

BULLETIN OF THE NATIONAL
INSTITUTE OF
INDUSTRIAL HEALTH

No. 8

1962

労働衛生研究所研究報告

第 8 号

昭和三十七年

THE NATIONAL INSTITUTE
OF INDUSTRIAL HEALTH

MINISTRY OF LABOUR

労働省労働衛生研究所

**THE NATIONAL INSTITUTE OF
INDUSTRIAL HEALTH**

Kizuki-Sumiyoshi, Kawasaki, Japan

EDITORIAL BOARD

MASAYOSHI YAMAGUCHI, *Editor-in-Chief*

HIROYUKI SAKABE, SHIGEO KOIKE

EXPERIMENTAL STUDY ON NITROGLYCOL POISONING IN RABBIT

EFFECT OF NITROGLYCOL UPON MUSCULAR CONTRACTION

Hiromichi HASEGAWA and Mitsuo SATO

(Received September 1, 1962)

As a subjective symptoms of workers in an explosives plant, numbness of legs and hands has been reported by Synanski¹⁾ and Yamaguchi *et al*²⁾. On the other hand, it has been well known that nitroglycol has an action as a vasodilator and leads to the decrease of blood pressure^{3,4)}.

The spasmolytic action of nitrate on the smooth muscles of blood vessels and other organs is said to be independent of innervation. The nitrate acts on smooth muscles with undiminished efficacy after destruction of the arebrospinal axis, as well as on peripherally denervated structures and excised organs⁵⁾. From above facts, it may be supposed that nitroglycol affects directly on smooth muscle and changes the muscle tone as well as the ability of the muscle cell to contract.

The mechanism of muscular contraction has been investigated by many workers^{6,7,8)}. From their experiments, it has been clarified that actomyosin (myosin B), which accounts for about 80 per cent of the total structural proteins extracted from muscle, possesses the contractile properties⁹⁾. By the addition of adenosine triphosphate (ATP) actomyosin solution changes its physical properties^{9,10,11)}. Tonomura *et al*^{12,13)} investigated the interaction between actomyosin and ATP by the use of light scattering technique.

In this paper, experiments were carried out according to Tonomura's method^{12,13)} to ascertain whether nitroglycol affects on the action of muscle using actomyosin solution in 0.6 M KCl prepared from the skeletal muscle or not.

EXPERIMENTALS

Materials—Actomyosin (myosin B) solution in 0.6 M KCl, which was prepared from rabbit skeletal muscle according to the method described by Szent-Györgyi^{7,12)}, was used after clarifying by centrifugation for one hour at 24,000×g. ATP (disodium salt) was purchased from Sigma Chemical Co. Nitroglycol was synthesized by nitrifying ethylene glycol with H₂SO₄ and HNO₃ (1:1) and washed enough with water²²⁾.

Light Scattering Measurements—Scattered light at 90° was accepted by photomultiplier (MS-9 S, 931 A) and the photoelectric current was multiplied by a D. C. amplifier. The output current of D. C. amplifier was read by an ammeter.

The standard medium for measurements consisted of 0.55 M KCl, 0.02 M veronal

acetate buffer of pH 6.4 and 0.1 mM CaCl_2 . Experiments were carried out by introducing 0.2 ml ATP (final concentration: 0.14 mM) with bubbling into actomyosin solution in the above medium.

Assay of ATP-ase Activity—The contents of the reaction medium (total volume: 3.3 ml) were 0.6 M KCl, 6 mM CaCl_2 , 1.2 mM ATP and 0.02 M veronal acetate buffer of pH 6.4. After this mixture was incubated at 30°C for 10 minutes, 1 ml actomyosin solution in 0.6 M KCl treated with nitroglycol or NO_2 was introduced. At the intervals of 10 seconds, 1 ml was pipetted out and ATP-ase action was stopped by adding 1 ml of 20 per cent HClO_4 solution. The amounts of inorganic P liberated from ATP were measured by Youngburg-Youngburg's method¹⁴.

Protein Concentration—The nitrogen content of the protein was determined by the micro-Kjeldahl technique and the concentration of the protein was calculated from the nitrogen content using a factor of 6¹⁵.

RESULTS

Structural Changes of Actomyosin Molecule Caused by the Addition of ATP—By the addition of ATP into the actomyosin solution, scattered light intensity changed very rapidly corresponding to the structural changes of actomyosin molecule. The results

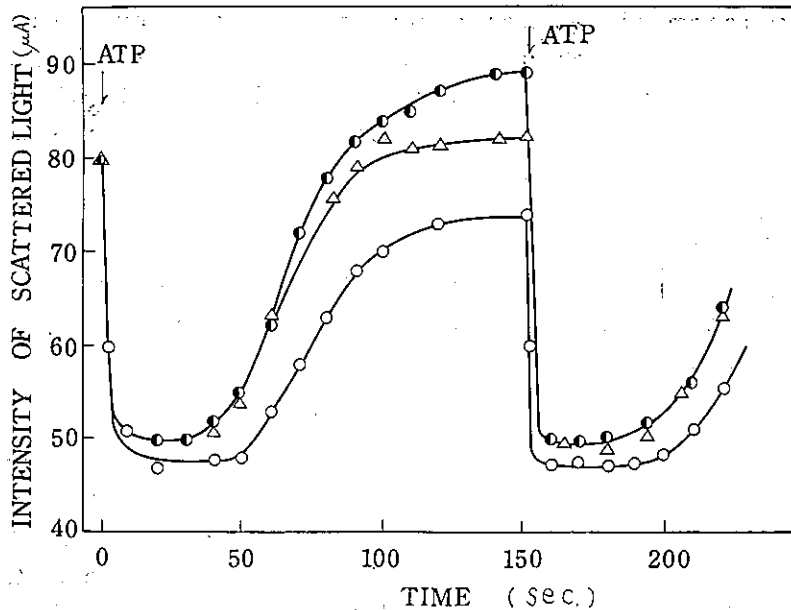


Fig. 1. Change of scattered light intensity of actomyosin solution in 0.55 M KCl by the addition of ATP.

Actomyosin was prepared from a normal rabbit. Experiments were initiated by adding 0.2 ml of ATP (final concentration: 0.14 mM) with bubbling into actomyosin solution in 0.55 M KCl, which contained 0.1 mM Ca^{++} . ○; control, ●; Nitroglycol (0.356 mM–0.356 μM), △; NO_2 (0.87 mM–0.87 μM). Protein concentration was 0.45 mg per ml. Experimental conditions; pH 6.4, 30°C.

NITROGLYCOL POISONING.

were shown in Fig. 1. As seen in the figure, the reaction process was divided into three parts; (1) scattered light intensity decreased very rapidly, (2) and reached to a constant and kept the value. (3) When most of added ATP was decomposed into adenosine diphosphate (ADP) and P, scattered light intensity recovered to the former value. Tonomura *et al*^{12,13}) have investigated this phenomenon kinetically and found out that the first part was accelerated by Mg^{++} but not by Ca^{++} , the length of the second period was in proportion to the activity of ATP-ase, and for the third part the presence of kinase system was necessary.

When nitroglycol presented in the reaction mixture, the apparent recovery rate at the third period was larger than the control and the scattered light intensity at the end of the reaction was found to be 1.1~1.3 times as large as the control. If this large value of scattered light intensity at the end of the reaction is caused by some denaturation or by dissociation of actomyosin molecule, the changes of scattered light intensity must appear in a different way by the second addition of ATP. But as seen in Fig. 1, the reaction process at the second addition of ATP was almost the same with that at the first. From these facts, it may be sure that nitroglycol affects the recovery process (the third period). Moreover, it may be noticed that the effect of nitroglycol or NO_2 was almost the same in a concentration range of 0.1 μM -1.0 mM.

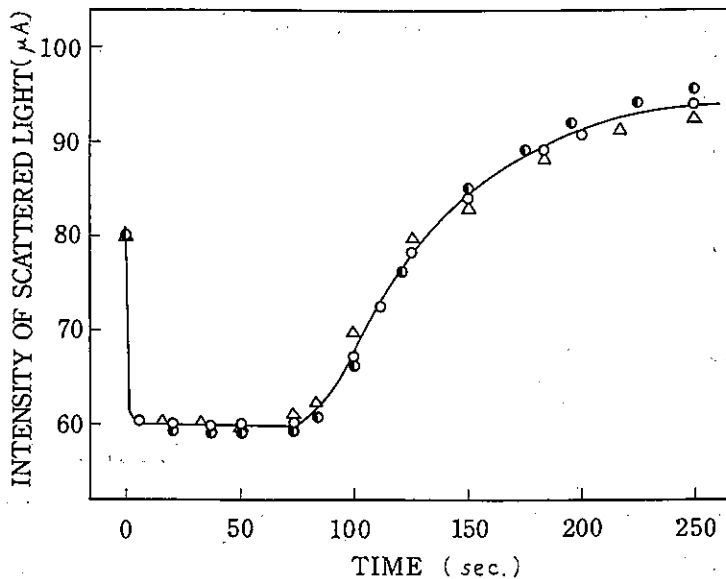


Fig. 2. Change of scattered light intensity of actomyosin solution in 0.55 M KCl prepared from nitroglycol poisoned rabbit by the addition of ATP.

Actomyosin was prepared from a rabbit injected with nitroglycol (0.2 g/kg) every day for 4 days. Experiments were initiated by adding 0.2 ml of ATP (0.14 mM) with bubbling into actomyosin solution in 0.55 M KCl, which contained 0.1 mM Ca^{++} . ○; Control. ●; Nitroglycol (0.356 mM-0.356 μM). △; NO_2 (0.87 mM-0.87 μM). Protein concentration was 0.6 mg per ml. Experimental conditions; pH 6.4, 30°C.

When actomyosin was prepared from skeletal muscle of rabbit which received 0.2 g nitroglycol per kg of body weight every day for 4 days, its physical properties differed from those of control rabbit. No effect of nitroglycol and NO_2 upon the actomyosin-ATP interaction was observed, showing the same reaction curve with the control (Fig. 2). As seen in Fig. 2, at the end of the reaction of the control, the scattered light intensity was more larger than that at the beginning of the reaction. If nitroglycol injected into the body remains in the actomyosin sample, this phenomenon may be interpreted as the effect of nitroglycol.

Number of ATP Molecule Necessary for the Maximum Formal Change of Actomyosin Molecule—Tonomura *et al*^{12,13}) determined the number of ATP molecule, which was necessary for the maximum formal change of actomyosin molecule, by measuring the scattered light intensities at the beginning and at minimum (the second period) with varying the concentration of ATP. It was found to be 8 in the presence of Mg^{++} (1/400 M), which inhibited the ATP-ase action, and 60 in the presence of Ca^{++} (1/400 M), which accelerated the ATP-ase action.

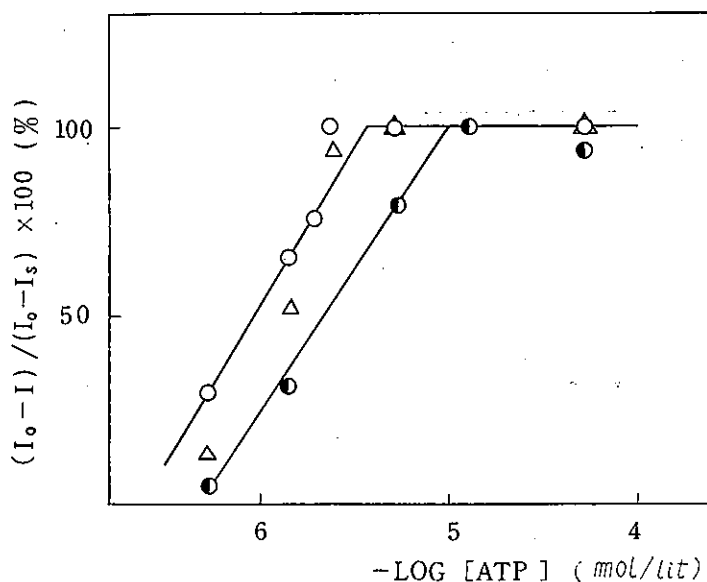


Fig. 3. Relationships between the decreased amount of scattered light intensity and the concentrations of ATP.

Actomyosin was prepared from a normal rabbit and the concentration of the protein was 0.45 mg per ml. The amount of decreased scattered light intensity in the presence of Mg^{++} (10 mM) with various concentrations of ATP was represented by the equation $(I_0 - I)/(I_0 - I_s)$ as described in this paper. O; Control. ●; Nitroglycol (36 μM). Δ; NO_2 (0.87 mM). Experimental conditions; pH 6.4, 30°C.

In Fig. 3 which was obtained by using the actomyosin sample prepared from the normal rabbit, abscissa shows the value $(I_0 - I)/(I_0 - I_s)$ in per cent. and ordinate $-\log$

NITROGLYCOL POISONING

[ATP]. I_0 is the scattered light intensity at zero time, I_s the minimum intensity after the addition of enough amount of ATP, and I the minimum intensity after the addition of various concentrations of ATP. Experiments were carried out in the presence of enough amount of Mg^{++} (10 mM) to inhibit the ATP-ase action. As seen in Fig. 3, by the addition of $4 \mu M$ ATP, the value of I became equal to I_s (ATP: 1 mM) and the shape of actomyosin molecule changed perfectly, while in the presence of $35 \mu M$ nitroglycol, $10 \mu M$ of ATP was necessary for the perfect change of actomyosin molecular form. The later ATP concentration was 2.5 times larger than the former. NO_2 (87 mM) showed no effect.

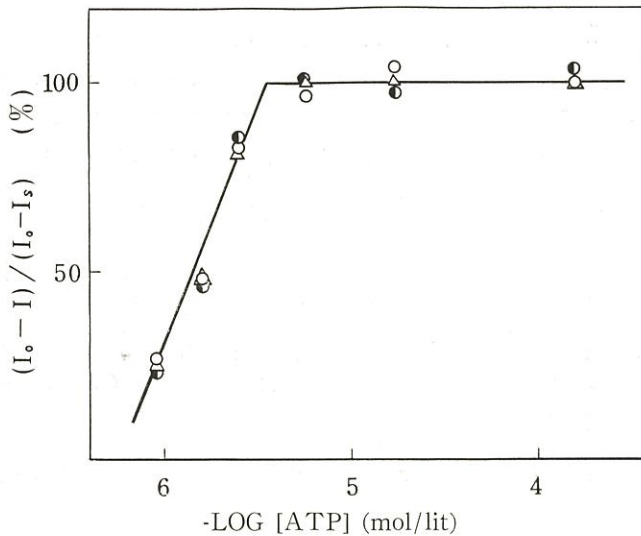


Fig. 4. Relationships between the decreased amount of scattered light intensity and the concentrations of ATP.

Actomyosin was prepared from a nitroglycol poisoned rabbit and the concentration of the protein was 0.6 mg per ml. ○; Control. ●; Nitroglycol ($36 \mu M$). △; NO_2 (0.87 mM). Experiments were carried out at pH 6.4 and $30^\circ C$.

For actomyosin prepared from nitroglycol poisoned rabbit, nitroglycol as well as NO_2 was harmless as illustrated in Fig. 4. From the results illustrated in Figs. 2 and 4, it may be considered that nitroglycol remained in the actomyosin sample prepared from poisoned rabbit. But following experiments denied this assumption. Nitroglycol content in this sample was determined by the diazo method after hydrolysing with $NaOH^{16)}$, but no traces was detected. Moreover, the metabolic rate of nitroglycol into NO_3 in the body of rabbit was found to be very rapid¹⁷⁾. When 0.2 g of nitroglycol per kg of body weight was injected, the increment of NO_3 content in 1 ml of the blood was about $25 \sim 50 \mu g$ per hour and this value increased to $100 \sim 200 \mu g$ by injecting with nitroglycol every day¹⁷⁾. From these experiments, the above assumption was denied perfectly. Then, we have assumed that the actomyosin molecule prepared

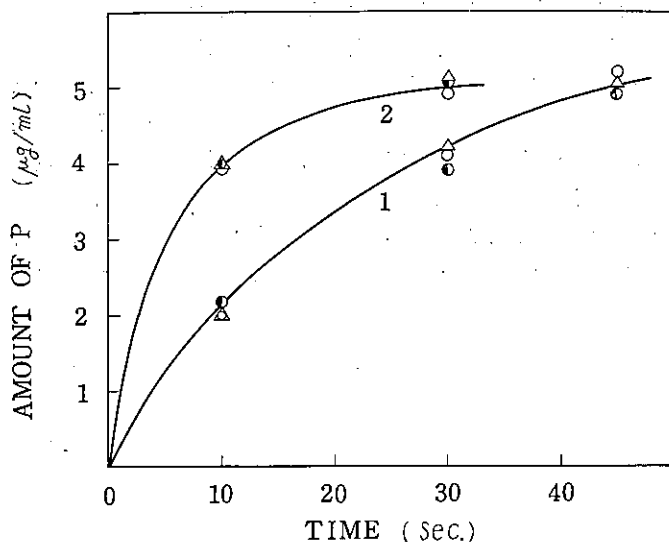


Fig. 5. Effect of nitroglycerol and NO_2 upon the ATP-ase action of actomyosin.

Assay of ATP-ase activity was made in the presence of Ca^{++} (1 mM) at pH 6.4 and 30°C . Concentration of ATP; 1.2 mM. Curve 1; Actomyosin was prepared from a normal rabbit and the protein concentration was 0.9 mg per ml. Curve 2; Actomyosin was prepared from a poisoned rabbit and the protein concentration was 1.2 mg per ml. \circ ; Control. \bullet ; Nitroglycerol (0.356 mM-0.356 μM). \triangle ; NO_2 (0.87 mM-0.87 μM).

from poisoned rabbit had been some modified already by nitroglycerol injected into the body.

Effect of Nitroglycerol and NO_2 upon ATP-ase Action of Actomyosin—ATP-ase action of actomyosin was not accelerated and not inhibited by nitroglycerol and NO_2 as illustrated in Fig. 5.

DISCUSSION

It is a question whether the formal changes of actomyosin solution in 0.55 M KCl observed in our experiments correspond to those of muscle or not. Weber *et al*⁶⁾ have assumed that muscular contraction is accompanied with the decomposition of ATP into ADP and P by actomyosin, and so that the decrease of light scattering or of viscosity of actomyosin solution in 0.6 M KCl by adding ATP corresponds to the "placitizing effect" of ATP with the actomyosin molecule. On the other hand, Morales *et al*⁸⁾, from the standpoint that muscle contracts by adsorbing ATP on the actomyosin molecule, have described in the review that the formal changes of actomyosin-sol correspond to the muscular contraction itself. If the assumption that the muscular contraction and relaxation correspond to the reaction processes of actomyosin-ATP interaction in 0.6 M KCl is taken up, the minimum requirement of

NITROGLYCOL POISONING

ATP for the muscular contraction in the presence of nitroglycol, which penetrated into the body through the mouth and the skin¹⁸⁾, may be 2~3 times as large as that in the absence of nitroglycol. And the relaxation velocity in the former may be larger than that in the latter.

In this paper, the effect of NO₂ as well as that of nitroglycol upon actomyosin was described, but, in vivo, it may be considered that the changes on muscle in poisoned animals are caused by free nitroglycol only, because NO₂ was not detected in the blood of poisoned animals and of workers in an explosives plant^{17,18)}.

Meyerhof¹⁹⁾ and Hill²⁰⁾ have reported that a large value of QO₂ accompanied with the muscular contraction. It was found out by us^{17,21)} that the oxygen affinity of hemoglobin of poisoned rabbit and of workers increased sharply and the value of pO₂ of the tissues at the arterial end was very low²¹⁾. Under such conditions, aerobic glycolysis may be suppressed. This phenomenon will be discussed in detail in our next paper.

SUMMARY

One of the subjective symptoms of workers in an explosives plant was numbness of legs and hands. From the spasmolytic action of nitrate on the smooth muscles of blood vessels, nitroglycol may affect directly on smooth muscle and change the ability of the muscle cell to contract. In the experiments, the effect of nitroglycol upon muscular contraction was investigated using actomyosin-ATP system for convenience by the light scattering technique.

1. The process of formal change of actomyosin in 0.55 M KCl by the addition of enough amount of ATP were divided into three parts; the first period was represented by a sharp decrease of scattered light intensity, the second by a constant value of decreased scattered light intensity and the third by the recovery to the former value.
2. Nitroglycol accelerated the recovery rate at the third period.
3. The minimum requirement of ATP for the maximum change of light scattering of actomyosin in 0.55 M KCl in the presence of nitroglycol was 2~3 times as large as that in the absence of nitroglycol.
4. ATP-ase activity of actomyosin in 0.6 M KCl was not affected by nitroglycol.

REFERENCES

1. Synanski, V. H., Arch. Hyg. Bakt., **136**, 139 (1952)
2. Yamaguchi, M., Sakabe, H., Kajita, A., Yoshikawa, H., Hashizume, M., Matsushita, H., and Matsumura, Y., Bull. Nat. Inst. Indust. Health, **4**, 54 (1960)
3. Oettingen, W. F. V., Nat. Inst. Health, Bulletin, No. 186 (1946)
4. Bradbury, J. B., Brit. Med. J., **2**, 1213 (1895)
5. Goodman, L. S., and Gilman, A., "The Pharmacological Basis of Therapeutics" 2nd Ed. p. 731 (1958)

6. Weber, H. H., and Porzehl, H., *Progress in Biophysics*, IV, 60 (1954)
7. Szent-Györgyi, A., *Advances in Enzymol.*, 16, 313 (1955)
8. Morales, M. F., *Physiol. Rev.*, 35, 475 (1955)
9. Szent-Györgyi, A., "Chemistry of Muscular Contraction", Acad. Press, New York (1951)
10. Noda, H., and Maruyama, K., *Biochim. Biophys. Acta*, 30, 598 (1958)
11. Jordan, W. K., and Oster, G., *Science*, 108, 188 (1948)
12. Tonomura, Y., and Watanabe, S., *Nature*. 169, 112 (1952)
13. Tonomura, Y., Watanabe, S., and Yagi, K., *J. Biochem.*, (Tokyo), 40, 27 (1953)
14. Youngburg-Youngburg., *J. Lab. Clin. Med.*, 16, 158 (1930)
15. Bailey, K., *Biochem. J.*, 43, 271 (1948)
16. Shin, M. B., *Ind. Eng. Chem.*, 13, 33 (1941)
17. Hasegawa, H., and Sato, M., *Bull. Nat. Inst. Indust. Health*, in press
18. Hasegawa, H., and Sato, M., *Bull. Nat. Inst. Indust. Health*, 8, 10 (1962)
19. Meyerhof, O., *Die Chemischen Vorgänge in Muskel*, J. Springer, Berlin (1930)
20. Hill, A. V., "Muscular Activity", The Williams and Wilkinson Co., Baltimore (1926)
21. Hasegawa, H., and Sato, M., unpublished data
22. "Beilsteins Handbuch der Organischen Chemie", 1, 2112 (1958)

要 旨

ニトログリコール中毒の実験的研究

——筋肉系に対するニトログリコールの影響について——

長谷川 弘道 佐藤 光 男

正常家兎及び 0.2 g/kg の N/g を 4 日間連続皮下注射した家兎の骨格筋から Szent-Györgyi の方法に従ってアクトミオシンを抽出精製し、これに ATP (0.14 mM) を加えたときの、散乱光の強度の変化を殿村等の方法に準じてしらべたところ、散乱光強度が急激に減少して(第1期)、ついである時間一定値を保ち(第2期)、加えた ATP の大部分が ADP と P に分解されると、散乱光強度は徐々に恢復する(第3期)という経過が観察された。

N/g (0.356 μ M-0.356 mM) がこの反応系に加わると、正常家兎からえられたアクトミオシンでは、第2期までは変化なく、第3期の恢復速度が幾分増大し、かつ反応終末点における散乱光の強度は N/g のないときの 1.3 倍にも達した。NO₂ (0.87 μ M-0.87 mM) についても同様のことが観察された。

そしてアクトミオシンに ATP を加えたときの散乱光の強度低下が最大になるために要する ATP の濃度は、NO₂ 添加時には対照と変わらないが、N/g が存在するときは、対照の 2~3 倍量の ATP を必要とすることが明らかになった。このように微量の N/g (0.0005 μ g/ml) により、アクトミオシンの働きが妨げられることは注目してよい。

一方 N/g 中毒家兎より得られたアクトミオシンでは、N/g 又は NO₂ を添加しても、ATP を

NITROGLYCOL POISONING

加えた時にみられる散乱光強度の変化過程には全く影響なく、かつ強度の最大低下をおこすに必要な ATP 量にも、N/g 添加による影響は全くみられなかった。ただこの際注目すべきは、この標品中には N/g も NO₂ も、全く検出されなかったにもかかわらず、第3期の反応終末における散乱光の強度は、ATP 添加前より 1.3~1.5 倍も大きく、丁度正常家兎のアクトミオシンに N/g を加えたときと、よく似た結果が得られたことである。

これ等の結果から、N/g 中毒にかかった家兎の筋肉には N/g が消失しても、なお何等かの影響が残っていたものと考えられる。

NITROGLYCOL POISONING IN AN EXPLOSIVES PLANT (II)

Hiromichi HASEGAWA, Mitsuo SATO, Hiroshi YOSHIKAWA,
Hiroyuki SAKABE, Masayoshi YAMAGUCHI and Katsutoshi HOTTA*

(Received September 1, 1962)

In spite of many severe cases of nitroglycol poisoning, there was no any objective test method for the early diagnosis of this poisoning. In this examination, thirty plant workers in an explosives plant were examined on the following items; erythrocyte count, nitrate and nitroglycol content in the blood, hemolytic resistance, methemoglobin, oxygen affinity of hemoglobin and catalase activity in the blood, on which, prior to this examination, rabbits poisoned with nitroglycol injection were examined and the results are in press (Hasegawa and Sato, J. Biochem.). The nitrate content of the workers was higher than that of controls (authors), and it recovered to the normal level after two offdays. Moreover, it was found that the nitrate content increased during two hours' work exposed to nitroglycol. In three cases, about 1 μ g of free nitroglycol in 1 ml of the blood was found, which was assumed to be enough to have some influence upon the interaction between actomyosin and adenosine triphosphate from the investigation in vitro (Hasegawa and Sato, 1962). The oxygen affinity of hemoglobin prepared from the blood of workers was in a disturbed state. Most of the cases, it was higher than that of the normal person. The catalase activity in the blood was lower than the normal and it recovered scarcely after two offdays. It was clarified that the decrease of catalase activity was caused by some inhibitory substance.

