

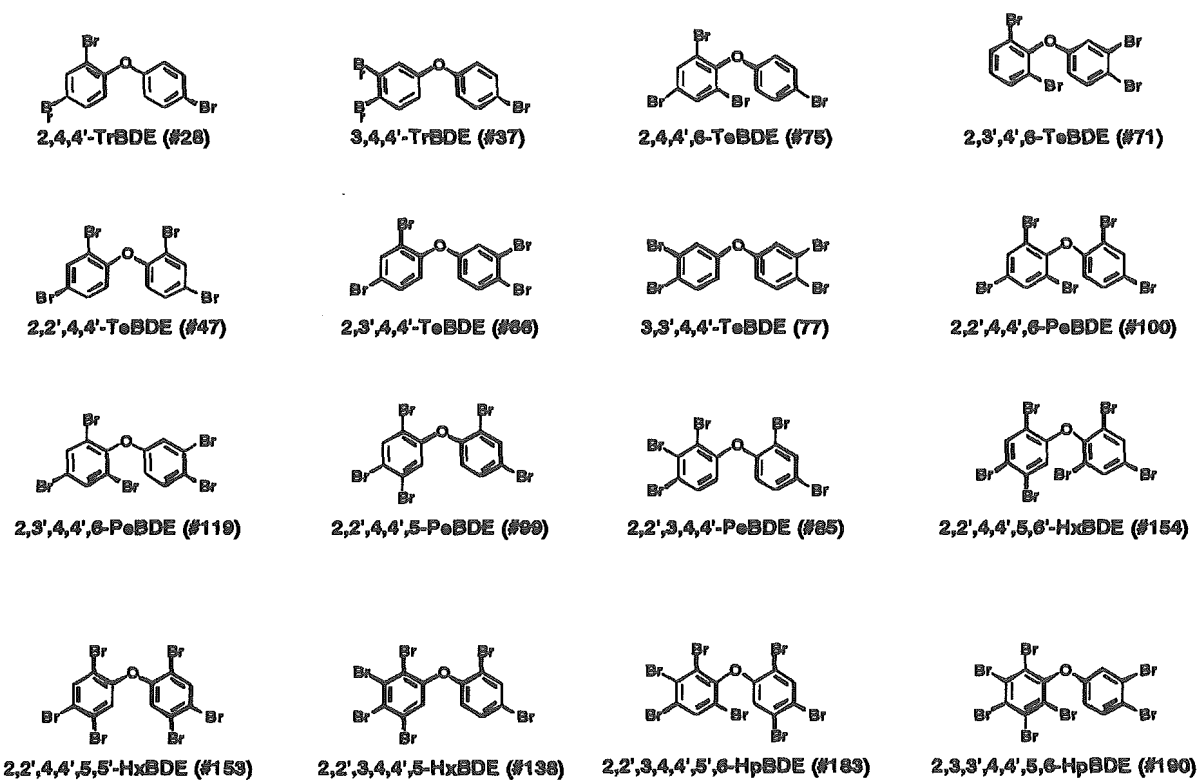


図1 GC/HRMS測定を行った 16種類の PBDEsの構造式

表1 添加回収実験結果 (n=5)

	異性体	平均回収率	RSD
TrBDEs	#28	109	4.9
	#37	118	1.8
TeBDEs	#75	94	5.1
	#71	95	4.2
	#47	106	7.4
	#66	114	6.2
	#77	80	5.1
	#100	99	7.3
PeBDEs	#119	89	9.1
	#99	103	7.7
	#85	96	5.8
	#154	100	1.6
HxBDEs	#153	88	9.2
	#138	97	4.7
	#183	89	4.4
HpBDEs	#190	83	4.8
	(平均)	(97)	(5.6)

対象試料：母乳抽出脂肪

添加濃度：脂肪あたり各 1ppb

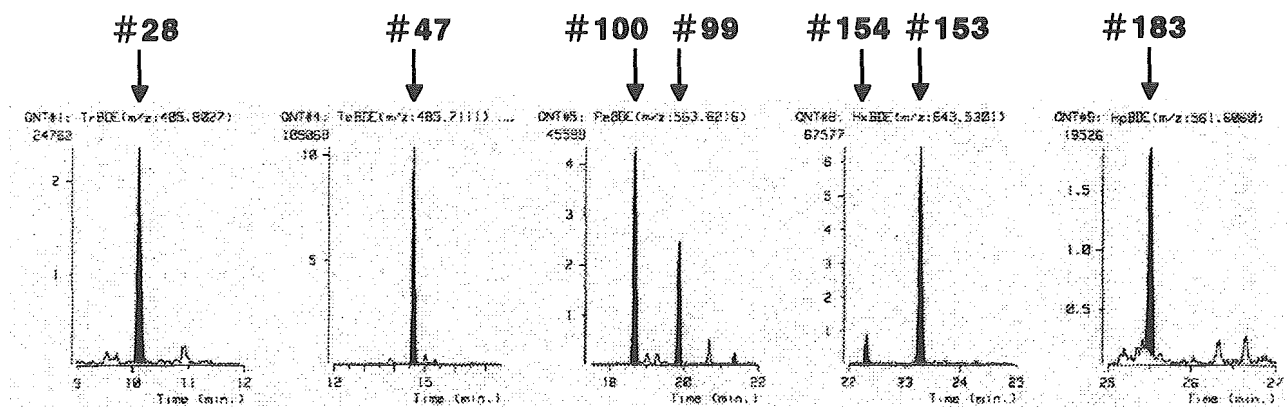


図3 母乳試料 のクロマトグラム (東海大 No. 20)

表2 母乳中のPBDEs濃度（脂肪あたり，ppb）

	化合物	東海大20	東海大21	東海大22	東海大25	東海大27	東海大30	東海大38	東海大43	東海大45
3臭素化体	#28	0.09	0.30	0.28	0.03	0.14	0.18	0.05	0.23	0.12
	#37	ND	0.04	0.02	ND	0.02	0.02	ND	0.03	ND
4臭素化体	#75	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	#71	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	#47	0.57	0.37	2.15	0.30	0.52	0.82	0.20	2.25	0.58
	#66	0.02	ND	0.02	ND	0.01	0.06	ND	0.04	ND
5臭素化体	#77	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	#100	0.17	0.11	0.28	0.08	0.10	0.21	0.05	0.38	0.10
	#119	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	#99	0.16	0.12	0.39	0.14	0.11	0.23	0.06	0.45	0.11
6臭素化体	#85	0.01	ND	0.03	ND	ND	ND	ND	0.05	ND
	#154	0.03	0.02	0.03	0.02	0.02	0.06	0.01	0.06	0.02
	#153	0.43	0.31	0.27	0.17	0.35	0.26	0.16	0.40	0.14
	#138	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
7臭素化体	#183	0.09	0.09	0.04	0.04	0.06	0.08	0.03	0.08	0.03
	#190	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
計		1.59	1.35	3.51	0.80	1.33	1.90	0.57	3.95	1.10

