

令和元年度厚生労働科学研究費補助金  
(健康安全・危機管理対策総合研究事業)  
分担研究報告書

3. 児童の尿中濃度とハウスダスト中 SVOC 濃度の関連性に関する調査  
－北海道スタディー

研究分担者 荒木 敦子 北海道大学環境健康科学研究協力センター 特任准教授  
研究分担者 アイツバマイ ゆふ 北海道大学環境健康科学研究協力センター 特任講師

**研究要旨**

本研究では、すでに収集済みのデータを用いて、築 6 年以内の戸建て住宅に居住する住人の SHS とダスト中フタル酸エステル類、リン酸トリエステル類濃度との関連を検討した。SHS の有訴は粘膜への刺激症状は 5.7%、SHS いずれか 1 つまたはそれ以上の症状は 6.5%だった。床ダストあるいは棚ダスト中の個々のフタル酸エステル類、リン酸トリエステル類濃度と SHS との関連は認められなかったが、混合曝露ではフタル酸エステル類、リン酸トリエステル類濃度 14 化合物の WQS index が IQR 増えると、SHS のリスクが増加する関連が認められた。しかし、SHS との関連に寄与する化合物は同一の化合物が床ダストと棚ダストでは相反するなど、結果の解釈には注意を要する。本研究の利点は、比較的大きな対象者数で、日本 6 地域で床ダストと棚ダスト中 SVOC 濃度を個別に測定したことである。一方、研究の限界としては横断研究であり、因果関係を示すことはできない。

フタル酸エステル類の尿中代謝物濃度の測定については、分担研究者らが既に確立した分析法を用い、高速液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析装置で測定した。全ての児の尿から DnBP, DEHP の代謝物 (MnBP, MEOHP, MEHHP, MECPP) が検出された (検出率 100%)。中央値濃度は MECPP が最も高く、次いで MnBP, MEHHP, MEOHP, MiBP, MEHP, MBzP であった。特に児の BBzP の尿中代謝物 MBzP 濃度は諸外国の先行研究の報告値よりも低かった。ラウンドロービン試験 G-EQUAS に参加し、対象 7 化合物について分析法の妥当性を確認した。再定量後、MiNP は検出率 18.1%から 94.6%、OH-MiNP は 33.6%から 93.1%、cx-MiNP は 75.8%から 96.9%、中央値濃度は、MiNP は 0.1ng/mL から 0.6 ng/mL、OH-MiNP は 0.1 ng/mL から 3.0 ng/mL、cx-MiNP は 1.6 ng/mL から 2.0 ng/mL といずれも大きく増加した。再定量後、3 代謝物すべてについて検出率および中央値濃度が増加し、健康影響との関連について統計解析に用いることが可能となった。再定量の精度管理を実施し、サンプル間、バッチ間で大きなズレないことが確認できた。今後は、他機関と協力した DiNP 代謝物分析精度の検証や、将来的に DiNP 代謝物がラウンドロービン試験に加わった際には、試験に参加し本研究の分析法の妥当性を検証する必要がある。

研究協力者

岸 玲子 北海道大学環境健康科学研究協力センター特別招聘教授  
Rahel Mesfin Ketema 北海道大学大学院保健科学院

### 3-1 ハウダスト中SVOCとシックハウス症候群に関するデータ解析

#### A. 研究目的

シックビルディング症候群（Sick Building Syndrome : SBS）とは特定の建物内で生じる非特異的な症状である。室内空気質の汚染が原因となり、欧米では建物の気密化により 1970 年代にオフィスビルで問題が生じた。日本では、SBS と同様の症状が 1990 年代に一般住宅で観察されるようになり、シックハウス症候群（Sick House Syndrome : SHS）と呼ばれる。

研究分担者・研究協力者らは、2004-2006 年は厚生労働科学研究費補助金健康科学総合研究事業「全国規模の疫学研究によるシックハウス症候群の実態と原因の解明（研究代表者 岸玲子）」、2007-2008 年は厚生労働科学研究費補助金地域健康危機管理研究事業「シックハウス症候群の実態解明及び具体的対応方策に関する研究（研究代表者 岸玲子）」として、日本の 6 地域の新築戸建て住宅とその居住者を対象にシックハウス症候群に関する疫学研究を推進してきた[1]。2006 年に実施した訪問調査においては、居住者の SHS 有訴、アレルギーの有無等の健康に加えてハウスダストを収集し、含有する準揮発性有機化合物（Semi Volatile Organic Compounds : SVOC）であるフタル酸エステル類と有機リン酸トリエステル類を測定した。この結果、ハウスダスト中のフタル酸エステル類の床ダスト中濃度が高いとアレルギーのリスクが増加し、その関連は大人よりも子どもで大きいこと、リン酸エステルについても、ダスト中濃度、またはその尿中代謝物濃度が高いとアレルギーのリスクが上がることを報告した。加えてフタル酸エステル類とリン酸エステルの混合曝露を検討した結果、鼻結

膜炎症状とリン酸エステル TCIPP（リン酸トリス(2-クロロイソプロピル)と TPHP(リン酸ジフェニル)曝露の相加効果が認められた。一方、SHS との関連については、札幌地域のみ 41 軒 134 人のデータを用いた解析を行ったところ、TNBP（リン酸トリ-n-ブチル）が SBS 粘膜症状のリスクを上げたが、TEP（リン酸トリエチル）と TBOEP（リン酸トリス(2-ブトキシエチル)はむしろリスクを下げたことを報告したのみである。

そこで、本研究ではこれら既存の全国データを用いて、新たに SHS 有訴とダスト中フタル酸エステル類、およびリン酸トリエステル類濃度との関連を明らかにすることを目的とした。

#### B. 研究方法

既に収集済みの SHS および SVOC 濃度を用いた。以下に、簡単にデータ収集および SVOC の分析について示す。

##### 1) 対象

2003 年にベースライン調査を札幌、福島、名古屋、大阪、岡山、北九州の全国 6 地域で実施した。築 6 年未満の戸建て住宅を「建築確認申請」から無作為に 6,080 軒抽出し、質問紙調査票を郵送した。このうち調査票が回収できた 2,282 軒に、翌 2004 年、2005 年、2006 年と連続する 3 年間訪問による住宅環境調査を実施した。2006 年の調査件数は 186 軒でその居住者は 624 人であった。本報告は 2006 年の調査で収集したデータを用いた。

##### 2) SVOC の測定

各住宅の居間の床全面および床上 35cm よりも低い場所（幅木や棚の最下段など）から「床上ダスト」、床上 35 cm よりも場

所（棚、家具、カーテンレール、壁、照明器具など）から「棚上ダスト」と、2 か所のハウスダストを個別に収集した。収集したダストはアセトン線上市のガラスの共栓付き試験管に入れ、分析まで $-20^{\circ}\text{C}$ で保存した。収集したダストから 25 mg を分取し、フタル酸エステル類 7 化合物の濃度は gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) Selective Ion Mode (SIM)、リン酸トリエステル類 11 化合物の濃度は gas chromatography-flame photometric detector (GC/FPD) を用いて分析した。分析は、東京都健康安全研究センター（東京都）にて実施した。

### 3) 質問票調査

住宅に関する質問票は世帯主またはそれに準ずる家族に、SHS に関する質問票は居住者の全員に記入を依頼した。中学生以上は自分で、小学生は親に手伝ってもらいながら、未就学児は親が自記式調査票に記入した。SHS に関する質問は、Andersson による MM040EA を用いた<sup>2)</sup>。自覚症状として、12 項目が「はい、いつもある」を毎週の症状とした。かつ「その症状は自宅を離れるとよくなる」と回答した場合を SHS と定義した。12 項目のうち、「とても疲れる」「頭が痛い」「頭が重い」「はきけやめまいがする」「物事に集中できない」の 5 項目を SHS 一般症状、目がかゆい・あつい・チクチクする」「鼻水・鼻づまり・鼻がムズムズする」「声がかすれる、喉が乾燥する」「咳が出る」の 4 項目を SHS 粘膜への刺激症状、「顔が乾燥したり赤くなる」「頭や耳がかさつく・かゆい」「手が乾燥する・かゆい・赤くなる」の 3 項目を SHS 皮膚刺激症状とした。さらに、12 項目のうちいずれか 1 つまたはそれ以上の項目が「はい、いつもある」かつ「その症状は自宅を離れ

るとよくなる」ある場合を SHS ありとした。

### 4) 統計解析

解析には、ダスト重量が 25mg 以上のケースのみを用いた。ダスト中に含まれる SVOC 濃度相関は Spearman's  $\rho$  検定を行った。個人特徴および住宅特徴と SHS 症状ありの分布は、カテゴリカルデータについては  $\chi^2$  二乗検定、連続数データについては T 検定を行った。SVOC 個々の 14 化合物曝露と SHS との関連は、ロジスティック回帰分析を行った。各物質濃度は <LOQ には LOQ の半値を代入し、自然対数変換後、個別にモデルに投入し、性、年齢、喫煙状況で調整した。

混合曝露については床および棚ダストそれぞれ個別に Weighted quintile Sum (WQS) regression を用いて Positive model と Negative model を、また quintile g-computation (qg-computation) を用いて各化合物の SHS との寄与 (Weight) を求めた。

個別の濃度と SHS との関連は IBM SPSS Statistics 26、混合曝露は R studio (R version 3.6.1) を用いてパッケージ gQWS (ver2.0.0)、qg-comp (ver1.3.0) を使用した。

### (倫理面の配慮)

本研究の実施にあたっては、北海道大学医学部医の倫理委員会の承認を得て、対象者には文書による説明と同意を得て実施した。

## C. 研究結果

1) ダスト中 SVOC 濃度分布 (Table 1) 床ダストは 148 軒、棚ダストは 120 軒の結果を示す。最も濃度が高いのは、床ダスト、床ダストともに DEHP、次いで TBOEP、

DiNP だった。DMP、DEP、TMP、TEP、TPP、TCP はいずれも検出率が 50%未満であったため、この後の解析は実施しなかった。

## 2) ダスト中 SVOC 濃度分布 (Table 2)

床ダスト、棚ダストともに SVOC 同士に有意な相関が認められた。TEHP と TBOPE の相関係数は 0.733 と高かったが、その他は 0.2-0.5 と相関は低から中程度であった。

## 3) 対象者の特徴 (Table 3)

対象となったのは居住者全 527 人だった。男女はそれぞれ 48.4%、51.6%。年齢は 30-44 歳が最も多く、ついで 45-59 歳で、年齢分布に男女差はなかった。喫煙者は 9.7%だが男性が女性よりも優位に多く、非喫煙者だが家で受動喫煙にさらされているものは男性 10.2%、女性 19.5%で女性に多かった。アレルギーは 28.7%だった。毎週のように症状があるのは一般症状が 16.5%、粘膜刺激症状は 20.5%、皮膚症状は 8.9%だったが、これらの症状が家と関係している SHS と回答した割合は SHS 一般症状 1.1%、SHS 粘膜刺激症状 5.7%、SHS 皮膚症状 1.3%だった。SHS いずれか 1 つまたはそれ以上の症状が家と関連していると訴えたのは、全体の 6.5%だった。これら症状の訴えには男女差はなかった。SHS 一般症状と SHS 皮膚刺激症状の有訴は少なかったため、この後の解析は SHS 粘膜への刺激症状および SHS のみで実施した。

