人工暴露室に於て m-Xylene 200 p. p. m. 吸入時の尿中 m-メチル馬尿酸量及び生理的機能の変動について

(Thinner 中毒第6報, 有機溶剤中毒第10報)

緒方 正名*, 長尾 逸子*

URINARY m-METHYL HIPPURIC ACID EXCRETION AND PHYSIOLOGICAL CHANGES IN PERSONS EXPOSED TO 200 P. P. M. m-XYLENE IN AN EXPOSURE CHAMBER

(STUDIES ON THE THINNER POISONING 6, ON THE ORGANIC
SOLVENT POISONING 10)

Masana OGATA† and Itsuko NAGAO†

For elucidation of the relationship between the m-xylene concentration in the air and the amount of m-methyl hippuric acid (m-M. H. A.) excreted in the urine as a metabolite, experiments were carried out in an exposure chamber. The volunteers were exposed to m-xylene at 200 p. p. m. for three hours in the morning and for four hours in the afternoon with one hour intermission in between.

Results obtained were as follows.

1) Course of the excretion of urinary m-M. H. A.

The excretion increased rapidly from the beginning to two hours of exposure. During the intermission of one hour a decrease was observed. In the afternoon a similar excretion curve to that of the morning was obtained, except that the urine collected at the beginning had a relatively high level of m-M. H. A.. The concentration recovered to the zero level after completion of exposure for 18 hours.

2) Maximum allowable concentration (M. A. C.) and maximum allowable excretion per minute (M. A. E.) of urinary m-M. H. A.

M. A. C. of m-M. H. A. (mg/ml) corresponding to 200 p. p. m. of m-xylene was 3.59 in the morning urine, 5.79 in that of the afternoon, and 4.56

throughout the working time. M. A. C. corresponding to 200 p. p. m. of m-xylene and corrected to the specific gravity of 1.024 of the urine by Elkins, was 3.19, 5.58 and 5.32 respectively and M. A. E. (mg/min) corresponding to 200 p. p. m. of m-xylene was 3.89, 4.44 and 4.10. Screening level of the concentration of urinary m-M. H. A. (mg/ml) corresponding to 200 p. p. m. of m-xylene was 2.94, 4.88 and 4.07 respectively, that of concentration (mg/ml) corrected to the specific gravity of 1.024 was 2.73, 4.25 and 5.08 and that of excretion (mg/min) was 3.00, 3.34 and 3.26, taken as $m-u$ value ($u^2 = \frac{1}{N-1}$

$\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2$). These values were calculated by interpolation on the line indicating the relation between m-xylene concentration and the amount of urinary m-M. H. A.

3) Physiological changes

In one volunteer out of five the decrease in the pulse rate and prolongation of the reaction time were recognized.

Note: Level of 200 p. p. m. of xylene corresponds to TLV by ACGIH

気中濃度と尿中馬尿酸 (Hippuric acid, 以下 H. A. と略) 量の関係および Volunteer の生理的機能の変動について報告した。また私達²⁾は m-Xylene の代謝産物である m-メチル馬尿酸 (m-Methyl hippuric acid 以下 m-M. H. A. と略) の新しい定量法について発表を行っている。

しかしながら現在まで m-Xylene 吸入時の尿中 m-M.

緒 言

前篇¹⁾において私達は人工暴露室をもちいて, Toluene

*岡山大学医学部公衆衛生学教室 (主任: 緒方正名教授)

昭和42年7月19日受付, 普通掲載

†From the Dept. of Public Health (Director: Prof. M. Ogata), Okayama University Medical School.

Received for publication, July 19, 1967.

H. A. の排泄量についての研究は全く行なわれていない。今回私達は Volunteer が人工暴露室中において、Xylene の許容濃度である 200 p. p. m. の m-Xylene を、作業現場とほぼひとしい時間条件のもとで吸入したさいの尿中 m-M. H. A. の排泄量をもとめ、同時にそのさいの生理的機能の変動について測定を行なったのでここに発表する。

実験材料並びに実験方法

実験材料

1. 人工暴露室：前篇¹⁾に述べた人工暴露室中で m-Xylene 200 p. p. m. の定常濃度において、作業場とほぼひとしい条件、すなわち午前中 3 時間、1 時間休憩、午後 4 時間の条件のもとで、5 名の Volunteer、に m-Xylene を吸入せしめた。
2. 検査尿の採集：午前中の入室直前、入室後 0.5, 1, 1.5, 2, 3 時間、続いて出室し 1 時間休息後、午後に再度の入室直前および午後入室後 0.5, 1, 1.5, 2.5, 4 時間（出室）、出室後 1, 3, 5, 7, 14（翌朝起床時）、18 時間（翌日昼食時）の各 18 回に採尿を行なった。なお採集尿の m-M. H. A. 濃度はほぼ零 value に復帰していた。