In the previous paper (Yamaguchi *et al.*, 1960), the health of workers and the environmental conditions in an explosives plant, where three severe cases with no fatal case were experienced, were studied.

According to the notification on health control of workers in explosives plants, which was issued by Labor Standards Bureau, Ministry of Labor, in 1961, the physical examination shall be carried out on the following items:

- 1) As the screening tests; blood pressure, electrocardiogram, specific gravity of the blood, qualitative analysis of urobilinogen and protein in urine, and subjective symptoms.

- 2) If any abnormalities are found by the screening tests, then the detailed examination shall be carried out on the following items; erythrocyte count, hemoglobin values, and the functional disorder of the liver and circulating system.

* Hospital of Nippon Oils and Fats Co., Ltd., Taketoyo Plant, Taketoyo, Aichi.

Gross (1942) and Wilhelm (1942) have observed the lowering of blood pressure, the formation of methemoglobin and Heinz bodies in nitroglycol poisoned animals. In 1956, Stein suggested from his study on experimental nitroglycol poisoning that the most important symptom in poisoned animals was anemia and in man was the unbalanced function of circulating system, but no significant result could be found out from the examination of workers in explosives plants. Forssman (1958) and Maccheri (1959) also did not find out any change except subjective symptoms.

Thereafter we succeeded in the estimation of free nitroglycol and nitrate in the blood of poisoned animals (Hasegawa and Sato, 1963, J. Biochem., in press). In the same experiment, abnormal change of oxygen affinity of hemoglobin was found out.

In this examination which was carried out on September, 1961, free nitroglycol and nitrate content in the blood, the oxygen affinity of hemoglobin, catalase activity in the blood, blood pressure, erythrocyte count, hemolytic resistance of red cells and methemoglobin content of workers were examined. The examined thirty workers who have no subjective symptoms were extracted impartially from about 600 examples of male and female workers in the dynamite producing plant. The concentration of nitroglycol in air of the working houses measured by the method described in the previous paper (Yamaguchi *et al*, 1960) are shown in Table 1.

Table 1. Concentration of nitroglycol in air in the plant.

Working house	Concentration of nitroglycol (ppm)
Packing house of powder dynamite	0.23 ~ 0.25
Extruding house	0.22 ~ 0.24
Packing house of gelatin dynamite	0.24 ~ 0.27
Cartridging house	0.25 ~ 0.39

METHODS

The blood of workers was drawn into heparinized syringe at two hours after the beginning of the work.

Nitrate in the Blood.—Deionized water (1.5 ml) was added to 0.5 ml of the blood and then 5 ml of ethyl ether were added to the solution. After shaking vigorously, ethereal layer, into which free nitroglycol was assumed to be transferred, was pipetted out. To the residual aqueous solution, 2 ml of deionized water and 2 ml of 8% trichloroacetic acid solution were added, and then, after several minutes, 2 ml of deionized water were added. The precipitate formed was filtered off until the filtrate became clear. To 5 ml of the filtrate, 2 ml of 5% brucine which was dissolved in pure chloroform were added and it was incubated at 0°C. Then, 5 ml of cooled conc. H₂SO₄ were added slowly at 0°C. After it was heated at 90°C for 20 minutes and cooled with water, the optical density of the solution colored in yellow was measured at 430 m μ using a Hitachi

H. HASEGAWA, M. SATO, H. YOSHIKAWA, H. SAKABE, M. YAMAGUCHI AND K. HOTTA
 photoelectric colorimeter EPO-B. Nitrate content in the blood was computed from the calibration curve and it was represented in terms of μg of nitrate per 1 ml of the blood. The detailed procedures were carried out according to the method reported by Boltz (1958).

Free Nitroglycol in the Blood.—To the ether extract obtained during the procedures of nitrate determination, 7 ml of ethyl alcohol, 1 ml of deionized water and 1 ml of 2% NaOH solution were added, and nitroglycol was hydrolyzed into nitrite by incubating at 40°C for 60 minutes. Then, 1 ml of HCl solution (HCl:water=1:1) and 1 ml of 1% sulfanylamide solution were added. After three minutes, 1 ml of 0.5% ammonium sulfamate was added, and after two minutes, 1 ml of 1% naphthylenediamine chloride was added. After 10 minutes, the optical density of the sample colored in red was measured at 530 $m\mu$. By this method (Shinn, 1941), 0.5~20 μg of nitroglycol per 1 ml of the blood can be detected.

Catalase Activity in the Blood.—Enzyme solution was prepared by adding 0.1 ml of the blood into 5 ml of deionized water. Catalase activity was assayed after the enzyme was pretreated with a small amount of H_2O_2 according to the method reported by Hasegawa *et al* (1959). When catalase sample which was prepared from the blood of male and female workers decomposed 0.2 and 0.17 mM of H_2O_2 per second respectively, the activity of the enzyme sample was defined to be 100%. Experiments were carried out at pH 6.8 and 0°C.

Oxygen Affinity of Hemoglobin.—A mixture of 0.1 ml of the blood, 4.4 ml of deionized water and 0.5 ml of 0.1 M phosphate buffer (pH 6.8) was put into a Thunberg tube type apparatus (total capacity: 80 ml) equipped with an optical cuvette (optical path: 10 mm). The optical densities of the above hemoglobin solution at various partial oxygen pressures ($p\text{O}_2$) were measured at 480 $m\mu$ using a Hitachi photoelectric colorimeter EPO-B. Oxygen equilibrium curve was obtained by plotting the fractional oxygenation, which corresponded to $[\text{HbO}_2]/([\text{HbO}_2]+[\text{Hb}]$, against $p\text{O}_2$, and from this curve, the value of $p\text{O}_{2\frac{1}{2}}$, at which a half of hemoglobin was saturated with oxygen, was calculated. Experiments were carried out at 30°C.

Methemoglobin.—Into a mixture of 18 ml of deionized water and 2 ml of 0.1 M phosphate buffer (pH 6.6), 0.1 ml of the blood was dropped and the optical density at 550 $m\mu$ was measured (D_1). After adding a drop of neutralized KCN solution (5%) the optical density at the same wavelength was measured (D_2). Then, a drop of ferricyanide solution was added and the optical density at the same wavelength was measured (D_3). The amount of methemoglobin, total hemoglobin and the ratio of methemoglobin to total hemoglobin were calculated by the following equations;

$$[\text{Methemoglobin}] = 45.1(D_2 - D_1) \text{ mM}$$

$$[\text{Total hemoglobin}] = 25.1(D_3) \text{ mM}$$

$$[\text{Methemoglobin}](\%) = \frac{[\text{Methemoglobin}]}{[\text{Total hemoglobin}]} \times 100\%$$

NITROGLYCOL POISONING IN AN EXPLOSIVES PLANT (II)

Hemolytic Resistance.—This was measured at room temperature by the method reported by Yoshida (1953). The hemolytic resistance was represented in terms of the concentration of NaCl, at which a half of the red cells was decomposed.

RESULTS

Free Nitroglycol in the Blood.—A small amount of free nitroglycol was found out in 1 ml of the blood in some workers, that is, only 1~1.3 μg of nitroglycol was detected in three examples as illustrated in Table 2.

Nitrate Content in the Blood.—The examined results are summarized in Table 2. No. 1~10 of workers were examined on Friday and the results were shown in the left hand side of the column. After two offdays, they were again examined on Monday before the beginning of the works and the results were summarized in the right hand side of the column. No. 11~20 of subjects were examined on Tuesday and No. 21~29 on Wednesday. The mean concentration of nitrate which was calculated from the values of six examples (No. 1~4, 9~10) examined on Monday morning

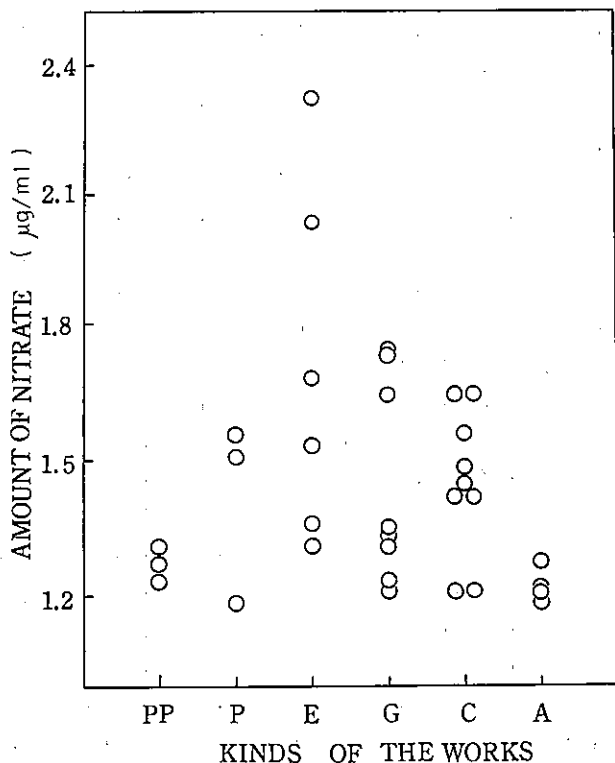


Fig. 1. Nitrate content in the blood of workers.

The amount of nitrate was estimated by measuring the optical density at 430 $m\mu$ after colored with brucine in acid. Abscissa: The amount of nitrate in 1 ml of the blood. Ordinate: Kinds of the works. The signs of PP, P, E, G, C and A are described in Table 2.

Table 2. Biochemical examination of the workers in an explosives plant.

No.	Age	Duration time (years)	Species of working house	Blood pressure	Number of erythrocytes (10 ⁴)	Hemolytic resistance (%)	Methemoglobin (%)	Nitroglycol (μg/ml)	Nitrate (μg/ml)	Catalase activity (%)	Oxygen affinity (pO ₂ ^{1/2})
1	27	7	P P	124/68	424	0.335 0.340	0 3.2		1.32 1.28	85 81	11.5 15.4
2	29	12	P	140/80	462	0.385 0.363	2.3 1.0		1.57 1.18	95 92	13.1 18.5
3	33	9	E	132/74	460	0.400 0.392	3.4 0.5		2.04 1.22	83 80	14.4 13.8
4	34	13	E	100/60	358	0.415 0.380	3.7 3.4		2.32 1.38	64 66	17.3 19.4
5	31	15	G	110/70	394	0.455	1.3		1.65	73	15.4
6	19	3	C	102/60	439	0.445 0.352	0 4.7		1.49 1.57	92 82	14.4 9.2
7	24	8	C	118/60	460	0.415 0.370	2.8 3.3		1.65 1.39	92 80	14.7 9.7
8	20	5	C	110/78	457	0.427 0.382	2.0 5.0		1.65 1.38	77 83	12.0 18.1
9	18	3	G	128/90	428	0.405 0.345	2.4 5.8		1.74 1.04	70 70	15.4 13.8
10	28	12	G	116/78	455	0.402 0.345	2.4 6.0		1.75 1.25	89 86	9.7 17.3
11	34	9	E	116/70	488	0.345	1.6		1.69	92	16.8
12	20	4	E	100/64	356	0.392	5.8	1.0	1.54	50	13.1
13	37	15	P	110/72	404	0.387	2.9		1.52	68	13.8
14	33	13	P P	110/76	440	0.400	5.4		1.24	68	16.5
15	30	15	C	100/60	435	0.340	5.9		1.45	62	15.4
16	31	16	C	96/60	352	0.397	5.4		1.57	67	14.4
17	19	3	C	100/60	460	0.400	5.1		1.43	79	13.1
18	19	3	G	100/70	472	0.410	5.6		1.35	74	15.4
19	28	12	G	110/60	402	0.372	6.3		1.24	73	13.1
20	19	3	G	110/60	440	0.375	4.8		1.32	62	14.7
21	20	1	E	106/70	425	0.348	2.5		1.37	92	14.7
22	20	4	E	110/80	415	0.368	3.2	1.3	1.32	81	16.5
23	21	0.6	P	90/60	452	0.350	3.0		1.19	50	18.1
24	20	4	P P	120/70	388	0.364	1.2		1.28	43	15.8
25	20	9	G	104/60	400	0.368	1.3		1.22	52	15.8
26	19	3	G	100/60	410	0.340	2.9		1.34	100	14.4
27	16	0.5	C	104/60	372	0.395	0		1.43	81	14.7
28	15	0.5	C	100/64	435	0.360	2.3		1.22	92	18.1
29	16	0.5	C	100/70	401	0.345	3.4	1.1	1.22	30	15.1
31	20		B	104/60	390	0.395				100	16.4
32	21		B	100/60	470	0.396				120	15.8
33	21		B	110/60	388	0.365				101	15.8
34	20		B	110/64	485	0.385				100	15.8
35	20		B	100/70	366	0.345				102	16.0
36	29		B	136/74	482	0.318				100	16.3
37	21		B	120/80	515	0.385				99	15.8
38	24		B	110/84	506	0.395				90	18.0
41	32		A						1.21	100	16.1
42	29		A						1.27	102	15.6
43	27		A						1.18	100	16.3
44	26		A						1.22	101	15.8

Blood of workers was punctured after two hours work in the morning. The workers of No. 1~10 were examined on Friday and again before the work on Monday after two offdays, but No. 6, 7 and 8 were examined after two hours work on Monday. No. 11~12 were examined on Tuesday, No. 21~29 on Wednesday and No. 31~38 on Thursday. The abbreviations used were as follows: C; Cartridging, E; Hand extruding, G; Packing of gelatin dynamite, P; Packing of powder dynamite, PP; Packing and packaging of powder dynamite, B; Clerical employees, A; Authors.

NITROGLYCOL POISONING IN AN EXPLOSIVES PLANT (II)

before the work was found to be $1.23 \mu\text{g}$. The nitrate contents in the blood of authors who were examined as control were in a range of $1.18 \sim 1.27 \mu\text{g}$. On the other hand, it has been ascertained by us that the nitrate content in the blood of rabbits received $0.2 \sim 0.3 \text{ g}$ of nitroglycol per kg of the body weight increased distinctly in several hours after the injection, but recovered to the former value after two offdays (Hasegawa and Sato, 1963, J. Biochem., in press). Therefore, the above mean value may be reasonable to be taken up as the normal value, although it may be possible that the amount of nitrate in the blood varies according to the nitrate content in food.

In the studies on nitroglycol poisoning of animals, it was found out that nitroglycol was converted into nitrate very rapidly in vivo and in vitro and the decomposing rate in vivo was increased by repeating the nitroglycol injection (Hasegawa and Sato, 1963, J. Biochem., in press). From these facts, nitroglycol which entered into the body of workers was assumed to be decomposed very rapidly into nitrate, and so the amount of nitroglycol would be computed by measuring the amount of nitrate in the blood

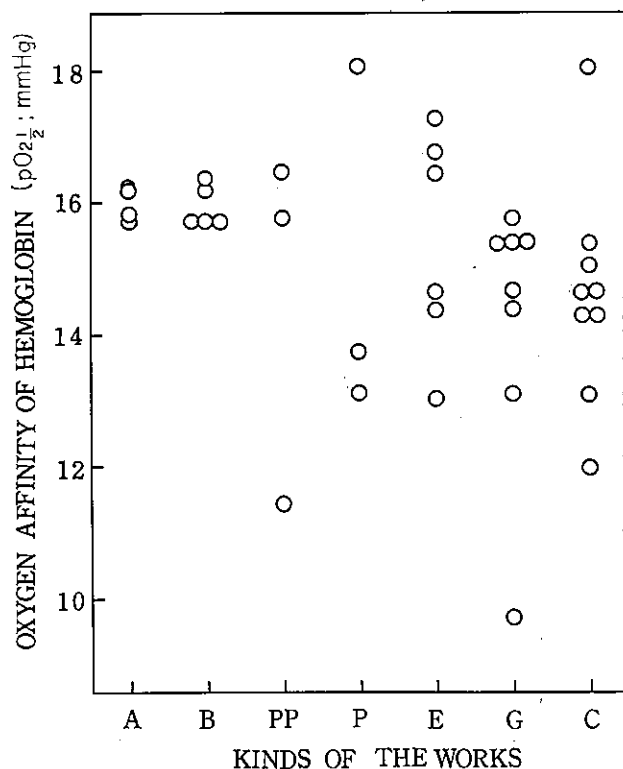


Fig. 2. Oxygen affinity of hemoglobin of workers.

Oxygen equilibrium curve of hemoglobin (about 0.2 mM) of workers was obtained by plotting the fractional oxygenation against partial oxygen pressure, and from the data, the value of $p\text{O}_2$, at which a half of hemoglobin was saturated with oxygen, was calculated. The signs of PP, P, C, E, G, and A are described in Table 2. Experiments were carried out at pH 6.8 and 30°C .

H. HASEGAWA, M. SATO, H. YOSHIKAWA, H. SAKABE, M. YAMAGUCHI, AND K. HOTTA
 before and after the work.

The nitrate content in the blood of workers in cartridging, extruding and packing house was shown in Fig. 1. As seen in Fig. 1, the nitrate content of workers in extruding house was higher than the others.

As mentioned above, the high content of nitrate in the blood of workers exposed to nitroglycol may be assumed to ascribe the fact that a large amount of nitroglycol entered into the body.

Oxygen Affinity of Hemoglobin.—As described previously in this paper, $pO_{2\frac{1}{2}}$ shows the partial oxygen pressure at which a half of hemoglobin is saturated with oxygen. A low value of $pO_{2\frac{1}{2}}$ corresponds to the high oxygen affinity of hemoglobin and a high value represents the low affinity. The values of $pO_{2\frac{1}{2}}$ of workers in five working houses are shown in Table 2 and Fig. 2.

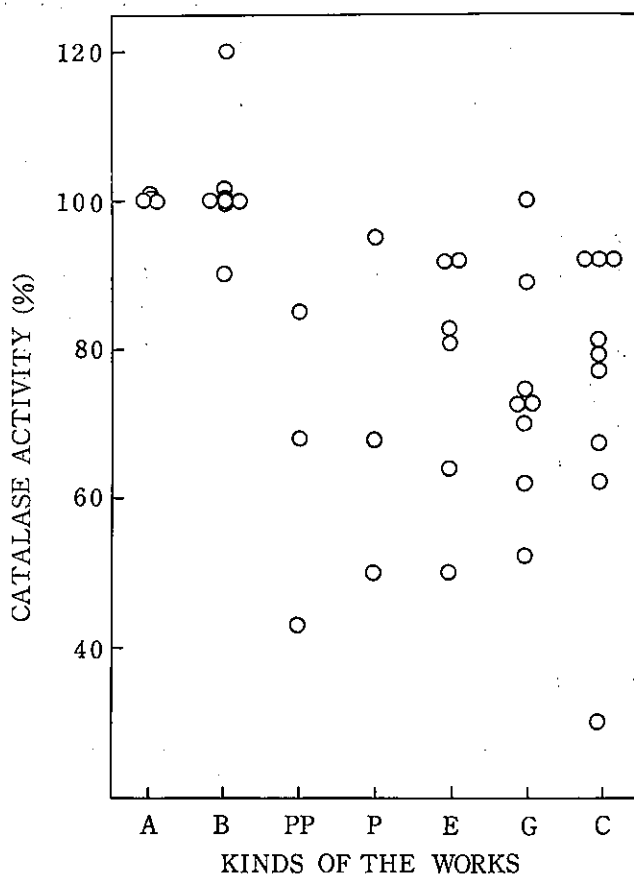


Fig. 3. Catalase activity in the blood of workers.

The assay of catalase activity in the blood of workers was made at pH 6.8 and 30°C. When catalase sample, which was prepared from the blood of male and female workers, decomposed 0.2 and 0.17 μM of H₂O₂ per second respectively, the activity of the enzyme sample was defined to be 100%.

NITROGLYCOL POISONING IN AN EXPLOSIVES PLANT (II)

The normal value of $pO_{2\frac{1}{2}}$ was found to be 16 mmHg, which was obtained by examining the hemoglobin of clerical employees (No. 31~38) and of the authors (No. 41~44). As seen in Fig. 2, the values of plant workers were deviated from the normal. For example, the value of No. 10 showed the decrease of 40% as compared with the normal and that of No. 28 the increase of 13%. It is especially noticeable that, as seen from the examples of No. 1~10, the value of $pO_{2\frac{1}{2}}$ was changed after two off-days.

