

尿中ホルムアルデヒドについて

浅川富美雪・呉羽 晃徳*・須那 滋**・實成 文彦**

倉敷芸術科学大学生命科学部

*香川労災病院健診部

**香川大学医学部

(2008年10月1日 受理)

はじめに

ホルムアルデヒド (HCHO) は、近年、シックハウス症候群^{1,2)}の原因物質の一つとして注目されている。このため、国は1997年に室内濃度の指針値 (100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ or 0.08 ppm) を策定³⁾するなど、対策を進めている。しかし、われわれが1999年に新築建物における HCHO 等の気中濃度と勤務者の健康状態を調査した結果によれば、HCHO 濃度は新築直後の室内で約 70~140 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ が検出され、勤務者にシックハウス症候群の症状 (目・喉・皮膚の刺激、不快感等) がみられている⁴⁾。また、2002年には、事務所気中の高濃度 HCHO によってシックハウス症候群の症状を示した就業者が、労災認定される⁵⁾などの事態も生じている。このため、われわれは HCHO 曝露の評価を行う目的で、ヒト尿中 HCHO について検討を行ってきた。

従来より産業保健の分野では、一部の物質についてはヒトの生体試料を測定して曝露量の把握および初期影響の診断を行うこと (これを生物学的モニタリングと称する) が取り入れられている。法的⁶⁾には1989年より、有機溶剤 (トルエン等8種類) と鉛について検査の実施が義務づけられている。これは、有害物質の曝露-初期影響を生体試料から測定して作業環境や作業方法を評価し、予防対策・健康管理にフィードバックしていこうとするものである⁷⁾。

この手法を HCHO についても適用しようと考えたわけであるが、一般に、HCHO は代謝が早く、最終的には蟻酸 \rightarrow 二酸化炭素へと代謝され、HCHO の形で血中、尿中に存在は難しいとされる⁸⁾。一方、緒方⁹⁾は著書「生物学的モニタリング」の中で、有機溶剤の気中濃度とその尿中濃度の関係に触れ、水溶性の有機溶剤は未変化のまま血液より尿中に容易に排泄されるので、メタノール、メチルケトン、アセトンなどの気中濃度とその尿中濃度とは相関関係を有することを紹介している。HCHO も水溶性の有機溶剤と同様に未変化のまま血液より尿中に容易に排泄されるとするならば、代謝を逃れた HCHO が尿中に存在する可能性も考えられる。実際、竹内ら¹⁰⁾は HCHO に曝露された作業者 (曝露濃度 5.5~30.9 ppb) で、尿中 HCHO 濃度は 0.025~0.364 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を示したとしている。

いずれにしろ、HCHO が尿中に存在したとしても微量と考えられた。したがって、わ

われわれは、まず高感度の尿中 HCHO 測定法を確立し、次いで尿中 HCHO 濃度についての基礎的な知見の収集を図ってきた。そこで本稿では、得られたデータの概略を紹介し、それらを基に尿中 HCHO による HCHO 曝露の評価の可能性について考察した。

1. 蛍光ラベル化試薬を用いる尿中HCHO測定法

従来、尿中 HCHO の測定には DNPH (2,4-ジニトロフェニルヒドラジン) を用いる HPLC (高速液体クロマトグラフ) 法が報告¹¹⁾されているが、我々は、蛍光ラベル化試薬 - 4-amino-3-penten-2-one (商品名 Fluoral-P, 同仁化学) - を用いて、HPLC で尿中 HCHO を測定する方法を検討した。

1. 試薬の調製および測定方法

①蛍光ラベル化試薬 (4-amino-3-penten-2-one 100 mg/ml)

4-amino-3-penten-2-one 1g をアセトニトリル (HPLC 用) で溶かして 10 ml にする。

② 1M リン酸緩衝液 (pH 3.0)

KH₂PO₄ 13.6 g を水に溶かし、H₃PO₄ で pH を 3.0 に調整し、100 ml とする。

③測定方法

標準液 or 検体 1 ml + 1 M リン酸緩衝液 20 μl + 1% 蛍光ラベル化試薬 20 μl を 40℃ の温浴で 20 分反応させ、HPLC に注入し、蛍光 em = 410 nm ex = 510 nm, 移動層 0.5M 酢酸:アセトニトリル = 85:15 0.8 ml/min, カラム ODS-II (島津テクノリサーチ社) の HPLC 条件で測定する。

