

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

参考文献

1. Chevrier J, et al. (2008) Am J Epidemiol 168, 298-310.
2. Fukata H, et al. (2005) Environ Health Perspect 113, 297-303.
3. James RA, et al. Environ Health Perspect 110, 617-624.
4. Jimenez Torres M, et al. (2006) Sci Total Environ 372, 32-8.
5. Pathak R, et al. (2008) Bull Environ Contam Toxicol 81, 216-9.
6. Wittsiepe et al. (2008) J Toxicol Environ Health A 71, 703-9.
7. 環境省（2002）化学物質の環境リスク評価 第1巻
8. 厚生労働省, 化審法 第一種特定化学物質, <http://www.nihs.go.jp/mhlw/chemical/kashin/kisei/class1.html>
9. 東京都立衛生研究所（1998）内分泌かく乱化学物質（67物質）データ集
10. 日本環境化学会, POPs条約対象12物質の概要
11. 農林水産消費安全技術センター, 失効有効成分一覧, <http://www.acis.famic.go.jp/toroku/sikouseibun.htm>

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

表1 難分解性有機塩素系農薬の概要

| 物質群 | 農薬登録 ^a (年) | 農薬失効 ^a (年) | 第一種特定化学物質指定 ^b (年) | 概要（主な用途・その他）。 |
|-----------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------------|--|
| DDT | 1948 | 1974 | 1981 | <ul style="list-style-type: none"> ●防疫用殺虫剤（薬事法の医薬部外品）、農業用殺虫剤。 ●マラリア発生地域では現在も使用している。 ●DDE（難分解性で蓄積性が高い）へと分解する経路とDDDを経てDDAなどへの分解経路がある。 ●1971年、農薬としては使用禁止。 |
| クロルデン | 1950 | 1971 | 1986 | <ul style="list-style-type: none"> ●農業用殺虫剤、シロアリ駆除剤、キクイムシ防除剤。 ●シロアリ駆除剤、木材処理剤としての使用が多く、輸入量は農薬登録失効後も増加した。 ●製品は、オクタクロルの立体異性体、およびヘプタクロル、ノナクロル等、数十成分を含む混合物である。 ●オキシクロルデンは、<i>trans</i>-、<i>cis</i>-クロルデンの代謝物である。 |
| ヘプタクロル | 1957 | 1975 | 1986 | <ul style="list-style-type: none"> ●農業用殺虫剤、シロアリ駆除剤。 ●ヘプタクロルエポキシドはその代謝物である。 |
| ドリリン剤 アルドリリン | 1954 | 1975 | 1981 | <ul style="list-style-type: none"> ●農業用殺虫剤（土壌害虫駆除）。 ●揮発性があり、比較的残効が少ない。 ●魚毒性が強い。 ●体内でディルドリンとなり脂肪組織に蓄積する。 ●1971年、農薬としては使用禁止。 |
| ディルドリン | 1954 | 1975 | 1981 | <ul style="list-style-type: none"> ●農業用殺虫剤、衛生害虫駆除、シロアリ駆除剤。 ●シロアリ駆除の目的での木材、接着剤への使用、家具、什器への塗布も行われた。 ●1971年、農薬としては使用禁止。 ●1978年に羊毛製品防虫加工における使用規制。 |
| エンドリン | 1954 | 1975 | 1981 | <ul style="list-style-type: none"> ●農業用殺虫剤、殺鼠剤。 ●魚毒性が強い（水田での使用禁止）。 ●ディルドリンの異性体である。 ●1971年、農薬としては使用禁止。 |
| HCB | — | — | 1979 | <ul style="list-style-type: none"> ●殺菌剤（国内での農薬としての利用はない）。 ●除草剤のPCPの製造原料として使用された。 ●工業的に利用され（難燃剤、可塑剤など）、多くの産業からの排出がある。 |
| HCH | 1949 | 1971 | — | <ul style="list-style-type: none"> ●農業用農薬、家庭用殺虫剤、防疫用薬剤、シロアリ駆除剤等 ●β-体は安定で、環境、生体内中などで残留性が高い。γ-体が殺虫効果を持つ。 ●POPs指定される可能性あり。 ●1971年、家庭用殺虫剤として使用禁止。 |
| マイレックス | — | — | 2002 | <ul style="list-style-type: none"> ●難燃剤、殺虫剤（国内での使用実績なし）。 |
| トキサフェン | — | — | 2002 | <ul style="list-style-type: none"> ●殺虫剤（国内での使用実績なし）。 ●現在も外国で綿花栽培に使用されている。 |

^a, DDT, クロルデン、ヘプタクロル、ディルドリン、HCHは農林水産消費安全技術センター提供資料、HCBは環境省提供資料、その他の物質は内分泌かく乱化学物質（67物質）データ集（東京都立衛生研究所、1998）を参照した。^b, 厚生労働省提供資料を参照した。^c, 内分泌かく乱化学物質（67物質）データ集（東京都立衛生研究所、1998）とPOPs条約対象12物質の概要（日本環境化学会）を参照した。

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

表2 対象者の年齢、BMI、妊娠・出産歴

| 属性 | n | 中央値（範囲） | 平均値±標準偏差 |
|------------------------------|----|-----------------|------------|
| 年齢（歳） | 70 | 31（17-39） | 30.7 ± 4.6 |
| 非妊娠時のBMI（kg/m ² ） | 70 | 20.9（16.4-35.8） | 21.8 ± 3.6 |
| 妊娠歴（回） | 70 | 2（0-8） | 2.3 ± 1.5 |
| 出産歴（回） | 69 | 1（0-5） | 0.8 ± 1.0 |

表3 難分解性有機塩素系農薬の定量限界（LOQ）と妊婦の全血中からの検出率

| 農薬名 | >LOQ (pg/g of wet) | >LOQ | |
|---------------------------|-----------------------|---------|---------|
| | | 検出数 (n) | 検出率 (%) |
| DDT 類 | | | |
| <i>o,p'</i> -DDT | 0.8 | 70 | 100 |
| <i>p,p'</i> -DDT | 0.8 | 70 | 100 |
| <i>o,p'</i> -DDD | 1 | 0 | 0 |
| <i>p,p'</i> -DDD | 1 | 39 | 55.7 |
| <i>o,p'</i> -DDE | 0.8 | 64 | 91.4 |
| <i>p,p'</i> -DDE | 1.3 | 70 | 100 |
| クロルデン類 | | | |
| <i>cis</i> -クロルデン | 0.8 | 70 | 100 |
| <i>trans</i> -クロルデン | 0.6 | 27 | 38.6 |
| オキシクロルデン | 1.3 | 70 | 100 |
| <i>cis</i> -ノナクロル | 0.8 | 70 | 100 |
| <i>trans</i> -ノナクロル | 0.5 | 70 | 100 |
| ドリン類 | | | |
| アルドリン | 0.7 | 0 | 0 |
| ディルドリン | 0.7 | 70 | 100 |
| エンドリン | 1.2 | 0 | 0 |
| ヘプタクロル類 | | | |
| ヘプタクロル | 1.5 | 0 | 0 |
| <i>cis</i> -ヘプタクロルエポキシド | 0.9 | 70 | 100 |
| <i>trans</i> -ヘプタクロルエポキシド | 1.6 | 0 | 0 |
| HCB | 1 | 70 | 100 |
| HCH 類 | | | |
| α-HCH | 1.2 | 48 | 68.6 |
| β-HCH | 1.5 | 70 | 100 |
| γ-HCH | 1.3 | 25 | 35.7 |
| δ-HCH | 1.2 | 0 | 0 |
| マイレックス | 1.3 | 70 | 100 |
| トキサフェン | | | |
| Parlar 26 | 2 | 70 | 100 |
| Parlar 40 | 2 | 0 | 0 |
| Parlar 41 | 2 | 0 | 0 |
| Parlar 44 | 2 | 2 | 2.9 |
| Parlar 50 | 2 | 70 | 100 |
| Parlar 62 | 9 | 0 | 0 |

