

令和 2 年 5 月 27 日現在

機関番号：37116  
研究種目：若手研究(B)  
研究期間：2017～2019  
課題番号：17K18303  
研究課題名(和文)皮膚吸収性物質N,N-ジメチルアセトアミドの取扱い作業者の新規リスク評価法の開発  
  
研究課題名(英文)Development of new risk assessment for workers handling the skin absorptive substance N,N-dimethylacetamide  
  
研究代表者  
山本 忍 (Yamamoto, Shinobu)  
  
産業医科大学・産業保健学部・助教  
  
研究者番号：70761469  
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、N,N-ジメチルアセトアミド(DMAC)取扱い作業者のリスク評価法の開発である。本研究では、高速液体クロマトグラフ-質量分析法を用いたDMAC尿中代謝物4成分の同時測定法を開発した。また、1名の取扱い作業者の尿中代謝物濃度測定を実施した。その結果、気中濃度0.15 ppmで尿中代謝物はN-メチル-N-ヒドロキシメチルアセトアミド(1.27 mg/g creatinine)とS-アセトアミドメチルメルカプトール酸(0.24 mg/g creatinine)のみが検出された。

#### 研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は皮膚吸収が指摘されているDMACのリスク評価法として尿中代謝物4成分を同時に測定可能な方法を開発したことである。これまでのDMACの尿中代謝物濃度測定は、ガスクロマトグラフを用いたN-メチルアセトアミドの測定法であったが、このリスク評価法は測定精度に欠くという問題が指摘されていた。本研究により、精度の高いリスク評価法を検討するための方法が確立された。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to develop a risk assessment for workers handling N,N-dimethylacetamide. In this study, we developed a method for simultaneous determination of DMAC urinary metabolites using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. In addition, urinary metabolite concentrations were measured in one worker. Then, at an air concentration of 0.15 ppm, only N-hydroxymethyl-N-methylacetamide (1.27 mg/g creatinine) and S-(Acrtamidomethyl) mercapturic acid (0.24 mg/g creatinine) were detected in urine.

研究分野：産業衛生学

キーワード：N,N-ジメチルアセトアミド 尿中代謝物濃度測定 皮膚吸収 リスク評価

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

皮膚吸収する化学物質のばく露評価は、実際の体内取り込み量が反映される生物学的モニタリングが有効である。今回研究対象とした N,N-ジメチルアセトアミド(DMAC)は、水溶性が高いため、経気道吸収だけでなく経皮吸収も指摘されている。また、DMAC 取扱い作業者が急性肝炎を発症した事例や実験動物による長期毒性試験でがんを引き起こしたことなどが報告されている。ばく露指標であるバイオマーカーや生物学的許容値は日本では勧告されておらず、米国の産業衛生専門家会議(ACGIH)が勧告する尿中 NMAC, 30 mg/g creatinine が利用されている。DMAC は体内で N-メチル-N-ヒドロキシメチルアセトアミド(DMAC-OH), N-メチルアセトアミド(NMAC), を経て N-ヒドロキシメチルアセトアミド(NMAC-OH), S-アセトアミドメチル-L-アセチルシステイン(AMMA), アセトアミドに代謝される (図1)。

尿中 NMAC はガスクロマトグラフ(GC)を用いて測定されるが、GC 法による NMAC 測定では、NMAC の前駆体である DMAC-OH が GC 注入口の温度の熱によって NMAC に熱分解するため、測定値に誤差を生じ、精度の高いばく露評価ができないことが指摘されている。

