

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)

C) 特許取得

なし

D) 実用新案登録

なし

E) その他

なし

I. 文献

[1] G. Schade, and B. Heinzow, Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in human milk of mothers living in northern Germany: current extent of contamination, time trend from 1986 to 1997 and factors that influence the levels of contamination, *Sci Total Environ* 215 (1998) 31-39.

[2] A. G. Craan, and D. A. Haines, Twenty-five years of surveillance for contaminants in human breast milk, *Arch Environ Contam Toxicol* 35 (1998) 702-710.

[3] F. Dallaire, E. Dewailly, G. Muckle, and P. Ayotte, Time trends of persistent organic pollutants and heavy metals in umbilical cord blood of Inuit infants born in Nunavik (Quebec, Canada) between 1994 and 2001, *Environ Health Perspect* 111 (2003) 1660-1664.

[4] I. Watanabe, T. Yakushiji, K. Kuwabara, S. Yoshida, K. Maeda, T. Kashimoto, K. Koyama, and N. Kunita, Surveillance of the daily PCB intake from diet of Japanese women from 1972 through 1976, *Arch Environ Contam*

Toxicol 8 (1979) 67-75.

[5] S. Sugiyama, S. Tatsumi, H. Noda, M. Yamaguchi, A. Furutani, and M. Yoshimura, Secular changes of PCB concentration accumulated in organs and tissues of Japanese from 1974 to 1989, *Nippon Hoigaku Zasshi* 49 (1995) 466-471.

[6] P. G. Tee, A. M. Sweeney, E. Symanski, J. C. Gardiner, D. M. Gasior, and S. L. Schantz, A longitudinal examination of factors related to changes in serum polychlorinated biphenyl levels, *Environ Health Perspect* 111 (2003) 702-707.

[7] H. Kiviranta, T. Vartiainen, and J. Tuomisto, Polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans, and biphenyls in fishermen in Finland, *Environ Health Perspect* 110 (2002) 355-361.

[8] W. Maruyama, K. Yoshida, T. Tanaka, and J. Nakanishi. Simulation of dioxin accumulation in human tissues and analysis of reproduction risk. *Chemosphere* 53 (2003) 301-313.

[9] Y. Masuda, K. Haraguchi, S. Kono, H. Tsuji and O. Papke. Concentration of dioxins and related compounds in the blood of Fukuoka residents. *Chemosphere* 58 (2005) 329-344.

[10] M. T. Kinirons and M. S. O' Mahony, Drug metabolism and ageing. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 57 (2004) 540-544.

表 1. 研究参加者の属性

	1980 survey	1995 survey	2003 survey	P
No of Participants	80	80	90	
Age	42.8±10.6	51.9±9.8	36.2±9.8	<0.01

表2 1980年、1995年、2003年調査における食事中、血清中PCB濃度

Total PCBs in serum (ng/g lipid)				ANOVA
	1980 survey (N=40)	1995 survey (N=40)	2003 survey (N=90)	p
GM (GSD)	163.0 (1.7)	142.6 (2.0)	86.5 (2.0)	
M±SD	184.6± 91.1	184.3±168.8	109.9± 86.3	<0.01
Median	171.5	138.8	90.7	
Total PCBs in food (ng/day)				ANOVA
	1980 survey (N=40)	1995 survey (N=40)	2003 survey (N=80)	p
GM (GSD)	522.8 (2.5)	165.9 (3.3)	63.5 (3.2)	
M±SD	787.1±809.0	293.3±316.8	132.3±197.9	<0.01
Median	510.3	196.2	51.5	

表 3 食事中PCB 1日摂取量

Year of survey	No.	Total (ng/day)						Penta (ng/day)			Hexa (ng/day)			Hepta (ng/day)		
		GM	GSD	*	#	Q25	Median	Q75	GM	GSD	*	GM	GSD	*	GM	GSD
1980	40	522.8	2.5	A	284.3	510.3	925.0	121.6	2.6	A	274.7	2.5	A	120.2	2.5	A
1995	40	165.9	3.3	B	87.0	196.2	403.1	41.0	3.1	B	88.4	3.5	B	33.5	3.4	B
2003	80	63.5	3.2	C	30.0	51.5	127.1	17.0	3.2	C	32.1	3.3	C	13.4	3.3	C
Total	160	136.7	4.1		41.1	139.2	447.5	34.7	3.9		70.7	4.3		29.1	4.3	

GM: Geometric mean.

GSD: Geometric standard deviation.

In 1980 and 1995, diets were collected in Hokkaido, Tohoku, Kanto, Chubu, Chugoku, Shikoku, Kyushu and Okinawa.

In 2003, diets were collected in Tohoku, Kanto, Chubu, Kinki, Shikoku and Okinawa.

*: ANOVA revealed that these values differ by category. Values with different letters are significantly different from each other. For example, a value indicated by A differs significantly from values indicated by B or C.

表 4 年齢別・年代別 血清中PCB濃度

Time era- and age-specific total PCBs and isomer concentrations in the serum																		
Survey year	Age (Years)	No.	Total PCBs (ng/g lipid)						Penta (ng/g lipid)			Hexa (ng/g lipid)			Hepta (ng/g lipid)			
			GM	GSD	*	#	Q25	Median	Q75	GM	GSD	*	#	GM	GSD	*	#	GM
1980	<40	17	185.1	1.8	a	110.2	194.6	290.3	55.0	1.9	a	87.2	1.9	a	37.2	1.7	a	
	40-50	11	177.1	1.4	a	150.2	182.8	228.6	51.3	1.6	a	87.8	1.4	a	35.2	1.5	a	
	>50	11	123.3	1.6	a	76.5	125.3	163.6	34.8	1.7	a	57.7	1.6	a	26.3	1.7	a	
1995	<40	2	82.5	2.3	ab	46.1	82.5	147.7	18.3	1.8	ab	42.9	2.3	ab	20.8	2.8	ab	
	40-50	15	130.9	2.0	b	75.4	114.5	179.9	24.9	2.1	b	67.8	2.2	ab	34.0	2.0	ab	
	>50	23	158.2	1.9	ab	90.4	162.5	221.2	31.4	2.0	ab	81.2	2.0	ab	40.5	1.8	ab	
2003	<40	59	67.7	1.8	A b	43.0	64.8	106.0	11.7	1.8	A b	35.9	1.9	A b	19.5	1.9	A b	
	40-50	21	108.2	1.6	B	68.7	109.9	139.0	17.4	1.6	B c	55.8	1.6	B	34.6	1.6	B	
	>50	10	231.1	1.7	C b	174.6	234.5	326.9	35.4	1.9	C	120.9	1.7	C b	73.2	1.7	C b	
Total		169	112.7	2.0		67.4	113.8	181.2	22.3	2.3		57.7	2.0		29.7	2.0		

GM: Geometric mean.

GSD: Geometric standard deviation.

Statistical tests were carried out by ANOVA after Scheffe's test.

*: Comparison among the three age groups within the same survey.

#: Comparison among the three surveys within the same age group.

