

地方会・研究会記録

第 42 回 産業中毒・生物学的 モニタリング研究会*

<特別報告> 14:00-15:00

有機溶剤, 重金属のばく露評価としての生物学的モニタリング～ある企業の特健康診断から～

○坂本史彦

(パナソニック健康保険組合 産業衛生科学センター)
特化則が平成 25 年 1 月 1 日改正・施行された。

(1) 「エチルベンゼン 塗装の業務」についての特殊健康診断を行ないはじめ, 運用上の問題点が浮き彫りになってきた。

- ・「塗装」の定義について事業主により解釈が異なり, 事業所により健診対象者選定に差異が発生している。
- ・「塗装の業務以外」においてもエチルベンゼンに曝露することが明らかな作業が存在し, その場合, 「エチルベンゼン 塗装以外の業務」として健診を行なっていることの紹介。
- ・尿中マンデル酸の分析方法 (HPLC と GCMS) の検討を行なった結果, スクリーニングとして HPLC が優れているが高濃度曝露が疑われる場合には GCMS にて再度分析することが望ましいことがわかった。

(2) コバルト及びその無機化合物の健診において, 尿中コバルトの量の測定を行なうことにより, いままであまり問題作業と思われていなかった「超硬合金の湿式研磨の業務」もコバルト曝露の危険があることがわかった。以上のような問題を解決するための対策・実際について 1 年間のデータをまとめ, 報告した。

1,2-ジクロロプロパンの発がん性—IARC での議論から—①疫学研究から

○熊谷信二 (産業医科大学産業保健学部)

2014 年 6 月にフランス・リヨンにおいて, 国際がん研究機関 (IARC) のワーキンググループ (WG) の会議が開催され, 1,2-ジクロロプロパン (1,2-DCP) を含む 5 つの化学物質の発がん性が評価された。WG は, 7 日間の討議を経て, 1,2-DCP をグループ 1 (ヒトに対して発がん性がある) と結論した。1,2-DCP の発がん性に関する最も重要な証拠として, 大阪のオフセット印刷工場での胆管がんの多発があげられた。また, 他の数ヶ

所の工場においても, 同様のケースが確認されていることも重要な証拠とされた。WG は, 胆管がんが稀な疾患であること, 相対リスクが非常に大きいこと, 患者の年齢が若いこと, 職業以外のリスク因子がないこと, そして曝露が大きいことから, 観察された胆管がんの過剰発症は偶然, バイアス, あるいは職業以外の要因によっては説明できないと考えた。これらの証拠に基づき, 1,2-DCP のヒトへの発がん性の証拠は充分であると結論した。

1, 2-ジクロロプロパンの発がん性 発症機序から

○市原 学 (東京理科大学 環境労働衛生学)

IARC Monograph のための会議においてメカニズムグループでは, ①メカニズムのデータの強さ, さまざまな実験系での結果の一貫性, メカニズムの検証, その過程の抑制による癌発達抑制②メカニズムのヒトでの妥当性, そのメカニズム以外による説明の可能性, 別のメカニズムが別の濃度, ヒト, 動物あるいは高い感受性集団で働く可能性, が評価される。メカニズムデータは, ヒトのデータで結論が出ない場合に決定的に重要である。ヒトにおけるエビデンスが Limited あるいは Inadequate であっても, 動物実験のエビデンスが十分かつ DNA 付加物や遺伝子変異などの曝露したヒトにおける強いエビデンスがある場合には, メカニズムによる Group 1 へのアップグレードが可能である。1, 2-ジクロロプロパンの場合においても, 動物における発がん機序の解明, その発がん機序がヒトでも働いていることを示す今後の研究が必要である。

<一般口演>

1. インジウム: 吸入性粉塵個人曝露濃度と生物学的モニタリング指標の関係 許容濃度は提案可能か?