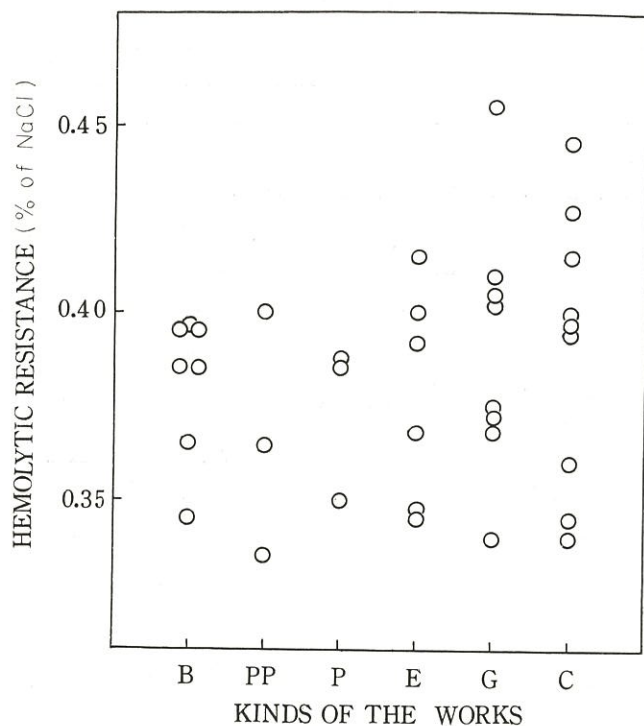


Fig. 4. Hemolytic resistance of the red cells.

Hemolytic resistance was represented as the concentration of NaCl (%) at which a half of the red cells was decomposed.

Catalase Activity in the Blood.—Catalase activity in the blood showed a marked decrease irrespectively of the kinds of the works and the length of one's service as illustrated in Table 2 and Fig. 3. These decreased values were not recovered to the normal level after two offdays and kept as they were, although nitroglycol which entered into the body was assumed to be perfectly decomposed to nitrate and nitrate content in the blood recovered to the normal level.

Then we studied whether this lowered catalase activity showed the decrease of catalase content or was caused by an inhibitory action of some substance. Ogura *et al* (1959) observed that when HCHO, H^+ , HCOOH or phenols were present in the reaction mixture, the catalase reaction was inhibited and the log $[H_2O_2]-t$ curve bended

H. HASEGAWA, M. SATO, H. YOSHIKAWA, H. SAKABE, M. YAMAGUCHI AND K. HOTTA

with time showing a increment of inhibitory effect. But when catalase was pretreated with a small amount of H_2O_2 , no increasing inhibitory effect was observed and the log $[H_2O_2]$ - t curve showed a constant inclination. When the catalase reaction was assayed without pretreating with H_2O_2 for the plant workers, the log $[H_2O_2]$ - t curve bended with the reaction time, and it was observed even after two offdays. These facts show that the decrease of catalase activity of plant workers is caused by the inhibitory action of some substance but nitroglycol and nitrate, and that this substance is scarcely excreted during two days.

Hemolytic Resistance.—The hemolytic resistance of plant workers had lower values as compared with the normal persons as shown in Table 2 and Fig. 4, but it recovered to the normal level after two offdays. The mean value of the controls was found to be 0.373%.

Blood Pressure, Methemoglobin and Erythrocyte Count.—The results of these examinations were summarized in Table 2. The systolic blood pressure of the workers was lower than the mean value of those of Japanese (Yamaguchi *et al.*, 1960). No significant difference between the workers and the normal persons was observed in erythrocyte count and methemoglobin content.

DISCUSSION

The most important result obtained from the examination of the workers in the explosives plant was that the amount of nitroglycol, which penetrated into the blood through the respiratory tract and the skin, could be computed by measuring the nitrate content in the blood. To measuring always the amount of nitroglycol entered into the body of the workers may be necessary for protecting the workers from the nitroglycol poisoning.

Free nitroglycol found in the blood of plant workers was only 1~1.3 μg per 1 ml of the blood, but from the studies on the experimental nitroglycol poisoning, this quantity was assumed to be enough to give some effect upon the muscle, especially upon the interaction between actomyosin and adenosine triphosphate.

The nitrate content and hemolytic resistance were recovered to the normal level after two offdays, but the catalase activity and the oxygen affinity of hemoglobin were not. As described already in this paper, the catalase reaction was inhibited by some substance which was present in the blood of workers in the explosives plant. If this substance inhibits the action of the enzymes and enzyme systems other than catalase, this unknown substance may contribute to elucidating the nitroglycol poisoning. At present, we have no experimental data to make clear the properties of this substance.

The severe changes of oxygen affinity of hemoglobin of workers may lead to the change of partial oxygen pressure in tissues at the arterial ends. Similar phenomenon was found by Riggs and Wells (1961) in the study of sickle cell anemia.

NITROGLYCOL POISONING IN AN EXPLOSIVES PLANT (II)

The value of $pO_{2\frac{1}{2}}$ of No. 10 examined on Friday was 9.7 and after two offdays it was 17.3, which was higher than 16.0 of the normal. At the former state, the supply of oxygen into the tissues will not be enough, and at the latter, it will be too enough. If the adequate amount of oxygen is not supplied, the metabolism in the tissues is assumed to be disturbed, although it is not yet clear how this disturbed metabolism affects on the development of nitroglycol poisoning.

REFERENCES

- Boltz, D. F. (1958). Colorimetric Determination of Nonmetals, Interscience Publishers Inc., New York, p. 141.
- Forssman, S., Masreliez, N., Johanson, G., Sundell, G., Wilander, O., and Bostrom, G. (1958) Arch. Gewerbepath. Gewerbehyg., **19**, 157.
- Gross, E., Bock, M., and Hellrung, F. (1942). Arch. Exptl. Path. Pharmacol., **200**, 271.
- Hasegawa, H., and Sato, M. (1959). Bull. Nat. Inst. Indust. Health, **2**, 17.
- Hasegawa, H., and Sato, M. (1962). Bull. Nat. Inst. Indust. Health, **8**, 1.
- Maccheri, I., and Camarri, F. (1959). Med. Lavoro, **50**, 193.
- Ogura, Y., Tonomura, Y., Hino, S., and Tamiya, H. (1950). J. Biochem., **37**, 153.
- Riggs, A., and Wells, M. (1961). Biochim. Biophys. Acta, **50**, 243.
- Shinn, M. B. (1941). Ind. Eng. Chem., **13**, 33.
- Stein, W. (1956). Arch. Gewerbepath. Gewerbehyg., **15**, 19.
- Wilhelmi, H. (1942). Arch. Exptl. Path. Pharmacol., **200**, 271.
- Yamaguchi, M., Sakabe, H., Kajita, A., Yoshikawa, H., Hashizume, M., Matsushita, H., and Matsumura, Y. (1960). Bull. Nat. Inst. Indust. Health, **4**, 54.
- Yoshida, T., and Yoshida, A. (1953). J. Medicine and Biology, (Japanese), **29**, 184.

要 旨

某ダイナマイト製造工場のニトログリコール中毒調査

第 2 報

長谷川 弘道 佐藤 光男 吉川 博
坂部 弘之 山口 正義 堀田 克稔 (日本油脂株式会社)

現在ニトログリコール中毒の対策は労働省通牒「ニトログリコール中毒予防対策」にもとづいて実施されている。そのうち健康管理面では、第1次及び第2次に検診項目をわけて、第1次では血圧、心電図、全血比重、尿中ウロビリノーゲン及び蛋白の有無、及び自覚症状についてしらべ、その結果見出された異常者について赤血球数、血色素量、肝及び循環機能障害の有無についてしらべられている。しかし現在のところ自覚症状以外にはニトログリコール中毒を適確にとら

える他覚的所見は皆無である。われわれは家兎を使って、実験的にニトログリコール中毒を研究し、得られた結果をダイナマイト製造工場の従業員（工員 29 名，事務員 8 名）に適用した。すなわち，労働者の血圧，赤血球数，メトヘモグロビン量，血中遊離ニトログリコール量，硝酸塩量，ヘモグロビンの酸素親和性，血中カタラーゼ活性，赤血球抵抗性等の 8 項目について調査した。

血中遊離ニトログリコール量——29 名中 3 名に $1\sim 1.3\ \mu\text{g/ml}$ のニトログリコールを検出した。この量は僅かではあるが，家兎の筋肉蛋白質であるアクトミオシンを使っての実験から，この量の $\frac{1}{10}\sim\frac{1}{100}$ （検出不可能）でも筋肉の働きに影響を及ぼすことがわかっているのだから，ヒトの場合にも，当然筋肉系の障害が考えられる。手足のしびれ，倦怠感等の症状は，後にのべるヘモグロビンの酸素親和性の増加による組織での酸素不足の実験と考え合わせると，注目すべき現象である。

血中硝酸塩量——労働者の血中硝酸塩量は著者等自身のそれに比して高いが，2 日間の休日では著者等の値と同じになる。そして 1~2 時間作業に従事すると，再び高い値をとることが判った。従って作業前後の硝酸塩量を測定することにより，体内へのニトログリコール浸入量を推定することが出来る。

ヘモグロビンの酸素親和性——事務員，著者等のヘモグロビンの酸素親和性 ($\text{pO}_{2\frac{1}{2}}$; ヘモグロビンの半量が酸素で飽和されるに必要な酸素分圧) の平均値に較べて大部のものに大幅な低下がみられることから，組織におけるヘモグロビンからの酸素の解離がおこり難くなり，その結果組織の酸素量が不十分となり，物質代謝は円滑に進行しなくなることが予想された（家兎を使った実験ではこのことは，はっきり確かめられている。）。体内のニトログリコールが分解されると， $\text{pO}_{2\frac{1}{2}}$ は逆に正常値より大きくなり，組織での酸素量はだぶついてくる。これを毎日繰り返すと，ヒトは高い山の上と麓の間を往復しているような結果となり，遂には循環系の障害が惹起されることも考えられる。

血中カタラーゼ活性——正常者の $100\pm 5\%$ という値に対して，大幅な低下が認められ，かつこの低下が，ある種の物質の阻害によっておこっていることが明らかになった。この物質は簡単には体外へ排出されない。

赤血球抵抗性——赤血球の半量が，溶血する食塩水の NaCl 濃度でこの抵抗性をあらわすと，正常者の平均 0.37% に比し労働者では，やや抵抗性の減少がみられた。これは 2 日間の休日でも完全に回復した。

血圧——第一報の報告の通り，最高血圧の値は同年代の日本人の平均値に比し，低いことがみとめられた。

赤血球数，メトヘモグロビン量——事務員，著者等との差はみとめられなかった。

HEALTH EXAMINATION OF WORKERS EXPOSED TO SYNTHETIC DETERGENT DUSTS

Hiroyuki SAKABE, Hiroshi YOSHIKAWA, Kiyoyuki KAWAI,
Mieko YASUKAWA, Shizue KATO, Hiromichi HASEGAWA,
Mitsuo SATO, Reisuke SODA, Noboru HARA,
Hidetsuru MATSUSHITA, Hisato HAYASHI,
Yasutomo SUZUKI, Masaji SHIMAZU,
Shigeru OHSHIMA and Takashi ANZAI*

We have studied on the health conditions of workers exposed to ABS (alkylbenzenesulfonate) detergent dust in eight synthetic detergent producing plants by the request of the Science and Technics Agency. Prior to the survey we had carried out some experimental studies on the toxicity of ABS which is the component of the synthetic detergent.

I. Experimental studies on the toxicity of ABS.

1. LD₅₀ of ABS.

When liquid ABS detergent was given to mice by subcutaneous injection, LD₅₀ of ABS was assumed to be 416 mg/kg.

2. Hemolytic action of ABS.

ABS had a strong hemolytic effect, but its effect was reduced by the pretreatment of ABS by blood plasma.

3. Effect of ABS on the cultured cells.

Mononuclear cells collected from the peritoneal cavity of rats after the intraperitoneal injection of Tyrode's solution containing glycogen were used for the experiment. When the cells were cultured in Tyrode's solution, the effect of ABS on the cells was observed at the concentration of 18.2 γ /ml of ABS and over, but in Tyrode's solution added with rat serum in 30%, cells were affected only at 182.5 γ /ml and over.

4. Hematological change of rabbit by daily injection of ABS.

ABS detergents of 4 different concentrations were given to rabbits subcutaneously every day, and hematological changes were observed. Erythrocytes and leucocytes counts, hematocrit, hemoglobin content, plasma sugar, and plasma protein were not changed under the dose of 0.18 mg/kg ABS per day, but A/G, plasma cholesterol and fragility of erythrocyte showed a change under this dose.

5. Pathological change.

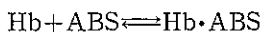
Rabbit received 91.25 mg/kg ABS subcutaneously every day died after the 4th

* Workmen's Accident Compensation Hospital in Kanto District.

injection. Characteristic pathological changes of this rabbit were the degeneration of heart muscles, nephrosis and impairment of blood circulation in the lung. Heart muscle showed the swelling, homogenization, disappearance of transverse striation, and pyknosis.

6. Change of hemoglobin and erythrocytes by ABS.

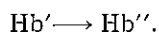
When 0.2~20 $\mu\text{g/ml}$ of ABS was added to 0.045 mM Hb solution, the reaction of



was supposed from the absorption spectrum, but in concentrations between 20 g/ml and 2000 g/ml , the reaction of



which was irreversible, was assumed. More higher concentration of ABS seemed to produce



Affinity of ABS·Hb and Hb' to oxygen was discussed. These were also observed on red blood cells.

7. The effect of ABS on the function of mitochondria of liver cells.

When succinic acid and α -ketoglutaric acid were used as substrate, activity of mitochondria was disturbed by ABS at the concentration of 0.2 $\mu\text{g/ml}$ and over.

II. Concentration of ABS in the air of working place in ABS producing plants.

1. Dusts of ABS detergent were collected into water in the special midget impinger and determined by methylene blue method or ultraviolet absorption spectrum. ABS in water solution showed a strong absorption bands near 226 $\text{m}\mu$ and 195 $\text{m}\mu$, and so it could be determined by these absorption. These two methods gave a similar value on the same sample.

2. The ABS concentrations of 53 points in eight plants were measured. Concentrations were under 6 mg/m^3 except only two extraordinary values, and mean concentration was 1.5 mg/m^3 .

3. In order to determine the dose of ABS taken into the body through respiration, the dust respirators of gauze were used by 30 workers.

ABS in the dust deposited on the gauze was determined, and the amount of ABS taken into the body was assumed to be 4.5 mg/hr in mean value.

III. Health examination of the workers in the plants.

Sixty-six persons exposed to ABS detergent dust, 25 persons exposed to soap dust and 33 persons who engaged in office work were examined on subjective symptoms, skin diseases, red and white blood cell counts, hemoglobin content, hematocrit, colour index, volume index, plasma protein, A/G, plasma bilirubin, plasma cholesterol, total Ca in the plasma, dialyzable Ca in the plasma and fragility of red blood cell as well as on protein, urobilinogen, sugar and ABS in the urine.

Group exposed to ABS showed no significant changes on each item of these investigations except skin diseases, but seemed to show a little deviation from the office.

SYNTHETIC DETERGENT

work group in subclinical sense. It was not yet clear whether this deviation was caused by ABS or not.

Main effect of ABS detergent to the workers was irritation to the mucous membrane and skin. Most of the workers exposed to ABS dust had the experience of skin trouble of various grades which seemed to be the acute contact dermatitis.

ABS 洗剤製造工場の環境並びに従業員の健康状態について

坂部 弘之 吉川 博 河合 清之 安川美恵子 加藤 静江
長谷川弘道 佐藤 光男 左右田礼典 原 登 松下 秀鶴
林 久人 鈴木 康友 島津 正司 大島 茂
安西 喬 (関東労災病院皮膚科)

目 次

- § 1. 緒言
- § 2. 実験的研究
 - I. ABS 洗剤の毒性に関する実験的研究
 - 1. はしがき
 - 2. 実験に使用した ABS 洗剤
 - 3. ABS 洗剤をマウスに皮下注射した時の LD₅₀ 並びに体重の変化
 - 4. 溶血作用
 - 5. ラット腹腔内単核細胞に対する ABS 洗剤の影響
 - 6. ABS 洗剤投与家兔の血液性状の変化
 - 7. ABS 洗剤と A/G 比との関係
 - 8. 病理学的所見
 - 9. 考察
 - 10. 結論
 - II. ABS 洗剤による赤血球及びヘモグロビンの変化について
- § 3. ABS 洗剤製造工場環気中 ABS の濃度について
 - 1. はしがき
 - 2. 環気中 ABS 洗剤粉じん捕集法
 - 3. 個人別吸入 ABS 量推定のためのマスクの使用
 - 4. ABS 定量法
 - 5. 作業工程及び調査事業所
 - 6. 測定結果
 - 7. 吸入により体内に侵入する ABS 量
 - 8. 結論
- § 4. ABS 洗剤製造工場労働者の健康診断
 - 1. はしがき
 - 2. 調査方法

3. 調査対象者
4. 調査成績
5. 考察
6. 結論

§5. 総合考察

§7. 結語

§1. 緒 言

1. 昭和37年1月、柳沢文正、柳沢文徳両氏が石油系合成洗剤は無害でないということを発表して以来、所謂中性洗剤の有害、無害論をめぐって、多くの論争が展開され、昭和37年4月、衆議院科学技術振興対策特別委員会での問題がとりあげられ、同月、科学技術庁振興局を中心として本問題が研究調査されることになり、労働省労働衛生研究所は中性洗剤製造工場で働く労働者の中性洗剤による障害の有無についてしらべることとなった。

2. 中性洗剤の生体諸機能に及ぼす影響が現在なお殆んど不明であるため、取急ぎ中性洗剤の毒性に関する若干の基礎的実験を行ない、これを参考にして中性洗剤製造工場従業員の健康診断を行なうと共に、作業場環気中のABS濃度の測定を行なった。実験的研究は当研究所に委託された課題ではなかったが、参考のため付加することにした。

§2. 実験的研究

I. ABS洗剤の毒性に関する実験的研究

吉川 博 河合清之 安川美恵子 加藤静江 坂部弘之

1. はし が き

中性洗剤の主成分であるABS(アルキルベンゼンスルホン酸ソーダ)の毒性については未だ不明の点が多く、殊にABSの標的臓器、又その影響としての生体反応の変化に関する知見に乏しい。従来の研究報告¹⁻³⁾は、ほとんどが動物に対する経口投与方法による実験であり、動物の発育状態、血球数、臓器重量、病理所見等についてしらべられ、ABSが洗剤として常時使用されるような濃度の範囲内では、有害とは考えられないとされている。又in vitroの実験では、ABSの溶血作用、消化酵素に対する活性阻害作用が取りあげられているに過ぎない。従って、われわれがABS洗剤を取扱う従業員の健康状態を、特に洗剤の影響の有無を適確に評価するためには、どのような検査をすべきかという点について先づ検討する必要に迫られた。このため従業員健康診断に先立ってABS洗剤の毒性、溶血作用、培養細胞に対する毒性、及びABS洗剤を投与した実験動物の血液学的、生化学的、並びに病理学的変化を検討した。

2. 実験に使用したABS洗剤

花王石けん、ワンドフルKを使用した。これは液体洗剤である。一般に液体中性洗剤はアルキルベンゼンスルホン酸ソーダ、エチルアルコール、アルコール硫酸エステル、非イオン活性剤及び水よりなり、ABS含量は25~30%とされているが、ワンドフルK中のABS濃度は後述す

る紫外吸収スペクトル法では 18.25% の値を得た。

厳密には ABS の純品を用いて実験を進めるべきであったが、早急な調査を要請されたため純品を入手又は作製する時間的余裕がなく、取り敢えず、市販の洗剤そのものを使用したわけである。しかし後に純品を入手したので、若干のものについては ABS 純品により実験を行なったものもある。

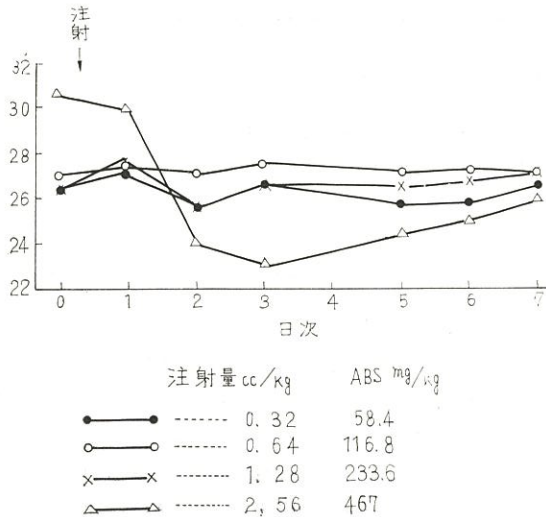
3. 中性洗剤をマウスに皮下注射した時の LD₅₀ 並びに体重の変化

ワンダフル K 溶液をマウスに皮下注射した時の LD₅₀ は第1表に示すようで、2.28 cc/kg (ABS, 416 mg/kg) であった。急性中毒症状は特異な症状を示さず、LD₅₀ 又はそれ以上の投与で動物は次第に活気を失い、運動は不活発となり、うづくまり、そのまま死亡するのが普通であった。投与マウスの体重変化を投与量別の平均値で示したのが第1図である。図に見るように洗剤濃度 1.28 cc/kg (ABS, 233.6 mg/kg) までの投与量では殆んどその影響が見られない。2.56 cc/kg (ABS, 467 mg/kg) 注射群では影響があらわれ、3日目までは著明な体重減少を示すが、それ以後生存したマウスでは漸次体重の増加を示している。即ち体重変化からは症状は一過性の

第1表 ABS 洗剤をマウスに皮下注射した時の LD₅₀

ABS 洗剤注射量 cc/kg	注射 日 次							
	0	1	2	3	4	5	6	7
0.32	5	5	5	5	5	5	5	5
0.64	5	5	5	4	4	4	4	4
1.28	5	5	5	4	4	4	4	4
2.56	5	2	2	2	2	2	2	2
5.12	5	0						

欄内数字はマウス生存数を示す。
LD₅₀=2.28 cc/kg (7日間観察)
(ABS, 416 mg/kg)

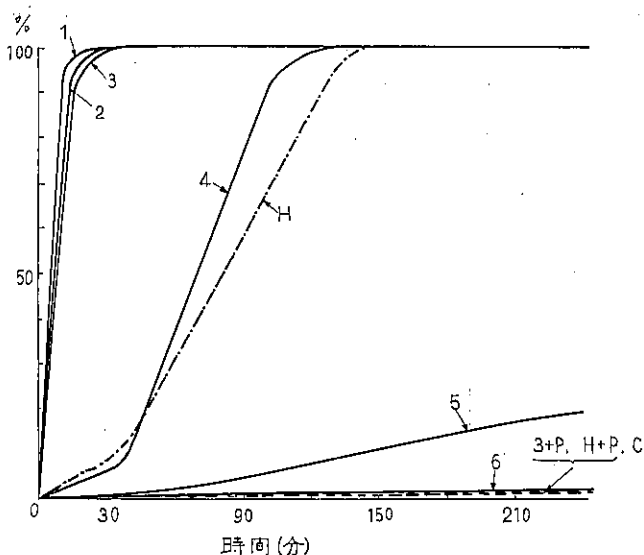


第1図 ABS 洗剤注射後のマウス体重の変化

傾向を示すように考えられる。

4. 溶血作用

ABS に強い溶血作用のあることは知られているが、一応、洗剤の溶血作用について追試した。実験方法はペパリンを加えた遠沈管に家兎血液を採取し、遠沈し、赤血球を 0.9% NaCl 溶液で 3 回洗滌した。この赤血球を各種濃度の ABS 洗剤を加えた 0.9% NaCl 溶液に加えて赤血球の 2% 浮遊液をつくった。これを室温 (18~20°C) に放置し、一定時間毎に遠沈し、上清を 0.9% NaCl で 5 倍に稀釈し、530 m μ の波長で吸光度を測定した。同一条件で 0.9% NaCl の代りに蒸留水を用いて完全に溶血させた場合の吸光度を 100% とし、各測定値の % を算出しその結果を第 2 図に示した。なお ABS 洗剤液 (0.01%) に家兎血漿を 5% に加え、室温に 1 時間放置し、次に赤血球を加えて前と同様にして測定した結果も第 2 図に示した。即ち、ABS



