

低濃度n-ヘキサン曝露の指標としての遊離および 総2, 5-ヘキサンジオンの有用性

坂井 公^{1,2)}, 中嶋 義明³⁾, 森田 陽子^{1,2)}

井上 修⁴⁾, 村田 勝敬⁵⁾, 小野崎幾之助⁶⁾

¹⁾ 東京労災病院産業中毒センター, ²⁾ 同 産業中毒研究センター, ³⁾ 同 検査科, ⁴⁾ 東北労災病院検査科,

⁵⁾ 秋田大学医学部環境保健学, ⁶⁾ 秋田産業保健推進センター

(平成16年6月17日受付)

要旨: n-ヘキサンに低濃度(16.1ppm以下)曝露する作業員において, 尿中代謝物2, 5-ヘキサンジオン(HD)を加水分解して測定した総HD(tHD)と加水分解しないで得られる遊離のHD(fHD)を測定して個人曝露濃度と比較した. n-ヘキサンは仏壇製造工場の金箔張りの工程で使用され, その工程に従事する作業員(直接曝露する比較的高濃度群, A群)とその周辺の作業員(周辺で曝露する低濃度群, B群)を対象とした. 有機溶剤に曝露しない別の事業所の作業員(C群)についてfHDを測定したが検出限界以下であった. A, B群の個人曝露濃度の平均はそれぞれ7.59, 0.409ppmであり, fHDは0.110, 0.019mg/l, tHDは0.620, 0.292mg/lであった. tHDおよびfHDとも個人曝露濃度と相関し, 生物学的モニタリングとして有効であることが明らかとなった. fHDは補正なし, tHDはクレチニン補正の方が個人曝露濃度との間で良い相関が得られ, A, B群間の差も明確であった.

(日職災医誌, 52: 308—314, 2004)

—キーワード—

n-ヘキサン, ヘキサンジオン, 遊離ヘキサンジオン, 生物学的モニタリング

はじめに

n-ヘキサンは接着剤, 塗料, 精密機械の洗浄などとして使用される他¹⁾, ホワイトガソリンの成分としても含まれる²⁾. これらn-ヘキサンを使用する作業現場ではn-ヘキサンは主として経気道的に吸収されるが, 皮膚や消化管からの吸収もあると考えられる. 吸収されたn-ヘキサンは, 代謝により2, 5-ヘキサンジオン(HD), 4, 5-ジヒドロキシ-2-ヘキサノン, 2, 5-ジメチルフランなどとなり, 大部分は抱合体として尿中に排泄されるが, 一部は遊離の状態でも排泄される³⁾. 主要な尿中代謝物, HDの尿中排泄の半減期は13~14時間とされている⁴⁾⁵⁾. n-ヘキサンによる末梢神経障害はn-ヘキサンの主要代謝物であるHDによると考えられている⁶⁾⁷⁾.

n-ヘキサン曝露者の生物学的モニタリングとしては一般には尿中を酸加水分解して得られる抱合体HDと遊離のHD(fHD)を合わせた総HD(tHD)が測定される.

加水分解により尿中に検出されるHDの大部分は4, 5-ジヒドロキシ-2-ヘキサノンのグルクロン酸の抱合体に由来すると考えられている⁸⁾⁹⁾. 有機溶剤中毒予防規則によるn-ヘキサン曝露者の生物学的モニタリングでも加水分解して得られるtHDにより評価される. しかし, 日本産業衛生学会は生物学的許容値として酸加水分解なしで測定するfHDの許容値も提案している³⁾.

本研究では管理濃度以下の低濃度n-ヘキサン曝露作業員の生物学的モニタリングとしてtHDとfHDの測定を行い, 両測定値を比較し曝露評価としての有用性を検討した.

材料と方法

対象は仏壇製造業に従事する作業員60名(男子32名, 女子28名)で, 作業は, 研磨, 金箔張り, 組み立て, 営業などに分かれていた. n-ヘキサンを扱う作業は金箔張りに限られ(直接曝露する比較的高濃度群, A群, 19名), 他の工程の作業員(周辺で曝露する低濃度群, B群, 41名)では, 吹き付け作業にキシレン, 研磨にはスチレンを主に使用していた. このほか, n-ヘキサンを使用しない他の事業所の対照作業員(C群, 30名)につ

