



Determination of Trichloroacetate in Human Serum and Urine by Ion Chromatography.

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 伊藤, 久昭 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1440

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 163号	学位授与年月日	平成 6年 1月21日
氏 名	伊 藤 久 昭		
論文題目	Determination of Trichloroacetate in Human Serum and Urine by Ion Chromatography (イオンクロマトグラフィーによるヒト血清および尿中のトリクロロ酢酸塩の定量)		

医学博士 伊藤久昭

論文題目

Determination of Trichloroacetate in Human Serum and Urine by Ion Chromatography

(イオンクロマトグラフィーによるヒト血清および尿中のトリクロロ酢酸塩の定量)

論文の内容の要旨

トリクロロ酢酸塩 (TCA) はトリクロロエチレンや1, 1, 1-トリクロロエタンなどの有機塩素化合物の吸入あるいはそれらへの暴露によりヒト血清および尿中に見いだされることが知られている。近年、これらの有機塩素化合物の発癌性が報告されたことから、その取扱いおよび取扱い作業者のこれらの有機化合物への暴露の程度に大きな関心を持たれるようになった。

検出方法として、尿中の総トリクロロ化合物および TCA の定量が有効とされ、これまでは、TCA をピリジンおよび強アルカリと煮沸した時に生ずる赤い発色を利用した吸光光度法が用いられているが、この方法は操作が煩雑で、分析に長時間を要することから、より簡便、迅速な分析法の開発が切望されている。本研究では、イオンクロマトグラフィーによるヒト血清および尿中の TCA の簡便、迅速な分析法の開発を行い、その臨床化学への応用を試みた。

生体試料中には極めて多数の有機酸成分および塩基成分が含まれており、これらの成分の妨害なしに TCA を定量するためには特異な条件が必要となる。本研究の結果、検出器に伝導度検出器を、分離カラムに比較的疎水性の高い官能基を結合した陰イオン交換樹脂充填カラムを、溶離液として35 mM 水酸化ナトリウム-20 mM p-ヒドロキシベンゾニトリル-2%アセトニトリル混合溶液を用いることにより、ヒト血清および尿試料に含まれる有機酸あるいは塩基成分の妨害を受けることなく10mg/lレベル以上の TCA の分析が可能であることを見いだした。標準添加した血清および尿試料を用いて本法の定量操作に従って求めた TCA の回収率および変動係数はそれぞれ98.2~101%および3.0%と極めて良好であった。

本法を、実際にトリクロロエチレンを使用する仕事(5日/週、8時間)に従事している人の尿試料の分析に適用したところ、 $108 \pm 2 \sim 133 \pm 3$ mg/l の TCA が検出され、これらの人々が高濃度のトリクロロエチレンの吸入あるいは暴露環境下での労働に従事していると推定される。このような場合の健康管理のためのモニターにこの分析法が有用な方法であると考えられる。本法によれば、ヒト血清および尿試料中の10mg/lレベルの TCA の定量が可能であり、臨床化学分析への応用が期待される。

論文審査の結果の要旨

トリクロロエチレンおよびテトラクロロエチレンなどは、金属の洗浄剤や溶剤としてハイテク工場やクリーニング店などで幅広く使用されている。これらの有機塩素系化合物は人体に暴露され、吸入されると肝臓や腎臓への機能障害のほか、動物実験での発癌性などの毒性が指摘されている。トリクロロエチレンなどの体内代謝物であるトリクロロ酢酸塩 (TCA) およびトリクロロエタノール (TCEOH) は、これらの有害な塩素化合物が人体に取り込まれた場合の一つの指標としてヒト血清および尿中に見いだされることが知られている。従って、ヒト血清および尿中の TCA または TCEOH を定量することにより、これらの有害化合物への暴露の程度を推定することが可能である。

TCA または TCEOH の従来の定量法には、TCA を強アルカリ溶液でピリジンと加熱するときに生成する赤色成分を吸光光度定量する方法がある。しかし、この分析法は、呈色が不安定で操作が煩雑であるため分析に長時間を要するなどの欠点がある。