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

表 4 妊婦の全血中難分解性有機塩素系農薬濃度

| 農薬名 | 中央値（範囲） pg/g wet | 幾何平均（95%信頼区間） pg/g wet |
|-------------------------|---------------------|---------------------------|
| DDT 類 | | |
| <i>o,p'</i> DDT | 4.0 (1.2-13.2) | 4.0 (3.5-4.6) |
| <i>p,p'</i> DDT | 26.5 (10.1-122) | 26.5 (23.2-30.3) |
| <i>p,p'</i> DDD | 1.1(<1-4.4) | 1.0 (0.8-1.1) |
| <i>o,p'</i> DDE | 1.6 (<0.8-6.2) | 1.6 (1.3-1.8) |
| <i>p,p'</i> DDE | 669 (193-4576) | 697 (591-822) |
| クロルデン類 | | |
| <i>cis</i> クロルデン | 1.9 (1.2-17.5) | 2.2 (2.0-2.5) |
| <i>trans</i> クロルデン | <0.6 (<0.6-1.73) | 0.4 (0.4-0.5) |
| オキシクロルデン | 39.2 (10.9-200) | 41.5 (36.6-47.1) |
| <i>cis</i> ノナクロル | 9.9 (4.5-37.6) | 10.2 (9.1-11.6) |
| <i>trans</i> ノナクロル | 62.9 (25.2-514) | 70.8 (62.0-80.7) |
| ディルドリン | 18.9 (8.9-53.5) | 18.9 (16.9-21.1) |
| <i>cis</i> -へプタクロルエポキシド | 28.2 (9.9-201) | 29.2 (25.7-33.2) |
| HCB | 105 (58.1-238) | 105 (97.1-113) |
| HCH 類 | | |
| α -HCH | 1.3 (<1.2-3.9) | 1.2 (1.1-1.3) |
| β -HCH | 167 (32.4-773) | 168 (147-193) |
| γ -HCH | <1.3 (<1.3-101) | 1.0 (0.9-1.3) |
| マイレックス | 6.1 (2.3-30.1) | 6.3 (5.6-7.2) |
| トキサフェン | | |
| Parlar 26 | 5.6 (2.3-18.9) | 6.1 (5.4-6.9) |
| Parlar 44 | <2 (<2-2.8) | 1.0 (1.0-1.1) |
| Parlar 50 | 8.9 (3.5-27.2) | 9.2 (8.2-10.4) |

表5 対数変換した物質濃度の相関 - Pearson の相関係数行列^a

| | DDT 類 | クロルデン類 | デイルドリン | <i>cis</i> -ヘプタ クロル エポキシド | HCB | HCH 類 | マイレックス |
|-------------------------|--------|--------|--------|---------------------------------|--------|--------|--------|
| DDT 類 | | | | | | | |
| クロルデン類 | 0.58** | | | | | | |
| デイルドリン | 0.49** | 0.47** | | | | | |
| <i>cis</i> -ヘプタクロルエポキシド | 0.60** | 0.66** | 0.77** | | | | |
| HCB | 0.68** | 0.80** | 0.54** | 0.70** | | | |
| HCH 類 | 0.70** | 0.74** | 0.41** | 0.66** | 0.82** | | |
| マイレックス | 0.52** | 0.72** | 0.30* | 0.35** | 0.55** | 0.49** | |
| トキサフエン | 0.55** | 0.68** | 0.64** | 0.66** | 0.68** | 0.58** | 0.58** |

^a LOQ 未満には、LOQ/2 を代入して計算した。; DDT 類 = *o,p'*'DDD + *p,p'*'DDD + *o,p'*'DDE + *p,p'*'DDE + *o,p'*'DDT + *p,p'*'DDT ;
クロルデン類 = *cis*'クロルデン + *trans*'クロルデン + オキシクロルデン + *cis*'ノクロル、*trans*'ノクロル ;
HCH 類 = α -HCH + β -HCH + γ -HCH + δ -HCH ; トキサフエン = Parlar-26 + Parlar-44 + Parlar-50

表 6. 近年における妊婦の血液からの有機塩素系農薬の検出状況

| 著者、発表年 (調査地) | 対象 (調査年) | <i>p,p'</i> -DDT | <i>p,p'</i> -DDE | HCB | <i>β</i> -HCH |
|--|---------------------------------------|--|----------------------------|---------------------------|---------------|
| 本報告 (日本、札幌市) | 妊婦 70 名 (2002-2003) | Mean ± SD (range) (ng/g wet) 0.9 ± 0.7 (0.01-0.12) | 0.1 ± 0.04 (0.06-0.2) | 0.2 ± 0.1 (0.03-0.8) | — |
| Fukata et al., 2005 (日本、千葉市、山梨市) | 妊婦 32 名 (2002-2003) | Mean ± SD (range) (ng/g wet) 0.7 ± 0.3 (0.02-1.2) | 0.1 ± 0.006 (0.08-0.2) | — | — |
| Jimenez Torreet al., 2006 (スペイン、グラナダ市とその近郊) | 帝王切開で出産した 女性 72 名 | Mean ± SD (range) (ng/ml) 31.9 ± 34.7 (3.5-232.4) | 20.1 ± 22.7 (2.1-131.3) | — | — |
| Chevier et al., 2008 (USA、カリフォルニア州) | 妊婦 334 名 (農園労働者の家族) (1999-2000) | GM (range) (ng/ml) 1,302 (48.8-159,303) | 65.5 (7.5-841) | — | — |
| Pathak et al., 2008 (インド、デリー市) | 妊婦 68 名 (2006-2007) | Mean ± SD (range) (ng/ml) 4.3 ± 3.7 (0.00 - 4.1) | — | 10.1 ± 7.0 (1.4- 25.4) | — |
| Wittsiepe et al., 2008 (ドイツ、工業地域) | 妊婦 226 名 (2000-2002) | Mean (range) (ng/ml) 0.8 (0.001-0.52) | 0.2 (0.04-0.53) | 0.1 (0.005-1.3) | — |

妊婦血液中のダイオキシン、PCB 類及び水酸化 PCB (OH-PCB) 濃度

研究分担者 梶原 淳睦 福岡県保健環境研究所保健科学部生活化学課 専門研究員

研究要旨

先天異常の疫学研究の基礎資料を得ることを目的に、2002 - 2005 年に札幌市内で出産した妊婦の母体血 426 件、母乳 250 件のダイオキシン類及び PCB 類濃度を正確に測定した。この中から 119 名の初産婦を抽出し血液中ダイオキシン、PCB 類濃度と出産後の母乳中ダイオキシン、PCB 類濃度を比較し、母体から母乳へのダイオキシン類の移行、濃度の相関について解析した。その結果、ダイオキシン類の総 TEQ 濃度、総 PCB 濃度に正の相関があること、総 PCB 濃度と PCB 類の中で最も濃度の高い HexaCB 153 濃度に相関があることが明らかになった。その結果、ダイオキシン類の毒性評価に測定が容易な HexaCB 153 濃度が指標となり得ることが示唆された。また、従来血液及び母乳中ダイオキシン及び PCB 類一斉分析法の精製工程を検討し、5g の血液からダイオキシン、PCB、OH-PCB 類を同時に測定できる分析法を開発した。本分析法の開発により少量の血液で多種類の化学物質の測定が可能になり、母体の化学物質による汚染実態の解明に大きく貢献するものと期待される。

研究協力者

吉村 健清、千々和 勝己、黒川 陽一
平川 博仙、堀 就英、中川 礼子、
芦塚 由紀、新谷 依子、小野塚 大介
飛石 和大、安武 大輔
(福岡県保健環境研究所)
戸高 尊
(九州大学医学部)
飯田 隆雄
(北九州生活科学センター)

布し、食物連鎖を介してヒト体内に蓄積されている。また、ヒト体内に蓄積された PCB 類は、チトクローム P450 等の酵素により OH-PCB に代謝され排泄される。しかし、一部の OH-PCB は甲状腺ホルモンと類似した構造を持つため、生体内に残留することが報告され、EDC 作用が懸念されている。これら環境に残留したダイオキシン類等の化学物質が母体に取り込まれ、蓄積し母胎内で胎児に及ぼす影響が危惧されている。なぜなら胎児は EDC の影響を最も鋭敏に受けると考えられているからである。従って、妊婦体内に蓄積されたダイオキシン、PCB 類及び OH-PCB と出生児の先天異常との関係を明らかにすることは極めて重要である。また、蓄積されたダイオキシン、PCB 類の一部は母乳に移行し、授乳により乳児が摂取することからその影響に関

A. 研究目的

科学技術の発展に伴い様々な化学物質が生産、副生あるいは非意図的に生成され環境や人体に蓄積されている。このような化学物質のなかでダイオキシン類および PCB 類は内分泌かく乱物質 (EDC) として知られており、環境汚染物質として広く分

心が持たれている。

本研究では先天異常の疫学研究の基礎資料を得ることを目的に、妊婦血液及び母乳中のダイオキシン類濃度（PCDDs7種、PCDFs10種、ノンオルソ-PCB4種、モノオルソ-PCB8種、合計29種）及び非ダイオキシン様 PCB 類(58異性体)濃度を精密に測定し、母体血426件、母乳250件のダイオキシン類及び PCB 類の異性体ごとの濃度データを蓄積した。蓄積された母体血及び母乳中ダイオキシン類の異性体ごとの濃度データ中から119名の初産婦の血液中ダイオキシン、PCB 類濃度と出産後の母乳中ダイオキシン、PCB 類濃度を比較し、母体から母乳へのダイオキシン類の移行、濃度の相関について解析した。

