

原 著

尿中 o -クレゾールによるトルエン暴露の 生物学的モニタリング

田口豊郁 緒方正名

川崎医療福祉大学 医療福祉学部 医療福祉学科

(平成5年3月31日受理)

Biological Monitoring for Toluene Exposure Using Urinary o -Cresol

Toyohiro TAGUCHI and Masana OGATA

*Department of Medical Social Work
Faculty of Medical Welfare
Kawasaki University of Medical Welfare
Kurashiki, 701-01, Japan
(Accepted Mar. 31, 1993)*

Key words : toluene, urinary metabolites, o -cresol,
biological monitoring, industrial health control

Abstract

The relations between the concentration of toluene exposure and that of urinary metabolites of toluene in toluene workers were investigated. A significant correlation was found between the concentration of toluene exposure and of o -cresol in workers' urine. A significant difference was found between the concentration of m -cresol in workers' urine of the toluene exposure group and of the toluene unexposed group, but a significant correlation was not found between the concentration of toluene exposure and of urinary m -cresol. In the case of urinary p -cresol, there was not a significant difference between the exposure group and the unexposed group, and there was not significant correlation between the concentration of toluene exposure and of urinary p -cresol. The mean of p -cresol concentration was over hundred times higher than that of o - and m -cresol concentration. We found that o -cresol was useful as an index of toluene exposure, but judging from discriminant concentration, hippuric acid was a better index than o -cresol. Because the histories of the normal values in urine of hippuric acid and o -cresol differ from each other, in the case of assessment for low concentration toluene exposure, we think that both hippuric acid and o -cresol concentration should be considered.

要 約

トルエン取扱い作業者の個人暴露濃度と尿中代謝物濃度の関係を調べた。尿中 *o*-クレゾール濃度は、トルエン暴露濃度と良い相関を示した。一方、*m*-クレゾールは、トルエン暴露群の平均値と非暴露群の平均値で有意な差が認められたが、トルエン暴露濃度とは有意な相関を示さなかった。*p*-クレゾールでは、暴露群と非暴露群の平均値に有意差がなく、暴露濃度との間にも有意な相関を示さなかった。*p*-クレゾール濃度は、*m*、*o*-クレゾールに比べて、平均値で100倍以上高かった。トルエン暴露の指標として*o*-クレゾールの有効性を認めたが、判別限界濃度から考えて、馬尿酸より有利である点は見いだせなかった。しかし、両者の正常値（トルエン非暴露尿中濃度）の由来が異なることから、低濃度のトルエン暴露の評価に当たっては、両者の測定値を加味することが有効であると考えた。

はじめに

有機溶剤に暴露されると尿中に各種代謝物が排泄される。これらの尿中代謝物の量から、作業者の有機溶剤の暴露状況が評価でき、さらに、健康に対する危険度を評価することができる¹⁾。有機溶剤の中で、特にトルエンは、シンナーの主成分として、塗料、接着剤等広く産業現場で用いられ、トルエンを取り扱う作業員数はたい

へん多い²⁾。

体内に吸収されたトルエンの約60%は、そのメチル基が酸化されて安息香酸となり、さらに、グリシンが抱合して、尿中に馬尿酸として排泄されるが、トルエンのごく一部は、ベンゼン環が酸化されクレゾールとなり、尿中に排泄される³⁾。従来、尿中の馬尿酸の測定がトルエン暴露の生物学的モニタリングに利用されてきた⁴⁾⁵⁾。

一方、*o*、*m*、*p*-クレゾール異性体の中で、尿中*o*-クレゾール濃度は、トルエン暴露濃度とよく相関すると言われている⁶⁾⁷⁾⁸⁾が、尿中に排泄される割合が、馬尿酸に比べて小さい(1/1000以下)ため、*o*、*m*、*p*-異性体を含んだ報告例は少ない。本研究では、クレゾールに極めて高感度な蛍光検出器を用いた高速液体クロマトグラフ法(*o*、*m*、*p*-異性体の同時測定)⁹⁾によって、トルエン暴露者および非暴露者の尿を分析した。その結果、正常値（トルエン非暴露者尿の測定値）、尿中代謝物濃度と暴露濃度の関係等について有用な結果を得た。

