

化学兵器処理作業者のバイオリジカルモニタリング

中嶋 義明¹⁾²⁾, 圓藤 吟史³⁾, 井上 嘉則³⁾雪田 清廣²⁾, 圓藤 陽子¹⁾¹⁾ 独立行政法人勤労者健康福祉機構・東京労災病院・産業中毒研究センター,²⁾ 同 臨床検査科, ³⁾ 大阪市立大学大学院・医学研究科・産業医学

(平成17年12月25日受付)

要旨: 旧日本軍が投棄した化学兵器のうち、ヒ素系のジフェニルクロロアルシン (DA), ジフェニルシアノアルシン (DC), ルイサイト (LA), トリクロロアルシン (TA) の処理作業では、急性中毒だけでなく、慢性中毒の発生もあり得るので、曝露の管理が必要とされるが、作業状況を鑑みて、生物学的モニタリングによる曝露管理方法について検討した。測定対象物質として、DAおよびDCについては分解物である尿中ジフェニルアルシン酸 (DPAA), LAおよびTAについてはアルカリ下で加水分解して亜ヒ酸になるので尿中無機ヒ素を選んだ。分析機器としては、ヒ素の高感度検出と分離分析ができるHPLC-ICP-MSを選び、一斉分析ができる分離カラムの検討を行った結果、陽イオンカラムで5価の無機砒素 (AsV), モノメチルアルソン酸 (MMA), 3価の無機砒素 (AsIII), ジメチルアルシン酸 (DMA), アルセノベタイン (AB), テトラメチルアルシン酸 (TeMA), トリメチルアルシン (TMAO), DPAAの順に溶出した。DPAAは23分にピークが検出され、0~100 $\mu\text{g/L}$ で標準液および尿添加試料とも良好な直線性が得られた。このモニタリング法を作業者に採用するために、非曝露者142名における正常値の検討を行った。DPAAに該当するピークは検出されなかった。最も多かったのは海産物摂取と関係するABで $98.2 \pm 102.8 \mu\text{g/L}$, 次いでDMA $54.9 \pm 49.5 \mu\text{g/L}$, AsIII $6.2 \pm 9.9 \mu\text{g/L}$, MMA $4.6 \pm 6.0 \mu\text{g/L}$, AsV $0.3 \pm 0.8 \mu\text{g/L}$ となり、総砒素濃度は $172.7 \pm 144.6 \mu\text{g/L}$ であった。職業性無機砒素曝露がない集団において、DPAAは検出されなかったが、様々な高濃度のヒ素化合物が検出されたことから、形態別ヒ素濃度測定が必要であると考えられた。

(日職災医誌, 54:29-33, 2006)

—キーワード—

尿中ヒ素化合物, 形態別分析, 生物学的モニタリング

緒 言

旧日本軍が投棄した化学兵器による健康障害が住民および労働者に発生している¹⁾²⁾。これら化学兵器のうち、ヒ素系のジフェニルクロロアルシン (DA), ジフェニルシアノアルシン (DC), ルイサイト (LA), トリクロロアルシン (TA) の処理作業では、急性中毒だけでなく、慢性中毒の発生もあり得る。

これらの取扱作業は、海中からの引き上げやその後の無毒化処理など屋内外における様々な作業があることから、曝露の管理としては、作業環境測定による環境管理法は不可能なので、生物学的モニタリングによる方法を

確立する必要がある。

我々は、適切な生物学的モニタリング法の確立を目指し、検査対象試料の選定および分析方法を検討した。さらに作業者における曝露の評価値の基礎データとして、非曝露者の尿中濃度測定を行い、検討を加えた。

対象及び方法

生物学的モニタリング法に用いる試料は、作業者への侵襲がないことおよび不定な作業場と作業時間に対応できるサンプリングが必要とされることから、尿試料とした。

対象は九州地区の某企業従業員で職業性ヒ素曝露のない男性142名で年齢は 44.4 ± 13.1 歳 (範囲, 19~71歳)であった。採尿は当該企業の安全衛生管理者が行い、年齢情報以外は匿名化されていた。採尿後速やかに冷蔵保