さらに、ダイオキシン、PCB 類一斉分析法を改良し、同一試料から OH-PCB も同時に測定できるよう改良を加えた。従来の血液中 OH-PCB 類の分析法は、酸性条件下で溶媒抽出後、シリカゲルカラムで分画し、ジアゾメタン等で誘導体化(メチル化)し高分解能 GC/MS 等を用いて測定する方法が報告されている。我々は血液中の OH-PCB 類濃度を誘導体化せずに LC/MS/MS を用いて直接測定する簡便な一斉分析法を開発した。

B. 研究方法

1. 血液及び母乳中ダイオキシン、PCB 濃度の相関

2002年から2005年に札幌市内の産婦人科病院で出産した母体血426件、母乳250件のダイオキシン類及び非ダイオキシン様 PCB 類の異性体ごとの濃度データベースから119名の初産婦を抽出し血液中ダイオキシン、PCB 類濃度と出産後の母乳中ダイ

オキシン、PCB 類濃度を比較し、母体から母乳へのダイオキシン類の移行、濃度の相関について解析した。解析には SAS 社の統計解析ソフトを用い Mann-Whitney's *U* test と Spearman の順位相関係数を計算した。

2. 血液中ダイオキシン、PCB 及び OH-PCB 一斉分析法の開発

我々が開発した血液および母乳中ダイオキシン及び PCB 類一斉分析方法の精製工程を精査し OH-PCB の精製法を開発した。市販の OH-PCB 標準物質を用い、精製工程での分画を精査した。使用した OH-PCB 標準物質を表1に示した。また、LC/MS/MS で OH-PCB を測定するため、分離用カラム、泳動バッファーを検討した。

(倫理面への配慮)

ダイオキシン、PCB 類の測定は、本人の同意が得られた者のみを対象とした。研究成果の発表に際しては統計的に処理された結果のみを使い、個人を特定できるような情報は存在しない。

C. 研究結果

1. 血液及び母乳中ダイオキシン、PCB 濃度の相関

表2に119名の初産婦の母体血及び母乳中のダイオキシン類(29種)濃度を表3に PCB 類(56種)濃度を示した。血液を採取した母親の年齢は21-40歳(平均30.3歳、中央値30.0歳)である。血液の採取時期は89名は妊娠後期に、30名は出産後1週間以内に採血し、母乳は出産後28~30日に採取した。

血液と母乳中の PCDD、PCDF、ノンオルソ PCB、モノオルソ PCB の総 TEQ 濃度

の平均値はそれぞれ 8.2、2.9、5.1、0.4 pg-TEQ/g lipid と 4.8、2.0、4.0、0.4 pg-TEQ/g lipid であり、ダイオキシン様 PCB の総 TEQ 濃度はそれぞれ 43-445(平均値 120、中央値 106) pg-TEQ/g lipid と 34-366(平均値 90、中央値 81) pg-TEQ/g lipid、総非ダイオキシン様 PCB 濃度の平均値はそれぞれ 7.0-36(平均値 17、中央値 14) pg/g lipid と 5.7-41(平均値 11、中央値 10) pg/g lipid であった。血液と母乳中のダイオキシン類の総 TEQ 濃度、非ダイオキシン様 PCB の総濃度は明らかに血液の方が高い。表 4 に出産年齢と血液及び母乳中のダイオキシン類の総 TEQ 濃度、総 PCB 濃度のスピアマンの順位相関係数を示した。両者には統計的に正の相関が示された。表 5 に血液中と母乳中のダイオキシン類の総 TEQ 濃度、総 PCB 濃度パターンソンとスピアマンの相関係数を示した。血液中と母乳中のダイオキシン類の総 TEQ 濃度、総 PCB 濃度にも統計的に正の相関が示された。さらに、PCB 異性体の中で最も濃度の高い HexaCB 153 濃度と総 PCB 濃度に相関があった。

2. 血液中ダイオキシン、PCB 及び OH-PCB 一斉分析法の開発

開発した一斉分析法は、血液 5g に内標準を添加し高速溶媒抽出器 (ASE) で脂肪と共にダイオキシン、PCB、OH-PCB 類を抽出した。さらに硫酸処理し、硝酸銀シリカゲルカラムに添加し 15ml ヘキサンでダイオキシン・PCB 類を溶出後、30ml50%ジクロロメタン-ヘキサンで OH-PCB 類を溶出した。OH-PCB 画分を濃縮・乾固し、1ml メタノールに溶解した後、LC/MS/MS で測定した。図 1 に我々が開発した血液中ダイ

オキシン、PCB 及び OH-PCB 一斉分析法のフローを示した。また、表 6 に LC/MS/MS の測定条件を示した。

今回開発した血液中ダイオキシン、PCB 及び OH-PCB 一斉分析法の 5~7 塩化 OH-PCB の LC/MS/MS のクロマトグラムを図 2 に示した。図 2 の左が 5 塩化から 7 塩化 OH-PCB の標準物質のクロマトグラムで 10 種の異性体が 7 つのピークに別れ検出された。ピークの重なりは 5 塩化 OH-PCB では 4H107 と 3H118、6 塩化 OH-PCB は 4H130 と 3H138、7 塩化 OH-PCB は 4H172 と 3H180 で見られた。各 OH-PCB の検出下限値は 0.1~2ng/ml であった。図 2 右に血液中 OH-PCB の LC/MS/MS のクロマトグラムを示した。ヒト血液中に検出される OH-PCB は主に 6 異性体 (4H107、3H138、4H146、4H153、4H172、4H187) で各異性体のピークを検出できた。表 7 に今回の分析で検出した異性体別濃度と他機関の分析例での検出濃度を比較した。

D. 考察

1. 血液及び母乳中ダイオキシン、PCB 濃度の相関

2002 年から 2005 年に札幌市内の産婦人科病院で出産した母体血 426 件、母乳 250 件のダイオキシン類及び PCB 類の異性体ごとの濃度データを用いて血液中ダイオキシン類濃度が出産により低下することや加齢に伴い上昇することを報告してきた。今回は体内のダイオキシン類濃度は出産により低下し、その低下の度合いには個人差があるため、初産婦 119 名を抽出し血液中ダイオキシン、PCB 類濃度と出産後の母乳中ダイオキシン、PCB 類濃度を比較し、母体から母乳へのダイオキシン類の移行と濃度

の相関について解析した。その結果、総 TEQ 濃度、非ダイオキシン様 PCB の総濃度は明らかに血液の方が高く、ダイオキシン類の総 TEQ 濃度、総 PCB 濃度にも統計的に正の相関があった。さらに PCB 類の中で最も濃度の高い HexaCB 153 濃度と総 PCB 濃度に相関があることから、ダイオキシン類に比べはるかに高濃度で測定が容易な HexaCB 153 濃度がダイオキシン類の総 TEQ 濃度の指標として使える可能性を示す結果が得られた。

2. 血液中ダイオキシン、PCB 及び OH-PCB 一斉分析法の開発

OH-PCB は甲状腺ホルモンと類似した構造を持つため、生体内に残留しやすく PCB よりも毒性が強いことが報告されており、母体内で胎児に及ぼす影響が危惧されている。OH-PCB 類の分析法は血液から抽出、精製後誘導体化し高分解能 GC/MS 等を用いて測定する方法が報告されている。しかし、LC/MS/MS を用い分離測定が出来れば誘導体化を省略できること、我々の血液中ダイオキシン、PCB 一斉分析法で同時に OH-PCB も分析することができればより簡便になるため新たな分析法開発を目指した。

ヒト血液中に検出される OH-PCB は 4H107、3H138、4H146、4H153、4H172、4H187 の 6 異性体が主要異性体であり、このうち 3 種（4H107、4H146、4H187）で血液中 OH-PCB の 70～90% を占めると報告されている。今回開発した分析条件では主要 6 異性体のうち 3 異性体（4H107、3H138、4H172、）は生体内でほとんど検出されない異性体（3H118、4H130、3H180）とピークが重なっている。しかし、ヒト生体内ではこれらの 3 異性体（3H118、

