

Trichloroethane 中毒に関する実験的研究

第 2 編

1, 1, 1-或は 1, 1, 2-trichloroethane 投与後の呼気および尿への排泄

岡山大学医学部公衆衛生学教室 (主任: 緒方正名教授)

高 原 和 夫

(昭和61年 9 月 8 日受稿)

Key words : 1, 1, 1-トリクロロエタン
1, 1, 2-トリクロロエタン
呼気排泄, 尿排泄
尿中代謝産物

緒 言

1,1,1-trichloroethane (1,1,1- T C E) と 1,1,2-trichloroethane (1,1,2- T C E) とは互いに立体異性体であるが, 後者は前者に比べてはるかに強い毒性を示すことは以前からよく知られている^{1,2)}。1,1,1- T C E の主たる毒性は中枢神経機能の抑制であり³⁾, 1,1,2- T C E の場合のそれは肝臓, 腎臓障害作用である^{1,4)}。一般的に有機溶剤の毒性というものの本質については生体的に取り込まれた後の細胞内での構造と活性の問題があり, その研究も数多くなされている^{5,6)}。また, 諸臓器や組織への蓄積性などと関連して代謝・放出の容易さという点も重要であり, これに関する研究報告も多い⁷⁻⁹⁾。

著者もすでに, 1,1,1- 或は 1,1,2- T C E の臓器組織内分布について報告した¹⁰⁾。

今回は, マウスに両溶剤を投与した後の, 呼気および尿への排泄について比較検討した結果を報告する。

実 験 方 法

1. 実験動物

d d 系の雌マウス (平均体重 23.6 g) を 1 群 6 匹ずつ用いた。動物は温度調節した室内で飼育

し, 飼料としてはオリエンタル固型飼料を与え, 水は水呑瓶から自由に与えた。

2. 投与方法

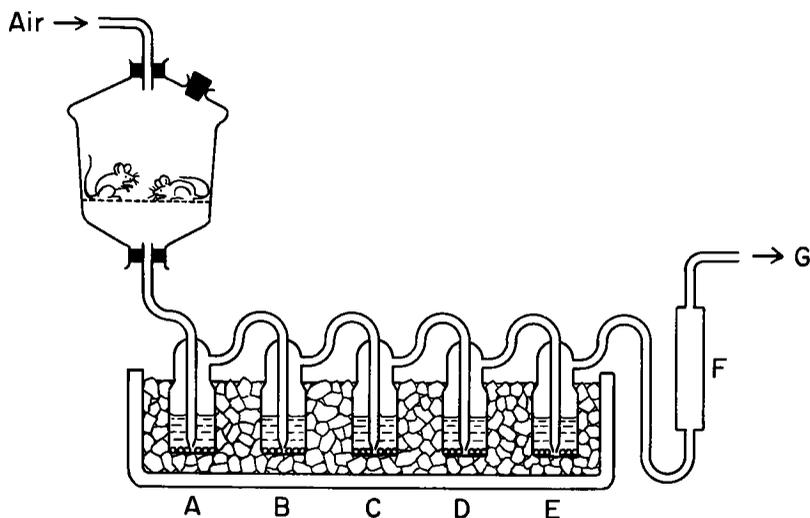
1,1,1-或は1,1,2- T C E を, それぞれ3 milli mol/kg ずつ, マイクロシリンジを用いて腹腔内注射した。

3. 呼気の捕集および呼気中の1,1,1- T C E, 1,1,2- T C E の定量

1) 捕集装置

呼気の捕集は, 杉原の捕集装置¹¹⁾ (Fig. 1, 一部改変) を用いて行なった。吸引管 (A-E) には, 1 本につき直径 4 mm のガラスビーズを 10 個ずつ入れ, 更に, 吸引液として, 1,1,1- T C E に対しては tetrachloroethylene を, 1,1,2- T C E に対しては n-hexane を, それぞれ 10 ml ずつ入れた。このような吸引管 5 本を用意し, それぞれを連結して氷冷水中にセットし, 流量計, 吸引ポンプに連結した。収容器, 吸引管, 流量計, 吸引ポンプなど相互の連結はすべてシリコン管およびシリコン栓を使用した。このようにして準備した捕集装置の収容器に, 1,1,1-或は1,1,2- T C E を投与したマウスを直ちに入れ, 吸引ポンプで吸引 (流量 0.3 l/min) することにより, 呼気の捕集を行なった。

2) 呼気試料の採取



A-E. Dreschel bottles containing tetrachloroethylen or n-hexane
 F. flow meter G. suction pump

Fig. 1 Diagram of respiration chamber and absorption train.

