

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

難分解性有機フッ素化合物のカルシウムチャネルへの影響に関する研究

分担研究者 小泉 昭夫 京都大学大学院教授

研究要旨

難分解性有機フッ素化合物PFOS・PFOAは近年、環境中への拡散やヒトへの蓄積が明らかになり、新たな環境汚染として認識されるようになった。これらの物質の有害性について動物実験の報告はなされているが、そのメカニズムは明らかにはなっていない。本研究ではPFOS・PFOAの心室筋細胞への影響を電気生理学的に評価し、毒性メカニズムを明らかにすることを目的とした。モルモット単離心室筋細胞を用いてパッチクランプ法でPFOSやPFOAの活動電位や電流に与える影響を評価した。PFOSは・Mオーダーで活動電位の立ち上がり速度、最大電位、電位持続時間をそれぞれ減少させた。またCa電流に対しては保持電位により増加あるいは減少させるか対照的に作用した。Ca電流の活性化、不活性化電位がそれぞれ過分極側へ移された。PFOAも同様の作用を有していたが、効力は有意に低かった。PFOSの有効濃度は労働者におけるヒト血清中濃度に匹敵するものであり、ヒトでの影響の有無を重点的に調査する必要があると考えられた。

A. 研究目的

ペルフルオロオクタンスルホン酸（PFOS）、ペルフルオロオクタン酸（PFOA）は難分解性であり、野生生物への蓄積性から環境汚染の懸念が高まっている化学物質である。実際にPFOS、PFOAによる地球規模での海生哺乳類、鳥類、ヒトの汚染が報告されている[1-5]。一方で、これらの物質についての毒性評価は動物実験で脂質代謝異常、肝腫大、神経内分泌、横紋筋融解症などの影響が報告されている[6-8]。PFOS・PFOAなどが直鎖ペルフルオロアルキル基を有することからPPARを介して脂肪酸代謝の誘導がなされることは明らかになってきたが[9]、他の影響のメカニズムは明らかではない。

本研究ではPFOS・PFOAの化学的性質としての界面活性作用から細胞膜機能への影響をイオンチャネルについて検討を行う。

B. 研究方法

体重 300-400g のモルモットから酵素解離法により心室筋細胞を単離した。ペントバルビタール麻酔下にて人工呼吸器に接続し、開胸し、心臓を摘出した。上行大動脈よりカニューレを挿入し、Tyrode 液で冠動脈還流を行った。続いてCa除去Tyrode液を還流させ、コラゲナーゼ添加Ca除去Tyrode液を還流させた。消化心室筋細胞を高カリウム保存液に浸し4℃で保存した。

標準Tyrode液の組成は（mM）：NaCl,

136.9; KCl, 5.4; MgCl₂, 0.53; CaCl₂, 1.8; NaH₂PO₄, 0.33; glucose, 5.5; HEPES, 5.0 (pH = 7.4 with NaOH)、Na⁺- K⁺- 除去 Tyrode 液は (mM): Tris-HCl, 140; MgCl₂, 1.0; CaCl₂, 2.5; glucose, 10; HEPES, 5 (pH 7.4 with Tris-base) である。conventional whole-cell clamp 実験用ピペット液の組成は (mM): KOH, 150; HCl, 30; NaCl, 10; CaCl₂, 2; EGTA, 5; Na₂ATP, 5; Na₂GTP, 0.1; MgCl₂, 5; HEPES 5.0 (pH = 7.2 with aspartic acid) であり、L 型カルシウム電流の測定では高 Cs⁺ ピペット液を用い、CsOH, 110; TEA-Cl, 30; EGTA, 10; MgATP, 5; Na₂GTP, 0.1; HEPES 5.0 (pH = 7.2 with aspartic acid) の組成である。perforated patch clamp 実験用ピペット液の組成は (mM) K-aspartate 110, KCl 30, NaCl 10, CaCl₂ 1.0 and HEPES 5.0 (pH 7.2) であり、Amphotericin B を 200 · g/ml とするようにより調整した。チャンパーにはTyrode液を2-3mL/min で流し、36-37°Cで保った。

C. 研究結果

活動電位に対するPFOS・PFOAの影響を観察した。図1に典型的な活動電位を示す。PFOSは活動電位の立ち上がり速度、最大電位、活動電位持続時間をそれぞれ減少させた。用量依存性が見られ、100 · Mでは活動電位が完全に抑制された。一方、静止膜電位は変わらなかった。

次に単一細胞電流に与える影響を検討した。保持電位-40mVから脱分極、過分極パルスを与えて生じる電流を図2に示す。PFOSの投与によりCa電流に相当する内向き電流は減少した。カリウム電流に相当する外向き電流は変化は見られなかった。

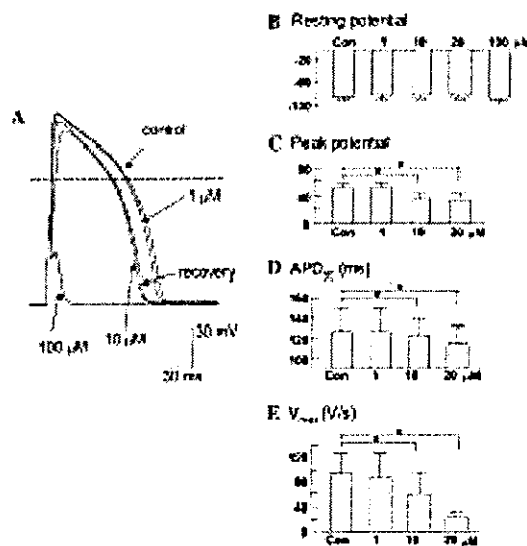


図1. PFOSの活動電位に与える影響

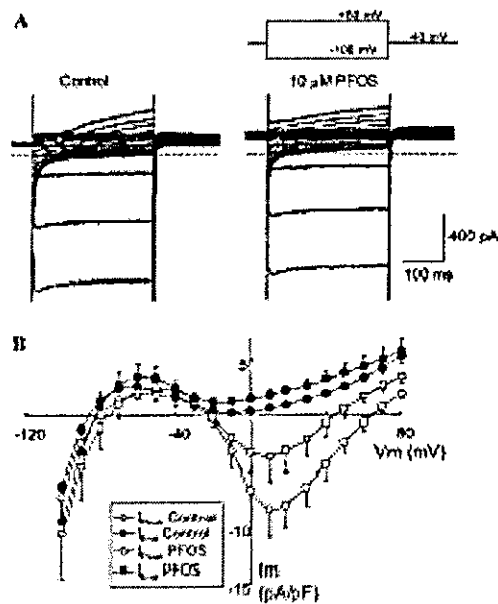


図2. PFOSの全細胞電流に与える影響

そこからカルシウム電流のみを記述するためNa-K-除去Tyrode液を細胞外液として行った結果を図3に示す。保

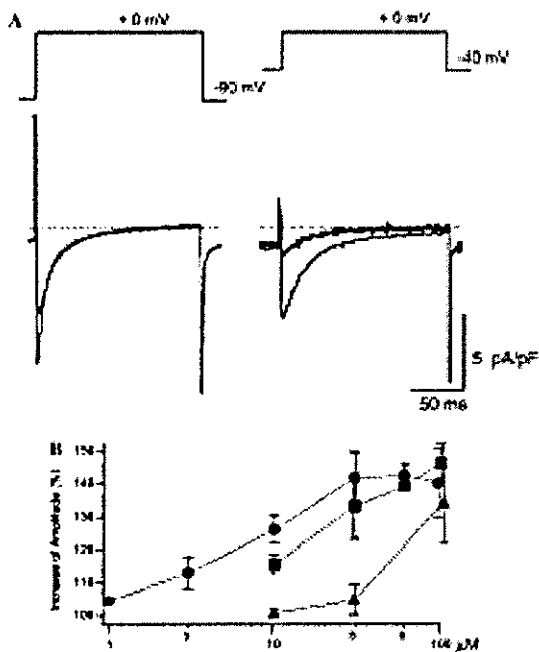


図 3. PFOS(●)、PFOA(▲)、SDS(■)のL型カルシウム電流に与える影響

保持電位を-40mVと-90mVとに設定し、脱分極パルスを与えたところ、-40mVから脱分極させるプロトコルではL型カルシウム電流はPFOSにより減少したが、-90mVに保持した場合は増加した。保持電位。保持電位-90mVでのカルシウム電流の増加は用量依存的であった。