いても尿を採取した。

60名の作業員で、先に報告した酸加水分解法¹⁾によりtHDを測定したほか、利用可能な尿量のある検体、34名(A群10名、B群24名)については酸加水分解なしに測定する方法でも測定してfHDを得た。酸加水分解する方法では、尿3mlに塩酸0.3mlを添加して2時間沸騰水中で加水分解した後、ジクロロメタンにより抽出した。分析はオートサンプラーとFID検出器を付けたガスクロマトグラフ(島津GC17)にて行った。用いたキャピラリカラムはTC1701(GLサイエンス社製、30m、0.53mmID、1 μ m)である。加水分解しない方法では酸添加の有無による測定への影響を比較した。酸無添加、加水分解なしではジクロロメタンによる抽出の際にエマルジョンとなるため、1gの塩化ナトリウムを添加して遠心分離し抽出した。尿中fHD、tHDはクレアチニン(Cre)および比重の測定も行い補正した。クレアチニンおよび比重の測定はそれぞれヤッフエ法、蛋白屈折計(エルマ製D型)によった。

n-ヘキサンの個人曝露濃度は活性炭入り個人サンプラー(3M製)により捕集を行いジクロロメタンによる脱着後、ガスクロマトグラフ質量分析計(パーキンエルマ社、オートシステムガスクロマトグラフ、Q-マス910)にて測定した。カラムはスペルコワックス10(スペルコ社製、60m、0.32mmID、0.5 μ m)を用いた。

結 果

n-ヘキサンの代謝物である2, 5-ヘキサンジオン(HD)を加水分解なしで測定する方法では、酸を添加すると無添加に比べわずかに高い値を示す検体もあり、HD以外の物質の測りこみのあることが考えられた(Fig. 1)。このため加水分解なしで測定する方法では酸を添加しないこととした。この方法では非曝露対照者、C群では検出限界(ND=0.01mg/l)以下であった。

今回調査した仏壇製造業ではn-ヘキサンは金箔貼りの工程で使用されるホワイトガンソリンに含まれていた。この工程(A群、10名)のn-ヘキサンの平均曝露濃度は7.59ppmで、その範囲は0.01~16.1ppmであった。これ

以外の周辺の工程(B群、24名)でも平均0.409ppm、その範囲は0.01~1.7ppmの曝露が認められた。

34名のAおよびB群の個人曝露濃度、tHD、fHDの平均とSDをTable 1に示す。AB群間ではn-ヘキサン個人曝露濃度、tHD、fHDのいずれも有意差が認められた。しかし、tHDでは両群間の差は未補正(p<0.01)に比べクレアチニン、比重補正(p<0.001)でより明確になるが、fHDでは逆に補正なし(p<0.001)の方がクレ

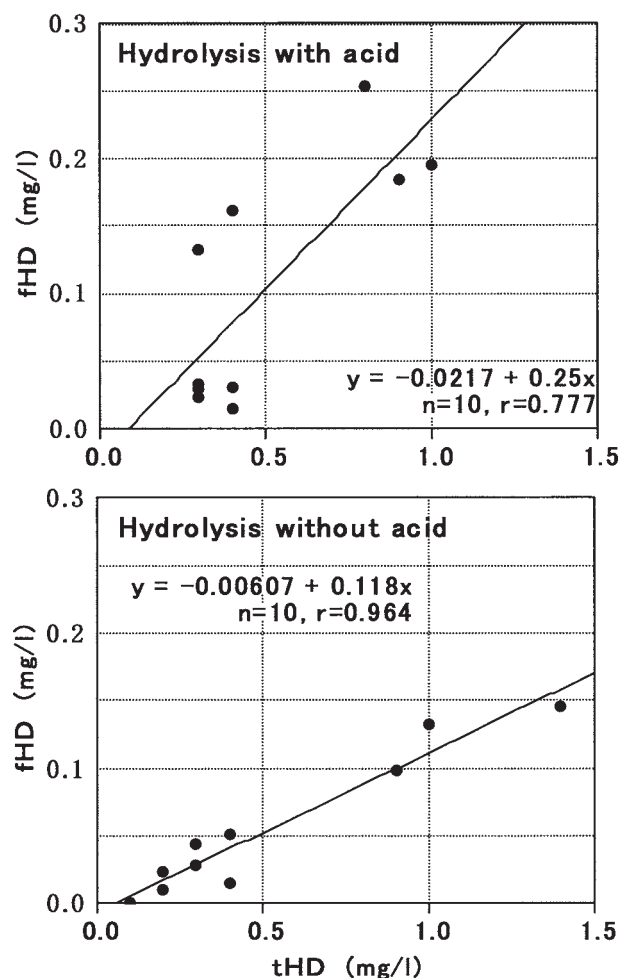


Fig. 1 Relationship between fHD and tHD in hydrolysis with or without acid.

Table 1 Average levels and SD of personal exposure levels of n-hexane, tHD and fHD levels in exposure groups.

