

課題名	5C-1151 可塑剤・難燃剤の曝露評価手法の開発と小児アレルギー・リスク評価への応用
課題代表者名	岸 玲子（北海道大学 環境健康科学研究教育センター 特任教授）
研究実施期間	平成23～25年度
累計予算額	96,523千円（うち25年度28,655千円） 予算額は、間接経費を含む。
本研究のキーワード	フタル酸エステル類、リン系難燃剤、ハウスダスト、尿中代謝物、曝露評価、学童、胎児期曝露、喘息、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎

研究体制

- (1) 可塑剤・難燃剤の環境曝露評価および尿中代謝物測定による生体曝露評価手法の開発（中央労働災害防止協会・大阪労働衛生総合センター）
- (2) 学童を対象とした可塑剤・難燃剤曝露による小児アレルギーのリスク評価（北海道大学 環境健康科学研究教育センター）
- (3) 胎児期立ち上げコーホートを用いた可塑剤・難燃剤曝露によるアレルギー発現リスク評価（北海道大学大学院 医学研究科）

研究概要

1. はじめに（研究背景等）

第二次大戦後、合成化学物質の生産量の飛躍的な増大に伴い、これまでは環境中にほとんど存在しなかった化学物質が環境中に放出されるとともに、それらの曝露による健康への影響が懸念されるようになった。本研究では、近年増加している小児のアレルギー増加の原因の一つとして、生産量が増加し、かつ動物実験で感作性を有するとされる環境化学物質として、フタル酸エステル類やリン酸トリエステル類に注目した。

フタル酸エステル類はポリ塩化ビニル(PVC)の可塑剤として広く使用されてきた。このうちフタル酸(2-ジエチルヘキシル)(DEHP)は内分泌かく乱物質としての生殖毒性などの影響が問題となり、日本でも経口摂取される油性の食品に接触する器具・容器包装等、あるいは玩具などに関してはある程度の規制が行われた。しかし多くの建築資材、内装材、家庭用電化製品等にはこれら可塑剤が含まれているが規制は未だなされていない。海外では、住宅内のプラスチック系内装材の使用、あるいは室内ダスト中フタル酸エステル類濃度と児童の喘鳴、喘息との関連が報告され、近年増加しているアレルギー症状の誘発と室内における可塑剤曝露との関連性が疑われ、また動物実験では、アレルゲンへの感作におけるフタル酸エステル類のアジュバント効果が報告されている。しかし、世界的に見ても疫学研究とその基盤となる基礎研究は不足しており、また胎児期曝露による影響を評価した報告はほとんどない。

一方、難燃性可塑剤としては、世界的にこれまで臭素系難燃剤主に使われてきたが、最近ではリン系難燃剤(リン酸トリエステル類)に代替移行してきている。しかしリン系難燃剤への曝露影響に関する科学的なデータが非常に少ないのが現状である。

フタル酸エステル類・リン系難燃剤の個人の曝露評価方法としては、室内濃度のみならず尿中代謝物量による評価系の確立が重要である。フタル酸エステル類については、尿など生体試料を用いた代謝物濃度等の測定では、子どもでは大人より有意に高く、また妊婦も恒常的に曝露されている可能性が示唆されているが、日本のデータはない。さらにリン酸トリエステル類については世界的に見ても尿中代謝物の分析検討をした報告が数報あるのみで、疫学的な健康リスク評価はほとんど行われていない。

2. 研究開発目的

本研究では、可塑剤や難燃剤として用いられるフタル酸エステル類やリン酸トリエステル類に着目し、これらの化学物質曝露によるアレルギー症状との関連について明らかにすることを目的とする。

サブテーマ(1)では、フタル酸エステル類・リン系難燃剤の曝露量を評価するための方法として、ダスト中のこれら化学物質、および尿中代謝物の一斉分析手法を確立し、曝露指標としての妥当性や有用性、および症状との関連から量-影響、反応関係を明らかにすることを目的とした。併せて、フタル酸エステル類混合曝露の評価指標として無水フタル酸利用の可能性を検討し、生物学的評価値を求めることを目的とした。

サブテーマ(2)では、学童を対象とした疫学研究で、曝露とアレルギー症状との関連を明らかにすることを目的とした。①札幌市小学校に通う児童から収集済みの保存サンプルを用いて、ダスト中フタル酸エステル類・リン系難燃剤濃度と尿中代謝物濃度を分析し、住環境やISAAC調査票を用いたアレルギーとの関連を明らかにする。②北海道で実施している2万人規模の大規模出生コーホート登録者のうち7歳になる児童を対象に、郵送および訪問で自宅のダストと尿を収集し、ダスト中フタル酸エステル類・リン系難燃剤濃度および尿中フタル酸エステル代謝物・リン系難燃剤代謝物を分析し、アレルギーとの関連を明らかにすることを目的とした。また、疫学調査における郵送や訪問調査の実現可能性や妥当性、ダストサンプルの分析前処理法による調査対象化合物濃度の相違を明らかにする。

サブテーマ(3)では、出生コーホートを用いた胎児期曝露による、生後の免疫・アレルギー発症への影響を明らかにすることを目的とした。胎児期曝露評価として母体血中MEHP(フタル酸モノ(2-エチルヘキシル)、DEHP代謝物)濃度を分析し、臍帯血中IgE、児の1.5歳、3.5歳、および7歳齢のアレルギーと感染症罹患歴へのリスク解析を実施し、ヒトでのDEHP胎児期曝露による次世代影響を明らかにすることを目的とした。

3. 研究開発の方法

(1) 可塑剤・難燃剤の環境曝露評価および尿中代謝物測定による生体曝露評価手法の開発

1) 住宅ハウスダスト中のフタル酸エステル類とリン酸エステルの一括分析方法の開発

ハウスダストを約50 mg秤量し、内部標準物質(フルオランテン-d10)を含んだアセトン1 mLを加えて超音波で60分間抽出し、一昼夜保存後、軽く振動して分析用バイアル瓶に分注し、GC/MSによる一斉分析を行った。GC/MS機器はHPGC6890+Agilent,5973N MSD。カラムはUltra-1 50m×0.2mm i.d.×0.33mm(J & W)。分析条件は60°C(2min)-20°C/min-180°C(10min)-15°C/min-240°C(10min)-20°C/min-300°C(20min)。キャリアーガスはHeliumで流量70 kPa(constant pressure mode)で、注入口温度は280°C、注入量は1 μL、スプリットレスで行い4分後にパージを行った。MSの検出器温度は280°C、検出方法はSIMとSCAN両方で行った。検量線は測定物質を天秤で秤量し、アセトンで希釈し、0, 0.04, 0.4, 4.0, 40 μg/mLを調製して分析した。

2) 代謝物フタル酸モノエステル8種類とリン酸ジエステル3種類の同時分析

尿を酵素による加水分解(抱合遊離)し、酢酸エチル抽出、乾燥、誘導化剤による反応後、GC/MSによる分析を行った。標準溶液は、100 μg/mLのフタル酸モノエステル標準溶液8種類と3種類のリン酸ジエステル化合物200 μLを蒸留水で1 μg/mLに調整した。これを蒸留水で希釈し、0.5, 0.1, 0.05, 0.01, 1.0 μg/mLとなるように調製した。尿には共存成分が多く含まれることから、標準溶液を尿に添加した。尿0.5 mL、標準溶液0.5 mL、1Mの酢酸緩衝液(PH4.8)50 μL、10 μg/mLのMEHP-d4を10 μL加えた(最終濃度0.2 μg/mL)。酵素(β Glucuronidase/arylsulfatase 30/60unit)を10 μL添加し、37°Cの恒温槽で24時間反応させて、加水分解を行った。尿検体の分析の際は、標準溶液に替え、蒸留水0.5mLを加えた。加水分解後、2 molの塩酸200 μL、酢酸エチル2 mLを加えたのち、30秒間激しく振り混ぜて抽出した。抽出後10000 g×10 min遠心分離を行った。ガラス製テスタチューブに分離された酢酸エチル層を注入した。この操作は2回繰り返した。酢酸エチルは恒温相36°Cに入れ窒素で乾燥させ、MTBSTFA(N-メチル-N-ブチルシメチルシリルトリフルオロアセトアミド)を50 μL添加し、75 °Cの恒温槽で30分間反応促進させて誘導化を行い、分析試料とした。GC/MSの分析条件は、機器HPGC6890+Agilent5973 MSD、カラムDB-5MS 60m×0.25mm i.d.×0.25 μm。温度条件は80°C(2min)-20/min-300°C(20min)。キャリアーガスはヘリウム70Kpa。注入口温度290°C。注入量と注入方式は1 μLでスプリット50:1。検出器温度イオン源290°C、MS温度はMSイオン源250°C、四重極200°C。検出方法はSIMで行った。

3) 尿中無水フタル酸と2-エチル-1-ヘキサノール(2EH)の分析

フタル酸エステル類はフタル酸と多種類のアルキル化合物がエステル結合した構造をとるが、フタル酸エステルの代謝物であるフタル酸モノエステルは分析時の熱(エネルギー)により無水フタル酸になる事が明らかになった。無水フタル酸は生体には存在しないが、フタル酸エステルの代謝物質のフタル酸モノエステルの一部はガスクロマトグラフィー(GC)分析時に、注入口の高温により無水フタル酸に変化し、無水フタル酸として分析される。MEHPは分析時に2EHを遊離する。分析手順は酵素による加水分解後、酢酸エチル抽出、GC/MSによる分析を行った。検量線は無水フタル酸を酢酸エチルで(ISとして3メチルシクロヘキサノン0.1 μg/L含有)で希釈し、2EHは水溶液で希釈し、それぞれ0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0 μg/mLに調整した。2EHの検量線は尿に共存成分が多く含まれることから、標準溶液を尿に添加した。尿の分析は標準溶液の代わりに蒸留水1.0 mLを加え、加水分解後、2Mの塩酸200 μLを加え酢酸エチル1 mL(IS含有)を加え30秒間激しく振り混ぜて抽出した。抽出後10000g×10分遠心分離した。酢酸エチル層は分析用のバイアル瓶に入れた。GC/MSの分析条件は機器はHPGC6890+Agilent5973MSD、カラムはDB-5MS 60m×0.25mm i.d.×0.25μm。温度条件は80°C(2min)-20/min-300°C(20min)。キャリアーガスはヘリウム70Kpa。注入口温度は290°C。注入量と注入方式は1μL、スプリット25:1。検

出器温度はイオンゲン290℃。MS温度はMSイオン源250℃、四重極200℃。検出方法はSIMで行った。GC/MSのトータルイオン分析でその特異的なMSパターンから定量イオンと確認イオンを選択した。

(2) 学童を対象とした可塑剤・難燃剤曝露による小児アレルギーのリスク評価

1) 札幌市小学生を対象にしたアレルギーと自宅環境調査

厚生労働科学研究事業「シックハウス症候群の原因解明のための全国規模の疫学研究」において収集済みのサンプル検体を用いた。札幌市公立小学校12校の学童宅128軒の訪問を実施し、2カ所に分けて採取したダストと家族全員の尿を-20℃で保存してあった。本研究では、サブテーマ(1)で、確立した分析法を用いて、保存ダストからフタル酸エステル7化合物、リン系難燃剤11化合物を、尿中フタル酸エステル類代謝物8化合物を測定した。ダスト中フタル酸エステル類・リン系難燃剤と住環境との関連、学童のアレルギー症状との関連、および尿中フタル酸エステル類代謝物濃度とアレルギーとの関連を解析した。

2) 北海道スタディ大規模コーホートを用いた研究

「環境と子どもの健康に関する北海道研究(北海道スタディ)」は、平成12年に厚生労働科学研究費補助金・化学物質リスク研究事業として開始した全道規模の出生コーホート研究である。北海道内全域でこれまでに妊婦20,929人が登録している。このうち平成25年12月末までに7歳になった児童5,431名を対象に、7歳調査票を送付してアレルギーに関する調査を、厚生労働科学研究として実施している。本研究では、アレルギーに関する7歳調査票の送付とともに、自宅ダストおよび尿採取への協力可否を問い合わせた。このうち協力しても良いと回答が得られた対象者にダストバッグと尿カップを送付し、各家庭での床ダストおよび尿の収集を依頼した(以下この方法を郵送法と表記)。返送されたダストは150 μmの篩を用いてファインダストをふるい分け、-20℃で保存した。ダスト中ダニアレルゲン量はELISA法で分析した。尿検体は共栓付ガラス管に分注し、-20℃で保存した。別途、尿中クレアチニン値を分析した。アレルギーの有無とダスト中フタル酸エステル類、リン酸トリエステル類濃度との関係は、ISAAC 調査票に基づく喘息、アレルギー性鼻結膜炎、アトピー性皮膚炎のいずれかのアレルギーがある児221名を「ケース」とし、男女、出生年、および両親いずれかのアレルギー有無の分布がケースと同じになるように無作為に抽出したコントロール児221名について共変量を調整し、ロジスティック回帰分析を用いて濃度が10倍になるごとのリスク(オッズ比(95%CI))を求めた。検出下限値以下の値は、検出下限値の半値を代入した。

これとは別に、ダストの採取場所や採取方法の違いによる対象住宅の特徴の違い明らかにするため、大規模コーホート登録者で札幌市および北広島市に在住の参加者の自宅訪問による詳細な住宅環境調査(以下この方法を訪問法と表記)を実施した。また、住宅環境調査に応諾する集団の住宅特徴を明らかにするため、郵送法と訪問法の調査協力者について住宅特徴およびダニアレルゲン量を比較した。

(3) 胎児期立ち上げコーホートを用いた可塑剤・難燃剤曝露によるアレルギー発現リスク評価

「北海道スタディ」札幌出生コーホートとして平成14年7月～平成17年10月に札幌市の1産科医療機関を受診した札幌市及び近郊地域在住の妊婦を対象にしている。妊娠23～35週の妊婦514名から研究参加に同意を得て、母体血を保存してあった。本研究では曝露評価として、保存母体血中MEHP濃度(DEHPの一次代謝物)を名古屋大学の協力を得てGC/MSにて測定した。アレルギーへの影響としては、臍帯中IgE、および児の1.5歳、3.5歳、7歳時点においてそれぞれISAACまたはATS-DLDを追跡調査票として用いたアレルギー症状および感染症罹患歴を用いた。共変量としては、出産時の医療診療録より、母の年齢、身長、非妊娠時の体重、出産回数、在胎週数、および児の性別、出生時の身長・体重・胸囲・頭囲の出生時情報を収集した。母体血中MEHP濃度とアレルギー・感染症発症との関連は、アレルギー項目の回答とMEHPの両方が得られた母児ペアとして、1.5歳時は384名、3.5歳時は348名、7歳時は266名をそれぞれ分析対象者とした。1.5歳、3.5歳、7歳時のアレルギーと母体血MEHP濃度との関連は共変量を調整し、ロジスティック回帰分析を用いて、濃度が10倍になるごとのオッズ比(95%CI)を求めた。

すべての調査研究は、北海道大学環境健康科学研究教育センター、および医学研究科医の倫理委員会の承認を得て実施した。

4. 結果及び考察

(1) 可塑剤・難燃剤の環境曝露評価および尿中代謝物測定による生体曝露評価手法の開発

1) 住宅ハウスダスト中のフタル酸エステル類とリン酸エステルの分析

それぞれの物質の定量下限値(0.04 μg/mLの標準溶液の標準偏差の10 Standard Deviation (SD)の値を分析に使用するダスト50mgで割った値)は0.152-0.741 μg/gだった。ハウスダストの成分となりうる羊毛、綿、化繊からの抽出率はそれぞれ86.7～117.9%、90.0～118.0%、88～121.2%だった。採集瓶他の器具からの分析対象化合物の溶出はなく、ダスト保存における汚染の影響はないことを確認した。

2) フタル酸エステルの代謝物であるフタル酸モノエステル8種類とリン酸ジエステル3種類の同時分析

尿に酵素を10 µL添加し、24時間37°Cで抱合遊離を行うと、フタル酸エステル類代謝物濃度は酵素添加をしない試料よりも有意に濃度が高値だった。リン酸トリエステル類代謝物は酵素添加と非添加で有意な差は見られず、グルクロン酸抱合や硫酸抱合はしていないと考えられた。尿中代謝物濃度の定量可能値はクロマトグラムのベースラインの5倍以上ピークの1/2値として0.005 µg/mLを得た。採尿および尿保存容器から、尿中代謝物分析対象化合物の溶出はなく、分析結果に影響を与える濃度の検出はなかった。

3) 無水フタル酸と2エチル-1-ヘキサノールの分析

フタル酸モノエステルはGC注入口で無水フタル酸とアルコールに変化する。しかし、フタル酸エステルはGC注入口の温度では無水フタル酸に変化しない。今回分析した8種類のフタル酸モノエステル混合物をGC上で無水フタル酸に変化させたときの抽出率は95-108%だった。フタル酸モノエステル類の無水フタル酸への変換割合は約10~66.2%だった。6-8歳の児童185名の分析事例の無水フタル酸と2エチル-1-ヘキサノール濃度はどちらも対数正規分布を示した。

無水フタル酸はモノフタル酸類の合計と高い相関があることから、試行的にDEHPのNOAEL値からフタル酸ジエステル類の混合曝露となる値を求め、生物学的曝露指標値として提案する。この結果247名中約16名がこの生物学的曝露指標値を超えることが明らかとなった。

(2) 学童を対象とした可塑剤・難燃剤曝露による小児アレルギーのリスク評価

1) 札幌市小学生を対象にしたアレルギーと自宅環境調査

床ダストおよび棚ダスト中のDEHPはフタル酸エステル類のうち最も高濃度に測定され、DEHPとフタル酸ジイソノニル(DiNP)がともに全ての床ダストサンプルから検出された。棚ダストサンプルでは、DiNPとフタル酸ジイソブチル(DiBP)が全てのサンプルから検出された。床ダスト中のDiBP濃度は、PVC床とフローリングの床が絨毯およびその他の床と比較して有意に高濃度であった。フローリングは4-5枚の薄い板を接着剤で貼付け、表面には光沢材などが施され、共にDiBPが含まれることがPVCのみならずフローリングの床で高濃度であった理由として考えられた。近年の日本の住居はフローリングが床材の主流となっていることからDiBPの曝露が懸念される。リン系難燃剤についてはリン酸トリスブトキシエチル(TBEP)の検出率が最も高く、フローリング床の光沢剤、レベリング剤などが室内における主要な排出源であると考えられる。日本では諸外国に比べTBEPは3~40倍程度高いが、一日耐用摂取量にほぼ等しい値として計算されるReference Dose (RfD)に比べると、ダストからのTBEPやリン酸トリス(1,3-ジクロロイソプロピル、TDCPP)摂取量は少なかった。一方、RfD以下の濃度でも本研究ではダスト中リン酸トリエステル類濃度が高いことがアレルギーのリスクを有意に上げたことから、今後も検討が必要であろう。

自宅環境調査を実施した札幌市小学生128人のうち、ISAAC調査票に基づく喘息、アレルギー性鼻結膜炎、アトピー性皮膚炎の有病者数はそれぞれ29人(22.7%)、48人(37.5%)、39人(30.5%)だった。床ダスト中のDnBPおよびDEHPの濃度が10倍になると鼻結膜炎のリスクがそれぞれ2.1倍、8.1倍有意に上昇した。棚ダスト中フタル酸エステル濃度とアレルギー症状との間に有意な関連は見られなかった。子どもは床に座って過ごす時間が長いことから床ダストのうち床材と関連がみられたDEHPとDnBPで鼻結膜炎との関連がみられたのかもしれない。棚ダスト中TDCPP濃度が10倍になるとアトピー性皮膚炎のリスクが2.5倍上昇した。しかしTDCPPは検出率が32.8%と低いことから、大規模コーホート研究の7歳児を対象とした調査により、更なる検討が必要と考える。

学童及びその家族から採取した尿中代謝物のうち、もっとも多く検出されたのは5oxo-MEHP(98.8%)で、中央値166.7 nmol/Lだった。いずれの代謝物も年齢が小さいグループほど濃度が高く、DEHP代謝物のうち2次代謝物5cx-MEPPおよび3次代謝物5oxo-MEHPが1次代謝物MEHPよりも多く存在した。学童の尿中DEHP代謝物濃度は諸外国の類似した研究と比較すると、MEHP濃度は韓国と同等、ドイツよりも高かった。5cx-MEPPおよび5oxo-MEHPがMEHPよりも多く存在したことは先行研究と一致した。喘息、アレルギー性鼻結膜炎、アトピー性皮膚炎、およびいずれかのアレルギーとも、尿中代謝物濃度との関連は見られなかった。

2) 北海道スタディ大規模コーホートを用いた研究

ISAACにより定義した喘息・アレルギー性鼻結膜炎、アトピー性皮膚炎のいずれかのアレルギーがある症例(ケース)221人の内訳は、喘息74人(33.5%)、アレルギー性鼻結膜炎81人(36.7%)、アトピー性皮膚炎133人(60.2%)だった。最もダスト中の濃度が高かったのはフタル酸エステル類ではDEHP中央値1419 µg/g dust、リン酸トリエステル類ではTBEP 49.3 µg/g dustで、札幌市小学生調査と比較して少し高めであった。フタル酸エステル類のうち、DiNP濃度が10倍になるとアトピー性皮膚炎を1.86倍、DiBP濃度が10倍になるといずれかのアレルギーのリスクは1.44倍に有意に上昇した。DiNPはDEHPの代替化合物として用いられており、近年その工業生産量、使用量ともに増加傾向である。これまでに疫学研究ではDiNPとアレルギーとの関係は検討されておらず、今後も引き続き検討する必要があると考える。リン酸トリエステル類のうちTDCPPは、本集団ではアレルギーとの関連

は得られず、この理由の一つとして濃度が低かったことが考えられる。

尿中フタル酸代謝物で最も高濃度に測定されたのは5cx-MEPPで中央値(検出率)は52.4 μ g/L(94.3%)であった。児童の尿中フタル酸代謝物濃度とアレルギー症状との関連が報告されている海外の研究と本研究の濃度を比較すると、BBzPの代謝物であるMBzPはいずれの研究よりも低濃度であった。また、DEHPの1次代謝物MEHPは本研究の濃度の方が高かったが、他の代謝物に関しては一貫した傾向は見られなかった。尿中リン酸代謝物で最も高濃度に測定されたのはBEHP14.4 μ g/L(66.7%)であった。

訪問法では、郵送法と比較して月当たりの掃除頻度が有意に多かった。しかし、ダスト中ダニアレルゲン量は訪問法の住宅の方が有意に多かった。訪問法にはアレルギーなど健康に問題がある、自宅環境に関心がある、時間に余裕がありこまめに掃除ができる家が訪問調査に参加していることが考えられた。また、訪問法では調査員がより丁寧に隅々までダストを採取したことがダニアレルゲン量が多かった理由として考えられ、結果の解釈には郵送法と訪問法による住宅の特徴の違いやダスト採取法の違いを考慮して行うことが必要である。

(3)胎児期立ち上げコーホートを用いた可塑剤・難燃剤曝露によるアレルギー発現リスク評価

母児514組のうち、母体血中MEHP濃度は493検体から分析できた。MEHPは分析した全検体から検出され、濃度の中央値(最小値-最大値)は35.56(11.53-365.29) pmol/mLであった。臍帯血中IgE濃度は、0.21 IU/mL(中央値)、16.7%が検出下限値以下であった。母体血中MEHP濃度と、母の属性(年齢、在胎週数、アレルギーの既往歴、教育歴、世帯収入、喫煙状況など)、および児の性別、出生時の体格、居住環境(住宅の種類、築年、湿度環境など)とは有意な関連を認めなかった。また、母体血中MEHP濃度と臍帯血中IgE濃度との間に有意な関連を認めなかった(母の年齢、母・父のアレルギー既往歴、採血時期、児の性別、在胎週数の調整)。7歳齢時のアレルギーの有病率と、サブテーマ(2)で対象とした北海道スタディの全道大規模コーホートの7歳アレルギー有病率を比較すると、アトピー性皮膚炎は同程度、喘息とアレルギー性鼻炎は札幌コーホートの方が高かった。

本集団の母体血中MEHP濃度は、過去に米国・スウェーデン・オーストラリアで報告された血中MEHP濃度よりも高かったが、母体血中MEHP濃度と食物アレルギー、喘息、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎、および中耳炎との間には、1.5歳、3.5歳、7歳齢時のいずれの年齢においても、調整後も有意な関連を認めなかった。男女別に層別化した結果においても同様に、有意な関連を認めなかった。

妊娠後期の母の尿中フタル酸代謝物、生後2歳、5歳の児の尿中代謝物を測定した台湾のThe Taiwan Birth Panel cohort studyでは、2歳の尿中MEHP濃度と2歳のIgEレベルが正の相関を示し、2歳の尿中MBzP濃度と2歳のアトピー性皮膚炎との関連、即ち生後の曝露(横断的)のみがリスクをあげた。本研究でも、サブテーマ(2)の結果で、生後の曝露である学童期のダスト中フタル酸エステル類濃度がアレルギー性鼻結膜炎のリスクをあげたという結果は、台湾の結果と一致する。従って、本研究の結果から、フタル酸エステル類曝露によるアレルギーへの影響は、胎児期曝露よりも生後の曝露の影響の方が大きい可能性が示唆された。

5. 本研究により得られた主な成果

(1)科学的意義

- 1) 曝露レベルの定量的評価として、ダスト中フタル酸エステル類およびリン系難燃剤のGC/MSによる同時分析が可能となった。
- 2) これまでフタル酸エステル類およびリン系難燃剤の代謝物としてフタル酸モノエステルとリン酸ジエステルの測定は異なる手順で別々に行われてきた。本測定方法の開発により、フタル酸エステル類の尿中代謝物8化合物と3種類のリン酸ジエステルの同時分析が可能となり、簡易標準添加方法の開発により精度、感度よく低濃度(定量下限値は5-47 ng/mL)で評価可能となった。
- 3) 尿中無水フタル酸はフタル酸ジエステル類代謝物の総合計と高い相関を認めた。すなわち多種類のフタル酸エステル類曝露の総合的な曝露指標となり得ることが明らかとなった。無水フタル酸の測定は、フタル酸エステル類総曝露が高いケースのスクリーニングとして有用であることを示している。また日本で開発された新しい曝露評価手法として世界に発信が可能である。
- 4) これまでの欧州の先行研究では、室内の床よりはむしろ数10cm上のダスト(棚ダスト)が採取されてアウトカムとの検討がなされていた。我が国では室内では靴を脱ぎ床でくつろぐ習慣があるため、床に近いダストからの曝露が大きいことが懸念されることから、床から採取したダスト(床ダスト)と棚ダストの両者を測定した。フタル酸エステル類・リン系難燃剤とも、発生源としては床材の寄与が大きいことが示された。一方、床ダスト中のフタル酸エステル類・リン系難燃剤とアレルギーとの関連が得られた。また、同じ住宅の居住者を対象に大人と子どもとの比較を行った研究は世界で初めてである。
- 5) リン系難燃剤のうちTBEPは諸外国と比較して日本の住環境中濃度の方が高いが、その他の化合物は同等レベルであることが示された。健康との関連の報告はこれまでにほとんどなく、学童のアレルギー症状との関連を示した報告は本研究が世界的にも初めてである。

- 6) フタル酸エステル類曝露には、住環境以外にも食品、薬品、化粧品など様々な曝露源が存在する。本研究では尿中の7代謝物濃度を分析し、個人の評価指標とした。さらに、フタル酸エステル類に加えて、難燃剤リン酸トリエステル類について、児童の尿中代謝物濃度を同時に測定した報告は他にない。
- 7) フタル酸エステル類曝露の胎児期曝露として、母体血中MEHP濃度を測定した。MEHP濃度と臍帯血IgE濃度、および児の1.5歳、3.5歳および7歳年齢時のアレルギー有病との間に関連性は認められなかった。フタル酸エステル類曝露の影響は、胎児期曝露よりも生後の曝露の影響の方が大きい可能性が示唆された。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない

<行政が活用することが見込まれる成果>

- 1) 環境への配慮から、測定時間の短縮、サンプル量の少量化、測定に要するエネルギーの低減は、重要な課題である。本研究の成果であるフタル酸モノエステルとリン酸ジエステルの同時測定は、試薬を少なくすることによる環境汚染、手順の簡素化による測定者への有害性を減少させることが可能である。本研究成果を発表し、普及を図ることにより、環境政策への貢献が可能である。
- 2) 全てのフタル酸モノエステルはGC/MSの注入口290℃で無水フタル酸になることを証明した。フタル酸モノエステル濃度に対応して無水フタル酸濃度が増加することを明らかにした。この無水フタル酸を測定することは生体内のフタル酸モノエステルの総量の指標となり、すなわち曝露されたフタル酸ジエステル類の総体内吸収量の指標となる。
- 3) 生体中の物質を測定する場合の物質の基準値を決めるには2つの方法が行われている。すなわち、①生体影響から決める方法、②環境の曝露濃度と対応して決める方法がある。一般には労働現場で生物学的許容値として多数の物質について公表されている。一方、環境省の有害物質の評価書にはNOAEL値が決められている。NOAEL値は生体影響(動物のデータ)から求められている。NOAEL値は生物学的曝露指標を決めるうえで重要な評価値である。今回はDEHPのNOAEL値を用いて生体中から排泄される無水フタル酸濃度を決め提案する。
- 4) 難燃剤・可塑剤による室内汚染が懸念されているが、フタル酸エステル類のうち最も使用量が多いDEHPの室内環境における主な発生源としてPVCの内装材が、DiBPの主な発生源としてフローリングの床材が、それぞれ明らかになった。日本では、フタル酸エステル類の内装材等への使用については規制がない。種々の製品や建材へのフタル酸エステル類使用を規制する場合には、本研究から得られた科学的なデータが利用できる。
- 5) フタル酸エステル類の尿中代謝物濃度とアレルギーとの関連は得られなかったが、ダスト中濃度が高いことがアレルギーのリスクをあげた。尿中代謝物は経口摂取も含めた総曝露量であるが、アレルギーとの関連はむしろダスト中濃度と得られたことから、室内環境からの摂取の影響の方が、より大きい可能性が示された。
- 6) 同一家族においては親よりも年齢グループの低い小学生、あるいは幼児の方が尿中代謝物濃度が高いことが示された。子どもを基準にした環境基準設定などの必要性が示された。
- 7) 有機リン酸トリエステル類については、国際的にも我が国でもほとんど疫学的な検討がなされていなかった。本研究では、リン系難燃剤のうちTDCPPがアレルギーのうち特にアトピー性皮膚炎のリスクをあげる可能性が示唆された。ダスト中濃度を用いて推定した学童および幼児のTDCPP摂取量は耐容摂取量と比較するとかなり少ないが、今後さらなる調査によって、環境曝露評価、尿中代謝物測定、アウトカムとの関連で十分なデータが得られれば、環境政策上意義のある結果が得られるであろう。
- 8) 本研究では、収集したダストの分析前処理として150μmでふるったダストとふるわないダストとの間に相関が得られた。ダストの分取や混雑物の除去作業によるばらつきを防ぐためにも、ダスト処理の有効性が示された。一方、郵送法と訪問法への調査同意においては、訪問法に応じた家庭の方が月当りの掃除回数が多く、偏った集団である。環境省「子どもの健康と環境に関する全国調査(エコチル調査)」でも詳細調査における住宅訪問を予定しており、本研究から得られた結果の活用が見込まれる。

6. 研究成果の主な発表状況

(1) 主な誌上発表

<査読付き論文>

- 1) Araki, T. Tsuboi, T. Kawai, Y. Ait Bamai, T. Takeda, E. Yoshioka and R. Kishi: J. Environ. Monit., 14, 368-374 (2012)

- “Validation of diffusive mini-samplers for aldehyde and VOC and its feasibility for measuring the exposure levels of elementary school children”
- 2) A. Araki, A. Kanazawa, T. Kawai, Y. Eitaki, K. Morimoto, K. Nakayama, E. Shibata, M. Tanaka, T. Takigawa, T. Yoshimura, H. Chikara, Y. Saijo and R. KISHI: *Sci. Total Environ.*, 423, 18-26 (2012)
“The relationship between exposure to microbial volatile organic compound and allergy prevalence in single-family homes”
 - 3) S. Ukawa, A. Araki, A. Kanazawa, M. Yuasa and R. Kishi: *Int Arch Occup Environ Health*, 86(7), 777-87 (2013)
“The relationship between atopic dermatitis and indoor environmental factors: a cross-sectional study among Japanese elementary school children”
 - 4) A. Araki, I. Saito, A. Kanazawa, K. Morimoto, K. Nakayama, E. Shibata, M. Tanaka, T. Takigawa, T. Yoshimura, H. Chikara, Y. Saijo and R. Kishi: *Indoor Air*, 24, (1):3-15 (2014)
“Phosphorus flame retardants in indoor dust and their relation to asthma and allergies of inhabitants”
 - 5) Y. Ait Bamai, A. Araki, T. Kawai, T. Tsuboi, I. Saito, E. Yoshioka, A. Kanazawa, S. Tajima, S. Cong, A. Tamakoshi and R. Kishi: *Sci Total Environ.*, 468-469, 147-157 (2014)
“Associations of phthalate concentrations in floor dust and multi-surface dust with the interior materials in Japanese dwellings”
 - 6) S. Tajima, A. Araki, T. Kawai, T. Tsuboi, Y. Ait Bamai, E. Yoshioka, A. Kanazawa, S. Cong and R. Kishi: *Sci Total Environ*, 478, 190-199 (2014)
“Detection and intake assessment of organophosphate flame retardants in house dust in Japanese dwellings”
 - 7) Y. Ait Bamai, E. Shibata, I. Saito, A. Araki, A. Kanazawa, K. Morimoto, K. Nakayama, M. Tanaka, T. Takigawa, T. Yoshimura, H. Chikara, Y. Saijo and R. Kishi: *Sci Total Environ*, 485-486:153-163 (2014)
“Exposure to house dust phthalates in relation to asthma and allergies in both children and adults”
 - 8) S. Cong, A. Araki, S. Ukawa, Y. Ait Bamai, S. Tajima, A. Kanazawa, M. Yuasa, A. Tamakoshi and R. Kishi: *J Epidemiol*, *in press* (2014)
“The association between mechanical ventilation, flue use in heaters and asthma symptoms in Japanese schoolchildren – A cross-sectional study in Sapporo, Japan”

<その他の誌上発表(査読なし)>

特に記載すべき事項はない。

(2) 主な口頭発表(学会等)

- 1) A. Araki, T. Tsuboi, T. Kawai, Y. Ait Bamai, T. Takeda, E. Yoshioka and R. Kishi: 7th International Symposium on Modern Principles of Air Monitoring and Biomonitoring, Loen, Norway (2011)
“Personal Chemical Exposure Measurement of Elementary School Children Using Developed Small Diffusive Samplers”
- 2) Araki, T. Takeda, A. Kanazawa, I. Saito, K. Morimoto, K. Nakayama, E. Shibata, M. Tanaka, T. Takigawa, T. Yoshimura, H. Chikara, Y. Saijo, and R. Kishi: 23rd Congress of the International Society for Environmental Epidemiology, Barcelona, Spain (2011)
“Organophosphate Triesters in House Dust and its Relation to Allergic Symptoms”
- 3) 鶴川重和、荒木敦子、金澤文子、湯浅元之、アイツバマイゆふ、吉岡英治、叢石、多島秀司、岸玲子: 第63回北海道公衆衛生学会、札幌(2011)
「自宅住環境とアトピー性皮膚炎に関する調査－札幌市の小学生4500名を対象として－」
- 4) R. Kishi, A. Araki, I. Saito, E. Shibata, A. Kanazawa, K. Morimoto, K. Nakayama, M. Tanaka, T. Takigawa, T. Yoshimura, H. Chikara and Y. Saijo: International Commission on Occupational Health 2012, Cancun, Mexico (2012)
“Phthalate in house dust and its relation to sick building syndrome and allergic symptoms”
- 5) 田川雅大、内藤久雄、林由美、川野愛子、佐々木成子、荒木敦子、小林澄貴、岸玲子: 第82回日本衛生学会・学術総会、京都(2012)
「ヒトの出産前後における血液DEHP代謝物濃度の解析」
- 6) T. Tsuboi, T. Kawai, A. Araki, Y. Ait Bamai and R. Kishi: International Society of Exposure Science 22nd Annual Meeting, Seattle, USA (2012)