## 4) 個人および住宅特徴と SHS (Table 4)

SHS いずれか 1 つまたはそれ以上の症状の有訴は、個人特徴としては年齢が若いほど多く、ストレスレベルが多く、アレルギーがある群でストレスレベルが中または低い群、およびアレルギーがない群よりも優

位に多かった。住宅特徴としては、窓を開ける時間が短い家で長い家よりも SHS いずれか 1 つまたはそれ以上の症状の有訴が多かった。室温は SHS の有訴のある家でない家よりも有意に高かった。

## 5) フタル酸エステル類、リン酸トリエステル類の単一曝露と SHS (Table 5)

フタル酸エステル類およびリン酸トリエステル類 14 化合物について個別に SHS 粘膜への刺激症状あるいは SHS いずれか 1 つまたはそれ以上の症状との関連を検討したものの、いずれの化合物も SHS との関連は認められなかった。

## 5) フタル酸エステル類、リン酸トリエステル類の混合曝露と SHS (Table 6, Figure 1)

フタル酸エステル類およびリン酸トリエステル類 14 化合物の混合曝露と SHS 粘膜への刺激症状および SHS いずれか 1 つまたはそれ以上の症状との関連を WQS regression で検討したところ、WQS index positive model で床ダスト、棚ダストとも SHS 粘膜への刺激症状および SHS のすべてにおいてリスクを上げる結果が認められた (SHS 粘膜への刺激症状は床ダスト; OR (95% CI:Confidence Interval) =2.92 (1.29-6.59)、棚ダスト OR (95%CI) =2.72 (1.22-6.07)、SHS いずれか 1 つまたはそれ以上の症状は床ダスト 2.69 (1.31-5.54)、棚ダスト 3.06 (1.50-6.28)) 一方、negative model では、いずれの関連も認められなかった。qq-computation では、SHS と床ダスト中の混合曝露が 1.94(1, 06, 3.56)で、 $p < 0.05$  の有意な関連性が認められた。

Figure 1 に SHS 粘膜への刺激症状、Figure 2 に SHS いずれか 1 つまたはそれ

以上の症状と **qg-computation** で得られた各物質の **Weight** を示す。SHS 症状と棚ダストでは、SHS のリスクを上げる方向の寄与が大きい物質は **TEHP** 次いで **TCEP** だった。一方 **DEHA** と **TPhP** は症状有訴のリスクを下げる方向への寄与が大きかった。**TBP**、次いで **TBEP**、**TDCIPP**、**DiNP** だった。棚ダストでは、最も寄与が大きい物質は **TEHP**、次いで **TCEP**、**TBP**、**TDCIPP** の順だった。

#### D. 考察

本研究では、すでに収集済みのデータを用いて、築 6 年以内の戸建て住宅に居住する住人を対象に **SHS** とダスト中 **SVOC** 濃度との関連について解析を実施した。本研究では、**SVOC** 個別の物質と **SHS** との関連は認められなかった。

先行研究では、これらフタル酸エステル類やリン酸エステルと **SBS** との関連についての報告は 2 報のみである [3, 4]。Kanazawa らは、札幌の戸建て住宅 41 軒の調査で、**TNBP** (リン酸トリ-n-ブチル) が **SBS** 粘膜症状のリスクを上げたが、**TEP** (リン酸トリエチル) と **TBOEP** (リン酸トリス(2-ブトキシエチル)) はむしろリスクを下げたが [5]、この研究はサンプルサイズが 134 人と少ないことが限界である。Kishi らは、学童が居住する 128 軒で小学生 184 人と中学生以上の大人 273 人を層別解析したところ、大人では Kanazawa ら同様 **TBOEP** と **SHS** の負の相関を認めた [4]。このほか、大人で **DiNP** と、子どもで **DiBP** との **SHS** 粘膜への刺激症状との負の相関が認められたが、多くの化合物との関連の解析を繰り返しており、関連性が偶然見つかった可能性があり、明確な **SVOC** 濃度との関連が認められたとはいえない [4]。本研究でも、個別の化

合物と **SHS** との解析結果に関連性は認められず、結果は同様だった。

本研究では、**SHS** と **SVOC** の混合曝露を初めて検討した。床ダストおよび棚ダスト中のいずれも、フタル酸エステル類、リン酸トリエステル類合計 14 化合物の混合曝露は **SHS** および **SHS** 粘膜への刺激症状のリスクを上げる方向を示した。ダスト中の **SVOC** は互いに相関しており、同一のモデルに複数の化学物質を投入することはできない。**WQS** および **qg-computation** は近年考案された解析方法であり、相関の高い物質を同一のモデルに投入し、各物質の四分位をそれぞれ **Quartile (Q)** 1=0、**Q2=1**、**Q3=2**、**Q4=3** として、その和が四分位大きくなった時の **SHS** の **OR** を検討するモデルである [6]。しかし、**WQS** の限界として、一つのモデルにおいて正の関連あるいは負の関連のどちらか一方しか検討できない点があるため、寄与の大きさについては正負両方を同時に検討する **qg-computation** を用いた [7]。本研究では、個々の物質では認められなかった **SHS** への影響が混合曝露では認められたことは興味深く、棚ダストからの混合曝露は **Positive** および **Negative** の両方向の関連を同時に検討する **qg-computation** でも正の方向に **SHS** のリスクを上げる有意な関連が認められた。また、**SHS** のリスクを上げる寄与は全体的にリン酸トリエステル類の方がフタル酸エステル類よりも大きかった。しかし、**TEHP** は棚ダストの中で最も **Positive** 方向に寄与が大きい物質であったが、床ダストでは **Negative** 方向への寄与が認められた。床ダストと棚ダストで相反する影響が認められたことは、毒性学的には説明がつかず、結果の解釈には注意を要する必要がある。さらに、これらのモデルでは絶対的なダスト

中の濃度や、メカニズムとしての毒性影響を考慮していない。さらに、本研究ではダスト中 SVOC 濃度を曝露評価として使用しており、個別の摂取量を考慮していない。したがって、これらの結果のみをもってダスト中 SVOC による SHS のリスクの上昇を結論づけることはできない点にも注意が必要である。

フタル酸エステル類については、スウェーデンでは PVC の床材およびそこに含まれる DEHP (フタル酸ジ 2(エチルヘキシル)) とアレルギーとの関連が 2004 年に報告された[8, 9]。日本でもフタル酸エステル類の床ダスト中濃度が高いとアレルギーのリスクが増加し、その関連は大人よりも子どもで大きいことを報告している[10, 11]。リン酸エステルについても、ダスト中濃度、またはその尿中代謝物濃度が高いとアレルギーのリスクが上がるということが報告されている[12, 13]。フタル酸エステル類とリン酸エステルの混合曝露を検討した結果、鼻結膜炎症状とリン酸エステル TCIPP (リン酸トリス(2-クロロイソプロピル)) と TPHP(リン酸ジフェニル)曝露の相加効果が認められた[14]。なお、子どもの尿中代謝物濃度はダスト中の濃度と相関を示したことから、ダスト中 SVOC は子どもの曝露源となっている可能性が示唆された[10, 15]。アレルギー症状は SHS のハイリスク要因の一つでもあり、本研究でもアレルギー有訴者に SHS の報告が多い ( $\chi^2$ 検定  $p < 0.05$ ) SVOC と SHS との関連についてはアレルギーとの関連も含めて検討することも必要だろう。

本研究の利点は、比較的大きな対象者で、日本 6 地域でダスト中 SVOC 濃度を測定し、その混合曝露が SHS のリスクを上げる可能性を示したことである。一方、研究の限界としては横断研究であり、因果関係を示

すことはできない。

## E. 結論

本研究では、すでに収集済みのデータを用いて、築 6 年以内の戸建て住宅に居住する住人の SHS とダスト中フタル酸エステル類、リン酸トリエステル類濃度との関連を検討した。SHS の有訴は粘膜への刺激症状は 5.7%、SHS いずれか 1 つまたはそれ以上の症状は 6.5%だった。床ダストあるいは棚ダスト中の個々のフタル酸エステル類、リン酸トリエステル類濃度と SHS との関連は認められなかったが、混合曝露ではフタル酸エステル類、リン酸トリエステル類濃度 14 化合物の WQS index が IQR 増えると、SHS のリスクが増加する関連が認められた。しかし、SHS との関連に寄与する化合物は同一の化合物が床ダストと棚ダストでは相反するなど、結果の解釈には注意を要する。本研究の利点は、比較的大きな対象者数で、日本 6 地域で床ダストと棚ダスト中 SVOC 濃度を個別に測定したことである。一方、研究の限界としては横断研究であり、因果関係を示すことはできない。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

[Editorial book]

- (1) Kishi R., Norback D., Araki A., Indoor Environmental Quality and Health Risk toward Healthier Environment for All. Springer, Singapore, Nov. 2019

[Book chapters]

- (1) Reiko Kishi, Atsuko Araki. Chapter 1: Importance of Indoor Environmental Quality on Human Health toward Achievement of the SDGs. Indoor

Environmental Quality and Health Risk toward Healthier Environment for All. Springer Singapore, 2019; p3-17

- (2) Atsuko Araki, Rahel Mesfin Ketema, Yu Ait Bamai, Reiko Kishi, Chapter 7: Aldehydes, volatile organic compounds (VOCs), and health., Indoor Environmental Quality and Health Risk toward Healthier Environment for All. Springer Singapore, 2019; p129-158

[Original papers]

- (1) Araki A., Ait Bamai Y., Bastiaensen M., Van den Eede N., Kawai T., Tsuboi T., Miyashita C., Itoh S., Goudarzi H., Konno S., Covaci A., Combined exposure to phthalate esters and phosphate flame retardants and plasticizers and their associations with wheeze and allergy symptoms among school children., *Environmental Res*, 183:109212, 2020
- (2) Ait Bamai Y, Bastiaensen M, Araki A, Goudarzi H, Konno S, Ito S, Miyashita C, Yao Y, Covaci A, Kishi R, Multiple exposures to organophosphate flame retardants alter urinary oxidative stress biomarkers among children: The Hokkaido Study, *Environ Int*, 131:105003, 2019
- (3) Bastiaensen M., Ait Bamai Y., Araki A., Van den Eede N., Kawai T., Tsuboi T., Kishi R., covaci A. Biomonitoring of organophosphate flame retardants and plasticizers in children: associations with house dust and housing characteristics in Japan. *Environ Res*, 172:543-551, 2019

## 2. 学会発表

- (1) Atsuko Araki, Yu Ait Bamai, Reiko Kishi. Exposure to organophosphate esters in Japan: associations among their concentrations in house dust, urinary metabolite levels, and allergies: ISESISIAQ-2019 (Kaunas, Lithuania, 18-22 August 2019)

