

表6 平成18年度トータルダイエット(1~14群)からのダイオキシン類1日摂取量(ND=LOD/2)

食品群	(pgTEQ/day)											
	北海道地区			東北地区			関東地区			中部地区		
	I			II			I			II		
1群(米)	12.49			12.49			10.03			14.58		
2群(雑穀・芋)	7.35			7.35			5.78			7.28		
3群(砂糖・菓子)	1.04			1.04			1.39			1.35		
4群(油脂)	1.47			1.47			1.67			1.40		
5群(豆・豆加工品)	1.71			1.71			1.53			1.69		
6群(果実)	3.43			3.43			3.51			3.45		
7群(有色野菜)	2.41			2.41			2.83			2.30		
8群(野菜・海藻)	5.48			5.48			5.37			5.68		
9群(嗜好品)	12.04			12.04			15.76			14.04		
10群(魚介)	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3
11群(肉・卵)	19.04	22.36	75.78	25.26	46.47	75.35	28.08	41.55	64.57	30.77	39.68	40.95
12群(乳・乳製品)	4.65	5.00	5.82	2.54	2.70	10.05	4.15	6.27	9.32	3.33	4.19	8.74
13群(調味料)	4.61	4.65	9.14	5.90	8.92	10.04	4.23	4.26	4.26	3.70	3.70	4.08
14群(飲料水)	2.32			2.32			3.03			2.37		
総摂取量(pgTEQ/day)	0.16			0.16			0.16			0.16		
摂取量(pgTEQ/kg bw/day)	78.21	81.92	140.65	83.61	108.00	145.36	87.52	103.14	129.21	92.09	101.86	108.06
	1.56	1.64	2.81	1.67	2.16	2.91	1.75	2.06	2.58	1.84	2.04	2.16
										84.57	95.93	122.01
										1.69	1.92	2.44

食品群	九州地区												標準偏差	平均摂取量	比率(%)
	中国・四国地区			九州地区			関西地区			中国・四国地区					
	I			II			I			II					
1群(米)	13.69			13.69			13.01			1.95			11.63		
2群(雑穀・芋)	6.71			6.71			7.08			1.10			6.33		
3群(砂糖・菓子)	1.05			1.05			1.30			0.32			1.16		
4群(油脂)	1.36			1.36			1.49			0.13			1.33		
5群(豆・豆加工品)	1.69			1.69			1.73			0.24			1.55		
6群(果実)	3.43			3.43			3.44			0.05			3.08		
7群(有色野菜)	2.79			2.79			2.59			0.23			2.32		
8群(野菜・海藻)	6.20			6.20			5.59			0.42			5.00		
9群(嗜好品)	14.98			14.98			14.36			1.47			12.84		
10群(魚介)	#1	#2	#3	#1	#2	#3	#1	#2	#3	20.32			42.84		
11群(肉・卵)	46.64	70.91	74.10	44.79	50.28	93.43	31.07	33.14	77.27	47.93			5.12		
12群(乳・乳製品)	5.56	5.52	14.64	5.17	6.81	6.88	3.81	3.83	6.13	5.73			4.35		
13群(調味料)	4.27	4.33	4.37	4.09	4.12	4.14	3.97	4.03	4.75	4.87			2.32		
14群(飲料水)	2.54			2.68			2.68			0.28			0.14		
総摂取量(pgTEQ/day)	0.16			0.16			0.16			0.00			100.00		
摂取量(pgTEQ/kg bw/day)	116.57	140.85	153.21	108.80	115.96	159.20	93.60	95.75	142.90	111.87			23.36		
	2.33	2.82	3.06	2.18	2.32	3.18	1.87	1.92	2.86	2.24			0.47		

* 一部の地域(北海道及び東北地区、中国・四国及び九州地区)の食品群1~9、13及び14群は共通試料を使用した。

** 食品群10~12におけるダイオキシン類(PCDDs+PCDFs+Co-PBs)摂取量(ND=0)の最小値の組み合わせを#1、中央値の組み合わせを#2、最大値の組み合わせを#3とした。

表7 機関別ダイオキシン類1日摂取量の経年推移(平成10~18年度)¹⁾

地 区		PCDDs+PCDFs+Co-PCBs (pgTEQ/kgbw/day) ND=0								
		平成10年度	平成11年度	平成12年度	平成13年度	平成14年度	平成15年度	平成16年度	平成17年度	平成18年度
北海道地区	A	2.77	1.29	0.84	0.67	0.88	0.84	0.48	0.67	0.38 (0.33) ²⁾
						0.94	1.03	1.03	1.80	0.45 (0.39)
						1.44	1.33	2.48	3.56	1.71 (1.50)
東北地区	A	1.26	1.47	1.10	-	-	-	-	-	-
		-	1.65	1.92	2.02	1.16	0.72	0.48	0.64	0.53 (0.46)
						1.46	0.84	0.80	1.15	1.06 (0.90)
関東地区	A	2.06	4.04	1.30	1.08	1.46	0.78	1.64	0.55	0.60 (0.51)
						2.01	1.86	1.80	0.87	0.94 (0.81)
						2.76	3.05	1.87	1.26	1.47 (1.28)
関東地区	B	2.14	1.59	1.72	1.99	1.34	0.90	-	-	-
						2.33	1.01	-	-	-
						3.40	2.93	-	-	-
関東地区	C	2.00	1.68	1.48	1.42	0.90	1.02	1.05	0.70	0.79 (0.68)
						1.17	1.06	1.75	1.33	1.00 (0.87)
						1.51	2.05	2.34	2.03	1.38 (1.22)
中部地区	A	-	1.53	1.44	-	-	-	-	-	-
		1.87	1.57	1.41	1.65	1.40	1.34	0.72	0.69	0.67 (0.58)
						1.67	1.48	0.91	0.80	0.87 (0.76)
中部地区	B					1.93	1.86	1.83	1.40	1.00 (0.87)
		2.03	2.42	1.80	1.53	0.62	0.58	0.64	0.47	0.46 (0.40)
						0.68	1.15	0.71	0.60	0.70 (0.62)
中部地区	C					1.28	1.50	2.03	1.86	1.24 (1.01)
		-	7.01	2.01	-	-	-	-	-	-
		2.72	1.79	1.43	1.33	0.96	0.77	1.32	0.67	0.98 (0.86)
関西地区	B					1.39	1.15	1.86	0.82	1.50 (1.32)
						2.75	1.58	2.25	1.42	1.76 (1.54)
		-	1.89	2.01	2.00	1.40	-	-	-	-
関西地区	C					1.78	-	-	-	-
						2.02	-	-	-	-
		-	3.59	-	-	-	-	-	-	-
中国四国地区	A	-	-	0.98	0.88	0.79	0.62	-	-	-
						0.98	1.22	-	-	-
						1.22	1.56	-	-	-
中国四国地区	B	1.22	1.48	1.40	1.60	0.73	1.03	1.19	1.20	0.93 (0.82)
						1.54	1.51	1.35	1.57	1.08 (0.92)
						2.12	2.05	1.72	1.72	1.94 (1.64)
九州地区	A	1.99	1.84	1.55	3.40	0.57	0.85	0.61	0.66	0.61 (0.54)
						1.18	1.04	0.99	1.05	0.65 (0.56)
						1.81	1.83	1.27	1.44	1.65 (1.38)
九州地区	B	-	1.19	0.86	-	-	-	-	-	-
平均		2.00	2.25	1.45	1.63	1.49	1.33	1.41	1.20	1.04 (0.90)