- “Determination of human urinary metabolites of five phthalate by gas chromatography-mass spectrometry –Exposure assessment to plasticizer and flame retardants and their risk on children”
- 7) T. Kawai, T. Tsuboi, A. Araki, Y. Ait Bamai and R. Kishi: International Society of Exposure Science 22nd Annual Meeting ,Seattle, USA (2012)
 “Phthalic anhydride as a marker of total uptake of phthalate diesters –Exposure assessment to plasticizer and flame retardants and their risk on children (2)–”
- 8) A. Araki, T. Kawai, T. Tsuboi, Y. Ait Bamai, T. Takeda, E. Yoshioka, S. Tajima, S. Ukawa, S. Cong and R. Kishi: International Society of Exposure Science 22th Annual Meeting, Seattle, USA (2012)
 “Determination of Phthalate Metabolites in Urine of Children and Their Family–Exposure Assessment to Plasticizer and Flame Retardants and Their Risk on Children”
- 9) A. Araki, C. Miyashita, T. Ikeno, S. Sasaki, S. Tajima, Y. Ait Bamai, S. Cong, S. Ukawa, T. Kawai, T. Tsuboi, E. Okada and R. Kishi: Birth Cohort Consortium in Asia, BiCCA, Taipei (2012)
 “Research plan for 7 year-old survey of the Hokkaido Study”
- 10) 叢石、荒木敦子、アイツバマイゆふ、竹田智哉、早川敦司、吉岡英治、多島秀司、鶴川重和、玉腰暁子、岸玲子:第64回北海道公衆衛生学会 (2012)
 「小学生の住宅におけるハウスダスト中のエンドキシンならびにβ-グルカン量とアレルギー疾患に関する研究」
- 11) 多島秀司、荒木敦子、坪井樹、河合俊夫、斎藤育江、アイツバマイゆふ、竹田智哉、鶴川重和、吉岡英治、岸玲子:第64回北海道公衆衛生学会 (2012)
 「ハウスダスト中に含まれるリン酸トリエステル類の濃度と住居環境」
- 12) 河合俊夫、坪井樹、荒木敦子、アイツバマイゆふ、岸玲子:第52回近畿産業衛生学会(2012)
 「可塑剤・難燃剤の曝露評価手法の開発と小児アレルギー・リスク評価への応用—尿中2-エチル-1-ヘキサノールの分析方法と測定事例—」
- 13) 鶴川重和、荒木敦子、金澤文子、湯浅資之、吉岡英治、岸玲子:第71回日本公衆衛生学会(2012)
 「札幌市の小学生4,500名を対象とした自宅住環境と喘息、アトピー性皮膚炎に関する調査」
- 14) 坪井樹、河合俊夫、荒木敦子、アイツバマイゆふ、岸玲子:第83回日本衛生学会学術総会 (2013)
 「フタル酸エステル尿中代謝物の同時測定方法の開発:可塑剤・難燃剤曝露と小児の健康影響1」
- 15) 河合俊夫、坪井樹、荒木敦子、アイツバマイゆふ、岸玲子:第83回日本衛生学会学術総会 (2013)
 「フタル酸ジエステル類評価としての無水フタル酸:可塑剤・難燃剤曝露と小児の健康影響2」
- 16) アイツバマイゆふ、荒木敦子、坪井樹、河合俊夫、多島秀司、叢石、吉岡英治、玉腰暁子、岸玲子:第83回日本衛生学会学術総会 (2013)
 「アレルギーとダスト中フタル酸エステル類濃度:可塑剤・難燃剤曝露と小児の健康影響3」
- 17) 荒木敦子、坪井樹、河合俊夫、アイツバマイゆふ、多島秀司、叢石、鶴川和重、吉岡英治、岸玲子:第83回日本衛生学会学術総会 (2013)
 「児童の尿中フタル酸代謝物濃度とアレルギー:可塑剤、難燃剤の小児への健康影響4」
- 18) T. Tsuboi, T. Kawai, A. Araki, Y. Ait Bamai and R. Kishi: Environment and Health – Bridging South, North, East and West Conference of ISEE, ISES and ISIAQ. Basel, Switzerland (2013)
 “Simultaneous analysis of phthalate and organophosphate triesters’ metabolites in urine –Exposure assessment to plasticizer and flame retardants”
- 19) T. Kawai, T. Tsuboi, A. Araki, Y. Ait Bamai, S. Tajima, S. Cong and R. Kishi: Environment and Health – Bridging South, North, East and West Conference of ISEE, ISES and ISIAQ. Basel, Switzerland (2013)
 “Biological monitoring of environments exposure to DEHP by urine analysis for 2-Ethyl-1-hexanol”
- 20) A. Araki, T. Kawai, T. Tsuboi, Y. Ait Bamai, E. Yoshioka, S. Tajima, S. Cong, S. Ukawa and R. Kishi: Environment and Health – Bridging South, North, East and West Conference of ISEE, ISES and ISIAQ. Basel, Switzerland (2013)
 “Phthalate metabolites in urine and their relation to asthma and allergy in school children –Exposure assessment to plasticizer and flame retardants (3)”
- 21) 多島秀司、荒木敦子、河合俊夫、坪井樹、アイツバマイゆふ、叢石、吉岡英治、岸玲子:第65回北海道公衆衛生学会、札幌(2013)
 「札幌市128軒のハウスダスト中リン酸トリエステル類濃度と小学生のアレルギー疾患との関連」
- 22) 叢石、荒木敦子、鶴川重和、アイツバマイゆふ、多島秀司、金澤文子、湯浅資之、玉腰暁子、岸玲子:第65回北海道公衆衛生学会、札幌(2013)
 「札幌市内小学生の自宅における暖房、および機械換気の有無と児童の喘息」

- 23) アイツバマイゆふ、荒木敦子、河合俊夫、坪井樹、多島秀司、叢石、湯浅資之、金澤文子、玉腰暁子、岸玲子：第65回北海道公衆衛生学会、札幌(2013)
「尿中フタル酸代謝物濃度とハウスダスト中フタル酸エステル濃度との関連：札幌市児童における調査」
- 24) Y. Ait Bamai, E. Shibata, I. Saito, A. Araki, A. Kanazawa, K. Morimoto, K. Nakayama, M. Tanaka, T. Takigawa, T. Yoshimura, H. Chikara, Y. Saijo and R. Kishi: the 26th annual International Society for Environmental Epidemiology. Seattle, Washington, USA (2014)
“Exposure to house dust phthalates in relation to asthma and allergies in both children and adults”

(3)出願特許

特に記載すべき事項はない。

(4)シンポジウム・セミナー等の開催

特に記載すべき事項はない。

(5)マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

(6)その他

特に記載すべき事項はない。

7. 研究者略歴

課題代表者：岸 玲子

北海道大学大学院医学研究科修了、医学博士、現在、北海道大学環境健康科学研究教育センター・副センター長・特任教授

研究分担者：

- 1) 河合 俊夫
上智大学大学院理工学研究科修了、医学博士、現在、中央労働災害防止協会・大阪労働衛生総合センター・上席専門役
- 2) 坪井 樹
慶応義塾大学大学院医学研究科単位取得退学、現在、中央労働災害防止協会・大阪労働衛生総合センター・職員
- 3) 荒木 敦子
北海道大学大学院医学研究科修了、博士(医学)、現在、北海道大学環境健康科学研究教育センター・准教授
- 4) 安住 薫(平成23～24年度)
北海道大学大学院薬学研究科修了、薬学博士、北海道大学環境健康科学研究教育センター・特任講師、現在、北海道大学探索医療教育研究センター・TR企画管理部門・特任講師
- 5) 多島 秀司
立命館大学大学院理工学研究科修了、博士(工学)、現在、北海道大学環境健康科学研究教育センター・客員研究員
- 6) 佐々木 成子
北海道大学大学院医学研究科修了、医学博士、現在、北海道大学大学院医学研究科・助教
- 7) 吉岡 英治(平成23年度)
北海道大学大学院医学研究科修了、医学博士、北海道大学大学院医学研究科・助教、現在、旭川医科大学医学部健康科学講座・准教授

5C-1151 可塑剤・難燃剤の曝露評価手法の開発と小児アレルギー・リスク評価への応用 (1) 可塑剤・難燃剤の環境曝露評価および尿中代謝物測定による生体曝露評価手法の開発

中央労働災害防止協会・大阪労働衛生総合センター

河合 俊夫・坪井 樹

平成23（開始年度）～25年度累計予算額：15,374千円

（うち、平成25年度予算額：4,564千円）

予算額は、間接経費を含む。

[要旨]

可塑剤・難燃剤は小児アレルギー・リスク因子として問題になっている。これら有害物質の人への影響を評価するのに当該物質の曝露量を知ることは最も重要な事である。そして得られた曝露量を用いて、生体影響を評価する手法を確立することが要求されている。

住宅は子どもたちが最も長い時間の過ごす場所であり、住宅のダスト中の有害物質は室内環境に由来する物質で、最も健康に影響を与える因子である。曝露量として堆積ダスト中に含まれる可塑剤のフタル酸エステル類8化合物、難燃剤のリン酸トリエステル類11化合物と4-ノニルフェノール、ジブチルヒドロキシルエン、S-421の分析方法を開発し、住宅から採取したダストを測定した。ダスト測定例207例ではフタル酸エステル類は主にDEHP85.4% > DINP6.84% > DnBP5.4%が検出され、リン酸トリエステル類ではTBEP89.8% > TCEP7.4% > TDCPP4.3%であった。検出されたフタル酸エステル類、リン酸トリエステル類それぞれの間には関連が見られなかった。

フタル酸エステル類、リン酸トリエステル類は体内に吸収されると、生体内で酸化、還元、代謝、抱合などを受け色々な物質となり体外へ排泄される。これらの排泄物質としてフタル酸エステル類5種類の代謝物質8種類（フタル酸酸モノエステル）とリン酸トリエステル3種類の代謝物質（リン酸ジエステル）を同時にできる分析方法開発した。代謝物は誘導化剤MTBSTFAを用いて当該物質とアルキシル化合物を合成し、GC/MSで分析した。フタル酸エステル類の代謝物であるフタル酸モノエステルはGCの注入口温度（280℃以上）で無水フタル酸に変化する事を見つけ分析をした。無水フタル酸は対数正規分布を示す。子どもから得られた8種類のフタル酸モノエステルの合計の濃度と無水フタル酸濃度は相関係数0.636（男子146名）0.821（女子101名）を示し関連が認められた。NOAEL値が最も低いDEHPの3.7 mg/Kg/Dayを用いて無水フタル酸を用いた場合に算出して求めた値を曝露評価値として提案すると子どもの無水フタル酸濃度は130 µg/gCr.が得られた。

[キーワード]

生物学的モニタリング、フタル酸エステル類、無水フタル酸、曝露評価値、GC/MS

1. はじめに

可塑剤・難燃剤の生体への影響を知るには子どもが最も長く過ごす住宅の室内ダスト中の有害物質の分析は曝露を評価する一つの方法である。生体中の有害物質の分析は体内への吸収量を直

接的に表し曝露を評価できる最も重要な方法である。生体中の有害物質と生体影響を直接比較する事は有害物質の量 - 反応、量 - 影響関係を明らかにする上で重要である。可塑剤として用いられているフタル酸エステル類は多くの種類が存在し、人は混合曝露を受けている。フタル酸エステル類の構造はフタル酸と多種類のアルキル化合物2個がエステル結合した物である。生体で代謝や加水分解されるとアルキル化合物が一つ外れてフタル酸モノエステルとなる。フタル酸モノエステルはガスクロ分析時に無水フタル酸に変化することを見つけた。そこで、フタル酸エステル類混合曝露の評価の指標として無水フタル酸が利用できる可能性に着目した。

2. 研究開発目的

サブテーマ1では、(1) 間接的な曝露評価として住宅ダスト中のフタル酸エステル類8種類とリン酸エステル11種類と他の4-ノニルフェノール、ジブチルヒドロキシトルエン、S-421の分析方法を開発し、子どもの住む住宅から採集されたハウスダストに含まれるフタル酸エステル類、リン酸トリエステル類を分析する。(2) フタル酸エステル類、リン酸トリエステル類の尿中代謝物の一斉分析方法を開発し、個人曝露量の評価を行う。(3) フタル酸エステル類の共通的な曝露指標物質となる無水フタル酸の分析方法の開発を行い得られた試料を分析し、曝露指標なるかを検討する。合わせてDEHP代謝物である2エチルヘキサノール分析方法の開発をも行い得られた試料を分析する。

3. 研究開発方法

(1) 住宅ハウスダスト中のフタル酸エステル類とリン酸エステルの一括分析方法の開発

1) ダスト中の分析物質と使用試薬名と略語及び試薬純度

ハウスダストに含まれるフタル酸ジエステル類8化合物、リン酸トリエステル類11化合物の分析を行った。フタル酸ジエステル類（フタル酸ジメチル、フタル酸ジエチル、フタル酸ジイソブチル、フタル酸ジ-n-ブチル、フタル酸ジブチルベンジル、フタル酸ジエチルヘキシル、フタル酸ジイソノニル、アジピン酸ジエチルヘキシル）の分析、リン酸トリエステル類（リン酸トリメチル、リン酸トリエチル、リン酸トリプロピル、リン酸トリブチル、リン酸トリス（2-クロロイソプロピル）、リン酸トリス（2-クロロエチル）、リン酸トリス（2-エチルヘキシル）、リン酸トリス（プトキシエチル）、リン酸トリス（1,3-ジクロロ-2-プロピル）、リン酸トリフェニル、リン酸トリクレシル）の分析、その他物の測定物質として4-ノニルフェノール、ジブチルヒドロキシトルエン、S-421を分析した。使用試薬名と略語及び試薬純度を表(1)-1に示す。

表(1)-1 試薬名と略語及び試薬純度

番号	物質名	略称	試薬会社	純度%
可塑剤				
1	フタル酸ジメチル	DMP	シグマアルドリッチ	99.6
2	フタル酸ジエチル	DEP	スペルコ	99.9
3	フタル酸ジイソブチル	DiBP	関東化学	99.6
4	フタル酸ジ-n-ブチル	DnBP	スペルコ	99.9
5	フタル酸ブチルベンジル	BBzP	和光純薬	99.0
6	フタル酸ジエチルヘキシル	DEHP	和光純薬	99.9
7	フタル酸ジイソノニル	DINP	和光純薬	98.0
8	アジピン酸ジエチルヘキシル	DEHA	関東化学	99.7
難燃剤				
9	リン酸トリメチル	TMP	関東化学	100.0
10	リン酸トリエチル	TEP	関東化学	100.0
11	リン酸トリプロピル	TPP	関東化学	100.0
12	リン酸トリブチル	TBP	関東化学	100.0
13	リン酸トリス (2-クロロイソプロピル)	TCIP	シグマアルドリッチ	67.9
14	リン酸トリス (2-クロロエチル)	TCEP	東京化成	97.0
15	リン酸トリス (2-エチルヘキシル)	TEHP	林純薬	99.9
16	リン酸トリス (ブトキシエチル)	TBEP	和光純薬	
17	リン酸トリス (1, 3-ジクロロ-2-プロピル)	TDCPP	シグマアルドリッチ	95.8
18	リン酸トリフェニル	TPhP	スペルコ	99.9
19	リン酸トリクレシル	TCP	東京化成	96.0
その他				
20	4-ノニルフェノール	4-NP	和光純薬	98.0
21	ジブチルヒドロキシルエー	BHT	スペルコ	99.9
22	S-421	S-421	Dr.Ehrentorfer	97.5
内部標準物質				
23	フルオランテン-d10		和光純薬	

注 1,2,4,5,6,8 は mix (500 µg/mL) を使用 99.9% (和光純薬)

2) 分析方法

難燃剤、可塑剤は環境中に存在する物質であり、分析器具に汚染として付着している可能性がある。そこで分析に使用する器具等はすべて、分析処理をする直前にアセトン溶液により超音波洗浄を行なった。

各家庭から採集されたダストはふるい分け等前処理ののち、-20℃で保管されていたハウスダストを室温にもどし、約50 mg秤量し、内部標準物質(フルオランテン-d10)を含んだアセトン1 mLで抽出した。抽出には超音波で60分間抽出し、一昼夜保存後、軽く振動抽出し、分析用バイアル瓶に分注し、GC/MSによる一斉分析を行った。

GC/MSの機器はHP,GC6890+Agilent,5973N MSD(HP: Hewlett-Packard)を使用した。カラムはUltra-1 50m×0.2mm i.d.×0.33mm (J & W)、分析条件は60℃ (2min) -20℃/min-180℃ (10min) -15℃/min-240℃ (10min) -20℃/min-300℃ (20min) で行った。キャリアーガスはHeliumで流量 70

kPa (constant pressure mode)で、注入口温度は280℃、注入力は1 μL、スプリットレスで行い4min後にパージを行った。MSの検出器温度は280℃、検出方法はSIMとSCAN両方で行った。

GC/MSのトータルイオン分析で行い、その特異的なMSパターンから定量イオンと確認イオンを選択した。なお、表(1)-2に示されるように、確認イオン、定量イオンの同じものが見られるか、この分析条件では、フタル酸エステル類7化合物・リン酸トリエステル類11化合物とその他3種類は異なる保持時間である事から定性、選択した定量イオンと確認イオンで定量が可能であると判断した。定量、確認イオンと保持時間および分子量と蒸気圧表を表(1)-2に示す。検量線は測定物質を天秤で秤量しアセトンで希釈し、0, 0.04, 0.4, 4.0, 40 μg/mLを作成して分析した。

表(1)-2 定量、確認イオンと保持時間および分子量と蒸気圧

番号	物質名	分子量	蒸気圧 Pa	定量イオン	確認イオン	保持時間 (min)	
可塑剤							
1	DMP	194.2	133	20℃	163	194	13.234
2	DEP	222.2	0.22	25℃	149	177	16.483
3	DiBP	278.3	0.01	20℃	149	223	22.812
4	DnBP	278.3	0.01	20℃	149	223	24.346
5	BBzP	312.3	殆どなし		149	206	33.147
6	DEHP	390.5	1	20℃	149	167	36.233
7	DINP	419	6×10^{-5}	20℃	149	167	40.103
8	DEHA	370.5	1×10^{-4}	20℃	129	147	34.413
難燃剤							
9	TMP	124.1	20	20℃	110	140	7.039
10	TEP	140.1	11	20℃	155	127	8.914
11	TPP	208.2	20	20℃	141	183	11.906
12	TBP	266.3	0.15	20℃	155	211	18.269
13	TCIP	327.5	20	20℃	277	201	21.614
14	TCEP	285.9	8.2	20℃	249	251	20.506
15	TEHP	434.6	1.2×10^{-5}	25℃	113	99	35.423
16	TBEP	398.4	殆どなし		199	299	34.29
17	TDCPP	430.9	殆どなし	25℃	209	381	32.692
18	TPhP	326.3	1	20℃	326	325	34.024
19	TCP	368.4	0.013	20℃	368	367	36.689
その他							
20	4-NP	220.3	3.2×10^{-3}	25℃	135	107	23.014
21	BHT	220.3	1.1	20℃	220	205	14.953
22	S-421	377.1	13.6	20℃	181	130	24.122
内部標準物質							
23	フルオランテン-d10				212	213	

注) 1,1,1,2-テトラクロロ-3-(2,3,3,3-テトラクロロプロポキシ)プロパン
蒸気圧 10×10^{-5} Pa 以下を殆どなしとした

(2) フタル酸エステル類の代謝物であるフタル酸モノエステル8種類とリン酸トリエステル3種類の代謝物の同時分析

1) 尿中代謝物の分析物質と使用試薬名と略語及び試薬純度

5種類のフタル酸エステル類 (①フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、②フタル酸ジブチル、③フタル酸ブチルベンジル、④フタル酸ジイソブチル、⑤フタル酸ジノルマルオクチル)の尿中代謝物8種類とリン酸トリエステル類化合物は3種類の①リン酸トリス(2-エチルヘキシル)、②リン酸トリ-n-ブチル、③リン酸トリフェニルの尿中代謝物3種の同時分析をした。

①フタル酸ジ-2-エチルヘキシル (DEHP) はフタル酸モノ2-エチルヘキシル (MEHP) に代謝され、さらにMEHPは数種に代謝物される。本研究では4種類 (フタル酸モノ-2-エチル-5-オキシヘキシル (5oxo-MEHP)、フタル酸モノ2-エチルヘキシル (MEHP)、フタル酸2-エチル-5-カルボキシペンチル (5cx-MEPP)、フタル酸2-カルボキシ-メチルヘキシル (2cx-MMHP) の代謝物の分析を行った。②フタル酸ジブチルはフタル酸モノ-n-ブチル (MBP) の分析を行った。③フタル酸ブチルベンジルはフタル酸モノ-ベンジル (MBzP) とフタル酸モノ-n-ブチル (MBP) の分析を行った。④フタル酸ジイソブチルはフタル酸モノ-イソブチル (MiBP) の分析。⑤フタル酸ジノルマルオクチル (DnOP) はフタル酸モノ-3-カルボキシプロピル (MCP) の分析を行った。リン酸トリス(2-エチルヘキシル (TEHP) はリン酸ジ (2-エチルヘキシル) エステル (BEHP)、リン酸トリ-n-ブチル (TBP) はリン酸ジ-n-ブチル (DPB)、リン酸トリフェニル (TPhP) はリン酸ジフェニル (DPhP) の分析を行った。尿中代謝物の分析対象物質と使用試薬名と略語及び試薬純度を表(1)-3に示す。

表(1)-3 試薬名と略語及び試薬純度

番号	物質名	略 称	試薬会社
標準試薬は 100 µg/mL に調整されたものを購入			
1	フタル酸モノ-2-エチル-5-オキシヘキシル	5oxo-MEHP	大塚製薬
2	フタル酸モノ 2-エチルヘキシル	MEHP	大塚製薬
3	フタル酸 2-エチル-5-カルボキシペンチル	5cx-MEHP	大塚製薬
4	フタル酸 2-カルボキシ-メチルヘキシル	2cx-MMHP	大塚製薬
5	フタル酸モノ-n-ブチル	MBP	大塚製薬
6	フタルサンモノ-ベンジル	MBzP	大塚製薬
7	フタル酸モノ-イソブチル	MiBP	大塚製薬
8	フタル酸モノ-3-カルボキシプロピル	MCPP	大塚製薬
9	リン酸ジ (2-エチルヘキシル) エステル	BEHP	
10	リン酸ジ-n-ブチル	DBP	Alfa Aesar 製造 和光純薬
11	リン酸ジフェニル	DPhP	林純薬工業
12	フタル酸モノ 2-エチルヘキシル d4	MEHP-d4	林純薬工業
抽出溶剤			
	酢酸エチル		和光純薬純薬(残留農薬)
	アセトン		和光純薬純薬(残留農薬)
酵素	β-Glucuronidase/arylsulfatase(30/60unit)		Merck
誘導化剤	N-メチル-N-tert-ブチルジメチルシリルトリフルオロアセトアミド (MTBSTFA)	MTBSTFA	ジーエルサイエンス
その他	塩酸		関東化学
	硫酸ナトリウム		和光純薬

2) 分析方法

分析方法は酵素による加水分解（抱合遊離）後、酢酸エチル抽出、乾燥、誘導化剤による反応後GC/MSによる分析を行った。

分析に使用する器具は分析直前にすべてアセトン洗浄を行った。標準溶液の調整は、100 µg/mL のフタル酸モノエステル標準溶液8種類と3種類のリン酸エステル化合物（リン酸ジ (2-エチルヘキシル) エステル、リン酸ジ-n-ブチル、リン酸ジフェニル）200 µLを20 mLのメスフラスコに入れて蒸留水でメスアップし、1 µg/mLに調整した。これを蒸留水で希釈し、0.5, 0.1, 0.05, 0.01, 1.0 µg/mL（蒸留水）となるように調製した。尿には共存成分が多く含まれることから、標準溶液を尿に添加した。10 mLの共栓試験管に尿0.5 mL、標準溶液0.5 mL、1Mの酢酸緩衝液 (PH4.8) 50 µL、10 µg/mLのMEHP-d4を10 µL加え（最終濃度最0.2 µg/mL）た。次に酵素10 µL（β Glucuronidase/arylsulfatase 30/60unit）を添加し、37度の恒温層で24時間反応させて、加水分解を行った。尿検体の分析の際は、標準溶液に替え、蒸留水0.5mLを加えた。加水分解後、各共栓試験管に2 molの塩酸200 µLを加え、酢酸エチル2 mLを加えたのち、30秒間激しくふり混ぜて抽出した。抽出後10000 g×10 min遠心分離を行った。次に、5 mLのガラス製のテストチューブにパスツールチューブを用いて分離された酢酸エチル層を注入した。この操作は2回繰り返した。テストチューブの酢酸エチルは恒温槽36°Cに入れ窒素で乾燥させた。乾燥したテストチューブにMTBSTFA (N-メチル-N-ブチルジメチルシリルトリフルオロアセトアミド) を50 µL添加し、誘導化を行い、インサートバイアルに入れ、75 °Cの恒温槽で30分間反応促進させ、分析試料とした。

GC/MSの分析条件は機器はHPGC6890+Agilent5973MSD、カラムはDB-5MS 60m×0.25mm i.d.×0.25 μm。温度条件は80℃(2min)- 20/min-300℃ (20min)。キャリアーガスはヘリウム70 Kpa。注入口温度は290 ℃。注入量と注入方式は1 μLでスプリット50 : 1。検出器温度はイオン源290 ℃。MS温度はMSイオン源250℃、四重極200 ℃。検出方法はSIMで行った。GC/MSを用いた尿中代謝物分析の保持時間と定量・確認イオンを表(1)-4に示す。

表(1)-4 GC/MS を用いた尿中代謝物分析の保持時間と定量イオン・確認イオン

番号	物質名	分子量	定量イオン	確認イオン 1	確認イオン 2	GC 保持時間
1	MiBP	222.0	279	223	163	14.117
2	2cx-MMHP	308.3	337	257	147	21.506
3	MnBP	226.2	223	279	163	14.386
4	MEHP	278.3	223	335	163	16.032
5	MBzP	260.2	163	313	207	16.95
6	5oxo-MEHP	292.3	127	201	223	17.454
7	MCPP	252.2	201	337	263	19.157
8	5cx-MEHP	308.3	337	257	147	23.163
	MEHP-d4	282.4	227	167	339	16.00
9	DBP	210.2	267	155	211	12.521
10	DPhP	234.2	307	213	151	15.362
11	BEHP	322.4	213	155	—	15.421

(3) 尿中無水フタル酸と2-エチル-1-ヘキサノールの分析

1) 使用試薬名と略語及

使用試薬名と略語及を表(1)-5に示す。

表(1)-5 試薬名と略語及

番号	物質名	略 称	試薬会社
1	無水フタル酸	PHA	和光純薬
2	2-エチル-1-ヘキサノール	2EH	東京化成
3	3-メチルシクロヘキサノン	3MCH	関東化学株

2) 分析方法

フタル酸エステル類は環境に存在し汚染が考えられるので、これらの物質に関連する試料の分析をする場合は使用する器具等はすべて、分析処理をする直前にアセトン溶液により超音波洗浄を行う。

無水フタル酸(PHA)は生体には存在しないが、フタル酸エステル類の代謝物質のフタル酸モノエステルの一部はガスクロマトグラフィー (GC) 分析時に、注入口の高温により無水フタル酸に変化し、無水フタル酸として分析される。DEHPは加水分解を受け、2EHを遊離してMEHPとなる。MEHPは分析時に2EHを遊離する。

分析手順は酵素による加水分解 (抱合遊離) 後、酢酸エチル抽出、GC/MSによる分析を行った。検量線は無水フタル酸を秤量し、酢酸エチルで (ISとして3メチルシクロヘキサノン0.1 µg/L含有) で希釈し、0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0 µg/mLに調整した。2EHは秤量し、水溶液で希釈し、0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0 µg/mLに調整した。

2EHの検量線は尿に含まれる共存成分の検量線への影響を補正するために標準溶液を尿に添加して作製した。10 mLの共栓試験管に尿1.0 mL、2EHの標準溶液1.0 mL、1Mの酢酸緩衝液 (PH4.8) 50 µLを加え、次に酵素10 µL (β Glucuronidase/arylsulfatase 30/60unit) を添加する。その後、37°Cの恒温槽で24時間加水分解する。尿の分析は標準溶液の代わりに蒸留水1.0 mLを加える。加水分解後、各共栓試験管に2Mの塩酸200 µLを加え酢酸エチル1 mL (IS含有) を加え30秒間激しくふり混ぜて抽出する。抽出後10000 g×10 min分遠心分離する。5 mLのガラス製のテストチューブにパースルチューブを用いて酢酸エチル層を分析用のバイアル瓶に入れる。

GC/MSの分析条件は機器はHPGC6890+Agilent5973MSD、カラムはDB-5MS 60m×0.25mm i.d.×0.25 µm。温度条件は80°C(2min)-20/min-300°C (20min)。キャリアーガスはヘリウム70 Kpa。注入口温度は290°C。注入量と注入方式は1 µL、スプリット25 : 1。検出器温度はイオン源290 °C。MS温度はMSイオン源250 °C、四重極200 °C。検出方法はSIMで行った。

GC/MSのトータルイオン分析でその特異的なMSパターンから定量イオンと確認イオンを選択した (表(1)-6)。

表(1)-6 GC/MSを用いた尿中分析の保持時間と定量イオン・確認イオン

物質名	分子量	定量イオン	確認イオン	GC保持時間
2-エチルヘキサノール	130	57	83	7.74
無水フタル酸	148.1	104	76	10.32
3メチルシクロヘキサノン		69	112	7.17

4. 結果及び考察

(1) 住宅ハウスダスト中のフタル酸エステル類とリン酸エステルの分析

1) 定量下限値

それぞれの物質の濃度 (0.04 µg/mL) を10回測定し、その標準偏差の10倍値をもとめ、ダスト重量50 mgで割った値を定量下限値とした。定量下限値を表(1)-7に示す。

表(1)-7 定量下限値

番号	物質名	平均値 $\mu\text{g/mL}$	標準偏差 (SD)	3SD	10SD	定量下限値 $\mu\text{g/g}$
可塑剤						
1	DMP	0.041	0.001	0.004	0.014	0.285
2	DEP	0.075	0.003	0.010	0.034	0.677
3	DiBP	0.066	0.002	0.005	0.015	0.305
4	DnBP	0.059	0.002	0.007	0.023	0.464
5	BBzP	0.019	0.001	0.002	0.008	0.155
6	DEHP	0.039	0.003	0.009	0.028	0.569
7	DINP	0.018	0.003	0.010	0.033	0.657
8	DEHA	0.036	0.004	0.011	0.037	0.741
難燃剤						
9	TMP	0.032	0.002	0.006	0.020	0.397
10	TEP	0.027	0.001	0.002	0.006	0.128
11	TPP	0.023	0.001	0.003	0.009	0.185
12	TBP	0.019	0.001	0.004	0.013	0.258
13	TCIP	0.015	0.001	0.003	0.010	0.205
14	TCEP	0.013	0.001	0.004	0.013	0.251
15	TEHP	0.008	0.001	0.003	0.009	0.185
16	TBEP	0.003	0.001	0.002	0.008	0.152
17	TDCPP	0.010	0.001	0.004	0.014	0.276
18	TPhP	0.037	0.003	0.008	0.026	0.524
19	TCP	0.019	0.001	0.003	0.011	0.225
その他						
20	4-NP	0.041	0.003	0.008	0.028	0.555
21	BHT	0.035	0.002	0.007	0.022	0.436
22	S-421	0.010	0.001	0.003	0.009	0.179

定量下限値：0.04 $\mu\text{g/mL}$ の標準溶液の標準偏差の 10SD の値を分析に使用するダスト 50 mg で割った値

2) 濃縮試験

定量限界以下の濃度を測定する目的で、低濃度試料 (0.04) を十倍濃縮した。濃縮方法は脱着 (1 mL) した溶液を窒素 (25 °C 以下) で風乾し、そこにアセトン 100 μL (IS 含まない) を入れ分析を行った。アセトンには内部標準物質が添加されており、濃度計算で求める (当該物質面積/IS 面積) 比率は同じであり、計算される濃度は濃縮以前と同じであった。濃縮されて求めた濃度と標準溶液濃度比を求めると 0.83~1.17 の範囲である。比が 1.0 前後になることは濃縮が可能であることを示す。この実験から約 1/10 倍まで定量下限値を下げる事が可能である。標準溶液の乾燥による影響値を表(1)-8に示す。

表(1)-8 標準溶液の乾燥による影響

番号	略称	濃縮実験値 0.04	標準溶液 0.04	濃縮実験/標準溶液
可塑剤				
1	DMP	0.026	0.023	1.115
2	DEP	0.031	0.037	0.842
3	DiBP	0.037	0.045	0.831
4	DnBP	0.030	0.031	0.961
5	BBzP	0.025	0.022	1.165
6	DEHP	0.032	0.028	1.142
7	DINP	0.028	0.026	1.080
8	DEHA	0.029	0.027	1.110
難燃剤				
9	TMP	0.029	0.034	0.850
10	TEP	0.029	0.031	0.938
11	TPP	0.027	0.028	0.955
12	TBP	0.024	0.021	1.144
13	TCIP	0.028	0.028	0.979
14	TCEP	0.020	0.017	1.174
15	TEHP	0.015	0.013	1.131
16	TBEP	0.009	0.008	1.005
17	TDCPP	0.031	0.030	1.040
18	TPhP	0.042	0.051	0.820
19	TCP	0.023	0.022	1.073
その他				
20	4-NP	0.028	0.026	1.052
21	BHT	0.025	0.028	0.892
22	S-421	0.011	0.009	1.172

濃縮実験値は標準溶液濃度(0.04 µg/mL) 1 mL を蒸発乾燥し、100 µL のアセトンを加え測定した。濃縮実験/標準溶液の比の値が 1.0 を示すことは乾燥による当該物質の蒸発が無く濃縮分析が可能であることを示す。値は N=5 の平均値

3) 抽出率

ハウスダストの成分になりうる羊毛、綿、化繊を用いて抽出試験を行った。それぞれアセトン溶液で洗浄、乾燥後、約50mgを秤量し、混合当該物質を添加乾燥後にアセトンで抽出し、標準試料濃度との比較から抽出率を求めた。表(1)-9に抽出率を示す。抽出率は羊毛86.7～117.9%、綿90.0～118.0%、化繊88～121.2%で抽出されている。

表(1)-9 毛糸、木綿、化繊からの抽出率

番号	物質名	毛糸	木綿	化繊
可塑剤				
1	DMP	105.6	105.9	97.0
2	DEP	101.0	107.1	99.6
3	DiBP	103.5	108.0	101.9
4	DnBP	103.6	107.0	105.4
5	BBP	113.7	114.6	113.1
6	DEHP	115.4	111.4	121.2
7	DINP	109.6	111.3	107.7
8	DEHA	116.9	112.2	116.3
難燃剤				
9	TMP	86.7	104.3	88.0
10	TEP	97.7	105.5	99.7
11	TPP	112.4	95.1	106.5
12	TBP	113.5	108.7	109.8
13	TCIP	115.2	115.9	113.0
14	TCEP	115.9	104.6	108.1
15	TEHP	115.2	104.6	110.6
16	TBEP	97.2	96.9	95.8
17	TDCPP	112.6	117.5	115.5
18	TPhP	95.0	90.7	88.0
19	TCP	108.5	90.0	106.0
その他				
20	4-NP	107.7	102.3	104.9
21	BHT	99.9	103.7	97.1
22	S-421	117.9	118.0	115.6

測定値は N=5 の平均値

4) ダスト保存における汚染

ダストは採集瓶に入れて、アルミホイルで養生し、-20℃で保存した。汚染による影響の検討は図(1)-1に示す。瓶にアセトン1 mLを加え超音波で30分間溶出した。DiBP、BBP、DEHP、DEHAは定量下限以上の濃度が検出されたが、ほかの物質は定量下限未満であった。実際のダストの測定濃度はこれら汚染値は考慮せず使用した。採集瓶の写真を図(1)-1に採集瓶からの溶出を表(1)-10に示す



図(1)-1 採集瓶

表(1)-10 捕集瓶からの溶出

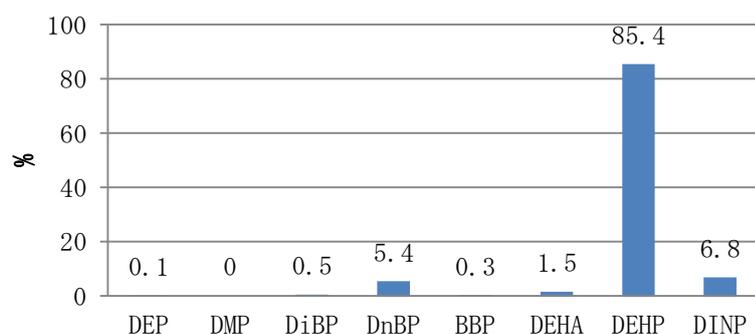
名前	定量 下限 値 μg/g	平均値 μg/g	標準偏差 μg/g
DiBP	0.04	0.38	0.019
BBP	0.1	0.48	0.062
DEHP	0.42	3.2	1.322
DEHA	0.17	4.9	1.295

その他のダストはすべて定量下限値以下であった。

N=3

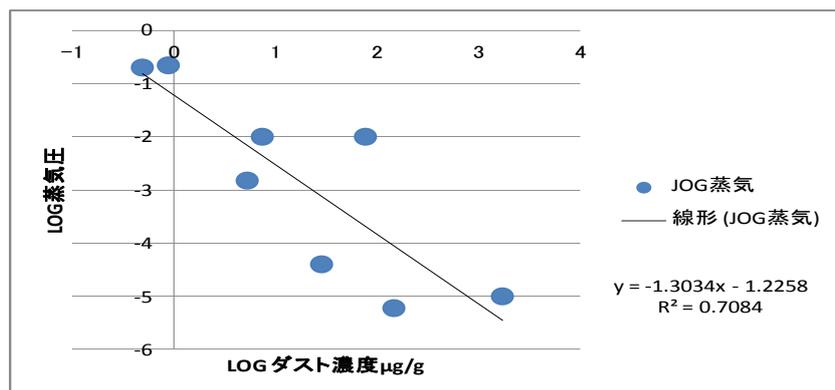
5) 測定事例

ハウスダスト207検体の含有率はフタル酸エステル類ではDEHPは85.4%と最も多く存在し、その他DINP 6.84%、DnBP 5.4%、などが検出された。可塑剤8種類のフタル酸エステル類のダスト中の含有率を図(1)-2に示す。リン酸トリエステル類ではTBEPが89.8%と最も多く、TCEP7.4% > TDCPP 4.3%の順であった。検出されたフタル酸エステル類、リン酸トリエステル類それぞれの間には関連が見られなかった。またフタル酸エステル類の物理性質である飽和蒸気圧とダスト濃度との関連は、飽和蒸気圧の低いダストのほうが、ハウスダスト中の濃度が高くなる傾向があった。室内が汚染されると蒸発せずに長期間の間存在するものと考えられる。ダスト中8種類のフタル酸エステル濃度と飽和蒸気圧の関係を図(1)-3に示す。