## G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
特になし

2. 実用新案登録  
特になし

3. その他  
特になし

## 引用文献

- (1) Kishi, R., et al., Regional differences in residential environments and the association of dwellings and residential factors with the sick house syndrome: A nationwide cross-sectional questionnaire study in Japan. *Indoor Air*, 2009. 19(3): p. 243-254.
- (2) Andersson, K., Epidemiological approach to indoor air problems. *Indoor Air*, 1998. 8(suppl 4): p. 32-39.
- (3) Kanazawa, A. and R. Kishi, Potential Risk of Indoor Semivolatile Organic Compounds Indoors to Human Health (in Japanese with English Abstract). *Japanese Journal of Hygiene*, 2009. 64(3): p. 672-682.
- (4) Kishi, R., et al., Indoor environmental pollutants and their association with

- sick house syndrome among adults and children in elementary school. *Building and Environment*, 2018. 136: p. 293-301.
- (5) Kanazawa, A., et al., Association between indoor exposure to semi-volatile organic compounds and building-related symptoms among the occupants of residential dwellings. *Indoor Air*, 2010. 20(1): p. 72-84.
- (6) Gennings, C., R. Sabo, and E. Carney, Identifying subsets of complex mixtures most associated with complex diseases: polychlorinated biphenyls and endometriosis as a case study. *Epidemiology*, 2010. 21 Suppl 4: p. S77-84.
- (7) Keil, A.P., et al., A quantile-based g-computation approach to addressing the effects of exposure mixtures. *arXiv:1902.04200 [stat.ME]*, 2019.
- (8) Bornehag, C.G., et al., Phthalates in indoor dust and their association with building characteristics. *Environmental Health Perspectives*, 2005. 113(10): p. 1399-1404.
- (9) Kolarik, B., et al., The association between phthalates in dust and allergic diseases among Bulgarian children. *Environmental Health Perspectives*, 2008. 116(1): p. 98-103.
- (10) Ait Bamai, Y., et al., Exposure to phthalates in house dust and associated allergies in children aged 6-12years. *Environ Int*, 2016. 96: p. 16-23.
- (11) Ait Bamai, Y., et al., Exposure to house dust phthalates in relation to asthma and allergies in both children and adults. *Science of The Total Environment*, 2014. 485-486(0): p. 153-163.
- (12) Araki, A., et al., Associations between allergic symptoms and phosphate flame retardants in dust and their urinary metabolites among school children. *Environ Int*, 2018. 119: p. 438-446.
- (13) Araki, A., et al., Phosphorus flame retardants in indoor dust and their relation to asthma and allergies of inhabitants. *Indoor Air*, 2014. 24(1): p. 3-15.
- (14) Araki, A., et al., Combined exposure to phthalate esters and phosphate flame retardants and plasticizers and their associations with wheeze and allergy symptoms among school children. *Environmental Research*, 2020. 183: p. 109212.
- (15) Bastiaensen, M., et al., Biomonitoring of organophosphate flame retardants and plasticizers in children: associations with house dust and housing characteristics in Japan. *Environmental Research*, 2019



表3-1-1 戸建て住宅におけるダスト中フタル酸エステル類、リン酸トリエステル類の濃度

	MDL	>MDL (%)	Min	25%	50%	75%	Max
床ダスト (n=148)							
DMP	0.50	6.1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	61.27
DEP	0.50	18.9	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.30	2.86
DIBP	0.50	100.0	0.21	1.23	2.40	5.50	261.6
DnBP	2.00	82.4	4.4	10.46	19.28	51.22	2100.00
BBzP	1.00	87.2	0.25	0.80	1.89	3.90	60.51
DEHP	1.00	100.0	98.16	424.15	758.89	1407.50	12100.00
DiNP	2.00	99.3	5.00	51.85	95.01	198.28	5820.00
DEHA	4.00	98.6	0.42	2.72	4.71	8.50	691.94
BHT	1.00	99.3	0.19	2.26	4.11	7.22	183.11
TMP	1.02	0.0	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
TEP	0.52	9.8	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	2.80
TPP	0.48	0.7	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1.13
TBP	0.72	63.0	<LOQ	<LOQ	1.03	1.84	132.75
TCiPP	1.12	97.3	<LOQ	3.83	8.69	22.25	429.50
TCEP	1.30	93.9	<LOQ	2.98	5.83	11.61	338.45
TEHP	1.34	64.2	<LOQ	0.67	2.07	4.49	51.02
TBEP	1.20	100.0	6.24	137.65	508.32	1417.50	5890.00
TDCPP	1.18	67.6	<LOQ	<LOQ	2.80	11.18	864.04
TPhP	1.60	88.5	<LOQ	2.81	4.51	7.64	245.08
TCP	8.00	6.1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	59.83
棚ダスト (n=120)							
DMP	0.50	8.3	0.25	0.25	0.25	0.25	5.19
DEP	0.50	20.8	0.3	0.3	0.3	0.30	9000
DIBP	0.50	97.5	0.1	0.95	1.83	3.47	1360
DnBP	2.00	81.7	4.4	10.34	20.57	40.76	3640
BBzP	1.00	89.2	0.25	0.86	1.66	3.83	431.00
DEHP	1.00	100.0	31.56	298.61	853.50	1862.50	10200.00
DiNP	2.00	93.3	5.0	42.99	92.26	283.74	13100.00
DEHA	4.00	95.8	0.42	2.65	5.37	8.44	1360.00
BHT	1.00	94.2	0.19	1.19	2.01	3.50	427.57
TMP	1.02	0.0	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
TEP	0.52	7.5	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	3.31
TPP	0.48	0.0	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
TBP	0.72	73.3	<LOQ	<LOQ	1.15	1.79	42.76
TCiPP	1.12	100.0	1.3	10.39	25.81	59.69	462.37
TCEP	1.30	90.8	<LOQ	4.12	8.26	17.37	2320.00
TEHP	1.34	56.7	<LOQ	<LOQ	1.47	2.50	73.06
TBEP	1.20	100.0	0.409	48.36	110.51	0.85	14100.00
TDCPP	1.18	95.0	<LOQ	4.51	10.81	24.14	593.14
TPhP	1.60	94.2	<LOQ	6.12	11.54	28.79	889.18
TCP	8.00	10.8	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	193.1

表3-1-2 床ダストまたは棚ダスト中のフタル酸エステル類およびリン酸トリエステル類濃度の相関

床ダスト	DIBP	DNBP	BBzP	DEHP	DINP	DEHA	BHT	TBP	TCIPP	TCEP	TEHP	TBOEP	TDCIPP	TPHP
DIBP	1.000	0.349**	0.141	0.388**	0.131	0.259**	-0.064	0.155	0.131	0.136	0.100	0.131	0.210*	0.162*
DNBP		1.000	0.177*	0.428**	0.195*	0.161	0.066	0.049	0.027	-0.055	0.030	0.041	0.201*	0.090
BBzP			1.000	0.347**	0.224**	0.406**	-0.124	0.185*	0.316**	0.276**	0.405**	0.311**	0.112	0.186*
DEHP				1.000	0.328**	0.424**	0.013	-0.003	0.093	0.154	0.147	0.202*	0.123	0.316**
DINP					1.000	0.254**	0.026	0.064	0.085	0.130	0.131	0.026	0.095	0.156
DEHA						1.000	-0.017	0.241**	0.124	0.171*	0.197*	0.105	0.073	0.169*
BHT							1.000	-0.067	-0.170*	-0.098	-0.145	-0.169*	-0.112	0.051
TBP								1.000	0.29**	0.494**	0.293**	0.076	0.154	0.200*
TCIPP									1.000	0.495**	0.447**	0.278**	0.273**	0.319**
TCEP										1.000	0.450**	0.285**	0.272**	0.451**
TEHP											1.000	0.733**	0.104	0.259**
TBOEP												1.000	-0.032	0.209*
TDCIPP													1.000	0.186*
TPHP														1.000

棚ダスト	DIBP	DNBP	BBzP	DEHP	DINP	DEHA	BHT	TBP	TCIPP	TCEP	TEHP	TBOEP	TDCIPP	TPHP
DIBP	1.000	0.381**	0.215*	0.337**	0.209*	0.356**	0.267**	0.137	0.127	0.223*	0.008	0.243**	0.201*	0.303**
DNBP		1.000	0.217*	0.320**	0.139	0.256**	0.154	0.128	0.097	-0.046	0.057	-0.064	0.078	0.195*
BBzP			1.000	0.334**	0.165	0.292**	0.197*	-0.047	0.117	0.017	0.047	0.228*	0.230*	0.069
DEHP				1.000	0.301**	0.490**	0.328**	-0.014	0.085	0.297**	0.193*	0.258**	0.277**	0.264**
DINP					1.000	0.351**	0.281**	0.040	0.111	0.172	0.182*	0.150	0.174	0.354**
DEHA						1.000	0.458**	0.091	0.205*	0.262**	0.205*	0.233*	0.207*	0.403**
BHT							1.000	0.172	0.250**	0.153	0.195*	0.124	0.207*	0.314**
TBP								1.000	0.282**	0.426**	0.136	0.145	0.089	0.373**
TCIPP									1.000	0.148	0.289**	0.144	0.516**	0.350**
TCEP										1.000	0.154	0.163	0.190*	0.391**
TEHP											1.000	0.413**	0.268**	0.312**
TBOEP												1.000	0.385**	0.222*
TDCIPP													1.000	0.398**
TPHP														1.000

スペアマンの  $\rho$  検定 \*P<0.05, \*\*P<0.01

表3-1-3 対象者の特徴

	全員		男性		女性		p-value <sup>1)</sup>
	N	(%)	N	(%)	N	(%)	
性別							
男性	255	48.4					
女性	272	51.6					
年齢グループ							
0-14	129	24.5	65	25.5	64	23.5	0.514
15-29	63	12.0	34	13.3	29	10.7	
30-44	144	27.3	61	23.9	83	30.5	
45-59	106	20.1	52	20.4	54	19.9	
60+	85	16.1	43	16.9	42	15.4	
喫煙状況							
喫煙者	51	9.7	40	15.7	11	4.0	<0.001
非喫煙者、家で受動喫煙あり	79	15.0	26	10.2	53	19.5	
非喫煙者、家で受動喫煙なし	397	75.3	189	74.1	208	76.5	
アレルギー有病	148	28.7	72	28.7	76	28.7	1.000
症状 (MM040EA)							
毎週の症状							
一般症状	87	16.5	44	17.3	43	15.8	0.725
粘膜への刺激症状	108	20.5	45	17.6	63	23.2	0.131
皮膚刺激症状	47	8.9	18	7.1	29	10.7	0.170
自宅と関係する症状 (SHS)							
SHS 一般症状	6	1.1	2	0.8	4	1.5	0.687
SHS 粘膜への刺激症状	30	5.7	14	5.5	16	5.9	0.854
SHS 皮膚刺激症状	7	1.3	4	1.6	3	1.1	0.717
SHS いずれか 1 つまたはそれ以上の症状	34	6.5	16	6.7	18	6.6	1.000

