

# モノクロロベンゼン中毒に関する研究

## 第 2 編

### モノクロロベンゼン暴露後のマウス臓器内分布

岡山大学医学部公衆衛生学教室（主任：緒方正名教授）

嶋 田 義 弘

（昭和62年11月28日受稿）

Key words：モノクロロベンゼン，臓器分布，生物学的半減期  
ガスクロマトグラフィーバイアル平衡法

## 緒 言

モノクロロベンゼンは、主要な染料中間体（アニリン、フェノール、クロロニトロベンゼンなど）の原料、DDTの原料（わが国では、その毒性および残留性が問題とされ、1971年5月以降、使用されていない）、またエチルセルロース、松脂、ペイント、ワニス、ラッカーなどの溶剤、混合溶剤用として多年にわたり広く使用されている。急性中毒では、中枢神経系の抑制作用、麻酔作用<sup>1)</sup>があり、頭痛、めまい、吐き気、意識消失などを生じる。亜急性、慢性中毒では肝臓<sup>2)</sup>、腎臓<sup>3)</sup>の壊死、変性がおこることが知られている。モノクロロベンゼンのこれらの毒性作用は塩素化炭化水素にみられるもので、基本骨格物質であるベンゼンのような造血器官への作用はなさそうである<sup>4)</sup>。しかしながら毒性に関する情報は他の有機溶剤に比較して少なく<sup>1)</sup>、最近、森<sup>5)16)</sup>の生体膜に対する作用、吉田ら<sup>7)</sup>の肝グルタチオン合成系に対する作用などの報告がでてきたが、生体内動態に関する報告は少ない。

ACGIH（アメリカ政府関係産業衛生専門家会議）ではTLVを75ppmとしており、この値は、麻酔作用や慢性中毒を避けるために十分低い濃度であるとしている。日本産業衛生学会でも同様に75ppmを許容濃度としている。また労働省による管理濃度（作業環境管理の良否の判断基準）も75ppmである。そして有機溶剤中毒予防規則で

第2種に分類されている。

一般に、生体内に浸入した化学物質の毒性の性質およびその強さは、その物質本来の細胞組織での害作用にもとずくと同時に、その物質がどの組織に、いかなる濃度で、どれだけの時間、どういう形で存在するかということによっても大きく影響を受ける<sup>8)</sup>。有機溶剤の場合は、肺を通して、血液/大気の分配係数に比例して、肺胞から血液中に取り込まれた<sup>9)</sup>後、血液を通して全身の臓器に運ばれ、組織へ分布していく。そして肝臓などの組織で代謝を受け、最終的には尿中へ排出される。また一部は血液を通して肺から未変化のまま呼出される。特に有機溶剤は脂溶性が高く、容易に中枢神経系その他の脂質に富む組織に入り込んでいく。著者は前報<sup>10)</sup>においてモノクロロベンゼンの尿中代謝産物の定量法について報告したが、今回は、モノクロロベンゼンの生体に与える影響を調べるための研究の一環として、マウスにモノクロロベンゼン500ppmを1時間暴露吸入させた際の、各臓器への分配性と、経時変化を調べ、それによりモノクロロベンゼンの基本的な消失動態を求めた。また現在、暴露時間と半減期の関係は、呼気の採取時間との係わりにおいて重要視されている。さらに暴露濃度と血液中の半減期の関係についても中垣ら<sup>11)</sup>の報告がある。そこで暴露濃度および暴露時間を変えて吸入させた場合の主要臓器中からのモノクロロベンゼンの消失の動態を調べた。

## 実験方法

### 1. 試薬

モノクロロベンゼン、トルエン（ガスクロマトグラフ分析の内部標準）は、和光純薬KKの試薬特級を用いた。

### 2. 実験動物

dd系雌性マウス（体重約20～30g）を用いた。飼育は温度調節した室内で、オリエンタル固形飼料を与え、水は吸引瓶で自由に摂取させた。

### 3. 暴露方法

高原<sup>12)</sup>の使用した暴露装置を用いた。暴露チャンパー内に1回の暴露にマウス4匹を入れて、モノクロロベンゼン500ppmを1時間（変動係数0.17）、300ppmを1時間（同0.25）、100ppmを1時間（同0.11）および100ppmを3時間（同0.25）暴露吸入させた。

### 4. 試料の調整

暴露終了直後、30分後、60分後および120分後に頸静脈からヘパリン溶液を添加した注射器により採血し、秤量した。ついで心臓、肺臓、肝臓、脾臓、脳、腹腔内脂肪、消化管その他の臓器を摘出し、冷生理食塩水で洗浄した後、濾紙上に移し、過剰の水分を除去した後、湿重量を測定した。

### 5. 生体試料中のモノクロロベンゼンの定量

佐藤ら<sup>13)</sup>のガスクロマトグラフバイアル平衡法に準じて行った。すなわち各摘出臓器の一部0.2gを精秤した。蒸留水でホモジネートにし、5mlに調製した。血液の場合は0.2mlに蒸留水を加えて5mlとした。この試料をあらかじめ硫酸アンモニウム5gを入れたバイアル瓶（25ml）に入れ、内部標準として、ポリエチレングリコール400（終濃度0.2%）含有のトルエンの水懸濁液（トルエン終濃度2.75 $\mu$ g/ml）を1ml加えた。アルミ箔で被ったゴム栓をし、更にアルミキャップで密封して、60℃で30分間加温振盪した後、ガスタイトシリンジを用いて気相2mlをガスクロマトグラフィーに注入した。なお検量線は、非暴露各臓器ホモジネートおよび25倍希釈血液にモノクロロベンゼンと内部標準（トルエン）を加え、同様の方法で分析し、内部標準とのピーク高比から算出して作製した。

