

図5 尿分析フローシート

表5 尿中 PFOA・PFOS 分析における繰り返しのある添加回収実験

No.	濃度 ¹⁾		添加回収濃度 ²⁾		回収率	
	PFOA (ng/L)	PFOS (ng/L)	PFOA (ng/L)	PFOS (ng/L)	PFOA (%)	PFOS (%)
1	3.08	7.64	41.6	47.4	77.3	79.9
2	2.64	7.84	45.2	45.4	84.5	75.9
3	3.1	7.18	39.8	45	73.7	75.1
4	3.08	7.24	44.4	47.4	82.9	79.9
5	2.92	7.3	44	50	82.1	85.1
平均	2.96	7.44	43	47.04	80.07	79.2
S.D.	0.20	0.29	2.24	1.99	4.47	3.98
CV(%)	6.59	3.84	5.20	4.23	5.59	5.03

1) 同一の尿を分析(100mL)

2) 添加量: 50ng/L



図5 食事分析フローシート

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
（総合）研究報告書

PFOS・PFOA の処理方法の検討に関する研究（平成 15-17 年度）

分担研究者 藤井滋穂 京都大学大学院工学研究科教授

研究要旨

本研究では、PFOS、PFOA の処理方法として吸着に着目し、その処理性の基本特性を mg/L レベル、 μ g/L レベルで検討した。吸着特性では、比較有機物としてビタミン B₁₂ を、吸着材として活性炭を用いて回分実験により検討した結果、活性炭により PFOS、PFOA が短時間・高効率で吸着されることを見出した。さらに、特性の異なる粒状活性炭による PFOS、PFOA の吸着除去特性を検討し、吸着に及ぼす溶存性有機物質 (DOM) の影響を回分式実験により検討した。その結果、活性炭 F400 が Wako に比べてやや高い吸着性を示したが、活性炭の種類による差は、PFOS、PFOA ともにあまり大きくなく、DOM 共存下では活性炭による吸着効率が低下し、その影響は特に PFOS で顕著に現れる傾向にあること等が分かった。

A. 研究目的

本研究では、以下に示す 4 つの個別課題を設定し、主目的の検討を試みた。

- 1) PFOS、PFOA の分析方法の検討
- 2) 粒状活性炭による高濃度レベル (mg/L)、低濃度レベル (μ g/L) での吸着特性の検討、
- 3) 特性の異なる粒状活性炭による PFOS、PFOA の吸着除去特性の検討、
- 4) PFOS、PFOA の吸着に及ぼす溶存性有機物質 (DOM) の影響の検討

上記個別課題を検討することで、PFOS、PFOA の処理方法の検討を行う。

B. 研究方法

1) PFOS ($\text{CF}_3(\text{CF}_2)_7\text{SO}_3^-$, Wako 508-53921, perfluorooctane sulfonic acid potassium salt, 98%)、PFOA ($\text{CF}_3(\text{CF}_2)_6\text{COO}^-$, Wako163-09542, perfluorooctanoic Acid, 95%) を、

それぞれ精製水に溶かした。PFOS については 3 日間攪拌し溶解させたものを標準原液とし、吸光度計 (UV-2500PC、スキャンモード)、蛍光度計 (F-4500、スキャンモード) で測定した。その結果、各々濃度 52、160 mg/L の溶液に対して、吸光度 (波長 200~800 nm) では 0.03 以下、蛍光度 (励起波長 200~250 nm) はバックグラウンドレベルで、実質的に測定不可能であった。

同溶液について TOC を測定し、図 1 に示す PFOS、PFOA と TOC 値との関係を得た。TOC の分析では TOC 5000A (SHIMADZU) を使用した。PFOS、PFOA ともに TOC 2~20 mg/L ではほぼ線形の関係が見られた。また、理論値 (TOC / PFOS (or PFOA)) と比較した結果、ほぼ測定値が一致した。すなわち、PFOS、PFOA とも TOC での分解条件 (680°C) で、その炭素はほぼ CO₂ に分

解され、TOC でその定量が概ね可能であることが分かった。

低濃度の PFOS、PFOA の定量方法を検討するため、液体クロマトグラフ質量分析装置 (LC/MS/MS、TSQ7000、ThermoQuest 社、トリプルステージ四重極型 MS/MS システム) の LC/MS モードでの測定方法を検討した。PFOS、PFOA の測定条件を表 1 に示す。LC/MS のイオン化条件設定では、 $100 \mu\text{g/L}$ の標準液を用いて、ESI Negative Ion 法により次の条件で測定した。移動相には、 10mM 酢酸アンモニウムとメタノールを用いた。流速は 0.1mL/min でインジェクション方法は $20 \mu\text{L}$ のループインジェクションを採用した。分子イオンの確認では、scan モードで $m/z=350\sim 550$ において、PFOS $[\text{M-H}]^- = 499$ と PFOA $[\text{M-H}]^- = 413$ を確認した。その他、キャピラリーチューブ温度、イオンソース電圧等の最適値を検討した。

$100 \mu\text{g/L}$ の PFOS、PFOA のクロマトグラムを図 2 に示す。リテンションタイムは、PFOS が約 6.7 分、PFOA が約 4.3 分であった。PFOS、PFOA の検量線を図 3 に示す。両物質とも $1 \mu\text{g/L}\sim 100 \mu\text{g/L}$ で線形を得た。

2) 対象物質溶液 (10 mL)、活性炭懸濁液+精製水 (合わせて 10 mL)、リン酸緩衝液 ($0.061\text{MKH}_2\text{PO}_4$, $0.031\text{MK}_2\text{HPO}_4$) (10 mL) 合計 30 mL を 51 mL 容量の BOD 瓶または PP 容器に入れ、恒温振とう器 (EYELA UNI Thermo shaker NTS-1300s) により、 25°C 、 $\text{pH}7.0$ 、振とう速度 120rpm の条件で実験を開始した。実験装置概要を図 4 に示す。活性炭懸濁液はフルイ分け活性炭を精製水中に加え、それを吸引、脱気して懸濁状態としたものを用いた。振とう開始後、一定間隔ごとにサンプルを採取し、ろ過後、活性炭乾燥重量、ろ

