

- Takigami et al. 2009; Takigami H, Suzuki G, Hirai Y, Sakai S. Brominated flame retardants and other polyhalogenated compounds in indoor air and dust from two houses in Japan. *Chemosphere* 2009, 76, 270-277.
- Xian et al. 2008, Xian Q, Ramu K, Isobe T, Sudaryanto A, Liu X, Gao Z, Takahashi S, Yu H, Tanabe S. Levels and body distribution of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and hexabromocyclododecanes (HBCDs) in freshwater fishes from the Yangtze River, China. *Chemosphere* 2008, 71, 268-276.
- Shi et al. 2009; Shi Z-X, Wu Y-N, Li J-G, Zhag Y-F, Feng J-F. Dietary exposure assessment of Chinese adults and nursing infants to tetrabromobisphenol-A and hexabromocyclododecanes: Occurrence measurements in foods and human milk. *Environ Sci Technol* 2009, 43, 4314-4319.
- Ramu K, Kajiwara N, Isobe T, Takahashi S, Kim E-Y, Min B-Y, We S-U, Tanabe S. Spatial distribution and accumulation of brominated flame retardants, polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in blue mussels (*Mytilus edulis*) from coastal waters of Korea. *Environ Pollut* 2007, 138, 562-569.

Table 1. Levels of toxaphenes and mirex in pooled breast milk collected in 2007-2008 from China, Korea and Japan

Sample	Source	wet (g)	Concentration (ng/g lipid)		
			palar 26	palar 50	mirex
pooled milk	Beijing (no.1-5)	5	1.0	1.8	0.34
pooled milk	Beijing (no.6-10)	5	0.9	1.7	0.32
pooled milk	Bijing (no.11-15)	5	0.8	3.4	0.36
pooled milk	Beijing (no.16-20)	5	2.4	4.8	0.25
pooled milk	Seoul (no.1-5)	5	2.0	4.9	0.20
pooled milk	Seoul (no.6-10)	5	4.2	10.2	0.47
pooled milk	Busan (no.1-5)	5	2.8	6.2	0.22
pooled milk	Busan (no.6-10)	5	4.4	8.9	0.27
pooled milk	Sendai (no.1-5)	5	10.0	24.6	0.72
pooled milk	Sendai (no.6-10)	5	11.7	25.7	0.81
pooled milk	Takarazuka (no.1-5)	5	11.3	24.5	0.63
pooled milk	Takarazuka (no.6-10)	5	7.5	14.4	0.63
pooled milk	Takayama (no.1-5)	5	7.5	15.4	0.68
pooled milk	Takayama (no.6-10)	5	8.6	17.2	0.70

Table 2. Levels of HBCDs in pooled breast milk collected in 2007-2008 from Japan, Korea and China.

	source	wet (g)	Concentration (ng/g lipid)		
			α -HBCD	β -HBCD	γ -HBCD
pooled milk	Beijing (no.1-10)	10	2.9	<0.5	<0.5
pooled milk	Beijing (no.11-20)	10	<0.5	<0.5	<0.5
pooled milk	Seoul (no.1-10)	10	1.3	<0.5	<0.5
pooled milk	Busan (no.1-10)	10	<0.5	<0.5	<0.5
pooled milk	Sendai (no.1-10)	10	<0.5	<0.5	<0.5
pooled milk	Takarazuka (no.1-10)	10	3.6	<0.5	<0.5
pooled milk	Takayama (no.1-10)	10	2.7	<0.5	<0.5

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
分担研究報告書

汚染が懸念される物質のモニタリングー日中韓越の母乳試料：
ポジティブリスト農薬の評価

分担研究者原口 浩一 第一薬科大学

研究要旨

母乳中のポジティブリスト化学物質を評価する目的で、日本、韓国および母乳中の残留成分をGCMSスクリーニングを行った。まず、従来から残留が懸念されている化合物HCHs, HCB, DDTs, CHLsの濃度を測定した。ポジティブリスト52種の検索の結果、新規に母乳中にジコホールが検出された。HCH, DDTs, およびdicofolについては中国>韓国>日本の順に高濃度を示した。一方、CHLsは日本>韓国>中国の順に高濃度であった。この残留調査から、中国からの輸入食品によるHCH, DDT汚染が懸念される。とくに中国で使用されているdicofolが日本母乳にも検出されたことは、dicofolに不純物として含まれるDDTが食品に混入し、越境している可能性が考えられる。CHLsについては日本国内の食品またはアジア以外の国から食品流入が考えられる。本研究ではポジティブリスト52種のうち、14種がECNI[電子捕獲負イオン化: (electron capture negative ion)]法で高感度に検出できることがわかり、ECNIによるスクリーニング法で定量した。

分析した。

A. 研究目的

ヒト由来試料バンクを利用した我々の母乳調査で、DDTs および HCHs が中国母乳で高濃度で残留すること、一方PCBやCHLは比較的日本で高いことを報告している (Haraguchi et al 2009)。そのなかで DDTs の組成から汚染源を推定する方法として、*o,p'*-DDT/*p,p'*-DDE 比のほかに、*o,p'*-DDT/*p,p'*-DDT 比から汚染源を推定する試みがなされている。最近、中国で使用されているジコホールに不純物として DDT が含まれることが報告されている (Qiu et al 2005)。母乳に残留が懸念される化学物質を検出するにあたり、まず、ポジティブリストのうち、HCHs, HCB, CHLs および DDTs の母乳中の残留成分を対象に測定した。さらに ECNI 法で検出される化学物質を検索し、検出感度の高い化合物をリストアップし、それらについて、日本、中国、韓国の母乳中の成分の検索と定量を行うことを目的とした。

B. 研究方法

2007-2008年に採取した中国母乳（北京20）、韓国母乳（プサン10、ソウル10）日本（仙台10、高山10、兵庫10）の5mLについて、従来の方法に準じて、試料を処理した (Haraguchi et al 2009)。すなわち、母乳から脂肪を抽出したのち、ゲル浸透クロマトグラフィーで脱脂したのち、抽出した化学物質をシリカゲルカラムにより精製したものをGC/MS試料とした。イオン化はEIおよびECNIモードを用い、ポジティブリスト52種について最適な検出イオンを抽出し、ヒト試料バンクから提供された試料（母乳）中の化学物質を検索した。

C. 研究結果

Table 1 に残留農薬 HCB, HCH (α -, β -, γ -), CHL (oxychlordane, trans-chlordane, cis-chlordane, trans-nonachlor,

cis-nonachlor) および DDTs (p,p'-DDE, p,p'-DDD, o,p'-DDT, p,p'-DDT) の濃度結果を示す。中国母乳では HCHs が 246 ng/g lipid を、DDTs が 1458 ng/g lipid を示し、日本および韓国の母乳レベルよりも 1 桁高い値であった。一方、CHLs については日本母乳で 25.8 ng/g lipid を示し、中国、韓国母乳より有意に高い値であった。ポジティブリスト 52 種の検索の結果、新規にジコホールが検出された。検出イオンは EI 法では、m/z 139, 250 を、ECNI では m/z 250 イオンで確認した。濃度は中国母乳で 10.9 ng/g lipid であり、韓国および日本母乳でも低い値で検出された。