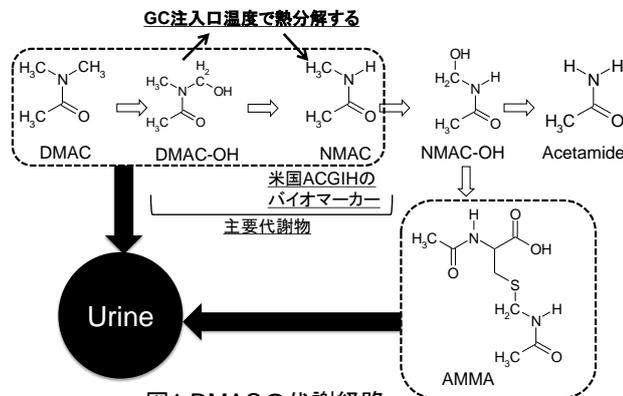


図1 DMACの代謝経路

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、高速液体クロマトグラフー質量分析(HPLC-MS)を用いて DMAC 尿中代謝物 4 成分の精度の高い濃度測定法を確立し、DMAC 取扱い作業者のリスク評価を行うことである。

### 3. 研究の方法

#### (1) 尿中代謝物の測定法の確立

測定対象成分は DMAC, DMAC-OH, NMAC, AMMA の 4 成分とし、尿を移動相で 10 倍希釈したものを試料とした。HPLC-MS は Netera UHPLC/HPLC System+LCMS-8030 を用い、イオン化法は ESI 法とした。バリデーション項目は、検量線、検出下限、定量下限、真度、精度、マトリックス効果とした。評価基準は、欧州医薬品庁の EMA ガイドラインおよび米国食品医薬品局の FDA ガイダンスを参考にした。

#### (2) DMAC 取扱い作業者の調査

DMAC 含有塗料を取り扱う作業員 1 名およびコントロールとして事務所作業者 2 名を調査対象とした。作業員は右手にスプレーガン、左手に被塗装物を持ち、囲い式局所排気装置に向かって塗装作業を実施していた。作業時間は約 60 分間であった。

調査対象者は週の初め(月曜日)の作業前と作業後および週末(金曜日)の作業前と作業後に採尿を行った。また、DMAC を用いた塗装作業は、金曜日に行われ、その際、3M 有機ガスモニターによる作業員の呼吸域付近の DMAC 濃度測定と保護着破過インジケーターによる測定も同時に行った。

保護着破過インジケーターには SKC 社製 PERMEA-TEC Pads を用いた。パッドは作業員にインナー手袋を装着させ、手の甲と手のひら数ヶ所に貼り付けた。作業員はインナー手袋の上から保護手袋を装着し、塗装作業を行った。塗装終了後、パッドの活性炭部分は、吸着した DMAC を抽出し、濃度測定を行った。また、マイクロカプセルインジケーター(有機溶剤が接触すると色に変色)の色の変化を確認した。保護手袋として、軍手を装着している時と耐溶剤用保護手袋を装着している時とそれぞれ測定を行った。

### 4. 研究成果

#### (1) 尿中代謝物の測定法の確立

分析カラムは InertSustain C18 (GL サイエンス社製; 2.1 mmID×150 mm, 2 μm) を用い、移動相は 10 mM ギ酸とメタノールのグラジエント条件とすることで 4 成分の良好な分離が得られた。4 成分の検量線範囲は 0.05–5 mg/L ( $r \geq 0.999$ ) であった。DMAC, DMAC-OH, NMAC, AMMA の検出下限は、それぞれ 0.04, 0.02, 0.05, 0.02 mg/L であった。日内及び日間の真度は、それぞれ 96.5–109.6%, 99.6–111.8% であり、日内及び日間の精度は、それぞれ 3.43–10.31%, 2.91–8.79% と良好な結果が得られた。DMAC-OH を除く 3 成分のマトリックス効果は、15% 以下と良好な結果が得られたが、DMAC-OH のみ 16.1% であった。