Groups	Personal exposure level (ppm)	tHD mg/l	tHD mg/l (SG=1.02)	tHD mg/g Cre	fHD mg/l	fHD mg/l (SG=1.02)	fHD mg/g Cre
A + B	avrage	0.388	0.425	0.443	0.046	0.054	0.063
	SD	0.278	0.263	0.322	0.050	0.064	0.086
A	avrage	0.620	0.723	0.845	0.110	0.136	0.167
	SD	0.262	0.223	0.331	0.049	0.067	0.101
B	avrage	0.292	0.301	0.275	0.019	0.020	0.020
	SD	0.228	0.163	0.102	0.016	0.014	0.016

a: p < 0.001 between group A and B b: p < 0.01 between group A and B

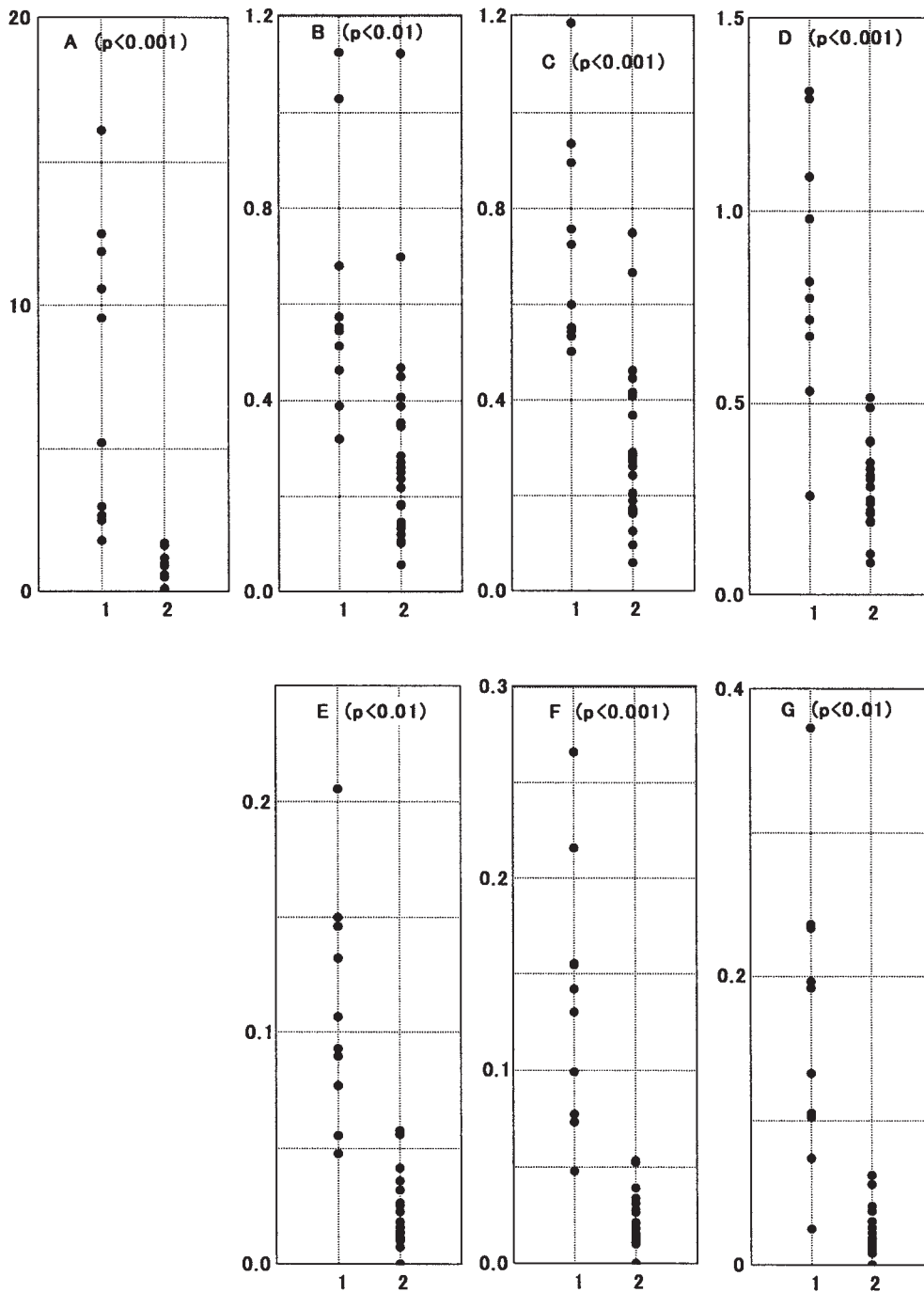


Fig. 2 Comparison of personal exposure levels, tHD and fHD levels in two groups.

