

生体暴露量等作業班 取りまとめ中間状況報告

作業班長 牧野 恒久(東海大学医学部専門診療学系産婦人科)

班 員： 牧野 恒久
 国包 章一
 山田 健人
 津金 昌一郎
 螺良 愛郎
 岸 玲子
 岩本 晃明
 那須 民江

はじめに	2
1. 測定法の確立	2
2. 生体暴露量.....	2
ビスフェノール A.....	3
クロロベンゼン類.....	3
パラベン類	3
フタル酸エステル類	3
ベンゾ(a)ピレン	4
PCB	4
ダイオキシン類.....	5
クロルデン	6
有機スズ化合物	6
4-ノニルフェノール	6
ハロゲン化炭化水素系殺虫剤	6
有機リン系殺虫剤.....	6
有機塩素化合物	7
有機フッ素系化合物 (PFOS、PFOA、PFOSA)	8
植物エストロゲン.....	8
重金属	9
揮発性有機化合物 (トルエン、ベンゼン、キシレン、スチレン、パラジクロロベンゼン など)	9
3. 生体暴露量の考え方.....	9
4. 生体内での作用発現.....	9
5. 結語	10
6. 引用文献等.....	11

はじめに

本作業班は、いわゆる内分泌かく乱化学物質の生体暴露量を測定すると共に、これら物質の生体内受容体の存在の有無、作用発現、さらに代謝・解毒などの検討を通して、ヒト健康への影響についての結論を導くことが目的である。

1. 測定法の確立

いわゆる内分泌かく乱化学物質のヒト健康への影響を研究する際にまず重要な点は、感度と特異性に優れた測定法の確立である。測定法に関連した事項として、試料の取扱いは看過出来ない。特に試料の採取から始まり、分離・保存の過程を経て、いかに背景因子の干渉及び夾雑物の混入を防ぎ、信頼しうる測定値を得るに至るかまでの各種操作法の確立は重要である。

これについては、既に厚生科学研究H11-13「高分子素材からなる生活関連製品由来の内分泌かく乱化学物質の分析及び動態解析(主任研究者：中澤裕之 星薬科大学教授)」において、検討が開始され、その後、H14-16「試料分析の信頼性確保と生体暴露量のモニタリングに関する研究」において引き続き検討がなされた。今般、採取・分析法作業班から、生体試料中のビスフェノール A (BPA)、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル (DEHP) などのフタル酸エステル類、4-ノニルフェノール (NP) について、分析ガイドラインが提示された(「採取・分析法」の項参照)ことから、今後、これら分析ガイドラインに従った測定をすることにより、信頼性の高い測定結果の蓄積が期待できるようになった。

2. 生体暴露量

測定法に次いで重要な点は、生体暴露量、すなわちこれら物質の生体中の存在量(体内負荷量)の解析である。

過去及び現在の我が国における工業生産量等からして黙視できない化学物質として、ビスフェノール A (BPA)¹、クロロベンゼン類²、パラベン類、フタル酸エステル³、ベンゾピレン⁴、PCB⁵、クロルデン⁶、トリブチルスズ化合物⁷などが測定候補として検討された他、当作業班に属する主任研究者によって、各々独自の観点から検討がなされており、それらも含め、生体暴露量に関する主な知見は、以下のとおりである。

¹ 樹脂原料などとして年間約 15.1 万トン(平成 10 年度)製造・輸入される

² 穀物種子や木材の防腐剤・防かび剤、色素合成の中間体として使用された。

ヘキサクロロベンゼンは、難分解性で、蓄積性、毒性があることから、「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律(1973)(化審法)」の第一種特定化学物質*に、1979年に指定された

