

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）

分担研究報告書

ハウスダスト試料中のポリ臭素化ジフェニルエーテルの分析

主任研究者	牧野恒久	東海大学医学部
分担研究者	中澤裕之	星薬科大学
研究協力者	阿久津和彦	大阪府立公衆衛生研究所
	高取 聡	大阪府立公衆衛生研究所

研究要旨

大阪府内の4家庭から採取したハウスダスト試料中のポリ臭素化ジフェニルエーテル (PBDEs) を分析した。全てのハウスダスト試料からデカ BDE 関連成分を中心とする PBDEs が 190~1100 ng/g の濃度で検出され、一般家庭環境における普遍的なデカ BDE 汚染および乳幼児の慢性的なデカ BDE 暴露が示唆された。ハウスダストの非意図的摂取による乳幼児の PBDEs 暴露量試算値 (ペンタ BDE:0.4 ng/kg/日, オクタ BDE:0.2 ng/kg/日, デカ BDE:15 ng/kg/日) は、各原体の参照用量 (RfD) より十分に低く、直ちに健康影響が危惧されるレベルではなかった。

A. 研究目的

ポリ臭素化ジフェニルエーテル (PBDEs) は、合成樹脂の難燃剤として国内外で広く使用されてきた化学物質である<sup>1)</sup>。一方、PBDEs は残留性環境汚染物質として近年問題視されており、げっ歯類での経口投与実験において甲状腺機能や脳神経機能への悪影響が報告されている<sup>2)</sup>。米国では1990年代のペンタ BDE の使用量が他国より多く、人体中のペンタ BDE 濃度が我が国や欧州より数十~数百倍高いレベルにあり、その暴露経路としてペンタ BDE に汚染された屋内大気・ハウスダストの吸引が示唆されている<sup>3)</sup>。

我が国でも、これまでにデカ BDE を中心とした PBDEs が10万トン程度使用されたと推定されているが、屋内汚染実態および日常的な PBDEs 暴露量については不明な点が多いのが実情であ

る。そこで本研究では、我が国のハウスダスト中の PBDEs 残留実態の把握および一日暴露量の推定を目的とした。

B. 研究方法

B.1. 試料

PBDEs濃度認証済のハウスダスト標準参照試料 (NIST SRM 2585) および2007年11月に紙パック捕集型ハンディクリーナー (Hitachi Model PV-H22, 紙パックGP-S35F) を用いて大阪府内の4家庭で採取したしたハウスダスト (最終100 $\mu$ mメッシュで篩い分けしたもの) を試料とした。また、ブランク試料には無水硫酸ナトリウムを用いた。

NIST SRM 2585中のPBDEsの分析結果については、公表されている水分含量 (2.1%)<sup>4)</sup>に基づ

き補正した結果（乾燥重量あたり濃度）を認証値<sup>4)</sup>と比較した。一方、大阪府内の4家庭で採取したハウスダスト試料については、試料の絶対量が少なく、正確な水分含量の測定が困難と予想されたことから、水分含量の測定は実施せず、今回の調査では湿重量あたり濃度を用いて考察を行った。

## B. 2. 試薬

AccuStandard 社製 BDE-AAP-A-15X, BDE-196S/197S/203S/208S-0.2X および Wellington 社製 BDE-206/207/209 をNative体の標準原液として使用し、3-10 臭素化 PBDEs 36 異性体を測定対象とした。クリーンアップスパイク溶液には炭素安定同位体 ( $^{13}\text{C}$ ) で標識化された  $^{13}\text{C}_{12}$ -BDE-28, 47, 99, 153, 154, 183, 197, 207, 209 (Wellington Laboratories 社製 MBDE-MXC, MBDE-197/207/209) のヘキサン混合溶液を使用した。また、シリンジスパイクには  $^{13}\text{C}_{12}$ -PeBDE-126 (CIL 社製E0-4930) のヘキサン溶液を使用した。ヘキサン, エタノール (以上, 残留農薬・PCB 試験用 5000 倍濃縮保証品), ノナン (ダイオキシン類分析用), 44%硫酸シリカゲル (ダイオキシン類分析用), アセトン (試薬特級, 器具の一次洗浄に使用) および無水硫酸ナトリウム (PCB・フタル酸エステル試験用) は和光純薬社製を用いた。

## B. 3. 操作

試料0.1 gを遠沈管に精密に秤取後、クリーンアップスパイクおよびアセトン10 mL, ヘキサン20 mLを加えて15分間超音波抽出した。遠心処理 (3000 rpm, 5分間) 後, ろ紙ろ過して抽出液を採取した。さらに残渣を同様に超音波抽出し,

抽出液を採取した。合わせた抽出液を減圧乾固後, 少量のヘキサンに溶解した。この試料溶液を予めヘキサンで洗浄した44 %硫酸シリカゲルカラム (充填量1g) に負荷し, ヘキサン10 mLでカラムからPBDEsを溶出した。回収液を減圧乾固後, ゲル浸透クロマトグラフィー (GPC) により, PBDEsの溶出画分を回収した。回収液を濃縮試験管に移し, シリンジスパイクおよびノナン250  $\mu\text{L}$ を添加し, 窒素ガス吹き付けで250  $\mu\text{L}$ に濃縮し, GC/MS測定に供した。

## B. 4. 装置条件

### B. 4. 1. GPC

装置: Waters社GPCシステム

カラム: Shodex CLNpak EV-GAC + EV-2000AC

移動相: アセトン/シクロヘキサン (3:7, v/v)

流速: 5 mL/min

カラム温度: 40°C

採取条件: 12~28 minの画分を採取

### B. 4. 2. GC/MS

装置: JEOL JMS-GCmateII GC/MSシステム

注入口温度: 250°C

注入法: パルスドスプリットレス, 1  $\mu\text{L}$

パルス圧: 20 psi (0-1.6 min)

キャリアガス: ヘリウム (カラム流量 1 mL/min)

GC カラム: Restek Rtx-1ms (15 m  $\times$  0.25 mm ID, 膜厚 0.1  $\mu\text{m}$ )

GC カラム昇温条件: 100°C (2 min) - 10°C/min - 310°C (3 min)

トランスファーライン温度: 310°C

イオン源温度: 280°C

イオン化電流: 300  $\mu\text{A}$

イオン化エネルギー：35 eV

加速電圧：2500 V

分解能：1000

イオン化モード：EI

検出法：SIM

### C. 研究結果・考察

標準溶液およびハウスダスト試料のクロマトグラム例を図1に示した。SRM 2585の分析結果は認証値と概ね良好な一致を示し(図2)，開発した分析法の妥当性が示された。また，ハウスダスト試料と同様に処理したブランク試料(無水硫酸ナトリウム)から，いずれのPBDEsも検出されなかったことから，捕集装置由来のコンタミネーションは無視できると判断した。

開発した分析法を用いて大阪府内4家庭のハウスダスト試料を分析した結果，全ての試料からPBDEsが190～1100 ng/gの濃度で検出された(表1)。いずれの試料についてもBDE-209の顕著な残留(サブppm～ppmオーダー)が認められ，一般家庭環境における普遍的なデカBDE汚染および乳幼児の慢性的なデカBDE暴露が示唆された。一方，ペンタBDEおよびオクタBDE関連異性体の濃度は比較的低濃度(ppbオーダー)であった。以上の結果は，我が国におけるPBDEsの使用実態(相対的にデカBDE使用量が多い)を反映したものと推定された。ハウスダスト中PBDEs濃度の平均値から，乳幼児(体重5kg，ハウスダスト取込量0.1 g/日と仮定<sup>5)</sup>)のPBDEs暴露量を推定した結果，ペンタBDE:0.4 ng/kg/日，オクタBDE:0.2 ng/kg/日，デカBDE:15 ng/kg/日と試算された。いずれの値も各原体の参照用量\*(RfD:各々2000, 3000, 10000 ng/kg/日<sup>6-8)</sup>)より十分低い値であり，直ちに健康影響が危惧

されるレベルではなかった。

### D. 結論

ハウスダストの非意図的摂取による乳幼児のPBDEs暴露量試算値(ペンタBDE:0.4 ng/kg/日，オクタBDE:0.2 ng/kg/日，デカBDE:15 ng/kg/日)は，各原体のRfDより十分に低く，直ちに健康影響が危惧されるレベルではなかった。