図(1)-2 可塑剤8種類のフタル酸エステル類のダスト中の含有率

個々に測定されたフタル酸エステル類のmol均値を求め、8種類のフタル酸を合計した値を100%とした。



図(1)-3 ダスト中8種類のフタル酸エステル類濃度と蒸気圧の関係

(2) フタル酸エステル類の代謝物であるフタル酸モノエステル8種類とリン酸ジエステル3種類の同時分析方法の結果

1) フタル酸モノエステルとリン酸ジエステル分析の抱合遊離

フタル酸モノエステルの代謝はグルクロン酸抱合と硫酸抱合が報告されている。分析に際し、抱合を遊離することが必要である。

本研究では、ラットの餌に DEHP を混ぜ、飲食投与し採尿させた。この尿を用いて、フタル酸モノエステルが抱合しているかどうかの検討を行った。採尿された尿に酵素を 10 μL 添加し、24 時間 37°C で抱合遊離を行った尿と、酵素を添加しないで蒸留水 10 μL を加えた尿について、それぞれフタル酸モノエステルの分析を行った。DEHP の代謝物である MEHP、2cx-MMHP、5oxo-MEHP、5cx-MEPP は、酵素を添加し抱合遊離すると有意に高値となった。その他、MiBP も高値となった (表(1)-11)。酵素の投与量については 0 μL 、10 μL 、20 μL 、30 μL の添加による MEHP 値の変化を調べた。酵素 10 μL 以上の値に著しい変化は無く、抱合遊離が完全に行われていた。また酵素添加によるフタル酸モノエステル分析への影響は、2cx-MMHP が 0.013、0.034 $\mu\text{g/mL}$ の値を示す場合が見られた。他測定物質への影響は見られなかった。

リン酸トリエステル類 (TEHP、TBP、TPhP) はそれぞれ一種類ずつ3濃度 (高濃度、低濃度、非投与濃度) をオリーブオイルに希釈してマウスに腹腔内投与を一回した。代謝物は BEHP、DBP、DPhP を測定した。酵素添加と非添加では有意な差は見られなかったことから、グルクロン酸抱合と硫酸抱合はしていないものと考えられる。TEHP はオリーブオイルに溶解せず、混濁物を投与したため、体内に吸収され、代謝されたのちの尿を分析しているか、本研究では確認できなかった。(表(1)-12)。

表(1)-11 DEHP 曝露ラット尿における酵素処理の変化

物質名	酵素非添加(24時間反応)		酵素添加 24時間反応		P 値
	平均($\mu\text{g/mL}$)	SD	平均($\mu\text{g/mL}$)	SD	
MiBP	0.024	0.002	0.381	0.107	**
2CX-MMHP	14.173	0.245	38.500	2.917	**
MnBP	0.007	0.001	0.008	0.003	
MEHP	111.564	2.188	142.529	4.019	**
MBzP	0.000	0.000	0.001	0.000	
5oxo-MEHP	21.355	0.355	28.651	0.613	**
MCPP	0.111	0.004	0.113	0.006	
5cx-MEHP	2.532	0.038	3.277	0.058	**

酵素による遊離時間は 24 時間 38°C で行なった。

尿を 5 回測定した。

表(1)-12 リン酸トリエステル類 1 回投与マウス尿における酵素処理の変化

リン酸トリエステル類	代謝物	非酵素添加 ($\mu\text{g/mL}$)			酵素添加 ($\mu\text{g/mL}$)		
		非曝露	低濃度	高濃度	非曝露	低濃度	高濃度
TEHP	DEHP	0.005	0.011	0.016	0.001	0.020	0.021
TBP	DPB	N D	15.959	-	N D	13.34	-
TPHP	DPP	N D	38.5	140.6	N D	43.03	146.37

マウスにそれぞれのリン酸トリエステルを腹腔内に 1 回投与し、代謝物を測定

2) 定量下限値と定量可能値

尿5検体にそれぞれ0.01 $\mu\text{g/mL}$ の標準溶液を添加し、酵素による加水分解、酢酸エチル抽出、乾燥、誘導化後に分析し、平均値と標準偏差 (SD) を求め、10SDを定量下限値として求めた。定量下限値は対象化合物により異なるが、0.010~0.070 $\mu\text{g/mL}$ の範囲であった。定量下限値を表(1)-13に示す。

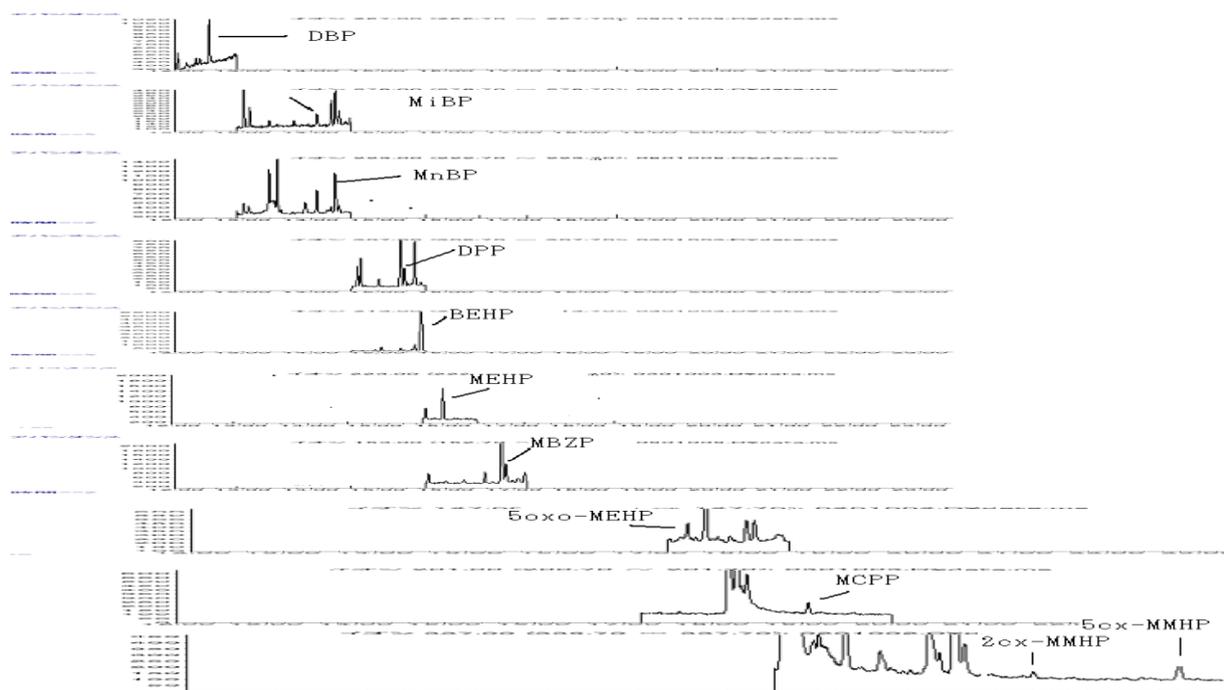
図(1)-4に尿に添加したフタル酸モノエステル類とリン酸ジエステルの標準溶液濃度0.01 $\mu\text{g/mL}$ のクロマトグラムを示す。定量可能値は尿に0.01 $\mu\text{g/mL}$ を添加したクロマトグラムのベースラインの5倍以上ピークの二分の一とした値として0.005 $\mu\text{g/mL}$ を得た。3種類のリン酸ジエステルも同じ結果が得られた。

表(1)-13 定量下限値

試料名	抽出尿添に標準溶液添加			
	平均値 ($\mu\text{g/mL}$)	偏差(SD)	検出下限値	定量下限値
			3 SD	10 SD
MiBP	0.008	0.001	0.003	0.010
2cx-MMHP	0.125	0.007	0.022	0.070
MnBP	0.004	0.001	0.003	0.011
MEHP	0.017	0.002	0.007	0.020
MBzP	0.014	0.001	0.003	0.010
5oxo-MEHP	0.013	0.002	0.006	0.020
MCPP	0.014	0.001	0.003	0.010
5cx-MEHP	0.043	0.005	0.015	0.050
DBP	0.014	0.002	0.006	0.020
DPP	0.013	0.001	0.003	0.010
BEHP	0.011	0.005	0.015	0.047

標準溶液濃度 $0.01 \mu\text{g/mL}$ を 5 回測定し、その平均値、標準偏差を求めた

*平均値は小数点以下 4 桁目で繰り上げ

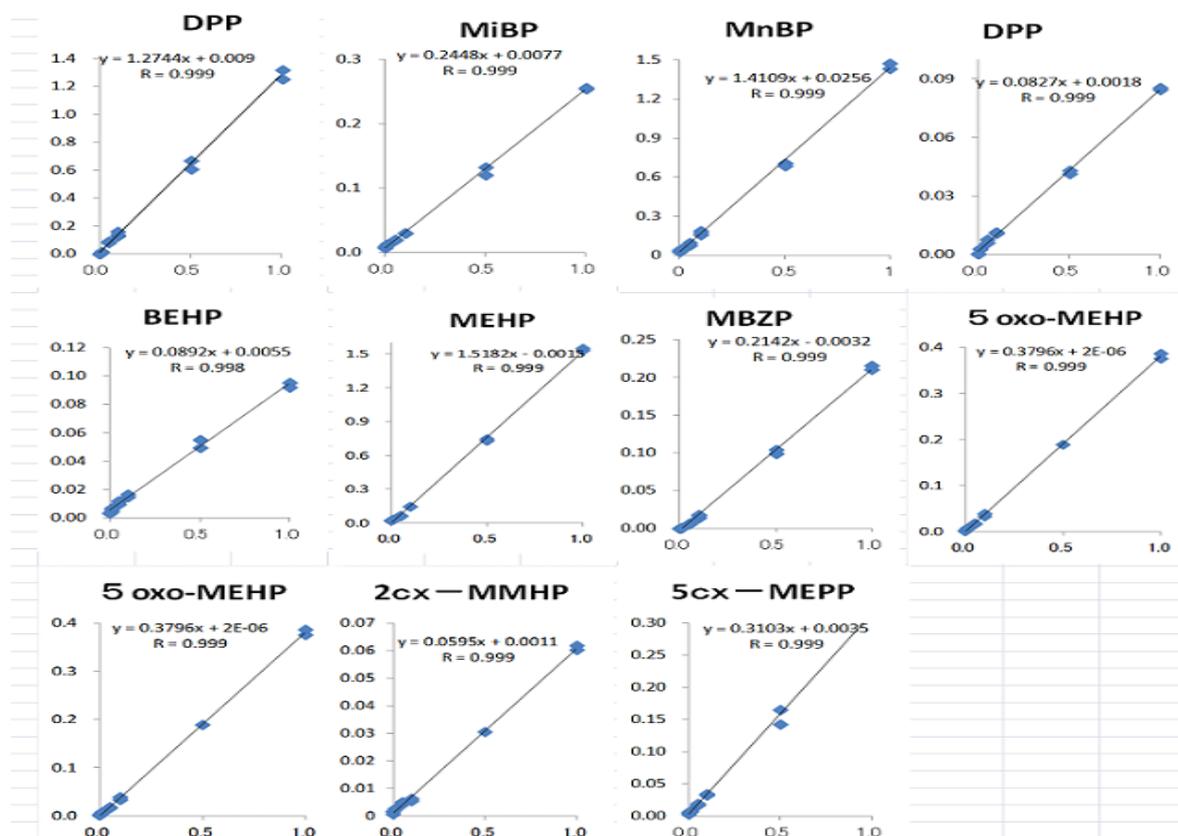


図(1)-4 尿に標準溶液濃度 ($0.01 \mu\text{g/mL}$)を添加したクロマトグラム

MTBSTFAによる誘導化分析のスタル酸モノエステル8種類とリン酸ジエステル3種類の同時分析のクロマトグラムを示す。クロマトグラムはそれぞれ測定物質の定量イオンピークである。

3) 検量線

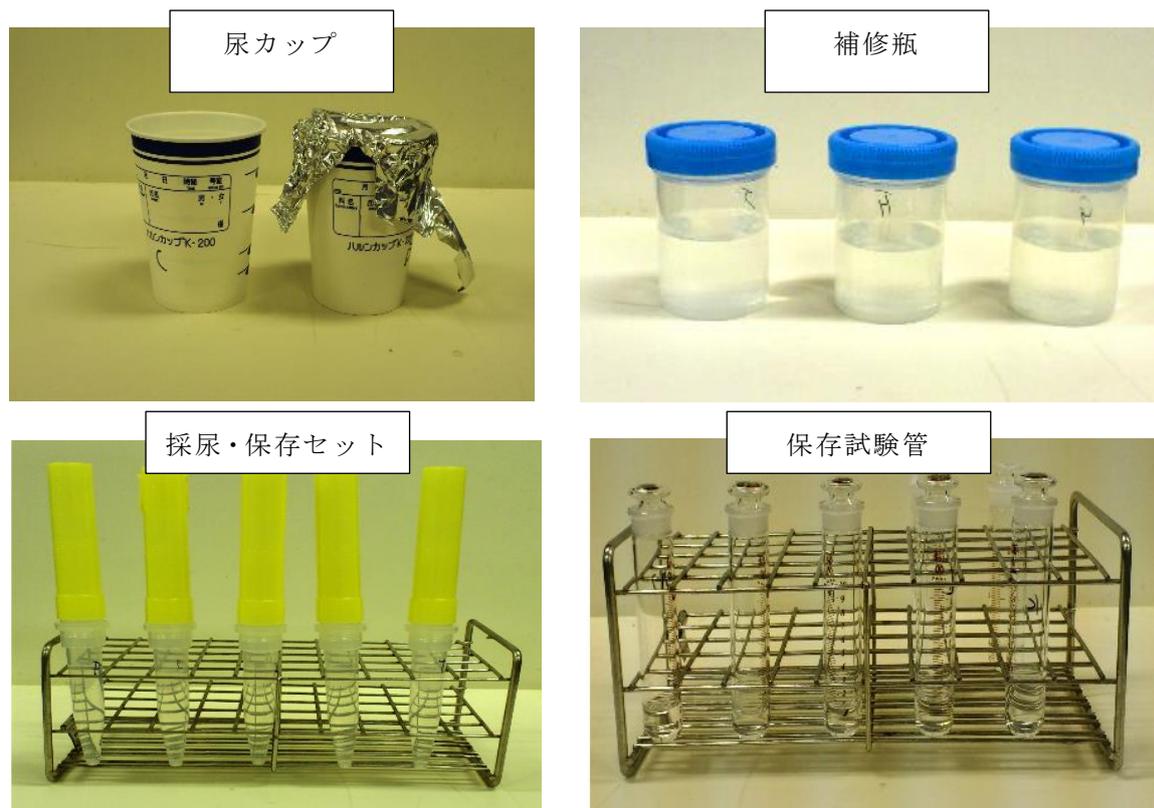
検量線は試料を蒸留水で希釈し6種類の濃度（0から1.0 µg/mL）を尿に添加して検量線（簡易標準添加法）の作成を行った。いずれも濃度に対応してArea/ISが増加した。図(1)-5に検量線を示す。



図(1)-5 フタル酸モノエステル8種類、リン酸ジエステル3種類の検量線

4) 使用する容器等からの汚染の確認

採尿、尿保存容器からのフタル酸エステル類・リン系難燃剤代謝物の溶出を調べる目的で、8種類の当該物質の検出量を調べた。採尿カップ、保存容器には蒸留水50mLを注入、最終容器は15mL,ガラス容器で、前処理を行った際に保存したガラス管と同種類の10 mLパイデックス製容器を用いた。これに、10 mL蒸留水を注入した後、30分間超音波処理し、5日間室温で保存した。それぞれの容器の写真を図(1)-6に示す。採尿カップ、保存用に使用している採尿容器からの遊離状況を調べた。2cx-MMHPとMEHPが検出されているが、定量下限以下の濃度であった。以上の結果から、容器からのコンタミは、尿中代謝物の分析結果に影響を与える量は検出されていないと考えられる。同様に、DBP、DPhP、BEHPも分析結果に影響を与える量は検出されなかった。検出結果を表(1)-14に示す。



図(1)-6 尿カップ、捕集瓶、採尿・保存セット、保存試験管

表(1)-14 尿カップ、捕集瓶、採尿・保存セット、保存試験管からの検出濃度

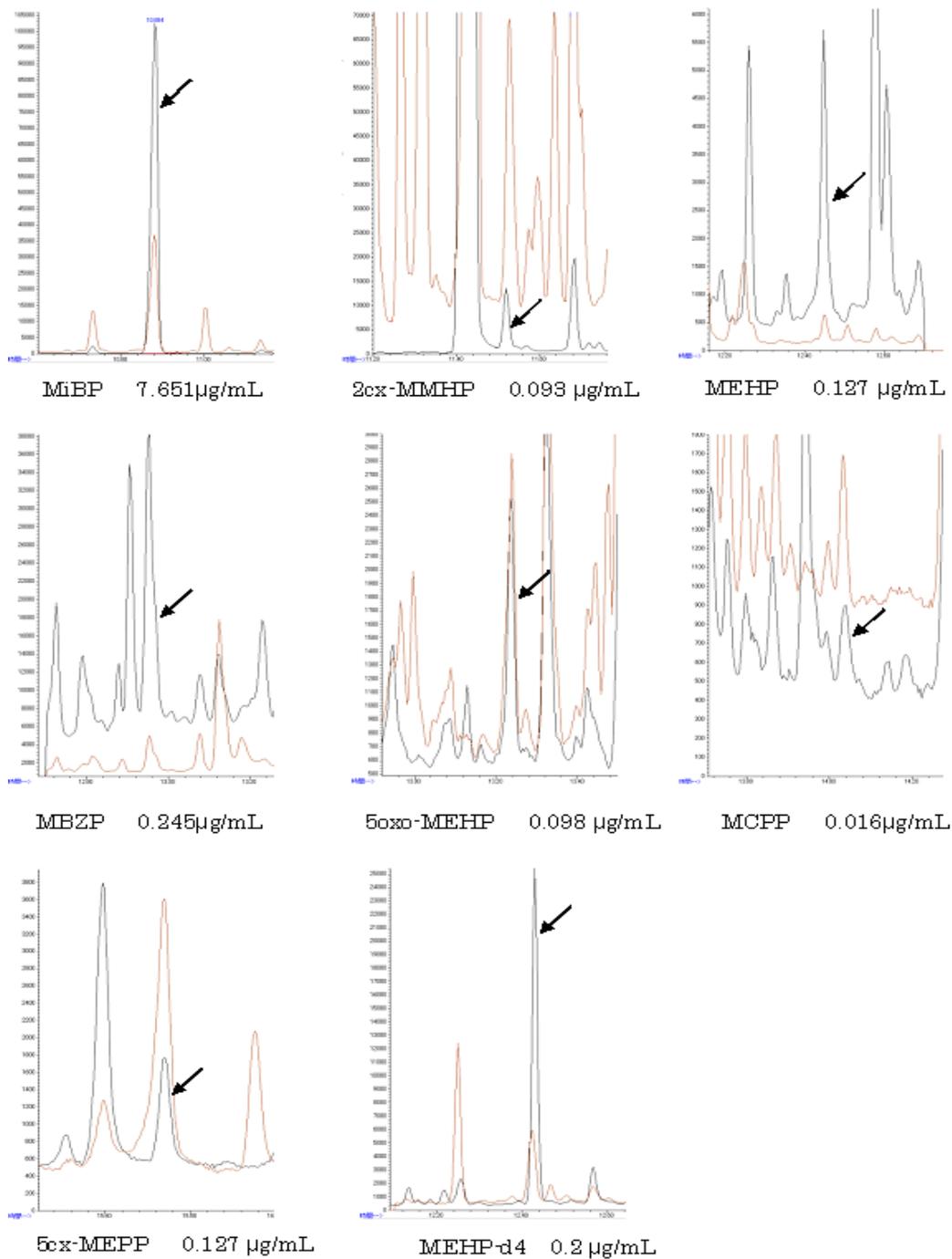
	MiBP	2CX-MMHP	MnBP	MEHP	MBzP	5oxo-MEHP	MCPP	5ox-MEHP
尿カップ	—	1.8	—	1.9	—	—	—	—
捕集瓶	—	2.4	—	1.7	—	—	—	—
採尿・保存セット	—	1.2	—	1.7	—	—	—	—
保存試験管	—	1.7	—	1.6	—	—	—	—

単位は ng/mL

尿カップ、捕集瓶には蒸留水 50 mL を注入、採尿・保存セットには 7 mL、保存試験管には 10 mL 注入後、30 分間超音波処理し、室温で 5 日間室温保存

5) 尿から高濃度で検出された例

採尿された尿から高濃度で検出された代謝物のクロマト事例を図(1)-7に示す。リン酸代謝物も高濃度で検出されることが確認された。



図(1)-7 4人の尿からの測定事例と尿中濃度それぞれ代謝物のピーク強度は異なっている

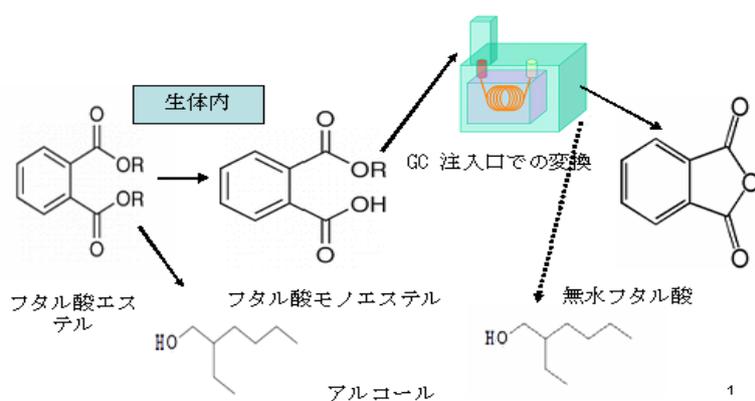
(3) 無水フタル酸と2エチル-1-ヘキサノールの分析

1) フタル酸モノエステルから無水フタル酸への変換

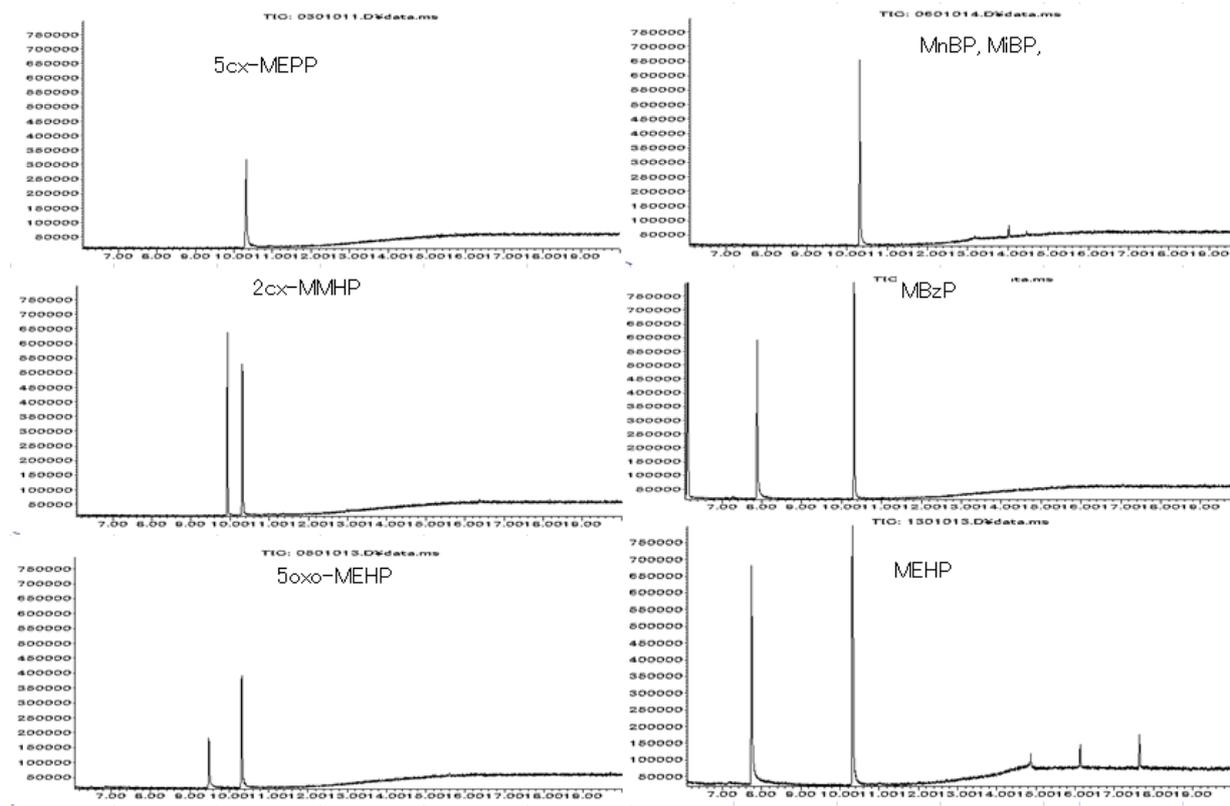
生体内で抱合されていないフタル酸モノエステルはGC注入口で無水フタル酸とアルコールに変化する。図(1)-8にモデル図を示す。フタル酸エステル類は生体内でフタル酸モノエステルに代

謝され、GC/MSによる分析時に注入口で無水フタル酸とアルコールになる。注入口の温度は無水フタル酸の生成に対し、重要なパラメータとなる。図(1)-9のクロマトグラムは8種類のフタル酸モノエステル標準溶液がGC測定時に、無水フタル酸とアルコールになる事を示している。無水フタル酸の保持時間は10.3分である。

一方、5種類のフタル酸エステル類（DEHP、DBP、BBzP、DiBP、DnBP）はGC注入口の温度で無水フタル酸を検出しない。フタル酸エステル類濃度10 µg/mLまでは無水フタル酸にならないことをGC/MSで確認した。したがって、注入口付近で無水フタル酸に変化する反応は、フタル酸モノエステルの特徴的な反応で有ると考えられる。



図(1)-8 フタル酸モノエステルのGC注入口の変換モデル

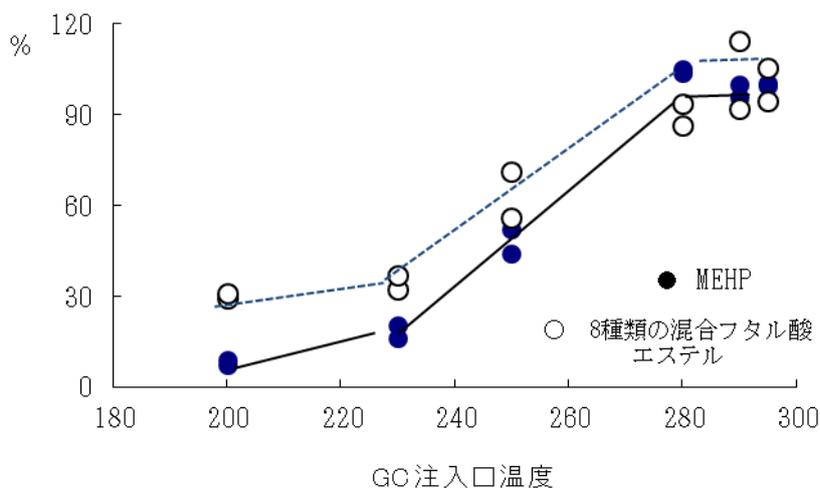


図(1)ー9 8種類のフタル酸モノエステルGC/MS分析(トータルイオン)における無水フタル酸とアルコール

保持時間10.3分が無水フタル酸,前方ピークは遊離したアルコールピーク、MEHPは無水フタル酸と2EHピークがみられている

2) GC注入口温度による無水フタル酸への変換率

図(1)-10はMEHPと8種類の混合フタル酸モノエステルのGC注入口温度変化による無水フタル酸の変化量を示した。GC注入口の温度が上昇するにつれて無水フタル酸の変化量が増加し、GC注入口温度が280度を超えると変化量は一定となる。この実験はGC注入口温度300度の時の値を100%として計算している。フタル酸モノ2-エチルヘキシル (MEHP) からの2EHの遊離はMEHPの2-エチルヘキシル其はGC注入口の温度により遊離し、2EHになり、280℃を超えると遊離が一定となり、図(1)-10と類似した変化量を示す。2EHはDEHPが体内でMEHPになる時にも遊離され、尿中に存在している。



図(1)-10 GC注入口温度によるフタル酸モノエステルから無水フタル酸への変化
300°Cでの無水フタル酸を100%とし他の温度での変換率を計算した

3) 検量線と定量下限値および抽出率

無水フタルは10 $\mu\text{g/mL}$ まで直線性を確認した。定量下限値は検量線を用いて0.01 $\mu\text{g/mL}$ を添加した試料を5回測定し、標準偏差の3SDを検出下限値、10SDを定量下限値として求めた。計算による定量下限値は0.03 $\mu\text{g/mL}$ が得られた。抽出率は8種類のフタル酸モノエステル混合物を酢酸エチルに溶解した時の測定値と、水に溶解し、酢酸エチルで抽出した時の測定値を比較した。それぞれ107%と95%を示した。表(1)-15に結果を示す。

表(1)-15 8種類のフタル酸モノエステルを用いた無水フタル酸の抽出率

	濃度 1.51 μ mol/L		濃度 15.1 μ mol/L	
	平均濃度	偏差	平均濃度	偏差
標準溶液酢酸エチル溶解 (A)	0.350	0.044	3.617	0.142
標準水溶液の酢酸エチル抽出 (B)	0.375	0.066	3.437	0.169
抽出率 % (B/A*100)	107		95	

N=5

8種類のフタル酸モノエステルを等量の酢酸エチルに混合し、GC上で無水フタル酸に変化させた濃度(A)と、同じく8種類のフタル酸モノエステルを水溶液に溶解し、酢酸エチルで抽出し、GC上で無水フタル酸濃度(B)の比を抽出率とした。

2EHの検量線は試料を水で希釈し6種類の濃度(0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 μ g/mL)を作製した。定量下限値は、0.01 μ g/mLを添加した試料を5回測定し、標準偏差の3SDを検出下限値、10SDを定量下限値として求めた。計算による定量下限値は0.02が得られた。2EHを直接酢酸エチルに溶解、測定した値と尿に2EHを添加し、酢酸エチルで抽出し測定した値の比を抽出率として計算すると、2EHの2種類の濃度(0.1 μ g/mL, 1.0 g/mL)の抽出率は102%と86%であった。

4) 酵素による加水分解の必要性

ラットにDEHPを投与し、その尿を用いて尿中2EHと無水フタル酸を分析した。酵素を添加し抱合を遊離(加水分解)した値と非酵素添加し分析した値とを比較すると、酵素を添加した試料では、数倍高い値を示した。尿中2EHはDEHPがMEHPになる時に遊離し、MEHPはGC注入口で2EHを遊離する。抱合をしている2EHはDEHPがMEHPになる時に遊離された物である。無水フタル酸が高値を示すのはDEHPの代謝物は抱合されおり、酵素で抱合を遊離することが分析時の無水フタル酸への変換の効率を高めているものと考えられる。(表(1)-16)。

表(1)-16 酵素による抱合遊離の必要性

		非酵素 μ g/mL	酵素添加 μ g/mL
ラット 100	無水フタル酸	201.5	307.3
	2エチルヘキサノール	7.89	106.8
ラット 102	無水フタル酸	170.9	257.1
	2エチルヘキサノール	4.52	100.82

5) フタル酸モノエステルから無水フタル酸の生成

8種類のフタル酸モノエステル標準液が定量的に無水フタル酸へ変換されるかの確認を行った。表(1)-17に、フタル酸モノエステルの各濃度0.05, 0.1, 0.5, 1.0 μ mol/Lと、変換された無水フタル酸濃度の関係を示す。いずれもフタル酸モノエステル濃度に対応し、直線的に無水フタル酸濃度が増加している。表中の傾きは、変換割合を示している。MEHPは傾きが0.523であり約半分が無水フタル酸になっていることを示している。フタル酸モノエステルの種類により変換割合が異なる。

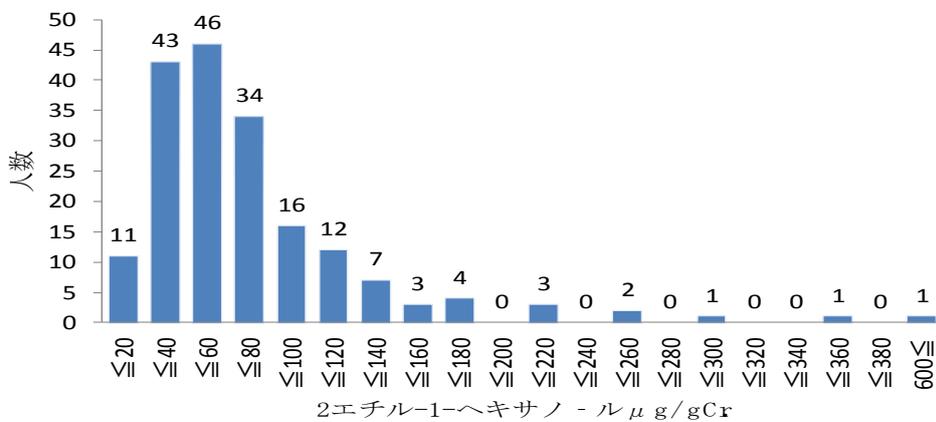
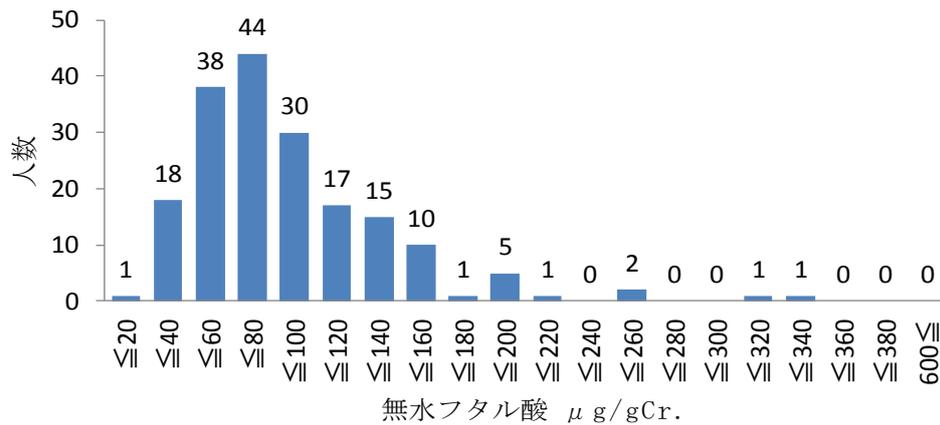
表(1)-17 フタル酸モノエステルから無水フタル酸の生成

物質名	傾き	切片	相関係数
5oxo-MEHP	0.618	0.039	0.981
2cx-MEHP	0.323	-0.078	0.954
5ox-MMHP	0.662	-0.040	0.989
MEHP	0.523	-0.020	0.990
MnBP	0.122	0.077	0.900
MBzP	0.118	0.069	0.908
MiBP	0.503	0.049	0.990
MCPP	0.097	0.028	0.969
フタル酸	0.047	-0.022	0.922

モノフタル酸エステル類 $\mu\text{mol/L}$ (X)から無水フタル酸 $\mu\text{mol/L}$ (Y)
 モノフタル酸エステル類濃度は0.05 $\mu\text{mol/L}$ から1.0 $\mu\text{mol/L}$

6) 測定事例

6歳から8歳の児童185名の無水フタル酸と2エチル-1-ヘキサノールの分布を示す(図1-11)。幾何平均値はPHAが77.6 $\mu\text{g/gCr}$ 、2EHは幾何平均値は57.5 $\mu\text{g/gCr}$ で、どちらも対数正規分布を示した。



図(1)-11 無水フタル酸と2エチル-1-ヘキサノールの分布

無水フタル酸の幾何平均値77.6 $\mu\text{g/gCr}$.(GSD1.66)、2エチル-1-ヘキサノール幾何平均値57.5 $\mu\text{g/gCr}$.(GSD1.90) N:184名 6歳から12歳児 (男女)

(4) 尿中代謝物、無水フタル酸、2エチル-1-ヘキサノールの関係とフタル酸エステル類曝露の指標値としての無水フタル酸濃度とDMHPの曝露指標としての2-エチル-1-ヘキサノール濃度

1) 測定事例

学童7-8歳(男子146名、女子101名)フタル酸代謝物とリン酸代謝物の平均値を表(1)-18に示す。DBPは男子が高値であるがその他は同じ値を示した。DEHP代謝物のMEHP、2cx-MEHP、5oxo-MEHP、5cx-MEHPとPHA、2EHの関係を相関係数で表(1)-19に示す。MEHP以外の代謝物はそれぞれ高い相関が見られる。特に5oxo-MEHP、と5cx-MEHPは高い相関を示している。PHAとDEHPの4種類の代謝物合計は男子、女子ともに、高い相関を示した。一方、2EHはいずれの代謝物とも、高い相関を示さなかった。各物質との濃度を比較する目的で濃度単位はmol/Lで示している。

フタル酸モノエステルは分析時に無水フタル酸になる事がわかった。。このことからフタル酸エステル類5種類の代謝物質フタル酸モノエステル8種類の合計と尿中無水フタル酸濃度関係の関係をみると男子では相関係数 (r) 0.631、回帰式 $Y=1.929X+0.322$ (X:無水フタル酸、Y: フタル

酸モノエステル合計)、女子 $r: 0.774$ 、 $Y=1.938X+0.283$ が得られた(図(1)-12)。すなわち尿中のフタル酸モノエステルと高い相関を示し、男子、女子とも回帰式の傾きは同じであった。この結果は、フタル酸エステル類の総合曝露指標として、尿中の無水フタル酸濃度は有効な指標になり得ることを示している。

