フロン代替有機溶剤の生物学的モニタリング

（研究課題番号　10670348）

平成10年度～平成11年度科学研究費補助金（基盤研究（C）（2））
研究成果報告書

平成12年３月

研究代表者　柴　田　英　治
（名古屋大学医学部助教授）

<BA46546994>

Ⅰ．はしがき

オゾン層破壊と地球温暖化を防止するためにフロン類削減の国際的取組みが進められている。わが国を含む先進国では、特定フロン（クロロフルオロカーボン）及び1,1,1-トリクロロエタンの生産と使用が1996年1月1日から禁止されることになった。これまで不燃性、易揮発性、特筆すべき慢性毒性がないなどの優れた性質により、金属部品の洗浄など、広範に用いられてきたフロン類であったが、この措置により、産業界は新たな対応を迫られることになった。

その一つがフロンに代わる有機溶剤の開発であった。後述するように、急速に導入されたフロン代替溶剤の中には毒性研究が十分に進められていないものもあり、現場で使用が開始されてから思わぬ健康障害が見つかったものも存在した。その顕著な例がブロモプロパン類である。有機溶剤の重大な中毒の発生は、汎用されていた有機溶剤の毒性が明らかになることにより導入された新規溶剤によって引き起こされることがしばしばであり、今回もこれが繰り返された形になっている。今後も新規に導入されたフロン有機溶剤を取扱う作業者の健康には引き続き、注意を払う必要がある。さらにリスクアセスメントとしての曝露評価法確立の努力をしなければならない。

本研究ではこれらフロン代替有機溶剤の曝露評価を確立するための基礎的な研究とともに、ブロモプロパン類がもつ従来報告されなかった生体影響の解明、さらにブロモプロパンを取扱う職場での曝露評価の試みなどを行った。

研究組織

研究代表者　柴田英治（名古屋大学医学部助教授）
研究分担者　竹内康浩（名古屋大学医学部教授）
研究分担者　市原　学（名古屋大学医学部助教授）

研究経費

平成10年度　3,100千円
平成11年度　400千円

名古屋大学図書
20095759

Ⅱ．研究の背景

有機溶剤作業者

有機溶剤は産業の現場では欠くことの出来ない化学物質として広範に使用されている。その用途は脱脂、洗浄、塗装、接着、抽出など様々であり、現在 400 種類以上が使用されている。労働省の「特集健康診断結果調べ」によれば、平成 9 年の有機溶剤特殊健康診断の受診者総数は 52 万 3 千人、健診実施事業場数は 3 万 1 千ヵ所になっており、労働安全衛生法が規定する特殊健康診断の中でも最も重要な位置を占めている。

生物学的モニタリングによる曝露評価

有機溶剤取扱作業者の健康管理、作業管理、作業環境管理の基本的な内容を定めた有機溶剤中毒予防規則は平成元年の改正により、一部の有機溶剤について生物学的モニタリングの手法による曝露評価の実施を初めて義務づけた。これは吸入、経皮吸収などによって作業者の体内に摂取された有機溶剤が肝臓などで代謝されて発生した代謝物の尿中検出量を測定することにより、当該有機溶剤の総合的な曝露量を評価するものであり、作業環境中の有機溶剤濃度とともに作業者のリスクアセスメントに非常に有用なものである。生物学的モニタリングの対象となる有機溶剤にはトルエン、キシレン、スチレン、ヘキサン、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレン、N,N-ジメチルホルムアミドなど、使用量の大きい有機溶剤が含まれているが、すべての有機溶剤で生物学的モニタリングが可能になっているわけではなく、次のような条件を満たす有機溶剤に限られる。第一に摂取された有機溶剤そのもの、或いはその代謝物が生体試料によって検出可能であること、第二にモニタリングの指標となる代謝物が非曝露者には基本的に検出されないか、或いは極めて少量しか検出されないものであること、第三に検出方法が比較的簡単かつ安価であり、大量の検体の処理が可能となっていること、第四に曝露量とモニタリング指標が十分に相関することが確かめられていることが必要である。

フロンの使用

1930 年代はじめ、アメリカで開発されたクロロフルオロカーボンは主に家庭用冷蔵庫の冷媒として引火性、腐食性がなく、化学的にも安定であるという優れた性質を持っていた。しかもそれまでの冷媒と比べ、これといった明確な毒性が報告されていなかった。

クロロフルオロカーボンは日本ではフロンと総称されている。最盛期（1986 年）の世界のフロン生産量は 115 万トン、そのうち日本の生産量は約 13 万トンで米国につぐフロン生産と消費が行われていた。用途別の内訳は洗浄 40%、冷媒 30%強、、発泡用 20%、スプレー用 10%弱となっていた。

フロン類の規制

1974 年、化学者 F. S. ローランドらがフロンガスによる成層圏オゾン破壊の危険性につい

て警告を発して以来、米国をはじめとする先進国の対応は迅速であった。米国は国内対策を早急かつ強力に推進する一方、特定フロンの放出規制を進めるための協力を経済協力開発機構（OECD)、国連環境計画（UNEP)、世界気象機関(WMO)などに働きかけた。

1985年ウィーンで開かれた外交会議で「オゾン層の保護のためのウィーン条約」が採決され、1987年9月に「オゾン層を破壊する物質に関するモントリオール議定書」が採択され、た。日本もモントリオール議定書の締結国としてその後の締結国会議に加わり、1992年コペンハーゲンで開かれた第4回締結国会議で決議された次の内容を守る義務が発生した。

（1）特定フロン5種類、その他のフロン10種類及び四塩化炭素などは従来の削減スケジュールを前倒しして1995年末までに全廃する。

（2）オゾン破壊力の小さいハイドロクロロフルオロカーボン(HCFC)類は代替フロンとして有望視されていたが、これらも新規に規制物質に指定し、2019年までに生産を実質的に廃止する。

フロン代替有機溶剤の登場

フロンの生産・使用規制に伴い、従来のフロンによる洗浄に代る様々洗浄剤、洗浄技術の開発が盛んに行われた。例えば産業界では洗浄剤として以下の代替洗浄剤が製品化されている。

水系洗浄剤
準水系洗浄剤
炭化水素系洗浄剤
界面活性剤系洗浄剤
シリコーン系洗浄剤
フッ素系洗浄剤
グリコール系洗浄剤
エステル系洗浄剤
植物系洗浄剤
臭素系洗浄剤

一方洗浄技術として以下の技術が提案、開発されている。

超音波洗浄技術
光洗浄技術
高圧ウォータージェット洗浄技術
ウェットブラスト洗浄技術
超振動洗浄技術
遠心機構方式洗浄技術

2 - ブロモプロパン取扱職場における障害の集団発生

これらの洗浄剤、洗浄技術の導入はオゾン層破壊防止という積極的な側面とともに、一部に労働安全衛生上の問題点も含むものであった。その最も顕著な例は上記に示したフロン代替洗浄剤の中で新規に導入された物質の中に毒性研究が不充分なものが含まれていたことを原因として発生した、中毒の集団発生であった。

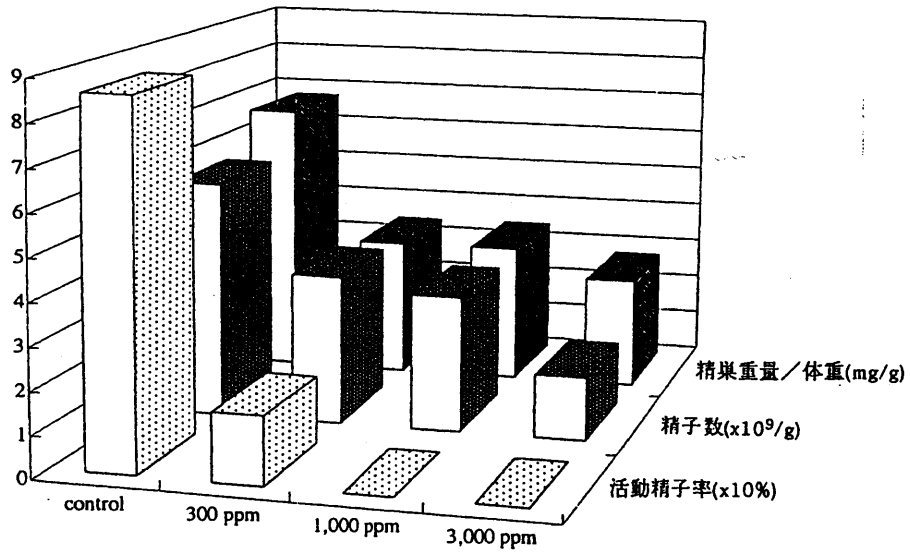
韓国の電子部品子工場では従来ポテトラフルオロエチレン被膜のための浸漬液として使用していたフロン113に変わって1994年から臭素系洗浄剤の一つである2 - ブロモプロパンを主成分とする浸漬液が新規に導入された。韓国産業安全公団産業保健研究院の報告書によれば、この浸漬液導入後、取扱職場の女性労働者25名中、17名に卵巣機能低下症、男性労働者8名中、6名に精子形成低下症がみとめられた。当時、2 - ブロモプロパンの生殖毒性の報告は世界的にみてもなく、同溶剤を原因物質と推定した報告書は正確な原因物質、代謝、発症メカニズムの解明の必要性を指摘している。

2 - ブロモプロパンは沸点 59.4℃の揮発しやすい無色透明で不燃性の液体である。医薬品、農薬、顕色剤などの原料、一部ではにじみ防止剤、洗浄剤として電子部品工場で使用されている。1997年におけるわが国の生産量と輸入量は合わせて約1,000トンと推定されている。わが国では有機溶剤中毒予防規則、特定化学物質等障害予防規則による規制は行われていない。