1-6 : 0.9% NaCl 溶液の 2% 家兎赤血球浮遊液に種々の濃度の ABS 洗剤を加えた時の溶血度

ABS 洗剤濃度 1; 0.1% 2; 0.05% 3; 0.01% 4; 0.0075% 5; 0.005% 6; 0.001%

3+P : 3 の実験を 5% 血漿を加えて行なったとき

H : 0.9% NaCl 溶液の 4% ヒト赤血球浮遊液に 0.01% ABS 洗剤を加えた時の溶血度

H+P : 上記条件に加えて 5% ヒト血漿を加えた時

C : ABS を加えない時

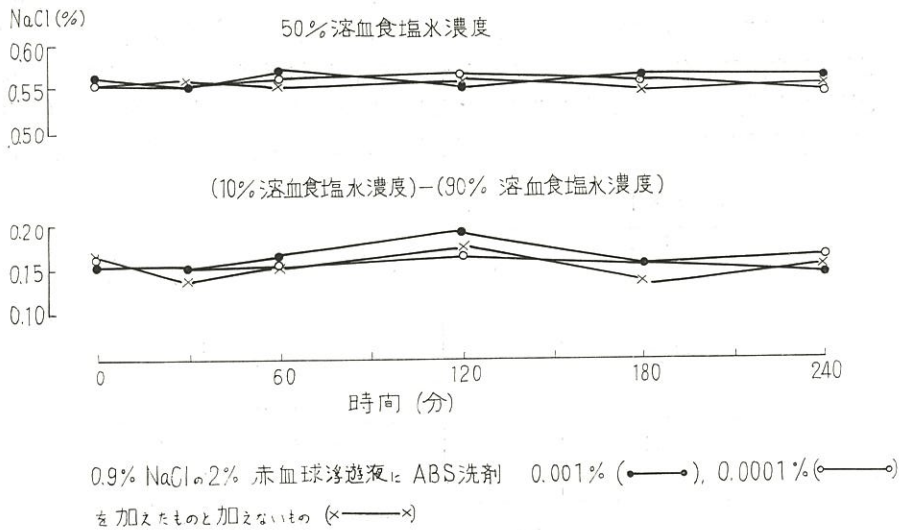
第 2 図 ABS 洗剤の家兎及びヒト赤血球に及ぼす溶血作用

洗剤 0.001% (ABS, 1.82 γ /ml) では 4 時間まではほとんど溶血現象はみられないが、その 10 倍の濃度である 0.01% (ABS, 18.25 γ /ml) では速かに溶血がおこり、30 分後には完全に溶血する。0.005% (ABS, 9.12 γ /ml) 洗剤濃度では弱い溶血を示し、4 時間後に約 20% の血球破壊が見られるに過ぎない。0.0075% の洗剤では 30 分後より溶血は急に強くなり、約 2 時間で殆んど完全な溶血を示す。即ち ABS 洗剤はかなり強い溶血作用を示すことが判る。又溶血を起さない濃度と完全に溶血をおこす濃度との間の範囲が非常に狭いことが、ABS 洗剤による溶血作用の特徴と考えられる。次に予め血漿を加えた ABS 洗剤は、その溶血作用が低下することが認

められた。即ち第2図に見るように 0.01% 洗剤濃度では溶血は速やかにおこるが、予め 5%の家兎血漿が加えられると溶血は阻止される。

ヒトの赤血球でも同様に溶血のみられることは第2図のとおりである。

次に溶血をおこさない低濃度の ABS 洗剤が赤血球の抵抗性に変化をおこすかどうかについて検討を加えた。実験方法は 0.001% 及び 0.0001% (ABS, 0.18 γ /ml) の ABS 洗剤を含む 0.9% NaCl 溶液に、家兎赤血球を 2% になるように加え 37°C に放置し、1 時間毎に遠沈し、この赤血球を各種濃度の NaCl 溶液に加え、赤血球の溶血度を 530 m μ の吸光度から測定した。完全に溶血させた場合の吸光度を 100% として、各種濃度の NaCl 溶液における溶血度を % で表現し、50% 溶血をおこす食塩水濃度からそれぞれの赤血球群の抵抗性の平均値の変動を、又 10% 溶血をおこす食塩水濃度と 90% 溶血をおこす食塩水濃度の差から、個々の赤血球の抵抗性の分散の変動を検討した (第3図)。図に見るごとく、50% 溶血食塩水濃度の時間的変動は見られず、又 ABS 洗剤を作用させない場合の赤血球の抵抗性とも差異が認められない。更に (10% 溶血食塩水濃度) - (90% 溶血食塩水濃度) においても、3 群間に殆んど差異は認め難かった。即ち溶血をおこさない程度の低濃度の ABS 洗剤は滲透圧の変化にもとづく赤血球破壊にさして影響は与えないものと考えられる。



第3図 家兎赤血球の ABS 洗剤による抵抗性の変化

5. ラット腹腔内単核細胞に対する ABS 洗剤の影響

ABS 洗剤の細胞に対する影響を検討するため単核細胞を用いて、ABS 洗剤による形態学的変化をしらべた。ラット腹腔内にグリコゲン・タイロド液を注入し、48 時間後に腹腔から採取した単核細胞を実験に使用した。実験はこの単核細胞をタイロド液又はタイロド液にラット血清を加えた液に培養し、これに種々の濃度の ABS 洗剤を加え一定時間後固定染色して、形態学的変化をしらべた。結果は第2表に示すように 0.1% (ABS, 182.5 γ /ml) の ABS 洗剤を加えた場合は、先づ細胞の膨脹がおこり、次いで核が膨脹し、最後に細胞及び核の破壊がおこる。この際約 1 時間で細胞の 90% が破壊される。しかし、培養液であるタイロド液に血清を 30%

第2表 ラット腹腔内単核細胞に及ぼす ABS 洗剤の影響

培 養 液	洗剤濃度 (%)	細 胞 所 見
タイロード液	0.1	細胞は次第に膨脹し、核が明瞭になり、膨脹してくる。最後に細胞膜破壊し、核も破壊する。1時間で細胞の約 90% 破壊。
タイロード液	1.0	細胞は瞬間的に膨脹して破壊。
タイロード液 70% ラット血清 30%	1.0	1時間目の観察で多少の破壊像がみられる。
タイロード液 70% ラット血清 30%	2.0	タイロード液のみと 0.1% 洗剤を加えた場合と殆んど同じ変化。
タイロード液 70% ラット血清 30%	10.0	タイロード液のみに 1.0% 洗剤を加えた場合と同じ変化。

単核細胞数 4×10^6

2時間, 37°C で培養後洗剤を加えて観察

加えた場合は ABS 洗剤の単核細胞に対する破壊作用はかなり減弱させられる。血清添加の影響を種々の濃度の ABS 洗剤に対してしらべてみると第3表のようでタイロード液のみの場合は 0.01% ABS 洗剤で既に細胞に変化が見られるが、30% 血清を添加すると約 10 倍の 0.1% 洗剤濃度で始めて細胞に変化が認められるようになる。即ち溶血現象の時と同様に、単核細胞においても血清が存在すると ABS 洗剤の細胞に対する影響は可成り修飾されることが判る。

第3表 ラット腹腔内単核細胞に対する各種濃度の ABS 洗剤の影響

培 養 液 洗剤濃度 (%)	タイロード液	タイロード液 70% ラット血清 30%
0.00001	↑ 細胞変化なし 細胞変化出現 ↓	↑ 細胞変化なし 細胞変化出現 ↓
0.0001		
0.001		
0.01		
0.1		
1		
備 考	培養 3 時間後に洗剤を加え、37°C、1 時間後に観察。	培養 24 時間後に洗剤を加え、37°C、1 時間後に観察。

6. ABS 洗剤投与家兔の血液性状の変化

種々の濃度の ABS 洗剤を動物に投与して、その生体反応をしらべ、又若干のものについて病理学検索をこころみた。

実験方法は成熟雄性家兔各一羽毎に、その背部に ABS 洗剤の 0.5 cc/kg (ABS, 91.25 mg/kg) 0.1 cc/kg (ABS, 18.25 mg/kg), 0.01 cc/kg (ABS, 1.82 mg/kg), 0.001 cc/kg (ABS, 0.18 mg/kg) を毎日皮下注射し、14 日間観察した。測定項目は体重、赤血球数、白血球数、Ht (ヘマトクリット)、Hb (ヘモグロビン、シアンメトヘモグロビン法による)、血漿糖 (血糖計)、血漿

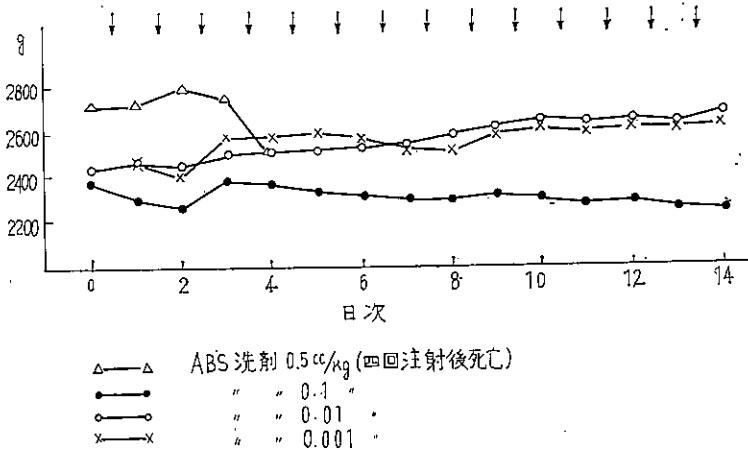
ABS 洗剤製造工場調査

蛋白 (蛋白計), A/G 比 (塩析後ビウレット試薬で比色⁴⁾), 血漿全コレステロール量⁵⁾, 赤血球抵抗性等である。

本実験はもともと、労働者の健康調査のために何を測定するかをきめるための考察のよすがをうるために計画したもので、実験動物の数が極めて少く、この結果からあれこれ推測することは危険であるが、参考になるものもあると思い、一応記録としてとどめることとした。

実験結果

0.5 cc/kg 連日注射家兎は、4 回注射後に死亡したが、その他の家兎では死亡例は認められなかった。体重変化では 0.1 cc/kg 注射家兎は漸次僅かに減少したが、0.01 cc/kg 以下の注射量では体重は漸次増加の傾向を示した。これらは第 4 図に示したとおりである。なお注射部位は注射開始後 2~3 日目から脱毛を起し、初めは糜爛状であるが後には痂皮を形成した。血液学的測定値並びに血中生化学的物質の測定値の変動については第 5, 6, 7 図に示すとおりである。図では処置前値を 100% としそれ以後の実測値を % で示した。赤血球数, Hb, Ht では第 5 図に



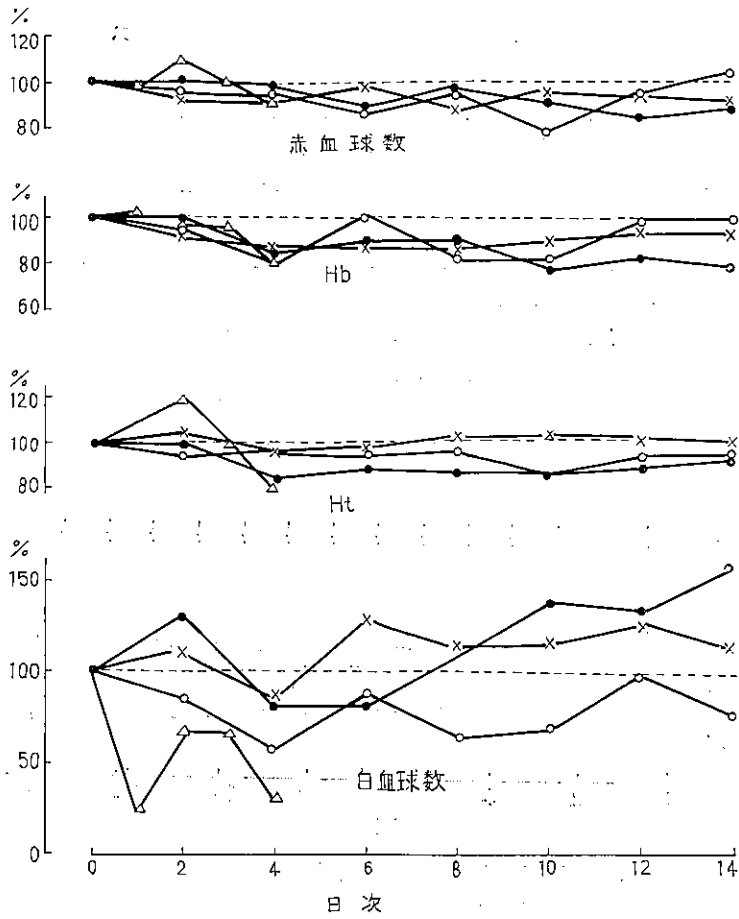
第 4 図 ABS 洗剤の連日皮下注射による家兎体重の変化

見るようにいずれの投与家兎においても処置前値より幾分低い値を示すが、注射回数増加による影響も認められず、又投与量の差異による変化もみられない。白血球数では変動が大きく、0.5 cc/kg のごとき大量投与では明らかな減少を示すが、それ以下の投与量では一定の傾向を示さない。

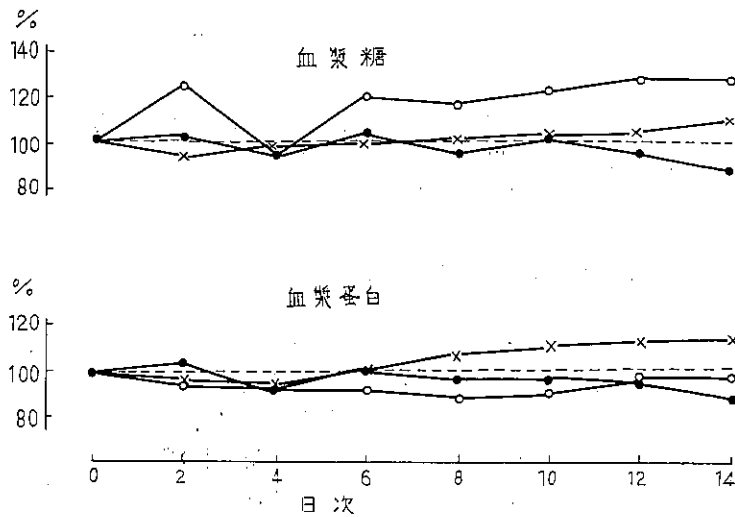
血漿糖及び血清蛋白については第 6 図に見るように、糖の場合 0.01 cc/kg 投与で、やや増加の傾向がみられている。血漿蛋白についてもとりあげる程の変化はみられていない。

以上の測定項目については、ABS 洗剤による影響を積極的に示唆するものはなかったが、第 7 図に示すように A/G 比, 血漿コレステロール, 赤血球抵抗性については、ABS 洗剤により影響される可能性が考えられるのである。即ち A/G 比は ABS 洗剤投与により低下し、0.1 cc/kg 投与で投与前に比し 60% 以上も減少するという事は注目の要があろう。次にコレステロールは逆に増加し、0.1 cc/kg では 60% の増加が見られるのである。赤血球抵抗性は ABS 洗剤の投与量の増加と共に増強している。

坂部・他

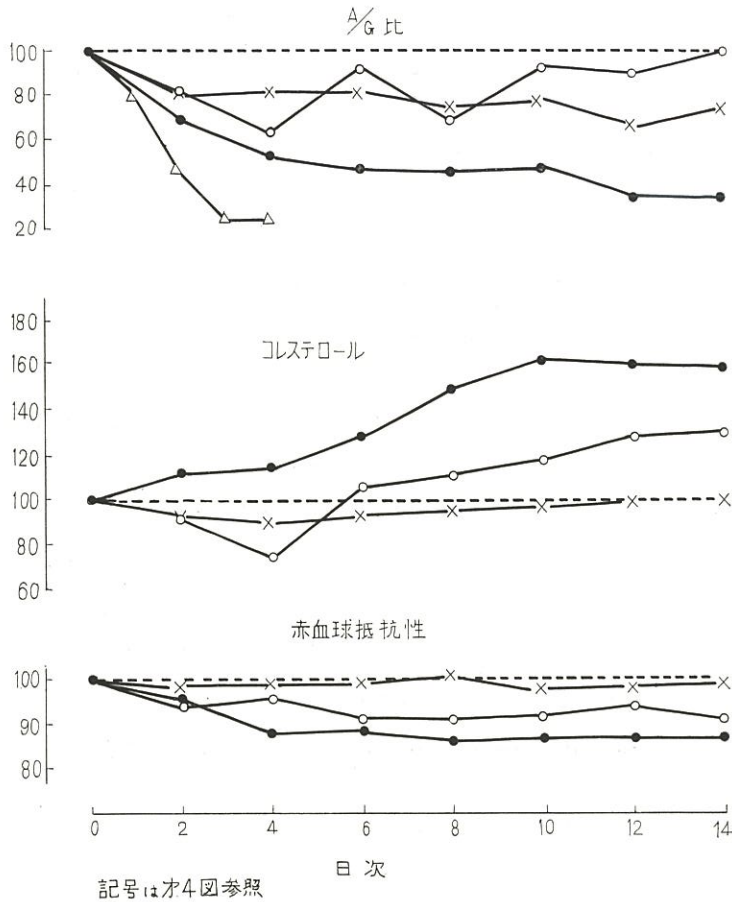


第5図 ABS洗剤の連日皮下注射による家兎血液像の変化 (記号は第4図参照)



第6図 ABS洗剤の連日皮下注射による家兎血糖並びに血漿蛋白量の変化 (記号は第4図参照)

ABS 洗剤製造工場調査

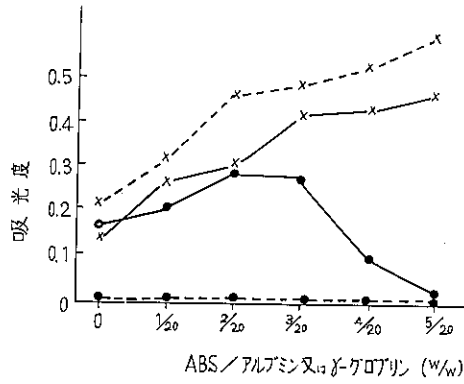


第7図 ABS洗剤の連日皮下注射によるA/G比, 血中コレステロール量及び赤血球抵抗性の変化

7. ABS洗剤とA/G比との関係

ABS洗剤を投与した家兎のA/G比が顕著に減少することは興味がある。しかし、ABS洗剤が直接アルブミン、又はグロブリンに作用してA/G比を変化さす可能性も考えられるので *in vitro* で少ししらべてみた。本実験では洗剤溶液でなく、ドデシルベンゼンスルホン酸ソーダを使用した。実験方法は、一定量のアルブミン並びにγ-グロブリン液に、種々の量のABSを加え、1時間室温に放置し、塩析前後の液をビウレット試薬で発色させ、吸光度を測定した。一方、アルブミンとγ-グロブリンを混合した液にABSを加え、A/G比の変化をも検討した。結果は第8図(1)にみるようにアルブミンもグロブリンも硫酸ソーダを加え、そのままビウレット試薬を加えると、ABS添加量の増加と共に吸光度も増加する。一方硫酸ソーダを加えて濾過した濾液にビウレット試薬を加えた場合は、アルブミンの場合は初めABSの増加と共に吸光度は増加するが、ABS量がある程度以上になると吸光度は逆に減少する。γ-グロブリンではABS量に関係なく全く発色しない。アルブミン及びγ-グロブリン混合液にABSを加え、A/G比をしらべると第8図(2)に見るようにABS量の増加と共に始め増加し、後減少する。このようなA/G比

坂部：他



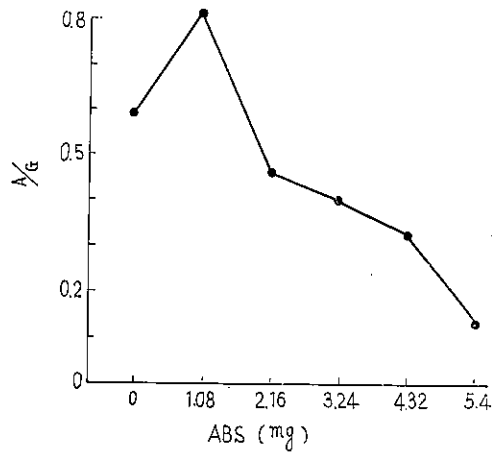
ABS
アルブミン又はγグロブリン } $\xrightarrow{1hr}$ 原液
又は + Biuret 試薬 \rightarrow 540 μ
塩析液

アルブミン + ABS { x—x 塩析液過前の液
●—● 塩析液過後の液

γ-グロブリン + ABS { x---x 塩析液過前の液
●---● 塩析液過後の液

(蛋白はそれぞれ 20mg, 反応液 5cc)

第8図(1) ABSとアルブミン, γ -グロブリンとの関係



アルブミン 30 mg, γ -グロブリン 45 mg これに ABS
を加え更に水を加えて 5ccとした

第8図(2) A/G比に及ぼす ABS の影響

に及ぼす ABS の影響であるが, アルブミン液に ABS を加えた時, ABS が一定量以上あると白濁をおこし, 更に凝集してくるので, 塩析液過した場合アルブミン分割が濾紙上に残り, 測定

されたアルブミン量が実際の含有量より少く出て来ることが A/G 比減少の一因であるかも知れぬ。ABS 投与家兎の A/G 比の減少は従って電気泳動法により更に検討を要するものと思う。

8. 病理学的所見

上記実験に使用した家兎の諸臓器について H. E. 染色でしらべた結果は、0.5 cc/kg 注射で 4 日目に死亡したものを除いて、0.1 cc/kg 以下の濃度の洗剤を連日注射したものでは病理学的には著しい変化を見出し得なかった。0.5 cc/kg 投与家兎の主要な病理学的変化は、心、腎を中心としてみられ、心の変化は、これが死因の主要な原因であったと考えてもよい程強かった。

- (a) 心の病巣は主として左室壁に斑状に分布した退行性巣により特徴づけられ、変性は心筋の腫脹、均質化、横紋消失、核濃縮を伴い、完全な筋融解に至る。一部塩基好性変性の像もあり、軽度の変化として筋質における空胞形成、顆粒化を示す線維も見られる。やや時間の経過した病巣では既に肉芽形成が始まっているが、その構成細胞は線維芽細胞及び幼若筋芽細胞を主とし、単核球、好中球の関与の少いことが特徴である。なお病巣は屢々血管周囲におこるのではないかという印象をうける。
- (b) 肺の変化は循環障害を主とするものであり、肺動静脈の拡張と血液充盈が見られ、肺胞壁毛細管も拡張し、血行静止（偽好中球の静止、その核に屢々変性）の像が見られると共に小静脈に血栓形成の徴がある。又肺動脈壁滑平筋のスウ粗化、筋線維間浮腫が注目された。気管支系は全般的に拡張性であり、分泌物を欠き、繊毛上皮が比較的薄く繊毛の消失もみられた。
- (c) 脳の変化の主体は浮腫であり、一般に小血管周囲の浮腫が目立つ。
- (d) 腎変化の主体は腎症で、糸球体の腫脹が見られ主部上皮も腫脹し、細顆粒状変性がみられる。又下部細尿管上皮の菲薄化、硝子様円柱形成が存在した。
- (e) 脾は一種の脾炎の像で、汜胞周辺部の出血、スウ粗化が見られた。脾髄には血液充盈し、細網細胞少く、大型の胞体に富む単核球が多く、その胞体内には崩壊した偽好中球の酸好性顆粒、及び含鉄顆粒が多かった。又汜胞中心動脈周辺のスウ粗化も注目された。
- (f) 肝は変化の有無が不明確で、肝実質細胞に明らかな壊死はなく、一部肝細胞質透明化がみられたが、その意味は不明である。
- (g) 骨髄はややスウ粗であるが明らかな細胞の成熟抑制、乃至細胞変性は見られなかった。

