衛生化学
EISEI KAGAKU
25 (1) 24-28 (1979)

ポリ塩化ナフタリン (PCN) の環境汚染に関する研究 (第3報)
PCN による人体汚染¹⁾

竹下隆三,^{2a)} 吉田 博^{2b)}

国立公衆衛生院衛生薬学部,^{2a)} 関東学院女子短期大学^{2b)}

Studies on Environmental Contamination by Polychlorinated
Naphthalenes (PCN). III.
Contamination of Human Body by PCN¹⁾

RYUZO TAKESHITA^{2a)} and HIROSHI YOSHIDA^{2b)}

*The Institute of Public Health, Department of Public Health Pharmaceutics^{2a)}
and Kanto-gakuin, Womens Junior College^{2b)}*

(Received September 8, 1978)

Polychlorinated naphthalenes (PCN) in human adipose tissues was determined. A sample was saponified with a ethanolic solution of potassium hydroxide and extracted with hexane. The extract was treated with concentrated sulfuric acid and then cleaned up by silica gel chromatography. After separation from PCB by polyamide thin-layer chromatography, PCN was identified by gas-liquid chromatography-mass spectrometry. PCN concentration in the adipose tissues obtained from 10 human subjects was determined by ECD-gas chromatography.

The concentration showed several ppb levels, corresponding from 1/500 to 1/1000 of PCB concentration in adipose tissues. The number of substituted chlorine atoms in PCN molecules was not a factor for its accumulation in fat.

Keywords—polychlorinated naphthalene (PCN); human adipose tissue; contamination; content; GLC-Mass

緒 言

わが国においてはポリ塩化ナフタリン (PCN) の生産は既に中止されていると言われているが、諸外国では現在においても生産ならびにその利用が行なわれている。PCN がポリ塩化ビフェニル (PCB) と類似の構造を有するだけに人体影響が危惧される。カナダ政府は環境において生態に影響を与えることが懸念される物質のカテゴリーに PCN をリストアップしている。³⁾ わが国においても PCN の使用実態が明確でないだけに環境中の汚染の

実態を把握することは極めて意義が大きいと考える。

PCN が人体中に存在することが明らかとなれば、既に環境中に PCN が存在し、何らかの経路で環境から人体に取り込まれていることを示すことになり、この事実は PCN 環境汚染評価の上で極めて重要な情報となる。著者らはこの様な研究計画の下に既に水および生体試料中の PCN の分析法を確立し報告した。^{4,5)} そこで今回はその手法を用いて年齢層の異なる人体の脂肪組織について PCN を測定し、知見を得たので報告する。

1) 本報告は日本薬学会第97年会, 東京, 昭和52年4月発表。

2) Location: a) Shirokanedai, Minato-ku, Tokyo (東京都港区白金台4丁目6番1号); b) Mutsuura-machi, Kanazawaku, Yokohama (横浜市金沢区六浦町4834)。

3) DFE/NH & W Environmental Contaminants Committee, Development of a List of Priority Chemicals Substances Under the Environmental Contaminants Act.

4) 竹下隆三, 吉田 博, 衛生化学, **23**, 359 (1977)。

5) 竹下隆三, 吉田 博, 衛生化学, **23**, 365 (1977)。

実験方法

試料 慶応義塾大学において昭和48年3月より昭和49年8月までに司法解剖に付された男女10人の腹部皮下脂肪組織で分析に供するまで凍結保存した。各試料の性別、年齢および解剖年月を Table I に示す。

試薬 前報の生体内試料中の PCN 分析法の試薬に同じ。

装置 ① ガスクロマトグラフ——島津ガスクロマトグラフ 5A にエレクトロンキャプチャー検出器(^{63}Ni)を装置したものを用い、ガラスカラム内径 (3 mm, 長さ 1.5 m) に 2% シリコン OV 225/Gas Chrom Q (100—120メッシュ) を充填し、240°において48時間エージングしたものを接続する。

② ガスクロマトグラフ・質量分析計——日立 RMU-6 M を用い、ガスクロマトグラフのカラムにはガラスカラム (内径 3 mm, 長さ 1 m) に前記同様の担体を充填し用いた。

実験 1 PCN 標準物質のガスクロマトグラフィー・質量分析 (GC-MS)——ガスクロマトグラフ・質量分析計におけるカラム, 注入口, セパレーターおよびイオン源の温度をそれぞれ 160°, 260°, 300° および 180° に設定し, イオン化電圧を 20 eV とし, キャリヤーガスにヘリウムを用い, 流量圧を 0.5 kg/cm² に設定した。

PCN 標準物質 (和光純薬規格) のヘキサン溶液を注入し, 16分以後は 5°/min の昇温で 210° まで測定した。得られたガスクロマトグラムの各ピークについて質量分析を行った。

実験 2 人体脂肪組織中の PCN の GC-MS フラグメントグラフィー——人体脂肪組織 (No. 10) 40 g を細切してフラスコに入れ, 0.5N 水酸化カリウム・エタノール溶液 1 l を加え, 1 時間加熱還流しけん化を行った。

TABLE I. Source of Human Adipose Tissue Samples

Sample No.	Age	Sex	Autopsy date
1	25	M	Sept. 11 (1973)
2	28	M	Mar. 23 (1973)
3	32	M	May 29 (1973)
4	34	M	June 10 (1974)
5	38	M	Apr. 24 (1973)
6	38	M	May 27 (1974)
7	59	W	Aug. 16 (1974)
8	60	M	Oct. 29 (1973)
9	64	M	Dec. 8 (1973)
10	73	W	Nov. 21 (1973)

M=man, W=woman.