<sup>1)</sup>  $\chi^2$  検定

表3-1-4 SHSいずれか1つまたはそれ以上の症状の有無と対象者および住宅特徴

要因	カテゴリ	n=527	SHS (%)	p-value <sup>1)</sup>
<b>個人特徴</b>				
性	男性	255	6.6	1.000
	女性	272	6.3	
年齢グループ	0-14	129	10.1	0.203
	15-29	63	7.9	
	30-44	144	6.3	
	45-59	106	4.7	
	60+	85	2.4	
	喫煙	喫煙者	51	
	非喫煙者、受動喫煙あり	79	5.1	
	非喫煙者、受動喫煙なし	397	5.8	
アルコールの摂取	≥1回/週	185	5.9	0.848
	<1回/週	288	6.6	
家で過ごす時間	≥17h時間	183	5.5	0.579
	<17h17h時間	340	7.1	
ストレスレベル	高い		<b>10.4</b>	<b>0.019</b>
	中程度、低い		<b>4.4</b>	
アレルギー有病	あり		14.9	<b>&lt;0.001</b>
	なし		3.3	
<b>住宅特徴</b>				
自宅構造	木造	431	6.3	0.816
	その他	91	6.6	
窓を開ける時間	30分以内	255	<b>9.0</b>	<b>0.046</b>
	1時間以上	327	<b>4.3</b>	
築年	3-5年	446	6.1	0.612
	6-8年	78	7.7	
1年以内の改築	あり	23	17.4	0.053
	なし	504	6	
絨毯のしきつめ	あり	20	20	0.330
	なし	507	5.9	
毛のあるペット	あり	178	6.7	1.000
	なし	344	5.4	
機械換気の使用	いつも/時々/たまに	200	7	0.856
	使用しない/機会換気がない	314	6.4	
		SHS あり/なし (mean±SD)		p-value <sup>2)</sup>
ダンプネス指数		1.99±1.13/2.06±1.01		0.715
室温 (°C)		<b>21.7±2.8/20.6±2.6</b>		<b>0.036</b>
相対湿度(%)		54.1±9.2/50.9±9.6		0.055

1)  $\chi^2$ 検定、および2) t検定でP値を求めた

表3-1-5 ダスト中フタル酸エステル類、リン酸トリエステル類とSHSとの関連

	SHS 粘膜への刺激症状			SHS いずれか1つまたはそれ以上の症状				
	OR	(95%CI)	p	OR	(95%CI)	p		
<b>床ダスト (n=503)</b>								
DIBP	1.004	0.691	1.459	0.983	0.924	0.646	1.320	0.663
DNBP	0.921	0.714	1.187	0.523	0.876	0.683	1.123	0.297
BBzP	1.134	0.828	1.552	0.434	1.128	0.841	1.514	0.420
DEHP	1.233	0.828	1.837	0.302	1.178	0.809	1.716	0.392
DINP	1.134	0.810	1.589	0.464	1.098	0.799	1.510	0.564
DEHA	0.973	0.696	1.361	0.873	1.018	0.750	1.382	0.908
BHT	0.677	0.446	1.028	0.067	0.700	0.474	1.036	0.074
TBP	1.166	0.853	1.595	0.336	1.176	0.882	1.568	0.269
TCiPP	0.918	0.669	1.260	0.597	0.984	0.738	1.313	0.915
TCEP	1.151	0.821	1.614	0.414	1.160	0.851	1.582	0.348
TEHP	1.196	0.815	1.755	0.361	1.257	0.878	1.801	0.212
TBEP	1.089	0.819	1.448	0.558	1.075	0.827	1.398	0.588
TDCPP	1.097	0.881	1.366	0.408	1.063	0.864	1.309	0.562
TPhP	0.824	0.550	1.235	0.349	0.913	0.631	1.320	0.627
<b>棚ダスト (n=400)</b>								
DIBP	0.864	0.613	1.217	0.402	0.860	0.623	1.185	0.356
DNBP	0.883	0.645	1.207	0.434	0.875	0.651	1.176	0.375
BBzP	0.885	0.649	1.206	0.438	0.871	0.648	1.169	0.358
DEHP	0.877	0.628	1.224	0.440	0.896	0.657	1.223	0.491
DINP	1.107	0.855	1.433	0.442	1.040	0.817	1.323	0.753
DEHA	0.795	0.572	1.106	0.173	0.822	0.608	1.110	0.201
BHT	0.909	0.603	1.370	0.649	0.959	0.659	1.393	0.824
TBP	1.057	0.680	1.644	0.804	1.232	0.837	1.812	0.291
TCiPP	1.097	0.788	1.527	0.583	1.156	0.848	1.574	0.359
TCEP	1.217	0.948	1.564	0.124	1.232	0.977	1.554	0.077
TEHP	1.162	0.761	1.774	0.488	1.225	0.830	1.806	0.306
TBEP	1.125	0.826	1.534	0.455	1.142	0.859	1.520	0.361
TDCPP	1.215	0.886	1.665	0.227	1.147	0.856	1.536	0.359
TPhP	1.005	0.742	1.362	0.973	1.011	0.761	1.343	0.941

ロジスティック回帰分析で OR (95%信頼区間)を計算  
 それぞれの化合物は自然対数変換の後、個別にモデルに投入した。  
 性・年齢(カテゴリカル)・喫煙状況(カテゴリカル)で調整

表3-1-6 ダスト中フタル酸エステル類とリン酸トリエステル類の混合曝露とSHSとの関連

	OR	95%CI	p-value	Sum of positive coefficients	Sum of negative coefficient
SHS 粘膜への刺激症状					
床ダスト					
WQS index					
<b>positive model</b>	<b>2.92</b>	1.29	6.59	<b>0.010</b>	
negative model	0.77	0.39	1.49	0.435	
qg-computation	1.42	0.65	3.13	0.383	2.45
棚ダスト					
WQS index					
<b>positive model</b>	<b>2.72</b>	<b>1.22</b>	<b>6.07</b>	<b>0.015</b>	
negative model	0.77	-0.60	2.15	0.418	
qg-computation	1.77	0.86	3.68	0.123	1.94
SHS いずれか 1 つまたはそれ以上の症状					
床ダスト					
WQS index					
<b>positive model</b>	<b>2.69</b>	<b>1.31</b>	<b>5.54</b>	<b>0.007</b>	
negative model	0.81	0.42	1.55	0.531	
qg-computation	1.42	0.65	3.13	0.383	2.13
棚ダスト					
WQS index					
<b>positive model</b>	<b>3.06</b>	<b>1.50</b>	<b>6.28</b>	<b>0.002</b>	
negative model	0.82	0.46	1.46	0.498	
<b>qg-computation</b>	<b>1.94</b>	<b>1.06</b>	<b>3.56</b>	<b>0.033</b>	1.92

Weighted Quintile Sum indexがIQR上がったときのOR(95%CI)、性別、年齢グループ、喫煙状況で調整

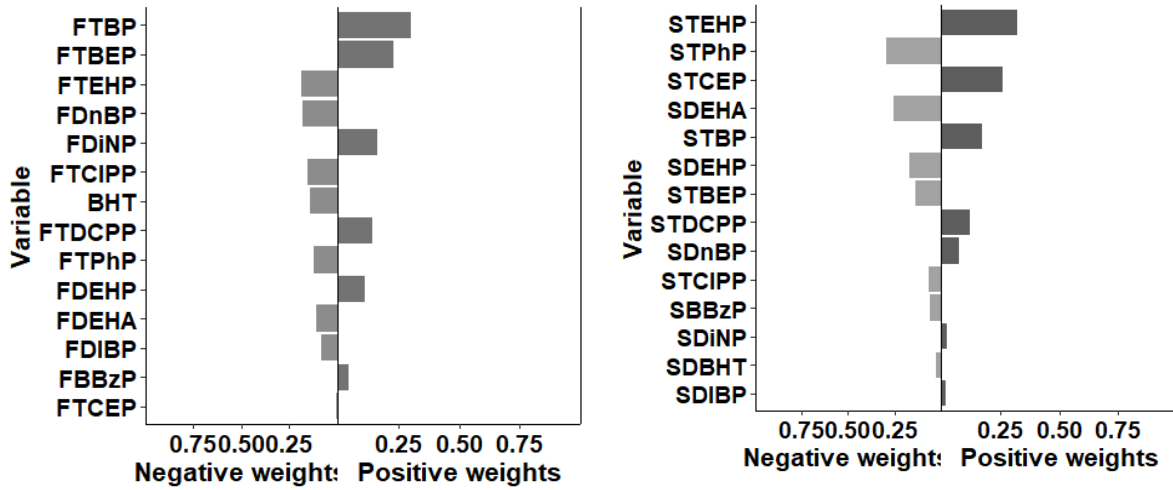


Figure 3-1-1. SHS粘膜への刺激症状と混合曝露との関連における各物質の寄与 (Weight)  
左：床ダスト、右：棚ダスト

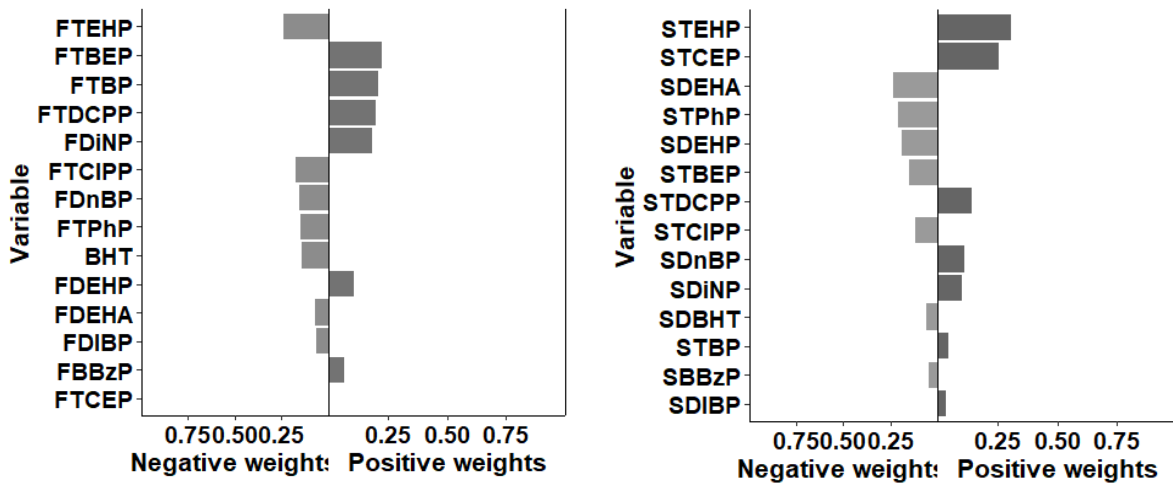


Figure 3-1-2. SHSいずれか1つまたはそれ以上の症状と混合曝露との関連における各物質の寄与 (Weight)  
左：床ダスト、右：棚ダスト





## 3-2 尿中フタル酸エステル類代謝物分析

### A. 研究目的

フタル酸エステル類は可塑剤として、プラスチック製品、食品容器、ポリ塩化ビニル (PVC) 製品、さらに化粧品や薬品にも使用される合成化学物質である。1990年代後半より、フタル酸エステルの内分泌かく乱作用やアレルギーのアジュバント作用による児の健康への影響が懸念されている。生物学的半減期は比較的短い、継続的に曝露され続けていることが問題である。可塑剤工業会の報告によると、日本の全可塑剤のうち、78%をフタル酸エステルが占め、そのうち 47%が DEHP(di-2ethylhexyl phthalate)、26%が DiNP である (可塑剤工業,2014)。しかし、2017年には、全可塑剤の 82%をフタル酸エステルが占め、そのうち 42%が DEHP、そして 35%が DiNP (可塑剤工業,2017) であり、可塑剤としてのフタル酸エステル類の使用が DEHP から DiNP へとシフトしている。

