

| | Desk Mats | Artificial Leathers |
|----------------|-----------|---------------------|
| Minimum | 4.200 | 5.300 |
| 25% Percentile | 5.325 | 6.800 |
| Median | 13.60 | 9.700 |
| 75% Percentile | 125.6 | 62.13 |
| Maximum | 248.6 | 140.7 |

図3 デスクマット及び合成皮革からの DEHP 放散速度

厚生労働科学研究費補助金 (化学物質リスク研究事業)

家庭用品に由来する化学物質の多経路暴露評価手法の開発に関する研究

家庭用品から皮膚表面へと移行する化学物質の
定量的・速度論的評価手法の開発に関する研究

研究分担者 伊佐間 和郎 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 室長

研究協力者 河上 強志 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 主任研究官

研究要旨：モデル PVC シートからの皮膚表面へのフタル酸エステル類 (PAEs) の移行量に及ぼす諸条件を明らかにするため、11 名 (試験開始時 31~57 歳：男性 7 名、女性 4 名) の被験者に対して、異なる種類および含有量の PAEs および代替可塑剤を含有する PVC シートを用いて皮膚への移行量を測定した。試験期間全体を通じて得られた被験者の前腕内側皮膚表面の DEHP バックグラウンド値 (n=132) の濃度範囲は 0.0065~0.29 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、中央値は 0.056 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、平均値は $0.069 \pm 0.055 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ であった。全ての被験者において、各 PAEs または代替可塑剤を 15% 含有するシートよりも、28% および 14% ずつ DEHP と混合したシートの方が移行量は多かった。被験者の年齢や性別と PAEs および代替可塑剤の移行量には関連は認められなかった。5 種類の PAEs について皮膚表面への移行性を比較したところ、Kow の増加に伴い皮膚表面に移行しやすくなる傾向が認められ (移行性：DBP<DPeP<DHeP<DEHP<DINP)、モデル PVC シートから皮膚表面への PAEs 移行性には、その疎水性が影響していると考えられた。代替可塑剤である DEHTP および DINCH の皮膚表面への移行性についても PAEs と同様の傾向が認められたが、それらを 28% 含有または DEHP と混合したモデル PVC シートからの皮膚表面への移行量は PAEs よりも高い傾向を示した。そして、一部の被験者では、試験全体を通じて PAEs 等の皮膚表面への移行性が他の被験者に比べ、非常に高い傾向を示した。そのため、家庭用品表面の化学物質の皮膚表面への移行性には個人差があり、比較的移行しやすいグループが存在するものと考えられた。

A. 研究目的

家庭環境には様々な化学物質を含有する家庭用品が存在している。それらの化学物質が家庭用品から室内環境中に放散され、呼吸とともに体内に取り込んだり、室内で化学物質がハウスダストなどに吸着し、そのダストを摂食したりす

ることで、居住者はそれらの化学物質に曝露されている。¹⁾ 特に乳幼児では、家庭用品を舐めることにより、家庭用品中に含まれる化学物質に曝露される可能性がある。²⁾ さらに、家庭用品の表面に化学物質が存在する場合には、家庭用品に接触した際に皮膚表面に化学物質が

移行し経皮吸収により化学物質に曝露される可能性がある。また、経皮吸収性が低い化学物質であっても、手の表面に移行し、いわゆる”Hand to Mouth”により、直接または食物等へ再移行した後に経口摂取する可能性が指摘されている。³⁾ そのため、皮膚表面に存在するパラベン類の定量⁴⁾、感熱紙から指先の皮膚表面に移行するビスフェノール量と移行に影響を及ぼす要因の検討⁵⁾、キャンドルから手表面への香料の移行量⁶⁾などがこれまでに報告されている。

フタル酸エステル類 (PAEs) はポリ塩化ビニル (PVC) を主成分としたプラスチックの可塑剤として汎用されており、その使用量は多い。その為、家庭環境での検出率と濃度が高く健康影響が懸念されている化学物質の 1 つである。¹⁾ PAEs については、以前よりラットやマウスを用いた実験で生殖毒性等が指摘されている。^{7,8)} 一方で、雌雄のマーモセットに離乳期から成熟期まで DEHP を経口投与した実験では、雌の卵巣および子宮重量の増加以外、組織学的にも特に変化は認められていない。⁹⁾ また、PAEs は環境ホルモン物質としての作用が懸念されていたが、そのエストロゲン活性は無いか非常に弱いことが報告されている。¹⁰⁾

しかしながら、REACH 規則による高懸念物質候補リストに 3 物質が収載されるなど、一部の PAEs については現在でもその健康影響が懸念され、EU では 2005 年におもちゃや育児用品について

3 種類の PAEs (DEHP: フタル酸ジエチルヘキシル、DBP: フタル酸ジブチル、BeBP: フタル酸ベンジルブチル) の使用を禁止し、口に入る可能性のあるものについてはフタル酸ジイソノニル (DINP)、フタル酸ジイソデシル (DIDP) およびフタル酸ノルマルオクチル (DNOP) の使用も禁止した。¹¹⁾ 我が国でも食品衛生法の食品、添加物等の規格基準の改定が進められ、新基準への改正が平成 22 年 9 月に厚生労働省告示第 336 号にて告示された。¹²⁾

このように、おもちゃや育児用品のように幼児が舐めたり触れたりするものについては、PAEs のリスクを排除する方向になっている。一方で、それら以外のいわゆる家庭用品についても、幼児が皮膚接触時に汗・皮脂などを介して、皮膚表面へ PAEs が移行し曝露される可能性がある。PAEs の経皮吸収に関していくつかの報告があり、Deisinger らは¹⁴C ラベル DEHP を含有する PVC フィルムを雄ラットの体毛除去した背中に張り付けてその経皮吸収速度を測定し、DEHP のラットにおける経皮吸収速度は $0.24 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{hr}$ であると報告している。¹³⁾ また、Scott らは DEHP や DBP 等の PAEs について、ヒトおよびラットの経皮吸収速度を *in vitro* 試験にて比較し、ヒトの方がラットよりも経皮吸収速度が遅いことを報告している。¹⁴⁾

一方、PAEs と接触皮膚炎との関連についてもこれまでに多くの検討がなされている。Medeiros らは DEHP、DINP

および DIDP 等のアルキル鎖が C₆-C₁₃ の PAEs のパッチテストを 104 人に対して実施し、それらの物質に皮膚感作性は無いと報告している。¹⁵⁾ 一方で、かゆみ止めとして Timodine[®] クリーム (ステロイドと抗真菌薬の合剤) を使用した際に、急性発疹が起こった症例では、このクリームに含有していた DBP と塩化ベンザルコニウムに対してパッチテストにより陽性が認められている。¹⁶⁾ DBP については、マウス実験的遅延型過敏症モデルにおいて、アセトンと DBP の混合溶媒に感作物質としてフルオレセインイソチオシアネートを溶解させマウスに塗布すると感作が成立することから、DBP によるアジュバンド効果の可能性が指摘されている。^{17,18)} DEHP についても同様に、マウスにおいてアトピー様皮膚炎を促進させるアジュバンド効果の可能性が指摘されている。¹⁹⁾ そのため、PVC 製品から皮膚表面への PAEs の移行に関する研究が必要である。

しかし、これまでに PVC 製の玩具等からの PAEs の溶出に関して、唾液に関する研究は数多く行われているが、^{2,20-21)} 皮膚表面の PAEs についての報告はほとんどなく、米国 EPA 主導の Children's Total Exposures to Persistent Pesticides and Other Persistent Organic Pollutants Study (CTEPP) の中で、PAEs を含む 50 種類以上の化学物質について、家庭や託児所の就学前の子供を対象に空気、ハウスダスト、家具からの曝露を調査しており、その中で皮膚表面のふき取り調査²²⁾が