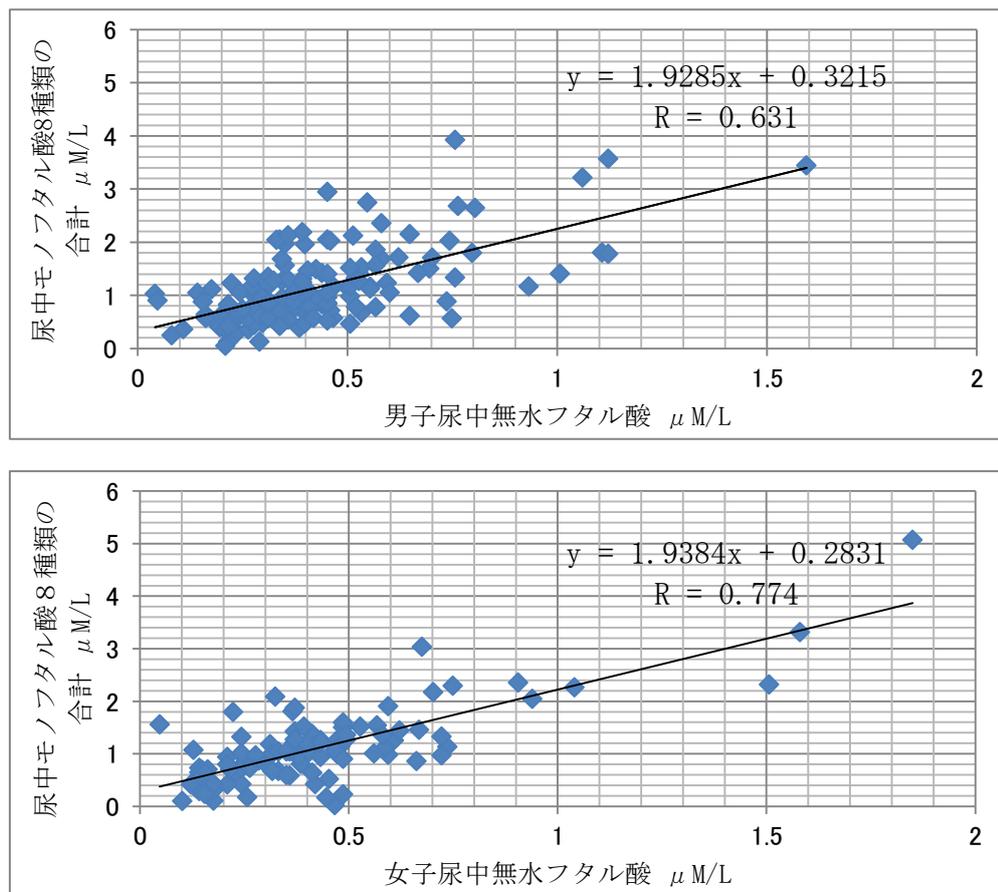
表(1)-18 7-8歳児の男女別平均値

性別 平均値	男子(146名) 尿		女子(101名) 尿	
	算術平均	標準偏差	算術平均	標準偏差
クレアチニン(mg/100mL)	101.6	37.2	90.8	37.5
フタル酸エステル類代謝物				
MEHP(μ M/L)	0.128	0.077	0.092	0.108
2cx-MMHP(μ M/L)	0.260	0.227	0.234	0.215
5oxo-MEHP(μ M/L)	0.111	0.111	0.110	0.129
5cx-MEHP(μ M/L)	0.173	0.146	0.142	0.204
2EH(μ M/L)	0.387	0.379	0.281	0.421
MBzP(μ M/L)	0.038	0.120	0.046	0.109
MCPPP(μ M/L)	0.016 未満	-	0.016 未満	-
MiBP(μ M/L)	0.204	0.294	0.281	0.202
MnBP(MBP)(μ M/L)	0.245	0.272	0.202	0.167
PHA(μ M/L)	0.451	0.282	0.422	0.292
リン酸トリエステル類代謝物				
DPhP(μ M/L)	0.016	0.038	0.032	0.070
BEHP(μ M/L)	0.061	0.108	0.040	0.056
DBP(μ M/L)	0.229	0.209	0.058	0.119

表(1)-19 7-8歳児のDEHP代謝物の男女別相関

相関係数	MEHP	2cx-MEHP	5oxo-MEHP	5cx-MEHP	2EH	PHA	SUM
MEHP		0.203	0.103	0.100	0.299	0.056	0.344
2cx-MEHP	0.115		0.524	0.536	0.195	0.433	0.869
5oxo-MEHP	0.136	0.821		0.859	0.399	0.665	0.824
5cx-MPP	1.125	0.817	0.964		0.275	0.704	0.841
2EH	0.057	0.108	0.113	0.097		0.317	0.345
PHA	0.189	0.735	0.802	0.817	0.100		0.634
SUM	0.321	0.914	0.946	0.947	0.115	0.821	

上段は男子146名、下段は女子101名の相関係数。PHAは無水フタル酸。単位は μ mol/L
SUMはMEHP+2cx-MMHP+5oxo-MEHP+5cx-MEHPである。



図(1)-12 無水フタル酸とフタル酸モノエステル8種類合計との関連

男子146名、女子101名 年齢7-8歳

8種類：MEHP, 2cx-MMHP, 5oxo-MEHP, 5cx-MEPP, MiBP, MnBP, MBzP, MCPP

2) フタル酸エステル類曝露に対する尿中無水フタル酸の曝露指標値の提案

無水フタル酸はモノフタル酸類の合計と高い相関があることが明らかになった。この結果は、無水フタル酸がフタル酸エステル類の混合曝露の曝露指標になり得ることを示している。そこで、フタル酸モノエステルの、NOAEL値から、試行的に算出して求めた値を生物学的曝露指標値として提案する。DEHPのNOAEL値は環境省、厚生労働省、経済産業省とも同じでラットで3.7 mg/Kg/Day（精巢毒性で最も低い値）としている。基準マージンはラットとヒトの感受性の種間差を説明する3と個人差を説明する10の積30が妥当としている。環境省の報告では侵入経路は経口が98.80%、経口：5.60 $\mu\text{g/Kg/Day}$ 、吸入：0.07 $\mu\text{g/Kg/Day}$ 、経皮吸収はなしとしている。経口投与による吸収率は Schmid と Schlatter (1985) ら¹⁾によれば20から25% としている。高い吸収率を採用して25%とする。子ども体重は25Kg、マージンは30としてDEHPの体内への吸収量を計算すると、3.7 mg/Kg/Day \times 1/30 \times 25Kg=3.083 mg/Dayが得られる。また子ども1日の尿量は成人の半分0.75 L/Dayとすると、(3.08 mg/Day)/(0.75 L/Day)=4.11 mg/Lとなる。DEHP モル濃度：10.54 $\mu\text{mol/L}$ 、吸収率25%から10.54 \times 0.25=2.635 $\mu\text{mol/L}$ が得られる。尿への代謝率65%とすると2.635 \times 0.65=1.71 $\mu\text{mol/L}$ となる。

モノ代謝物からGC.Injでの平均PHA変換率55%として求めるとPHAは $1.71 \mu\text{mol/L} \times 0.55 = 0.94 \mu\text{mol/L}$ となる。PHA $0.94 \mu\text{mol/L}$ は生物学的曝露指標値となる。これを $\mu\text{g/L}$ で表すと $139.12 \mu\text{g/L}$ となり子どもクレアチニン平均： 1.1g/L で補正すると $126.5 = 130 \mu\text{g/gCr}$ が得られる。これは今回の無水フタル酸の分布から見ると247名中約16名がこの生物学的曝露指標値を超えることが明らかとなった。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

- 1) 曝露レベルの定量的評価として、ダスト中フタル酸エステル類およびリン系難燃剤のGC/MSによる同時分析が可能となった。ダスト中に多くのフタル酸エステル類およびリン系難燃剤が含有されていることが明らかになった。
- 2) これまでフタル酸モノエステルとリン酸ジエステルの測定は異なる手順で別々に行われてきた。本測定方法の開発により、11種類の代謝物の一斉測定が可能となった。ヒトの尿に酵素 (β -Glucuronidase/arylsulfatase) を添加し、抱合物質を遊離させることでより正確な代謝物量を得ることが可能となった。分析条件の開発により、フタル酸エステル類の尿中代謝物8化合物と3種類のリン酸ジエステルの同時分析が可能となり、簡易標準添加方法の開発により精度、感度よく低濃度 (定量下限値は5-47 ng/mL) で評価可能となった。ヒトの曝露を評価できる。
- 3) 尿中無水フタル酸はフタル酸ジエステル類代謝物の総合計と高い相関を認めた。すなわち多種類のフタル酸エステル類の類の総合的な曝露指標となることがわかった。無水フタル酸の測定は、フタル酸エステル類の総曝露を調べるスクリーニングとして有用であることを示している。また日本で開発された新しい曝露評価手法として世界に発信が可能である。
- 4) フタル酸エステル類で最も低い値が示されているMEHPのNOAELから試行的に算出して求めた値を生物学的曝露指標値として提案する。無水フタル酸の生物学的曝露指標値は $0.94 \mu\text{mol/L}$ 、これを $\mu\text{g/L}$ で示すと $139.12 \mu\text{g/L}$ となる。子どものクレアチニン平均： 1.1g/L で補正すると $126.5 = 130 \mu\text{g/gCr}$ が得られる。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

<行政が活用することが見込まれる成果>

- 1) 生物学的モニタリング検査は有害物質の体内への吸収量知る最も重要な手法検査の一つである。一つの方法で同時に多種類のフタル酸エステル類、リン酸トリエステル類の代謝物の分析が可能になるので混合曝露評価と混合生体影響評価が同時に可能になる。エコチル調査で行う予定の環境化学物質分析のフタル酸ジエステル、リン酸トリメチルの曝露評価および健康影響評価に活用できる。

- 2) ヒトは多種類のフタル酸ジエステル類に曝露しており、生物学的モニタリングでは、それぞれのジエステル化合物に対応するモノエステル化合物の分析が必要である。すべてのモノエステルがGC分析時に無水フタル酸になることは、この無水フタル酸を測定することで生体中のフタル酸モノエステルの総量、言い換えると曝露されたフタル酸ジエステル類の総体内吸収量の指標となり得ることを示している。なお、水の存在下では無水フタル酸はフタル酸に変換するため、尿中に無水フタル酸は存在しない。フタル酸ジエステルはGC/MSで分析しても無水フタル酸にならず、またフタル酸そのものはGC/MSの分析ではmg以上なければ検出されないため、汚染の心配がない。またこの方法はエステル結合しているアルキル（アルコール類）を同時に分析することが可能である。本研究では、フタル酸ジエチルヘキシル（DEHP）の代謝物MEHPのアルキル基である2エチル-1-ヘキサノールを同時に分析した。この分析方法は多量検体の分析に適しており、エコチル調査で行う予定の環境化学物質分析のフタル酸ジエステル曝露評価に活用できると考える。
- 3) 生体中の物質を測定した場合、物質のリスク評価の許容基準値を決めるには2つの方法で行われている。①生体影響から決める場合、②環境の曝露濃度と対応して決める場合がある。一般には労働現場で生物学的許容値として多数の物質について公表されている。一般環境から曝露される物質の生体から排泄される物質を用いた許容基準値は少ない。高濃度の曝露を受ける可能性がある労働現場とは異なり、一般環境における曝露は低濃度であり、曝露に対する基準値を定めることは困難である。しかし、生体試料を測定して健康影響を調べる場合はなんらかの基準値を設定して用いること必要である。ところで、環境省の有害物質の評価書にはNOAEL値が決められている。NOAEL値は生体影響(主として動物のデータ)から求められており、NOAEL値を活用することは生物学的曝露指標を決めるうえで重要な評価値となりうる。そこで今回はフタル酸ジエチルヘキシルのNOAEL値を用いて、生体中から排泄される無水フタル酸の濃度を用いた、生物学的曝露指標となる評価値の決定を提案する。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文(査読あり)>

特に記載すべき事項はない。

<その他誌上発表(査読なし)>

特に記載すべき事項はない。

(2) 口頭発表(学会等)

- 1) 河合俊夫、坪井樹、乾谷正樹、荒木敦子、岸玲子、住野公昭：第84回産業衛生学会、東京

(2011)

「シックハウス症状解明のための超小型、軽量、拡散型サンプラーの開発—アルデヒド測定用サンプラー—」

- 2) 坪井樹、河合俊夫、乾谷正樹、荒木敦子、大前和幸、住野公昭、岸玲子：第84回産業衛生学会、東京（2011）
「シックハウス症状解明のための超小型、軽量、拡散型サンプラーの開発—VOC測定用サンプラー—」
- 3) T. Tsuboi, T. Kawai, A. Araki, Y. Ait Bamai and R. Kishi : International Society of Exposure Science 22nd Annual Meeting, Seattle, USA, 2012
“Determination of human urinary metabolites of five phthalate by gas chromatography-mass spectrometry -Exposure assessment to plasticizer and flame retardants and their risk on children (1)-”
- 4) T. Kawai, T. Tsuboi, A. Araki, Y. Ait Bamai and R. Kishi: International Society of Exposure Science 22nd Annual Meeting ,Seattle, USA,2012
“Phthalic anhydride as a marker of total uptake of phthalate diesters -Exposure assessment to plasticizer and flame retardants and their risk on children (2)-”
- 5) 河合俊夫、坪井樹、荒木敦子、アイツバマイゆふ、岸玲子 : 第52回近畿産業衛生学会（2012）
「可塑剤・難燃剤の曝露評価手法の開発と小児アレルギー・リスク評価への応用—尿中2-エチル-1-ヘキサノールの分析方法と測定事例—」
- 6) T. Tsuboi, T. Kawai, A. Araki, Y. Ait Bamai and R. Kishi: Environment and Health - Bridging South, North, East and West Conference of ISEE, ISES and ISIAQ. Basel, Switzerland (2013.08.19-23)
“Simultaneous analysis of phthalate and organophosphate triesters' metabolites in urine -Exposure assessment to plasticizer and flame retardants”
- 7) T. Kawai, T. Tsuboi, A. Araki, Y. Ait Bamai, S. Tajima, S. Cong and R. Kishi: Environment and Health - Bridging South, North, East and West Conference of ISEE, ISES and ISIAQ. Basel, Switzerland (2013.08.19-23)
“Biological monitoring of environments exposure to DEHP by urine analysis for 2-Ethyl-1-hexanol”
- 8) 坪井樹、河合俊夫、荒木敦子、アイツバマイゆふ、岸玲子：第83回日本衛生学会学術総会、金沢(2013.03.24-26)
「フタル酸エステル尿中代謝物の同時測定方法の開発：可塑剤、難燃剤の小児の健康影響1」
- 9) 河合俊夫、坪井樹、荒木敦子、アイツバマイゆふ、岸玲子：第83回日本衛生学会学術総会、金沢（2013.03.24-26）
「フタル酸ジエステル類評価としての無水フタル酸：可塑剤、難燃剤の小児への健康影響2」
- 10) 河合俊夫、坪井樹、荒木敦子、アイツバマイゆふ、岸玲子：第86回日本産業衛生学会、松山（2013.05.14-17）

「GC / MSによるヒトの尿中2-エチルヘキサノールの定量フタル酸ジエステル類評価としての無水フタル酸可塑剤・難燃剤曝露と小児の健康影響」

(3) 出願特許

特に記載すべき事項はない。

(4) シンポジウム、セミナー等の開催（主催のもの）

特に記載すべき事項はない。

(5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

(6) その他

特に記載すべき事項はない。

8. 引用文献

1) Schmid P, Schlatter Ch: Xenobiotica, 15, 251-256 (1985)

“Excretion and metabolism of di (2-ethylhexyl)-phthalate in man.”

(2) 学童を対象とした可塑剤・難燃剤曝露による小児アレルギーのリスク評価

北海道大学環境健康科学研究教育センター

岸 玲子、荒木 敦子、多島 秀司、

安住 薫（平成23-24年度）

〈研究協力者〉アイツバマイゆふ、叢石

平成23～25年度累計予算額：74,161千円（うち、平成25年度予算額：22,017千円）

予算額は、間接経費を含む。

[要旨]

これまでに、可塑剤として広く使用されるフタル酸エステル類とアレルギーの関連が報告されているが、疫学研究は不足している。また、難燃性可塑剤として用いられるリン酸トリエステル類の曝露影響に関する科学的なデータはほとんどない。そこで、本研究では学童を対象とした疫学研究で自宅のダストと尿中のフタル酸エステル類・リン系難燃剤濃度とアレルギーとの関連について明らかにすることを目的とした。具体的には、①札幌市小学校に通う児童から収集保存済みのサンプルを用いて、ダスト中フタル酸エステル類・リン系難燃剤濃度の分析、尿からの代謝物濃度の分析を実施し、ダスト中濃度と住環境、およびダスト中濃度・尿中代謝物濃度とISAAC調査票を用いたアレルギーとの関連を解析した。②北海道で実施している2万人規模の大規模出生コホート登録者のうち7歳になる児童を対象に、自宅のダストと尿を収集し、ダスト中フタル酸エステル類・リン系難燃剤濃度および尿中フタル酸エステル類代謝物・リン系難燃剤代謝物を分析し、アレルギーとの関連を解析した。

この結果、フタル酸エステル類のうち最も多く使用されているDEHPのダスト中濃度および尿中代謝物濃度は諸外国と比較して日本では同程度から高めであることが明らかになった。また、ダスト中DEHPやDnBP濃度が高いと学童や居住者のアレルギー症状のうち鼻結膜炎のリスクを有意にあげ、その関係は大人よりも子どもの方が大きかった。ダスト中DEHPやDiBP濃度は室内の内装材としてPVCやフローリングを利用していると有意に高いことが明らかとなった。尿中代謝物濃度は大人よりも学童や幼児の方が高かったが、アレルギーとの関連はなかった。ダスト中リン系難燃剤濃度は諸外国と比較して日本の方が高く、TDCPP濃度が高いことが学童および居住者のアトピー性皮膚炎のリスクを有意にあげた。

[キーワード]

フタル酸エステル類、リン系難燃剤、ダスト、尿、学童

1. はじめに

第二次大戦後、合成化学物質の生産量は1959年の年間700万トンから2000年には2.5億トンと、飛躍的に増大した。この結果、これまでは環境中に全く存在しなかった化学物質が環境中に放出されるとともに、それらの曝露による健康への影響が懸念されるようになった。特に、近年増加

している小児のアレルギー増加の原因の一つとして、環境中の化学物質曝露の影響が懸念されている。そこで、本研究では工業的に生産量が近年著しく増加していて、かつ動物実験で感作性を有するとされる化学物質の中で、フタル酸エステル類やリン酸トリエステル類について注目した。

フタル酸エステル類はポリ塩化ビニル（PVC）の可塑剤として広く使用されてきた。このうちDEHPは内分泌かく乱物質としての生殖毒性などの影響が問題となり、日本でも経口摂取される油性食品に接触する器具・容器包装等、あるいは玩具などに関してはある程度の規制が行われた。しかし多くの建築資材、内装材、家庭用電化製品等にはこれら可塑剤が含まれているが規制は未だなされていない。動物実験では、マウスにおけるIgEまたはIgG1増加¹⁻³⁾など、アレルゲンへの感作におけるフタル酸エステル類のアジュバント効果が報告されている。海外では、住宅内のプラスチック系内装材の使用、あるいは室内ダスト中フタル酸エステル類濃度と児童の気管支症状、喘鳴、喘息との関連が報告され⁴⁻⁹⁾、近年増加しているアレルギー症状の誘発と室内における可塑剤曝露との関連性が疑われている。しかし、世界的に見ても疫学研究とその基盤となる基礎研究は不足しており、早急に着手すべきことがWHO・IARC（国際がん研究機構）会議などで、喫緊の課題として要請されている（IARC-NIOSH：米国産業安全衛生研究所ジョイントミーティング、2009）。また、DEHPやDnBPの使用は最近、やや減少してきているが、その代替としてDiBP、DiNPが使用されているDEHPの分解物である2-Etylhexanol（2EH）はシックビルディング症候群の原因になりうるということが報告されているが¹⁰⁾、2EHの室内環境濃度の指針値は未だ設定されておらず、室内および環境汚染に関しては放置されているのが現状である。

一方、難燃性可塑剤としては、わが国では従来からリン酸トリエステル類が主に用いられてきた。世界的にはこれまで臭素系難燃剤が主に使われてきたが、POPs（Persistent Organic Pollutants）条約による規制がかかり、最近はリン酸トリエステル類に移ってきている。しかし世界的にはリン酸系難燃剤の曝露影響に関する科学的なデータが未だほとんどないのが現状である。

このようにフタル酸エステル類およびリン酸系難燃剤の環境曝露影響が懸念されているが、個人の曝露評価としては室内濃度のみならず尿中代謝物量による評価系の確立が重要である。家庭環境のみならず、学校や公共施設など移動中も含めた1日の個人の総取込み量の指標として尿など生体試料を用いた代謝物濃度の測定からの曝露量推定は、子どもで大人より有意に高く¹¹⁾、また妊婦の曝露量は先進国（ドイツ、ノルウェー、米国）の方が新興国（中国、ペルー）よりも多い可能性が示唆された¹²⁻¹⁴⁾。しかし、日本のデータはない。さらにリン酸トリエステル類については世界的に見ても尿中代謝物として4化合物を分析したという報告があるのみで^{15, 16)}、疫学的な健康リスク評価の報告は内外で未だ全く行われていない。

2. 研究開発目的

学童を対象とした疫学研究で曝露とアレルギー症状へのリスクに関して明らかにすることを目的とする。

3. 研究開発方法

（1）札幌市小学生を対象にしたアレルギーと自宅環境調査

平成20年から22年度に厚生労働科学研究 健康安全・危機管理対策総合研究事業「シックハウス症候群の原因解明のための全国規模の疫学研究-化学物質及び真菌・ダニ等による健康影響の評価と対策-」として収集済みのサンプル検体を用いて、ダスト中フタル酸エステル類・リン系難燃剤、尿中フタル酸エステル類代謝物濃度の分析とアレルギー症状との解析を実施した。

1) 収集済みの調査データおよびサンプル検体について

札幌市公立小学校 12校の学童128軒の訪問を実施し、2カ所に分けて採取したダスト（居間の床全面（以後、床ダスト）と床より上の棚、調度品、テレビセット、オーディオ機器、ドア枠、照明機器などの上に堆積したダスト（以後、棚ダスト））および家族全員の尿を-20℃で保存してあった。

2) ダスト中フタル酸エステル類・リン系難燃剤と住環境との関連の解析

ハウスダストは、紙のダストバック(Nichinichi Pharmaceutical Co., Ltd., Mie, Japan)を取付けた同じハンディークリーナー(National HC-V15, Matsushita Electric Works, Ltd., Osaka, Japan; 145W)を用いて住居の居間を2カ所に分けて採取され、分析に不要な毛髪や紙屑、食べ物屑などをその場でピンセットを用いて取り除き、あらかじめアセトンでフタル酸エステルの汚染を除去した共栓付きガラス試験管に入れ、フッ素テープで口を塞ぎ、アルミホイルで包み、分析まで-20℃の冷凍庫で保管してあった。保存ダストにはアセトン1mLを加えて15分超音波抽出後、2,500 rpmで10分遠心分離を行い、上清をGC/MSにてフタル酸エステル7化合物：dimethyl phthalate (DMP)、diethyl phthalate (DEP)、di-n-butyl phthalate (DnBP)、di-iso-butyl phthalate (DiBP)、benzyl butyl phthalate (BBzP)、di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)、di-iso-nonyl phthalate (DINP)、およびリン系難燃剤11化合物：trimethyl phosphate (TMP)、triethyl phosphate (TEP)、tripropyl phosphate (TPP)、tris(2-chloro-iso-propyl) phosphate (TCIP)、tris(2-ethylhexyl)phosphate (TCEP)、tris(butoxyethyl)phosphate (TBEP)、tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCPP)、triphenyl phosphate (TPhP)、triclesyl phosphate (TCP)を測定した。測定済みの床ダストおよび棚ダスト中のフタル酸エステル・リン系難燃剤濃度を用いて住環境との関連を解析した。なお、一部の床ダスト（床ダスト80サンプル）については、厚生労働科学研究で分析済みであった。床ダスト中および棚ダスト中のフタル酸エステル・リン系難燃剤濃度比較は、Wilcoxon matched rank testを用いて行った。ダスト中のフタル酸エステル濃度と連続変数の住環境（築年、床面積、掃除頻度など）との関連は、Spearman's rank correlation testを用いた。ダスト中のフタル酸エステル濃度と2値のカテゴリカル変数の住環境（住居の種類、構造など）との関連はMann-Whitney U test、3値以上のカテゴリカル変数（床材の種類、世帯収入など）はKruskal-Wallis testを用いて解析し、さらに多重比較を行い、Bonferroniで補正した。床材の種類と濃度との関連は、Kruskal-Wallis test で有意であった項目に対して豹変量を調整し、重回帰分析を行った。PVC内装材の数と濃度との関連は、Jonckheere-Terpstra testを用い、さらに多重比較を行った。多重比較の際には、「PVC指数=0」をレファレンスとして「PVC指数=1」、「PVC指数=2」、「PVC指数=3」についてそれぞれ解析を行った。交絡要因はダンプネスの5項目（結露、カビ発生、かび臭さ、風呂場のタオルの乾きにくさ、5年以内の水漏れ経験）を0-5のインデックス化した「ダンプネスインデックス」と世帯収入である。重回帰分析において各フタル酸エステル濃度は最小二乗平均

(Least Square Mean: LSM) で表記した。リン酸トリエステル類については、住居環境とリン酸トリエステル類の関係について、Mann-Whitney U testを行った。ダスト中のフタル酸エステル濃度と連続変数の住環境（築年、室温、掃除頻度など）との関連は、Spearman's rank correlation testを用いた。

3) ダスト中フタル酸エステル類・リン系難燃剤濃度とアレルギーとの関連の解析

床ダストおよび棚ダスト中のフタル酸エステル・リン系難燃剤濃度を用いてアレルギーとの関連を解析した。アレルギーについては世界的に用いられるISAAC (The International Study of Asthma and Allergy in Childhood) 調査票を用いて過去1年以内に以下の質問項目いずれにも「はい」と回答した場合をそれぞれ喘息・アレルギー性鼻結膜炎、アトピー性皮膚炎ありと定義した^{17, 18)}。

喘息

① 最近12か月間に、胸がゼーゼー、またはヒューヒューといったことがある

鼻結膜炎：

② 最近12か月間にかぜやインフルエンザにかかっていないときに、くしゃみ、鼻水、鼻づまりで困ったことがある

③ 最近12か月間に、これらの鼻症状に伴って目がかゆくなったり、涙が止まらなくなったりしたことがある

アトピー性皮膚炎

① 今までに6か月間でたり引っ込んだりするかゆみを伴った湿疹で困ったことがある

② 最近12か月間に、そのようなかゆみを伴う湿疹がでたことがある

それらのかゆみを伴った湿疹は次の箇所に起こった（ひじの屈曲面、ひざの裏側、足首の全面、臀部の下面、首や耳や目の周りなど）

ダスト中のフタル酸エステル類、リン酸トリエステル類濃度と児のアレルギー症状との関連は、ロジスティック解析によって濃度が10倍になるごとのオッズ比（95%信頼区間（CI））を求めた。調整因子は、性、学年、ダンプネスインデックス、親のアレルギー歴、世帯年収である。

4) ダストを介したリン酸トリエステル類の摂取量推定

ハウスダスト中のリン系難燃剤濃度を用いて、幼児および小学生が、ハウスダストを介したリン酸トリエステル類の1日の摂取量を以下の計算式を用いて推定した¹⁹⁾。

$$\text{推定摂取量} = \text{ダスト中濃度} \times \text{ダスト摂取量}(\text{mg/day}) / (\text{体重}(\text{kg}) \times 1000)$$

この摂取量とNOWELを基に計算されたReference does（以下RfD）²⁰⁾と比較した。

5) 尿サンプルの分析

児童およびその家族全員のスポット尿を収集し-20℃で保管していた。この保存尿を用いて、個人曝露量評価としてサブテーマ（1）で確立したフタル酸エステル類代謝物8化合物を分析した。

6) 尿中フタル酸エステル類代謝物濃度とアレルギーとの関連

尿中フタル酸代謝物濃度とアレルギー症状との関連は、ロジスティック解析によって濃度が10倍になるごとのオッズ比（95%信頼区間（CI））を求めた。調整因子は、性、学年、親のアレル

ギー既往、世帯年収で調整である。尿中フタル酸代謝物濃度とダスト中フタル酸エステル濃度との関連は、ダスト中濃度と尿中代謝物濃度の両方が揃う126名についてスピアマンの相関で求めた。

全ての統計解析は $p < 0.05$ を統計学的有意差ありとし、統計ソフトはSPSS ver. 19 for Macintosh (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) を使用した。

7) 倫理的配慮

本研究は、北海道大学大学院医学研究科・医学部の医の倫理委員会の承認を得て実施した。調査内容はすべて文書で説明し、調査票の回答をもって同意とみなした。

(2) 北海道スタディ大規模コホートをを用いた研究

「環境と子どもの健康に関する北海道研究（北海道スタディ）」は、平成15年に厚生労働科学研究費補助金・化学物質リスク研究事業として開始した全道規模の出生コホート研究である。北海道内全域の産科37施設で2003年に開始し、2012年12月までに妊婦20,929人が登録している。このうち平成25年12月末までに7歳になった児童5,431名を対象に、7歳調査票を送付してアレルギーに関する調査を、厚生労働科学研究として実施している。

1) 対象者

本研究では、7歳に調査票を送付する際に自宅ダストおよび尿採取への協力可否を問い合わせた。調査票の返送があった3,059名のうち、自宅ダストおよび尿採取に協力しても良いと回答が得られた対象者1,633名（協力率53.3%）にダスト収集用のダストバッグ、尿カップ、住環境に関する調査票を送付、1,211名（回収率74.2%）から回収した（郵送によるサンプルの回収を以下、郵送法と記載）。

さらに、郵送法とは別途に札幌市およびその近郊に居住し、訪問調査に協力しても良いと回答が得られた対象者に、住宅訪問による室内環境調査を実施した。平成24年と25年の各10月から11月にかけて、訪問のアポイントが成立した91軒に訪問調査を実施した。ダストは居間および寝室から床ダストおよび棚ダストを採取した。なお、「床ダスト」「棚ダスト」の定義、および採取方法については（1）の札幌市小学生を対象にした自宅環境調査と同様である（訪問によるサンプルの回収を以下、訪問法と記載）。

2) 調査票

住環境に関する調査票の記載項目は、自宅の種類、構造、築年、1年以内のリフォームの有無、掃除頻度、フローリング床材の有無、ダンプネスの有無（結露、カビ発生、カビ臭、5年以内の水漏れ経験）が含まれる。

なお、児の性別、身長、体重、食物アレルギー、ISAACのアレルギー症状、集団保育歴の有無、兄弟の数、両親のアレルギー歴、両親の喫煙状況、室内喫煙者の有無、世帯収入、ペットの飼育の有無、暖房設備の種類、絨毯敷詰めの有無、強制換気の有無は7歳調査票の回答を使用した。

3) ダストの採取方法

ハウスダストは送付したダスト収集用のダストバックを掃除機に取付けて、各家庭の居間と寝

室で採取するよう依頼した。採取したダストは、ダストバックごとアルミホイルで包み、チャック付きのビニール袋に入れ冷蔵にて返送された。返送されたダストは150 μm の篩を用いてファインダストをふるい分け、フタル酸エステル類・リン系難燃剤測定用には、アセトン洗浄した共栓付ガラス管に分取後、フッ素テープを巻いて密閉し、ダニアレルゲン測定用にはマイクロチューブに分取し、これらのサンプルは全て分析時まで -20°C で保存した。ダスト中のダニアレルゲン量については、ダニ抗原 Der f1、Der p1測定キットを用いてELISA法で分析した（ニチニチ製薬株式会社）。

4) 尿の収集方法

児の朝一番のスポット尿のカップへの採取を保護者に依頼し、冷蔵にて返送された。返送された尿はアセトン洗浄した共栓付ガラス管に分取し、フッ素テープを巻いて密閉後、分析時まで -20°C で保存した。

5) コーホート内症例と対照の抽出

7歳調査票、郵送法にて回収したダスト、尿サンプル、住環境に関する調査票の全てが揃う者の中からISAAC調査票に基づく喘息、アレルギー性鼻結膜炎、アトピー性皮膚炎のいずれかのアレルギーがある児221名をケースとした。これらの症状がいずれも無い児をコントロールとし、男女、出生年、および両親いずれかのアレルギー有無の分布がケースと同じになるようにコントロール児221名を抽出した。コーホート内ケースとコントロール各221人、合計442人のダスト中フタル酸エステル類・リン系難燃剤、尿中代謝物濃度を測定した。

6) ダスト中フタル酸エステル類・リン系難燃剤の測定

ダスト中フタル酸エステル類・リン系難燃剤の分析をサブテーマ（1）で実施した。ダストは25 mg分取してアセトン1mLを加えて15分超音波抽出後、2,500 rpmで10分遠心分離を行い、上清をGC/MSにてフタル酸エステル7化合物：dimethyl phthalate (DMP)、diethyl phthalate (DEP)、di-n-butyl phthalate (DnBP)、di-iso-butyl phthalate (DiBP)、benzyl butyl phthalate (BBzP)、di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)、di-iso-nonyl phthalate (DINP)、およびリン系難燃剤11化合物：trimethyl phosphate (TMP)、triethyl phosphate (TEP)、tripropyl phosphate (TPP)、tris(2-chloro-iso-propyl) phosphate (TCIP)、tris(2-ethylhexyl)phosphate (TCEP)、tris(butoxyethyl)phosphate (TBEP)、tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCPP)、triphenyl phosphate (TPhP)、triclesyl phosphate (TCP)を測定した。なお、ダスト中の測定および前処理には、アセトンで15分超音波洗浄を行ったピンセットやガラス試験管などの機器を用いた。

7) 尿中フタル酸エステル類・リン系難燃剤代謝物の測定

分析はサブテーマ（1）が実施した。

8) 解析

フタル酸エステル類・リン系難燃剤のダスト中濃度および尿中代謝物濃度の検出下限値以下の値は、検出下限値の半値を代入した。アレルギー症状の有無と住居環境の関連は χ^2 検定、ダスト

中フタル酸エステル類およびリン酸トリエステル類濃度とアレルギー症状との関係は、多変量ロジスティック回帰分析を用いて解析した。交絡要因は、ダンプネスの有無、室内喫煙者の有無、ペットの飼育の有無、ダストサンプルの分析年度、世帯収入である。

郵送法と訪問法の調査協力住宅の特徴については、 χ^2 検定、Mann-Whitney U検定を用いて解析した。全ての解析は、SPSS ver.19を用いて、 $P < 0.05$ を統計学的有意性ありとした。

9) 倫理的配慮

本研究は、北海道大学環境健康科学研究教育センター、および北海道大学大学院医学研究科・医学部の医の倫理委員会の承認を得て実施した。調査内容はすべて文書で説明し、調査票の回答をもって同意とみなした。

4. 結果及び考察

(1) 札幌市小学生が居住する住宅環境とダスト中フタル酸エステル類・リン系難燃剤

1) ダスト中フタル酸エステル類濃度の分布

調査した128軒のうち、71.9%がフローリングの床材、88.3%がPVCの壁材、85.9%がPVCの天井材を使用していた。住宅の種類および構造は、一戸建と集合住宅、木造と鉄筋・コンクリートでほぼ同程度であった。

ダスト中フタル酸エステル類濃度の分布を表(2)-1に示す。床ダスト中および棚ダスト中のDEHPはともに最も高濃度に測定された。DEHPとDiNPがともに全ての床ダストサンプルから検出され、続いてDnBP (95.3%)、DiBP (93.0%)、BBzP (68.0%)の順で検出された。棚ダストサンプルでは、DiNPとDiBPが全てのサンプルから検出され、続いてDEHP (99.2%)、DnBP (97.7%)、BBzP (85.2%)の順で検出された。DMPとDEPは床および棚ダストサンプルのどちらからも、半数以上が検出されなかったため本研究の以後の解析からは除外した。床ダストと棚ダスト中のフタル酸エステル濃度との比較では、いずれの化合物においても床ダスト中濃度と比較して棚ダスト中濃度は有意に高濃度であった。この理由としては、①棚ダストは多くの種類のプラスチック製品（電化製品、収納棚、玩具など）や非プラスチック製品でも塗料や接着剤が施された製品などの表面からダストが採取されていること②床ダストに比べ棚ダストは、長期間物質表面に堆積している²¹⁾ため多くのフタル酸エステルが含まれていることが考えられる。したがって、棚ダストのように高い場所より採取されたダスト中のフタル酸エステル濃度は長期間の曝露レベルを示し、床から採取したダストは短期間の曝露レベルを示すことが示唆され、ハウスダスト中の濃度を曝露評価として用いる際には、ダストがどこから採取されたのかということを考慮することが重要であると言える。

表(2)-1 ダスト中フタル酸エステル類濃度の分布 (n=128)

	LOD	Floor						Multi-surface						P ^a	p ^b
		Min	25%	Med	75%	Max	Detection (%)	Min	25%	Med	75%	Max	Detection (%)		
DMP	0.5	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	4.6	5.5	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	4.15	5.47		
DEP	0.5	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	58.7	16.4	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	9.76	11.7		
DiBP	0.5	<LOD	1.5	3.1	6.1	97.4	93	0.6	1.8	2.5	3.6	26.6	100	0.009	0.293**
DnBP	2.0	<LOD	7.5	16.6	32.4	1670	95.3	<LOD	17.2	34	75.2	1380	97.7	<0.001	0.206*
BBzP	1.0	<LOD	<LOD	2	5.4	139	68	<LOD	1.76	3.9	10.5	267	85.2	<0.001	0.263**
DEHP	1.0	213	786	1110	1740	7090	100	<LOD	1140	2290	4460	44000	99.2	<0.001	0.097
DINP	2.0	11.9	66.1	139	276	2100	100	18	99.7	203	443	15500	100	<0.001	0.258**
DEHA	4.0	<LOD	4.6	8	13.6	1100	82.8	<LOD	13.7	25.9	42.2	1670	88.3	<0.001	0.233**

^aSignificant differences between floor and multi-surface dust were analyzed by Wilcoxon matched rank test.

^bSpearman's rank correlation test between floor and multi-surface dust.

*P < 0.05, **P < 0.01.

LOD: Limit of detection; Med: Median.