4H130、3H180）濃度は検出下限以下と推察されるので、検出されたピークはそれぞれ 4H107、3H138、4H172 のピークとして定量した。4H146 と 4H153 は今回の分析条件では重なっており今後分離条件の検討を進めるが、合算値として定量した。表 6 に本分析で検出された異性体別濃度と他機関での分析例での検出濃度を比較したが良く一致しており、本分析法は OH-PCB の分析法として有効である。さらに本法は OH-PCB 類を誘導体化せずに測定することができるため簡便である。本分析法は 5g の血液からダイオキシン、PCB、OH-PCB 類の一斉分析が可能となるため母体の化学物質による汚染実態の解明に大きく貢献するものと期待される。現在、妊婦の血液中 OH-PCB 濃度を測定中であり、OH-PCB 濃度とダイオキシン、PCB 類濃度との相関や先天異常との関係を解析する。

E. 結論

先天異常の疫学研究の基礎資料を得ることを目的に、大規模な母集団の妊婦血液及び母乳中のダイオキシン類及び PCB 類濃度のデータを蓄積した。このような大規模な母集団を対象とした解析の結果、今回、ダイオキシン類の総 TEQ 濃度、総 PCB 濃度に正の相関が、総 PCB 濃度と PCB 類の中で最も濃度の高い HexaCB 153 濃度に相関があることを明らかにした。その結果、ダイオキシン類の毒性評価に測定が容易な HexaCB153 濃度が使える可能性があることがわかった。

PCB の代謝物である OH-PCB の一部は、生体内に残留しやすく PCB よりも毒性が強いことから、母体内で胎児に及ぼす影響が危惧されている。OH-PCB の体内濃度の

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

事態解明のため、少量の血液からダイオキシン、PCB、OH-PCB類を同時に測定できる一斉分析法を開発した。本分析法の開発により少量の血液で多種類の化学物質の測定が可能になり、汚染実態の解明が大きく進展するものと期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kajiwara J., Todaka T., Hori T., Yoshitomi H., Hirakawa H., Yasutake D., Onozuka D., Miyashita C., Sasaki S., Yoshioka E., Yuasa M., Kishi R., Iida T., Yoshimura T. and Furue M.: Concentrations of polychlorinated biphenyls (PCBs) in blood and breast milk collected from 125 mothers in Hokkaido, Japan. *Organohalogen Compounds*, 71: 957-960, 2009.
- 2) Tobiishi K., Todaka T., Hirakawa H and Kajiwara J. Measurement Method for Hydroxylated Polychlorinated Biphenyls (OH-PCBs) in Blood by LC/MS/MS.: *Organohalogen Compounds*. 71: 2920-2923, 2009.
- 3) Todaka T., Hirakawa H., Kajiwara J., Hori T., Tobiishi K., Yasutake D., Onozuka D., Assaki S., Miyashita C., Yoshioka E., Yuasa M., Kishi R., Iida T., Furue M.: Relationship between the concentrations of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and polychlorinated biphenyls in maternal blood and

those in breast milk. *Chemosphere* 78: 185-192, 2010.

2. 学会発表

- 1) Kajiwara J., Todaka T., Hori T., Yoshitomi H., Hirakawa H., Yasutake D., Onozuka D., Miyashita C., Sasaki S., Yoshioka E., Yuasa M., Kishi R., Iida T., Yoshimura T. and Furue M.: Concentrations of polychlorinated biphenyls (PCBs) in blood and breast milk collected from 125 mothers in Hokkaido, Japan, 29TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM HALOGENATED PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS, Beijing, China, (2009, August).
- 2) Tobiishi K, Todaka T, Hirakawa H and Kajiwara J.: Measurement Method for Hydroxylated Polychlorinated Biphenyls (OH-PCBs) in Blood by LC/MS/MS. 29TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM HALOGENATED PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS, Beijing, China, (2009, August).
- 3) 梶原淳睦、戸高尊、平川博仙、堀 就英、飛石和大、安武大輔、小野塚大介、片岡恭一郎、中川礼子、吉村健清：血液中 PCB 類濃度測定のカロスチェック、第 18 回環境化学討論会（つくば市）、2009 年 6 月 9-10 日。

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

- 4) 梶原淳睦、戸高尊、平川博仙、堀 就英、安武大輔、宮下ちひろ、佐々木成子、吉岡英治、岸 玲子、吉村健清、古江増隆：血液及び母乳中の PCB 濃度の比較，日本食品衛生学会第 98 回学術講演会（函館市），2009 年 10 月 8-9 日。
- 5) 飛石和大、戸高尊、平川博仙、堀 就英、梶原淳睦：血液中 OH-PCB 濃度分析の基礎検討，第 46 回全国衛生化学技術協議会（盛岡市）、2009 年 11 月 12-13 日。

G. 知的所有権取得

該当なし

表 1. OH-PCBs standards

| Compounds | Abbreviation | |
|--|--------------|--------|
| 4-OH-2,2',4',6,6'-PeCB | 4'-OH-CB104 | 4H104 |
| 4-OH-2,3,3',4',5-PeCB | 4-OH-CB107 | 4H107 |
| 4-OH-2',3,3',4',5-PeCB | 4'-OH-CB108 | 4H108 |
| 3-OH-2,3',4,4',5-PeCB | 3-OH-CB118 | 3H118 |
| 4-OH-2,2',3,3',4',5-HxCB | 4'-OH-CB130 | 4H130 |
| 3-OH-2,2',3',4,4',5-HxCB | 3'-OH-CB138 | 3H138 |
| 4-OH-2,2',3,4',5,5'-HxCB | 4-OH-CB146 | 4H146 |
| 4-OH-2,2',3,3',4',5,5'-HpCB | 4'-OH-CB172 | 4H172 |
| 3-OH-2,2',3',4,4',5,5'-HpCB | 3'-OH-CB180 | 3H180 |
| 4-OH-2,2',3,4',5,5',6-HpCB | 4-OH-CB187 | 4H187 |
| OH-[¹³ C ₁₂]-PCBs for internal standards | | |
| Compounds | Abbreviation | |
| 4-OH-2',3,4',5,5'-PeCB | 4'-OH-CB120 | M4H120 |
| 4-OH-2',3,3',4',5,5'-HxCB | 4'-OH-CB159 | M4H159 |
| 4-OH-2,2',3,3',4',5,5'-HpCB | 4'-OH-CB172 | M4H172 |
| 4-OH-2,2',3,4',5,5',6-HpCB | 4-OH-CB187 | M4H187 |