動物実験による2 - ブロモプロパンの生殖毒性の証明

名古屋大学のグループは上記の職場集団発生の事例発生を受け、動物実験による 2 - ブロモプロパンの生殖毒性の解明に乗り出した。

雄性ラットに対して2 - ブロモプロパン3,000 ppm, 1,000 ppm, 300 ppm 8時間／日、1日9時間の曝露実験を実施した。3.000 ppm 曝露群は9～10日の曝露で瀕死状態になったため、この時点で曝露を中止した。主要な生殖機能の変化は下図の通りである。



2-ブロモプロパン曝露濃度別雄ラット生殖機能の変化

また、末梢血液の所見は下の表のごとくであった。赤血球数、白血球数、血小板数は量依存的に有意に減少したが、3,000 ppm 群では回復が見られる。

これらの結果は 2 - ブロモプロパンが精巣に対して特異的に強い毒性を有すること、造血機能も障害すること、いったん高濃度曝露を受けて障害されると精巣機能は回復しにくいことを示した。

表－2・2-ブロモプロパン 9 週間曝露による主な血液所見の変化

(3,000ppm群は 9 ～10日間曝露)

	対照群 (N=9)	300ppm群 (N=9)	1,000ppm群 (N=9)	3,000ppm群 (N=6)
赤血球数($10^4/\mu l$)	920±24	883±21**	806±22**	833±19**
白血球数($10^2/\mu l$)	117±34	129±34	72±10**	91±20
血小板数($10^4/\mu l$)	90±3	79±7**	66±7**	82±7

**：$p<0.01$

Ⅲ．研究１

メチルエチルケトンの混合曝露に伴うヘキサンの毒性と生物学的モニタリング指標の変化に関する実験

【背景・目的】

メチルエチルケトンは産業界では広く使用されている有機溶剤であり、他の有機溶剤との混合物として印刷、洗浄、接着などに使用されることが多い。混合溶剤の成分としてメチルエチルケトンが含まれる場合に問題となるのは、すでに報告されているように一部の有機溶剤の毒性に影響を及ぼすことである。すなわち、接着剤などに繁用されている有機溶剤のノルマルヘキサン（ヘキサン）の末梢神経毒性を増強させる作用がある。一方、ヘキサンは現在、有機溶剤中毒予防規則によって生物学的モニタリングを行うことが規定されているが、そのモニタリングの指標となっている尿中2,5-ヘキサンジオン量はメチルエチルケトンの混合曝露によって減少することが報告されている。2,5-ヘキサンジオンはヘキサンの末梢神経毒性の原因物質と考えられており、これまでの研究から得られた知見はヘキサンの毒性とその原因物質の関係から考えればやや矛盾するものとなっている。

さらにヘキサンの生物学的モニタリングの点から言えば、尿中2,5-ヘキサンジオンのメチルエチルケトン混合曝露に伴う減少はヘキサン曝露の過小評価、さらに重要なことは毒性の過小評価につながることである。フロン規制により、既存の有機溶剤の重要性が増すことが予想される。このような状況の中でヘキサンの生物学的モニタリングに関するこれらの問題点は早急に解決しなければならない。

本研究はラットへのヘキサン、メチルエチルケトン両有機溶剤ガスの長期吸入混合曝露により、ヘキサンの末梢神経毒性と生物学的モニタリング指標の尿中2,5-ヘキサンジオンの変化を観察し、混合曝露における生物学的モニタリングの問題点を明らかにすることを目的とするものである。

【方法】

32匹のウィスター系ラットを8匹ずつ4群に分け、2,000 ppmヘキサン単独曝露群(2000H群)、2,000 ppmヘキサン＋200 ppmメチルエチルケトン混合曝露群（2000H+200M群)、2,000 ppm ヘキサン＋2,000 ppmメチルエチルケトン混合曝露群（2000H+2000M群)、新鮮空気曝露群（Conrtol 群）とした。曝露はステンレス製の小動物曝露チャンバーを用い、1日12時間、週6日として20週間続けた。チャンバー内の環境のモニター及びガスクロマトグラフを用いて測定されたチャンバー内のガス濃度のモニターと制御はパーソナルコンピュータによって自動的に常時行われた。チャンバー内のガス濃度は設定されたガス濃度の±5%以内に制御した。曝露は午後7時に開始し、午前7時に終了した。曝露中、曝露後を通じて食餌は自由に摂取できるようにした。

ヘキサンによる末梢神経毒性の評価指標としてラット尾神経の運動神経伝導速度、及び遠位潜時を小野ら及び竹内らの方法に準じて測定した。すなわち、ラットを無麻酔で、動

かないようにタオルで包み、直径 0.34mm のステンレス針を尾の皮下に、尾と垂直の方向に刺入した。電極 A は肛門より 3 cm 遠位、電極Ｃは尾の先端より 3 cm 近位、電極Ｂは電極Ｃより 5cm 近位の皮下に刺入した。すべての電極を刺入した後、尾を 37.0℃から 37.5℃の間に設定した流動パラフィンの中に浸した。神経伝導速度は尾をパラフィンに浸した後、少なくとも 4 分経過後に測定し始め、15 分以内には終了した。アイソレーター付刺激装置（SEN-7130、日本光電）を用い、0.3 msec、supramaximum の電位の矩形波によって電極Ａと電極Ｂの部位で尾神経を刺激した。筋電位は電極Ｃで Addscope（ATAC-350、日本光電）を用いて記録した。神経伝導速度と遠位潜時は次式により、曝露開始直前と曝露開始後 4 週間毎に測定した。

神経伝導速度＝［AB 間距離／潜時(AC-BC)］、遠位潜時＝［潜時(BC)］

さらに曝露中の 12 時間、及び曝露をしていない 12 時間それぞれ採尿し、尿中の 2,5-ヘキサンジオンの分析を行った。分析は尿 0.5 ml を塩酸加水分解し、ジクロロメタンで抽出後、ガスクロマトグラフによって行った。

統計的有意差検定は４群について一元配置の分散分析を行った後、Turkey-Kramer 法による多重比較によって行った。

【結果】

各曝露群の曝露期間中のチャンバー内平均曝露濃度実測値は 2000H 群でヘキサン 1996±29 ppm、2000H+200M 群でヘキサン 1994±30 ppm、メチルエチルケトン 191±16 ppm、2000H+2000M 群でヘキサン 1999±29 ppm、メチルエチルケトン 1993±101 ppm であった。2000H+2000M 群のラットは後肢の筋力が著しく低下していた。同群の体重は曝露 4 週以降は他の群よりも有意に減少していた。また、曝露 12 週及び 16 週では 2000H+200M 群で Control 群よりも有意に低下していた（ Fig. 1 ）。

運動神経伝導速度は 2000H+2000M 群で曝露 12、16、20 週で、2000H 群では 16、20 週で Control 群に比べ有意に低下していた。20 週の時点では 2000H+200M 群に比べ、2000H+2000M 群は有意に低下していた。また、2000H 群と 2000H+200M 群は 16 週に限って Control 群に比べて有意に低下していた（ Fig. 2 ）。

遠位潜時については 2000H+2000M 群は 12～20 週で 2000H 群、Control 群に比べ、16～20 週で 2000H+200M 群に比べ、有意に延長していた。20 週の時点で 2000H+200M 群は Control 群に比べ有意に延長していた（ Fig. 3 ）。

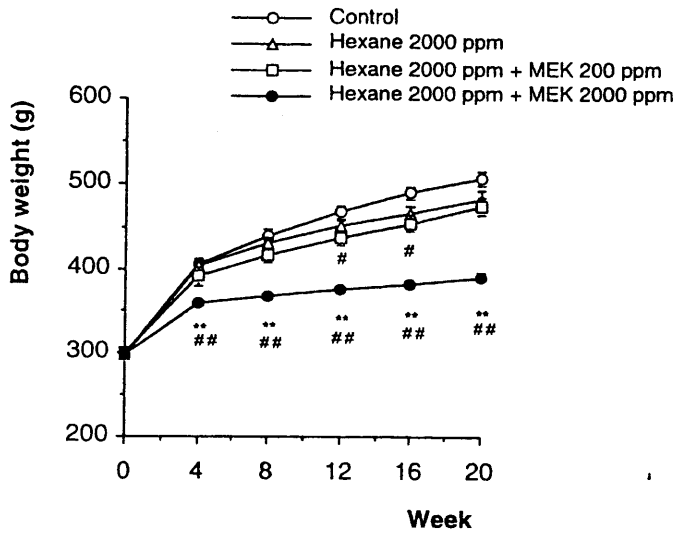


Fig. 1 Time course of body weight (mean values ± SEM). *Asterisks* indicate a significant difference from the 2000-ppm *n*-hexane group (**$P < 0.01$). The *pound sign* indicates a significant difference from the control (#$P < 0.05$, ##$P < 0.01$; Tukey's multiple comparisons)

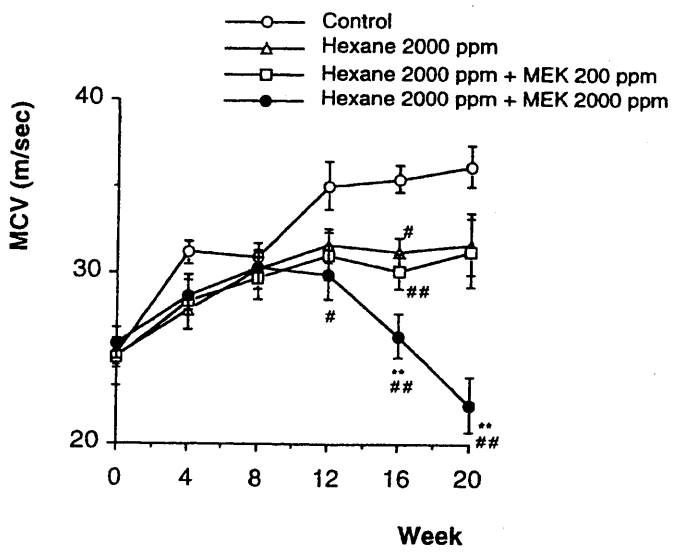


Fig. 2 Time course of the MCV of rat's tail (mean values ± SEM). *Asterisks* indicate a significant difference from the 2000-ppm *n*-hexane group (**$P < 0.01$). The *pound sign* indicates a significant difference from the control (#$P < 0.05$; ##$P < 0.01$; Tukey's multiple comparisons)