### 6. ガスクロマトグラフ条件

使用したガスクロマトグラフは、水素炎イオン化検出器（FID）付ガスクロマトグラフ（日立063型）で、その操作条件は次の通りである。

カラム：Benton 34+DIDP 5+5% on Celite 545 A カラム温度：140℃ 窒素（キャリアーガス）流量：1.2kg/cm<sup>2</sup>（40ml/min）

水素流量：0.6kg/cm<sup>2</sup>（20ml/min） 空気流量：1.1kg/cm<sup>2</sup>（300ml/min）

### 7. 血液および組織中の総脂質の定量

Folchら<sup>14)</sup>の方法を改良したBöhlenら<sup>15)</sup>の方法によった。すなわち血液あるいは組織を1g精秤し、20倍以上のクロロホルム・メタノール（2：1）混液でホモゲナイズした。30分間放置後グラスウールを用いて濾過し、40℃で蒸発させた。その後、残渣をクロロホルムに再溶解し、同様に濾過、蒸発させ、五酸化リンで乾燥後、重量を測定した。

## 結 果

### 1. モノクロロベンゼンの臓器および血液中分布

モノクロロベンゼン500ppmを1時間吸入させた後のマウス臓器内および血液中への取り込み量をTable 1に示し、また各臓器内濃度をTable 2に示した。

#### (a) 暴露終了直後の比較

各臓器内および血液中への取り込み量の分布（Table 1）では、血液が最も高く、消化管、肝臓が続き以下、腎臓、脳さらに肺臓、心臓、脾臓の順序であった。これを濃度で見ると（Table 2）、腹腔内脂肪が最も高く以下、肝臓、腎臓、血液、心臓、脳、脾臓が続き、さらに消化管、肺臓の順序であった。

#### (b) 経時変化

各臓器中への取り込み量の体内総残量に対する分布比の経時変化（Table 1）では、暴露終了直後では、血液、消化管、肝臓の順であったのが、120分後には比較的、脳、腎臓に分布が高くなる傾向がみられた。また濃度の経時変化（Table 2）からみても、減少度の低いのは、腹腔内脂肪、腎臓、脳であった。

### 2. 排泄動態

Table 1 Distribution of monochlorobenzene among the organs of mice after exposure to 500ppm of monochlorobenzene for 1 hour.

	Amount ( $\mu\text{g}$ ) and distribution ratio (%)									
	0 min.		30min.		60min.		120min.			
G.i.tract*	30.87 $\pm$ 2.76 $\mu\text{g}$	43.52%	18.66 $\pm$ 3.76 $\mu\text{g}$	34.10%	10.53 $\pm$ 1.17 $\mu\text{g}$	24.34%	8.47 $\pm$ 1.34 $\mu\text{g}$	33.59%		
Blood	34.39 $\pm$ 7.88	48.48	19.51 $\pm$ 3.95	35.65	14.45 $\pm$ 5.70	33.39	8.07 $\pm$ 1.67	32.00		
Liver	24.85 $\pm$ 4.27	35.03	15.27 $\pm$ 4.04	27.90	7.95 $\pm$ 2.17	18.37	5.90 $\pm$ 1.33	23.40		
Kidneys	6.88 $\pm$ 1.28	9.70	4.85 $\pm$ 1.02	8.86	3.73 $\pm$ 1.04	8.62	2.36 $\pm$ 0.51	9.36		
Brain	6.83 $\pm$ 0.39	9.63	4.02 $\pm$ 0.56	7.35	2.58 $\pm$ 0.19	5.96	2.10 $\pm$ 0.12	8.33		
Lungs	2.19 $\pm$ 0.23	3.09	1.81 $\pm$ 0.42	3.31	1.28 $\pm$ 0.22	2.96	0.60 $\pm$ 0.27	2.38		
Spleen	1.84 $\pm$ 0.43	2.59	0.91 $\pm$ 0.27	1.66	0.65 $\pm$ 0.19	1.50	0.42 $\pm$ 0.09	1.67		
Heart	2.04 $\pm$ 0.11	2.88	0.91 $\pm$ 0.17	1.66	0.69 $\pm$ 0.19	1.59	0.27 $\pm$ 0.02	1.07		
others**	599.44 $\pm$ 81.81	845.07	481.31 $\pm$ 98.97	879.51	390.84 $\pm$ 74.63	903.26	223.99 $\pm$ 57.64	888.25		
Total	709.34 $\pm$ 99.14	1000.00	547.25 $\pm$ 113.16	1000.00	432.70 $\pm$ 85.49	1000.00	252.17 $\pm$ 63.00	1000.00		

G.i.tract\* : Gastrointestinal tract.

others\*\* : Muscle, bone, adipose tissue and reproductive organs.

Values of amount are expressed as the mean $\pm$ SEM (n=4) .

Table 2 Concentration of monochlorobenzene in mouse organs and blood after exposure to 500ppm of monochlorobenzene for 1 hour.

	Concentration ( $\mu\text{g}/\text{g}$ fresh tissue or ml blood)			
	0 min.	30min.	60min.	120min.
Adipose tissue	127.50 $\pm$ 14.47	89.38 $\pm$ 15.43	69.54 $\pm$ 9.01	57.21 $\pm$ 8.84
Kidneys	30.04 $\pm$ 5.43	20.53 $\pm$ 5.64	17.21 $\pm$ 5.48	9.18 $\pm$ 1.46
Liver	30.39 $\pm$ 5.25	15.81 $\pm$ 4.35	9.89 $\pm$ 2.93	7.27 $\pm$ 1.56
Brain	16.50 $\pm$ 1.10	10.02 $\pm$ 1.88	6.32 $\pm$ 0.28	5.00 $\pm$ 0.27
Blood	21.23 $\pm$ 4.87	12.05 $\pm$ 2.44	8.92 $\pm$ 3.52	4.98 $\pm$ 1.03
Heart	23.61 $\pm$ 1.93	10.47 $\pm$ 2.35	8.62 $\pm$ 2.62	3.62 $\pm$ 0.63
Spleen	16.42 $\pm$ 3.27	7.90 $\pm$ 2.02	6.60 $\pm$ 1.53	3.58 $\pm$ 0.64
Lungs	10.76 $\pm$ 1.53	9.84 $\pm$ 2.27	7.81 $\pm$ 1.55	3.42 $\pm$ 1.59
G.i.tract*	10.89 $\pm$ 1.58	6.60 $\pm$ 1.65	3.49 $\pm$ 0.55	2.70 $\pm$ 0.54

G.i.tract\* : Gastrointestinal tract.