### E. 参考文献

- 1) International Programme on Chemical Safety Environmental Health Criteria 162 (1994): Brominated diphenyl ethers. available at <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc162.htm> [last accessed on Dec 24, 2007].
- 2) Zhou, T., Taylor, M. M., DeVito, M. J., and Crofton, K. M. Developmental exposure to brominated diphenyl ethers results in thyroid hormone disruption. *Toxicol. Sci.*, **66**, 105-116 (2002).
- 3) Stapleton, H. M., Dodder, N. G., Offenber, J. H., Schantz, M. M., and Wise, S. A. Polybrominated diphenyl ethers in house dust and clothes dryer lint. *Environ. Sci. Technol.*, **39**, 925-931 (2005).
- 4) National Institute of Standards & Technology Certificate of analysis: standard reference material 2585 organic contaminants in house dust (2005). available at [https://srmsors.nist.gov/view\\_cert.cfm?srm=2585](https://srmsors.nist.gov/view_cert.cfm?srm=2585) [last accessed on Dec 24, 2007].
- 5) Gevao, B., Al-Bahloul, M., Al-Ghadban, A. N., Al-Omair, A., Ali, L., Zafar, J., and

Helaleh, M. House dust as a source of human exposure to polybrominated diphenyl ethers in Kuwait. *Chemosphere*, **64**, 603-608 (2006).

6) US Environmental Protection Agency (Integrated Risk Information System) Pentabromodiphenyl ether (CASRN 32534-81-9). available at <http://www.epa.gov/iris/subst/0184.htm> [last accessed on Dec 24, 2007].

7) US Environmental Protection Agency (Integrated Risk Information System) Octabromodiphenyl ether (CASRN 32536-52-0). available at <http://www.epa.gov/iris/subst/0180.htm> [last accessed on Dec 24, 2007].

8) US Environmental Protection Agency (Integrated Risk Information System) Decabromodiphenyl ether (DBDPE) (CASRN 1163-19-5). available at <http://www.epa.gov/iris/subst/0035.htm> [last accessed on Dec 24, 2007].

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

(1) Akutsu, K., Takatori, S., Nakazawa, H., Hayakawa, K., Izumi, S., and Makino, T. Dietary intake estimations of polybrominated diphenyl ethers based on a total diet study in Osaka, Japan. *Food Addit. Contam.*, in press.

(2) Akutsu, K., Takatori, S., Nozawa, S.,

Yoshiike, M., Nakazawa, H., Hayakawa, K., Makino, T., and Iwamoto, T. Polybrominated diphenyl ethers in human serum and sperm quality, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, in press.

## 2. 学会発表

(1) Akutsu, K., Takatori, S., Nakazawa, H., Hayakawa, K., Izumi, S., and Makino, T. Dietary intake estimations of polybrominated diphenyl ethers based on a total diet study in Osaka, Japan. *Organohalogen Compounds: Proceeding of the 27th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (Dioxin2007)*, **69**, 2303-2306, September 2-7, 2007, Tokyo, Japan.

(2) Akutsu, K., Takatori, S., Nozawa, S., Yoshiike, M., Nakazawa, H., Hayakawa, K., Makino, T., and Iwamoto, T. Polybrominated diphenyl ethers in human serum and sperm quality. *Organohalogen Compounds: Proceeding of the 27th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (Dioxin2007)*, **69**, 1926-1929, September 2-7, 2007, Tokyo, Japan.

## H. 知的所有権の取得状況

なし

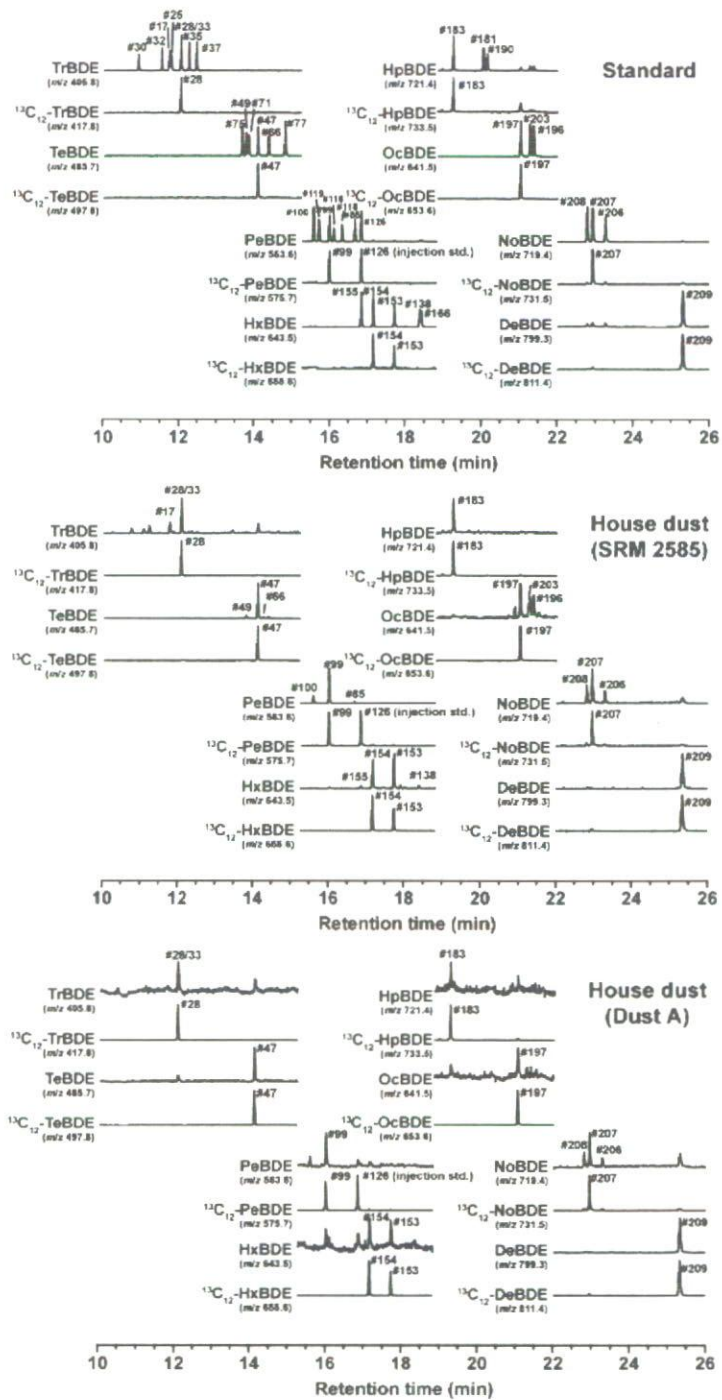


図1 標準溶液およびハウスダスト試料のクロマトグラム

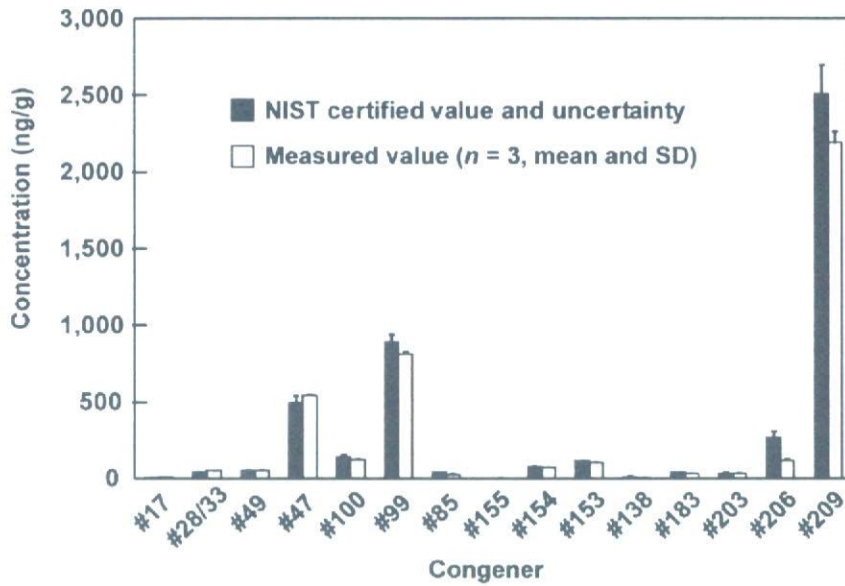


図 2 ハウスダスト標準参照試料 (NIST SRM 2585) 中の PBDEs 濃度の認証値および実測値の比較

表1 ハウスダスト分析結果 (4家庭、A~D)

Congener	Concentration (ng/g)				
	Dust A	Dust B	Dust C	Dust D	mean
BDE-28/33	7	5	4	4	5
BDE-47	6	9	3	4	6
BDE-99	5	7	1	3	4
BDE-154	3	2	3	3	3
BDE-153	3	2	2	2	2
BDE-183	6	2	3	3	4
BDE-197	9	5	7	5	7
BDE-208	20	24	36	7	22
BDE-207	57	52	71	15	49
BDE-206	24	22	28	9	21
BDE-209	880	640	930	140	650
∑12PBDEs <sup>a</sup>	1,000	770	1,100	190	770

<sup>a</sup>∑12PBDEs: sum of 12 PBDE congeners (#28/33, #47, #99, #154, #153, #183, #197, #208, #207, #206, and #209).