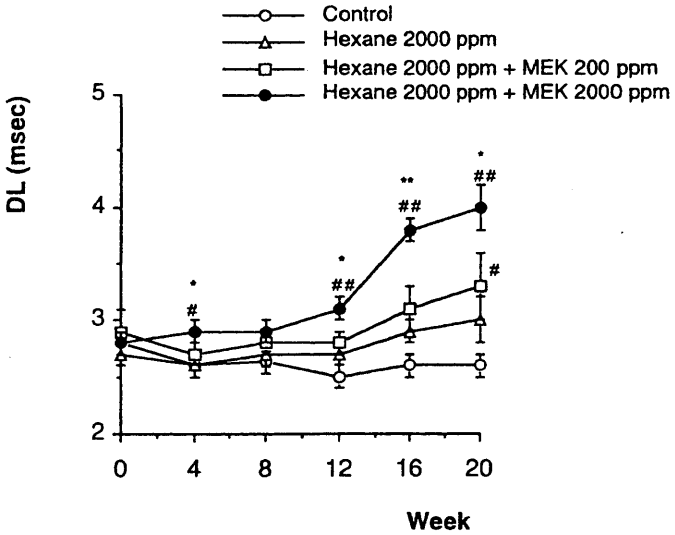


Fig. 3 Time course of the DL of rat's tail (mean values ± SEM). *Asterisks* indicate a significant difference from the 2000-ppm *n*-hexane group (*$P < 0.05$; **$P < 0.01$). The *pound sign* indicates a significant difference from the control (#$P < 0.05$; ##$P < 0.01$; Tukey's multiple comparisons)

24 時間の尿中 2, 5-ヘキサンジオンは 2000H+2000M 群で他の群の約 2 倍で、有意に増加していたが、20 週では有意差はなくなった(Fig. 4a)。また、曝露中の 12 時間の尿中 2, 5-ヘキサンジオンも同様であった(Fig. 4b)。しかし、曝露中の 12 時間の尿では検出された 2, 5-ヘキサンジオンに差はみられなかった(Fig. 4c)。

一方、曝露第 1 日目の 24 時間の尿中 2, 5-ヘキサンジオンは 2000H+2000M 群で 2000H 群よりも有意に少なかった。また、同日の曝露中の尿中 2, 5-ヘキサンジオンは 2000H+2000M 群と 2000H+200M 群で 2000H 群よりも有意に少なかった。

【考察】

これまでの動物実験ではヘキサンの生物学的モニタリング指標である尿中 2, 5-ヘキサンジオンはメチルエチルケトンの混合曝露によって減少するとの見解が一般的であったが、本実験では曝露第 1 日目ではヘキサン単独曝露群に比べて有意に減少するものの、その後、逆に有意に増加することが示された。従来、メチルエチルケトン混合曝露時における尿中 2, 5-ヘキサンジオンの減少は末梢神経への増強作用と矛盾しており、増強作用の機序について様々な見解が出されていたが、長期曝露における尿中 2, 5-ヘキサンジオンの増加が観察されたことでこの矛盾は基本的に解決されることになった。ヘキサン取扱作業の現場で働く作業者の曝露評価を行う際に、今回の実験で観察されたこの現象を考慮すれば、長期に曝露されている場合と短期曝露の場合で評価が異なることになり、やや複雑な検討が必要になることになる。しかし、長期的な曝露の場合には末梢神経毒性の原因代謝物である 2, 5-ヘキサンジオンの尿中検出量の増加が毒性増強という現象を説明することになり、末梢神経障害のリスク評価には優れた指標になり得る可能性がある。

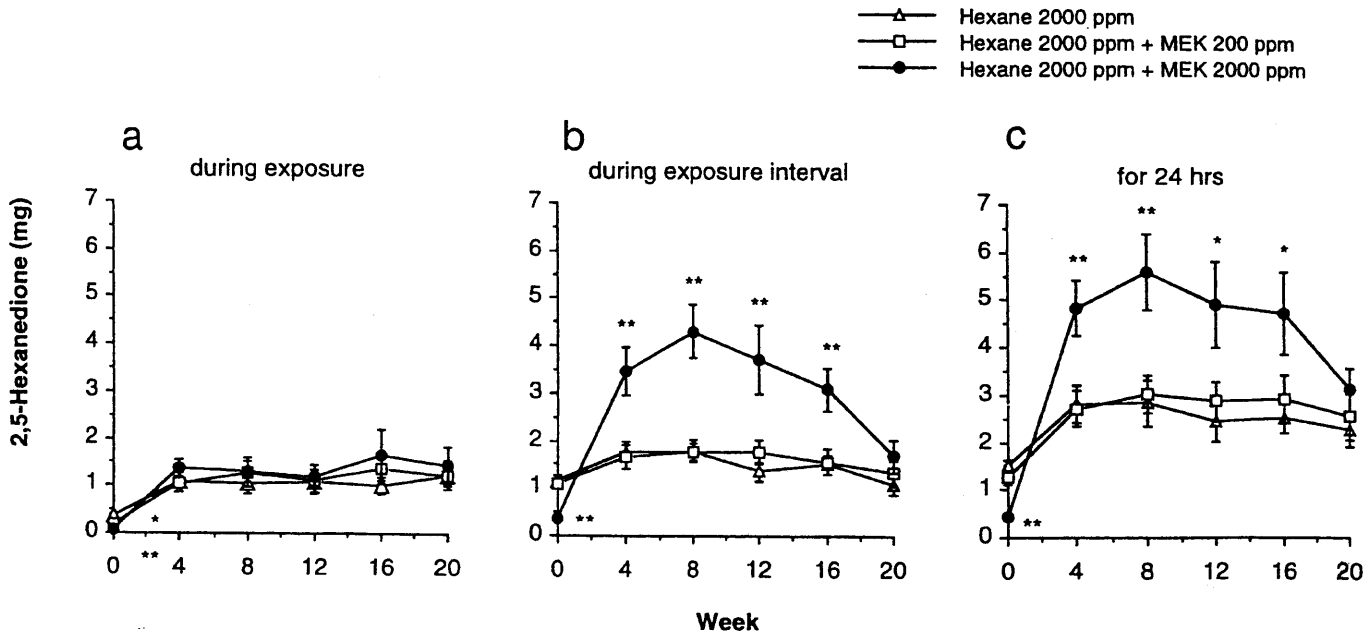


Fig. 4a–c Time course of urinary excretion of 2,5-hexanedione (mean values ± SEM). a Fraction collected during exposure. b Fraction collected during the exposure interval. c Sum of a and b. *Asterisks* indicate a significant difference from the 2000-ppm *n*-hexane group (*$P<0.05$; **$P<0.01$; Tukey's multiple comparisons)

Ⅳ. 研究２

ヘキサン、トルエンのヒトへの混合曝露における両溶剤代謝への相互作用に関する生理学に基づく薬物動態学的モデルによる検討

【背景・目的】

研究１から得られた所見より、ヘキサンの末梢神経毒性及び生物学的モニタリングはメチルエチルケトンの混合曝露によって無視できないほどの修飾を受けることが明らかになった。この知見は今後のフロン代替有機溶剤の生物学的モニタリングにも大きな問題点として考慮しなければならないと考えられる。ヘキサンの場合、他の有機溶剤のモニタリング指標との比較で挙げられる特徴はモニタリングの指標そのものが毒性の直接的な原因物質であることであろう。したがって曝露評価とともに間接的には毒性評価も可能となる点で有機溶剤毒性と曝露評価の研究上、有用な指標であるといえる。

そこでヘキサンのモニタリングを対象にコンピュータを用いたシミュレーションにより、他の有機溶剤との混合曝露における尿中2,5-ヘキサンジオンなど主な指標の変化を検討する研究に着手した。

今回の研究で用いた混合曝露の対象は、現在最も使用頻度が高いといわれているトルエンである。シミュレーションモデルとして使用したのは生理学に基づく薬物動態学的モデル（Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling、 以下 PBPK モデル）である。有機溶剤のモニタリング研究には動物実験、ボランティアを用いた人体曝露実験などが行われることがあるが、倫理上の問題、実際の労働現場での曝露に近い評価が困難である点など、問題点も多い。PBPK モデルを用いたシミュレーションは実際の労働現場に近い曝露条件を自由に作ることが出来る点にある。本研究は産業現場で実際に存在することが十分に推測される混合曝露条件下で曝露評価のためのモニタリングの指標、およびその他の指標がどのように変化するかを検討し、より正確な曝露評価を行うための留意点を示すことにある。

【方法】

これまでに報告されている PBPK モデルを改変しながら基本的なモデルを作成した。図に示すように人体をいくつかのコンパートメントに分ける。これらは肺コンパートメント(LC)、血管が密なコンパートメント(VRC)、血管が疎なコンパートメント(VPC)、脂肪組織コンパートメント(FC)、及び肝組織コンパートメント(Liver)である（Fig. 1)。一方、ヘキサンの代謝は２段階で行われる。すなわち、ヘキサンを水酸化してヘキサノールにする段階、さらにヘキサノールを2,5-ヘキサンジオンにする段階が存在する。これらの代謝過程は肝臓でのみ行われると仮定し、個々の代謝過程は Michaelis-Menten の式に従うとの前提で計算を行った。それぞれのコンパートメントでは溶剤または溶剤代謝物の流入・流出速度が同じであるという条件表に示した微分方程式を解いた（Table 1)。また、肺胞と動脈血は瞬時に平衡状態に達すること、静脈血は各組織とは動的な平衡状態にあるとの条件

で計算した。

モデリングに必要なパラメータを表に示した（Table 2)。これらの数値はこれまでに報告されているものを使用した。V_{max}は動物実験で得られた値を換算式、4.8×（体重）$^{0.75}$に代入して求めた。またK_mは動物種間の差がないものとした。