2. 結果

図 1 に蛍光ラベル化試薬と HCHO の反応について示すが、アミンがアルデヒドと反応して強い蛍光性のイミダゾール構造を形成する。検討の結果、検量線は広い濃度域まで直線性が認められ (図 2)、ブランク、HCHO 標準液、尿 (非暴露尿)、HCHO 添加尿の各検体においてもよい再現性 (CV ≒ 1.2%) が得られるなど、本測定法は方法が

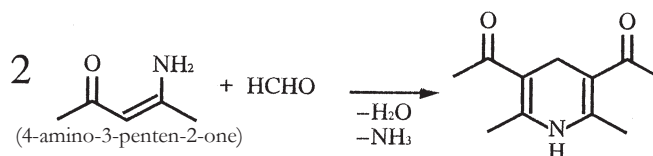


図 1 蛍光ラベル化試薬と HCHO の反応

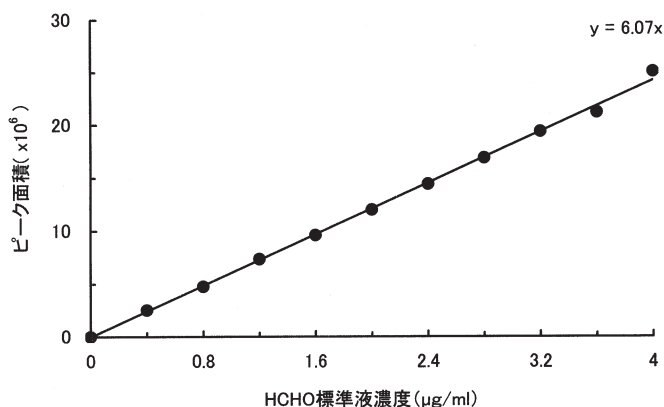


図 2 蛍光ラベル化法による HCHO の検量線

簡単で再現性が高く、直線性も広く、分離もよいことがわかった(図3にクロマトグラムの例を示す)。さらに、DNPH法に比べ、約4倍高い吸収感度を示すこともわかった(検出限界:尿中濃度として0.001 $\mu\text{g/ml}$)。

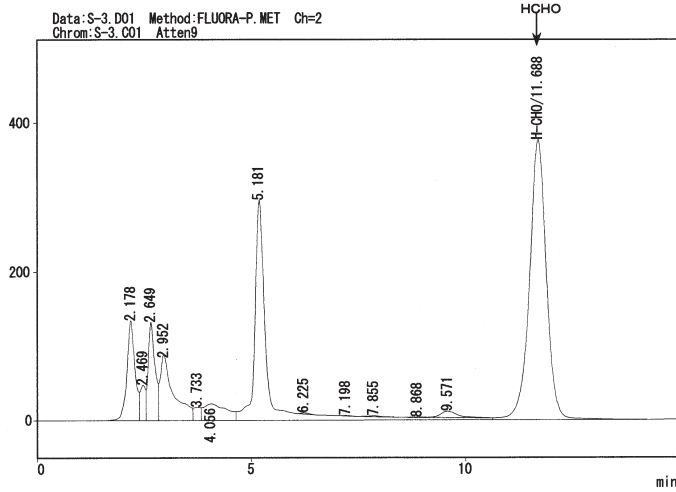


図3 蛍光ラベル化法のクロマトグラムの例 (HCHO 標準添加尿)

以上、本法は尿中 HCHO 測定法として有効と考えられ、以下の「II」の調査に適用することとした。

II. 尿中HCHO濃度についての基礎的検討

HCHO の職業的非曝露者を対象に尿中 HCHO を測定し、尿中 HCHO 濃度についての基礎的な知見の収集を図った。

1. 対象者

HCHO の職業的曝露が無いと考えられる人間ドック受診者を対象とした。本研究の目的を紙面で提示し、“協力できる”と回答した受診者の検尿後の尿サンプルを測定したが、対象者は133名(男91名、女42名)で、年齢は平均49.9歳(25歳~74歳)であった。

2. 結果

尿中 HCHO 濃度は0.001~0.114 $\mu\text{g/ml}$ を示した。ヒストグラムをみると対数正規分布を示すことがわかったため(図4)、以後、対数変換したデータを用いて統計処理をする