* 化審法の第一種特定化学物質は、製造・輸入の禁止、使用の禁止、政令指定製品の輸入禁止等の規制措置が取られる。

³ プラスチックなどの可塑剤として使用される

⁴ 化石燃料の不完全燃焼などにより大気中に放出される

⁵ 絶縁油等として用いられたが、1974年に、化審法の第一種特定化学物質に指定された

⁶ シロアリ駆除剤などとして使用されたが、1986年に、化審法の第一種特定化学物質に指定された

⁷ 船底塗料や漁網防汚剤として用いられたが、1992年から国内造船所での塗布の完全自粛、1997年から国内塗料工場での製造中止等がなされている

ビスフェノール A

- (高感度なカラムスイッチング HPLC-蛍光定量法； 検出限界 血清及び腹水, 0.04 ppb； 母乳, 0.20 ppb)
BPA は、一個体から同時採取された、さい帯血、母体血、母乳及び腹水のいずれの試料においても検出され (n=9-21)、その濃度範囲は 0.21~0.79ppb であった。各試料中 BPA 濃度の相関性を調べた結果、妊婦母体血-さい帯血 (r=0.626)、妊婦さい帯血-母乳 (r=0.755)、不妊症患者血清-腹水 (r=0.785) で比較的高い相関関係が得られた。1)
- (分析ガイドラインによる方法、定量限界 0.5 ppb)
新たに採取されたさい帯血、母体血、母乳及び腹水の試料における、分析ガイドラインによる方法 (n=70-118) での検討では、血液中からの検出は 2 例のみで、最大 1.7 ppb、特に母体血と臍帯血においては検出されなかった。腹水中からの検出はなかった。2)
- (HPLC-クーロアレイ法)
不妊を主訴の女性 80 人 (26-43 歳) での尿中のビスフェノール A (抱合体) は、HPLC-クーロアレイによって分析を行い、その中央値は 2.2 $\mu\text{mol/g}$ クレアチニンであった。尿中のビスフェノール A はほとんどが抱合体の形で存在し、かつ LC-MS による分析値よりも若干高い値であるのは分析法によるものと考えられた。3)

クロロベンゼン類

- ヘキサクロロベンゼンを分析したが、一般末梢血及び母体末梢血で 100%、さい帯血で 88% に検出され、その濃度範囲は 0.03~0.10ppb であった。また、同一個体から採取した試料中のヘキサクロロベンゼン濃度について、末梢血と腹水との間に有意な正の相関関係 (順位相関関係数=0.722、n=12、p=0.017) が認められた。1)

パラベン類

- メチルパラベンとして、さい帯血や母乳から検出され、妊婦が暴露を受けたパラベン類が、血液を介して母乳やさい帯血に移行したことが推定された。1)

フタル酸エステル類

- 抹消血中、腹水中に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) が、平均で 1~5ng/mL の濃度で検出された。1)
- DEHP (定量限界 10.0 ppb)
血液中からの検出は 12 例のみで、最大 32.0 ppb、特に母体血と臍帯血においては検出されなかった。腹水中からの検出は 4 例のみで、最大 35.0 ppb であった。2)
- 職域暴露集団での横断面研究で得られた尿サンプル (取り扱い作業員 94 名、対照者 102 名) について、尿中フタル酸エステル類代謝物 (フタル酸モノブチル、フタル酸モノエチルヘキシル) が分析されたが、取り扱い作業員では、フタル酸モノブチルが 12.4 - 22836.9 $\mu\text{g/g}$ クレアチニン、フタル酸モノエチルヘキシルが 1.1 - 9753.2 $\mu\text{g/g}$ クレアチニン、と高いレベルで代謝物が検出された。一般住民のフタル酸エステル類の暴露レベルはかなり低いことが報告されているが、職域ではかなり

の暴露を受ける集団が存在することが確認された。3)

○《水道における研究》

水道水を通じた暴露量評価については、以前の調査結果で検出頻度が高かったフタル酸エステル類（DEHP、フタル酸ジ-n-ブチル（DNBP））について、詳細に調査された。全国10水道事業者の11浄水場（急速ろ過方式10か所、緩速ろ過方式1か所）を対象に、各浄水場において各1回、原水（河川水、湖沼水、ダム水、地下水）および浄水（浄水場出口の水）の調査を行い、さらに上記の浄水場中の4浄水場（急速ろ過方式）を対象に、月ごとの汚染状況の変動を把握するため、月1回、原水および浄水の調査を行った。

全国調査の結果では、原水中のDEHPは、平均値が0.18 $\mu\text{g/L}$ （範囲が $<0.05\sim 1.0 \mu\text{g/L}$ ）で、浄水中は、平均値が0.02 $\mu\text{g/L}$ （範囲は $<0.05\sim 0.10 \mu\text{g/L}$ ）であった。DNBPについては、原水中が、平均値は0.05 $\mu\text{g/L}$ （範囲は $<0.05\sim 0.10 \mu\text{g/L}$ ）浄水中は、全て $<0.05 \mu\text{g/L}$ であった。また、4浄水場全てにおいて、調査期間における原水中の濃度変動はそれほど大きくなかった。ただし、ある浄水場については、原水より浄水で濃度が高くなる場合が多く、浄水の最大濃度はDEHP、DNBPでそれぞれ0.31 および 0.27 $\mu\text{g/L}$ であった。この浄水中の最大濃度は、現在のTDIと比較した場合、非常に小さい値（DEHPについては0.004~0.016%、DNBPについては0.008%）であることが判明した。4)

ベンゾ(a)ピレン

- ベンゾ(a)ピレンは、モノヒドロキシベンゾ(a)ピレン(OH-BaP)として男子尿中から検出された。1)