ヘキサノールから2,5-ヘキサンジオン、2,5-ヘキサンジオンからさらに他の代謝物への代謝の反応定数をそれぞれK_1、K_2とした。また、2,5-ヘキサンジオンの水コンパートメントへの移行、及び尿への排泄の速度定数をそれぞれK_3、K_4とした。

100 ppm のヘキサンに8時間曝露された労働者の24時間の2,5-ヘキサンジオン排泄量は平均2.8mgとした。この数値から肺胞換気量を10リットル／分、肺胞での保持率を20%とした場合の100 ppm 、8時間曝露におけるヘキサンの摂取量は約338 mgと計算できた。したがって吸入したヘキサンの0.83%が2,5-ヘキサンジオンとして排泄され、その量は尿中ヘキサン代謝物の5.5%になる。したがってK_1／K_1+K_2は0.055とした。

ヘキサンとトルエンの代謝は非競合的な相互作用が存在するとともに、それぞれは互いに影響を受けること、トルエンはヘキサン代謝の第一の段階に影響を及ぼすと仮定した。

Table 1. Mass balance differential equations for n-hexane in the PBPK model. Corresponding equations for toluene can be obtained from equations 1–5.

n-Hexane in lung compartment

$$V_L \cdot dC_{art,hx}/dt = Q_{alv} \cdot C_{inh,hx} + \Sigma (Q_i \cdot C_{i,hx}/L_{i,hx}) + Q_h \cdot C_{h,hx}/L_{h,hx} - Q_c \cdot C_{art,hx} - Q_{alv} \cdot C_{art,hx}/L_{b,hx} \quad (1)$$

$$C_{alv,hx} = C_{art,hx}/L_{b,hx} \quad (2)$$

n-Hexane in storage compartments

$$V_i \cdot dC_{i,hx}/dt = Q_i \cdot (C_{art,hx} - C_{i,hx}/L_{i,hx}) \quad (3)$$

$$V_h \cdot dC_{h,hx}/dt = Q_h \cdot (C_{art,hx} - C_{h,hx}/L_{h,hx}) - \upsilon_{h,hx} \quad (4)$$

Conversion of n-hexane to hexanols in liver compartment

$$\upsilon_{h,hx} = V_{max,hx} \cdot C_{h,hx}/((K_{m,hx} + C_{h,hx})(1 + C_{h,tol}/K_{i,tol})) \quad (5)$$

2,5-Hexanedione in liver compartment

$$dA_{h,hd}/dt = K_1/(K_1 + K_2) \cdot \upsilon_{h,hx} - K_3 \cdot A_{h,hd} \quad (6)$$

2,5-Hexanedione in water compartment

$$dA_{w,hd}/dt = K_3 \cdot A_{h,hd} - K_4 \cdot A_{w,hd} \quad (7)$$

2,5-Hexanedione in urine

$$dA_{u,hd}/dt = K_4 \cdot A_{w,hd} \quad (8)$$

Variables A: amount; V: volume of compartment in *l*. Subscripts b: blood/air; i: compartments r, f and p; u: urine; w: water compartment, Other symbols are explained in Fig. 1.

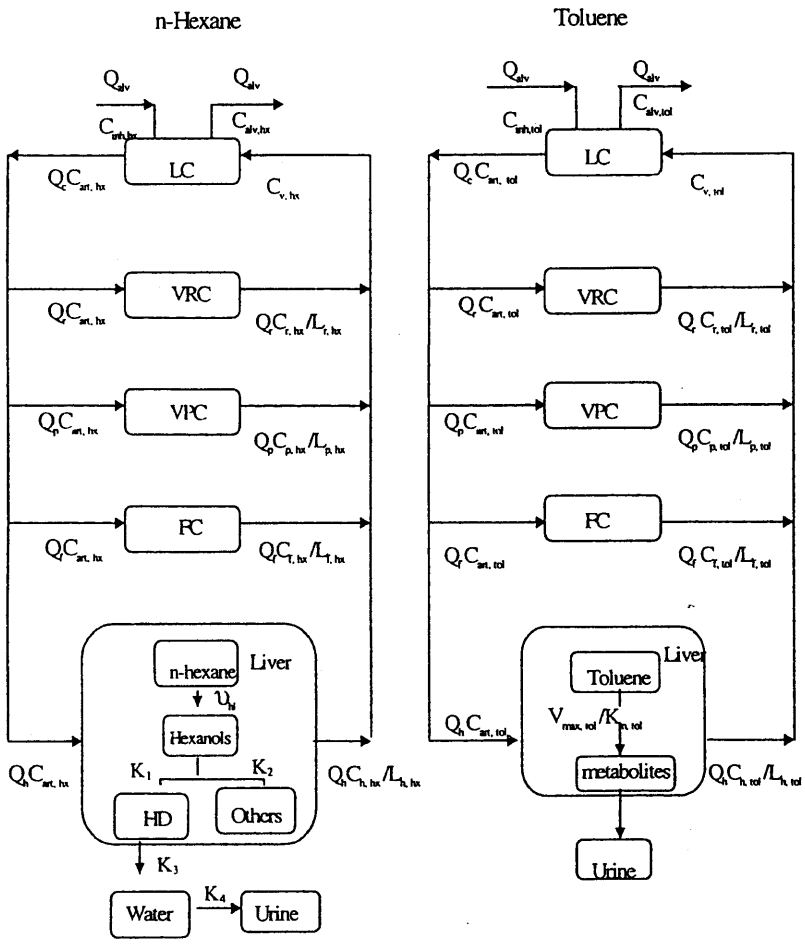


Fig. 1. Structure of PBPK model for combined inhalation exposure to n-hexane and toluene. LC: the lung compartment; VRC: the vessel-rich tissue compartment; VPC: the vessel-poor tissue compartment; FC: the fat compartment; Liver: the liver compartment; C: concentration in mg/*l*; L: Tissue/blood partition coefficient; Q: blood flow rate in L/min; subscripts alv and inh stand for alveolar air and inhaled air, respectively; c for cardiac output, l for lung, r for VRC, p for VPC, f for FC, h for liver, $\bar{v}$ for venous, art for arterial, hx for n-hexane, tol for toluene and 2,5-HD for 2,5-hexanedione. υ_{hl} is the conversion rate of n-hexane to hexanols. K_1 and K_2 represent the conversion of hexanols to 2,5-HD and other metabolites, respectively. K_3 describes the transfer of 2,5-HD to the water compartment and K_4 is the urinary excretion constant.

Table 2. Parameters used in the PBPK model for n-hexane and toluene

Compartment	Tissue Volume[a] (l)	Blood Flow[c] (l/min)			Tissue/Blood Partition Coefficient	
		Rest	25W	50	n-Hexane	Toluene
Lung (L)	V_L[b]	Q_c	Q_c	Q_c		
VRC	0.0371Wt	$0.51Q_c$	$0.32Q_c$	$0.27Q_c$	5[d]	4.64[g]
VPC	0.6100Wt	$0.19Q_c$	$0.41Q_c$	$0.51Q_c$	6.2[d]	1.54[g]
FC	0.2310Wt	$0.05Q_c$	$0.06Q_c$	$0.06Q_c$	130[d]	56.7[g]
LIVER	0.0314Wt	$0.25Q_c$	$0.21Q_c$	$0.16Q_c$	6.5[d]	4.64[g]
Parameter						
Cardiac output (Q_c) (l/min)		5.8	7.55	10.05		
Alveolar ventilation (l/min)		5.8	9	18		
Blood/air partition coefficient					0.80[d]	16.3[h]
Vmax (mg/min)					0.50[e]	1.94[i]
Km (mg/l)					0.587[e]	0.55[i]
$K_1/(K_1 + K_2)$					0.055	
K_3 (min^{-1})					0.003[e]	
K_4 (min^{-1})					0.0009[e]	
Inhibitory constant of toluene in relation to n-hexane ($K_{i,tol}$) (μM)					7.5[f]	
Inhibitory constant of n-hexane in relation to toluene ($K_{i,hx}$) (μM)						30[f]
Urine output (Q_u) (l/min)		$3.08 \cdot 10^{-5} \cdot wt^{0.82}$ [j]				
Body weight (Wt)		70 kg				

[a] From Davis and Mapleson[25]. [b] V_L= Volume of lung (0.6 l) + volume of arterial blood (1.4 l) + FRC (2.7 l)/blood: air partition coefficient[22]. [c] From Johanson *et al.*[21] [d, e, f] From Perbellini *et al.*[6, 23, 26] [g] From Gargas *et al.*[28] [h] From Fiserova-Bergerova[27]. [i] From Tardif *et al.*[19] [j] From Adolph[38].