液の PFOS、PFOA 濃度を HPLC/MS、TOC 計で測定した。

実験条件を表 2 に示す。活性炭吸着試験物質 (PFOS、PFOA) の初期濃度は Run ごとに異なるが、振とう速度、温度、 pH については 120rpm 、 $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$ 、 7.0 で一定とした。また、各 Run についてさらに 4 通りの活性炭投入量 ($0.1\sim 32.4 \text{g/L}$) およびサンプリング時間 (4~71 分) を設けた。

3) 実験に使用した粒状活性炭の概要を表 3 に示す。粒径はほぼ同じものを選択し、原材料は、木炭、木の実の殻、軟炭の 3 種類を使用した。これら活性炭は、不順物や細かな粒子を取り除くために超純水で洗浄された。その後、活性炭への初期吸着物質を取り除くため、24 時間超純水に浸した。そして、2 日間 105°C で乾燥させ、孔内の空気を抜くために実験の直前に 30 分間吸引脱気した。実験条件を表 4 に示す。Run3~6 は吸着平衡定数を得るための実験を、Run7~10 は吸着速度を求めるための実験である。

4) 実験条件を表 5 に示す。活性炭は F400 を選択し、有機物質としては、Wako のフミン酸を使用した。PFOS、PFOA の分析では固相抽出法 (Precep-C Agri) を用い、DOM 濃度は、溶存有機炭素濃度 (DOC) として測定した。 pH は 1mM リン酸緩衝液にて 7.3 とした。

C. 研究結果

初期濃度約 50mg/L の PFOS、PFOA に関する Run1 の結果を図 5 に示す。活性炭を約 4g/L 添加した系では、PFOS、PFOA は振とう開始後 5 時間以内に 84% 以上が活性炭に吸着した。一方、活性炭を約 0.8g/L 添加した系では、43 時間後に 90% 以上が吸着し、吸着

速度に違いが見られた。PFOS、PFOA間の差はあまりなかった。

初期濃度約 1mg/L の PFOS、PFOA に関する Run3 の結果を図 6 に示す。活性炭を約 2g/L 添加した系では、PFOS、PFOA は振とう開始後 4 時間以内に 95%以上が活性炭に吸着した。一方、活性炭を約 0.8g/L 添加した系では、4 時間後に 81%以上、48 時間後には 97%以上が吸着し、吸着速度に違いが見られた。PFOS、PFOA 間の差はあまりなかった。

D. 考察

Run3~6 の 25°Cにおける吸着等温線を図 7 に示す。活性炭 F400 が Wako に比べてやや高い吸着性を示したが、活性炭の種類による差は、PFOS、PFOA ともにあまり大きくなかった。

初期濃度 1000 μ g/L、活性炭の添加量を約 0.2g/L とした場合の経時変化 (Run7-9) を図 8 に示す。PFOS の吸着速度が PFOA より速く活性炭による吸着量も PFOS の方が高かった。

初期濃度約 1 μ g/L の PFOS、PFOA 溶液に、活性炭 (F400) 1g/L と Wako のフミン酸 8.7mg/L、16.8mg/L を添加した時の吸着特性の経時変化を図 9 に示す。PFOS、PFOA ともに 21 日後には 99.8%が吸着されたが、吸着速度に違いが見られた。PFOS の場合、8 時間後の除去率がフミン酸 16.8mg/L の系で 64.2%であるのに対して、フミン酸 8.7mg/L の系では、93.0%と高かった。その傾向は時間を経ても継続し、3 日後には 88.4%と 99.3%であった。一方で、PFOA の場合、8 時間後の除去率がフミン酸 16.8mg/L の系で 54.9%、フミン酸 8.7mg/L の系では 63.4%と差が小さかった。以上の結果から、DOM の存在は活性炭による PFOS、PFOA の処理効率に影響を及ぼすことが推測

され、その影響は PFOS で顕著であることが示された。

E. 結論

本研究では、PFOS、PFOA の処理方法として吸着に着目し、その処理性の基本特性を mg/L レベル、 μ g/L レベルで検討した。吸着特性では、比較有機物としてビタミン B₁₂ を、吸着材として活性炭を用いて回分実験により検討した結果、活性炭により PFOS、PFOA が短時間・高効率で吸着されることを見出した。さらに、特性の異なる粒状活性炭による PFOS、PFOA の吸着除去特性を検討し、吸着に及ぼす溶存性有機物質 (DOM) の影響を回分式実験により検討した。その結果、活性炭 F400 が Wako に比べてやや高い吸着性を示したが、活性炭の種類による差は、PFOS、PFOA ともにあまり大きくなり、DOM 共存下では活性炭による吸着効率が低下し、その影響は特に PFOS で顕著に現れる傾向にあること等が分かった。

F. 研究発表

2. 学会発表・その他

1) Yong QIU, Shigeo FUJII, Shuhei TANAKA, Akio KOIZUMI and Takeo YOSHINAGA, Adsorption Experiments of Perfluorooctane Sulfonate and Perfluorooctane Acid by Granular Activated Carbon, 瀬戸内海研究フォーラム, p.28, 2004 年 9 月,京都市国際交流会館

2)Yong QIU, Shigeo FUJII, Shuhei TANAKA, Nguyen Pham Hong LIEN and Akio KOIZUMI, Removal Characteristics of Perfluorooctane Sulfonate and Perfluorooctane Acid by Granular Activated Carbon Adsorption, Proceedings of 14th

KAIST-KU-NTU-NUS Symposium on Environmental Engineering, vol.14, p.89-97, 2005年6月, Cheju, Korea

3) Nguyen Pham Hong Lien, Shigeo FUJII, Shuhei TANAKA, Hiroaki TANAKA, Ryoji NAGAO and Binaya R. Shivakoti, PFOS and PFOA contamination of surface water in the Yodo River Basin, 日本水環境学会シンポジウム講演集, vol.8, pp.65-66, 2005年9月, 龍谷大学

4) Shuhei TANAKA, Shigeo FUJII, Yong QIU, NGUYEN Pham Hong Lien and Binaya R. SHIVAKOTI, Study on Perfluorooctane Sulfonate and Perfluorooctanoic Acid Contamination in the Yodo River Basin and its Proposed Measures, Proceedings of The 9th-10th Joint Seminar of JSPS-MOE Core University Program on Urban Environment, vol.9,10, p.61-67, 2005年10月,