投与直後より1時間毎に、7時間行なった。すなわち、吸引管5本は、1時間毎に、新たな吸収液を入れた吸引管5本に取り換えていき、1,1,1-TCE或は、1,1,2-TCEを吸収した吸収液(tetrachloroethylene 或は n-hexane)は、その都度、日立063型FID付ガスクロマトグラフに注入することにより、1時間毎の推移状態を、7時間後まで追跡した。

3) 1,1,1-および1,1,2-TCEの定量

1,1,1-TCE或は1,1,2-TCEを、それぞれ tetrachloroethylene 或は n-hexane によって希釈し、既知濃度の標準液とした。この標準液をガスクロに注入し、得られたピーク高から検量線を作成した。また、回収率は、収容器に1,1,1-或は1,1,2-TCEを5 μ l添加し、呼気捕集実験中と同じ条件下で吸引して、tetrachloroethylene 或は、n-hexane に吸収させガスクロにより分析した値と、両溶剤を両吸収液に直接添加しガスクロにより分析した値との比を求めることに算出した。

ガスクロマトグラフによる分析条件は、以下の通りである。

カラム：ステンレスカラム、3.0mm ϕ ×2 m

充填剤：Benton 34

Oven temp.: 100°C

Carrier gas: N₂, 4

以上の実験は、室温20~22°Cのほぼ一定条件下で行った。

4. 尿中代謝産物の定量

1,1,1-或は1,1,2-TCEを投与したマウスは、呼気捕集後直ちに採尿ケージに移し、水と餌は自由に与えて、24時間毎に、7日間採尿した。呼気捕集実験中(7時間)の尿は、収容器の底部に溜めることにより採尿した。こうして採尿した尿は、藤原氏反応を利用した緒方らの方法¹²⁾で、総三塩化物(TTC)、トリクロロ酢酸(TCA)の比色定量を行ない、また、それらの差よりトリクロロエタノール(TCE)量を算出した。

実験成績

1. 呼気への排泄

両溶剤を腹腔内に投与後の、それぞれの投与量に対する呼気中の排泄量を、予め求めた回収率(1,1,1-TCE:85.3%,1,1,2-TCE:90.9%)により補正し、呼気中累積排泄率を経時的にFig. 2に示した。両溶剤ともに、排泄は7時間ではほぼ終了し、その時点での呼気中累積排泄率は、

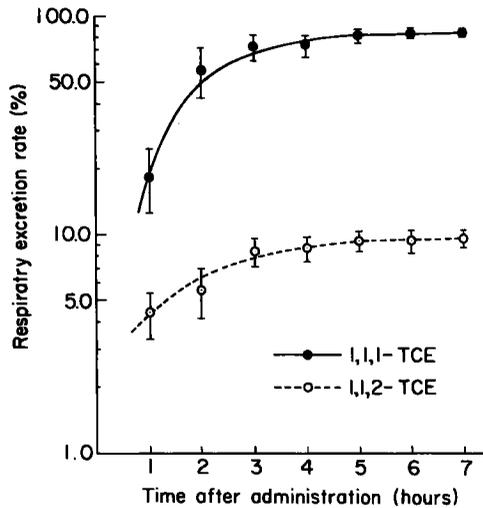


Fig. 2 Cumulated excretion rates in the expired air after intraperitoneal injection of 1,1,1-TCE and 1,1,2-TCE into the mice.

