシリコンを落とす。1-BP の代替は検討中だが、シリコンを落とせる物質がなかなか見つからなかった。

【1-BP 以外の使用状況】時計部品製造ラインにて、フロン→トリクロロエタン→トリクロロエチレン (回収装置付き) の順に使用してきたが、現在ではライン自体が無くなっているため、使用していなかった。PRTR 法で規制されている物質としては、HF、重クロム酸、シアン系、KOH など。

洗浄作業は多いが、水系がほとんど。有機溶剤は IPA が多い。ハンダは 3 年くらい前に鉛フリー化を完了済み。

【安全衛生管理体制について】

全ての物質について「化学物質取扱手順書」を作成 (MSDS 等を参考)。A4

版でパウチ処理したものを各貯蔵所脇に常に閲覧できるように置いてあった。

2) B工場における症例の解析: 35歳男性 1996年より、光学機器の組み立て、プリズムとレンズの接着に従事している。作業後、頭痛、悪心、不快感を訴え、医療機関を受診した。使用溶剤の中に1-ブロモプロパンを主成分とする製品が含まれていた。1996年以前は、塩化メチレン、フロン、アセトン、MEKを使用していたが、このような症状は経験しなかった。LH,FSH,Testosterone、体脂肪率、運動機能 (Fingertap, Dynamometer, GroovedPegboard) は正常範囲内であった。

3) C工場におけるBP暴露労働者の症状調査

症状として変なにおいがする、鼻が刺激される、喉の痛み、目が痛いなど、粘膜刺激症状が最も多く、次にめまい、浮遊感、頭痛などの中枢神経症状が多いことがわかった。女性労働者について、血液検査、内分泌学的検査を行うとともに、月経異常の有無を調べた。貧血を示す労働者が発見されたが曝露濃度との関係は明らかでなかった。また、月経異常あるいは、内分泌学的変化を呈した労働者は比較的高齢であり、曝露による影響と断定することはできなかった。

作業中の個人曝露濃度をパッシブサンプラー (柴田科学) を用いて調べるとともに、作業後の尿を採取し、N-acetyl-S-propylcysteine 量を測定した。

その結果、実際に曝露された労働者に対してN-acetyl-S-propyl cysteineが内部曝露量のマーカーとして有効であることがわかった(Fig. 127, 128)。

4 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-ブロモプロパン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.129)。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. 130)。精巣において、 α -エノラーゼは有意に増加した(Fig.131)。400ppm、800ppm群において有意に増加したが、400ppmより800ppmの方が大きい値を示すということではなかった。 α -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. 139, 140)、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 γ -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. 132)。 α -S100蛋白(Fig.133)、 β -S100蛋白(Fig.134)はともに1-ブロモプロパン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 α -エノラーゼは有意な変化を示さなかった(Fig.135)。一方、神経特異蛋白として知られている γ -エノラーゼは200ppm以上で有意な増加を示した(Fig.136)。精巣上体 α -S100蛋白質は有意な変化を示さなかったが(Fig.137)、 β -S100蛋白質は800ppmで有意な上昇を示した(Fig.138)。精巣上体の免疫組織学的

観察では、 β -S100 蛋白質が間質細胞で発現していることがわかったが (Fig.141,142)、その細胞局在の特異性は明確でなかった。

5 1-ブ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、LC-MS/MS にて分析され、曝露量依存的に増加することがわかった (Fig.143)。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 が排泄されることがわかった (Fig.144,145)。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、グロビ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、曝露量依存的に増加することがわかった (Fig.146)。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.147)。

(CytochromeP 4 5 0 系代謝物)

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

6 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 ラットに比べ、1-ブロモプロパン曝露に対する感受性が高いことがわかった。

7 1-ブロモプロパン使用職場調査

(A 工場)

1-ブ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べ、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-ブ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-ブ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.148)。身長 (Fig.149)、体重 (Fig.150) 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.151)、運動神経伝導速度 (Fig.152)、F 波伝導速度、腓腹神経感覚神経伝導速度) で有意な差はなかつ

た。血液学的検査では、WBC(Fig.153)、RBC(Fig.154)、Hb(Fig.155)、Plt(Fig.156)で有意な差はなかった。血液生化学検査(CK,GOT,GPT,LDH,ALP, γ -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.157-162)。女性についても、男性とほぼ同様に年齢(Fig.173)、身長(Fig.174)、体重(Fig.175)、電気生理学的指標(Fig.176,177)、血液生化学指標(Fig.172-197)において曝露群と対照群との間の有意な差はなかったが、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.178)。他の血液学的指標では変化はなかった(Fig.179-185)。パッシブサンプラーによる個人曝露量評価では1-プロモプロパン0.06-106.4 ppm(平均7.05、中央値1.00) ppm、2-プロモプロパン0.004-106.4 ppm(平均1.1、中央値0.027) ppmであった。

(C工場)