#### (2) DMAC 取扱い作業者の調査

##### 事務所作業者 (コントロール) について

調査対象者 2 名について、いずれの採尿のタイミングにおいても測定対象とした 4 成分の濃

度は定量下限値以下であった。また、呼吸域の DMAC 濃度も定量下限値以下であった。

#### DMAC 取扱い作業員について

測定対象として 4 成分のうち、DMAC および NMAC はいずれの採尿のタイミングにおいても定量下限値以下の濃度であった。DMAC-OH は週末金曜日の作業前後に 0.17 mg/g creatinine, 1.27 mg/g creatinine であった。AMMA は週明け月曜日の尿からも検出され、作業前後で、0.09 mg/g creatinine, 0.08 mg/g creatinine で、金曜日の作業前後では、0.21 mg/g creatinine, 0.24 mg/g creatinine であった。

NMAC が検出されずに、DMAC-OH が検出されたことから、これまで GC 法で測定されてきた NMAC は DMAC-OH が GC 注入口で熱分解したものであることが推察され、DMAC-OH は NMAC より低濃度ばく露のマーカーとして利用できる可能性が示唆された。また、先行研究<sup>1,2)</sup>では、NMAC は半減期が約 5~9 時間、AMMA は半減期が約 29 時間と報告されている。DMAC-OH の半減期も NMAC と同程度であることが予想され、AMMA は作業週のばく露指標、DMAC-OH は作業日のばく露指標となる可能性が示された。

#### 呼吸域の DMAC 濃度測定

DMAC 取扱い作業員の呼吸域での DMAC 濃度は 0.15 ppm であった。ACGIH の TLV-TWA は経気道ばく露の指標である。したがって、DMAC の TLV-TWA 10 ppm と尿中 NMAC の BEI 30 mg/g creatinine の関係式は、 $y$  (mg/g creatinine) =  $3 \times x$  ppm となる。この式に 0.15 ppm を代入すると 0.45 mg/g creatinine となる。ここで、DMAC-OH から NMAC への変換は 1 mol から 1 mol の変化であることから、仮に NMAC 濃度を DMAC-OH 濃度に置き換えると、DMAC 取扱い作業員の DMAC-OH 濃度は 1.27 mg/g creatinine であることから、前述の関係式から得られた濃度よりも高い値のため、皮膚吸収があったことが推察される。

#### 保護着破過インジケータを用いた測定

軍手を装着した際には被塗装物を持つ手に貼り付けたパッドの活性炭から 1000 µg/sample を超える DMAC が検出された。また 1000 µg/sample を超えたパッドではインジケータの色の变化 (白→茶色) が確認された。一方、耐溶剤用保護手袋を装着した同様の調査では、被塗装物を持つ手に貼り付けた 1箇所が 2.1 µg/sample であったが、その他のパッドは定量下限値以下であった。したがって、適切な保護手袋着用による経皮吸収防止の効果が確認された。



図 2 保護着破過インジケータの写真 (軍手着用時のインナー手袋)

#### <参考文献>

1. Nomiya T et al. Dermal absorption of N,N-dimethylacetamide in human volunteers. Int Arch Occup Environ Health 2000; 73: 121-6.
2. Princiville A, Pasini F, Perbellini L. S-(acetamidomethyl)mercapturic acid (AMMA): A new biomarker for occupational exposure to N,N-dimethylacetamide. J Chromatogr B 2010; 878: 2515-2519.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Shinobu Yamamoto, Akiko Matsumoto, Yuko Yui, Shota Miyazaki, Shinji Kumagai, Hajime Hori, Masayoshi Ichiba	4. 巻 60
2. 論文標題 Concentration determination of urinary metabolites of N,N-dimethylacetamide by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Occupational Health	6. 最初と最後の頁 140-147
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山本忍，西野入修，竹内靖人，市場正良，保利一
2. 発表標題 DMAC取扱い作業者の経皮ばく露防止のための保護着破過インジケータの活用
3. 学会等名 第93回日本産業衛生学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山本忍，松本明子，由井夕湖，宮崎将太，保利一，市場正良
2. 発表標題 液体クロマトグラフ - 質量分析法によるN,N-ジメチルアセトアミド尿中代謝物の測定法
3. 学会等名 第46回産業中毒・生物学的モニタリング研究会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----