図1 1980年、1995年、2003年調査における食事からのPCB摂取の変遷

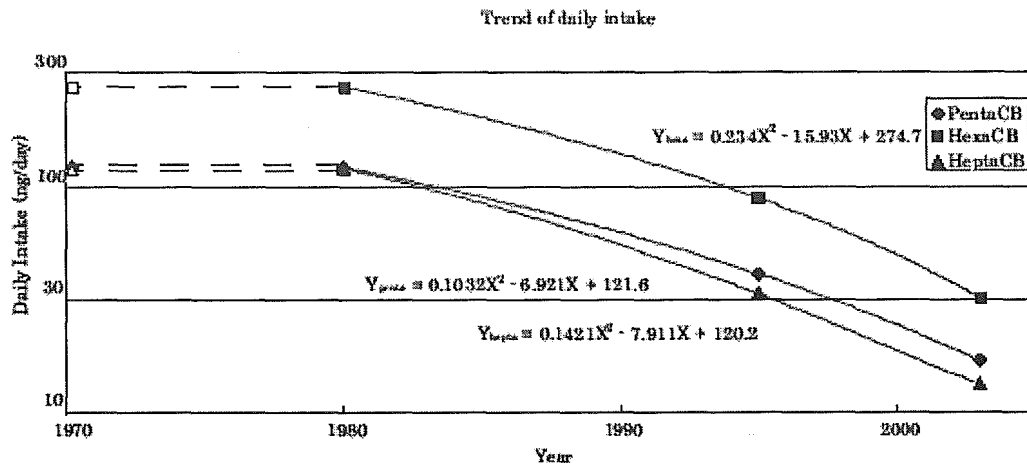


図2 PCBの年齢による代謝低下の2モデル

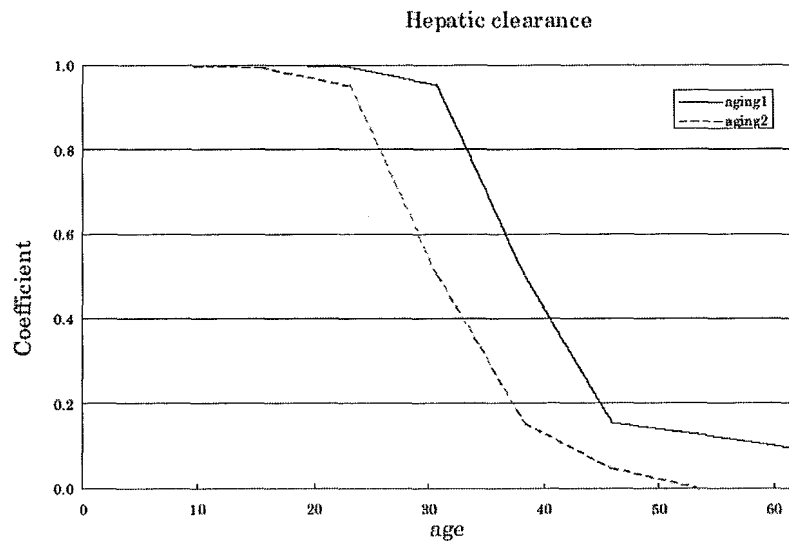
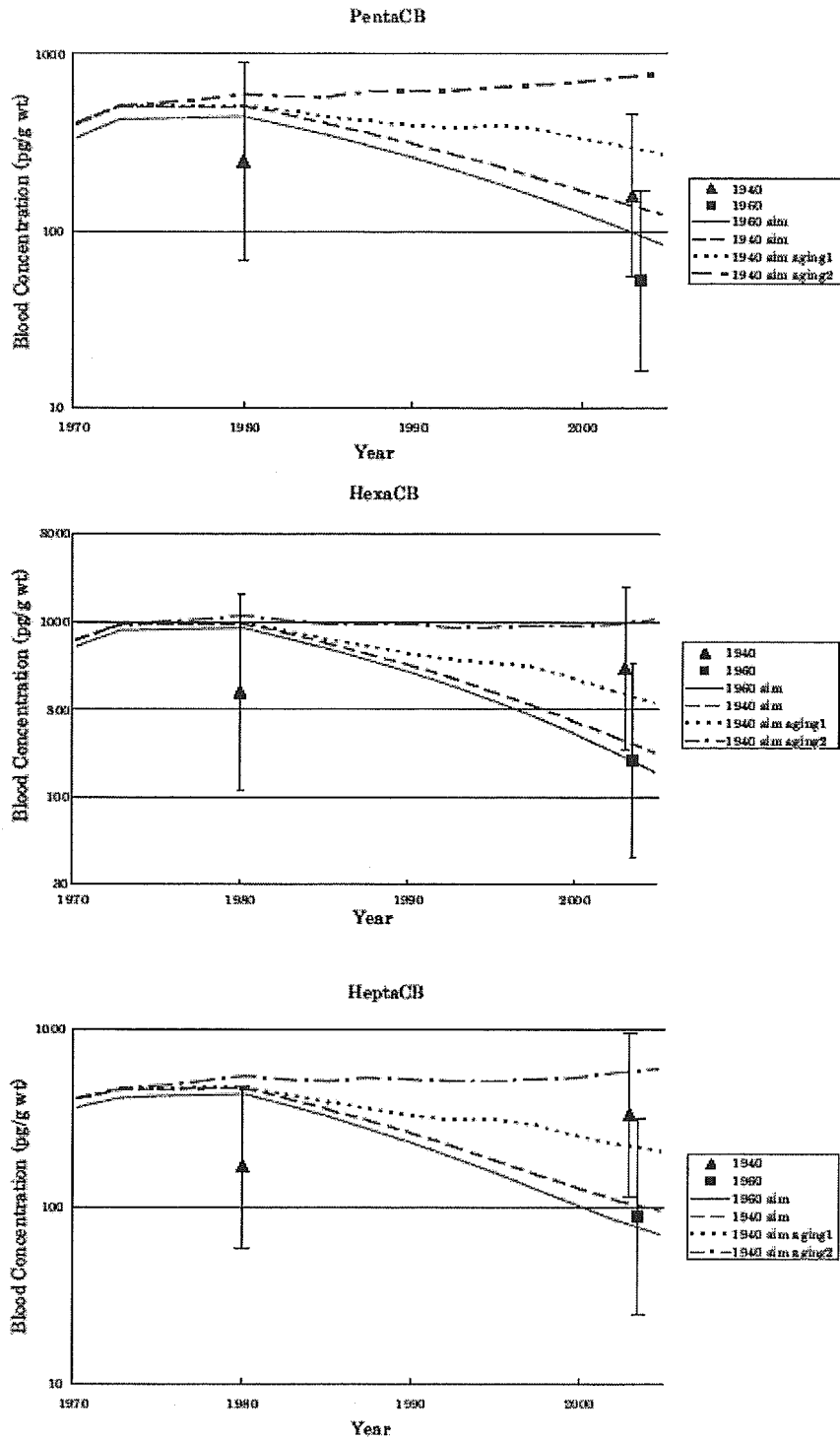


図3 血清中P C B濃度の1940年、1960年生まれのシミュレーション



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

ポリ臭素化ジフェニルエーテル(PBDEs)とポリ塩化ビフェニル(PCB)の
授乳中女性の曝露状況と血液から母乳への異性体の移行の分析に関する研究

主任研究者 小泉 昭夫 京都大学大学院医学研究科教授
分担研究者 井上 佳代子 京都大学大学院医学研究科講師
分担研究者 竹中 勝信 高山赤十字病院 脳神経外科部長
班友 清水 卓 清水産婦人科医院 院長
班友 河野 誠 河野産婦人科医院 院長
班友 上原 茂樹 東北公済病院部長

研究要旨

厚生労働省化学物質リスク研究事業として平成15年度に京都大学大学院医学研究科生体試料バンクの試料を用いて、PBDEs、PCBsの血清中濃度および母乳濃度の経年変化を追ってきた。今回、両物質の授乳中の女性における2005年の曝露状況の把握と、新生児の曝露状況を考慮するために両物質の異性体の血液中から母乳への移行の分析をおこなった。4地域より89人の血液と母乳のpaired検体とライフスタイルや食事内容のquestionnaireの提供を受けた。PBDEsにおいては、deca-BDEを含む13異性体を測定し、PCBsにおいても、deca-CBを含む17異性体を測定した。PBDEsの血清中濃度および母乳中濃度の幾何平均値は2.89 ng/g lipidおよび1.56 ng/g lipidであり、PCBsの血清中濃度および母乳中濃度の幾何平均値は37.5 ng/g lipidおよび63.9 ng/g lipidであった。PBDEs値には地域において、PCBs値は授乳期間において有意差が認められた。両物質の異性体の血液中から母乳への移行を構造活性相関を用いて分析し、オクタノール-水分配係数と分子量が顕著な決定因子であることを見出した。日本の授乳中女性はBDE-209に曝露されているが、BDE-209の母乳中への移行は少なく、母乳中にはBDE-47やBDE-153の割合が高かった。PBDEs、PCBsの血清中から母乳中への移行モデルを作成したが、このモデルで授乳10週までの移行をよく説明できた。