D. 考察

母乳のポジティブリスト化学物質の ECNI 法によるスクリーニングはまだ続行中である。ヒト由来試料におけるジコホールについての報告等は検索する限り該当するものがなく、比較評価できなかった。ジコホールは GC 上では分解物 (4,4'-dichlorobenzophenone =DCB) として検出され、直接的には定量できない。分解物自身がポジティブリスト化学物質であり、また、環境汚染物質である trichlorophenyl ethanol も GC 上で一部分解されて DCB を生じることが分かった。さらに、ジコホールには不純物として Cl-DDT が含まれることが指摘される (Yang et al 2008) ほか、dicofol の DDE への化学変換も報告されている (Qiu et al 2005) ことから、母乳 DDT および dicofol の汚染源の解明と再評価が必要である。

E. 結論

本研究ではポジティブリスト 52 種のうち、14 種が ECNI [電子捕獲負イオン化: (electron capture negative ion)] 法で高感度に検出できることが示された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

2. 学会発表・その他

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

- Haraguchi K, Koizumi A, Inoue K, Harada KH, Hitomi T, Minata M, Tanabe M, Kato Y, Nishimura E, Yamamoto Y, Watanabe T, Takenaka K, Uehara S, Yang H-R, Kim M-Y, Moon C-S, Kim H-S, Wang P, Liu A, Hung NN. Levels and regional trends of persistent organochlorines and polybrominated diphenyl ethers in Asian breast milk demonstrate POPs signatures unique to individual countries. *Environ. Int.* 2009, 35, 1072-1079.
- Qiu X, Zhu T, Yao B, Hu J, Hu S. Contribution of dicofol to the current DDT pollution in China. *Environ. Sci. Technol.* 2005, 39, 4385-4390.
- Yang X, Wang S, Bian Y, Chen F, Yu G, Gu C, Jiang X. Dicofol application resulted in high DDTs residue in cotton fields from northern Jiangsu province, China. *J. Hazard. Materials.* 2008, 150, 92-98.

Table 1. Levels of major persistent pesticides in human breast milk (pooled) from China, Korea and Japan.collected in 2007 - 2008

	Concentration (ng/g lipid)		
	China (n=4)	Korea (n=4)	Japan (n=6)
Hexachlorobenzene (HCB)	20.3±10.3	17.4±2.41	16.6±6.34
ΣHCH	246±105	15.4±5.6	12.1±5.5
α-HCH	3.1±3.1	0.3±0.1	0.31±0.09
β-HCH	241±100	14.9±5.5	11.6±5.6
γ-HCH	2.3±2.5	0.3±0.1	0.14±0.12
Chlordanes (ΣCHLs)	4.1±1.8	10.3±1.8	25.8±6.11
oxy-CHL	0.7±0.3	3.2±0.7	3.2±0.6
trans-CHL	0.08±0.03	0.13±0.02	0.19±0.05
cis-CHL	0.09±0.03	0.14±0.01	0.36±0.18
trans-Nonachlor	2.7±1.2	5.9±1.1	19.2±5.1
cis-Nonachlor	0.5±0.3	1.0±0.2	2.9±0.9
ΣDDTs	1458±723	144±3.6	121±24
<i>p,p'</i> -DDE	1359±650	124±29	109±21
<i>p,p'</i> -DDD	11.2±4.5	4.22±0.74	3.5±1.5
<i>o,p'</i> -DDT	9.3±6.4	1.7±0.2	1.0±0.2
<i>p,p'</i> -DDT	78.5±63	12.6±6.3	6.8±1.5
dicofol	10.9±6.2	2.07±0.9	0.42±0.41

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
分担研究報告書

汚染が懸念される物質のモニタリングー日本の母乳試料：
日本人の化学物質曝露実態ー臭素系汚染物質

分担研究者 原口浩一 第一薬科大学・教授
研究協力者 藤井由希子 京都大学大学院医学研究科環境衛生学・大学院生

研究要旨

本研究の目的は母子への健康影響の懸念を持ちながら、現在までデータが不足している日本人の母乳中に存在する臭素系汚染物質（人工由来：PBDE と HeBB (TeBB)、天然由来：MeO-PBDE と bipyrrrole）の濃度を明らかにすることである。日本の最北地域（北海道）と最南西地域（沖縄）の母乳サンプルを使用し、これらの臭素系汚染物質の地域差について検討を行なった。なお HeBB, MeO-PBDE、bipyrrrole の母乳中からの検出事例は無く、今回が最初の報告となる。

母乳中のPBDEs (BDE-47 and BDE-153) の濃度は沖縄サンプルで高い一方、HeBBの濃度は北海道で有意に高かった。この結果、PBDEsとHeBBは異なった曝露経路を持つことが示唆された。2種のMeO-PBDEs (2'-MeO-BDE68 と 2,2'-diMeO-BB80) は沖縄のサンプルで高濃度であった。2種のbipyrrroles (DBP-Br₄Cl₂とMBP-Cl₇) にも地域差が見られ、発生源は日本近海の異なった生態系に由来すると考えられた。臭素系汚染物質の暴露経路と健康影響を明らかにするためには、これらの汚染物質の地域間の傾向の違いについてさらなる検討が求められる。

A. 研究目的

Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs)、hexabromocyclododecane, hexabromobenzene (HeBB)などの臭素化難燃剤 (brominated flame retardants: BFRs) は海洋生物圏を通じ拡散している。それらの化合物は内分泌かく乱作用や神経毒性を持ち、胎盤や母乳を通じ胎児（乳児）への移行が報告されている(Kawashiro et al., 2008, Costa and Giordano, 2007)。日本においてPBDEs

は消費材（家電製品・建築資材・布地等）に用いられてきたが(Ueno et al., 2004), 1990年代からpenta-、およびocta-PBDE 製品の自主規制により近年の使用量は頭打ちになっている(Ueno et al., 2010)。PBDEsの残留濃度は日本近海の魚類 (Ueno et al., 2004)、ヒト母乳 (Eslami et al., 2006; Haraguchi et al., 2009c) ・血液 (Kawashiro et al., 2008) において報告されている。日本におけるPBDEのヒ

トへの曝露は着実に減少傾向にあるが、現在のBFRの使用状況は地域ごと、国ごとで異なっているのが現状である (Watanabe and Sakai, 2003)。またPBDEと同様に、HeBB は紙類・プラスチック・電気製品の難燃剤として現在でも年350トン (1994 - 2001年) 使用されている (Watanabe and Sakai, 2003)。先行研究において、日本人の脂肪組織中HeBB濃度は報告されているが (Yamaguchi et al., 1988)、母乳中 HeBBのデータはまだない。