材料と方法

1. 材 料

有機溶剤露者（事務作業員44人、男性32±5歳）およびトルエン暴露者（有機溶剤使用工場作業員36人、男性40±12歳、トルエンが主成分であるが、他にキシレンおよびメチルイソブチルケトン¹⁰⁾の暴露有り）のスポット尿（作業後）中の馬尿酸、*o*、*m*、*p*-クレゾールおよびフェノールを測定した。さらに、有機溶剤暴露者の作

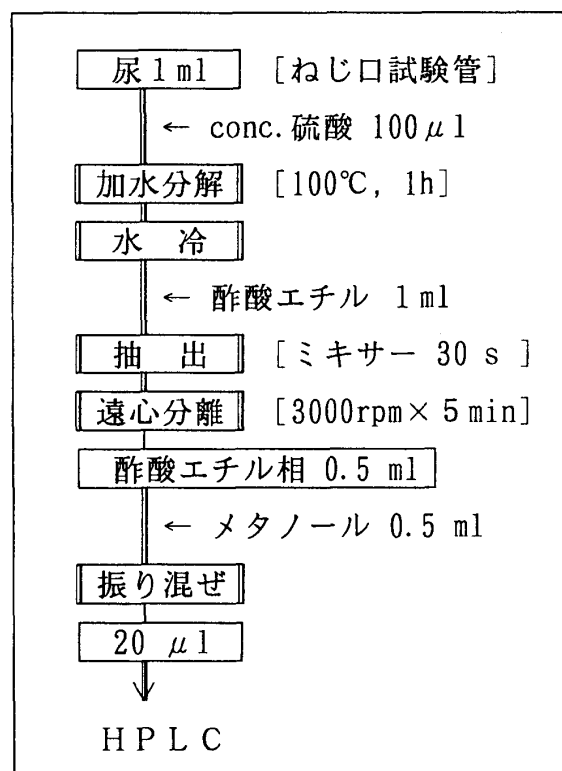


図1 尿中クレゾール測定のプロフローチャート

表1 トルエン非暴露群と暴露群の尿中物質濃度の比較

		平均値±標準偏差 (最小値~最大値)		t 検定 ¹⁾
		非暴露群 (n=44)	暴露群 (n=36)	
トルエン暴露濃度	[ppm]	0	14.6±7.7 (10.6~31.4)	
尿中フェノール	[mg/g・cre]	8.21±8.06 (1.5~44.9)	7.49±4.79 (12.1~21.6)	—
尿中 <i>p</i> -クレゾール	[mg/g・cre]	26.7±27.9 (1.7~108)	16.7±17.6 (4.6~78.8)	—
尿中 <i>m</i> -クレゾール	[mg/g・cre]	0.041±0.043 (0.004~0.223)	0.142±0.113 (0.237~0.584)	***
尿中 <i>o</i> -クレゾール	[mg/g・cre]	0.076±0.061 (0.004~0.252)	0.207±0.093 (0.241~0.426)	***
尿中馬尿酸	[g/g・cre]	0.155±0.135 (0.016~0.562)	0.663±0.333 (0.533~1.492)	***

1) F検定で分散に有意差があったので、Welchの方法でt検定を行った。

—: $p < 0.05$ の危険率で、有意差を認めない。

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$ の危険率で有意差有り。

表2 トルエン暴露濃度(x)と、尿中物質濃度(y)の相関係数 [n=36]

尿中物質	実測値	比重補正	クレアチニン補正
フェノール	0.017	0.003	0.149
<i>p</i> -クレゾール	0.177	0.203	0.282
<i>m</i> -クレゾール	0.103	0.099	0.115
<i>o</i> -クレゾール	0.452***	0.493***	0.655***
馬尿酸	0.607***	0.686***	0.764***

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$ の危険率でxとyの間に相関有り (母相関係数 $\rho = 0$ の検定)。

業時間中(8時間)の個人暴露濃度測定(TWA-8h, 有機ガスモニタ3M-3500使用)を行った。

2. 尿中代謝物測定

尿中の*o*, *m*, *p*-クレゾールおよびフェノールは、高速液体クロマトグラフ法(蛍光検出器)⁹⁾で測定した。すなわち、以下の方法で測定した。

【HPLC条件】カラム: TSKgel ODS 80 Tm, 5 μ m, ϕ 4.6mm \times L150mm, 移動相: [(20mM $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{CH}_3\text{CN} = 75/25$) + 20mM β -シクロデキストリン] (pH3.0, H_3PO_4 で調整), 検出波長: Ex=270nm, Em=290nm (ケイ光検出器 HITACHI F-1050), カラム温度: 40°C (カラムオープン TOSOH CO-8010), 流量及び圧: 0.7ml/min 及び90kg/cm² (ポンプ TOSOH