報告されているほか、韓国で DEHP、DBP、BeBP 等の PAEs について、遊戯室、託児所、幼稚園および屋内運動場においてフロアダスト、製品表面および 2~10 歳までの児童 20 名の手表面の拭き取り試料についての調査²³⁾が報告されているぐらいである。そして、実際の PVC 製品からの皮膚表面への PAEs 移行量を具体的に明らかにした研究はない。そこで、本研究では PVC 製品から皮膚表面への PAEs 移行量の定量的評価を目的とした。

我が国では、これまでに PVC 製品中の PAEs 含有量の実態について、乳幼児玩具類を中心とした調査がされてきている。^{24,25)} 近年の阿部らによる調査では、業界団体の自主規制の結果、我が国内の乳幼児玩具類中の PAEs の検出率は以前に比べて低くなったことが報告されている。²⁶⁾ 一方で、我々は家庭用品中の PAEs について実態調査を行い、家庭用品では DEHP の検出率および含有量が高いこと、DBP および DINP も検出されること、それらの PAEs は時に 1 つの製品から複数検出されることを明らかにした。²⁷⁾ その他の PAEs については、ほとんど検出されなかった。そこで、前述の DBP、DEHP および DINP を中心として検討を行い、それ以外にフタル酸ジペンチル (DPeP) およびフタル酸ジヘキシル (DHeP) も試験対象とした。また、我々が行った家庭用品の実態調査で検出された、PAEs 代替可塑剤であるテレフタル酸ジエチルヘキシル (DEHTP) およびジイソノニルシクロヘキサン

-1,2-ジカルボキシレート (DINCH) についても、その皮膚移行性について PAEs と比較した。そして、実際にいくつかの PVC 製家庭用品を用いて DEHP および DINCH の皮膚表面への移行性を検討した。

一方、皮膚表面の環境条件、特に皮脂量が PAEs の皮膚表面への移行に影響していると考えられる。皮表脂質は皮脂線由来脂質と表皮細胞由来脂質から形成されている。Greene らはヒト皮膚表面の皮脂の構成を調べ、トリグリセリドが最も多く 57.5%を占め、次いでワックスエステルが 26%、スクワレンが 12%、コレステロールエステルが 3.0%、コレステロールが 1.5%であると報告している。²⁸⁾そこで、本研究では皮脂の構成成分として最も多いトリグリセリドが皮膚表面の皮脂量の指標および PAEs の皮膚表面への移行因子となり得るかもしれないと考え、皮膚表面のトリグリセリド量と皮膚表面へ移行した PAEs 量との関係性を検討した。

B. 研究方法

B.1 被験者

当所研究職員を対象にボランティアを募り、申し出た 11 名（試験開始時 31～57 歳、男性 7 名、女性 4 名）を被験者とした。なお、本試験の実施に当たって、国立医薬品食品衛生研究所倫理委員会の承認（承認番号 No.175-2）を得た。被験者からは実験の内容等を説明後、同意書を受領した。

B.2 試薬および器具類

ガスクロマトグラフィー/質量分析計 (GC/MS) による分析に用いた標準品は、DEHP および DBP は関東化学の環境分析用、DINP は和光純薬のフタル酸エステル分析用を用いた。DPeP および DHeP は東京化成工業社製を、DEHTP はシグマ社製をそれぞれ用いた。DINCH については、BASF ジャパンより分与して頂いた。また、内部標準物質には関東化学社製の環境分析用の DEHP-d₄、DBP-d₄ および DNOP-d₄を用いた。エタノール、ヘキサンおよびアセトンは関東化学およびシグマアルドリッチ社製の残留農薬分析用を、無水硫酸ナトリウムは和光純薬社製のフタル酸エステル分析用を用いた。実験に用いた化合物の分子量などを Table 1 に示した。

トリグリセリドの測定には Bio Vision 製のトリグリセリド定量キットおよびシグマアルドリッチ製の Triton-X100 を用いた。実験に使用した水は全て MilliQ-Synthesis A10（日本ミリポア株式会社）にて作製したものをを用いた。

PVC シートの作製には、DBP および DEHP は東京化成工業製の化学分析用を、DINP については和光純薬社製の特級試薬を用いた。DPeP、DHeP、DEHTP および DINCH については前述の標準品を用いた。DINP は試薬メーカーによって異性体割合の異なる場合が報告されている。²⁷⁾今回は GC/MS 分析用の標準品と PVC シート作製用の特級試薬は共

に和光純薬社製であり、GC/MS のマス クロマトグラム上の異性体ピークパターンは同一であった。

PVC ポリマーおよび安定剤は一般工業用の S-1003 および AC-255 (Ba-Zn 系液状) をそれぞれ用いた。PVC シートはテストロールにて作製し、予備試験で厚さおよび PAEs 濃度の均一性の確認を行い、特に問題は認められなかった。PVC シート中の PAEs、DEHP および DINCH 含有量は既報²⁷⁾に従い測定した。本実験に用いた各 PVC シート中の PAEs、DEHP および DINCH 含有量を Table 2 に示した。

実際の PVC 製家庭用品として、6 種類の製品を試験に用いた。その内訳は、カードケース(S1)、デスクマット(S2)、フロアマット (S3 および 4)、クッション (S5) および浮輪 (S6) であった。試料 S1~5 は DEHP を含有しており、その含有量は既に報告²⁷⁾したように、順に 17%、21%、36%、27% および 25% であった。また、S6 については、既報²⁷⁾では DINCH の同定までであったが、今回濃度測定を行ったところ、DINCH を 30%含有していた。

本試験に用いたガラス器具、金属製器具については、PAEs による汚染防止のため 250°C で 12 時間以上焼成した後に使用した。²⁷⁾

B.3 皮膚への移行試験方法

作製した PVC シートを一定面積 (1.5 cm × 1.5 cm = 2.25 cm²、シート重量約 83

mg) にポンチを用いて型抜きして作製した。その PVC シートを被験者の左前腕の内側部分の皮膚に貼付け接触させた。その際、同一条件では 3 枚のシートを用い (n=3)、それらに力が均一に掛かるようにシリコンマットを細長く切ったものを 3 枚の PVC シートの上に重ね、サージカルテープにて固定した。そして、一定時間後にその PVC シートを剥がし、シートが接触していた個所の皮膚表面をエタノールを含ませた清浄な綿棒でふき取った。その綿棒を試験管に入れ、アセトンを加えて抽出し、無水硫酸ナトリウムで脱水した後、10 ml に定容した。ここから 1 ml を採取し、内部標準物質として DEHP-d₄ を 2 μg/ml 含むアセトン溶液を 50 μl 加えた後、GC/MS にて測定した。3 枚のシートを貼り付けた箇所の PAEs 量をそれぞれ求めた。

なお、コントロール試料には PVC シートの代わりにテフロンシートを用いて同様に操作した物を用いた。また、シートを用いないブランク試験も同時に行い、実験に用いた試薬および器具類からの PAEs 汚染等の有無について検討した。

皮膚への移行試験は各被験者についてそれぞれ異なる PVC シートを用いて 4 回(1 回目:DBP28%、DEHP15%、28%、37%、DINP28% ; 2 回目 DBP15%、DINP15%、DEHP と DBP の混合シート、DEHP と DINP の混合シート ; 3 回目:DPeP15%、DPeP28%、DHeP15%、DHeP28%、DPeP と DEHP の混合シート、