○大前和幸¹, 中野真規子¹, 岩澤聡子¹, 田中昭代², 平田美由紀², 田中 茂³, 宮内博幸⁴, 東久保一朗⁵, 川澄八重子⁵
(¹慶應義塾大学, ²九州大学, ³十文字学園女子大学, ⁴産業保健協会, ⁵中災防)

【背景・目的・方法】肺蓄積インジウム (In) 化合物のクリアランスは遅く, 生物学的モニタリング指標に強く影響する等の理由で, 許容濃度の提案は困難であった。最近, 作業者の肺蓄積インジウム量は少ないことが期待される 11 小規模事業所で, 40 名の吸入性粉塵中 In 個人曝露濃度 (In-RD, $\mu\text{g}/\text{m}^3$) と血清 In (In-S, $\mu\text{g}/\text{l}$), KL-6 (U/ml) を測定した。【結果・考察】In-S = $0.312 \times \text{In-RD} + 0.080$ ($p < 0.001$), KL-6 = $31.3 \times \text{In-RD} + 217.7$ ($p < 0.001$) が得られ, In-S の OEL-B と KL-6 の正常上限値の In-RD 逆推定値 (95% CI) は, 9.35 (5.53-13.5), 9.01 (3.79-14.9) であった。両者は近似しており, 肺間

*会 期: 2014 年 10 月 25 日, 26 日

会 場: 松本市中央公民館 (M ウィング) 第 3-2 会議室 (松本市中央 1 丁目 18-1)

世話人: 野見山哲生 (信州大学医学部衛生学公衆衛生学講座)

質性変化を臨界影響として $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$, 又は 95% 下限値の $5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ を許容濃度として提案できるかもしれない。しかし、管理者・労働者が、肺蓄積 In の動態が肺障害発生の重大なリスクと認識しないで、許容濃度を参照することは危険である。従って、現行の OEL-B のみの提示でとどめるとい判断もある。

2. ヒ素の生物学的モニタリングの検討

○圓藤吟史¹, 畑 明寿², 圓藤陽子³

¹ 大阪市立大学大学院医学研究科

² 千葉科学大学危機管理学部

³ 関西労災病院産業中毒センター)

ヒ素の特殊健康診断では生物学的曝露評価指標として無機ヒ素とモノメチルアルソン酸の合計 (iAs+MMA) を用いている。そこでその基準値について検討を行った。北九州市のヒ素曝露のない男性労働者の尿中 iAs+MMA の 95% タイル値は $12.6 \mu\text{g}/\text{l}$ で、この値を海産物摂取によるバックグラウンド値とした。一方、バングラデシュのヒ素汚染地域住民では、食品由来の有機ヒ素曝露の影響を除外でき、尿中の iAs+MMA はジメチルアルシン酸を加えた値と、良好な相関が認められた。このことから、吸入されたヒ素は全て尿中に排泄され、尿量は 1.5l と仮定すると、ヒ素の管理濃度 $3 \mu\text{g}/\text{m}^3$ に相当する尿中の iAs+MMA は $3.5 \mu\text{g}/\text{l}$ と計算された。以上のことから、生物学的曝露評価値はバックグラウンド値を加え $16.1 \mu\text{g}/\text{l}$ とすることが妥当と考えられた。

3. アルシン中毒事例と生物学的モニタリング

○圓藤陽子¹, 下田康代², 山中健三², 圓藤吟史^{3,1}

¹ 関西労災病院・産業中毒センター,

² 日本大学薬学部,

³ 大阪市立大学大学院・医学研究科)

受診時に溶血性貧血、黄疸、肝機能および腎機能障害の所見があったガリウム砒素再生作業者が赤血球輸血などで軽快し退院した。その血清と尿試料を用いて、形態別ヒ素分析等を実施しアルシン中毒と診断した。血清中には、AsIII, AsV, モノメチルアルソン酸 (MMA), ジメチルアルシン酸 (DMA) が検出された。受診時においては、総ヒ素濃度は $244.8 \mu\text{g}/\text{l}$ で、蛋白付加物が 2/3 を占めていた。AsIII と AsV は指数的に減衰したが、MMA は減衰せず、DMA は上昇していた。尿中総ヒ素濃度は退院前日に $1,630 \mu\text{g}/\text{l}$ で、その後指数関数的に減少した。尿中濃度と総排泄尿量から、曝露濃度は約 10 ppm (産衛天井値 0.1 ppm) と推定された。血清中ヒ素化合物の 2/3 が蛋白付加物で腎障害の原因と考えられるので、その検出はアルシン中毒の確認に有用と考えられた。慢性曝露は無機ヒ素曝露と同様に発がんのリスクが考えられる。