実験方法

1. m-Xylene 気中濃度測定法：北川式検知管法（真空法）と、紫外部測定法³⁾を併用して 15 分毎に測定を行なった。紫外部測定法は Midget impinger をもちいて、空気 10 l を吸引し、冷 Ethanol 5 ml, 2 本を入れた吸引瓶に吸収させた後、Spectrophotometer (Hitachi 139 型) をもちい、波長 266 m μ で吸収液の吸光度を測定し、m-Xylene の標準液と比色して吸収液中の m-Xylene 濃度をもとめ、気中濃度に換算した。
2. 尿中 m-M. H. A. 及び H. A. の定量法：Volunteer の尿中 m-M. H. A. の定量は既報²⁾による Paperchromatography によって行なった。すなわち試料尿 1 ml を共栓付試験管にいれ、NaCl 0.3 g を加えてよくふり、濃 HCl を 2 滴滴下して約 pH 2 とし、よく混合した。ついで酢酸エチル 2 ml をいれて抽出し、上層をとりこの抽出液 0.1 ml を沓紙（東洋沓紙、Paperchromatography 用、No. 51, 40×40 cm）に H. A. のさいと同様に尿を spot し、標準液として H. A. 液 (2 mg/ml), m-M. H. A. 液 (2 mg/ml) の等量混合液をおなじ条件で抽出し、その抽出液 0.1 ml を 1 枚ごとに spot した。ついで Toluene, 氷酢酸, 水 (100 ml : 50 ml : 2.5 ml 弱) をもちい、沓紙を円筒に巻き一次元上昇法で 4～6 時間展開した後、風乾後、D. A. B. 試薬により加熱発色

し、m-M. H. A., H. A. の spot を切りだし、抽出後 460 m μ の吸光度を測定し、定量した。対照は等量混合液よりの H. A., m-M. H. A. の spot をもちいた。

3. 尿比重の測定：臨床検査用電気尿比重計、Speegrav Model 101 (BRUNSWICK CORPORATION) をもちいて、測定を行なった。

4. 生理的機能の測定：血圧の測定は聴診法⁴⁾によって行ない、最高血圧および最低血圧の測定を 30 分間隔で行なった。脈搏数は 1 分間測定値をもちいた。フリッカー値の測定はフリッカー値測定器（柴田化学, Co.）をもちい、反応時間の測定は反応時間測定器（山越製作所）をもちいた。

実験成績

1. 人工暴露室中の m-Xylene 気中濃度：m-Xylene の気中濃度を 200 p. p. m. に調節して測定を行なった。気中濃度の分散を少ないように調節したさいのそれを、15 分毎に北川式検知管をもちいて測定した平均値は 185 p. p. m., 紫外部測定法で測定したそれは 168 p. p. m. であった。すなわち両法による測定値の間に著明な差異は認められなかった。測定値の平均気中濃度は設定濃度と多少の差異があるので、200 p. p. m. に相当する尿中 m-M. H. A. の濃度、時間排泄量をもとめるには、実測した m-Xylene 濃度が 200 p. p. m. の近傍にあり、かつ既報⁵⁾の如く m-Xylene の気中濃度と尿中 m-M. H. A. の濃度、時間排泄量がほぼ平行する事実より挿入法をもちいて算出した。なお、m-Xylene 気中濃度の実測値としては、作業場との関係を考慮して検知管法を採用した。
2. m-M. H. A. 排出経過に伴う m-M. H. A. の濃度、時間排泄量の変動：5 名の Volunteer を午前中 3 時間入室、1 時間出室、午後 4 時間入室の条件における m-M. H. A. および食餌性 H. A. (後述) の排泄量 (m 及び σ) は [Fig. 1] にしめす如くである。すなわち、m-M. H. A. の濃度、時間排泄量はいずれも 0～2 時間には急激に上昇するが、2～3 時間では上昇速度は減少し、平衡状態に達する傾向が認められた。また 1 時間休憩中に濃度、時間排泄量の増加は停止し、午後における濃度、時間排泄量は入室後 2 時間（4～6 時間）では上昇の傾向が認められたが、2～4 時間（6～8 時間）では平衡状態に達した。そして出室以後 4 時間まではそれらは急激に減少した。そして m-M. H. A. の排泄経過は Toluene 吸入のさいの尿中 H. A. のそれとほぼ同様であった。

註：Fig. 1 右下の Y 軸の m-M. H. A. concentration は m-M. H. A. excretion per min. である。

Fig. 1. Course of the concentrations and excretions per minute of m-methyl hippuric acid and intrinsic hippuric acid in the urine of volunteers exposed to 200 p.p.m. m-xylene for 7 hours.