	化合物	岡山M	岡山O	岡山S
3臭素化体	#28	0.22	0.14	0.03
	#37	ND	0.01	ND
4臭素化体	#75	ND	ND	ND
	#71	ND	ND	ND
	#47	1.11	1.06	0.27
	#66	0.02	0.05	ND
5臭素化体	#77	ND	ND	ND
	#100	0.12	0.21	0.07
	#119	ND	ND	ND
	#99	0.14	0.55	0.08
6臭素化体	#85	ND	0.04	ND
	#154	0.03	0.07	0.02
	#153	0.28	0.33	0.24
	#138	ND	0.02	ND
7臭素化体	#183	0.03	0.05	0.02
	#190	ND	ND	ND
計		1.96	2.52	0.73

	化合物	東海大39
3臭素化体	#28	37.68
	#37	1.10
4臭素化体	#75	0.49
	#71	ND
	#47	186.49
	#66	3.24
5臭素化体	#77	0.11
	#100	27.23
	#119	ND
	#99	21.13
6臭素化体	#85	2.05
	#154	1.33
	#153	10.22
	#138	0.22
7臭素化体	#183	0.08
	#190	ND
計		291.4

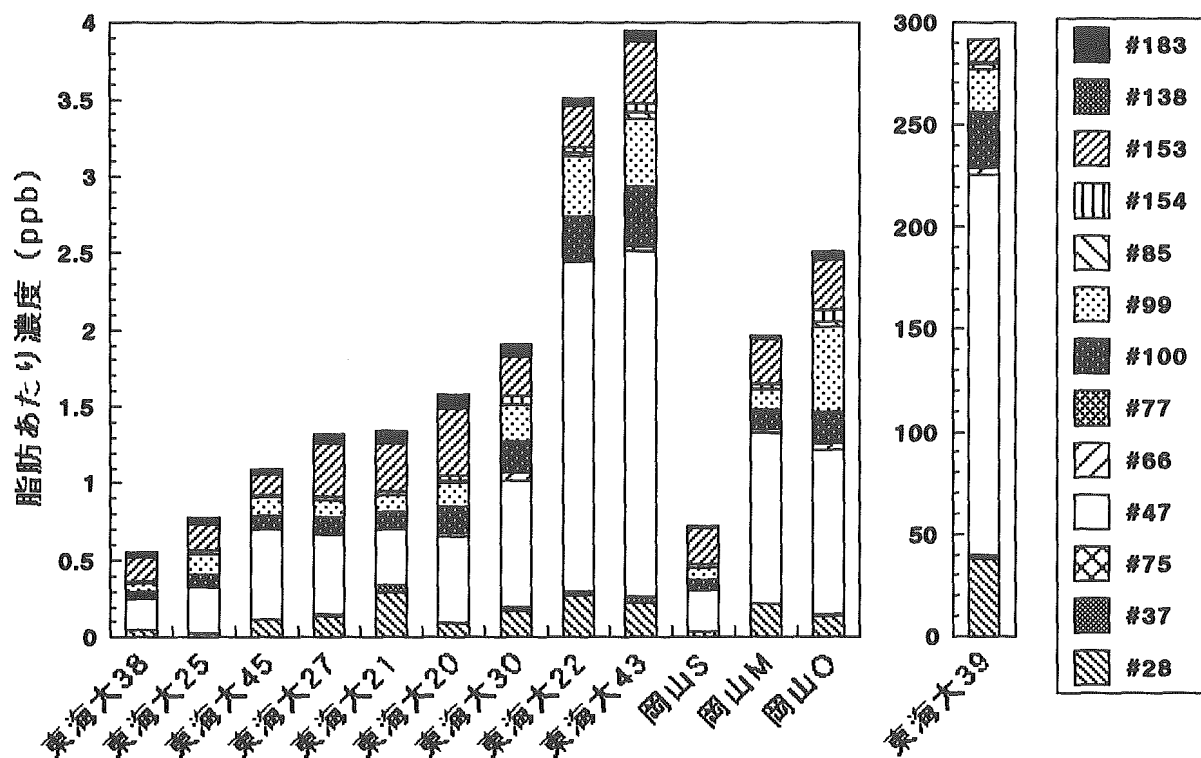


図4 母乳中 PBDEs濃度の比較

平成11年度に東海大学医学部付属病院および岡山県で採取された母乳の分析結果

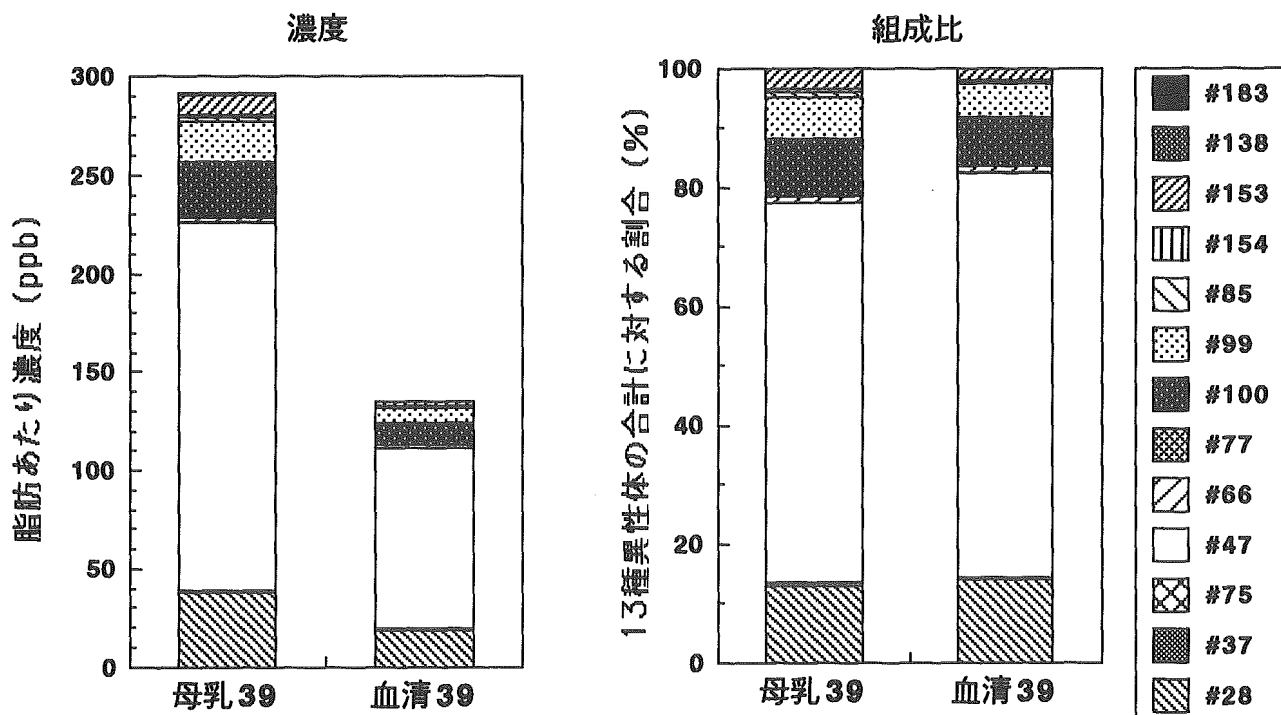