Kunming, China

5) Yong QIU, Shigeo FUJII, Shuhei TANAKA and Akio KOIZUMI, Multi-component adsorption of perfluorooctane sulfonate, perfluorooctane acid and humic substances by granular activated carbon, 日本水環境学会関西支部研究発表会講演集, vol.5, p.38-39, 2005年11月, 京都

6) Pham Hong Lien NGUYEN, Shigeo FUJII, Shuhei TANAKA, Munehiro NOZOE, Wanpen WIROJANAGUD and Ann ANTON, PFOS and PFOA contamination surveys of surface waters in South-Asian countries, 日本水環境学会関西支部研究発表会講演集, vol.5, p.20-21, 2005年11月, 京都

H. 知的財産の登録状況
なし

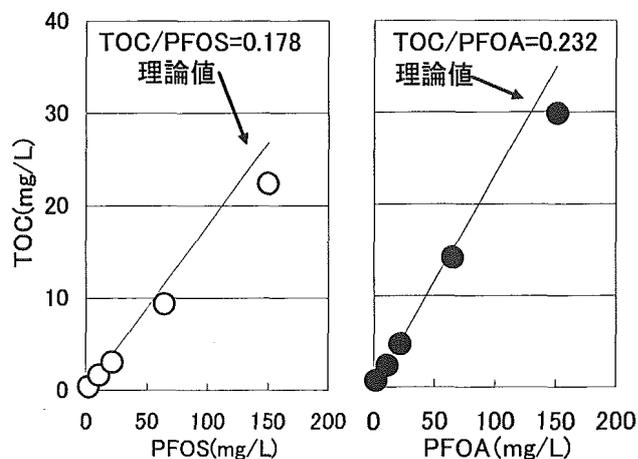


図1 PFOS・PFOA濃度とTOCとの関係

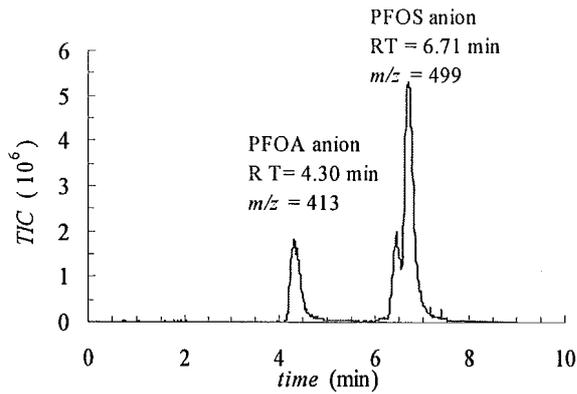


図2 PFOS、PFOA(100 μg/L)のクロマトグラム(HPLC/MC使用)

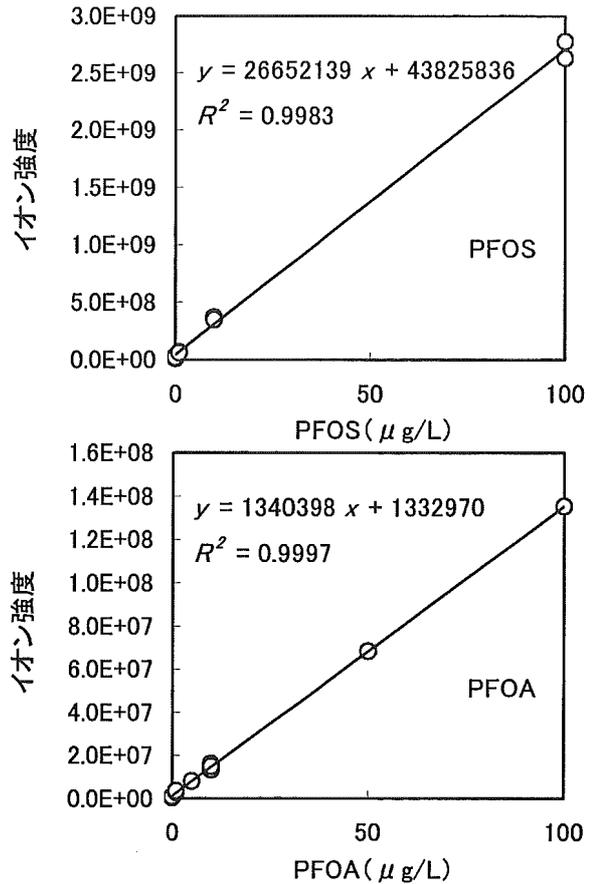


図3 PFOS、PFOAの検量線(HPLC/MC使用)

表1 測定条件一覧

システム		Ultra Microprotein Analyzer	
HP LC	カラム	種類	Agilent Zorbax XDB C-18
		径(mm)	2.1
		長さ(mm)	150
		温度(°C)	室温
	流量(μL/min)	100	
	インジェクション量(μL)	20	
	移動相	種類	A: 10mMCH ₃ COONH ₄
グラジエント	0-1分	50	50
	1-7分	50→0	50→100
MS	マスペクトル	TSQ7000	
	イオンソース	ESI	
	モード	SIM	
	乾燥ガス温度(°C)	175	
	極性モード	Negative	
	イオンソース電圧(V)	-4200	
	リテンションタイム(min)	PFOS 約6.7分, PFOA 約4.3分	
m/z	PFOS 499, PFOA 413		

表2 活性炭による吸着バッチ実験の条件一覧

	活性炭粒径 (mm)	対象物質	初期濃度 (mg/L)	測定方法	活性炭量 (g/L)				採取時間 (hour)			
					0.2	0.8	3.8	18.6	5	17	43	61
Run 1	1.18~1.40	PFOS	50	TOC	0.2	0.8	3.8	18.6	5	17	43	61
		PFOA			0.2	0.8	3.9	19.4	5	17	43	61
Run 2	0.5~2.0	PFOS	1	LC/MS	0.4	1.5	5.0	32.3	4	10	24	48
		PFOA			0.4	2.0	5.3	32.4	4	10	24	48