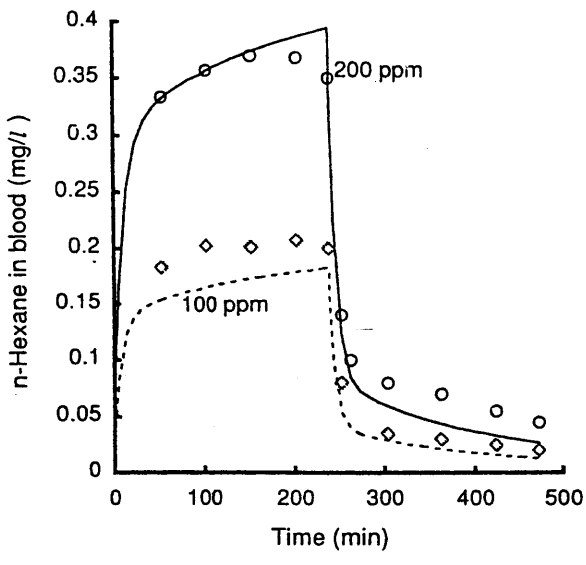


Fig. 2. Venous blood concentration of n-hexane during and after exposure to 100 or 200 ppm n-hexane for 4 h as suggested by the PBPK model. Spotted data are from Veulemans *et al.*[33]

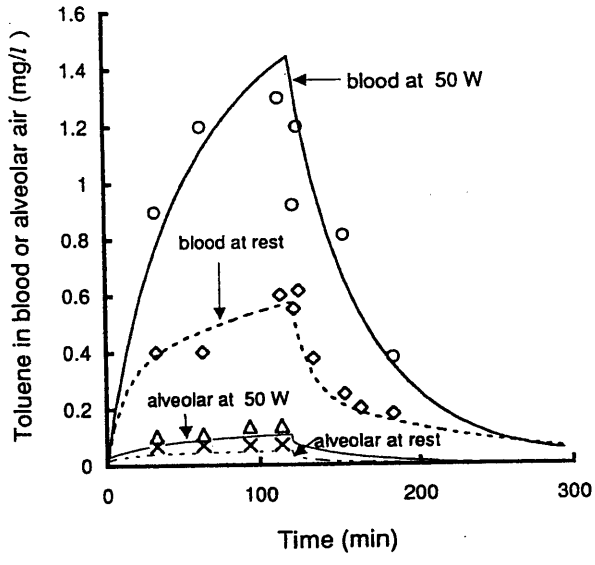


Fig. 3. Simulated pharmacokinetic behavior of toluene in blood and alveolar air during and after exposure to 300 mg/m³ (80 ppm) toluene for 120 min at rest or in 50 W work load condition. Spotted data are from Carlsson's human volunteer studies[34].

【結果】

Veulemans らが行ったボランティアによるヘキサン 100 ppm 及び 200 ppm の 4 時間曝露実験の結果と今回のシミュレーションによって得られた数値を比較した (Fig. 2)。また、Carlsson らが報告した 300mg/m^3 のトルエンを 120 分間、安静及び 50W の運動負荷において曝露した場合の血中、肺胞中のトルエン濃度とシミュレーションの値と比較した。いずれも実験値と近い値が得られていることがわかった (Fig. 3)。

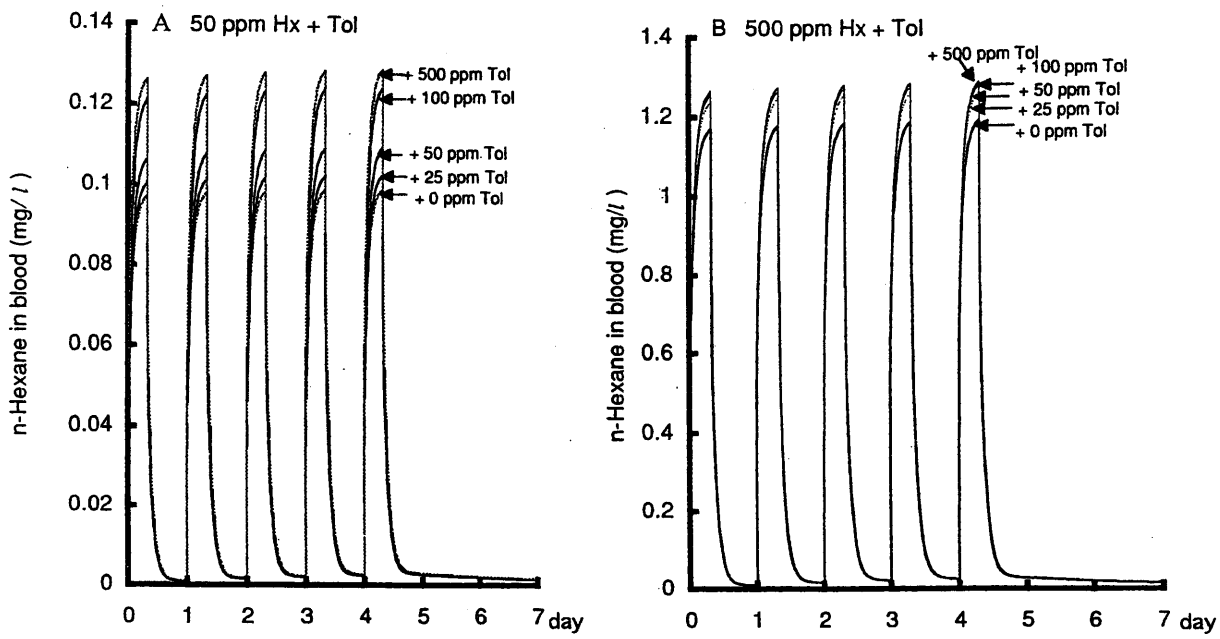


Fig. 4. PBPK predicted effect of co-exposure to n-hexane and toluene on the n-hexane concentration in venous blood. A standard man (70 kg) inhaled 50 ppm (A) or 500 ppm (B) n-hexane with 25, 50, 100 or 500 ppm toluene for 8 h per day during light work (25 W).

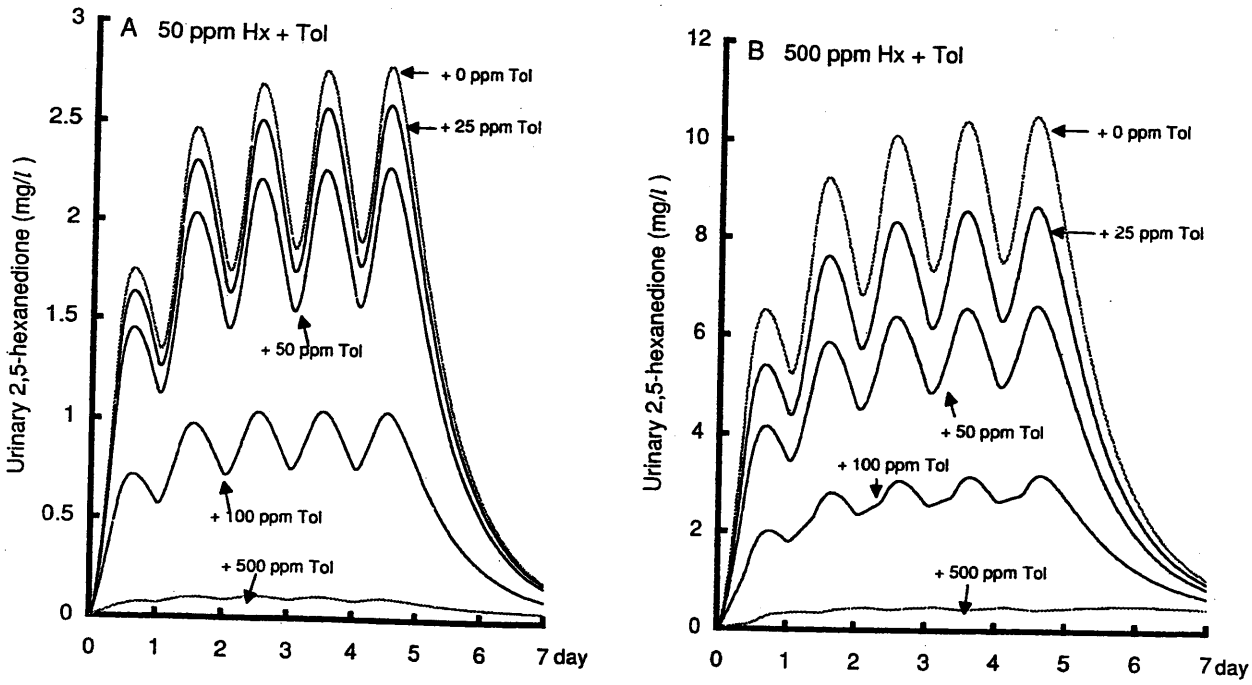


Fig. 5. PBPK predicted effect of co-exposure to n-hexane and toluene on urinary excretion of 2,5-hexanedione. A standard man (70 kg) inhaled 50 ppm (A) or 500 ppm (B) n-hexane with 25, 50, 100 or 500 ppm toluene for 8 h a day at 25 W work load.

50 ppm 及び 500 ppm のヘキサンに加え、0、 25、 50、 100、 500 ppm のトルエンを混合曝露した場合の 1 周間の血中ヘキサンの濃度変化について調べた。50 ppm ヘキサン曝露の場合、50、 100、 500 ppm のトルエン曝露は血中ヘキサンをそれぞれ 10%、25%、及び 30%増加させた。一方 500 ppm ヘキサン曝露の場合、25、 50、 100、 500 ppm のトルエン曝露は血中ヘキサンをそれぞれ 6%、7%、8%及び 8%増加させた(Fig. 4)。

また、同じ曝露条件での尿中 2、5-ヘキサンジオンの変化を調べた。ヘキサン単独曝露の場合には 1 日目の曝露で 1.8 mg/l となったが、5 日目には 2.8 mg/l となった。50 ppm ヘキサン曝露の場合、25、50、100、500 ppm のトルエンの混合曝露で尿中 2, 5-ヘキサンジオンはそれぞれ 7、18、62、96%減少した。500 ppm ヘキサン曝露の場合には尿中 2, 5-ヘキサンジオンはそれぞれ 18、37、70、95%減少した (Fig. 5)。

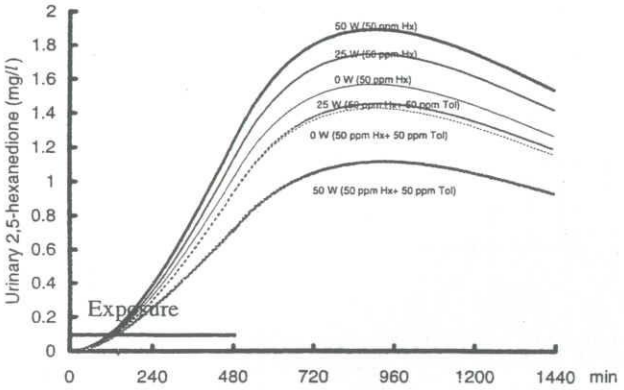


Fig. 6. Comparison of the effect of co-exposure to n-hexane and toluene on urinary excretion of 2,5-hexanedione in different physical activity as suggested by the PBPK model. A standard man (70 kg) inhaled 50 ppm n-hexane with 0 or 50 ppm toluene for 8 h a day at 0, 25, or 50 W work load.