以上の所見の中で明らかなものは、心筋変性、腎症、及び肺の循環障害である。更にこれらの所見から ABS 洗剤の中毒作用の機序を考察するためのヒントをもとめるならば、

- a) 血栓形成の徴、好中球の変化等からおして、血液性状に変化がおこるのではないか。
- b) 心筋変性、肺動脈壁のスウ粗化、腎の変化等から類推して細胞膜に障害を加えてその透過性を変化さすのではないか。
- c) 気管支変化からして、結膜上皮に機能障害を与えないか。

等が考えられる。

9. 考 察

a) ABS の LD₅₀ については従来の報告^{1,6)} では経口投与又は胃内注入では大体 2.32~2.85 g/kg であり、静脈内注射では 201.7 mg/kg⁶⁾ となっている。このことは静注した場合は経口投与に比べて毒性が約 10 倍強いことを示すものであろう。われわれは皮下注射したわけであるが、マウスで LD₅₀ は 2.28 cc/kg であった。これは ABS に換算するとほぼ 416 mg/kg に当る。われわれの使用した ABS 洗剤の主要な毒性部分を ABS と考えればこの量は経口投与と静

脈内注入による LD₅₀ の中間に位するわけである。なお ABS 洗剤のマウス体重に与える影響について注目すべきは LD₅₀ の約半量までは体重に影響がなく、又 LD₅₀ と等しい量を与えたマウスでも生き残ったものは 3 日目頃から体重の回復してくる点である。

b) 従来から表面活性剤の毒性の重要な因子として溶血作用があげられ、ABS の溶血をおこす最低濃度は 1/7500~1/10000¹⁾ といわれている。実験条件が異なるのでこれとの比較は困難であるが、われわれの使用した ABS 洗剤の場合では、0.01% (ABS で約 18.25 γ /ml) では瞬時的に溶血がおり、30 分後で溶血を完了する。0.0075% (ABS で約 13.68 γ /ml) では 30 分後より溶血が急速におこり、2 時間後には完全に溶血する。このように ABS 洗剤には強力な溶血作用のあることを確認したが、更に注目すべきことは、溶血をおこさない ABS 洗剤の濃度と、完全に溶血をおこす ABS 洗剤の濃度との幅が非常に狭い点であろう。次にこれらの溶血実験は ABS 洗剤について行なったが ABS の純品を用いた場合と、ABS 洗剤を用いた場合とを比較実験すると後者による溶血はこれを ABS 量に換算する時、前者の溶血量とほとんど同一で差異は認められなかったので ABS 洗剤による溶血の主体は ABS によるものと考えられる。しかし ABS の溶血作用が、予め血漿と作用さすことによりさまたげられることは、実際の血液中には ABS が存在しても、試験管内で食塩水浮遊赤血球を破壊するようには行かず、血液中の蛋白その他により若干修飾される可能性もあるかと思う。血漿添加により、溶血の阻害されることは、単核細胞培養に血清を加えることにより、細胞障害の減弱されたのと同様に、おそらく血漿又は血清と ABS が結合したため、血球又は細胞を攻撃する ABS の量が減少したものと考えられる。

次に ABS の細胞に与える物理化学的影響として注目されるのは、赤血球破壊もそうであろうが、更に培養単核細胞の膨脹及び病理学的所見でみられたような心筋の膨脹、均質化、横紋消失、肺動脈壁のスウ粗化等よりして、ABS は細胞膜の透過性に変化を与えるのではないかという印象をうける。細胞膜の透過性の変化については後述するように赤血球浮遊液に ABS 洗剤を加えると、溶血をおこさない低濃度において ABS は容易に赤血球内に侵入することを認めているので、この透過性の変化が ABS により細胞膜が変化したか、細胞質が変化することによりひきおこされたか、あるいは両者の共同作用によるものであるか、結論は下せないが、ともかく細胞膜の透過性が ABS により変化する可能性は注目の要がある。

c) 家兎に ABS 洗剤を与えた場合の生体反応であるが、われわれのしらべた測定項目、即ち体重、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、白血球数、血漿糖、血漿蛋白、A/G 比、コレステロール、赤血球抵抗性について ABS 洗剤により変化をうけたのは、体重、A/G 比、コレステロール及び赤血球抵抗性である。これらの問題を更に深く検討するには資料が不足であるが唯 A/G 比については既に述べたように、測定方法についてなお吟味が必要かと思う。

10. 結 論

ABS 洗剤製造工場に ABS 洗剤にバクテリウムを労働者の健康診断の検査項目をきめるため ABS 洗剤ワンダブル K (ABS 含有量 18.25%) の LD₅₀、溶血作用、培養細胞に対する作用、及び連日投与による家兎の生体反応の変化を若干のものについてしらべた。二、三の実験では純度の高い ABS (ドデシルベンゼンスルホン酸ソーダ) も使用した。

1. マウスにワンダブル K を皮下注射した時の LD₅₀ は 2.28 cc/kg (ABS, 416 mg/kg) であり、1.28 cc/kg 以下の投与量ではマウスの体重は変化しなかった。
2. ABS の溶血作用はきわめて強いことを確認した。しかしこの溶血作用は血漿の存在により減弱される。

3. ラット腹腔内単核細胞に ABS 洗剤を作用させると最初に細胞の膨脹が起り、後に破壊する。この時も培養液に血清が存在すると細胞の破壊は弱められる。
4. 家兎の皮下に ABS 洗剤を、それぞれ体重 1 kg あたり 0.5 cc, 0.1 cc, 0.01 cc, 0.001 cc を連日 2 週間注射し、血液学的及び生化学的検査を行なうと共に病理学的検索を行なった。0.5 cc/kg 注射家兎は 4 回注射で死亡し、0.1 cc/kg 注射家兎は漸次体重の減少を示したが、それ以下の注射量では減少は見られなかった。
血液学的検査及び生化学的検査で変化のみられたのは A/G 比、血漿コレステロール量、赤血球抵抗性で、その他の項目では ABS 洗剤の影響は見られなかった。
5. 0.5 cc/kg 注射家兎でみられた病理学的変化の主要なものは心筋変性、腎症及び肺の循環障害であった。
6. ABS 洗剤の細胞に及ぼす作用の一つとして細胞膜の透過性の変化が考えられた。

参 考 文 献

- 1) C. H. Hine, H. H. Anderson, I. Finley, J. G. Moore: Studies on the Toxicity of Two Alkyl Aryl Sulfonates, J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed. 42, 489, 1953
- 2) F. F. Heyroth: The Systemic Toxicity of Synthetic Detergents. Proc. Chem., Spec. Mfg. Assn. p. 138, 1954.
- 3) T. W. Tusing, O. E. Paynter, D. L. Opdyke: The Chronic Toxicity of Sodium Alkylbenzene Sulfonate by Food and Water Administration to Rats. Toxicol. and Appl. Pharmacol. 2(4): 464~473, 1960
- 4) 柴田 進, 高橋 浩: 臨床化学の技術, 金原出版 KK, 103 頁, 昭 35.
- 5) 柴田 進, 高橋 浩: 臨床化学の技術, 金原出版 KK, 196 頁, 昭 35.
- 6) 柳沢文徳: 異面活性剤について (2), 公衆衛生 26(8), 459~475, 1962.

II ABS 洗剤による赤血球及びヘモグロビンの変化について

長谷川弘道 佐藤光男 坂部弘之

(本研究は別にくわしく報告の予定で、取りあえず、参考のため抄録のみ記載する)

界面活性剤が血清蛋白と結合すること、又溶血作用をもつことは古くから知られているし、今回の中性洗剤の毒性問題に当たっても、当初、この溶血作用が重視され、溶血現象をひきおこすような濃度の ABS が人体内に入るか否かが論議された。前項で述べたように、確かに溶血はおこる。そして溶血度と ABS 濃度との関係は、その他の物質の場合と少しその性質を異にし、非常に鋭い立ち上りをみせている。しかし、ABS の赤血球又は Hb に対する作用は単に溶血のみであろうか、この点についてわれわれのしらべた結果を簡単に列記してみよう。

実験は ABS 洗剤の市販品 (ワンドフル K; ABS 含量 18.25%) を使ったが、後に純 ABS (ドデシルベンゼンスルホン酸ソーダ) を横浜大小林博士より寄贈されたので、純品により洗剤による実験をたしかめ同一の結果を得た。

1. Hb 溶液に ABS を加えた時 Hb におこる変化

0.045 mM の Hb 溶液に ABS を加えると 0.00002~0.002% (0.2~20 $\mu\text{g}/\text{ml}$) の濃度範囲内では、Hb の 577, 及び 542 m μ の極大における吸光度は僅か増加し、 $\text{Hb} + \text{ABS} \rightleftharpoons \text{Hb} \cdot \text{ABS}$ の反応がおこっていることが判る。そしてこの反応は可逆的である。平衡達成には約 15 秒を要

する。

しかし、0.002% (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 以上 0.2% (2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$) では吸光度は急激に減弱し、 $\text{Hb} + \text{ABS} \rightarrow \text{Hb}'$ という不可逆的変性が認められる。更に ABS 濃度をますと $\text{Hb}' \rightleftharpoons \text{Hb}''$ という反応の生起を思わせるような吸光度の変化が認められた。ここで重要なことは、 $\text{Hb} \cdot \text{ABS}$ では Hb と同様に酸素分子と結合して、所謂酸素運搬機能は満足に果されているが、しかし酸素に対する親和力は減少しており、丁度 sickle cell anemia Hb にみられると同様の現象を呈する。従って赤血球の平均寿命は短くなっているとも考えられ、或いは尿中の血色素分解産物が増加するかもしれない。又 Hb' では $\text{Hb} \cdot \text{ABS}$ とは逆に酸素親和性は増大しており、組織への酸素供給は妨げられるので、この状態ではチアノーゼの可能性が考えられる。

なお工場調査では尿中に 1~10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の ABS が検出されているので、この程度の ABS では、労働者の血液中では Hb の不可逆的変性はおこっておらず、 $\text{Hb} + \text{ABS} \rightleftharpoons \text{Hb} \cdot \text{ABS}$ という可逆的な反応はあるかも知れない。

2. 赤血球に対する ABS の影響

血液中の赤血球を遠沈し、血漿を等量の 0.9% 食塩水でおきかえたものを赤血球懸濁液とし、この 1/10 稀釈液に ABS を加えると、0.00004% (0.04 $\mu\text{g}/\text{ml}$) で 415 $\text{m}\mu$ の吸光度は減少し始め、0.4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ では変化は更に強くなる。

このことは、ABS が赤血球膜に何等かの形で attack したことを意味する。又このような赤血球懸濁液に 0.4~4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の ABS を加えると、赤血球は金米糖状になり、0.0008% (8 $\mu\text{g}/\text{ml}$) では溶血がおこり始める。

3. 赤血球の状態での Hb の酸素に対する親和性に及ぼす ABS の影響は、前述の Hb 溶液について得られたのと同じ結論が得られた。

4. 前記赤血球懸濁液の 1/10 乃至 1/20 稀釈のものに 0.0004% (4 $\mu\text{g}/\text{ml}$) の ABS を加えると、赤血球内部と外部との ABS の濃度比は 9:1 となり、平衡を保つことが判った。この際血清の存在は殆んど関係しない。従って血清蛋白 + ABS \rightarrow 血清蛋白 \cdot ABS の反応速度よりも、ABS が血球内に浸入する速度の方が大きいことが判る。

5. 肝に対する ABS の影響

肝のミトコンドリアを集め、これに対する ABS の影響をしらべた。

コハク酸及び α -ケトグルコール酸を基質として、酸素吸収量からミトコンドリア活性を測定したところ次のような結果を得た。

ABS 濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	活性度 %	
	コハク酸を基質とした時	α -ケト酸を基質とした時
0	100	100
0.02	100	55
0.2	80	38
2	65	33
20	50	29
200	0	0

即ち、もし ABS が肝細胞内に入れば 0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度でミトコンドリア活性は阻害されることが判る。

§ 3. ABS 洗剤製造工場環気中の ABS 濃度について

坂部 弘之 左右田 礼典 原 登 松下 秀鶴 林 久人
鈴木 康友 島津 正司 大島 茂

1. はし が き

ABS 洗剤にバクロした労働者の健康状態をしらべるには、先づ ABS 洗剤の環気中濃度を知ることが必要である。ABS 洗剤には、液相のものと固相のものがあり、液相のものについては既に述べたが固相のものもその主成分は ABS とビルダーであり、ABS 洗剤がもし有害であるとすれば、洗剤中の ABS によるものと考えて大きな間違いはないと思う。そこで工場環気中の ABS 洗剤中にふくまれる ABS の濃度を測定することとした。われわれの調査した環境は ABS の粉末洗剤を製造する工程である。後述する健康調査を行なった労働者も、この環境調査を行なった工程で作業していた従業員である。さて、有害物質の体内侵入の経路としてはいうまでもなく、経気道、経口、経皮の3つのルートが考えられるが、本調査では ABS 洗剤が粉末状で空気中に浮遊しうるので、経気道侵入が最も重要であろうと考えた。何となれば経口侵入は飲食物又は手に付着した ABS が嚥下されるときで、調査した作業工程では、こうした機会はもとより無視出来ないが、経気道即ち吸気と共に体内に入るものに比べてはそれ程重要でないと考えた。次に皮膚をとおしての侵入であるが、これも皮膚表面が汗等で湿潤している時は、ABS の溶解吸収が考えられるが、吸入されるものに比べると、その比率は、かなり小さいものと想定した。従って ABS 洗剤の体内侵入の大部を占めると考えられる。吸入による ABS の体内侵入量を推定するため作業環気中の ABS の量を測定することにしたわけである。

しかし作業場内で ABS を含んだ空気を捕集するには種々の制約があり、労働者の吸気と同一条件で捕集することは困難である。即ち作業場内の ABS 濃度は場所により時間により異なり、又労働者の作業位置も変化するからである。従って出来れば、それぞれの労働者が、実際に吸入した空気中の ABS 量が知りたいわけである。このような目的に適う空気のサンプリング装置を開発する時間的余裕がなかったため、とりあえず、防じん用マスクに付着した粉じん中の ABS 量を測定して、各人の吸入量をしらべた。

2. 環気中 ABS 洗剤粉じん捕集法

対象とする洗剤粉末が粉じんとして浮遊し、かつ水に溶けやすいという性質を利用して、一定量の水を入れた特殊ミゼットインピンジャーに捕集した。この際普通のミゼットインピンジャーでは、洗剤を吸引した時発生する泡が空気の吸引中、容易に消失せず、インピンジャー上部にまで登って、吸引口から出て行く傾向があったので、インピンジャーの長さを普通の約倍位にして、この原因による採取資料の損失を防いだ。なおこのほか、インピンジャーの代りに濾紙上に採じんする方法も試みたが操作の厄介なこと、及び再現性が確実でないため使用出来なかった。

ミゼットインピンジャーによる採じんは、水 10 cc をインピンジャー内にとり、流量計、流量調節系を通じて吸引ポンプに連結し、一定時間一定場所で吸引した。吸引空気量は 5 l/min とし総量 50~100 l の空気を吸引した。こうした条件で採じんした時のミゼットインピンジャーの捕集効率については、予め実験室でテストし 100% の効率を示すことを確かめておいた。

以上の装置を 2 組使用して、現場の空気中粉じんを捕集した。測定箇所は出来るだけ労働者の

作業位置に近接し、呼吸位置に近いところを選んだ。

3. 個人別吸入 ABS 量推定のためのマスクの使用

当初マイクロフィルター（静電層）を挿入した防じんマスクの使用を考慮したが、このフィルターでは後述する測定法で ABS を定量する際妨害物質が滲出して、ABS の正確な測定は困難であった。そこでやむなくガーゼを 16 枚重ねた所謂ガーゼマスクを使用することにした。ガーゼマスクの使用方法は、先づ温湯でガーゼを十分洗い、後に述べる定量法で ABS をしらべ、ABS 及びその類似物質の含まれていないことを予め確認したガーゼマスクを各作業場における労働者に、その代表的作業に従事している時約 40 分間装着させ、後でこれを回収し、マスクに付着した ABS 量を測定した。

4. ABS 定量法

(a) メチレンブルー法¹⁾

メチレンブルー法は米国における ABS 定量の標準分析法である。本法は ABS とメチレンブルーが反応してクロロホルムに抽出される錯化合物をつくることと、メチレンブルー単独ではクロロホルムに溶解しない点を利用し、クロロホルム溶液中の錯化合物の濃度をメチレンブルーの吸収 652 m μ における吸光度から求めるものである。この方法の難点は妨害物の多いことと、操作過程がやや複雑で誤差の入り易い点であるが、今回の調査では、水質検査等の場合と異り、妨害物質が少く、又あっても極めて少量であるから、妨害物の影響は余り考慮しないでよいであろうと考えた。

(b) 紫外吸収スペクトル法

ABS 分子は水溶液中で 226 m μ 及び 195 m μ 付近にかなり強い吸収帯をもち、この吸収帯の吸光度測定から ABS が定量され、かつメチレンブルー法に近い感度が得られることが判ったので実際に使用することにした。

(c) 何れの場合もドデシルベンゼンスルホン酸ソーダ（純度 99% 以上、横浜大小林博士より寄贈をうけた）を標準として、検量線をつくり、それから濃度をもとめた。

紫外吸収スペクトル法の場合に ABS 水溶液の吸光度は Cary Model 14 型分光器により、熔融シリカ窓つきセルを用いてスペクトルを測定した。一方メチレンブルー法の場合はベックマン型分光光度計によった。

両測定法による測定値を比較すると第 4 表のようになる。これは作業場内でインピンジャー内

第 4 表 ABS 定量のためのメチレンブルー法と紫外吸収スペクトル法との比較

資料番号	メチレンブルー法 mg/m ³	紫外吸収スペクトル法 mg/m ³
1	0.82	0.82
2	2.03	3.05
3	2.10	3.03
4	3.61	5.03
5	3.02	4.37
6	0.46	0.41
7	20.2	24.6

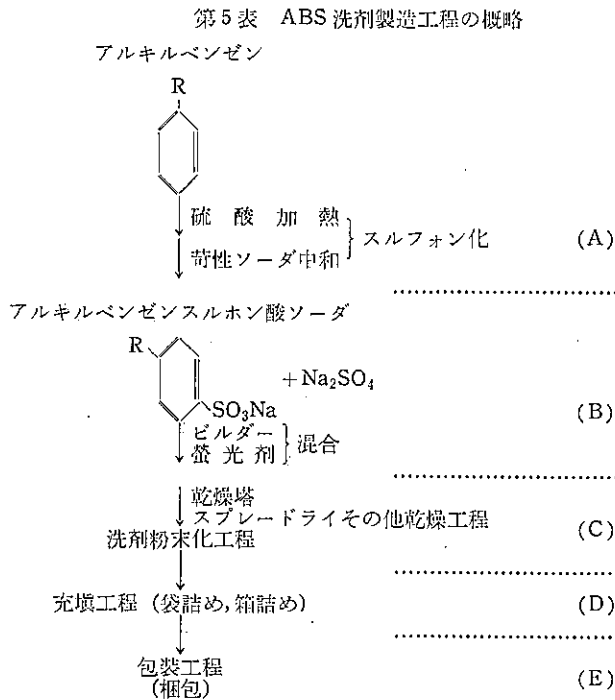
作業場でインピンジャー内に採取した洗剤粉じん中の ABS 量を 2 つの方法で比較測定したもの

ABS 洗剤製造工場調査

に採取した ABS の量を同一資料について 2 つの方法で測定したものであるが、大体一致することが判る。

5. 作業工程及び調査事業所

中性洗剤製造工程は第 5 表に示すようにアルキルベンゼンにスルホン化を行い出来上ったアルキルベンゼンスルホン酸ソーダに芒硝、トリポリ燐酸ソーダ等のいわゆるビルダー、及び蛍光物質等を加え、乾燥しながら粉末化し、出来上った粉末洗剤を充填包装するわけである。製品中の ABS 含量は各製品により異なるがわれわれの調査対象とした 8 工場における 9 種類の製品についてしらべた結果は 18.5~55% であった（湿度は考慮せず実験室内で）。



次に調査の便宜から作業工程を第 5 表に示すように (A) — (E) の 5 つに分類した。(A) 作業は殆んど密閉された容器内で行なわれる反応を監視するわけである。この反応生成物を混合槽に吸引し (B) 作業が行なわれる。(B) 作業終了後出来上った高粘度の液を吸引し、乾燥塔上部からスプレーその他の方法で落下させ（多くは熱風乾燥）粉末状にして製品を下でうける。この製品は多くの場合、ベルトコンベヤーにより、充填工場に運搬されるが、事業場によっては労働者により運搬されることもある。(C) 作業からは露出した設備が多く発じんが多い。液体又は湿潤物質を取扱う (A) (B) 作業と異って、(C) (D) (E) は乾燥した粉末状製品を取扱うため、普通の設備では完全な除じんは困難なようである。(D) は手によって（スコップ等を用いて）行なわれる場合と自動計量器により行なわれる場合等があるが何れも可成りの発じんを見、特に前者の場合、作業のやり方により発じん量に相当の開きがあるようである。(E) は充填された袋又は箱の蓋を閉じる作業と、それを幾つかにまとめて、一定のケースに入れて運搬する作業とであるがここでは容器外部に付着した洗剤粉末がこぼれおちる程度なので (D) と同一作業場で、この

作業の行なわれる時はむしろ (D) からの影響の方が大きい。上述のように発じんの主体は (C) 及び (D) 作業工程であるが、この (D) 工程と (E) 工程のみを行なうきわめて小規模な工場も存在するので、こうしたものも含めて 8 事業所について調査した。これら事業所の作業工程を第 6 表に示した。

第 6 表 調査事業所とその作業工程

事業所名	作業工程 (第 5 表参照)
Ka	(D) (E)
E	(D) (E)
I	(D) (E)
Ko	(D) (E)
M	(A) (B) (C) (D) (E)
H	(B) (C) (D) (E)
A	(B) (C) (D) (E)
R	(A) (B) (C) (D) (E)

6. 測定結果

測定日時その他は第 7 表のようであり、環気中 ABS 濃度については第 8 表に示すように (C) 作業では測定値は大体一定の範囲内にあり、(D) (E) では時に異常に高い値の見られるものもあった。しかしこのような 1 時的な高濃度のものを除いては環気中 ABS 濃度は事業所別並びに作業工程別にみて著しい相違を示さなかった。全測定値の濃度別分布をみると第 9 図のようで、そのほとんどは 6 mg/m^3 以下にあり、 1 mg/m^3 以下のものが最も多いことが判る。今 peak concentration と考えられる 20 mg/m^3 及び 30 mg/m^3 の 2 つの値を除いて平均値をもとめると 1.5 mg/m^3 となる。

第 7 表 調査日時その他

事業所	調査日 (1962)	環境測定点 数	ABS 測定用 マスク装着人員	健康調査対象人員
M	26/7 晴	8	8	16
Ka	5/10 雨			11
E	10/10 晴	4		10
H	15/10 雨	9	4	14
A	17/10 曇	10	4	16
I	22/10 晴	6	4	12
Ko	26/10 晴	7	5	13
R	9/11 晴	9	5	32
計		53	30	124