Values are expressed as the mean $\pm$ SEM (n=4) .

各臓器内および血液中濃度の経時変化を、実測値を用いて残差法および非線形最小2乗法(Gauss-Newton法)<sup>16)</sup>によりデータ解析して得た式をTable 3に示した。脳、肝臓、血液、脂肪に関しては、2つの指数項の和で表され、その以外は1つの指数項で表された。そのうち代表例として血液の消失曲線を、実測値および残差法からの理論値でFig. 1に片対数グラフで示した。消失曲線は、短い半減期を有する第1相

と、長い半減期を有する第2相の2つの指数関数曲線を合成したものであった。

### 3. 生物学的半減期

各臓器内濃度および血液中濃度の生物学的半減期を、残差法における消失係数(k)より、 $t_{1/2}=0.693/k$ で算出した。また30分での短時間のうちに比較的速やかに減少していくRapid phase(迅速相の観察値)と、60分以後、2時間までの長い領域で緩やかに減少するSlow phase(遅速相の観察値)を考え、Rapid phaseでは暴露終了直後濃度の半減期を、そしてSlow phaseでは60分時の濃度の半減期を実測値を用いて計算し、Table 4に示した。理論式(残差法)から算出した半減期と、観察値から算出した半減期では、特に脳と肝臓において差異が生じた。Rapid phaseの半減期が長い順では、肺臓、腎臓、腹腔内脂肪、脾臓、消化管、脳、血液、心臓、肝臓の順であった。しかしSlow phaseの半減期では腹腔内脂肪が2時間以上と長くなり、以下、脳>肝臓>脾臓、腎臓>血液、消化管>肺臓、心臓の順となった。また第2相の半減期によると、腹腔内脂肪>脳>肝臓>腎臓、血液>肺臓>脾臓>消化管>心臓であった。

### 4. 各臓器の脂肪含量と半減期との関係

各臓器の総脂肪含量 (X) と各臓器における第 2 相および Slow phase の半減期 (Y) との関係 を Table 5 に、また肺を除いた臓器について、脂肪含量と第 2 相の半減期の相関図を Fig. 2 に示した。相関図より、脂肪含量と第 2 相の半減期の間の回帰式は、 $\log Y = 0.007X - 0.01$  ( $r =$

$0.87$ ) ( $P < 0.05$ ) となった。また脂肪含量と Slow phase の半減期の相関については、回帰式は  $Y = 0.29 \log X + 0.84$  ( $r = 0.85$ ) ( $P < 0.05$ ) となった。さらに Table 5 より Spearman の順位相関係数を求めると、脂肪含量と第 2 相の半減期との順位相関係数は 0.86、脂肪含量と Slow phase

Table 3 Equation for elimination curves in the organs after exposure to 500ppm of monochlorobenzene for 1 hour of monochlorobenzene by residual method and nonlinear least-squares method.

	Equation for elimination curves	
	Residual method	Nonlinear least-squares method
Blood	$Y = 15.9772e^{-0.0097t} + 5.2528e^{-0.1283t}$	$Y = 15.9678e^{-0.0097t} + 5.2622e^{-0.1268t}$
Brain	$Y = 7.9885e^{-0.0039t} + 8.5115e^{-0.0357t}$	$Y = 0.0529e^{0.0333t} + 16.4471e^{-0.0170t}$
Liver	$Y = 13.4542e^{-0.0051t} + 16.9358e^{-0.0459t}$	$Y = 3.9080e^{0.0041t} + 26.4820e^{-0.0281t}$
Adipose tissue	$Y = 84.5274e^{-0.0033t} + 42.9726e^{-0.0406t}$	$Y = 31.5708e^{0.0034t} + 95.9292e^{-0.0189t}$
Kidneys	$Y = 29.2525e^{-0.0096t}$	$Y = 29.4763e^{-0.0098t}$
Heart	$Y = 20.5268e^{-0.0145t}$	$Y = 22.7897e^{-0.0190t}$
Lungs	$Y = 12.2465e^{-0.0099t}$	$Y = 11.4613e^{-0.0080t}$
Spleen	$Y = 12.1676e^{-0.0102t}$	$Y = 15.6581e^{-0.0158t}$
G.i.tract*	$Y = 9.3827e^{-0.0116t}$	$Y = 10.6918e^{-0.0155t}$

Y : Concentration of monochlorobenzene in organs ( $\mu\text{g/g}$  fresh tissue or ml blood)

t : Time (min.)

G.i.tract\* : Gastrointestinal tract

Calculation was based on the average of concentration at sampling time.

Table 4 Biological half-lives of monochlorobenzene in mouse organs after exposure to 500ppm of monochlorobenzene for 1 hour.

	Biological half-life (hours)			
	Rapid phase	Slow phase	First phase*	Second phase*
Adipose tissue	0.98	2.33	0.28	3.50
Brain	0.70	1.48	0.32	2.96
Liver	0.53	1.35	0.25	2.26
Lungs	3.86	0.96	—	1.17
Kidneys	0.91	1.26	—	1.20
Blood	0.61	1.18	0.09	1.19
G.i.tract	0.69	1.16	—	1.00
Spleen	0.48	1.27	—	1.13
Heart	0.43	0.94	—	0.80

G.i.tract\* : Gastrointestinal tract

\*Calculation was based on the equation described in Table 3.

