



# Microdetermination and dynamic aspects of in vivo alkyl lead compounds

早川, 清子

---

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1972-11-01

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

乙0248

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2000248>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



|         |   |
|---------|---|
| 氏名・(本籍) | はや かわ きよ 子 (愛知県)  |
| 学位の種類   | 医学博士  |
| 学位記番号   | 医博ろ第194号  |
| 学位授与の要件 | 学位規則第5条第2項該当  |
| 学位授与の日付 | 昭和47年11月1日  |
| 学位論文題目  | <b>Microdetermination and Dynamic Aspects of in vivo Alkyl Lead Compounds</b><br>(アルキル鉛化合物の生体内動態と微量分析法に関する研究) |

審査委員 主査教授 喜田村 正 次

教授 木 幡 陽 教授 西 塚 泰 美

## 論文内容の要旨

四アルキル鉛は1930年頃から航空機・自動車等の燃料用ガソリンのアンチノック剤として広く使用されている。反面この有機鉛による中毒事件は過去において数々の発生例を見ている。また最近では自動車の排気ガス中の鉛が公害問題に取りあげられているが、ここで問題になっている無機鉛は四アルキル鉛と呼ばれる有機鉛とは本質的に異なり、急性毒性、亜急性毒性、中毒症状等も全くちがった様子を示す。

従来アルキル鉛の定量は溶媒抽出後有機鉛を無機化したのち鉛を比色法、原子吸光法等で測定している。そこでアルキル鉛をその形態をあきらかにして定量するという、特に尿、血液等の生体試料中のアルキル鉛の微量定量を行なうことはアルキル鉛取り扱い者の健康管理のうえからも重要なことと考える。

本論文はガスクロマトグラフィーによる有機鉛の高感度定量法を新たに確立し、その方法を利用して今まで困難であった実験動物における有機鉛の生体内動態の検討、また加鉛ガソリン使用工場の従業員の尿中三アルキル鉛を測定し作業者のアルキル鉛による汚染の程度を知った。

### 第一部 アルキル鉛化合物の分析法

#### 〔抽出操作〕

四アルキル鉛：試料適量をホモゲナイザーで均質化し液量を脱イオン水で50mlに調整後、ベンゼン、20, 20, 10mlで3回抽出し、ガスクロマトグラフ(GC)で測定する。

三アルキル鉛：試料適量をホモゲナイズ後液性を1N塩酸酸性に調整し脱イオン水で50mlにしたのちNaCl 15gを加え酢酸エチルまたはベンゼン(三エチル鉛のみを抽出する時はベンゼンを用いる。)20, 20, 10mlで3回抽出し、抽出液を合わせて1% HNO<sub>3</sub> 10mlで2回有機鉛をHNO<sub>3</sub>層に移行させ、HNO<sub>3</sub>液にNaCl 6gを加えて酢酸エチル10, 10, 5mlで3回抽出する。抽出液をGCで測定する。

〔測定法〕

測定にはGCを用いる抽出液を1～2  $\mu$ l GCに注入して得られるクロマトグラムの peak height を標品のクロマトグラムの peak height と比較し定量する。

GC の 条 件

|                    | テトラメチル鉛<br>(4ML)     | テトラエチル鉛<br>(4EL)     | トリメチル鉛<br>(3ML)      | トリエチル鉛<br>(3EL) |
|--------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-----------------|
| 充 填 剤              | 7% Apiezon L         | 1.5% SE-30           | 10% 1.4 BDS          |                 |
| 担 体                | Shimalite            | Chromosorb-W         | Shimalite W          |                 |
| カ ラ ム              | 1.2 mm $\times$ 3 mm | 1.8 mm $\times$ 3 mm | 1.2 mm $\times$ 3 mm |                 |
| カ ラ ム 温 度          | 80°C                 | 120°C                | 160°C                |                 |
| N <sub>2</sub> 流 量 | 35ml/min             | 35ml/min             | 110ml/min            |                 |
| 検 出 器              | ECD 160°C            | ECD 160°C            | ECD 210°C            |                 |

確認限界は4MLは $1 \times 10^{-9}$ g, 4EL, 3ML, 3ELは $1 \times 10^{-11}$ gであった。

第二部 アルキル鉛化合物の生体内動態の研究

＜急性毒性＞

急性毒性実験としてdd系のマウスに対するLD<sub>50</sub>値の測定を行なった。

(室温20～23°C)

投与方法は4ML, 4ELはオリーブ油溶液3ML, 3ELは0.9% NaCl 溶液として腹腔内注射を行ない, 1週間の観察を行なってLD<sub>50</sub>値を計算した。

LD<sub>50</sub>値は4ML14.3mg/kg, 4EL30.3mg/kg, 3ML, 9.4mg/kg 3EL12.8mg/kgであった。

アルキル鉛の急性毒性の主な症状は無機鉛の場合と全く異なった中枢神経系の障害の症状を示す。すなわち極度の興奮状態を示し, 次いではげしい全身性振せんものちはげしい間代性のけいれんをくりかえして死亡する。

また毒性は気温により異なり, 室温が低い程死亡率が高かった。またラッテとマウスでは毒性に違いがあり, 4MLはマウスの方に毒力がかなり強く, 4ELではマウス, ラッテでは差がほとんどなくわずかにラッテの方に毒力が強かった。

＜生体内動態＞

次に四アルキル鉛は体内で速やかに分解して三アルキル鉛となり毒性をあらわすといわれているのでマウスに四アルキル鉛を投与して体内の三アルキル鉛量を測定した。4MLの方が分解・排泄が早く, 3ML量は2日目に最高値に達し, 4ML投与量の約50%が3MLに変化した。4ELは3日後にピークに達し約30%が3ELに変化した。