研究分担者らは、これまでに高速液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析装置 (以下 HPLC-ESI-MS/MS, Waters, USA) を用いたフタル酸エステル類の尿中代謝物 10 化合物濃度の一斉分析法を確立しており、「環境と子供の健康に関する北海道研究 (以下、北海道スタディ)」の 7 歳児より回収した尿を用い、上述の尿中代謝物濃度の一斉分析を進めてきた。しかし、分析を進める中で、従来行ってきた DiNP の代謝物の定量法が、欧州のバイオモニタリング (HBM4EU) で標準化されている定量法と異なることが判明した。DiNP は、DiNP-1, DiNP-2, DiNP-3 の異性体の混合物として製造されている (European Commission, 2003)。

HBM4EU では、DiNP 代謝物を混合物として評価する定量法を用いているが、北海道スタディでは、DiNP の一異性体の代謝物として、Mono methyloctyl phthalate、Mono (4-methyl-7-hydroxyoctyl) phthalate、Mono (4-methyl-7-carboxyheptyl) phthalate のみを定量してきた。

そこで、本研究では、7 歳児の尿中フタル酸エステル類の曝露実態を把握する目的に加え、DiNP 代謝物濃度の測定において、研究遂行上、DiNP の再定量を実施することが不可欠であるかどうかを検討することとした。その結果、再定量が不可欠であることが判明したため、DiNP の測定データについて、再定量を実施した結果についても併せて報告する。

### B. 研究方法

#### 対象

北海道スタディの 7 歳になる児のうち、2011-2013 年度に実施した自宅のハウスダスト、児の尿の回収の訪問調査へ協力および同意が得られ、日程調整ができ訪問調査が実施できた 96 名。

#### 分析対象化合物

本研究で対象としたフタル酸エステル類を表 3-2-1 に示す。

#### 試薬

本業務で用いた試薬類について以下に示す。

Monobutyl phthalate : Cambridge isotope laboratories (CIL)社製

Mono iso butyl phthalate : CIL 社製

Monobenzyl phthalate : 林純薬社製

Mono (2-ethylhexyl) phthalate : 林純薬社製

Mono  
(2-ethyl-5-hydroxyhexyl)phthalate : CIL  
社製

Mono  
(2-ethyl-5-carboxypentyl)phthalate :  
CIL 社製

Mono  
(4-methyl-7-carboxyheptyl)phthalate :  
IDM 社製

Mono-(2-ethyl-5-oxohexyl) phthalate :  
CIL 社製

Mono-iso-nonyl phthalate : CIL 社製

Mono-(4-methyl-7-hydroxyloctyl)  
phthalate : IDM 社製

Monobutyl phthalate-d4 : 林純薬社製

Mono iso butyl phthalate-d4 : Toronto  
Research Chemicals 社製

Monobenzyl phthalate-<sup>13</sup>C<sub>4</sub> : CIL 社製

Mono (2-ethylhexyl) phthalate-d4 : 林純  
薬社製

Mono (2-ethyl-5-hydroxyhexyl)  
phthalate-<sup>13</sup>C<sub>4</sub> : CIL 社製

Mono  
(2-ethyl-5-carboxypentyl)phthalate-<sup>13</sup>  
C<sub>4</sub> : CIL 社製

Mono  
(4-methyl-7-carboxyheptyl)phthalate-d4  
: IDM 社製

Mono-(2-ethyl-5-oxohexyl)phthalate-<sup>13</sup>C<sub>4</sub> : CIL 社製

Mono-iso-nonyl phthalate-<sup>13</sup>C<sub>4</sub> : CIL 社  
製

Mono-(4-methyl-7-hydroxyloctyl)  
phthalate : IDM 社製

## 分析方法

### 検量線の作成

各標準原液をメタノールにより適宜希釈し、1 $\mu$ g/mL とした混合標準溶液を 1 % ぎ

酸含有メタノール水溶液で適宜希釈し、0.01~20ng/mL 調製し、各濃度の標準溶液には、混合サロゲート溶液 (MBzP-d4, MEHP-d4, MEOHP-13C4, MEHHP-13C4, MECP-13C4, MiNP-13C4, OH-MiNP-d4, : 1000 ng/mL ; cx-MiNP-d4 : 500 ng/mL ; MnBP-d4, MiBP-d4 : 2000 ng/mL) の 10 倍希釈液を添加し、サロゲート物質のみを添加した 0ng/mL を含め、6 種類以上の検量線用標準溶液を作成した。

### 尿中フタル酸モノエステル類の前処理方法

尿試料 500 $\mu$ L をマイクロピペットで正確に量り取り、プラスチックチューブに移した後、混合サロゲート溶液 20 $\mu$ L を加える。これに 100mM 酢酸アンモニウム水溶液 (pH 6.5) 500  $\mu$ L、1/10-グルクロニダーゼ溶液 50 $\mu$ L を加えた後、軽く混合し、インキュベートする (37 $^{\circ}$ C、90 min)。

インキュベート後の試料液に 100mM 酢酸アンモニウム緩衝液 (pH 8.0) 1 mL を加え、0.05%硝酸含有 90%メタノール 1 mL、メタノール 1 mL、超純水 1 mL でコンディショニングしておいた Oasis MAX 96 well plate に全量負荷する。試料の入っていたチューブを超純水 0.5 mL で洗いこんだ後、メタノール 0.5 mL、超純水 0.5 mL、0.2%ぎ酸含有 40%メタノール 0.5 mL で洗浄し、0.2%ぎ酸含有 90%メタノール水溶液 1.0 mL でコレクションプレート内に溶出する。溶出液をマイクロピペットで 250 $\mu$ L 分取し、超純水 750 $\mu$ L と測定バイアル内で混合したものを測定用試料液とし、LC/MS/MS で測定する。



RV64-B(高濃度サンプル)のうち、MnBPは許容範囲より僅かに低く、MECPPは僅かに高かった。その他の化合物については低濃度サンプル、高濃度サンプルともに許容範囲内として本分析法の妥当性が検証された。

## DiNP 再定量

再定量の必要性の検討

「European Union Risk Assessment Report-DINP」より、DiNPの異性体についての情報収集を行った結果、DiNPはC<sub>26</sub>H<sub>42</sub>O<sub>4</sub>の化学式で9個の炭素の分岐鎖を持つ合成化学物質である。DiNPは主に、3つの異性体、DiNP-1 (CAS no.: 68515-48-0)、DiNP-2 (CAS no.: 28553-12-0)、DiNP-3 (CAS no.: 28553-12-0) からなり、また基質として、DiNP-1はpolygas基質、DiNP-2はn-buten、DiNP-3はn- または iso-buten基質で合成されている。主にBASF, Huls, Exxon、他が製造していることが知られているが、製造業者によりその製造過程および異性体含有率が異なる(表3-2-7、3-2-8)。DiNP-3は1995年以降世界的にも製造されておらず、現在製造されているのはDiNP-1とDiNP-2の混合物である(European Commission, 2003)。しかし、家具や内装材など、1995年以降に製造され現在も使用している日用品にはDiNP-3も含まれていることが考えらる。

ヒトはある一種の異性体のみのDiNPを曝露しているのではなく、数種の異性体の混合物としてDiNPを曝露し、水酸化、カルボキシ化体へと代謝され尿中へと排泄される(図3-2-2)。したがって、本研究においても数種のDiNP異性体を含めた曝露評価が必要であることが示唆された。

再定量法および再定量の制度管理の検討  
フタル酸エステル類の分析を世界でも先駆的に実施しているドイツの研究機関より報告されている学術論文(Koch et al., 2007)より情報収集を行った。その結果、研究用として一般に用いられているDiNP代謝物の標準品は、我々がこれまでに使用してきた一異性体であること、DiNP混合物として他異性体も含めた定量を行うためには、内標準物質(IS: internal standard)が示すピークだけではなく、その隣接ピークも併せて定量する必要があることが明らかとなった(図3-2-3)。通常は、ISを指標として目的化合物のピークを定量するが、現時点で他異性体のISは市販されておらず、本分析法においても1種類の異性体についてのみ合成した標準品を使用している。したがって、既存のISを指標として隣接ピークも含めピークをアサインする必要があるが、具体的にどこからどこまでのピークをアサインすべきか明確ではない。このため、本研究では各DiNP代謝物の定量をある程度標準化するため、各DiNP代謝物について確認イオンを1つずつ増やし(定量イオン1種、確認イオン2種: 表3-2-4、図3-2-4参照)、俯瞰的に観察した定量イオンと2種類の確認イオンの形状からピークをアサインすることとした。さらに、各尿サンプルの定量イオンと確認イオンのエリア比の変動係数(RSD)が0.2以下であること、また、尿サンプルの定量イオンと確認イオンの比の検量線サンプルのイオンのエリア比からの乖離が±30%以内であることを確認することとした。

## 再定量の結果

再定量を実施する前と再定量後の

DiNP 代謝物のクロマトグラフの例を図 3-2-5 に示す。内標準物質のピークが指す範囲のみアサインした再定量前と比較し、内標準物質のピークを含み、さらに 2 種類の確認イオンから判断した隣接するピークも含んでアサインした定量後の検出率および中央値濃度は、MiNP で検出率 18.1%から 94.6%、OH-MiNP で 33.6%から 93.1%、cx-MiNP は 75.8%から 96.9%、中央値濃度は MiNP で 0.1ng/mL から 0.6 ng/mL、OH-MiNP で 0.1 ng/mL から 3.0 ng/mL、cx-MiNP は 1.6 ng/mL から 2.0 ng/mL いずれも大きく増加した(表 3-2-9)。

再定量を実施した検体について、定量イオン(Q1)と確認イオン(Q2)のエリア比(Q1/Q2)の分析バッチごとの RSD、および検量線サンプルうち定量可能濃度の Q1/Q2 からの尿試料の Q1/Q2 の乖離%を求めた。分析バッチごとの RSD と乖離%を表 3-2-10 に示す。

測定バッチの各化合物 RSD の範囲は 0.03-0.24 であり、殆どの化合物において 0.2 以内であった。RSD が 0.2 を大幅に超えた化合物や乖離率が 30%以上となったサンプルに関しては、測定データに戻り、クロマトグラフを確認し、適宜修正した。