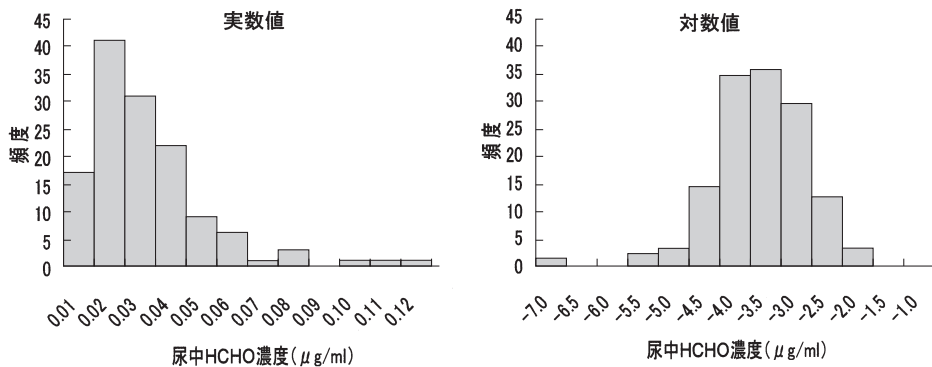


図4 HCHO 職業的非曝露者の尿中 HCHO 濃度分布

ことにした。

表1に示すように、全対象者の尿中HCHO濃度(幾何平均値)は、0.021 µg/mlであった。男女別では、男0.022 µg/ml、女0.019 µg/mlであり、有意差はなかった($p < 0.05$)。また、年齢別では、50歳未満0.021 µg/ml、50歳以上0.022 µg/mlであり、有意差はなかった($p < 0.05$)。しかし、表2に示すように、喫煙の有無別では“喫煙なし”0.019 µg/ml、“喫煙あり”0.027 µg/mlであり、“喫煙あり”が有意に高値を示した($p < 0.01$)。ただし、男女で喫煙率に差があり、女性はほとんど喫煙していなかったため、男だけでも検討した。その結果、“男・喫煙なし”0.018 µg/ml、“男・喫煙あり”0.027 µg/mlであり、同様に“喫煙あり”が有意に高値を示した($p < 0.05$)。

以上、HCHO職業的非曝露者の尿中HCHO濃度を測定したところ、全対象者の幾何平均値は0.021 µg/ml(95%信頼区間 0.005~0.090 µg/ml)であった。また、男女別、年齢別では有意差が認められなかったが、喫煙の有無別では、喫煙者が高い濃度を示す(有意差あり)など、尿中HCHOに関しての基礎的データが得られた。

表1 HCHO職業的非曝露者の尿中HCHO濃度(性別・年齢別)

	全対象者 (n=133)	男 (n=91)	女 (n=42)	50歳未満 (n=60)	50歳以上 (n=73)
幾何平均値 (µg/ml)	0.021	0.022	0.019	0.021	0.022
95%信頼区間 (µg/ml)	0.005~0.090	0.005~0.100	0.005~0.070	0.005~0.084	0.005~0.095

表2 HCHO職業的非曝露者の尿中HCHO濃度(喫煙・非喫煙)

** $p < 0.01$, * $p < 0.05$

	全対象者 (n=133)	喫煙なし (n=78)	喫煙あり (n=52)	喫煙なし(男) (n=39)	喫煙あり(男) (n=50)
幾何平均値 (µg/ml)	0.021	0.019	0.027	0.018	0.027
95%信頼区間 (µg/ml)	0.005~0.090	0.005~0.077	0.007~0.099	0.004~0.085	0.008~0.098

**

*

Ⅲ. 各種タバコ主流煙中のHCHO濃度

尿中HCHOと喫煙の関係が示唆されたので、タバコ主流煙中のHCHO濃度を測定した。

1. 材料および方法

タバコは市販ロングサイズフィルターシガレット(全長80 mm)5種類(A~E)である(表3参照)。主流煙中HCHOを捕集するために、人工喫煙装置¹²⁾を用い、実験を行った。HCHOの捕集は柴田製DNPHアクティブガスタンブ(8015-076)を用い、濃度測定