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

表 2 初産婦119名の血液及び母乳中PCDD、PCDFおよびダイオキシン様PCB濃度

| Congeners | Concentration (pg/g-lipid) | | | | | | | | | | p Values |
|---------------------------|----------------------------|--------|------|---------|---------|-------------|--------|------|---------|---------|----------|
| | Blood | | | | | Breast milk | | | | | |
| | Mean | Median | SD | Minimum | Maximum | Mean | Median | SD | Minimum | Maximum | |
| 2,3,7,8-TetraCDD | 1.1 | 1.1 | 0.6 | 0.5 | 3.1 | 0.6 | 0.5 | 0.4 | 0.5 | 2.8 | <0.001 |
| 1,2,3,7,8-PentaCDD | 4.7 | 43 | 1.8 | 1.6 | 12 | 2.9 | 2.7 | 1.3 | 1.4 | 8.9 | <0.001 |
| 1,2,3,4,7,8-HexaCDD | 1.8 | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 5.8 | ND | | | | | |
| 1,2,3,6,7,8-HexaCDD | 16 | 14 | 6.7 | 6.2 | 44 | 9.1 | 8.2 | 4.2 | 3.9 | 30 | <0.001 |
| 1,2,3,7,8,9-HexaCDD | 2.4 | 23 | 1.4 | 1 | 7.4 | ND | | | | | |
| 1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDD | 27 | 24 | 11 | 9.6 | 71 | 6.3 | 5.5 | 3.7 | 2.1 | 25 | <0.001 |
| OctaCDD | 462 | 421 | 187 | 189 | 1392 | 47 | 39 | 35 | 13 | 251 | <0.001 |
| Total PCDDs | 515 | 468 | 203 | 211 | 1500 | 69 | 60 | 42 | 29 | 308 | <0.001 |
| 2,3,7,8-TeuacCDF | 0.8 | 0.5 | 0.8 | 0.5 | 8.4 | ND | | | | | |
| 1,2,3,7,8-PentaCDF | ND | | | | | ND | | | | | |
| 2,3,4,7,8-PentaCDF | 6.6 | 6.1 | 3.0 | 0.5 | 20 | 4.8 | 4.3 | 2.3 | 2.4 | 18 | <0.001 |
| 1,2,3,4,7,8-HexaCDF | 2.5 | 2.4 | 1.3 | 1.0 | 6.0 | ND | | | | | |
| 1,2,3,6,7,8-HexaCDF | 3.0 | 2.6 | 1.5 | 1.0 | 7.0 | ND | | | | | |
| 2,3,4,6,7,8-HexaCDF | ND | 1 | 0.4 | 1 | 3.7 | ND | | | | | |
| 1,2,3,7,8,9-HexaCDF | ND | | | | | ND | | | | | |
| 1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDF | 33 | 2.4 | 3.1 | 1 | 20 | ND | | | | | |
| 1,2,3,4,7,8,9-HeptaCDF | ND | | | | | ND | | | | | |
| OctaCDF | ND | | | | | ND | | | | | |
| Total PCDFs | 22 | 20 | 7.8 | 9.5 | 52 | 15 | 14 | 3.9 | 12 | 38 | <0.001 |
| TriCB-77 | 16 | 12 | 43 | 5 | 475 | ND | | | | | |
| TriCB-81 | ND | | | | | ND | | | | | |
| PentaCB-126 | 42 | 37 | 23 | 5 | 142 | 34 | 29 | 20 | 5 | 156 | 0.003 |
| HexaCB-169 | 29 | 26 | 15 | 5 | 86 | 20 | 18 | 9.8 | 5 | 64 | <0.001 |
| Total non-ortho PCBs | 92 | 81 | 57 | 27 | 554 | 65 | 59 | 29 | 28 | 254 | <0.001 |
| PentaCB-105 | 1748 | 1555 | 945 | 317 | 5992 | 1715 | 1551 | 936 | 409 | 6952 | 0.741 |
| PentaCB-114 | 427 | 386 | 242 | 144 | 1565 | 395 | 357 | 217 | 156 | 1708 | 0.188 |
| PentaCB-118 | 7076 | 6448 | 3779 | 1814 | 25243 | 7060 | 6210 | 3853 | 1946 | 29091 | 0.923 |
| PentaCB-123 | 137 | 119 | 80 | 5 | 497 | 115 | 101 | 70 | 17 | 531 | 0.026 |
| HexaCB-156 | 2231 | 1966 | 1235 | 658 | 9422 | 1960 | 1709 | 1116 | 594 | 7839 | 0.018 |
| HexaCB-157 | 541 | 487 | 318 | 184 | 2713 | 466 | 408 | 255 | 167 | 1858 | 0.011 |
| HexaCB-167 | 866 | 788 | 481 | 300 | 3431 | 704 | 649 | 417 | 225 | 3184 | <0.001 |
| HeptaCB-189 | 276 | 239 | 154 | 29 | 950 | 172 | 156 | 96 | 57 | 671 | <0.001 |
| Total mono-ortho PCBs | 13301 | 12259 | 6871 | 4541 | 49632 | 12586 | 11594 | 6712 | 4771 | 51833 | 0.258 |
| TEQ from PCDDs | 8.2 | 73 | 3.1 | 3.2 | 21 | 4.8 | 43 | 2 | 2.6 | 15 | <0.001 |
| TEQ from PCDFs | 2.9 | 2.6 | 1.2 | 0.6 | 7.8 | 2 | 1.8 | 0.8 | 1.2 | 7 | <0.001 |
| TEQ from PCDDs/PCDFs | 11 | 10 | 4.2 | 4.6 | 28 | 6.8 | 6.1 | 2.8 | 3.9 | 22 | <0.001 |
| TEQ from non-ortho PCBs | 5.1 | 4.5 | 2.6 | 0.9 | 17 | 4 | 3.5 | 2.2 | 0.9 | 17 | <0.001 |
| TEQ from mono-ortho PCBs | 0.4 | 0.4 | 0.2 | 0.1 | 1.5 | 0.4 | 0.3 | 0.2 | 0.1 | 1.6 | 0.258 |
| TEQ from dioxin-like PCBs | 5.5 | 3.8 | 2.5 | 1.1 | 14 | 4.4 | 3.9 | 2.4 | 1.1 | 19 | 0.397 |
| Total TEQ | 16.5 | 14 | 5.7 | 7 | 36.5 | 11.2 | 10 | 4.9 | 5.7 | 41.1 | <0.001 |

ND: less than the determination limit

SD: standard deviation.

CDD: chlorinated dibenzo-p-dioxin.

CDF: chlorinated dibenzofuran.

CB: chlorinated biphenyl.