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）  
分担研究報告書

生体試料中のフタル酸エステル類の代謝物の分析

主任研究者	牧野恒久	東海大学医学部
分担研究者	中澤裕之	星薬科大学
研究協力者	高取 聡	大阪府立公衆衛生研究所
	阿久津和彦	大阪府立公衆衛生研究所
	岡本 葉	大阪府立公衆衛生研究所
	近藤文雄	愛知県衛生研究所

研究要旨

妊婦（n = 51），及び健康な 20 及び 30 歳代の一般人（n = 12）の尿中のフタル酸モノエステル類（MEP，MBP，MBzP，MEHP，MEHHP 及び MiNP）を分析した。全ての尿から，MiNP を除く，測定対象のフタル酸モノエステル類を検出した（妊婦中央値：MEP，12.7；MBP，44.9；MBzP，6.73；MEHP，3.54；MEHHP；15.5；MiNP，< 0.5  $\mu\text{g/g creatinine}$ ）。当該分析値から DBP 及び DEHP の推定一日暴露量を算出した結果，耐容一日摂取量（DBP，66；DEHP，37  $\mu\text{g/kg/day}$ ）を越える事例は認められなかった。

A. 研究目的

フタル酸ジエステル類は，主に塩化ビニル樹脂の可塑剤として工業製品中に多用されており，日常的な暴露が危惧される化学物質のひとつである。当該化学物質の暴露により危惧される生体影響として精巣毒性があり，妊婦及び胎児もしくは男子乳幼児が高感受性グループとして認識されている。このため，妊婦，胎児及び乳児の当該化学物質群の暴露量を把握することは，重要である。しかしながら，国内での情報は，極めて少ないのが実状である。研究者らは，妊婦の尿中フタル酸モノエステル類を測定し，その測定値から推定一日暴露量を評価することとした。本研究を遂行することによって，国内における妊婦，胎児及び乳児の当該化学物質群の

暴露量を推測するうえで有用な情報を得ることが期待される。

B. 研究方法

（1）試薬等及び器具

フタル酸モノエチル（MEP），フタル酸モノブチル（MBP），フタル酸モノベンジル（MBzP），フタル酸モノ（2-エチルヘキシル）（MEHP），フタル酸モノ（2-エチル-5-ヒドロキシヘキシル）（MEHHP）及びフタル酸モノイソノニル（MiNP）を分析対象とした（図 1）。MEP，MEP- $^{13}\text{C}_4$ ，MBP，MBP- $^{13}\text{C}_4$ ，MBzP，MBzP- $^{13}\text{C}_4$ ，MEHP，MEHP- $^{13}\text{C}_4$ ，MEHHP，MEHHP- $^{13}\text{C}_4$ ，MiNP 及び MiNP- $^{13}\text{C}_4$  の各 100  $\mu\text{g/mL}$  アセトニトリル標準溶液は，Cambridge Isotope Laboratories 社より購入した。

$\beta$ -Glucuronidase (8.5 U/mL; *E. coli* 由来), 酢酸アンモニウム (特級) 及びギ酸 (HPLC 用) は, 和光純薬社製を用いた. アセトニトリルは, 環境分析用を用いた (和光純薬). 分析に用いる超純水は, ミリポア社製の Milli-Q SP.TOC. により作製したもの (Milli-Q 水) をそのまま用いた. 本研究を通じて, コンタミネーションの原因となりうる樹脂製器具を可能な限り排除し, 加熱可能なガラス器具は, Milli-Q 水, アセトン及びヘキサンで洗浄した後, 乾熱乾燥機中で 200°C で 2 時間以上加熱し, 清浄な場所で冷却して用いた.

## (2) 試料

東海大学医学部産婦人科で採取された, 分娩翌日の母親の尿試料 (n=51; 平均年齢 31.4 歳) を測定した. これら試料は, 冷凍下で移送され, 分析時まで -40°C で保存した. なお, 試料採取時に提供者母子について, 健康上の異常は認められなかった. また, 対照群として健康な 20 及び 30 歳代のボランティア (n=12; 男性, 7 名; 女性, 5 名; 平均年齢 31.8 歳) の尿を大阪府立公衆衛生研究所で採取し, 分析時まで -40°C で保存した.

## (3) 前処理及び分析条件

試験液の調製には, 吉村らの方法を用いた [1]. 概要を図 2 に示した. 解凍後直ちに尿 1.00 g に 100 ng/mL 内部標準混合溶液 100  $\mu$ L, 0.2 mol/L 酢酸アンモニウム緩衝溶液 (pH 6.5) 1 mL 及び 8.5 U/mL  $\beta$ -Glucuronidase 60  $\mu$ L を添加して攪拌後, 40°C で 60 分間インキュベートした. インキュベート後, 氷上に移し, 0.2 mol/L 酢酸アンモニウム緩衝溶液 (pH 8.0) 1 mL を添

加した. 全量を予め, アセトニトリル 15 mL 及び Milli-Q 水 5 mL でコンディショニングした OASIS MAX (6 cc, 150 mg; Waters) に負荷した. 次にカラムを Milli-Q 水 5 mL 及びアセトニトリル 5 mL で洗浄し, 1% ギ酸含有アセトニトリル 5 mL で測定対象物質を溶出した. 当固相抽出過程にはビジプレップバキュームマニホールド (SUPELCO) を用い, カラム先端には, ディスポーザブルライナー (SUPELCO) を装着して試料間のコンタミネーションを排除した. 溶出液は, 窒素気流下, 40°C で乾固した後, 20%アセトニトリル含有水 0.5 mL に再溶解して LC/MS/MS の試験液とした. LC/MS/MS の条件は, 表 1 及び 2 に記した. なお, 尿中クレアチニンの測定には, Jaffe 反応に基づくクレアチニンアッセイキット (Cayman Chemical) を用いた.

## (4) 倫理面への配慮

試料は, 東海大学医学部及び大阪府立公衆衛生研究所の倫理規定に則って採取された. また, 実験に用いた有機溶媒等は, 環境中へ排出されないよう回収を徹底した.

## C及びD. 結果及び考察

### (1) 添加回収試験及び定量下限

尿に分析対象とするフタル酸モノエステル類を 10 又は 100 ng/mL 添加し, 添加回収試験を行った. いずれの濃度においても, 回収率は, 95~108%, RSD は, 5%未満となり, 良好な結果を示した (表 3). また, 操作ブランクの評価には, 分析対象とするフタル酸モノエステル類を含まない Milli Q 水を試料として前処理し, 測定した結果, MBP 及び MEHP が, それぞれ, 0.3 $\pm$ 0.09 及び 0.2 $\pm$ 0.10 ng/mL 検出さ



れた (n = 3). このため, 尿試料中 MBP 及び MEHP の定量下限 (LOQ) を次の式[ LOQ = Blank 試料平均検出値 + Blank 試料検出値の SD x5] で算出し, それぞれ, 0.8 及び 0.7 ng/mL に規定した. その他フタル酸モノエステル類は, 0.1 ng/mL 未満であった. 従って, 尿試料中におけるその他のフタル酸モノエステル類の LOQ については, S/N 比が 10 以上となる 0.2 ng/mL とした.