1) 平成10~12年度の摂取量は、平成12年度厚生科学研究費補助金研究事業「ダイオキシン類の食品経路総摂取量調査研究報告書」から、平成13~15年度の摂取量は、平成15年度厚生労働科学研究費補助金研究事業「ダイオキシンの汚染実態把握及び摂取低減化に関する研究報告書」から、平成16及び17年度の摂取量は、平成16及び17年度厚生労働科学研究費補助金研究事業「ダイオキシン類による食品汚染実態の把握に関する研究報告書」から引用した。

2) ()内の数値は新しいTEF(WHO, 2005)を使用して算出した摂取量である。10から12群の摂取量の組み合わせは新しいTEFを使用した場合の最小値、中央値、最大値の組み合わせとしたため、一部の機関(関東地区A、中国・四国地区C)では使用している10から12群の分析値の組み合わせは従来のTEF(WHO, 1998)を使用した場合と異なる。

参考表1 WHO 1998とWHO 2005 TEFの比較

Dioxins		WHO 1998 TEF	WHO 2005 TEF ¹⁾
PCDDs	2,3,7,8-TCDD	1	1
	1,2,3,7,8-PeCDD	1	1
	1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.1	0.1
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.1	0.1
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.1	0.1
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.01	0.01
	1,2,3,4,6,7,8,9-OCDD	0.0001	0.0003
PCDFs	2,3,7,8-TCDF	0.1	0.1
	1,2,3,7,8-PeCDF	0.05	0.03
	2,3,4,7,8-PeCDF	0.5	0.3
	1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.1	0.1
	1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.1	0.1
	1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.1	0.1
	2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.1	0.1
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.01	0.01
	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.01	0.01
	1,2,3,4,6,7,8,9-OCDF	0.0001	0.0003
Non-ortho PCBs	3,3',4,4'-TCB (#77)	0.0001	0.0001
	3,4,4',5'-TCB (#81)	0.0001	0.0003
	3,3',4,4',5'-PeCB (#126)	0.1	0.1
	3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	0.01	0.03
Mono-ortho PCBs	2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	0.0001	0.00003
	2,3,4,4',5'-PeCB (#114)	0.0005	0.00003
	2,3',4,4',5'-PeCB (#118)	0.0001	0.00003
	2',3,4,4',5'-PeCB (#123)	0.0001	0.00003
	2,3,3',4,4',5'-HxCB (#156)	0.0005	0.00003
	2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	0.0005	0.00003
	2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)	0.00001	0.00003
	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	0.0001	0.00003

1) Van den Berg et al., Toxicological Sciences 93, 223-241 (2006)

分担研究報告書

2. 個別食品のダイオキシン類汚染実態調査

2-1. 個別食品のダイオキシン類汚染実態調査

分担研究者 佐々木久美子

(国立医薬品食品衛生研究所)

厚生労働科学研究補助金(食品の安心・安全確保推進研究事業)
分担研究報告書

ダイオキシン類による食品汚染実態の把握に関する研究
(2)個別食品のダイオキシン類汚染実態調査
(2-1)個別食品のダイオキシン類汚染実態調査

分担研究者 佐々木久美子 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

魚介類 40 試料及び鶏卵 2 試料について、PCDDs 7 種、PCDFs 10 種及び Co-PCBs 12 種の計 29 種のダイオキシン類濃度を調査した。その結果、最も濃度が高かったのは、あんこうの肝であり、13.604 pg TEQ/g 及び 27.092 pg TEQ/g であった。1 pg TEQ/g を超えたものは、うなぎ (1.052 pg TEQ/g)、さけ (2.059, 1.994 pg TEQ/g)、さば (2.299, 2.292, 1.868 pg TEQ/g)、及びぶり (2.368, 1.819 pg TEQ/g) であった。これらの魚試料では Co-PCBs 汚染が主体であった。

また、毒性等量濃度が高かった 10 試料については、最近公表された新しい TEF (WHO, 2005) を使用した毒性等量濃度を算出し、従来の TEF を使用した場合の毒性等量濃度と比較した。その結果、ほとんどの試料で 10~20% 低い毒性等量濃度が得られた。

研究協力者

(財)日本食品分析センター

丹野憲二, 野村孝一, 柳 俊彦, 河野洋一

国立医薬品食品衛生研究所

堤 智昭

28 試料), 輸入魚介類 (6 種, 12 試料) 及び国内産の鶏卵 (2 試料) であり, 東京, 福岡及び北海道の小売店で平成 18 年度に購入した。

2. 試験項目及び検出限界

WHO が毒性等価係数 (1998 TEF) を定めた下記の PCDDs 7 種, PCDFs 10 種及び Co-PCBs 12 種の計 29 種を分析対象とした。

() 内の数字は検出限界 (pg/g) を示す。

PCDDs

- 2,3,7,8-TCDD, 1,2,3,7,8-PeCDD (0.01)
- 1,2,3,4,7,8-HxCDD, 1,2,3,6,7,8-HxCDD, 1,2,3,7,8,9-HxCDD, 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD (0.02)
- 1,2,3,4,6,7,8,9-OCDD (0.05)

PCDFs

- 2,3,7,8-TCDF, 1,2,3,7,8-PeCDF, 2,3,4,7,8-PeCDF (0.01)
- 1,2,3,4,7,8-HxCDF, 1,2,3,6,7,8-HxCDF, 1,2,3,7,8,9-HxCDF, 2,3,4,6,7,8-HxCDF, 1,2,3,4,6,7,8,9-HpCDF, 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF (0.02)

A. 研究目的

トータルダイエツト法によるダイオキシン類の摂取量調査結果から、摂取量の約 90% が魚介類によるものであることが分かっている¹⁾。そこで、本研究では食品のダイオキシン類汚染実態を把握し、個人別暴露量を正確に評価するためのデータ蓄積を目的に、主に魚介類についてダイオキシン類含有量を調査した。

B. 研究方法

1. 試料

調査対象食品は、国内産生鮮魚介類 (14 種、

- 1,2,3,4,6,7,8,9-OCDF (0.05)