一方、天然由来の残留性臭素化合物として日本近海の海洋生態系からメトキシ化PBDEs (MeO-PBDEs) とハロゲン化bipyrrolesが検出されている (Haraguchi et al., 2009; Marsh et al., 2005)。これらはPOPsと同様に食物連鎖により濃縮しやすいことが知られている (Haraguchi et al., 2010; Vetter et al., 2009)。2種のbipyrrolesはPBDEsと類似した物理化学的特性を持ち (Hackenberg et al., 2003; Tittlemier, 2004; Vetter, 2004)、北太平洋・オセアニアの魚類・海鳥・海洋哺乳類から検出されている (Gribble, 1999; Tittlemier et al., 2002, 2004; Vetter et al., 2001, 2009)。これらは *in vitro*試験においてダイオキシン様の効果も報告され、bipyrrolesの母子への健康影響も懸念される (Tittlemier et al., 2003)。しかしながら日本人母乳中の残留状況についてのデータは現在まで非常に少ない。

本研究の目的は、母子の健康影響への懸念を持ちながら、現在までデータが不足している日本人の母乳中に存在する臭素化汚染物質 (人工由来: PBDE類とHeBB、天然由来: MeO-PBDE類とbipyrrole類) の濃度を明らかにすることである。今回、日本の最北地域 (北海道) と最南西地域 (沖

縄) の母乳サンプルを使用し、残留する臭素系汚染物質の濃度について地域差を検討した (Fig. 1)。

B. 研究方法

1) サンプル収集

本研究では京都大学生体試料バンク (Koizumi et al., 2005; Koizumi et al., 2009) に保存されている 2005年から2006年にかけて北海道、沖縄の協力者から提供を受けた各20の母乳サンプルを使用した (Table 1)。

2) 化学物質

二つの純正品 (4'-methoxy-3',5',2,4,6-pentachlorodiphenyl ether (4'-MeO-BDE121, 内標準として使用) と 2,2'-dimethoxy-3,3',4,4'-tetrabromobiphenyl (2,2'-diMeO-BB80) は Dr. G. Marsh (ストックホルム大学) から提供された。BDE-28, BDE-47, BDE-99, BDE-100, BDE-153, BDE-154, hexabromobenzene (HeBB), 1,2,4,5-tetrabromobenzene (TeBB), 2'-hydroxy-2,3',4,5'-tetrabromodiphenyl ether (2'-MeO-BDE68) および 6-methoxy-2,2',4,4'-tetrabromobiphenyl ether (6-MeO-BDE47) の各純正品は Cambridge Isotope Laboratories (Andover, MA, USA) より購入した。Bipyrroles (1,1'-dimethyl-3,3',4,4'-tetrabromo-5,5'-dichloro-2,2'-bipyrrole (DBP-Br₄Cl₂) と 2,3,3',4,4',5,5'-heptachloro-1'-methyl-1,2'-bipyrrole (MBP-Cl₇) の標準品はそれぞれ Gribble et al. (1999) および Wu et al. (2000) の方法で合成した。ガスクロマトグラフィーによる純度はいずれも99%以上であることを確認し、回収率試験および検量線作成に用いた。分析に使用した有機溶剤は

関東化学(株)(東京)より購入した。シリカゲル(Wako gel S-1)は和光純薬(大阪)より購入し、使用前に130℃で3時間乾燥させた。今回、分析対象とした天然由来臭素化合物の構造式をFig. 2に示す。

3) 精製法

母乳中臭素系汚染物質の分析は、脂肪抽出、ゲル浸透クロマトグラフィー(gel permeation chromatography: GPC)、シリカゲルカラムによる精製、負イオン-化学イオン化GC-MS(GC-NCI-MS)の手順で行なった。具体的には5 mLの母乳に4'-MeO-BDE121(0.2 ng)を添加し、シュウ酸カリウム、エタノール、ジエチルエーテルを加え、n-ヘキサンにより脂肪を抽出した。エバポレーターで溶媒を留去し、脂質重量を測定した。脂質50-300 mgをジクロロメタンとn-ヘキサン(1:1, v/v)に溶かし、GPCカラム(Bio-Beads S-X3, 35 g of gel material; Bio-Rad Laboratories, USA)により脂質除去を行なった。流速4 mL/minで、最初の90-mL分を除いた後の80-mL溶出分を回収した。微量に残る脂質を除去するために、シリカゲルカラム(0.2 g, Wako gel S-1)に付し、ジクロロメタン:n-ヘキサン(12:88, v/v, 15mL)で溶出した。溶出液は200 µLにまで濃縮し、GC-MSにて分析を行なった。

4) 分析機器と定量

対象物質(13種)の測定にはGC-MS(Agilent 9573i-MSD 5973i, 6890N-GC)を使用した。GC/MSの設定条件と検出イオンをTable 2に示す。試薬ガスとしてメタンを用いる負イオン-化学イオン化モードでクロマトグラムのシグナルを内標準(4'-MeO-BDE121)と

比較して定量した。MBP-Cl₇はm/z 386で、その他の臭素化合物はBrイオン(m/z 79および81)で検出した。

5) 品質管理と品質保証

ブランク試験は10サンプル毎に行なった。牛乳に標準物質を添加して、回収率を求めた。GC/MS-selected ion monitoring (SIM)による回収率は各成分とも84-91%の範囲にあり、相対標準偏差(RSD, relative standard deviation)は10%以下であった(n=5)。定量限界値(limits of quantification, LOQs)はシグナルノイズ比=5で算出した場合、0.01 ~ 0.2 ng/g lipidであった(Table 3)。分析値がLOQ以下であった場合、LOQの半分の値を計算に用いた。キャリアレーションは各物質0.1 ~ 5.0 ng/mLの範囲で良好な直線性を示した(>0.99)。精度担保のためにStandard Reference Material (cod liver oil, SRM1588b, NIST) (Stapleton et al., 2007)の分析を行い、RSD <11% (n=5)と良好な結果を得た。

6) 統計解析

統計解析はSPSS software version 18.0 for Windows 2007 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)を用いた。地域差の検定はOne-way analysis of varianceを用いた。母体の年齢と臭素化合物の濃度間の相関にはPearson's correlation coefficientを用いた。P値0.05以下を統計的に有意と見なした。

C. 研究結果

北海道と沖縄の母乳から6種のPBDEs、HeBBおよびTeBBを検出した。それらの濃度をTable 3に示す。PBDEsの主成分はBDE-47とBDE-153で、総濃度は<0.2 ~ 69 ng/g lipid(中央値1.5 ng/g lipid)の範囲であり、沖

縄のサンプルで高い頻度で検出された。しかしながら北海道の母乳1検体から高濃度のBDE-47 (46 ng/g lipid) およびBDE-153 (4.0 ng/g lipid) が検出された。HeBBとTeBBはそれぞれ <math><0.05 \sim 2.5</math> (平均値 0.53) ng/g lipid、0.76 から 6.6 (平均値, 2.6) ng/g lipidであった。TeBBの濃度に地域差は見られなかったが、HeBB濃度は北海道のサンプルで有意に高かった($p<0.01$)。