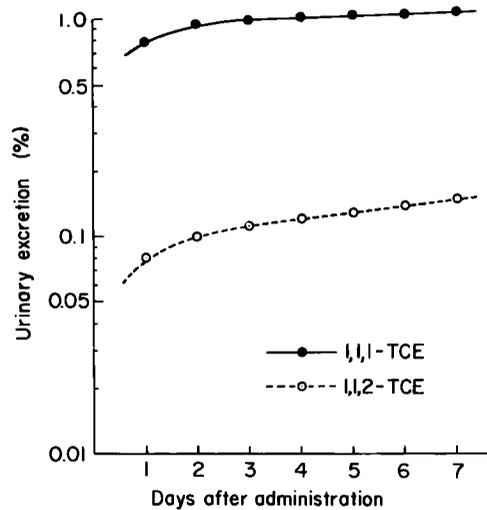


Fig. 4 Cumulated excretion rates of total trichloro compounds (TTC) in urine after intraperitoneal injection of 1,1,1-TCE and 1,1,2-TCE into the mice.

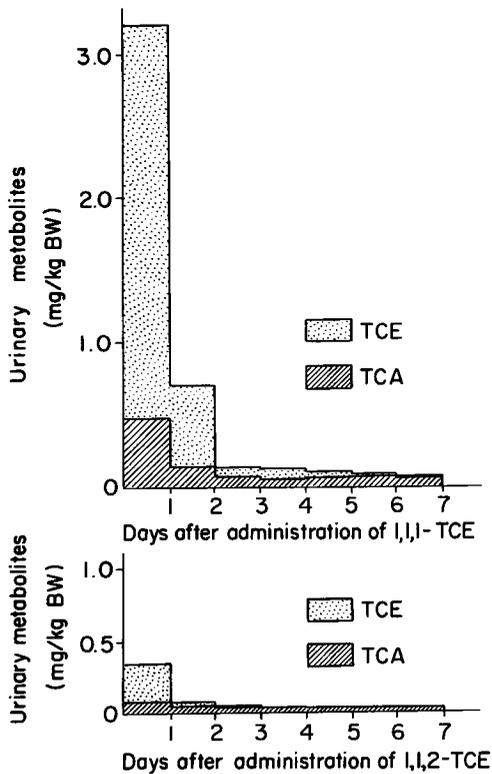


Fig. 3 Urinary excretion of trichloroethanol (TCE) and trichloroacetic acid (TCA) per day after intraperitoneal injection of 1,1,1-TCE and 1,1,2-TCE into the mice.

それぞれ87.4%、9.8%であり、1,1,2-TCEは1,1,1-TCEの約9分の1であった。

2. 尿への排泄

尿中代謝産物の排泄の経過は、1,1,1-TCEの場合、Fig. 3 上図に示すごとく、TCEの排泄はTCAのそれより速くであり、且つTTC量も多いことが認められた。TTC量は、第1日目3.19mg/kg b.w.、第2日目0.69mg/kg b.w.、第3日目0.12mg/kg b.w.と1日5分の1の速度で減少していくが、それ以後はわずかな減少となっている。一方、1,1,2-TCEの場合は、Fig. 3 下図に示すように、同milli molの注射において比較した場合、TCEの排泄がTCAのそれより速やかなことは、1,1,1-TCEの場合と同様であるが、TTC量は、1,1,2-TCEでは1,1,1-TCEの場合に比べて、はるかに少ないことが認められた。TTC量は、第1日目0.35mg/kg b.w.、第2日目0.08mg/kg b.w.と4分の1に減少しているが、それ以後はわずかな減少となっている。

Fig. 4 は、trichloroethane の注射 mol 数を基準として、TCE および TCA の mol 数の和との比率を尿中排泄率として、累積排泄率で示したものである。尿中累積排泄率は、第7日目において、1,1,1-TCE では1.07%、1,1,2-TCE では

Table 1 Comparison between excretion rates of 1,1,1-TCE and that of 1,1,2-TCE in administered mice.