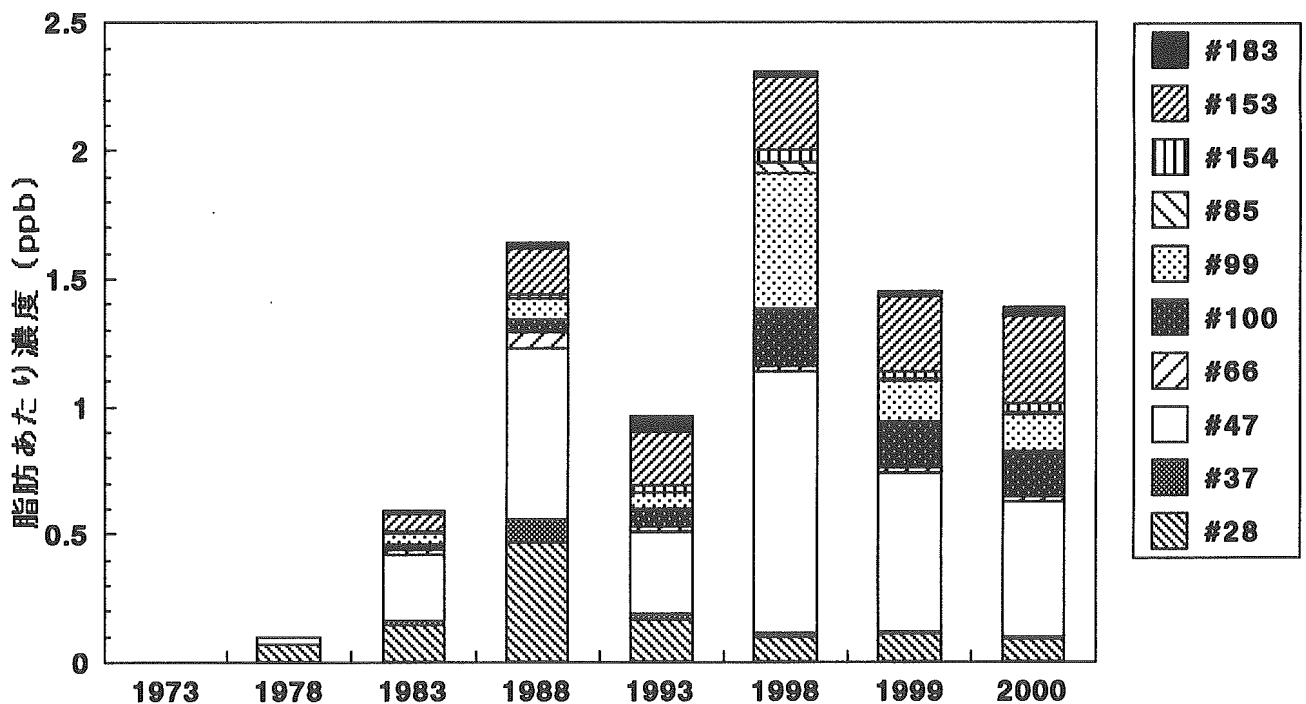


図5 東海大39の母乳・血清中 PBDEs濃度および異性体組成比の比較

表3 母乳中PBDEs濃度の経年変化（大阪府）

	化合物	脂肪当たり濃度（ppb）							
		1973年	1978年	1983年	1988年	1993年	1998年	1999年	2000年
3臭素化体	#28	ND	0.07	0.15	0.47	0.17	0.10	0.11	0.09
	#37	ND	ND	0.01	0.09	0.02	0.01	0.01	0.01
4臭素化体	#47	ND	0.03	0.26	0.67	0.32	1.03	0.62	0.53
	#66	ND	ND	0.02	0.06	0.02	0.02	0.02	0.02
5臭素化体	#100	ND	ND	0.02	0.05	0.07	0.22	0.18	0.17
	#99	ND	ND	0.04	0.08	0.06	0.53	0.16	0.15
6臭素化体	#85	ND	ND	ND	ND	ND	0.04	0.01	0.01
	#154	ND	ND	0.01	0.02	0.03	0.05	0.03	0.03
	#153	ND	ND	0.07	0.18	0.21	0.29	0.29	0.34
7臭素化体	#183	ND	ND	0.01	0.02	0.06	0.02	0.02	0.04
計		ND	0.10	0.59	1.64	0.97	2.32	1.46	1.40

BDE-71, 75, 77, 119, 138, 190 は全ての年度でND (<0.01ppb)