4. アルシン曝露によるヘモグロビン付加体生成

○山内武紀¹, 山野優子², 山中健三³, 畑 明寿⁴,

黒田嘉紀¹, 圓藤陽子⁵, 圓藤吟史⁶, 中館俊夫²

¹ 宮崎大学医学部公衆衛生, ² 昭和大学医学部衛生,

³ 日本大学薬学部, ⁴ 千葉科学大学危機管理学部,

⁵ 関西労災病院・産業中毒センター,

⁶ 大阪市立大学大学院・医学研究科

【目的】アルシン曝露による急性中毒症例の血清中には、蛋白-ヒ素付加体の存在が示唆されている。そこで未同定ヒ素化合物がヘモグロビンであると仮説をたて、ヒ素-ヘモグロビン付加体を検出することを目的とした。【方法】ICR マウス保存血に亜ヒ酸から発生させたアルシンを 10 分間曝露し得られた血漿と、マウスにアルシンを 5 分間曝露した血漿をサンプルとした。これらのサンプルを限外ろ過した後、抗グロビン抗体を用いた免疫沈降反応を実施し、各分画中の総ヒ素を ICP-MS で定量した。また免疫沈降反応後の溶出分画について、MALDI-TOF-MS でアルシン曝露に特異的なピークを検索した。【結果と考察】分子量 30,000 以上の分画で曝露サンプルにのみヒ素が検出され、かつ、抗グロビン抗体使用の溶出分画からのみ、アルシン曝露に特異的なピークが 3 つ確認できた。うち m/z 15,700 は、分子量から、TOF-MAS で単量体となった α - または β - グロビン、ヘムおよびヒ素の化合物であると推測された。以上から、アルシン曝露によりヘモグロビン付加体ができることが示され、溶血やヘモグロビン尿と併せて急性アルシン中毒の有用な曝露マーカーになることが期待された。

5. Log Pow からの生物学的許容値 (BOEL) の推定

○池田正之¹, 櫻井治彦², 河合俊夫³

¹ 京都工場保健会, ² 中災防東京, ³ 中災防大阪)

【背景および目的】有機溶剤未変化体の尿中排泄自体には体内代謝 (biotransformation) は関係しないことに注目し、物理化学的係数である Log Pow から BOEL を推定することを試みた。【方法】既報諸論文から日本人での曝露-排泄相関資料を男子例 10 溶剤, 女子例 7 溶剤の事例について収集し、基礎資料とした。2 変数間の相関の解析には直線回帰を用いた。【結果および考察】職業的 8 時間曝露濃度 (ppm) を横軸に、曝露終了時の尿中未変化体濃度 ($\mu\text{mole}/\text{l}$) を縦軸にとった相関図の勾配 ($\mu\text{mole}/\text{l}/\text{ppm}$) が得られる。Log Pow を横軸に この勾配の値の対数值 (Log slope) を縦軸にとって全 10 溶剤を対象に相関を見ると、両者の間には極めて高い相関 ($r > 0.9$, $p < 0.01$) が得られた (男女差ナシ)。従って Log Pow (文献値) から曝露 (X)-排泄 (Y) 関係の勾配を求めることができ、その式の X 値に OEL 値を代入すれば その許容濃度に対応する BOEL を推定することができた。【結論】実用性のある BOEL

推定手法を開発することができた。

6. 3歳児を対象とした有機リン系・ピレスロイド系・ネオニコチノイド系殺虫剤の尿中曝露指標一斉分析

○大坂 彩¹, 上山 純¹, 野村洗司¹,
斎藤 勲², 近藤高明¹, 黄木弘子³,
高石亜有子³, 伊藤由起⁴, 上島通浩⁴

¹名古屋大学大学院医学系研究科医療技術学,
²東海コープ商品安全検査センター, ³岡崎市保健所,
⁴名古屋市立大学大学院医学研究科環境保健学)

【目的】本研究では同一の対象者から有機リン系 (organophosphorus insecticide, OP), ピレスロイド系 (pyrethroid insecticide, PYR) およびネオニコチノイド系 (neonicotinoid insecticide, NEO) 殺虫剤曝露マーカーを分析し, それらの量的関係について検討した。

【方法】対象者は愛知県内で実施された3歳児健診の受診者223名である。OP代謝物であるジアルキルリン酸 (dialkylphosphate, DAP) 4種 (DMP, DMTP, DEP および DETP) と NEO (acetamiprid, clothianidin, dinotefuran およびその他4種) を LC-MS/MS 法で, PYR代謝物3種 (CDCA, DCCA および 3PBA) を GC-MS 法で定量分析した。【結果と考察】4種の DAP 間それぞれで有意な正の相関を示した ($p < 0.001$, $r = 0.344$ から $r = 0.543$)。DMP および DMTP はジメチル基を有する OP (ジクロロボス等) から, DEP および DETP はジエチル基を有する OP (ダイアジノン等) から代謝される物質であることから, どちらかの OP に偏って曝露していないことが示唆された。CDCA は DAP や他の PYR 代謝物類との相関をほとんど示さなかった。acetamiprid, clothianidin および dinotefuran の検出群における ΣDAP は不検出群のそれよりも有意に高い値を示し, NEO が検出された対象者では OP 曝露量が高いことが推察される。