Co-PCBs

- 3,3',4,4'-TCB(#77), 3,4,4',5-TCB(#81), 3,3',4,4',5-PeCB(#126), 3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169) (0.1)
- 2,3,3',4,4'-PeCB(#105), 2,3,4,4',5-PeCB(#114), 2,3',4,4',5-PeCB(#118), 2',3,4,4',5-PeCB(#123), 2,3,3',4,4',5-HxCB(#156), 2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157), 2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167), 2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189) (1)

3. 試験方法

ダイオキシン類の分析は、「食品中のダイオキシン類測定方法ガイドライン」(厚生労働省, 平成 11 年 10 月)に従った。

4. 分析結果の表記

測定結果は湿重量あたりの毒性等量(pg TEQ/g)で示した。毒性等量の計算には、TEF(WHO, 1998)を用いた。検出限界以下の異性体濃度はゼロとして計算した。

C. 研究結果及び考察

国内産生鮮魚介類(14 種, 28 試料), 輸入魚介類(6 種, 12 試料)及び国内産の鶏卵(2 試料)を分析し, 結果を表 1 に示した。

1 魚種につき 2 試料を分析したが, 2 試料ともに濃度が高かったのは, 輸入あんこうの肝(13.604 及び 27.092 pg TEQ/g), 国産さば(2.299, 2.292 pg TEQ/g), 国産養殖ぶり(2.368, 1.819 pgTEQ/g), 輸入さけ(2.059, 1.994 pgTEQ/g)であった。

輸入あんこうの肝の輸出国は米国及び中国, 輸入さけの輸出国はノルウェー及びデンマークであった。

平成 16 年度に分析した国産あんこうの肝は, 15.344 pg TEQ/g であり²⁾, 今回の輸入品の濃度に近かった。あんこうの肝は脂肪濃度が高

いこともあり、一般に高濃度のダイオキシン類を含んでいる可能性がある。

逆にダイオキシン類濃度が低かったのは, 養殖ホタテ貝(0.002, 0.001 pg TEQ/g)及び天然キハダマグロ(0.004, 0.034 pg TEQ/g)であった。また, 鶏卵も 0.008 及び 0.031 pg TEQ/g の低濃度であった。

ダイオキシン類に占める Co-PCBs の割合は, 魚介類 40 試料の平均で 75.9%であった。17 年度の平均値は 66.7%であり, ダイオキシン類の 2/3~3/4 は Co-PCB が占めていると言える。

魚に含まれる PCDD/Fs 及び Co-PCBs の総量に対して EU は 8 pgTEQ/g の規制値を提案している³⁾。この規制値が魚の肝にも適用されるか否かは明らかではないが, あんこうの肝から検出されたダイオキシン類はこの EU の基準を超えていた。しかし, あんこうの肝の摂取量は限られているため, バランスのとれた食生活を送る限り, 大きな問題を生ずることはないと考えられる。

また, 毒性等量濃度が高かった 10 試料について, 最近発表された新しい TEF(参考表 1)を使用した毒性等量濃度を算出し, 従来の毒性等量濃度と比較を行った。その結果, PCDD/Fs 及び Co-PCBs 共に, 毒性等量濃度が 10~20%低くなる場合がほとんどであった(図 1)。PeCDFs やモノオルト PCBs の TEFs が低くなっていることが, 影響していると考えられる。

D. 結論

1. 魚介類 40 試料及び鶏卵 2 試料について, ダイオキシン類濃度を調査した結果, 最も濃度が高かったのは, あんこうの肝の 13.604 及び 27.092 pgTEQ/g であった。また, うなぎ, さけ, さば, ぶり, でも比較的高い濃度(1 pg TEQ/g 以上)のダイオキシン類が検出された。

E. 参考文献

- 1) Tsutsumi, T., Yanagi, T., Nakamura, M., Kono, Y., Uchibe, H., Iida, T., Hori, T., Nakagawa, R., Tobiishi, K., Matsuda, R., Sasaki, K., Toyoda, M.: Update of daily intake of PCDDs, PCDFs, and dioxin-like PCBs from food in Japan. *Chemosphere*, 45, (2001) 1129-1137.
- 2) 厚生労働科学研究「ダイオキシン類による食品汚染実態の把握に関する研究」平成 16 年度研究報告書
- 3) Commission Regulation (EC) No 199/2006 of 3 February 2006, Official Journal of the European Union, 4.2.2006, L32/34.

F. 研究業績

1. 論文発表

- 1) Tsutsumi, T., Amakura, Y., Sasaki, K., Maitani, T.: Dioxin concentrations in the edible parts of Japanese common squid and saury. *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 48, 8-12 (2007)

2. 学会発表

なし

表1 平成18年度 食品中のダイオキシン類の濃度 (pg TEQ/g)

食品	産地	ダイオキシン類 (pg TEQ/g)			
		PCDD/Fs	Co-PCBs	Total	
生鮮魚介類	あんこうの肝	輸入	4.250	9.354	13.604
	あんこうの肝	輸入	6.767	20.324	27.092
	うなぎ	輸入	0.214	0.837	1.052
	うなぎ	輸入	0.186	0.246	0.432
	うに	輸入	0.065	0.083	0.148
	うに	輸入	0.032	0.049	0.081
	かき	国産	0.100	0.207	0.307
	かき	国産	0.071	0.175	0.246
	かたくちいわし	国産	0.069	0.258	0.328
	かたくちいわし	国産	0.300	0.476	0.776
	かつお	国産	0.064	0.267	0.331
	かつお	国産	0.051	0.210	0.261
	かれい	国産	0.187	0.477	0.664
	かれい	国産	0.166	0.161	0.327
	キハダマグロ	国産	< 0.001	0.004	0.004
	キハダマグロ	国産	< 0.001	0.034	0.034
	さけ	国産	0.067	0.148	0.215
	さけ	国産	0.021	0.078	0.099
	さけ	輸入	0.302	1.757	2.059
	さけ	輸入	0.459	1.535	1.994
	さば	国産	0.438	1.861	2.299
	さば	国産	0.629	1.663	2.292
	さば	輸入	0.108	0.454	0.561
	さば	輸入	0.392	1.476	1.868
	さんま	国産	0.030	0.171	0.201
	さんま	国産	0.026	0.168	0.193
	すけとうたら	国産	0.003	0.025	0.028
	すけとうたら	国産	0.004	0.048	0.052
	ぶり	国産	0.452	1.916	2.368
	ぶり	国産	0.416	1.403	1.819
	ホタテ貝	国産	0.001	0.001	0.002
	ホタテ貝	国産	< 0.001	0.001	0.001
ほっけ	国産	0.259	0.490	0.748	
ほっけ	国産	0.288	0.486	0.774	
まあじ	国産	0.428	0.429	0.857	
まあじ	国産	0.176	0.267	0.442	
まだい	国産	0.119	0.538	0.657	
まだい	国産	0.089	0.417	0.506	
メバチマグロ	輸入	0.010	0.137	0.147	
メバチマグロ	輸入	0.034	0.411	0.445	
卵	鶏卵	国産	0.005	0.003	0.008
	鶏卵	国産	0.007	0.024	0.031