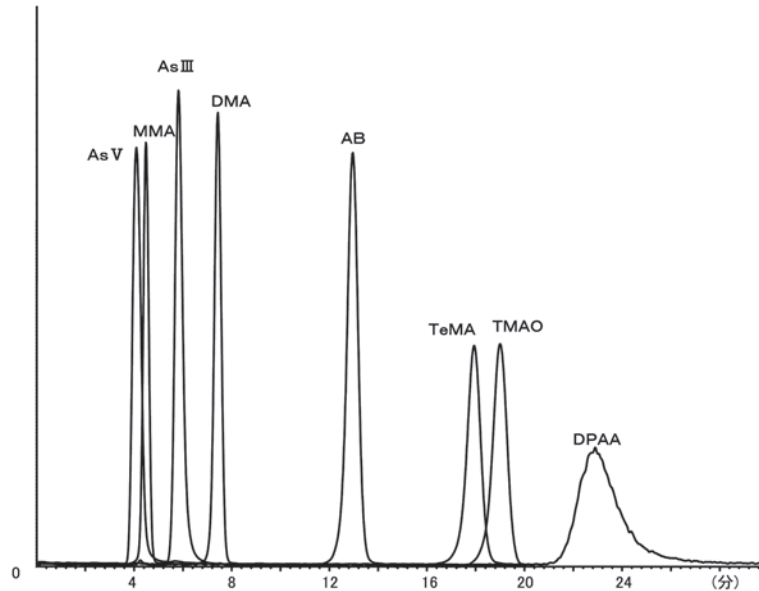


図1 陽イオンカラムにおけるヒ素化合物のクロマトグラム (100 $\mu\text{g As/L}$ の標準液)

存し、分析は2週間以内に実施した。尿中クレアチニン濃度は市販のキット (Pure auto CRE-N, 第一純薬) を用いて測定した。

DAおよびDCの曝露についてはそれらの分解物である尿中ジフェニルアルシン酸 (DPAA), LAおよびTAの曝露については加水分解産物である尿中無機ヒ素を選んだ。

尿試料は純水で5倍希釈した。HPLCはHP-1100 (Agilent, USA) を使用した。陽イオン交換カラムとしては, Shodex Rspak NN-614を用い, 移動相として5.0mM HNO_3 , 6.0mM NH_4NO_3 , 1.5mMピリジンジカルボン酸を用いた。陰イオン交換カラムとしては, 日立化成Gelpak GL IC-A15を用い, 移動相として2.0M PBS, 0.2mM EDTA (pH6.0) を用いた。流量は1mL/min, 試料注入量は50 μL で, 化学形態別分離を行い, ICP-MS (HP4500, Agilent, USA) に導入し, $m/z = 75$ で検出した。試薬は亜ヒ酸 (AsIII), ヒ酸 (AsV), モノメチルアルソン酸 (MMA), アルセノベタイン (AB) は和光 (大阪) から入手し, ジメチルアルシン酸 (DMA), アルセノコリン (AC), ヨード化テトラメチルアルシン酸 (TeMA), トリメチルアルシン (TMAO) およびDPAAはトリケミカル社 (山梨), HPLC用の硝酸 (TAMA PURE-AA-10) は, タマケミカル (東京) より入手した。水は水道水をMilli-Q-ICP-MS (Millipore Japan, 東京) により精製して用いた。

結 果

陰イオンカラムでは60分分析でDPAAのピークを認めなかったが, 陽イオンカラムでは図1に示すように標準液および尿添加試料ともに, AsV, MMA, AsIII,