## (2) 尿中フタル酸モノエステル類の測定

妊婦及び対照群として妊婦と同世代の健康な男女から採取した尿を分析した. フタル酸モノエステル類の分析と併せてクアチニン濃度を測定し, 尿濃度の影響を補正した (表 4). 代表的なクロマトグラムを図 3 に示した. MiNP を除く 5 種類のフタル酸モノエステル類について, 全ての検体から検出した. このことから, 妊婦及び対照群を含む 20~30 歳代の日本人は, これらの親化合物となる各フタル酸ジエステル類に日常的に暴露されていることが示唆される. また, MiNP の親化合物である DiNP は, DEHP に次ぐ使用実績があるが, MiNP の検出率は低かった. これは, DiNP から生成した MiNP から更に代謝され, その側鎖部分の水酸化様式が多岐に渡るため MiNP として検出されなかったことによると推測される[2]. 従って, DiNP の暴露量の評価には, MiNP に加えて, 側鎖部分に水酸化を受けた主要な代謝物の分析が必要と思われる.

検出されたフタル酸モノエステル類の種類と濃度の比較において, 妊婦と対照群とした健康なボランティアとの間に大きな差は認められなかった. 検出濃度範囲の幅から推測される個人間の差は, 妊婦と対照とした健康なボラン

ティアと共に MEP が最も大きく, 当該代謝物の親化合物である DEP が香水, ヘアスプレー及び化粧品等のパーソナルケアプロダクト製品に使用されることに起因すると考えられる[3].

MEHP と MEHHP との尿中濃度での相関を図 4 に示した. MEHP と MEHHP は, 共に DEHP の代謝物であるため, MEHP と MEHHP との間には, 相関関係があることが報告されている[4]. 本研究結果においても, 高い相関関係が認められた. その濃度の比 [MEHHP]/[MEHP] は, およそ 3-8 であり, 既報と一致した[4-6].

## (3) フタル酸ジエステル類の推定一日暴露量

尿中のフタル酸モノエステル類の濃度から, フタル酸ジエステル類の一日暴露量の推定式が報告されている[7].

$$DP_{\text{Total}} = (MP_{\text{Urine}} \times CE) / (f \times 1000) \times (MW_{\text{DP}} / MW_{\text{MP}})$$

$DP_{\text{Total}}$ : フタル酸ジエステル推定暴露量 ( $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ )

$MP_{\text{Urine}}$ : 尿中フタル酸モノエステル濃度 ( $\mu\text{g}/\text{g creatinine}$ )

CE: クレアチニン排泄速度 ( $\text{mg creatinine}/\text{kg}/\text{day}$ )

f: フタル酸モノエステル全排泄に対する尿中排泄率

(MEP, 0.69; MBP, 0.69; MBzP, 0.73; MEHP, 0.024)

$MW_{\text{DP}}/MW_{\text{MP}}$ : フタル酸ジエステル分子量/フタル酸モノエステル分子量

算出式内に使用されるフタル酸モノエス

テル類の全排泄に対する尿中排泄率 (f) は、統一性を図るため昨年度の報告書に記載した値を使用した[8]。また、クレアチニン排泄速度 (CE) は、試料提供者の身長、体重、年齢及び性別を基に川崎らの式に従って算出した[9]。妊婦の試料の分析値から推定一日暴露量を表に示した。本研究結果と昨年度の一般的な日本人を対象とした昨年度の報告[8]及び妊婦を対象とした藤巻らの報告 [6]と比較した場合、概ね一致すると考えられ、本研究を含め、日本人の代表的数値を反映しているものと考えられる。また、本研究結果と Marsee らによる米国在住妊婦に対する調査結果とを比較した[10]。日本で最も高い値を示したものは、DBPであった。また、DEHPについても、米国在住妊婦よりも高い傾向にあると推察された。一方、DEPについては、米国在住妊婦の方が高く、日本在住妊婦のおよそ20倍の数値であった。日本人では、DBP及びDEHPの暴露量が高く、米国ではDEPの暴露量が高いとの特徴は、各国内での当該フタル酸ジエステル類の使用実態の差を示していると推察される。これら推定一日暴露量は、厚生労働省もしくはEUの示すTDIと比較して低いことから、直ちに健康影響が危惧されるレベルと考えられない。しかしながら、Swanらによる胎児期暴露による男性生殖器の発育不全の疫学調査[11]では、発育不全が認められた事例に見られる推定暴露量と本研究結果で示された推定暴露量について比較したとき、重なるケースもあることから、日本においても母体のフタル酸ジエステル類の暴露量と出生男児の発育状況等を視野においた研究も重要と考えられる。

#### 参考文献

- [1] 吉村ら, 分析化学, 55, 661 (2006)
- [2] Silva, M. J., *et al.*, *Environ Health Perspect*, 114, 1158 (2006)
- [3] Hauser, R., *et al.*, *Environ Health Perspect*, 112, 751 (2004)
- [4] Barr, D. B., *et al.*, *Environ Health Perspect*, 111, 1148 (2003)
- [5] Kato, K., *et al.*, *Environ Health Perspect*, 111, 1148 (2003)
- [6] Fujimaki K. *et al.*, *Jpn J Hyg*, 61, 340 (2006)
- [7] Kohn, M. C., *et al.*, *Environ Health Perspect*, 108, A440 (2000)
- [8] 近藤ら, 「化学物質による子どもへの健康影響に関する研究」平成18年度総括・分担研究報告書 p. 68
- [9] Kawasaki T. *et al.*, *Jpn J Public Health*, 38, 567 (1991)
- [10] Marsee, K. *et al.*, *Environ Health Perspect*, 114, 805 (2006)
- [11] Swan, S. H. *et al.*, *Environ Health Perspect*, 113, 1056 (2005)

#### E. 結論

1: 妊婦 (n = 51), 及び対照群として健康な20及び30歳代の一般人 (n = 12) の尿中のフタル酸モノエステル類 (MEP, MBP, MBzP, MEHP, MEHHP及びMiNP) を分析し、全て検体から、MiNPを除く、測定対象のフタル酸モノエステル類を検出した。

2: 分析値からDBP及びDEHPの推定一日暴露量を算出した結果、耐容一日摂取量 (DBP, 66;

DEHP, 37 µg/kg/day) を越える事例は認められず、直ちに健康影響が危惧される暴露レベルではないと思われる。

試料を提供して下さったボランティアの方々並びに採取提供して下さった医療関係者の方々に深謝いたします。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

論文

1: TAKATORI, S., OKAMOTO, Y., KITAGAWA, Y., HORI, S., IZUMI, S., MAKINO, T. AND NAKAZAWA, H.: Simulated neonatal exposure to DEHP and MEHP from PVC enteral nutrition products.

*Int. J. Pharm.*, 352, 139-145 (2008)

2: TAKATORI, S., AKUTSU, K., KONDO, F., IZUMI, S., MAKINO, T. AND NAKAZAWA, H.:

Determination of phthalate monoesters in human breast milk by using liquid chromatograph-tandem mass spectrometer.