2) ダスト中のフタル酸エステル類濃度と住環境との関連

住環境と床ダスト中フタル酸エステル類濃度との関連を表(2)-2、棚ダスト中フタル酸エステル類濃度との関係を表(2)-3に示す。床材にフローリングを使用している住居では、床ダスト中のDiBP濃度が他の床材と比較して有意に高く、床材にPVCを使用している住居では、床ダスト中のDEHP濃度が他の床材と比較して有意に高濃度であった。一方で、壁材にPVCを使用している住居では、棚ダスト中のDEHPとDiNP濃度がその他の壁材と比較して有意に高濃度であった。また、一戸建の住居、および木造の住居は、棚ダスト中のDEHP濃度が集合住宅と鉄筋・コンクリートの住居と比較してそれぞれ有意に高かった。DnBPとDEHP濃度は床と棚ダストともに住居の築年と有意な正の相関を示した。住居のダンプネスと健康との関連を検討することを目的として行われたスウェーデンの横断研究では、築年の古い住居より採取したダストのDEHP濃度はより高濃度であったことが報告されている⁴⁾。日本では2000年にDnBP、2001年にDEHPの室内濃度指針値が設定されていることから（国立医薬品食品衛生研究所）、DnBPおよびDEHPの生産量、出荷量はともに減少傾向である。日本可塑剤工業会の年報によると、2008年度のDnBP 出荷量は2,521 トンであるのに対し、2011年度は1,531 トン。2008年度のDEHP出荷量は162,520 トンであるのに対し、2011年度は128,772トンであった。よって、新しい住居と比較し古い住居では、より高濃度のDnBPやDEHP が内装材や家具などに含まれている可能性が示唆された。その他、床面積、室内の平均気温、平均湿度とはいずれも有意な関連は見られなかった。

図(2)-1に床ダスト中の(a)DiBP、(b)DEHP 濃度と床材の種類との多変量回帰分析の結果を示す。床ダスト中のDiBP濃度はフローリングの床が他の床材と比較して有意に高かったが、ダンプネスインデックスと世帯収入で調整後、PVC床とフローリングの床が絨毯およびその他の床と比較して有意に高濃度となった。フローリングは4-5枚の薄い板を接着剤で貼付け、表面には光沢材などが施された住宅内装材である。これらの接着剤や光沢材等にはDiBPが含まれている²²⁾。近年、日本の住居の床材はフローリングが主流となっているため、フローリングからのDiBPの曝露が寄与される。床ダスト中のDEHP濃度は、PVC床が他の床材と比較して有意に高く、それはダンプネスインデックスと世帯収入で調整後も変わらなかった。Bornehagらの研究でもPVCの床およびPVCの天井材を使用している住居でそれぞれ棚ダスト中のDEHP濃度が高かったことが認められている⁴⁾。フタル酸エステルは含まれている製品と化学結合をしておらず、DEHPはPVC製品内部から

滲み出し、そこにダストが付着している場合はダストに吸着して存在する^{23, 24)}。本研究で得られたPVC床と床ダスト中のDEHPとの関連はこれらの研究と一致している。

図(2)-2に棚ダスト中の(a)DEHP、(b) DiNP濃度とPVC内装材の数との関連を示す。「PVC指数=0」と比較して「PVC指数=2」および「PVC指数=3」における棚ダスト中のDEHP濃度は有意に高濃度であった。また、「PVC指数=0」と比較して「PVC指数=2」における棚ダスト中のDiNP濃度は有意に高濃度であった。しかし、これらの関連はダンプネスインデックスと世帯収入で調整後、有意差はなくなった。DiNPはDEHPの代替化合物として用いられているためその用途はDEHP同様PVCの可塑剤である。単回帰分析では棚ダスト中のDEHPおよびDiNP濃度はPVCの壁材、天井材と有意な関連が見られ(表(2)-3)、PVC内装材の数を「PVC指数」としても線型の有意な関連が見られたが、交絡要因を調整後には有意差がなくなったことから、棚ダスト中のDEHPおよびDiNP濃度はダンプネスおよび世帯収入と相互に強く影響していることが示唆された。

諸外国で実施された床または棚ダスト中フタル酸エステル類濃度と本研究との比較を図(2)-3、図(2)-4に示す。床、棚ダスト共に本研究のDEHP濃度は諸外国に比べて同程度か高めである一方、BBzPは低めであった。

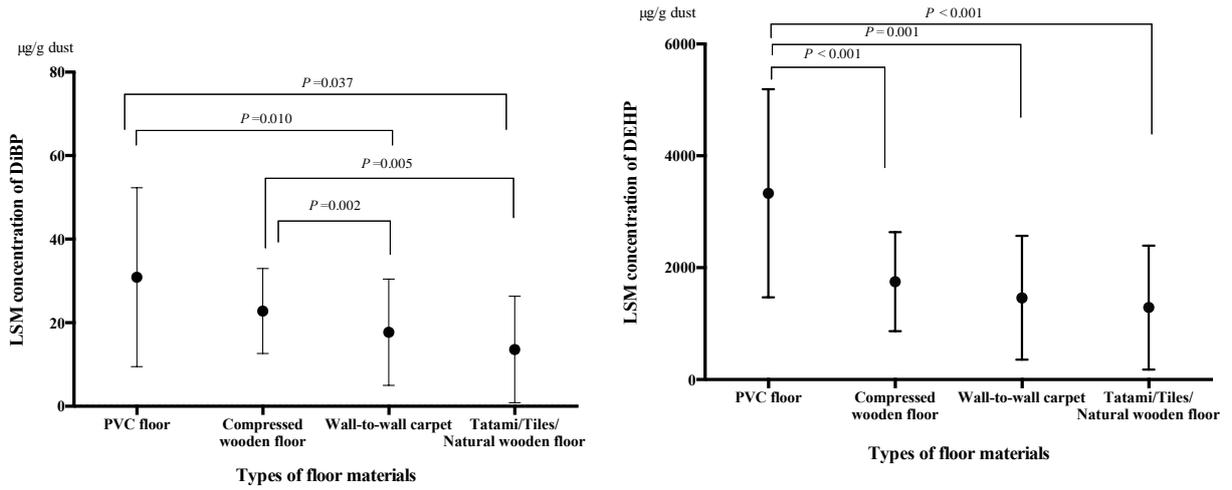
本研究の限界としては、第一に、環境測定は居間で1回しか行われておらず、季節変動などが考慮されていない。しかし、調査は暖房による影響の少ない同じ時期に行われた。第二に、本研究の対象住居は小学生の住む住居に限定されていることである。一般的に、子どものいる住居とそうでない住居では、家具の種類や玩具の数などが異なっている。フタル酸エステルは家具や玩具にも含まれているため、本研究で得られたダスト中フタル酸エステル濃度は、子どものいない住居での濃度とは異なっているかもしれない。第三に、棚ダストは多くの種類の製品の表面から一度に採取されたため、採取表面の種類とフタル酸エステル濃度との関連については検討されていない。今後は、ダストを採取する表面の種類を詳細に収集し、ダスト中濃度との関連を検討する必要があるだろう。第四に、重回帰分析を行うに足る十分なサンプルサイズが確保できなかったことが上げられる。しかしながら、限られたサンプルサイズではあったが、本研究では棚ダスト中のDEHPとDiBP濃度と床材との強い関連を明らかにした。最後に、床材や壁材などの情報は調査員により観察されたものであるため、誤分類の可能性も考えられる。

表(2)-2 床ダスト中のフタル酸エステル類濃度と住環境との関連 ($\mu\text{g/g dust}$; $n = 128$).

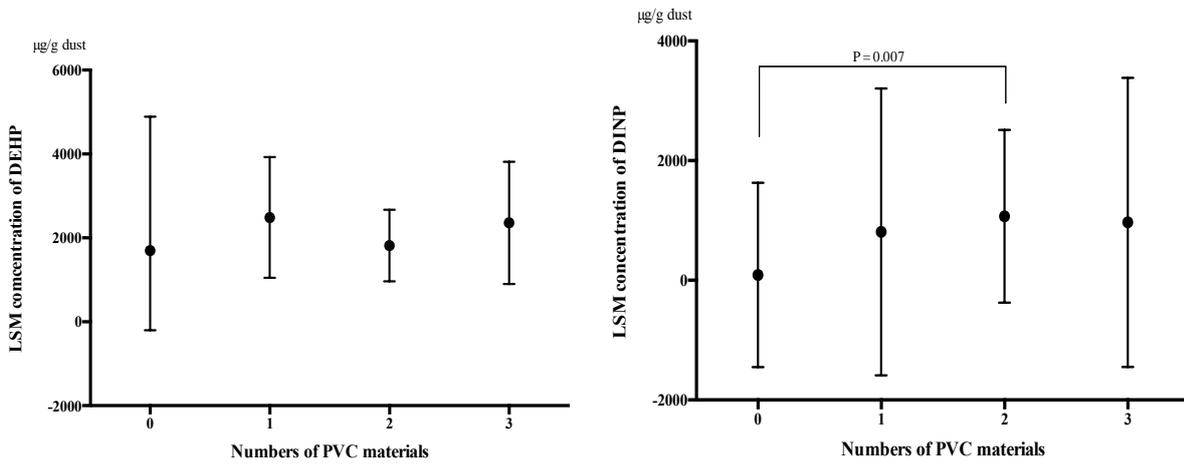
床ダスト	n	DiBP		DnBP		BBzP		DEHP		DINP		DEHA	
		Med. (25%, 75%)	Med. (25%, 75%)	Med. (25%, 75%)	Med. (25%, 75%)	Med. (25%, 75%)	Med. (25%, 75%)	Med. (25%, 75%)	Med. (25%, 75%)	Med. (25%, 75%)	Med. (25%, 75%)		
床材													
PVC 床	11	1.8 (2.5, 6.7)**	9.5 (18.1, 38.1)	0.5 (1.2, 5.1)	2190 (3210, 4530)**	34.2 (139, 286.)	2.0 (4.3, 8.6)						
フローリング	92	3.6 (1.8, 6.4)	14.8 (7.8, 33.3)	1.9 (0.5, 6.2)	1060 (773, 1620)	148 (70.3, 324)	7.8 (4.9, 14.2)						
じゅうたん	11	1.1 (0.6, 1.8)	10.6 (5.1, 25.7)	2.2 (0.5, 5.5)	1120 (805, 1460)	127 (78.0, 188)	11.2 (7.9, 19.2)						
敷詰め	14	2.8 (0.8, 4.3)	28.0 (6.8, 54.1)	1.6 (0.5, 3.2)	916 (472, 1720)	110 (49.8, 271)	8.7 (2.0, 13.8)						
その他													
PVC 壁紙													
なし	15	2.1 (0.8, 4.5)	26.2 (5.9, 65.7)	2.0 (0.5, 4.3)	1180 (883, 1750)	144 (88.5, 381)	7.9 (2.0, 15.4)						
あり	113	3.1 (1.6, 6.1)	15.1 (7.6, 30.9)	1.8 (0.5, 5.7)	1110 (777, 1740)	138 (60.4, 271)	8.1 (4.7, 13.6)						
PVC 天井													
なし	18	3.7 (1.4, 5.9)	29.5 (16.7, 69.3)**	2.0 (0.5, 3.9)	1440 (976, 3720)	142 (90.1, 376.5)	7.9 (2.0, 12.8)						
あり	110	2.9 (1.5, 6.1)	14.4 (6.9, 30.8)	1.8 (0.5, 5.9)	1070 (747, 1660)	137 (64.7, 271)	8.0 (4.6, 13.7)						
PVC内装材の数(床、壁、天井)													
0	11	3.5 (0.9, 5.6)	32.7 (19.6, 65.7)	2.0 (1.2, 3.2)	1040 (883, 1670)	171 (117, 393)	8.0 (2.0, 17.7)						
1	6	1.3 (0.3, 2.7)	15.8 (5.4, 225)	3.4 (0.5, 11.2)	1490 (938, 5050)	82.2 (45.1, 217)	7.1 (2.0, 9.7)						
2	105	3.4 (1.6, 6.2)	14.7 (7.3, 30.9)	1.8 (0.5, 6.0)	1070 (746, 1660)	136 (62.7, 261)	8.3 (4.8, 13.8)						
3	6	2.3 (1.6, 3.6)	20.1 (7.4, 26.9)	2.4 (1.0, 6.7)	2260 (1370, 3210)	229 (53.4, 1090)	4.0 (2.0, 14.0)						
住宅の種類													
一戸建	68	2.5 (1.2, 5.9)	18.2 (7.9, 35.7)	2.3 (0.1, 5.4)	1210 (805, 2040)	137 (69.6, 224)	7.0 (4.3, 12.7)						
集合住宅	60	3.2 (1.9, 6.3)	14.4 (6.8, 32.4)	1.7 (0.5, 6.4)	1060 (727, 1660)	140 (61.1, 403)	8.3 (5.1, 15.2)						
住宅の構造													
木造	59	2.5 (1.2, 5.8)	18.2 (7.9, 37.5)	2.2 (0.5, 5.9)	1210 (802, 2090)	138 (80.6, 219)	6.8 (4.2, 12.6)						
鉄筋・コンクリート	69	3.4 (1.9, 6.6)	14.1 (6.9, 32.2)	1.8 (0.5, 4.9)	1070 (734, 1640)	138 (57.2, 387)	8.4 (5.6, 15.1)						
ダンプネスインデックス (0-5)													
0	17	3.0 (1.6, 6.5)	27.4 (7.4, 42.7)	2.0 (1.2, 5.1)	1060 (582, 1670)	107 (48.9, 401)	8.8 (6.0, 27.4)						
1	22	2.9 (1.9, 6.0)	10.7 (5.7, 23.6)	1.3 (0.5, 6.5)	949 (723, 1200)	115 (53.0, 148)	6.7 (2.0, 11.8)						
2	37	3.1 (1.5, 5.7)	16.1 (7.3, 31.2)	2.0 (0.5, 4.5)	1150 (779, 1990)	189 (88.1, 436)	9.4 (6.1, 15.7)						
3	38	2.0 (1.1, 5.6)	17.9 (7.7, 28.6)	2.0 (0.5, 5.2)	1180 (744, 2060)	148 (60.2, 255)	7.8 (4.7, 10.9)						
4	11	4.3 (1.7, 11.7)	61.6 (7.1, 159)	1.3 (0.5, 9.5)	1610 (871, 2060)	146 (48.4, 277)	6.5 (2.0, 8.6)						
5	3	5.9 (5.6, 11.3)	16.1 (10.1, 21.1)	3.2 (0.5, 6.3)	1440 (663, 3210)	81.4 (22.6, 200)	4.5 (2.0, 44.0)						
世帯収入 (円/年)													
< 300万	6	4.9 (2.0, 5.9)	30.1 (8.5, 126.8)	0.8 (0.5, 4.9)	2500 (979, 3380)	161 (28.1, 1010)	3.1 (2.0, 6.4)						
300万- < 500万	25	2.7 (1.4, 5.7)	14.8 (7.8, 22.8)	0.5 (0.5, 3.7)	1120 (658, 2090)	132 (50.2, 224)	7.8 (2.8, 12.3)						
500万- < 800万	50	3.7 (1.6, 6.2)	18.4 (6.9, 35.0)	1.7 (0.5, 6.0)	1060 (801, 1660)	189 (76.0, 378)	8.9 (6.1, 16.3)						
>= 800万	28	3.7 (1.4, 9.1)	19.8 (8.0, 35.8)	2.7 (0.6, 6.5)	1190 (884, 2060)	129 (83.6, 267)	9.0 (4.4, 17.5)						
不明	19	1.8 (1.4, 2.9)	11.9 (6.7, 61.6)	2.5 (0.5, 6.3)	980 (719, 1570)	121 (83.9, 172)	5.9 (2.0, 9.1)*						
		ρ	ρ	ρ	ρ	ρ	ρ						
築年 (年)		-0.044	0.241**	0.016	0.235**	0.016	0.026						
天井高 (cm)		0.007	-0.112	0.047	-0.155	0.036	0.02						
掃除頻度 (回/週)		0.197*	0.014	-0.027	-0.133	.107	-0.025						

表(2)-3 棚ダスト中のフタル酸エステル類濃度と住環境との関連 ($\mu\text{g/g dust}$; $n = 128$).

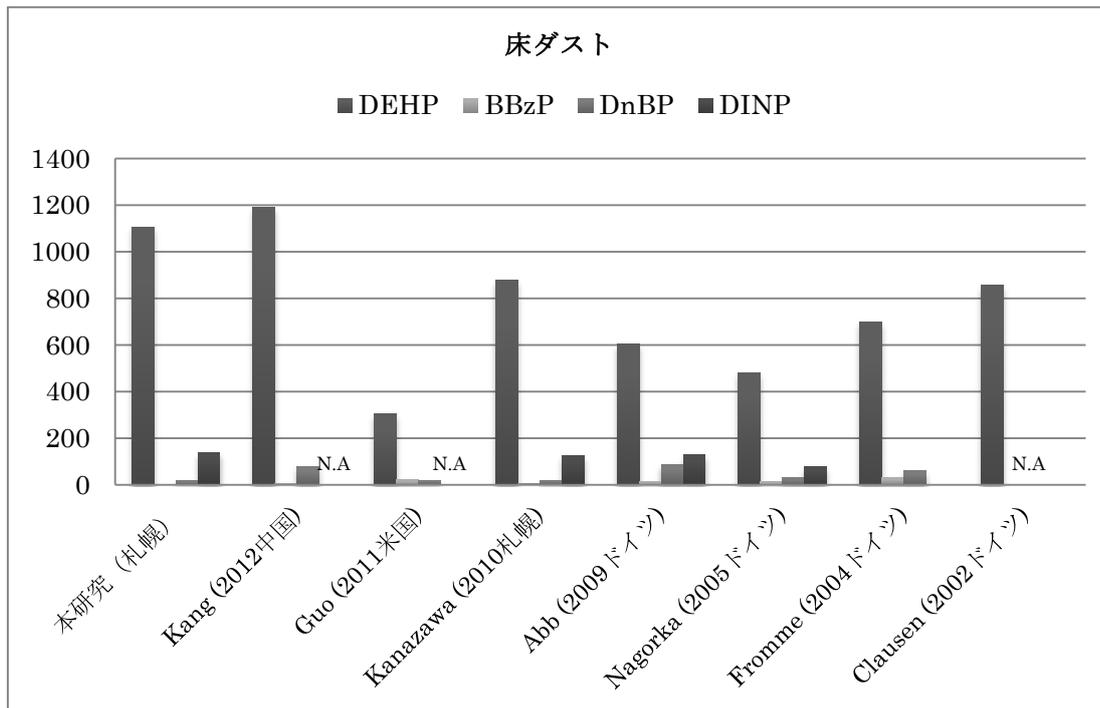
棚ダスト	n	DiBP	DnBP	BBzP	DEHP	DINP	DEHA
		Med.(25%, 75%)	Med.(25%, 75%)	Med.(25%, 75%)	Med. (25%, 75%)	Mec (25%, 75%)	Med (25%, 75%)
床材							
PVC 床	11	2.2 (2.4, 5.9)	29.9 (36.7, 66.6)	0.5 (2.4, 5.1)	1840 (3730, 5030)	72.4 (176, 348)	23.5 (32.6, 41.9)
フローリング	92	2.6 (1.7, 3.6)	29.7 (14.5, 59.1)	3.9 (1.8, 9.7)	2270 (1220, 4170)	228 (120, 543)	24.3 (13.5, 39.4)
じゅうたん敷詰め	11	2.1 (1.6, 4.3)	53.3 (27.2, 229)	10.4 (1.8, 14.8)	2570 (824, 3510)	203 (127, 276)	31.3 (17.8, 51.7)
その他	14	2.5 (1.9, 3.1)	37.0 (19.9, 89.3)	5.7 (1.5, 20.5)	1140 (739, 5950)	105 (72.3, 236)	36.7 (10.9, 192)
PVC 壁紙							
なし	15	2.1 (1.5, 2.5)	76.6 (32.1, 126)	5.1 (1.8, 19.6)	888 (614, 2880)*	117 (76.8, 157)**	26.1 (19.8, 51.7)
あり	113	2.6 (1.8, 3.7)	30 (16.9, 58.2)	3.8 (1.7, 10.0)	2400 (1300, 5030)	241 (105, 522)	25.6 (13.6, 41.7)
PVC 天井							
なし	18	2.2 (1.8, 3.0)	55.7 (32.0, 136)*	5.3 (2.5, 16.0)	1540 (739, 4010)	130 (68.3, 159)**	32.0 (22.8, 49.9)
あり	110	2.6 (1.8, 3.6)	30.0 (16.5, 57.3)	3.8 (1.6, 9.9)	2450 (1250, 5030)	244 (108, 541)	25.5 (13.6, 40.8)
PVC内装材の数 (床、壁、天井)							
0	11	1.9 (1.5, 2.4)	76.6 (23.9, 126)	11.2 (4.2, 23.7)	814 (594, 2280)*	133 (71.5, 157)**	26.1 (19.8, 67.8)
1	6	3.2 (2.2, 5.1)	75.9 (31.5, 174)	2.6 (0.5, 6.6)	2450 (1790, 3040)	122 (91.4, 172)	32.4 (18.9, 44.6)
2	105	2.6 (1.8, 3.7)	31.2 (16.5, 58.2)	3.8 (1.6, 10.3)	2400 (1190, 5030)	241 (105, 542)	26.1 (13.5, 41.7)
3	6	2.3 (2.1, 5.7)	29.9 (20.7, 72.8)	3.2 (1.4, 5.5)	3550 (2260, 5450)	329 (92.9, 592)	25.0 (18.1, 43.7)
住宅の種類							
一戸建	60	2.6 (1.9, 3.8)	34.9 (21.6, 65.0)	3.8 (1.8, 9.6)	2800 (1600, 5570)*	235 (114, 531)	24.5 (13.8, 39.5)
集合住宅	68	2.4 (1.7, 3.6)	32.3 (13.1, 77.8)	4.0 (1.6, 11.0)	1990 (876, 3330)	188 (88.2, 364)	28.3 (13.5, 56.8)
住宅の構造							
木造	59	2.5 (1.8, 3.4)	36.6 (21.5, 66.6)	3.9 (1.8, 10.4)	2640 (1590, 5660)*	163 (83.9, 361)	27.5 (13.4, 47.6)
鉄筋・コンクリート	69	2.5 (1.7, 3.7)	30.0 (13.2, 77.4)	4.1 (1.6, 12.1)	1920 (880, 3460)	252 (129, 544)	24.5 (13.8, 41.5)
ダンプネス							
インデックス (0-5)							
0	17	3.1 (1.8, 3.6)	14.2 (10.8, 31.9)**	3.4 (1.3, 9.3)	1150 (724, 3080)*	204 (77.1, 555)	27.1 (11.0, 56.4)
1	22	2.4 (1.7, 3.1)	29.2 (13.9, 85.9)	4.6 (1.6, 10.9)	1990 (872, 4360)	273 (107, 424)	29.9 (12.5, 50.6)
2	37	2.3 (1.7, 3.1)	33.3 (19.0, 65.7)	3.8 (1.9, 11.1)	2450 (1200, 5150)	161 (125, 364)	24.1 (13.7, 41.3)
3	38	2.6 (1.9, 3.6)	37.0 (19.8, 83.8)	4.3 (1.3, 14.9)	2520 (1700, 5050)	257 (107, 936)	25.6 (13.9, 41.5)
4	11	3.4 (2.6, 7.7)	54.5 (36.7, 414.9)	3.4 (2.1, 4.2)	2280 (1120, 5030)	141 (72.4, 174)	33.3 (24.5, 42.2)
5	3	4.1 (2.9, 5.9)	32.6 (3.6, 100.4)	7.1 (3.4, 9.8)	4180 (1360, 6410)	72.9 (48.6, 89.1)	21.9 (2.0, 37.8)
世帯収入 (円/年)							
< 300万	6	3.6 (2.8, 8.2)	46.4 (28.0, 229)	3.7 (3.1, 10.1)	2830 (1750, 4250)	148 (66.4, 295)	23.2 (2.0, 40.6)
300万- < 500万	25	2.9 (2, 3.6)	27.4 (16.5, 48.5)	3.2 (1.4, 7.5)	2450 (1780, 5490)	203 (122, 340)	23.1 (13.7, 41.7)
500万- < 800万	50	2.5 (1.6, 3.7)	32.2 (15.4, 83.8)	3.8 (1.4, 9.2)	2520 (1190, 6340)	218 (97.0, 565)	27.6 (13.7, 43.2)
>= 800万	28	2.5 (1.9, 3.3)	40.1 (21.2, 94)	4.5 (2.0, 18.5)	1820 (815, 4240)	203 (78.6, 981)	31.1 (13.0, 63.8)
不明	19	2.3 (1.7, 3.2)	29.9 (17.1, 53.3)	3.9 (1.8, 10.6)	1840 (814, 2640)	204 (98.9, 379)	25.5 (18.7, 41.7)
		ρ	ρ	ρ	ρ	ρ	ρ
築年 (年)		0.139	0.460**	0.188*	0.180*	-0.024	0.106
天井高 (cm)		-0.123	-0.201*	-0.153	-0.253**	0.083	-0.093
掃除頻度 (回/週)		0.070	-0.154	0.05	0.069	0.009	-0.014



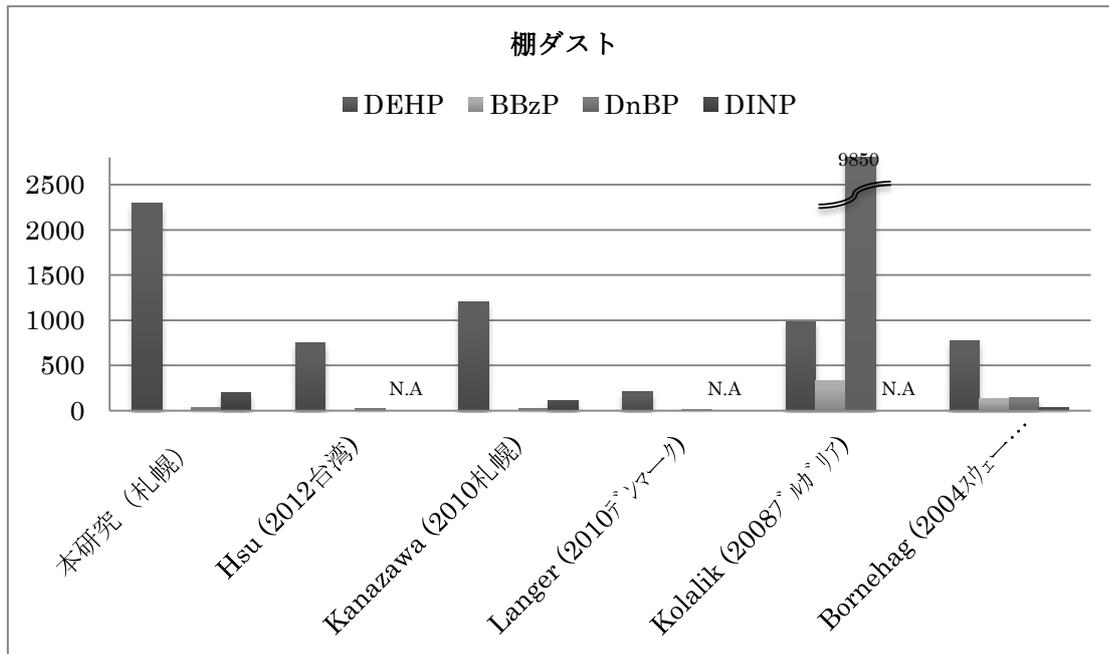
図(2)-1 床ダスト中(a)DiBP、(b)DEHP 濃度と床材の種類との関連



図(2)-2 棚ダスト中(a)DEHP、(b)DiNP濃度とPVC内装材の数との関連



図(2)-3 床ダスト中ダスト中フタル酸エステル類濃度の諸外国との比較



図(2)-4 棚ダスト中ダスト中フタル酸エステル類濃度の諸外国との比較

3) ダスト中のリン系難燃剤濃度と住環境との関連

ダスト中リン酸トリエステル類濃度の分布を表(2)-4に示す。床ダスト中の濃度中央値(検出率)はTBEP 30.9 $\mu\text{g/g}$ (97.9%)、TCIP 0.74 $\mu\text{g/g}$ (62.5%)、TPhP 0.87 $\mu\text{g/g}$ (60.4%)の順で検出された。その他の化合物の検出率は50%以下であった。棚ダストサンプルでは、TBEP 26.6 $\mu\text{g/g}$ (95.3%)、続いてTPhP 3.1 $\mu\text{g/g}$ (94.5%)、TCIP 2.2 $\mu\text{g/g}$ (78.9%)、TBP 0.74 $\mu\text{g/g}$ (69.5%)、TCEP 1.17 $\mu\text{g/g}$ (67.2%)の順で検出された。その他の化合物の検出率は50%以下であった。床ダスト、棚ダストともにTBEPの検出率が最も高かった。TBEPはフローリング床の光沢剤、レベリング剤などに用いられることから、床材は室内におけるTBEPの主要な排出源であると考えられる。床ダストと棚ダストを比較すると、濃度は棚ダストの方が高く、また50%以上検出された化合物も棚ダストのほうが多い。棚ダストは電化製品やプラスチック製の家具など、多様な工業製品から採取した。従って、それらの多様な製品には様々なリン系難燃剤含まれたため、検出率が50%以上になった化合物が増えたものと考えられる。

表(2)-5、表(2)-6に床ダスト、棚ダスト中に含まれるリン酸トリエステル類濃度と住居環境との関連性について示す。床ダストはTBEPと床材がフローリングの場合、機械式換気設備を使用している場合に有意に濃度が高かった。フローリングの床材はTBEPの発生源であるためと考えられる。機械換気により気中濃度が下がると、平衡を保とうとして床材からの排出が促進されるからかもしれない。その他の化合物については、住居環境との間に、有意な関連は認められなかった。一方、掃除頻度が少ない場合はダスト中リン系難燃剤濃度が低かったことから、室内ダストを介したリン系難燃剤曝露の予防策としては、掃除をこまめにするのが有効と考えられる。

棚ダストの場合、TCIPとタイル、たたみ、カーペット等の床材の方が、フローリングの床よりも有意に濃度が高かった。TCIPはカーペットなどに用いられることから、フローリングよりも濃度が高くなったものと考えられる。TCEPについては、フローリング以外の床で有意に濃度が高く、築10年以上の家で有意に濃度が高くなった。TCEPは発がん性が確認され、1990年代以降需要が急速に減り²⁵⁾、築10年以内の住宅で濃度が低くなったものと考えられる。棚ダスト中のTBEP濃度もフローリングの床の方がタイル、たたみ、カーペット等よりも有意に濃度が高く、床材の寄与が大きいことが示された。また、築10年以内の住宅の方が有意に濃度が高く新しい床材からの排出が大きいことが示唆された。

ダスト中リン系難燃剤濃度を諸外国の先行研究と比較したところ(図(2)-5)、TBEPは床ダスト、棚ダストとも諸外国よりも濃度が高いが、その他の化合物については同等であった。

なお、本研究ではこれまでにアレルギーへの影響が知られている気中ホルムアルデヒド・VOC類、微生物由来VOC類、ダスト中エンドトキシン・ β -グルカン・ダニアレルゲン量を測定したが、アレルギー症状との関連は、鼻結膜炎ありの小学生の家の β -グルカン量が有意に低かった以外には、関連はなかった。

表(2)-4 床ダスト中リン系難燃剤の濃度分布

	Floor (n = 48)							Upper surfaces (n = 128)					
	LOD	25%	Med	75%	95%	Max	>LOD (%)	25%	Med	75%	95%	Max	>LOD (%)
TMP	0.51	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.0	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.0
TEP	0.26	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.72	0.1	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.49	0.1
TBP	0.36	<LOD	<LOD	0.41	1.91	2.46	31.3	<LOD	0.74	1.69	6.09	60.64	69.5
TCIP	0.56	<LOD	0.74	1.96	95.40	392.52	62.5	0.82	2.23	4.95	40.37	621.23	78.9
TCEP	0.65	<LOD	<LOD	0.58	17.02	38.83	25.0	<LOD	1.17	2.28	16.07	92.22	67.2
TEHP	0.67	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	1.23	0.1	<LOD	<LOD	<LOD	2.32	8.16	7.8
TBEP	0.61	3.89	30.88	96.18	615.02	936.65	97.9	12.05	26.55	80.85	383.68	1933.24	95.3
TDCPP	0.59	<LOD	<LOD	33.01	563.33	9745.02	39.6	<LOD	<LOD	4.15	26.97	73.08	35.9
TPhP	0.80	<LOD	0.87	1.61	11.09	23.35	60.4	1.95	3.13	5.48	15.99	27.47	94.5
TMPP	4.00	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.0	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.0

LOD: Limit of detection

表(2)-5 住宅特徴と床中ダストリン系難燃剤との関連

Floor dust (n = 48)	n	TCIP			TBEP			TPhP			(μg/g)
		med	(25-75%)	p	med	(25-75%)	p	med	(25-75%)	p	
Building structure											
Wooden	30	0.89	(0.28-2.20)	0.974	46.54	(6.33-194.22)	0.081	0.98	(0.40-1.77)		0.553
Reinforced concrete	18	0.66	(0.28-2.28)		13.00	(2.62-44.85)		0.85	(0.40-1.19)		
Wall materials											
PVC	43	0.84	(0.28-1.96)	0.694	33.17	(6.73-145.91)	0.063	0.87	(0.40-1.43)		0.707
paint (n=2), wood (n=3)	5	0.68	(0.28-4.51)		1.85	(1.67-26.15)		1.64	(0.40-4.51)		
Floor materials											
Wooden floor	41	0.68	(0.28-1.69)	0.249	44.13	(11.29-169.70)	<0.001	0.97	(0.40-1.70)		0.343
Wall-to-wall carpet (n=3) or PVC (n=4)	7	1.94	(0.28-15.00)		1.77	(0.75-3.54)		0.80	(0.40-1.01)		
Carpet use											
Yes	35	0.96	(1.28-3.09)	0.080	26.49	(3.54-62.54)	0.160	0.81	(0.40-1.30)		0.125
No	13	0.56	(0.28-0.93)		49.64	(8.64-301.09)		1.39	(0.64-1.77)		
Age of the building											
≤10	26	0.97	(0.28-3.14)	0.264	48.13	(25.50-215.63)	0.015	0.99	(0.40-1.54)		0.320
>10	22	0.65	(0.28-1.20)		11.29	(2.62-50.89)		0.40	(0.40-1.68)		
Renovation (≤10 years)											
Yes	12	0.89	(0.35-3.63)	0.359	39.60	(2.03-256.49)	0.924	1.09	(0.50-4.53)		0.228
No	36	0.65	(0.28-1.91)		28.03	(4.35-64.32)		0.83	(0.40-1.48)		
Ventilation equipment use											
Yes	26	0.77	(0.28-2.08)	0.958	46.74	(12.17-213.43)	0.018	0.90	(0.40-1.69)		0.949
No	22	0.70	(0.28-2.24)		11.29	(2.12-50.60)		0.87	(0.40-1.49)		
Cleaning frequency/week											
≤3	27	0.84	(0.28-3.10)	0.694	47.01	(6.73-193.48)	0.020	0.87	(0.40-1.43)		0.511
>3	21	0.62	(0.28-1.68)		13.99	(3.07-41.18)		1.01	(0.40-1.75)		
		n	r _s	p		r _s	p		r _s	pe	
Age of the building (y)	48		0.163	0.268		-0.392	0.006		0.175	0.234	
The living room area (m ²)	48		-0.079	0.592		0.267	0.067		-0.112	0.447	
The living room temperature (°C)	48		-0.149	0.314		-0.064	0.664		0.175	0.233	
The living room relative air humidity (%)	48		0.277	0.057		0.113	0.446		-0.002	0.987	

p-values were calculated by Mann-Whitney *U* test

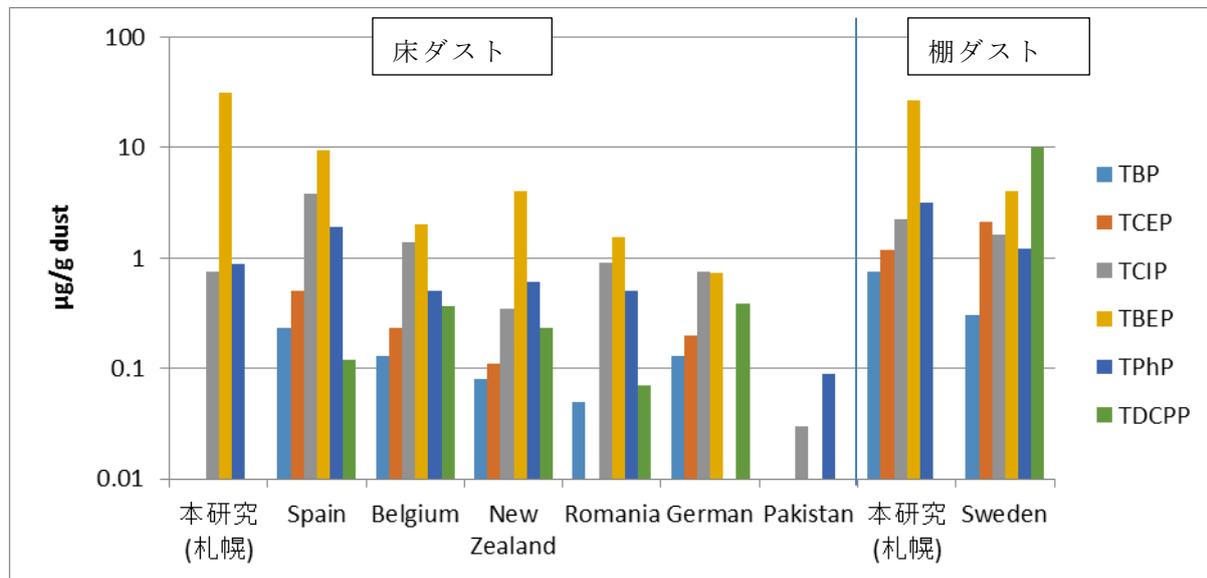
r: Spearman's correlation coefficient

Ventilation equipment no use include; there was no mechanical ventilation systems, had the mechanical ventilation systems but did not use the systems