は取扱説明書¹³⁾に準じて行った。すなわち、点火タバコを手動ポンプ（ナルゲン製、36 ml/ストローク）にて最初に1回2秒かけてパフ（Puff）させて後、1分ごとに1回2秒間パフを行い、燃焼長が48 mmに達するまで燃焼させた。発生した主流煙は、直後のフィルター（ADVANTEC GB-100R）により粒子状物質が取り除かれた後、アクティブガスチューブに導かれる。アクティブガスチューブで捕集されたHCHOはアセトニトリル5 mlで溶出し、5 mlにメスアップした後、HPLCで定量分析した。

HPLCの条件は、カラム ODS-II（島津ジーエルシー）、測定波長 360 nm、移動相アセトニトリル：水 = 60：40、流速 1.0 ml/min である。

2. 結果

各タバコサンプル（6～9本）の測定結果を表3に示すが、タバコ1本当たり主流煙中のHCHO量は以下の通りであった。タバコA：平均3.6μg、B：5.4μg、C：5.7μg、D：8.6μg、E：11.2μgであり、5種類全てのタバコサンプルにおいて、主流煙中に一定のHCHOが含まれていることがわかった。また、主流煙中のHCHO量と箱に表示してあるニコチン含有量あるいはタール含有量との間の関係を検討した。その結果、HCHO量とニコチン含有量（図5）、あるいはタール含有量（図6）との間には相関が認められ（ $r = 0.758$, $r = 0.750$ ）、ニコチン含有量あるいはタール含有量の高いタバコほど、主流

表3 各種タバコの主流煙中HCHO量

タバコ銘柄	ニコチン ^{注)} mg/本	タール ^{注)} mg/本	パフ回数	HCHO (μg/主流煙/本) 平均値 (最小値～最大値)
A	0.1	1	6	3.6 (1.9～ 5.7) (n=6)
B	0.5	6	7	5.4 (3.0～ 9.1) (n=6)
C	0.8	10	7～8	5.7 (3.0～ 9.2) (n=9)
D	1.2	14	8～9	8.6 (5.0～13.8) (n=7)
E	1.9	21	9～10	11.2 (9.2～16.8) (n=8)

注) 箱に表示してある含有量

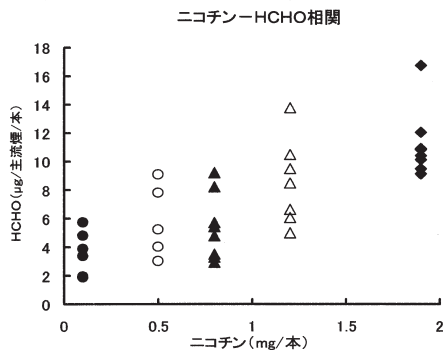


図5 主流煙中HCHO量とニコチン含有量との相関

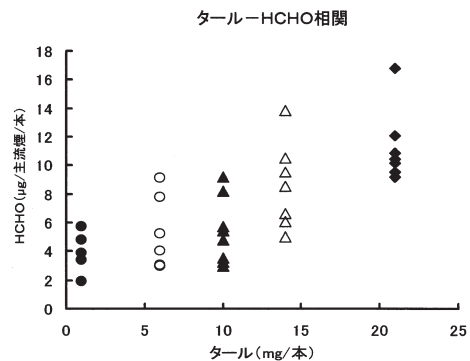


図6 主流煙中HCHO量とタール含有量との相関

煙中の HCHO 量が多い傾向にあることもわかった。なお、ニコチン含有量とタール含有量は強い相関 ($r = 0.998$) を示していた。

以上、各種タバコ（シガレット）の主流煙中 HCHO 量を測定した結果、全てのタバコサンプルにおいて、主流煙中に一定の HCHO（各平均 3.6~11.2 μg /主流煙/本）が含まれており（ニコチン含有量あるいはタール含有量の多いタバコほど主流煙中 HCHO 量は多い）、喫煙者は HCHO 曝露のあることがわかった。