本研究では、母乳中に天然由来臭素系汚染物質としてMeO-BDEsとハロゲン化bipyrroleを検出した (Fig. 2)。沖縄のサンプルで、MeO-BDEsのうち、2'-MeO-BDE68と2,2'-diMeO-BB80は沖縄サンプルで有意に高かった(それぞれ0.39と0.20 ng/g lipid)。MBP-Cl₇とDBP-Br₄Cl₂の濃度はそれぞれ<math><0.01 \sim 0.94</math> ng/g lipidと<math><0.01</math> から 2.7 ng/g lipidであり、地域差は見られなかった。

北海道と沖縄のサンプル (各20) について化合物濃度間の相関係数をTable 4に示す。北海道では、BDE-47とBDE-153では正の相関 ($r=0.927$, $p<0.01$) が見られたが、沖縄では見られなかった。同様にHeBBとTeBBについても北海道で相関性が見られたが ($r=0.628$, $p<0.01$)、沖縄では見られなかった。一方、2'-MeO-BDE68と2,2'-diMeO-BB80では、沖縄で正の相関 ($r=0.522$, $p<0.05$) が見られたが、北海道では見られなかった。DBP-Br₄Cl₂とMBP-Cl₇は両地域で相関性は見られなかったが、2'-MeO-BDE68 ($r=0.478$, $p<0.05$) と2,2'-diMeO-BB80 ($r=0.767$, $p<0.01$)の間に高い相関が見られた。両地域とも検出した母乳中臭素化合物の濃度と年齢との間に相関性は見られなかった。

D. 考察

1) PBDEs

本研究で母乳中PBDEsの濃度は先行研究と同様の値を示した (Haraguchi et al., 2009; Kawashiro et al., 2008; Thomsen et al., 2010)。最近の日本でのPBDEの大規模調査 (Eslami et al., 2006)で地域差が見られたように、本研究でも母乳中PBDE類の濃度は南北で地域差があることを示した。このようなPBDE濃度の変動は食文化が一つの要因であると考えられる。しかしながら、北海道のサンプルが比較的低いPBDEs濃度(中央値: 1.0 ng/g lipid)を示すなかで、1サンプルだけ69 ng/g lipidという高濃度のPBDEsが検出されたことは注目に値する。このことは、ヒトのPBDEs曝露は食習慣よりもハウダストや電気製品の廃棄処理等の職業的曝露が原因であることを示唆している (Fromme et al., 2009; Thomsen et al., 2010)。マグロを生物指標とした研究では高濃度のPBDEsが沖縄や台湾近海から検出されている (Ueno et al., 2004)。PBDEsの組成はBDE-47>BDE-153> BDE-100の順であったが、沖縄ではこれらの濃度に相関性はなく、BDE-47とBDE-153は異なった曝露源を持つことが示唆される。母乳中のBDE-47のBDE-153に対する濃度比は沖縄 (1.6)よりも北海道(5.0)の方が高かった (Table 3)。この結果は低臭素化体 (BDE-28 および BDE-47) の比率が緯度が上がると増加することを示唆する。この傾向は北太平洋の寒冷な地域ほど魚類から検出される低塩素化PBDEsの割合が高いという結果と一致する (Ueno et al., 2004)。

2) HeBB とその脱臭素化体 (TeBB)

日本では HeBB はBFRとして毎年350トン (1994 - 2001年) (Watanabe

and Sakai, 2003)が使用されてきたが、近年の使用状況およびヒト汚染状況のデータは不足している。本研究では母乳中にHeBBとその脱塩素化されたTeBBが比較的高濃度で検出された。この結果はHeBBが日本において広く拡散し、ヒトへの曝露が続いていることを示している。HeBBは北海道のサンプルで有意に高かったが、TeBBについて地域差は見られなかった (Table 3)。HeBBはTeBBやBED-47との間に相関は見られなかったが、BDE-153と間に正の相関が見られた (Table 4)。このことは、HeBBがBDE-153と曝露経路が類似することを示唆している。TeBBはMiyazakiら (1986)によって初めて母乳から検出されたが、HeBBは確認されなかった。TeBBを含む農業・工業製品についてのデータはなく、TeBBの発生源はHeBBとは異なることも考えられる。1988年の調査で、ヒト脂肪組織中にHeBBとTeBBが同レベル(2.1–4.1 ng/g wet)で検出された (Yamaguchi et al., 1988)。ラットを用いた動物実験で、TeBBはHeBBの代謝物(脱臭素化物)であることが示されている。HeBBはTeBBと北海道において正の相関が見られたが、沖縄では見られなかった。この結果はHeBBの別の曝露要因の存在を示唆している。

3) MeO-PBDEs

本研究で検出された3種のMeO-PBDEs (2'-MeO-BDE68、6-MeO-BDE47および2,2'-diMeO-BB80)は天然物由来であることが知られている。2'-MeO-BDE68と2,2'-diMeO-BB80の濃度はわずかにBDE-47より低かった。2'-MeO-BDE68のBDE-47に対する濃度比は沖縄のサンプルで高かった(沖縄:0.40、北海道:0.06) (Table 3)。

2'-MeO-BDE68の濃度はBFRsとの間に相関性は見られないことから (Table 4)、BFRsとは異なる曝露経路を持つことが示唆される。最近の研究で、2'-MeO-BDE68は沖縄近海のクジラの脂肪、サメの肝臓や魚類(ハタ・マグロ等)にMeO-PBDEの蓄積が確認されている (Haraguchi et al., 2009; Hisamichi et al., 2007; Marsh et al., 2005)。このことを考慮すると、母乳中のMeO-PBDEsの由来はそれらを多く含む海産物であると考えられる。また地域差は特定の地域のMeO-PBDEsの生産量の違いによるものと考えられる。たとえば、MeO-PBDEsは熱帯地域の海岸に生育する特定の海藻に偏在している (Haraguchi et al., 2010)。MeO-PBDEsおよびOH-PBDEs(水酸化PBDE)はイタリアやニカラグアの母乳でも検出されている (Lacoste et al., 2008; Athanasiadou et al., 2009)。しかしその成分組成は本研究の結果とは少し異なる。MeO-PBDEsの毒性は不明であるが、OH-PBDEsは内分泌かく乱作用があることが知られている (Kawashiro et al., 2008)。Wanら (2010)は、海洋哺乳類や魚類の肝臓で検出されるOH-PBDEsは、PBDEsの水酸化代謝物ではなく、天然MeO-PBDEsが脱メチル化されたものと報告している。このため、ヒトが摂取したMeO-PBDEsはヒト体内でさらに活性の強いOH-PBDEsに変化する可能性がある。母乳中の2,2'-diMeO-BB80は2'-MeO-BDE68と正の相関を示すため、同じ曝露経路を持つことが示唆される。2,2'-diMeO-BB80はクジラやサメにも蓄積が確認された (Haraguchi et al., 2009a, 2009b; Marsh et al., 2005)。その由来は海洋バクテリアの生産する2,2'-diOH-BB80と考えられる (Isnansetyo and Kamei, 2003)。