Table 5 Total lipids in mouse organs and biological half-lives (slow phase and second phase) of monochlorobenzene in mouse organs after exposure to 500ppm of monochlorobenzene for 1 hour.

	Total lipids* (mg/g)	Biological half-life (hours)	
		Slow phase <sup>b</sup>	Second phase <sup>b</sup>
Brain	71.7 ± 19.3	1.48	2.96
Liver	58.0 ± 9.8	1.35	2.26
Spleen	25.0 ± 1.9	1.27	1.13
Kidneys	43.9 ± 3.2	1.26	1.20
Blood	5.7 ± 2.5	1.18	1.19
G.i.tract*	32.9 ± 5.7	1.16	1.00
Lungs	30.1 ± 7.2	0.96	1.17
Heart	3.7 ± 1.2	0.94	0.80

G.i.tract\* : Gastrointestinal tract

\*Mean ± SD (n=3)

<sup>b</sup>Date from Table 4.

Table 6 Ratio of monochlorobenzene concentration in organs to that in blood after exposure to 500ppm of monochlorobenzene for 1 hour.

	Ratio of organs to blood in concentration			
	0 min.	30min.	60min.	120min.
Adipose tissue	6.01	7.42	7.80	11.49
Kidneys	1.41	1.70	1.93	1.84
Liver	1.43	1.31	1.11	1.46
Brain	0.78	0.83	0.71	1.00
Blood	1.00	1.00	1.00	1.00
Heart	1.11	0.87	0.97	0.73
Spleen	0.77	0.66	0.74	0.72
Lungs	0.51	0.82	0.88	0.69
G.i.tract*	0.51	0.55	0.39	0.54

G.i.tract\* : Gastrointestinal tract

Calculation was based on values described in Table 2.

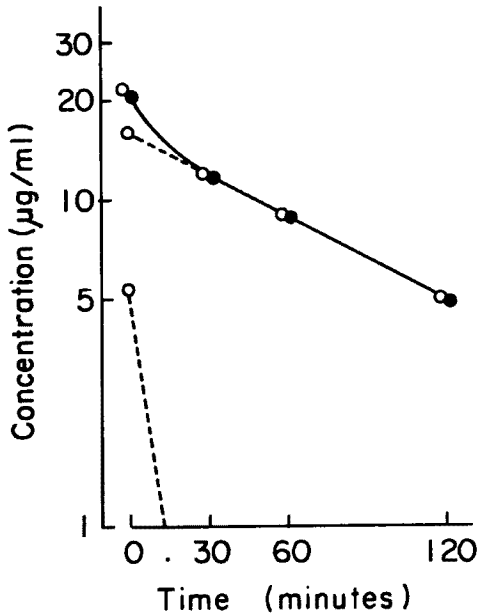


Fig. 1 Desaturation curves of monochlorobenzene in the blood of mouse after exposure to 500ppm of monochlorobenzene for 1 hour. Comparison between theoretical curve (○) and experimental curve (●).

Table 7 Equation for elimination curves by residual method in mouse organs after exposure to 300ppm of monochlorobenzene for 1 hour, 100ppm for 3 hours and 100ppm for 1 hour.

		Residual method
Blood	300ppm·1hr.	$Y = 5.8540e^{-0.0135t} + 9.5659e^{-0.0944t}$
	100ppm·3hr.	$Y = 3.4631e^{-0.0100t} + 6.1068e^{-0.0453t}$
	100ppm·1hr.	$Y = 3.7132e^{-0.0155t}$
Brain	300ppm·1hr.	$Y = 3.3210e^{-0.0113t} + 6.3490e^{-0.0494t}$
	100ppm·3hr.	$Y = 2.1689e^{-0.0049t} + 4.9611e^{-0.0292t}$
	100ppm·1hr.	$Y = 1.6868e^{-0.0126t} + 1.9932e^{-0.0337t}$
Liver	300ppm·1hr.	$Y = 2.5215e^{-0.0120t} + 6.7285e^{-0.0445t}$
	100ppm·3hr.	$Y = 2.1304e^{-0.0070t} + 6.5196e^{-0.0445t}$
	100ppm·1hr.	$Y = 1.5291e^{-0.0162t} + 2.6109e^{-0.0560t}$
Kidneys	300ppm·1hr.	$Y = 2.7301e^{-0.0094t} + 6.9399e^{-0.0510t}$
	100ppm·3hr.	$Y = 2.3755e^{-0.0060t} + 5.6545e^{-0.0610t}$
	100ppm·1hr.	$Y = 1.0944e^{-0.0094t} + 3.8256e^{-0.0632t}$

Y : Concentration of monochlorobenzene in organs (µg/g or ml)

t : Time (min.)

Calculation was based on the average of concentration at sampling time.

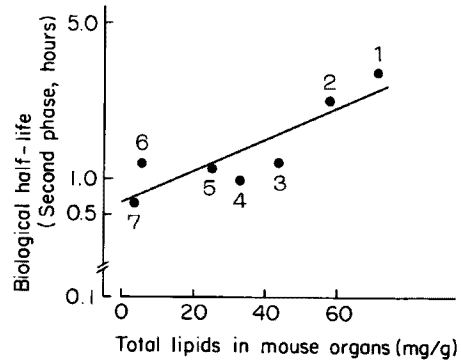


Fig. 2 Relationship between total lipids in nonexposed mouse organs and biological half-lives in second phase of monochlorobenzene in mouse organs. 1, Brain ; 2, Liver ; 3, Kidney ; 4, G.i.tract ; 5, Spleen ; 6, Blood ; 7, Heart.