表(2)-6 住宅特徴と棚ダスト中リン系難燃剤との関連

	n	TBP			TCIP			TCEP			TBEP			TPhP			($\mu\text{g/g}$)
		Median	25th-75th%ile	p-value	Median	25th-75th%ile	p-value	Median	25th-75th%ile	p-value	Median	(25th-75th%ile)	p-value	Median	25th-75th%ile	p-value	
Multi-surface dust (n = 128)																	
Building structure																	
Wooden	70	0.74	(0.18-1.83)		1.74	(0.70-3.85)		1.19	(0.32-2.15)		41.35	(15.29-145.43)		3.20	(1.90-6.11)		
Reinforced concrete	58	0.75	(0.18-1.63)	0.667	2.58	(1.07-8.43)	0.053	1.08	(0.32-2.43)	0.897	22.88	(8.75-47.91)	0.002	3.04	(1.96-4.96)	0.968	
Wall materials																	
PVC	113	0.73	(0.18-1.59)		2.17	(0.18-1.59)		0.94	(0.32-2.07)		26.92	(11.99-80.14)		3.03	(1.90-5.74)		
Others (paper, wood, etc)	15	1.12	(0.18-2.75)	0.186	2.91	(1.32-6.24)	0.532	1.41	(0.93-7.61)	0.147	25.29	(12.67-119.59)	0.770	3.96	(2.55-5.15)	0.212	
Floor materials																	
Wooden floor	109	0.86	(0.18-1.80)		2.01	(0.72-4.01)		0.93	(0.32-1.95)		34.95	(17.29-99.46)		0.86	(1.93-5.09)		
Others (Tatami, Tiles, etc)	19	0.40	(0.18-1.25)	0.146	5.74	(2.17-12.69)	0.007	1.94	(0.67-7.53)	0.042	6.83	(4.88-12.67)	<0.001	0.40	(2.03-9.88)	0.159	
Carpet use																	
Yes	93	0.84	(0.18-1.77)	0.688	2.29	(0.78-4.63)	0.976	1.26	(0.32-2.41)		26.18	(11.74-80.95)	0.985	3.10	(1.96-5.74)		
No	35	0.72	(0.18-1.64)		1.95	(0.83-3.78)		0.73	(0.32-1.85)	0.139	29.79	(2.01-81.56)		3.48	(1.89-4.90)	0.877	
Age of building																	
≤ 10	64	0.66	(0.18-1.51)	0.210	2.35	(0.83-6.91)	0.377	1.77	(0.73-3.63)	<0.001	16.28	(7.92-38.48)	<0.001	3.72	(2.16-6.12)	0.145	
> 10	64	0.89	(0.18-1.90)		2.20	(0.76-3.78)		0.49	(0.32-1.33)		57.22	(23.26-129.19)		2.75	(1.89-4.88)		
Renovation (≤ 10 years)																	
Yes	28	0.61	(0.18-1.68)	0.414	2.56	(0.91-5.03)	0.819	1.50	(1.02-2.51)	0.320	23.45	(12.01-51.41)	0.346	3.66	(2.34-7.97)	0.058	
No	100	0.84	(0.18-1.70)		2.17	(0.74-4.95)		0.89	(0.32-1.94)		31.11	(12.04-98.55)		2.78	(1.89-4.93)		
Ventilation equipment use																	
Yes	88	0.71	(0.18-1.73)	0.892	2.26	(0.60-6.08)	0.810	0.98	(0.32-2.04)	0.443	34.52	(16.32-101.71)	0.076	3.02	(1.90-6.08)	0.395	
No	40	0.88	(0.18-1.63)		2.20	(1.24-3.87)		1.31	(0.32-2.39)		23.17	(10.78-63.75)		3.45	(2.18-5.24)		
Cleaning frequency/week																	
≤ 3	60	1.00	(0.18-2.24)	0.085	2.48	(1.04-7.76)	0.078	1.40	(0.32-3.03)	0.108	28.93	(15.28-76.06)	0.527	3.11	(2.08-6.14)	0.989	
> 3	61	0.70	(0.18-1.21)		1.81	(0.28-4.10)		0.89	(0.32-1.71)		25.39	(10.16-94.30)		3.45	(1.95-5.31)		
	n	r_s	p-value		r_s	p-value		r_s	p-value		r_s	p-value		r_s	p-value		
Age of the building (y)	128	-0.097	0.275		0.115	0.198		0.480	<0.001		-0.371	<0.001		0.151	0.090		
The living room area (m^2)	128	0.010	0.914		0.089	0.318		-0.173	0.051		0.116	0.193		-0.065	0.469		
The living room Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	128	0.054	0.542		0.011	0.899		-0.067	0.455		-0.116	0.194		-0.088	0.325		
The living room relative air humidity	128	-0.096	0.282		0.053	0.550		0.025	0.778		0.112	0.210		-0.087	0.328		

p-values were calculated using the Mann-Whitney U test
rs: Spearman's correlation coefficient



図(2)-5 ダスト中リン系難燃剤濃度の諸外国との比較

4) ダストを介したリン系難燃剤の摂取量推定

ダストを介したリン酸トリエステル類の摂取量推定の結果を表(2)-7に示す。日本では、諸外国に比べリン酸トリエステル類の濃度は高い傾向にある²⁶⁾。本研究においても、TBEPは諸外国に比べ3~40倍程度高かった。しかし、推定したダストを介したTBEP摂取量はRfDに比べると少なか

った。RfDはNOAELを基に計算される値で、一日耐用摂取量にほぼ等しい値である。一方、RfDを計算したAliらは、文献値による毒性に関するデータが古いため見直しが必要と指摘している²⁰⁾。本研究でも、RfD以下の濃度であるにもかかわらずダスト中TDCPP濃度が高いことがアトピー性皮膚炎のリスクを有意に上げたことから、今後もリン系難燃剤による健康影響への調査研究が必要である

表(2)-7 ダストを介したリン系難燃剤の指定摂取量と一日耐用摂取量（RfD）との比較

PFRs	RfD ng (kg/bw/day)	Floor dust				Upper surface dust			
		Toddler		Children		Toddler		Children	
		Med	95th	Med	95th	Med	95th	Med	95th
TBP	24000	0.61	6.42	0.09	0.91	2.49	20.46	0.35	2.89
TCIP	80000	2.48	320.78	0.35	45.27	7.48	135.74	1.06	19.16
TCEP	22000	1.09	57.23	0.15	8.08	3.93	54.02	0.56	7.62
TBEP	15000	103.84	2068.06	14.65	291.87	89.28	1290.18	12.6	182.08
TPhP	70000	2.98	37.27	0.41	5.26	10.51	53.75	1.48	7.59
TDCPP	15000	0.98	1894.27	0.14	267.34	0.94	90.7	0.03	12.8

5) ダスト中フタル酸エステル類・有機リン系難燃剤濃度アレルギーとの関連

自宅環境調査を実施した札幌市小学生128人のうち、ISAAC調査票に基づく喘息、アレルギー性鼻結膜炎（以下鼻結膜炎）、アトピー性皮膚炎（以下皮膚炎）の有病者数はそれぞれ29人（22.7%）、48人（37.5%）、39人（30.5%）だった。対象児のアレルギー症状とダスト中のフタル酸エステル濃度との関連を表(2)-8に示す。床ダスト中のDnBP, DEHP濃度が高いとアレルギー性鼻結膜炎のオッズ比が高く、性別、学年、ダンプネスインデックス、世帯収入と親のアレルギー歴で調整後も有意な関連を示した（OR, 95%CI; DnBP: 2.12, 1.04-4.34; DEHP: 8.18, 1.92-34.73）。棚ダスト中フタル酸エステル濃度とアレルギー症状との間に有意な関連は見られなかった。また、床ダストと棚ダストの濃度を足し合わせた、フタル酸エステルの各濃度とアレルギー症状との間には有意な関連は見られなかった。過去に我々が実施した戸建住宅の調査でも、ダスト中のDEHP濃度が高いことがアレルギー性結膜炎のリスクを、DMP濃度が高いことがアレルギー性鼻炎のリスクをあげた²⁷⁾。また、床ダスト中のフタル酸エステル類濃度は大人よりも子供に於いてアレルギー症状との強い関係が認められた²⁷⁾。子どもは大人よりもhand-to-mouthなどの行動の特徴から、環境化学物質を曝露する機会が多く、また、体重に対する体表面積が大きいことから曝露による影響も受けやすいと考えられる²⁸⁾。

対象児のアレルギー症状有訴とリン系難燃剤濃度との関係について、検出率が30%以上の化合物を対象にロジスティック回帰分析を行った結果を示す（表(2)-9）。性、学年、両親のアレルギー既往、ダンプネスインデックス、世帯収入、両親のアレルギー既往で調整後も、棚のダスト中TDCPP濃度が高いと調整後も有意にアトピー性皮膚炎のオッズ比が高かった（OR, 95%CI: 2.45, 1.06-5.64）。過去に我々が実施した戸建住宅の調査でも、ダスト中のTDCPP濃度が高いことがアトピー性皮膚炎のリスクを有意にあげた²⁹⁾。また、TDCPPは動物実験で皮膚の発赤や刺激症状を示したことが報告されている³⁰⁾。TDCPPは検出率が32.8%と低いことから、症状へのリスクに

については、現在進めているコーホート研究の7歳児を対象とした調査により、更なる検討が必要と考える。

表(2)-8 ダスト中フタル酸エステル類とアレルギーとの関連

	喘息 (n=29)		アレルギー性鼻・結膜炎 (n=48)			アトピー性皮膚炎 (n=39)	
	aOR	(95% CI)	aOR	(95% CI)		aOR	(95% CI)
床ダスト							
DiBP	0.98	(0.43 - 2.25)	1.32	(0.64 - 2.73)		1.75	(0.81 - 3.79)
DnBP	2.44	(0.96 - 6.23)	2.12	(1.04 - 4.34)	*	1.10	(0.53 - 2.30)
BBzP	1.62	(0.76 - 3.44)	0.98	(0.52 - 1.85)		0.81	(0.40 - 1.66)
DEHP	2.02	(0.42 - 9.78)	8.18	(1.92 - 34.7)	**	2.04	(0.49 - 8.58)
DINP	0.89	(0.29 - 2.73)	0.82	(0.34 - 1.99)		0.41	(0.15 - 1.12)
棚ダスト							
DiBP	2.68	(0.52 - 13.9)	2.58	(0.62 - 10.7)		0.48	(0.10 - 2.35)
DnBP	2.07	(0.90 - 4.78)	0.92	(0.47 - 1.81)		0.66	(0.31 - 1.41)
BBzP	0.70	(0.34 - 1.44)	0.77	(0.42 - 1.40)		1.23	(0.64 - 2.38)
DEHP	1.00	(0.53 - 1.87)	0.81	(0.45 - 1.46)		0.71	(0.37 - 1.37)
DINP	1.12	(0.50 - 2.54)	1.49	(0.74 - 2.96)		0.90	(0.43 - 1.89)

フタル酸エステル類濃度を対数変換後、ロジスティック回帰分析
aOR: adjusted OR 性別、学年、ダンプネスインデックス、世帯収入、両親のアレルギー歴で調整

*: p<0.05, **: p<0.01,

表(2)-9 ダスト中有機リン系難燃剤とアレルギーとの関連

	喘息 (n=29)		アレルギー性鼻・結膜炎 (n=48)			アトピー性皮膚炎 (n=39)	
	aOR	(95% CI)	aOR	(95% CI)		aOR	(95% CI)
床ダスト							
TCEP	1.55	(0.59 - 4.12)	1.58	(0.64 - 2.73)		2.27	(0.91 - 5.65)
TCIP	0.64	(0.22 - 1.87)	0.89	(0.40 - 1.97)		1.03	(0.41 - 2.61)
TBEP	0.65	(0.36 - 1.16)	0.80	(0.50 - 1.28)		1.18	(0.71 - 2.38)
棚ダスト							
TPP	0.89	(0.24 - 3.36)	1.00	(0.34 - 2.90)		0.35	(0.09 - 1.39)
TBP	0.41	(0.10 - 1.64)	1.28	(0.50 - 2.94)		0.49	(0.15 - 1.56)
TCIP	1.05	(0.48 - 2.30)	0.68	(0.36 - 1.23)		0.90	(0.45 - 1.79)
TCEP	0.98	(0.40 - 2.41)	1.20	(0.59 - 2.43)		1.09	(0.48 - 2.47)
TBEP	0.48	(0.23 - 1.01)	1.03	(0.58 - 1.83)		0.63	(0.33 - 1.20)
TDCPP	0.69	(0.26 - 1.85)	1.08	(0.53 - 2.18)		2.45	(1.06 - 5.64)
TPhP	1.06	(0.34 - 3.33)	0.98	(0.38 - 2.56)		0.46	(0.16 - 1.37)

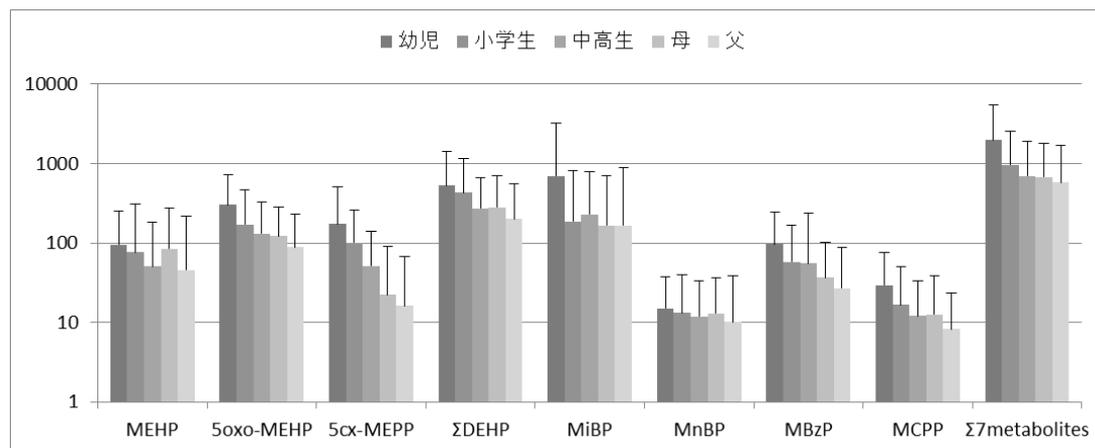
リン酸トリエステル類の各濃度を対数変換後、ロジスティック回帰分析

aOR: adjusted OR 性別、学年、ダンプネスインデックス、世帯収入、両親のアレルギー歴で調整

6) 調査対象家族全員の尿中フタル酸代謝物濃度分布

学童及びその家族から採取した尿中代謝物のうち、もっとも多く検出されたのは5ox-MEPP (98.8%)で、中央値166.7 nmol/L、以下MiBP(95.5%;225.8 nmol/L)、MEHP(80.2%;83.1 nmol/L)、

MBzP (77.2%;56.4 nmol/L) 5cx-MEPP (75.1%;713 nmol/L) だった。クレアチニン補正後は、5oxo-MEHPとMEHP、5oxo-MEHPと5cx-MEPPは有意に相関していた(相関係数はそれぞれ $r=0.297$ 、 0.551)。年齢グループ別の尿中代謝物濃度中央値(クレアチニン補正)を図(2)-6に示す。いずれの代謝物も年齢が小さいグループほど濃度が高かった。尿中代謝物は24時間曝露として家庭以外の曝露についても取り込んでいる。一方、代謝活性の年齢差や同じ室内環境でも幼い子どもの方が床など汚染源に近いところで遊ぶ可能性などが考えられる。小学生や幼児の濃度が高い理由をさらに検討する必要がある。



図(2)-6 年齢グループ別の尿中代謝物濃度

7) 学童の尿中フタル酸代謝物濃度とアレルギーとの関連

生物学的モニタリングとして、小学生182人の尿中フタル酸エステル類代謝物8化合物を分析した。濃度分布を表(2)-10に示す。最も高頻度かつ高濃度検出されたのは5oxo-MEHPで中央値49.7 $\mu\text{g/L}$ (検出率99.5%)、ついでMiBP44.27 $\mu\text{g/L}$ (96.7%)、5cx-MEPP 35.38 $\mu\text{g/L}$ (92.3%)、MEHP32.2 $\mu\text{g/L}$ (82.4%)、MBzP16.0 $\mu\text{g/L}$ (80.8%)。MCPPとMnBPは検出率が50%未満だったため、以下の解析からは除外した。DEHPの代謝物3化合物のうち、5oxo-MEHPの占める割合が46.6%と最も高く、次いで5cx-MEPPが28.2%、MEHPは最も少なく22.3%だった。DEHP代謝物であるMEHP、5oxo-MEHP、5cx-MEPP濃度とも、学童の尿中フタル酸代謝物濃度は諸外国の類似した研究と比較すると(図(2)-7)、MEHP濃度は韓国と同等、ドイツよりも高かった³¹⁻³⁴⁾。5cx-MEPPおよび5oxo-MEHPがMEHPよりも多く存在したことから、年齢が若い層ではより酸化代謝が起こりやすいことを示唆しており、先行研究¹¹⁾とも一致した結果であった。DEHPは本研究のダスト中濃度が諸外国よりも高いのみならず、尿中DEHP代謝物濃度も高かったことから、実際に室内空気質からの曝露の影響が大きい可能性が示唆された。

表(2)-11に、尿中代謝物濃度とアレルギーとの関連について示す。喘息、アレルギー性鼻結膜炎、アトピー性皮膚炎、およびいずれかのアレルギーとも、尿中代謝物濃度との関連は見られなかった。児の尿中代謝物濃度とアレルギーとの関連は過去に台湾からの研究が2報ある^{6,9)}。Hsuらの研究では、MBzP濃度が高いことが喘息のリスクであったが、喘息が9人とサンプル数も少ないため、結果の解釈には注意を要する。またWangらは、妊娠後期の母の尿中フタル酸代謝物、生

後2歳、5歳の児の尿中代謝物を測定し、各尿サンプル採取時点の曝露と、2歳、5歳時点でのアトピー性皮膚炎との関連を検討した結果、2歳の尿中MBzP濃度と2歳のアトピー性皮膚炎のリスクをあげた。本研究結果とは共に異なる結果であるが、フタル酸エステル曝露によるアレルギーへの影響はダストを介した皮膚や粘膜への刺激作用による影響の方が強いのではないかと示唆された。

表(2)-10 小学生の尿中フタル酸エステル類代謝物濃度の分布

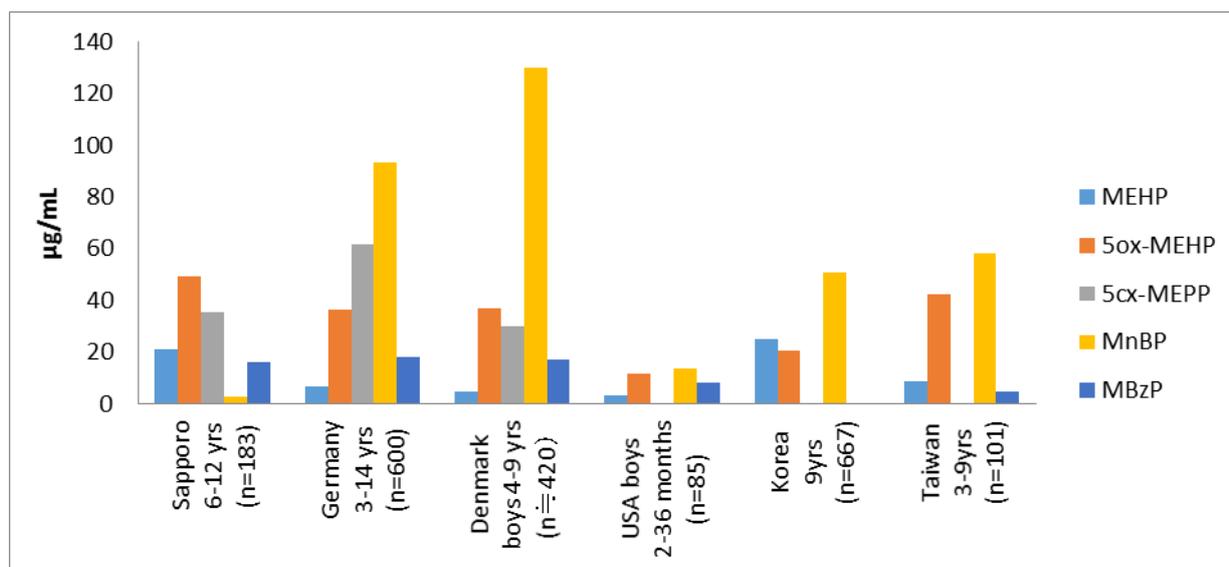
	>LOD(%)	min	25%	50%	75%	max
μg/L						
MiBP	96.7	< LOD	18.80	44.27	162.23	6995.31
MBP	27.5	< LOD	< LOD	< LOD	5.25	24.59
MEHP	82.4	< LOD	6.74	21.23	60.86	522.43
MBzP	80.8	< LOD	7.36	15.99	31.25	1615.72
5oxo-MEHP	99.5	< LOD	33.15	49.73	87.84	3000.41
MCPP	45.6	< LOD	< LOD	< LOD	9.08	69.47
5cx-MEPP	92.3	< LOD	19.64	35.38	54.24	5357.44
2EH	100	17.00	39.00	55.57	85.13	520.16
無水	100	24.41	55.67	75.00	121.00	1961.00
nmol/g.Cr						
MiBP		7.77	80.63	186.36	626.98	59291.45
MBP		4.09	9.14	13.16	27.10	172.71
MEHP		4.27	23.84	77.17	236.41	1739.84
MBzP		4.99	30.09	58.40	112.05	3357.39
5oxoMEHP		9.85	116.69	171.24	295.71	7343.42
MCPP		4.71	10.11	16.46	33.00	197.08
5cxMMHP		5.60	61.95	100.26	159.53	12431.76
ΣDEHP		60.21	245.77	429.08	717.37	21015.54
Σ7 フタル酸		208.53	626.60	961.88	1588.19	60977.33
2EH		97.44	296.21	419.18	647.07	4104.61
無水フタル酸		152.65	408.76	601.94	835.55	10773.57

表(2)-11 尿中フタル酸エステル類代謝物濃度とアレルギーとの関係

	喘息	アレルギー性鼻炎	アトピー性皮膚炎
MEHP	0.88 (0.44-1.75)	0.74 (0.41-1.35)	1.06 (0.48-2.31)
5oxo-MEHP	0.86 (0.21-3.52)	1.17 (0.46-3.00)	2.45 (0.72-8.32)
5cx-MEPP	1.47 (0.47-4.64)	0.87 (0.24-3.08)	1.99 (0.77-5.17)
ΣDEHP	0.81 (0.17-3.78)	0.62 (0.24-1.62)	1.87 (0.52-6.10)
MiBP	0.53 (0.27-1.02)	0.88 (0.53-1.47)	0.61 (0.35-1.08)
MBzP	1.99 (0.86-4.58)	0.82 (0.39-1.70)	1.06 (0.48-2.31)
Σ7phthalates	0.49 (0.15-1.57)	0.62 (0.24-1.62)	0.43 (0.15-1.30)
2EH	1.49 (0.36-6.11)	1.17 (0.33-4.15)	3.04 (0.79-11.68)
無水フタル酸	1.70 (0.27-10.89)	1.77 (0.35-8.90)	0.52 (0.09-2.81)

濃度が10倍になった時のオッズ比(nmol/gCr.)

性、学年、親のアレルギー既往、世帯年収で調整



図(2)-7 尿中代謝物濃度の各国との比較

8) 尿中フタル酸代謝物濃度とダスト中フタル酸エステル濃度との関連

ダスト中濃度と尿中代謝物濃度の両方が揃う126名について、尿中フタル酸代謝物濃度とダスト中フタル酸エステル濃度の相関を表(2)-12に示す。床ダスト中BBzP濃度とその尿中代謝物のMBzP濃度、棚ダスト中DEHP濃度とその尿中の二次代謝物5oxo-MEHP濃度および5cx-MEPP濃度でそれぞれ有意な正の相関が見られた ($\rho = 0.28$, $\rho = 0.18$, $\rho = 0.27$, $P < 0.05$)。BBzPの曝露源として床ダスト、DEHPの曝露源としては棚ダストからの寄与が示唆された。

表(2)-12 ダスト中フタル酸エステル濃度と尿中フタル酸代謝物濃度の相関 (n=126)

Floor				Multi-surface			
Parent phthalates in dust	Metabolites in urine	ρ	<i>P</i> value	Parent phthalates in dust	Metabolites in urine	ρ	<i>P</i> value
DiBP	MiBP	0.04	0.629	DiBP	MiBP	-0.14	0.115
	Σ MBP	0.04	0.668		Σ MBP	-0.15	0.087
DnBP	MnBP	0.04	0.628	DnBP	MnBP	0.01	0.875
	Σ MBP	0.03	0.742		Σ MBP	-0.05	0.546
DBP	MiBP	0.06	0.537	DBP	MiBP	-0.04	0.695
	MnBP	0.04	0.638		MnBP	0.01	0.917
	Σ MBP	0.06	0.500		Σ MBP	-0.06	0.508
BBzP	MBzP	0.28	0.001	BBzP	MBzP	0.15	0.098
	MHEP	0.14	0.130		MHEP	0.06	0.536
DEHP	MEOHP	-0.04	0.638	DEHP	MEOHP	0.18	0.040
	MECPP	0.03	0.715		MECPP	0.27	0.002
	Σ 3DEHP	0.08	0.389		Σ 3DEHP	0.17	0.065

(2) 北海道スタディ大規模コホートをを用いた研究

1) 対象者の特徴およびアレルギーの有無と住宅特徴

ISAACにより定義した喘息・アレルギー性鼻結膜炎、アトピー性皮膚炎のいずれかのアレルギーがある症例（ケース）221人、いずれのアレルギーもない対照（コントロール）221人は両群とも、男児136人（61.5%）、女児85人（38.5%）、両親いずれかアレルギーあり132人（59.7%）、なし89人（40.3%）である。なお、いずれかアレルギーがあるケースの内訳は、喘息74人（33.5%）、アレルギー性鼻結膜炎81人（36.7%）、アトピー性皮膚炎133人（60.2%）だった。

両群を比較した結果、第一子の割合および世帯年収分布に差はなかった。両群の自宅特徴比較を表(2)-13に示す。ケース群では1年以内に自宅のリフォームをした割合が有意に多かった。その他、自宅の種類や構造、強制換気の使用頻度、カビ発生、カビ臭、水漏れ、結露等のダンプネス、ペットの有無、強制換気の使用状況、両親の喫煙、世帯収入には差はなかった。

表(2)-13 アレルギーの有無と住環境との関連

		アレルギーあり (n=221)		アレルギーなし (n=221)		P-value
		(n)	(%)	(n)	(%)	
自宅の種類	戸建	157	71.0	160	72.4	0.416
	集合	64	29.0	61	27.6	
1年以内のリフォーム有無	あり	13	5.9	4	1.8	0.022
	なし	208	94.1	217	98.2	
フローリング	あり	174	78.7	176	79.6	0.453
	なし	47	21.3	45	20.4	
じゅうたん有無	あり	119	53.8	134	60.6	0.089
	なし	102	46.2	87	39.4	
床材	PVC	35	15.8	38	17.2	0.399
	PVC以外	186	84.2	183	82.8	
壁材	PVC	142	64.3	38	17.2	0.311
	PVC以外	79	35.7	183	82.8	
犬ネコハムスター	いる	33	14.9	31	14.0	0.446
	いない	188	85.1	190	86.0	
カビ発生	あり	123	55.7	109	49.3	0.108
	なし	98	44.3	112	50.7	
カビ臭	あり	18	8.1	12	5.4	0.172
	なし	203	91.9	209	94.6	
水漏れ	あり	41	18.6	29	13.1	0.076
	なし	180	81.4	192	86.9	
結露	あり	126	57.0	138	62.4	0.143
	なし	95	43.0	83	37.6	
子どもの前で喫煙者	いる	86	38.9	77	34.8	0.215
	いない	135	61.1	144	65.2	
強制換気使用頻度	24時間使用	105	47.5	102	46.2	0.783
	定期的に毎日	41	18.6	49	22.2	
	部屋に人がいるとき	4	1.8	4	1.8	
	たまに使用しない・ない	25	11.3	26	11.8	
		平均	SD	平均	SD	
築年	(年)	15.2	10.6	14.3	11.2	0.195
掃除頻度	(週回数)	3.5	2.1	3.1	2.1	0.060
窓開けの頻度	(週回数)	3.1	2.8	2.9	2.8	0.748

2) ダスト中フタル酸エステル類・リン系難燃剤・ダニアレルゲンの濃度分布

表(2)-14にダスト中フタル酸エステル類、リン酸トリエステル類の濃度分布を示す。フタル酸エステル類のうち、最も濃度が高かったのはDEHP中央値（検出率）1419 µg/g dust (99.8%)、次いでDiNP 119.63 µg/g dust (100%)、DnBP 41.3 (99.5%)、DiBP 2.94 µg/g dust (79.0%)、BBzP 1.70 µg/g dust (95.2%) であった。DMP、DEP、DEHAは検出率が50%未満だった。リン酸トリエステル類では、TBEP 49.3 µg/g dust (95.9%)、TCIP 0.90 µg/g dust (96.2%)、TCEP 0.75 µg/g dust (84.6%)、TPP 0.36 µg/g dust (82.8%)、TPhP 0.63 µg/g dust (58.4%)、TDCPP 0.48 µg/g dust (59.0%)、その他のTMP、TEP、TBP、TCPはいずれも検出率が50%未満だった。

ダスト中に含まれるダニアレルゲンの濃度分布の結果を表(2)-15に示す。本研究では、ダニアレルゲンとしてDer f1（コナヒョウヒダニ糞体）とDer p1（ヤケヒョウヒダニ糞体）を分析し、Der f1とDer p1の合計をDer1とした。Der f1、Der p1、及びDer1の中央値（検出率）は、それぞれ1.61 µg/g dust (96.1%)、<LOD (35.7%)、2.92 µg/g dust (98.2%)だった。

表(2)-14 ダスト中フタル酸エステル類・リン系難燃剤の濃度分布

	LOD	min	25th	50th	75th	max	検出率(%)
フタル酸エステル類							
DMP	0.28	<LOD	<LOD	<LOD	0.14	37.85	24.4
DEP	0.68	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	16.04	23.5
DiBP	0.31	<LOD	1.27	2.94	6.16	155.11	79.0
DnBP	0.46	<LOD	22.89	41.28	87.04	1080.73	99.5
BBzP	0.15	<LOD	0.78	1.70	5.84	596.08	95.2
DEHP	0.57	<LOD	949.86	1419.28	2000.40	17081.46	99.8
DINP	0.66	2.03	55.45	119.63	243.51	4952.59	100.0
DEHA	0.74	<LOD	<LOD	<LOD	8.53	1670.19	44.3
リン系難燃剤							
TMP	0.40	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	13.37	1.4
TEP	0.13	<LOD	<LOD	<LOD	0.16	15.43	29.0
TPP	0.18	<LOD	0.23	0.36	0.58	11.19	82.8
TBP	0.26	<LOD	<LOD	<LOD	0.58	11.32	42.1
TCIP	0.20	<LOD	0.48	0.90	2.16	114.39	97.5
TCEP	0.25	<LOD	0.36	0.75	2.00	352.76	89.8
TEHP	0.18	<LOD	0.09	0.32	0.54	50.80	83.3
TBEP	0.15	<LOD	17.60	49.30	177.23	8052.59	96.2
TDCPP	0.28	<LOD	<LOD	0.48	1.69	1624.01	69.7
TPhP	0.52	<LOD	<LOD	0.63	1.04	23.69	71.3
TCP	0.23	<LOD	<LOD	<LOD	0.25	28.05	57.9

単位： µ g/g dust

表(2)-15 ダスト中ダニアレルゲン量

	検出率	最小値	25%	中央値	75%	最大値
Der f1	96.1%	<LOD	0.573	1.605	4.452	76.800
Der p1	35.7%	<LOD	<LOD	<LOD	0.458	105.430
Der 1	98.2%	<LOD	0.950	2.685	7.504	108.860

LOD: Limit of Detection; ダニ単位： µg/g dust

3) ダスト中フタル酸エステル類・リン系難燃剤の濃度、ダニアレルゲン量とアレルギー症状との関連

検出率が25%以上の化合物について、ダスト中フタル酸エステル類、リン酸トリエステル類濃度とアレルギーとの関連を表(2)-16に示す。フタル酸エステル類のうち、DiNP濃度が10倍になるとアトピー性皮膚炎濃度を1.86倍、DiBP濃度が10倍になると喘息・アレルギー性鼻結膜炎・アトピー性皮膚炎のいずれかのアレルギーのリスクは1.44倍に有意に上昇した。一方、DEHAは喘息、アトピー性皮膚炎およびいずれかのアレルギーのリスクをむしろ有意に下げた(ダストの分析年、世帯収入、ダンプネス、ペットの有無、喫煙者の有無で調整)。DiNPはDEHPの代替化合物として用いられており、近年その工業生産量、使用量ともに増加傾向である。DiNPはこれまで動物実験ではウサギで浮腫や紅斑が報告されているのみで^{35,36]}、DiNPのダスト中もしくは代謝物濃度とアレルギー症状の関連を検討した疫学研究はない。DiNPの分子量はDEHPのそれよりも大きく、環境中ではそのほとんどがダストに吸着して存在している^{23]}ことから、今後も引き続きアレルギー症状との関係を検討する必要があると考える。

リン酸トリエステル類は、アレルギーとの関連は得られなかった。我々が過去に全国6地域の新築戸建住宅で行った研究では、TBPが高いことが喘息と有意の関係を認め、TCIP、TDCPP濃度が高いことがアトピー性皮膚炎のリスクをあげた^{29]}。また、札幌市小学生の調査でもTDCPPの濃度が高いことがアトピー性皮膚炎のリスクをあげた。しかし、北海道スタディの集団では関連が見られなかった理由の一つとして、ダスト中濃度の方が札幌市小学生の調査や戸建て住宅の調査よりも低かったことが考えられる。

ダニアレルゲンは、喘息、アレルギー性鼻結膜炎、アトピー性皮膚炎、あるいはそのいずれとも有意な関連を示さなかった。

表(2)-16 ダスト中フタル酸エステル類・リン系難燃剤とアレルギーとの関連

	いずれかアレルギー		喘息		鼻結膜炎		アトピー性皮膚炎	
	aOR	(95%CI)	aOR	(95%CI)	aOR	(95%CI)	aOR	(95%CI)
DiBP	1.44	(1.00, 2.08) *	1.21	(0.74, 1.96)	1.33	(0.84, 2.10)	1.35	(0.91, 2.01)
DnBP	0.82	(0.50, 1.35)	0.83	(0.40, 1.69)	0.58	(0.29, 1.16)	0.93	(0.52, 1.69)
BBzP	0.98	(0.70, 1.39)	1.04	(0.65, 1.68)	1.31	(0.82, 2.08)	0.87	(0.58, 1.30)
DEHP	1.27	(0.62, 2.58)	2.30	(0.77, 6.87)	1.33	(0.45, 3.94)	1.33	(0.59, 2.99)
DINP	1.54	(0.96, 2.49) †	1.43	(0.77, 2.66)	1.26	(0.69, 2.32)	1.86	(1.08, 3.22) *
DEHA	0.60	(0.43, 0.84) **	0.62	(0.39, 0.98) *	0.75	(0.51, 1.10)	0.63	(0.43, 0.93) *
TPP	0.62	(0.32, 1.19)	0.60	(0.23, 1.56)	0.65	(0.25, 1.68)	0.88	(0.41, 1.86)
TBP	0.71	(0.42, 1.20)	0.72	(0.35, 1.49)	0.82	(0.42, 1.60)	0.86	(0.48, 1.52)
TCIP	1.06	(0.69, 1.61)	1.20	(0.69, 2.08)	1.18	(0.68, 2.03)	1.05	(0.65, 1.68)
TCEP	0.86	(0.59, 1.25)	0.94	(0.59, 1.51)	0.95	(0.58, 1.56)	0.91	(0.59, 1.41)
TEHP	0.54	(0.30, 1.00) †	0.83	(0.37, 1.86)	0.58	(0.25, 1.38)	0.65	(0.33, 1.28)
TBEP	0.95	(0.72, 1.24)	0.95	(0.65, 1.39)	0.99	(0.67, 1.45)	0.99	(0.73, 1.35)
TDCPP	1.10	(0.79, 1.53)	1.15	(0.77, 1.71)	0.91	(0.57, 1.46)	1.23	(0.84, 1.79)
TPhP	1.31	(0.67, 2.55)	1.50	(0.61, 3.66)	1.21	(0.49, 2.97)	1.58	(0.74, 3.38)
TCP	0.54	(0.29, 1.03) †	0.68	(0.29, 1.62)	0.62	(0.25, 1.53)	0.45	(0.20, 1.01) †

ダスト中濃度を log10 変換後にロジスティック回帰分析
ダンプネス、ペットの有無、喫煙者の有無、分析年、世帯年収で調整

4) ダストの前処理法の違いによる濃度への影響の検討

これまでの先行研究では、採取したダストをふるった後分析する方法や、ふるわずにピンセットで紙屑、食べ物屑などの不要物を取り除いた後分析する方法など、統一性がとられていなかった。そこで、対象児の住宅より採取されたダストの前処理方法を検討した。同じ住居から採取されたダストを二分し、「篩った場合（150 μmの篩でふるう）」と「ふるわない場合（ピンセットを用いて毛髪、紙屑などの不要物を除去）」のダスト中化合物濃度を比較したものを表(2)-17に示す。DnBP、TCIP、TCEP、TBEPは、相関係数が0.8~0.6と、強い相関を示しており(p<0.01)、DEHA、PEHP、BHTは相関係数が0.3-0.5で弱い相関を示した(p<0.05)。また、DEHP、DINPは、150 μmメッシュのふるいで篩ったダストに比べて篩わないダスト中濃度が有意に高く、DiBP、DEHA、TBEPは篩わないダストに比べて篩ったダスト中濃度が有意に高かった。一方、篩うことでダスト粒径が均一化し、分析時の濃度の分散が少なくなる。ダスト中のSVOC濃度を他の研究と比較する際には、ダストの処理法を考慮したうえでディスカッションすることが必要であろう。

表(2)-17 ダストの前処理法の違いによる濃度への影響

	ふるい前 (n=28)					ふるい後 (n=28)					r ^a	p-value ^b
	Min.	25th	Med.	75th	Max	Min.	25th	Med.	75th	Max		
DMP	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.37	1.85	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	6.27	-	-
DEP	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	15.04	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	3.08	-	-
DiBP	1.06	1.64	2.35	6.09	53.35	1.47	3.15	5.39	8.01	37.38	0.363	0.001
DnBP	2.45	24.52	39.52	83.87	460	6.58	25.66	41.01	88.79	437.03	0.820	** 0.149
BBP	<LOQ	0.24	0.73	2.72	43.32	<LOQ	0.42	1.38	3.72	53.92	0.732	** 0.064
DEHP	81.90	1018	1421	2045	6824	452	650	847	1138	3749	0.375	* 0.008
DINP	2.03	26.64	58.87	136	1329	6.16	16.41	28.08	49.37	419	0.135	0.019
DEHA	<LOQ	1.17	6.35	30.84	278	2.00	4.66	8.55	22.27	110.52	0.841	** 0.026
TMP	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.20	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	-	-
TEP	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.23	0.63	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.06	-	-
TPP	<LOQ	0.23	0.41	0.47	1.16	<LOQ	0.28	0.45	0.54	0.83	0.056	0.266
TBP	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	2.96	<LOQ	<LOQ	0.36	0.47	3.60	-	-
TCIP	<LOQ	0.32	0.51	0.96	68.60	0.10	0.26	0.56	1.44	32.02	0.669	** 0.442
TCEP	<LOQ	0.28	0.62	1.52	64.51	<LOQ	<LOQ	0.46	1.20	22.43	0.623	** 0.171
TEHP	<LOQ	0.21	0.35	0.55	1.89	<LOQ	0.23	0.34	0.48	2.85	0.454	* 0.864
TBEP	<LOQ	1.04	14.36	48.84	625	3.49	6.91	16.30	63.96	643	0.709	** 0.003
TDCPP	<LOQ	0.14	<LOQ	1.34	83.94	<LOQ	<LOQ	0.39	1.19	162	-	-
TPhP	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1.61	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.58	1.24	-	-
TCP	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.56	1.14	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.52	0.021	-
4-NP	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.28	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	-	-
BHT	<LOQ	0.67	0.86	1.39	3.45	<LOQ	0.66	1.03	1.27	2.60	0.547	** 0.940
S-421	<LOQ	<LOQ	0.52	0.84	2.77	0.23	0.33	0.43	0.72	4.00	-0.011	0.055

^acorrelations between before sieve and after sieve were calculated by peason's corralation after Log10 transformed. *: p<0.05, **: p<0.01

^bp-values were calculated by paired t-test after log10 tnsfered.

