

脂溶性環境汚染物質に関する皮脂を用いた ヒューマンモニタリング法 (I)¹⁾

大城 善昇

A Human Monitoring Procedure for Lipophilic Environmental Pollutants Using Skin Surface Lipids (I)

Zensho OSHIRO

I はじめに

皮脂はDDTやクロルデン等の脂溶性環境汚染物に関し、皮下脂肪や母乳と脂肪ベースにおいてほぼ同レベルで含有している。そしてDDEに関しては血液—皮脂間に相関が認められるものの、総クロルデンにおいては相関が認められないことを「皮脂を用いたクロルデンの人体汚染モニタリングの試み¹⁾」で報告した。その理由として、クロルデンは食物を介して経口摂取される他に防蟻処理された住環境からの影響が考えられる。今回、クロルデン処理住宅へ新たに入居した人及びクロルデン処理住宅から非処理住宅へ転居した人の協力が得られたので、皮脂及び血液中クロルデン等の動向を追跡した。また、皮脂の指標性としての条件を確立するためクロルデン処理及び非処理住宅居住者の皮脂の経時的採取による汚染物の動態、顔面皮脂と背面皮脂の利用性の比較、皮脂の分析におけるクリーンアップ法等について検討を加えた。

II 居住環境からの影響

皮脂及び血液中のクロルデンが居住環境の変化によってどのような影響を受けるかを調査することにした。即ち、クロルデン処理住宅に新たに入居した人、処理住宅から非処理住宅へ転居した人の血液と皮脂を経時的に採取し、クロルデンの各成分、HCH類、DDT類の動向を最高160余日間追跡した。

II-1 実験方法

(1) 試料

(a) 皮脂の採取

石鹸でいねいに洗顔してから凡そ4時間経過した顔面を、70%アルコールをしみこませた酒精綿(3×3cm)4枚を用いて拭き取り、ポリエチレン袋もしくはテフロンライナー付きネジロガラス瓶に入れて検査着手まで凍結保存する。

(b) 血液の採取

採血したばかりの血液約6mlを予めシュウ酸カリウム粉末15mgを入れたバイアル瓶にとり、1分間激しくふりまぜた後、検査着手まで凍結保存する。

(c) 室内空気の採取

ヘキサン50mlを入れたインピンジャーに氷冷下で室内空気を1リットル/分の流速で60分間吸引して捕集する。

(2) 分析法

(a) 皮脂

採取した綿をピーカーに移し、アセトン：ヘキサン(1：2)20mlで溶出する。さらにヘキサン20mlずつで2回溶出し、全溶出液を分液ロートに集めて水20mlで洗う。次に無水硫酸ナトリウムで脱水し、濃縮乾固したのち90°C30min乾燥して脂肪量を秤量する。秤量した脂肪(50mg以下)はヘキサン5mlを用いてフロリジルカラムへ移す。

(b) 血液

凍結保存された血液を融解して溶血したものの5gを50mlの遠沈管にとり、ギ酸5mlを加えて振り混ぜ、アセトン：ヘキサン(1：2)

1) この研究は昭和61～62年度国立機関公害防止等の研究費により、国立衛生試験所からの委託で行った。

表1. クリーンアップ及びガスクロマトグラフの条件

フロリジルカラムクロマトグラフィー	Instruments	Shimadzu GC-7A ECD detector Solvent cut attachment
ガラスカラム 10×300mm	Column	OV-101 0.2mm×50m FS
吸着剤 フロリジルPR ※ 8g	Column T.	230°C
溶出液 1) 20% ジクロルメタン・ヘキサン 120-140ml	Inj. & Det. T.	280°C
2) 50% ジクロルメタン・ヘキサン 50ml	Carrier G.	He 17.9cm/sec
流速 2ml/min	Make up G.	N ₂ 50 ml/min
※ フロリジルPRを300°C 2時間活性化し、冷後1%の水を加えて密封し、24時間放置後に使用する。	Range	1
	Cell current	1.0
	Attenuation	16-32
	Chart	5mm/min

20mlを加えて5分間振とうする。次に3000rpm 3分遠心分離して上澄液を分取する。さらにヘキサン20mlずつで同様に2回抽出し、全抽出液を分液ロートに集め、5%炭酸カリウム液3mlで洗い、無水硫酸ナトリウムで脱水し、濃縮したのちフロリジルカラムへ移す。