振とう速度120rpm、温度25℃、pH7.0

表4 実験条件

	対象物質	初期濃度 (mg/L)	活性炭	粒径 (mm)	容量 (mL)	活性炭添加濃度 (g/L)	サンプリング時間(hour)
Run3	PFOS	1, 50	F400	0.4~1.7	40	0.1, 0.3, 1, 2.6	7
Run4	PFOA		7				
Run5	PFOS		7				
Run6	PFOA		7				
Run7	PFOS	1	F400	0.4~1.7	500	0.2	0.1, 0.2, 0.5, 1, 1.5, 3, 5.5, 9
Run8	PFOA						1.5, 2, 3, 5.5, 9
Run9	PFOS,PFOA						0.5, 2, 3, 5, 9
Run10	PFOS						0.1

表3 実験で使用した活性炭の概要

名称	粒径(mm)	原材料	販売元
1 Wako	0.50~2.00	木炭	Wako Pure Chemical Industries Ltd.
2 W10-35	0.43~1.70	木の実の殻	Mitsubishi Chemical Corporation
3 F400	0.43~1.70	軟炭	

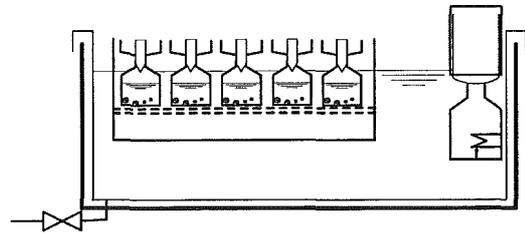


図4 吸着回分実験の概要

表5 実験条件

	初期濃度			サンプリング時間 日
	PFOS,PFOA μg/L	DOM mg/L	GAC g/L	
Run11	1	8.7	1	0.3, 1.7, 3.3, 5.8, 9, 21
Run12		16.8		0.3, 1.7, 3.3, 5.8, 9, 21

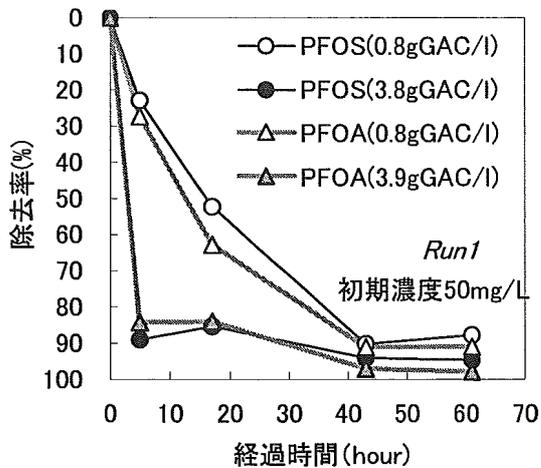


図5 活性炭添加後のPFOS、PFOA(初期濃度約50mg/L)濃度の経時変化(TOC計使用)

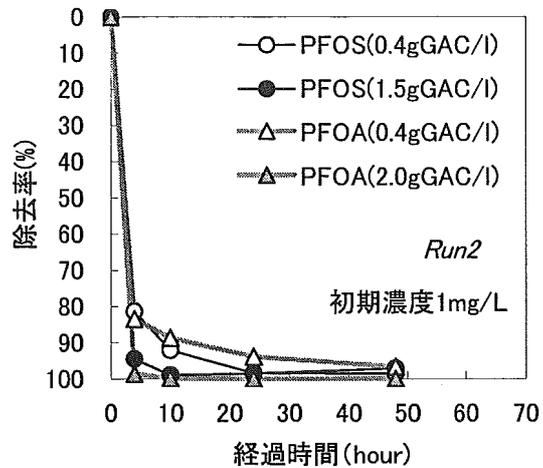


図6 活性炭添加後のPFOS、PFOA(初期濃度約1mg/L)濃度の経時変化(HPLC/MS使用)

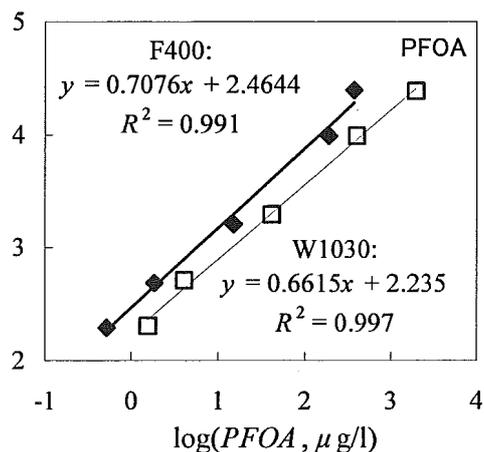
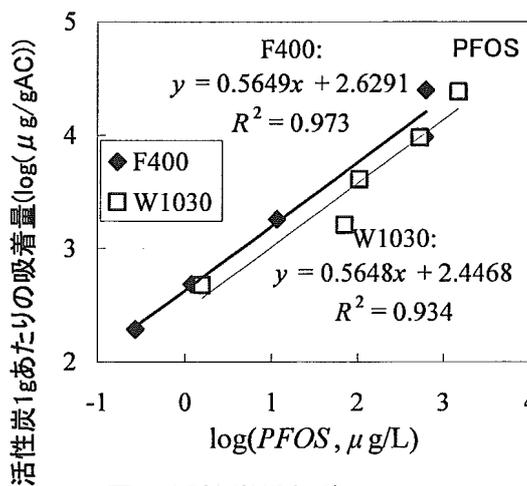