PCB

- 母体、母体末梢血、さい帯血中で35種の同族体及び異性体として検出され、その濃度範囲は脂肪あたり60-99ng/gであった。1)
- 剖検症例を用いた暴露状況は以下のように要約される。剖検症例の肝（57検体）、腸間膜脂肪（54検体）および腹壁脂肪（54検体）において：mono-ortho PCB（8種類）は、脂肪重量あたりのmono-ortho PCB平均値はそれぞれ8.95、19.16 および 20.59pg/g（TEQ表記）で、肝はその約1/2であった。di-ortho PCBも、11.36、24.79 および 20.59（TEQ表記）であり、肝はその約1/2であった。測定した12種類のPCBのそれぞれの相対比は、肝、腸間膜脂肪および腹壁脂肪いずれも同じ傾向を示した。また血液（38件）及び胆汁（42件）では、血中Mono-ortho-PCBs濃度は、肝臓、脂肪組織中のMono ortho-PCBs濃度と同様に、2,3',4,4',5 PenCB（#118）の濃度が最も高く、平均 $159\pm 156\text{ppt}$ であった。次に高かった2,3,3',4,4',5-HexCB（#156）の濃度は平均 $74\pm 52\text{ppt}$ であった。胆汁中のMono-ortho-PCBs濃度も血液中と同様に、それぞれ#118の濃度が平均 $347\pm 194\text{ppt}$ で、#156の濃度は平均 $171\pm 99\text{ppt}$ で高かった。また胆汁中の総Mono-ortho-PCBs濃度は血液中の約2倍であった。5)

ダイオキシン類

○ 剖検症例を用いた暴露状況は以下のように要約される。血液、胆汁（57 検体）でのダイオキシン濃度はそれぞれ 42.6 ± 24.3 pg TEQ /gfat、 43.4 ± 30.8 pg TEQ /gfat であった。肝臓中は 127.2 ± 53.4 pg TEQ /gfat であった。また血液中と胆汁中の濃度がよく相関しており、肝では脂肪重量あたりの濃度が血液中、胆汁中濃度よりも高かった。胆汁からの排泄量は、ダイオキシンの異性体種類により差異が認められた。OCDD が一番高濃度であり PeCB、HxCB がそれに続く。それ以外では、1,2,3,6,7,8HxCDD、TeCB、2,3,4,7,8-PeCDD、1,2,3,4,6,7,8HpCDD、が高い傾向を示した。各異性体パターンはほぼ血液に似ているが HxCDF、HpCDF では血液の約 1 / 2 の濃度、HxCDD では血液の約 2 / 3 の濃度、HpCDD、OCDD で約 1 / 2 の濃度、TeCB では約 1 / 2 の濃度でその他の異性体はほぼ同等の濃度であった。肝臓では、PCDDs、コプラナー PCBs とともに、全般的に濃度が高く濃度順には OCDD、PeCB、HxCB、1,2,3,4,6,7,8-HpCDD、1,2,3,6,7,8HxCDD、TeCB、2,3,4,7,8-PeCDD と続いた。1,2,3,4,6,7,8-HpCDF は胆汁の約 20 倍、血液の 10 倍の濃度があり、1,2,3,4,7,8,9-HpCDF は胆汁の 10 倍、血液の 8 倍、OCDD に関しては血液の約 5 倍、胆汁の約 9 倍の濃度であった。

腎臓、脾臓、膵臓、肺では、それぞれ 138、113、163 及び 178 pg-TEQ/g 脂肪(平均値)の蓄積が認められ、同族体ごとの蓄積パターンは他の臓器と同様であった。Whole ベースにすると平均総ダイオキシン類濃度は、膵臓中の濃度が他の 20~30 倍高濃度であるが、脂肪ベースで比較した場合、ほぼ同じ濃度レベルであった。各 7 症例であるが中枢神経および乳腺中のダイオキシン類は、中枢神経では肝と同レベル、乳腺では脂肪組織と同レベルで蓄積していた。

年齢、性別と化学物質の蓄積の相関を検討したところ、年齢の増加に伴ってダイオキシン・PCB の蓄積が増加することが明らかとなった。臭素系ダイオキシン (polybrominated diphenyl ether (PBDE) の 25 の異性体 (BDE-#17, 25, 28, 30, 32, 33, 35, 37, 47, 49, 66, 71, 75, 77, 85, 99, 100, 116, 119, 126, 138, 153, 154, 155, 166)) は、血液、胆汁、肝臓、脂肪組織でそれぞれ、 $4,087 \pm 4,428$ 、 $2,953 \pm 2,916$ 、 $4,001 \pm 3,191$ 、 5399 ± 4826 pg/g 脂肪であった。測定した 27 の異性体のうち、2,2',4,4'-tetraBDE(#47)、2,2',4,4',5,5'-hexaBDE(#153)の濃度が高く全体の 70%を占めた。心血と胆汁の濃度の相関および心血と肝組織中の濃度の相関係数はそれぞれ 0.64、0.60 であり、ダイオキシン類と同様に胆汁からの排泄のあることが示された。5)