保持電位によりL型カルシウム電流への影響が異なることからカルシウム電流の活性化、不活性化について検討した。活性化曲線はPFOSの処理により過分極側へずれていて、このずれは濃度依存的に増加した(図4)。また電流-電圧曲線から求められるスローコンダクタンスの上昇も見られた。同様に不活性化もPFOSの処理により過分極側へずれていて、このずれは濃度依存的に増加した(図5)。

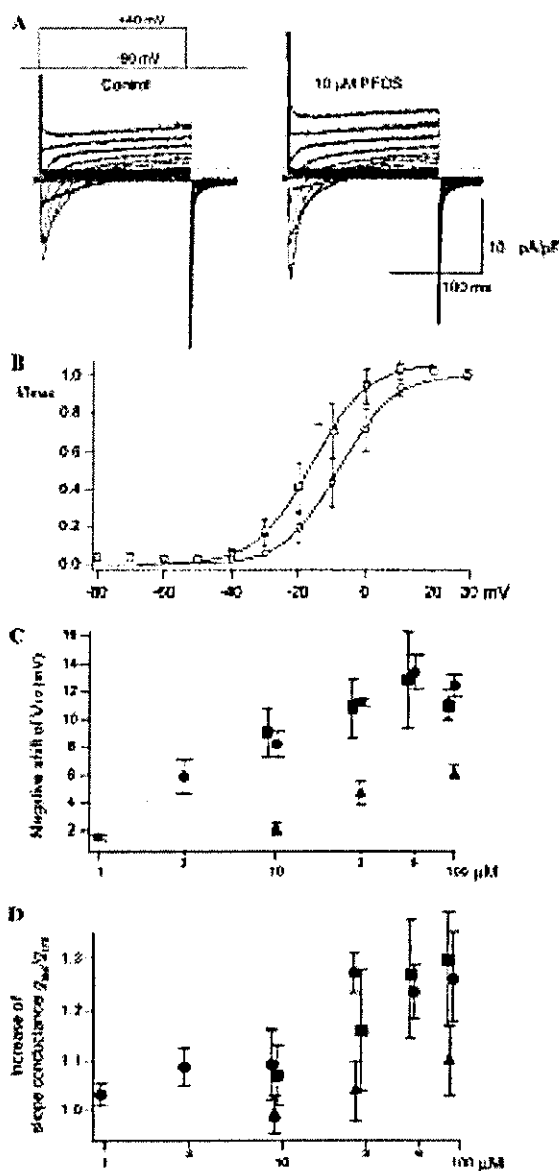


図 4. PFOS(●)、PFOA(▲)、SDS(■)のL型カルシウム電流活性化に与える影響

D. 考察

PFOS・PFOAはカルシウム電流の活性化・不活性化動態の変化と電流量の増加を引き起こした。

これらの結果は陰イオン性活性剤 Sodium Dodecyl Sulfateによるウサギ心室筋細胞への影響についてのこれ

までの報告に一致した[10]。さらに n-octyl sulfate では phosphatidylcholine 単層膜の表面張力を顕著に減少させることが報告されており[11]、PFOS・PFOAが細胞膜へ挿入することで実効膜電位の変化が活性化、不活性化に影響してPFOS・PFOAが細胞膜へ挿入することで実効膜電位の変化が活性化、不活性化に影響していると考えられた。

カルシウム電流量の増加はSDSや長鎖脂肪酸で報告されているが[12]、表面電位の変化とは違った経路で直接作用していると考えられた。

PFOSの活動電位への影響はカルシウム電流以外のイオンチャネルへの影響も示唆しており、他の界面活性剤でも遅延整流カリウム電流、ナトリウム電流への作用が報告されている[13]。

これまでの炭化水素系界面活性剤では電流量への影響は炭素鎖長12以上のもので見られており、活性化、不活性化への影響も炭素鎖長8のものではmM程度でなければ効果がなかった。今回のPFOS・PFOAのような炭素鎖長8の界面活性剤がより低濃度でも作用したことは、炭素鎖のペルフルオロ化が影響を及ぼしていると考えられた。炭化水素系界面活性剤のペルフルオロ化により短い炭素鎖長でも十分な界面活性能を与えることが報告されており、細胞膜表面へ吸着しやすくなっていると考えられる[14]。PFOSがSDSと近い臨界ミセル濃度を持ち、一方PFOAはPFOSよりも高くなることはこれらの物質の効力と関連している可能性が示唆された。

これまでのPFOSの毒性研究では心臓血管系への影響は報告されていないが、これらの作用は電位依存性カルシウムチャネルを有する心臓以外の

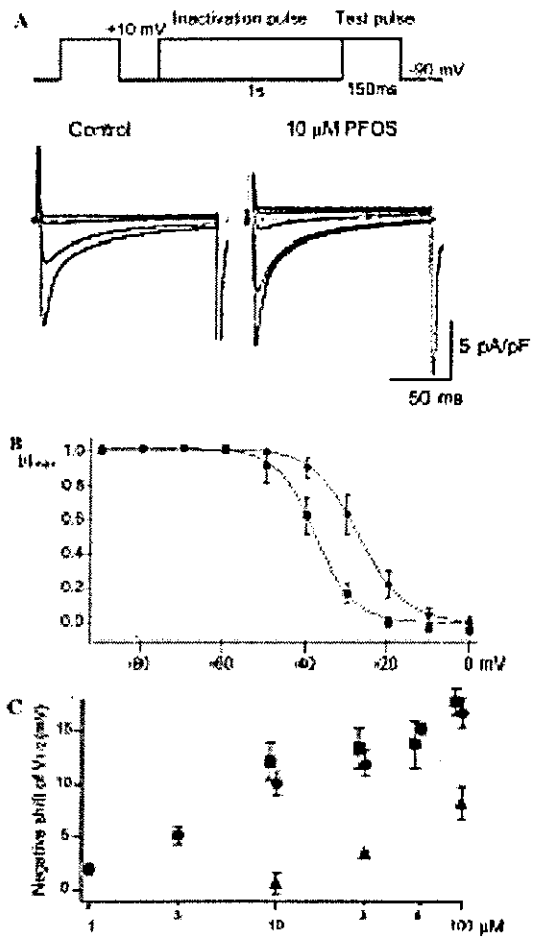


図5. PFOS(●)、PFOA(▲)、SDS(■)のL型カルシウム電流不活性化に与える影響

器官にも関連すると考えられる。カンクイザルでの毒性試験でPFOS・PFOAが横紋筋融解症を引き起こす可能性が示されていたが、HMG-CoA還元酵素の阻害が原因とされていた[6, 8]。しかしながらPFOS・PFOAが骨格筋の細胞内カルシウムの恒常性の攪乱を起こすることも一因として考えられる。

このほかにもPFOSによる細胞間隙結合性細胞間連絡の抑制、神経内分泌への影響などが報告されているが[7, 15]これらの影響についても細胞内カ

ルシウムの恒常性が関わっている可能性が高く、今後カルシウムチャンネルを通した影響の検討が必要と考えられる。

実際に、今回の研究で得られた作用濃度は・Mのオーダーであり、工場労働者で報告された血清中濃度の範囲であり[16]、毒性のターゲット候補として重要であると考えられた。

E. 結論

PFOS・PFOAは他の陰イオン性界面活性剤と同じくカルシウムチャンネルの活性化、不活性化に影響することが明らかになった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Effects of PFOS and PFOA on L-type Ca²⁺ currents in guinea-pig ventricular myocytes.