A. 研究目的

難分解性有機化学物質(POPs)のヒト曝露状況の経年変化、地域差、すなわち時間的、空間的曝露状況を把握し、的確な施策への反映を目的として、我々は、平成15年度より厚生労働科学研究費補助金により京都大学大学院医学研究科に生体試料バンクを創設し、生体試料の収集・保存をおこない、

曝露状況の経年変化、地域差を分析してきた。

難燃剤として広く生活用品や電気用品に使われてきたPBDEsは、生体内に蓄積しやすい性質があり現在多くの生物から検出されており^{1,2,3)}、ヒトの母乳や血液中の曝露も我々がこの生体試料バンクの試料を用いて証明

してきた^{4,5)}。一方、PCBsに関して1970年代の製造禁止以後、ヒト血液中および食事中濃度が減少してきていることも我々がこの生体試料バンクを用いて証明してきた⁵⁾。

今回、我々は、PBDEs、PCBsの授乳中の女性における2005年の曝露状況の把握と、ライフスタイルや食事内容などの曝露リスク要因の分析を行なう。さらに新生児の曝露状況を考慮するために両物質の異性体の血液中から母乳への移行の分析を構造活性相関を用いて行い、移行説明モデルを構築する。

B. 研究方法

B-1 測定検体と質問紙票

本研究は京都大学医学部・医学研究科医の倫理委員会の承認を得て行ない、すべての参加者から書面によるインフォームドコンセントを得て実施した。厚生労働省化学物質リスク研究事業の岐阜県分担研究者である竹中勝信および班友（北海道：河野誠、宮城：上原茂樹、兵庫：清水卓）により、2005年4月から6月の3ヶ月間の間に89人の血液と母乳のpaired検体とライフスタイルや食事内容のquestionnaireが収集された。血液10mlと母乳20mlは、同時に採取され、同日に質問票の記載をお願いした。母乳20mlは50mlのポリプロピレン製コニカルチューブに自己採取され-20℃に保存された。10mlの血液は医師あるいは看護師により採血され、5ml採血管2本に分注された後3000g15分間遠心し、血清をポリプロピレン製マイクロピペットチップを用いてポリプロピレン容器に入れ保存し、-20℃で保存した。母乳、血清ともに低温条件下で測定機関に搬送した（容器・器具は

すべてメタノールとアセトン（液体クロマトグラフ用）で洗浄して用いた）。ブランクとして同様に洗浄した8本の空のポリプロピレン容器と蒸留水を入れた8本のポリプロピレン容器を同時に搬送した。質問紙票の内容として、年齢、授乳期間、出産回数、最近5年間の居住地、喫煙習慣、飲酒習慣、薬剤あるいはサプリメント服用歴、食習慣、職業、室内装飾品・生活用品・電気製品の使用の有無と使用期間の記載をお願いした。

B-2 測定機関

検体の測定は、株式会社島津テクノリサーチ分析本部事業推進開発室高菅卓三博士に依頼した。

High-resolution gas chromatography/high-resolution mass spectrometryを用いた測定方法は、高菅の報告どおりである^{6,7)}。

B-3 測定物質

PBDEsの13異性体（IUPAC Nos. 15, 28, 47, 99, 100, 153, 154, 183, 196, 197, 206, 207, 209）、PCBsの17異性体（IUPAC Nos. 74, 99, 118, 138, 146, 153, 156, 163/164, 170, 180, 182/187, 194, 199, 206, 209）を測定した。PCBsの異性体の検出限界は、血清、母乳ともに1pg/g wetであり、PBDEsの異性体の検出限界は、血清、母乳ともにdi-BDEからhepta-BDEまでは0.2あるいは2pg/g wet、octa-BDEからdeca-BDEまでは0.3~2pg/g wetである。血清試料を用いてコレステロールとトリグリセライドを測定し、血清中および母乳中のPBDEs、PCBsともに脂肪重量あたりの換算を行い、ng/g lipidで測定結果を表した。

B-4 構造活性相関分析

オクタノール-水分配係数（Kow）は文献によった^{8,9,10,11)}。定量限界以下の

測定値は除外し、50%以上のサンプルで検出できた異性体を構造活性相関分析に用いた。理論的な種々の記述子、たとえば、水溶性、屈折性、極性、Kowなどを含めて、Dragon software version 5.0 を用いて解析し、二変数の相関が0.7以上のものは除外した。ステップワイズ重回帰分析はSAS software version 8.2 を用いて行なった。

B-5 質問紙票の解析

質問紙票に記載された項目（年齢、授乳期間、出産回数、最近5年間の居住地、喫煙習慣、飲酒習慣、薬剤あるいはサプリメント服用歴、食習慣、職業、室内装飾品・生活用品・電気製品の使用の有無と使用期間）において、平均値の差の検定は分散分析あるいは Student' s t-test で行なった。質問紙票の変数の解析は共分散分析を行なった。統計解析には SAS software version 8.2 を用いた。

C. 研究結果

C-1 参加協力者

4地域からの参加協力者89人の属性および質問紙票の内容を表1に示した。89人の平均年齢は 30.1 ± 4.6 歳、平均出産回数は 1.45 ± 0.6 回、平均授乳期間は 13.6 ± 22.1 週であった（表1）。

C-2 PBDEs, PCBs 値

PBDEsの血清中濃度および母乳中濃度の幾何平均値は 2.89 ng/g lipid および 1.56 ng/g lipid であり、PCBsの血清中濃度および母乳中濃度の幾何平均値は 37.5 ng/g lipid および 63.9 ng/g lipid であった。地域別の幾何平均値を表2に示す。

C-3 異性体

PBDEs において、BDE-209は、血清中においてはその38%を占める優位な異性体であったが、母乳中において

はわずか8%であった（Figure1）。母乳中においてはBDE-47、BDE-153が主要な異性体であり、それぞれ28%、23%であった。PCBs において、CB-153、CB-138、CB-180が血清中、母乳中ともに主要な異性体であり、それぞれ血清中では28%、16%、15%であり、母乳中では30%、17%、13%であった。

C-4 地域差

表2に示すように母乳中のPBDEsは北海道で高値であり ($p < 0.05$)、血清中では宮城と岐阜が高値であった ($p < 0.05$)。PCBsにおいては、母乳中、血清中とも、宮城と兵庫が岐阜より高値であった ($p < 0.05$)。

C-5 授乳期間

共分散分析の結果、PBDEsは血清中、母乳中ともに地理的要因が関係し、PCBsは血清中、母乳中ともに授乳期間が関係することがわかった。そのため一地域（宮城）において解析を行い、血清中のPBDEs ($p = 0.0187$)、PCBsにおいては血清中 ($p = 0.0002$)、母乳中 ($p = 0.0059$) とも授乳期間が有意な因子であることが判明した。

C-6 構造活性相関分析

異性体のうち、50%以上のサンプルで検出されなかった、BDE-154、BDE-183、BDE-196、BDE-206は構造活性相関分析には用いなかった。まず、異性体ごとに、脂質重量あたりの母乳中濃度の、脂質重量あたりの血清中濃度に対する比の平均値を算出した。この平均値とさまざまな因子を用いて重回帰分析を行なったところ、log Kow と分子量の2因子が、必要かつ十分な評価因子であることが明らかになった。

PBDEs、PCBs の血清中から母乳中への移行は下記の式で表される ($r = 0.964$, $p < .001$)。

$\text{Log (分配係数)} = 1.225 - 0.0909$

$\log(Kow) - 0.00105$ (分子量)

算出した分配係数の信頼性を知るために、授乳期間を3期間にわけ、24個の異性体の分配係数のモデル式の期待値と観察値の平均の比較をおこなった (Figure 2)。

0-1 週 $n=26$ $Y=1.079X-0.101$
($r=0.891$, $p<.001$) (Fig. 2A)