○ (高感度 CALUX ; 検出限界 4.0pg/mlTEQ/g blood)

若年男性 47 名(平均年齢 20.0 歳)の血液中のダイオキシン (PCDDs/Fs 分画)濃度を測定し、平均 $10.18(4-19)$ pg/TEQ の曝露が認められた。本測定におけるダイオキシンの濃度レベルは、CALUX による香山らの他の調査における測定レベルが 20pgTEQ/gfat 以上の検体が多かったことと比較して、全体に低いレベルであったと考えられる。CALUX 法は一般に HRGC/HRMS による分析値と比べて数値が 2 から 3 倍ほど高めに出る性質があるといわれているが、今回の生体試料での測定では約 1 倍と、HRGC/HRMS による分析値と大きく異ならないという傾向が見られてい

る。6)

クロルデン

- trans-ノナクロルが 63%(0.06~0.17ppb)に、cis-ノナクロルが 17%(0.03~0.05ppb)に検出されたが、ヘプタクロロエポキシド、オキシクロルデン、trans-クロルデン及び cis-クロルデンは、いずれの試料からも全く検出されなかった。1)

有機スズ化合物

- トリブチルスズは、測定法によって差があるものの、毛髪試料の 33~77%に検出(5~44ppb)され、同一家族から高濃度に検出(41~45ppb)された例を平成 11 年に報告している。1)
- 剖検症例を用いた暴露状況は以下のように要約される。モノブチルスズ、ジブチルスズおよびトリブチルスズは、肝臓湿重量(27例)あたりそれぞれ 6.0~28、6.5~71、検出限界以下・3.4 ng cation/g であった。また、胆汁(17例)では、それぞれ、6.0・21、1.0・13、検出限界以下・3.0 ng cation/g であった。5)

4-ノニルフェノール

- 血液中からの検出は 17例で、最大 25.0 ppb、特に母体血と臍帯血においては検出されなかった。腹水中からの検出は 9例で、最大 19.0ppb であった。2)

ハロゲン化炭化水素系殺虫剤

- (ヘッドスペースガスクロマトグラフ法(HS-GC法);定量範囲:0.5~500 µg/mL 検出限界:0.5 µg/ml)

生産工場の男性従業員(暴露作業員)および非暴露対照者において尿中または血中の代謝物量測定による暴露量評価を行った。

生産工場の男性従業員の尿中臭化物イオン濃度測定結果は、原体取り扱い作業員(n=13)で $15.9 \pm 7.7 \mu\text{g}/\text{mgCRE}$ (範囲は 5.7-35.0 µg/mgCRE)、充填作業員(n=22)で $15.6 \pm 6.2 \mu\text{g}/\text{mgCRE}$ (範囲は 7.1-30.3 µg/mgCRE)と、非暴露者(n=96) $8.9 \pm 3.5 \mu\text{g}/\text{mgCRE}$ に比べ高い結果が得られた。同様に平均血清中臭化物イオン濃度は、原体取り扱い作業員で $12.9 \pm 4.7 \mu\text{g}/\text{mL}$ (範囲は 6.3-21.2 µg/mL)、充填作業員で $12.2 \pm 5.0 \mu\text{g}/\text{mL}$ (範囲は 5.0-25.3 µg/mL)と、非暴露者(n=97)の値 $5.2 \pm 1.6 \mu\text{g}/\text{mL}$ に比べ有意に高値を示した。測定された暴露レベルは過去 14 年間ほぼ同様で、生産工場従業員は一般生活者集団に比べ代謝物量からみて暴露量が多いが、集団として有意な生殖次世代影響は見いだされなかった。7)

有機リン系殺虫剤

- ペンタフルオロベンジルプロマイド誘導体化によるガスクロマトグラフ質量分析計法(GC/MS法);定量限界: DMP 1.0 µg/L、DEP 0.3 µg/L、DMTP 0.3 µg/L、DETP 0.3 µg/L (S/N ratio = 10); 検出限界: DMP 0.3 µg/L、DEP 0.1 µg/L、DMTP 0.1 µg/L、DETP 0.1 µg/L (S/N ratio = 3)