1: Exposed group, 2: Non-exposed group. A: Personal exposure levels of n-hexane (ppm), B: tHD (mg/l), C: tHD (mg/l, SG=1.020), D: tHD (mg/g Cre), E: fHD (mg/l), F: fHD (mg/l, SG=1.020), G: fHD (mg/g Cre).

アチニン補正 ($P < 0.01$) より両群間の差がはっきりする (Fig. 2).

A群とB群をあわせてfHD (y) 値と加水分解によるtHD (x) とを比較すると、両者の間には $y = -0.00562 + 0.132x$ ($n = 34$, $r = 0.730$) の関係が得られた (Fig. 3). A群のみでは $y = 0.0296 + 0.13x$ ($n = 10$, $r = 0.703$), B群では $y = 0.00587 + 0.0443x$ ($n = 24$, $r = 0.640$) となり、B群ではtHDに対するfHDの割合が低下する傾向

にあった。tHDに対するfHDの割合はA群とB群でそれぞれ18.7% (9.6~29.1%), 7.3% (0~21.1%)であった。

Fig. 4はfHDおよびtHDとn-ヘキサン個人曝露濃度と関連を示す。両者の間には良好な相関が認められ、後者では比重およびクレアチニン補正で相関の改善が認められるが、前者では補正なしの方がより良い相関を示し、補正による相関の改善は認められなかった。

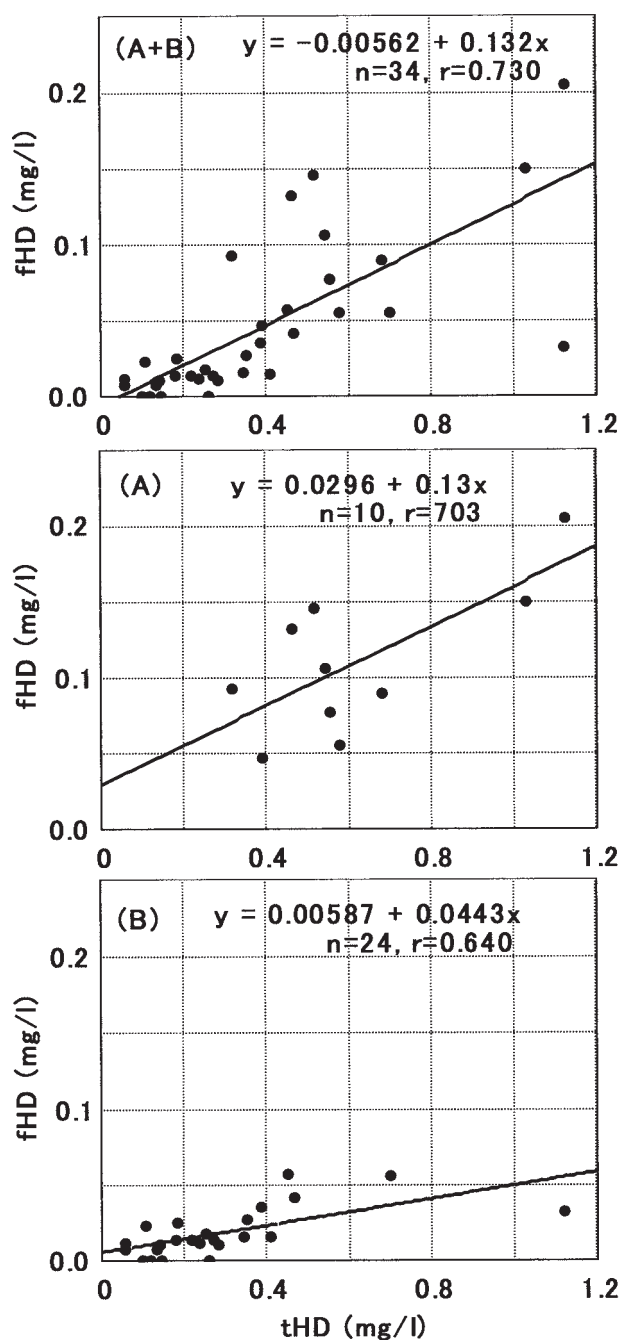


Fig. 3 Relationships between fHD and tHD in groups A+B, A, and B.