面積
万

検量線

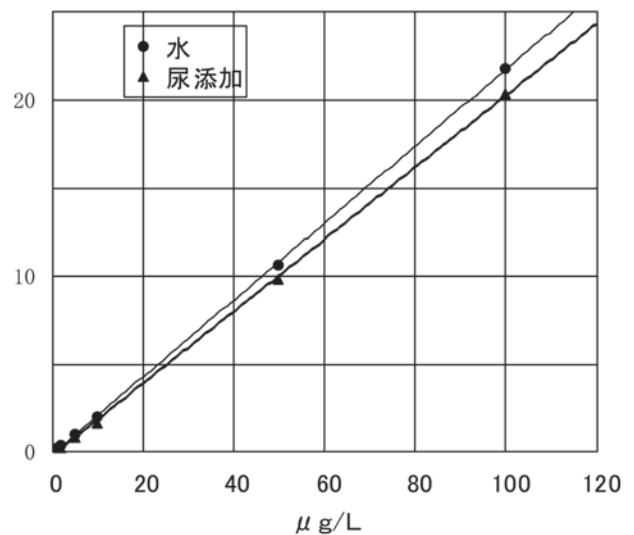


図2 DPAAの検量線 ●, 水標準液; ▲, 尿への添加標準液

DMA, AB, TeMA, TMAO, DPAA, の順に溶出し, DPAAは23分にピークが検出された。後者のカラムにおいては, 図2に示すようにDPAA水標準液および尿添加標準液のいずれにおいても検量線は0~100 $\mu\text{g/L}$ で良好な直線性が得られ, CV 4.0% ($n = 10$), 検出下限は0.3 $\mu\text{g/L}$ であった。DPAAを20 $\mu\text{g/L}$ 濃度で尿に添加したときの回収率は $92.9 \pm 6.2\%$ ($n = 20$)であった。

142名の男性非曝露作業員における尿中濃度を測定した結果を表1に示した。DPAAは全例に検出されなかった。最も多く検出されたヒ素化合物は総ヒ素化合物の

表1 非曝露者 142 名における尿中ヒ素化合物濃度

ヒ素化合物	未補正值 ($\mu\text{g As/L}$)	クレアチニン補正值 ($\mu\text{g As/g creatinine}$)		
	平均 \pm 標準偏差 (範囲)	中央値	平均 \pm 標準偏差 (範囲)	中央値
AsV	0.3 \pm 0.8 ($< 0.1 \sim 7.0$)	< 0.1	0.2 \pm 0.6 ($< 0.1 \sim 4.8$)	< 0.1
AsIII	6.2 \pm 9.9 ($< 0.1 \sim 50.4$)	1.9	4.0 \pm 5.9 ($< 0.1 \sim 32.2$)	1.1
MMA	4.6 \pm 6.0 ($< 0.1 \sim 33.9$)	2.5	3.2 \pm 4.2 ($< 0.1 \sim 26.2$)	1.6
DMA	54.9 \pm 49.5 (5.2 \sim 370.1)	42.9	38.5 \pm 23.3 (5.5 \sim 124.6)	35.0
AB	98.2 \pm 102.8 (5.6 \sim 665.6)	62.8	71.4 \pm 70.6 (4.1 \sim 549.2)	51.9
TMA	0.9 \pm 3.0 ($< 0.1 \sim 16.9$)	< 0.1	0.2 \pm 1.1 ($< 0.1 \sim 9.3$)	< 0.1
TeMA	2.3 \pm 4.7 ($< 0.1 \sim 26.5$)	< 0.1	0.8 \pm 3.4 ($< 0.1 \sim 28.9$)	< 0.1
DPAA	< 0.1 < 0.1	< 0.1	< 0.1 < 0.1	< 0.1
Unidentified	7.5 \pm 18.3 ($< 0.1 \sim 182.0$)	2.1	5.9 \pm 10.7 ($< 0.1 \sim 91.0$)	2.9
Total	172.7 \pm 144.6 (15.1 \sim 729.9)	141.5	123.2 \pm 87.6 (13.8 \sim 602.2)	104.7

62%を占めるABで、ついで34%を占めるDMAであった。

考 察

旧日本軍が製造した化学兵器が中国のみならず日本国内各地でも発見されている³⁾。旧日本軍が製造した化学兵器剤はびらん剤のマスタードガスとルイサイト、くしゃみ剤のジフェニルアルシン化合物であるが、化学兵器の処理作業で最も問題となる曝露は、ヒ素系のジフェニルアルシン化合物である。陽イオンカラムを用いたHPLC-ICP-MS分析法では、分解物であるDPAAの検出感度も良く、検量線の直線性も良く、安定した高感度分析が可能となった。水中のDPAAの分析については、溶媒抽出とGC/MSの組み合わせによる方法も報告されているが、pentafluorothiophenolによる誘導体化が必要であるし、検出下限も $9.4 \mu\text{g/L}$ と本方法の $0.3 \mu\text{g/L}$ より悪い⁴⁾。今回、尿中DPAA濃度をHPLC-ICP-MSで精度よく分析できることが判明したので、ジフェニルアルシン化合物の曝露評価には生物学的モニタリング法が適切であると考えられた。

一方、ルイサイトにおいては、分解産物の2-クロロビニルアルシン酸の曝露も可能性がある³⁾。これらの代謝は不明であるが、尿中にはヒ素化合物として排泄されることから、無機ヒ素及び未同定ヒ素を対象物質としたヒ素化合物の分離分析が必要とされる。