パッシブ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、身長については、曝露群と対照群との間に有意な差はなかった。1-プ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.198)。一方、運動神経伝導速度(Fig.199)、F波伝導速度(Fig.200)は有意な変化がなかつ

た。感覚神経伝導速度(Fig.201)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.203,204)、Benton(Fig.208)、Pursuit aiming test(Fig.209)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が、単純反応時間(Fig.202)、Santa Ana(Fig.205,206)、Digit Symbol(Fig.207)については有意な変化がなかった。感情プロフィール検査では、Tension(Fig.210)、Depression(Fig.211)、Anxiety(Fig.212)、Fatigue(Fig.214)、Confusion(Fig.215)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.213)に関しては有意な変化がなかった。重心動揺計を用いた検査(Fig.216-227)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.218)、閉眼時のY軸パワースペクトル0.02-0.2 Hz成分(Fig.225)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.226)において曝露群は対照群に比して高値を示した。

8 中枢神経影響の定量的評価

Caudate-Putamenの重量はF344では曝露群、対照群との間に有意な差は見られなかった(Fig.242)が、WNAでは曝露群対照群に比して低値を示した

(Fig.243)。中脳重量は、F344 においては曝露群が対照群に比して有意な低値を示した (Fig.244) が、WNA においては両群は有意な差を示さなかった (Fig.245)。小脳重量は、F344、WNA ともに曝露群、対照群との間に有意な差を示さなかった (Fig.246,247)。大脳皮質重量は、F344 においては曝露群が対照群に比して有意な低値を示した (Fig.248)、WNA では両群に差は見られなかった (Fig.249)。Amygdala 重量は、F344 と WNA ともに曝露群、対照群との間に有意な差は見られなかった (Fig.250, 251)。海馬重量は、F344、WNA ともに曝露群、対照群との間で有意な差は見られなかった (Fig.252, 253)。橋-延髄重量は F344 においては曝露群と対照群との間で有意な差を示さなかった (Fig. 254) が、WNA においては曝露群が対照群に比して有意な減少を示した (Fig.255)。脳のその他の部位 (嗅球を含まず) では、F344 においては曝露群と対照群との間に有意な差は見られなかったが (Fig.256)、WNA では曝露群が対照群に比して有意な低値を示した (Fig.257)。F344 において大脳皮質と中脳が有意に減少していたが、その他の部位 (CaudatePutamen、Amygdala、橋-延髄、小脳) では有意な差が見られなかった。これらのデータは灌流固定によって作られた大脳標本の組織学的な観察結果とも一致していた。

9 高感受性モデル動物を用いた検

討(Fig. 228-275)

F344 ラットにおいて体重は曝露開始後 1 週目より有意に 1-プロモプロパン曝露群が対照群に比べて低値を示した (Fig.228)。一方、WNA では曝露開始後第 2 週目より曝露群が対照群に比して有意な低値を示した

(Fig.229)。ラット尾の運動神経伝導速度 (MCV)においては、F344 では曝露開始後 2 週において曝露群が対照群に比して有意な低値を示した

(Fig.230)が、WNA では、曝露全期間を通じて有意な差を示さなかった

(Fig.231)。ラット尾の運動神経遠位潜時については、F344 においては、曝露開始後 4 週目で曝露群が対照群に比し有意な低値を示したが、WNA においては曝露全期間を通じて優位な差を示さなかった (Fig.233)。曝露終了時の解剖において、F344、WNA とも精巣上体重量は曝露群が対照群に比し有意な低値を示していた (Fig.234, 235)。精巣重量は、F344 では曝露群が対照群に比して低値を示した

(Fig.236)が、WNA においては両群の間に有意な差は示されなかった

(Fig.237)。前立腺は F344、WNA ともに曝露群と対照群との間で有意な重量の差を示さなかった (Fig.238, 239)。精囊重量は、F344、WNA ともに曝露群が対照群に比して有意な低値を示した (Fig.240, 241)。肝臓重量は、F344、WNA ともに曝露群が対照群に比して有意な高値を示した

(Fig. 268, 269)。脳全体重量につい

では、F344 では F344 では、曝露群が対照群に比して有意な低値を示したが、WNA では両群に有意な差はみられなかった (Fig.261)。脾臓重量は、F344 では曝露群が対照群に比して有意な低値を示したが、WNA では両群に有意な差が見られなかった

(Fig.263)。一方、腎臓においては F344 で曝露群と対照群との間に有意な差は見られなかった (Fig.264)が、WNA では曝露群が対照群に比して有意な高値を示した (Fig.265)。副腎重量は、F344 では曝露群、対照群との間に有意な差は見られなかった (Fig.266)が、WNA では曝露群が対照群に比して有意な減少が見られた (Fig.267)。心臓重量については、曝露群、対照群の間に有意な差は見られなかった (Fig.268, 269)。脊髄は F344、WNA ともに曝露群が対照群に比して有意な低値を示した (Fig.270,271)。