2-10 週 $n=38$ $Y=0.890X-0.216$
($r=0.920$, $p<.001$) (Fig. 2B)

11 週以降 $n=25$ $Y=0.589X-0.397$
($r=0.781$, $p<.001$) (Fig. 2C)

授乳期間10週までは観察値は、期待値によく近似したが、11週以降はあまり良い近似ではなく、10週までは信頼性の高い結果が導き出せることを確認した。

D. 考察

難燃剤として種々の家庭内製品に使用されているPBDEsは、生体内に蓄積しやすい^{1,2,3)}。哺乳類の研究において胎盤や母乳を通して次世代に伝播され¹²⁾ 甲状腺などの内分泌系の障害や発達神経毒性¹³⁾ が報告されていることから、ヒト母乳中の濃度は注目されてきた。しかし、血液や尿などの生体試料と異なり、母乳は、妊娠可能な年代にある女性のしかも出産後の一時期だけしか協力を得ることができないため、血液試料から母乳中濃度を推定する方法が必要であった。

今回我々は、deca-BDE (BDE-209) も含めて、13異性体を、同時に同一人より採取した血清と母乳で測定した。同時にPCBsにおいても同様に17異性体を測定した。これまでの日本人の血清中濃度の報告ではBDE-209の強い曝露を示していた¹⁴⁾。しかし、今回の研究から、BDE-209は、血清中濃度は高

いが、母乳中への移行は少ないことが判明した。血清中濃度、母乳中濃度のどちらか一方だけを測定して他方を類推していたこれまでの方法では、評価が誤ることが判明した。

さらに、我々は、化学物質の血清中濃度から母乳中濃度を推定するモデルを構築するために、PBDEs、PCBsの各異性体の移行を構造活性相関を用いて解析し、分子量とKowが必要十分な因子であることを見出した。このモデルは授乳期間が10週までの母乳への移行を良くあらわしていた。これまで報告されていた血清中から母乳中への移行がPOPsでは授乳期間による^{15,16,17)} とQSARを使用した薬物の移行モデル¹⁸⁾ の、両者ともを説明する結果であった。

表3に諸外国との比較を示した。日本人女性の母乳中のPBDEsの値は、USA¹⁹⁾、カナダ²⁰⁾、メキシコ²¹⁾ に比べればずっと少なく、イギリス²²⁾、スウェーデン²³⁾、スペイン²⁴⁾、イタリア²⁵⁾、ドイツ²⁶⁾、フィンランド²⁷⁾ と同程度であった。

今後、授乳期間と化学物質の血液から母乳への移行について、また移行しにくい化学物質と女性の乳房疾患について、更なる研究が必要であると思われる。

E. 結論

日本の授乳中女性はBDE-209に曝露されているが、BDE-209の母乳中への移行は少なく、母乳中にはBDE-47やBDE-153の割合が高かった。構造活性相関を用いてPBDEs、PCBsの血清中から母乳中への移行モデルを作成した

が、このモデルで授乳10週までの移行をよく説明できた。

F. 健康危険情報
なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Levels of polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in serum and breast milk and their concentration ratios in Japanese women *Environmental Health Perspectives* 投稿中

2. 学会発表・その他

Inoue K, Harada K, Takenaka K, Kono M, Shimizu T, Uehara S, Takasuga T and Koizumi K. Octanol-water partition coefficient can predict the partition of POPs from serum to breast milk. Society of Toxicology, 45th Annual Meeting. March 5-9, 2006. San Diego USA.

H. 知的財産権の出願・登録状況

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) Covaci A, Bervoets L, Hoff P, Voorspoels S, Voets J, Van Campenhout K, et al. 2005. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in freshwater mussels and fish from Flanders, Belgium. *J Environ Monit* 7:132-136.

2) Kajiwara N, Ueno D, Takahashi A, Baba N, Tanabe S. 2004.

Polybrominated diphenyl ethers and organochlorines in archived northern fur seal samples from the Pacific coast of Japan, 1972-1998. *Environ Sci Technol* 38:3804-3809.

3) Watanabe K, Senthilkumar K, Masunaga S, Takasuga T, Iseki N, Morita M. 2004. Brominated organic contaminants in the liver and egg of the common cormorants (*Phalacrocorax carbo*) from Japan. *Environ Sci Technol* 38:4071-4077.

4) Eslami B, Koizumi A, Yoshinaga T, Harada K, Inoue K, Morikawa A, et al. 2005. Large-Scale Evaluation of the Current Level of Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) in Breast Milk from 13 Regions of Japan. *Chemosphere* 99:31-39.

5) Koizumi A, Yoshinaga T, Harada K, Inoue K, Morikawa A, Muroi J, et al. 2005. Assessment of human exposure to polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in Japan using archived samples from the early 1980s and mid-1990s. *Environ Res* 99:31-39.

6) Takasuga T, Senthilkumar K, Takemori H, Ohi E, Tsuji H, Nagayama J. 2004. Impact of fermented brown rice with *Aspergillus oryzae* (FEBRA) intake and concentrations of polybrominated diphenylethers (PBDEs) in blood of humans from Japan.

- Chemosphere 57:795-811.
- 7) Takasuga T, Senthilkumar K, Matsumura T, Shiozaki K, Sakai S. 2006. Isotope dilution analysis of polychlorinated biphenyls (PCBs) in transformer oil and global commercial PCB formulations by high resolution gas chromatography-high resolution mass spectrometry. Chemosphere 62:469-484.
 - 8) Braekevelt E, Tittlemier SA, Tomy GT. 2003. Direct measurement of octanol-water partition coefficients of some environmentally relevant brominated diphenyl ether congeners. Chemosphere 51:563-567.
 - 9) EU. 1999. Draft Risk assessment of diphenyl ether, pentabromo derivative (pentabromodiphenyl ether, of diphenyl ether, octabromo derivative, of bis(pentabromophenyl) ether (decabromodiphenyl ether).
 - 10) Hawker DW, Connell DW. 1988. Octanol Water Partition-Coefficients of Polychlorinated Biphenyl Congeners. Environ Sci Technol 22:382-387.
 - 11) Palm A, Cousins IT, Mackay D, Tysklind M, Metcalfe C, Alae M. 2002. Assessing the environmental fate of chemicals of emerging concern: a case study of the polybrominated diphenyl ethers. Environ Pollut 117:195-213.
 - 12) She J, Petreas M, Winkler J, Visita P, McKinney M, Kopec D. 2002. PBDEs in the San Francisco Bay Area: measurements in harbor seal blubber and human breast adipose tissue. Chemosphere 46:697-707.
 - 13) Meerts I, Itonka A. T. M., Letchere R J, Hoving S, Marsh G, Bergman A, Lemmen J G, van der Burg B, Brouwer A. In vitro estragenicity of polybrominated diphenyl ethers, hydroxylated PBDEs, and polybrominated bisphenol a compounds. Environmental Health Perspectives (2001) Vol. 109, Issue 4 399-407.
 - 14) Watanabe I, Sakai S. 2003. Environmental release and behavior of brominated flame retardants. Environment International 29:665-682.
 - 15) Aylward LL, Hays SM, LaKind JS, Ryan JJ. 2003. Rapid communication: partitioning of persistent lipophilic compounds, including dioxins, between human milk lipid and blood lipid: an initial assessment. J Toxicol Environ Health A 66:1-5.
 - 16) Greizerstein HB, Stinson C, Mendola P, Buck GM, Kostyniak PJ, Vena JE. 1999. Comparison of PCB congeners and pesticide levels between serum and milk from lactating women. Environ Res