IV. 尿中HCHOについての考察

われわれは、HCHO 職業的非曝露者の尿中 HCHO 濃度は 0.001~0.114 $\mu\text{g}/\text{ml}$ （幾何平均値 0.021 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）を示すことを認めた。尿中の HCHO を測定した報告は少ないが、Szarvas ら¹⁴⁾は 2.5~4.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であったと報告している。また、Andraid ら¹⁵⁾は 0.012~0.293 $\mu\text{g}/\text{ml}$ と報告しているが、この報告で最高値を示したケースでは、抗生物質を服用しており、それを除くと 0.012~0.195 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。さらに、竹内ら¹⁰⁾は HCHO に曝露された作業（曝露濃度 5.5~30.9 ppb）で、尿中 HCHO 濃度は 0.025~0.364 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を示したが、曝露と尿中 HCHO 濃度の相関は低かった。ただし、喫煙により曝露濃度および尿中 HCHO 濃度が高値となり、差がみられた ($p < 0.01$) としている。われわれも、尿中 HCHO 濃度が“喫煙なし群”では 0.019 $\mu\text{g}/\text{ml}$ （幾何平均値），“喫煙あり群”では 0.027 $\mu\text{g}/\text{ml}$ （同）と，“喫煙あり群”が有意に高値を示す ($p < 0.01$) ことを認めた。これらのことより、尿中に HCHO が存在すること、喫煙により尿中 HCHO 濃度が高値となることは確からしいと思われる。

そこで、尿中 HCHO の起源であるが、脂質代謝との関連^{16,17)}、メタノール代謝¹⁸⁾との関連、メチルアミン代謝¹⁹⁻²¹⁾との関連など HCHO の内生に関する報告が種々あり、これらが尿中 HCHO の起源の一つに考えられる。とくにその中で喫煙との関連では、Yu²¹⁾はタバコ煙中のメチルアミンあるいはニコチン代謝の主最終産物のメチルアミンから、HCHO が内生されると報告しており、これも喫煙者で尿中 HCHO 濃度が高かった要因の一つと考えられる。

一方、HCHO の曝露により、尿中 HCHO 濃度が上昇することはないのだろうか。一般に、HCHO は代謝が早く、最終的には蟻酸 → 二酸化炭素へと代謝され、HCHO の形で血中、尿中に存在は難しいとされる⁸⁾。緒方⁹⁾は著書「生物学的モニタリング」の中で、有機溶剤の気中濃度とその尿中濃度の関係に触れ、水溶性の有機溶剤は未変化のまま血液より尿中に容易に排泄されるので、メタノール、メチルケトン、アセトンなどの気中濃度とその尿中濃度とは相関関係を有することを紹介している。HCHO も水溶性の有機溶剤と同様に未変化のまま血液より尿中に容易に排泄されるとするならば、代謝を逃れた HCHO が尿中に存在する可能性も考えられる。

今回、タバコ主流煙中には HCHO が平均 3.6~11.2 μg /本含まれる（銘柄によって異

なる)ことを明らかにしたが、仮に、1日20本喫煙し、すべて吸収されると仮定すれば、HCHOが72~224 µg/日に取り込まれると試算される。タバコ煙のサンプリング方法にもよるが、1000 µg/日のHCHOが取り込まれるとの算定結果もある⁸⁾。

これらのことより、喫煙者の尿中HCHO濃度が高値を示したこととタバコ煙中のHCHO、すなわちHCHO曝露との関連は、可能性としては考えられるが、尿中へのHCHOの排泄に関しては様々な要因を考慮する必要があると思われる。

まとめ

HCHO曝露の評価を行う目的で、ヒト尿中HCHOについて検討した結果、尿中にHCHOが存在することは確からしいことがわかった。一方、尿中HCHOの起源であるが、内生によるもの以外、曝露由来のHCHOが尿中に存在することは、可能性としては考えられた。しかし、尿中HCHOによるHCHO曝露の評価を行うには、尿中へのHCHOの排泄に関して様々な要因があることから、さらに検討が必要と思われた。