の半減期の順位相関係数は0.82となった。

5. 臓器中濃度の血液中濃度に対する比

各時間における各臓器内モノクロロベンゼン濃度の血液中濃度に対する比を計算し Table 6 に示した。比が時間の経過と共に増加しているのは、腹腔内脂肪、脳および腎臓であった。肝臓では60分までは減少を示したがその後は上昇

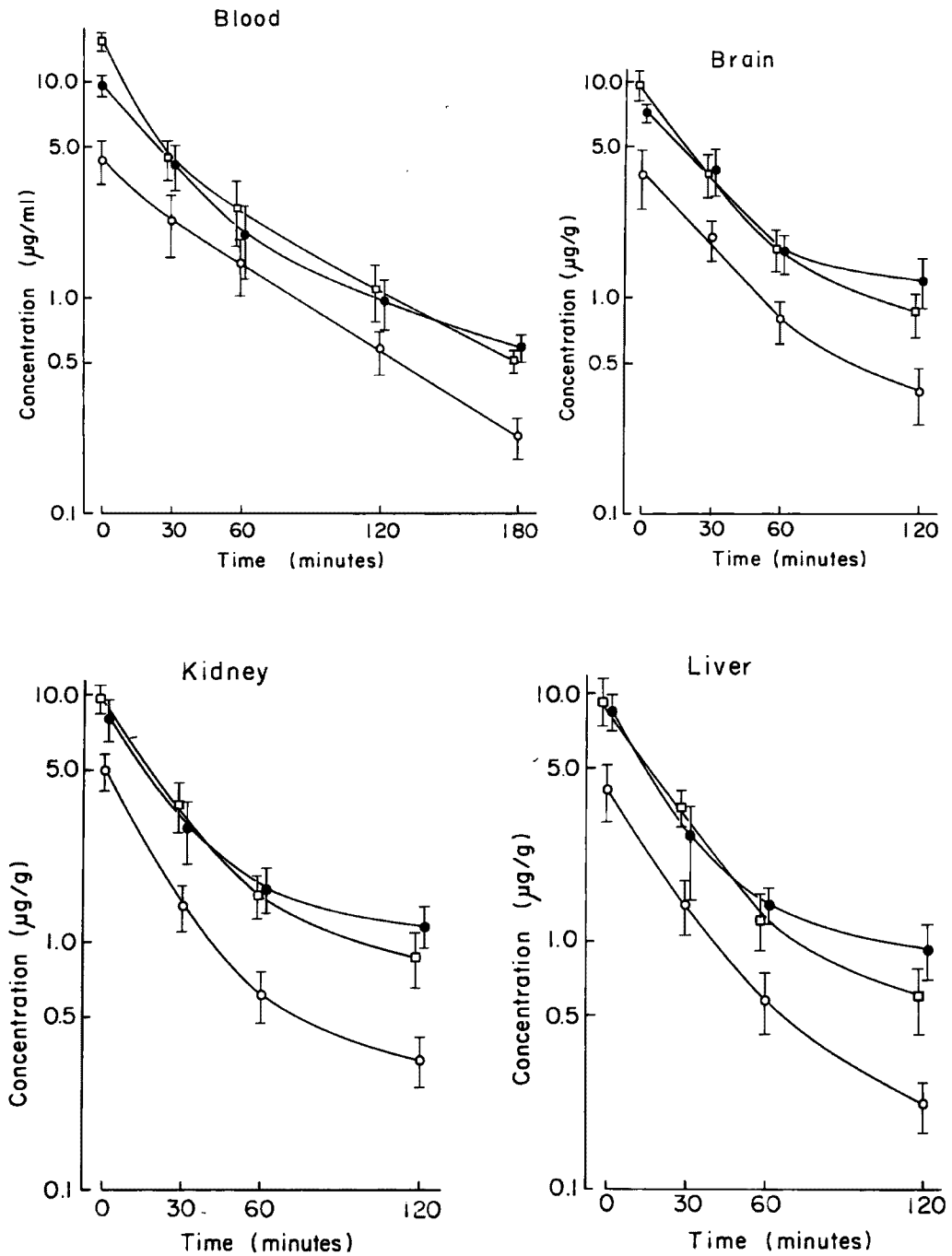


Fig. 3 Time-course of monochlorobenzene concentration in the blood, brain, liver and kidneys after exposure to 300ppm of monochlorobenzene for 1 hour (□), 100ppm for 3 hours (●) and 100ppm for 1 hour (○). The vertical lines represent the mean  $\pm$  SEM ( $n=4$ ).

Table 8 Biological half-lives of monochlorobenzene in mouse organs.

		Biological half-life (hours)	
		First phase	Second phase
Blood	500ppm · 1hr. <sup>a</sup>	0.09	1.19
	300ppm · 1hr.	0.12	0.86
	100ppm · 1hr.	0.75	0.75
	100ppm · 3hr.	0.25	1.16
Brain	500ppm · 1hr. <sup>a</sup>	0.32	2.96
	300ppm · 1hr.	0.23	1.02
	100ppm · 1hr.	0.34	0.92
	100ppm · 3hr.	0.40	2.36
Liver	500ppm · 1hr. <sup>a</sup>	0.25	2.26
	300ppm · 1hr.	0.26	0.96
	100ppm · 1hr.	0.20	0.71
	100ppm · 3hr.	0.18	1.65
Kidneys	500ppm · 1hr. <sup>a</sup>	1.20	1.20
	300ppm · 1hr.	0.23	1.23
	100ppm · 1hr.	0.18	1.23
	100ppm · 3hr.	0.19	1.93

Calculation was based on the equation described in Table 7.

<sup>a</sup>Date from Table 4.