本報告において、無機ヒ素からDPAAまで8種類のヒ素化合物の形態別分離分析が可能であることが示され

たので、化学兵器処理作業者の生物学的モニタリング法として、本方法が適切であることが明らかになった。

この方法により、非曝露者142名の尿中濃度測定を実施した結果、DPAAは検出されなかった。この結果は、通常環境においてはジフェニルアルシン化合物が存在しないことを示しており、予想通りであった。しかしながら、尿中ヒ素化合物濃度は表1に明らかなように総ヒ素量としては高濃度であった。ヒ素化合物のうち、ABが総ヒ素量の約60%を占めた。ABは海産物に多量に含まれることが知られている^{5)~8)}。日本人は、海産物摂取量が多いので、ABが多いと報告されている⁹⁾が、今回の結果でも、最も多く排泄されたヒ素化合物であった。また、メチル化ヒ素のうちDMAが総ヒ素量の約30%を占めていた。無機ヒ素は体内でメチル化され、その代謝物としてはMMAとDMAが尿中に排泄される。今回、高濃度のDMAが尿中から検出されたが、MMAは総ヒ素量の3%未満とDMAよりかなり少なかった。実験的に無機ヒ素を単回投与されたヒト、およびヒ素汚染井戸水摂取による慢性ヒ素中毒者においては、総ヒ素量の約半分がDMAで1/4がMMAであった⁹⁾¹⁰⁾。貝などの海産物にDMAは高濃度に検出される場合があるが¹¹⁾¹²⁾、魚介類の摂取によるDMAの尿中排泄はそれよりも高く、無機ヒ素からの代謝ではなく、他の有機ヒ素化合物であるAB、アルセノシュガー(AS)やアルセノコリンから産生されると考えられている¹²⁾。実際、ASを摂取したヒトから尿中に高濃度DMA排泄が見られている¹³⁾。これらのことから、今回検出されたDMAは無機ヒ素由

来ではなく、海産物摂取に由来すると考えられた。

米国 ACGIH¹⁴⁾は無機ヒ素曝露の許容濃度として TLV-TWA 0.01mg/m³を勧告し、生物学的許容値 (BEI) に無機ヒ素+メチル化ヒ素濃度として 35 μg As/L を設定している。また、ドイツ (DFG)¹⁵⁾は管理濃度 0.01mg/m³に対応する尿中ヒ素濃度 (無機ヒ素+メチル化ヒ素) として 50 μg As/L を設定している。しかしながら、今回の結果では、142名の DMA 平均値 (54.9 μg As/L) はこれだけでいずれの国の勧告値も超えてしまっている。

以上のごとく、日本人においては、海産物摂取と関係するヒ素化合物が尿中に高濃度に検出されることから、形態別分析が必要である。さらに、食事に由来すると考えられる DMA の影響が大きいことから、無機ヒ素曝露の指標に DMA を入れることは、日本人においては適切ではないことが示唆された。