(c) 空気

捕集したヘキサンに無水硫酸ナトリウムを加えて脱水、濃縮してガスクロマトグラフィーへ。

(d) クリーンアップとガスクロマトグラフの条件を表1に示す。

II-2 結果と考察

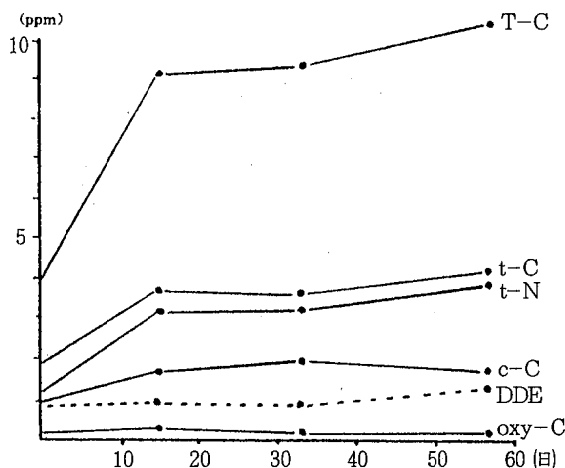
(1) クロルデン処理住宅へ入居した人の皮脂中

濃度の推移

男性Aが新築アパートへ入居することになったので、その前後において皮脂中の汚染物を測定した(図1)入居後15日目でT-Cは4ppmから9ppmに上昇した。t-c、t-N、c-Cも同様な傾向を示した。しかしながら代謝物であるoxy-Cは57日目までに顕著な増加はみられず、DDEと同様にほぼ横這い状態である。ただし、入居当時の室内空気中のクロルデンは測定してないが、1年10月後の測定値はT-Cで1.0μg/m³であった。

(2) クロルデン処理住宅から非処理住宅へ転居した人の皮脂及び血液中濃度の推移

図2は男性A、Bが処理住宅から非処理住



T-C: 総クロルデン
 t-C: trans-chlordane
 c-C: cis-chlordane
 oxy-C: oxychlordanes
 t-N: trans-nonachlor

図1. クロルデン処理住宅へ入居後の皮脂中濃度の推移。

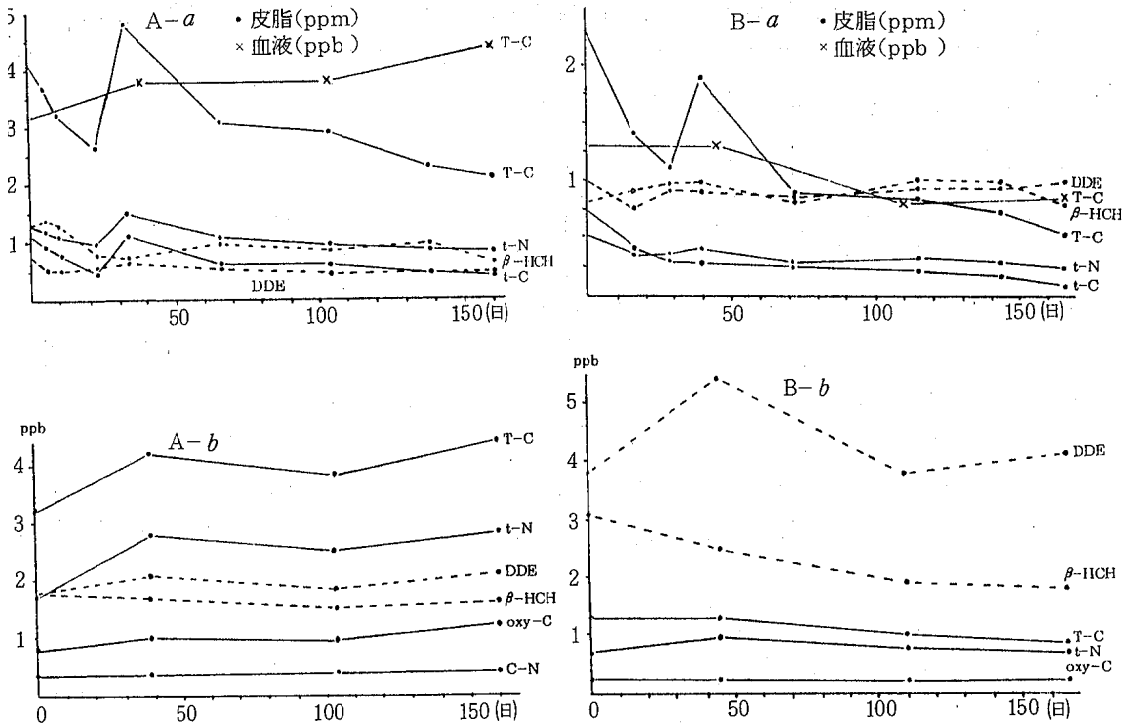


図2. クロルデン処理住宅から転居後の皮脂及び血液中濃度の推移.