Solvents	Cumulated excretion rates		
	Expired air	Urine	Total
1,1,1-TCE (A)	87.4 %	1.07 %	88.47 %
1,1,2-TCE (B)	9.8 %	0.15 %	9.95 %
$\frac{B}{A}$	0.11	0.09	0.11

0.15%で、いずれも注射量に対する排泄量比は少ないが、1,1,2-TCEでは、1,1,1-TCEの場合の約7分の1となっており、はるかに少ないことが認められた。なお、1,1,2-TCEの場合、7日後にも累積排泄率が完全に平坦化していないのは、排泄が1,1,1-TCEの場合より遅れているためと推察される。

これらの呼気および尿中の累積排泄率をまとめて、Table 1に示した。Table 1の結果から、本実験を行なった期間までの累積排泄率より推定すると、1,1,2-TCEの総排泄率は1,1,1-TCEより少なく、従って、体内の蓄積性が強いことが推定された。

考 察

生体にとって肺はガス交換の中心で、生体内に摂取された有機溶剤は、そのほとんどが肺を介して生体外に排泄されるものが多い⁸⁾。一方、尿中への排泄に関しては、古くからその尿中代謝物の定量が行なわれてきた^{7,13-17)}。著者は、1,1,1-および1,1,2-TCEの比較検討という観点から、それらの肺からの排泄に関し、未変化体の動態を観察するとともに、尿中代謝産物の定量も行なった。

1,1,1-TCEの生体内代謝について、Hakeら¹⁸⁾は、ラットに1,1,1-trichloroethane-1-C¹⁴ 700mg/kgを腹腔内注射し、25時間までに98.7%が呼気から未変化のままの形で排泄され、0.5%は¹⁴CO₂として呼気中に排泄された。また、尿中にはtrichloroethanolのグルクロン酸抱合体(2,2,2-trichloroethanol-2-C¹⁴) 0.85%が排泄されたと報告している。Schumannら⁹⁾も、ラットまたはマウスに [¹⁴C] 1,1,1-trichloroethane を

150 ppm または 1,500 ppm, 4時間暴露したのち、72時間の放射活性を追跡し、ほぼ同様の結果を報告している。安藤ら¹⁹⁾は、ラットに1,1,1-TCEを200mg/kg、腹腔内注射した後に、呼気中に排泄される1,1,1-TCE量の経時変動を検討した結果、呼気濃度は15~20分で最高濃度に達し、以後半減期約60分で減少し、呼気への累積排泄量は、8時間までに約90%であったとしている。更にEbenら²⁰⁾によれば、ラットに1,1,1-TCE 221 ppmを4時間1回吸入させた後の、1,1,1-TCEの呼気中排泄は、約8時間でほぼ終了し、累積排泄量は4.97mgであったのに対して、尿中へのTCA, TCEの排泄は、約2日間でほぼ終了し、それぞれの累積排泄量は11.3 μg, 133.7 μgであったと報告されている。本実験成績もこれらの報告とほぼ同様であり、これらを総括すると、以下のように考えられる。

生体内に摂取された1,1,1-TCEは、その大部分が未変化体のまま呼気中に排泄され、尿中に代謝産物として排泄されるのは一部分にすぎない。代謝産物は、大部分がTCE(或はそのグルクロン酸抱合体)であり、TCA量は相対的には少ない。しかしながら、Seki, Urashimaら¹⁴⁾の報告のごとく、気中濃度と尿中代謝産物の間には、平行関係が認められているので、尿中代謝産物は気中濃度の推定には有効な方法と考えられる。

一方、1,1,2-TCEに関する研究報告は少ないが、呼気中排泄について、Morganら²¹⁾は、1,1,2-TCEは1,1,1-TCEに比べてはるかに遅いと報告しており、また尿中排泄についてはIkedaら²²⁾が、1,1,2-TCEは1,1,1-TCEよりTCA, TCEの排泄が少ないと報告している。これらも本実験成績とよく一致しており、両溶剤

の排泄量およびその経過の違いが明確となった。

両溶剤を、7日間の排泄率で比較すると、1,1,2-TCEは、1,1,1-TCEに比べて、呼気および尿への排泄率は明らかに低く、総排泄率も9分の1(11%)であり、蓄積の傾向が強いことが示されたが、このように、両溶剤の呼気および尿への排泄を、ともに比較検討した報告は他に見出し得なかった。