*Bunseki Kagaku*, 56, 1025-1031 (2007)

学会報告

1: 高取聡、阿久津和彦、近藤文雄、和泉俊一郎、牧野恒久、中澤裕之「母体及び臍帯血清中のフタル酸モノエステル類の分析」環境ホルモン学会第10回研究発表会 2007年12月10-11日 東京

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

謝辞

表 1. LC/MS/MS の条件 1 (尿中フタル酸モノエステル類)

・HPLC 条件

カラム	C18 Symmetry (2.1 x 50 mm; 3.5 $\mu$ m; Waters) ;		
移動相	A) 2.0 x 10 <sup>-4</sup> % ギ酸水溶液 ; B) 2.0 x 10 <sup>-4</sup> % ギ酸含有アセトニトリル		
流速	200 $\mu$ L/min ;	注入量	5.0 $\mu$ L ; カラム温度 40°C

・グラジエントプロファイル

Time (min)	A (%)	B (%)	Mode
0	90	10	} Linear } Hold
10.0	5	95	
16.0	5	95	

・MS/MS 条件

インターフェイス/モード, Electrospray Ionization / Negative  
 キャピラリー電圧/乾燥ガス温度, -4500 V/450°C

表 2 Precursor, Product Ions 及び Collision Energy

Monoester	Precursor	Product (Collision Energy, eV)
MEP	-193	- 77 (-16)
MEP- <sup>13</sup> C <sub>4</sub>	-197	- 79 (-26)
MBP	-221	- 77 (-26)
MBP- <sup>13</sup> C <sub>4</sub>	-225	- 79 (-24)
MBzP	-255	- 77 (-32)
MBzP- <sup>13</sup> C <sub>4</sub>	-259	- 107 (-20)
MEHP	-277	- 134 (-24)
MEHP- <sup>13</sup> C <sub>4</sub>	-281	- 138 (-24)
MEHHP	-293	- 121 (-30)
MEHHP- <sup>13</sup> C <sub>4</sub>	-297	- 124 (-20)
MiNP	-291	- 141 (-26)
MiNP- <sup>13</sup> C <sub>4</sub>	-295	- 79 (-36)

表 3. 尿中のフタル酸モノエステル類の添加回収試験結果 (n = 5)

Monoester	10 ng/mL 添加		100 ng/mL 添加	
	回収率 (%)	RSD	回収率 (%)	RSD
MEP	95.0	4.1	97.4	2.2
MBP	103	3.6	102	4.6
MBzP	108	2.7	108	3.9
MEHP	108	4.2	107	3.1
MEHHP	104	4.4	107	4.0
MiNP	103	4.1	100	2.2

表 4. 妊婦及び対照群（一般健康人）の尿中のフタル酸モノエステル類

Monoester	妊婦 ( $\mu\text{g/g creatinine}$ ) (n=51)			対照群 ( $\mu\text{g/g creatinine}$ ) (n=12)		
	中央値	範囲	検出率 (%)	中央値	範囲	検出率 (%)
MEP	12.7	0.42- 829	100	4.03	1.42 - 42.4	100
MBP	44.9	19.4 - 142	100	35.9	12.1 - 93.6	100
MBzP	6.73	3.67 - 28.2	100	1.93	1.10 - 15.5	100
MEHP	3.54	0.99 - 13.1	100	4.03	2.35 - 12.9	100
MEHHP	15.5	5.69 - 70.8	100	13.2	8.71 - 64.3	100
MiNP	< 0.5	< 0.5 - 1.21	3.9	< 0.61	- < 0.61	0

LOQ: MBP, 0.8; MEHP, 0.7; MEP, MBzP, MEHHP, MiNP, 0.2 ng/mL (尿試料中)

表 5. 妊婦及び対照群（一般健康人）のフタル酸ジエステル類の推定一日暴露量 ( $\mu\text{g/kg/day}$ )

Diester	妊婦 (n=51)		対照群 (n=12)		TDI <sup>#</sup>
	中央値	範囲	中央値	範囲	
DEP	0.31	0.01 - 21.2	0.22	0.06 - 1.54	5000
DBP	1.22	0.51 - 3.87	1.39	0.53 - 4.42	66
BBzP	0.17	0.09 - 0.72	0.07	0.05 - 0.78	200
DEHP	3.80	1.10 - 13.2	5.86	2.70 - 18.9	37-140

#: 耐容一日摂取量 ( $\mu\text{g/kg/day}$ ), 出典 EU (DEP 及び BBzP); 厚生労働省 (DBP 及び DEHP)

表 6. フタル酸ジエステル類の推定一日暴露量(中央値;  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ )の比較

Diester	本研究 (日本在住妊婦;n=51)	近藤ら (愛知県職員;n=36)	Marsee ら (米国在住妊婦;n=214)
DEP	0.31	0.29	6.64
DBP	1.22	1.50	0.84
BBzP	0.17	0.27	0.50
DEHP	3.80	5.69	1.32