Biochemical and Biophysical Research Communications, In Press, Available online 19 February 2005, Harada Kouji, Xu Feng, Ono Kyoichi, Iijima Toshihiko and Koizumi Akio

2. 学会発表・その他

米国トキシコロジー学会 (Society of Toxicology) 第44回年次総会、2005年3月6-10日

Effect of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) on L-type calcium current in guinea pig ventricular myocytes. Kouji Harada; F. Xu; K. Ono; T. Iijima; A. Koizumi

H. 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

なし

I. 文献

[1] K. Kannan, S. Corsolini, J. Falandysz, G. Oehme, S. Focardi, and J. P. Giesy, Perfluorooctanesulfonate and related fluorinated hydrocarbons in marine mammals, fishes, and birds from coasts of the Baltic and the Mediterranean Seas, Environ Sci Technol 36 (2002) 3210-3216.

[2] K. Kannan, J. C. Franson, W. W. Bowerman, K. J. Hansen, P. D. Jones, and J. P. Giesy, Perfluorooctane sulfonate in fish-eating water birds including bald eagles and albatrosses, Environ Sci Technol 35 (2001) 3065-3070.

[3] G. W. Olsen, T. R. Church, E. B. Larson, G. van Belle, J. K. Lundberg, K. J. Hansen, J. M. Burris, J. H. Mandel, and L. R. Zobel, Serum concentrations of perfluorooctanesulfonate and other fluorochemicals in an elderly population from Seattle, Washington, Chemosphere 54 (2004) 1599-1611.

[4] G. W. Olsen, T. R. Church, J. P. Miller, J. M. Burris, K. J.

- Hansen, J. K. Lundberg, J. B. Armitage, R. M. Herron, Z. Medhdizadehkashi, J. B. Nobiletti, E. M. O'Neill, J. H. Mandel, and L. R. Zobel, Perfluorooctanesulfonate and other fluorochemicals in the serum of american red cross adult blood donors, *Environ Health Perspect* 111 (2003) 1892-1901.
- [5] K. Harada, N. Saito, K. Inoue, T. Yoshinaga, T. Watanabe, S. Sasaki, S. Kamiyama, and A. Koizumi, The influence of time, sex and geographic factors on levels of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoate in human serum over the last 25 years, *J Occup Health* 46 (2004) 141-147.
- [6] A. M. Seacat, P. J. Thomford, K. J. Hansen, G. W. Olsen, M. T. Case, and J. L. Butenhoff, Subchronic toxicity studies on perfluorooctanesulfonate potassium salt in cynomolgus monkeys, *Toxicol Sci* 68 (2002) 249-264.
- [7] M. E. Austin, B. S. Kasturi, M. Barber, K. Kannan, P. S. MohanKumar, and S. M. MohanKumar, Neuroendocrine effects of perfluorooctane sulfonate in rats, *Environ Health Perspect* 111 (2003) 1485-1489.
- [8] J. Butenhoff, G. Costa, C. Elcombe, D. Farrar, K. Hansen, H. Iwai, R. Jung, G. Kennedy, Jr., P. Lieder, G. Olsen, and P. Thomford, Toxicity of ammonium perfluorooctanoate in male cynomolgus monkeys after oral dosing for 6 months, *Toxicol Sci* 69 (2002) 244-257.
- [9] J. M. Shipley, C. H. Hurst, S. S. Tanaka, F. L. DeRoos, J. L. Butenhoff, A. M. Seacat, and D. J. Waxman, trans-Activation of PPAR{alpha} and Induction of PPAR{alpha} Target Genes by Perfluorooctane-Based Chemicals, *Toxicol Sci* (2004).
- [10] J. A. Post, S. Ji, K. S. Leonards, and G. A. Langer, Effects of charged amphiphiles on cardiac cell contractility are mediated via effects on Ca²⁺ current, *Am J Physiol* 260 (1991) H759-769.
- [11] A. A. Elliott, and J. R. Elliott, The influence of charge on the effects of n-octyl derivatives on sodium current inactivation in rat sensory neurones, *J Physiol* 440 (1991) 35-53.
- [12] T. Shimada, and A. P. Somlyo, Modulation of voltage-dependent Ca channel current by arachidonic acid and other long-chain fatty acids in rabbit intestinal smooth muscle, *J Gen Physiol* 100 (1992) 27-44.
- [13] S. Ji, J. N. Weiss, and G. A. Langer, Modulation of voltage-dependent sodium and potassium currents by charged amphiphiles in cardiac ventricular myocytes. Effects via modification of surface potential, *J Gen Physiol* 101 (1993) 355-375.
- [14] v. H. G. Klein, J. N. Meussdoerffer, and H. Niederpruem, Fluortenside auf Basis der

elektrochemischen Fluorierung
und ihre Einsatzmoeglichkeiten in
der Oberflaechentechnik,
Metalloberflaeche 29 (1975)
559-567.

[15] B. L. Upham, N. D. Deocampo,
B. Wurl, and J. E. Trosko,
Inhibition of gap junctional
intercellular communication by
perfluorinated fatty acids is
dependent on the chain length of
the fluorinated tail, Int J Cancer

78 (1998) 491-495.

[16] G. W. Olsen, J. M. Burris, M.
M. Burlew, and J. H. Mandel,
Epidemiologic assesment of
worker serum
perfluorooctanesulfonate (PFOS)
and perfluorooctanoate (PFOA)
concentrations and medical
surveillance examinations, J
Occup Environ Med 45 (2003)
260-270.

厚生労働科学研究補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

難分解性化学物質 PFOS (Perfluorooctane sulfonate) が
Paramecium caudatum の K⁺誘導性後退泳動時間に及ぼす影響に関する研究

分担研究者 小泉 昭夫 京都大学大学院教授

研究要旨

Perfluorooctane sulfonate (PFOS) 及び、Perfluorooctanic acid (PFOA) はその構造から、非常に安定で、環境中で分解されにくい。近年、野生生物体内での蓄積が報告され、ヒト血清中からも検出されており、その影響について懸念されている。しかし、その毒性については未知なところが多い。本研究では、*Paramecium caudatum* を PFOS・PFOA の毒性スクリーニングに用いることができないか検討すると共に、PFOS・PFOA が、K⁺誘導性後退泳動に及ぼす影響について検討した。*P. caudatum* は繊毛に電位依存性 Ca チャネルを持ち、泳ぐ方向、時間からそのチャネルの動きを知ることができる。本研究によって PFOS・PFOA が K⁺誘導性後退泳動持続時間を延長させることが始めて明らかとなった。この結果は、PFOS・PFOA が Ca チャネルに影響を及ぼしている可能性を示すもので、きわめて重要な所見である。また、本研究により PFOS・PFOA の毒性スクリーニングに *P. caudatum* が有用であることが示された。

A. 研究目的

近年、注目されている難分解性化学物質のひとつに Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) がある。この物質はその構造から自然界や生体内で代謝されにくい性質を持つ。PFOS は野生生物の血液や肝臓などから検出されているほか、ヒトの血液にもその存在が確認されている(1)。しかし、その毒性については未知な部分が多い。*P. Caudatum* の行動はその細胞膜の電氣的制御によって決定されている。*P. Caudatum* を K⁺ の豊富な溶液に入れると、後退泳動が観察されることが知られており、膜の興奮性を調べる方法として使用されている。さらに、この後退泳動は、Ca²⁺ コンダクタンスの活性化によることが報告されている(2)。PFOS は界面活性化作用を持つことから、細胞膜が毒性タ

ーゲット候補として考えられる。本研究においては *P. caudatum* を用いることで、PFOS・PFOA が細胞膜に及ぼす影響についてスクリーニングすることができないか、K⁺誘導性後退泳動時間を指標に検討した。