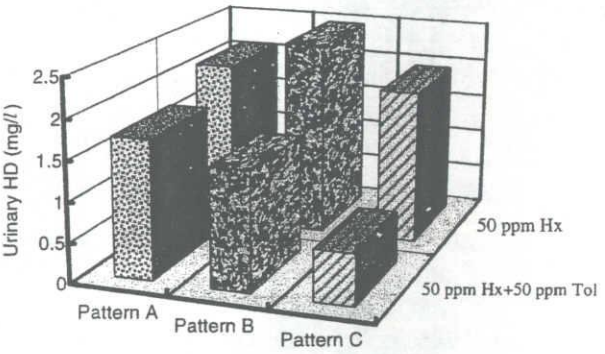


Fig. 7. Predicted effect of co-exposure to n-hexane and toluene on n-hexane metabolites in urine within different exposure scenarios, all with equal time-weighted averages of 50 ppm. All scenarios are 8-h exposures of a standard man (70 kg) during light work (25 W). Scenarios: (A) Continuous exposure to 50 ppm n-hexane and 0 or 50 ppm toluene. (B) Four 1-h exposures to 100 ppm n-hexane and 0 or 100 ppm toluene. (C) Two 1-h exposures to 200 ppm n-hexane and 0 or 200 ppm toluene.

また、体重 70 kg の平均的な男性が 0、 25、 50W の運動負荷を行った場合のヘキサン 50 ppm 曝露に加えて、0 または 50 ppm のトルエンの混合曝露に伴う尿中 2, 5-ヘキサンジオンの変化を調べた。運動負荷の増加に伴い、尿中 2, 5-ヘキサンジオンはそれぞれ 8、17、41%減少した(Fig. 6)。

時間加重平均がヘキサン、トルエンともに 50 ppm となる 3 種類の曝露形態の比較を試みた。すなわち、A) 8 時間のヘキサン、トルエン各 50 ppm の持続曝露、B) ヘキサン、トルエン各 100 ppm の 1 時間曝露を 4 回行う場合、C) ヘキサン、トルエン各 200 ppm の 1 時間曝露を 2 回行う場合の比較を行った。A、B、C それぞれの形態におけるヘキサン単独曝露に比べ、混合曝露における尿中 2, 5-ヘキサンジオンは 17%、40%、67%減少した(Fig. 7)。

トルエン、ヘキサンの混合曝露におけるトルエンの静脈血濃度を調べた。50 ppm のトルエンに加えて 25 ppm、50 ppm のヘキサンを混合曝露した場合、血中トルエンはそれぞれ 2 %、6%増加した。しかし、100 ppm、500 ppm のヘキサンを混合曝露した場合にはそれぞれ 22%、124%増加した(Fig. 8)。500 ppm のトルエンに 25、50、100、500 ppm のヘキサンを混合曝露した場合の血中トルエンの増加はそれぞれ 2%、4%、6%、11%であった。

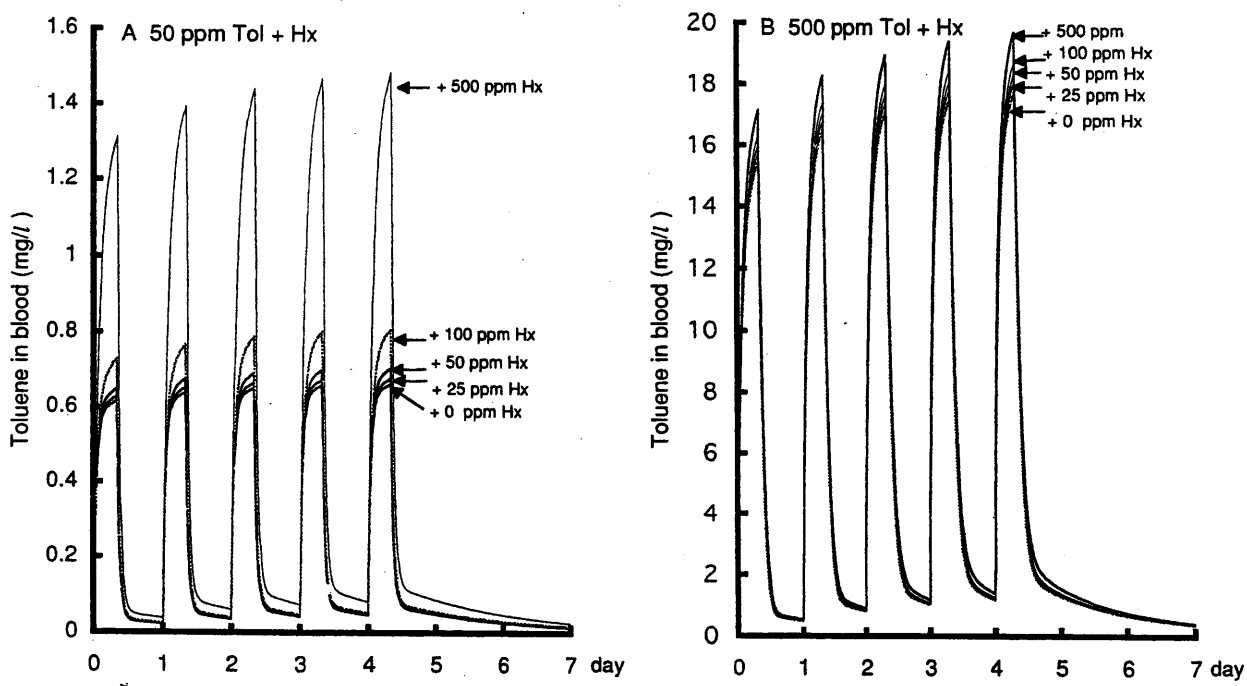


Fig. 8. PBPK predicted effect of co-exposure to n-hexane and toluene on toluene concentration in venous blood. A standard man (70 kg) inhaled 50 ppm (A) or 500 ppm (B) toluene with 25, 50, 100 or 500 ppm n-hexane for 8 h a day at 25 W work load.

【考察】

これまでに行われているヘキサン取扱職場における調査では今回のシミュレーションの結果と同様な所見が得られている。我々は混合曝露の組み合わせで一方の溶剤の濃度を高濃度と低濃度の２つの場合について検討したが、低濃度では血流そのものが代謝速度を規定する傾向が見られ、高濃度の場合には代謝に関わる酵素活性が代謝速度を規定することが明らかになった。また、運動負荷が加わることにより、肺胞換気量、心拍出量などの変化を介してモニタリング指標が大きく変わることも示された。さらに作業の現場でしばしば発生することが明らかである作業中の有機溶剤濃度の変化についても同様にモニタリング指標を変化させることがわかった。混合曝露は実際にはほとんどすべての有機溶剤取扱職場で存在しているといってよく、今回の研究結果はフロン代替有機溶剤のモニタリングにおいても曝露評価には特に混合曝露している他の有機溶剤、曝露濃度の変化、作業中の運動量などについて十分な注意を払う必要があることを示した。

Ｖ．研究３

2-ブロモプロパンの神経毒性に関する実験的研究

【背景・目的】

前述した韓国の電子部品工場における2-ブロモプロパンによる生殖障害の集団発生の事例を検討した結果、曝露された労働者の中には、生殖機能障害と貧血のほかに手足の麻痺、しびれなど末梢神経炎様症状を訴える者があったことが報告されている。この症状から我々は2-ブロモプロパンが末梢神経毒性をもつのではないかと考えた。これまでの報告にはなかった2-ブロモプロパンの新たな毒性であり、今後、当該溶剤の生物学的モニタリングを行う上でも、末梢神経障害の評価は曝露評価に伴って行わなければならない重要な生体影響評価の指標として明らかにしなければならないものであった。そこで、本研究ではラットを用いた2-ブロモプロパンの濃度段階別吸入曝露実験を行った。

【方法】

36匹のウィスター系雄性ラット（生後8週齢、SPF）を2週間飼育馴化した後、9匹ずつ４群に分け、そのうち２群には、小動物曝露チャンバーを用いて2-ブロモプロパン100 ppm、1,000 ppmを１日８時間、12週間曝露した。また、別の１群には1-ブロモプロパン1,000 ppmを１日８時間曝露したが、４週間目で衰弱し、体重減少も著しかったため、曝露を中断した。対照群には同様のチャンバー内で新鮮空気のみを与えた。曝露に用いた小動物曝露チャンバーは研究１で使用したものと同じである。飼育室の環境は24±1℃、相対湿度60±5%、照明リズムは午前９時から午後夜９時までを明るく、午後９時から翌日の午前９時までを暗くした。曝露は午後２時に開始し、午後10時に終了した。チャンバー内の環境のモニター及びガスクロマトグラフを用いて測定されたチャンバー内のガス濃度のモニターと制御はパーソナルコンピュータによって自動的に常時行われた。チャンバー内のガス濃度は設定されたガス濃度の±5%以内に制御した。体重は２週間に１回測定した。水、食餌は自由摂取とした。毒物の取扱は名古屋大学医学部動物実験指針に基づいて行われた。曝露開始前、及び曝露開始後４週間に１度、ラットの尾神経の神経伝導速度、遠位潜時を研究１と同様の方法で測定した。

ネンブタール麻酔下で総腓骨神経を切り出し、0.5%のオスミウム酸（pH7.4）で固定し、75%のエタノールに浸した後、50%のグリセリンに移し、実体顕微鏡下で神経繊維のときほぐしを行った。各群１匹をmodified Karnovsky液で、心臓から潅流固定し、脊髄、ヒラメ筋、坐骨神経を切り出した。切り出した組織を 2%オスミウム酸で固定した後、エポキシレジン包埋し、これから0.5μmの切片を作成し、トルイジンブルーで染色の後、光学顕微鏡で観察した。脳はパラフィン包埋を行い、10μm の連続切片標本を作り、Klüver-Barrera 法で染色し、光学顕微鏡で観察した。伝導速度のデータは、群ごとの平均値と標準偏差であらわし、分散分析の後、対照群と各曝露群の差をTurkeyの多重比較法で検定した。