7. 疫学研究へのメタボロミクスの導入 (1) 基礎的条件の検討

○武林 亨, 原田 成,
鶴岡メタボロームコホート研究グループ
(慶應義塾大学医学部衛生学公衆衛生学,
同先端生命科学研究所)

2012年4月より開始した鶴岡メタボロームコホート研究において, 疫学調査現場に必要なメタボローム解析の精度管理手法について検討した。その結果, CE/MS (キャピラリー電気泳動/質量分析) 法と LC/MS/MS 法の二つの分析手法により, それぞれ血漿115物質, 血漿213物質の定量が, ルーチンレベルで可能となった。CE-MSを用いたメタボローム解析で得られる代謝プロファイルに関して詳細に検討したところ, 血清と血漿の

比較で互いの代謝物濃度は全体として高い一致を示すが, 処理工程の影響を比較した実験結果では, 概して血漿の方が安定していた。疫学研究にメタボローム解析を導入するためには, 測定機器の感度や標準物質の安定性を確認するための QC サンプルを定期的に測定していくとともに, ピーク処理等データ処理の自動化・標準化も進め, 多数の検体を安定的かつ効率的に処理しうる前処理・測定・化合物同定の手順の確立が不可欠であることが明らかとなった。

8. 疫学研究へのメタボロミクスの導入 (2) アルコール関連バイオマーカーの検討

○原田 成, 武林 亨, 鶴岡メタボロームコホート研究グループ (慶應義塾大学医学部衛生学公衆衛生学, 同先端生命科学研究所)

大規模メタボローム・プロファイルが予防医学に貢献するバイオマーカーを発見するのに有用である一例として, 地域コホートを基盤に飲酒関連バイオマーカーを検討した。対象は鶴岡メタボロームコホート研究の2012年度調査の参加者で, CE-MSによる空腹時血漿メタボローム解析で115種の代謝物を完全定量した35-74歳の男性1,009名 (平均63.6歳)。飲酒別の4群を用いた contrast 解析により, 飲酒量と有意に関連した物質 (多重比較を BH-FDR により調整) は33物質であり, パスウェイ解析の結果と合わせ, グルタミン代謝, アルギニン代謝, スレオニン代謝, リジン代謝が特に習慣飲酒により影響を受ける可能性が示された。そのうちスレオニン, グルタミン, リンゴ酸の3物質で, 飲酒性肝障害における特異的な上昇/低下が示唆され, 飲酒性肝障害のバイオマーカーと考えられた。グルタミン酸/グルタミン比はより優れたバイオマーカー候補である。今後, 因果関係を明らかにするために, 慎重に追跡研究を実施していく。

9. 微量金属の施設間クロスチェック 2—労働衛生検査精度向上研究会活動報告—労働衛生検査精度向上研究会

○市場正良¹, 山本 忍¹, 森 浩司², 金村 茂²,
濱野和可子², 竹嶋 淳³, 錦織千賀³, 天野有康⁴,
高橋紀博⁴, 佐藤和也⁴, 木戸誠二郎⁵, 杉山浩貴⁶,
渡辺雅春⁷, 廣瀬隆穂⁸, 岡田孝之⁹, 山内恒幸⁹,
城山 康¹⁰, 圓藤陽子¹¹, 関 顯⁶

¹佐賀大学医学部, ²エスアールエル,
³LSI メディエンス, ⁴江東微生物研究所,
⁵ビー・エム・エル, ⁶保健科学研究所,
⁷神奈川県予防医学協会,

⁸近畿エコサイエンス, ⁹中央労働災害防止協会,
¹⁰パナソニック産業衛生科学センター, ¹¹関西労災病院)