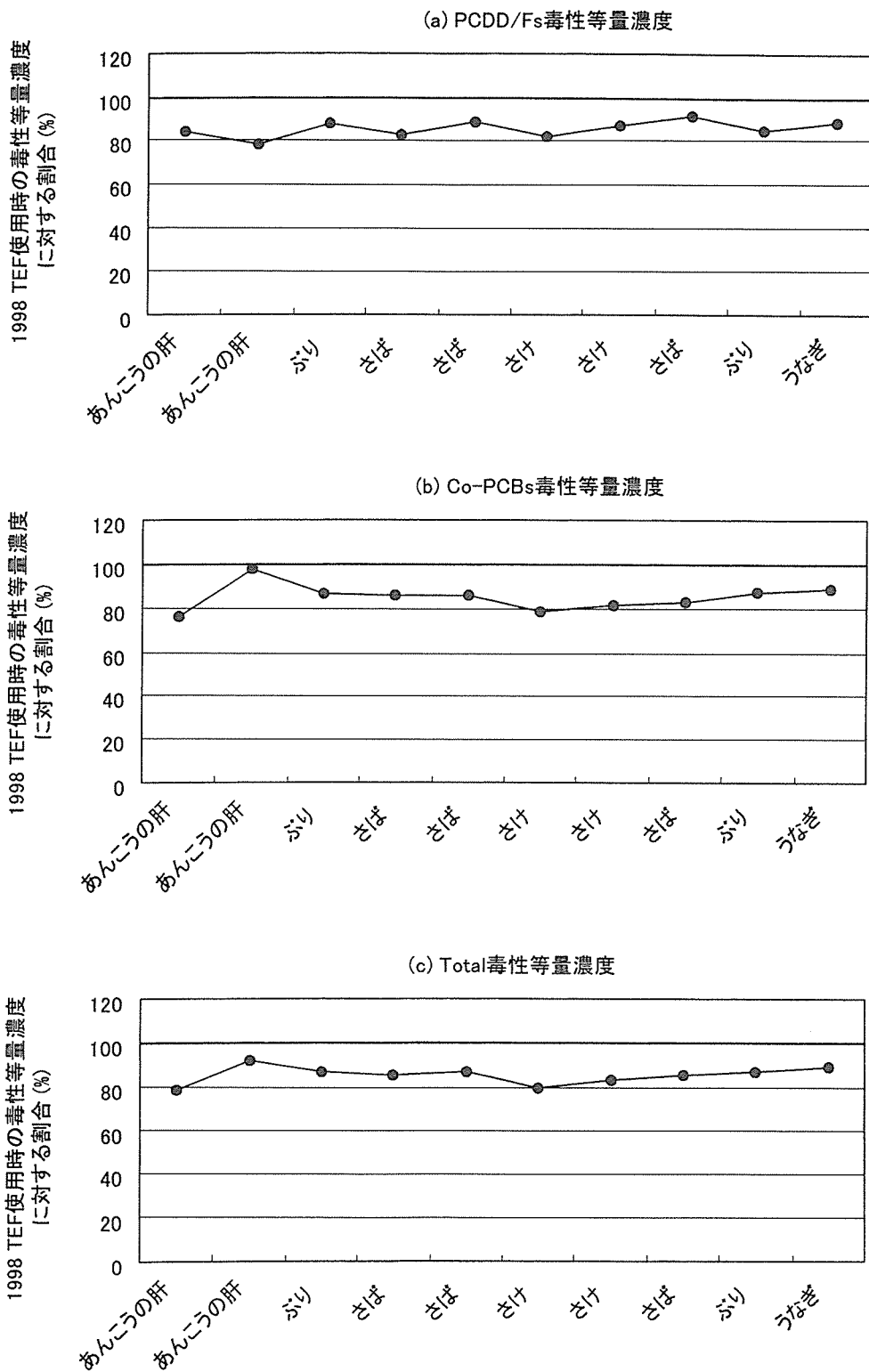


図1 新しいTEFを使用した場合の毒性等量濃度の変化

参考表1 WHO 1998とWHO 2005 TEFの比較

Dioxins		WHO 1998 TEF	WHO 2005 TEF ¹⁾
PCDDs	2,3,7,8-TCDD	1	1
	1,2,3,7,8-PeCDD	1	1
	1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.1	0.1
	1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.1	0.1
	1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.1	0.1
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.01	0.01
	1,2,3,4,6,7,8,9-OCDD	0.0001	0.0003
PCDFs	2,3,7,8-TCDF	0.1	0.1
	1,2,3,7,8-PeCDF	0.05	0.03
	2,3,4,7,8-PeCDF	0.5	0.3
	1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.1	0.1
	1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.1	0.1
	1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.1	0.1
	2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.1	0.1
	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.01	0.01
	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.01	0.01
	1,2,3,4,6,7,8,9-OCDF	0.0001	0.0003
Non-ortho PCBs	3,3',4,4'-TCB (#77)	0.0001	0.0001
	3,4,4',5'-TCB (#81)	0.0001	0.0003
	3,3',4,4',5'-PeCB (#126)	0.1	0.1
	3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	0.01	0.03
Mono-ortho PCBs	2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	0.0001	0.00003
	2,3,4,4',5'-PeCB (#114)	0.0005	0.00003
	2,3',4,4',5'-PeCB (#118)	0.0001	0.00003
	2',3,4,4',5'-PeCB (#123)	0.0001	0.00003
	2,3,3',4,4',5'-HxCB (#156)	0.0005	0.00003
	2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	0.0005	0.00003
	2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)	0.00001	0.00003
	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	0.0001	0.00003

1) Van den Berg et al., Toxicological Sciences 93, 223-241 (2006)

分担研究報告書

2. 個別食品のダイオキシン類汚染実態調査

2-2. 植物を利用した汚染浄化技術に関する基礎検討

分担研究者 天倉 吉章

(松山大学 薬学部)