【結果】

毎日の時間加重平均濃度の平均値及び標準偏差は、2-ブロモプロパン 100±7 ppm、1,003±55 ppm ならびに 1-ブロモプロパン 954±50 ppm であった。曝露開始 2 週間以降、2-ブロモプロパン 1,000 ppm 群では対照群に比べ、有意に体重が低く、体重増加抑制がみられた。2-ブロモプロパン 100 ppm 群では対照群に比べ、有意な体重の変化を示さなかった。脳重量は 1,000 ppm 群で有意に減少していた。2-ブロモプロパン 1,000 ppm 群では、8 週後に神経伝導速度が有意に低下し (Fig. 1)、遠位潜時は有意に延長した。12 週後には神経伝導速度の変化は有意ではなかったが、遠位潜時は対照群に比して有意に延長した。

末梢神経ときほぐし及びエポキシレジン包埋切片の光学顕微鏡観察では、ヘキサンなどの曝露でみられるような軸索の膨大はみられなかった。ときほぐし標本で、ミエリン鞘の異常を疑わせる球状のミエリンの膨大が観察されたが、坐骨神経の切片標本ではこのような異常をみつけることはできなかった脳、脊髄において神経細胞の変性、グリア増殖、ミエリンの異常をみつけることはできなかった。一方、2-ブロモプロパンの末梢神経毒性を明らかにする過程で、比較対照として検討した 1-ブロモプロパンに予想を超えた強い神経毒性があることが明らかとなった。4 週間曝露によって体重の著明な減少(Fig. 1)、遠位潜時の著明な延長が観察された(Fig. 2)。また、末梢神経ときほぐし標本における卵状ないし泡状のミエリン鞘の残渣、延髄薄束核神経繊維の膨大、小脳プルキンエ細胞の萎縮濃染が観察された。

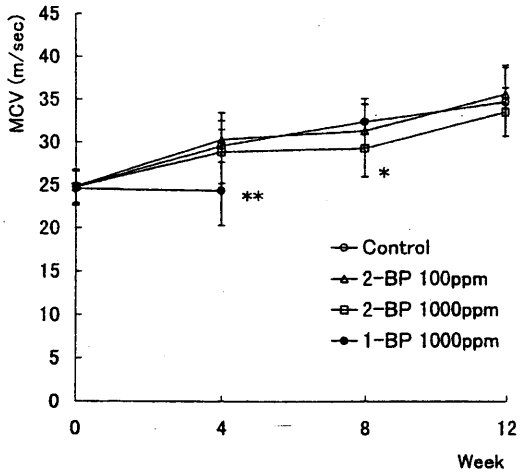


Fig. 1 Time course of MCV of rat's tail (mean values ± S.D.). Asterisks indicate a significant differnce from the control (** P< 0.01, *P<0.05; Dunnett's mutiple comparisons)

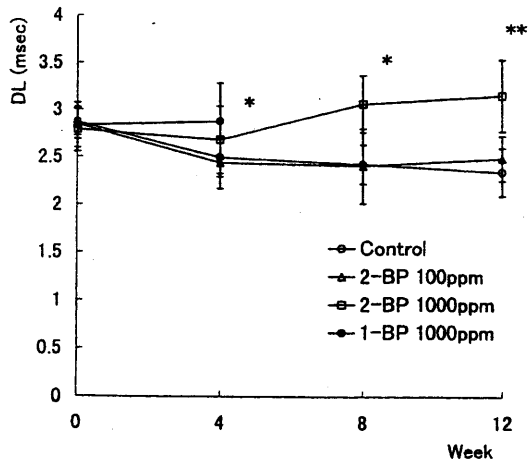


Fig. 2 Time course of DL of rat's tail (mean values ± S.D.). Asterisks indicate a significant differnce from the control (**P<0.01, *P< 0.05; Dunnett's mutiple comparisons)

【考察】

2-ブロモプロパン 1,000 ppm 曝露群では遠位潜時が量依存的にまた、曝露期間とともに延長した。神経伝導速度は 8 週目で有意に遅延したが、12 週目では遅延は有意ではなかった。遠位潜時は神経伝導と神経-筋接合部における化学伝達にかかる時間を含んでいるため、この遠位潜時の延長は神経の電気的興奮の伝導並びに神経-筋接合部における伝達の両方あるいはいずれかの過程の障害を示している。神経伝導速度の変化の程度が小さいことから、

近位の比較的太い神経では神経伝導速度の低下は小さいと考えられた。ヘキサンによる末梢神経障害で見られるように、末梢神経障害が遠位からすすむ場合は遠位潜時が、神経電動速度に比べ、早い時期に変化することが知られている。ときほぐし所見ではミエリン鞘の球状膨大が観察されたが、エポキシレジン包埋標本では、おそらくその変化部分が少なかったために観察できなかった。この実験では比較対照として1-ブロモプロパン1,000 ppmを曝露したが、その結果、 1-ブロモプロパン 1,000 ppm 曝露群では 4 週後に後肢の麻痺と、それに引き続く衰弱が起こった。この群の末梢神経ときほぐしでは卵形ないし泡状のミエリン鞘の残渣が観察された。1,000 ppm の 2-ブロモプロパン曝露に比べ、同濃度の 1-ブロモプロパン 1,000 ppm 曝露では早い時期に神経伝導速度と遠位潜時が変化したことにより、1-ブロモプロパンが 2-ブロモプロパンよりも強い神経毒性をもつことが示された。

Ⅵ. 研究４

1-ブロモプロパンの神経毒性に関する実験的研究

【背景・目的】

フロン代替有機溶剤で取扱作業者の健康問題を発生させたものとして２-ブロモプロパンが存在することは既に述べた。２-ブロモプロパンについてはその後日本産業衛生学会でも許容濃度の検討が進められている。産業界では引続き、新しいフロン代替有機溶剤の開発・製造が進められているが、問題が見つかった２-ブロモプロパンに代り、位置異性体である1-ブロモプロパンの導入が一部で進められている。これも２-ブロモプロパンと同様の臭素系洗浄剤に属し、不燃性、易揮発性といった優れた性質をもっているが、これも毒性についてはほとんど報告がなく、２-ブロモプロパンで引き起こされた問題を再度繰り返すことが懸念される。したがって本研究では現時点での有力なフロン代替有機溶剤である1-ブロモプロパンの毒性を２-ブロモプロパンと比較しながら明らかにすることを目的とする。

【方法】

44 匹のウィスター系ラット（９週齢、SPF）を無作為に 4 群に分け、小動物曝露チャンバーを用いて 1-ブロモプロパン 800 ppm、 400 ppm、 200 ppm に 1 日 8 時間、12 週間曝露した。なお、対照群は常時新鮮空気に曝露させた。体重は毎週測定した。水、食餌は自由摂取とした。動物の取扱は名古屋大学医学部動物実験指針に基づいて行われた。各群の 9 匹のラットについては、前脚握力、後脚握力（屈筋筋力）、神経伝導速度を研究１と同様の方法で曝露直前、ならびに曝露開始後 4 週間毎に測定した。前脚、後脚の握力はプッシュプルスケールを用い、Meyer らの方法に準じて測定した。

また、曝露開始後第 11 週目に水平上及び 25 度傾斜斜面におけるラットの歩行状態をビデオカメラで撮影記録した。斜面は正常ラットが楽に登ることができる摩擦のある粗い布を用いた。

曝露終了時にペントバルビタール麻酔下で腹部大動脈から全血採血を行った後、すみやかに脳を切り出し、脳の各部位の重量を測定した。血液生化学検査は自動分析装置（Hitachi model 736-10 Auto Analyzer）を用いて行った。

さらに、上記測定に用いた 9 匹とは別のラットを各群 2 匹ずつ、中性緩衝ホルマリン液及び Zamboni 液にて心臓から灌流固定を行った。中性緩衝ホルマリン液によって固定したラットからは脛骨神経筋枝を切り出し、0.5%オスミウム酸(pH7.4)に 15 分間浸した後、30%エタノールにて発色させた。最後に 50%グリセリン液に浸し、注射針にて実体顕微鏡下で解きほぐしを行った。また、脳を切り出し、視交差、乳頭体尾側端、小脳傍片葉、延髄薄束核を通る横断面で切断した。脊髄については腰膨大を切り出した。パラフィン包埋の後、5μm の切片を作成し、Klüver-Barrera 法で染色し、光学顕微鏡で観察した。Zamboni 固定したラットからは脛骨神経を切り出し、トルイジンブルーによって染色、光学顕微鏡で観察した。

【結果】

曝露濃度の実測値は 208±15 ppm、412±24 ppm、821±38 ppm であった。曝露開始後 11 週目での観察では、800 ppm 曝露群では、身繕いの低下による表皮の汚れ、後足指の外転不良（中指を中心にして指を開くことができない）、後足の地面に対する蹴りの力の低下、足底を上にした足背での着地、歩行後後脚の早期の着地、斜面における重力に抗しての静止不能が観察された。上記所見は程度の差はあるものの、800 ppm 群すべてのラットに観察された。

前肢握力（Fig. 3）、後肢握力が濃度依存的、期間依存的に弱くなった。800 ppm で神経渣電動速度は対照群に比べ、有意に減少し、遠位潜時は有為に延長した（Fig. 4、 5）。大脳重量は 800 ppm で対照群に比して有意に減少したが、小脳重量、脳幹重量の変化は有意ではなかった。また、800 ppm 群ラットのときほぐし標本(Fig. 6)では、卵形状または泡状のミエリン鞘残渣が観察され、エポキシレジン包埋標本でもミエリンの変性あるいは節間脱髄が観察された。血液中 CPK 活性は量依存的に減少した。脳の視交差、乳頭体尾側面、小脳傍片葉、延髄薄束核を通る横断面および膨大の他には、著明な変化は観察されなかった。