- 80:280-286.
- 17) Wilson JT, Brown RD, Hinson JL, Dailey JW. 1985. Pharmacokinetic pitfalls in the estimation of the breast milk/plasma ratio for drugs. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 25:667-689.
 - 18) Fleishaker JC. 2003. Models and methods for predicting drug transfer into human milk. *Adv Drug Deliv Rev* 55:643-652.
 - 19) Schecter A, Pavuk M, Papke O, Ryan JJ, Birnbaum L, Rosen R. 2003. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in U.S. mothers' milk. *Environ Health Perspect* 111:1723-1729.
 - 20) Ryan JJ, van Oostdam J. 2004. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in maternal and cord blood plasma of several Northern Canadian Populations. *Organohalogen Compounds* 66:2579-2585.
 - 21) Lopez D, Athanasiadou M, Athanassiadis I, Estrada LY, Diaz-Barriga F, Bergman A. 2004. A Preliminary Study on PBDEs and HBCDD in Blood and Milk from Mexican Women. In: *Third International Workshop on Brominated Flame Retardants*, June 6-9 2004, Toronto, Ontario, Canada, 483-488.
 - 22) Kalantzi OI, Martin FL, Thomas GO, Alcock RE, Tang HR, Drury SC, et al. 2004. Different levels of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and chlorinated compounds in breast milk from two U.K. Regions. *Environ Health Perspect* 112:1085-1091.
 - 23) Sjodin A, Hagmar L, Klasson-Wehler E, Kronholm-Diab K, Jakobsson E, Bergman A. 1999. Flame retardant exposure: polybrominated diphenyl ethers in blood from Swedish workers. *Environ Health Perspect* 107:643-648.
 - 24) Schuhmacher M, Kiviranta H, Vartiainen T, Domingo LL. 2004. Concentrations of polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in breast milk of women from Catalonia, Spain. *Organohalogen Compounds* 66:2560-2566.
 - 25) Ingelido AM, Di Domenico A, Ballard T, De Felip E, Dellatte E, Ferri F, et al. 2004. Levels of Polybrominated Diphenyl Ethers in Milk from Italian Women Living in Rome and Venice. *Organohalogen Compounds* 66:2722-2727.
 - 26) Vieth B, Herrmann T, Mielke H, Ostermann B, Papke O, Rudiger T. 2004. PBDE levels in human milk: The situation in Germany and potential influencing factors—a controlled study. *Organohalogen Compounds* 66:2643-2648.
 - 27) Strandman T, Koistinen J,

Vartiainen T. 2000.
Polybrominated diphenyl
ethers (PBDEs) in placenta

and human milk. Organohalogen
Compounds 47:61-64.

Table 1. Characteristics of the participants

	Total	Hokkaido	Miyagi	Gifu	Hyogo	<i>p</i> value
Number of participants	89	20	40	20	9	
Age in years (mean \pm SD)	30.1 \pm 4.6	27.7 \pm 4.8	30.7 \pm 4.1	30.0 \pm 4.3	33.3 \pm 4.5	0.01
20s	45	13	19	10	3	0.66
30s	40	6	20	9	5	
40s	4	1	1	1	1	
Parity (mean \pm SD)	1.45 \pm 0.6	1.55 \pm 0.8	1.33 \pm 0.5	1.55 \pm 0.7	1.56 \pm 0.5	0.43
Nursing week at collection of breast milk (mean \pm SD)	13.6 \pm 22.1	1.55 \pm 1.6	12.0 \pm 18.6	33.4 \pm 30.3	3.11 \pm 0.9	<.0001*
Occupation (%)						
Housewife	50 (56.2)	13 (65.0)	21 (52.5)	9 (45.0)	7 (77.8)	0.21
Office worker	16 (18.0)	1 (5.0)	11 (27.5)	4 (20.0)	0	
Technical professional	22 (24.7)	5 (25.0)	8 (20.0)	7 (35.0)	2 (22.2)	
Farmer	1 (1.1)	1 (5.0)	0	0	0	
Electronic equipment (%)						
Personal computer						
Frequent use	43 (48.3)	4 (20.0)	27 (67.5)	8 (40.0)	4 (44.4)	0.004*
Rare use	46 (51.7)	16 (80.0)	13 (32.5)	12 (60.0)	5 (55.6)	
Mobile phone						
Frequent use	58 (65.2)	13 (65.0)	26 (65.0)	15 (75.0)	4 (44.4)	0.47
Rare use	31 (34.8)	7 (35.0)	14 (35.0)	5 (25.0)	5 (55.6)	
Television						
Frequent use	69 (77.5)	17 (85.0)	29 (72.5)	17 (85.0)	6 (66.7)	0.36
Rare use	20 (22.5)	3 (15.0)	11 (27.5)	3 (15.0)	3 (33.3)	
Furniture						
Carpet						
Frequent use	65 (73.0)	18 (90.0)	28 (70.0)	12 (60.0)	7 (77.8)	0.14
Rare use	24 (27.0)	2 (10.0)	12 (30.0)	8 (40.0)	2 (22.2)	
Cushion						
Frequent use	52 (58.4)	10 (50.0)	24 (60.0)	10 (50.0)	8 (88.9)	0.15
Rare use	37 (41.6)	10 (50.0)	16 (40.0)	10 (50.0)	1 (11.1)	
Sofa						
Frequent use	66 (74.2)	18 (90.0)	30 (75.0)	11 (55.0)	7 (77.8)	0.08
Rare use	23 (25.8)	2 (10.0)	10 (25.0)	9 (45.0)	2 (22.2)	
Curtains						
Frequent use	81 (91.0)	18 (90.0)	37 (92.5)	17 (85.0)	9 (100.0)	0.46
Rare use	8 (9.0)	2 (10.0)	3 (7.5)	3 (15.0)	0 (0.0)	
Blinds						
Frequent use	42 (47.2)	10 (50.0)	19 (47.5)	9 (45.0)	4 (44.4)	0.99
Rare use	47 (52.8)	10 (50.0)	21 (52.5)	11 (55.0)	5 (55.6)	
Fish consumption (more than once a week)						
Yellowtail and young yellowtail						
Yes	14 (15.7)	0 (0.0)	4 (10.0)	8 (40.0)	2 (22.2)	0.003*
No	75 (84.3)	20 (100.0)	36 (90.0)	12 (60.0)	7 (77.8)	
Mackerel						
Yes	34 (38.2)	5 (25.0)	12 (30.0)	10 (50.0)	7 (77.8)	0.03
No	55 (61.8)	15 (75.0)	28 (70.0)	10 (50.0)	2 (22.2)	
Salmon						
Yes	56 (62.9)	13 (65.0)	30 (75.0)	9 (45.0)	4 (44.4)	0.30
No	33 (37.1)	7 (35.0)	10 (25.0)	11 (55.0)	5 (58.6)	
Smoking status						
Non-smoker	56 (62.9)	10 (50.0)	27 (67.5)	11 (55.0)	8 (88.9)	0.17
Ex-smoker	25 (28.1)	8 (40.0)	10 (25.0)	7 (35.0)	0 (0.0)	
Current smoker	4 (4.5)	2 (10.0)	1 (2.5)	1 (5.0)	0 (0.0)	
Passive smoker	4 (4.5)	0 (0.0)	2 (5.0)	1 (5.0)	1 (11.1)	
Alcohol consumption						
Non-drinker	35 (39.3)	12 (60.0)	12 (30.0)	7 (35.0)	4 (44.4)	0.21
Ex-drinker	48 (53.9)	7 (35.0)	26 (65.0)	10 (50.0)	5 (55.6)	
Current drinker	6 (6.7)	1 (5.0)	2 (5.0)	3 (15.0)	0 (0.0)	

**p*<0.01*p* values were calculated for continuous values by ANOVA and for categorical values for the chi-square test or Fisher's exact test.