厚生労働科学研究費補助金(食品の安心・安全確保推進研究事業)
分担研究報告書

(2) 個別食品のダイオキシン類汚染実態調査
(2-2) 植物を利用した汚染浄化技術に関する基礎検討

分担研究者 天倉吉章 松山大学 薬学部

研究要旨

食品中のダイオキシン汚染に影響を与える一因に土壤汚染があげられるため、その対策研究として植物を利用した浄化技術の適用に関する検討を行った。宿主植物にはプラント・マスの大きなタバコを選択し、物質輸送能と広い基質特異性を有する ABC (ATP-binding cassette) タンパク質の MRP (multidrug resistance-associated protein) サブファミリー、MRP1 を選択し、これを発現させたタバコを実験植物1とした。また同じ ABC タンパク質ファミリーの MDR (multidrug resistance) サブファミリー、CjMDR1 を発現させたシロイヌナズナを実験植物2とした。それぞれの実験植物について、一定量のダイオキシン(PCDD, PCDF, Co-PCB 類)を暴露し吸収除去能を検討したところ、全体的に低塩素体(4 塩素体)の吸収量が最も高く、高塩素になるに従い吸収量が低減する傾向が認められた。

実験植物1と野生株における吸収除去能を比較したところ、両者に顕著な差は認められず、むしろ野生株の方の吸収量が多く、ダイオキシン暴露量が高くなるとその傾向は顕著に認められた。一方、実験植物2と野生株における吸収除去能を比較したところ、全てのダイオキシンにおいて実験植物2の吸収量が多く、MDR1 植物体のダイオキシン汚染浄化植物としての可能性が示唆された。

研究協力者

京都大学 生存圏研究所

矢崎一史, 土反伸和

国立医薬品食品衛生研究所 食品部

佐々木久美子, 堤 智昭

松山大学 薬学部

吉田隆志

A. 研究目的

「ダイオキシン類総合調査研究事業」などに

より、ダイオキシンの生成機構、汚染実態、汚染経路が明らかとなり、それらに基づいた様々な削減対策が講じられ、我が国の汚染レベルは減少傾向が認められている。トータルダイエット試料による日常食からのダイオキシン類摂取量調査においても、ここ5年間は耐容一日摂取量(4 pg-TEQ/kg 体重/日)を下回る約 1.5 pg-TEQ/kg 体重/日で横這いに推移しており、今後はこれら調査結果に基づいたダイオキシン汚染レベルの軽減に向けた具体的な方策を講

じる研究を模索する必要がある。現在の食品中のダイオキシン濃度は、自浄能力だけでは除去出来ない環境残留濃度が反映しており、汚染状況をゼロにすることは不可能に近い。今後の取り組みとして、環境負荷の少ない方法でそれらをいかに取り除いていくか、その浄化システムの構築が課題の一つとして考えられる。そこでその取り組みの一案として、植物を使った環境浄化技術(ファイトレメディエーション)の利用に着目した。ファイトレメディエーションはランニングコストも低く、土壌などの環境資源の有用機能を損なうことなく修復することが期待され、これまで主に重金属の浄化に関する検討が行われている。またダイオキシンについての検討も少数例ある。しかしその期待の一方で、多大な予備検討が要求され、実用化に向けてはクリアしなければならない問題も多い。

そこで本研究では、ABC (ATP-binding cassette)タンパク質のもつ物質輸送能とその基質特異性の広さに着目し、これを植物細胞で分子ポンプとして機能させた遺伝子組換え植物を用い、その体内へダイオキシン類を吸収、蓄積することで土壌中のダイオキシンレベルの効率的低減化の可能性を模索する。まずその予備検討の一つとして、ABC タンパク質 MRP (multidrug resistance associated protein)サブファミリーの一つである薬剤排出ポンプ MRP1 発現植物(タバコ)を実験植物として選択し、17年度は3種の有機塩素系農薬(2,4-dichlorophenoxyacetic acid, alachlor, atrazine)を対象に実験系の検討を行った。今年度はその実験系を適用し、MRP1 発現タバコのダイオキシン吸収除去能について検討を行った。一方で、同じABCタンパク質遺伝子ファミ

リーである MDR (multidrug resistance)サブファミリーの MDR1 発現植物(シロイヌナズナ)についても、ダイオキシン吸収除去能を併せて検討した。

B. 研究方法

1. 試薬、試液

ダイオキシン類およびコプラナーPCB 類混合標準品は、Wellington 社製NK-ST-E(PCDD 類 5 種 (2,3,7,8-TeCDD, 1,2,3,7,8-PeCDD, 1,2,3,6,7,8-HxCDD, 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD, OCDD), PCDF 類 5 種(2,3,7,8-TeCDF, 1,2,3,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF, 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF, OCDF))、および BP-CP81 [4 種 : 3,4,4',5'-TeCB (#81), 3,3',4,4'-TeCB (#77), 3,3',4,4',5'-PeCB (#126), 3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)]を用いた。その他の試薬はすべて特級を用いた。

2. 植物体

ABC タンパク質サブファミリーの中の薬剤排出ポンプの一つであるヒト *mrp1* 遺伝子を導入、発現させたタバコ (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun NN)を実験植物1(MRP1 タバコ)とし、野生株のタバコを対照植物(Wild タバコ)として使用した。またキンポウゲ科植物のオウレン (*Coptis japonica*) *mdr1* 遺伝子を導入、発現させたシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*)を実験植物2(CjMDR1 シロイヌナズナ)とし、野生株のシロイヌナズナを対照植物(Wild シロイヌナズナ)として使用した。

3. 植物体の栽培

MRP1 発現体(実験植物1)および Wild タバ

コ:種表面を有効塩素濃度 5%の次亜塩素ナトリウムと 0.02% triton-X100 を含む水溶液を用いて滅菌処理した。これらの種を 1/2LS 寒天培地上で発芽させた後、1/2LS 培地を 40 mL 添加したプラントボックス内のフロリアライト 552(日清紡社製)に移植し、25°C、16 時間明-8 時間暗の光照射条件下で 3~4 ヶ月無菌栽培したタバコ(MRP1 および Wild)を試験に供した。

MDR1 発現体(実験植物2)あるいは Wild シロイヌナズナ:種表面を有効塩素濃度 5%の次亜塩素ナトリウムと 0.02% triton-X100 を含む水溶液を用いて滅菌処理した。これらの種を 1/2LS を 40 mL 添加したプラントボックス内のフロリアライト 552 に蒔き、21°C、16 時間明-8 時間暗の光照射条件下で 3~4 ヶ月無菌栽培したシロイヌナズナ(CjMDR1 および Wild)を試験に供した。

[1/2LS 培地の組成]: H_3BO_3 (3.09 mg), $MnSO_4 \cdot nH_2O$ (12.05 mg), $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ (4.315 mg), KI (0.415 mg), $NaMoO_4 \cdot 2H_2O$ (0.121 mg), $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (0.0125 mg), $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ (0.012 mg), KH_2PO_4 (85 mg), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (185 mg), NH_4NO_3 (825 mg), KNO_3 (950 mg), $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (220 mg), $NaFeEDTA \cdot 3H_2O$ (21.055 mg), チアミン塩酸塩 (0.2 mg), イノシトール (50 mg), スクロース (15 g) を蒸留水 1 L に溶解し、pH5.8 とした。