Tab. 1 Concentrations and excretions per minute of the urinary m-M.H.A. and their screening levels after the exposure to 200 p.p.m. m-xylene for 7 hours (five volunteers).

subj.	hours		0~3	4~8	0~8
conc.	mg/ml measured	<i>m</i>	3.59	5.79	4.56
		<i>m-u</i>	2.94	4.88	4.07
	mg/ml corrected*	<i>m</i>	3.19	5.58	5.32
		<i>m-u</i>	2.73	4.25	5.08
exc. per min.	mg/min.	<i>m</i>	3.89	4.44	4.10
		<i>m-u</i>	3.00	3.34	3.26

*corrected to the value of m-M.H.A. specific gravity of the urine at 1.024.

3. 入室中の排泄量と総排泄量との比較：入室後26時間（出室後18時間）には Volunteer の尿中 m-M. H. A. 濃度はほぼ零にまで回復しているの、これ迄の排泄量を100%とした。この総排泄量にたいする入室中（ただし、0~8時間で、昼食時出室をふくむ）の m-M. H. A. 排泄量の比は61.0%であり、Toluene 7時間吸入の例¹⁾の

H. A. 排泄比55.0%とほぼ近い値をしめした。なお入室より10時間までの比率は81.0%, 14時間までのそれは90.8%, 21時間までのそれは96.6%であった。一般に m-Xylene の m-M. H. A. としての排泄は比較的すみやかであると考えられる。

4. m-Xylene 吸入のさいの尿中 m-M. H. A. の濃度、時間排泄量の平均値と尿中 m-M. H. A. 量による Screening level : [Tab. 1] は m-Xylene 気中濃度 200 p. p. m. 吸入のさいの 0~3時間（午前尿）、4~8時間（午後尿）、0~8時間（全作業尿）濃度および Elkins⁶⁾に従う尿比重1.024としての補正値および時間排泄量についてしめしたものである。本表のうち、算術平均 (*m*) は平均吸入濃度を逆算するための基準値であって、Screening level (*m-u*) は 200 p. p. m. 吸入者を check するさいに、見落しの誤差を少なくするために設定した値である。作業場において、午前尿より平均吸入濃度および上述の Screening level をもとめるには 0~3時間尿の値を、ついで午後尿よりそれ等をもとめるには 4~8時間尿を、さらに全作業尿よりそれ等をもとめるには 0~8時間尿の値を使用する必要がある。なお全

作業尿における 200 p. p. m. m-Xylene 吸入時の尿中 m-M. H. A. の排泄量および Screening level (括弧内) は、濃度で 4.56 (4.07) mg/ml, 尿比重1.024補正濃度で 5.32 (5.08) mg/ml, 時間排泄量で 4.10 (3.26) mg/min であった。なお午前尿の時間排泄量および Screening level (括弧内) の値は 3.89 (3.00) mg/min であって既報⁵⁾の3時間 200 p. p. m. 吸入群の6名よりの 3.54 (2.99) mg/min の値と大差は認められなかった。なお m-M. H. A. の総排泄量の算術平均 ($\bar{m}$) は 2889 mg であり, Screening level ($m-u$) は 2350 mg であった。

5. 前日吸入の影響について: 前報¹⁾と同様にして算出したさい, すなわち午後5時(入室後8時間)出室時を作業終了時と仮定し, 夜間睡眠時尿として午後10時より翌朝7時まで(入室後13時~22時)の尿の濃度および時間排泄量は 0.89 mg/ml, 0.57 mg/min であり, 翌朝尿として翌朝7時より9時まで(22時~24時間)の尿では 0.58 mg/ml, 0.35 mg/min であった。すなわち前日吸入のさいの m-M. H. A. は翌日の作業中尿に影響をおよぼすことが推定される。とくに夜間尿が作業前尿にふくまれる場合はその影響が甚しい。それ故に作業前尿として翌日排尿後のものをもちいることが必要であり, かつこの値が高かった場合には翌日の午後尿をもちい〔Tab 1〕より平均吸入濃度を算出する必要があると考えられる。