4) ハロゲン化bipyrrole

母乳中に検出された2種類のハロゲン化bipyrrole類(DBP-Br₄Cl₂とMBP-Cl₇)の濃度は、2'-MeO-BDE68と同レベルであった。DBP-Br₄Cl₂は北海道のサンプルに高濃度で見られた。知床半島に座礁したシャチ体内から高濃度のDBP-Br₄Cl₂が検出されているため、その由来は北太平洋の高緯度地域の生態系(食物網)であると考えられる。しかしながらDBP-Br₄Cl₂は沖縄近海のイタチザメ(Haraguchi et al., 2009a)、日本の市場に出回るクジラ(Haraguchi et al., 2009b)、カナダの魚類(Tittlemier et al., 2004b)でも検出されているため、太平洋に広く分布していると予想される。沖縄の母乳ではDBP-Br₄Cl₂は2'-MeO-BDE68および2,2'-diMeO-BB80と有意な相関を示したが、MBP-Cl₇との間に相関性は見られなかった。この結果は曝露経路の違いを示唆している。2種のbipyrrolesは物理化学的特性がBDE-47や2'-MeO-BDE68と類似しており(Hackenberg et al., 2003; Tittlemier et al., 2004a)、環境中でも同様の蓄積特性を示すと考えられる。これらの毒性データは少ないが、DBP-Br₄Cl₂による肝酵素誘導能(Tittlemier et al., 2003)やMBP-Cl₇による中程度の生物活性(Vetter et al., 2004)が報告されているのみである。

5) 乳児の推定一日摂取量

臭素化合物の乳児の推定一日摂取量(Estimation of daily intake:EDI)は、乳児の平均母乳摂取量(Oostdam et al.1999)をもとに計算した。その結果をTable 3に示す。PBDEsのEDIはPenBDEsのNOAEL(No Observed Adverse Effect Level, 0.4 mg/kg body

weight/day)(Viberg et al.2004)の100分の1以下であった。このことからPBDEsの母乳を通じた乳児の健康影響のリスクは少ないと思われる。しかしながら乳児の発達段階では成人とは異なった感受性を持つため注意が必要である(Sly et al. 2008)。さらにHeBBやMeO-PBDEs、ハロゲン化bipyrrolesの毒性はいまだ多くが不明確であるため、今後さらなる研究が求められる。

E. 結論

本研究では日本人の母乳から人工臭素系汚染物質(PBDEsとHeBB)と天然由来の臭素系化合物(MeO-PBDEsとbipyrroles)を検出した。PBDEs(BDE-47andBDE-153)の濃度は沖縄のサンプルで高い一方、HeBBは北海道で有意に高かった。このことはPBDEsとHeBBは異なった曝露経路を持つことを示唆している。2種のMeO-PBDEs(2'-MeO-BDE68と2,2'-diMeO-BB80)および2種のbipyrroles(DBP-Br₄Cl₂とMBP-Cl₇)についても地域差がみられ、この違いは日本の南北海域で異なった発生源をもつためと考えられる。臭素系汚染物質の曝露経路と健康影響を明らかにするためには、これらの汚染物質の地域差と発生源についてさらなる検討が求められる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Fujii Y, Ito Y, Harada KH, Hitomi T, Koizumi A, Haraguchi K. 2012. Regional variation and possible sources of brominated contaminants in breast milk from Japan Environ. Poll 162, 269-274

2. 学会発表・その他
なし

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

Athanasiadou, M., Cuadra, S.N., Marsh, G., Bergman, A., Jakobsson, K., 2008. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and bioaccumulative hydroxylated PBDE metabolites in young humans from Managua, Nicaragua. *Environmental Health Perspectives* 116, 400-408.

Costa, L.G., Giordano, G., 2007. Developmental neurotoxicity of polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants. *Neurotoxicology* 28, 1047-1067.

Eslami, B., Koizumi, A., Ohta, S., Inoue, K., Aozasa, O., Harada, K., Yoshinaga, T., Date, C., Fujii, S., Fujimine, Y., Hachiya, N., Hirose, I., Koda, S., Kusaka, Y., Murata, K., Nakatsuka, H., Omae, K., Saito, N., Shimbo, S., Takenaka, K., Takeshita, T., Todoriki, H., Wada, Y., Watanabe, T., Ikeda, M., 2006. Large-scale evaluation of the current level of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in breast milk from 13 regions of Japan. *Chemosphere* 63, 554-561.

Fromme, H., Korner, W., Shahin, N., Wanner, A., Albrecht, M., Boehmer, S., Parlar, H., Mayer, R., Liebl, B., Bolte, G., 2009. Human exposure to polybrominated

diphenyl ethers (PBDE), as evidenced by data from a duplicate diet study, indoor air, house dust, and biomonitoring in Germany. *Environment International* 35, 1125-1135.

Gribble, G., Blank, D., Jasinski, J., 1999. Synthesis and identification of two halogenated bipyrrroles present in seabird eggs. *Chemical Communications*, 2195-2196.

Hackenberg, R., Schütz, A., Ballschmiter, K., 2003. High-resolution gas chromatography retention data as basis for the estimation of KOW values using PCB congeners as secondary standards. *Environmental Science & Technology* 37, 2274-2279.

Haraguchi, K., Hisamichi, Y., Endo, T., 2006. Bioaccumulation of naturally occurring mixed halogenated dimethylbipyrrroles in whale and dolphin products on the Japanese market. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 51, 135-141.

Haraguchi, K., Hisamichi, Y., Endo, T., 2009a. Accumulation and mother-to-calf transfer of anthropogenic and natural organohalogens in killer whales (*Orcinus orca*) stranded on the Pacific coast of Japan. *Science of The Total Environment* 407, 2853-2859.

Haraguchi, K., Hisamichi, Y., Kotaki, Y., Kato, Y., Endo, T., 2009b. Halogenated Bipyrrroles and Methoxylated Tetrabromodiphenyl Ethers in Tiger Shark (*Galeocerdo cuvier*) from the Southern Coast of Japan. *Environmental Science & Technology* 43, 2288-2294.

Haraguchi, K., Koizumi, A., Inoue, K., Harada, K., Hitomi, T., Minata, M., Tanabe, M., Kato, Y., Nishimura, E., Yamamoto, Y., Watanabe, T., Takenaka, K., Uehara, S., Yang, H., Kim, M., Moon, C., Kim, H.,