謝辞：本研究は独立法人 労働者健康福祉機構「労災疾病12分野研究開発事業」によるものである。

文 献

- 1) 石井一弘, 玉岡 晃, 岩崎信明, 他：茨城県神栖町で発生した有機ヒ素中毒について. 中毒研究 17 : 125—131, 2004.
- 2) 中川儀英, 山本五十年, 鈴木陽介, 他：旧相模海軍兵器工場工場跡地の掘削工事中に発生した急性中毒の症例. 中毒研究 17 : 133—137, 2004.
- 3) 花岡成行：旧日本軍化学兵器とそのリスクについて. 中毒研究 17 : 117—124, 2004.
- 4) Kim KS, Shinohara R, Arizono K, et al : A rapid and sensitive analysis of diphenylarsinic acid in water by gas chromatography/mass spectrometry. Anal Sci 21 (5) : 513—516, 2005.
- 5) Benramdane L, Bressolle F, Vallon JJ : Arsenic speciation in humans and food products : a review. J Chromatogr Sci 37 (9) : 330—344, 1999.
- 6) Le XC, Ma M : Short-column liquid chromatography with hydride generation atomic fluorescence detection for the speciation of arsenic. Anal Chem 70 (9) : 1926—1933, 1998.
- 7) Rattanachongkiat S, Millward GE, Foulkes ME : Determination of arsenic species in fish, crustacean and sediment samples from Thailand using high performance liquid chromatography (HPLC) coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). J Environ Monit 6 (4) : 254—261, 2004.
- 8) Vela NP, Heitkemper DT : Total arsenic determination and speciation in infant food products by ion chromatography-inductively coupled plasma-mass spectrometry. J AOAC Int 87 (1) : 244—252, 2004.
- 9) 圓藤吟史, 中嶋義明, 圓藤陽子：海産物のヒ素—その健康リスク. 医学のあゆみ 212 (9) : 846—847, 2005.
- 10) IPCS : Arsenic and arsenic compounds. Environmental Health Criteria 224 : 112—150, 2001.
- 11) Buchet JP, Pauwels J, Lauwerys R : Assessment of exposure to inorganic arsenic following ingestion of marine organisms by volunteers. Environ Res 66 (1) : 44—51, 1994.
- 12) Heinrich-Ramm R, Mindt-Prufert S, Szadkowski D : Arsenic species excretion after controlled seafood consumption. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 778 (1-2) : 263—273, 2002.
- 13) Francesconi KA, Tanggaar R, McKenzie CJ, et al : Arsenic metabolites in human urine after ingestion of an arsenosugar. Clin Chem 48 (1) : 92—101, 2002.
- 14) ACGIH : Arsenic and its inorganic compounds. Documentation of the TLVs and BEIs with Other Worldwide Occupational Exposure Values. Cincinnati, ACGIH, 2005.
- 15) DFG : List of MAK and BAT Values 2004. Weinheim, Wiley-VCH, 2004.

(原稿受付 平成17.12.25)

別刷請求先 〒143-0013 東京都大田区大森南4-13-21
独立行政法人労働者健康福祉機構・東京労災病院・産業中毒研究センター
圓藤 陽子

Reprint request:

Yoko Endo
Research Center for Occupational Poisoning, Tokyo Rosai Hospital, Japan Labour Health and Welfare Organization, 4-13-21, Omoriminami, Ohta-ku, Tokyo 143-0013, Japan

BIOLOGICAL MONITORING OF WORKERS TREATING CHEMICAL WARFARE AGENTS

Yoshiaki NAKAJIMA¹⁾²⁾, Ginji ENDO³⁾, Yoshinori INOUE³⁾, Kiyohiro YUKITA²⁾ and Yoko ENDO¹⁾¹⁾Research Center for Occupational poisoning, Tokyo Rosai Hospital, Japan Labour Health and Welfare Organization²⁾Clinical Laboratory, Tokyo Rosai Hospital, Japan Labour Health and Welfare Organization³⁾Industrial Medicine, Graduate School of Medicine, Osaka City University

During disposal of chemical weapons, diphenylchloroarsine (DA), diphenylcyanoarsine (DC), lewisite (LA), and trichloroarsine (TA), which were previously abandoned by the Japanese Army, not only acute poisoning but also chronic intoxication can occur. We therefore examined the possibility of exposure control by biological monitoring. We measured urinary diphenyl arsinic acid (DPAA), a catabolite of DC and DA, and urinary inorganic arsenic for LA and TA via hydrolysis under alkaline conditions. Using HPLC-ICP-MS, high sensitivity speciation analysis of arsenic compounds can be performed. The order of elution was as follows; arsenate (AsV), methylarsonic acid (MMA), arsenite (AsIII), dimethylarsinic acid (DMA), arsenobetaine (AB), tetramethylarsonium ion (TeMA), trimethylarsine oxide (TMAO), and DPAA at 23 min in a cation column. Good linearity was obtained in aqueous standard solution and in urine with standard addition through 0–100 µg/L. We measured urinary arsenic compounds in 142 workers without occupational exposure to arsenic compounds. DPAA peaks were detected in none of the workers. The major arsenic compound in urine was AB 98.2 ± 102.8 µg/L, followed by DMA 54.9 ± 49.5 µg/L, AsIII 6.2 ± 9.9 µg/L, MMA 4.6 ± 6.0 µg/L, and AsV 0.3 ± 0.8 µg/L, and total As level was 172.7 ± 144.6 g/L. Since no DPAA was detected but high concentrations of various arsenic compounds were detected among non-exposed workers, speciation analysis of arsenic compounds appears to be required during arsenic disposal.