a : 皮脂 b : 血液 c-N : cis-nonachlor

宅へ転居した後の皮脂と血液中の汚染物の動態を示したものである。前住居の空气中のクロルデン濃度はそれぞれ $1.0 \mu\text{g}$ 、 $0.7 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。

皮脂については2例とも30日頃までは比較的急な減少を示し、その後は160日過ぎまでゆるやかに減少している。各成分で見ると、2例とも t-C、c-C、r-dene の減少が大きく、次いで、t-N、c-Nであり、oxy-C は室内環境からの影響を受けないDDE、β-HCHと同じく若干の変動を示しながらも定値を示している。即ち、外的環境の影響を大きく受ける成分は t-C、c-C、r-deneであり、中等度のものとして t-N、c-N、そして影響を受けないものが代謝物である oxy-C と言えよう。

血液については、T-Cを見るとAは160日目まで僅かながら上昇しているのに対し、Bは

逆に167日目まで僅かながら減少傾向を示している。これを各成分で見ると、皮脂の場合で減少が大きかった t-C、c-C、r-dene は血液からは殆ど検出されず、t-N、c-N、oxy-C などの蓄積性の大きい成分しか検出されない。従って血液では皮脂のような減少は見られない。またBのDDEで変動が大きいのは、魚や肉類に対して普通の人より好性が強く、彼の嗜好を反映していると言えよう。

以上のことから、皮脂は住宅等の外的環境からの汚染物 (t-C、c-C、etc) 体内に蓄積された汚染物 (β-HCH、DDE、oxy-C、etc) そしてその両方の性質を有するもの (t-N、c-N、etc) を含有している。従って皮脂は体内性と体外性の両汚染物を表示していることになり、血液が体内性であることと明らかな違いがみられる。

表2. クロルデン処理住宅から非処理住宅へ転居した人の皮脂中濃度の推移 (ppm)

採取 月日	経過 日数	皮脂 (mg)	β- HCH	γ- dene	oxy- C	(): T-Cに占める%				T-C	Hp- ox	DDE	p- DDT	
						t-C	c-C	t-N	c-N					
A ♂ 35	61. 9. 4	33.4	1.3	0.57	0.26	1.1	0.88	1.3		4.1		0.74		
				(13.9)	(6.3)	(26.8)	(21.5)	(31.7)						
	10. 2	5	24.0	1.4	0.52	0.31	0.91	0.75	1.2	3.7		0.53		
	10. 7	10	32.0	1.3	0.39	0.29	0.76	0.61	1.1	3.2		0.50		
	10. 20	23	40.1	0.77	0.25	0.35	0.47	0.37	0.97	0.20	2.6	0.10	0.55	
					(9.6)	(13.5)	(18.1)	(14.2)	(37.3)	(7.7)				
	10. 30	33	35.5	0.70	0.56	0.37	1.1	0.90	1.50	0.37	4.8	0.22	0.62	0.28
12. 2	66	40.6	0.96	0.29	0.34	0.61	0.49	1.1	0.22	3.1	0.15	0.54	0.15	
12. 9	73	48.5	0.65	0.20	0.28	0.52	0.43	0.94	0.20	2.6	0.09	0.46	0.13	
				(7.7)	(10.8)	(20.0)	(16.5)	(36.2)	(7.7)					
62.	1. 9	104	47.7	0.84	0.30	0.31	0.63	0.50	0.96	0.21	2.9	0.21	0.43	0.10
	2. 12	138	41.8	0.96	0.24	0.29	0.42	0.32	0.86	0.17	2.3	0.17	0.44	0.10
	3. 6	160	49.9	0.59	0.20	0.22	0.40	0.31	0.84	0.16	2.1	0.07	0.44	tr
					(9.5)	(10.5)	(19.0)	(14.8)	(40.0)	(7.6)				
B ♂ 38	61. 9. 4	32.2	0.82	0.46		0.73	0.55	0.53		2.3		1.0		
				(20.0)		(31.7)	(23.9)	(23.0)						
	10. 7	16	60.9	0.88	0.27		0.44	0.33	0.35	1.4		0.76		
	10. 20	29	74.3	0.97	0.20	0.05	0.29	0.18	0.34	1.1		0.91	0.07	
					(18.2)	(4.5)	(26.4)	(16.4)	(31.0)					
	10. 30	39	44.5	0.98	0.45	0.05	0.44	0.34	0.40	1.7	0.03	0.93		
	12. 2	72	53.2	0.82	0.22		0.25	0.17	0.29	0.93		0.85	0.09	
12. 9	79	40.1	0.80	0.29	0.07	0.30	0.26	0.34	0.06	1.3	0.93	0.13		
				(22.3)	(5.4)	(23.0)	(20.0)	(26.0)	(4.6)					
62.	1. 14	115	53.6	1.0	0.16		0.21	0.16	0.32	0.85		0.93	0.07	
	2. 12	144	59.2	1.0	0.10	0.05	0.17	0.13	0.29	0.74		0.93	0.13	
	3. 6	166	61.2	0.80	0.10	0.04	0.08	0.07	0.25	0.54		0.96	0.11	
					(18.5)	(7.4)	(14.8)	(13.0)	(46.3)					