した。そして心臓では減少しており、脾臓と消化管はほぼ一定を保ち、肺においては30分と60分において上昇しその後減少する傾向がみられた。

#### 6. 暴露濃度および暴露時間による影響

暴露濃度および暴露時間を300ppmで1時間、100ppmで1時間、100ppmで3時間と変えた時の血液、脳、肝臓および腎臓中のモノクロロベンゼン濃度の経時変化を Fig. 3 に表した。これより、暴露終了直後においては、血液、脳、肝臓および腎臓中濃度のいずれも、300ppm · 1時間吸入の方が100ppm · 3時間吸入に比べて高濃度であった。それが時間の経過にともなう減少をみると、脳、肝臓および腎臓では暴露後120分では100ppm · 3時間吸入の方が濃度が高くなり、減少度が緩やかになる傾向がみられた。血液に関しては、暴露後180分で濃度の逆転がみられた。100ppm · 1時間の場合は、300ppm · 1時間および100ppm · 3時間吸入に比較して、減少の仕方が速くなる傾

Table 9 Comparison of biological half-life in the organs of mice after exposure to monochlorobenzene under various conditions.

	Comparison of first phase						
	A			B		C	
	500ppm 1hr.	300ppm 1hr.	100ppm 1hr.	100ppm 3hr.	100ppm 1hr.	100ppm 3hr.	300ppm 1hr.
Blood	3	2	1	2	1	1	2
Brain	2	3	1	1	2	1	2
Liver	2	1	3	2	1	2	1
Kidneys	1	2	3	1	2	2	1

	Comparison of second phase						
	A			B		C	
	500ppm 1hr.	300ppm 1hr.	100ppm 1hr.	100ppm 3hr.	100ppm 1hr.	100ppm 3hr.	300ppm 1hr.
Blood	1	2	3	1	2	1	2
Brain	1	2	3	1	2	1	2
Liver	1	2	3	1	2	1	2
Kidneys	2*	1*	1*	1	2	1	2

Numbers in the table show order of biological half-life in A, B and C class respectively (1 > 2 > 3).

\*Slightly difference among three biological half-life was recognized.

向が認められた。またこの消失曲線を残差法により解析して得られた理論式を Table 7 に示した。100ppm · 1時間における血液の式が単相となった以外はすべて第1相と第2相から成る式で表現された。そしてこの理論式より、第1相および第2相における生物学的半減期を計算し、さらに500ppm · 1時間の時のそれを加えて Table 8 に、また Table 9 に、その半減期を暴露条件ごとに比較して、長い順序で示した。これにより第1相の半減期からは統一した見解は得られなかった。第2相の半減期より、暴露時間が同じ1時間の場合の比較では、暴露濃度を500ppm、300ppm、100ppmと変えた時では、腎臓を除いて、暴露濃度が高い方が半減期が長くなる傾向が認められた。腎臓ではほとんど差はみられなかった。またすべての臓器において100ppm · 3時間が100ppm · 1時間より長く、さらに100ppm · 3時間と300ppm · 1時間の比較では、100ppm · 3時間の方が半減期が長くなる傾向がみられた。

## 考 察

モノクロロベンゼンの生体内動態に関する報告は数が少ない。生体内に取り込まれたモノクロロベンゼンは、一部が無変化で呼出され、その他は代謝を受けて尿中にp-クロロフェニールメルカプツール酸および4-クロロカテコールの抱合体として排泄される。また著者はこれらの尿中代謝産物の高速液体クロマトグラフィーによる定量法<sup>10)</sup>を報告している。

本実験では、モノクロロベンゼンの吸収、分布、代謝、排泄の過程において、特に毒性発現には体内臓器への分布が問題になると考え、マウスへの暴露を、濃度および暴露時間を変えて吸入させ、暴露後2時間までの各臓器への分布および残留性を調べた。

吸入終了直後の濃度 (Table 2) において、腹腔内脂肪の次に肝臓、腎臓が高い。またこれらの臓器では、第2相の生物学的半減期も長いほうであった (Table 4)。これは既に報告されている肝臓、腎臓での毒性に関して、これらの臓器へのモノクロロベンゼンの分配性、蓄積性が大いに関与していると思われる。また脳において、経時的な減少度が低く、生物学的半減期が腹腔内脂肪に次いで長いのは、モノクロロベンゼンが血液-脳関門を通過しやすい事を示している。つまり、血液-脳関門を通過するためには、グリア細胞の中をくぐり抜けなければならず、グリア細胞には脂質を主成分とするミエリンが豊富に含まれているため、脂溶性の高いモノクロロベンゼンは、これを通過しやすく、また脳内に浸入したモノクロロベンゼンが、脳では代謝機能が少ないため、消失しにくい事を示している。そしてこれが中枢神経系の抑制、麻酔作用と結びつくものと思われる。なおこれらの臓器に関しては、緒方ら<sup>17)</sup>のトルエンの結果と同じ傾向であった。また、佐藤ら<sup>18)</sup>のトリクロロエチレンのラット臓器に対する分配係数の大きい順とも一致していた。

また臓器中濃度の血液中濃度に対する比 (Table 6) でみても、脂肪に蓄積の傾向がみられ、次いで脳と腎臓であった。なお肺では30分と60分において上昇し、その後減少する傾

向がみられたが、これはこの時間においてモノクロロベンゼンが無変化で呼気と共に排泄される割合が高くなるためと思われる。

一方、暴露後の濃度変化を残差法および非線形最小2乗法 (Gauss-Newton法) によりデータ解析し、理論式を求めた。これにより2つの指数項の和で表される臓器と1つの指数項で表される臓器が存在した。すなわち2つの指数項の和で表される臓器に関しては消失しやすい部分 (第1相) を示す曲線と、消失しにくい部分 (第2相) を示す曲線とから成っている。つまり次の式で表される。

$$Y = y_1 + y_2 = A_1 e^{-k_1 t} + A_2 e^{-k_2 t}$$

A : 初期濃度 (t = 0における濃度)

k : 消失係数

また1つの指数項で表される臓器に関しては、 $Y = A e^{-kt}$ となる。

非線形最小2乗法は、理論的には式との適応は最も良い方法といわれるが、この方法であてはめた場合は、測定時間以後に外挿した場合、臓器中濃度が上昇する傾向があるので、脳、肝臓、脂肪については適当でないと思われた。すなわち、これらの臓器に関しては、k (消失係数) がマイナスの値になるため、残差法の方が適当である。