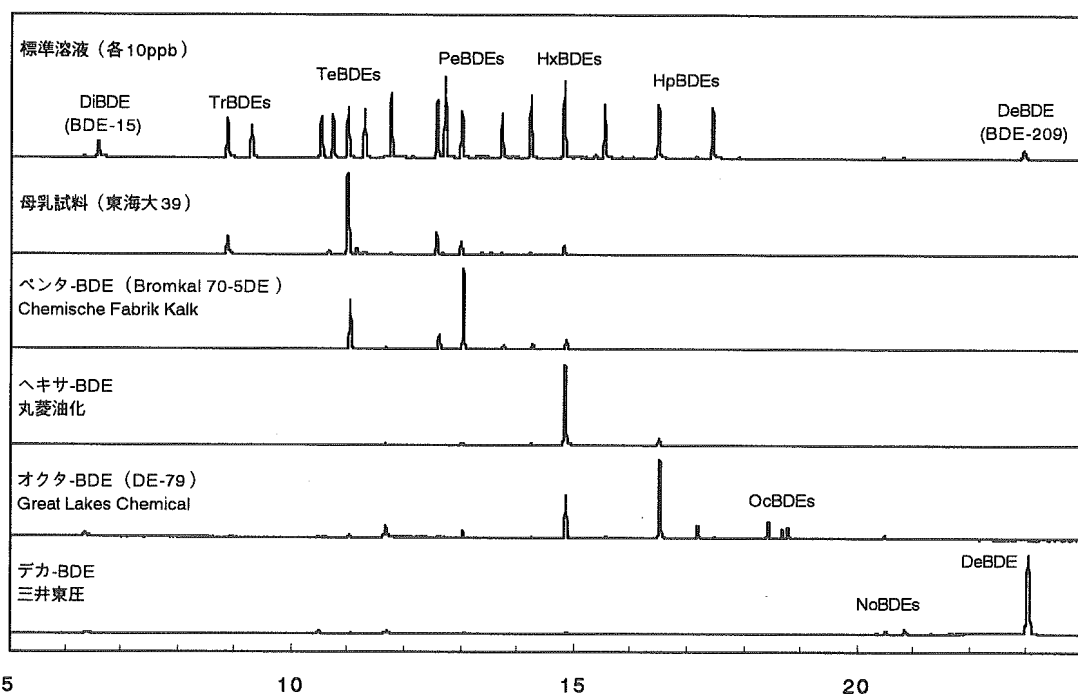


図7 PBDEs標準溶液，母乳試料および工業原体のクロマトグラム（負化学イオン化法）
 カラムおよび昇温条件：DB-1 (15m × 0.25mmID 膜厚0.25 μm)，140°C(2min)-10 °C/min ↑ -325°C(3.5min)

分担研究報告書

内分泌かく乱化学物質に関する生体試料（さい帯血等）分析法の開発とその実試料分析
結果に基づくヒト健康影響についての研究

母乳中ビスフェノール A の高感度 HPLC-蛍光定量法の開発とその胎児・乳児暴露量の総
合評価への適用

主任研究者：牧野恒久（東海大学）

分担研究者：中澤裕之（星薬科大学）

研究協力者：中島憲一郎（長崎大学）

黒田直敬（長崎大学）

研究要旨

乳試料中ビスフェノール A (BPA) の高感度定量法の開発を行った。BPA の蛍光標識には DIB-Cl を使用し、カラムスイッチング HPLC-蛍光検出法による分離・検出を行った。前処理法として前年度までに確立した液-液抽出法を用いて市販乳製品中 BPA を定量した。一方、母乳試料に関しては、蛍光標識反応を阻害する成分の存在が示唆されたことから、新たな前処理法を検討した。確立した前処理法を用いて母乳試料中 BPA の濃度を明らかにした。

A. 研究目的

研究協力者らはこれまでに、内分泌かく乱作用が疑われているビスフェノール A (BPA) の高感度定量法としてカラムスイッチング HPLC-蛍光検出法を開発し、同一妊婦より得られた母体血液及び臍帯血中の BPA 定量を行い、胎児暴露の実態調査のためのデータの採取を行ってきた。本研究では、この分析法を用いて市販乳製品中 BPA を定量するとともに、母乳試料のための新たな前処理法を確立し、母乳中 BPA 濃度の測定を行った。

B. 研究方法

B. 1 試料の前処理

市販乳製品中の BPA 定量には、前年度報告までにしたクロロホルムによる液-液抽出法をそのまま適用した。すなわち

試料 100 μ l を 0.2 M 塩酸 100 μ l で酸性としたのちクロロホルム 1.0 ml を用いて BPA を抽出した。このクロロホルム層 0.85 ml を蒸発乾固し、蛍光標識を行った。一方、母乳試料の場合は、まず試料 100 μ l を 10 分間超音波振とう後、0.1 M ホウ酸 Na 緩衝液 (pH 11) 200 μ l を加えて *n*-ヘキサン 1.0 ml で非極性物質を取り除いた。その後、水相 280 μ l を市販乳製品と同様の操作でクロロホルム抽出し、蛍光標識を行った。ただし、クロロホルム層は 0.90 ml を取り、標識に使用した。

蛍光標識操作は以下のように行った。前処理により得られた抽出残さに 5 mM DIB-Cl の CH₃CN 懸濁液 100 μ l 及び 1.5M トリエチルアミンの CH₃CN 溶液 5 μ l を用いて蛍光標識反応 (35℃, 20

分間)を行った。この反応溶液に 12.5% アンモニアの CH₃CN 溶液 10 μ l を添加し、さらに室温下、10 分間放置した。5% 酢酸溶液 10 μ l を加えて反応を停止したのち、メンブランフィルター(0.45 μ m) でろ過し、5 μ l を HPLC システムに注入した。

B. 2 HPLC 条件

BPA の分離検出は、前年度報告した方法に従い、カラムスイッチング HPLC-蛍光検出にて行った。以下に条件の概要を記す。

第一カラム : Wakosil-II 5C18RS (150x1.0 mm i.d., Wako), 移動相 (CH₃CN-CH₃OH-H₂O=72:15:13, v/v/v), 流速 (0.1 ml/min); 第二カラム : Vydac Protein & Peptide C18 (150x4.6 mm i.d., Vydac), 移動相 (CH₃CN-CH₃OH-0.1 M Sodium acetate buffer (pH 5.5)=55:33:12, v/v/v), 流速 (0.3 ml/min); 分離温度, 35°C; 検出波長, λ_{ex} =350 nm & λ_{em} =475 nm.

C. 研究結果及び考察

市販乳製品(牛乳, 加工乳, 乳飲料を含む 7 検体)中の BPA 濃度を定量した結果, その濃度範囲は 0.70~1.20 ppb の範囲となった。これらの包装容器には紙, プラスチック及びガラス瓶が用いられているが, 容器材質との関連性は見出せなかった。

一方, 母乳試料を前年度報告した液-液抽出法で前処理した場合, クロマトグラム上で BPA 由来のピークは全く観測されず, 5 ppb の BPA 添加母乳においても同様の現象が観測された。C18 による固相抽出法 (SPE) を用いた場合でも, BPA の溶出にアセトニトリルのみを使用した場合は, ピークが観測されなかった。溶

出に 50%アセトニトリル水溶液を用い, より疎水性の高い分画を固相に保持させたまま残し, BPA 分画のみを選択的に溶出させた場合に, 誘導体化反応が良好に進行することが判明した。しかし, SPE を前処理として採用した場合, カートリッジの洗浄等に使用する精製水中の BPA が問題となることから, 最終的に液-液抽出を用いる反応妨害物質除去を検討し, 操作法に示す方法を確立した。