このような違いは、(血液/気)分配比など、両溶剤の物理化学的性質の違いによる組織との親和性に資うところも大きいと考えられる。この点に関連して、著者は暴露実験で、1,1,2-TCEの方が1,1,1-TCEに比べて、腹腔内脂肪、脳、腎臓などに蓄積性が高いことを確かめ、前述したように、すでに報告した¹⁰⁾。一方、尿への排泄の差という問題は、全体的な比率からすれば小さい部分ではあるが、本実験成績だけからみれば、尿中TCE、TCAおよびTTC量は、1,1,2-TCEでは、1,1,1-TCEの場合に比べてはるかに少ない。しかし、1,1,2-TCEの場合、CO₂まで分解されたり、他の尿中代謝産物へと変化する可能性があり²³⁾、すべてを測定していないのではないかと推察される。この点に関し、TCE、TCAおよびTTCが、1,1,2-TCE暴露の指標として使えるか、今後の検討が必要であろう。

なお、1,1,2-TCEは、1,1,1-TCEより蓄積性が強く、従って、呼気中では7時間以後、尿中

では7日以後において、極めて少量の排泄が続くと推定される。従って、1,1,2-TCEの総排泄量は、本論文中に記載した値より、微量ではあるがやや多いと推定される。

結 論

マウスに1,1,1-trichloroethane(1,1,1-TCE)或は、1,1,2-trichloroethane(1,1,2-TCE)を腹腔内注射した後の、呼気および尿への排泄について検討し、以下の結論を得た。

1) 両溶剤の呼気中排泄はともに7時間でほぼ終了し、その時点での呼気中累積排泄率は1,1,1-TCE、87.4%、1,1,2-TCE、9.8%であった。

2) 両溶剤投与後7日目までに、尿中に排泄された代謝産物である総三塩化物(TTC)の累積排泄率は、1,1,1-TCEでは1.07%、1,1,2-TCEでは0.15%であった。

3) 呼気および尿中への総排泄率で比較すると1,1,2-TCEは、1,1,1-TCEに比べて7日間の排泄率は9分の1で、明らかに1,1,1-TCEより蓄積の傾向が強いことが裏付けられた。

稿を終えるにあたり、御懇篤なる御指導、御校覧を賜りました緒方正名教授に深謝いたします。

本論文の要旨は、第57回日本産業衛生学会において発表した。

文 献

1. Klassen, C.D. and Plaa, G. L.: Relative effects of various chlorinated hydrocarbons on liver and kidney function in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **9**, 139-151, 1966.
2. Traiger, G. J. and Plla, G. L.: Chlorinated hydrocarbon toxicity. *Arch. Environ. Health* **28**, 276-278, 1974.
3. Stewart, R. D.: The toxicology of 1, 1, 1-trichloroethane. *Ann. Occup. Hyg.* **11**, 71-79, 1968.
4. Watrous, W. M. and Plaa, G. L.: The nephrotoxicity of single and multiple doses of aliphatic chlorinated hydrocarbons solvents in male mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **23**, 640-649., 1972.
5. 渡辺 烈: 有機毒物の生体内活性化機構, 環境汚染と毒性 有機物質篇, 山根靖弘, 高島英伍, 内山 充編集, 南江堂, 東京, 7-32, 1980.
6. Dura, Gy., Krasovski, G. N., Zholdakova, Z. I. and Mayer, G.: Prediction of toxicity using quantitative structure-activity relationships. *Arch. Toxicol. (Suppl.)* **8**, 481-487, 1985.
7. Monster, A. C., Boersma, G. and Steenweg, H.: Kinetics of 1, 1, 1-trichloroethane in volunteers; influence of exposure concentration and work load. *Int. Arch. Environ. Health* **42**, 293-301, 1979.
8. Monster, A. C.: Difference in uptake, elimination, and metabolism in exposure to trichloroethylene, 1, 1, 1-