次にモノクロロベンゼンを含む有機溶剤の臓器への移行性および蓄積性に、空気-血液分配係数、組織-血液分配係数<sup>19)</sup>および代謝機能などとともに、臓器の脂肪量が関係していることが予測されるが、これを明らかにするために、生物学的な常数としては、比較的誤差が少ないと考えられる生物学的半減期、特に排泄が緩やかな第2相あるいはSlow phaseの半減期と臓器の脂肪含量との関係について検討した。各臓器中のモノクロロベンゼンの半減期 (第2相あるいはSlow phase) と、正常 (非暴露) 臓器の総脂肪含量との間の相関性を調べた結果、第2相との相関係数0.87 (p < 0.05) (Fig. 2)、Slow phaseとの相関係数0.85 (p < 0.05) となり、相関が認められた。また順位相関も認められた。消失曲線が2つのコンパートメントに分けられた場合、第1相は減少速度が速い部分を示し、第2相は減少速度の遅い部分での排泄であると



考えられる。また観察値からの Slow phase は第 2 相にほぼ近いものと考えられうる。この観点からいえば、第 2 相または Slow phase の半減期が、ディメンションは異なるが、臓器の脂肪含量に相関を持つことは考えることである。なおここでは肺は、未変化での排泄に大きく係わる臓器であると考え除いてある。

暴露濃度および暴露時間を変えた実験成績より、暴露時間を 1 時間とし、暴露濃度を 500ppm, 300ppm および 100ppm と変えた場合を比較すると、高濃度の場合ほど半減期 (第 2 相) が長くなるのがわかる (Table 7, 8)。ただしこの現象は第 1 相では認められなかった。この結果は、中垣ら<sup>11)</sup>の、ラット血液中のトルエンの生物学的半減期が、腹腔内注射でも高濃度の方が長くなるという結果と、また Stewart ら<sup>20)</sup>のヒトへのスチレン暴露の場合、同じ 1 時間の暴露でも濃度が高い方が呼気中からの排泄が遅れるという結果と矛盾していない。また 100ppm・1 時間の吸入より 100ppm・3 時間の吸入の方が、つまり同じ濃度の暴露であれば暴露時間が長くなると半減期が長くなる傾向がうかがえる。また消失曲線 (Fig. 3) において、300ppm・1 時間暴露と 100ppm・3 時間暴露では交差する点 (血液では 135 分、脳、肝臓、腎臓では 45 分) が生じ、半減期が 100ppm・3 時間の方が長くなる傾向がみられた。つまり低濃度でも長時間の暴露の方が、主要臓器中の濃度は、暴露終了直後は低いけれども、半減期は長くなり、その臓器中からの消失にはより時間がかかるということがいえる。これらの現象は、生体の恒常性をみだすような状態が起こった場合には半減期が変わりうることを示すものである。濃度×時間に対応する半減期を求めることは、生体暴露量のモニタリングにおける呼気の採取時間との係わりにおいて重要である。さらにこれは現在、生物学的モニタリング<sup>21), 22)</sup>ではエチルベンゼンの終末呼気、スチレンの混合呼気、ベンゼンの終末、混合呼気、トリクロロエチレンの終末呼気が、作業交替前を測定時期に選んだ時の方が、暴露時間×暴露濃度に対応しやすいとしていることと関係のある事実と考えられる。なお暴露時間が長い方が半減期が長くなる理由については検討中である。

## 結 論

マウスにモノクロロベンゼン 500ppm を 1 時間暴露後のマウス全臓器中の分布と経時変化、および臓器中の脂肪含量と消失速度の関係を調べた。また種々の暴露条件 (500ppm・1 時間, 300ppm・1 時間, 100ppm・1 時間, 100ppm・3 時間) の下で暴露後の主要臓器中濃度とその消失を、ガスクロマトグラフ-バイアル平衡法により調べ、次の結果を得た。

1. 500ppm・1 時間吸入直後のモノクロロベンゼン濃度では、高い順に、腹腔内脂肪>肝臓>腎臓>血液>心臓>脳であった。また臓器中のモノクロロベンゼンの第 2 相および Slow phase における生物学的半減期は、長い順に、腹腔内脂肪>脳>肝臓>脾臓、腎臓、血液であった。

2. 500ppm・1 時間暴露吸入後の第 2 相および Slow phase における半減期と脳、肝臓、脾臓、腎臓、血液、心臓、消化管中の総脂肪量との間に正の相関が認められた。

3. 暴露時間が 1 時間の下で、暴露濃度を 500ppm, 300ppm, 100ppm とした場合について比較すると、血液、脳、肝臓、腎臓での半減期 (第 2 相) は、500ppm が長く、次いで 300ppm, 100ppm の順であった。

4. 100ppm・1 時間と 100ppm・3 時間吸入を比較すると、血液、脳、肝臓、腎臓において半減期 (第 2 相) は 100ppm・3 時間の方が長かった。

5. 300ppm・1 時間と 100ppm・3 時間吸入を比較すると、血液、脳、肝臓、腎臓において暴露終了直後は 300ppm・1 時間の方が濃度が高いけれども、半減期 (第 2 相) は 100ppm・3 時間の方が長かった。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲をいただいた緒方正名教授に深く感謝の意を表します。なお本論の要旨の一部は第 55 回日本産業衛生学会で発表した。