DHeP と DEHP の混合シート；4 回目 DEHTP15%、DEHTP28%、DINCH15%、DINCH28%、DEHTP と DEHP の混合シート、DINCH と DEHP の混合シート) 行った。その際、1 回目と 2 回目は平成 22 年 11 月~平成 23 年 2 月、3 回目と 4 回目は平成 23 年 11 月~平成 24 年 2 月に行い、各回は別々の日に実施した。

B.4 GC/MS 分析

試料溶液中の PAEs の分析は GC/MS (Focus GC/DSQ II : Thermo Fisher Scientific 社製) もしくは GC/MS(MS) (Trace GC/Quantum XLS : Thermo Fisher Scientific 社製) をシングル MS モードで使用して行った。キャピラリーカラムは前者の GC では Factor Four VF-5MS (長さ 30 m、内径 0.25 mm、膜厚 0.25 μm : Varian 社製) を後者の GC では DB-5MS (長さ 30 m、内径 0.25 μm 、膜厚 0.25 μm : J&W-Agilent 社製) 用いた。キャリアーガスには He を用い、流量は 1 ml/min に設定した。注入口、トランスファーラインおよびイオンソース温度はそれぞれ 250 (Trace GC では 230 $^{\circ}\text{C}$)、280 および 250 $^{\circ}\text{C}$ に設定し、スプリットレスモードで試料溶液 1 μl を注入した。カラムオープン温度プログラムは、初期温度 60 $^{\circ}\text{C}$ で 2 分間保持した後、310 $^{\circ}\text{C}$ まで 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ で昇温させ、310 $^{\circ}\text{C}$ で 10 分間保持した。イオン化法は Electron Ionization (EI)法、イオン化電圧は 70 eV とした。測定は Selected Ion Monitoring (SIM) モードにて行った。各 PAEs 等の定量・定

性イオン等については各年度報告書に記した。

B.5 トリグリセリド量の測定

トリグリセリドの測定にはコントロール試料を用いた。コントロール試料 9 ml をロータリーエバポレーターを用いて濃縮した後、乾燥窒素気流下で乾固させた。その後、5% Triton-X 100 水溶液 50 μl を加えて試料溶液とした。この試料溶液を Bio Vision 社のプロトコル²⁹⁾ に従い定量キットにて測定した。なお、本法ではトリグリセリドをリパーゼで加水分解後、生成したグリセロールを酵素にて酸化させた後、蛍光試薬で発色させて定量している。

C. 結果及び考察

C.1 PAEs のバックグラウンド値

全ての被験者のコントロール試料中から DEHP が検出された。全試験期間に得られた試験日毎の被験者の皮膚表面における DEHP バックグラウンド値(平均値)を Fig.1 に示した。次に、DEHP のバックグラウンド測定の全データ (n=132) について検出濃度順に Fig.2 に示した。その濃度範囲は 0.0065~0.29 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、中央値は 0.056 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、平均値は 0.069 \pm 0.055 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、95 パーセンタイル値は 0.16 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、90 パーセンタイル値は 0.14 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ であった。

CTEPP では中央値として皮膚表面に BeBP および DBP がそれぞれ 0.00079 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ および 0.00090 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 存在してい

たと報告されている。²²⁾ 今回の DEHP の値はこれらに比べると高い値を示しているが、この理由としては DEHP が PVC 製家庭用品に高頻度・高濃度で含有されている²⁷⁾ためと考えられた。一方、韓国で行われた託児所や遊戯室での 2 歳から 10 歳児の手表面の拭き取り調査では、DEHP は平均値として屋内運動場で $1.070 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、遊戯室で $0.125 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、託児所で $0.334 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、幼稚園で $0.754 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ であったと報告されている。²³⁾ 本研究で得られたバックグラウンド値は韓国でのデータに比べて低かった。これは、手表面ではなく前腕の内側部分を測定していること、PVC 製品との接触頻度や移行条件（皮脂量、水分量、年齢等）および生活条件等が異なっていることが原因であると考えられた。

PVC 製品用の可塑剤以外の家庭用品中化学物質としては、臭素系難燃剤が手表面に平均値として、 $251 \text{ pg}/\text{cm}^2$ 存在していることが報告されている。³⁾ 一方で、整髪料やハンドクリームなどに用いられる防腐剤であるパラベン類では、指表面で最大 $0.2 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ のメチルパラベンの存在が報告されている。⁴⁾ 家庭用品中の化学物質の皮膚表面への移行には、それらの製品中含有量および製品表面濃度が影響していると考えられる。臭素系難燃剤はプラスチック中に PAEs と同様に%オーダーで含有されているが、容易に製品表面へとブリードしないため、DEHP と比べて皮膚表面での存在量が低く、メチルパラベンでは皮膚に付着し

やすいため、DEHP と同程度であったと考えられた。

また、被験者 D については 1 回目と 2 回目に、皮膚表面から DBP が非常に高い濃度で検出されたが、DBP を高濃度に含む家庭用品²⁷⁾の使用など、被験者の生活環境が影響していると思われた。

C.2 皮膚への接触時間と DEHP 移行量との関係

DEHP を 28%含有する PVC シートを用いて接触時間と皮膚への移行量との関係を検討した。まず、通常の日常生活を考慮して接触時間を 2 分から 30 分までとしてその移行量を調べたところ、接触時間に応じた DEHP 移行量の変化は認められなかった (Fig. 3a)。これは PVC シート表面にブリードしている DEHP 量が多いため、PVC シートが皮膚に接触して直ちに、皮脂との間で平衡状態に達している可能性が考えられた。

また、PVC ポリマー内部から徐々にシート表面へと PAEs が移行し、その後、皮膚表面へと移行するにはある程度の時間が必要と考えられるため、PVC シートを皮膚と長時間 (60~360 分) 接触させ、その移行量を調べた (Fig. 3b)。その結果、短時間の試験時と同様に接触時間に応じた移行量の変化は特に認められなかった。

このため、以降の試験はモデル PVC シートと皮膚との接触時間は全て 30 分に統一して行った。

C.3 各 PAEs 含有 PVC シートから皮膚表面への PAEs 移行量

DEHP 含有 PVC シートを用いた実験による各被験者の皮膚表面への DEHP 移行量を Fig. 4 に示した。DEHP15%含有 PVC シートよりも 28%および 37%含有 PVC シートの方が皮膚表面への移行量が多い傾向が認められた。しかし、28%および 37%との間には特に移行量に差は認められなかった。同様の傾向は、その他の PAEs でも認められ、各 PAEs を単独で 15%含有する PVC シートよりも 28%もしくは DEHP と 14%ずつ混合したシートの方が、皮膚表面への移行量が多かった (Fig. 5)。これは、28%および 37%含有 PVC シートおよび混合 PVC シート (総 PAE 量 28%) の方が、15%に比べて可塑剤量が多く、シート表面にブリードしやすいことや、シートが柔らかく、皮膚表面に接触しやすいためと考えられた。

被験者間で移行量を比較してみると、特に性別および年齢による差異は認められなかった。一方で、各 PAEs の単独 15%含有シート以外のシートについて、被験者 D では他の被験者に比べて、どの PAEs 含有シートでもその皮膚移行量が非常に多い傾向が認められ、被験者 I についても DBP、DEHP および DINP 含有シートで同様の傾向を示した (Fig. 4 および 5)。