- Wang, P., Liu, A., Hung, N., 2009c. Levels and regional trends of persistent organochlorines and polybrominated diphenyl ethers in Asian breast milk demonstrate POPs signatures unique to individual countries. *Environment International* 35, 1072-1079.
- Haraguchi, K., Kotaki, Y., Relox, J., Romero, M., Terada, R., 2010. Monitoring of Naturally Produced Brominated Phenoxyphenols and Phenoxyanisoles in Aquatic Plants from the Philippines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58, 12385-12391.
- Hisamichi Y., Endo T., Nishimura E., Haraguchi K., 2007 Natural and anthropogenic POPs in bluefin tuna from the Japanese market. *Organohalogen Compounds* 69, 1709-1712.
- Isnansetyo, A., Kamei, Y., 2003. *Pseudoalteromonas phenolica* sp nov., a novel marine bacterium that produces phenolic anti-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* substances. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 53, 583-588.
- Kawashiro, Y., Fukata, H., Inoue, M., Kubonoya, K., Jotaki, T., Takigami, H., Sakai, S., Mori, C., 2008. Perinatal Exposure to Brominated Flame Retardants and Polychlorinated Biphenyls in Japan. *Endocrine Journal* 55, 1071-1084.
- Koizumi, A., Harada, K.H., Inoue, K., Hitomi, T., Yang, H.R., Moon, C.S., Wang, P., Hung, N.N., Watanabe, T., Shimbo, S., Ikeda, M., 2009. Past, present, and future of environmental specimen banks. *Environmental Health and Preventive Medicine* 14, 307-318.
- Koizumi, A., Yoshinaga, T., Harada, K., Inoue, K., Morikawa, A., Muroi, J., Inoue, S., Eslami, B., Fujii, S., Fujimine, Y., Hachiya, N., Koda, S., Kusaka, Y., Murata, K., Nakatsuka, H., Omae, K., Saito, N., Shimbo, S., Takenaka, K., Takeshita, T., Todoriki, H., Wada, Y., Watanabe, T., Ikeda, M., 2005. Assessment of human exposure to polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in Japan using archived samples from the early 1980s and mid-1990s. *Environmental Research* 99, 31-39.
- Lacorte, S., Ikonomou, M., 2009. Occurrence and congener specific profiles of polybrominated diphenyl ethers and their hydroxylated and methoxylated derivatives in breast milk from Catalonia. *Chemosphere* 74, 412-420.
- Marsh, G., Athanasiadou, M., Athanassiadis, I., Bergman, A., Endo, T., Haraguchi, K., 2005. Identification, quantification, and synthesis of a novel dimethoxylated polybrominated biphenyl in marine mammals caught off the coast of Japan. *Environmental Science & Technology* 39, 8684-8690.
- Miyazaki, T., Yamagishi, T., Matsumoto, M., 1986. Identification of 1,2,4,5-tetrabromobenzene and mirex in human milk by gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan* 27, 267-271.
- Sly, P.D., Flack, F., 2008. Susceptibility of children to environmental pollutants. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1140, 163-183.
- Stapleton, H., Keller, J., Schantz, M., Kucklick, J., Leigh, S., Wise, S., 2007. Determination of polybrominated diphenyl ethers in environmental standard reference materials. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 387, 2365-2379.

- Thomsen, C., Stigum, H., Froshaug, M., Broadwell, S., Becher, G., Eggesbo, M., 2010. Determinants of brominated flame retardants in breast milk from a large scale Norwegian study. *Environment International* 36, 68-74.
- Tittlemier, S., Borrell, A., Duffe, J., Duignan, P., Fair, P., Hall, A., Hoekstra, P., Kovacs, K., Krahn, M., Lebeuf, M., Lydersen, C., Muir, D., O'Hara, T., Olsson, M., Pranschke, J., Ross, P., Siebert, U., Stern, G., Tanabe, S., Norstrom, R., 2002. Global distribution of halogenated dimethyl bipyrroles in marine mammal blubber. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 43, 244-255.
- Tittlemier, S., Kennedy, S., Hahn, M., Reddy, C., Norstrom, R., 2003. Naturally produced halogenated dimethyl bipyrroles bind to the aryl hydrocarbon receptor and induce cytochrome P4501A and porphyrin accumulation in chicken embryo hepatocytes. *Environmental Toxicology and Chemistry* 22, 1622-1631.
- Tittlemier, S., Braekevelt, E., Halldorson, T., Christopher, C., Norstrom, R., 2004a. Vapour pressures, aqueous solubilities, Henry's Law constants, and octanol/water partition coefficients of a series of mixed halogenated dimethyl bipyrroles. *Chemosphere* 57, 1373-1381.
- Tittlemier, S., 2004b. Dietary exposure to a group of naturally produced organohalogen (halogenated dimethyl bipyrroles) via consumption of fish and seafood. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 2010-2015.
- Ueno, D., Isobe, T., Ramu, K., Tanabe, S., Alae, M., Marvin, C., Inoue, K., Someya, T., Miyajima, T., Kodama, H., Nakata, H., 2010. Spatial distribution of hexabromocyclododecanes (HBCDs), polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and organochlorines in bivalves from Japanese coastal waters. *Chemosphere* 78, 1213-1219.
- Ueno, D., Kajiwara, N., Tanaka, H., Subramanian, A., Fillmann, G., Lam, P., Zheng, G., Muchitar, M., Razak, H., Prudente, M., Chung, K., Tanabe, S., 2004. Global pollution monitoring of polybrominated diphenyl ethers using skipjack tuna as a bioindicator. *Environmental Science & Technology* 38, 2312-2316.
- Van Oostdam, J., Gilman, A., Dewailly, E., Usher, P., Wheatley, B., Kuhnlein, H., Neve, S., Walker, J., Tracy, B., Feeley, M., Jerome, V., Kwavnick, B., 1999. Human health implications of environmental contaminants in Arctic Canada: a review. *Science of The Total Environment* 230, 1-82.
- Vetter, W., Alder, L., Kallenborn, R., Schlabach, M., 2000. Determination of Q1, an unknown organochlorine contaminant, in human milk, Antarctic air, and further environmental samples. *Environmental Pollution* 110, 401-409.
- Vetter, W., Haase-Aschoff, P., Rosenfelder, N., Komarova, T., Mueller, J., 2009. Determination of Halogenated Natural Products in Passive Samplers Deployed along the Great Barrier Reef, Queensland/Australia. *Environmental Science & Technology* 43, 6131-6137.
- Vetter, W., Hahn, M.E., Tomy, G., Ruppe, S., Vatter, S., Chahbane, N., Lenoir, D., Schramm, K.W., Scherer, G., 2004. Biological Activity and Physicochemical Parameters of Marine Halogenated Natural Products 2,3,3',4,4',5,5'-Heptachloro-1'-Methyl-1,2'-Bipyrrole and 2,4,6-Tribromoanisole.

Archives of Environmental Contamination and Toxicology 48, 1-9.

Flame Retardants? Environmental Science & Technology 43, 7536-7542.

Vetter, W., Scholz, E., Gaus, C., Muller, J., Haynes, D., 2001. Anthropogenic and natural organohalogen compounds in blubber of dolphins and dugongs (Dugong dugon) from northeastern Australia.

Watanabe, I., Sakai, S., 2003. Environmental release and behavior of brominated flame retardants. Environment International 29, 665-682.

Archives of Environmental Contamination and Toxicology 41, 221-231.

Wu, J., Vetter, W., Gribble, G.W., Schneekloth, J.J.S., Blank, D.H., Görls, H., 2002. Structure and Synthesis of the Natural Heptachloro-1'-methyl-1,2'-bipyrrole (Q1). Angewandte Chemie International Edition 41, 1740-1743.