Fig. 5は全作業員 $n = 60$ におけるtHDとn-ヘキサン個人曝露濃度との関連である。この場合(tHD)も比重またはクレアチニン補正によって相関の改善が認められた。

考 察

加水分解して測定する場合(tHD)は、未補正に比べ補正(比重またはクレアチニン)によりA群とB群の差がより明確になり、加水分解なし(fHD)では逆に補正しない方がより両群間の差がはっきりすることがFig. 2

で示された。これはFig. 4の相関図によっても裏付けられる(後述)。即ち、加水分解した場合にはクレアチニン補正が有効であるが、加水分解しない場合には補正によらない方が曝露の有無をより明らかに示すことが明らかになった。

ヘキサン曝露の指標として、ACGIHは2000年までは加水分解によるtHDのクレアチニン補正値を採用¹⁰⁾していたが、2003年にはBEI(生物学的曝露指標)としてfHDをクレアチニン補正しないで0.4mg/lと設定した¹¹⁾。日本産業衛生学会ではtHDのみならず、fHDをもクレアチニン補正してそれぞれ、3mg/gCre、0.33mg/gCreの生物学的許容値を提案している³⁾。これらの尿中代謝物濃度は許容濃度40ppmに対応するものとして設定されているものと考えられる。一方、我が国のn-ヘキサンの特殊健康診断では加水分解したtHDをクレアチニン補正せず、2および5mg/lにより分布区分、評価している。この様に、n-ヘキサン代謝物の評価には加水分解とクレアチニン補正に関連して未だ統一した見解が得られていない。

今回の測定では個人曝露濃度とクレアチニン補正した尿中tHDまたはfHDとの間の回帰式はいずれもよい相関係数($r > 0.8$)を示していた(Fig. 4)。この回帰式から計算すると、tHD、fHDの許容濃度対応値はそれぞれ2.8、0.7mg/gCreとなる。前者は日本産業衛生学会の生物学的許容値に近いが、後者はより高値となった。この理由の一つとしてfHDをクレアチニン補正値で比較する問題があげられる。即ち、fHDはクレアチニン補正を行わない方が曝露濃度との相関が良好であった(Fig. 4)。このことはfHDについてはクレアチニン補正によらない2003年のACGIHの見解(BEIとしてfHDを0.4mg/lと設定¹¹⁾)を支持するものでもある。ACGIHのBEI値は50ppmのn-ヘキサンのTLVに対応するものと考えられる。50ppmに対応するfHDは、今回の未補正の相関式によると0.57mg/lとなるが、他方、Kawaiら¹²⁾の相関式からは0.3mg/lと計算される。ACGIHの0.4mg/lはこの中間的な値となっている。

本研究ではtHDにおけるfHDの割合はA群とB群でそれぞれ平均18.7%、7.3%であった。しかし、その範囲はA群とB群でそれぞれ9.6~29.1%、0~21.1%と著しく大きな変動幅を示していた。我々は先に尿中のfHDはtHDの約20%で、その変動幅も0.4~28.4%であると報告しているが²⁾、今回の結果もほぼこれに合致する結果であった。個々の作業員におけるfHDの割合が変動するにもかかわらず、fHDおよびtHDともn-ヘキサン個人曝露濃度と良好な相関を示した。

tHDとn-ヘキサン個人曝露濃度との相関ではこれまで多くの報告がある^{12)~17)}。今回の相関式により計算すると40ppmに対応する尿中tHD濃度は2.8mg/g Cre ($n = 34$, Fig. 4) または2.0mg/g Cre ($n = 60$, Fig. 5)とな