また4アルキル鉛をラッテ, マウスに投与し, 臓器中の三アルキル鉛量の経時変化, 種属差による臓器分布の差, 三アルキル鉛投与の際の三アルキル鉛量等を比較検討した。

結果は次の表の通りである。

アルキル鉛投与のマウスとラットの臓器中三アルキル鉛濃度の比較

|         |   | 4 ML    | 4 EL    | 3 ML    | 3 EL    |
|---------|---|---------|---------|---------|---------|
| 血       | 液 | ラッテ>マウス | ラッテ>マウス | ラッテ>マウス | ラッテ>マウス |
| 肝       | 臓 | マウス>ラッテ | マウス≒ラッテ | ラッテ>マウス | マウス≒ラッテ |
| 腎       | 臓 | マウス>ラッテ | マウス≒ラッテ | マウス≒ラッテ | ラッテ>マウス |
|         | 脳 | マウス>ラッテ | マウス≒ラッテ | マウス>ラッテ | マウス≒ラッテ |
| ラッテ臓器濃度 |   | 肝>血>腎>脳 | 肝>腎>血>脳 | 血>肝>腎>脳 | 肝>血>腎>脳 |
| マウス臓器濃度 |   | 肝≒腎>脳>血 | 肝>腎>脳>血 | 肝>腎>脳>血 | 肝>腎>脳>血 |

三アルキル鉛を投与した場合マウスでは3 ELは3 MLに比べて体内からの消失が早く生物学的半減期は3 MLは約5日で、3 ELは2～3日であった。

ラッテの臓器からの減少の速度はマウスに比べて非常におそく、3 MLの臓器内半減期は血液で約15日、肝臓、腎臓で約40日、脳はそれ以上かなり長い。3 ELの場合は血液中では約4日、肝臓、腎臓では約15日、脳で約8日である。

#### <尿中有機鉛>

加鉛ガソリンを洗滌用に使用していたオフセット印刷工場と自動車整備工場の従業員について加鉛ガソリン使用中止1カ月後の尿中の有機鉛量を測定した。4 ML, 4 EL, 3 ELはいずれも検出されなかったが、分解排泄のおそい3 MLは少量検出された。室内使用のため換気が悪く、また使用量も多いオフセット印刷工場の従業員の方が尿中3 MLの濃度が高かった。

またガソリンに四アルキル鉛をまぜる作業に従事している8名についても健康管理の目的で3カ月に1回尿中三アルキル鉛量を測定したが、この場合は三アルキル鉛はほとんど検出されなかった。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は二部より成り、第一部においてはアルキル鉛（AL）のガスクロマトグラフ（GC）を使用する微量分析を検討し、新たに確立し得た定量法を記述したものである。すなわち従来AL、ことに生体試料中の微量ALを有機化合物のままの形で定性、定量することは共に困難であったが、電子捕獲型検出器（ECD）を用いたGCで充填剤、カラム温度、ガス流量などに検討を加えた結果、ガラスカラム使用、充填剤に四メチル鉛（4 ML）では7% ApiezonL、四エチル鉛（4 EL）では1.5% SE・30、塩化三メチル鉛（3 ML）、塩化三エチル鉛（3 EL）では10% 1,4-BDS または10% DEGS を用いることにより、4 MLでは $1 \times 10^{-9}$ g, 4 EL, 3 ML, 3 ELでは $1 \times 10^{-11}$ g の検出限界をもってALを分析することに成功している。

また生体試料からのAL抽出は、4 ML, 4 ELはベンゼン、塩酸酸性で3 ELはベンゼンまたは酢酸エチル、3 MLは酢酸エチルで行ない、夾雑物が多くかつ濃縮が困難な酢酸エチル抽出の場合は、これを1%硝酸溶液に移行せしめ、再び食塩を加え酢酸エチルで抽出することによりクリーンアップならびに濃縮を行なうことができるとしている。

第二部は上記の分析法を用い、4 AL, 3 ALを投与したマウス、ラットにおける4 AL, 3 ALの諸

種臓器内分布量の推移を調べると共に、それぞれの急性毒性と比較検討したものである。すなわち4ML投与ではラット体内での3MLへの移行、臓器分布量はマウスにくらべていちじるしく低く、4ELでは両者間の差異はあまり大きくない、これに対し3AL投与後の諸臓器における3ALの減少はラットの方がマウスよりも遅い。またマウスにオリーブ油にとかした4ML、4ELを投与し体内における3ML、3ELへの移行度を検討したが、4MLでは2日後に体内の3ML量が最高に達し、投与量のほぼ50%が変化するが、4ELは3日後に約30%が3ELに変化するとしている。

これらの成績は、他方マウスについて得た各種ALのLD<sub>50</sub>ならびにマウス、ラットに対する4ALの毒性の種差を調べた成績を裏付けるものであり、4ALは生体内で3ALに移行して毒性を増強する、4ELの毒性はマウス、ラットで著明な差異がないのに対し4MLはマウスに対する毒性がラットより明らかに強いのは3ALの移行度のちがいであるとしている。

さらに家兔に4ALを注射し、尿中に微量の3ALが排泄されることを確認したうえ、加鉛ガソリン使用の作業者はその接触度に応じて尿中に3ALが検出されることを認め、尿中のAL分析を行なうことにより4ALへのばく露程度が分り健康管理の一指標となしうるとしている。

以上が本論文の要旨であるが、本研究は生体試料中の微量AL分析法をはじめて確立し、毒性との関連においてALの生体内動態の一端を明らかにし得たものであり、4AL中毒の発現機序ならびに予防上重要な知見を得たものとしてきわめて価値ある業績であり、よって本研究者は医学博士の学位を得る資格があると認める。