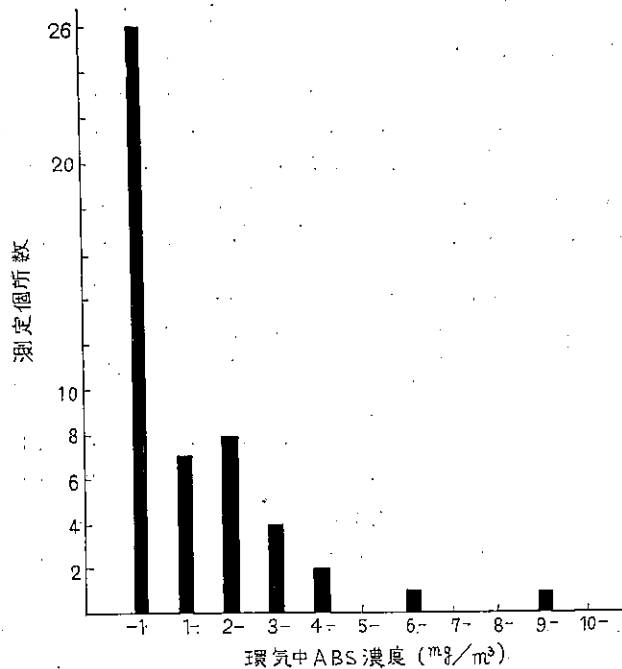
次にガーゼマスクに付着した ABS 量は 1 時間付着量として示すと第 8 表のようになる。更に分布を見ると第 10 図のようで、 1.0 mg/hr から 13.0 mg/hr まで付着量にかなりの幅のあることが判る。そして平均付着量をもとめると 4.5 mg/hr となる。環境中 ABS 濃度について、上記の結果は、比較的作業が整備され、かつ発じんを少くするように配慮された時の値であると考えてよいのではないかと思う。

ABS 洗剤製造工場調査

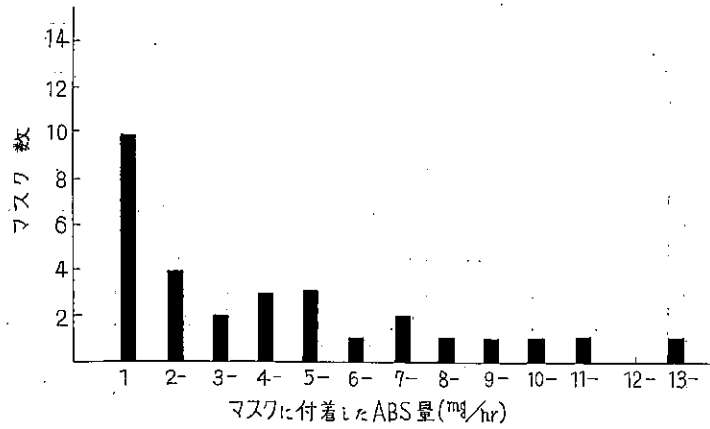
第8表 環気中ABS濃度並びにマスクに付着したABS量

事業所	工 程	環 気 中 ABS 濃 度 (mg/m ³)								マ ス ク 付 着 ABS 量 (mg/hr)*				
Ka	D E	—								—				
E	D E	6.6	2.3	0.6	0.4					—				
I	D E	9.8	3.6	2.8	1.9	1.3	0.6			10.9	11.9	5.8	4.1	
Ko	D E	4.9	2.0	1.7	1.3	1.1	0.2	0.2		13.0	8.8	5.5	4.3	1.7
M	C	3.6	2.1	2.0	0.8					9.3	7.3	1.5		
	D E	30.0	20.0	3.5	0.4					7.1	4.3	1.6	1.1	1.0
H	C	0.7	0.2	0.1						6.5				
	D E	1.7	0.3	0.2	0.2	0.1	0.02			5.2	3.1	1.3		
A	C	4.0	3.5	0.5						2.3				
	D E	0.5	0.7	0.1	0.2	2.4	0.0	0.0		1.4	1.4	2.8		
R	C	2.1	2.1	1.5										
	D E	0.8	0.5	0.3	0.3	0.2	0.2			3.0	2.7	2.1	1.8	1.8
平 均		1.5**								4.5				

* マスクは40分間着用させ、その間に付着したABS量から1時間値を算出
 ** M事業所の30.0, 20.0 mg/m³は除いて算出した。



第9図 環気中ABS濃度



第10図 防じん用ガーゼマスクに付着した粉じん中のABS量

7. 吸入により体内に侵入するABS量

(a) 事業所別及び作業工程別にみて、若干の peak concentration を除いては環気中ABS濃度並びにマスク付着量ABSにいちじるしい変動は見出し得なかったので、これらをABS洗剤作業として一括した同一母集団を考えることとした。

(b) 本調査に使用したガーゼマスクの粉じん捕集効率について考察すると、一般にガーゼマスクはエアロゾルの粒度の大きいものに対しては捕集効率は高いが、粒度が小さくなると効率は低下する。洗剤製造工程における環気中浮遊洗剤粉じんの粒度は第11図(後述)に示すように場所により若干相違はあるが、粒子の大きいものが相当数存在し、第10表(後述)の粒度別重量分布から判るように10μ以上の粒子がABS量に決定的な影響を与えていることが判る。従って重量から考える時はガーゼマスクの洗剤捕集効率は十分なものとしてよいであろう。

(c) ガーゼマスクに付着したABS量と環気中ABS量との関係をしらべてみると、第9表のようになる。即ち、環気中ABS濃度の平均値を1.5 mg/m³とし、R.M.R.を2~3として、毎分吸気量を10, 13, 15 l/minとした時労働者が毎時間吸入すると考えられるABS量を環気中平均ABS量からもとめると、それぞれ0.9, 1.2, 1.4 mg/hrとなる。

第9表 環気中平均ABS濃度からもとめた労働者の吸入ABS量

エネルギー代謝率	吸気量 (l/min)	環気中平均ABS濃度からもとめた労働者の平均吸入ABS量 (mg/hr)	マスクに付着したABS量 (mg/hr) 環気中平均ABS濃度からもとめた労働者の平均吸入ABS量 (mg/hr)
2~3	10	0.9	5.0
	13	1.2	3.8
	15	1.4	3.3
4~5	20	1.8	2.5
	30	2.7	1.6

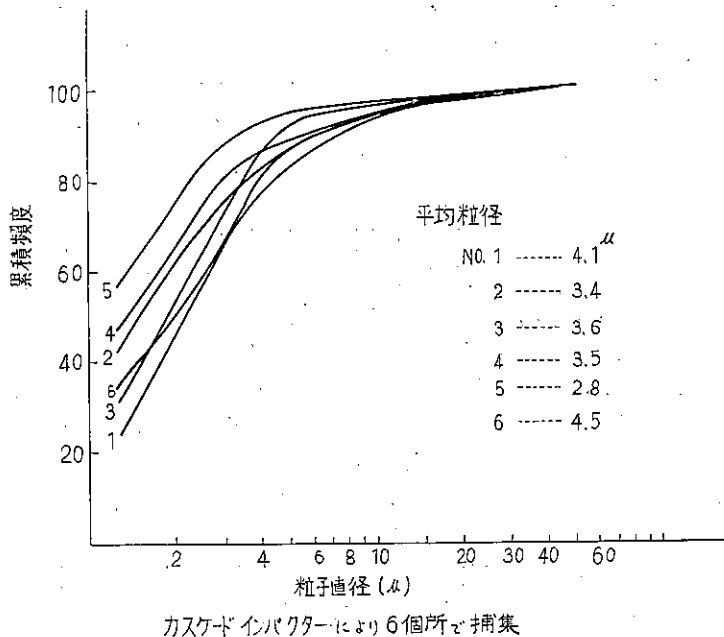
この値はマスクに付着したABSの平均値4.5 mg/hrよりかなり低い。即ち現実には労働者が吸入したと考えられる空気中のABS量は、マスク付着量から推定する場合と、環気中濃度から算出する場合とでは相違し、前者は後者の3倍以上となる。今若しR.M.R.を更に大きくとつ

ABS 洗剤製造工場調査

て 4~5 としてもなお約 2 倍の開きがある。しかし現実の作業は平均して大体 R. M. R. 2~3 の作業と考えられる。このように所謂一般に行なわれている環気中濃度測定から類推する吸入量が、マスクに付着した量を下回る事実は既に奥, 原, 坂部等²⁾が鉛フェウムについて指摘したことがあるが、この原因としては、おそらく労働者の顔面がインピンジャーの吸入口よりも更に発塵源に近づく場合が多いということとか、peak concentration の影響のうけ方の差というようなものであろうと考える。これらの問題の立入った研究は別に計画があるので、本報告では、一応、マスクに付着した ABS 量の方が、環気中濃度よりも、各人の ABS 吸入量をより近似して示すものとして考察を進めることとする。

(d) ABS 洗剤は固体粒子として空気中に浮遊しているので、一般エアロゾル肺内沈着³⁾に準じて考えるならば、吸入された洗剤粒子は鼻腔、気道、及び気腔部分にそれぞれ沈着し、沈着しなかったものは呼出される。これら各部への沈着率は粒度によりきまるから、洗剤粒子の場合もその粒度をしらべる必要がある。そこで R 事業所において、2 種類の製品につき、場所を変えて 6 個所で、環気中浮遊洗剤粒子の粒度測定を行なった。測定は Cascade Impactor で採取し、直ちにデシケーターに入れて研究所に持ち帰った上、顕微鏡により粒度分布をもとめた。その結果は第 11 図に示すようであり、それぞれの資料の平均粒径の最小は 2.8 μ 、最大は 4.5 μ であった。

次に第 11 図の No. 6 の粒度分布をもとにして粒度別個数分布、粒度別重量分布をもとめ、Hatch の図から粒度別肺内沈着率を重量 % としてもとめると第 10 表のようになる。ABS 洗剤粒子は気道又は気腔内に沈着して速やかに溶解するものと考えられる。従ってこれらの部に沈着した後、ABS は①気腔又は気道表面から直接組織内に侵入する。②気道表面のムチンと共に消化管に送られ、そこから吸収される。③喀痰として喀出される。3つのコースをとると考えられ



第 11 図 ABS 洗剤浮遊粉じんの粒度分布 (R 工場)

第10表 ABS浮遊粉じんの肺内沈着率

粒度別区間 d (μ)	区間代表値 d (μ)	粒度別個数分布 %	粒度別重量分布 %	Equivalent Impac. Diameter $\sqrt{\sigma d^2}$	肺内全沈着率 (個数) %	肺内全沈着率 (重量) %
0.5~2	1.5	53	0.2	1.8	50	0.1
2~3	2.5	15	0.3	3.1	63	0.2
3~4	3.5	9	0.4	4.3	77	0.3
4~5	4.5	7	0.7	5.5	85	0.6
5~6	5.5	3	0.5	6.7	88	0.4
6~8	7.0	4	1.5	8.6	89	1.3
8~10	9.0	3	2.3	11.0	90	2.1
10~20	15.0	3	13.5		(100)	(13.5)
20~30	25.0	2	35.0		(100)	(35.0)
30~40	35.0	1	45.6		(100)	(45.6)

- 1) 呼吸数 20/min として算出
 2) 10 μ 以上の粒子は 100% 鼻腔内に沈着するものとして算出

る。又 10 μ 以上の粒子はその殆んどが鼻腔内で抑留されるが、これも鼻腔粘膜からの吸収と鼻汁として排出される場合とが考えられる。さて、鼻腔、気道内面及び気腔からの体組織内侵入と消化管からの吸収とで、ABS の生体に及ぼす作用が異なるかどうかについては、投与方法によって LD₅₀ の異なることを考えると、相違があるように考えられるのである。しかし、ここでは更に立ち入って考察することをせず、一応体内侵入量としてまとめて考えることとした。次に喀痰又は鼻汁として排出されるものの量は、そう大した量ではないであろうから、一応、沈着したすべては体内に侵入するものと仮定する。このような仮定のもとに考察すると、吸入された洗剤粒子のうち重量 % で 99.1% は鼻腔、口腔（口呼吸）から肺胞に至る、所謂、気道、気腔内に沈着するものと考えられる。更に肺内の相対湿度を 99.3% とすれば吸水性に富む洗剤粒子の粒径増加が期待され、この沈着率は更に増加するであろう。従って吸入された洗剤粒子のうち再呼出されるものは大きく見積っても、吸入されたもののうちの 1%（重量）を超えることはないであろう。従って、重量から考えると、吸入された洗剤粒子のほとんどは体内に侵入するものと考えられる。

(e) このような考察から、これら洗剤工場で中性洗剤粉末にバクロする労働者の呼吸によって体内に侵入する ABS 量は、マスクに付着した平均 ABS 量 4.5 mg/hr から算出するとその 99% が体内に侵入するとすれば約 4.4 mg/hr で、7 時間バクロでは平均体内侵入量は約 30 mg となる。最大量はマスク付着の最大量 13.0 mg/hr から算出すると 90 mg となる。しかし、ここに注意すべきことは、これらの値は防じんマスク又はガーゼマスクを着用しない時の論議で、若しこうした保護具を着用すれば、侵入量はいちじるしく減少することはいうまでもない。われわれの調査した 8 工場では保護具として簡単なガーゼマスクが着用されていたが、しかしこれはすべてではなく、総人員の約 1/3 程度が着用していた。しかしマスクが常時着用されていたか又その装着が確実であったかどうかは不明である。

(f) 以上を要約するとわれわれの調査した中性洗剤製造工場で中性洗剤粉末にバクロする労働者が若し呼吸保護具なしで作業している時は呼吸により体内に侵入する ABS 量は 1 日平均約 30 mg で最高 90 mg であった。

(g) 調査がきわめて断片的であって連続的でないから、この資料から長期にわたって労働者に

ABS 洗剤製造工場調査

作用して来、又するであろう体内侵入量の正確な推定は困難であるが、おおまかな推測には役立つであろう。

8. 結 論

昭和 37 年 7 月 26 日～11 月 9 日の間、東京都下に散在する ABS 洗剤製造（充填、包装を含む）工場 8 箇所について、作業環気中の ABS 濃度を測定し、又労働者の ABS 吸入量を推定した。これらは §4 に述べる労働者の健康診断と関連して行なわれたものである。

ABS 濃度測定は特殊ミゼットインピンジャーにより採気した後、メチレンブルー法及び紫外吸収スペクトル法により行なった。これら事業場における平均環気中 ABS 濃度は 1.5 mg/m^3 で、労働者の呼吸により体内に侵入する 1 日平均 ABS 量は保護具を装着しない時は約 30 mg であろうと推定された。

ただしこれらの値は工場が発じんに対して相当な考慮を行なった状態におけるものとして理解すべきであろう。

参 考 文 献

1. 小林義隆：安全工学，1，22，1962
2. 興 重治，原 登，坂部弘之：1962 年 4 月第 35 回日本産業医学会発表
3. 坂部弘之：エアロゾルの生物学的作用，労働衛生工学会シンポジウム I，エアロゾルに関する論文集 p. 69，1961

§4. ABS 洗剤製造工場労働者の健康診断

坂部弘之 吉川 博 長谷川弘道 佐藤光男 安川美恵子
加藤静江 安西 喬

1. は し が き

労働者の健康診断は §3. に述べた 8 工場で ABS 洗剤にバクロする労働者について実施した。既に述べたように事業所別に又作業工程別に濃度差に区別出来るほどの相違が見出されなかったため、これら 8 工場の労働者を、§3. に述べたように ABS 洗剤作業に従事する労働者として一括することにした。従って、対照となるべき群としては石鹼製造作業に携る労働者群と、事務員及び少量のマーガリン製造に従事するものを選んだ。健康診断の項目としては、一般に職業病診断の際、スクリーニングテストとしてしばしば使用されるものの他、§2. に述べたように、実験的研究において ABS により影響された生体反応をとりあげ、更に他の研究者により実験動物において、ABS により変化するとされているものについてもしらべた。

2. 調 査 方 法

午前中工場において労働者 1 人 1 人について問診し、自覚症状、皮膚症状等をしらべ、同時に血液 6 cc（ヘパリンを加えた試験管に肘静脈から採血して）と尿をとり、魔法瓶に入れて研究所にもちかえり、その日のうちにすべての検査をした。

血液について実施した検査は、赤血球数、白血球数、Ht（ヘマトクリット）、Hb 量（シアノメトヘモグロビン法）血漿蛋白（蛋白計による）、A/G 比（塩析後ビウレット試薬による）、血漿ビリルビン（総ビリルビン量測定）、血漿コレステロール、血漿総カルシウム、血漿透析性カルシウム（柳沢法）、赤血球抵抗性（50% 溶血食塩水濃度の測定）である。

尿については蛋白、ビリルビン、ウロビリノーゲン、潜血反応（以上は spot-test 法による）、糖（テストテープ法）等について定性反応を行ない、尿中 ABS 排泄量（尿 5 cc についてメチレンブルー法）をも若干の労働者についてしらべた。

3. 調査対象者

調査工場及び各工場の製造工程は § 3. に述べたとおりである。調査対象者は 8 工場の全 ABS 洗剤取扱従業員の約 1/10 の 66 名と、対照として同じ 8 工場の中で石鹼の製造、包装のみに従事している 25 名、及び事務職員と若干のマーガリン製造に従事する 33 名である。その性別その他は第 11 表に示すとおりである。ABS 従業員のうち、男子は主に (A) (B) (C) の作業に従事し、女子は (D) (E) に従事（第 5 表参照）しているもので、(D) (E) のみの作業を行なう事業場では同一人が日により ABS 洗剤をあるいは石鹼の包装を行っていた。

第 11 表 調査対象人員

ABS 従業員	男	23	} 66	} 124 名
	女	43		
石鹼従業員	男	19	} 25	
	女	6		
事務員等	男	20	} 33	
	女	13		

これら従業員の年齢別分布、及び ABS 洗剤従業員の勤務年数分布は第 12 表及び第 13 表に示した。これらの調査工場で ABS 洗剤の製造が企業化されたのが 4~5 年前からであるため被験者の ABS 作業従事期間は大体 5 年以内であった。

第 12 表 調査対象者の年齢分布

年 齢	ABS 従業員		石けん従業員		事 務 員 等	
	男	女	男	女	男	女
16~19	2	11	3		1	6
20~24	1	17	1	3		6
25~29	6	4	4	1	4	
30~34	2	5	4	1	3	
35~39	4	1	2		5	
40~44	6	3		1	1	
45~49	1		4		4	1
50~	1	2	1		2	
計	23	43	19	6	20	13
平均	34.1	25.5	24.0	28.0	37.1	21.8

第 13 表 調査対象 ABS 従業員の勤務年数分布

勤務年数	男	女
3~5 ヶ月	1	5
6~11 ヶ月	5	4
1~2 年	5	20
3~	6	10
5~	3	4
7~	2	
9~	1	
計	23	43
平均(年)	3.06	2.33

4. 調査成績

(a) 自覚症状

ABS 洗剤による主要な自覚症状は皮膚及び結膜の刺激症状で、その他には特別のものは認められなかった。胃腸障害（胸やけ、胃痛、食欲不振）の訴えがしばしばあったが ABS によるという確証はなかった。

ABS 洗剤は刺激性で眼に入ると疼痛、流涙をおこし、人によっては結膜炎を起こすという。鼻

ABS 洗剤製造工場調査

に入った場合はクシャミが出、更に疼痛を覚え、ひどい時は痛みが前額部に及ぶという訴えもあった。又のどに入った時はイガラツポイ感じがし、更に腫脹感のあるという訴えもあった。

(b) 皮膚症状

既往において ABS 洗剤によると考えられる皮膚障害を経験したものは第 14 表に示すように総調査人員 66 名中 85% に見られ、季節的には夏に障害は強く出現している。われわれの観察した症状を 2, 3 挙げると、

第 14 表 ABS 洗剤による皮膚障害発生状況

調査工場	調査対象人員	皮膚障害を経験した者	障害のつよい季節
M	10	8	夏
Ka	4	4	冬
S	2	2	冬
H	11	9	夏
A	9	7	夏
I	6	5	夏
Ko	8	8	夏
R	16	13	夏
計	66	56	
%		84.8	

症例 A. 33 歳, 男, 7 月中旬より 4 回程, 顔面, 頸部, 頂部, 耳後部, 上腕, 肘窩, 腹部に湿疹様変化を生じたことあり。

現症. 前額髪際部, 頸部, 頂部, 耳後部に比較的境界鮮明な瀰慢性潮紅あり, 両側腋窩, 肘窩に淡紅色米粒大丘疹集簇する。軽度の痒痒あり, 比較的乾燥性で, 湿润せず, 軽微な秕糠様落屑あり, 苔癬化を認めず。

症例 B. 43 歳, 男, 7 月下旬より 7~8 回, 鼻唇溝部, 前頸部, 腋窩, 前膊, 肘窩, 腹部に湿疹様変化を生じたことがある。

現症. 耳後部に比較的境界鮮明な淡褐色色素沈着あり, 現在潮紅, 落屑等の変化はない。前頸部, 右肘窩に粟粒大紅色丘疹散在する。

症例 C. 20 歳, 女, 以前頬部, 口の周囲に湿疹様変化を繰返し生じた。

現症 両頬部, 鼻根部より胡蝶形をなして淡褐色色素沈着あり, 比較的境界鮮明。鼻下部にも同様色素沈着あり, 潮紅, 落屑, 痒痒等は現在なし。

以上のように好発部位は顔面, 殊に前額髪際部, 頬部, 口囲部, 頸部, 頂部, 耳後部, 腋窩, 肘窩, あるいは上腕, 前腕の内側面, 等の発汗量の多く, 又汗の貯溜しやすく, これに加うるに摩擦をうけやすいような部位であった。又時期としては発汗量の多く, 湿度の高い夏に皮膚障害が強くあらわれるが, 冬の方がひどいという訴えのあった工場もある。洗剤粉末の性状によっても差違があり, 粒子の小さいものの方が刺激症状が強いようであった。

ABS 洗剤による皮膚刺激症状の経過であるが一般には, 洗剤の付着部位に潮紅が起こり, 人によっては灼熱感, 痒痒感を伴い, 次いでその部位に漿液性丘疹を集簇性に生じ, やがて秕糠様落屑を来して治癒する。症例により殊に繰返し発生した例では, 炎症症状の消褪した後に軽度の淡褐色色素沈着を遺すものもある。又これらの経過は, 2, 3 日から 1 週間位が普通である。

この皮膚障害は人によっては繰り返し経験し、又夏の始めにのみ経験し、あるいは一度経験しただけで終るというように、かなり個人差があり、又障害の程度も人によってかなり異なるが、大多数の人は少くとも一度は、この ABS 洗剤による皮膚障害を経験し、従業員はこれを「粉やけ」と呼んでいる。今回の調査では何れも ABS 洗剤粉末が汗によって溶解され、一時貯溜することによって生じる急性接触皮膚炎型のものが多く、全身に汎発する症例をみなかったが、従業員の話によると、稀に裸露部以外にも及ぶ自家感作性皮膚炎の状態をおこす人もあるらしい。

皮膚障害に対しての治療については、放置しても自然に治癒するので、特別の治療は行なわれていないが、女子従業員は顔面に瀰慢性潮紅を来すためにかなりしばしば洗顔し、時には就寝時に湿布する人もあるようであった。予防のためにワセリン、桃の花（市販商品名）等を皮膚に塗り込んで作業したり、又工場によっては入浴代を支給しているところもあった。

皮膚障害の発生と労働環境とを対比させて考察すると、発じん量の多い程、鼻腔、気道、眼の刺激が強いが、皮膚障害は必ずしも環気中 ABS 洗剤濃度のみによらず、作業の仕方、殊に袋詰作業の場合、不注意に取扱うほど、皮膚に付着する洗剤量が多く、従って皮膚障害の程度も強くなる。皮膚障害の訴えは包装部門に強いが、これは ABS 洗剤を手で袋に詰めるということに基因する。大企業では、これら袋詰、包装の工程が次第に自動化されつつあり、自動包装を行なっている工場では、切換えてから皮膚障害は急速に減少してきている。皮膚障害に対する予防対策としては環気中 ABS 濃度の低下とともに、作業方法に対する考慮の払われる必要がある。