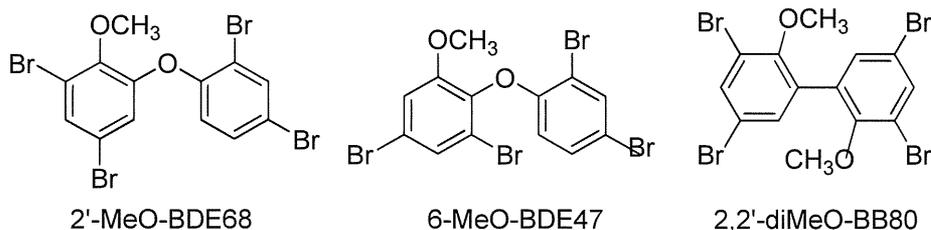
Viberg, H., Fredriksson, A., Eriksson, P., 2004. Investigations of strain and/or gender differences in developmental neurotoxic effects of polybrominated diphenyl ethers in mice. Toxicological Sciences 81, 344-353.

Yamaguchi, Y., Kawano, M., Tatsukawa, R., Moriwaki, S., 1988. Hexabromobenzene and its debrominated compounds in human adipose tissues of Japan. Chemosphere 17, 703-7

Wan, Y., Wiseman, S., Chang, H., Zhang, X., Jones, P., Hecker, M., Kannan, K., Tanabe, S., Hu, J., Lam, M., Giesy, J., 2009. Origin of Hydroxylated Brominated Diphenyl Ethers: Natural Compounds or Man-Made



Fig. 1. Sampling sites of breast milk in Japan (Hokkaido and Okinawa Prefecture)



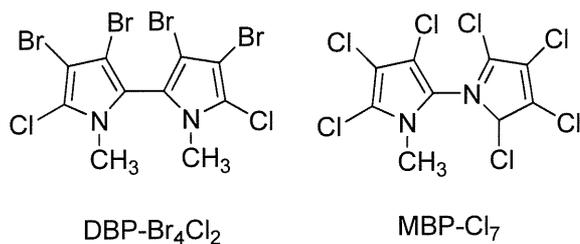


Fig. 2. Structures of naturally produced brominated contaminants.
 2'-MeO-BDE68: 4,6-dibromo-2-(2',4'-dibromo)phenoxyanisole;
 6-MeO-BDE47: 3,5-dibromo-2-(2',4'-dibromo)phenoxyanisole;
 2,2'-diMeO-BB80: 2,2'-dimethoxy-3,3',5,5'-tetrabromobiphenyl;
 DBP-Br₄Cl₂: 1,1'-dimethyl-2,2'-bipyrrrole;
 MBP-Cl₇: 2,3,3',4,4',5,5'-heptachloro-1'-methyl-1,2'-bipyrrrole.

Table 1 Information regarding the participants and lipid contents of milk samples from Hokkaido and Okinawa.

region	Location		year	n	mean age	lipid (%)
	Latitude	Longitude				
Hokkaido	42-90°N	140-99°E	2005	20	30.5	2.30
Okinawa	26-20°N	127-69°E	2005-2006	20	30.3	2.63
All				40	30.4	2.45

Table 2 GC/MS conditions for analysis of brominated compounds in human breast milk.

Carrier gas	helium (head pressure of 3 psi)
Injection mode	splitless
Column	HP-5MS (30% dimethylpolysiloxane, 30 m × 0.25 mm i.d. and 0.25 µm film thickness, J&W Scientific, CA, USA)
Oven.	70 °C (1.5 min), then 20 °C/min to 230 °C (0.5 min), and then 4 °C/min to 280 °C (5 min)
Temperature	injector (250 °C), transfer line (280 °C), and ion source (230 °C for EI, 150 °C for ECNI)
Ionization mode	ECNI (electron capture negative ionization)
Reagent gas	Methane
Target ions , (confirmed ions), <i>m/z</i>	79 (81) for brominated contaminants 386 (388) for MBP-Cl ₇

Table 3 Concentrations of polybrominated diphenyl ethers and related compounds in breast milk collected from Okinawa and Hokkaido.

	Okinawa n=20				Hokkaido n=20				Overall		LOQ (ng/g lipid)
	Freq (n>LOQ)	Mean	Median	Range	Freq (n>LOQ)	Mean	Median	Range	Mean	Median	
Concentration (ng/g lipid)											
<i>BFRs</i>											
BDE-28	16	0.12	0.12	<0.06-0.38	6	0.16	0.030	<0.06-1.9	0.14	0.040	0.06
BDE-47	20	0.97	0.87	0.10-2.2	16	2.7	0.40	<0.08-46	1.9	0.56	0.08
BDE-99	14	0.20	0.16	<0.1-0.48	4	0.62	0.050	<0.1-10	0.41	0.050	0.1
BDE-100	11	0.16	0.080	<0.1-0.56	4	0.41	0.050	<0.1-6.7	0.29	0.050	0.1
BDE-153	20	0.60	0.56	<0.2-1.6	10	0.54	0.19	<0.2-4.0	0.57	0.48	0.2
BDE-154	14	0.19	0.16	<0.2-0.41	3	0.13	0.10	<0.2-0.57	0.16	0.10	0.2
ΣPBDE	20	2.1	2.1	0.55-5.1	16	4.3	1.0	<0.2-69	3.4	1.5	-
TeBB	20	2.4	2.0	0.83-6.0	20	2.6	2.6	0.76-6.6	2.5	2.1	0.01
HeBB	19	0.19	0.20	<0.05-0.46	20	0.86**	0.71	0.20-2.5	0.53	0.32	0.05
<i>natural products</i>											
2'-MeO-BDE68	18	0.39*	0.28	<0.06-1.6	12	0.17	0.070	<0.06-0.69	0.28	0.14	0.06
6-MeO-BDE47	8	0.050*	0.030	<0.05-0.13	0	<0.05	<0.05	<0.05	0.040	0.030	0.05
2,2'-diMeO-BB80	17	0.20**	0.22	<0.04-0.45	7	0.040	0.020	<0.04-0.12	0.12	0.070	0.04
MBP-Cl ₇	19	0.19	0.11	<0.01-0.94	17	0.090	0.070	<0.01-0.43	0.14	0.080	0.01
DBP-Br ₄ Cl ₂	17	0.23	0.20	<0.04-0.62	18	0.45	0.28	<0.04-2.7	0.34	0.25	0.04
Ratio											
BDE-47/BDE-153		1.6	1.6			5.0	2.1		3.3	1.2	
TeBB/HeBB		12	9.8			3.1	3.7		4.7	6.6	
2'-MeO-BDE68/BDE-47		0.40	0.32			0.06	0.18		0.15	0.25	

All data were calculated by assuming that values below the LOD were equal to one-half of the LOD. *p<0.05, **p<0.01.

a n > MDL

Table 4 Pearson correlation coefficients between the levels of the major brominated contaminants in breast milk from Okinawa (n=20) and Hokkaido (n=20).