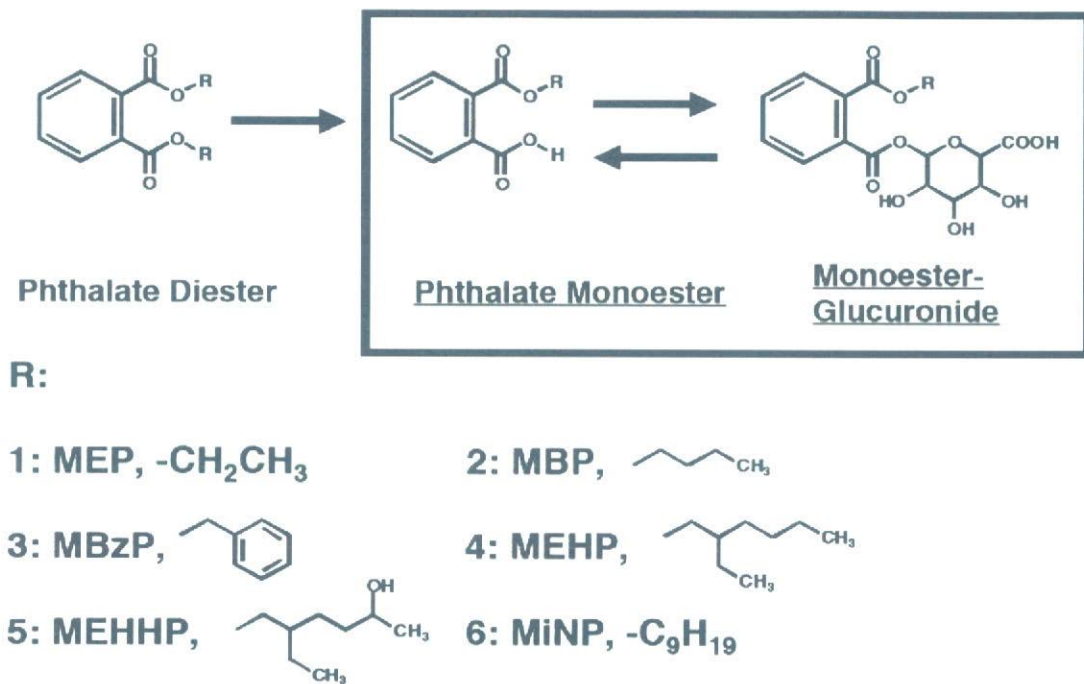


図 1. 測定対象物質

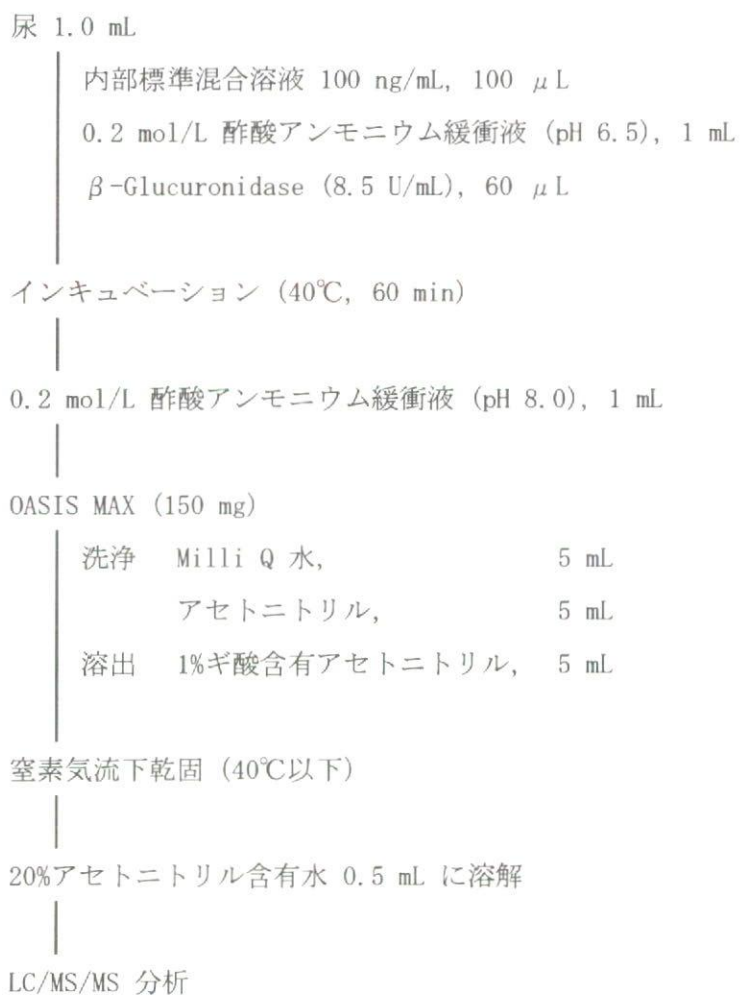


図 2. 尿中フタル酸モノエステル類の分析フロー

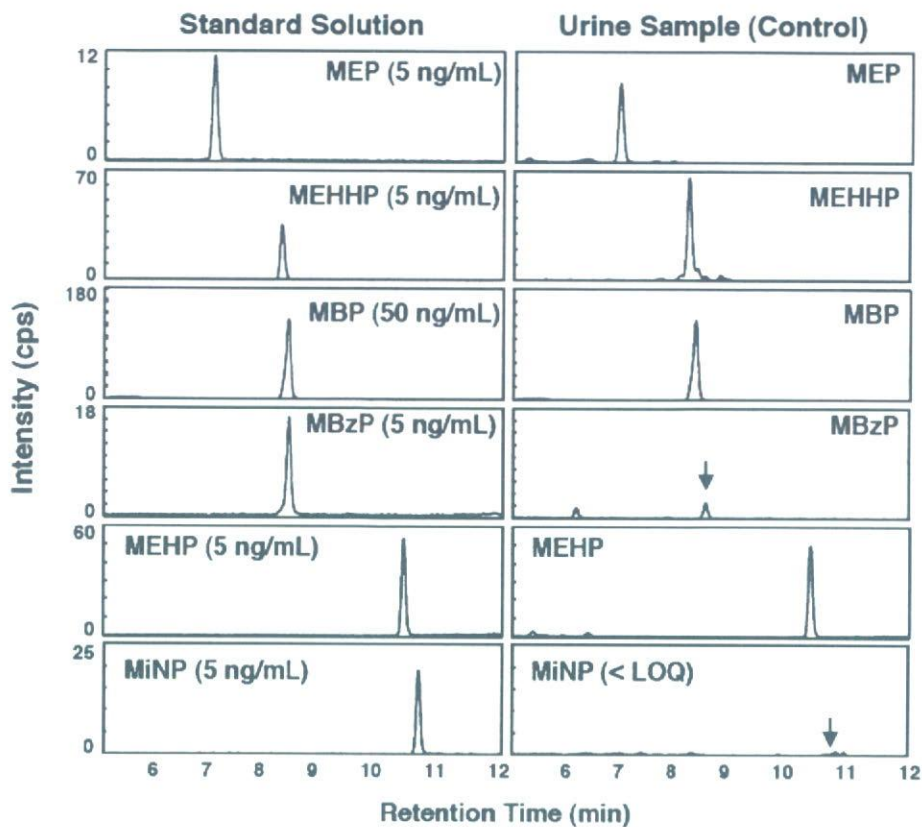


図 3. クロマトグラムの一例（標準溶液，左側：尿試料，右側）

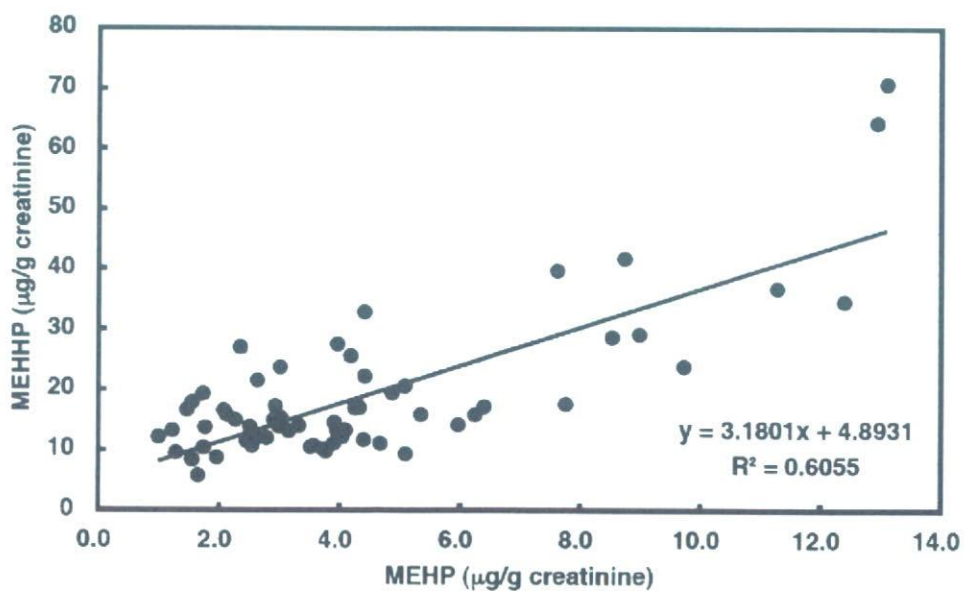


図 4. 妊婦及び対照群の尿中 MEHP 及び MEHHP 濃度の相関関係 (n = 63)



厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）  
分担研究報告書

ヒト生体試料中の化学物質の分析  
(重金属類、フタル酸モノエステル類、揮発性有機化合物)

主任研究者	牧野恒久	東海大学
分担研究者	近藤文雄	愛知医科大学医学部
研究協力者	林 留美子	愛知県衛生研究所
	猪飼 誉友	愛知県衛生研究所
	高取 聡	大阪府立公衆衛生研究所
	中澤裕之	星薬科大学

### 研究要旨

昨年度に引き続き東海大学医学部付属病院産婦人科受診患者（以下「患者」と省略する。）の血清及び尿試料の分析を行うとともに、得られた分析結果と子宮内膜症との関連について解析を行った。

#### 1. 血清中の重金属類の分析及び解析

患者 48 人の血清の分析を行った結果、臨床検査法提要に示された基準範囲や、これまでの ICP-MS 法による報告値と同程度であった。昨年度分析を行った 36 人と合わせた 84 人の結果について、子宮内膜症有症群 (n=36) と子宮内膜症を認めない対照群 (n=48) で比較した結果、Cu と Se において有症群 (Cu;  $0.89 \pm 0.16 \mu\text{g/mL}$ , Se;  $110 \pm 16 \text{ng/mL}$ ) が対照群 (Cu;  $0.99 \pm 0.17 \mu\text{g/mL}$ , Se;  $120 \pm 18 \text{ng/mL}$ ) より有意に低い ( $p < 0.01$ ) 値であった。有症群の Cu、Se 濃度を進行期分類 (r-ASRM 分類) による段階別で比較した結果、有意差や一定の傾向は認められなかった。

#### 2. 尿中のフタル酸モノエステル類の分析及び解析

患者 29 人の尿中のフタル酸モノエステル類 (フタル酸モノブチル、フタル酸モノエチル、フタル酸モノエチルヘキシル、フタル酸モノイソノニル、フタル酸モノベンジル) の分析を行った結果、フタル酸モノブチルとフタル酸モノエチルがすべての検体から検出され、中央値 (クレアチニン補正值) はそれぞれ  $35.2 \mu\text{g/g}$ 、 $16.4 \mu\text{g/g}$  であった。両物質の濃度は、米国居住者について行われた結果と比べて、フタル酸モノブチルでは 1.6 倍高く、フタル酸モノエチルでは逆に米国居住者の方が 8.6 倍高い値を示した。また、両物質の尿中濃度から算出した DBP 及び DEP の推定一日摂取量は、それぞれ  $1.08$ 、 $0.46 \mu\text{g/kg/day}$  (いずれも中央値) と、厚生労働省や欧州連合が示した許容一日摂取量と比べて低い値であった。

#### 3. 血清中の揮発性有機化合物 (2-エチル-1-ヘキサノール、2-エチル-1-ヘキサナール、1,4-ジクロロベンゼン) の分析及び解析

患者 38 人の血清の分析を行った結果、すべての検体から 2-エチル-1-ヘキサノールと 1,4-ジクロロベンゼンが検出された (昨年度実施)。両物質の濃度について、子宮内膜症有症群 (n=19) と子宮内膜症を認めない対照群 (n=19) で比較した結果、いずれも有意差は認められなかった。