4. ダイオキシン吸収実験

MRP1 発現体(実験植物1)および Wild タバコ:ダイオキシン類およびコプラナーPCB 類標準溶液をジメチルスルホキシド(DMSO)に転溶し、その一定量(PCDD/PCDF 類, Co-PCB 類各 30 ng, または PCDD/PCDF 類各 60 ng,

Co-PCB 類各 100 ng)を 1/2LS 液体培地 10 mL に溶解後、実験植物が生育しているプラントボックス内へ暴露した。25°C、16 時間明-8 時間暗の光照射条件下で経過を観察し、14 日後に植物を回収し、ダイオキシン測定試料とした。

MDR1 発現体(実験植物2)あるいは Wild シロイヌナズナ:ダイオキシン類およびコプラナーPCB 類標準溶液を DMSO に転溶し、その一定量(PCDD/PCDF 類, Co-PCB 類各 10 ng)を 1/2LS 液体培地 10 mL に溶解後、実験植物が生育しているプラントボックス内へ暴露した。25°C、16 時間明-8 時間暗の光照射条件下で経過を観察し、7 日後に植物を回収し、ダイオキシン測定試料とした。

5. ダイオキシン量測定

ダイオキシンの分析は、「食品中のダイオキシン類測定方法ガイドライン(厚生省、平成 11 年 10 月)」に従った。

C. 研究結果及び考察

1. MRP1 タバコ(実験植物1)のダイオキシン吸収除去能

MRP1 タバコ及び Wild タバコ各 10 ポット(10 株)を、プラントボックス中で実験可能な大きさとなる 3~4 ヶ月間栽培した後、ダイオキシンを暴露した。14 日間経過観察したところ、両タバコとも枯れることなく生育し、抵抗性に差は認められなかった。暴露後、14 日目に植物体をそれぞれ回収し、ダイオキシン分析を行った。図1にその結果を示す。Wild タバコと MRP1 タバコ、ともにダイオキシンが検出された。特に 2,3,7,8-TeCDD の吸収除去能が顕著に認められたが、高塩素体になるに従い、低下する傾向

が認められた。この傾向は、PCDD 類のみならず、PCDF 類、Co-PCB 類においても同じだった。また高濃度のダイオキシンを暴露した系においても同様の傾向が認められた〔図 1 (b)〕。

MRP1 タバコと Wild タバコにおける両植物間でのダイオキシン吸収除去能には差が認められず、高濃度では Wild タバコの方の吸収除去能が大きい結果となった。

2. MDR1 シロイヌナズナ(実験植物2)のダイオキシン吸収除去能

MDR1 シロイヌナズナ及び Wild シロイヌナズナ各 20 ポット(40 株)をプラントボックス中で3~4 ヶ月間栽培した後、ダイオキシンを暴露した。7 日間経過を観察したところ、両シロイヌナズナとも枯れることなく生育し、抵抗性に差は認められなかった。暴露後、7 日目に植物体をそれぞれ回収し、ダイオキシン分析を行った。図2にその結果を示す。両シロイヌナズナともにダイオキシンを検出した。特に 2,3,7,8-TeCDD の吸収除去能が顕著で、高塩素になるに従い、低下する傾向が認められた。この傾向は、PCDD 類のみならず、PCDF 類、Co-PCB 類においても認められ、タバコでの傾向と同じであった。

MDR1 タバコと Wild シロイヌナズナにおける両植物間での吸収除去能の差を見てみると、全てのダイオキシンにおいて MDR1 発現植物の方の吸収除去能が大きい結果となった。

3. 考察

MRP1 発現タバコにおいて、MRP1 はタバコ緑葉の液胞膜に局在し、生体異物を細胞質から液胞内に蓄積することが予想されている。この液胞内に異物を隔離蓄積する機能により、

MRP1 発現タバコはカドミウム等毒性物質に対して Wild タバコよりも耐性を示すと共に、蓄積量も多いことが報告されている(Yazaki et al., 2006)。そこで MRP1 タバコは、ダイオキシンも同様に液胞に蓄積し、耐性を示し、より吸収除去能が高いことが予想された。しかし今回のダイオキシン吸収除去能試験においては、両タバコ間で耐性に差は見られず、Wild タバコの方の吸収除去能が大きく、予想に反する結果となった。抵抗性に差が認められなかったことに関しては、低濃度のダイオキシンを暴露したことから、両植物間で顕著な毒性を示さなかったことも考えられる。一方、MRP1 タバコにおいて吸収除去能が低かった点については、MRP1 の発現および機能が組織間で異なることに由来する可能性が考えられる。MRP1 の発現は緑葉においては液胞局在であることが実証されているが、根における局在は明らかとされていない。異種細胞からの輸送体を植物において高発現させた場合、組織間で局在部位が異なる可能性がある。MRP1 は、根においては細胞膜で発現している可能性がある。この場合、ダイオキシンを暴露した MRP1 タバコは、根細胞膜に発現した MRP1 が細胞質から細胞外にダイオキシンを排出することになり、その結果吸収除去能が Wild タバコよりも低くなると予想される。低濃度のダイオキシン暴露(30 ng)においては吸収除去能に差が見られなかったが、この点については MRP1 の発現レベルおよび基質認識が低かったためではないかと考えられる。今後、根における MRP1 の発現部位を確認する必要があるが、本仮説が確かめられた場合、ダイオキシンを逆に取り込まなくなる新規植物の分子育種が可能となると期待される。

MDR1 シロイヌナズナに発現させた CjMDR1 は、オウレンにおいては細胞膜に発現し、生体内基質であるベルベリンアルカロイドを細胞外から細胞内に取り込む輸送体である。その輸送基質は比較的選択性が高いとされるが、4-Nitroquinoline-*N*-oxide など化学構造上かなり異なる化合物をも基質とすることが報告されている (Shitan et al., 2003)。そこで CjMDR1 を発現させたシロイヌナズナは、ダイオキシンを基質として細胞外から細胞内に取り込み、結果として吸収除去能が高まることが期待された。今回のダイオキシン処理において、MDR1 発現シロイヌナズナでより吸収除去能が高かったことは、期待に添う結果となった。また、全てのダイオキシンについて吸収除去能が高かったことから、発現させた MDR1 はシロイヌナズナ中、広い基質認識を示して細胞内に取り込んだと期待される。これらの結果から、今回用いた MDR1 シロイヌナズナには、ダイオキシン浄化植物としての可能性が示された。