Table 2. Concentrations (ng/g lipid) of PBDEs or PCBs in human breast milk or serum samples

(1) PBDE levels in breast milk samples

Area	No. of participants	GM (GSD) ^a	Mean ± SD	Range	Q25	Median	Q75
Hokkaido	20	2.23 (1.47) ^A	2.39 ± 0.94	1.02-4.55	1.72	2.22	2.97
Miyagi	40	1.42 (1.56) ^B	1.55 ± 0.65	0.49-3.11	1.06	1.46	1.98
Gifu	20	1.45 (1.51) ^B	1.58 ± 0.71	0.82-3.30	1.01	1.40	2.00
Hyogo	9	1.30 (1.65) ^B	1.45 ± 0.70	0.66-2.38	0.83	1.31	2.31
Total	89	1.56 (1.59)	1.74 ± 0.81	0.49-4.55	1.13	1.54	2.24

(2) PBDE levels in serum samples

Area	No. of participants	GM (GSD) ^a	Mean ± SD	Range	Q25	Median	Q75
Hokkaido	20	2.75 (1.47) ^{AB}	2.93 ± 1.04	1.04-5.43	2.24	2.96	3.50
Miyagi	40	3.64 (1.66) ^B	4.21 ± 3.14	1.33-21.19	2.68	3.56	4.93
Gifu	20	2.06 (1.55) ^A	2.24 ± 0.92	0.74-4.50	1.45	2.34	2.71
Hyogo	9	2.52 (1.76) ^{AB}	2.84 ± 1.32	0.76-5.38	1.78	3.13	3.41
Total	89	2.89 (1.68)	3.34 ± 2.37	0.74-21.19	2.16	2.99	3.76

(3) PCB levels in breast milk samples

Area	No. of participants	GM (GSD) ^a	Mean ± SD	Range	Q25	Median	Q75
Hokkaido	20	58.91 (1.53) ^{AB}	64.50 ± 29.91	20-160	50.0	60.0	71.0
Miyagi	40	70.75 (1.56) ^B	78.48 ± 40.66	29-250	54.5	72.5	89.3
Gifu	20	47.24 (1.76) ^A	54.95 ± 30.17	18-130	33.3	51.5	72.0
Hyogo	9	94.64 (1.75) ^B	109.44 ± 58.41	39-190	65.0	93.0	170.0
Total	89	63.86 (1.69)	73.18 ± 40.90	18-250	47.0	65.0	88.0

(4) PCB levels in serum samples

Area	No. of participants	GM (GSD) ^a	Mean ± SD	Range	Q25	Median	Q75
Hokkaido	20	35.92 (1.61) ^{AB}	40.65 ± 24.49	14-130	29.8	35.0	49.0
Miyagi	40	45.80 (1.72) ^B	53.00 ± 31.24	15-170	32.8	51.0	62.3
Gifu	20	22.26 (1.88) ^A	27.25 ± 18.86	7.9-82	14.0	22.0	35.5
Hyogo	9	54.32 (1.85) ^B	65.22 ± 40.67	23-130	34.0	50.0	89.0
Total	89	37.52 (1.89)	45.67 ± 30.58	7.9-170	26.0	38.0	57.0

^aDifferent letters (A, B or AB) indicate that the corresponding values are statistically different by Tukey's HSD test after ANOVA (p<0.05).

GM: geometric mean; GSD: geometric standard deviation.

SD: Standard deviation.

Q25: The first quartile; Q75: The third quartile.

Table 3. PBDE levels in human breast milk and blood samples from different countries.

Country	Type	No. of samples	Year of Reference sampling	^a PBDE (ng/g lipid)		BDE-209 Mean	PBDE congeners included in ^a PBDE
				Mean	Median		
Japan	Milk	105	2004	2.54	1.28		28,47,99,100,153,154
			Eslami et al. 2005				
	Milk	89	2005	1.74	1.54	0.12	
				15,28,47,99,100,153,154,183,196,197,206,207,209			Current study
	Serum	40	1995	1.8	1.3		47,99,100,153
				Koizumi et al. 2005			
	Serum	89	2005	3.34	2.99	1.20	
				15,28,47,99,100,153,154,183,196,197,206,207,209			Current study
	Milk	12	1999	1.72			28,47,99,153,154
				Ohta et al. 2002			
	Milk	1(27) ^a	2000	1.39		0.04	
				28,37,47,66,75,77,85,99,100,138,153,154,183			Akutsu et al. 2003
	Blood	156	1999-2001	13	6.9	9.20	
				3,7,15,17,28,47,49,66,71,77,85,99,100,119,126,138,139,153,154,183,209			Takasuga et al. 2004
	Milk	4	2003	1.04			
				17,25,28,30,32,33,35,37,47,49,66,71,75,77,85,99,100,116,119,126,138,			Hirai et al. 2004
							153,154,155,166
	Blood	4	2003	0.3			
				17,25,28,30,32,33,35,37,47,49,66,71,75,77,85,99,100,116,119,126,138,			Hirai et al. 2004
							153,154,155,166
USA	Milk	47	2002	73.9	34	0.92	28,47,99,100,153,154
				Schechter et al. 2003			
	Milk	16	2004	77.5	48.5	0.38	
				28,32,33,47,66,71,85,99,100,153,154,183,209			She et al. 2004
	Serum	93	2001-2003	24.6			47,85,99,100,153,154,183
				Morland et al. 2005			
	Serum	7	2000-2002		61		
				17,28,47,66,85,99,100,153,154,183,203,209			Sjodin et al. 2004
	Serum	12	2001		37		47,99,100,153,154,183
				Mazdai et al. 2003			
Canada	Milk	10	1992	5.65	3.03		28,47,99,100,153
				Ryan and Party 2000			
	Milk	98	2001-2002	22			28,47,99,100,153
				Pereg et al. 2003			
	Plasma	10	1994-1999	23.3	20.3		28,47,85,99,100,153,154,183
				Ryan and Oostdam 2004			
Mexico	Milk	7	2003	4.4		0.30	47,99,100,153,154,209
				López et al. 2004			
	Plasma	5	2003	29.1		9.50	47,99,100,153,154,209
				López et al. 2004			
UK	Milk	54	2001-2003	8.9	6.3		
				17,28,32,35,37,47,49,71,75,85,99,100,119,153,154			Kalantazi et al.2004
Sweden	Milk	93	1996-1999	4.01	3.15		47,99,100,153,154
				Lind et al.2003			
	Serum	20	1997		3.3		47,153,154,183,209
				Sjodin et al. 1999			
	Milk	15	2000-2001		2.14		17,28,47,66,85,99,100,153,154,183
				Guvenius et al. 2003			
	Plasma	15	2000-2001		2.07		17,28,47,66,85,99,100,153,154,183
				Guvenius et al. 2003			
	Norway	Serum	1(29) ^a	1999	3.34		28,47,99,100,153,154
				Thomsen et al. 2002			
Finland	Milk	11	1994-1998	2.25	1.62		28,47,99,153
				Strandman et al.2000			
Germany	Milk	93	2001-2003	2.23	1.78	0.17	28,47,99,153,154,183,209
				Vieth et al. 2004			
Netherlands	Serum	78	2001-2002	10.7	9.3		47,99,100,153,154
				Weiss et al. 2004			
Spain	Milk	15	2002	2.41	1.7		15 congeners

^aThe numbers of pooled samples are shown in parentheses.