図7 活性炭添加後のPFOS,PFOA濃度と活性炭1gあたりの吸着量との関係

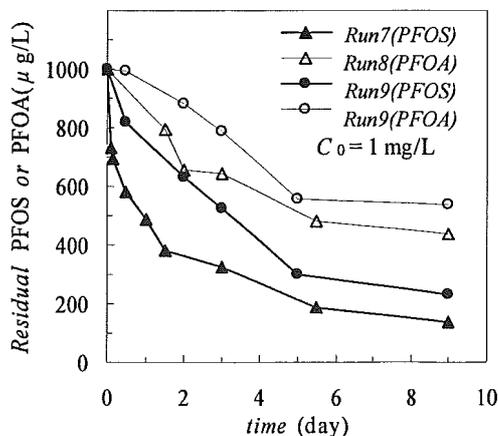


図8 初期濃度1000 μg/L、活性炭の添加量を約0.2g/Lとした場合のPFOS、PFOA濃度の経時変化

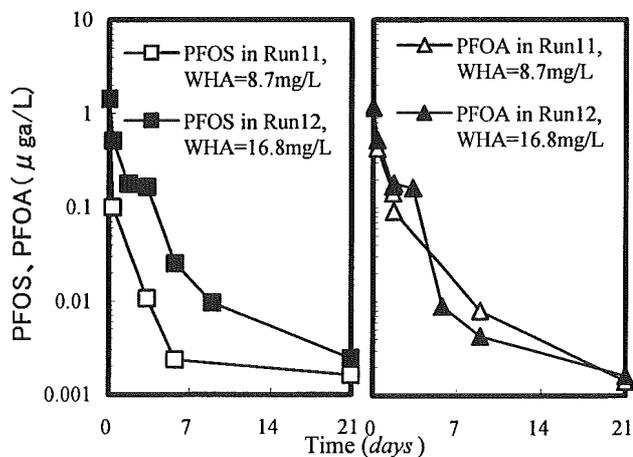


図9 初期濃度1 μg/L、活性炭の添加量を約1g/L、DOM添加時のPFOS、PFOA濃度の経時変化

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
（総合）研究報告書

難分解性有機フッ素化合物（PFOS/PFOA）のヒト腎クリアランスに関する研究
（平成15-16年度）

主任研究者 小泉昭夫 京都大学大学院教授
研究協力者 原田浩二 京都大学大学院博士課程

研究要旨

PFOS/PFOAの曝露に関する要因では、これまで男女差があることが明らかにされてきたが、今回PFOS/PFOAの尿中クリアランスの評価を行い、いずれも極めて排泄が乏しく、月経血による排泄と同程度であり、女性に特有の排泄経路であると考えられ、高齢女性で血清中濃度が上昇することも確認された。

A. 研究目的

PFOS、PFOAによるヒト健康影響研究において、血清中濃度の男女差に注目し、腎排泄の違いがラットで見られるため、ヒト腎クリアランスの検討を行った。

B. 研究方法

尿中クリアランスを測定するため、20代男女5名ずつ、70代男女5名ずつの血清および尿試料の提供を受けた。

生体試料の取得のため、京都大学医学部・大学院医学研究科医の倫理委員会に研究計画を申請し、承認を得た。

C. 研究結果

PFOA・PFOSともに男女で差がなかった。しかしながらPFOA・PFOSの腎クリアランスは糸球体濾過量の10万分の1程度であり、極めて尿中へ排泄されにくいことが示された。一方、女性で月経血によるクリアランスは0.87mL/kg/monthであり、腎クリアラ

ンスに匹敵するものであった。

さらに閉経後女性のグループでは血清中PFOA・PFOS濃度は閉経前女性のグループより高い値を示し、月経血による排泄を組み込んだ1-コンパートメントモデルでもよく再現された（図）。

D. 考察

今後は曝露と排泄のマスマランスを詳細に検討を行い、ヒトとラットの有機アニオントランスポーターの違いも加えて研究していくことが必要であると考えられる。

E. 結論

PFOS、PFOAともに極めて尿中へ排泄されにくいことが判明した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Harada K et al.

Renal clearances of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoate in human, and their species-specific excretion.

2. 学会発表・その他

第75回 日本衛生学会総会、2005年3月27-30日

原田浩二、ヒトにおけるペルフルオロオクタン酸(PFOA)とペルフルオロオクタンスルホン酸(PFOS)の腎クリアランスの調査と薬物動態シミュレーション

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

Renal clearances of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoate in humans, and species-specific excretion of these chemicals.

Kouji Harada; K. Inoue; A. Morikawa; T. Yoshinaga; N. Saito; M. Kimura; S. Shimbo; A. Koizumi
第44回 近畿産業衛生学会、2004年11月6日

ヒトにおけるペルフルオロオクタン酸(PFOA)とペルフルオロオクタンスルホン酸(PFOS)の腎クリアランスと種差の血中濃度に及ぼす影響

原田浩二、井上佳代子、森川亜紀子、吉永侃夫、齋藤憲光、木村みさか、新保慎一郎、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