検量線は試料に既知濃度の BPA (0.5~5.0 ppb) を添加し, 作成した。その結果, 検量線は良好な直線性 ($y=0.868x+0.503$, $r=0.999$) を示し, $S/N=3$ のときの検出下限は 0.20 ppb と高感度であった。また, 母乳試料における BPA の添加回収率は 99.0%であった。

確立した方法を用いて, 母乳試料 8 検体の BPA 濃度を測定したところ, その範囲及び平均値 $\pm$ SD はそれぞれ 0.46~0.86 ppb 及び 0.64 ± 0.12 ppb ($n=8$) となった。これらの値は妊婦母体血清中 BPA 濃度 (前回報告値: 0.46 ± 0.20 ppb, $n=9$) より僅かに高く, さい帯血 (前回報告値: 0.62 ± 0.13 ppb, $n=9$) とほぼ同じレベルであった。また, 同一個人より得られた妊婦血清及び母乳中 BPA 濃度 ($n=6$) の相関性を調べた結果, 母体血-母乳間に相関性はみられなかったが ($r=0.004$), さい帯血-母乳間で $r=0.755$ という比較的高い相関が観測された (図 1)。一般に, さい帯血は母体血に比べ, より多くの脂質及びリポタンパクを含むことが知られている。今回の検討により, 脂質を多く含む母乳とさい帯血との間で比較的高い相関性が得られたことから, 今後, BPA の脂肪組織への移行性や蓄積性に関する詳細な調査の必要性が示唆された。母乳中 BPA の典型的なクロマトグラムを図 2 に示す。

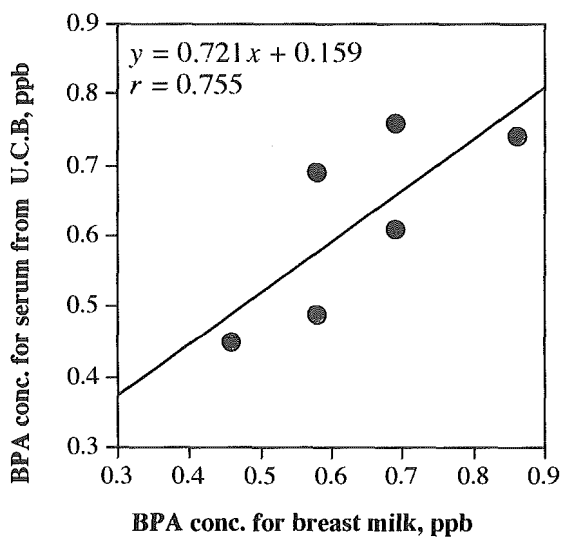
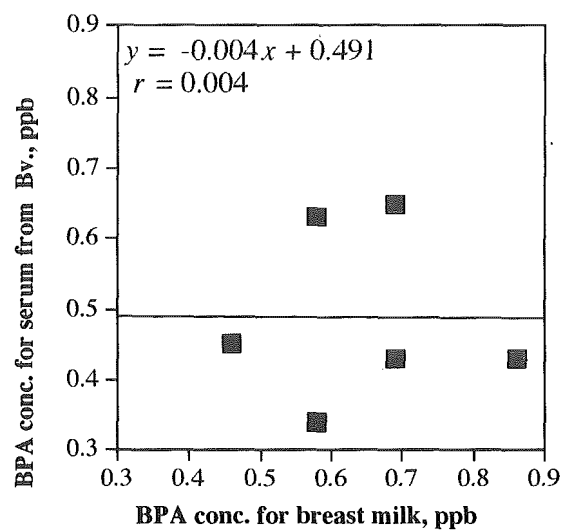


図1 妊婦血清（母体血及びさい帯血）
及び母乳中 BPA 濃度の相関

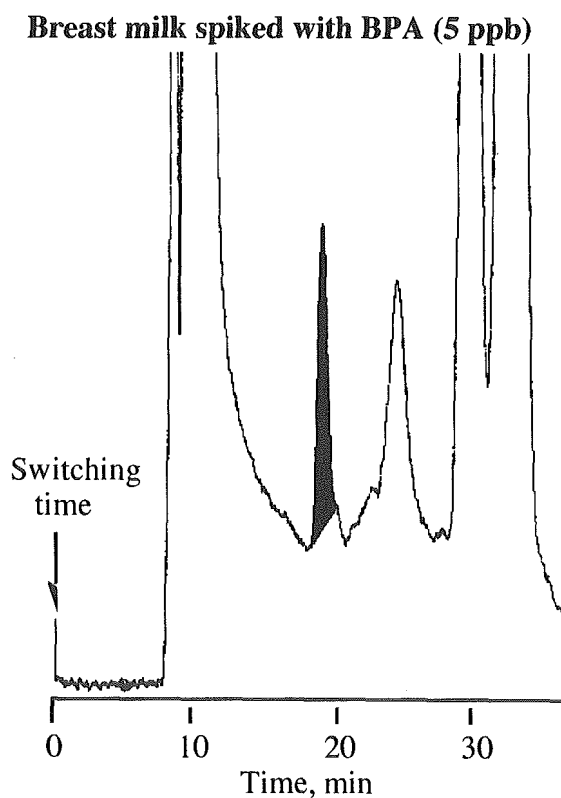
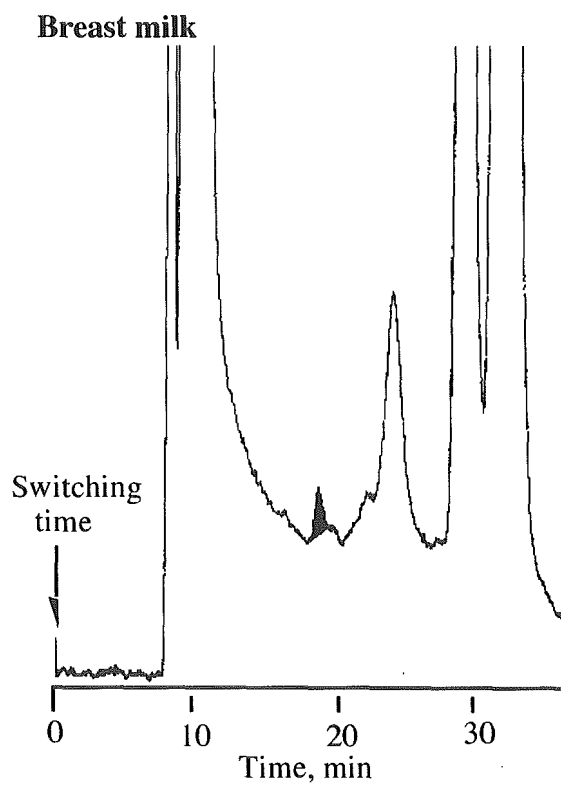