B. 研究方法

本研究では、培養 4 日目の *Paramecium Caudatum* (KNZ82) を使用した。*P. caudatum* はバクテリア (*Klebsiella pneumoniae*) を接種した、0.5% WGP (WheatGrassPowder) 抽出液に stigmasterol (0.5mg/litter) Na₂HPO₄・12H₂O (0.5g/litter) を添加した培養液で培養・飼育した。*P. caudatum* を "reference" 液 (KCl, 1mM; CaCl₂, 1mM; Tris-HCl buffer, 1mM; pH7.2) に 30 分漬けた後、"K⁺-rich" 液 (KCl, 20mM ;

CaCl₂, 1mM ; Tris-HCl buffer, 1mM ; pH7.2)に入れると、K⁺誘導性の後退泳動が観察される(3)。本研究は、PFOS、およびその関連物質PFOAが*P. caudatum*のK⁺誘導性後退泳動持続時間に影響を及ぼすかについて観察した。*P. caudatum*の後退泳動は、脱分極性の刺激を受容すると、電位依存性Caチャンネルから繊毛細胞内にCa²⁺が流入することにより、繊毛の打ち方が逆転することに起因する(2,4)ことが知られている。さらに、界面活性剤である、Sodium dodecyl sulfate (SDS), Lauric acid sodium salt, Dodecyl trimethyl amine ammonium (DDTMA), Polyoxyethylene sorbitan monouralate (TW-20)についても、同様に検討した。培養4日目の*P. caudatum*を“reference”液に30分漬けた後、“K⁺-rich”液(コントロール群)、①PFOSを含む“K⁺-rich”液(PFOS群)、②PFOAを含む“K⁺-rich”液(PFOA群)、③SDSを含む“K⁺-rich”液(SDS群)、④ラウリン酸ナトリウムを含む“K⁺-rich”液(ラウリン酸ナトリウム群)、⑤DDTMAを含む“K⁺-rich”液(DDTMA群)、⑥TW-20を含む“K⁺-rich”液(TW-20群)に入れ、それぞれにおいて後退泳動持続時間を実体顕微鏡下で測定し記録した。さらに、*P. caudatum*後退泳動はCaチャンネルと大きく関わっていることが知られることから、Caチャンネル拮抗剤であるCd (250 μM)を用いて、PFOSとの相互作用を検討した。測定した結果は、コントロール群と比較するとともに、濃度-反応性の有無を調べた。統計処理には、統計ソフトJMPを用いた。ANOVA検定でp<0.05であった群について、さらにTukey-KramerのHSD検定により全てのペアについて検討した。

C. 研究結果

①PFOS群において、*P. caudatum*の後退泳

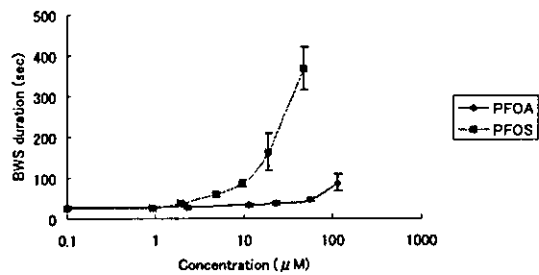


図1. PFOS, PFOAが*P. caudatum*後退泳動に及ぼす影響

動持続時間 (mean±S.D. sec) はコントロール群(25.5±5.1 sec)と比較して有意に延長した(9.5 μM ; 86.3±10.3, 19.0 μM ; 162.4±64.3, 47.5 μM ; 366.6±72.4)。さらに、後退泳動時間延長は濃度依存的であった。また、高濃度のPFOS (100 μM) を含む“K⁺-rich”液では、後退泳動中に死亡してしまった。②PFOA群においても、コントロール群と比較して後

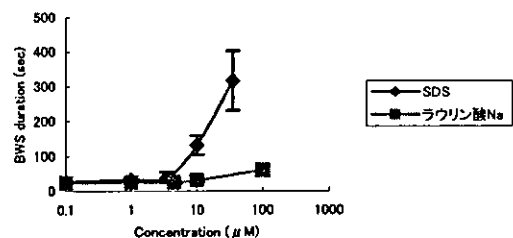


図2. SDS, ラウリン酸ナトリウムが*P. caudatum*後退泳動に及ぼす影響

退泳動時間が延長(115.0 μM ; 87.2±28.6)し、濃度-反応性も認められた。しかし、同濃度のPFOSを含む“K⁺-rich”液と比較すると、その影響は小さく、これら2つの物質には違いが認められた(図1)。陰イオン性界面活性剤である、③SDS群(10.0 μM ; 131.5±37.6, 35.0 μM ; 371.2±69.3)、④ラウリン酸ナトリウム

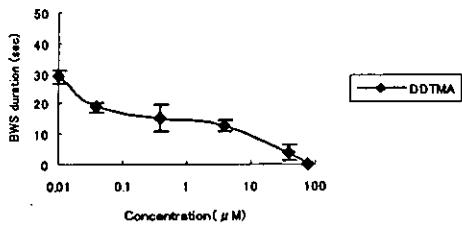


図3. DDTMAが*P. caudatum*後退泳動に及ぼす影響

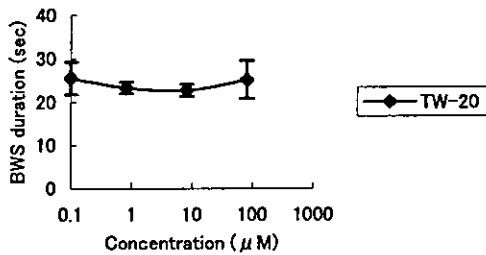


図4. TW-20が*P. caudatum*後退泳動に及ぼす影響

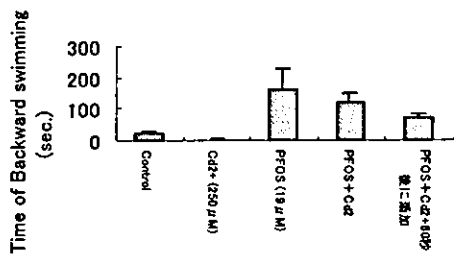


図5. Cd²⁺によるCaチャンネル阻害がPFOSによる*P. caudatum*後退泳動持続時間延長に及ぼす影響

群(100.0 μM ; 60.5 ± 24.8)においてもコントロール群と比較して後退泳動時間の延長が認められた。その影響は、SDSの方がラウリン酸ナトリウムよりも大きかった(図2)。陽イオン性界面活性剤である⑤DDTMA群においては、これまでの物質とは対照的に、コントロール群と比較して、後退泳動時間を有意に短縮した

(0.038 μM ; 17.7 ± 3.7, 0.38 μM ; 15.3 ± 6.0, 3.8 μM ; 12.5 ± 2.8, 38 μM ; 3.7 ± 3.4, 76 μM ; 0 ± 0) (図3)。中性界面活性剤である。⑥TW-20群ではコントロール群と比較して後退泳動に有意な差は認められなかった(図4)。コントロール群と比較して有意に後退泳動持続時間が延長したPFOS群(19 μM ; 162.4 ± 64.3)にCd²⁺ (250 μM)を加えると、後退泳動時間は短縮した(118.3 ± 30.9)。また、*P. caudatum*が後退泳動を初めて60秒後にCd²⁺を加えると14 ± 11.6秒後に後退泳動が止まり、その後の後退泳動が抑制された(図5)。

D. 考察

本研究においてPFOS・PFOAが*P. caudatum*の後退泳動時間を延長させることが分かった。さらに、その影響の大きさは濃度依存的に増加した。このことから、*P. caudatum*はPFOS・PFOAの毒性スクリーニングに用いることができると考えられる。*P. caudatum*の後退泳動は、脱分極刺激により、電位依存性Caチャンネルが開いてCaイオンが繊毛内に流入することによって起こる。したがって、PFOS・PFOAが後退泳動持続時間を延長させた理由としては大きく2つ考えられる。一つは電荷が影響した。もう一つはCaチャンネルに影響を及ぼした、ということである。PFOSとPFOAは類似した構造を持つ物質である。これらの物質が、*P. caudatum*後退泳動時間に及ぼす影響が異なったのは、その親水部構造の違いが原因ではないかと考えられる。PFOS・PFOAと同様、陰イオン性界面活性剤であるSDS・ラウリン酸ナトリウムは*P. caudatum*後退泳動を延長した点では一致するがその効果はSDS>ラウリン酸ナトリウムであった。この物質はきわめて類似した構造