労働衛生検査精度向上研究会は、労働衛生検査を多数受託している検査施設が自主的に組織した研究会である。平成 25 年度に実施した鉛、カドミウムおよびその他の金属のクロスチェック結果を報告する。試料は市販の精度管理用コントロール尿、血を使用した。測定金属は、尿中血中鉛、カドミウムは 7 機関が参加し、尿中血中クロム、水銀、ニッケル、マンガン、尿中ヒ素、タリウム、コバルト、フッ素、銅、亜鉛、血中セレンは 1 から 4 機関が参加した。鉛の変動係数 CV は、尿、血の低濃度試料を除き、10% 未満であり、昨年と同様の傾向であった。カドミウムの尿中測定結果は全て許容範囲内であったが、全血試料でばらつきが大きかった。その他金属測定は、尿中マンガン、水銀、亜鉛は CV も比較的小さく良好であったが、それ以外は、参加機関が少なく評価は難しいが、ばらつきの原因を決定するに至っていない。

10. 有機リン系殺虫剤曝露者における尿中代謝物濃度および代謝酵素活性の関連について

○佐藤博貴¹、伊藤由起¹、上山 純²、加納裕也¹、
荒川朋弥¹、五藤雅博¹、近藤高明²、杉浦友香²、
斎藤 勲⁴、柴田英治³、上島通浩¹

¹名古屋市立大学大学院医学研究科環境保健学、

²名古屋大学大学院医学研究科医療技術学、

³愛知医科大学医学部衛生学、

⁴東海コープ検査センター)

【目的】有機リン系殺虫剤 (OP) は体内において代謝酵素であるパラオキシナーゼ 1 (PON1) によってジアルキルリン酸 (DAP) と各 OP に特異的な代謝物へと分解される。本研究では PON1 の一遺伝子多型 (SNPs) および代謝酵素活性と OP の尿中代謝物濃度の関連性を検討した。【方法】殺虫剤散布作業員 230 名の PON1 の SNPs を解析し、その内 142 名について 3 種類の OP オキシソンを基質として PON1 酵素活性を測定した。また、アリルエステラーゼ活性も測定した。尿中代謝物は 4 種類の DAP を GC-MS にて測定した。【結果】PON1 酵素活性の多型間の差の有無は基質により異なり、また一部の DAP と PON1 酵素活性について有意な負の相関が認められた。尿中代謝物と PON1 酵素活性および散布後経過時間との重回帰分析では、DAP が酵素活性に有意に回帰した。【考察】尿中代謝物濃度は多型間よりも酵素活性の個体差の影響を強く受けることが示唆された。

11. 2-エチル-1-ヘキサノール吸入曝露によるマウス嗅覚器への影響

○三宅美緒¹、伊藤由起¹、澤田雅人²、酒井 潔³、
鈴木日美子¹、坂本龍雄⁴、澤本和延²、上島通浩¹

¹名古屋市立大学大学院医学研究科 環境保健学分野、

²名古屋市立大学大学院医学研究科 再生医学分野、

³名古屋市衛生研究所、⁴中京大学スポーツ健康科学科)

フローリング材に使われる可塑性剤や接着剤の分解により生じる 2-エチル-1-ヘキサノール (2EH) が高濃度で検出される建物で、シックビル (シックハウス) 症候群の事例が発生している。これらの患者の中には中枢神経系の不定愁訴を呈する所見も見られ、におい刺激を介した脳への影響が推察される。そこで我々は、2EH をマウスに 1 週間、1 ヶ月、3 ヶ月間吸入曝露し、鼻腔の嗅上皮および嗅球の変化を病理組織学的に検討した。曝露 1 週間後の嗅上皮には好中球の、3 ヶ月後にはリンパ球の浸潤が見られた。嗅神経の数は、1 週間及び 3 ヶ月後の嗅上皮で曝露濃度依存的に減少した。3 ヶ月曝露後の嗅球では、糸球体の厚さや嗅神経及びドーパミン作動性ニューロンの発現量が減少傾向を示した。一方、ミクログリアは曝露により増加傾向を示し、新生ニューロンは高濃度群のみ増加した。嗅球の抑制性介在ニューロンの減少により嗅覚刺激の抑制が十分に行われていない可能性が示唆された。

12. 1-ブロモプロパン神経毒性のマウスモデルの確立

○宗 才^{1,2}、黄 晋彦²、エドウィン ガーナー³、
張 靈逸¹、張 堯^{1,2}、市原佐保子、市原 学¹

¹東京理科大・環境労働衛生学、²名古屋大学、

³米国ラブレイス呼吸器研究所、⁴三重大学)