D. 結論

形質転換株 (MRP1) と野生株 (Wild) のタバコのダイオキシンに対する吸収除去能について検討を行った。その結果、ダイオキシンに対する抵抗性について差は認められず、また吸収除去能についても顕著な差は認められなかった。

一方、形質転換株 (CjMDR1) と野生株 (Wild) のシロイヌナズナのダイオキシン吸収除去能について検討した結果、ダイオキシンに対する抵抗性には差は認められなかった。吸収除去能については、CjMDR1 株の方が優れており、MDR1 植物体のダイオキシン浄化植物としての可能性が示唆された。

E. 参考文献

- 矢崎一史: 高等植物における ABC タンパク質スーパーファミリー, *バイオサイエンスとイノベーション*, 60, 17-22 (2002).
- 土反伸和, 矢崎一史: 植物 ABC タンパク質スーパーファミリーの多様性, *生化学*, 76, 1221-1224 (2004).
- 殷熙洙, 渡邊栄喜, 服部眞幸, 西原英治, ダイオキシン類軽減・除去のためのファイトレメディエーション, 第 12 回環境化学討論会講演要旨集, P180 (2003).
- 竹田竜嗣, 森田真弘, 川村三郎, 松本貞義, 米虫節夫, 沢辺昭義, 草本植物による重金属の集積とファイトレメディエーションへの適用, 第 12 回環境化学討論会講演要旨集, P814 (2003).
- Shitan, N., Bazin, I., Dan, K., Obata, K., Kigawa, K., Ueda, K., Sato, F., Forestier, C., Yazaki, K., Involvement of CjMDR1, a plant multidrug-resistance-type ATP-binding cassette protein, in alkaloid transporter in *Coptis japonica*, *PNAS*, 100, 751-756 (2003).
- Yazaki, K., ABC transporters involved in the transport of plant secondary metabolites, *FEBS Letters*, 580, 1183-1191 (2006).
- Yazaki, K., Yamanaka, N., Masuno, T., Konagai, S., Kaneko, S., Ueda, K., Sato, F., Heterologous expression of a mammalian ABC transporter in plant and its application to phytoremediation, *Plant Mol. Biol.*, 61, 491-503 (2006).

- Leslie, E.M., Deeley, R.G., Cole, S.P.C.,
Toxicological relevance of the multidrug
resistance protein 1, MRP1(ABCC1) and
related transporters, *Toxicology*, 167, 3–
23 (2001).
- Asai, K., Takagi, K., Shimokawa, M., Sue,
T., Hibi, A., Hiruta, T., Fujihira, K.,
Nagasaka, H., Hisamatsu, S., Sonoki, S.,
Phytoaccumulation of coplanar PCBs by
Arabidopsis thaliana, *Environmental
Pollution*, 120, 509–511 (2002).

F. 研究業績

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

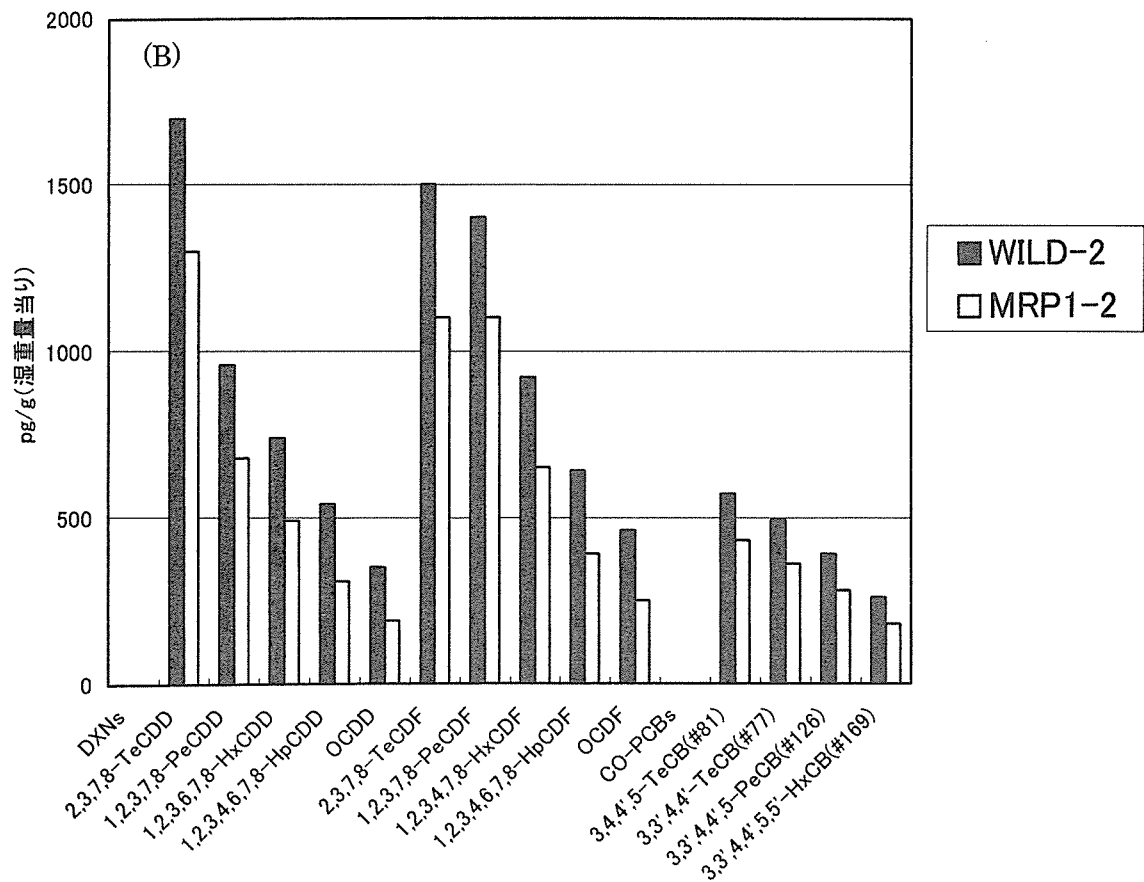
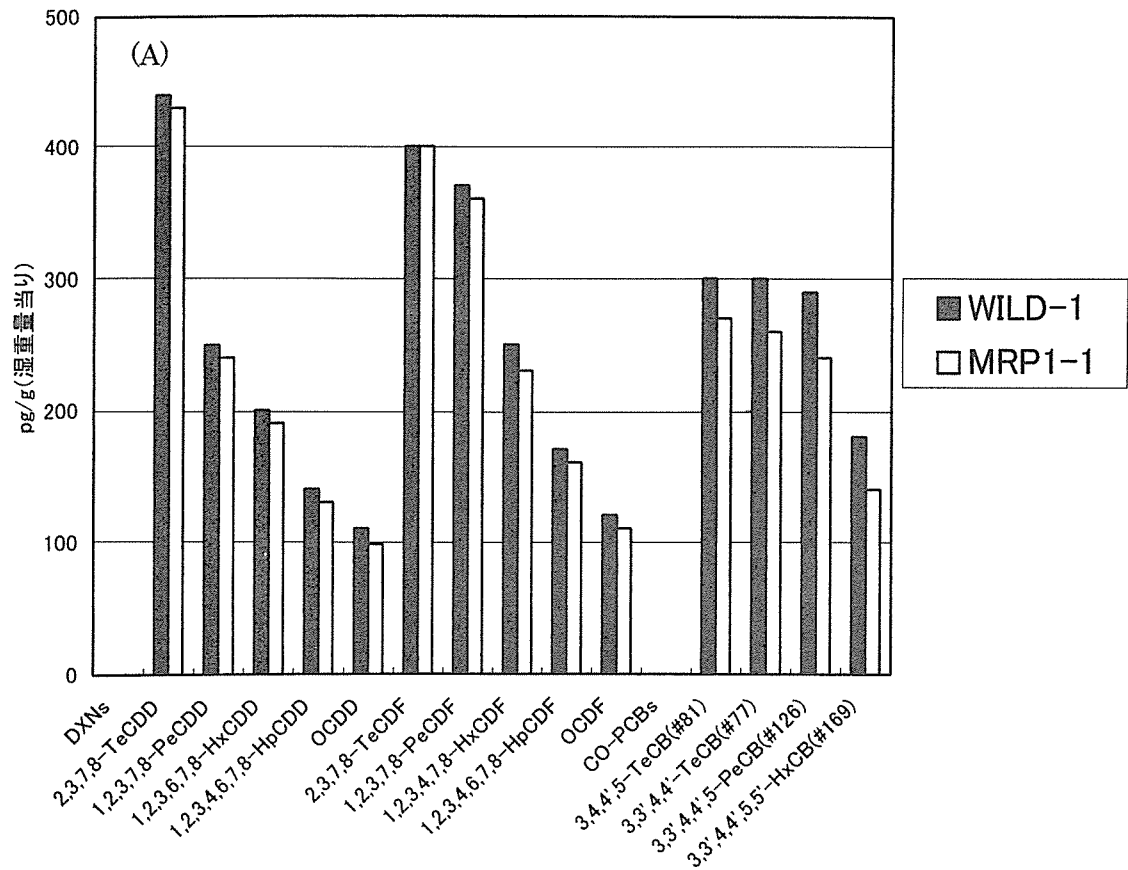