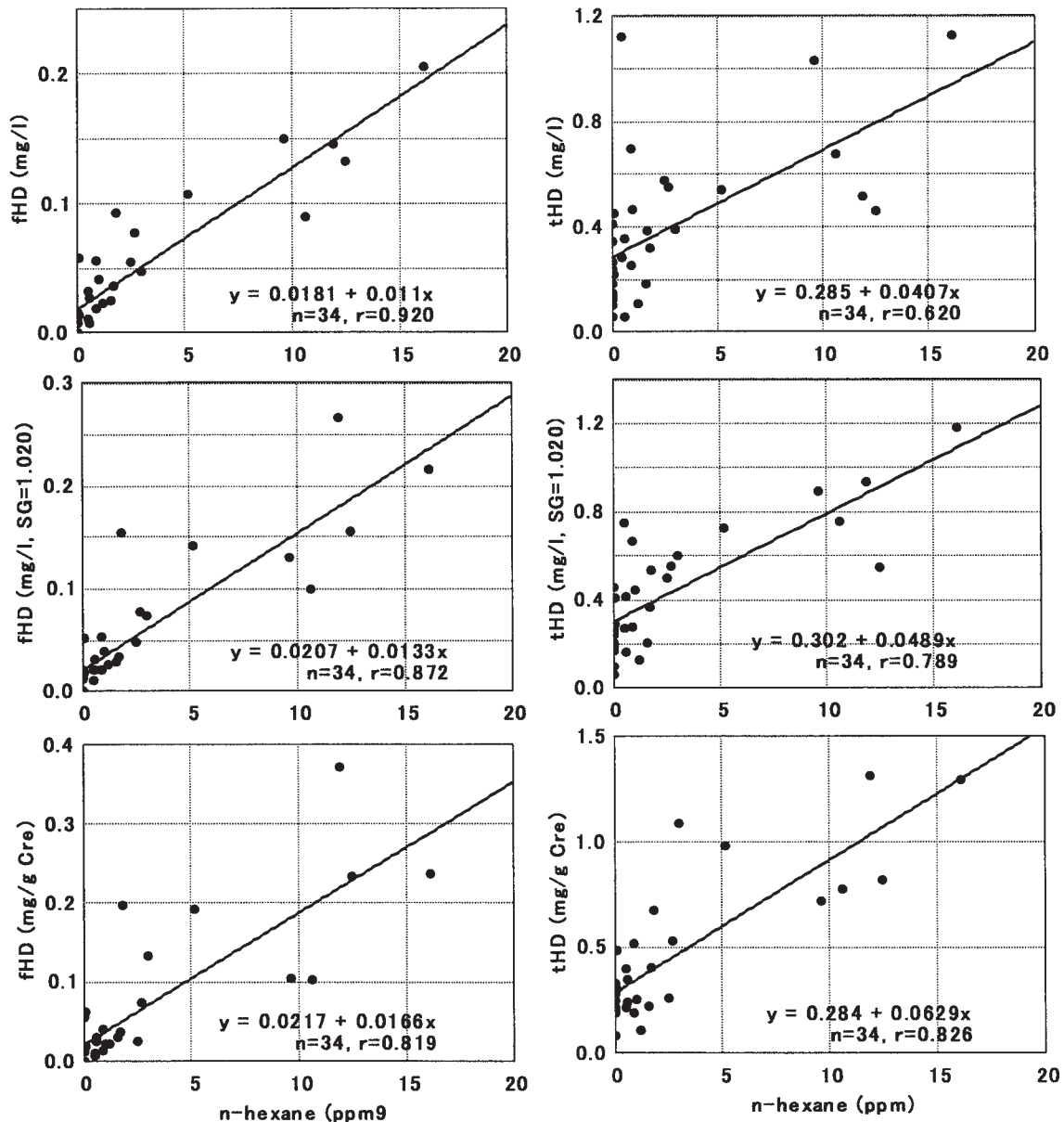


Fig. 4 Relationships between personal exposure levels and fHD or tHD (n=34).

る。これまでに報告のある相関式よりクレアチニン補正して計算した値は3.2¹³⁾, 1.8¹⁴⁾, 2.0¹⁵⁾, 2.9¹⁶⁾, 1.8¹⁷⁾, 2.0¹²⁾ mg/g Creであり, 今回の値とほぼ一致する。

fHD (y mg/l) とn-ヘキサン個人曝露濃度 (xppm) との相関ではこれまでKawaiら¹²⁾の報告があるのみである。両者は $y = 6.3x - 3.6$ の相関を示し, 40ppmに相当する尿中fHDはクレアチニン補正しないで0.25mg/lとなり, 今回の0.46mg/lの約半値である。Kawaiら¹²⁾はHDと個人曝露濃度との相関を比較してfHDの方がtHDより良く相関することを示している。本研究でも同様な結果が得られた。これはfHDのバックグラウンド値がND以下であること, 曝露者でのみfHDが検出されることによると考えられる。

結 論

本研究の調査対象者は許容濃度の半分以下 (16.1ppm以下) という低濃度n-ヘキサン曝露であったが, tHDおよびfHDとも個人曝露濃度を相関し, 生物学的モニタリングとして有効であることが明らかとなった。fHDは補正なし, tHDはクレチニン補正する方が個人曝露濃度との間で良い相関が得られ, 直接曝露 (A) 群と周辺曝露 (B) 群との間の差が明確であった。

(本研究の一部は, 平成15年度厚生労働科学研究費補助金 (H14-労働-11) および独立行政法人労働者健康福祉機構「労災疾病等12分野医学研究開発普及事業」による。)