5) 尿中フタル酸エステル類・リン系難燃剤代謝物の濃度分布

表(2)-18に児のリン酸トリエステル類およびフタル酸エステルの尿中代謝物10種類の濃度分布を示す。尿中フタル酸代謝物で最も高濃度に測定されたのは5cx-MEPPで中央値（検出率）は52.4

μg/L (94.3%) であった。ついでMiBP 32.8 μg/L (82.4%)、MEHP 29.0 μg/L (92.1%)、5oxo-MEHP 28.9 μg/L (95.5%)であった。測定されたDEHPの代謝物の和は121 μg/Lであった。児童の尿中フタル酸代謝物濃度とアレルギー症状との関連が報告されている海外の研究^{6,9,37-42]}と本研究の濃度を比較すると、BBzPの代謝物であるMBzPはいずれの研究よりも低濃度であった。また、DEHPの1次代謝物MEHPは本研究の濃度の方が高かったが他の代謝物に関しては一貫した傾向は見られなかった。尿中リン酸代謝物で最も高濃度に測定されたのはBEHP 14.4 μg/L (66.7%)、次いでDBP 12.3 μg/L (61.5%)だった。DPPは検出率が27.6%と最も低かった。

表(2)-18 尿中フタル酸エステル類・リン系難燃剤代謝物

	<MDL%	Min.	25%	Med.	75%	Max
μg/L						
DBP	61.5	<MDL	<MDL	12.3	44.0	428
DPP	27.6	<MDL	<MDL	<MDL	5.2	97
BEHP	66.7	<MDL	<MDL	14.4	33.0	345
MCPP	52.5	<MDL	<MDL	5.0	8.2	67
MBP	88.9	<MDL	6.9	9.4	42.3	335
MiBP	82.4	<MDL	8.7	32.8	74.1	16665
MBzP	41.4	<MDL	<MDL	<MDL	7.7	666
DEHPm		<MDL	76.0	121	214	1420
DEHPm2		<MDL	127	229	456	15311
MEHP	92.1	<MDL	14.9	29.0	53.8	516
5oxo_MEHP	95.5	<MDL	16.5	28.9	49.2	1071
5cx_MEPP	94.3	<MDL	26.0	52.4	110	475
2cx_MMHP	83.5	<MDL	22.8	84.0	222	15070
μg/g Cr.						
DBP		<MDL	2.8	13.2	50.5	994
DPP		<MDL	2.3	3.3	6.2	307
BEHP		<MDL	3.5	14.4	38.0	522
MCPP		<MDL	2.7	5.5	9.8	83
MBP		<MDL	7.3	14.4	46.8	448
MiBP		<MDL	11.2	36.9	77.1	32655
MBzP		<MDL	2.6	4.0	9.2	981
DEHPm		<MDL	78.8	133.3	236.9	2437
DEHPm2		<MDL	130.0	240.5	484.1	19637
MEHP		<MDL	14.9	31.7	68.2	837
5oxo_MEHP		<MDL	19.4	33.2	55.4	1395
5cx_MEPP		<MDL	27.7	56.6	119	927
2cx_MMHP		<MDL	27.2	80.9	248	19328

DEHPm: Sum of the metabolite of DEHP: MEHP+5oxoMEHP+5cxMEHP.

DEHPm2: Sum of the metabolite of DEHP:

MEHP+5oxoMEHP+5cxMEHP+2cxMEHP.

6) 郵送法と訪問法の調査協力住宅の特徴についての検討

郵送法（対象は全道に居住する999軒）訪問法調査（対象は札幌市およびその近郊に居住する91軒）に協力した住宅のそれぞれの特徴を比較した（表(2)-19）。郵送法では、訪問法と比較して有意に戸建住宅、木造住宅が多く、PVCの床材の家が多かった。訪問法を実施した住宅は、PVC壁材が多く、月当たりの掃除頻度も有意に多かった。ダスト中ダニアレルゲン量を比較したところ、訪問法の住宅の方が、Der f1量が有意に多かった。郵送法では、各住居の掃除機を使用して

ダスト収集を依頼しているが、使用した各掃除機の仕事率（ワット数）とダニアレルゲン量に相関はなかった（ダニアレルゲン濃度を対数変換後の掃除機W数とのピアソン相関係数はDer f1、Der p1、Der 1それぞれ $r=0-0.032$ 、 -0.053 、 -0.017 でいずれも $p>0.05$ ）。

一般的に大都市の方が地方よりも集合住宅が多い。従って、訪問法で集合住宅が多く、郵送法で戸建の割合が多かったと考えられる。また、戸建て住宅は一般的に木造であるため、郵送法で木造住宅の割合が多かったといえる。今後、さらに詳しく郵送法と訪問法の調査協力住宅を比較するため、札幌市居住の対象者のみでも比較する予定である。訪問法の方がPVCの壁材が多かったことは、集合住宅の割合が多いこと、また訪問法では調査者がインスペクションしているため、PVCの壁材とその他の壁材の誤分類が少ないことが考えられる。訪問法の方が月当たりの掃除回数が多かった。これは、アレルギーなど健康に問題がある、あるいは自宅環境に関心がある、また時間に余裕があり、こまめに掃除ができる家が調査に参加していることが理由として考えられる。一方、掃除の頻度が多いにもかかわらず、ダスト中のダニアレルゲン量は訪問法の方が多かった。訪問法では調査者がダスト採取を行っているため、より丁寧に隅々までダストを採取したことが理由として考えられる。郵送法では各住居の掃除機を利用してダスト採取を依頼しているが、掃除機の仕事率の差によるダニアレルゲン量への影響はなかったと言える。これら、郵送法と訪問法に協力する住宅の特徴の違い、サンプリング方法の違いを考慮して、結果の解釈を行うことが必要と思われる。

表(2)-19 郵送法と訪問法参加者の住宅特徴の比較

		郵送 (n=999)		訪問調査 (n=91)		P値
		n	%	n	%	
自宅種類	戸建	726	72.7	53	58.2	0.016*
	集合住宅	271	27.2	38	41.8	
	その他	1	0.1	0	0	
自宅構造	木造	755	75.7	57	62.6	0.007*
	コンクリート	231	23.2	34	37.4	
	その他	11	1.1	0	0	
家の所有者	持ち家	716	71.8	71	78.0	0.196
	借り家・社宅	281	28.2	20	22.0	
強制換気	あり	533	64.4	57	62.6	0.744
	なし	295	35.6	34	37.4	
24時間強制換気	あり	319	38.5	37	40.7	0.693
	なし	509	61.5	54	59.3	
カビ発生	あり	504	50.5	50	55.0	0.417
	なし	494	49.5	41	45.0	
カビ臭	あり	66	15.7	6	6.7	0.963
	なし	932	84.3	83	93.3	
水漏れ	あり	156	15.7	14	15.7	0.990
	なし	839	84.3	75	84.3	
結露	あり	594	59.8	53	59.9	0.872
	なし	400	40.2	37	41.1	
芳香剤	あり	420	42.1	42	46.7	0.406
	なし	577	57.9	48	53.3	
防虫剤	あり	316	31.7	28	31.5	0.959
	なし	680	68.2	61	68.5	
殺虫剤	あり	253	25.4	19	20.9	0.329
	なし	742	74.6	72	79.1	
じゅうたん	あり	515	51.8	50	55.0	0.560
	なし	480	48.2	41	45.0	
床材	PVC	153	15.4	7	7.7	0.033*
	PVC以外	842	84.6	84	92.3	
壁材PVC	PVC	611	61.3	81	89.0	<0.001*
	PVC以外	385	38.7	10	11.0	
		中央値	25%-75%	中央値	25%-75%	
掃除頻度 ^a	回数/月	8	4-8	14	8-24	<0.001*
築年 ^a	年数	12	6-20	10.5	6-22.25	0.877

P値はカイ二乗検定を用い、計算した;^aU検定；*p<0.05

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

住居のダスト中フタル酸エステル濃度を室内環境からの曝露評価として測定するために、アレルギー症状との影響を報告しているこれまでの欧州の先行研究では、室内の床よりはむしろ数10cm上のダスト（棚ダスト）が採取されてアウトカムとの検討がなされていた。我が国では室内では靴を脱ぎ床でくつろぐ習慣があるため、床に近いダストからの曝露が大きいことが懸念される。そこで、床から採取したダスト（床ダスト）と棚ダストの両者を測定し、どちらが曝露評価として適切かを検討した。フタル酸エステル類・リン系難燃剤とも、多くの化合物は棚から得られたダスト中濃度の方が高く、また検出率も高かったことから、その採取場所を考慮する必要性が示された。フタル酸エステル類のうち、PVCの内装材に多く含まれるDEHPは、床、壁、天井などPVCの内装材を多く用いているほどダスト中濃度が高かく、接着剤として用いられるDiBP濃度はフローリング材の室内で濃度が高く、床ダスト中フタル酸エステル類の発生源としては床材の寄与が大きいことが示された。

本研究では棚ダストに加え、床からのダスト（床ダスト）も採取したことにより、日本独自の生活様式から懸念される曝露源をふまえたうえで、自宅ダスト中フタル酸エステル類、有機リン酸トリエステル類の曝露評価を行った。床ダスト中のDEHP、DnBP曝露によるアレルギーのリスクの上昇が示唆された。また、DnBP曝露による学童のアレルギー性鼻結膜炎のオッズ比は、札幌市小学生と北海道スタディの二つの異なる集団でほぼ同じだった。

リン系難燃剤のうちTBEPは諸外国と比較して日本の住環境中濃度が高いが、その他の化合物は同等レベルであることが示された。健康との関連の報告はこれまでにほとんどなく、学童を対象としたアレルギー症状との関連を示した報告は本研究が世界的にも初めてである。TDCPP濃度が高いことがアトピー性皮膚炎のリスクをあげる結果が得られた、我々が過去に戸建て住宅を対象に実施した研究と同じ結果が得られた。TDCPPは動物実験で皮膚の発赤や皮膚や粘膜への刺激症状が報告されている物質で、さらなる検討が望まれる。

フタル酸エステル類の曝露源には、住環境以外にも食品、薬品、化粧品などが存在する。本研究では尿中の7代謝物濃度を分析し、個人の総曝露量とした。BBzPはダスト中の濃度と尿中代謝物に相関が得られたことから、ダストの曝露源としての寄与が大きい可能性を示した。代謝物濃度とアレルギー有訴率には有意な関連がなかった。同一家族間のフタル酸エステル類代謝物濃度を初めて示した結果、年齢が低いグループ程濃度が高かった。尿中代謝物は24時間曝露として家庭以外の曝露についても取り込んでいる。一方、代謝活性の年齢差や同じ室内環境でも幼い子どもが床など汚染源に近いところで遊ぶ可能性なども考えられる。小学生や幼児の濃度が高い理由をさらに検討する必要がある。児童のフタル酸エステル類に加えて難燃剤リン酸トリエステル類の尿中代謝物濃度を同時に測定した報告は他にない。

収集したダストを150 μ mで篩う前と後で比較したところ、ほとんどの化合物で中程度以上の相関が得られた ($r=0.375\sim 0.841$) ことから、篩った後のファインダストを曝露評価として用いることが可能であり、収集したダストからの分取や混雑物の除去作業によるばらつきを防ぐためには、ふるいによる分取を行うことが有効であると言える。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

特になし

<行政が活用することが見込まれる成果>

難燃剤・可塑剤による室内汚染が懸念されているが、フタル酸エステル類およびリン系難燃剤による北海道の児童の自宅および日本の新築戸建て住宅の汚染状況について明らかにした。フタル酸エステル類のうち最も使用量が多い DEHP、およびその代替として用いられる DINP のダスト中濃度は日本では諸外国と同程度あるいはむしろ高く、その発生源として PVC の内装材であることが示された。フタル酸エステル類のうち、特に DEHP は経口摂取される油性食品に接触する器具・容器包装等、あるいは玩具などについてはある程度規制が行われたため、経口摂取量は下がっていることが考えられる。しかし、本研究結果で DEHP の代謝物は居住者の尿中および妊婦の血中から検出され、現在も恒常的に曝露されているといえる。またその濃度は諸外国よりも高く日本では曝露量が多い可能性がある。同一家族においては親よりも年齢グループの低い小学生や幼児の方が代謝物濃度が高いことが示され、その理由をさらに検討する必要がある。

フタル酸エステル類曝露によるアレルギー症状への影響として、これまでに海外で DEHP や BBzP と喘息との関連が指摘されてきた。本研究では日本人を対象に初めてフタル酸エステル類とアレルギー症状の関係を検討し、アレルギー性鼻結膜炎との関連を示し、どもを基準にした環境基準設定などの必要性が示された。

尿中代謝物濃度とアレルギーとの関連は得られなかったが、ダスト中濃度が高いことがアレルギーのリスクをあげた。尿中代謝物は経口摂取も含めた総曝露量であるがフタル酸エステル類の尿中代謝物とアレルギー症状との関連は得られなかった。アレルギー症状との関連は尿中代謝物ではなくダスト中濃度と得られたことから、アレルギーに関しては室内環境からの曝露影響が、食品等その他の経路を介して摂取した影響よりも大きい可能性が示された。ただし、生殖や内分泌などの他の生体影響について今回はリスク評価していない。

有機リン酸トリエステル類については、国際的にも我が国でもほとんど疫学的な検討がなされていなかった。リン系難燃剤のうち TDCPP 濃度が高いことがアトピー性皮膚炎のリスクをあげる結果が得られた。札幌市小学生および全国戸建住宅調査という、異なる調査で同様の関係が得られた。学童および幼児の TDCPP 摂取量を推定したところ、許容一日摂取量の 15% 程度とかなり少ないが、今後さらなる調査によって、環境曝露評価、尿中代謝物測定、アウトカムとの関連で十分なデータが得られれば環境政策上意義のある結果が得られるであろう。

本研究では、収集したダストの分析前処理として 150 μ m で篩った前と後で相関が得られたことから、篩った後のファインダストを曝露評価として用いることが可能であり、収集したダストからの分取や混雑物の除去作業によるばらつきを防ぐためには、ふるいによる分取を行うことが有効であるといえる。郵送調査と訪問調査への調査同意においては、訪問調査に応じた家庭の方が月当たりの掃除回数が多かった。環境省「子どもの健康と環境に関する全国調査(エコチル調査)」でも詳細調査における住宅訪問を予定しており、本研究から得られた結果の活用が見込まれる。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文(査読あり)>

- 1) A. Araki, T. Tsuboi, T. Kawai, Y. Ait Bamai, T. Takeda, E. Yoshioka and R. Kishi: J. Environ. Monit, 14, 368-374 (2012)
“Validation of diffusive mini-samplers for aldehyde and VOC and its feasibility for measuring the exposure levels of elementary school children“
- 2) A. Araki, A. Kanazawa, T. Kawai, Y. Eitaki, K. Morimoto, K. Nakayama, E. Shibata, M. Tanaka, T. Takigawa, T. Yoshimura, H. Chikara, Y. Saijo and R. KISHI: Sci. Total Environ, 423, 18-26 (2012)
“The relationship between exposure to microbial volatile organic compound and allergy prevalence in single-family homes”
- 3) S. Ukawa, A. Araki, A. Kanazawa, M. Yuasa and R. Kishi: Int. Arch. Occup. Environ. Health, 86(7), 777-87 (2013)
“The relationship between atopic dermatitis and indoor environmental factors: a cross-sectional study among Japanese elementary school children”
- 4) A. Araki, I. Saito, A. Kanazawa, K. Morimoto, K. Nakayama, E. Shibata, M. Tanaka, T. Takigawa, T. Yoshimura, H. Chikara, Y. Saijo and R. Kishi: Indoor Air, 24, (1):3-15 (2014)
“Phosphorus flame retardants in indoor dust and their relation to asthma and allergies of inhabitants”
- 5) Y. Ait Bamai, A. Araki, T. Kawai, T. Tsuboi, I. Saito, E. Yoshioka, A. Kanazawa, S. Tajima, S. Cong, A. Tamakoshi and R. Kishi: Sci. Total Environ., 468-469, 147-157 (2014)
“Associations of phthalate concentrations in floor dust and multi-surface dust with the interior materials in Japanese dwellings”
- 6) S. Tajima, A. Araki, T. Kawai, T. Tsuboi, Y. Ait Bamai, E. Yoshioka, A. Kanazawa, S. Cong and R. Kishi: Sci. Total Environ., 478, 190-199 (2014)
“Detection and intake assessment of organophosphate flame retardants in house dust in Japanese dwellings”
- 7) S. Cong, A. Araki, S. Ukawa, Y. Ait Bamai, S. Tajima, A. Kanazawa, M. Yuasa, A. Tamakoshi, and R. Kishi: J. Epidemiol, *in press*
“The association between mechanical ventilation, flue use in heaters and asthma symptoms in Japanese schoolchildren - A cross-sectional study in Sapporo, Japan”
- 8) Y. Ait Bamai, E. Shibata, I. Saito, A. Araki, A. Kanazawa, K. Morimoto, K. Nakayama, M. Tanaka, T. Takigawa, T. Yoshimura, H. Chikara, Y. Saijo and R. Kishi: Sci Total Environ., 485-486, 153-163 (2014)

“Exposure to house dust phthalates in relation to asthma and allergies in both children and adults”

<その他誌上発表（査読なし）>

- 1) アイツバマイゆふ、荒木敦子、岸玲子：Endocrine Disrupter News Letter 15(1), 2 (2012)
「研究最前線 室内空气中フタル酸エステル類曝露とアレルギーへの影響」
- 2) 荒木敦子、金澤文子、河合俊夫、永滝陽子、森本兼曩、中山邦夫、柴田英治、田中正敏、瀧川智子、吉村健清、力寿雄、西條泰明、岸玲子：北海道医学雑誌 87(6), 286 (2012)
「Best articles of the year：戸建て住宅における微生物由来揮発性有機化合物曝露と居住者のアレルギーとの関連」
- 3) 鶴川重和、荒木敦子、金澤文子、湯浅資之、岸玲子：北海道医学雑誌 88(2-3):95 (2013)
「Best articles of the year：札幌市の小学生 4,500 名を対象とした住環境とアトピー性皮膚炎に関する調査」
- 4) アイツバマイゆふ、荒木敦子、河合俊夫、坪井樹、斎藤育江、吉岡英治、金澤文子、多島秀司、叢石、玉腰暁子、岸玲子：北海道医学雑誌 88(6):198 (2013)
「Best articles of the year：ハウスダスト中フタル酸エステルと住環境との関連」

(2) 口頭発表（学会等）

- 1) A. Araki, T. Tsuboi, T. Kawai, Y. Ait Bamai, T. Takeda, E. Yoshioka and R. Kishi： 7th International Symposium on Modern Principles of Air Monitoring and Biomonitoring, Loen, Norway (2011)
“Personal Chemical Exposure Measurement of Elementary School Children Using Developed Small Diffusive Samplers “
- 2) A. Araki, T. Takeda, A. Kanazawa, I. Saito, K. Morimoto, K. Nakayama, E. Shibata, M. Tanaka, T. Takigawa, T. Yoshimura, H. Chikara, Y. Saijo and R. Kishi: 23rd Congress of the International Society for Environmental Epidemiology, Barcelona, Spain (2011)
“Organophosphate Triesters in House Dust and its Relation to Allergic Symptoms “
- 3) S. Itoh, S. Kato, M. Yuasa, S. Sasaki, E. Yoshioka, I. Kashino, E. Okada, C. Miyashita and R. Kishi: 23rd Congress of the International Society for Environmental Epidemiology, Barcelona, Spain (2011)
“The effects of PFOS and PROA in maternal serum on maternal and infant thyroid hormones “
- 4) 叢石、荒木敦子、アイツバマイゆふ、竹田智哉、早川敦司、吉岡英治、多島秀司、鶴川重和、岸玲子：第 63 回北海道公衆衛生学会、札幌（2011）
「小学生の住宅におけるハウスダスト中のエンドトキシンならびに β -グルカン量と住宅特徴に関する調査」
- 5) 鶴川重和、荒木敦子、金澤文子、湯浅元之、アイツバマイゆふ、吉岡英治、叢石、多島秀司、岸玲子：第 63 回北海道公衆衛生学会、札幌（2011）
「自宅住環境とアトピー性皮膚炎に関する調査－札幌市の小学生 4500 名を対象として－」
- 6) 荒木敦子、アイツバマイゆふ、坪井樹、河合俊夫、竹田智哉、早川敦司、吉岡英治、多島秀司、叢石、鶴川重和、岸玲子：第 63 回北海道公衆衛生学会、札幌（2011）

- 「自宅空气中化学物質濃度とシックハウス症候群に関する調査研究－札幌市小学生を対象として－」
- 7) R. Kishi, A. Araki, I. Saito, E. Shibata, A. Kanazawa, K. Morimoto, K. Nakayama, M. Tanaka, T. Takigawa, T. Yoshimura, H. Chikara and Y. Saijo: International Commission on Occupational Health 2012, Cancun, Mexico (2012)
- 8) 荒木敦子、アイツバマイゆふ、河合俊夫、坪井樹、竹田智哉、多島秀司、鶴川重和、叢石、吉岡英治、岸玲子：第 82 回日本衛生学会・学術総会、京都（2012）
「札幌市小学生の喘息・鼻結膜炎有訴と自宅環境および気中 VOC・MVOC 濃度」
- 9) 多島秀司、荒木敦子、斎藤郁江、河合俊夫、坪井樹、アイツバマイゆふ、竹田智哉、吉岡英治、鶴川重和、岸玲子：第 82 回日本衛生学会・学術総会、京都（2012）
「小学生のシックハウス症候群の有訴と床ダスト中有機リン酸トリエステル類濃度との関係」
- 10) A. Araki, T. Kawai, T. Tsuboi, Y. Ait Bamai, T. Takeda, E. Yoshioka, S. Tajima, S. Ukawa, S. Cong and R. Kishi: International Society of Exposure Science 22th Annual Meeting, Seattle, USA, 2012
“Determination of Phthalate Metabolites in Urine of Children and Their Family-Exposure Assessment to Plasticizer and Flame Retardants and Their Risk on Children”
- 11) A. Araki, C. Miyashita, T. Ikeno, S. Sasaki, S. Tajima, Y. Ait Bamai, S. Cong, S. Ukawa, T. Kawai, T. Tsuboi, E. Okada and R. Kishi: Birth Cohort Consortium in Asia, BiCCA, 2012
“Research plan for 7 year-old survey of the Hokkaido Study”
- 12) 叢石、荒木敦子、アイツバマイゆふ、竹田智哉、早川敦司、吉岡英治、多島秀司、鶴川重和、玉腰暁子、岸玲子：第 64 回北海道公衆衛生学会(2012)
「小学生の住宅におけるハウスダスト中のエンドトキシンならびに β -グルカン量とアレルギー疾患に関する研究」
- 13) 多島秀司、荒木敦子、坪井樹、河合俊夫、斎藤育江、アイツバマイゆふ、竹田智哉、鶴川重和、吉岡英治、岸玲子：第 64 回北海道公衆衛生学会(2012)
「ハウスダスト中に含まれるリン酸トリエステル類の濃度と住居環境」
- 14) 多島秀司、荒木敦子、坪井樹、河合俊夫、アイツバマイゆふ、吉岡英治、岸玲子：第 92 回北海道医学大会 産業衛生分科会(2012)
「小型携帯サンプラーによる個人を対象とした化学物質の曝露測定について－小学生個人を対象とした測定事例の紹介」
- 15) 鶴川重和、荒木敦子、金澤文子、湯浅資之、吉岡英治、岸玲子：第 71 回日本公衆衛生学会（2012）
「札幌市の小学生 4,500 名を対象とした自宅住環境と喘息、アトピー性皮膚炎に関する調査」
- 16) A. Araki, T. Kawai, T. Tsuboi, Y. Ait Bamai, E. Yoshioka, S. Tajima, S. Cong, S. Ukawa and R. Kishi: Environment and Health - Bridging South, North, East and West Conference of ISEE, ISES and ISIAQ. Basel, Switzerland (2013.08.19-23)
“Phthalate metabolites in urine and their relation to asthma and allergy in school children

-Exposure assessment to plasticizer and flame retardants (3)”

- 17) 荒木敦子、坪井樹、河合俊夫、アイツバマイゆふ、多島秀司、叢石、鶴川重和、吉岡英治、岸玲子：第 83 回日本衛生学会学術総会、金沢(2013.03.24-26)
「児童の尿中フタル酸代謝物濃度とアレルギー：可塑剤、難燃剤の小児への健康影響 4」
- 18) アイツバマイゆふ、荒木敦子、坪井樹、河合俊夫、多島秀司、叢石、吉岡英治、玉腰暁子、岸玲子：第 83 回日本衛生学会学術総会、金沢(2013.03.24-26)
「アレルギーとダスト中フタル酸エステル濃度：可塑剤、難燃剤の小児の健康影響 3」
- 19) 多島秀司、荒木敦子、河合俊夫、坪井樹、アイツバマイゆふ、叢石、吉岡英治、岸玲子：第 65 回北海道公衆衛生学会、札幌(2013.11.14-15)
「札幌市 128 軒のハウスダスト中リン酸トリエステル類濃度と小学生のアレルギー疾患との関連」
- 20) 叢石、荒木敦子、鶴川重和、アイツバマイゆふ、多島秀司、金澤文子、湯浅資之、玉腰暁子、岸玲子：第 65 回北海道公衆衛生学会、札幌(2013.11.14-15)
「札幌市内小学生の自宅における暖房、および機械換気の有無と児童の喘息」
- 21) アイツバマイゆふ、荒木敦子、河合俊夫、坪井樹、多島秀司、叢石、湯浅資之、金澤文子、玉腰暁子、岸玲子：第 65 回北海道公衆衛生学会、札幌(2013.11.14-15)
「尿中フタル酸代謝物濃度とハウスダスト中フタル酸エステル濃度との関連：札幌市児童における調査」
- 22) Y. Ait Bami, E. Shibata, I. Saito, A. Araki, A. Kanazawa, K. Morimoto, K. Nakayama, M. Tanaka, T. Takigawa, T. Yoshimura, H. Chikara, Y. Saijo and R. Kishi: the 26th Annual international Society for Environmental Epidemiology. seattle, Washington, USA (2014)
“Exposure to house dust phthalates in relation to asthma and allergies in both children and adults”

(3) 出願特許

特に記載すべき事項はない。

(4) シンポジウム、セミナーの開催（主催のもの）

- 1) 北海道大学サステナビリティウィーク2012国際シンポジウム「東アジアの子どもの健康とサステナビリティ」(2012年10月15-16日、北海道大学学術交流会館小講堂、北海道大学百年記念会館 大会議室、来場者数約130人)
- 2) BiCCA (Birth Cohort Consortium of Asia) Seminar at Sapporo (2013年2月4日、北海道大学中央キャンパス棟1号館、来場者数約35人)
- 3) 市民講演会「環境と子どもの健康」(2013年10月11日、札幌エルプラザ、観客50名)
- 4) 国際シンポジウム「サステナブルで安心な社会の構築へ向けて～予防原則という考え方～」(2013年11月5日、北海道大学学術交流会館小講堂、観客84名)

(5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

(6) その他

特に記載すべき事項はない。

8. 引用文献

1. J.S. Hansen, et al.: *Toxicology*, 232(1-2), 79-88 (2007) "Adjuvant effects of inhaled mono-2-ethylhexyl phthalate in BALB/cJ mice"
2. S.T. Larsen, et al.: *Toxicology*, 169(1), 37-51 (2001) "Adjuvant and immuno-suppressive effect of six monophthalates in a subcutaneous injection model with BALB/c mice"
3. S.T. Larsen, et al.: *Toxicol. Lett*, 125(1-3), 11-18 (2001) "Di-(2-ethylhexyl) phthalate possesses an adjuvant effect in a subcutaneous injection model with BALB/c mice"
4. C.G. Bornehag, et al.: *Environ. Health Perspect*, 113(10), 1399-1404 (2005) "Phthalates in indoor dust and their association with building characteristics"
5. C.G. Bornehag, et al.: *Environ. Health Perspect*, 112(14), 1393-1397 (2004) "The association between asthma and allergic symptoms in children and phthalates in house dust: A nested case-control study"
6. N.Y. Hsu, et al.: *Indoor Air*, 22(3), 186-199 (2012) "Predicted risk of childhood allergy, asthma, and reported symptoms using measured phthalate exposure in dust and urine"
7. M.S. Jaakkola, et al.: *Clin. Exp. Immunol.*, 129(1), 107-112 (2002) "Immunoglobulin G antibodies against indoor dampness-related microbes and adult-onset asthma: a population-based incident case-control study"
8. M. Larsson, et al.: *Indoor Air*, no-no (2010) "PVC – as flooring material – and its association with incident asthma in a Swedish child cohort study"
9. I.J. Wang, et al.: *Environment International*, 62(0), 48-54 (2014) "Early life phthalate exposure and atopic disorders in children: A prospective birth cohort study"
10. M. Kamijima, et al.: [Nihon koshu eisei zasshi] Japanese journal of public health, 52(12), 1021-1031 (2005) "[Indoor air pollution due to 2-ethyl-1-hexanol airborne concentrations, emission sources and subjective symptoms in classroom users]"
11. H.M. Koch, et al.: *Int. J. Hyg. Environ. Health*, 207(1), 15-22 (2004) "Internal exposure of nursery-school children and their parents and teachers to di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP)"
12. E.A. Irvin, et al.: *Chemosphere*, 80(11), 1301-1307 (2010) "An estimate of phthalate exposure among pregnant women living in Trujillo, Peru"
13. H.M. Koch, et al.: *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, 17(4), 378-387 (2007) "Di-n-butylphthalate and butylbenzylphthalate - urinary metabolite levels and estimated daily intakes: pilot study for the German Environmental Survey on children"
14. X. Ye, et al.: *Environ. Res.*, 108(2), 260-267 (2008) "Urinary metabolite concentrations of organophosphorous pesticides, bisphenol A, and phthalates among pregnant women in Rotterdam, the Netherlands: the Generation R study"
15. B. Schindler, et al.: *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 395(4), 1167-1171 (2009)

- "Quantification of two urinary metabolites of organophosphorus flame retardants by solid-phase extraction and gas chromatography–tandem mass spectrometry"
16. B.K. Schindler, et al.: *Journal of Chromatography B*, 877(4), 375-381 (2009) "Determination of human urinary organophosphate flame retardant metabolites by solid-phase extraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry"
 17. R. Beasley: *The Lancet*, 351(9111), 1225-1232 (1998) "Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC"
 18. 西間三馨、小田嶋博: *日本小児アレルギー学会誌*, 16(3), 207-220 (2002) "ISAAC (International Study of Asthma and Allergies in Childhood) 第I相試験における小児アレルギー疾患の有症率"
 19. R. Wilson, et al.: *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 19(1), 158-188 (2012) "Revisiting Dust and Soil Ingestion Rates Based on Hand-to-Mouth Transfer"
 20. N. Ali, et al.: *Chemosphere*, 88(11), 1276-1282 (2012) "Occurrence of alternative flame retardants in indoor dust from New Zealand: Indoor sources and human exposure assessment"
 21. P.J. Liroy, et al.: *Environ. Health Perspect*, 110(10), 969-983 (2002) "Dust: A metric for use in residential and building exposure assessment and source characterization"
 22. European Commission, *European Union Risk Assessment Report. di-butyl phthalate*. 2004.
 23. M. Fujii, et al.: *Atmos. Environ.*, 37(39–40), 5495-5504 (2003) "A study on emission of phthalate esters from plastic materials using a passive flux sampler"
 24. H. Seto and I. Saito: *Annual Report of Tokyo Metropolitan Institute of Public Health*, 53, 179-190 (2002) "Survey and Health Effects Caused by Chemicals in Indoor Air"
 25. I. Saito, et al.: *Indoor Air*, 17(1), 28-36 (2007) "Indoor organophosphate and polybrominated flame retardants in Tokyo"
 26. A. Kanazawa, et al.: *Indoor Air*, 20(1), 72-84 (2010) "Association between indoor exposure to semi-volatile organic compounds and building-related symptoms among the occupants of residential dwellings"
 27. Yu Ait Bamai, et al.: *Sci Total Environ*, 485-486, 153-163 (2014) "Exposure to house dust phthalates in relation to asthma and allergies in both children and adults"
 28. U.S.EPA, *Exposure Factors Handbook*. 2011.
 29. A. Araki, et al.: *Indoor Air*, 24(1), 3-15 (2014) "Phosphorus flame retardants in indoor dust and their relation to asthma and allergies of inhabitants"
 30. I. van der Veen and J. de Boer: *Chemosphere*, 88(10), 1119-1153 (2012) "Phosphorus flame retardants: Properties, production, environmental occurrence, toxicity and analysis"
 31. K. Becker, et al.: *Int. J. Hyg. Environ. Health*, 212(6), 685-692 (2009) "GerES IV: Phthalate metabolites and bisphenol A in urine of German children"
 32. S.C. Cho, et al.: *Environ. Health Perspect*, 118(7), 1027-1032 (2010) "Relationship between Environmental Phthalate Exposure and the Intelligence of School-Age Children"
 33. B.N. Kim, et al.: *Biol. Psychiatry*, 66(10), 958-963 (2009) "Phthalates exposure and attention-deficit/hyperactivity disorder in school-age children"
 34. H.M. Koch, et al.: *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 78(3), 223-229 (2005) "Exposure of nursery

- school children and their parents and teachers to di-n-butylphthalate and butylbenzylphthalate"
35. BASF AG: (1981) "Gewerbetoxikologische Grundprüfung. Primäre Hautreizwirkung (kaninchen; Draize test), (Report on the study of the irritation to the intact and abraded dorsal skin of white rabbits based on Draize of Palatinol CE 5250. Unpublished Results (80/266)."
 36. Exxon Biomedical Sciences: (1996) "Primary Dermal Irritation Study in the Rabbit. Performed at Exxon Biomedical Sciences, Inc. for Exxon Chemical Europe, January 26, 1996."
 37. R.J. Bertelsen, et al.: Environ. Health Perspect, 121(2), 251-256 (2013) "Urinary biomarkers for phthalates associated with asthma in Norwegian children"
 38. M. Callesen, et al.: Int. J. Hyg. Environ. Health, (2013) "Phthalate metabolites in urine and asthma, allergic rhinoconjunctivitis and atopic dermatitis in preschool children"
 39. K.K. Ferguson, et al.: Environ. Res., 111(5), 718-726 (2011) "Urinary phthalate metabolites in relation to biomarkers of inflammation and oxidative stress: NHANES 1999-2006"
 40. J.A. Hoppin, et al.: Environ. Health Perspect, 121(10), 1129-1134 (2013) "Phthalate Exposure and Allergy in the U.S. Population: Results from NHANES 2005-2006"
 41. J.A. Hoppin, et al.: Environ. Health Perspect, 112(5), 571-574 (2004) "Phthalate exposure and pulmonary function"
 42. A.C. Just, et al.: Environmental Health Perspectives, 120(10), 1475-1480 (2012) "Prenatal Exposure to Butylbenzyl Phthalate and Early Eczema in an Urban Cohort"