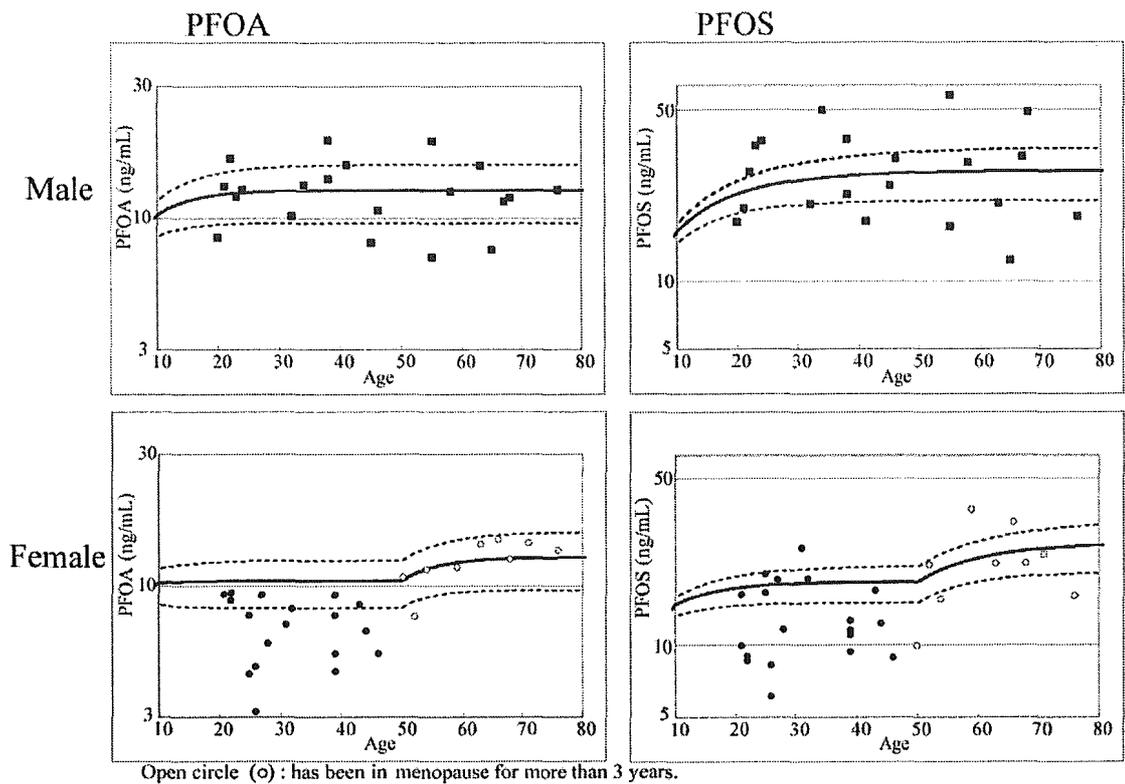


図. 京都の男女における血清中 PFOS・PFOA 濃度と年齢の関係
 実線および点線は薬物動態シミュレーションとその半減期の上下させたシミュレーション

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
（総合）研究報告書

カメを用いた生物濃縮の検討-安威川生態系での観察に関する研究
（平成 15-16 年度）

主任研究者 小泉昭夫 京都大学大学院教授

研究要旨 PFOS/PFOA の生態系への影響については情報量が少なく、現在の報告は野生の鳥類、魚類、海生哺乳類などについての研究である。野生のカメは河川中において食物連鎖の最上位に位置し、生物濃縮の検討に適している。したがって本研究では、野生のカメ（ミシシippiaカミミガメとクサガメ）を対象として、カメが PFOS および PFOA を生物濃縮するのか調査した。カメの血中 PFOS 濃度は、河川水濃度と比較して極めて高く生物濃縮することが示唆された。また PFOA の血中濃度は河川水濃度と同程度の濃度であった。PFOS と PFOA は極めて類似した構造を持つ化学物質であるにもかかわらず、カメの体内において濃縮傾向に大きな差が見られた。

A. 研究目的

PFOS は世界中の多くの海生哺乳類の肝臓と血液で検出されている 1)。また、PFOS は魚類の体内で生物濃縮し、蓄積性があることが報告されている 2)。PFOA においては、生物には蓄積するという報告はない。

PFOS と PFOA に関しては、蓄積性の指標となる水-オクタノール分配係数が測定不可能であるため、自然界の生物がどれだけ汚染されているかを調べるためには、生物体内の濃度を実測するしかない。

生態系への PFOS/PFOA の影響について検討する場合、生物がこれらの物質を生物濃縮するかどうかは重要な情報である。カメは河川の生態系において、食物連鎖の最も上位に位置するため、本研究では 2 種類のカメ、ミシシippiaカミミガメ（学名：Trachemys scripta elegans）とクサガメ（学名：

Chinemys reevesii) を対象とし、その生物濃縮を検討した。

B. 研究方法

日本各地の河川表層水の汚染調査で世界最高の PFOA の汚染を確認した大阪府の安威川において実施した。

カメの捕獲は PFOA 濃度が特に高い地点周辺を 5 地点（上流から A～E 地点）選び（Fig. 2）、2003 年 9 月から 10 月までの期間、カメかごに餌として塩サバの頭を串刺しにして 5、6 個入れ、かごの 3 分の 2 が水に浸かるように仕掛けた。2～3 時間後に川から引き上げ、中のカメを捕獲して研究室へ持ち帰った。同時にカメの捕獲地点で安威川の河川水の採水も行った。

捕獲したカメは、基本的なデータであるカメの体重・甲長・性別を測定し、甲羅にある年輪のような線を数えて年齢を判定した。その後、カメの腹部

にキリで小さな穴を開け、注射針で心臓から 1.5ml 採血した。採血後は接着剤（シアノアクリレート系）で穴をふさいだ。

血液は真空採血管にいれ遠心分離機で 15 分 3000rpm 遠心させた後に、血清をメタノールで洗浄したチューブに分注して -40°C で冷凍保存した。捕獲したカメのうち全国的に個体数減少が見られるクサガメは、もとの場所へ返した。ミシシippiaカミミガメは解剖した。肝臓はホルマリン固定し HE（ヘマトキシリン-リオジン）染色で光学顕微鏡で観察した。

C. 結果

河川水の PFOA 濃度は浄水場の放流口がある B 地点で極めて高濃度（87100ng/L）で検出された（Table1）。A 地点では PFOA が低濃度であり B 地点から下流では漸減的ではあるが PFOA が高濃度に検出された。PFOS については、A 地点では他の地点と比較して低濃度であったが、B 地点より下流においては地点によって大きな濃度差はなかった（Table. 2）。

PFOA は河川水濃度が低くなるにつれ、カメの血中濃度が低くなる傾向があり（相関係数 -0.35 ）、河川水濃度と同程度であった（Table. 2）。したがって、カメは PFOA をあまり濃縮しないことが示唆された。一方、PFOS においては、血中濃度は河川水濃度より高く生物濃縮係数（Bioconcentration of PFOS）は 103 以上であった。

PFOA の血中濃度はクサガメの方がミシシippiaカミミガメより有意に高かった（ $P < 0.01$ ）（Fig. 3）。反対に、PFOS の血中濃度は、ミシシippiaカミミガメの方が、クサガメより高い濃度であった（ $P < 0.05$ ）。カメの血中 PFOS・PFOA 濃度は、カメの種類によっ

て異なることが示唆された。

ミシシippiaカミミガメの老齢のカメの肝組織に、黒い色素の集合体が多数見られメラノマクロファージ 4）と考えられた。

D. 考察

カメは PFOA をあまり濃縮しないが、PFOS は魚類と同様に生体濃縮していた。PFOS と PFOA は構造的にとっても酷似した化学物質であるにもかかわらず、カメの体内において濃縮傾向に大きな差が見られたことは、カメの体内に PFOS と PFOA のわずかな構造の差を識別するタンパク質（binding protein）が存在し、血中濃度に影響している可能性がある。

カメの種類によって PFOA の血中濃度が異なる要因として、クサガメとミシシippiaカミミガメの食性の違いが影響していると考えられる。

E. 結論

カメの血中 PFOS 濃度は、河川水濃度と比較して極めて高く生物濃縮することが示唆された。また PFOA の血中濃度は河川水濃度と同程度の濃度であった。PFOS と PFOA は極めて類似した構造を持つ化学物質であるにもかかわらず、カメの体内において濃縮傾向に大きな差が見られた。今後、汚染の進んでいない地域でも PFOS と PFOA の濃縮係数の差を検討する予定である。

文献

- 1) Giesy, J.P. and K. Kannan, Environ Sci Technol, 2001, 35, 1339-42. Global distribution of perfluorooctane sulfonate in wildlife.
- 2) Martin, J.W., et al.,

Environ Toxicol Chem, 2003, 22, 196-204, Bioconcentration and tissue distribution of perfluorinated acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).