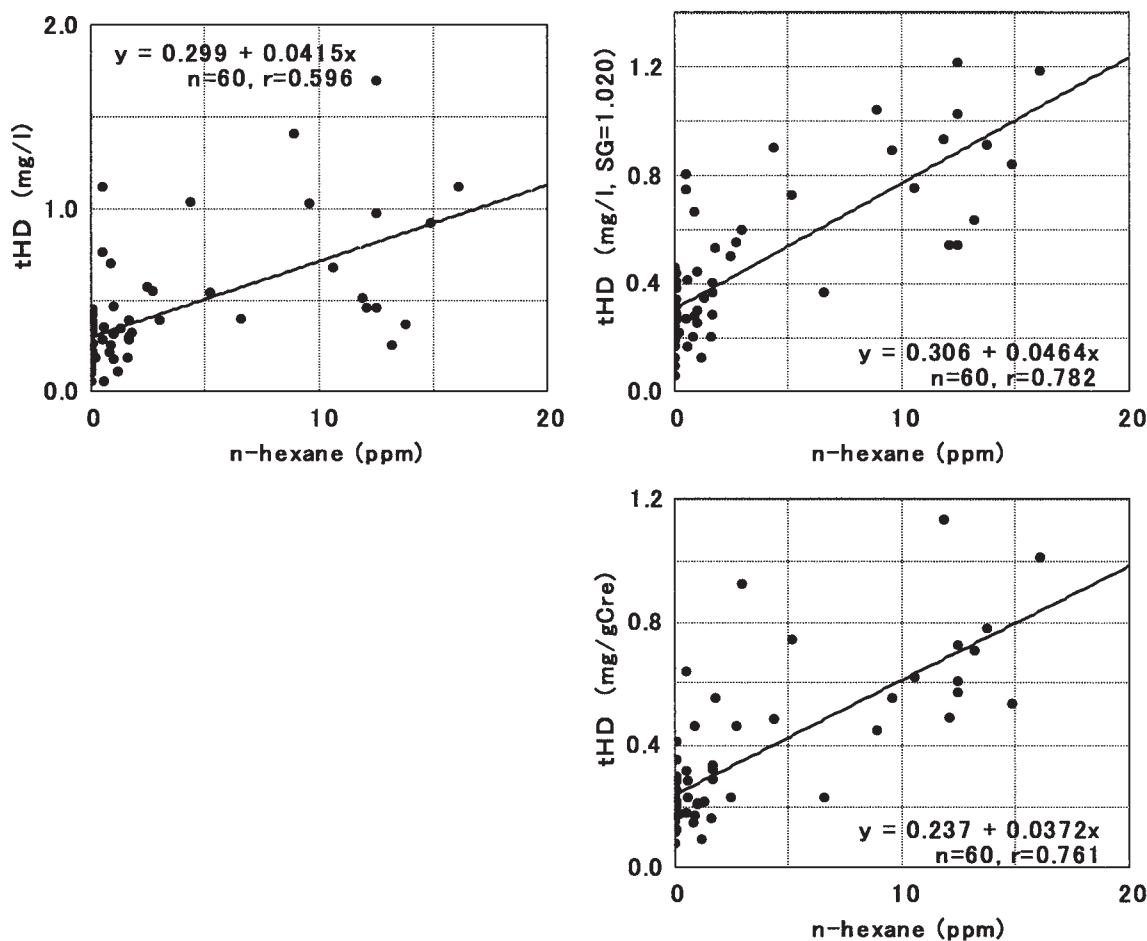


Fig. 5 Relationship between tHD and personal exposure level (n=60).