を持っているが、親水部が異なる。陰イオン性界面活性剤においては *P. caudatum* 後退泳動持続時間の延長が認められたのに対し、陽イオン性界面活性剤においては後退泳動持続時間の短縮がみられた。さらに中性界面活性剤においては後退泳動持続時間に影響を及ぼさなかった。これらの結果から、イオン性が重要な働きをしていることが示唆される。陰イオン性界面活性剤が膜に刺さることによって、相対的に静止膜電位が浅くなり、脱分極しやすい状態になることが仮想される。また逆に、陽イオン性界面活性剤が膜に刺さると、相対的に静止膜電位は過分極側に傾き、脱分極しにくい状態になるだろう。あるいは、2 つ目の可能性でもある Ca チャネルへの直接的影響が考えられる。つまり、Ca チャネル阻害剤としての働きを有する可能性がある。

2 つ目の可能性として、PFOS・PFOA が Ca チャネルに直接影響を及ぼしていることも考えられる。PFOS が Ca チャネル活性化を促進または、不活性化の抑制に傾いて、チャネルが開いている時間を延長することによって *P. caudatum* の後退泳動時間が延長した可能性がある。また、本研究では Cd によって、PFOS による *P. caudatum* 後退泳動持続時間延長が抑制された。このことから、PFOS による後退泳動時間の延長は、絨毛内 Ca 濃度の上昇によるものであり、間接的であれ、直接的であれ、Ca チャネルと深く関わっていると考えられる。また、PFOS 群 (19 μ M) において *P. caudatum* が後退泳動を始めて 60 秒後に Cd を加えるとそれ以降の後退泳動が抑制されたことから、細胞内に流入した Ca の働きに影響を及ぼすのではなく、Ca チャネルのキネティクスに影響していると考えられる。PFOS・PFOA についての先行研究との関連を考えると、

いくつか興味深い点が挙げられる。Upham らによって PFOA がラット肝細胞の gap junction を介する細胞間連絡を抑制することが報告されている (5)。gap junction は細胞内の Ca 濃度が上昇すると閉じると考えられている (6) ことから、本研究により PFOA が細胞内 Ca チャネルに影響する可能性が示されたことは大変興味深い。本研究では、PFOS (9.5 μ M) にて後退泳動持続時間延長が統計的に有意に認められた。Olsen らによると労働者を対象とした調査において、高いヒトでは 10ppm (19 μ M) を越える血清 PFOS が検出されている (7)。この濃度は、本研究の結果から考えると健康影響が懸念されるものであり、今後作業環境の見直しが必要となるだろう。

E. 結論

本研究では PFOS、PFOA が Ca チャネルに影響を及ぼしている可能性を示す結果が得られたが、その機序を説明するには電気生理学的研究が必要となる。

難分解性化学物質であるフッ素化合物は PFOS、PFOA 以外にも多くの種類が製造・使用されている。このような物質のスクリーニングに *P. caudatum* を用いることが可能であることが本研究によって明らかとなった。今後、他のフッ素化合物についても検討していく予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表・その他

米国トキシコロジー学会 (Society of

Toxicology) 第44回年次総会、2005年3月6-10日 New Orleans

Prolongation of K⁺-induces backward swimming of *Paramecium caudatum* by PFOS and PFOA. Yuki Yamazaki; Kouji Harada; Akiko Morikawa; T. Yoshinaga; A. Koizumi

第75回 日本衛生学会総会、2005年3月27-30日 新潟

PFOSがゾウリムシの後退泳動に及ぼす影響 山崎有紀、原田浩二、森川亜紀子、吉永侃夫、小泉昭夫

H. 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
なし

I. 文献

(1)K. Harada et al. The influence of time, sex and geographic factors on levels of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoate in human serum over the last 25 years.

J. Occup. Health. 2004. 46(2), 141-147.

(2)K. Oami. et al.. Identification of the Ca²⁺Conductance Responsible for K⁺-induced Backward Swimming in *P. caudatum*. J. Membrane Biol. 2002, 190, 159-1652

(3)Y. Naitoh. Ionic Control of the Reversal Response of Cilia in *Paramecium caudatum*. A calcium hypothesis. J. Gen. Physiol. 1968. 51. 85-103.

(4)H. Machefer. et al. Electrophysiological Control of Reversed Ciliary Beating in *Paramecium*. J. Gen. Physiol. 1973. 61, 572-587.

(5)B. L. Upham. et al. Inhibition of gap junctional intercellular communication by perfluorinated fatty acids is dependent on the chain length of fluorinated tail. Int. J. Cancer. 1998. 78, 492-495

(6)細胞の分子生物学第3版 Newton Press 中村桂子ら監訳 960

(7)Olsen GW. et al. Epidemiologic assessment of worker serum perfluorooctanesulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) concentrations and medical surveillance examinations. J. Occup. Environ. Med. 2003. 45(3), 260-270

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

試料バンクを用いたリスクコミュニケーションの研究
—メチル水銀高摂取地域における現状とリスクコミュニケーション—

分担研究者 小泉 昭夫 京都大学大学院医学研究科教授

研究要旨

我々が構築しつつある生体試料バンクに貯蔵されている1980年、1995年に採取された試料を用いてメチル水銀の曝露指標の長期動向を観察した。その結果、東北地区のサンプリングサイトである宮城県唐桑町の人々が、メチル水銀の高濃度汚染地域として知られているSeychellesあるいはFaroe諸島の住民の曝露に匹敵する曝露があることが示唆された。この結果を踏まえ地域住民とリスクコミュニケーションを試みた。①2003年のメチル水銀への曝露の現況を明らかにするために予備調査を16年中に行う、②予備調査の内容は、食事、血液、毛髪を用いた曝露評価、③今後のことについては予備調査を踏まえ検討するの3点で合意を得た。この協力を基に平成16年12月から平成17年1月にかけて予備調査を行った。その結果、前回調査に比べ曝露は大きく減少しておりその原因として魚摂取の減少があることが判明した。今後流通産業の活発化により汚染はさらに低下し全国レベルに到達すると考えられるが、引き続き継続し観察する予定である。

A. 研究目的

水銀は、太古より用いられてきた金属であり19世紀以降大量に環境中に放出されてきた。近年、先進国は排出の削減に努めて来たが、電力需要の増加により化石燃料である石炭の使用で環境中への放出が懸念されている。

環境中に放出された水銀は、生態系で主として深海に生息する嫌気性の硫酸還元菌によりメチル化される。メチル水銀は、生態系での食物連鎖を受け食物連鎖のより上位に位置する生物内で濃縮される。

ヒトにおける水銀の曝露は、主として食事として摂取される海産物であることが知られている。特にマグロや

カジキなどの大型魚および海洋性の哺乳類の摂取により曝露が生じることが報告されてきた。

現在まで、メチル水銀の胎内高濃度曝露により児の発達障害が生じることがわが国の水俣病あるいはイラクの事例でも証明されている。しかし、食事を介する低濃度のメチル水銀曝露により何らかの健康影響が生じるかについては不明であった。そこで、食事を介した曝露の健康影響を検討するために2つの代表的な研究が行われた（SeychellesおよびFaroe諸島での研究～詳細は後述）。

これらの代表的な研究の曝露レベルは、毛髪水銀レベルとして（毛髪水銀のほぼ全量がメチル水銀である）10ppm 以下である。2つの研究の結果は一致はしないが、Faroe 諸島の研究では、子宮内の曝露によって胎児に発達障害が生じる可能性が示唆された。