以下前報 PCN 分析法に従って PCN 画分を分離した。なお薄層クロマトグラフィーによる PCN と PCB の分離操作においてはポリアミドシートを5枚用いた。

PCN 画分について5塩素置換 PCN の分子イオン m/e 298 および 300 のピークを用いてガスクロマトグラフィー・質量分析 (GC-MS) フラグメントグラフィーを行った。さらに同条件において PCN 標準物質においても測定し比較した。

実験 3 人体脂肪組織中の PCN のガスクロマトグラフィーによる定量——人体脂肪組織 6.0 g を細切してフラスコに入れ, これに 0.5N 水酸化カリウム・エタノール溶液 150 ml を加え, 実験 2 と同様にけん化を行った。以下前報 PCN 分析法に従って操作し, ガスクロマトグラフィー用試験溶液を得た。なお, この溶液は全量 1.0 ml に濃縮した。

ガスクロマトグラフィー条件はカラム, 注入口および検出器の温度をそれぞれ 180°, 230° および 250° とし, キャリヤーガスに 超高純度窒素 (99.999% 以上) を用い, その流量は 1 分間 60 ml に設定した。なお標準物質には PCN 標準物質 (和光純薬規格) を同様用いた。

結果および考察

PCN の GC-MS

Fig. 1 に示す PCN ガスクロマトグラムの各ピークについて質量分析を行った結果を Table II に示す。

なお GC-MS スペクトルグラム (ピーク No. 6) の 1 例を Fig. 2 に示す。

PCN 標準物質は 3—6 塩素置換体からなっており, なかでも PCN の主要構成成分 (ピーク No. 6) は主として 4 塩素置換体からなっていることが知られた。

Fig. 1. Gas-chromatogram of PCN

TABLE II. Mass Spectra of PCN Compositions Constituting Peaks (No. 1—12) in Gas-chromatogram shown in Fig. 1

Peak No.	M ⁺	Number of substituted Cl	Empirical formula
1	230	3	C ₁₀ H ₅ Cl ₃
2	264	4	C ₁₀ H ₄ Cl ₄
3	264	4	C ₁₀ H ₄ Cl ₄
4	264	4	C ₁₀ H ₄ Cl ₄
5	264	4	C ₁₀ H ₄ Cl ₄
6	264, 298	4, 5	C ₁₀ H ₄ Cl ₄ , C ₁₀ H ₃ Cl ₅
7	264, 298	4, 5	C ₁₀ H ₄ Cl ₄ , C ₁₀ H ₃ Cl ₅
8	298	5	C ₁₀ H ₃ Cl ₅
9	298	5	C ₁₀ H ₃ Cl ₅
10	298	5	C ₁₀ H ₃ Cl ₅
11	298	5	C ₁₀ H ₃ Cl ₅
12	332	6	C ₁₀ H ₂ Cl ₆

Fig. 2. Mass Spectrum of Polychlorinated Naphthalenes Composition Constituting Peak No. 6 in Gas-Liquid Chromatogram shown in Fig. 1

人体脂肪組織中の PCN の同定

人体脂肪組織 (No. 10) 40 g から分離した PCN 画分のガスクロマトグラフィーにおいて、得られたガスクロマトグラム上の各ピークの保持時間は PCN 標準物質の各ピークの保持時間とよく一致した。さらに人体脂肪組織からの PCN 画分と PCN 標準物質について 5 塩素置換体の分子イオンおよび同位体イオン m/e 298 および

Fig. 3. Gas-chromatography-Mass Fragmentography of PCN and PCN Fraction obtained from a Human Adipose Tissue

300 において GC-MS フラグメントグラフィーを行った結果を Fig. 3 に示す。

人体脂から得られたフラグメントグラムにおいて PCN 標準物質の各ピークの同一保持時間にそれぞれピークが出現し、明らかに人体脂 (No. 10) 中に PCN が存在していることが確認された。

人体脂肪組織中の PCN の組成

既に人体脂肪組織中に蓄積されていることが明らかである PCB においてはその組成が 4—6 塩素置換体が主体となっていることが知られており、塩素置換数の多いものほど残留性が大きい傾向がある。⁶⁻⁹⁾ しかしながら PCN においては人体脂 10 例から得られたガスクロマトグラムのパターンはいずれも PCN 標準物質のそれによく一致し、塩素置換数の多い PCN が蓄積しやすいという傾向は観察されない。この事は PCN が蓄積性あるいは代謝において PCB と明らかに相違していることが知られた。人体脂中の PCN ガスクロマトグラムの一例と PCN 標準物質のガスクロマトグラムをそれぞれ Fig. 4 および Fig. 5 に示す。

6) 竹下隆三, 鈴木正成, 林 路彰, 衛生化学, **20**, 256 (1974).