C.4 各 PAEs のモデル PVC シートから皮膚表面への移行性評価

各 PAEs の皮膚表面への移行性を検討する為に、DEHP との混合シート試験時の DEHP 移行量に対する各 PAEs 移行量を Fig. 6a に示した。また、混合 PVC シート中における各 PAEs の含有量および DEHP に対する含有量比、DEHP 移行量 (平均値) に対する各 PAEs 移行量 (平均値) の直線回帰式の傾きおよび相関係数を Table 3 に示した。Fig. 6a に示したように、各 PAEs と DEHP の移行量には正の相関が認められた。各 PAEs から得られた回帰係数と使用した PVC シート中の DEHP と対象 PAEs との含有量比から、皮膚表面への移行性は DBP<DPeP<DHeP<DHEP<DINP の順であると考えられた。

また、各 PAEs を 15%含有する PVC シートからの皮膚移行量の平均値と各 PAEs のオクタノール・水分配係数 (K_{ow}) との関係性を検討した。なお、検討にあたり各 PAEs を 15%含有する PVC シートの測定値について外れ値検定 (Smirnov - Grubbs 検定、有意水準 1%) を行い、DBP 含有 PVC シートの高濃度側から 3 点を外れ値として以下の検討から外した。各 PAEs の皮膚表面への移行量と K_{ow} との相関を調べたところ ($n=162$)、移行量を y 、 K_{ow} 値を x として、 $y=0.155x-0.395$ ($r=0.5935$) と正の相関が認められた。また、移行量の平均値と K_{ow} との関係を Fig. 6b に示した。これらの結果は、混合シートを用いた試験結果と一致していた。以上の事から、モデル PVC シートから皮膚表面への PAEs

移行性には各 PAEs の疎水性、すなわち側鎖のアルキル基の長さが影響しているものと考えられた。

C.5 PAEs 代替可塑剤含有 PVC シートから皮膚表面への代替可塑剤移行量とその移行性について

PAEs の代替可塑剤である DEHTP および DINCH について、その皮膚移行量を測定した。その結果を Fig. 7 に示した。DEHTP については、その Kow 値(7.40) は DEHP と同程度(7.52) であるが、15% 含有シートからの皮膚表面への移行量は DEHP と比べて低い傾向を示した。一方で、28%含有シートならびに DEHP との混合 PVC シートでは、その皮膚表面への移行量は PAEs よりも全体的に高くなる傾向を示した。DINCH については、どの PVC シートについても皮膚表面への移行量が PAEs に比べて高い傾向を示した。このことは、これらの代替可塑剤が PVC シート表面に PAEs と比べて多く存在していると考えられ、PVC シート加工時の影響か、または表面ブリード性が高いためと思われたがその要因は不明である。

被験者 D および I について、PAEs 含有 PVC シートによる試験と同様に、28% 含有および混合 PVC シートにおいて、被験者 D は他の被験者より非常に高い値を示し、被験者 I も他の被験者よりも若干高い傾向を示した。そのため、原因は不明ではあるが、被験者 D や I のように、家庭用品表面の化学物質の皮膚表面

への移行性にはある程度の個人差があり、比較的移行しやすいグループが存在するものと考えられた。

DEHTP および DINCH と DEHP との混合 PVC シートについて、PAEs と同様に検討したところ、それらと DEHP との移行量には相関が認められた (Table 3)。また、含有量比および回帰係数より、DINCH では DEHP よりも移行性が高い傾向が認められ、Kow 値が DINCH の方が大きいことから、その疎水性が影響していると考えられた。一方で、DEHTP は Kow 値が DEHP よりも小さいにも関わらず、DEHP よりも移行しやすいという結果となった。ただし、DEHTP と DEHP の Kow 値の違いは僅かであり、Kow が自然対数値であることから、DEHP と DEHTP との間の疎水性はほとんど差異がなく、その混合 PVC シートからの移行性には PVC シート中の含有量の違いが影響していたものと考えられた。

C.6 PVC 製家庭用品からの DEHP および DINCH の皮膚移行性

PVC 製家庭用品からの皮膚移行性について、被験者 A、D および G に対して試験を行った。その結果を Fig. 8 に示した。S1~5 について、その皮膚移行量は DEHP 含有量モデル PVC シートを用いた試験と概ね同程度であり、製品間での移行性の差異は特に認められなかった。S1 は DEHP を 17%含有する製品であったが、DEHP を 15%含有するモデル PVC

シートに比べて柔らかく、そのため皮膚への接触効率が良く、他の製品と同程度皮膚表面に移行したものと考えられた。

被験者間では、モデル PVC シートを用いた試験と同様に、被験者 D で他の被験者よりも高い値を示した。一方、S6 については、DINCH を 30%含有していたが、DINCH を 28%含有するモデル PVC シートを用いた試験の結果と比べて、被験者 A および G では同程度であったが、被験者 D では移行量が半分程度に低下し、その移行量は他の被験者と同程度であった。

実際の家庭用品とモデル PVC シートからの DEHP および DINCH の皮膚表面への移行量が同程度であった。そのため、本研究におけるモデル PVC シートによる皮膚表面への移行量の検討方法は妥当であると考えられた。一方で、DEHP バックグラウンド値はそれらの値よりもはるかに低い。これは、実環境での前腕の PVC 製品への接触頻度や時間などが異なっているためと考えられる。そのため、本研究でモデル PVC シートを用いて得られたそれらの皮膚移行量は実際の生活環境における非常に極端なケースとして考える必要がある。

C.7 皮膚表面に移行した PAEs 量と皮膚表面のトリグリセリド量との関連性

モデル PVC シートから皮膚表面への PAEs の移行性には、皮膚表面の皮脂量に関連していると考えられることから、皮膚表面のトリグリセリドを測定し、そ

れらと DBP、DEHP および DINP 移行量との関係性を検討した。しかし、それらの間には明確な関連性は認められず、トリグリセリドを構成している脂肪酸の種類や、皮脂中のトリグリセリド以外の成分も PAEs の皮膚表面への移行に影響を及ぼしている可能性が考えられた。

D.まとめ

本年度は 11 名(32~58 歳:男性 7 名、女性 4 名)の被験者に対して、異なる種類および含有量の PAEs および代替可塑剤を含む PVC シートを用いて皮膚への移行量を測定した。

試験全体を通じて得られた被験者の皮膚表面の DEHP バックグラウンド値 (n=132) の濃度範囲は 0.0065~0.29 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、中央値は 0.056 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、平均値は $0.069 \pm 0.055 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ であった。

各 PAEs または代替可塑剤を 15%含有するシートよりも、28%および 14%ずつ 2 種類混合したシート (総量:28%) の方が、どの被験者でもその移行量が多かった。また、被験者の年齢や性別と PAEs および代替可塑剤の移行量には関連は認められなかった。

5 種類の PAEs について皮膚表面への移行性を比較したところ、Kow の増加に伴い皮膚表面に移行しやすくなる傾向が認められ (移行性: DBP<DPeP<DHeP<DEHP<DINP)、モデル PVC シートから皮膚表面への PAEs 移行性には、各 PAEs の疎水性が影響していることを明らかにした。

代替可塑剤である DEHTP および DINCH の皮膚表面への移行性についても PAEs と同様の傾向が認められたが、それらを 28%含有または DEHP と混合した PVC シートからの皮膚表面への移行量は PAEs よりも高い傾向を示した。

トリグリセリド量と PAEs 移行量との明確な関連性は認められず、トリグリセリドを構成している脂肪酸の種類や、皮脂中のトリグリセリド以外の成分も PAEs の皮膚への移行に影響を及ぼしている可能性が考えられた。