図2 母乳のクロマトグラム

D. 結論

- 市販乳製品中 BPA の定量：前回確立した分析法を用いて、市販乳製品 7 検体中の BPA 濃度を測定したところ、その濃度範囲は 0.70~1.20 ppb であった。
- 母乳中 BPA の定量：前処理法として新たな液-液抽出法を検討し、0.5~5.0 ppb の範囲で良好な直線性を与える ($r=0.999$) 検量線を得た。この方法による BPA の検出下限 ($S/N=3$) は 0.20 ppb であった。
- 母乳試料 8 検体中の BPA 濃度は平均値 $\pm$ SD で 0.64 ± 0.12 ppb であった。
- 同一個人より得られた妊婦血清（母体血及びさい帯血）と母乳中 BPA 濃度 ($n=6$) との相関性を調べた結果、さい帯血-母乳間で比較的高い相関が観測された。

E. 研究発表

1. 論文発表

1. Y. Sun, M. Wada, N. Kuroda, K. Hirayama, H. Nakazawa, K. Nakashima, Simultaneous determination of phenolic xenoestrogens by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection, *Anal. Sci.*, **17**, 697-702 (2001).
2. T. Watanabe, H. Yamamoto, K. Inoue, A. Yamaguchi, Y. Yoshimura, K. Kato, H. Nakazawa, N. Kuroda, K. Nakashima, Development of sensitive high-performance liquid chromatography with fluorescence detection using 4-(4,5-diphenyl-1H-imidazol-2-yl)benzoyl chloride as a labeling reagent for determination of bisphenol A in plasma sample, *J. Chromatogr. B*, **762**, 1-7 (2001).

2. 学会発表

1. 生体試料中ビスフェノール A の高感度 HPLC-蛍光定量：和田光弘，木下由美，孫 艶，黒田直敬，牧野恒久，中澤裕之，中島憲一郎，第 14 回バイオメディカル分析科学シンポジウム，松島，p143-144 (2001) .
2. カラムスイッチング HPLC-蛍光検出による生体試料中ビスフェノール A の定量：黒田直敬，入江美樹，和田光弘，大庭義史，牧野恒久，中澤裕之，中島憲一郎，日本分析化学会第 50 年会，熊本，p353, 1 (2001) .

F. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし。

G. 健康危険情報

該当なし。

平成 13 年度厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）

分担研究報告書

内分泌かく乱化学物質に関する生体試料（さい帯血等）の分析法の開発と
その実試料分析結果に基づくヒト健康影響についての研究

『子宮内膜症患者のさい帯血、腹水等における内分泌かく乱物質の実測定と
その精度管理に関する研究』

—成人血中のクロルデン関連物質及びヘキサクロロベンゼンの分析—

主任研究者 牧野恒久

東海大学

分担研究者 織田 肇

大阪府立公衆衛生研究所

研究協力者 宮崎 豊

伊藤裕子

猪飼誉友

近藤文雄

岡 尚男

松本 浩

愛知県衛生研究所

要旨

一般成人を対象としてクロルデン関連物質及びヘキサクロロベンゼン（HCB）の人体暴露量調査を実施し、その血清中濃度とアンケート調査による食事嗜好、住環境との関連性を調査した。一般成人 189 人からの血清試料を分析したところ、93.7%の人から *trans*-ノナクロル（0.03～1.65 ppb）が、90.5%の人から HCB（0.02～2.20 ppb）が、また、43.4%の人からは *cis*-ノナクロル（0.03～0.44 ppb）が検出された。更に、ごく少数の人からはオキシクロルデン（2 人、0.24、0.56 ppb）や *trans*-クロルデン（1 人、0.04 ppb）も検出された。検出された 5 種の化学物質のうち *trans*-ノナクロル濃度は、年齢、性別及び魚介類の摂食頻度と関連することが示唆された。また、HCB 濃度は、年齢との関連性が示唆された。

A. 研究目的

クロルデンは、シロアリ、ヒラタキクイムシ等の駆除剤及び防除剤として広く使用されていたが、肝臓障害などの慢性毒性が認められたことから、わが国では昭和 61 年に使用禁止となった。しかし、遅効性殺虫剤であるクロルデンの残留性は極めて強く、最近の調査でも環境中にクロルデンや、その製剤中の不純物であるノナクロル、さらには代謝物であるオキシクロルデンの残留が認められている。一方、我が国では農薬登録はなされていないが海外では殺菌剤として使用されているヘキサクロロベンゼン（HCB）は、我が国においても環境中から検出されており、塩素系化合物の製造原料中あるいは塩素系農薬中の不純物に由来すると推測されている。

平成 10 年度及び 11 年度の研究において、クロルデン、ノナクロル、及びオキシクロルデンを含むクロルデン関連物質（CLDs）とヘキサクロロベンゼン（HCB）に対する人体暴露量の調査を実施し、その結果血液中の CLDs 濃度と食事嗜好性との間の関連性が示唆される結果を得た。そこで、更に詳細な調査を行なうため、本年度はより多くの一般成人の血液を分析した。今回、昨年度実施した結果と合わせ、血清中の CLDs

及び HCB 濃度に及ぼす食事嗜好や住環境などの影響について検討を加えた。

B. 研究方法

1. 試薬

標準品として用いた *trans*-クロルデン、*cis*-クロルデン、*trans*-ノナクロル、*cis*-ノナクロル、オキシクロルデン、ヘプタクロルエポキサイド及びヘキサクロロベンゼンは、林純薬工業製を用いた。その他の試薬はすべて和光純薬製残留農薬分析用を用いた。

2. 試料

18 才から 64 才までの成人 189 名（男性 93 名、女性 96 名）からインフォームドコンセントを得た後、血液試料の提供を受けた。血液採取時に、年齢、性別、摂取している米の産地、飲用している水、居住環境地域（住宅地域、商業地域、工場地域、農山村地域、漁村地域）、住居のシロアリ駆除歴、それに米飯、魚介類、肉類、野菜・果実を摂取する回数、喫煙、飲酒、病歴、子供の人数についてのアンケート調査を実施した。

3. 操作方法

昨年度と同様に操作した。すなわち、GC/MS 操作条件と試験溶液調製法は、以下のとおりである。

3-1. GC/MS 操作条件

装置：JMS AX-505W（日本電子）

カラム：クロムパック CP-Sil 5CB-MS (0.25 mmx 30 m、0.1 μ m、GLサイエンス)

