

フタル酸エステルの尿中代謝物測定に基づいた曝露とリスクの解析および対策の有効性評価

○伊藤弘明¹・吉田喜久雄²・益永茂樹¹

横浜国立大学 大学院 環境情報学府・環境情報研究院¹,
(独)産業技術総合研究所 化学物質リスク管理研究センター²

要旨

2004年5月、36名の参加者から尿検体の提供を受け、フタル酸エステル類の尿中代謝物を酵素処理、固相抽出、LC-MS/MS、安定同位体希釈法で測定。測定した尿中濃度から親化合物の個人曝露量を推定した。この際にクレアチニン一日排泄量に個人差があることを考慮して解析に組み入れ、曝露量の個人差を的確に反映して曝露とリスクを解析した。各フタル酸エステルの曝露量が耐容一日摂取量 (TDI) を超える確率は 10^{-4} を下回っていた。最後に、1998年から2001年にかけてフタル酸ジ-2-エチルヘキシルの曝露量が顕著に低下していたことが示された。

背景・目的

わが国では近年食品汚染測定等に基づいてフタル酸ジ-2-エチルヘキシル (DEHP) 含有製品の使用規制や企業の自主的排出抑制が行われてきた^[1]。2000年6月、厚生省がDEHP等に暫定の耐容一日摂取量を設定DEHP含有塩ビ手袋の食品への使用を禁止した^[2]。2002年6月に厚生労働省が食品衛生法規格基準を改正し (食品用器具・容器包装の一部のおもちゃに使用禁止)、2003年8月に同法を施行した^[3]。

しかし、フタル酸エステル類はプラスチック可塑剤や医療材料、香料、化粧品原料をはじめとして身近で多様な製品に使われており、多様な曝露経路が存在することが予想される。正確な曝露評価が困難な汚染物質である。規制対象外のフタル酸エステルのリスクはどうか、一連の対策の結果、本当に安全な水準まで低下したのか、は明確でない。

一方、ヒトがフタル酸エステルに曝露されると尿中に代謝物が生じることがわかっている。これに着目して、尿中代謝物濃度を曝露指標として測定する研究が欧米で盛んになってきた。化学物質がヒトの健康に及ぼすリスクを評価し適切に管理するためには、曝露量と曝露量の個人差、曝露経路を的確に把握する必要がある。本研究では、ヒトが実際に曝露された直接的証拠である尿中代謝物濃度を測定して、表1に示すフタル酸エステルの曝露とリスクを解析し、対策の有効性を評価した。

表1 対象物質

| 親化合物 | 尿中一次代謝物 |
|-------------------------|--------------------------|
| フタル酸ジエチル DEP | フタル酸モノエチル MEP |
| フタル酸ジブチル DBP | フタル酸モノブチル MBP |
| フタル酸ジフェニルベンジル BBzP | フタル酸モノベンジル MBzP |
| フタル酸ジ-2-エチルヘキシル DEHP | フタル酸モノ-2-エチルヘキシル MEHP |



図1 たとえ想定外の曝露経路が存在しても、尿中代謝物濃度は総曝露量を過不足なく反映

方法

1. 検体収集

2004年4月、日本疫学学会倫理審査委員会で審査され承認
2004年5月、東京-横浜周辺住民36名が参加、
スポット尿と自記式調査票を収集、連結不可能匿名化

2. 測定

フタル酸エステルの尿中代謝物をLC-MS/MSで一斉分析^[4] (下記図3を参照)

サロゲート物質、加水分解酵素 (E. coli K12株由来 β-グルクロニダーゼ, Roche, 200 unit/mL, 5 μL), pH調整剤 (1M 酢酸アンモニウム水溶液 pH 6.5, 250 μL) を尿1 mLに添加