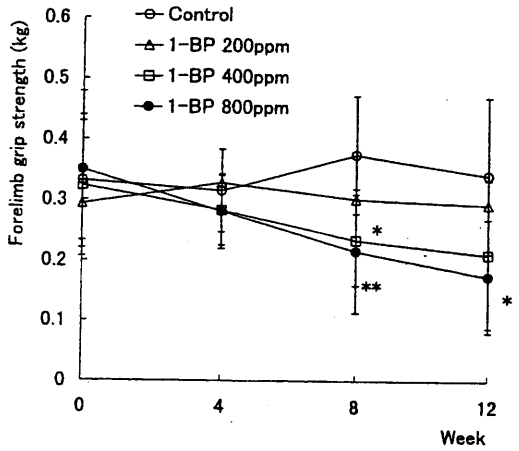


Fig. 3 Time course of forelimb grip strength (mean values ± S. D.). Asterisks indicate a significant differnce from the control (**P<0.01, *P<0.05; Dunnett's mutiple comparisons)

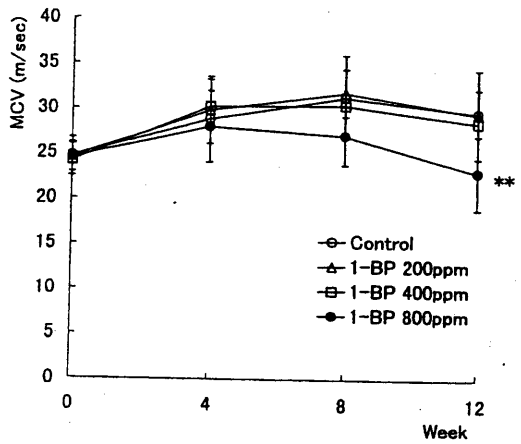


Fig. 4 Time course of MCV of rat's tail (mean values ± S. D.). Asterisks indicate a significant differnce from the control (**P<0.01, *P<0.05; Dunnett's mutiple comparisons)

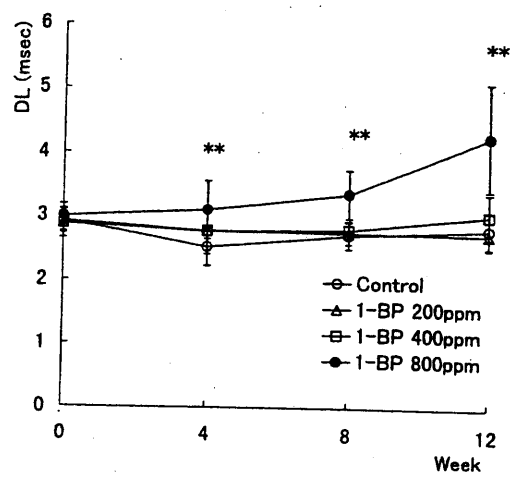


Fig. 5 Time course of DL of rat's tail (mean values ± S. D.). Asterisks indicate a significant differnce from the control (**P<0.01, *P<0.05; Dunnett's mutiple comparisons)

Fig. 6 Photomicrograph of unraveled muscle branch of posterior tibial nerve. Ovoid or bubble-like debris of myelin sheaths was observed.

【考察】

1-ブロモプロパン 800 ppm 群では 11 週目で後脚の筋力低下を呈する所見が観察された。後脚の蹴り力の低下は下肢屈筋群の筋力低下、後脚の伸側での着地は下肢伸筋群の筋力低下を意味する。歩行時後脚の早期の着地は、反対側後脚の屈筋群筋力低下による体幹重量指示の困難を示唆すると考えられる。また、1-ブロモプロパンが量依存的、期間依存的に四肢握力を低下させ、電気生理学的にも末梢神経伝導速度を低下させることが明らかとなった。ときほぐし所見では、基本的に研究 3 における 1,000 ppm1-ブロモプロパン曝露群の結果を確認するとともに、エポキシレジン包埋標本でもミエリンの変性像を確認した。研究 3 でも観察された小脳プルキンエ細胞の濃染、萎縮像は観察されなかった。また、血液中 CPK 活性値が低下していたが、CPK 活性はアクリルアミド曝露においても低下することが知られており、毒性機序と関係している可能性がある。CPK が神経障害と関連した有効な生物マーカー候補であることが期待される。

Ⅶ. 研究 5

1-ブロモプロパン製造工場労働者の曝露量と健康影響に関する調査研究

【背景・目的】

これまでの研究の結果、フロン代替有機溶剤、1-ブロモプロパンのラットにおける神経毒性、生殖毒性が明らかになった。最近、米国で 1-ブロモプロパンの曝露を受けた労働者の神経障害の症例が報告されている。1-ブロモプロパンは日本、米国でフロン代替溶剤として使用されており、この物質のヒトにおける量－反応関係の推定は重要な課題になっている。我々は 1-ブロモプロパン製造工場の労働衛生学的調査を行い、曝露量と健康影響の評価を行った。

【方法】

中国宜興市にある 1-ブロモプロパン製造工場に働く 24 名の女性、13 名の男性労働者を対象に、自覚症状の問診、パッシブサンプラーによる曝露濃度の時間加重平均値、尿中 1-ブロモプロパン濃度、血漿 CK 活性を調べた。さらに環境中 1-ブロモプロパン濃度は検知管を用いて測定した。尿は 20ml ヘッドスペースバイアルにほぼ一杯入れ、アルミシールキャップ封入し、4℃で保存、搬送し、パージアンドトラップ方式によって FID 付 GC に導入して測定した。曝露量と尿中 1-ブロモプロパン、血漿 CK 活性とについてピアソンの積率相関係数とスピアマンの順位相関係数を求めた。前者では各変数の分布が正規分布と仮定できなかったため、値を平方根変換した。

【結果】

作業中の自覚症状として粘膜刺激症状が最も多かったが、めまいなどの中枢神経症状もみられた（表１）。26 人の個人曝露量と尿中 1-ブロモプロパン量との関係は有意な相関を示した（図１・ピアソンの係数 R=0.64、スピアマンの係数 $\rho=0.61$、いずれも $p<0.01$）。血漿 CK 活性と曝露量との相関はスピアマンの係数のみで有意（$p<0.05$）で $\rho=-0.49$ であったが、男性、女性別での分析では有意でなかった。

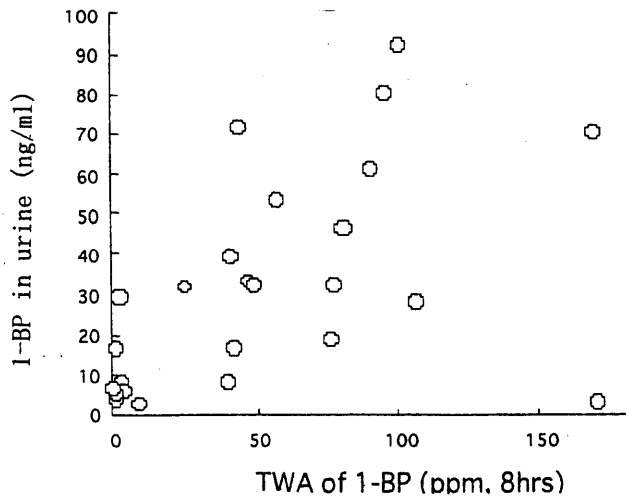


図１ 1－BP 曝露量と尿中 1 - BP との関係

表 1 作業中の自覚症状

（合計 36 人、複数回答可）

	陽性数	陽性率
変なにおいがする	21	57%
鼻が刺激される	17	46%
のどがいたい	13	35%
眼がいたい	12	32%
変な味がする	8	22%
めまいがする	8	22%
眼がかすむ	6	16%
頭がふわふわする	4	11%
頭がおもい	4	11%
頭が痛む	4	11%
顔がほてる	1	3%
よった感じがする	1	3%

【考察】

時間加重平均がほぼ 100 ppm 以下の曝露で中枢神経への影響を疑わせる自覚症状がみられた。尿中 1-ブロモプロパン値は個人曝露量と有意な正の相関を示し、有力な曝露指標のひとつになる可能性がある。ラットでは 1-ブロモプロパン曝露による CK 活性減少がみられている。CK 活性が生物指標として利用可能かどうかについては結論が出せなかった。

Ⅷ. 本研究の結論

1．既存の有機溶剤であり、モニタリング研究に有用なヘキサンを用いた動物実験ではメチルエチルケトンの混合曝露により、急性期にはヘキサンのモニタリング指標の尿中2,5-ヘキサンジオンは減少するが、長期曝露に伴い、逆に増加する。

2．Physiologically based pharmcokinetic modeling を用いたシミュレーションによるヘキサンとトルエンの混合曝露では同一濃度のヘキサンでも混合曝露するトルエン濃度の増加に伴い、により、モニタリング指標の尿中2,5-ヘキサンジオンは減少する。また、曝露濃度の変動、運動負荷などによってもモニタリング指標にかなりの変化が起こる。

3．フロン代替有機溶剤の１つである2-ブロモプロパンは末梢神経毒性をもつ。また、2-ブロモプロパンの異性体 1-ブロモプロパンは 2-ブロモプロパンよりもさらに強い神経毒性をもつ。

4．1-ブロモプロパン取扱作業者の曝露評価に用いる生物学的モニタリング指標として尿中1-ブロモプロパンは実用できる可能性がある。また、1-ブロモプロパンによる生体影響の指標としてCK活性の利用可能性を検討したが、結論は出せなかった。

以上を踏まえ、今後、ブロモプロパン類取扱職場での調査を重ね、それらの生物学的モニタリングに利用できる種々の指標の有効性について引続き検討しなければならない。また、生体影響の指標についても生物学的モニタリング指標と同様、利用できるものを検討する必要がある。