わが国では魚類の摂取頻度が高く、特に沿岸部ではマグロやカジキなど大型魚類の摂取頻度が高いことが知られてきた。従ってわが国の沿岸部の住民は2つの大規模研究に匹敵する曝露の可能性が考えられたため、1980年代、1995年に全国で集められた生体バンクの試料を用いて食事および血液中のメチル水銀濃度を評価した。その結果、宮城県唐桑町で曝露濃度が高いことが判明し、本バンクの趣旨である地域への情報還元の一環として地域住民にリスクコミュニケーションを行い2004年12月から2005年1月にかけて予備調査を行った。リスクコミュニケーションの結果および2005年の現況および課題について報告する。

B. 研究方法

1. 生体試料バンクを用いた検討—
1980年1995年の変化： 試料は、1979年から1981年および1994年から1996年の2度にわたり、北海道大樹町、宮城県唐桑町、群馬県尾島町、石川県金沢市、島根県斐川町、愛媛県松山市、鹿児島県始良町、沖縄県石垣市の女性の住民から集められた。参加者の職業は、農業でありほぼ人生の大半をその土地で過ごし、その地域の食習慣をよく受け継いでいる人々である。参加者からは、採血時に同時に前日の食事1日分を陰膳方式で採取を依頼した。陰膳では、被験者が摂取したものと同じ分量の食事、飲み物、および菓子、果物を採取した。

メチル水銀の測定に用いた試料の提供者はすべて女性（80名）で、各人から同時に採取した食事試料と血液試料（全血）の両方を使用した。各調査地点について、2年以上の間隔で2回採取した食事および血液試料をそれぞれ5検体ずつ使用した。

表1参加者の年齢

		平均	N	標準偏差	Q25	中央値	Q75
1980年	北海道	42.8	5	9.36	38	39	45
	関東	47.2	5	7.26	45	46	52
	中国	49.2	5	4.38	45	51	53
	四国	44.4	5	16.26	31	42	54
	九州	45.4	5	8.91	41	41	51
	沖縄	41.2	5	14.72	38	39	42
	北陸	34.4	5	4.77	31	34	37
	東北	49.8	5	3.27	49	50	51
1995年	北海道	52.2	5	6.22	51	52	55
	関東	43.2	5	3.56	43	43	44
	中国	48.6	5	4.88	50	50	51
	四国	57	5	3.94	56	57	57
	九州	57.6	5	10.01	54	55	67
	沖縄	48.4	5	5.55	45	49	52
	北陸	46.2	5	9.15	39	45	54
	東北	63.4	5	5.50	63	66	67
2003年	東北	61.4	12.0	13.1	53.0	61.0	74.0
	全グループ	50.1	92.0	11.5	42.0	51.0	57.0

血液や食事試料の可溶化脱脂処理液の 1.0ml 又は 2.0ml を 15ml プラスチックチューブに移した。これをハロゲン酸酸性にする為に 3.0ml の 4N HBr を加え、メチル水銀遊離剤としての 2M CuCl_2 を 0.5ml を加え、更にトルエンの 6.0ml を加えて振盪 (10 分間) 遠心 (10 分間) し、トルエンの 4.0ml を別のプラスチックチューブに分取した。これにシスチン-アセテート (0.5% Cysteine-HCl-1.2% CH_3COONa) 溶液の 1.0ml を加え、振盪 (10 分間) 遠心 (10 分間) し、上層のトルエンを除去した。残ったシスチン-アセテート溶液を用いて加熱気化原子吸光法によりメチル水銀を測定した。検量線は、メチル水銀の標準品によりシスチン溶液調整し、試料と同様に酸度や溶液量を調整し、抽出分離しメチル水銀を測定して作成された。この方法は、日本国のメチル水銀分析の公定法 (旧厚生省) の一部を修正し適用したものである。

2. 2003 年度の調査: 1980 年および 1995 年度に調査を行った宮城県唐桑町で、曝露の現況を知る目的で予備調

査を行った。この地域では、後述の如く過去 2 回の調査により Faro 諸島および Seychelles 諸島に匹敵するメチル水銀曝露が想定され、早期の曝露管理の可能性も念頭に置き検討する必要があると判断し選定した。調査は唐桑町の前回の調査に参加していただいた地区の人々の外、広く参加者を募った (約 150 名)。調査は、①メチル水銀曝露推定のための調査票 (添付資料)、②毛髪中の水銀濃度の測定、③陰膳方式での食事の採取を行った。

毛髪中水銀濃度の測定方法は分担研究者の蜂谷が報告する (p123-131) のでここでは触れない。

(倫理面での配慮)

本研究は疫学の倫理指針に基づき行われており、京都大学大学院医学研究科・医学部医の倫理委員会で承認されている。

C. 研究結果

1. メチル水銀曝露の経年変化: 1980 年、1995 年の各地の調査に参加した人々の年齢を表 1 に示した。

表 2 魚の摂取量 (g/day) の変遷

		N	魚の摂取量						
			平均	標準偏差	GM	GSD	Q25	中央値	Q75
1980年	北海道	5	66.4	62.84	64.1	2.5	18	67	88
	関東	5	136	92.81	118.4	1.7	97	99	112
	中国	5	107.2	66.33	89.0	2.1	68	103	130
	四国	5	103.7	54.95	93.5	1.7	76	95	104
	九州	5	84.4	79.64	38.6	6.2	28	54	160
	沖縄	5	3.66	6.95	2.1	7.3	0	0.3	2
	北陸	5	100.4	65.81	77.1	2.5	47	109	156
	東北	5	141.66	71.77	131.2	1.5	108.3	111	112
1995年	北海道	5	31.8	49.72	21.5	3.4	6.9	15.5	16.7
	関東	5	38.54	50.85	16.2	11.1	0.5	27	41.4
	中国	5	63.74	12.70	62.7	1.2	52.8	64.7	75.2
	四国	5	105.04	55.57	89.4	2.0	73.9	110.5	141.8
	九州	5	55.9	31.23	42.0	2.9	43.2	72.4	74.6
	沖縄	5	60.12	59.78	45.4	4.3	5.4	57.6	98.9
	北陸	5	86.26	73.43	53.7	3.6	46.2	54.6	136.8
	東北	5	173.52	74.48	163.1	1.5	131.5	132.7	185.7
2003年	東北	12.0	52.5	48.3	45.7	2.4	22.9	42.8	72.9
全体	全グループ	92.0	80.1	67.7	54.6	3.6	27.0	72.2	119.1

また過去2回と同様の陰膳による食事の提出と血液の提供をいただいた2003年の調査に参加した方々の年齢を示した(2003年 東北)。2003年においても過去との調査との整合性をはかるため本調査は女性とした。

1995年の参加者は1980年の調査に比べ高齢者が多い。また東北地域(唐桑町住民)での2003年の調査の参加者は1995年の参加者と年齢はほぼ同じである。

メチル水銀の曝露は、魚の摂取量と正の相関があることが知られている。そこで、1980年から1995年全国の魚の摂取を調べるとともに今回の予備調査でも調査した。魚類の摂取量については陰膳方式で収集した食事試料の実際の計測値を用いた。予想通り魚摂取には地域間で大きな違いが存在し東北地域では1980年台には大よそ幾何平均値で131.2g/日摂取し、1995年には163.1g/日を摂取していた。しかし、2003年の調査では48.3g/日まで減少していた。

次に血中メチル水銀の推移をみた。1980年代では、全国の幾何平均値は

10.8 μ g/Lであった。東北地区の調査地で提供された血液の幾何平均値は24.9 μ g/Lであり中央値は27.4 μ g/L全国の平均値の大よそ3倍の値を示した。1995年には、全国の中央値は10.8 μ g/Lであり、東北地区では大よそ3倍弱の中央値28.8 μ g/Lを示した。一方2003年の予備調査では幾何平均値が16.2 μ g/L、中央値が17.1 μ g/Lとなり減少傾向が認められた。