CCPM), デガッサー Erma ERC-3511, 注入量: 20 μ l (オートサンプラー TOSOH AS-8000), データ処理器(HITACHI D-2500), 【操作手順】フローチャートを図1に示す。

また、尿中の馬尿酸およびクレアチニンは、HPLCを用いて馬尿酸とクレアチニンの同時分析¹⁰⁾を行った。

3. 個人暴露濃度測定

個人暴露濃度は、有機ガスモニタの活性炭に吸着した有機溶剤を二硫化炭素で脱着後、ガスクロマトグラフ(FID)で分析した。

結 果

暴露群のトルエン濃度および、トルエン非暴露尿と暴露尿の測定結果を表1に示す。*m*-および*o*-クレゾール濃度は、*p*-クレゾール濃度より極めて低濃度(平均値で1/100以下)であった。また、*p*-クレゾール濃度は、フェノール濃度と同程度であった。尿中*o*, *m*-クレゾールおよび馬尿酸濃度は、暴露者群では非暴露者群より有意に高かったが、*p*-クレゾールおよびフェノールでは有意な差はなかった。

暴露者群のトルエン暴露濃度と尿中濃度の相関係数を表2に示す。トルエン暴露濃度と、尿

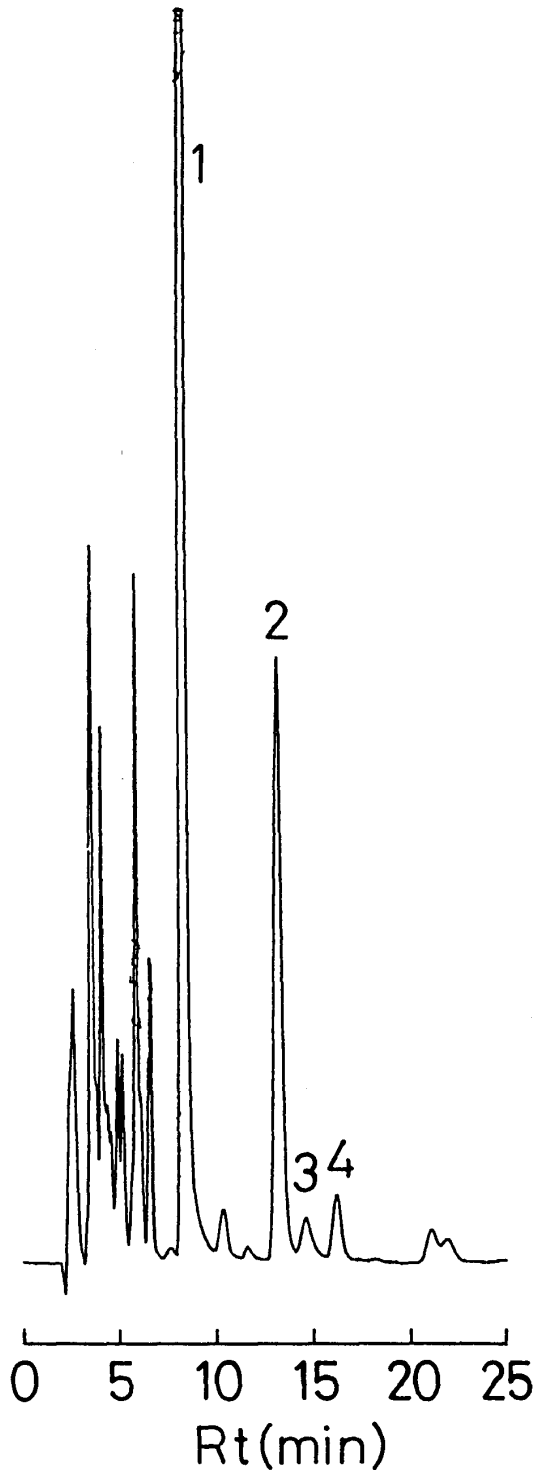


図2 トルエン暴露者尿の代表的な HPLC クロマトグラム
 AUFS: 0.256, トルエン暴露濃度: 30ppm (TWA-8h)
 1: フェノール13.3mg/l, 2: *p*-クレゾール8.8mg/l,
 3: *m*-クレゾール0.29mg/l, 4: *o*-クレゾール0.52mg/l.