#### D. 考察

本研究では、北海道スタディ 7 歳児の尿中フタル酸エステル類の曝露実態を明らかにした。児の BBzP の尿中代謝物 MBzP 濃度は諸外国の先行研究の報告値よりも低かった。我々は過去にハウスダスト中のフタル酸エステル類濃度を測定した結果、ハウスダスト中の BBzP 濃度はスウェーデン、デンマーク、アメリカなど欧米の濃度よりも低いことを報告した

(Ait Bamai et al., 2013)。児の尿中 BBzP 代謝物濃度も低いことから、日本の BBzP の環境中濃度は欧米より低い可能性が示唆される。

今回参加したラウンドロービン試験 G-EQUAS の結果、高濃度サンプルの MnBP および MECPP が許容濃度範囲を僅かに超えた(ボーダーライン上)。今後、この 2 化合物に関しては、定量結果を見直し、再度濃度を算出し範囲内に収まるか確認する必要がある。さらに、ラウンドロービンで配布されたサンプルの残余尿を用い、各バッチの前処理および分析を通して、各化合物の分析結果が範囲内に収まるよう毎回確認する。

DiNP 代謝物の再定量の必要性について検討した結果、複数の異性体を含んだ定量法を採用することとした。その理由としては、①DiNP は複数の異性体の混合物であり、それぞれの異性体ごとにモノ体、カルボキシ体、オキシ体、水酸化体へと代謝されることから、複数の異性体を含んだ定量法を採用する方が DiNP の曝露評価として適しているであろうこと、さらに、②フタル酸エステル類尿中代謝物の曝露評価を先駆的に実施しているヨーロッパのバイオモニタリング HBM4EU の定量法と同じ定量法を採用することで多くの分析結果との比較が可能となることとがあげられる。

DiNP 代謝物の再定量の結果、いずれの代謝物も検出率、中央値濃度ともに増加した。これまでは cx-MiNP 以外の MiNP および OH-MiNP は検出率が 50%に満たず健康影響との関連を検討することができなかったが、再定量後はいずれも検出率が 90%以上であり、統計解析に用い様々な健康アウトカムとの関連について検討す

ることが可能となった。

DiNP 代謝物の複数の異性体を含む定量の際、問題となるのは定量するピークの決定である。これまで我々が実施してきた定量法では、1 つの異性体のモノ体 ( Mono-iso-nonyl phthalate)、水酸化体 ( Mono-(4-methyl-7-hydroxyloctyl) phthalate)、カルボキシ体 ( Mono (4-methyl-7-carboxyheptyl)phthalate) をそれぞれのラベル体を指標とし定量していた。しかし、これ以外の異性体の標準試薬は現在のところ市販されていない。それぞれの標準試薬は化学合成には多くのコストがかかり非現実である。異性体は立体的な構造は異なるが、分子量は同じである。そのため、確認イオンを増やし、定量イオンと 2 つの確認イオンで共通に認められる複数のピークを定量することとした。定量する time window を代謝物ごとに定め、また、定量イオン/確認イオンの面積比を求め、それぞれサンプルごとおよび分析バッチごとの RSD を 0.2 以内と定め、大きなズレが認められた際には分析データを確認し、必要であれば修正したものを最終結果とすることで精度管理を行なった。最終的に、今回実施した再定量がサンプル間、バッチ間で統一していることが確認できた。現在のところ、世界的にも DiNP 代謝物はラウンドロービン試験に含まれていないため、我々の分析結果の妥当性を検証することはできないが、可能であれば、DiNP 代謝物の曝露評価を実施している他機関と協力し、同一尿サンプルを用いた DiNP 代謝物の分析結果を比較することである程度の分析精度が検証可能であると考えられる。将来的に DiNP 代謝物がラウンドロービン試験に加わった際には、試験に参加し本研究の分析法の妥当性を検証

する必要がある。

## E. 結論

本研究では、北海道スタディ 7 歳児の尿中フタル酸エステル類の曝露実態を検討し、特に児の BBzP の尿中代謝物 MBzP 濃度は諸外国の先行研究の報告値よりも低いことを明らかにした。また、ラウンドロービン試験 G-EQUAS に参加し、対象 7 化合物について分析法の妥当性が確認できた。DiNP 代謝物の再定量の必要性について検討した結果、再定量が必要であると判断した。再定量後、3 代謝物すべてについて検出率および中央値濃度が増加し、健康影響との関連について統計解析に用いることが可能となった。再定量の精度管理を実施し、サンプル間、バッチ間で大きなズレないことが確認できた。今後は、他機関と協力した DiNP 代謝物分析精度の検証や、将来的に DiNP 代謝物がラウンドロービン試験に加わった際には、試験に参加し本研究の分析法の妥当性を検証する必要がある。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

[Editorial book]

1. Kishi R., Norback D., Araki A.,  
Indoor Environmental Quality and Health Risk toward Healthier Environment for All. Springer, Singapore, Nov. 2019

[Book chapters]

1. Yu Ait Bamai. Chapter 9: Semi-Volatile Organic Compounds (SVOCs): Phthalates and Phosphorous Frame Retardants and Health Risks. Indoor Environmental Quality

and Health Risk toward Healthier Environment for All. Springer Singapore, 2019; p159-178

2. Atsuko Araki, Rahel Mesfin Ketema, Yu Ait Bamai, Reiko Kishi, Chapter 7: Aldehydes, volatile organic compounds (VOCs), and health., Indoor Environmental Quality and Health Risk toward Healthier Environment for All. Springer Singapore, 2019; p129-158

[Original papers]

1. Araki A., Ait Bamai Y., Bastiaensen M., Van den Eede N., Kawai T., Tsuboi T., Miyashita C., Itoh S., Goudarzi H., Konno S., Covaci A., Combined exposure to phthalate esters and phosphate flame retardants and plasticizers and their associations with wheeze and allergy symptoms among school children., *Environmental Res*, 183:109212, 2020
2. Ait Bamai Y, Bastiaensen M, Araki A, Goudarzi H, Konno S, Ito S, Miyashita C, Yao Y, Covaci A, Kishi R, Multiple exposures to organophosphate flame retardants alter urinary oxidative stress biomarkers among children: The Hokkaido Study, *Environ Int*, 131:105003, 2019
3. Bastiaensen M., Ait Bamai Y., Araki A., Van den Eede N., Kawai T., Tsuboi T., Kishi R., covaci A. Biomonitoring of organophosphate flame retardants and plasticizers in children: associations with house dust and housing characteristics in Japan. *Environ Res*, 172:543-551, 2019

## 2. 学会発表

1. Atsuko Araki, Yu Ait Bamai, Reiko Kishi. Exposure to organophosphate esters in Japan: associations among their concentrations in house dust, urinary metabolite levels, and allergies: ISESISIAQ-2019 (Kaunas, Lithuania, 18-22 August 2019)
2. Ketema Rahel Mesfin, Yu Ait Bamai, Atsuko Araki, Satoshi Saito, Reiko Kishi; Urinary phthalate metabolites concentration and temporal trends in 7 years old children, 2012-2017: Hokkaido Study: ISEEISES-AC 2019 (South Korea, Deagu, 16-19 October, 2019)

## G. 知的所有権の取得状況

### 1. 特許取得

特になし

### 2. 実用新案登録

特になし

### 3. その他

特になし

## 引用文献

1. Ait Bamai Y, Araki A, Kawai T, Tsuboi T, Saito I, Yoshioka E, et al. 2013. Associations of phthalate concentrations in floor dust and multi-surface dust with the interior materials in Japanese dwellings. *Sci Total Environ* 468-469C:147-157.
2. European Commission E. 2003. European union risk assessment report. di-“isononyl” phthalate (dinp) Institute for Health and Consumer Protection. European

- Chemicals Bureau.
3. Koch HM, Muller J, Angerer J. 2007. Determination of secondary, oxidised di-iso-nonylphthalate (dinp) metabolites in human urine representative for the exposure to commercial dinp plasticizers. *Journal of chromatography B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences* 847:114-125.
  4. 塩ビ工業・環境協会. 2014. 可塑剤の生産量に占めるフタル酸系の割合. Available:  
[http://www.vec.gr.jp/anzen/anzen2\\_2.html](http://www.vec.gr.jp/anzen/anzen2_2.html) [accessed 19.Aug 2014]
  5. 塩ビ工業・環境協会. 2017. 可塑剤出荷量推移（暦年）. Available:  
[http://www.vec.gr.jp/lib/lib2\\_6.html#cc](http://www.vec.gr.jp/lib/lib2_6.html#cc) [accessed 19. Aug 2014].



表3-2-1 分析対象化合物

親化合物		代謝物	
DiBP	Di iso butyl phthalate	MiBP	Mono iso butyl phthalate
DnBP	Dibutyl phthalate	MnBP	Monobutyl phthalate
BBzP	Butylbenzyl phthalate	MBzP	Monobenzyl phthalate
DEHP	Di (2-ethylhexyl) phthalate	MEHP	Mono (2-ethylhexyl) phthalate
		MEHHP	Mono (2-ethyl-5-hydroxyhexyl) phthalate
		MEOHP	Mono(2-ethyl-5-oxohexyl) phthalate
		MECPP	Mono (2-ethyl-5-carboxypentyl) phthalate
DiNP	Di-iso-nonyl phthalate	MiNP	Mono-iso-nonyl phthalate
		OH-MiNP	Mono (4-methyl-7-hydroxyoctyl) phthalate
		cx-MiNP	Mono (4-methyl-7-carboxyheptyl) phthalate

表3-2-2 分析条件

測定機種	LC: ACQUITY UPLC H-Class Quarternary Solvent Manager (QSM)
	MS: Xevo TQ-S micro
カラム	分析カラム CSH Phenyl Hexyl (2.1×50 mm,1.7 mm)
	ガードカラム CSH Phenyl Hexyl (2.1×5 mm,1.7 mm)
	RTGカラム Atlantis T3 (2.1×50 mm, 3mm)
移動相	A: 5mM 酢酸アンモニウム含有水溶液
	B: 5mM 酢酸アンモニウム含有 90%メタノール水溶液
カラム温度	40℃
流速	0.25 mL/min
試料注入量	40uL
測定モード	ESI-negative

表3-2-3 グラジエント条件

Time (mins)	Flow (mL/min)	%A	%B
Initial	0.25	90	10
0.5	0.25	90	10
1	0.25	70	30
10	0.25	65	35
11	0.25	55	45
15	0.25	52.5	47.5
15.1	0.25	35	65
23	0.25	25	75
23.1	0.25	90	10
30	0.25	90	10

A: 5 mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> in waterB: 5 mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> in 95% methanol