Fig. 1

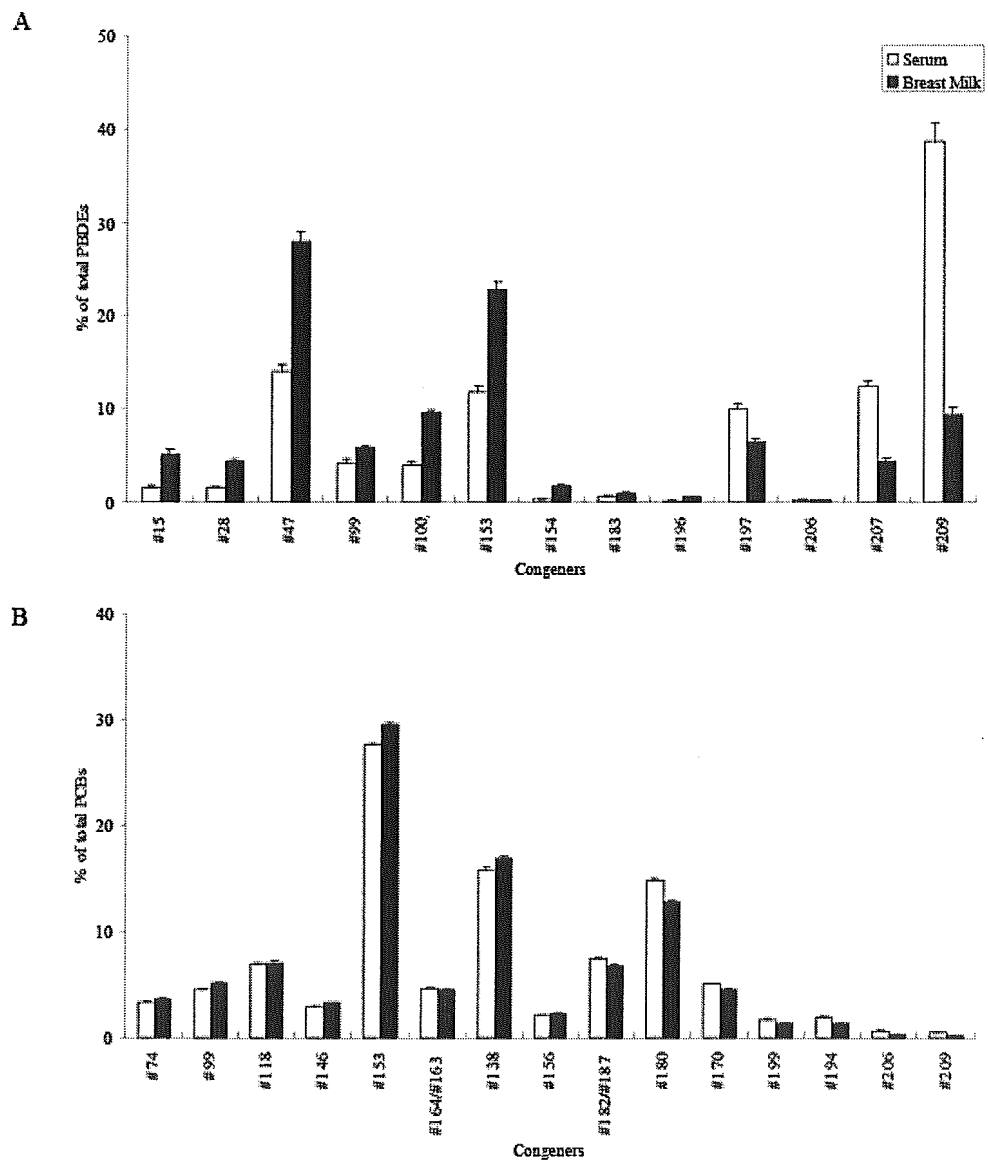
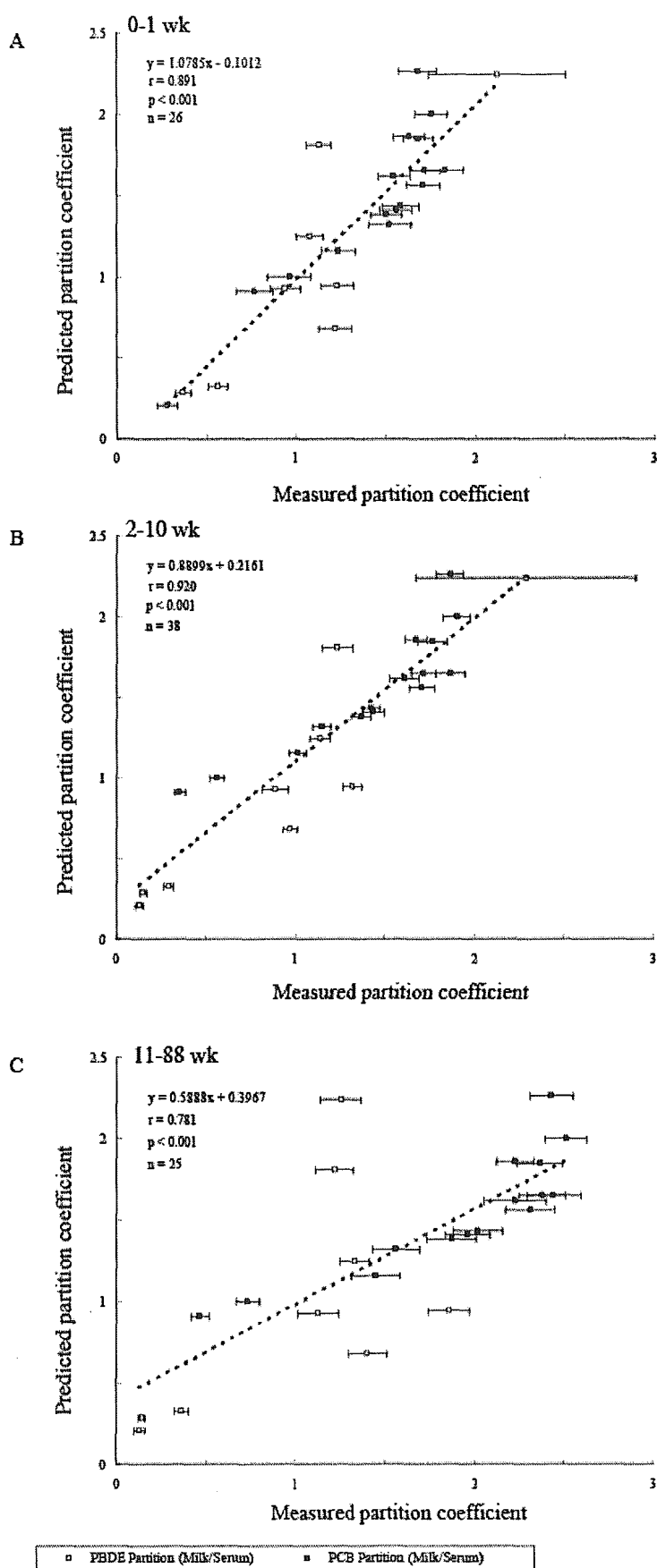


Fig. 2



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

大気中のPFOS・PFOAの分析法の開発に関する研究

分担研究者 齋藤 憲光

岩手県環境保健研究センター 首席専門研究員兼環境科学部長

パーフルオロ化合物は、世界中の現代人や生物から検出される点で特異的な汚染物質である。本研究目標であるPOPsの「ヒト曝露の評価と動向予測」を行う上で、FOCsは最適な汚染物質である。今年度は、大気浮遊粉塵のLC/MS分析法を開発すると共に、京都府の各地から大気浮遊粉塵を採取し、PFOS及びPFOAの挙動について調査した。その結果、開発した分析法は、回収率・分析精度とも良好で、ルーチン分析法として適用可能であった。大気浮遊粉塵の調査から、年間を通してPFOSやPFOAが検出し、健康影響が大きい $2.5\mu\text{m}$ 以下の粒度中の寄与率が30%以上と高いことが判明した。更に、京都府では大気中のPFOA汚染が、岩手県に比べて特異的に高いという実態が明らかになった。

A. 研究目的

人工的に合成された有機フッ素系化合物（fluorinated organic compounds：FOCs）は、「水を弾くと同時に油を弾く」という特殊な性質を有するために、1950年代から様々な日用品の中で幅広く多量に使用してきた。

生物への決定的な毒性情報が不足しているとは言え、FOCsが世界中のヒトや野生生物から検出され¹⁻³⁾、環境中で分解され難く、生物への蓄積性が高いことから、フューチャーPOPsと呼ばれている。

一般にFOCsは、環境試料中の濃度が極端に低濃度で、高感度分析が可能なLC/MS^{1),4)}又はLC/MS-MS⁵⁻⁶⁾が開発されて、初めて分析可能になった化合物である。我々は小泉研究班の中で、環境や生体試料中でFOCs濃度が