### A. 研究目的

本研究では、一般人での暴露量が多い重金属類、フタル酸エステル類、揮発性有機化合物に対する生体暴露量をモニタリングする。さらに、暴露と子宮内膜症等産婦人科領域の疾患発症との因果関係を比較検証することを目的とする。具体的な測定対象物質は、ヒトにおいて健康との関連が大きいと考えられる必須ミネラルを始めとする重金属類、フタル酸エステル類の代謝物であるフタル酸モノエステル類、さらには、フタル酸ジ-2-エチルヘキシルの代謝物である 2-エチル-1-ヘキサノール及び 2-エチル-1-ヘキサナール、主に防

虫剤として用いられる 1,4-ジクロロベンゼンとし、血液及び尿を分析する。研究初年度は、上記分析対象化学物質について、ヒト生体試料中の分析法を確立した。研究 2 年目の昨年度は、確立した分析法を用いて実試料の分析を行った。本年度は、さらに実試料を分析するとともに、得られた分析結果と子宮内膜症との関連について解析を行った。

### B. 研究方法

#### 1. 対象者及び試料

研究目的の十分なインフォームドコンセント

を行い、承諾の得られた東海大学医学部付属病院産婦人科受診患者（以下「患者」と省略する。）の血清及び尿を使用した。重金属類は 48 人の患者の血清、フタル酸モノエステル類は 29 人の患者の尿について分析を行った。

## 2. 重金属類の分析

### (1) 試薬及び材料

分析対象重金属類 24 元素及び内部標準元素（スカンジウム(Sc)、イットリウム(Y)、イリジウム(Ir)）の標準品は、メルク製 ICP 分析用標準溶液を使用した。硝酸、過酸化水素は関東化学製 Ultrapur を使用した。

### (2) 測定項目

マグネシウム(Mg)、カルシウム(Ca)、鉄(Fe)、銅(Cu)、亜鉛(Zn)、マンガン(Mn)、コバルト(Co)、セレン(Se)、モリブデン(Mo)、リチウム(Li)、ホウ素(B)、アルミニウム(Al)、ニッケル(Ni)、ルビジウム(Rb)、ストロンチウム(Sr)、カドミウム(Cd)、アンチモン(Sb)、水銀(Hg)、鉛(Pb)

(19 元素)

### (3) 器具の洗浄

ピペットチップ、サンプルカップ等の使用器具は、10 %硝酸槽に一夜浸漬し、水道水及びイオン交換蒸留水で十分に洗浄した。使用前に超純水で洗浄した。

### (4) 前処理法及び試験溶液の調製法

マイクロ波分解用容器(MV-7 専用 PFA 小容器、ジーエルサイエンス製)に血清 0.7 mL、硝酸 1.8 mL、過酸化水素 0.5 mL を入れて一夜放置し、電子レンジ(200 W)で 5 分、2 回加熱後、水中で 1 時間冷却した。酸分解後の試料をポリエチレン製遠沈管(15 mL)に入れ、超純水で分解用容器内を洗い込んで全量を 3 mL にした。混和後、その 1.8 mL を ICP-MS オートサンプラー用サンプルカップ(15 mL)にとり、0.1 %硝酸 0.9 mL、内部標準溶液(Sc, Y, Ir 各 100 ppb) 0.3 mL を加え、混和して試験溶液とした。

### (5) 分析方法

測定法；誘導結合プラズマ質量分析 (ICP-MS) 法

定量法；絶対検量線法

### (6) ICP-MS 条件

装置；ICP-MS (Agilent 7500i、横河アナリティカルシステムズ)

RF パワー；1500 W

サンプリング位置；8 mm

プラズマガス；Ar 15 L/min

ネブライザー；バビントン型

内部標準元素；Sc(45)、Y(89)、Ir(193)

干渉補正式；

$$V(51) = (51) \times 1 - (53) \times 3.127 + (52) \times 0.3534$$

$$Se(78) = (78) \times 1 - (76) \times 0.1869$$

### (7) 定量法

試験溶液を ICP-MS に導入し、各元素のカウント数を内部標準のカウント数で割った数値と、標準溶液のそれと比較して定量した。

## 3. フタル酸モノエステル類の分析

### (1) 試薬及び材料

フタル酸モノエチル (MEP)、フタル酸モノブチル (MBP)、フタル酸モノエチルヘキシル (MEHP)、フタル酸モノイソノニル (MINP)、フタル酸モノベンジル (MBzP)、MEP-<sup>13</sup>C<sub>4</sub>、MBP-<sup>13</sup>C<sub>4</sub>、MEHP-<sup>13</sup>C<sub>4</sub>、MINP-<sup>13</sup>C<sub>4</sub>、MBzP-<sup>13</sup>C<sub>4</sub> は Cambridge Isotope Laboratories 社製、β-グルクロニダーゼ溶液 (100 units)、フロリジル PR は和光純薬製、酢酸アンモニウムは和光純薬製特級、硫酸ナトリウムは和光純薬製残留農薬用、Methyl tertiary-butyl ether (MTBE) は関東化学製水質試験用、ヘキサン、アセトン、塩化ナトリウムは関東化学製フタル酸エステル試験用、N-Methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine はジーエルサイエンス製を使用した。尿クレアチニン値は、和光純薬製クレアチニンテストワコーを用いて測定した。

### (2) 器具・試薬の前処理

ホールピペット、メスフラスコ以外の器具は、200℃で 2 時間加熱し、使用直前にアセトン及びヘキサンの洗浄した。

塩化ナトリウム、フロリジル、硫酸ナトリウムは、200℃で 2 時間加熱した。

### (3) フロリジルカラムの調製

内径 15 mm、長さ 110 mm のガラス製カラムの底に、ガラス繊維濾紙を敷き、フロリジル 1 g 及び無水硫酸ナトリウム 2 g を積層した。使用直前に

アセトン 10 mL、ヘキサン 10 mL で洗浄した。

#### (4) 試験溶液の調製法

尿 2 mL を共栓付遠心管 (10 mL、ガラス製) にとり、1M 酢酸アンモニウム 0.5 mL、内部標準溶液 25  $\mu$ L、 $\beta$ -グルクロニダーゼ 30  $\mu$ L を加え混和した後、37°C で 1 時間インキュベートした。10% 硫酸で pH2 に調整後、ヘキサン 5 mL、塩化ナトリウム 1 g を加え、3 分間混和後 3000 rpm で 5 分間遠心分離した。ヘキサン相を分取し、窒素気流下で乾固した。残渣に用時調製したジアゾメタン-MTBE 溶液 0.5 mL を加え、30 分間放置後、窒素気流下で乾固した。残渣をヘキサン 5 mL に溶解し、フロリジルカラムに負荷した。ヘキサン 3 mL でカラムを洗浄後、5%アセトン-ヘキサン 10 mL で溶出した。溶出液を窒素気流下で 1 mL に濃縮して試験溶液とした

#### (5) ガスクロマトグラフィー/質量分析 (GC/MS) 条件

装置: Agilent 6890N GC/5973N MSD

イオン源: EI

カラム: HP-5MS SV (30 m x 0.25 mm ID、膜厚 0.5  $\mu$ m)

カラム温度: 80°C (3 分)  $\rightarrow$  20°C/分  $\rightarrow$  240°C  $\rightarrow$  10°C/分  $\rightarrow$  300°C (5 分)

キャリアガス: He (カラム流量 1.2 mL/分)

注入口温度: 250°C

試料注入法: パルスドスプリットレス

四重極温度: 150°C

イオン源温度: 230°C

検出法: 選択イオン検出 (SIM)

モニターイオン:

	定量 イオン	参照 イオン
モノエステル体	m/z 163	m/z 149
内標	m/z 167	m/z 153

#### (6) 定量法

試験溶液 2  $\mu$ L を GC/MS に注入し、各メチル化フタル酸モノエステルのピーク面積を内部標準のピーク面積で割った数値と、標準溶液のそれと比較して定量した。

#### 4. 解析方法

症例の子宮内膜症の有無は、腹腔鏡によりその進行期分類 (American Society Reproductive Medicine (ASRM) 改訂版) とともに確定診断を行