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

表 3 初産婦119名の血液及び母乳中非ダイオキシン様PCB濃度

| IUPAC# | Concentration (pg/g-lipid) | | | | | | | | | | P Values |
|----------------------|----------------------------|--------|-------|---------|---------|-------------|--------|-------|---------|---------|----------|
| | Blood | | | | | Breast milk | | | | | |
| | Mean | Median | SD | Minimum | Maximum | Mean | Median | SD | Minimum | Maximum | |
| TriCB-28a | 1320 | 1178 | 671 | 236 | 4665 | 890 | 813 | 508 | 5 | 2997 | <0.001 |
| TriCB-29 | 21 | 5 | 30 | 5 | 144 | 7 | 5 | 5 | 5 | 32 | <0.001 |
| TriCB-37 | 567 | 5 | 1799 | 5 | 16060 | 13 | 5 | 22 | 5 | 154 | 0.016 |
| TetraCB-44 | 297 | 281 | 211 | 5 | 958 | 82 | 70 | 62 | 5 | 306 | <0.001 |
| TetraCB-47/48 | 403 | 393 | 259 | 5 | 1512 | 195 | 180 | 105 | 5 | 612 | <0.001 |
| TetraCB-49 | 202 | 180 | 137 | 5 | 642 | 71 | 57 | 62 | 5 | 365 | <0.001 |
| TetraCB-52/69a | 823 | 719 | 617 | 5 | 4389 | 381 | 248 | 435 | 25 | 3073 | <0.001 |
| TetraCBs-56/60 | 324 | 299 | 178 | 5 | 923 | 265 | 228 | 168 | 23 | 1115 | 0.002 |
| TetraCB-63 | 62 | 51 | 41 | 5 | 247 | 60 | 58 | 31 | 5 | 232 | 0.638 |
| TetraCB-66 | 823 | 723 | 446 | 218 | 2210 | 817 | 717 | 439 | 151 | 3153 | 0.947 |
| TetraCB-70 | 163 | 157 | 95 | 5 | 523 | 51 | 48 | 37 | 5 | 300 | <0.001 |
| TetraCB-71 | 96 | 69 | 90 | 5 | 442 | 29 | 11 | 35 | 5 | 196 | <0.001 |
| TetraCB-74 | 4011 | 3450 | 2272 | 1337 | 14083 | 4504 | 3829 | 2604 | 1593 | 20023 | 0.046 |
| PentaCB-85 | 121 | 98 | 114 | 5 | 1083 | 80 | 70 | 55 | 5 | 317 | <0.001 |
| PentaCB-87 | 333 | 296 | 228 | 5 | 2071 | 198 | 177 | 111 | 69 | 795 | <0.001 |
| PentaCB-92 | 378 | 321 | 270 | 5 | 1977 | 326 | 284 | 232 | 22 | 1555 | 0.041 |
| PentaCB-93/95/98 | 444 | 395 | 265 | 5 | 1696 | 249 | 207 | 175 | 5 | 1057 | <0.001 |
| PentaCB-99 | 5011 | 4613 | 2534 | 1748 | 18662 | 5164 | 4749 | 2572 | 1800 | 16596 | 0.551 |
| PentaCB-101a | 861 | 739 | 591 | 91 | 4390 | 748 | 621 | 516 | 90 | 3653 | 0.029 |
| PentaCB-107/108 | 393 | 353 | 258 | 56 | 1676 | 386 | 335 | 246 | 85 | 1670 | 0.704 |
| PentaCB-110 | 231 | 201 | 187 | 5 | 1524 | 113 | 94 | 97 | 13 | 771 | <0.001 |
| PentaCB-117 | 352 | 302 | 217 | 65 | 1453 | 256 | 217 | 171 | 25 | 1097 | <0.001 |
| HexaCB-128 | 446 | 346 | 475 | 5 | 4766 | 336 | 289 | 216 | 67 | 1219 | 0.006 |
| HexaCB-130 | 2539 | 769 | 8749 | 5 | 77686 | 815 | 696 | 531 | 5 | 3674 | 0.424 |
| HexaCB-132 | 133 | 107 | 130 | 5 | 708 | 96 | 79 | 89 | 5 | 496 | 0.007 |
| HexaCB-134 | 18 | 5 | 23 | 5 | 129 | 14 | 5 | 18 | 5 | 115 | 0.125 |
| HexaCB-135 | 190 | 165 | 124 | 5 | 665 | 165 | 138 | 115 | 5 | 621 | 0.046 |
| HexaCB-137 | 911 | 816 | 492 | 329 | 4108 | 849 | 792 | 442 | 341 | 3194 | 0.232 |
| HexaCB-138a | 14771 | 13367 | 8030 | 5827 | 60524 | 13817 | 12190 | 7635 | 5481 | 52606 | 0.228 |
| HexaCB-139/149 | 295 | 258 | 234 | 5 | 1367 | 271 | 230 | 183 | 5 | 1074 | 0.482 |
| HexaCB-141 | 134 | 106 | 119 | 5 | 733 | 112 | 88 | 86 | 5 | 442 | 0.114 |
| HexaCB-146 | 2596 | 2238 | 3041 | 5 | 17344 | 3458 | 3108 | 2083 | 913 | 14622 | <0.001 |
| HexaCB-147 | 164 | 146 | 122 | 5 | 874 | 155 | 126 | 115 | 5 | 834 | 0.306 |
| HexaCB-151 | 499 | 397 | 470 | 97 | 3137 | 404 | 313 | 355 | 41 | 2337 | 0.023 |
| HexaCB-153a | 26823 | 24071 | 15442 | 9251 | 120172 | 24056 | 21295 | 14013 | 9000 | 100807 | 0.061 |
| HexaCB-163/164 | 4950 | 4510 | 3010 | 1548 | 18475 | 4194 | 3850 | 2362 | 1267 | 16592 | 0.021 |
| HexaCB-165 | 1249 | 5 | 1833 | 5 | 8699 | 5 | 5 | 0 | 5 | 5 | <0.001 |
| HeptaCB-170 | 5973 | 5025 | 4031 | 1370 | 24488 | 3491 | 3022 | 2158 | 1193 | 15721 | <0.001 |
| HeptaCB-172 | 924 | 748 | 634 | 179 | 3877 | 491 | 404 | 336 | 143 | 2570 | <0.001 |
| HeptaCB-177 | 1966 | 1670 | 1362 | 546 | 8373 | 1498 | 1306 | 1040 | 353 | 7877 | 0.001 |
| HeptaCB-178 | 1774 | 1514 | 1134 | 547 | 7130 | 1212 | 1027 | 812 | 385 | 5858 | <0.001 |
| HeptaCB-179 | 94 | 73 | 100 | 5 | 658 | 94 | 71 | 82 | 5 | 469 | 0.57 |
| HeptaCB-180a | 17292 | 14216 | 11648 | 3619 | 75056 | 9283 | 7858 | 5964 | 2996 | 44516 | <0.001 |
| HeptaCB-181 | 36 | 25 | 36 | 5 | 196 | 16 | 14 | 13 | 5 | 66 | <0.001 |
| HeptaCB-182/187 | 8044 | 6721 | 5591 | 2134 | 36848 | 5082 | 3985 | 3786 | 1392 | 30335 | <0.001 |
| HeptaCB-183 | 2192 | 1853 | 1544 | 647 | 11206 | 1436 | 1231 | 992 | 521 | 8141 | <0.001 |
| HeptaCB-191 | 203 | 168 | 155 | 5 | 748 | 107 | 95 | 66 | 5 | 438 | <0.001 |
| OctaCB-194 | 1889 | 1622 | 1095 | 538 | 6552 | 834 | 694 | 563 | 248 | 4123 | <0.001 |
| OctaCB-195 | 489 | 433 | 297 | 83 | 2062 | 274 | 244 | 170 | 76 | 1227 | <0.001 |
| OctaCB-196/203 | 1915 | 1633 | 1136 | 456 | 7009 | 738 | 618 | 541 | 5 | 4045 | <0.001 |
| OctaCB-198/201 | 2249 | 1993 | 1287 | 478 | 6972 | 821 | 635 | 697 | 148 | 5186 | <0.001 |
| OctaCB-200 | 114 | 93 | 96 | 5 | 648 | 65 | 57 | 50 | 5 | 377 | <0.001 |
| OctaCB-202 | 574 | 477 | 357 | 125 | 2304 | 342 | 287 | 235 | 89 | 1798 | <0.001 |
| OctaCB-205 | 84 | 80 | 54 | 5 | 300 | 36 | 30 | 27 | 5 | 195 | <0.001 |
| NonaCB-206 | 592 | 523 | 340 | 5 | 2316 | 170 | 131 | 118 | 5 | 857 | <0.001 |
| NonaCB-207 | 136 | 112 | 98 | 5 | 631 | 38 | 30 | 29 | 5 | 196 | <0.001 |
| NonaCB-208 | 244 | 219 | 167 | 5 | 1125 | 75 | 62 | 59 | 5 | 465 | <0.001 |
| DecaCB-209 | 489 | 430 | 225 | 182 | 1501 | 694 | 58 | 6851 | 5 | 74800 | <0.001 |
| Total triCBs | 1909 | 1415 | 1943 | 431 | 17655 | 910 | 823 | 509 | 45 | 3007 | <0.001 |
| Total tetraCBs | 7205 | 6371 | 3237 | 2711 | 22698 | 6456 | 5747 | 3430 | 2445 | 27132 | 0.007 |
| Total pentaCBs | 8125 | 7388 | 4039 | 2721 | 28570 | 7521 | 6757 | 3849 | 2519 | 25609 | 0.129 |
| Total hexaCBs | 55718 | 48649 | 34027 | 19722 | 240156 | 48747 | 42148 | 27727 | 17687 | 196860 | 0.046 |
| Total heptaCBs | 38498 | 32552 | 25745 | 9399 | 167252 | 22710 | 19441 | 15020 | 7958 | 115855 | <0.001 |
| Total octaCBs | 7313 | 6299 | 4190 | 1919 | 25789 | 3110 | 2629 | 2202 | 832 | 16951 | <0.001 |
| Total nonaCBs | 972 | 875 | 570 | 308 | 3916 | 282 | 226 | 200 | 15 | 1519 | <0.001 |
| Total decaCBs | 489 | 430 | 225 | 182 | 1501 | 694 | 58 | 6851 | 5 | 74800 | <0.001 |
| Total indicator PCBs | 60571 | 54008 | 33553 | 20005 | 239416 | 48286 | 42698 | 27867 | 18427 | 200815 | <0.001 |
| Total PCBs | 120228 | 105952 | 67291 | 42909 | 445249 | 90431 | 81267 | 51566 | 33513 | 366061 | <0.001 |

a Indicator PCB; CB: chlorinated biphenyl; SD: standard deviation.

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

表 4 出産年齢と血液及び母乳中PCDD、PCDF、ダイオキシン様PCB及び非ダイオキシン様PCB濃度のSpeamanの順位相関係数

| Isomers | Blood | | Breast milk | |
|----------------------------|-------|----------|-------------|----------|
| | P | P Values | P | P Values |
| TEQ from PCDOs | 0.385 | <0.001 | 0.435 | <0.001 |
| TEQ from PCDFs | 0.297 | 0.001 | 0.198 | 0.031 |
| TEQ. from non-ortho PCBs | 0.148 | 0.108 | 0.099 | 0.283 |
| TEQ from mono-ortho PCBs | 0.251 | 0.006 | 0.314 | 0.001 |
| TEQ from dioxin-like PCBs | 0.143 | 0.120 | 0.113 | 0.223 |
| Total TEQ | 0.305 | 0.001 | 0.261 | 0.004 |
| Total indicator PCBs | 0.479 | <0.001 | 0.446 | <0.001 |
| Total non-dioxin-like PCBs | 0.468 | <0.001 | 0.435 | <0.001 |

PCDD: polychlorinated dibenzo-p-dioxin.

PCDF: polychlorinated dibenzofuran.

PCB: polychlorinated biphenyl.

表 5 血液及び母乳中PCDD、PCDF、ダイオキシン様PCB濃度と非ダイオキシン様PCB濃度の相関係数

| Isomers | Pearson correlations | | Spearman correlations | |
|---------------------------|----------------------|----------|-----------------------|----------|
| | p | p Values | p | p Values |
| TEQ. from PCDDs | 0.845 | <0.001 | 0.806 | <0.001 |
| TEQ. from PCDFs | 0.838 | <0.001 | 0.808 | <0.001 |
| TEQ. from non-ortho PCBs | 0.92 | <0.001 | 0.899 | <0.001 |
| TEQ. from mono-ortho PCBs | 0.789 | <0.001 | 0.799 | <0.001 |
| TEQ from dioxin-like PCBs | 0.678 | <0.001 | 0.727 | <0.001 |
| Total TEQ. | 0.827 | <0.001 | 0.83 | <0.001 |
| Total triCBs | 0.501 | <0.001 | 0.503 | <0.001 |
| Total tetraCBs | 0.818 | <0.001 | 0.715 | <0.001 |
| Total pentaCBs | 0.846 | <0.001 | 0.824 | <0.001 |
| Total hexaCBs | 0.859 | <0.001 | 0.854 | <0.001 |
| Total heptaCBs | 0.779 | <0.001 | 0.883 | <0.001 |
| Total octaCBs | 0.716 | <0.001 | 0.846 | <0.001 |
| Total nonaCBs | 0.682 | <0.001 | 0.785 | <0.001 |
| Total indicator PCBs | 0.857 | <0.001 | 0.881 | <0.001 |
| Total PCBs | 0.868 | <0.001 | 0.88 | <0.001 |

PCDD: polychlorinated dibenzo-p-dioxin.