精巣上体精子濃度は、F344、WNA ともに、曝露群が対照群に比して有意な低値を示した (Fig.272,273)。精巣上体精子運動率についても、F344、WNA ともに曝露群は対照群に比して有意な低値を示した (Fig.274,275)。

F344 ラットは同週齢の WNA に比べ早期に遠位潜時が延長することがわかり、F344 のほうが WNA より感受性が高いことがわかった。

10 グロビン蛋白付加物の長期曝露指標としての有効性の検討

グロビン蛋白付加物 S-プロピルシス

テインは時間依存的に増加し、曝露の終了によって減少していくことが確認された(Fig. 297)。

11 ヒト健康調査

ヒト調査において (Fig. 276-296) 曝露群は対照群に比べて有意に下肢運動神経伝導速度が低下し(Fig.277)、遠位潜時が延長している(Fig. 276)ことがわかった。F 潜時は曝露群が、対照群に比して有意に延長していることがわかった。また、血清総蛋白が高いこともわかった(Fig. 279)。総コレステロールと血液尿素窒素は曝露群、対照群の間に有意な差が見られなかった (Fig.280, 281)。クレアチニンは曝露群が有意に対照群より低値を示した (Fig.282)。CPK は曝露群、対照群の間に有意な差を示さなかった (Fig.283)。GOT は曝露群で対照群に比して有意な高値を示していた (Fig.284)。GPT は、曝露群、対照群との間に有意な差は見られなかった (Fig.285)。LDH は、曝露群が、対照群に比して有意に高値を示していた (Fig.286)。ALP と γ -GTP は、曝露群と対照群との間に有意な差が見られなかった (Fig.287,288)。TSH は、曝露群が対照群に比して有意に高値を示していた (Fig.289)。LH は曝露群、対照群との間で有意な差が観察されなかった (Fig.290)が、FSH は曝露群が対照群に比して有意に高値を示していた (Fig.291)。Ferritin は曝露群が対照群に比して有意に高値を示した

(Fig.292)。Fructosamine は曝露群、対照群との間で有意な差が観察されなかった (Fig.293)。Estradiol は曝露群が対照群に比して有意に低値を示した (Fig.294)。Fe と VitaminB1 はともに、曝露群が対照群に比して有意な低値を示した (Fig.295)。

運動神経伝導速度の低下、遠位潜時の延長、血清蛋白の上昇はラットにおいても既に確認されているが、運動神経伝導速度と血清総蛋白の変化のヒトでの報告はこれが初めてである。

E 工場における作業中の 1-BP 曝露濃度 (両耳, 両肩, 両胸の 6 箇所平均) は作業員①が 28.8ppm, 作業員②が 12.2ppm, 作業員③が 11.9ppm であった。8 時間加重平均に換算すると、それぞれ 0.76ppm, 0.13ppm, 0.12ppm となる。また、作業前の尿中 1-BP 濃度は作業員①が 0.33ng/l, ②が 0.18ng/l, ③が 0.79ng/l であり、作業後ではそれぞれ 1.45ng/l, 2.00ng/l, 0.89ng/l であった。尿中濃度は作業員 A,B では作業前に比べて作業後の濃度が上昇していた一方で、作業員③は作業前の尿中濃度が高く、作業後もほとんど変わらなかった。これは曝露調査約 1 時間前に作業員③が調査の準備を行っており、その際に曝露されたためと考えられる。

1 2 総合的検討

D 工場の調査によって 50ppm 以下の 1-ブロモプロパン曝露により神経伝導速度に悪影響を与える可能性が示

唆されたが、過去においてより高い濃度の 1-ブロモプロパンに曝露されていた可能性も高い。曝露濃度は変動があり、また、個々の労働者の作業が固定されていないため、長期の曝露濃度の評価が正確な量-反応関係の確定のためには必要である。

(倫理面への配慮) 1-ブロモプロパン曝露労働者に対しては、ヘルシンキ宣言に基づき、文書によるインフォームドコンセントを得た。得られた情報と個人とを結びつける情報を外部に漏らさないように留意した。動物実験は、名古屋大学医学部動物実験指針にのっとり、動物実験委員会の許可を得て行う。さらに、本研究では、遺伝子改変動物を用いるが、これは名古屋大学医学部組換え遺伝子実験指針に基づき行う。

D. 考察 (中枢神経障害の解析) 形態学的解析によって、末梢神経ミエリン鞘の変性、延髄薄束核前末端の肥大、大脳皮質の萎縮が明らかとなった。しかし、今回の実験では、中枢神経系の障害の局在を限定するには至らなかった。一方、生化学的分析によって、形態学的には把握できないレベルの変化を明らかにすることに成功した。それは、大脳皮質における神経特異蛋白質 γ -Enolase の低下である。この酵素は中枢神経において神経細胞のみに特異的に発現し、グリア細胞には発現しないことが知られている。一方、グリア特異的に発現することが知られている β S100 蛋白質は有意な変化