なお、石けんの製造、包装に従事している人々にも皮膚障害がみられるが、この際の障害は脱脂肪による。所謂、カサカサした皮膚の荒れで ABS によるような刺激症状はみられず、又程度も軽い。

(c) 血液所見

検査した 11 項目の測定値を ABS 洗剤バクロ群、石鹼バクロ群、事務員群の 3 群、並びに男女別に分けて各人の測定値の分布、その他を第 12 図～第 24 図に示した。なお図中に引いた 2 本の実線は正常値の上限及び下限値を、又その中間の点線は測定値の平均値を示す。

(i) 赤血球数 (第 12 図)

3 群とも大体正常範囲内にあり、各群間に有意の差を認めない。

(ii) 白血球数 (第 13 図)

3 群とも大体正常範囲内にあり、各群間に有意の差を認めない。

(iii) Hb 量 (第 14 図)

3 群とも概ね正常範囲内にあり、各群間に有意の差を認めない。

(iv) Ht 値 (第 15 図)

3 群とも大体正常値の範囲内にある。ABS バクロ女子群に低い値を示すものが多いようであるが、群間に有意の差は認められない。

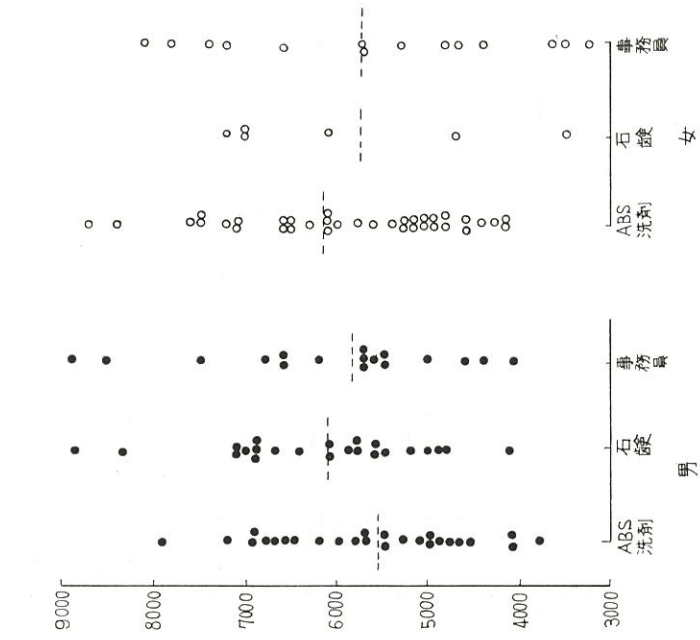
(v) 色素指数 (第 16 図)

色素指数は Hb 量を赤血球数で除したもので、いわば赤血球一個あたりの平均ヘモグロビン量であるが、第 16 図に示すように ABS 洗剤群並びに石鹼群が男女とも下限値以下の値を示すものが少くない。女子の石鹼群と事務員群との間には 5% で有意の差が認められる。

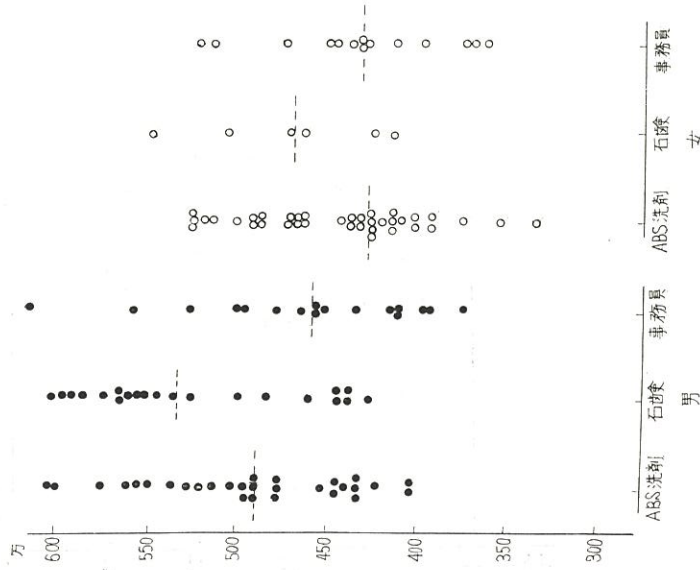
(vi) 容積指数 (第 17 図)

容積指数は Ht 値を赤血球数で除したもので、いわば平均赤血球容積的な概念であるが、男女とも ABS 及び石鹼群は事務員群に比し、やや低い値を示す傾向が見られるが、女子石鹼バクロ

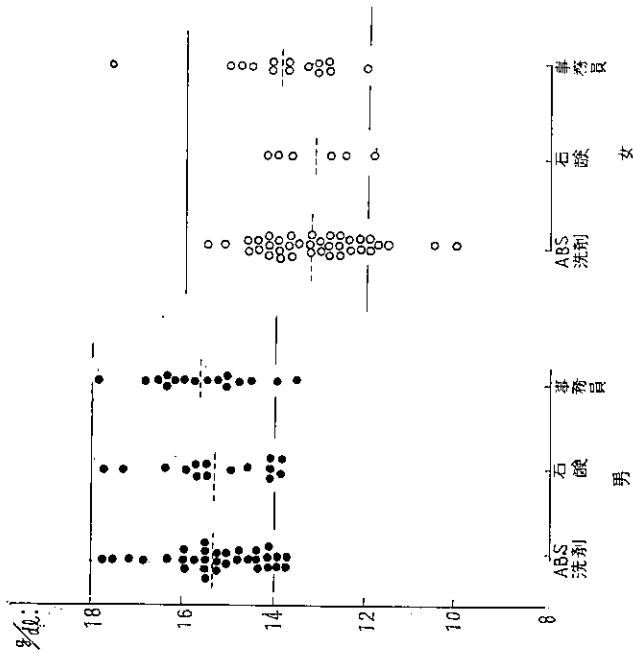
ABS 洗剤製造工場調査



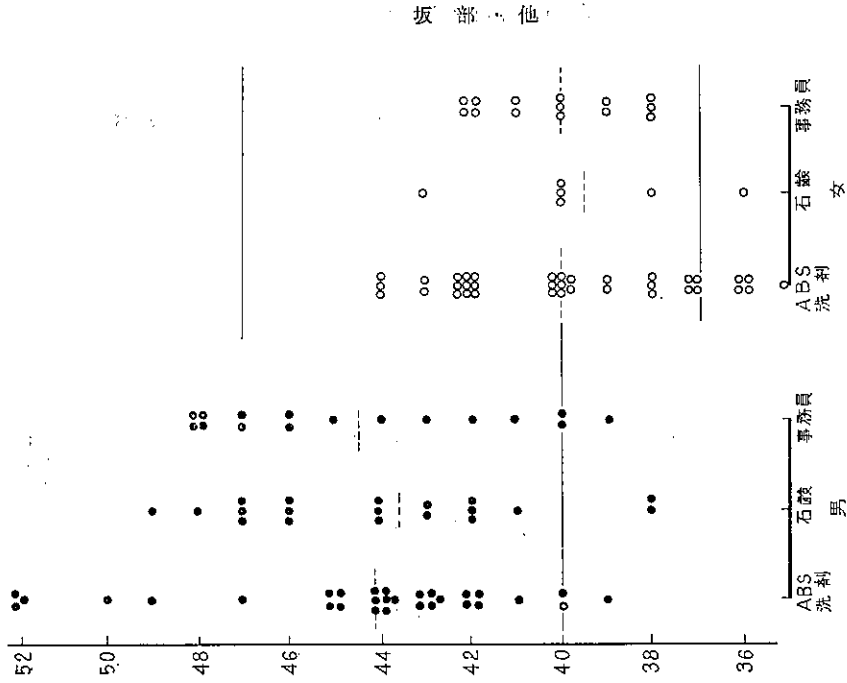
第13図 白血球数



第12図 赤血球数

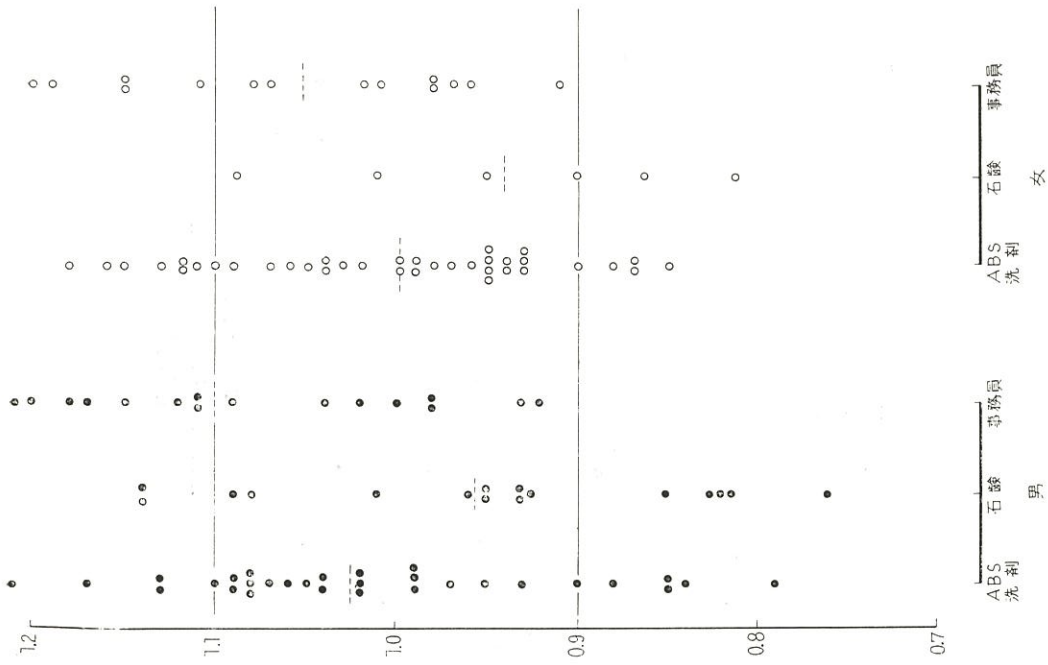


第14図 ヘモグロビン量



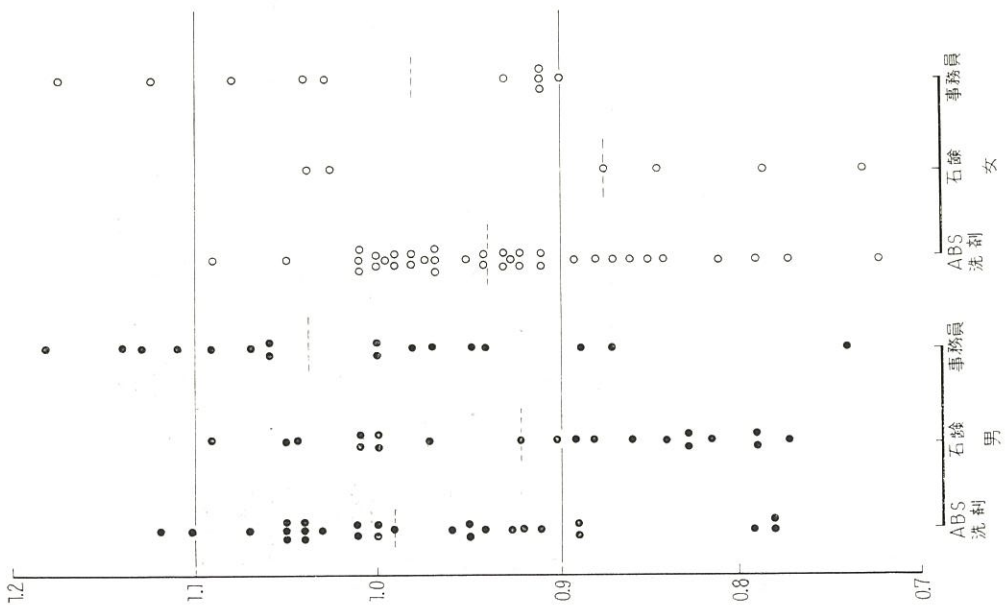
第15図 ヘマトクリット値

ABS 洗剤製造工場調査



正常値: 0.9~1.1 金井: 臨床検査法提要 p. VI-27

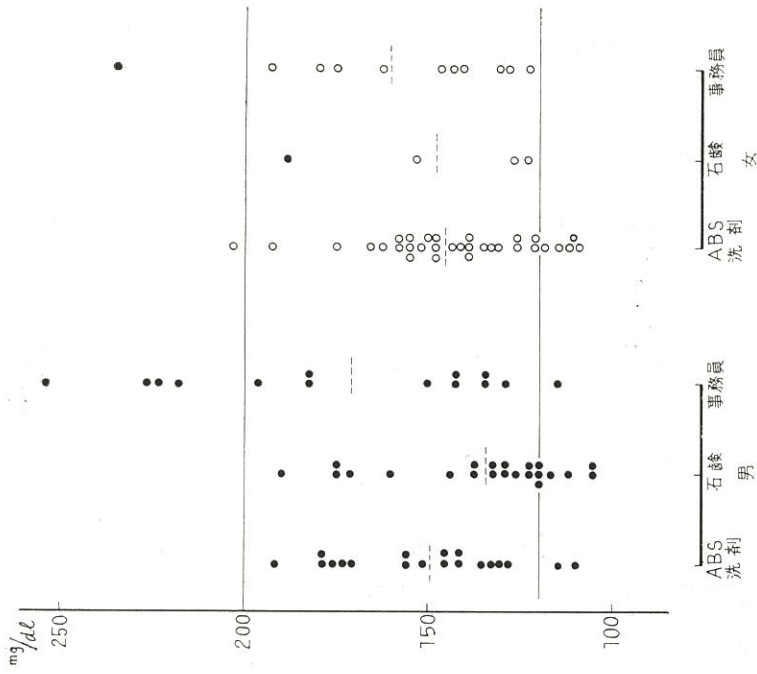
第17図 容積指数



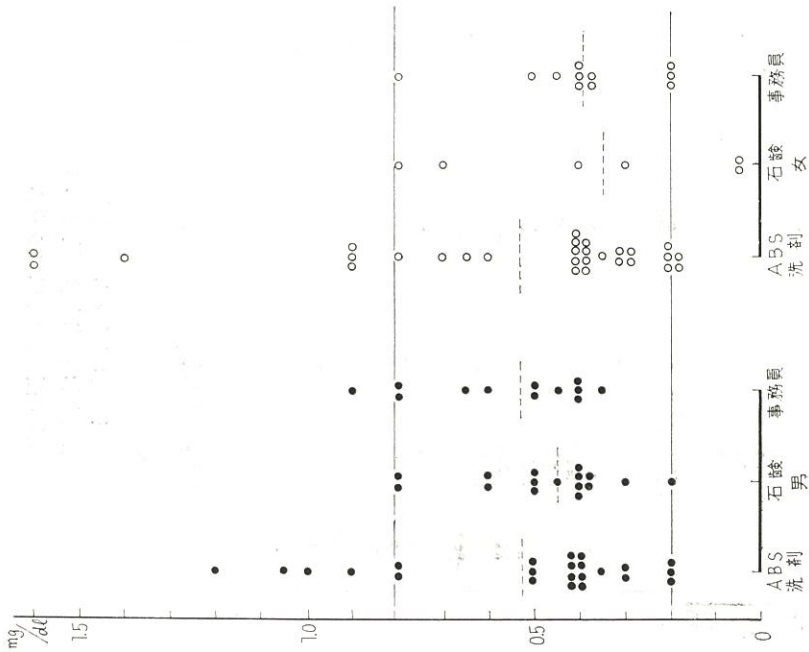
正常値: 0.9~1.1 金井: 臨床検査法提要 p. VI-27

第16図 色素指数

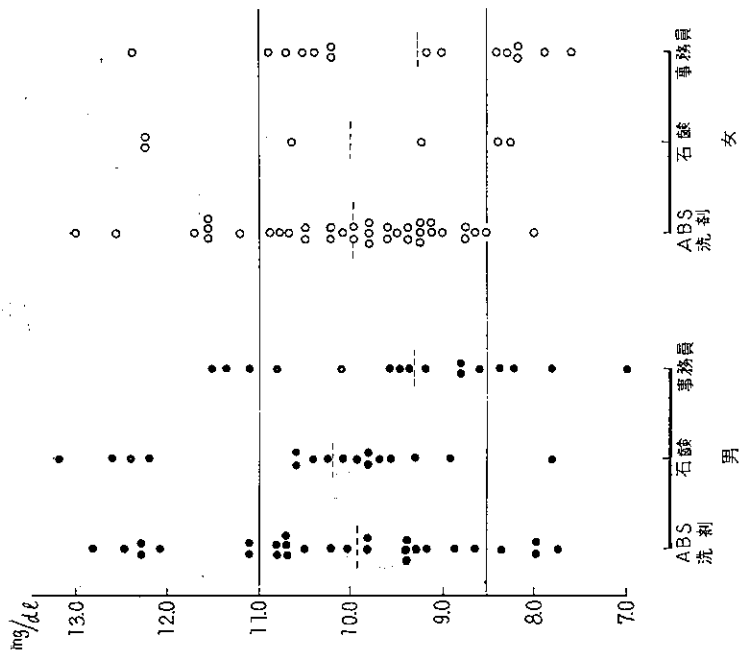
ABS 洗剤製造工場調査



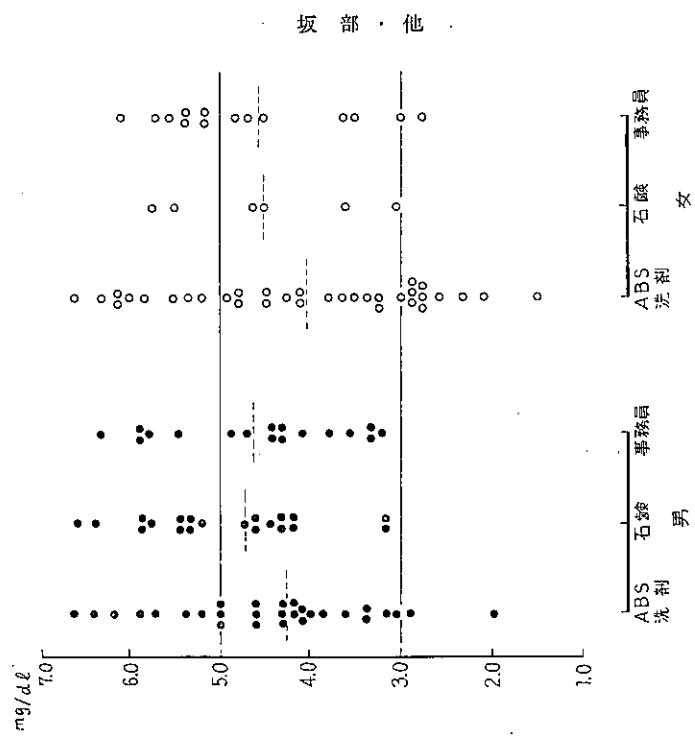
正常値：120~200 mg/dl
柴田，高橋：臨床化学の技術 p. 196
第21図 血漿コレステロール



正常値：0.2~0.8 mg/dl
金井：臨床検査法提要 p. XI-46
第20図 血漿ビリルビン



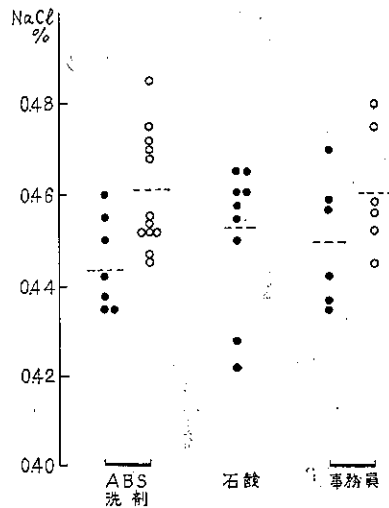
柴田，高橋：臨床化学の技術 P. 248
第22図 血漿総カルシウム



柴田，高橋：臨床化学の技術 P. 248
第23図 血漿遊離性カルシウム

坂部・他

ABS 洗剤製造工場調査



第24図 赤血球抵抗性

群と事務員群との間には有意の差がみられる。

(vii) 血漿蛋白 (第18図)

3群とも大体正常範囲内にあり、それぞれ有意の差は認められなかった。

(viii) A/G 比 (第19図)

各群とも正常値を外れるものが若干あるが、群間に有意の差は認められなかった。

(ix) 血漿ビリルビン (第20図)

各群間に有意差はなかったが、男女とも ABS 洗剤バクロ群に高い値を示すものが若干存在した。

(x) 血漿コレステロール (第21図)

事務職員の分散が大きいですが、各群とも概ね正常範囲内にあり、群間に有意差はない。

(xi) 血漿総カルシウム (第22図)

ABS 並びに石鹼群に比較的高値を示すものが多いが群間に有意差は認められない。

(xii) 血漿透析性カルシウム (第23図)

3群間に有意差はないが女子 ABS 群に低値を示すものが多い傾向がある。

(xiii) 赤血球抵抗性 (第24図)

男女間に差があるように見えるが、各群間に有意の差はない。

以上の血液所見を総括すると ABS 洗剤群が、これら測定項目について群として異常な値を示すとは考えにくい。しかし、若干の項目については推計学上の所謂第2種の過誤について検討を要するかも知れない。

(d) 尿所見

尿については5つの定性試験を行なったが、ビリルビンと潜血反応は全例中1例の陽性者も見られなかった。陽性者の検出出来た蛋白、ウロビリノーゲン、糖反応について、3群に分けてその結果を第15表に示した。

蛋白反応は、疑陽性以上の検出率は ABS 洗剤群 31.8%、石鹼群 32.0%、事務員群 19.9%、

第15表 尿中、蛋白、ウロビリノーゲン、糖の陽性者率(%)

	蛋 白			ウロビリノーゲン			糖		
	人 員	±	+	人 員	±	+	人 員	±	+
ABS従業員	66	15.1	16.7	66	18.2	16.7	56	0	9.1
石鹼従業員	25	20.0	12.0	25	8.0	12.0	21	0	0
事務員	33	5.7	14.2	33	8.6	11.4	31	0	3.0

であり、これら検出率の間に有意の差は見られない。

ウロビリノーゲン反応は疑陽性以上の検出率はABS洗剤群34.9%、石鹼群20.0%、事務員群20%で、ABS洗剤群がやや高率を示すことは注目される。しかし5%では有意差は見られない。糖反応でABS洗剤群に9.1%の陽性率が見出された。

尿中ABS排泄量の測定は、被検者の午前10~11時の間の排泄尿の5ccをとり、水中ABS定量法に用いられるメチレンブルー法に準拠して定量分析を行なった。結果は第16表に示した。ABS洗剤群の半数では尿中ABSは確認されなかった。問題なのは、ABS洗剤を取り扱っていない労働者の尿中にABSを排出するものが約30%見出されたことである。ABS洗剤製造と石鹼製造がしばしば同一建物内で行なわれ、ABS洗剤の粉末の飛散が考えられると共に、洗剤が手近かにあるということは、何かの機会に体内侵入をゆるすものと考えられる。しかしこれはメチレンブルー法で定量されるものをすべてABSと考えてのことで、尿中に出現するかも知れぬABS以外のメチレンブルー法陽性物質、又は反応の阻害物質についての厳密な検討を行っていないことを注意しておきたい。

第16表 尿中ABS排出量

ABS量 μg/ml	ABS洗剤群		非ABS洗剤群	
	実数	%	実数	%
0	30	50.0	39	70.9
—1	1	1.7	4	7.3
1—	7	11.6	3	5.5
2—	6	10.0	5	9.1
3—	4	6.7	2	3.6
4—	4	6.7		
5—	2	3.3		
6—	3	5.0		
7—				
8—			1	1.8
9—	2	3.3		
10	1	1.0	1	1.8
計	60	100.0	55	100.0