6. 正常尿中の m-M. H. A.: 正常尿中には H. A. は証明されるが m-M. H. A. は全く証明されなかった。

7. m-M. H. A. の排泄に伴う H. A. 排泄量の変動: 200 p. p. m. m-Xylene 吸入時に m-M. H. A. の排泄の増加に伴う H. A. の排泄の存否については Glycine 抱合の機能の余力の存否について, また m-M. H. A. を H. A. とともに簡便定量法 (Spot 法²⁾) で定量するさいの誤差の点より考えて, 重要な問題である。〔Fig. 1〕にしめす如く H. A. 排泄量は午前中より午後において減少する点は, m-M. H. A. の排泄の増加と対応しているが, 出室後に m-M. H. A. の減少に伴う回復は認められない。また正常人10名の H. A. 量の午前中 (9~12時), 午後 (12~5時), 夜 (5~翌朝9時) の排泄経過は, 時間排泄量では 0.31 mg/min, 0.16 mg/min, 0.19 mg/min と減少する傾向があるので, 午後および夜の H. A. 排泄の減少が m-M. H. A. の排泄に影響されたものか, 正常の経過に従って減少したものか, という点についてはあきらかでなかった。おそらく Glycine 抱合力は未だ限界には達していないと推定される。

Tab. 2 Physiological changes of volunteers after exposure to 200 p. p. m. of m-xylene ($m \pm \sigma$)

Items examined	hrs ppm	morning		afternoon	
		0	3	4	7
Puls rate	200	79 $\pm$ 10	74 $\pm$ 6	76 $\pm$ 6	70 $\pm$ 10
	0	89 $\pm$ 7	84 $\pm$ 6		
Systole Press.	200	116 $\pm$ 18	116 $\pm$ 11	116 $\pm$ 10	118 $\pm$ 19
	0	114 $\pm$ 6	110 $\pm$ 11		
Diastol. Press.	200	70 $\pm$ 16	75 $\pm$ 17	64 $\pm$ 13	77 $\pm$ 21
	0	76 $\pm$ 2	71 $\pm$ 9		
Flicker value (%)	200	100	106 $\pm$ 1	103 $\pm$ 6	98 $\pm$ 8
	0	100	89 $\pm$ 4		
Reac. time*	200	18.9 $\pm$ 2.4	18.7 $\pm$ 0.1	14.3 $\pm$ 3.1	19.2 $\pm$ 2.7

*10⁻² sec.

8. m-Xylene 吸入時の生理的変動について: m-Xylene を5名の Volunteer に吸入させた後の生理的変動を午前, 午後にわたってしらべた。その成績は〔Tab. 2〕にしめす如くである。すなわち脈搏数は午前入室中に減少し, 1時間の出室によってやや回復し, 午後入室中にさらに減少をしめした。すなわち午前, 午後を通じて入室時, 79/min より出室時 70/min に減少したが, 午前中の減少度は 0 p. p. m. 吸入群と差異は認められなかった。しかしながら Volunteer の1名 (Fu) のそれは午前中80より75に減少し, ついで午後に80より60に減少をしめしていた。すべての Volunteer において最高血圧, 最低血圧ではいずれも有意の変動は認められなかった。またフリッカー値においても, 0 p. p. m. 吸入群にくらべてとくに著明な減少は認められなかった。反応時間は午後にやや延長する例が認められたが, 脈搏数の減少した1名 (Fu) においては午前中 63 $\times$ 10⁻² sec. より82 $\times$ 10⁻² sec. に延長し, 午後 87より 93 $\times$ 10⁻² sec. に延長した。以上を総括すると, 人工暴露室における m-Xylene の 200 p. p. m. 7時間吸入の条件は Volunteer の5名について, 算術平均では対照にくらべてとくに生理的機能の低下は認められなかったが, m-Xylene に敏感とおもわれる1名においては脈搏数の減少と, 反応時間の増加が認められることがあきらかとなった。

考 按

排尿時間について: 前報の Toluene の場合と同様に, 入室後0~2時間で排泄される m-M. H. A. は濃度, 時間排泄量では急激に減少し, 以後平衡に達する。また午

後尿の測定値は午前尿のそれよりあきらかに高い。それ故に、作業現場では午前尿、午後尿、全作業尿などのいずれかの採尿時間を一定にしたものについて定量を行ない、それぞれの基準値〔Tab. 1〕をもちいて平均吸入濃度を換算する必要がある。

m-Xylene 吸入量と尿中 m-M. H. A. 量との関係：吸入された m-Xylene の何割が尿中に m-M. H. A. となるかを測定するために尿中 m-M. H. A. 量と Spirometer で測定した Volunteer の呼吸量より、前報とおなじく Gerade の式⁷⁾に従って計算を行なった。各人の排泄量の平均値は73.1%であり、Toluene 200 p. p. m. の値71.3%とほぼひとしかった。