図1. タバコ (Wild, MRP1) のダイオキシンの吸収除去能
 (A) PCDD/PCDF 類, Co-PCB 類 各 30 ng 暴露
 (B) PCDD/PCDF 類 各 60 ng, Co-PCB 類 各 100 ng 暴露

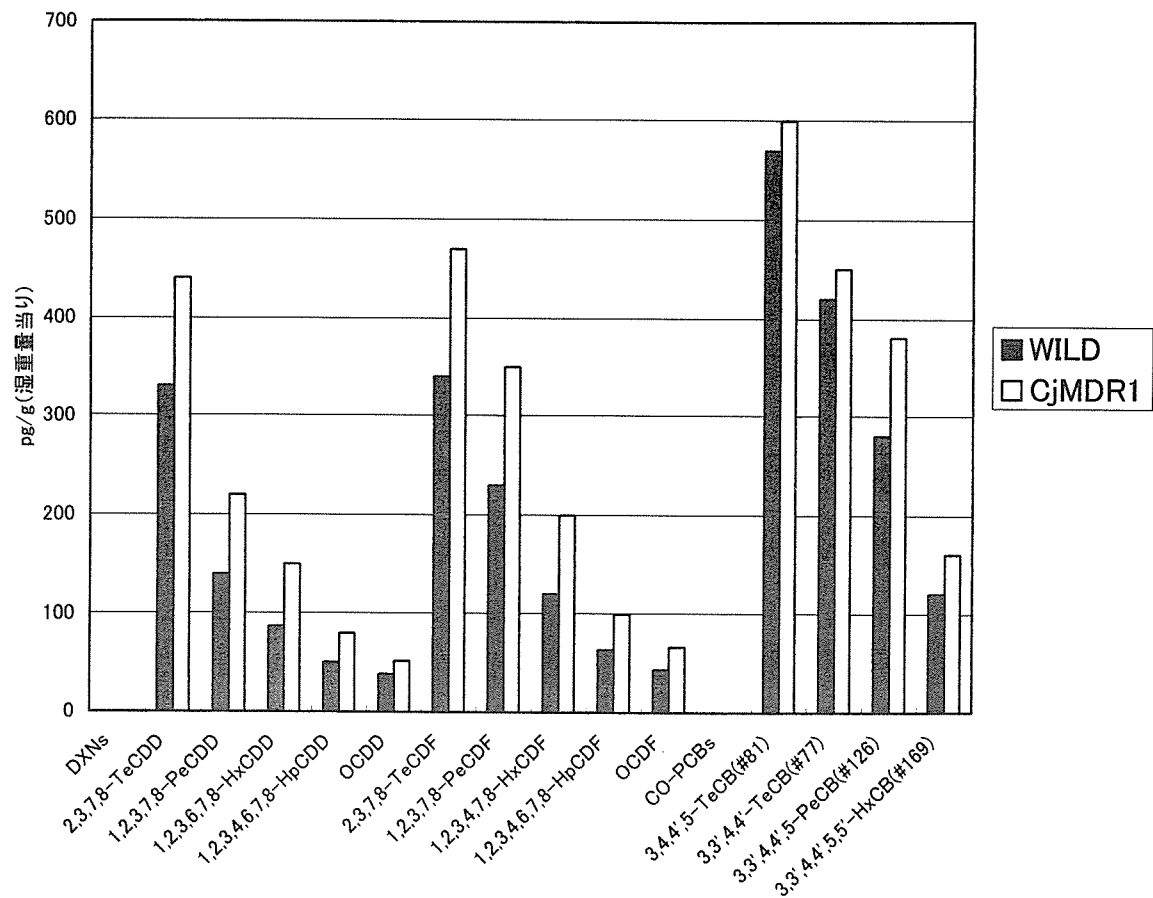


図2. シロイヌナズナ (Wild, CjMDR1) のダイオキシンの吸収除去能 (PCDD/PCDF 類, Co-PCB 類 各 10 ng 暴露)

分担研究報告書

3. 食品中ダイオキシン類分析の迅速化・信頼性向上に関する研究
- 3-1. 表面プラズモン共鳴センサーを用いた市販魚中のダイオキシン類スクリーニング法

分担研究者 堤 智昭

(国立医薬品食品衛生研究所)