った。統計処理は、SPSS11.5 for Windows を用い、検定は Mann-Whitney の U 検定で行った。

#### C. 結果と考察

##### 1. 重金属類

患者 46 人より採取した血清の分析を行った。その結果、昨年度分析を行った 38 人の結果と同様に、臨床検査法提要<sup>1)</sup> に示された基準範囲や、これまでの ICP-MS 法による報告値<sup>2)</sup> と同程度であった。表 1 には、昨年度と本年度で分析を行った計 84 人の結果を示した。なお、全試料 84 検体中 26 検体は溶血していたため、それらの試料の Fe の分析値は除外した。また、Mn と Cu については、妨害となる干渉が各 1 検体ずつ認められたため、それらについても分析値から除外した。

患者 84 人の結果について、子宮内膜症有症群 (n=36) と子宮内膜症を認めない対照群 (n=48) で比較を行った (表 2)。その結果、Cu と Se において有症群 (Cu; 0.89  $\pm$  0.16  $\mu$ g/mL, Se; 110  $\pm$  16 ng/mL) が対照群 (Cu; 0.99  $\pm$  0.17  $\mu$ g/mL, Se; 120  $\pm$  18 ng/mL) より有意に低い (p < 0.01) 値であった。そこで、Cu と Se について、進行期分類 (r-ASRM 分類) による stage 別で比較を行った (表 3)。その結果、いずれも有意差や一定の傾向は認められなかった。

Cu、Se などの微量元素は、中枢神経系の高次機能、代謝、免疫、酸化ストレスなど多様な生体機能の調節、ホメオスタシスと密接に関連している。例えば、Se はかつて生物にとって毒物と考えられていたが、抗酸化酵素の一つであるグルタチオンペルオキシダーゼの活性中心に存在することが明らかとなり、細胞構成成分の酸化的変性を防ぎ、膜の安定化に関与する重要な因子であり、必須の微量元素として認識されるようになった<sup>3)</sup>。Se の欠乏によって引き起こされる各種の疾患は、グルタチオンペルオキシダーゼの活性が低下することにより、活性酸素が生体膜を不安定化し、さらに膜を構成する蛋白質が酸化的変性されることに起因する。Se 欠乏症としては、かつて風土病といわれた克山病 (Keshan disease) という拡張型心筋症が有名である。中国の克山地方では、土壌中の Se 含量が少ないため、食物よりの Se 摂取量が少ないため起こると考えられている。一方、妊娠中の母体の Se 要求量が上昇すること、低 Se 母体では流産率が高いことなどの報告例は多い<sup>4)</sup>。また、動物を使った実験では、セレン欠乏食を与えられたラットのほとんどの子どもが不妊であったことが報告されている<sup>5)</sup>。しかし、いずれも

Se 欠乏と子宮内膜症の因果関係は不明である。

血清 Cu 濃度の平均値は男性よりも女性の方がやや高いこと、妊娠中は内因性のエストロゲンによりセルロプラスミンの合成が誘導され、血清中の Cu 濃度は高値に保たれることから、Cu は女性の金属といわれている<sup>6)</sup>。不妊症の女性は妊孕性のある女性よりも血清中 Cu 濃度が低いことが報告されている<sup>7)</sup>。Cu を欠乏させた動物では、胎児の発育停止、胎盤壊死が起こる<sup>6)</sup>。しかし、Se と同様、Cu 欠乏と不妊の因果関係は不明である。

## 2. フタル酸モノエステル類

患者 29 人より採取した尿の分析を行った。その結果、測定対象 5 物質 (MBP、MEP、MEHP、MINP、MBzP) のうち、MBP と MEP がすべての検体から検出された (表 4)。MBP の中央値は 35.2  $\mu\text{g/g}$ 、検出濃度範囲は 14.9~100  $\mu\text{g/g}$ 、であった。MEP の中央値は 16.4  $\mu\text{g/g}$ 、検出濃度範囲は 3.45~230  $\mu\text{g/g}$  であった。MBzP 及び MEHP の検出率はそれぞれ 59%、14%で、中央値はそれぞれ 9.66  $\mu\text{g/g}$ 、<LOQ (定量下限値未満) であった。なお、MINP については、一部の検体で夾雑物と考えられる妨害ピークが認められたため、分析対象から除外した。

本研究 (昨年度実施した職員の結果を含む) と米国居住者について行われた結果<sup>8)</sup>を表 5 に示した。MBP では本研究の方が 1.6~2.7 倍高く、MEP では逆に米国居住者の方が 8.6~10.3 倍高い値を示した。両調査でのフタル酸モノエステル濃度の差は、日本と米国でのフタル酸エステル類の使用実態の違いが要因の 1 つと考えられた。

すべての検体から検出された MBP と MEP について、その濃度からフタル酸エステル類の推定一日摂取量を算出した (表 6)。その結果、フタル酸ジブチル (DBP) は 1.08  $\mu\text{g/kg/day}$  (中央値)、フタル酸ジエチルは 0.46  $\mu\text{g/kg/day}$  (中央値) と、厚生労働省や欧州連合 (EU) が示した許容一日摂取量 (TDI) と比べて低い値であった。

フタル酸エステル類は、プラスチックの重要な要素として多くの消費者製品中に見られる。例えば、化粧品とパーソナル・ケア用品中に含まれる主なフタル酸エステル類は、マニキュア中のフタル酸ジブチル、香水中のフタル酸ジエチル、そしてヘアースプレー中のフタル酸ジメチルである。これらが含まれていることをラベルが表示していないことが多い。また、MEHP 及び MBP は、動物実験で精巣毒性を有することが明らかにされている。今回、MBP と MEP がすべての患者の尿から検出されたことから、患者が日常的にフタル酸

ジブチル、フタル酸ジエチルを始めとするフタル酸エステル類に暴露されていることが考えられた。従って、フタル酸エステルに対する暴露状況の把握は、今後も継続的に行っていく必要があると考えられた。

## 3. 揮発性有機化合物

昨年度、患者 38 人の血清中の揮発性有機化合物 (2-エチル-1-ヘキサノール、2-エチル-1-ヘキサノール、1,4-ジクロロベンゼン) の分析を行った結果、2-エチル-1-ヘキサノールと 1,4-ジクロロベンゼンがすべての検体から検出された。両物質の濃度について、子宮内膜症有症群 (n=19) と子宮内膜症を認めない対照群 (n=19) で比較を行った。その結果、2-エチル-1-ヘキサノール (有症群 vs 対照群 = 57.3  $\pm$  51.8 vs 59.2  $\pm$  45.9 ng/mL, p=0.751)、1,4-ジクロロベンゼン (有症群 vs 対照群 = 3.7  $\pm$  2.7 vs 7.6  $\pm$  12.1 ng/mL, p=0.525) とともに有意差は認められなかった。

## D. 結論

1. 患者 84 人 (昨年度分析を行った 36 人分を含む) の血清中の重金属類濃度は、臨床検査法提要に示された基準範囲や、これまでの ICP-MS 法による報告値と同程度であった。子宮内膜症有症群 (n=36) と子宮内膜症を認めない対照群 (n=48) で比較した結果、Cu と Se において有症群が対照群より有意に低い (p<0.01) 値であった。有症群の Cu、Se 濃度を進行期分類 (r-ASRM 分類) による段階別で比較した結果、有意差や一定の傾向は認められなかった。

2. 患者 29 人の尿中のフタル酸モノエステル類 (MBP、MEP、MEHP、MBzP) の分析を行った結果、MBP と MEP がすべての検体から検出され、中央値 (クレアチニン補正值) はそれぞれ 35.2  $\mu\text{g/g}$ 、16.4  $\mu\text{g/g}$  であった。両物質の濃度は、米国居住者について行われた結果と比べて、MBP では 1.6 倍高く、MEP では逆に米国居住者の方が 8.6 倍高い値を示した。また、両物質の尿中濃度から算出した DBP 及び DEP の推定一日摂取量は、それぞれ 1.08、0.46  $\mu\text{g/kg/day}$  (中央値) と、厚生労働省や欧州連合が示した許容一日摂取量と比べて低い値であった。

3. 患者 38 人の血清の揮発性有機化合物の分析を行った結果、すべての検体から 2-エチル-1-ヘ