また、一日摂取量については、1980年代では、全国の幾何平均値が6.9 μ g/L、中央値が6.2 μ g/Lであったが、東北地域では幾何平均が25.6 μ g/L、中央値が30.9 μ g/Lであった、1995年には全国の幾何平均6.2 μ g/L、中央値6.1 μ g/Lに対して東北地域では、約3倍の16.0 μ g/Lを摂取していた。このように東北地区では食物を介するメチル水銀の曝露が大きいと考えられた。しかし、2003年には、血中濃度も幾何平均16.2 μ g/L中央値17.1 μ g/L、一日摂取量も幾何平均値5.1 μ g/L中央値も5.1 μ g/Lと大幅に減少し依然高いものの特出した地域的曝露は減少しつつあった。

表3 血中メチル水銀の濃度と一日摂取量の経年変化

	N	血中水銀濃度 (μ g/L)							一日摂取量 (μ g/日)						
		平均	標準偏差	GM	GSD	Q25	中央値	Q75	平均	標準偏差	GM	GSD	Q25	中央値	Q75
1980 北海道	5	12.8	5.9	11.8	1.5	8.9	9.4	15.9	6.2	5.0	4.8	2.3	4.7	4.9	5.4
関東	5	14.5	3.3	14.2	1.3	12.0	15.8	15.9	50.6	91.1	16.7	4.5	6.2	10.6	17.7
中国	5	6.4	2.2	6.1	1.4	4.7	5.5	7.7	6.7	5.3	5.5	2.0	4.8	5.2	5.4
四国	5	8.0	0.9	8.0	1.1	7.5	8.4	8.6	7.1	1.5	6.9	1.2	6.5	6.9	7.7
九州	5	8.3	2.4	7.9	1.4	8.2	8.7	8.8	6.7	2.4	6.4	1.4	5.0	6.3	7.0
沖縄	5	12.2	7.4	10.5	1.8	7.2	12.3	12.4	1.8	1.0	1.4	2.5	1.4	2.2	2.3
北陸	5	11.3	4.1	10.8	1.4	8.7	10.9	11.3	8.1	4.2	7.1	1.9	6.8	8.2	8.2
東北	5	28.4	14.6	24.9	1.9	25.0	27.4	30.3	50.3	68.9	25.6	3.6	9.6	30.9	33.4
全グループ	40	12.7	8.8	10.8	1.7	7.8	9.3	15.9	17.2	41.6	6.9	3.2	4.8	6.2	10.1
1995 北海道	5	7.4	1.3	7.3	1.2	6.4	7.2	8.1	4.4	3.8	3.0	2.7	1.5	2.2	8.4
関東	5	23.0	9.1	21.8	1.4	18.0	19.5	23.3	4.7	4.4	3.7	2.0	2.8	2.8	2.9
中国	5	8.1	3.3	7.6	1.6	6.0	8.1	9.8	4.9	2.6	4.5	1.6	3.9	4.3	4.8
四国	5	7.9	2.8	7.5	1.5	7.3	7.5	8.9	6.5	2.1	6.2	1.4	5.7	6.5	6.8
九州	5	9.3	2.3	9.1	1.3	8.0	8.0	9.2	6.9	3.5	5.6	2.3	5.7	8.4	8.5
沖縄	5	17.2	11.3	14.7	1.8	8.7	16.4	17.0	21.7	22.3	11.6	4.0	4.7	10.9	39.8
北陸	5	18.8	7.3	17.5	1.5	12.3	22.2	22.9	7.4	7.6	4.6	3.1	2.5	3.9	9.6
東北	5	28.7	6.7	28.1	1.3	23.1	28.8	31.0	35.6	31.0	24.0	2.7	14.3	16.0	61.2
全グループ	40	15.0	9.6	12.5	1.8	8.0	10.8	22.0	11.5	16.6	6.2	2.9	2.8	6.1	10.1
2003 東北	12	17.0	5.4	16.2	1.4	13.9	17.1	19.8	7.9	8.6	5.1	2.6	3.4	5.14	7.3

2. 唐桑地域のメチル水銀曝露の現況
 宮城県唐桑地区は、1980、1995年と過去2回の調査で全国的にみて曝露が高いため、唐桑地区で住民を対象として、①毛髪水銀の水銀濃度、②問診票による魚摂取の頻度と種類について予備調査を行った。128名の参加を得て、毛髪中の水銀濃度の分布は表4に示す如くである。最も曝露への注意が必要な妊娠可能な年齢の女子の水銀濃度は、幾何平均値が3.2 ($\mu\text{g/g}$) 中央値が3.3 ($\mu\text{g/g}$)、であり、90%上限値が5.4 ($\mu\text{g/g}$) であり米国環境省が必要な妊娠可能な年齢の女子の水銀濃度は、幾何平均値が3.2 ($\mu\text{g/g}$) 中央値が3.3 ($\mu\text{g/g}$)、であり、90%上限値が5.4 ($\mu\text{g/g}$) であり米国環境省あるいはWHOと各国の専門家で作るJECFA (Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations/WHO Expert Committee on Food Additive) の勧告値 (表5) よりは高いが、旧厚生省の基準値以下であった。

またこの他のグループにおいては90%タイルは女性においてはほぼ旧厚生省の勧告値を下回っている。しかしこの一方男子においては、15歳未満グループにおいて下回っているが

16-49歳のグループでは大きく上回っている。

次に、メチル水銀の曝露源である魚の摂取について問診票で検討した。表6に示すように唐桑地域では45.3%の人々がほとんど毎日魚を食べていた。さらに魚摂取の頻度毎に階層化し毛髪水銀の濃度を比較したところ、明らかに魚の摂取の頻度と毛髪水銀濃度の有意な正の関連が認められた ($p < 0.05$)。

予想通り、週1回以上マグロあるいはカジキを食べる人々では毛髪水銀濃度は他のグループに比べ明らかに高く、幾何平均値および算術平均値とも頻度が高くなるにつれて毛髪水銀濃度は増加した。以上から、唐桑地区においてメチル水銀の曝露が高い理由として、地域特産の遠洋漁業によるマグロの高頻度摂取が原因と考えられた。

D. 考察

唐桑地区は、遠洋漁業が盛んであり、マグロなどの高級魚が一年を通じて入手可能である。そのこうした魚を食物として日常の食卓に乗せることが地域の特色ある食文化を形成してきた。

表4. 毛髪水銀濃度

	年齢	人数	ppm								
			M	SD	GM	GSD	Q25	中央値	Q75	Q90	
女子	-15	26	3.3	1.9	2.7	1.9	1.9	3.0	4.0	5.1	
	16-49	29	3.5	1.4	3.2	1.5	2.7	3.3	4.1	5.4	
	50-	22	4.5	2.2	3.9	1.7	2.7	4.4	5.5	6.4	
	全体	77	3.7	1.9	3.2	1.7	2.5	3.3	4.9	6.2	
男子	-15	29	2.8	A 2.4	2.1	A 2.2	1.1	1.9	4.1	6.1	
	16-49	18	6.8	C 3.8	5.8	C 1.8	3.5	5.7	9.7	11.3	
	50-	4	4.6	B 1.5	4.4	B 1.5	3.4	5.1	5.7	-	
	全体	51	4.4	3.4	3.2	2.3	1.5	3.5	6.1	9.7	
全体		128	4.0	2.6	3.2	2.0	2.2	3.4	5.0	7.2	

表5. 体重50kg当たりの暫定的耐容週間摂取量

	摂取量(μg/週)	毛髪濃度(μg/g)	血中濃度(μg/L)
旧厚生省(1973)	170	6.3	25.3
米国環境省(2001)	35	1.3	5.2
JECFA(2003)	80	3.0	12.0