中馬尿酸および*o*-クレゾール濃度はよい相関を示した。このとき、馬尿酸および*o*-クレゾールとも相関係数は、実測値<比重補正值<クレアチニン補正值、の順に良くなった。

次に、トルエン暴露濃度と、尿中*o*-クレゾールおよび馬尿酸濃度の回帰直線とその信頼区間を図3に示す。*o*-クレゾールは、馬尿酸同様トルエン濃度と良い直線性を示した。図3の回帰直線から外挿されるトルエンの許容濃度(100ppm)暴露相当の*o*-クレゾール濃度は、0.89mg/g・creatinineであった。尿中*o*-クレゾール濃度(クレアチニン補正值)からトルエン暴露が確かに有りと判別できるトルエン濃度(判別限界濃度DC¹¹⁾)は、32ppmであった。同様に馬尿酸(クレアチニン補正值)では、DC=23ppmであった。

考 察

トルエンの非暴露群と暴露群の尿中濃度の平均値を比較(表1)した場合、フェノールおよ

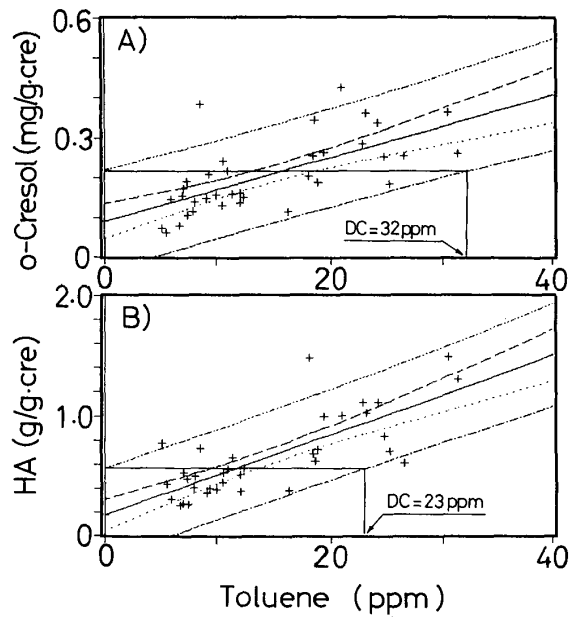


図3 トルエン暴露濃度と尿中*o*-クレゾールおよび馬尿酸の対応
 回帰直線, 回帰直線の90%レンジおよびデータの90%レンジを示す。
 DC: 判別限界濃度 (ppm)
 A) *o*-クレゾール: $r=0.654, y=0.00795x+0.090$
 B) 馬尿酸 (HA): $r=0.764, y=0.0331x+0.179$

び *p*-クレゾールでは、有意な差が有りとは言えなかったが、*o*、*m*-クレゾールおよび馬尿酸では有意に増加していた。一方、正常者（トルエン非暴露者）の尿中クレゾールでは、*p*-クレゾール濃度が *o*-、*m*-クレゾール濃度よりはるかに高かった（個人の *p/o* 比の範囲 = 20~20000, *p/m* 比の範囲 = 30~20000）。しかし、その理由については、食餌、薬物、その他の原因によるのか不明である。尿中 *p*-クレゾールは、*m*-および *o*-クレゾールに比べて、正常尿（トルエン非暴露尿）中に大量に存在するので、トルエン以外に由来するものが支配的であると考えられる。

トルエン暴露濃度と尿中代謝物濃度の相関（表 2）では、*o*-クレゾールの相関が馬尿酸に次いで良好であったが、フェノール、*m*、*p*-クレゾールでは有意な相関はなかった。馬尿酸および *o*-クレゾールとも相関係数が、実測値 < 比重補正值 < クレアチニン補正值、の順となり、クレアチニン補正が有効なことから、*o*-クレゾールの排泄機序が馬尿酸と同様、クレアチニンに似ていると推定できる¹²⁾。*o*-クレアチニン補正值は、図 3 に示すように馬尿酸同様、良い直線関係を示しているため、トルエンのよい暴露指標となると考えられる。

トルエンの許容濃度 (100 ppm) 暴露相当の *o*-クレゾール濃度は、0.89 mg/g・creatinine（図 3 B）であった。*o*-クレゾールのトルエン許容濃度暴露相当濃度を、Hasegawa⁶⁾らは、男性 1.10 g/g・creatinine、女性 0.85 g/g・

creatinine また、Rosa⁸⁾らは、0.94 mg/g・creatinine と報告した。これらの値は、我々の 0.89 mg/g・creatinine とよく一致している。