PCDF: polychlorinated dibenzofuran.

PCB: polychlorinated biphenyl.

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

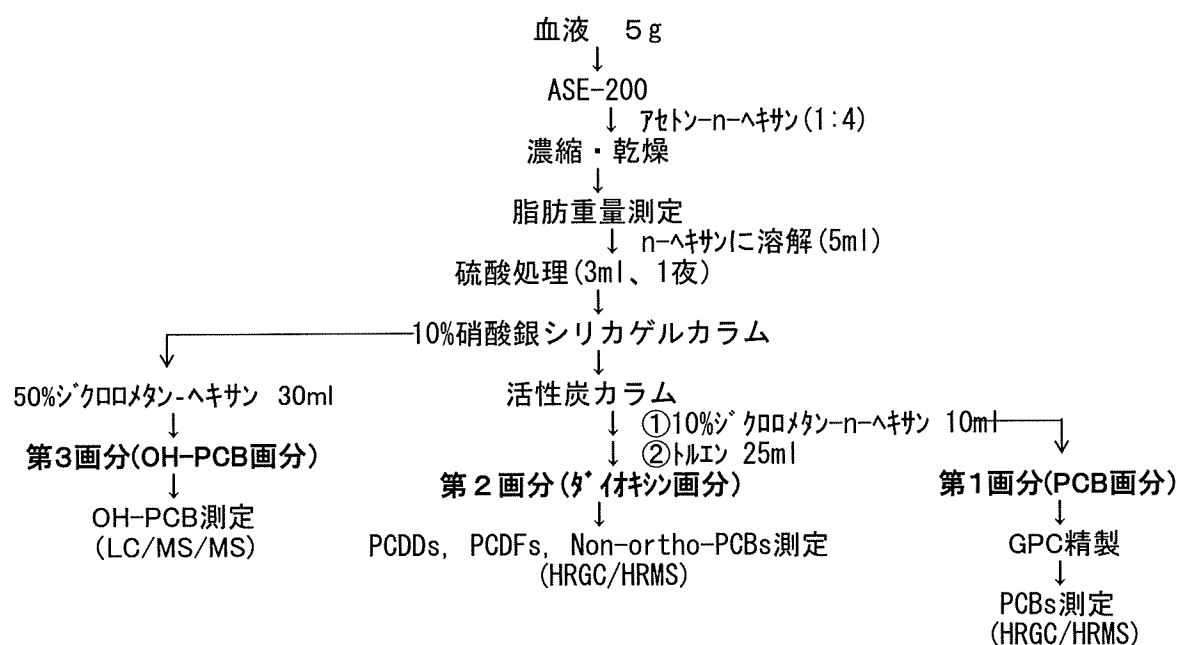


図1 ダイオキシン、PCB,OH-PCB一斉分析法フロー

表 6 LC/MS/MSによるOH-PCB測定条件

| | |
|---------------------|--|
| Instrument | LC: UPLC (Waters) MS/MS: XEVO (Waters) |
| Flow Rate | 0.2 mL/min. |
| Injection Volume | 10 μ L |
| Column Temperature | 40 $^{\circ}$ C |
| Mobile Phase | 0.1% Formic acid : Methanol = 40 : 60 \rightarrow 10 : 90 linear gradient |
| Temperature; Source | 120 $^{\circ}$ C |
| Desolvation | 350 $^{\circ}$ C |
| Gas Flow; Cone | Nitrogen, 50 L/hr |
| Desolvation | Nitrogen, 600 L/hr |
| Voltage; Cone | 40 V |
| Capillary | 2.0kV |
| Collision | Argon, 10kV |
| Ionization | ESI-Negative |

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

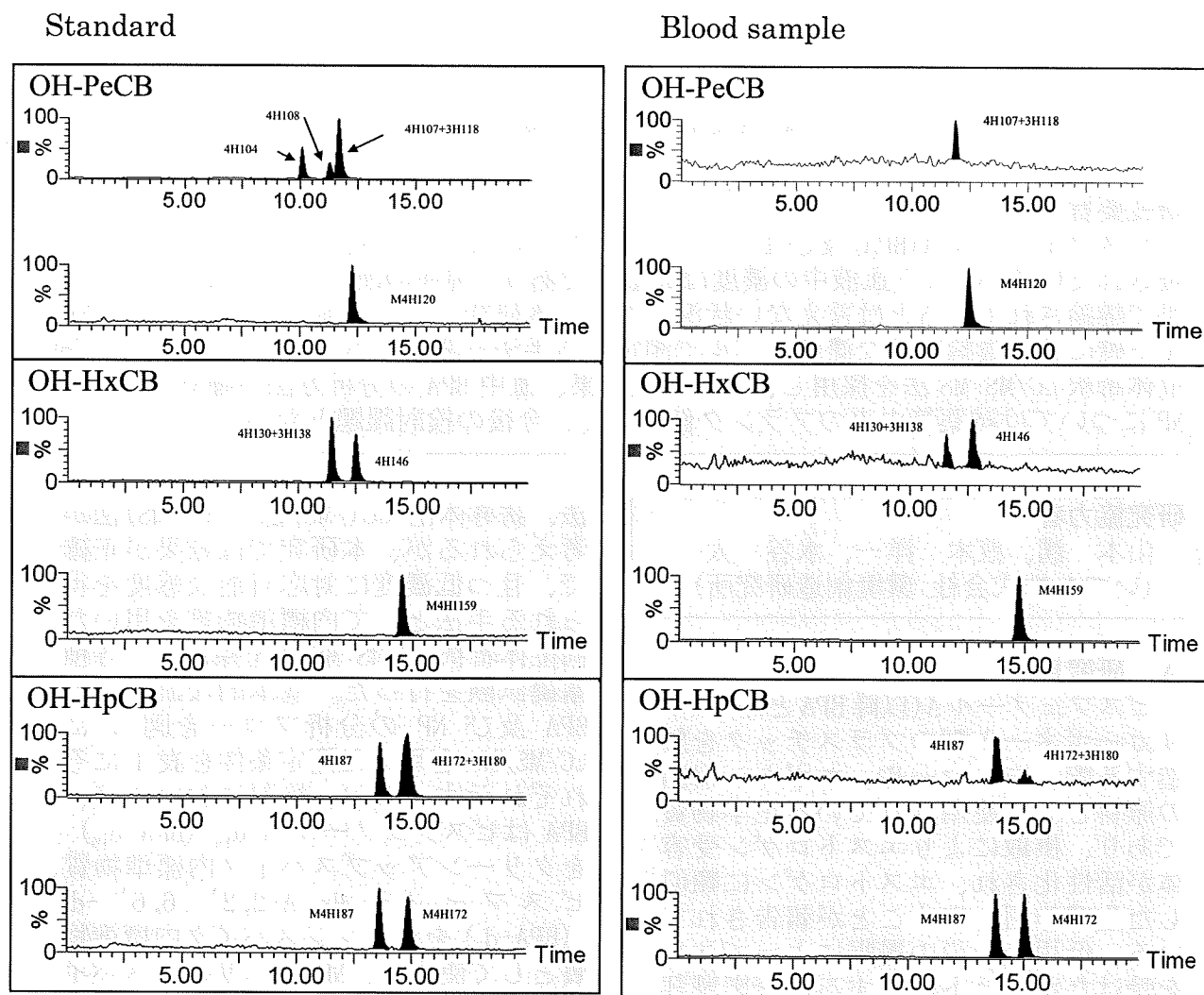


図2 OH-PCBのLC/MS/MSクロマトグラム

表 7 血液中OH-PCB濃度

| | OH-PCB | Blood ¹⁾ (pg/g) | Range ²⁾ (pg/g) |
|---------|-------------------|----------------------------|----------------------------|
| PeCB-OH | 4-OH-CB107 | 20.6 | 1.6-16 |
| HxCB-OH | 3'-OH-CB138 | 20.6 | 0.8-14 |
| | 4-OH-CB146 | 48 ³⁾ | 2.2-19 |
| | 3-OH-CB153 | - | 0.8-11 |
| HpCB-OH | 4'-OH-CB172 | 5.6 | 0.5-5.6 |
| | 4-OH-CB187 | 30.5 | 7.1-26 |