3) Saito, N., et al., Arch Environ Contam Toxicol, 2003, 45, 149-158. Perfluorooctane sulfonate concentrations in surface water in Japan.

4) James L. Christlamsen, Pigment cell Res. 1996 Melanomacrophage aggregations and their age relationship in the yellow mud turtle, *kinosternon flavescens*.

F. 健康危険情報
特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Saito N, Sasaki K, Nakatome K, Harada K, Yoshinaga T, Koizumi A (2003): Perfluorooctane sulfonate concentration in surface water in Japan. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 45: 149-158

2. Saito N, Harada K, Inoue K, Sasaki K, Yoshinaga T, Koizumi K (2004) Perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate concentration in surface water in Japan. J Occup. Health. 46: 49-59

3. Sasaki K, Harada K, Saito N, Tsutsui T, Nakanishi S, Tsuzuki H, Koizumi A (2003) Impact of airborne perfluorooctane sulfonate on the human body burden and the ecological system. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 71: 408-413

4. Harada K, Saito N, Sasaki K,

Inoue K, Koizumi K, (2003) : Perfluorooctane sulfonate contamination of drinking water in the Tama River, Japan: Estimated effects on resident serum levels., Bull. Environ. Contam. Toxicol.. 71, 31-36.

2. 学会発表

森川亜紀子、亀井直哉、齋藤憲光、原田浩二、井上佳代子、吉永侃夫、小泉昭夫、カメの体内における PFOS および PFOA の生物濃縮、第 74 回日本衛生学会総会 (2004 年 3 月 24-27 日)

H. 知的財産の出願・登録状況
特になし。

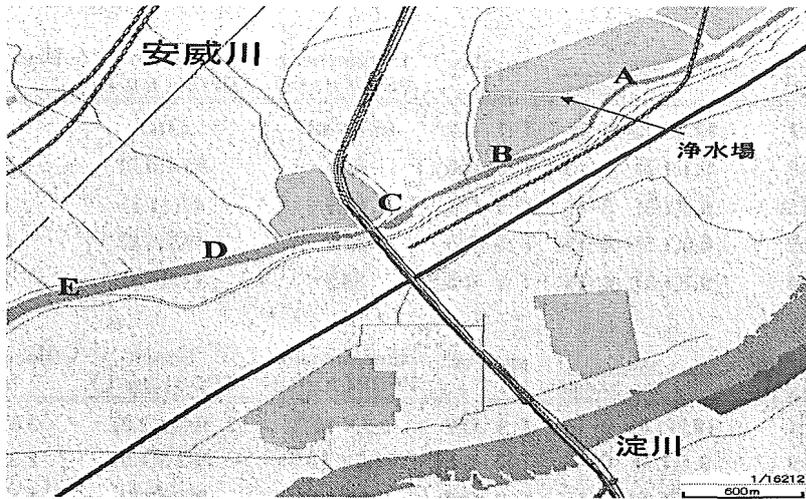


Fig.2 カメの捕獲地点

Table.1 安威川河川水の汚染状況

site	A	B	C	D	E
PFOA(ng/L)	16.7	87,100	56,700	52,300	39,900
PFOS(ng/L)	2.9	11.3	8.4	12.3	11.4

Table.2 地点ごとのカメの血中 PFOS・PFOA 濃度

Table1		Site	N	sex ratio		age		species	Environment PFOA($\mu\text{g/L}$)	Serum PFOA($\mu\text{g/L}$)	Bioconcentration of PFOA
Name of river	F:M			range							
Ai river	A	3	2:1	12.2(1.3)	0-15	T :1	C:2	16.7×10^{-3}	LOQ	LOQ	
	B	10	3:2	9.1(1.7)	0-15	T :5	C:5	87.1	88.4(5.0)	1.2(4.7)	
	C	17	11:6	5.9(1.6)	3-15	T :9	C:8	56.7	47(11.1)	1.2(3.6)	
	D	11	9:2	8.0(1.5)	4-15	T :5	C:6	52.3	49.2(5.8)	0.9(5.8)	
	E	14	3:4	9.7(1.8)	4-15	T :9	C:5	39.9	115(4.8)	2.9(4.8)	

Name of river	Site	N	sex ratio		age		species	Environment PFOS($\mu\text{g/L}$)	Serum PFOS($\mu\text{g/L}$)	Bioconcentration of PFOS
			F:M	range						
Ai river	A	3	2:1	12.2(1.3)	0-15	T :1	C:2	2.9×10^{-3}	108.2(2.8)	$3.8 \times 10^4(2.8)$
	B	10	3:2	9.1(1.7)	0-15	T :5	C:5	11.3×10^{-3}	283.3(1.6)	$2.5 \times 10^4(1.6)$
	C	17	11:6	5.9(1.6)	3-15	T :9	C:8	8.4×10^{-3}	89.5(3.8)	$1.1 \times 10^4(3.8)$
	D	11	9:2	8.0(1.5)	4-15	T :5	C:6	12.3×10^{-3}	127.2(1.9)	$1.0 \times 10^4(1.9)$
	E	14	3:4	9.7(1.8)	4-15	T :9	C:5	11.4×10^{-3}	187.2(1.7)	$1.6 \times 10^4(1.7)$