また、トルエンの暴露が確かに有りとは判別できる限界トルエン濃度 (DC)¹¹⁾を求めると、*o*-クレゾールの DC (32 ppm) は馬尿酸の DC (23 ppm) より少し大きくなった。したがって、DC からの判断では、本工場例では、暴露の指標として *o*-クレゾールが馬尿酸より特に有効ではないと考えられる。

馬尿酸の正常値は、食品中の安息香酸に由来するので、安息香酸の多い食品（たとえば、保存剤として安息香酸ナトリウムが入っている清涼飲料水）を摂取すれば、尿中の馬尿酸濃度は、トルエン暴露の評価に大きく影響するほど増加する¹³⁾ことがある。一方、尿中 *o*-クレゾールの由来の 1 つとして喫煙による尿中 *o*-クレゾールの増加が報告されている¹⁴⁾。トルエン非暴露者尿中の馬尿酸濃度と *o*-クレゾールの濃度（正常値）に有意な相関がなかった ($r = 0.239$, 母相関係数 $\rho = 0$ の検定で有意差なし) ので、両者の正常値の由来は別々であると考えられる。したがって、尿中代謝物濃度からトルエンの低濃度暴露を評価する場合、馬尿酸および *o*-クレゾールのどちらか一方だけではなく、両者の測定値から総合的に判断することで有効であると考える。

本論文の一部は、第 64 回日本産業衛生学会 (1991) で発表した。

文 献

- 1) 緒方正名, 田口豊郁 (1988) 労働衛生管理における生物学的モニタリングの意義. トキシコロジーフォーラム 11(4), 333-344.
- 2) 労働基準局 (1992) 労働衛生のしおり平成 4 年度. 中央労働災害防止協会, 東京, pp 207-208.
- 3) ACGIH 編, 緒方正名訳 (1987) トルエン, 生物学的暴露指標, 同文書院, 東京, pp 72-77.
- 4) American Conference of Governmental Industrial Hygienists (1990) Documentation of the threshold limit values and biological exposure indices. ACGIH, Cincinnati, OH.
- 5) 労働省令第 23 号 (1989) 有機溶剤中毒予防規則の一部改正.
- 6) Hasegawa H, Shiojima S, Koizumi A and Ikeda M (1983) Hippuric acid and *o*-cresol in the urine of workers exposed to toluene. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 52, 197-208.
- 7) Angerer J (1979) Occupational chronic exposure to organic solvents. VII. Metabolism of toluene.

International Archives of Occupational and Environmental Health **43**, 63—67.

- 8) Rosa ED, Brugnone F, Bartolucci GB, Perbellini L, Bellomo ML, Gori GP, Sigon M and Corona PC (1985) The validity of urinary metabolites as indicators of low exposure to toluene. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, **56**, 135—145.
- 9) 田口豊郁, 堀家徳士, 緒方正名 (1993) 高速液体クロマトグラフによる尿中クレゾール異性体の高感度同時分析. *医学と生物学*, **126**(5), 187—191.
- 10) Ogata M and Taguchi T (1988) Simultaneous determination of urinary creatinine and metabolites of toluene, xylene, styrene, ethylbenzene and phenol by automated high performance liquid chromatography. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, **61**, 131—140.
- 11) Ogata M and Taguchi T (1986) Quantitative analysis of glycine conjugate by high performance liquid chromatography : excretion of hippuric acid and methylhippuric acids in the urine of subjects exposed to vapours of toluene and xylenes. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, **58**, 121—129.
- 12) 田口豊郁, 緒方正名 (1992) スポット尿を用いた生物学的モニタリングのための尿中代謝物濃度の補正——クレアチニン補正と比重補正——. *川崎医療福祉学会誌*, **2**(1), 103—112.
- 13) 後藤政幸, 萩原景規, 小林春男, 後藤 博, 芳原達也 : トルエン取り扱い作業者の尿中馬尿酸に及ぼす清涼飲料水摂取の影響. *産業医学*, **32**(4), 278—279.
- 14) Hansen SH and Dossing M (1982) Determination of urinary hippuric acid and o-cresol, as indices of toluene exposure, by liquid chromatography on dynamically modified silica. *Journal of Chromatography*, **229**, 141—148.