Toluene の排泄経過との比較：m-Xylene が吸入された後の m-M. H. A. としての排泄経過、排泄量は、Toluene の H. A. としての排泄経過および排泄量と大差は認められない。それ故に両者をふくんで定量する方法 (spot 法等²⁾) をもちいても、Toluene および Xylene の和としての平均吸入濃度を推定することができる。

生理的機能の変動について：人工暴露室では R. M. R. が低いため、作業現場より条件がよいことは考慮しなければならないが、200 p. p. m. の Xylene 吸入の条件の下では5名中1名に生理的機能の低下が認められた。それ故 200 p. p. m. は生理的機能より考えてもほぼ限界濃度であると推定できる。

結 論

私達は Xylene の忍限量である 200 p. p. m. の濃度で m-Xylene を吸入した場合の尿中 m-M. H. A. 量をもとめるために、人工暴露室において m-Xylene, 200 p. p. m. を作業現場とひとしい条件、すなわち午前中3時間入室、1時間休憩、午後4時間入室の下で、Volunteer に m-Xylene を吸入させた。そして吸入前後の尿中 m-Xylene の排泄量を測定し、以下にしめす成績をえた。

2. 尿中 m-M. H. A. 排泄量の時間的経過：午前中3時間吸入時の尿中 m-M. H. A. の排泄経過は0～2時間で急激に増加し、2～3時間で平衡状態に達した。ついで1時間の休憩中に尿中 m-M. H. A. の排泄量はやや減少したが、午後入室0～2時間に急激にそれは上昇し、2～4時間で平衡状態に達した。尿中 m-M. H. A. の排泄は入室後4時間までに急激に減少し、入室18時間後に

はほとんど認められなくなった。

2. 200 p. p. m. の m-Xylene に相当する尿中 m-M. H. A. 濃度、時間排泄量の忍限量および Screening level について：200 p. p. m. の m-Xylene 吸入に相当する Volunteer の尿中 m-M. H. A. の算術平均値 (忍限量) を、午前尿 (0～3時間尿)、午後尿 (4～8時間尿)、全作業尿 (0～8時間尿) の順序に記載すれば濃度では3.59, 5.79, 4.56 mg/ml であり、比重1.024補正濃度では、3.19, 5.58, 5.32 mg/ml、時間排泄量では、3.89, 4.44, 4.10 mg/min であった。ついで 200 p. p. m. 吸入者を check するための Screening level ($m-u$) を午前尿、午後尿、全作業尿の順に記載すれば、濃度では2.94, 4.25, 5.08 mg/ml、比重補正濃度では2.73, 4.25, 5.08 mg/ml、時間排泄量では3.00, 3.34, 3.26 mg/min であった。

3. 正常尿中の m-M. H. A. 量：正常尿中には m-M. H. A. は検出されなかった。

4. m-M. H. A. の排泄に伴う食餌性 H. A. 排泄量の変動：m-Xylene 吸入後の m-M. H. A. の排泄に伴って、H. A. の排泄量は、午前にくらべて午後および夜間に減少するが、正常時の食餌性 H. A. の排泄もおなじ排泄経過であるので、H. A. の排泄が、m-M. H. A. に影響されているか否かは判定できなかった。

5. 生理的機能の変動：Volunteer 5名の内1名に脈搏数の減少、反応時間の延長が認められたが、その他の点においては著明な生理的変動は認められなかった。

註：尚本稿における 200 p. p. m の Xylene 濃度は A CGIH の 200 p. p. m の TLV 濃度に相当する。

稿を終るに当り御援助を戴いた友国勝應、室井小枝、長谷川朝子氏に感謝の意を表わす。本論文の要旨は昭和41年、第39回産業医学会に発表した。

文 献

- 1) 緒方正名・他：産業医学，10(2)，64，1968.
- 2) 緒方正名，長尾逸子：産業医学，9 (4)，434，1967.
- 3) 実験化学講座，I，基礎技術 I (上)，150，1957. 丸善株式会社，東京.
- 4) 今井 泉：臨床検査提要，改訂増補，第21～23版，1964，金原出版株式会社.
- 5) 緒方正名・他：産業医学，8 (3)，204，1966.
- 6) Elkins, H. B. and Pagnotto, L. D.: American Industrial Hygiene Association Journal, 26 (5), 456, 1965.
- 7) Gerarde H. W.: Ind. Hyg. and Toxic., 2nd. ed. by Patty. F. A., 1226. 1962. New York/London.