表6 魚の摂頻度と毛髪水銀濃度

	人数	毛髪水銀濃度(μg/kg)								
		平均	標準偏差	GM	GSD	Q25	中央値	Q75		
ほとんど毎日	58	5.1	A	3.0	4.3	A	1.8	3.3	4.3	6.4
時々	66	3.2	B	1.8	2.7	B	1.9	1.9	3.0	4.0
ほとんど食べない	4	1.0	C	0.3	1.0	C	1.4	0.8	1.1	1.3
全グループ	128	4.0		2.6	3.2		2.0	2.2	3.4	5.0

表7 マグロとかじきの摂頻度と毛髪水銀濃度

	人数	毛髪水銀濃度(μg/kg)								
		平均	標準偏差	GM	GSD	Q25	中央値	Q75		
週1回以上	26	6.1	A	3.5	5.1	A	1.9	3.5	5.0	6.8
月に1回以上	56	3.9	B	2.0	3.4	B	1.8	2.5	3.9	5.0
半年に1回以上	33	3.3	B	2.0	2.9	B	1.8	2.2	3.0	3.6
食べない	13	1.6	C	1.0	1.4	C	1.8	0.8	1.3	1.9
全グループ	128	4.0		2.6	3.2		2.0	2.2	3.4	5.0

試料バンクを用いた検討で明らかになったように、唐桑地域では1980年、1995年と全国8箇所の調査地の中で最高の血中メチル水銀濃度を示し、同時に一日摂取量も旧厚生省の勧告値を超えた値が観測されていた。魚の摂取量も他の地域に比べて多いことから魚の多食により曝露量が高い値を示したものと思われる。しかし、2003年の予備調査では、陰膳方式で採取した食事中および血中のメチル水銀濃度は減少していた。

さらにこの事実を一般住民で確認するため、128名より毛髪を採取するとともに質問紙票を用い、メチル水銀曝露評価を行った。その結果、妊娠可能とされる16-49歳の女子では、上限90%タイルは旧厚生省の勧告値以下であり平均値はJECFA勧告値と同等であり、この年齢層ではリスクは高くな

いと考えられる。また50歳以上の年齢層の助成においても、旧厚生省の勧告値以下であり同様にリスクは高くないと考えられる。しかし、男性においては15歳以下の若年者を除き、16-49歳および50歳以上の2グループにおいて旧厚生省の勧告値を大よそ25%以上の人々が越えている。今後これらの人々への介入が必要となろう。

今回の食物を介したメチル水銀の曝露の減少傾向は、遠洋漁業の資源の減少による衰退の外、広域な食物流通産業の影響が考えられる。所謂コンビニをはじめとする流通産業の隆盛は、マーケットのGlobal化をもたらし、地方特有の食文化を失わせてきた。その結果、地域特有の汚染源への曝露の機会が減少するとともに、全国均一な汚染が生じることが考えられる。

表8 全国で購入した市販食で3食を構成した場合のメチル水銀摂取

購入地	日分	平均	標準偏差	GM	GSD	Q25	中央値	Q75
秋田市	10.0	4.59	AB	3.7	2.8	AB	3.5	1 3.9 8
西宮市	10.0	3.36	AB	2.6	2.7	AB	2.1	2.3 2.65 3.8
高知市	10.0	11.15	A	11.4	6.5	A	3.4	4.2 6.6 16.8
仙台市	10.0	3.08	AB	1.8	2.6	AB	1.8	1.7 2.4 4.1
那覇市	10.0	1.25	B	0.8	1.1	B	1.6	0.7 1.15 1.4
高山市	10.0	3.15	AB	3.4	2.2	AB	2.3	0.9 2.35 2.8
東京都	10.0	3.13	AB	3.6	2.0	AB	2.7	0.9 1.75 5
和歌山市	10.0	3.89	AB	3.8	2.7	AB	2.2	1.2 2.1 5.5
全体	80.0	4.2		5.4	2.5		2.7	1.2 2.3 5

表8は、所謂コンビニ弁当、コンビニ惣菜で1日の献立を構成し一日の曝露を推定したものである。表8（分担研究者蜂谷博士の報告で詳しく触れるのでここでは引用に留める）に示すように高知市で購入した食事と那覇市で購入した食事の間に水銀量の有意な差存在するが、それ以外の地方間では有意な差は存在しない。予想通り曝露の均質化が認められる。

以上から、今後は曝露に関して全国均質化が進むものと予想される。その結果メチル水銀については唐桑町のような地域の食文化による汚染は減少するものと思われる。

E. 結論

現在我々は化学物質の長期汚染の動向を評価するのに有用な血液および食事からなる試料バンクを構築しつつある。このバンクに貯蔵されている1980年、1995年の試料を用いて、全国の8箇所でのメチル水銀の曝露を評価した。その結果、東北地区のサンプリングサイトである宮城県の唐桑町の人々が、メチル水銀の高濃度汚染地域である Seychelles あるいは Faroe 諸島と同レベルの曝露があることが判明した。これらの結果を受け、情報の地域還元の一環として情報を

還元するとともにリスクコミュニケーションを行った。同時に2003年に食事、血中、毛髪中の曝露を予備的に評価した。前回の調査に比べ大きく曝露は減少しておりその原因として魚摂取の減少があることが考えられた。今後流通産業の活発化により汚染はさらに低下し全国レベルに到達すると考えられる。しかし、予備調査の値は、高濃度曝露者が存在する事を示唆しており本格的な調査が必要と結論された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Koizumi A et al. Historical exposure levels of methyl mercury in Japan and current trend in highly exposed population. Environmental Res. (in Preparation)

2. 学会発表・その他

なし

H. 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

なし

I. リスクコミュニケーション

1. 背景:

米国環境省 (Environ Protection Agency:EPA) は、2001年にメチル水銀の耐用量を大きく引き下げる勧告値を行った。改訂の背景となる根拠は2つの大規模追跡研究である。その一つは Seychelles 諸島で行われた魚の高頻度摂取によるメチル水銀曝露が考えられる集団を追跡した研究であり、妊娠女性とその子を9年間追跡した研究である。Outcomeは発達障害である。子宮内曝露の指標として妊娠中の毛髪水銀濃度を用いている。この研究では、児の発達障害は認められなかった。もう一つの研究は、Faroe 諸島 (New Zealandの研究も参考にされたが規模が小さく勧告値の策定に決定的な影響は与えていない)の研究でありこの研究は、鯨など海産の哺乳類の摂取に

よるメチル水銀曝露が考えられる集団を追跡した研究であり、Outcomeは発達障害である。子宮内曝露の指標として臍帯血中のメチル水銀濃度を用いている。この研究では児の影響が7歳で認められ、発達毒性が認められた。米国環境省はこの事実を重く見て勧告値を、0.1 μg/kg/dayに引き下げる決定を行った。EPAは0.1 μg/kg/dayを勧告しておりわが国の婦人の標準体重50kgを標準として考えると5 μg/dayが勧告値となる。

我々は、このようなメチル水銀をめぐる各国の毒性評価の動向から、試料バンクを用いて、メチル水銀の長期曝露状況を評価する事にした。その結果宮城県唐桑地域では、米国環境省の勧告値を大きく越えることが判明した。幾何平均値は1980年、1995年の2回の調査において約5倍であった。また、この2回の調査で、1973年のわが国の旧厚生省の勧告値である週170 μgを越える人々が約50%いることが判明した。上記事実を重大と考え、現地に曝露の現況を知るための予備調査を行うことを前提にリスクコミュニケーションを行った。

表9 米国の勧告値の改訂に影響を与えた2つの代表的研究

研究	曝露レベル(ppm)	用いた生体曝露指標	参加人数	結果
Seychelles child development study	6.9±4.5	妊娠中の母の毛髪	717	子宮内曝露による児の発達障害はない。
Faroe birth cohort study	4.27 (2.6-7.7)	妊娠中の母の毛髪 (Q25-Q75)	917	達障害の可能性を示唆
	2.99 (1.7-6.1)	7歳児の毛髪		