	BDE-47	BDE-153	TeBB	HeBB	2'-MeO-BDE68	2,2'-diMeO-BB80	MBP-Cl ₇
<i>Okinawa</i>							
BDE-153	0.348						
TeBB	-0.202	0.107					
HeBB	0.364	0.775**	0.053				
2'-MeO-BDE68	0.070	-0.189	-0.199	-0.078			
2,2'-diMeO-BB80	0.299	-0.188	-0.104	0.074	0.522*		
MBP-Cl ₇	0.432	0.540*	-0.168	0.490*	0.029	0.021	
DBP-Br ₄ Cl ₂	0.284	-0.059	-0.137	0.158	0.478*	0.767**	0.279
<i>Hokkaido</i>							
BDE-153	0.927**						
TeBB	-0.214	-0.088					
HeBB	-0.117	-0.031	0.628**				
2'-MeO-BDE68	0.054	0.197	-0.077	0.069			
2,2'-diMeO-BB80	0.004	0.071	0.049	-0.273	0.221		
MBP-Cl ₇	0.268	0.298	0.054	0.069	0.183	-0.090	
DBP-Br ₄ Cl ₂	-0.064	-0.108	0.301	-0.024	0.408	0.480*	0.129

*p<0.05, **p<0.01.

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
分担研究報告書

汚染が懸念される物質のモニタリング-日中韓の
母乳試料の比較：ジコホール

研究分担者 原口 浩一 第一薬科大学
研究協力者 藤井由希子 京都大学大学院医学研究科

研究要旨

ジコホールは世界中で殺ダニ剤など農薬として使用されている化学物質である。ジコホールはDDTと類似した構造と特性（難分解性、生物濃縮等）を持ち、ヒトへの健康影響が懸念されている。東アジアでは中国の母乳に残留するDDT濃度は日本・韓国に比べ高いことが知られている。また中国ではジコホール製品の不純物が環境中のDDT汚染源の一つになっているという報告もある。しかし、ジコホールの広範な使用にもかかわらず、ヒト由来の生体試料からジコホールを検出した報告はなく、ヒトの体内負荷量も明らかでない。本研究ではGC-MS(EI-SIMモード)を用いてジコホールの分析方法を確立し、その手法を用いて、日中韓の母乳中でジコホールが検出されるかどうか、さらにDDT残留濃度からジコホール製品がヒト中のDDT類の主たる汚染源であるかどうか、について検討した。

母乳中ジコホールの平均濃度は日本で0.3 ng/g lipidであり、中国(9.6 ng/g lipid)、韓国(1.9 ng/g lipid)より有意に低かった($p < 0.05$ by Tukey's HSD test after log transformation)。さらに中国の総DDT濃度は日本・韓国より10倍以上高かった。この結果は中国ではDDTとともにジコホールの曝露も高いことを示唆している。しかしながら、ジコホールのDDT類に対する濃度比は低く、DDT曝露におけるジコホールの寄与は低いと考えられた。

1、ジコホール

A. 研究目的

ジコホールは世界中で殺ダニ剤など農薬として使用されている化学物質である。ジコホール¹はDDTとよく似た構造(Fig.1)と特性（難分解性、生物濃縮性）を持ち、ヒトへの健康影響が懸念されている。ジコホール製品¹は工業用DDTを塩素化、さらに加水分解して製造される。未反応のDDTはそのままジコホール製品中に不純物と

して残存する(Qiu et al., 2005; Turgut et al., 2009)。日本ではジコホール製品（ケルセン）は1956年から使用されたが、2004年に農薬登録が失効し、2010年に販売禁止農薬とされた。しかしながらジコホール製品は中国で現在でも使用され、綿農地ではDDTの主な汚染源となっている(Yang et al., 2008)。ジコホールはヒトへの急性毒性があり、発がん性も疑われてい

る (Lessenger and Riley, 1991; Settimi et al., 2003)。急性毒性として神経毒性と認知・情動機能に障害が出るとの症例報告がある (Lessenger and Riley, 1991)。また農業従事者の DDT 類とジコホール使用は前立腺癌の危険性を高めるとの疫学研究報告がある (Settimi et al., 2003)。

東アジアでは中国の母乳中 DDT 濃度は日本・韓国に比べ高いことが知られている (Haraguchi et al., 2009; Hui et al., 2008; Kunisue et al., 2004)。一方、中国では大気中 DDT 類の主たる汚染源がジコホール製品の不純物に由来すると報告もある (Qiu et al., 2005; Qiu et al., 2010; Yang et al., 2008)。しかし、ヒト由来の生体試料中のジコホールの検出法はまだ確立されていないため、ヒト体内での残留量も知られていない。

本研究では gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) で EI-SIM モードを用いて母乳中からジコホールの検出法の確立を試みた。GC-MS 分析ではジコホールは GC 内で熱分解され dichlorobenzophenone (DCBP) となる。このイオン検出を用いて、日中韓の母乳中のジコホール濃度を算出し、さらにその DDT 濃度との割合から、ヒトに残留する DDT 濃度にジコホールがどの程度関与しているか検討した。

Fig. 1 Structure of dicofol

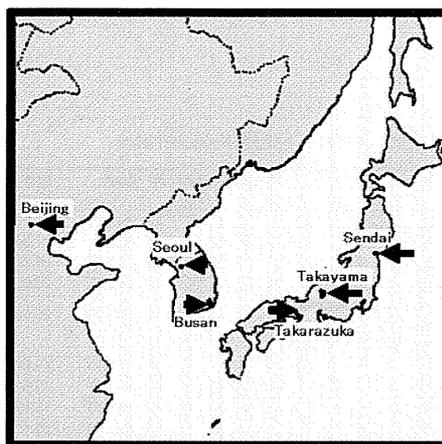
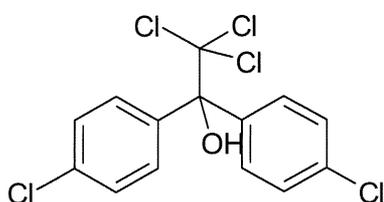


Fig. 2 Map of the sampling locations

B. 研究方法

1. 試料採集

母乳試料は京都大学生体試料バンク (Koizumi et al., 2005; Koizumi et al., 2009) の保存試料を使用し、総計 210 人の母親から 14 プール試料を得た (15 人分の母乳試料 各 1 mL をとり 1 プール 15-mL とした)。試料は 2007 年から 2009 年の間に中国 (60 人、北京、2007 年 12 月 - 2008 年 9 月)、韓国 (30 人、ソウル、2007 年 10 月; 30 人・プサン・2008 年 12 月 - 2009 年 1 月)、日本 (30 人、仙台、2009 年 4 月 - 5 月; 30 人、宝塚、2008 年 8 月; 30 人、高山、2008 年 6 月 - 10 月) のボランティアから採取された (Fig. 2 地域参照)。母乳試料は出産後 4 - 8 週に妊婦本人、もしくは助産婦の介助によって採取された。この研究プロトコール (E25) は京都大学大学院医学研究科・医学部及び医学部附属病院医の倫理委員会により承認され、参加者全てに書面による同意を得た。Table 1 に、参加者の年齢、BMI (body mass index)、職業、出産回数、母乳中の脂質%を示す。中国では一人っ子政策によりすべて初産婦である。