## 文 献

1. Patty FA : Industrial Hygiene and Toxicology, 2nd Ed, Vol 2. Interscience, New York (1963) pp1333.
2. Bernard BB, Watson DR, Arthur KC, Glenn S, Gopal K and James RG : Possible mechanism of liver necrosis caused by aromatic organic compounds. Proc Nat Acad Sci (1971) 68, 160—164.
3. Watson DR : Mechanism of renal necrosis induced by bromobenzene or chlorobenzene. Exp Mol Pathol (1973) 19, 197—214.
4. Am. Confer. Governm. Indust. Hyg. Inc. : Documentation of the threshold limit values and biological exposure indices. 4th Ed. Ohio (1980) p84.
5. 森孝昭 : ベンゼン塩素化合物の生体膜に対する作用 第1報 分離正常ラット肝ミトコンドリアに於ける各化合物の各種濃度の酸化的リン酸化反応に対する影響. 岡山医誌 (1980) 92, 1085—1089.
6. 森孝昭 : 塩化ベンゼンの生体膜に対する作用 第II報 分離正常ラット肝ミトコンドリアにおける各種濃度による塩化ベンゼンのK<sup>+</sup>遊出作用. 岡山医誌 (1981) 93, 537—541.
7. Yoshida M and Hara I : Variation of cysteine level by chlorobenzene-induced perturbation of glutathione metabolism in rat liver. J Nutr Sci Vilaminol (1985) 31, 69—76.
8. Levy G and Gibaldi M : Pharmacokinetics of drug action. Ann Rev Pharmacol (1972) 12, 85—98.
9. 佐藤章夫, 中島民江 : 芳香族炭化水素の分配性と生物活性の関係について. 産業医学 (1977) 19, 194—195.
10. 鳴田義弘 : モノクロロベンゼン中毒に関する研究 第1編 モノクロロベンゼンの尿中代謝産物(p-クロロフェニールメルカプツール酸及び4-クロロカテコールの抱合物)の高速液体クロマトグラフィーによる定量法について. 岡山医誌 (1981) 93, 549—544.
11. Nakagaki K, Tsuruta H and Arita H : Determination of toluene concentrations in blood intermittently sampled from jugular vein-catherized rats. Ind Health (1982) 20, 147—150.
12. 高原和夫 : Trichloroethane 中毒に関する実験的研究 第1編 1, 1, 1-域は1, 1, 2-trichloroethane 投与後の臓器組織内分布. 岡山医誌 (1987) 98, 1079—1089.
13. Sato A, Nakajima T and Fujiwara Y : Determination of benzene and toluene in blood by means of syringe-equilibration method using a small amount of blood. Br J Ind Med (1975) 32, 210—214.
14. Folch J, Lees M and Sloanestanley G H : A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J Biol Chem (1957) 226, 497—509.
15. Böhlen P, Schlunegger UP and Läubli E : Uptake and distribution of hexane in rat tissues. Toxicol Appl Pharmacol (1973) 25, 242—249.
16. 山岡 清, 谷川原祐介 : 非線形最小2乗法による曲線のあてはめ, マイコンによる薬物速度論入門, 南江堂, 東京 (1983) pp33—72.
17. Ogata M, Saeki T, Kira S, Hasegawa T and Watanabe S : Distribution of toluene in mouse tissues. Jap J Ind Health (1974) 16, 23—25.
18. Sato A, Nakajima T, Fujiwara Y and Murayama N : A pharmacokinetic model to study the excretion of trichloroethylene and its metabolites after an inhalation exposure. Br J Ind Mee (1977) 34, 56—63.
19. Sato A, Nakajima T, Fujiwara Y and Hirosawa K : Pharmacokinetics of benzene and toluene. Int Arch Arbeitsmed (1974) 33, 169—182.
20. Stewart RD, Dodd HC, Baretta ED and Schaffer AW : Human exposure to styrene vapor. Arch Environ Health (1968) 16, 656—662.

21. 緒方正名, 武田和久: 工業化学物質のヒトにおける生物学的モニタリング. 同文書院, 東京 (1987) pp 1—54.
22. 緒方正名: 生物学的暴露指標. 同文書院, 東京 (1987) pp 8—9.

**Studies on monochlorobenzene poisoning**  
**Part II. Distribution of monochlorobenzene among**  
**the organs of mice**

**Yoshihiro SHIMADA**

**Department of Public Health, Okayama University Medical School**

**Okayama 700. Japan**

**(Director : Prof. M. Ogata )**

The distribution of monochlorobenzene among the organs of mice was investigated by gas chromatographic equilibration after inhalation of 500ppm of monochlorobenzene for 1 hour, 300ppm for 1 hour, 100ppm for 1 hour and 100ppm for 3 hours.

Monochlorobenzene was detected just after exposure at concentrations in the descending order of that in the adipose tissue, liver, kidneys, blood, heart and brain. The biological half-lives in the second phase of monochlorobenzene accumulation in the organs were in the descending order of length in the adipose tissue, brain, liver, spleen, kidneys and blood. There was a correlation between the amounts of lipid in the organs and the biological half-lives in the second phase. Biological half-lives in the second phase of monochlorobenzene accumulation in the blood, brain, liver and kidneys were in the descending order of exposure: 500ppm for 1 hour, 300ppm for 1 hour and 100ppm for 1 hour. Concentrations of monochlorobenzene in the blood, brain, liver and kidneys just after exposure to 300ppm of monochlorobenzene for 1 hour were higher than that after exposure to 100ppm for 3 hours. However, the biological half-life in the second phase after exposure to 100ppm for 3 hours was longer than that after exposure to 300ppm for 1 hour. The biological half-life in the second phase after exposure to 100ppm for 3 hours was longer than that after exposure to 100ppm for 1 hour.