5. 考 察

(a) 個々の測定項目については以上のように5%の危険率で有意差を考慮する時は、ABS洗剤といわば対照群として選んだ事務員群間に差は見られなかった。しかし、若干の測定項目につ

ABS 洗剤製造工場調査

いては相違の傾向があるのではないかと考えられるような点もあるので、ABS洗剤群と事務員群との差を、色素指数、容積指数、透析性Ca、ビリルビン、及びコレステロールの5項目について総合的にしらべるため判別函数法により、有意差を検討した。

今 x_1 = 色素指数

x_2 = 容積指数

x_3 = 透析性 Ca

x_4 = ビリルビン

x_5 = コレステロール

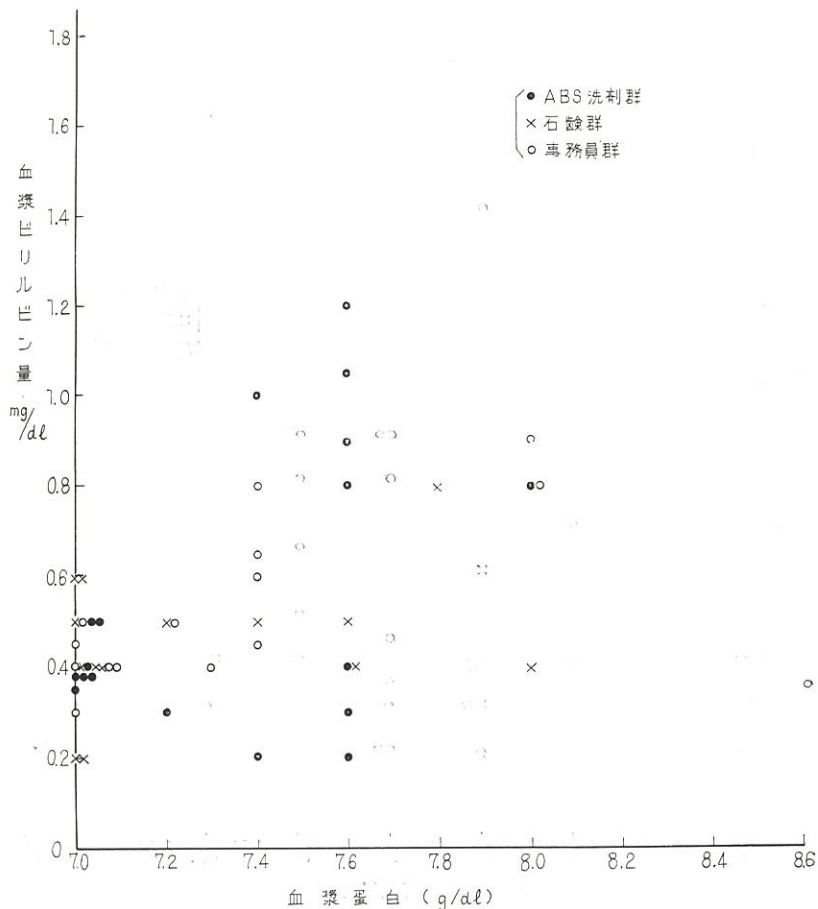
とすると、ABS洗剤群と事務員群の女子での判別式は

$$z = 0.249414 x_1 - 0.00375 x_2 + 0.003369 x_3 - 0.02265 x_4 + 0.0009429 x_5$$

となり、両群間の有意性は、

$$F_0 = 1.6045 \quad (\text{ABS洗剤群 } 28 \text{ 例, 事務員群 } 11 \text{ 例})$$

次に、ABS洗剤群と事務員群の男子での判別式は、



第25図(1) 血漿蛋白量とビリルビン量との関係 (男子)

$$z=0.068242 x_1-0.342210 x_2+0.016532 x_3-0.021457 x_4+0.001111 x_5$$

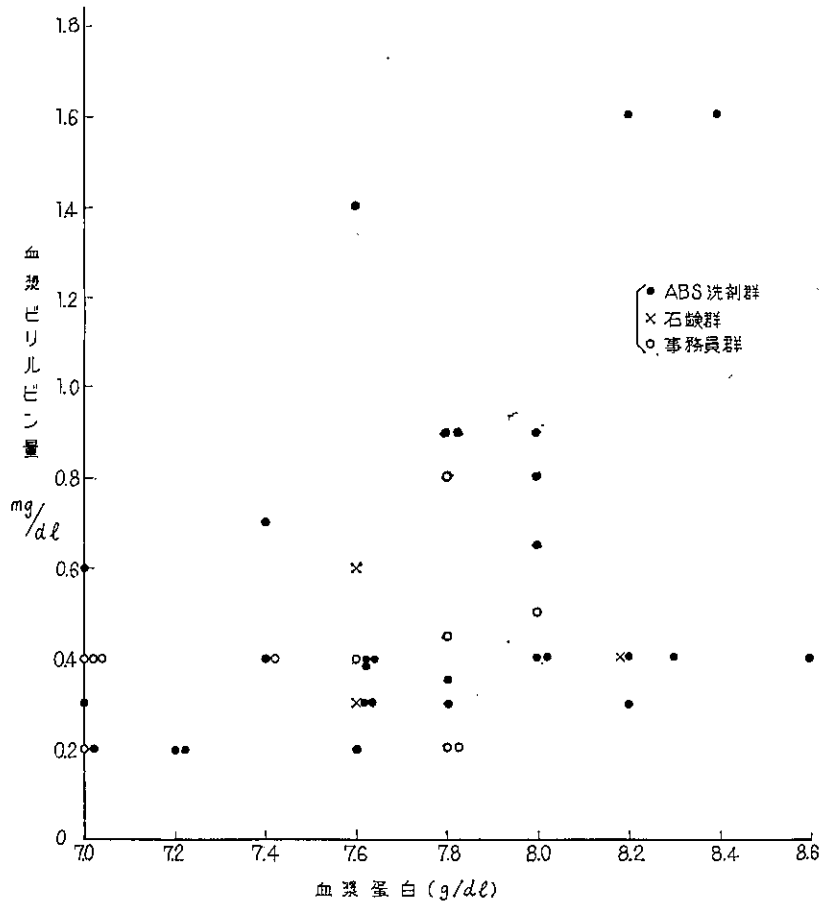
となり、両群間の有意性は

$$F_0=1.0385 \quad (\text{ABS洗剤群 } 18 \text{ 例, 事務員群 } 12 \text{ 例})$$

となる。

即ち両群間に男子では有意の差は認められないが、女子では危険率を 15% にとれば有意の差が認められるのである。

(b) ABS の生体に及ぼす作用は、既に実験的研究において、例えば体重に及ぼす変化等から推してその作用が一過性である場合もありうるのではないかと考えられることと、組織又は生体内濃度がある程度以上になると急激にその影響があらわれる可能性も考えられるので、以上のように、ABS 洗剤パクロ者を一つの集団として観察すると共に、個々の労働者についてその所見を検討し、集団を層別化して観察する必要もあるのではないかと思う。そこで若干の測定項目について、それぞれの平均値から距った値を示した者について考察を加えてみよう。第 17 表はそのための個人表で、二重線で囲った項目について平均から距った値を示した者の他の測定項目を



第 25 図 (2) 血漿蛋白量とビリルビン量との関係 (女子)

示したものである。

i) 血漿ビリルビン

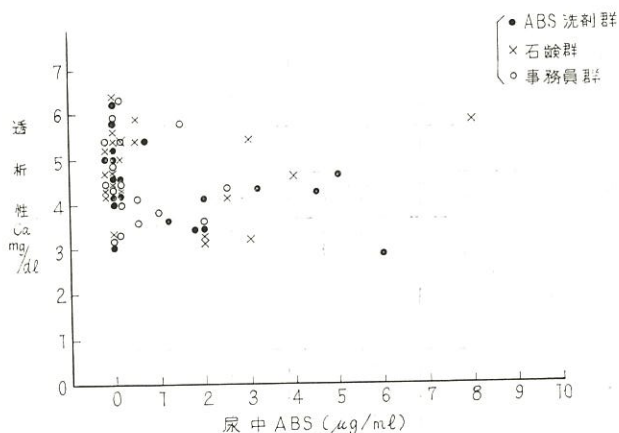
男女共ビリルビン量 0.8 mg/dl 以上を示したものについてであるが、これらの労働者は同時に血漿蛋白量がすべて平均より高い値を示していることが判る。この原因が蛋白計の測定方法に由来するものかより本質的なものか、即ちABSによるものかどうか等は不明である。そこで両者の関連をみると第25図(1)(2)のようで、一般には関連はないが異常に高いビリルビン量を示すものでは検討の余地が残されるかも知れない。

ii) A/G 比

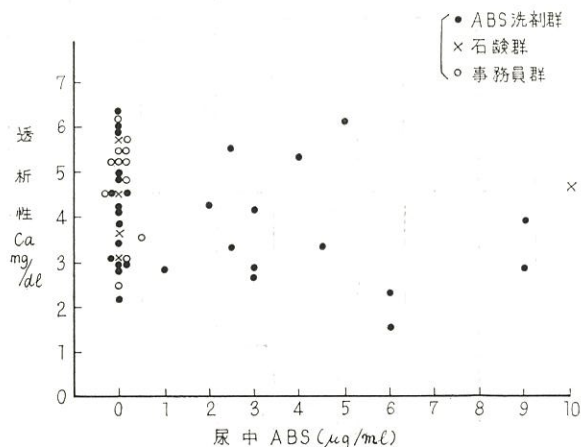
A/G 比の比較的高い値を示した者では尿中 ABS 量が多いように見える。しかし事務員ではみられない。

iii) 色素指数, 容積指数

色素指数の減少しているものでは容積指数も減少している。逆も成立している。



第26図(1) 尿中 ABS と血漿中透析性 Ca との関連 (男子)



第26図(2) 尿中 ABS 量と血漿中透析性 Ca 量との関連 (女子)

第17表 若干の測定項目について平均より

項目		赤血球	白血球	Ht	Hb	血漿蛋白	A/G
群							
男	A B S 平均	489	5,554	44.2	15.4	7.3	1.38
	A B S	478	5,500	44	14.1	7.4	1.5
		549	4,100	49	15.5	7.6	1.33
		512	5,500	45	15.4	7.7	1.37
		484	6,200	47	16.3	8.0	1.28
		440	4,900	42	14.1	7.6	1.58
	554	4,700	52	16.9	7.6	1.52	
	A B S	519	6,800	50	17.1	7.6	1.98
		492	6,600	44	15.9	7.2	1.82
	A B S	489	6,900	45	15.6	7.2	1.82
572		4,600	44	14.4	7.0	1.45	
子	A B S	549	4,100	49	15.5	7.6	1.33
		531	6,000	43	15.1	7.1	1.53
	事務員	557	5,800	42	14.0	7.0	1.64
		601	6,900	43	15.3	7.6	1.53
	A B S	572	4,600	44	14.4	7.0	1.45
		531	6,000	43	15.1	7.1	1.53
	事務員	601	6,900	43	15.3	7.6	1.53
	A B S	488	5,100	39	14.1	7.2	1.20
	石 鹼	463	5,500	42	14.8	6.8	1.03
	女	A B S 平均	446	6,130	39.9	13.2	7.6
A B S		526	7,100	44	14.5	8.2	欠
		412	6,000	42	12.0	8.4	欠
		470	8,400	42	14.6	7.6	1.50
		491	4,200	42	15.2	8.0	1.78
		401	5,800	37	12.7	7.8	1.14
374		9,700	37	12.0	7.8	欠	
A B S		428	7,500	39	12.9	7.6	1.83
		420	6,300	36	12.7	7.4	1.83
A B S		491	4,200	42	15.2	8.0	1.98
	事務員	361	3,600	39	13.0	6.8	1.82
430		5,700	38	12.0	7.0	1.90	
376		6,200	38	12.0	8.0	1.98	
子	A B S	431	5,100	34	10.0	7.4	1.13
		517	7,200	44	14.4	8.0	1.28
		489	6,600	39	13.2	7.6	1.25
		522	7,600	40	13.2	8.0	1.56
		514	4,900	40	14.0	7.0	1.33
		522	5,300	40	12.9	7.6	1.47
		485	4,200	38	12.5	7.2	1.66
		444	6,100	36	12.5	7.0	1.61
	A B S	431	5,100	34	10.0	7.4	1.13
		517	7,200	44	14.4	8.0	1.28
489		6,600	39	13.2	7.6	1.25	
522		7,600	40	13.2	8.0	1.56	
A B S	526	7,100	44	14.5	8.2	欠	
	522	5,300	40	12.9	7.6	1.47	
	485	4,200	38	12.5	7.2	1.66	
	444	6,100	36	12.5	7.0	1.61	
A B S	436	5,400	38	12.7	7.1	1.33	
	336	6,600	36	10.5	7.4	1.12	
	444	6,100	36	12.5	7.0	1.51	
	469	4,300	40	13.9	7.3	1.61	
石 鹼	412	3,200	40	13.7	7.9	1.35	

ABS 洗剤製造工場調査

距った値を示した者の個人表

コレステロール	ビリルビン	総 Ca	透析性 Ca	色素指数	容積指数	ウロビリノーゲン	尿中 ABS
150	0.56	9.96	4.25	0.99	1.03		
132	1.0	12.1	6.5	0.92	1.02	—	—
141	1.2	10.8	4.1	0.89	0.99	—	—
146	1.05	12.5	5.0	0.94	0.97	—	—
142	0.8	10.2	4.6	1.05	1.08	—	—
114	0.9	8.4	4.0	1.00	1.06	±	—
156	0.8	10.8	4.1	0.95	1.04	+	2
176	0.2	11.1	4.25	1.03	1.09	±	4.5
欠	0.3	11.0	3.5	1.01	0.99	—	4.0
134	0.3	9.4	3.4	1.00	1.02	—	1.8
172	0.4	12.3	5.75	0.78	0.85	—	—
141	1.2	10.8	4.1	0.89	0.99	—	—
欠		9.25	3.05	0.89	0.90	±	欠
120	0.4	10.7	5.9	0.88	0.84	—	0.5
120	0.5	9.8	5.0	0.79	0.89	—	—
172	0.4	12.3	5.75	0.78	0.85	—	—
欠	欠	9.25	3.05	0.91	0.88	±	欠
120	0.5	9.8	5.0	0.79	0.89	—	—
欠	欠	8.8	2.8	0.91	0.88	—	6
欠	欠	8.2	5.8	1.00	1.00	+	8
144	0.56	10.05	4.01	0.93	1.00		
148	1.6	8.7	3.8	0.86	0.93	—	—
166	1.62	9.5	5.5	0.91	1.13	—	2.5
131	1.4	9.4	3.0	0.97	0.99	—	欠
138	0.9	10.5	2.1	0.97	0.95	+	—
148	0.9	11.6	5.8	0.99	1.02	±	—
152	0.9	10.1	6.1	1.01	1.09	—	欠
159	0.2	10.1	4.25	0.94	1.00	—	2.6
149	0.7	9.8	3.35	0.94	0.95	+	4.5
138	0.9	10.5	2.1	0.97	0.95	+	—
184	0.4	9.0	5.4	1.13	1.20	—	—
175	0.4	7.6	3.6	0.87	0.98	+	欠
136	0.8	12.4	5.4	0.74	0.92	—	—
156	0.4	11.6	5.30	0.72	0.87	±	4.0
193	0.4	欠	欠	0.87	0.94	—	2.0
204	0.4	11.2	3.65	0.84	0.88	±	欠
156	0.65	8.7	4.8	0.79	0.85	—	欠
109	欠	11.6	4.5	0.85	1.15	—	—
112	0.3	9.6	4.8	0.77	0.85	—	—
欠	欠	9.6	2.8	0.81	0.87	±	—
欠	欠	8.5	3.9	0.88	0.90	±	9
156	0.4	11.6	5.30	0.72	0.87	±	4.0
193	0.4	欠	欠	0.87	0.94	—	2.0
204	0.4	11.2	3.65	0.84	0.88	±	欠
156	0.65	8.7	4.8	0.79	0.85	—	欠
148	1.6	8.7	3.8	0.93	0.86	—	—
112	0.3	7.6	4.8	0.77	0.85	—	—
欠	欠	9.6	2.8	0.81	0.87	±	—
144	0.2	8.0	1.5	0.91	0.97	+	6
欠	欠	9.3	2.8	0.98	1.18	±	6
欠	欠	8.5	3.9	0.88	0.90	±	9
欠	欠	9.0	2.8	0.92	0.95	—	9
欠	欠	8.2	4.6	1.04	1.07	+	10

iv) 尿中ABS排出量

尿中ABS排出量の多いものでは、血漿総カルシウム量及び透析性Ca量の減少を思わすものがあり、殊に透析性Caの減少を示唆する。しかし石鹼群では2例のみではあるが透析性Caの変化は見られない。体内に侵入したABSの排出が比較的早いものであるならば、大量にABSが摂取された時は一過性に血中透析性Ca量に影響を与えるようになる可能性が考えられるので、両者の関連をしらべてみた。結果は第26図(1)(2)にみるように、両者の間にはっきりした相関は認められなかった。

6. 結 論

§3に述べた東京都下に散在するABS洗剤の製造並びに包装工場に働く従業員124名についてこれをABS洗剤群、石鹼群、事務員群の3つに分けて健康調査を行なった。

ABS洗剤の労働者の健康に及ぼす影響として判ったことは、

(a) 粘膜に対する刺激症状が可成りつよいこと。

(b) 高い頻度で皮膚障害が見られること、これはABS洗剤粉末が汗、又は湿潤した皮膚表面で溶解され、一時貯溜して生じる急性接触皮膚炎型のものと考えられる。

(c) 血液については赤血球数、白血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量、血漿蛋白、A/G比、血漿コレステロール量、ビリルビン量、総カルシウム量、透析性カルシウム量等について測定し、色素指数、容積指数について検討を加えたが、ABS洗剤のこれら個々の測定値に及ぼす顕著な影響はみられなかった。

(d) 尿検査ではウロビリノーゲン陽性率がやや高く、又糖反応陽性者率の高いことが注目された等である。

§5. 綜 合 考 察

1. 従来ABS生体作用として知られていることは、蛋白変性作用、溶血作用、血中電解質の変動、及び消化酵素に対する阻害等であるが、人体に対する影響についてはなお明らかでない。従ってわれわれはABSの人体に及ぼす影響をしらべるに先立って、若干の基礎的な実験を行ない、ABSの強い溶血作用を確認し、更にA/G比、血漿コレステロール量、並びに赤血球抵抗性に変化が見られるかも知れないという知見を得たので、従来論議されて来た電解質及びウロビリノーゲン等の検査、並びに一般検診項目にこれらを加えてABSにバクロする労働者の健康診断を行なったわけである。その結果、われわれは測定した項目の個々のものについては、推計学的に有意差の認められる程の顕著な変化を見出すことは出来なかった。

しかしABS洗剤にバクロした労働者群において、(a) 女子でHt値の低い値を示すものが僅かに存在する。(b) 女子で色素指数の低い値を示すものが可成り存在する。(c) 男女共血漿ビリルビンに高い値を示すものが若干存在する。(d) 女子で血漿透析性カルシウム量の低い値を示すものが若干存在する。(e) 尿中ウロビリノーゲン陽性者検出率がやや高い。(f) 尿中糖陽性者検出率がやや高い。(g) 色素指数、容積指数、透析性カルシウム、ビリルビン、コレステロールについて判別函数法により検定すると事務員群との間に男子では差はないが、女子では15%の危険率で有意の差が見られた。

以上の結果をどのように評価するかであるが、一応、所謂 subclinical にはABSにバクロした女子群は事務員群に比し、極めて僅かではあるが、偏った状態にあるのではないかというこ

ABS 洗剤製造工場調査

とが考えられるかも知れぬ。しかしこの偏りがABSによりひきおこされたものであるかどうかは不明である。何となれば判別函数による検定に影響力をもったであろうと考えられる色素指数についてみれば §2 における実験では、例数が余りに少いので問題はあがるが、ABS 投与により家兎の色素指数には変化は見られていない。一方、石けんにバクロした女子群で色素指数は顕著な減少を示している。前に述べたように小規模経営では労働者は石けん粉末の影響をうける可能性も考えられ、ABS 洗剤バクロ女子群のきわめて僅かな偏りをABSによるものとするにはなお検討を要するものと思う。

2. 以上はABSにバクロした労働者を一つの群として考察したわけであるが、ABSの生体作用に単にその量に対して比例的というのでなく閾値的なものが考えられる可能性が動物実験その他から否定出来ないので、ABSによりひきおこされた極めて少数の異常者が見落される場合もあるかと思う。このことを考慮して若干の測定項目について、平均値から著しく距った値を示したのものについて出来るだけの考察は加えたが新たにつけ加えるだけの知見は得られなかった。

3. ABSの体内侵入量と健康状態との関連は重要な問題である。体内侵入量は相当な期間観察しないと正確なことは掴めない。この点、本調査はそれぞれの作業場のある一時点の調査であり、労働者の長期にわたる吸入をこの資料から算出しても、信頼度の高いものは得られないであろう。しかも調査が工場側の発じんに対するある程度の注意のもとに行なわれたことも否めない。こうした種々のマイナス面を考慮に入れた上で、調査結果を検討する必要があるが、それにしても大まかな見当はつけうるように思う。

即ち防じんマスクを着用しない労働者群の1日平均ABS体内侵入量は30mgより少くはなかったであろうと思う。

4. 労働衛生の立場からはABSの粘膜刺激性及び皮膚障害を考慮して環気中ABS濃度は出来るだけ下げよう努力すべきかと思う。

§6. 結 語

昭和37年4月衆議院科学技術振興特別委員会で中性洗剤問題が論議され、科学技術庁振興局よりの要請によりABS洗剤製造工場8個所においてABS洗剤粉末にバクロする労働者66名、及び対照労働者58名の健康診断を行なった。調査の結果判明したことはABS洗剤の主要な影響は粘膜の刺激症状と皮膚障害であり、顕著な全身的健康障害は見られなかった。同時にこれら労働者の作業個所における環気中ABS濃度は平均1.5mg/m³であった。

労働省労働衛生研究所研究報告

第 八 号

昭 和 3 7 年

内 容 目 次

ニトログリコール中毒の実験的研究

——筋肉系に対するニトログリコールの影響について……………

……………長谷川弘道 佐藤 光男…(1)

某ダイナマイト製造工場のニトログリコール中毒調査

(第2報)……………長谷川弘道 佐藤 光男 吉川 博

坂部 弘之 山口 正義 堀田 克稔…(10)

ABS 洗剤製造工場の環境並びに従業員の健康状態について……………

坂部 弘之 吉川 博 河合 清之

安川美恵子 加藤 静江 長谷川弘道

佐藤 光男 左右田礼典 原 登

松下 秀鶴 林 久人 鈴木 康友

島津 正司 大島 茂 安西 喬…(21)

Bulletin
of
The National Institute of Industrial Health

CONTENTS

H. HASEGAWA AND M. SATO: Experimental Study on Nitroglycol Poisoning in Rabbit. Effect of Nitroglycol upon Muscular Contraction.
.....(1)

H. HASEGAWA, M. SATO, H. YOSHIKAWA, H. SAKABE, M. YAMAGUCHI AND K. HOTTA: Nitroglycol Poisoning in an Explosives Plant. (II)
.....(10)

H. SAKABE, H. YOSHIKAWA, K. KAWAI, M. YASUKAWA, S. KATO, H. HASEGAWA, M. SATO, R. SODA, N. HARA, H. MATSUSHITA, H. HAYASHI, Y. SUZUKI, M. SHIMAZU, S. OSHIMA AND T. ANZAI:
Health Examination of Workers Exposed to Synthetic Detergent Dusts.
.....(21)