γ-dene : γ-chlordene t-N : trans-nonachlor
oxy-C : oxychlordane c-N : cis-nonachlor
t-C : trans-chlordane T-C : total chlordane
c-C : cis-chlordane Hp-ox : heptachlor-epoxide

表3. クロルデン処理住宅から非処理住宅へ転居した人の血中濃度の推移 (ppb)

採取 月日	経過 日数	β- HCH	γ- dene	oxy- C	t-C	c-C	t-N	c-N	T-C	Hp- ox	DDE	p- DDT	
A	61.09.04		1.8	0.05	0.80	0.20	0.07	1.7	0.37	3.2	0.35	1.2	-
	11.05	39	1.6	-	0.92	-	-	2.5	0.40	3.8	0.29	1.93	0.35
	62.01.09	104	1.5	-	0.92	-	-	2.5	0.38	3.8	0.26	1.80	0.36
	03.06	160	1.6	-	1.20	-	-	2.8	0.38	4.4	0.29	2.15	0.48
B	09.04		3.1	-	0.24	0.08	0.05	0.69	0.19	1.3	0.23	3.8	-
	11.05	45	2.5	-	0.22	0.06	-	0.96	0.06	1.3	0.17	5.4	0.62
	62.01.09	110	1.9	-	0.20	0.03	-	0.77	-	1.0	0.16	3.8	0.43
	03.06	166	1.8	-	0.19	-	-	0.67	-	0.86	-	4.1	0.38

Ⅲ 皮脂の採取条件の検討

前段において、皮脂が体内性と体外性の両性質を有し、外的要因も表示していることが判った。そこで、指標としての皮脂の採取条件を検討することにした。即ち、クロルデン処理住宅居住者及び非処理住宅居住者について2.5時間間隔で連続4回採取した場合の変動、そして顔面皮脂と背面皮脂での差異について検討した。

Ⅲ-1 実験方法

(1) 試料

(a) 顔面皮脂

朝7:30に洗顔し、9:30、11:30、14:00、16:30にそれぞれⅡ-1(1)の方法で採取した。

(b) 背面皮脂

ヒトの顔の表面積を凡そ300 cm²として背面の採取面積も同じ大きさにした。肩の水平線を上端とし、正中を中心に横20cm、縦15cmの長方形の枠をマジックペンでマークし、その部位を酒精綿をもちい、ポリエチレン製の手袋をはめて採取する。なお、各人とも前夜に入浴し、当日は朝7:30に洗面して出勤する。第一回の採取後は上半身を裸のままで過ごし、汗をかくような運動は避けるようにした。

(2) 分析法

Ⅱ-1(2)に同じ

Ⅲ-2 結果と考察

結果は表4、5に示す。

(1) 顔面皮脂

クロルデン処理住宅に居住しているA、C、非処理住宅に居住しているD、Eでは明らかな違いがあると同時に共通点もあることが判る。前者においては住環境からの影響と考えられるt-C、c-C、t-N、c-Nが採取回数を重ねるにつれて減少するのに対し、後者においては減少は見られない(図3)他方、共通点としては体内の蓄積を表示していると考えられるoxy-C、β-HCH、DDEに関してはほぼ一定の値で検出される。ではヒューマンモニタリング指標としての皮脂はどの時点で採取した方がベターかということに対しては、実践し易く、新鮮な回復皮脂が得られれば良いと考える。というのは、蓄積性がある外的环境からの影響がないと考えられるoxy-C、β-HCH、DDEは体内蓄積を反映し、t-C、c-Cのように蓄積性がないものは住環境等の外的要因に由来するものとして評価する。そしてt-N、c-Nの