申請者は、主論文ほかに発表した研究において、先の吸光光度法に取って代わる方法として、AG-5 および Amminex A-5 カラムを用いるイオンクロマトグラフィーによるヒト血清および尿中の TCA、TCEOH の簡便、迅速な分析法を研究開発した。そして、この分析法がトリクロロエチレンなどの量的な暴露の程度と疾病との因果関係などを明らかにするための臨床化学研究に応用できることを明らかにした。更に、今後有機塩素系化合物による大気汚染の防止、および我々を取り巻く湖沼水の浄化と保全に果たすこの分析法の環境化学的な意義は大きい。しかし、動物実験による先の因果関係および自然環境水への実際分析は今後の検討課題として残された。

そこで申請者は、トリクロロエチレンなどの有機塩素系化合物に暴露された場合の指標としてヒト血清および尿中に蓄積される TCA および TCEOH の迅速分析法を確立するにあたり、生体試料中に多数共存する有機成分および塩基成分の妨害を除去するために、イオンクロマトグラフィーに伝導度検出器を用い、分離カラムには比較的疎水性の高い官能基を結合させた陰イオン交換樹脂カラム、溶離液として $35 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3}$ 水酸化ナトリウム・ $20 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3}$ p-ヒドロキシベンゾニトリル-2%アセトニトリルの混合溶液を採用した。更に、カラムのあとに suppressor を付けて溶離液の伝導度を下げてバックグラウンドを低くするなどの TCA および TCEOH の新分析法を考案した。

この方法によれば、ヒト血清および尿試料中に含まれる有機酸などの共存成分の妨害なしに 10 ppm レベル以上の TCA の分析が可能である。ヒト血清および尿試料を用いて、標準添加法により求めたこの分析法の TCA の回収率および変動係数はそれぞれ 98.2-101% および 3.0% を示し、非常に高い正確度と高い分析精度を有することを証明した。

申請者は、この分析法を実際にトリクロロエチレンを使用する仕事（5 日/週、8 時間/日）に従事している人の尿試料の実際分析に適用したところ、 $108 \pm 2 - 133 \pm 3 \text{ ppm}$ の TCA が検出され、これらの労働者が高濃度のトリクロロエチレンなどの吸入あるいは暴露環境下で労働に従事していることを明らかにした。この方法はこのような労働条件下で働く労働者の健康管理のモニターとして有用である。

本法によれば、ヒト血清および尿試料中の $10 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ レベルの TCA の定量が可能であり、臨床化学分析への応用が期待される。

この申請者の一連の研究成果は臨床化学分析的に非常に重要であるので、審査委員会は検討された実験の細部にわたり以下に挙げたような問題について活発な討論を行った。

1. トリクロロエチレン ($\text{CHCl} = \text{CCl}_2$) より体内で生成する代謝体のクロラールハイドレード ($\text{CCl}_3\text{CH}(\text{OH})_2$) または、一部副反応により生成するモノクロル酢酸の体内代謝過程について
2. トリクロロエチレンなどの有機塩素系化合物の人体への暴露量と疾病との関係
3. トリクロロエチレンおよびその代謝物である TCA と TCEOH の体内貯留性について
4. トリクロロエチレンが体内に取り込まれ、最終的に TCA および TCEOH に変化するまでの過程でどのような中間体または、成分が発癌性を有するかについて
5. TCA および TCEOH は、人体のどのような臓器中でトリクロロエチレンから生成されるか
6. この分析法を有機塩素系化合物の取扱者の健康管理および環境汚染の検査に応用する場合に、今後どのような臨床化学的プロトコールにより研究を進めていくか
7. トリクロロエチレン等の有機塩素系化合物の環境基準（水道法等）について

これらの質問に対する申請者の解答は概ね適切であった。よって、申請者の論文は博士（医学）の学位授与に値するものと審査員全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 一 瀬 典 夫

副査 教授 鈴 木 修 副査 教授 藤 井 喜一郎

副査 助教授 植 松 俊 彦 副査 助教授 右 藤 文 彦