一部の被験者では、試験全体を通じて PAEs 等の皮膚表面への移行性が他の被験者に比べて非常に高い傾向を示した。そのため、家庭用品表面の化学物質の皮膚表面への移行性にはある程度の個人差があり、比較的移行しやすいグループが存在するものと考えられた。

E. 研究発表

E.1. 論文発表

- 1) Kawakami T., Isama K., Matsuoka A.: Analysis of phthalic acid diesters, monoester, and other plasticizers in polyvinyl chloride household products in Japan, *J. Environ. Sci. Health Part A*, **46**, 855-864, 2011
- 2) Kawakami T., Isama K., Jinno H., Matsuoka A. and Nishimura T.: Transfer of phthalic acid diesters from model PVC sheet to skin surface. *Organohalogen Compounds*, **73**, 1116-1119, 2011

E.2. 学会発表

- 1) 河上強志・伊佐間和郎・松岡厚子, 一般家庭用品中のフタル酸ジエステル類およびモノエステル類の実態調査,

第 19 回環境化学討論会 (日本環境化学会), 中部大学春日井キャンパス, 春日井, 2010 年 6 月

- 2) Kawakami T., Isama K., Matsuoka A.: Phthalic acid diesters and monoesters in household products in Japan, 30th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (Dioxin 2010), Marriott River Center, San Antonio, USA. Sep. 2010
- 3) 河上強志・伊佐間和郎・松岡厚子, 家庭用品中のフタル酸エステル類の含有量調査, 第 47 回全国衛生化学技術協議会年会, 兵庫県民会館, 神戸, 2010 年 11 月
- 4) Kawakami T., Isama K., Jinno H., Matsuoka A. and Nishimura T.: Transfer of phthalic acid diesters from model PVC sheet to skin surface. 31th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants. Crown Plaza Hotel, Brussels, Belgium. Aug. 2011.

F. 知的所有権の取得状況

F1. 特許取得

なし

F2. 実用新案登録

なし

F3. その他

なし

G. 引用文献

- 1) 金澤文子・岸玲子, 半揮発性有機化合物による室内汚染と健康への影響, *日衛誌*, **64**, 672-682, 2009
- 2) 杉田たき子・河村葉子・谷村雅子・松田えり子・新野竜大・石橋亨・平林尚之・松木容彦・山田隆・米谷民雄, 乳幼児用軟質ポリ塩化ビニル製玩具か

- らのフタル酸エステル曝露量の推定,
食衛誌, **44**, 96-102, 2003
- 3) Stapleton MH., Kelly MS., Allen GJ., McClean DM., Webster FT.: Measurement of polybrominated diphenyl ethers on hand wipes: Estimating exposure from hand-to-mouth contact, *Environ. Sci. Technol.*, **42**, 3329-3334, 2008
 - 4) 柴田英記・津田孝雄, ヒト皮膚表面から見いだされたパラベンの定量, 分析化学, **51**, 397-401, 2002
 - 5) Biedermann S., Tschudin P., Grob K.: Transfer of bisphenol A from thermal printer paper to the skin, *Anal. Bioanal. Chem.*, **398**, 571-576, 2010
 - 6) Api MA., Bredbenner A., McGowen M., Niemiera D., Parker L., Renskers K., Selim S., Sgaramella R., Signorelli R., Tedrow S., Troy W.: Skin contact transfer of three fragrance residues from candles to human hands, *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **48**, 279-283, 2007
 - 7) Matsumoto M., Koizumi-Hirata M., Ema M.: Potential adverse effects of phthalic acid esters on human health: A review of recent studies on reproduction, *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **50**, 37-49, 2008
 - 8) Lyche JL., Gutleb AC., Bergman Å., Eriksen GS., Murk AJ, Ropstad E., Saunders M., Skaare J.U.: Reproductive and developmental toxicology of phthalate, *J. Toxicol. Environ. Health, Part B*, **12**, 225-249, 2009
 - 9) Tomonari Y., Kurata Y., David RM., Gans G., Kawasuso T., Katoh M.: Effect of di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) on genital organs from juvenile common marmosets: I. Morphological and biochemical investigation in 65-week toxicity study, *J. Toxicol. Environ. Health, Part A*, **69**, 1651-1672, 2006
 - 10) Harris CA., Henttu P., Parker MG., Sumpter JP.: The Estrogenic activities of phthalate esters in vitro, *Environ. Health Perspect.*, **105**, 802-822, 1997
 - 11) European Union: Directive 2005/84/EC of the European parliament and of the council of 14 December 2005, <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2005:344:0040:0043:EN:PDF>
 - 12) 平成 22 年厚生労働省告示第 336 号, 食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件
 - 13) Deisinger PJ., Perry LG., Guest D.: In vitro percutaneous absorption of [¹⁴C]DEHP from [¹⁴C]DEHP-plasticized polyvinyl chloride film in male Fischer 344 rats, *Food Chem. Toxicol.*, **36**, 521-527, 1998
 - 14) Scott RC., Dugard PH., Ramsey JD., Rhodes C.: In vitro absorption of some o-phthalate diesters through human and rat skin, *Environ. Health Perspect.*, **74**, 223-227, 1987
 - 15) Medeiros AM., Devlin DJ., Keller LH.: Evaluation of skin sensitization response of dialkyl (C6-C13) phthalate esters, *Contact Dermatitis*, **41**, 287-289, 1999
 - 16) Chowdhury MMU., Statham BN.: Allergic contact dermatitis from dibutyl phthalate and benzalkonium chloride in Timodine[®] cream, *Contact Dermatitis*, **46**, 57, 2002
 - 17) 今井康之・近藤あゆみ・黒羽子孝太, 接触皮膚炎におけるフタル酸エステルのアジュバンド効果, アレルギー科, **18**, 175-180, 2004
 - 18) Sato K., Imai Y., Irimura T.: Contribution of dermal macrophage trafficking in the sensitization phase of contact hypersensitivity, *J. Immunol.*, **161**, 6835-6844, 1998
 - 19) Takano H., Yanagisawa R., Inoue K., Ichinose T., Sadakane K., Yoshikawa T.: Di-(2-ethylhexyl) phthalate enhances atopic dermatitis-like skin lesions in mice, *Environ. Health Perspect.*, **114**, 1266-1269, 2006
 - 20) Niino T., Ishibashi T., Itho T., Sakai S., Ishiwata H., Yamada T., Onodera S.: Monoesters formation by hydrolysis of dialkyl phthalate migrating from polyvinyl chloride products in human saliva, *J. Health Sci.*, **47**, 318-322, 2001