表3-2-4 モニターイオン

	Quantification Ion	Confirmation Ion 1	Confirmation Ion 2	Quantification Ion		Confirmation Ion	
	Precursor/Product	Precursor/Product	Precursor/Product	Cone (V)	Collision (eV)	Cone (V)	Collision (eV)
<i>Native Compounds</i>							
MiBP	220.82 > 76.93	220.82 > 133.98		15	19	15	12
MnBP	220.82 > 76.93	220.82 > 76.93		10	17	10	14
MBzP	254.79 > 76.86	254.79 > 104.42		10	21	10	15
MEHP	277.05 > 133.91	277.05 > 126.95		9	14	9	18
MEOHP	290.98 > 143.03	290.98 > 120.89		18	12	18	16
MEHHP	292.93 > 145.03	292.93 > 120.88		10	13	10	18
MECPP	306.98 > 158.98	306.98 > 112.87		9	11	9	29
MiNP	291.15 > 141.07	291.15 > 76.99		18	17	18	25
OH-MiNP	307.27 > 120.95	307.27 > 159.10	307.27 > 76.99	18	18	18	16
cx-MiNP	321.00 > 173.04	321.00 > 120.95	321.00 > 76.93	15	16	15	25
<i>Labeled internal standards</i>							
MiBP-d <sub>4</sub>	224.82 > 80.96	224.82 > 138.00		15	19	15	12
MnBP- <sup>13</sup> C <sub>4</sub>	224.76 > 71.00	224.76 > 78.95		10	17	10	14
MBzP- <sup>13</sup> C <sub>4</sub>	258.84 > 106.95	258.41 > 76.41		10	21	10	15
MEHP- <sup>13</sup> C <sub>4</sub>	281.09 > 136.91	281.09 > 127.20		9	14	9	15
MEOHP- <sup>13</sup> C <sub>4</sub>	294.84 > 143.02	294.84 > 123.88		18	12	18	16
MEHHP- <sup>13</sup> C <sub>4</sub>	296.73 > 123.88	296.73 > 145.04		10	13	10	18
MECPP- <sup>13</sup> C <sub>4</sub>	310.97 > 159.04	310.97 > 113.01		9	11	9	29
MiNP- <sup>13</sup> C <sub>4</sub>	294.70 > 141.13	294.70 > 78.95		18	17	18	25
OH-MiNP-d <sub>4</sub>	311.21 > 124.98	311.21 > 159.09		18	18	18	16
cx-MiNP-d <sub>4</sub>	325.06 > 173.09	325.06 > 124.98		15	16	15	25

表3-2-5 7歳児のフタル酸エステル類尿中代謝物濃度 (ng/mL)

	LOQ	DF (%)	25th%	Median	75th%	Max
MiBP	0.95	91.4	6.8	11.8	24.2	233
MnBP	0.78	100	26.8	39.8	63.9	1456
MBzP	0.1	56.4	<LOQ	1.6	4.3	410
MEHP	1.5	96.5	2.4	4.2	7	25.9
MEOHP	0.05	100	14	22.8	32.7	126
MEHHP	0.15	100	19.6	31.2	44.1	177
MECPP	0.12	100	25.5	41.5	64.3	192
MiNP	0.09	94.6	0.38	0.6	1.0	7.73
OH-MiNP	0.05	93.1	1.58	2.97	5.98	64.1
cx-MiNP	0.11	96.9	1.18	1.99	3.58	25

LOQ: limit of quantification

表3-2-6 G-EQUAS試験の結果

			MiBP	MnBP	MBzP	MEHP	MEOHP	MEHHP	MECPP
RV63 9A	Ref. value	Ref. conc	13.8	7.3	1.5	1.25	2.9	3.75	4.61
(Low conc. ng/mL)		Tolerance range	10.5 - 17.1	5.2 - 9.4	0.9 - 2.1	0.83 - 1.67	2.24 - 3.56	2.91 - 4.59	3.05 - 6.17
		Measured value	13.5	6.11	1.36	1.07	2.62	3.4	4.12
RV63 9B	Ref. value	Ref. conc	46.9	20.5	7.8	6.45	26.43	34.93	34.77
(High conc. ng/mL)		Tolerance range	46.3 - 47.4	19.4 - 21.1	6.1 - 6.6	6.31 - 6.55	25.61 - 26.77	33.97 - 35.34	34.04 - 35.27
		Measured value	49.3	27.8	8.6	8.11	25.5	32.96	27.74
RV64 9A	Ref. value	Ref. conc	8.6	14.1	1.3	3.42	11.88	17.51	16.04
(Low conc. ng/mL)		Tolerance range	6.2 - 11.0	9.3 - 18.9	0.7 - 1.9	2.31 - 4.53	9.27 - 14.49	12.56 - 22.46	10.76 - 21.32
		Measured value	8.6	9.4	1.0	2.8	13	18.9	20.8
RV64 9B	Ref. value	Ref. conc	75.9	42.2	3.6	11.8	29.4	39.81	37.55
(High conc. ng/mL)		Tolerance range	60.3 - 91.5	29.3 - 55.1	2.7 - 4.5	8.68 - 14.92	23.49 - 35.31	30.03 - 49.59	26.51 - 48.59
		Measured value	81.8	28.3	3.4	9.2	32.3	43.4	48.7

G-EQUAS: The German External Quality Assessment Scheme

表3-2-7 DiNP の異なる炭素構造 (イソノニルアルコール異性体 : DiNP-1, DiNP-2) と

その含有率 (%)

	INA type 2			INA type 1
	Hellwig and Jackh [27]	Otter [28]	ECPI [29]	ECPI [29]
3-Ethyl-4-methylhexanol-1	1	n.s.	5-10 <sup>a</sup>	5-10 <sup>a</sup>
4,5-Dimethylheptanol-1	23	n.s.	40-45 <sup>b</sup>	45-55 <sup>b</sup>
2,5-Dimethylheptanol-1	n.s.	12		
2-Methyloctanol-1	n.s.	6	35-40 <sup>c</sup>	5-20 <sup>c</sup>
4-Methyloctanol-1	29	<20		
6-Methyloctanol-1	15	<20		
3-Ethylheptanol-1	3	8	n.s.	n.s.
<i>n</i> -Nonanol-1	n.s.	<10	0-10	0-1
Isodecanol	0	0	0	15-25

n.s., Not specified.

<sup>a</sup> Sum of methyl ethyl hexanols.

<sup>b</sup> Sum of dimethyl heptanols.

<sup>c</sup> Sum of methyl octanols.

Koch et al., 2007 より抜粋

表3-2-8 DiNP異性体の種類と製造業者

Producer	DINP 1	DINP 2	DINP 3
	Polygas based	<i>n</i> -Butene based	<i>n</i> - and iso- Butene based
	68515-48-0	28553-12-0	28553-12-0
BASF	No production	Palatinal N	Palatinal DN (Palatinal DINP) <sup>1)</sup> Production stopped in 1995
Hüls	No production	Vestinol 9	Vestinol N Production stopped in 1986
Exxon	Jayflex DINP <sup>2)</sup>	Jayflex DINP-S <sup>3)</sup> Production stopped in 1992	No production
ICI	Emkarate 9120 <sup>4)</sup> Production stopped in 1995	No production	No production
Neste	No production	Production stopped in 1991 No information on commercial name	No production
Alusuisse/ Lonza	Production but no information on commercial name	No production	No production
CEPSA / PDL	Minor production stopped in 1992 No information on commercial name	No production	No production

- <sup>1)</sup> Tentative identification deduced from information on viscosity (BASF, 1982a)  
<sup>2)</sup> Exxon chemical (1995)  
<sup>3)</sup> Exxon chemical Europe (1996a)  
<sup>4)</sup> ICI (1994)

European Union Risk Assessment Report-DINPより抜粋

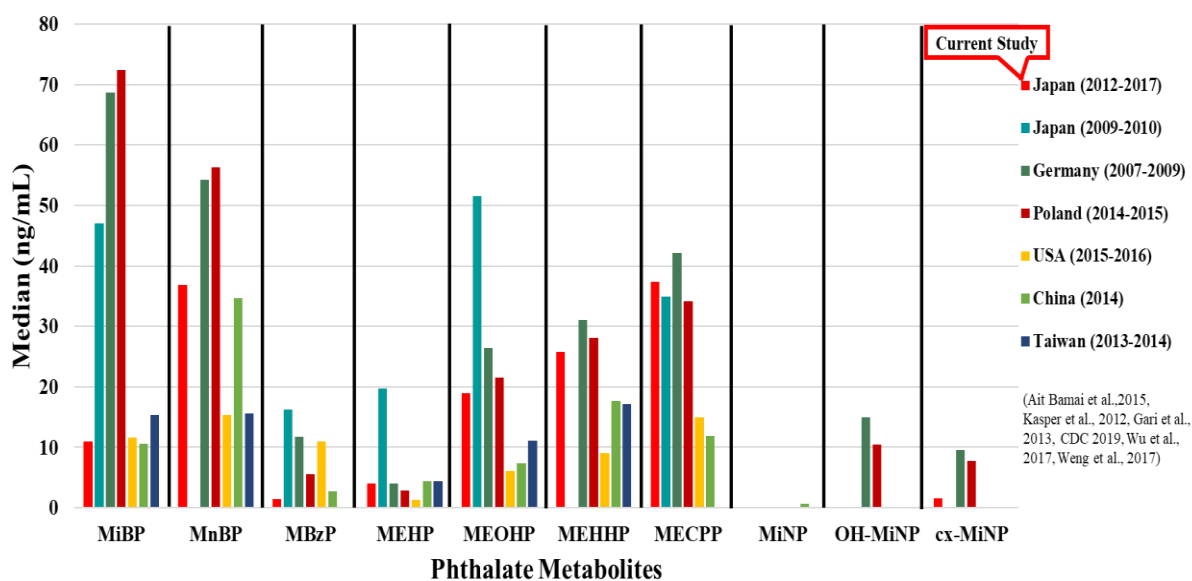


図3-2-1 児の尿中フタル酸エステル代謝物濃度の比較

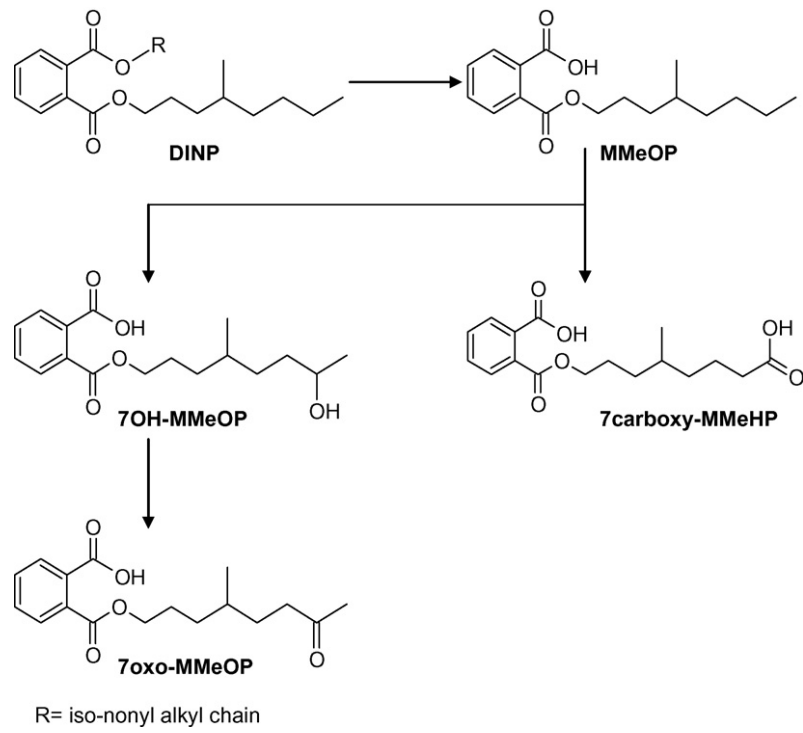


図3-2-2 DiNP 代謝経路 (Koch et al., 2007より抜粋)