カラム温度：80℃で2分間保持し、230℃まで毎分15℃で昇温する。その後、300℃まで毎分20℃で昇温の後、300℃で10分間保持する。

注入口温度：210℃

イオン源温度：210℃

イオン化：EI

イオン化電圧：70 eV

試料注入量：2 μ L

検出方法：選択イオン検出法 (SIM)
モニターイオン

クロルデン関連物質：[M-Cl]⁺ m/z 353 (ヘプタクロルエポキシサイド)、m/z 387 (オキシクロルデン)、m/z 373 (trans-及び cis-クロルデン)、m/z 409 (trans-及び cis-ノナクロル)

HCB：M⁺ m/z 284

1-クロロテトラデカン：C₄H₈Cl⁺ m/z 91

3-2. 試験溶液調製法

スキーム1に示した。

4. 統計的解析

得られた測定結果について、検出限界以下のものを0 ppbと置き換えた後、パソコン用統計解析ソフトSPSSを用いて統計解析を行なった。統計解析は、カイ二乗検定 (Fisherの直接法) 及びT検定 (Scheffe test) を実施した。

C. 結果と考察

1. 分析結果

189人の成人血清試料を分析した結果を年齢、性別とともに表-1に示した。測定した6種のCLDsとHCBのうち、trans-ノナクロル、cis-ノナクロル、HCBは多数の試料から検出された。trans-ノナクロルについては、189試料のうち177試料 (93.7%) から検出され、濃度は0.03から1.65 ppbの範囲であり、検出された試料での平均値は0.19 ppbであった。cis-ノナクロルは、82試料 (43.4%) から検出され、濃度は0.03から0.44 ppbの範囲であり、検出された試料での平均値は0.07 ppbであった。また、HCBについては171試料 (90.5%) から検出され、その濃度は0.02から2.20 ppbの範囲であり、検出された試料での平均値は0.10 ppbであった。また、オキシクロルデンは、男性血清2試料からそれぞれ0.24及び0.56 ppb、trans-クロルデンは別の男性血清1試料より0.04 ppb検出された。一方、ヘプタクロルエポキシサイド及びcis-クロルデンは全試料から全く検出されなかった (検出限界；trans-ノナクロル、cis-ノナクロル、trans-クロルデン、cis-クロルデン：0.03 ppb、ヘプタクロルエポキシサイド、オキシクロルデン：0.2 ppb、HCB：0.02 ppb)。

1-2. 年齢の影響

年齢をその中央値（41 才）を用いて中央値未満と以上の二階層に分化し、年齢階層と血中濃度との関連を検討した。血清中から検出されたこれら 5 種の化学物質のうち、*trans*-ノナクロル、*cis*-ノナクロル、HCB の濃度について T 検定を用いて比較したところ、*trans*-ノナクロル ($p=0.006$) 及び HCB ($p=0.000$) は、いずれも年齢階層の高い人で有意に血中濃度が高かった（表-2）。一方、*cis*-ノナクロルについては、その血中濃度と年齢階層の間に有意な差は認められなかった。これらのことから、CLDs と HCB の血中濃度は、暴露期間の影響が推測された一方、その他にも影響を与える因子が存在することが示唆された。

このようにして、血中の CLDs と HCB の濃度は、年齢階層の影響を受けることが明らかとなったことから、年齢以外のアンケート項目において年齢階層の影響を受けている項目については、CLDs や HCB との関係を解析しても年齢階層の影響を強く受けると考えられた。そこで予めその他のアンケート項目（性別、摂取している米の産地、飲用している水、居住環境地域、住居のシロアリ駆除歴、米飯、魚介類、肉類、野菜・果実を摂取する回数、喫煙、飲酒、病歴、子供の人数）の調査結果と年齢階層の関係をカイ二乗検定を用いて

検討し、年齢の影響を受けるか否かを解析した。また、アンケート調査項目のうち住居のシロアリ駆除歴については、不明と回答したものを解析から除外した。摂食嗜好については、米飯、魚介類、肉類に関して、米飯は一日に摂食する回数を、魚介類、肉類は一週間に摂食する日数を三階層に分化して解析した。すなわち、米飯は、1 日に 1 回以内、2 回、3 回以上に、魚介類と肉類は、1 週間に 2 日以内、3～4 日、5 日以上にそれぞれ分化した。同じく摂食嗜好のうち、野菜・果実に関しては、回答の偏りが大きかったため、一週間に摂食する日数を 7 日未満と 7 日以上に二階層に分化した。一方、喫煙及び子供の人数については、それぞれの中央値を参考にして、二階層間の例数がおおむね等しくなるよう分化した。すなわち、喫煙については、喫煙しない階層と喫煙中もしくは以前喫煙していた階層に、また、子供の人数については、子供のいる階層と子供のいない階層に分化して解析した。その結果、食事嗜好のうちの魚介類 ($p=0.023$ 、表-3) と肉類 ($p=0.041$ 、表-4)、それに子供の人数 ($p=0.000$ 、表-5) において年齢階層間に有意な差が認められた。すなわち、年齢階層の高い人は、階層の低い人と比較して、魚介類を摂食する回数の多い階層に有意に多かった。反対に、年齢階層の高い人は、階層

の低い人と比較し、肉類を摂食する回数の低い階層に有意に多かった。また、年齢階層の高い人は、階層の低い人と比較して、子供のいない人が有意に多かった。ただし、子供の人数については、無回答であった122人を除いた67%について解析した結果である。年齢階層によって有意な差が認められたこれらの項目については、血清中のCLDs及びHCB濃度との関係に年齢階層による影響が関与することから、年齢階層別の比較ではなく、年齢階層内で検討することとした。

1-3. 性別の影響

性別と血清中CLDs及びHCB濃度との関係をT検定を用いて比較したところ、*trans*-ノナクロルの濃度は、男女間に有意な差が認められ、男性の方が女性より有意に高かった($p=0.001$ 、表-6)。このように*trans*-ノナクロルの濃度は、性別の影響を受けることが明らかとなったので、年齢階層と同様に、予めその他のアンケート調査項目と性別の関係をカイ二乗検定を用いて比較した。その結果、喫煙において、男女間に有意差が認められた($p=0.001$ 、表-7)。すなわち、喫煙中もしくは以前喫煙していた人は男性に多く、喫煙しない人は女性に多かった。性別で有意差が存在した項目について、血清中*trans*-ノナクロル濃度との関係を解析すると性別による影響が関与するこ