- 21) 大嶋智子・野田勉, 乳幼児繊維製品のプリント部分に含まれるフタル酸エステル類の人工だ液への溶出, 第5回環境ホルモン学会研究発表会講演要旨集, 127, 2002
- 22) U.S. EPA.: A pilot study of children's total exposure to persistent pesticides and other persistent organic pollutants (CTEPP), <http://cfpub.epa.gov/ordpubs/nerlpubs/recordisplay.cfm?deid=61972>
- 23) Kim HH., Yang JY., Kim SD., Yang SH., Lee CS., Shin DC., Lim YW.: Health risks assessment in children for phthalate exposure associated with childcare facilities and indoor playgrounds, *Environ. Health Toxicol.*, **26**, e2011008, 2011
- 24) 新野竜大・石橋亨・伊藤武・坂井千三・杉田たき子・石橋肇・山田隆・小野寺祐夫, ポリ塩化ビニル製玩具中の可塑剤フタル酸エステル類の分析: 1998年以降の市販品含有量調査, *日食化誌*, **8**, 194-199, 2001
- 25) 阿部有希子・杉田たき子・和久井千世子・新野竜大・四方田千佳子・石橋肇・棚元憲一・米谷民雄, 軟質玩具の表示およびポリ塩化ビニル製品中の可塑剤の調査, *食衛誌*, **44**, 168-174, 2003
- 26) 阿部裕・山口未来・六鹿元雄・平原嘉親・河村葉子, ポリ塩化ビニル製玩具中の可塑剤調査, 日本食品化学学会第16回総会・学術大会講演要旨集, 28, 2010
- 27) Kawakami T., Isama K., Matsuoka A.: Analysis of phthalic acid diesters, monoester, and other plasticizers in polyvinyl chloride household products in Japan, *J. Environ. Sci. Health Part A*, **46**, 855-864, 2011
- 28) Greene SR., Downing TD., Pochi EP., Strauss SJ.: Anatomical variation in the amount and composition of human skin surface lipid, *J. Invest. Dermatol.*, **54**, 240-247, 1970
- 29) Bio Vision, <http://www.biovision.com/manuals/K622-100.pdf>

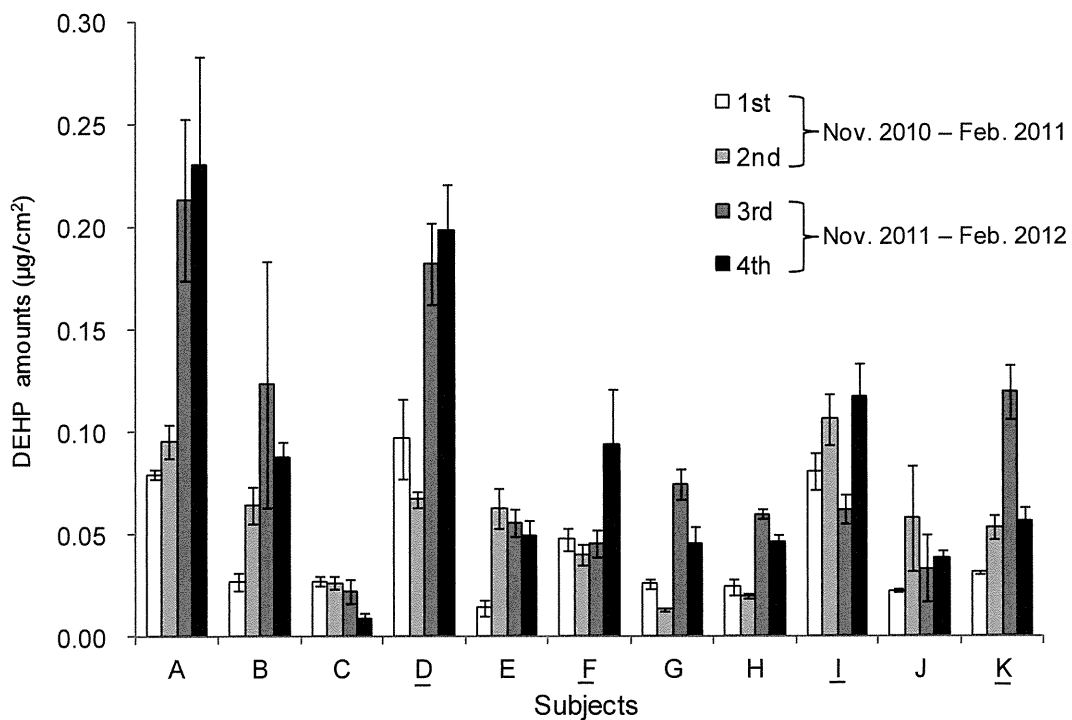


Fig. 1 Amounts of DEHP detected in the control samples (average \pm SD).
 (Alphabetical order means in order of age and underline means female subject)

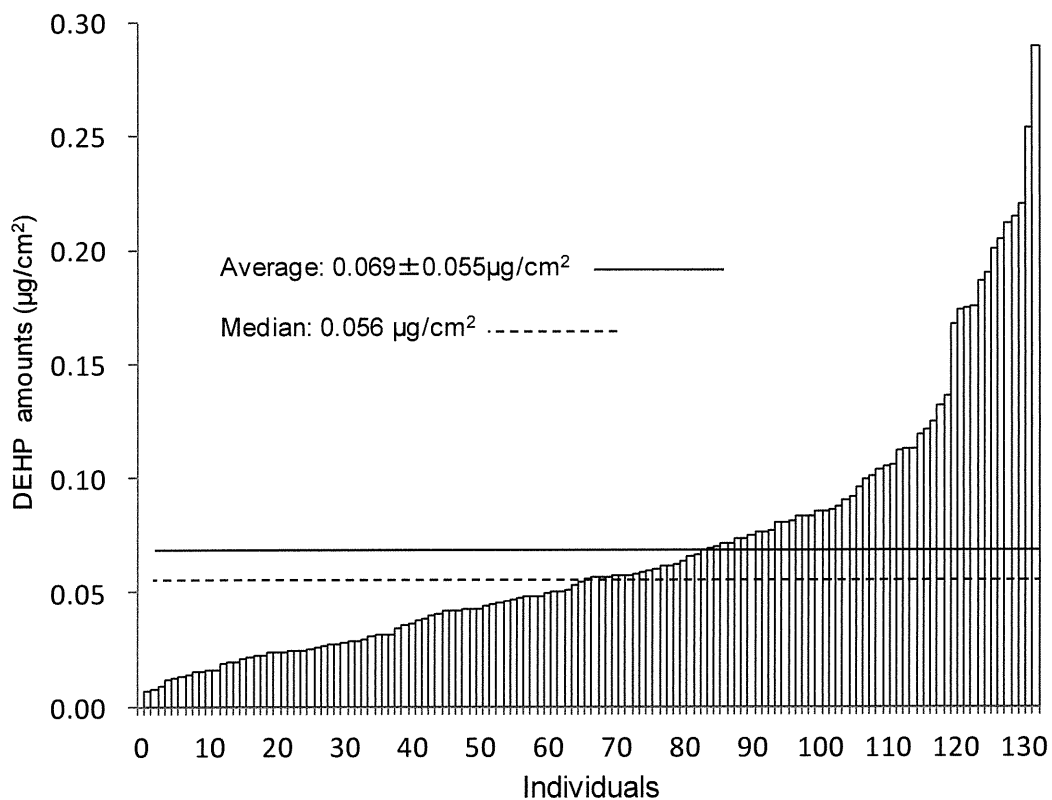


Fig. 2 Distributions of DEHP background concentrations measured in the control samples.