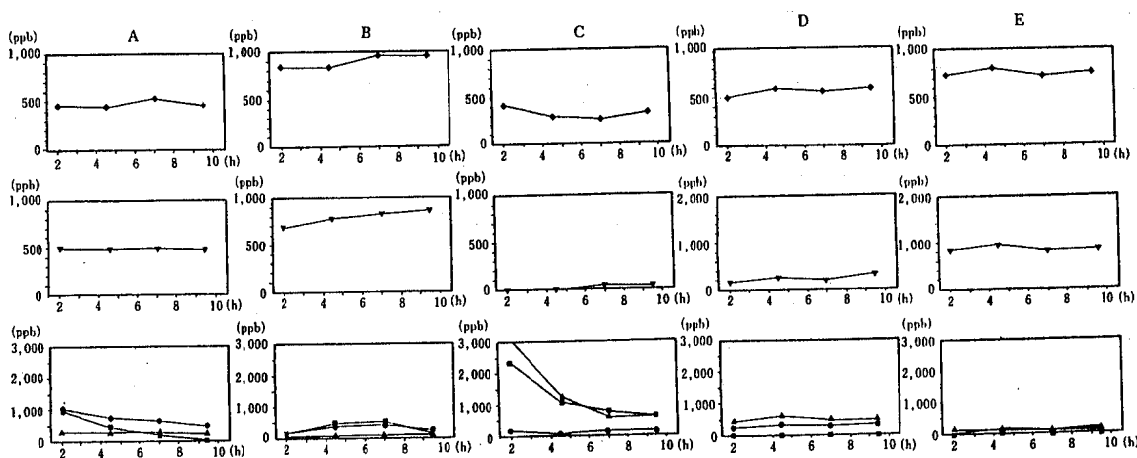


図3. 顔面皮脂における推移.

- ◆ β-HCH
- オキシクロルデン
- ▼ pp-DDE
- トランスノナクロール
- ▲ トランスクロルデン

ように蓄積性もあり、住環境からも影響を受けるものは両者が混ざったものと評価してよいと考える。

(2) 背面皮脂

背面の皮脂腺は顔面ほど発達してないと言われている。しかし過去に測定した経験によれば、背面皮脂はクロルデンに関して顔面より高い値が検出された。今回の測定結果によると、背面

皮脂は採取量が2.4~11.1 mg、平均で5.1 mgと少なく汚染物の測定値のバラツキも大きく、再現性に乏しい。これは、背中に皮脂腺が少ないために腺由来の皮脂は少なく、逆に表皮細胞由来の表皮脂質が相対的に多く、外部からのコンタミネーションや皮膚表面の拡散による汚染を受け易いことに基因していると思われる。従って指標としての背面皮脂は不相当と考える。

表4. 顔面皮脂における動態

男	No	Amount (mg)	Period (h)	unit=ppb (fat basis)														
				α -HCH	β -HCH	T-HCH	<i>r</i> -dane	oxy-C	<i>t</i> -C	<i>c</i> -C	<i>t</i> -N	<i>c</i> -N	T-C	Hp-ox	<i>pp'</i> -DDE	<i>pp'</i> -DDT	T-DDT	Dieldrin
A	F-1	47.9	2.0	25	462	487	785	290	967	824	1060	104	4030	127	977	103	1080	42
	2	27.4	4.5	15	433	453	426	282	433	370	747	54	2312	127	964	105	1069	36
	3	35.7	7.0	56	538	594	303	263	179	226	629	39	1639	127	973	110	1083	45
	4	33.2	9.5	72	462	534	361	225	0	60	442	14	1102	96	934	94	1028	32
B	5	30.7	2.0	17	845	862	191	59	154	169	193	15	781	56	1370	132	1502	48
	6	37.6	4.5	18	835	853	207	57	461	259	374	62	1430	60	1560	133	1693	62
	7	48.5	7.0	25	962	987	275	69	522	283	416	77	1642	69	1660	141	1801	85
	8	44.2	9.5	20	954	974	148	78	101	78	207	23	635	75	1730	151	1881	71
C	9	13.3	2.0	40	426	466	1230	185	3170	2330	2390	316	9621	80	0	0	0	772
	10	16.6	4.5	20	289	309	550	32	1300	920	1100	120	4022	0	0	0	0	285
	11	22.5	7.0	15	259	274	276	95	572	613	770	74	2400	18	71	71	142	264
	12	23.2	9.5	29	333	362	267	106	621	437	624	78	2133	17	63	60	123	167
D	13	34.4	2.0	0	494	494	0	229	0	0	407	37	673	58	147	79	226	29
	14	41.9	4.5	16	589	605	0	319	0	0	582	72	963	116	248	102	350	65
	15	36.0	7.0	24	546	570	0	269	0	0	439	37	745	76	187	96	283	52
	16	35.3	9.5	23	587	610	0	295	0	0	440	38	773	91	315	102	417	74
E	17	19.4	2.0	52	735	787	0	86	0	0	0	0	86	31	838	144	982	55
	18	48.9	4.5	22	807	829	0	60	0	0	116	0	176	60	954	132	1086	53
	19	47.3	7.0	20	720	740	0	52	0	0	0	0	122	45	809	130	939	28
	20	45.2	9.5	37	765	802	80	59	0	0	137	0	276	49	841	121	962	37