Table.3 クサガメ(C)とアカミミガメ(T)の血中濃度

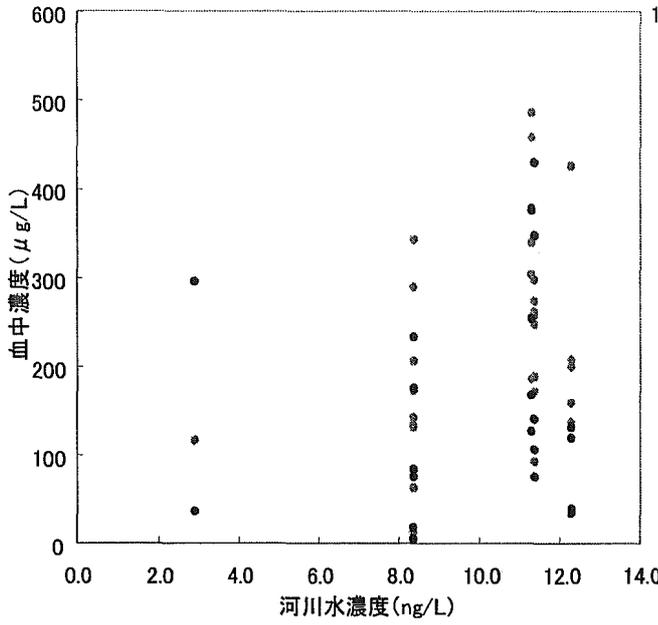
		species:C		Site	N	sex ratio		age		Environment PFOA($\mu\text{g/L}$)	Serum PFOA($\mu\text{g/L}$)	Bioconcentration of PFOA
Name of river		F:M	range									
Ai river	A	2	1:1	3.2(5.1)	0-10			16.7×10^{-3}	LOQ	LOQ		
	B	4	1:1	6.3(1.3)	5-7			87.1	224.5(1.7)	2.6(1.7)		
	C	7	5:2	6.8(1.3)	5-9			56.7	138.1(5.1)	3.2(5.1)		
	D	6	5:1	8.4(1.3)	6-11			52.3	57.5(3.9)	1.3(3.9)		
	E	5	2:3	11.7(1.4)	8-15			39.9	431.3(1.4)	11.0(1.4)		

Name of river	Site	N	sex ratio		age		Environment PFOS($\mu\text{g/L}$)	Serum PFOS($\mu\text{g/L}$)	Bioconcentration of PFOS
			F:M	range					
Ai river	A	2	1:1	3.2(5.1)	0-10	2.9×10^{-3}	104.1(4.4)	$3.4 \times 10^4(4.4)$	
	B	4	1:1	6.3(1.3)	5-7	11.3×10^{-3}	212.9(1.6)	$1.9 \times 10^4(1.6)$	
	C	7	5:2	6.8(1.3)	5-9	8.4×10^{-3}	55.1(4.1)	$5.9 \times 10^3(4.1)$	
	D	6	5:1	8.4(1.3)	6-11	12.3×10^{-3}	77.8(2.0)	$6.2 \times 10^3(2.0)$	
	E	5	2:3	11.7(1.4)	8-15	11.4×10^{-3}	176.1(1.9)	$1.5 \times 10^4(1.9)$	

		species:T		Site	N	sex ratio		age		Environment PFOA($\mu\text{g/L}$)	Serum PFOA($\mu\text{g/L}$)	Bioconcentration of PFOA
Name of river		F:M	range									
Ai river	A	1	1:1	15.0(1.0)	0-15			16.7×10^{-3}	LOQ	LOQ		
	B	6	1:1	15.0(1.0)	0-15			87.1	46.8(6.0)	0.5(6.0)		
	C	10	5:2	5.6(1.7)	4-15			56.7	23.9(6.2)	0.2(6.2)		
	D	5	5:1	7.8(1.8)	4-15			52.3	35.2(7.7)	0.7(7.7)		
	E	9	2:3	8.7(1.9)	4-15			39.9	49.8(4.1)	1.2(4.1)		

Name of river	Site	N	sex ratio		age		Environment PFOS($\mu\text{g/L}$)	Serum PFOS($\mu\text{g/L}$)	Bioconcentration of PFOS
			F:M	range					
Ai river	A	1	1:1	15.0(1.0)	0-15	2.9×10^{-3}	116.8	4.1×10^4	
	B	6	1:1	15.0(1.0)	0-15	11.3×10^{-3}	342.7(1.4)	$3.0 \times 10^4(1.4)$	
	C	10	5:2	5.6(1.7)	4-15	8.4×10^{-3}	124.4(2.7)	$1.5 \times 10^4(2.7)$	
	D	5	5:1	7.8(1.8)	4-15	12.3×10^{-3}	208.0(1.5)	$1.7 \times 10^4(1.5)$	
	E	9	2:3	8.7(1.9)	4-15	11.4×10^{-3}	193.7(1.6)	$1.7 \times 10^4(1.6)$	

PFOS 河川水濃度-血中濃度



PFOA河川水濃度-血中濃度

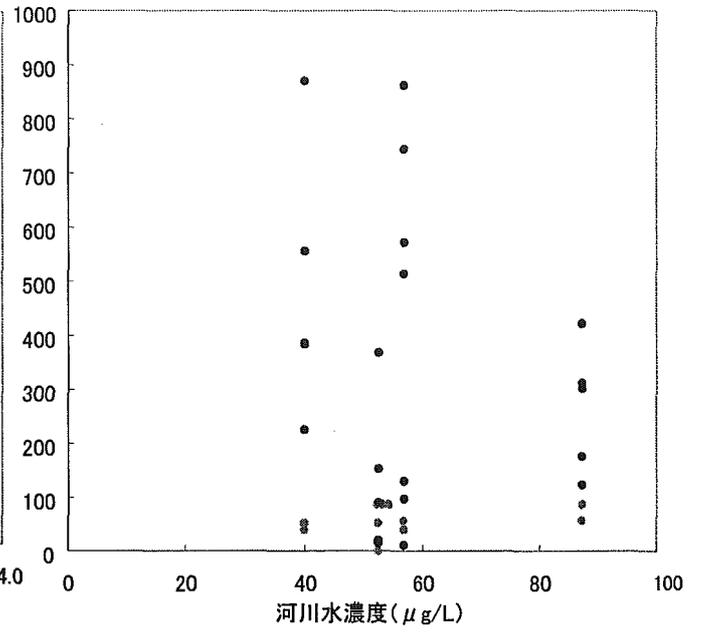


Fig.3 カメの血中濃度と河川水濃度の関係図

- ミシシippアカミミガメ
- クサガメ

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
（総合）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ンネルへの影響に関する研究
-モルモット単離心室筋細胞を用いた研究-（平成16年度）

主任研究者 小泉昭夫 京都大学大学院教授
研究協力者 原田浩二 京都大学大学院博士課程

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 μM 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）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[1-3]。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[4]、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ン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ユーレを挿入し、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とするように用時調整した。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。

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-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)。

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[5]。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[6]、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[7]、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[8]。