サイトクローム P450 の阻害剤、1-アミノベンゾトリアゾール (ABT) を用い、フロン代替溶剤 1BP が引き起こす肝障害作用を抑制することによって、マウスでの 1BP 神経毒性モデル確立を試みた。42 匹の C57BL/6Jcl マウスを 7 群に分け、4 群に ABT 50 mg/kg を 1 日 2 回皮下注射し、0、50、250、1,200 ppm の 1BP に 1 日 8 時間、28 日間曝露した。残る 3 群には生理食塩水を注射し、0、50、250 ppm の 1BP に曝露した。ABT・1BP 250 ppm 群で肝細胞壊死、変性、炎症像が見られた。ABT+マウスでは 1200 ppm を含む全群で病理的变化が見られなかった。脳重量は ABT+・1,200 ppm 群で ABT+・0 ppm 群に比して有意に減少した。本研究は P450 が 1-BP の代謝と毒性発現において重要な役割を担っていることを明らかにした。この方法によりマウスの 1-BP 神経毒性モデルの作成が期待される。

13. 1-ブロモプロパン吸入曝露ラットにおける血中 1-BP 濃度のクリアランスと脳内濃度

○今村紀元、笛田由紀子、石松維世、樋上光雄、
保利 一

(産業医科大学産業保健学部作業環境計測制御学)

1-ブロモプロパンの体内動態について、吸入曝露動物モデルを用いて検討してきた。その結果より、脳内1-BP濃度は血中1-BP濃度の減少より遅い可能性が考えられた。そこで、1-BPの血中濃度のクリアランスと脳内濃度を調べ、血中濃度から脳内濃度を推定できるかを検討した。ラットに1-BPを700 ppmで6時間吸入曝露し、右外頸静脈から挿入したカテーテルチューブを用いて、曝露停止直後から経時的に3時間まで0.1 mLずつ採血した。最終採血終了後に麻酔下で断頭し速やかに脳を採取した。試料をFID付ガスクロマトグラフで分析した。その結果、今回の条件ではいずれの時間においても血中濃度より脳内濃度の方が高いことが分かった。また、脳内濃度と血中濃度の関係式を求めると、曝露停止直後の濃度と時定数を用いて簡単な指数関数式で表すことが推定できた。今回の実験条件では1-BPの血中濃度のクリアランスに脳内濃度との関係が認められ、血中濃度から脳内濃度を推定できることが分かった。

14. 1-ブロモプロパンの次世代影響—海馬スライスを用いた臭素イオンによる興奮抑制作用の検討

○野口葉月, 笛田由紀子, 樋上光雄, 石松維世, 保利 一

(産業医科大学産業保健学部作業環境計測制御学)

正常な脳の発達では中枢興奮薬であるペンチレンテトラゾール (PTZ) への感受性が授乳期に高いが、1-ブロモプロパン (1-BP) に胎生期曝露されると低くなり、原因として臭素イオン (Br^-) の脳内蓄積によることが示唆された。そこで、授乳期の海馬スライスを用いて Br^- による興奮抑制作用を検討した。曝露群の授乳期仔ラットの脳内濃度 (1.12 mM) を再現するために、 Br^- 灌流液濃度 2.4 mM, 灌流時間 30 分の条件を見出した。今回の実験条件において、PTZ によるてんかん様自発電位の誘導確率は 60% (スライス 10 枚中 6 枚) であった。しかし、 Br^- 存在下で PTZ を灌流すると、スライス 10 枚すべてにおいて自発電位は観察されなかった。以上の結果から、1-BP 胎生期曝露群仔ラットにおける PTZ 感受性の抑制については、脳内に蓄積した Br^- によることが原因の一つであることが明らかになった。

15. ホルムアルデヒドばく露作業者の刺激に関する疫学調査

○津田洋子¹, 塚原照臣¹, 宮内博幸², 蓑添葵², 岩澤聡子³, 大前和幸³, 野見山哲生¹

(¹ 信州大学医学部衛生学公衆衛生学,

² (財)産業保健協会,

³ 慶應義塾大学医学部衛生学公衆衛生学)