文 献

- 1) Godish T. SICK BUILDINGS Definition, Diagnosis and Mitigation. Florida: CRC Press Inc., 1996 (小林剛訳注. シックビルディング 診断と対策 東京: オーム社, 1998: 1-35.)
- 2) 池田耕一. シックハウス症候群. 生活と環境 1998; 43: 24-33.
- 3) 厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室. シックハウス (室内空気汚染) 問題に関する検討会中間報告書-第1回~第3回のまとめについて-. 2000.
- 4) 浅川富美雪, 戴 紅, 須那 滋, 他. 新築校舎におけるHCHO, VOCs気中濃度/曝露濃度とその推移ならびに勤務者の健康. 室内環境学会誌 2001; 4 (1): 188-191.
- 5) 毎日新聞. 「シックハウス」労災認定. 2002年6月11日朝刊 2002.
- 6) 労働省労働基準局安全衛生部労働衛生課. 改正健康診断について-その3 有機溶剤健康診断・鉛健康診断-. 産業医学ジャーナル 1990; 13: 5-11.
- 7) 浅川富美雪, 呉羽晃徳, 實成文彦. 労働衛生管理における生物学的モニタリングの活用事例. 倉敷芸術科学大学紀要 2005; 10: 59-68.
- 8) 国立医薬品食品衛生研究所ホームページ 化学物質. <http://www.nihs.go.jp/kanren/kagaku.html>, 環境保健クライテリア89 ホルムアルデヒド. 1989.
- 9) 緒方正名. 生物学的モニタリング-理論と実際-. 東京: 篠原出版, 1991: 74-75.
- 10) 竹内靖人, 河合俊夫, 圓藤陽子. ホルムアルデヒド曝露指標としての尿中ホルムアルデヒドについて. 産業衛生学雑誌 2002; 44: 251-252.
- 11) 堀家徳士, 伊藤武彦, 宇佐神雅樹, 他. 生体試料中のアルデヒド類測定法の検討. 産業衛生学雑誌 2001; 44 (臨時増刊号): 686.
- 12) 須那 滋, 浅川富美雪, 實成文彦, 他. シガレット喫煙におけるカドミウム, 鉛揮散とその影響. 日本衛生学雑誌 1991; 46: 1014-1024.
- 13) 柴田科学株式会社. DNPHアクティブガスチューブ取扱説明書. 2005.
- 14) T Sarvas, E Sztatloczky, J Volford, et al. Determination of endogenous formaldehyde level in human blood and urine by dimeone-14C radiometric method. J Radioanal Nucl Chem letters 1986; 106: 357-367.
- 15) JB de Andraid, MV de Andraid, H.L.C. Pinheiro, et al. Determination of formaldehyde and

- acetaldehyde in urine by HPLC. *American Laboratory* 1999 ; 22 : 22-27.
- 16) MA Shara, PH Dickson, D Stohs, et al. Excretion of formaldehyde, malondialdehyde, acetaldehyde and acetone in the urine of rats in response to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin, paraquat, endrin and carbon tetrachloride. *J Chromatogr* 1992 ; 576 : 221-233.
 - 17) JP Van Dijken, R Otto, W Harder. Oxidation of methanol, formaldehyde, and formate by catalase purified from methanol-grown *Hansenula polymorpha*. *Arch Microbiol* 1975 ; 106 : 221-226.
 - 18) LJ Casarett, J Doull. *Toxicology, the basic science of poisons*. New York, NY: Macmillan Publishing Co., Inc. 1975 ; 299 : 512-513.
 - 19) PH Yu, DM Zuo. Formaldehyde produced endogenously via deamination of methylamine: A potential risk factor for initiation of endothelial injury. *Atherosclerosis* 1996 ; 120 : 189-197.
 - 20) PH Yu, YL Deng. Endogenous formaldehyde as a potential factor of vulnerability of atherosclerosis: involvement of semicarbazide-sensitive amine oxidase-mediated methylamine turnover. *Atherosclerosis* 1998 ; 140 : 357-363.
 - 21) PH Yu. Increase of formation of methylamine and formaldehyde in vivo after administration of nicotine and the potential cytotoxicity. *Neurochem Res* 1998 ; 23 : 1205-1210.

Formaldehyde in Human Urine

Fumiyuki ASAKAWA

*College of Life Science, Kurashiki University of Science and the Arts,
2640 Nishinoura, Tsurajima-cho, Kurashiki-shi, Okayama 712-8505, Japan*

Akinori KUREHA

*Department of Health care, Kagawa Rosai Hospital,
3-3-1 Jyoto-cho, Marugame-shi, Kagawa 763-0013, Japan*

Shigeru SUNA

Fumihiko JITSUNARI

*College of Medicine, Kagawa University,
1750-1 Ikenobe, Miki-cho, Kagawa 761-0793, Japan*

(Received October 1, 2008)

This paper discusses the results of analysis of human urine for formaldehyde to evaluate the exposure to formaldehyde. We found that formaldehyde was present in the urine, and speculated that the urine may contain formaldehyde of exogenous origin, i.e., formaldehyde exposure, as well as endogenous origin. However, since various factors are involved in the urinary excretion of formaldehyde, further studies are necessary to evaluate formaldehyde exposure.