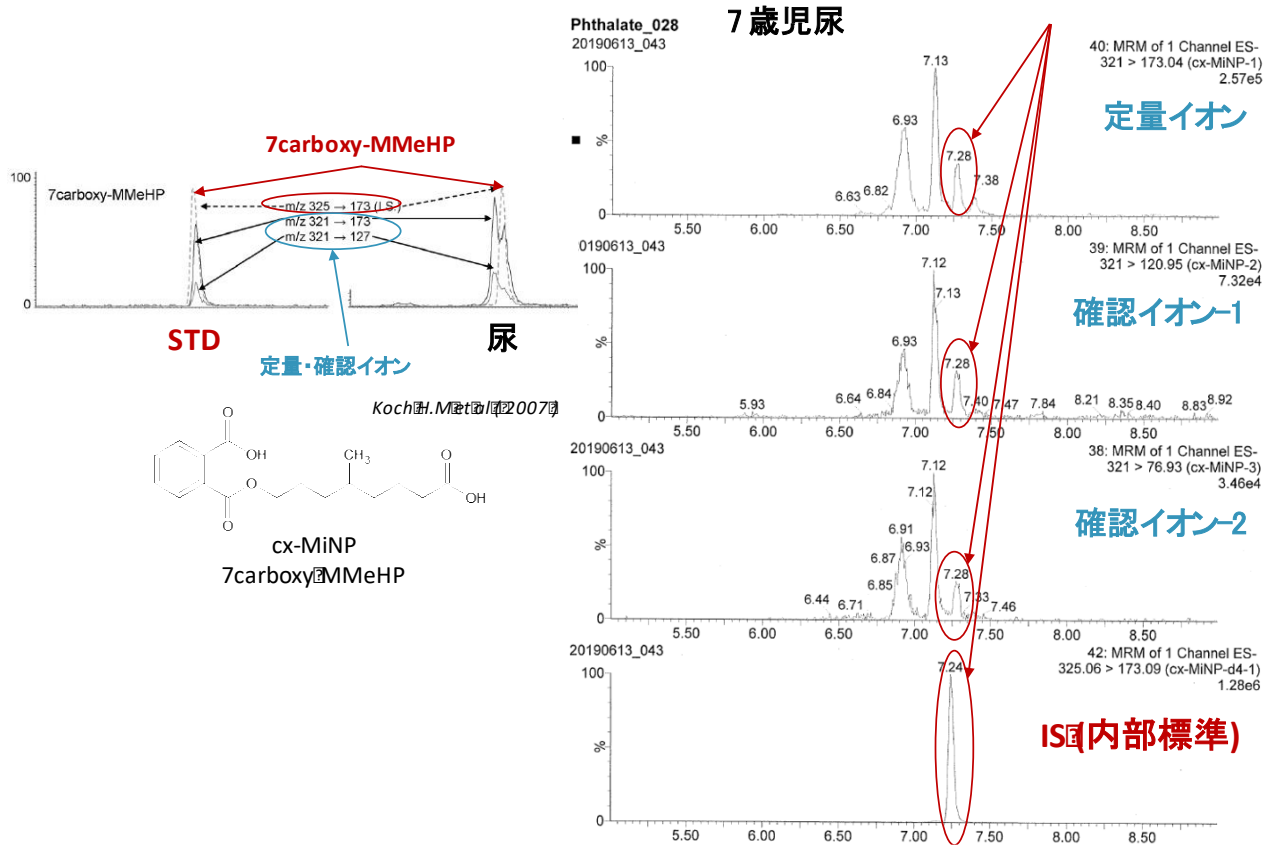


図3-2-3 異性体を含めた定量法の検討 cx-MiNPの例

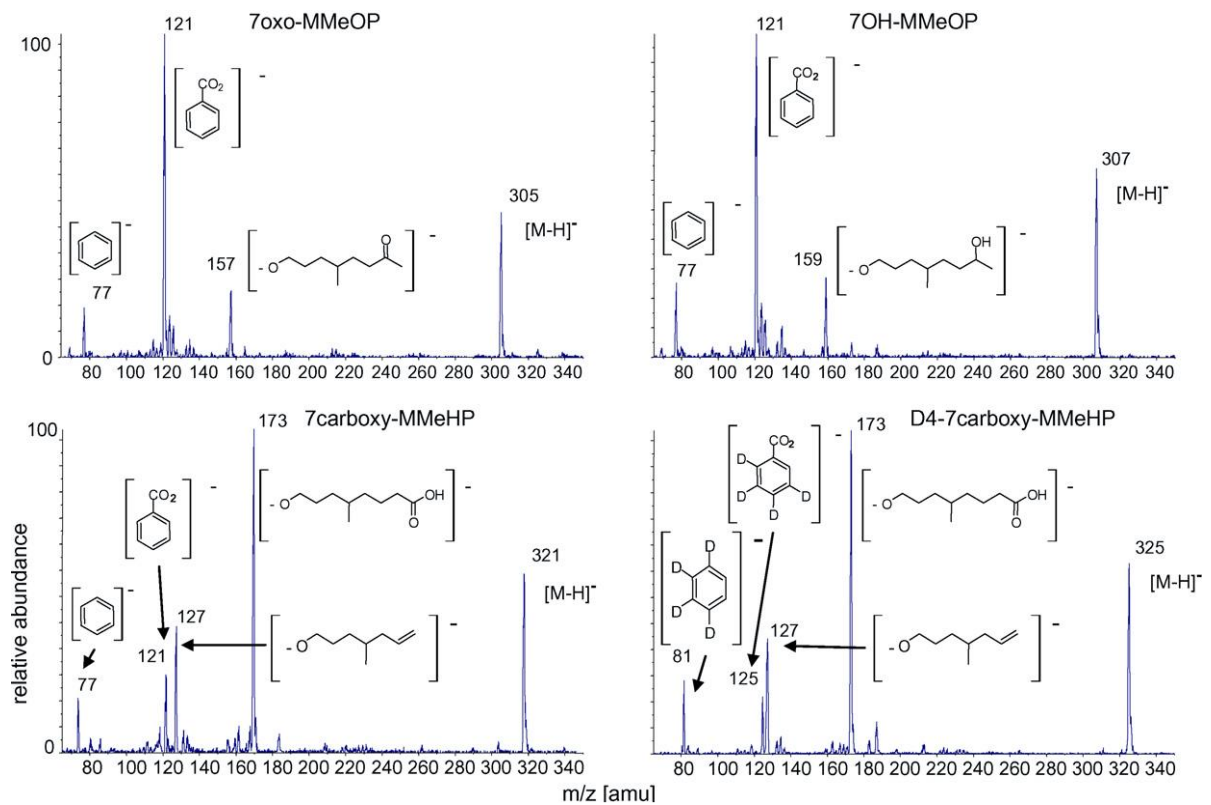


図3-2-4 DiNP代謝物（7oxo-, 7OH-, 7cx-MMeOPと7cx-MMeOP-d4）の定量イオン

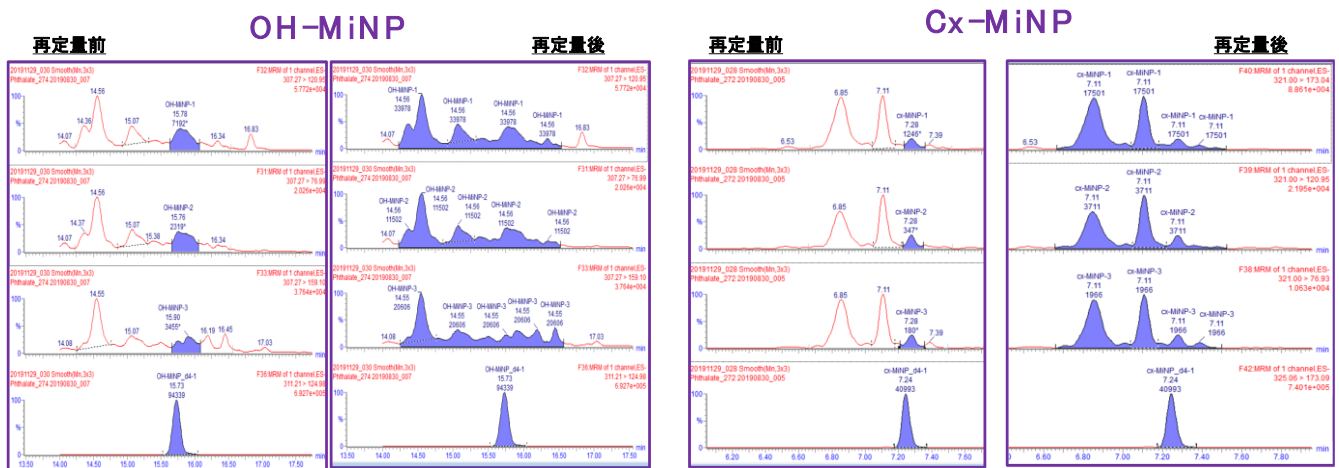


図3-2-5 再定量前後のOH-MiNPおよびcx-MiNPのクロマトグラフィーの例

定量イオン(上)、確認イオン-1,2 (2,3番目)、内標準物質(IS: 下)

表3-2-9 再定量前と再定量後の比較

	LOQ	DF (%)	25th%	Median	75th%	Max
<i>再定量前</i>						
MiNP	0.09	18.1	<LOQ	0.1	1.6	8.7
OH-MiNP	0.05	33.6	<LOQ	0.1	4.1	9.9
cx-MiNP	0.11	75.8	1.6	1.6	4.1	24.7
<i>再定量後</i>						
MiNP	0.09	94.6	0.38	0.60	1.00	7.73
OH-MiNP	0.05	93.1	1.58	2.97	5.98	64.1
cx-MiNP	0.11	96.9	1.18	1.99	3.58	25.0

LOQ: limit of quantification

表3-2-10 分析バッチごとのretention time window、定量イオンと確認イオンの面積比の

RSD

	MiNP					OH-MiNP					cx-MiNP				
	IS		Target		Q1/Q2	IS		Target		Q1/Q2	IS		Target		Q1/Q2
	RT	Start	End	Range (min)	RSD	RT	Start	End	Range (min)	RSD	RT	Start	End	Range (min)	RSD
PM001-044	21.5	21.4	22.2	0.8	0.07	15.78	14	16.6	2.6	0.04	7.02	6.2	7.3	1.1	0.21
PM045-088	21.62	21.6	22.2	0.6	0.12	15.31	14.3	16.2	1.9	0.04	6.99	6.4	7.2	0.8	0.16
PM089-119	21.36	21.3	21.8	0.5	0.11	15.84	14	16.5	2.5	0.03	7.07	6.5	7.2	0.7	0.24

Q1: 定量イオン面積 ; Q2: 確認イオン面積