職業性ホルムアルデヒドばく露による鼻と喉への刺激反応に影響を与える因子を明らかにするため、個人

ばく露濃度 (パッシブガスタンブによる時間加重平均濃度)、喫煙習慣、アレルギーの有無、年齢、調査時の気分 (日本語版 PANAS: Positive and Negative Affectivity Schedule) について検討した。年齢は平均 (標準偏差) 41.4 (12.5) 歳、個人ばく露濃度は平均 (標準偏差) 0.42 (0.46) ppm だった。喫煙習慣のある人は鼻刺激を有意に減衰させ、これは既存研究 (チャンバーク露実験) と同様だった。41 歳以上の人とネガティブな人は鼻と喉の刺激を感じやすかった。年齢と刺激反応の増加の関係については更に検討が必要であるが、ネガティブな人がより刺激を感じやすい点については既存研究と同様であった。本研究により、職業性ばく露においても、喫煙習慣はホルムアルデヒドばく露に対する鼻の刺激を有意に減衰させ、ネガティブな人は鼻と喉の刺激をより感じることを示唆された。

16. ホルムアルデヒド (FA) 曝露に対する気道の分泌反応

○色川俊也^{1,2}, 荒川梨津子², 佐藤 舞², 新國悦弘², 大河内真也^{1,2}, 小川浩正^{1,2}, 黒澤 一^{1,2}

(¹ 東北大学環境・安全推進センター,

² 東北大学大学院医学系研究科産業医学分科)

【目的】FA を用いて化学物質曝露に対する気道の粘液分泌による生体防御機構を解明する。【背景】気管粘膜表面は、気道粘膜下腺と杯細胞から分泌される Airway Surface liquid (ASL) で被われており、生体防御反応の重要な一端を担っている。また、化学物質曝露時の気道受容体として侵害受容体 (TRPV-1: Transient Receptor Potential Vanilloid 1) の関与が示唆されているが、化学物質による TRPV-1 刺激と分泌反応との関連は未だ明確になっていない。【方法】ブタ気管に可視的分泌定量法を用い、気管粘膜表面の 1 個の気道粘膜下腺開口部から分泌される粘液の単位時間あたりの分泌量 (nl/min/gland) を測定した。① control (無刺激), ② 粘膜側を 2mM FA で 30 分刺激, ③ TRPV-1 antagonist の capsazepine (CAZ, 10 μM) 存在下で粘膜側を 2mM FA で 30 分刺激、の条件下で基礎分泌量を比較した。【結果】基礎分泌量 (nl/min/gland) は、① control: 0.40 ± 0.07 (n=4, 9 glands), ② FA: $3.60 \pm 1.04^*$ (n=3, 11 glands), ③ FA+CAZ: $0.23 \pm 0.22^{**}$ (n=2, 4 glands) であった。(Welch test, $*p < 0.001$: compared to control, $**p < 0.01$: compared to FA) 【考察・結論】FA の粘膜側刺激により基礎分泌が有意に亢進し、その効果は CAZ 存在下で有意に抑制されたことから FA による基礎分泌亢進は TRPV-1 を介している可能性が示唆された。

17. 1,2-DCP 吸入曝露後の体内における代謝経路と肝毒性についての検討

○柳場由絵¹, 鈴木哲矢^{1,2}, 須田 恵¹, 王 瑞生¹
 (¹(独)労働安全衛生総合研究所,
²広島大学大学院医薬保健学研究院)

職業性胆管がんの発生と業務との因果関係が認められつつありながら, その詳細は依然として情報が乏しい。これまでの研究で, 発がん作用と密接に関係している突然変異作用は, 肝臓では認められなかったが, 薬物代謝酵素発現と肝臓毒性との関係について, 1,2-DCP の急性肝毒性発現は CYP2E1 により活性化されることが明らかとなった。そこで, 肝臓の CYP2E1 と GST に注目し, 肝毒性及び遺伝毒性について検討する。雄性の野生型と CYP2E1-KO 型マウスを用い 1,2-DCP 吸入曝露を行った。曝露条件は滅菌水だけの群は 0, 100, 300, 500 ppm, グルタチオン枯渇剤を投与した群は 0, 300, 500 ppm の濃度条件で, 6 時間/日で 5 日間の曝露を行った。CYP2E1-KO 型では GST 活性が DCP ばく露により低下しており, CYP2E1 が欠損した状態では GST 経路が優先することが推察されるが, 肝毒性や DNA 損傷を誘発する代謝物は CYP2E1 による代謝産物である可能性が示唆される。一方, BSO の投与による肝毒性や死亡個体の増加は, GSH の枯渇により毒性が増強されたのではないかと。