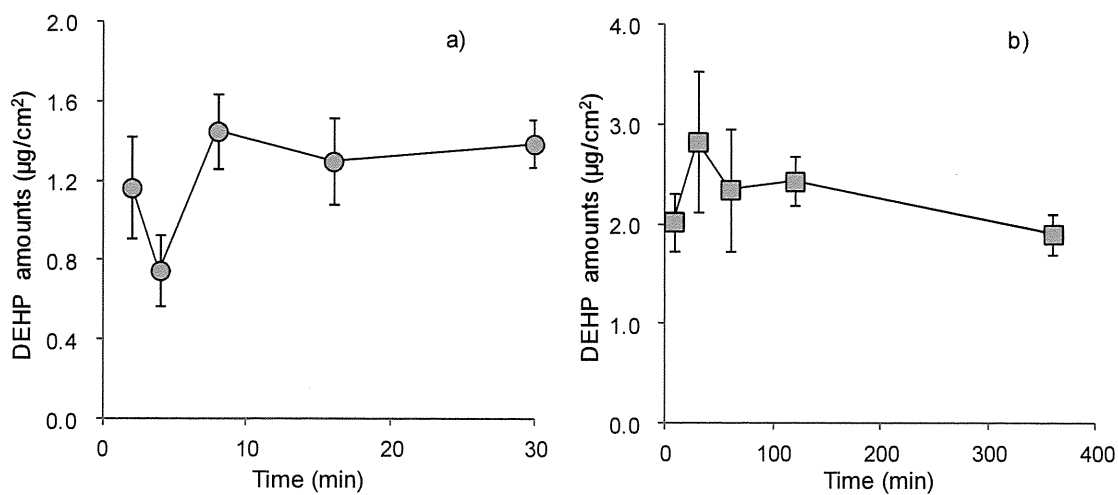


Fig. 3 Amounts of DEHP transferred from the model PVC sheet to the skin: a) 0–30 min; b) 0–360 min. (These experiments were carried out on a different day)

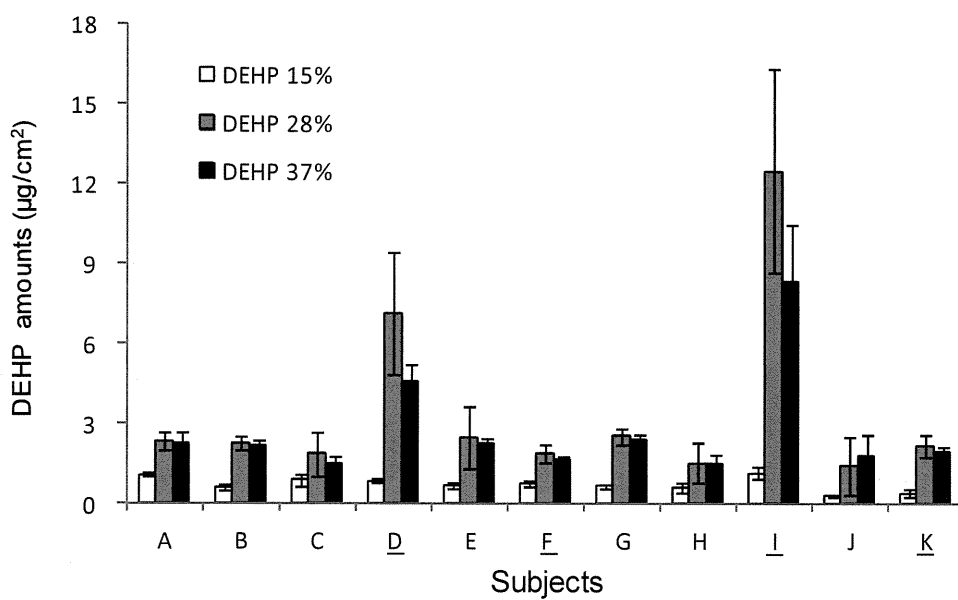


Fig. 4 Amounts of DEHP transferred from the model PVC sheet to the skin surface (average \pm SD).

(Alphabetical order means in order of age and underline means female subject)

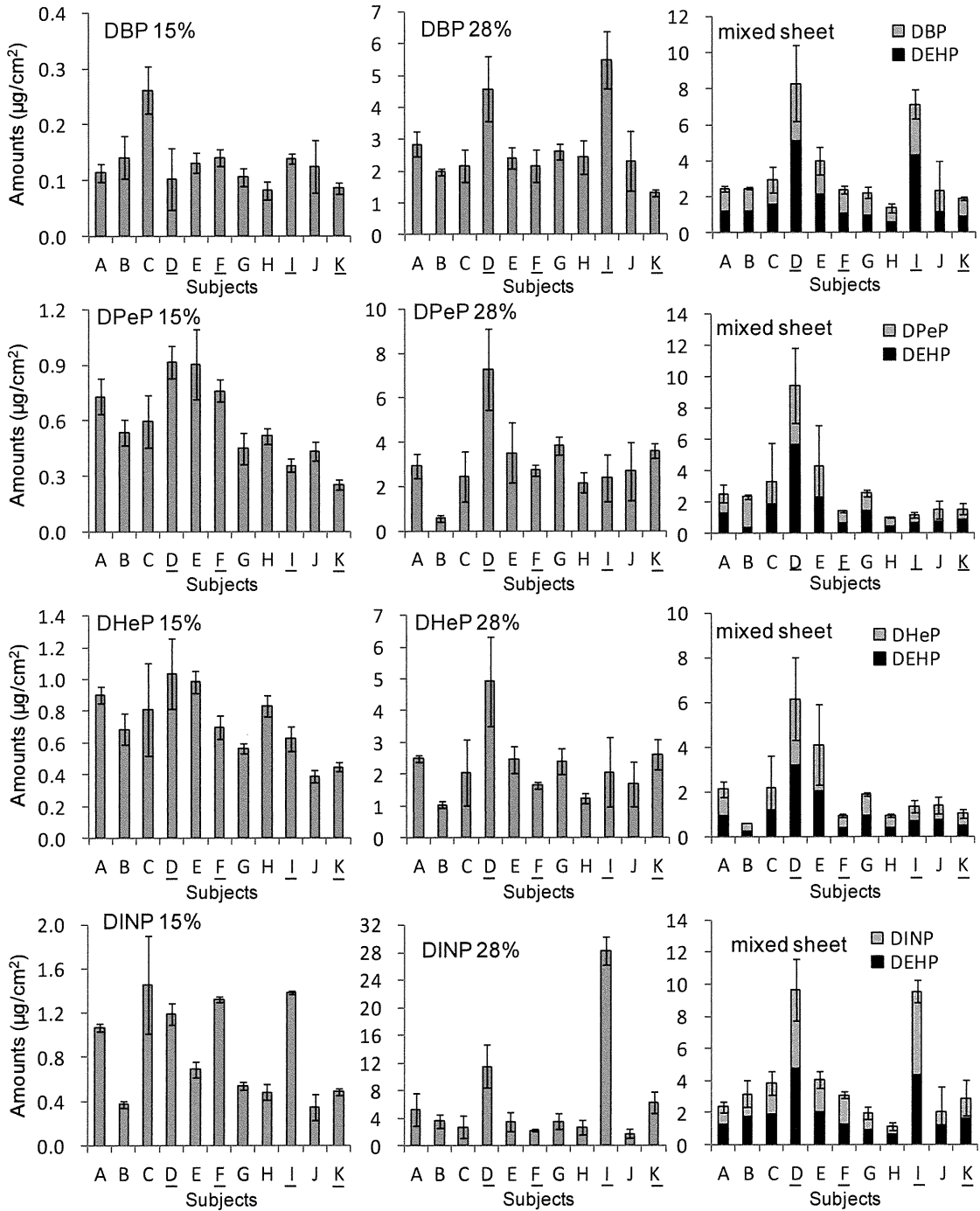


Fig. 5 Amounts of DBP, DPeP, DHeP, DINP and DEHP transferred from the model PVC sheet to the skin surface (average \pm SD). (Alphabetical order means in order of age and underline means female subject)