文 献

- 1) 坂井 公, 荒木高明, 牛尾耕一, 他: 尿中2, 5-ヘキサジオン (HD) のバックグラウンド値および作業員尿中HD濃度におよぼす加水分解条件の影響. 産業医学 34 : 440—447, 1992.
- 2) 労働福祉事業団秋田産業保健推進センター: 仏壇製造事業場における有機溶剤取扱作業の実態と健康影響調査 (その2). 平成13年度産業保健調査研究報告書, 2002.
- 3) 日本産業衛生学会: 生物学的許容値の提案理由, ヘキサン. 産業医学 36 : 286—288, 1994.
- 4) Perbellini L, Mozzo P, Bru gnone F, Zedde A : Physiologic o-mathematical model for studying human exposure to organic solvents : Kinetics of blood/issue n-hexane concentrations and of 2,5-hexanedione in urine, Br J Ind Med 43 : 760—768, 1986.
- 5) Perbellini L, Mozzo P, Olivato D, Bru gnone F : “Dynamic” biological exposure indexes for n-hexane and 2,5-hexanedione suggested by a physiologically based pharmacokinetic model. Am Ind Hyg Assoc J 51 : 356—362, 1990.
- 6) WHO : Environmental Health Criteria 122, n-Hexane. Geneva, World Health Organization, 1991.
- 7) 竹内康浩, 久永直見, 小野雄一郎, 井上 俊 : n-ヘキサンの毒性と量・反応関係. 産業医学 22 : 470—487, 1980.
- 8) Fedtke N, Bolt HM : The relevance of 4,5-dihydroxy-2-hexanone in the excretion kinetics of n-hexane metabolites in rat and man. Arch Toxicol 61 : 131—137, 1987.
- 9) Fedtke N, Bolt HM : Methodological investigation on the determination of n-hexane metabolites in urine. Int Arch Occup Environ Health 57 : 149—158, 1986.
- 10) ACGIH : 2000 TLVs and BEIs Threshold limit values and biological exposure indices, Cincinnati, American Conference of Governmental Industrial Hygienists, 2000, pp 98.
- 11) ACGIH : 2003 TLVs and BEIs (Threshold limit values and biological exposure indices), Cincinnati, American Conference of Governmental Industrial Hygienists, 2003, pp 90.
- 12) Kawai T, Yasugi T, Mizunuma K, et al : Dose-dependent increase in 2,5-hexanedione in the urine of workers exposed to n-hexane. Int Arch Occup Environ Health 63 : 285—291, 1991.
- 13) Perbellini L, Bru gnone F, Faggionato G : Urinary excretion of the metabolites of n-hexane and its isomers during occupational exposure. Br J Ind Med 38 : 20—26, 1981.
- 14) Iwata M, Takeuchi Y, Hisanaga N, Ono Y : A study on biological monitoring of n-hexane exposure. Int Arch Occup Environ Health 51 : 253—260, 1983.
- 15) Mutti A, Falzoi M, Lucetini S, et al : n-Hexane metabolism in occupationally exposed workers. Br J Ind Med 41 :

533—538, 1984.

- 16) De Rosa E, Bartolucci GB, Perbellini L, et al : Environmental and biological monitoring of exposure to toluene, styrene, and n-hexane. *Appl Ind Hyg* 3 : 332—337, 1988.
- 17) Saito I, Shibata E, Huang J, et al : Determination of urinary 2,5-hexanedione concentration by an improved analytical method as an index of exposure to n-hexane. *Br J Ind Med* 48 : 568—574, 1991.

(原稿受付 平成16. 6. 17)

別刷請求先 〒143-0013 大田区大森南4-13-21
東京労災病院産業中毒センター
森田 陽子

Reprint request:

Yoko Morita
Occupational Poisoning Center, Tokyo Rosai Hospital
Omoriminami-4, 13-21, Ota-ku, Tokyo, 143-0013, Japan

TOTAL AND FREE 2,5-HEXANEDIONE IN URINE AS THE BIOLOGICAL MONITORING INDICES
FOR WORKERS EXPOSED TO N-HEXANE AT LOW LEVELS

Tadashi SAKAI^{1,2)}, Yoshiaki NAKAJIMA³⁾, Yoko MORITA^{1,2)}, Osamu INOUE⁴⁾,
Katsuyuki MURATA⁵⁾ and Ikunosuke ONOZAKI⁶⁾

¹⁾Occupation Poisoning Center, Tokyo Rosai Hospital, ²⁾Occupational Poisoning Research Center, Tokyo Rosai Hospital,

³⁾Clinical Laboratory, Tokyo Rosai Hospital,

⁴⁾Clinical Laboratory, Tohoku Rosai Hospital, ⁵⁾Environmental Health Sciences, Akita University School of Medicine,

⁶⁾Akita Occupational Health Promotion Center

We evaluated total and free 2,5-hexanedione (tHD and fHD) in urine as the biological monitoring indices for workers exposed to n-hexane at low levels, comparing to personal exposure levels. n-Hexane was contained in white gasoline which was used in the gold plating process of Buddhist altar factories. Workers engaged in the gold plating process (Group A, n=10) was exposed to n-hexane at an average level of 7.59 ppm, and workers in other manufacturing processes surrounding the plating process (Group B, n=24) were also exposed to very low levels of n-hexane at an average level of 0.409 ppm.

The average levels of fHD in group A and B were 0.110, 0.019 mg/l, respectively, and those of tHD were 0.620, 0.292 mg/l, respectively. In the workers not exposed to n-hexane (Group C), fHD was not detected (detection limit was 0.01 mg/l). Both of fHD and tHD levels were revealed to be useful for the biological monitoring of n-hexane at low levels less than half of TLV, because of well correlation with personal exposure levels of n-hexane. fHD without any correction and tHD corrected with creatinine showed highest correlation coefficient with personal exposure levels, and also clear difference between Group A and B.