特に高いパーフルオロオクタンスルホネート（perfluorooctane sulfonate：PFOS）及びパーフルオロオクタノエート

（perfluorooctanoate：PFOA）の分析法開発を行ってきた。対象とした試料は、環境水^{4),7)}、底質、大気⁸⁻¹⁰⁾、ヒト及び野生生物の血液や臓器¹⁰⁻¹³⁾などであった。

小泉研究班が「POPsのリスク評価にむけてのヒト曝露長期モニタリングのための試料バンクの創設に関する研究」で目標として掲げた「ヒト曝露の評価と動向予測」を行うために、今年度は大気粉塵由来のFOCs調査を行った。

FOCs汚染が広範囲に拡散した背景として、大気拡散による状況がほとんど解明されていない。今回は、京

都府を対象に、大気浮遊粉塵中PFOS及びPFOAの年間変動、地域差及び大気浮遊粉塵の粒度別濃度について測定を行なった。その結果、年間を通してPFOSが検出され、FOCs拡散が大気経由で発生していること、PFOSに比べてPFOA汚染が深刻であることなどの実態が明らかになった。

B. 研究方法

1. 試薬及び材料

1) PFOS及びPFOA標準：PFOSはFluka社のPerfluorooctansulfonic acid Potassium salt (F.W. 538.22)を、PFOAはWAKO社のPerfluorooctanoic acid (F.W. 414.07)を用い、それぞれを脱イオン水に溶解して $1,000\text{ mg-C}_8\text{F}_{17}\text{SO}_3^-/\text{L}$ 及び $1,000\text{ mg-C}_7\text{F}_{15}\text{CO}_2^-/\text{L}$ にしたものを原液として用いた。この原液を使用時に適宜希釈し、標準系列の作成に使用した。

2) 固相カートリッジ：PFOS及びPFOAの捕集用として和光純薬製Presep-C Agri (220mg)を、精製用として和光純薬製Presep-C Alumina (1,700mg)の固相カートリッジを用いた。これらの固相カートリッジは、10mLのメタノールで洗浄し、更に5mLの精製水を通して、あらかじめコンディショニングしてから使用した。

3) 脱イオン水：Elix純水製造装置(ミリポア社製)で製造した逆浸透水をMilli-Q超純水装置(ミリポア社製)で処理した純水を、10mL/minの流速で固相カートリッジ(Presep-C Agri)に通水させて脱イオン水の製造を行った。この脱イオン水で、標準系列の調製及び固相カートリッジや器具類の洗浄を行った。

4) その他の試薬：メタノールは

WAKO社のHPLC用を、アセトニトリルは関東化学社の高速液体クロマト用を使用した。酢酸アンモニウムは、WAKO社の試薬特級を用いた。

2. 粉塵の捕集

大気捕集装置は、紀本電子工業(株)社製MODEL-120Vハイボリュームエアースンプラーを用い1000L/minで、東京ダイレック(株)社製AN-200アンダーセンエアースンプラーでは24L/minの流量でそれぞれ捕集を行った。捕集用の石英ろ紙は、あらかじめ600℃で6時間加熱したPALLFLEX 2500QAT-UP (203×254mm)を用いたが、アンダーセンエアースンプラーに装着する際にはガスケッドの形状に切断して用いた。捕集量は、いずれも約1000m³とした。

3. 抽出及び濃縮操作

大気中PFOS及びPFOAを捕集した粉塵からの高速溶媒抽出には、DIONEX社製ASE-200高速溶媒抽出装置を用いた。捕集した石英ろ紙を細切し、高速溶媒抽出用ステンレス製の反応セル(11mL)に充填した。この反応セルを、高速溶媒抽出装置にセットし、表1に示した条件で10%メタノール水溶液を用いて抽出を行った。

次に、ガラス製シリンジにAlumina、Agriの順にコンディショニングした固相カートリッジを連結した。高速溶媒抽出装置からの抽出液をガラスシリンジ筒に注入し、加圧しながら抽出液をAgriに通水してPFOS及びPFOAを捕集した。抽出液を通水後、Agriの固相カートリッジに10mLの精製水を通して洗浄し、更に約10mLの空気を送って、固相カートリッジ内の間隙水を除去した。次いで2mLのメタノールを通してPFOS及びPFOAを溶出し、溶出液は5mL容量のKD目盛付受器に受けた。窒素パージを行

いながら濃縮し、1mL の定容にしたものを LC/MS 分析用の検液とした。

操作フローを、図 1 に示した。

4. 分析機器

PFOS 及び PFOA の分析は、Agilent 1100 HPLC に Agilent 1100MSD SL 質量分析装置を装着して用いた。PFOS 及び PFOA を同時分析する際の、LC/MS 最適条件を表 2 に示した。LC の分離カラムは Zorbax XDB C-18 (2.1×150mm) を、溶離液はアセトニトリル-10mM 酢酸アンモニウム溶液を用いた。MS のフラグメント電圧は PFOS (200V)・PFOA (100V)、Vcap 電圧は 4000V とし、negative の SIM mode [PFOS (Q₁: 499, Q₂: 500, Q₃: 99)・PFOA (Q₁: 413, Q₂: 369)] で分析した。LC/MS の分析条件を、表 2 に示した。

5. 調査地点

大気浮遊粉塵の試料採取は、ハイボリュームエアサンプラーが府内南部の 10 地点 (宇治、大山崎、木津、久御山、城陽、田辺、八幡、国道 1 号、国道 24 号、国道 171 号)、アンダーセンエアサンプラーでは 2 地点 (福知山、国道 171 号) でそれぞれ調査を行った (図 2)。

C. 研究成果

1. LC/MS の分析精度

本法における PFOS 及び PFOA の LC/MS クロマトグラムを図 3 に、ろ紙を用いた添加回収実験の結果を表 4 に示した。添加回収実験には、実際に個別に大気浮遊粉塵を採取した、5 個のろ紙を用いた。即ち、ろ紙を 2 分割し、一方で大気粉塵濃度を測定し、もう一方に PFOS 及び PFOA 標準を各 10ng を添加して回収実験を行った。回収率は、添加した濃度から大

気濃度を差し引いて求めている。その結果、回収率は PFOS が 97.5% で PFOA が 87.5% であり、変動係数は PFOS が 7.0% で PFOA が 5.9% と良好な結果が得られ、本法がルーチン分析法として有効であることが確認された。

2. PFOS の年間変動

2001 年 4 月から 2002 年 3 月までの 1 年間に渡り、国道 171 号線 (以下 R171) と福知山の 2 箇所毎月 1 回の割合で採取した大気浮遊粉塵について PFOS 分析を行った (PFOA については、分析法開発が間に合わずに測定せず)。

その結果、PFOS 濃度の年平均値は、R171 が 6.7pg/m³ (2.3~21.8pg/m³) で、福知山 0.7pg/m³ (0.1~2.1pg/m³) であり、濃度に地点差が見られた。粉塵重量当たりの PFOS 濃度では、R171 124ng/g (38~427ng/g)、福知山が 24 ng/g (7~61ng/g) で、地点による濃度差が観測された。この濃度差は、粉塵量の差ではなく粉塵の質の差であると推察される。いずれの地域でも、年間を通して大気浮遊粉塵から PFOS が検出されたことから、大気中の浮遊粉塵が PFOS 汚染拡散の要因のひとつであることが予測された (図 4)。

3. 粒度別濃度

R171 及び福知山の粒径分布は 0.6 と 4μm 付近にピークを持つ 2 山型を示し、健康影響が大きい粒径 2.5μm 以下の粉塵の割合は、R171 ; 44%、福知山 ; 45% であった。

R171 及び福知山の 2 箇所粒度別に採取した大気粉塵を用いて、粒度別の PFOS 及び PFOA 濃度を測定した (図 5)。その結果、R171 では、PFOS は 4μm 付近にピークを持つ 1 山型の分布