(3) 胎児期立ち上げコホートをを用いた可塑剤・難燃剤曝露によるアレルギー発現リスク評価

北海道大学大学院医学研究科

佐々木 成子、吉岡 英治（平成23年度）

〈研究協力者〉鶴川 重和（平成23-平成24年度）

平成23～25年度累計予算額：6,988千円（うち、平成25年度予算額：2,074千円）

予算額は、間接経費を含む。

【要旨】

フタル酸エステル類と児童のアレルギー症状との関連性が報告されているが、それらの研究のほとんどが横断研究で、胎児期のフタル酸エステル類曝露による児のアレルギー誘発に関する報告は限られている。そこで、本研究では胎児期のDEHP曝露による児のアレルギー発症への影響を明らかにすることを目的に実施した。対象は、環境と子どもの健康に関する北海道スタディの札幌出生コホート参加者である母児514組で、母体血中のDEHP代謝物であるMEHPをGC/MSを用いて分析した。出生時の臍帯からIgE濃度を測定し、また児の生後1.5歳、3.5歳、7歳時のアレルギーについてISAAC調査票を用いて回答を得た。

MEHPは分析した全検体から検出され、中央値は35.56pmol/mLだった。過去の欧米の研究と比較して、MEHP濃度は本研究の方が高かった。母体血中MEHPと児の妻帯血中IgE濃度とに有意な関連はなかった。また、母体血中MEHP濃度による1.5歳、3.5歳、7歳時いずれの年齢においても喘息、アレルギー性鼻・結膜炎、アトピー性皮膚炎、食物アレルギー、および中耳炎発症への影響は認められず（調整済）、本集団では胎児期のDEHP曝露は児のアレルギーや感染症発症には影響がないことが示唆された。本研究ではサンプルサイズが比較的小さいこと、比較的代謝が早いDEHP代謝物の濃度を妊娠中-後期の1回しか測定してしていないこと、DEHP代謝物として一次代謝物であるMEHPのみしか分析していないことが限界として考えられる。一方、胎児期曝露とは関連がなく、サブテーマ（2）で得られた学童期のダスト中フタル酸エステル類濃度がアレルギー性鼻結膜炎のリスクをあげたという結果は、動物実験や、過去の台湾の研究とも一致した。

【キーワード】

フタル酸エステル類、MEHP、胎児期曝露、母体血、アレルギー

1. はじめに

フタル酸エステル類はポリ塩化ビニル（PVC）の可塑剤として広く使用されてきた。このうちDEHPは内分泌かく乱物質としての生殖毒性などの影響が問題となり、日本でも玩具や油性食品に接触する器具・容器包装等など経口摂取に関してはある程度の規制が行われた。しかし多くの建築資材、内装材、家庭用電化製品等にはこれら可塑剤が含まれているが規制は未だなされていない。動物実験では、マウスにおけるIgEまたはIgG1増加¹⁻³⁾など、フタル酸エステル類のアジュバント効果が報告されている。しかし、DEHP曝露によるアトピー性皮膚炎の増悪は、生後の授

乳期への親マウスへの曝露では影響があったが、胎児期の曝露では見られなかったという報告もある⁴⁾。

ヒトの疫学研究は、横断研究で、住宅内のプラスチック系内装材の使用、あるいは室内ダスト中フタル酸エステル類濃度と児童の気管支症状、喘鳴、喘息との関連が報告され⁵⁻⁸⁾、近年増加しているアレルギー症状の誘発と室内における可塑剤曝露との関連性が疑われている。これまでに、胎児期のフタル酸エステル類曝露による児のアレルギー発症に関する報告は限られている。米国の報告で母体尿中MBzPが24カ月までの湿疹発症のリスクをあげる報告があるが⁹⁾、台湾の研究では母体尿中フタル酸エステル類代謝物は2歳、5歳時のアトピー性皮膚炎および血清IgEレベルとの関連がなかったと報告しており¹⁰⁾、結果は一致していない。従って、胎児期のフタル酸エステル類曝露による児のアレルギー発症への影響を明らかにする必要がある。

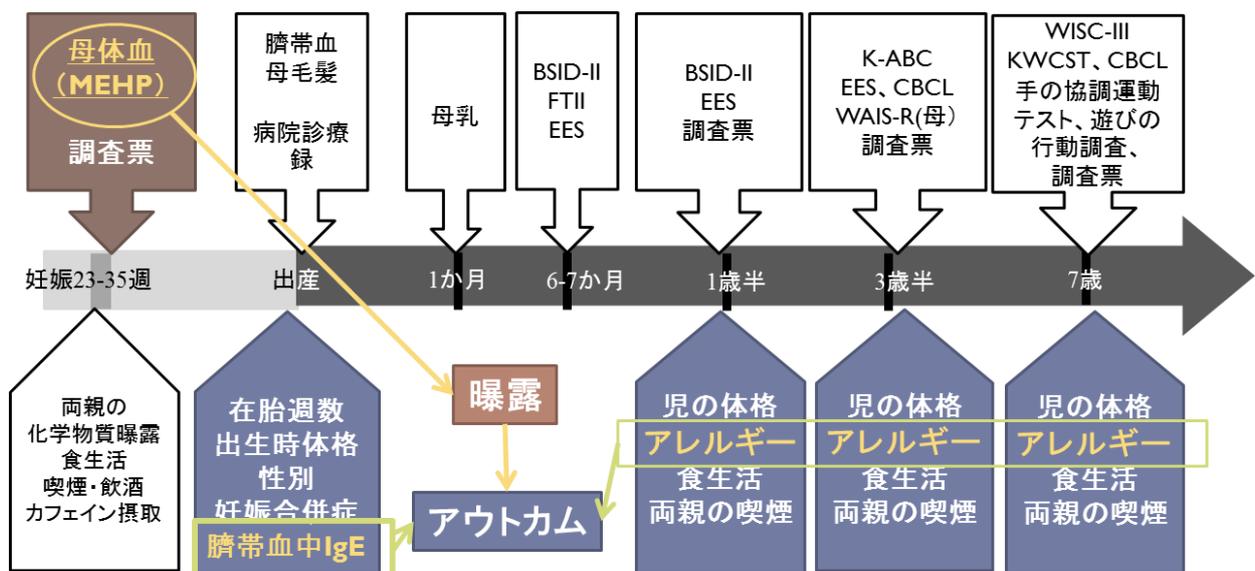
2. 研究開発目的

出生コーホートを用いた胎児期曝露による免疫系への影響、特に生後のアレルギー発症への影響を明らかにすることを目的とする。胎児期のDEHP曝露によるヒトでの次世代影響として、児の1.5歳、3.5歳および7歳時のアレルギーと感染症罹患歴への影響を解明する。

3. 研究開発方法

(1) 対象

本研究は、「環境と子どもの健康に関する北海道研究（北海道スタディ）」札幌コーホート参加者を対象として実施した¹¹⁻¹²⁾。北海道札幌市の1産科医院を受診した札幌市及び近郊地域在住の妊娠23～35週の日本人妊婦を2002年7月～2005年10月にかけて登録した。妊婦1796人のうち、臍帯血バンクへの登録を希望した者および転院した者25%を除き、514人が本研究に参加している（参加率28.6%）。コーホートプロフィールは図(3)-1に示す。



図(3)-1 コーホートの流れ図

(2) MEHPの曝露評価

本研究では、-80℃で保存してある母体血を用いて、DEHPの一次代謝物であるMEHPを分析した。血液は、妊娠中期から後期、貧血のために妊娠中に採血が出来なかった場合は、出産後に末梢静脈から40 mL採血している。MEHPの測定は、機器分析の方法、妥当性の検討、品質管理はIto et al., 2005¹³⁾に基づいて実施した。サンプル調整は30 µLの母体血を120 µLの1N HCL、350 µLの飽和食塩水と混合し、内部標準物質として50 µLの10 µM MEHP-dを加えた。その後500 µLの酢酸エチルを加えて15分攪拌してMEHP抽出を2回繰り返し替えた。酢酸エチル層を気化したのち、沈殿層は40 µLの酢酸エチルで溶出した。20 µLのN-methyl-N-(tert-butyl dimethylsilyl) trifluoroacetamide (GL Sciences, Tokyo, Japan)を加え、GC-MS(6890 N, 5973 N; Agilent Technologies, CA, USA)で分析した。分析条件は以下の通り：HP-5MS 5% phenyl methyl siloxane capillary column (30 m-0.25 mm-0.25 lm, Agilent Technologies), キャリアガスはヘリウム1 mL/min, インジェクションタイプ splitless (1 min)-split, オープン温度80℃ 2 min, 20℃/minで260℃まで上昇させて5分、スプリット比50:1, selective ion monitoring (SIM)モード。MEHPの定量イオンと確認イオンには、それぞれm/z 227とm/z 339を用いた。この条件において、MEHPの回収率は95.6±1.9 (n=6, 平均±SD)、検出下限値は1 pmol/mL。分析に用いるガラス器具はDEHPの汚染を防ぐため、すべて200℃で2時間乾熱滅菌を行った。分析は、名古屋大学大学院医学系研究科環境労働衛生学分野の協力を得て実施した。

(3) 質問紙調査

共変量と収集済みの医療診療録および調査票データを利用した。年齢、身長、非妊娠時の体重、出産回数、在胎週数、および児の性別、出生時の身長・体重・胸囲・頭囲の出生時情報は医療診療録よりを収集していた。教育歴、世帯収入、喫煙状況、アレルギーの既往歴および、居住環境として住宅の種類(戸建て、その他)、築年数、幹線道路からの距離、カーペットを敷き詰めた部屋の有無、暖房の種類(電気、換気ありその他、換気なしその他)、犬や猫鳥などのペット飼育の有無、浴室以外の目に見えるカビ・カビ臭の有無、5年以内の水漏れの有無、結露の有無については、妊娠中期から後期に、母親から自記式調査票により回答を得ていた。1.5歳時の、母乳栄養期間、保育園通園の有無、浴室以外の目に見えるカビの有無、5年以内の水漏れの有無、結露の有無は母親から自記式調査票により回答を得た。

(4) 臍帯血IgEの評価

出産時に臍帯から10-30 mL採血を実施し、ELISAを用いて分析済みのIgE値を用いた。

(5) アレルギー症状および感染症の評価

ISAACまたはATS-DLDを用いた追跡調査票を用いた。生後1.5歳時における児のアレルギー疾患発症との検討は、母体血中MEHP濃度の測定結果と1.5歳調査票におけるアレルギー項目の回答の両方が得られた384名を分析対象者とした。生後3.5歳時における児のアレルギー疾患発症との検討は、母体血中MEHP濃度の測定結果と3.5歳調査票におけるアレルギー項目の回答の両方が得られた348名を分析対象者とした。7歳における児のアレルギー疾患発症との検討は、母体血中MEHP濃度の測定結果と7歳時調査票におけるアレルギー項目の回答の両方が得られた266名を分析対

象者とした。

(6) 統計解析

母と児の属性および、住宅特徴、臍帯血IgE濃度と母体血MEHP濃度の比較には、Spearman's correlation test、Mann-Whitney U test、またはKruskal-Wallis testを用いた。1.5歳、3.5歳、7歳時のアレルギーと母体血MEHP濃度との関連はロジスティック回帰分析を用いて交絡要因を調整した。全ての解析は、JMP10.0.2、またはSPSS Ver. 19を用いて、Mann-Whitney U test またはKruskal-Wallis test、重回帰分析、多変量ロジスティック回帰分析を実施した。P<0.05を統計学的有意差ありとした。

(7) 倫理的配慮

本調査は、北海道大学医学研究科医の倫理委員会の承認を得て実施した。インフォームドコンセントは、全対象者から疫学研究に関する倫理指針およびヘルシンキ宣言に基づき実施した。

4. 結果及び考察

母体血中MEHPは493名の分析結果が得られた。

表(3)-1に母体血中MEHP濃度と263名の臍帯血中IgE濃度を示す。MEHPは分析した全検体から検出され、濃度は35.56 pmol/mL(中央値)、11.53-365.29 pmol/mL(最小値-最大値)であった。臍帯血中IgE濃度は、0.21 IU/mL(中央値)、10.9 IU/mL(最大値)であった。16.7%が検出下限値以下であった。母体血中MEHP濃度と母の年齢、身長、非妊娠時の体重、教育歴、世帯収入、喫煙状況、アレルギーの既往歴、出産回数、在胎週数、および児の性別、出生時の体格居住環境として住宅の種類、築年数、幹線道路からの距離、カーペットを敷き詰めた部屋の有無、暖房の種類、ペット飼育の有無、浴室以外の目に見えるカビ・カビ臭の有無、5年以内の水漏れの有無、結露の有無とは、有意な関連を認めなかった。

表(3)-1. 母体血中MEHP(n=493)および臍帯血 IgE (n=263)濃度

	Detection limit	<LOD n(%)	Min	25%	Med	75%	Max
MEHP(pmol/mL)	-	0(0)	6.97	20.89	37.39	58.73	365.29
IgE(IU/mL)	0.05	44(16.7)	<LOD	0.08	0.21	0.57	10.9

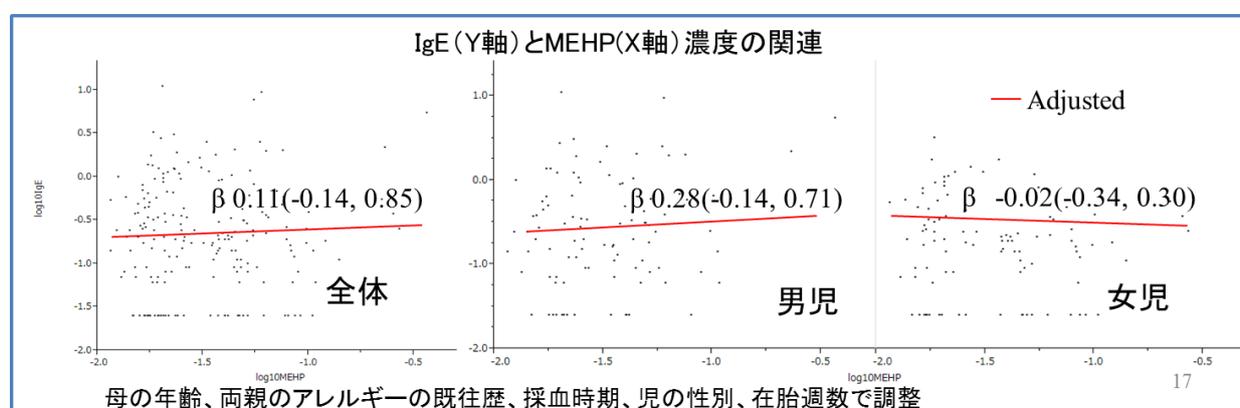
MEHP, mono-2-ethylhexyl phthalate. IgE, immunoglobulin E.

表(3)-2、図(3)-2に母体血中MEHP濃度と臍帯血中IgE濃度との関連について多変量解析の結果を示した。母体血中MEHP濃度と臍帯血中IgE濃度との間に母の年齢、母・父のアレルギー既往歴、採血時期、児の性別、在胎週数の調整後も有意な関連を認めなかった。

表(3)-2. 母体血中MEHP濃度 (pmol/mL)と臍帯血中IgE濃度(IU/mL)との関連

	Log ₁₀ MEHP					
	全員 (n=263)		男児 (n=124)		女児 (n=139)	
	β (95% CI)	P-value	β (95% CI)	P-value	β (95% CI)	P-value
Log ₁₀ IgE						
Crude	0.060 (-0.194, -0.315)	0.64	0.247 (-0.159, 0.659)	0.23	-0.059 (-0.380, 0.261)	0.72
Adjusted ^a	0.108 (-0.144, 0.850)	0.40	0.284 (-0.138, 0.706)	0.18	-0.018 (-0.340, 0.304)	0.91

MEHP, mono-2-ethylhexyl phthalate. IgE, immunoglobulin E. β, regression coefficients. CI, confidence interval. ^aadjusted for maternal age, maternal allergic history, blood sampling period, paternal allergic history, infant gender, and gestational age.



図(3)-2 母体血中濃度と臍帯血中 IgE 濃度との関連

表(3)-3に1.5歳、3.5歳、7歳時のアレルギー、中耳炎の有病数(%)を示す。食物アレルギーがそれぞれ68人(17.7%)、95人(26.6%)、61人(22.9%)、喘息がそれぞれ33人(8.6%)、87人(24.7%)、44人(16.5%)、アトピー性皮膚炎はそれぞれ48人(12.5%)、95人(28.3%)、57人(21.4%)、中耳炎はそれぞれ63人(16.4%)、196人(55.4%)、114人(42.9%)であった。アレルギー性鼻炎は3.5歳と7歳時で27人(7.8%)、51人(19.2%)であった。サブテーマ2で対象とした北海道スタディ大規模コーホートの7歳アレルギー有病は、喘息13.7%、アトピー性皮膚炎20.6%、アレルギー性鼻炎12.1%だった。本研究の札幌コーホートと比較すると、アトピー性皮膚炎は同程度だが、喘息とアレルギー性鼻炎は札幌コーホートの方が有病率は高かった。従って、札幌コーホートの方がアレルギー症状をもつ児が継続して調査に参加している可能性がある。しかし、7歳時点でのアウトカム評価がなされた児の母体血中MEHP濃度は中央値(最小値-最大値)35.6 pmol/mL(11.54-322.06 pmol/mL)であった。母体血MEHP濃度を測定した全493名の濃度中央値(最小値-最大値)は35.8 pmol/mL(6.97-365.29 pmol/mL)で、7歳までの調査継続の有無で母体血中MEHP濃度に差は認められなかった。

表(3)-3. 1.5歳、3.5歳、7歳時のアレルギーと中耳炎発症有病

	1.5歳 (N=384)		3.5歳 (N=348)		7歳 (N=266)	
	n	%	n	%	n	%
アレルギー						
食物アレルギー	68	(17.7%)	95	(26.6%)	61	(22.9%)
喘息	33	(8.6%)	87	(24.7%)	44	(16.5%)
アレルギー性鼻炎			27	(7.8%)	51	(19.2%)
皮膚炎	48	(12.5%)	95	(28.3%)	57	(21.4%)
感染症						
中耳炎	63	(16.4%)	196	(55.4%)	114	(42.9%)

表(3)-4に1.5歳、表(3)-5に3.5歳、表(3)-6に7歳時の母体血中MEHP濃度とアレルギーと中耳炎発症との関連を示した。母体血中MEHP濃度と食物アレルギー、喘息、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎、および中耳炎との間には、いずれの年齢においても調整後も有意な関連を認めなかった。男女別に層別化した結果においても同様に有意な関連を認めなかった。これらの結果から、本集団では胎児期のMEHP曝露により1.5歳から7歳児までのアレルギー、中耳炎発症には影響がないことが示唆された。

表(3)-4. 母体血中MEHP濃度と1.5歳時までのアレルギーと中耳炎発症との関連

	Log ₁₀ MEHP					
	全員(n=384)		男児(n=193)		女児(n=191)	
	Crude OR (95% CI)	Adjusted OR (95% CI)	Crude OR (95% CI)	Adjusted OR (95% CI)	Crude OR (95% CI)	Adjusted OR (95% CI)
アレルギー						
食物アレルギー	1.49 (0.62-3.53)	1.53 (0.48-4.83)	1.92 (0.54-6.60)	1.49 (0.27-8.23)	1.19 (0.34-4.02)	1.39 (0.23-8.11)
喘息	1.28 (0.38-4.11)	2.42 (0.54-10.79)	1.56 (0.19-6.15)	2.10 (0.19-22.81)	1.42 (0.26-7.18)	1.58 (0.11-20.87)
皮膚炎	0.92 (0.32-2.52)	1.26 (0.32-4.77)	0.66 (0.13-2.88)	1.73 (0.24-12.13)	1.24 (0.29-4.99)	1.10 (0.13-8.05)
感染症						
中耳炎	1.19 (0.47-2.91)	2.41 (0.70-8.28)	1.59 (0.46-5.30)	3.51 (0.56-22.91)	0.90 (0.21-3.58)	1.66 (0.26-10.03)

MEHP, mono-2-ethylhexyl phthalate. OR, odds ratio. CI, confidence interval.

Food allergy, asthma, and eczema: adjusted for maternal age, pre-pregnancy BMI, parity, blood sampling period, maternal allergic history, paternal allergic history, educational level, smoker indoors, infant sex, gestational age, breast feeding period, day care attendance at 18 months.

Otitis media: adjusted for maternal age, pre-pregnancy BMI, parity, blood sampling period, educational level, smoker indoors at 18 months, infant sex, gestational age, breast feeding period, day care attendance at 18 months.

表(3)-5. 多変量解析による母体血中MEHP濃度と3.5歳時までのアレルギーと中耳炎発症との関連

	Log ₁₀ MEHP					
	全員(n=324)		男児(n=160)		女児(n=164)	
	Crude OR (95%CI)	Adjusted OR (95%CI)	Crude OR (95%CI)	Adjusted OR (95%CI)	Crude OR (95%CI)	Adjusted OR (95%CI)
アレルギー						
食物アレルギー	1.12 (0.75-1.65)	1.28 (0.89-1.85)	1.20 (0.74-1.94)	1.17 (0.68-2.00)	1.29 (0.78-2.15)	1.42 (0.84-2.43)
喘息	1.10 (0.76-1.58)	2.42 (0.54-10.79)	1.56 (0.19-6.15)	2.10 (0.19-22.81)	1.07 (0.62-1.84)	1.08 (0.45-2.50)
鼻炎	0.93 (0.48-1.70)	1.10 (0.56-2.10)	1.00 (0.40-2.33)	1.35 (0.47-3.78)	0.86 (0.32-2.04)	0.91 (0.34-2.24)
皮膚炎	0.74 (0.52-1.06)	0.69 (0.47-1.00)	0.86 (0.53-1.36)	0.74 (0.43-1.25)	0.62 (0.35-1.06)	0.61 (0.33-1.06)
感染症						
中耳炎	1.06 (0.77-1.45)	1.06 (0.76-1.49)	0.99 (0.63-1.53)	1.00 (0.61-1.63)	1.14 (0.72-1.83)	1.16 (0.71-1.92)

MEHP, mono-2-ethylhexyl phthalate. OR, odds ratio. CI, confidence interval.

Food allergy, asthma, and eczema: adjusted for maternal age, pre-pregnancy BMI, parity, blood sampling period, maternal allergic history, paternal allergic history, educational level, smoker indoors, infant sex, gestational age, breast feeding period, day care attendance at 18 months.

Otitis media: adjusted for maternal age, pre-pregnancy BMI, parity, blood sampling period, educational level, smoker indoors at 18 months, infant sex, gestational age, breast feeding period, day care attendance at 18 months.

表(3)-6.母体血中MEHP濃度と7歳時のアレルギーと中耳炎発症との関連

	Log ₁₀ MEHP					
	全員(n=266)		男児(n=133)		女児(n=133)	
	Crude OR (95%CI)	Adjusted OR (95%CI)	Crude OR (95%CI)	Adjusted OR (95%CI)	Crude OR (95%CI)	Adjusted OR (95%CI)
アレルギー						
食物アレルギー	1.30 (0.50-3.41)	1.16 (0.42-3.16)	1.38 (0.34-5.67)	1.06 (0.24-4.75)	1.26 (0.34-4.70)	1.20 (0.30-4.85)
喘息	0.43 (0.13-1.39)	0.46 (0.13-1.66)	0.76 (0.15-3.77)	0.59 (0.11-3.35)	0.23 (0.04-1.35)	0.38 (0.05-2.73)
鼻炎	1.38 (0.50-3.84)	1.66 (0.56-4.89)	1.03 (0.21-5.05)	1.10 (0.20-5.96)	1.69 (0.44-6.47)	2.24 (0.52-9.74)
皮膚炎	1.17 (0.43-3.14)	1.25 (0.43-3.60)	0.86 (0.19-3.93)	0.77 (0.15-3.87)	1.46 (0.39-5.45)	2.15 (0.47-9.75)
感染症						
中耳炎	1.19 (0.52-2.71)	1.20 (0.51-2.82)	2.07 (0.60-7.18)	2.42 (0.66-8.91)	0.77 (0.25-2.42)	0.72 (0.22-2.38)

MEHP, mono-2-ethylhexyl phthalate. OR, odds ratio. CI, confidence interval.

Food allergy: adjusted for gender, maternal age, pre-pregnancy, blood sampling period, gestational age, maternal education level, and parental allergic history

Asthma, rhinitis and eczema: adjusted for gender, maternal age, pre-pregnancy, blood sampling period, gestational age, maternal educational level, parental allergic history, indoor current smokers, furry pets inside house, and dampness index

Otitis media: adjusted for gender, maternal age, pre-pregnancy, blood sampling period, gestational age, and maternal educational level

本研究のMEHP濃度の中央値(25-75%)を比較のためにng/mLに換算すると9.99(5.81-16.3) ng/mLだった。過去の研究では米国大人(NHANES 1999-2000)は5.4(3.4-8.9) ng/mL¹⁴⁾、スウェーデンの高齢者4.5(2.0-15.5) ng/mL¹⁵⁾、オーストラリアの妊婦1.18(<LOD, 3.10) ng/mL¹⁶⁾、イタリアの妊婦は平均±SDが0.68 ± 0.85 μg/mL¹⁷⁾だったことから、米国、スウェーデンの2倍程度、オーストラリアの8.5倍、イタリアは15分の1程度だった。分析法が異なるが、サブテーマ2で示した通り、日本では諸外国よりもダスト中DEHP濃度は高く、尿中DEHP代謝物濃度も高い傾向を示したことから、妊婦のMEHP濃度が米国やスウェーデンよりも高いことはサブテーマ2の結果とも一致する。

先行研究の結果と比較すると、台湾のThe Taiwan Birth Panel cohort studyではフタル酸エステル類曝露を妊娠後期の母の尿中フタル酸代謝物、生後2歳、5歳の児の尿中代謝物を測定している¹⁰⁾。各曝露と、2歳、5歳時点でのアトピー性皮膚炎および血清IgEレベルとの関連を解析した結果、2歳の尿中MEHP濃度と2歳のIgEレベルが性の相関を示し、2歳の尿中MBzP濃度と2歳のアトピー性皮膚炎との関連、即ち生後の曝露(横断的)のみがリスクをあげた¹⁰⁾。本研究でも、サブテーマ2の結果で、生後の曝露である学童期のダスト中フタル酸エステル類濃度がアレルギー性鼻結膜炎のリスクをあげたという結果は、台湾の結果とも一致する。従って、フタル酸エステル類曝露の影響は、胎児期曝露よりも生後の曝露の影響の方が大きい可能性が示唆された。

本研究の限界としてはサンプルサイズが比較的小さく統計学的有意差を検出するには不十分であった可能性がある。2つ目は、DEHP代謝物として1次代謝物であるMEHPのみしか分析していないことがある。しかし、過去の報告では、血液検体中のMEHPの検出率は80%以上だが2次代謝産物である酸化物の検出率は40%以下であった^{15,18-20)}。従って、DEHPの曝露指標としてMEHPには代表性があると考えられる。またダスト中濃度ではアレルギーのリスクをあげる可能性が示唆されたDnBPやBBzPの代謝物の影響については検討していない点が今後の課題としてあげられる。また、DEHPは代謝が早く、MEHPの t_{max} は2時間、 $t_{1/2}$ は5時間である²¹⁾。本研究では母体血を1回しか採取していない。一方、先行研究では、DEHPの代謝スピードは早いものの1回の測定がある程度の期間の曝露を反映するという報告もある²²⁻²⁵⁾。加えて、本研究では妊娠後期母体血中MEHPを測定しているが、フタル酸エステル類の胎児期曝露による児のアレルギーへの影響を評価するうえで適切な時期の曝露を評価していない可能性も今後の課題である。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

フタル酸エステル類曝露の胎児期曝露として、母体血中MEHP濃度を測定した。母体血中MEHP濃度は、過去に米国、スウェーデン、オーストラリアの報告と比較して本研究の濃度が高かった。分析法の違いによる影響の可能性のあるものの、サブテーマ(2)で示した通り、本研究のダスト中DEHP濃度や尿中DEHP代謝物濃度がも諸外国よりも高かったことから、妊婦の母体血中MEHP濃度が諸外国よりも高かった結果とは矛盾しない。サブテーマ(1)、サブテーマ(2)の結果から、日本ではDEHP曝露量が諸外国よりも高い可能性が示唆された。

MEHP濃度と臍帯血IgE濃度、および児の1.5歳、3.5歳および7歳時のアレルギー有病との間に関

連性は認められなかった。胎児期曝露として評価した母体血中フタル酸エステル類代謝物の測定物質がMEHP1種類のみであるという限界はあるものの、フタル酸エステル類曝露の影響は、胎児期曝露よりも生後の曝露の影響の方が大きい可能性が示唆された。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

<行政が活用することが見込まれる成果>

フタル酸エステル類の胎児期曝露評価として、DEHP代謝物であるMEHPの母体血中濃度を測定した。母体血中MEHP濃度と、児の臍帯血中IgE量、生後1.5歳、3.5歳、7歳時の喘息、アレルギー性鼻結膜炎、アトピー性皮膚炎、食物アレルギーおよび中耳炎履歴への影響を解析したところ、関連性は得られなかった。フタル酸エステル類曝露によるアレルギーへの影響は、胎児期の母体血からの曝露による次世代影響ではなく、生後の曝露影響である可能性が示唆された。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文(査読あり)>

特に記載すべき事項はない。

<その他誌上発表(査読なし)>

特に記載すべき事項はない。

(2) 口頭発表(学会等)

- 1) 田川雅大、内藤久雄、林由美、川野愛子、佐々木成子、荒木敦子、小林澄貴、岸玲子：
第82回日本衛生学会・学術総会、京都(2012)
「ヒトの出産前後における血液DEHP代謝物濃度の解析」

(3) 出願特許

特に記載すべき事項はない。

(4) シンポジウム、セミナーの開催(主催のもの)

特に記載すべき事項はない。

(5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

(6) その他

特に記載すべき事項はない。

8. 引用文献

- 1) Hansen, J.S., et al., Adjuvant effects of inhaled mono-2-ethylhexyl phthalate in BALB/cJ mice. *Toxicology*, 2007. 232(1-2): p. 79-88.
- 2) Larsen, S.T., et al., Adjuvant and immuno-suppressive effect of six monophthalates in a subcutaneous injection model with BALB/c mice. *Toxicology*, 2001. 169(1): p. 37-51.
- 3) Larsen, S.T., et al., Di-(2-ethylhexyl) phthalate possesses an adjuvant effect in a subcutaneous injection model with BALB/c mice. *Toxicology Letters*, 2001. 125(1-3): p. 11-18.
- 4) Yanagisawa, R., et al., Effects of maternal exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate during fetal and/or neonatal periods on atopic dermatitis in male offspring. *Environ Health Perspect*, 2008. 116(9): p. 1136-41.
- 5) Bornehag, C.G., et al., Phthalates in indoor dust and their association with building characteristics. *Environmental Health Perspectives*, 2005. 113(10): p. 1399-1404.
- 6) Bornehag, C.G., et al., The association between asthma and allergic symptoms in children and phthalates in house dust: A nested case-control study. *Environmental Health Perspectives*, 2004. 112(14): p. 1393-1397.
- 7) Hsu, N.Y., et al., Predicted risk of childhood allergy, asthma, and reported symptoms using measured phthalate exposure in dust and urine. *Indoor Air*, 2012. 22(3): p. 186-199.
- 8) Larsson, M., et al., PVC – as flooring material – and its association with incident asthma in a Swedish child cohort study. *Indoor Air*, 2010: p. no-no.
- 9) Jonsson, B.A., et al., Urinary phthalate metabolites and biomarkers of reproductive function in young men. *Epidemiology*, 2005. 16(4): p. 487-93.
- 10) Wang, I.J., et al., Early life phthalate exposure and atopic disorders in children: A prospective birth cohort study. *Environment International*, 2014. 62(0): p. 48-54.
- 11) Kishi, R., et al., Ten years of progress in the Hokkaido birth cohort study on environment and children's health: cohort profile—updated 2013. *Environmental Health and Preventive Medicine*, 2013: p. 1-22.
- 12) Kishi, R., et al., Cohort profile: the Hokkaido Study on Environment and Children's Health in Japan. *International Journal of Epidemiology*, 2011. 40(3): p. 611-618.
- 13) Ito, Y., et al., Species differences in the metabolism of di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in several organs of mice, rats, and marmosets. *Archives of Toxicology*, 2005. 79(3): p. 147-154.
- 14) Silva, M., et al., Glucuronidation patterns of common urinary and serum monoester phthalate metabolites. *Archives of Toxicology*, 2003. 77(10): p. 561-567.

- 15) Lind, P.M., et al., Serum concentrations of phthalate metabolites are related to abdominal fat distribution two years later in elderly women. *Environmental Health*, 2012. 11(1): p. 21.
- 16) Hart, R., et al., The influence of antenatal exposure to phthalates on subsequent female reproductive development in adolescence: a pilot study. *Reproduction*, 2014. 147(4): p. 379-390.
- 17) Latini, G., et al., Exposure to di(2-ethylhexyl)phthalate in humans during pregnancy. *Neonatology*, 2003. 83(1): p. 22-24.
- 18) Ivell, R., J.D. Wade, and R. Anand-Ivell, INSL3 as a biomarker of leydig cell functionality. *Biology of Reproduction*, 2013. 88(6): p. 1-8.
- 19) Hogberg, J., et al., Phthalate diesters and their metabolites in human breast milk, blood or serum, and urine as biomarkers of exposure in vulnerable populations. *Environ Health Perspect*, 2008. 116(3): p. 334-9.
- 20) Kato, K., et al., Quantitative detection of nine phthalate metabolites in human serum using reversed-phase high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass Spectrometry. *Journal of Analytical Toxicology*, 2003. 27(5): p. 284-289.
- 21) Koch, H.M., R. Preuss, and J. Angerer, Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP): human metabolism and internal exposure-- an update and latest results. *International Journal of Andrology*, 2006. 29(1): p. 155-65; discussion 181-5.
- 22) Hauser, R., et al., DNA damage in human sperm is related to urinary levels of phthalate monoester and oxidative metabolites. *Human Reproduction*, 2007. 22(3): p. 688-695.
- 23) Hoppin, J.A., et al., Reproducibility of urinary phthalate metabolites in first morning urine samples. *Environmental Health Perspectives*, 2002. 110(5): p. 515-518.
- 24) Suzuki, Y., et al., Exposure assessment of phthalate esters in Japanese pregnant women by using urinary metabolite analysis. *Environmental Health and Preventive Medicine*, 2009. 14(3): p. 180-187.
- 25) Townsend, M.K., et al., Within-person reproducibility of urinary bisphenol A and phthalate metabolites over a 1 to 3 year period among women in the Nurses' Health Studies: a prospective cohort study. *Environmental Health*, 2013. 12.

Exposure Assessment to Plasticizer and Flame Retardants and their Risk on Children's Allergies

Principal Investigator: Reiko KISHI

Institution: Hokkaido University Center for Environmental
and Health Sciences (cooperation of two
institutions)
West 7, North 12, Kita-ku, Sapporo, Hokkaido,
Japan
Tel : +81-11-706-4746 / Fax : +81 11-706-4725
E-mail: rkishi@med.hokudai.ac.jp

Cooperated by: Japan Industrial Safety and Health Association, Osaka Occupational
Health Service Center
Hokkaido University Graduate School of Medicine

[Abstract]

Key Words: Phthalates, Phosphate Flame Retardants, House dust, Urinary metabolites, Exposure assessment, Children, Prenatal exposure, Asthma, Allergic rhino-conjunctivitis, Atopic dermatitis

Phthalates and organophosphate triesters are chemicals categorized as semi-volatile organic compounds, and used as plasticizers and flame retardants. In recent years, their association with allergies has become a matter of concern. Simultaneous analytical methods of measuring phthalates and PFRs in dust, as well as their metabolites in urine through gas-chromatography/mass spectrometry (GC/MS) have been established. To assess the risk of children's asthma and allergies from exposure to phthalates and phosphate flame retardants (PFRs), we have conducted epidemiological studies. Indoor dust and urine samples of children were collected and analyzed. Childhood asthma and allergies were determined by ISAAC (International Study on Asthma and Allergies in Childhood) questionnaire. As a result, the most detected with highest concentrations was di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) among phthalates, and tris(2-butoxyethyl) phosphate (TBEP) among PFRs. Concentrations of these compounds were higher than that found in previous studies from Europe and United States of America. Levels of DEHP and TBEP were related to interior materials. The risk among children of allergic rhino-conjunctivitis was 2.1 and 8.2 times higher when the Di-iso-butyl phthalate and DEHP level in dust was ten times higher, respectively. The risk among children of atopic dermatitis was 2.5 times higher when the tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate level in dust was ten times higher. Similar results were obtained from our previous study of

relatively new detached houses with their inhabitants. Associations between allergies and phthalates/PFRs were obtained from the dust collected from floor, although the levels of these compounds were generally lower in the floor dust than in the dust collected from multi-surface except floor. Children tend to sit on the floor when relaxing and playing, and therefore they may have had higher contact and exposure to floor dust than to multi-surface dust. In addition, we found that urinary metabolites concentrations were higher among children than adults. Levels of urinary metabolites did not show any association with allergies. To assess the prenatal phthalate exposure to childhood asthma and allergies, mono(2-ethylhexyl) phthalate (MEHP), metabolite of DEHP concentration in maternal blood was examined in the Sapporo Birth Cohort of Hokkaido Study. Maternal MEHP concentration did not show any effect on immunoglobulin E levels in cord blood, or prevalence of asthma, allergic rhino-conjunctivitis, atopic dermatitis, food allergies, and otitis media at 1.5, 3.5, and 7 years of age. Our results suggest that phthalate exposure at childhood, but not prenatal exposure may increase the risk of allergies.