18. 遺伝子ノックアウトマウスにおける 1,2-ジクロロプロパンの尿中代謝物の変動

○須田 恵, 柳場由絵, 鈴木哲矢, 王 瑞生
 ((独)労働安全衛生総合研究所)

オフセット印刷工場に於いて胆管がんの多発が報告されており, その原因物質として 1,2-ジクロロプロパン (DCP) とジクロロメタンが示唆されている。我々は CYP2E1 による DCP の代謝物が肝臓の障害を引き起こすことを示してきた。今回は CYP2E1 の関わる代謝物がどのステージで毒性を有するのか明らかにするため, 遺伝子ノックアウトマウスを用いて薬物投与を行い, DCP を曝露して, DCP の代謝物を測定した。129 sv マウス (WT) と CYP2E1 ノックアウトマウス (CYP2E1-KO) を用い, グルタチオンの枯渇剤である L-Buthionine-SR-sulfoximine (BSO) を投与し, DCP に 6 時間/日で 5 日間曝露し, 曝露 1 日終了後と曝露 5 日終了後に曝露終了後 2 時間目から 15 時間採尿して尿中の代謝物を測定した。DCP 曝露は, 未処置群は 0, 100, 300, 500 ppm, BSO 処置群では 0, 300, 500 ppm の濃度で行った。DCP の尿中代謝物は N-acetyl-S-(2-hydroxypropyl)-L-cysteine (代謝物 I), N-acetyl-S-(2-oxopropyl)-L-cysteine (代謝物 II), N-acetyl-S-(1-carboxyethyl)-L-cysteine (代謝物 III) を測定した。

WT 型に BSO を投与した群でのみ, 1 日の 500 ppm 曝露後で 4 匹中 4 匹が死亡し, 急性の毒性が CYP2E1 とグルタチオンの枯渇で増強されることが示唆された。しかし, 生存した動物の 1 日曝露では, CYP2E1-KO 群は WT 群よりも代謝物量は減少したが, 有意差はなく, BSO 未処置群に対する BSO 処置群でも代謝物量は減少しているが, 有意な差は観察されなかった。5 日曝露になると, BSO 処置した 300 ppm 曝露群で CYP2E1-KO 群の代謝物量が野生型に比べて有意に増加し, CYP2E1 の代替経路での酵素誘導が示唆された。以上の結果により, 連続的な曝露における主要代謝経路への CYP2E1 の有無の影響は低く, 別の代謝経路に毒性があるのではないかと考えられた。

19. *Aldh2* 遺伝子ノックアウトマウスにおける 1,2-ジクロロプロパンの遺伝毒性について

○王 瑞生, 鈴木哲矢*, 柳場由絵, 須田 恵
 ((独)労働安全衛生総合研究所,
 *現所属: 広島大学大学院医薬保健学研究院)

1,2-ジクロロプロパン (DCP) は体内で CYP2E1 の触媒によって酸化される反応は知られているが, その後の詳細な代謝経路は明確にされていない。今回は肝内の薬物代謝酵素の一つである ALDH2 の遺伝子ノックアウトマウスを用いて, DCP ばく露後の DNA 損傷がどう変化するかを解析し, 遺伝毒性発生のメカニズムについて検討した。8 週齢の雄性 *Aldh2* 遺伝子ノックアウトマウス (ALDH2-KO) およびその野生型 C57BL/6J マウス (C57-WT) を用いて, 三つの濃度で 5 日間 + 3 時間の DCP 吸入ばく露を行った。最終ばく露終了 2 時間後解剖した。ALDH2-KO ばく露群の一部 (対照, 中と高濃度群) に毎日ばく露の直前, CYP2E1 の阻害剤である 4-methylpyrazole (4-MP) を経口投与した。ALDH2-KO および C57-WT の高濃度曝露群に多くの動物が死亡した。しかし, 4-MP 投与したマウスに死亡例はなかった。網状赤血球における小核の頻度は, いずれのばく露群においても変化はなかった。C57-WT マウスにおいて, DCP ばく露による肝組織 DNA 損傷度の変化はなかった。ALDH2-KO マウスにおいては, DNA 損傷度は中と高濃度群で対照群との有意差が認められた。4-MP 投与の 2 濃度 DCP ばく露群と非ばく露と比べ, 変わらなかった。以上の結果は遺伝毒性を誘発する DCP の代謝物は少なくとも一部は CYP2E1 による DCP の分解反応後, ALDH2 による代謝前のステップに存在していることを示唆した。