1) プール血液(平均年齢50歳)

2) 榎本剛司, 他 : 環境化学, 16, 91-98, 2006

3) 4-OH-CB146と3-OH-CB153の合算値

血液中のビスフェノール A (BPA) 及び 4-ノニルフェノール (NP) の分析法の開発

研究分担者 松村 徹 いであ(株)環境創造研究所 環境リスク研究センター長

研究要旨

ビスフェノール A (BPA) 及び 4-ノニルフェノール (NP) はヒトに対する健康影響が示唆されているが、ヒト血液中の濃度は低濃度であり、現在の所必ずしも確からしい結果で議論されているとは言えない状況にある。本研究ではヒト血液中の BPA 及び NP を正確に且つ議論可能な濃度レベルで測定する手法を開発することを目的とした。同位体希釈 LC/MS/MS 法を採用し、検討した結果、血中 BPA の分析方法が確立できた。NP については試薬等由来のブランク値が高く、今後の検討課題となった。

研究協力者

山本 潤、荻木 洋一、水谷 太
(いであ株式会社 環境創造研究所)

A. 研究目的

ビスフェノール A (以降 BPA と略) はポリカーボネート製のプラスチックを製造する際、モノマーや、エポキシ樹脂の原料として使用されている化学物質であり、摂取によりエストロゲン受容体が活性化され、エストロゲンに類似した生理作用を表すことが報告されている。低用量仮説の提唱によって注目を受けたが、ヒトに対する健康影響評価に関しては現在も諸説の報告例があり継続して研究が行われているところである。また、4-ノニルフェノール (以降 NP と略) はノニオン性界面活性剤の一種であるノニルフェノールエトキシレートや ゴム用老化防止剤、酸化防止剤の TNPP (Tri nonyl phenyl phosphite) の原料として用いられる化学物質で、エストロゲン作用が示唆される報告がなされている。近年、BPA については尿道下裂との関連性についていくつか報告がなされているが、血中濃度は低濃度であり、有意な濃度差を観測する為には精確な測定値が必要と考えられる。

本研究では血中の BPA 及び NP を現在の科学技術レベルにおいて可能なかぎり正確に測定する方法を開発するものである。

B. 研究方法

BPA 及び NP の分析法としては、ELIZA

法、誘導体化 GC(/MS)法、LC(/MS)法が考えられるが、本研究では結果が正確で、且つ低濃度に対応可能な感度を得られる手法として内標準物質を用いた同位体希釈 LC/MS/MS 法を採用し、各種基礎試験を行った。基本的な血液中の BPA 及び NP の分析フローを図 1 に LC/MS/MS を用いた測定条件を表 1 にそれぞれ示す。なお、検討においては、BPA はビスフェノール A-d₁₆ (BPA-d₁₆) をクリーンアップスパイク内標準物質、ビスフェノール A-2,2',6,6'-d₄ (BPA-d₄) をシリンジスパイク内標準物質として使用し、NP はシリンジスパイク内標準物質として 4-(1-メチル)オクチルフェノール-d₅ (Me-OP-d₅) を用いた。対象物質のピーク形状、保持時間等を考慮し、BPA と NP は別々の条件で測定を行った。

C. 研究結果

1. 添加回収試験

添加回収試験の結果を表 2 に示す。検討には 2 種類の血液試料を用い、添加量は、BPA で 0.5ng、NP で 30ng とした。試験の結果、BPA については、良好な回収率を得ることができた。NP については、添加試料と無添加試料を比較した場合、良好な回収率を得ることができたが、操作ブランクが高い値を示した。なお、今回の測定ではクリーンアップスパイクとして用いた Me-OP-d₅ の感度変動が大きかったため、NP については、Me-OP-d₅ による補正なしの値を記載してある。

2. 下限値等の算出

標準溶液の繰り返し測定による装置検出限界(IDL)の算出を行った。結果を表 3 に示す。また、添加回収試験結果より、操作ブランク値が検出されたため、操作ブランクの繰り返し測定を行い、検出下限値、定量下限値の算出を行った。結果を表 4 に示す。

3. 試料の分析

検討試料（10 検体及び採血管 2 種類）について図 1 に示す分析フローにしたがって前処理を行い、LC/MS/MS で測定した。その結果を表 5 に示す。NP については、Blank 中の濃度と試料の濃度が同程度 (IS 補正值は、(Blank) > (試料)) であった。BPA については、試料の濃度が低濃度であることが予想された。

4. ブランクレベルの検討

1) 溶媒ブランク

前処理を行ううえで、NP については操作ブランクが問題になる可能性が高いため、使用する可能性がある溶媒についてブランクの確認を行った。各種溶媒を 10mL ずつ量りとり、窒素ガス (40°C) で 1mL まで濃縮後、内標準として Me-OP-d5 を 10ng 添加して測定を行った。その結果を表 6 に示す。LC 分析でよく用いられるメタノールやアセトニトリルについては、0.2~0.3ng/mL であった。また、アセトンについては、これらと同様に低濃度であった。原則として、BPA 及び NP の分析において用いることはないと考えられるが、その他の溶媒からは高濃度で検出されており、前処理に用いることができる方法もかなり限られてくると考えられた。前処理において、固相からの溶出の際、アセトニトリル 5mL を使用するが、0.2~0.3ng/mL の NP を含んでいるため、試料濃度の内、1~1.5ng/mL はアセトニトリルに起因すると考えられる。

2) 水及びカートリッジのブランク

『固相カートリッジ』については、アセトニトリル 10mL(*)で洗浄を行った後、アセトニトリル 5mL で溶出を行い、それを窒素ガス (40°C) で 0.5mL まで濃縮を行って測定を行った。『水』の影響については、あらかじめアセトニトリル 10mL と水 5mL でコンデショニングした固相カートリッジを 2 連にし、

水 10mL を通液する。10mL のシリンジで脱水を行った後、アセトニトリル 5mL で溶出し、その他の試料と同じように 0.5mL まで濃縮を行って測定した。比較対象として、アセトニトリル 5mL を 0.5mL まで濃縮して測定した。結果を表 7 に示す。それぞれの試料で、NP の濃度が同程度で検出されており、ブランクの要因が水やカートリッジよりもアセトニトリルの影響が大きいと考えられた。これらの結果より、使用するアセトニトリルの量 (現状は 5mL で溶出) を減らすため、NP の溶出に必要なアセトニトリルの量について検討を行った。血液試料 1mL に BPA 5ng、NP 50ng を添加したものを前処理、測定した。溶出過程において、溶出液を 1mL ごとに分画し、各画分に溶出する目的物質の全体に対する比率を求めた。結果を表 8 に示す。

BPA の前処理において、濃縮率を上げて測定感度の向上を図るための検討を行った。

BPA については、現在、0.5mL までの濃縮を行っているが、0.2mL まで濃縮を行い、現在の方法との比較検討を行った (表 9)。

D. 考察

BPA については開発した手法で実試料に適応可能な状況になったと考える。NP については各種ブランク値が実試料中の評価すべき濃度に比較してまだ高濃度であり、今後の検討課題としてブランク値を下げる工夫が必要である。

現在試薬類の蒸留精製によって NP のブランク値を減じる方法を検討中である。

E. 結論

ヒト血液中の BPA 及び NP を正確に且つ議論可能な濃度レベルで測定する手法を開発するために、同位体希釈 LC/MS/MS 法で検討した結果、血中 BPA の分析方法は確立できたが、NP については試薬等由来のブランク値が高く、今後の検討課題となった。

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

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

参考文献

- (1) Schönfelder G, Wittfoht W, Hopp H, Talsness CE, Paul M, Chahoud I. Parent Bisphenol A Accumulation in the Human Maternal-Fetal-Placental Unit. *Environ. Health Perspectives* 2002;110:703-707
- (2) Kuroda N, Kinoshita Y, Sun Y, Wada M, Kishikawa N, Nakashima K, Makino T, Nakazawa H. Measurement of bisphenol A levels in human blood serum and ascitic fluid by HPLC using a fluorescent labeling reagent. *J. Pharmaceutical and Biomedical Anal.* 2003;30:1743-1749
- (3) Chen M, Chang C, Shen Y, Hung J, Guo B, Chuang H, Mao I. Quantification of prenatal exposure and maternal-fetal transfer of nonylphenol. *Chemosphere* 2008;73:239-245