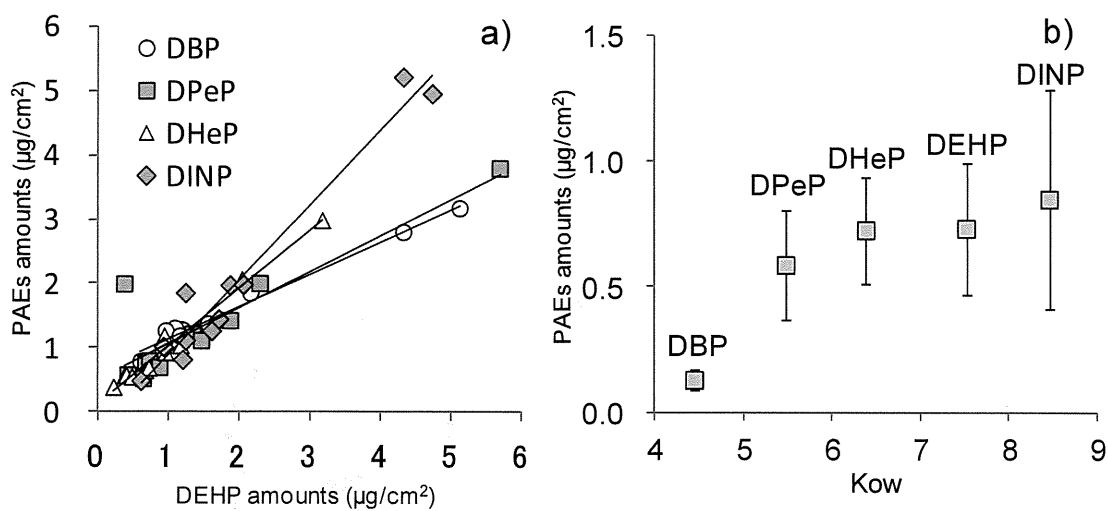


Fig. 6 Relationships a) between amount of DEHP and DBP, DPeP, DHeP and DINP transferred from the mixed sheet and b) between the average amounts of PAEs transferred to the skin surface from the 15% sheet and their Kow values.

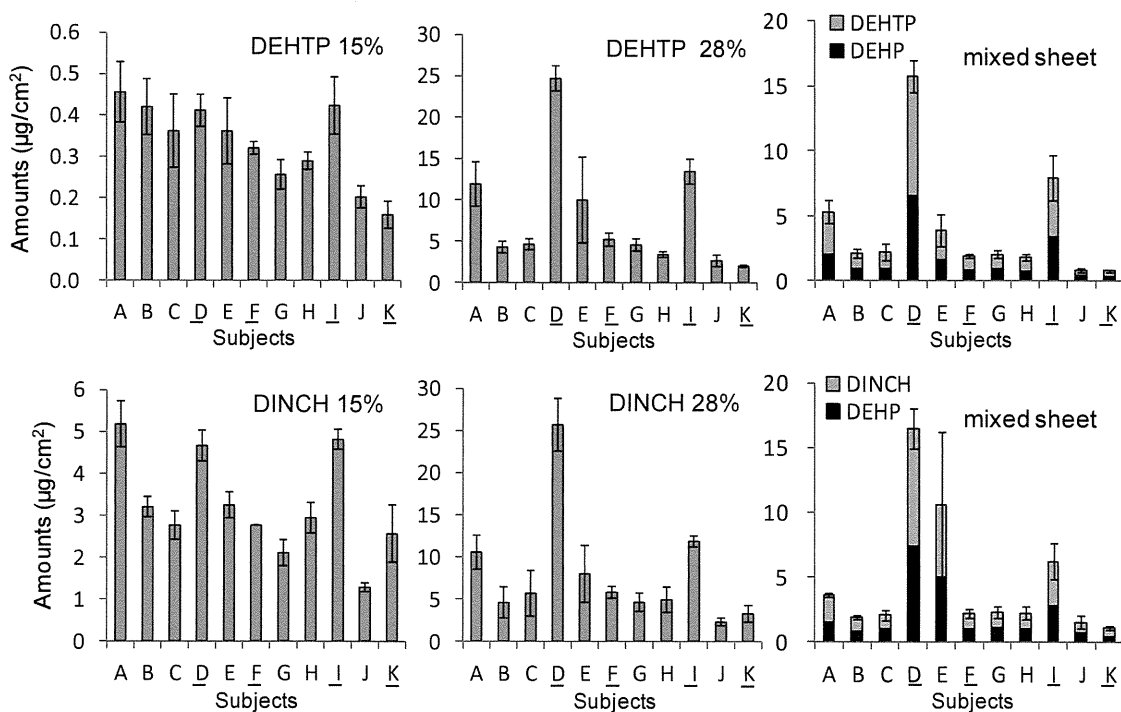


Fig. 7 Amounts of DEHTP, DINCH and DEHP transferred from the model PVC sheet to the skin surface (average \pm SD). (Alphabetical order means in order of age and underline means female subject)

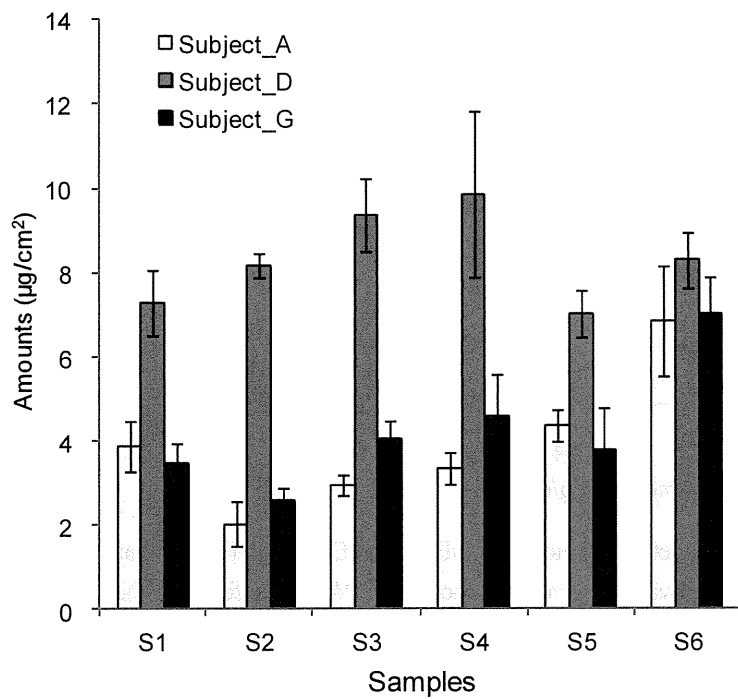


Fig. 8 Amounts of DEHP (S1 – 5) and DINCH (S6) transferred from the household products to the skin surface (average \pm SD). [S1: card case (DEHP 17%), S2: desk mat (DEHP 21%), S3: floor mat (DEHP 36%), S4: floor mat (DEHP 27%), S5: cushion (DEHP 25%), S6: ring float (DINCH 30%)]

Table 1. Physical and chemical properties of the compounds.

| Compounds | Cas. No. | M.W. ^a | Kow ^b |
|-----------|--------------------------|-------------------|-------------------|
| DBP | 84-74-2 | 278.3 | 4.44 |
| DPeP | 131-18-0 | 306.4 | 5.47 |
| DHeP | 84-75-3 | 334.5 | 6.38 |
| DEHP | 117-81-7 | 390.6 | 7.52 |
| DINP | 28553-12-0 | 418.6 | 8.46 ^c |
| DEHTP | 6422-86-2 | 390.6 | 7.40 |
| DINCH | 166412-78-8 ^d | 424.6 | 8.53 ^c |

^a Molecular weight ^b Calculated by Pallas (ver 3.6.2.1)

^c as normal nonyl ester ^d in EU (U.S. and Canada; 474919-59-0)