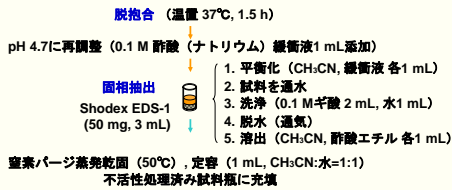


図3 尿中フタル酸モノエステル一斉分析法

3. 曝露解析

次式を用いて尿中濃度から曝露量を推定^[5,6]
(大人35名について)

$$Intake = \frac{ME \times CE}{f} \times \frac{MW_d}{MW_m}$$

Intake : フタル酸エステル曝露量 [μg/kg/day]

ME : 尿中代謝物濃度 [μg/g-creatinine]

CE : クレアチニン一日排泄量 [g/kg/day]
(専用の重回帰式^[7]を用いて算出)

MW_d : フタル酸エステルの分子量

MW_m : 尿中代謝物の分子量

f : 代謝物の尿中排泄率 (表2を参照)

表2 曝露量推定に用いた尿中排泄率^f

| 投与物質 | 尿中代謝物 | f |
|------|-------|---------------------|
| DEP | MEP | 69-100% (本研究で仮定) |
| DBP | MBP | 69% ^[8] |
| BBzP | MBzP | 73% ^[8] |
| DEHP | MEHP | 6.2% ^[9] |

いずれも誤差投与 (ヒト投与試験値)

クレアチニン補正値ME [μg/g-creatinine] は曝露量のほかに筋内量にも依存して変動。

MEだけでなくCEを個人別に求めて乗じ、筋内量の個人差を相殺 (本研究独自)^[4]

結果

1. 尿中濃度と曝露量

収集したすべての検体から各フタル酸エステルの代謝物が検出された (表3を参照)。尿中代謝物濃度から推定したフタル酸エステル曝露量は高曝露量側に長く裾を引き、低曝露量側に歪んで分布していた (図4を参照)。

表3 測定した尿中代謝物濃度とフタル酸エステル曝露量

| | 尿中代謝物濃度 [μg/L] | | 曝露量 [μg/kg/day] | |
|------|----------------|----------|-----------------|--------|
| | Median | Range | 幾何平均値 | 幾何標準偏差 |
| MEP | 15 | 0.86-450 | DEP 0.39-0.56 | 3.09 |
| MBP | 44 | 1.0-270 | DBP 1.2 | 2.10 |
| MBzP | 2.5 | 0.42-8.0 | BBzP 0.077 | 1.98 |
| MEHP | 5.0 | 0.76-25 | DEHP 1.8 | 2.18 |

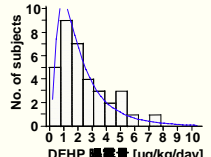


図4 曝露量の度数分布

2. 健康リスク

各フタル酸エステル曝露量の幾何平均値・幾何標準偏差をパラメータとする対数正規分布密度関数から、曝露量がTDIを超える確率 (曝露量のTDI超過率) を図5のようにして算定した。その結果、曝露量がTDIを超える確率は表4のように十分小さい水準であった (<10⁻⁴)。DEHP以外のフタル酸エステルを規制対象外とした政策決定は結果として誤りではなかったと推測された (ただし、乳幼児・子供は本研究の評価対象外)。

表4 フタル酸エステル類のリスク算定結果

| | リスク (TDI超過率) | TDI [μg/kg/day] |
|------|-----------------------------------------------|------------------------|
| DEP | 7 × 10 ⁻¹² ~ 6 × 10 ⁻¹¹ | 800 ^[10] |
| DBP | 6 × 10 ⁻⁸ | 100 ^[11] |
| BBzP | <10 ⁻¹² | 200 ^[11] |
| DEHP | 3 × 10 ⁻⁸ ~ 7 × 10 ⁻⁵ | 40-140 ^[12] |