男	年齢	前住居の状況	現住居の状況
A	50		48.3 新築 53.5 クロルデン 58.8 増築 クロルデン処理
B	45		49.9 新築 クロルデン処理不明
C	33	57. 4-61.1 アパート クロルデン処理不明	61.1 現 アパート クロルデン処理 (確認)
D	36	59. 10 新築アパート クロルデン処理	61.9 新築 クロルデン 処理なし
E	40	61. 4-61.9 アパート クロルデン処理	61.9 新築アパート クロルデン処理なし

(3) 油脂のクリーンアップ法

油脂はスクアレン、ワックスエステル、トリグリセリド、遊離脂肪酸及び脂肪酸エステル等を含んでいて、他の動植物脂質より脂肪酸エステル類が多い。このエステル類の除去が不十分だと、ECDクロマト上で負のピークを生じ、塩素系化合物の検出を妨害することをリノール酸メチルを用いて確認した。フロリジルカラムによるクリーンアップ法では、dieldrin、endrin 以外の塩素系農薬を比較的容易にこれらの妨害物と分離出来るが、両者を完全に溶出させようとすると、妨害物も同時に溶出して分析に支障を来す。そこで今回はフロリジルを 300℃で2時間活性化したのち、1%の水を添加し、密封状態で24時間放置したものを用いることにした。この方法で油脂50mg以下をフロリジル8gをつめたカラムに負荷し、20%ジクロルメタン・ヘ

キサン120~140 ml (皮脂量によって増減する) で dieldrin までほぼ完全に溶出させた。ただし、水を添加したフロリジルは長時間放置すると再度 300℃2時間加熱しても失なわれる水分は1%以下に低下し、dieldrin の溶出量も低下する。その理由については定かでないが、恐らく添加した水分の一部は徐々にフロリジルと結合し、再度の加熱によっても遊離しない状態になるのではないかと推測する。

この研究に多大のご指導を賜りました国立衛生副所長、内山充先生に感謝します。

IV 文 献

- 1) 大城善昇、沖縄県公害衛生研究所報、第18号、p.101~104 (昭59)

表5. 背面皮脂における動態.

unit=ppb (fat basis)

男 No	Amount (mg)	Period (h)	α -HCH	β -HCH	T-HCH	γ -dene	oxy-C	t-C	c-C	t-N	c-N	T-C	Hp-ox	pp'-DDE	pp'-DDT	T-DDT	Dieldrin
A B-1	5.2	0.0	256		256	1310	885	7460	7270	5900	359	23184		115		115	603
2	4.8	2.5				1530		1510	2080	1760		6880					
3	5.2	5.0				936	192	487	1030	962		3607					218
4	9.7	7.5						2620	1340	2190	188	6338		1510		1510	
B 5	3.8	0.0	316		316	439			88			527					
6	2.8	2.5															
7	4.8	5.0	236		236												
8	5.2	7.5	154		154									641		641	
C 9	3.4	0.0				1430		2180	1980	1900		7490					1250
10	5.2	2.5				1350		4830	2820	3090	385	2475					487
11	5.2	5.0				205			26	115		346					321
12	7.8	7.5	214		214	650		1850	1020	1120	94	4734		179		179	325
D 13	3.1	0.0				495						495					
14	3.0	2.5				222				356		578					
15	4.0	5.0				117						117					
16	4.5	7.5															
E 17	2.4	0.0															
18	6.0	2.5												40		40	
19	11.1	5.0				300		162	60	96		618		829		829	
20	6.0	7.5	544		544	500		811	367	378		2056		656		656	