7) 菊池昌弘, 増田義人, 臨床病理, **21**, 422 (1973).

8) 高松 誠, 科学, **44**, 755 (1974).

Fig. 4. Gcs-chromatogram of PCN Fraction Obtained from a Human Adipose Tissue

Fig. 5. Gas-Liquid Chromatogram of Polichlorinated Naphthalenes

Column: 2% Silicone OV-225 on Gas Chrom Q (100-120) (1.5 m × 3 m I.D.).
Column temp.: 175°, Injection port temp.: 230°,
Detector temp.: 250°, Carrier gas flow: N₂ 60 ml/min.

さらに人体脂中の PCN パターンのうち、ピーク No. 6 高に対する他のピーク高の比すなわち相対ピーク高は標準物質のパターンにおけるその相対ピーク高より大きく、PCN が環境へ放出されてから人体脂へ蓄積する過程においてピーク No. 6 の構成成分が他のピークの構成成分より不安定であるかあるいは代謝されやすい傾向を持っていると推定される。

人体脂肪組織中の PCN 濃度

人体脂肪組織10例の各 6.0 g をとり、PCN 画分を分離し、PCN 標準物質 (和光純薬) を用いて PCN を定量した。各試料中の PCN 濃度を Table III に示す。

分析した人体脂肪組織中の PCN 濃度は極めて低く、通常人体脂肪組織中に蓄積している PCB 濃度⁹⁻¹⁴⁾ の 1/500—1/1000 の濃度にとどまる。これは PCN の環境汚染レベルが極めて低いことによるのか、あるいは PCN が人体中で代謝を受けやすく、蓄積量が低いものと考えられる。

試料の数が少ないので明確ではないが、年齢あるいは性別による蓄積量の差は特に観察されず、また顕著に PCN を蓄積している例は見出されなかった。

TABLE III. Concentration of PCN in Human Adipose Tissues

Sample No.	Concentration (ppb)
1	3.1
2	4.7
3	16.9
4	5.1
5	10.9
6	3.8
7	8.1
8	2.8
9	2.8
10	6.7

結 論

年齢層の異なる人体脂肪組織 10 例について含まれる PCN について GC および GC-MS により分析した。

各試料をアルカリ性エタノール溶液を用いてけん化し、水で希釈したのちヘキサンで抽出した。抽出液を濃硫酸で処理し、さらにシリカゲルクロマトグラフィーに

- 9) 日本公衆衛生協会, 「特集 PCB」環境保健レポート, No. 14 (1972).
- 10) 水谷民雄, 松本正義, 藤原邦達, 医学のあゆみ, **81**, 666 (1972).
- 11) 増田義人, 香川梨絵, 倉恒匡徳, 福岡医誌, **65**, 17 (1974).
- 12) L. Acker, E. Schulte, *Natnrwiss.*, **57**, 497 (1970).
- 13) "PCBs and the Environment," Interdepartmental Task Force on PCBs, Washington, D. C., (1972).
- 14) 喜多村正次, "PCB 等汚染物質の生体内動向とその分析方法に関する研究," 環境残留有機物質研究会, 1973, p. 11.

より精製した。ここで得られた溶液には PCN と同時に PCB が含まれるので、ポリアミド担体を用いた薄層クロマトグラフィーにより両者を分離した。得られた PCN 帯よりヘキサンを用いて定量的に溶出し、試験に供した。

得られたガスクロマトグラムのおいでも、各ピークのパターンは PCN 標準物質のパターンとよく一致し、また GC-MS により PCN を確認した。PCN の塩素置換数の多少の差は蓄積性に影響を与えず、PCB のように塩素置換数の多いものほど蓄積性が大となる傾向は全く観察されなかった。

人体脂肪組織中の PCN 蓄積量は PCB 蓄積量に比

てかなり低く、1/500—1/1000 に相当していることが知られた。しかしながら人体脂肪組織中に PCN が存在することは既にそれによる環境の汚染が成立していることを示すものであり、その汚染防止対策の上からそれによる環境汚染の実態把握、さらに人体汚染経路の追跡が必要と考える。

謝辞 人体脂肪組織を御提供下さった慶応義塾大学医学部教授・土屋健三郎博士に深謝致します。また GC-MS 測定に御協力下さいました日立製作所那珂工場応用技術センター 秋森伯美氏に感謝致します。