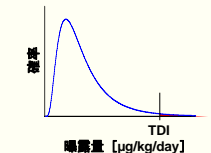


図5 リスク算定の概念図

3. DEHP対策の有効性

既存のDEHP曝露評価結果と時系列で比較したところ、2000年の前後で、DEHP曝露量はたしかに低下していた。一方、2003年の規制の効果は見られなかった。

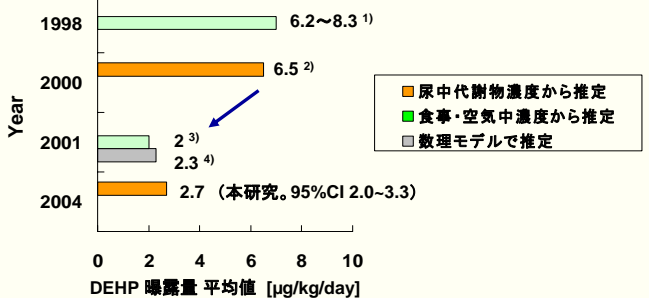


図6 わが国におけるDEHP曝露量の推移

内訳1) 日本食品分析センター測定 (陰膳: 東京都内8家庭3日分)^[12]

2) 富山県衛生測定 (n=10, 夏・秋。解析は本研究)^[14,13]

3) 環境省測定 (陰膳: 全国9ブロック3家庭3日分)^[12]

4) 産総研 (吉田ら) 数理モデル予測 (食事経由)^[1]

結論

[1. フタル酸エステルのリスクと規制の効果を示す] わが国におけるフタル酸エステルの尿中代謝物濃度、曝露量、健康リスク、さらに規制による曝露削減効果を明らかにした。1998年から2001年にかけてDEHP曝露量は顕著に低下していた。一方、2001年から2004年にかけて曝露量の低減効果は見られず、2003年の規制の効果は小さかったことがわかった。

[2. 評価の方法論を示す] 本研究は以下に挙げる著しい特徴を持ち、曝露とリスクの評価を精緻化している。まず、本研究は事前的曝露経路の情報を必要とせず、重要な曝露経路を見落として過小評価する心配がない。つぎに、集団のリスクは個人差の大きさが決定する。本研究は個人曝露評価に基づく上、クレアチニン量が筋内量に依存するバイアスを除去して、曝露の個人差を的確に反映して評価している。また、わずか1 mLの尿から多成分の曝露を同時に評価することができ、複数の環境汚染物質の曝露とリスクを継続的にモニタリングすることも可能である。

引用文献 [1] Yoshida, K., Naito, W.: Di(2-ethylhexyl) phthalate [Japanese]. Maruzen, Tokyo 2005.

[2] Ministry of Health and Welfare: Committee for Food Hygiene. June 14, 2000.

[3] Ministry of Health Labour and Welfare: No. 0802005. August 2, 2002.

[4] Itoh, H. et al.: *Int. J. Hyg. Environ. Health* (accepted).

[5] David, R. M.: *Environ. Health Perspect.* 108(10), A440 (2000).

[6] Koch, H. M. et al.: *Int. J. Hyg. Environ. Health* 206(2), 77-83 (2003).

[7] Kawasaki, T. et al.: *Nippon Koshu Eisei Zasshi* 38(8), 567-574 (1991).

[8] Anderson, W. A. et al.: *Food Addit. Contam.* 18(12), 1068-1074 (2001).

[9] Koch, H. M. et al.: *Arch. Toxicol.* 2005 Feb 8; [Epub ahead of print] (2005).

[10] USEPA: Diethyl Phthalate. Integrated Risk Information System 1993.

[11] CSTE: Opinion expressed at the 6th CSTE plenary meeting, Brussels, 26/27 November 1998.

[12] Yoshida, K. et al.: In: the 16th annual meeting of Society for Risk Analysis, Japan Section. 2003.

[13] Shimamura, T. et al.: In: the 3rd meeting for reading research papers of Japanese Society for Environmental Disrupting Chemicals. Yokohama, Japan, p. 142. 2000.