とから、喫煙習慣の影響の解析は、男女別に実施することとした。

1-4. シロアリ駆除歴の影響

住環境におけるシロアリ駆除剤の使用歴及び駆除した年についてアンケート調査し、血清中CLDs及びHCB濃度との関連を検討した。血清中CLDs及びHCB濃度について、シロアリ駆除歴のある人となない人についてT検定を用いて比較したが、何らの相関も認められなかった。ただし、分析により検出頻度が低かったオキシクロルデンが検出された2人、*trans*-クロルデンが検出された別の1人は、全員シロアリ駆除をCLDsの使用が禁止された昭和61年以前に実施したと回答していた。これら3人では、*trans*-ノナクロル、*cis*-ノナクロル、HCBともに高濃度に検出されていたことから、これら3人については血中CLDs及びHCB濃度に対するシロアリ駆除剤の影響は否定できないと考えられた。しかし、一般的にはより大きな影響を与えるその他の因子が存在することが強く示唆された。

1-5. 食事嗜好の影響

摂食嗜好のうち、米飯、魚介類、肉類に関して、米飯は1日に1回以内、2回、3回以上に、魚介類と肉類は、一週間に2日以内、3～4日、5日以上に、三階層に分化した。また、野菜・果実に関しては、一週間に摂食する日数を7日未満と7日以

上の二階層に分化した。それぞれ分化した食事嗜好の階層と血中 CLDs 及び HCB 濃度との関連について検討した。ただし、『1-2. 年齢の影響』において、年齢階層の影響を受けることが明らかとなった魚介類と肉類の摂食嗜好については、それぞれの年齢階層内において解析を実施した。その結果、年齢の低い階層において、*trans*-ノナクロル濃度と魚介類の摂取日数階層との間に、関連が認められた。すなわち、一週間あたりの魚介類の摂取日数が5日以上の階層は、2日以内の階層及び3～4日の階層よりも血中 *trans*-ノナクロル濃度が有意に高かった ($p < 0.05$ 、表-8)。これは、年齢の低い階層では化学物質の蓄積期間が短く、年齢の高い階層と比較して他の因子の影響が少ないため、食事嗜好の影響が顕著に現れたと考えることもできる。

1-6. 喫煙の影響

喫煙習慣については、喫煙しない階層と喫煙中もしくは以前喫煙していた階層の二階層に分化し、喫煙習慣の階層と血中 CLDs 及び HCB 濃度との関連について検討した。ただし、

『1-3. 性別の影響』において、性別の影響を受けることが明らかとなった血中 *trans*-ノナクロル濃度と喫煙習慣については、男女別にその関連について検討した。その結果、血中 HCB 濃度との間に有意な負の相関 ($p=0.006$) が認められた。今回の調

査では、この原因について推測、解明することはできなかった。

1-7. その他

摂取している米の産地や飲用している水、居住環境地域及び飲酒、病歴についても調査を実施したが、血中 CLDs 及び HCB 濃度との間に有意な関連は認められなかった。

D. 結論

1. 一般成人 189 人からの血清試料を分析したところ、93.7%の人から *trans*-ノナクロル (0.03～1.65 ppb) が、90.5%の人から HCB (0.02～2.20 ppb) が、また、43.4%の人からは *cis*-ノナクロル (0.03～0.44 ppb) が検出された。また、ごく少数からはオキシクロルデン (2 人、0.24、0.56 ppb) や *trans*-クロルデン (1 人、0.04 ppb) も検出された。

2. 検出された CLDs のうち、2 種の化学物質について、その血中濃度とアンケート調査項目との関連について統計的解析 (T 検定) を実施した。このうち *trans*-ノナクロル濃度は、年齢をその中央値 (41 才) を用いて中央値未満と以上の二階層に分けて比較したところ、高年齢層の人の血中 *trans*-ノナクロル濃度は、低年齢層の人と比べ有意に高かった ($p=0.006$)。また、男性の方が女性よりも有意に高かった ($p=0.001$)。一方、年齢の低い階層において、魚

介類の摂取日数が一週間に5日以上
の階層の人では、2日以内及び3～
4日の階層の人と比べ、有意に血中
trans-ノナクロル濃度が高かった (p
 <0.05)。

なし

3. 検出された HCB について、CLDs
と同様な解析を実施したところ、年
齢の高い人のほうが血中 HCB 濃度が
有意に高かった ($p=0.000$)。

謝辞

本研究にあたり、統計的解析法に
ついてご指導頂いた愛知県衛生研究
所企画情報部の山本功技師、南珠恵
技師に深謝致します。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

血清 (50ml 共栓付き遠沈管)	約 3 g
エタノール	5 ml
エーテル	2.5 ml
ヘキサン	10 ml
振とう (10分)	
遠心分離 (3000 rpm、10分)	
ヘキサン層	
脱水	
濃縮乾固 (30 mlナス型フラスコ)	
セップパックプラス フロリジル (15%エーテル/ヘキサン 10 ml予洗)	
アプライ 15%エーテル/ヘキサン	1 ml
洗浄 15%エーテル/ヘキサン	10 ml
溶出液 (25 mlナス型フラスコ)	
濃縮乾固	
内標準液*	0.5 ml
試験溶液	

* : 1-クロロテトラデカン 25 ppbヘキサン溶液

スキーム 1. 人血清の分析法

表-1 一般成人血清測定結果

	性別	試料数	年齢	trans - ノナクロル	cis - ノナクロル	オキシ クロルデン	trans - クロルデン	cis - クロルデン	ヘプタクロル エポキシサイド	ヘキサクロロ ベンゼン
平均	男	93	40	0.23	0.06	0.40	0.04	N.D	N.D	0.10
最小	男		18	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
最大	男		56	1.65	0.16	0.56	0.04	N.D	N.D	2.20
検出頻度	男			87/93	45/93	2/93	1/93	0/93	0/93	84/93
平均	女	96	39	0.15	0.07	N.D	N.D	N.D	N.D	0.10
最小	女		19	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
最大	女		64	0.72	0.44	N.D	N.D	N.D	N.D	0.82
検出頻度	女			90/96	37/96	0/96	0/96	0/96	0/96	87/96
平均	—	189	39	0.19	0.07	0.40	0.04	N.D	N.D	0.10
最小	—		18	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
最大	—		64	1.65	0.44	0.56	0.04	N.D	N.D	2.20
検出頻度	—			177/189	82/189	2/189	1/189	0/189	0/189	171/189

平均；検出された試料の平均値

単位；ppb

N.D；検出せず

検出限界；trans-、cis-ノナクロル、trans-、cis-クロルデン：0.03 ppb

ヘプタクロルエポキシサイド、オキシクロルデン：0.2 ppb

ヘキサクロロベンゼン：0.02 ppb