- trichloroethane and tetrachloroethylene. *Int. Arch. Environ. Health* **42**, 311-317, 1979.
9. Schumann, A. M., Fox, T. R. and Watanabe, P. G.: [^{14}C] Methyl chloroform (1, 1, 1-trichloroethane): pharmacokinetics in rats and mice following inhalation exposure. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **62**, 390-401, 1982.
 10. 高原和夫: trichloroethane 中毒に関する実験的研究, 第1篇 1,1,1-或は1,1,2-trichloroethane 投与後の臓器組織内分布, 岡山医学会雑誌投稿中。
 11. 杉原黎子: Toluene 及び Xylene の中毒に関する高速液体クロマトグラフィーによる研究, 岡山医学会雑誌, **91**, 1433-1440, 1979.
 12. Ogata, M., Tomokuni, K. and Asahara, H.: Simple microdetermination of trichloroethanol glucuronide and trichloroacetic acid in urine. *Int. Arch. Arbeitsmed.* **32**, 203-215, 1974.
 13. 緒方正名: トルエンの健康影響に関する研究, 産業医学, **23**, 3-32, 1981.
 14. Seki, Y., Urashima, Y., Aikawa, H., Matsumura, H., Ishikawa, Y., Hiratsuka, F., Yoshioka, Y., Shimbo, S. and Ikeda, M.: Trichloro-compounds in the urine of humans exposed to methyl chloroform at sub-threshold levels. *Int. Arch. Arbeitsmed.* **34**, 39-49, 1975.
 15. Ogata, M., Takatsuka, Y. and Tomokuni, K.: Excretion of organic chlorine compounds in the urine of persons exposed to vapors of trichloroethylene and tetrachloroethylene. *Br. J. Ind. Med.* **28**, 386-391., 1971.
 16. Stewart, R. D., Gay, H. H., Shaffer, A. W., Erley, D. S. and Rowe, V. K.: Experimental human exposure to methyl chloroform vapor. *Arch. Environ. Health* **19**, 467-472, 1969.
 17. Caperos, J. R., Droz, P. O., Hake, C. L., Humbert, B. E. and Jacot-Guillarmod, A.: 1, 1, 1-trichloroethane exposure, biological monitoring by breath and urine analyses. *Int. Arch. Environ. Health* **49**, 293-303, 1982.
 18. Hake, L. C., Waggoner, T. B., Robertson, D. N., and Rowe, V. K.: The metabolism of 1, 1, 1-trichloroethane by the rat. *Arch. Environ. Health* **1**, 101-105, 1960.
 19. 安藤 剛, 林 美代子, 小坂 博, 田淵武夫: メチルクロロホルムの実験的研究11, 大阪府立公衆衛生研究所研究報告書, 労働衛生編, **15**, 23-26, 1977.
 20. Eben, A. and Kimmerle, G.: Metabolism, excretion and toxicology of methylchloroform in acute and sub-acute exposed rats. *Arch. Toxicol.* **31**, 233-242, 1974.
 21. Morgan, A., Black, A. and Belcher, D. R.: The excretion in breath of some aliphatic halogenated hydrocarbons following administration by inhalation. *Ann. Occup. Hyg.* **13**, 219-233., 1970.
 22. Ikeda, M. and Ohtsuji, H.: A comparative study of the excretion of Fujiwara reaction-positive substances in urine of humans and rodents given trichloro- or tetrachloro-derivatives of ethane and ethylene. *Br. J. Ind. Med.* **29**, 99-104, 1972.
 23. Yllner, S.: Metabolism of 1, 1, 2-trichloroethane-1, ^{214}C in the mouse. *Acta Pharmacol. Toxicol.* **30**, 248-256, 1971.

**Experimental study on toxicity of trichloroethane
Part 2. 1,1,1-and 1, 1, 2- trichloroethane in expired air
and in urine of injected mice**

Kazuo TAKAHARA

Department of Public Health, Okayama University Medical School,

2-5-1 Shikata-cho, Okayama City, Japan

Mice were injected intraperitoneally with 1, 1, 1- and 1, 1, 2-trichloroethane (TCE), and the amounts of their metabolites exhaled from the lungs and excreted in the urine were measured. Exhalation from the lungs ended 7 hours after the injection. The ratio of the accumulated amount of 1, 1, 1-TCE to the amount of 1, 1, 1-TCE injected was 84.7%, and the ratio for 1, 1, 2-TCE was 9.8%. The accumulated amount of total trichloro-compounds in the urine of mice to the amount of 1, 1, 1-TCE injected was 1.07%, and that for 1, 1, 2-TCE was 0.15%. The total amount exhaled from the lungs and that excreted in the urine of mice injected with 1, 1, 1-TCE was greater than that of mice injected with 1,1,2-TCE.