

Table 1

Background data for the participants in China, Korea and Japan

Region	Pool number	N	Age ^a	BMI ^b	Occupation			Number of delivery		Lipid (%)	
					Housewife	Clerk	Others	Primiparae	Multiparae		
China	Beijing	1	15	25(1.0) ^c	25.2(3.4) ^c	0	6	9	15	0	3.9
	Beijing	2	15	28(1.1) ^c	27.3(4.3) ^c	0	6	9	15	0	4.2
	Beijing	3	15	26(1.1) ^c	26.3(3.2) ^c	0	6	9	15	0	4.3
	Beijing	4	15	28(0.5) ^c	25.6(1.8) ^c	0	8	7	15	0	5.0
	Arithmetic mean (Standard deviation)			27(1.7)	26.0(3.3)				15 (0)	0 (0)	4.4(0.5)
Korea	Seoul	1	15	29(3.2) ^c	19.9(2.1) ^c	8	1	6	11	4	3.3
	Seoul	2	15	34(1.6) ^c	19.8(3.3) ^c	6	2	7	10	5	2.6
	Busan	1	15	30(3.6) ^c	19.8(1.8) ^c	10	2	3	9	6	3.1
	Busan	2	15	32(2.5) ^c	20.7(2.0) ^c	8	5	2	8	7	3.3
	Arithmetic mean (Standard deviation)			31(3.3)	20.0(2.3)				9.5 (1.3)	5.5 (1.3)	3.1(0.3)
Japan	Sendai	1	15	30(2.9) ^c	22.0(2.4) ^c	7	3	5	9	6	3.4
	Sendai	2	15	37(1.7) ^c	22.4(2.3) ^c	9	4	2	8	7	3.5
	Takayama	1	15	27(2.3) ^c	20.7(3.1) ^c	1	3	11	8	7	3.0
	Takayama	2	15	34(3.3) ^c	19.5(1.2) ^c	0	5	10	10	5	3.5
	Takarazuka	1	15	28(4.1) ^c	21.5(3.4) ^c	6	2	7	9	6	2.5
	Takarazuka	2	15	35(2.0) ^c	21.1(3.0) ^c	5	5	5	2	13	3.4
	Arithmetic mean (Standard deviation)			32(4.6)	21.2(2.7)				7.7 (2.9)	7.3 (2.9)	3.2(0.4)

a. Years.

b. BMI: Body mass index.

c. Arithmetic Mean (standard deviation) of each pooled sample.

2. 対象物質

¹³C-labeled 2,3,4,5,6,3',4',5'-octachlorobiphenyl (CB-205; AccuStandard Inc., CA, USA) をジコホールとDDT類の内部標準として用いた。分析対象物質は p,p'-dichlorodiphenyldichloroethane (p,p'-DDE), p,p'-dichlorodiphenyldichloroethane (p,p'-DDD), o,p'-dichlorodiphenyltrichloroethane(o,p'-DDT), p,p'-dichlorodiphenyltrichloroethane (p,p'- DDT) およびジコホールである。

3. 分析の前処理

母乳試料15mLに内標準を加え、2% シュウ酸カリウム5mL、ジエチルエーテル:エタノール(1:1)溶液5mLを加えた後、ヘキサン15mLで脂質を抽出した。脂肪分の重量を測定した後、ヘキサン:ジクロロメタン溶液に溶かし、脱脂するために、GPC(gel permeation chromatography、Bio-Beads S-X3)で目的成分を分画した。溶出液を濃縮した後、シリカゲルカラム (0.2g, Wako-gel S1, 和光純薬) に付し、12%ジクロロメタン・ヘキサン溶液15mLで溶出した液を200uLまで濃縮し、GC-MSで定性、定量した。

Table 2.

GC-MS conditions and selected ions (*m/z*) for determination of the chemicals

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)	
Target ions	235 (237) ^a	<i>o,p'</i> -DDT, <i>o,p'</i> -DDT, <i>p,p'</i> -DDD
-electron ionization mode	318 (316) ^a	<i>p,p'</i> -DDE
	139 (250) ^a	Dichlorobenzophenone (Dicofol pyrolysis product)
	442 (444) ^a	[13C]CB-205 (Internal standard)

a. Confirmation ion.

4. 測定法および精度管理

GC/MS 装置は Agilent GC/MSD 5973i, 6890N GC を用いた。測定条件を Table 2 に示す。ジコホールの検量線は 2-200 ng/mL の範囲で直線性を示した。回収率は 91.8±8%, 検出限界は 0.1 ng/g lipid (S/N 比 3) であった。ジコホールの再現性は相対標準偏差 <12%, (n=5) で良好であった。DDT の精度管理は cod liver oil SRM 1588b (NIST) を用いて行った。

5. 統計解析

得られたデータは SPSS (Version 16.0 for Windows 2007 (SPSS Inc., IL, USA)) で統計解析を行った。自然対数を取った上で、One-way analysis of variance と multiple comparisons (Tukey's HSD test) で対象物質の日中韓での有意差を検定した。対象物質が検出限界 (LOD) 以下の場合、検出限界値の半分を計算値として使用した。(例: ジコホールでは 0.05 ng/g lipid)。P 値 0.05 以下を統計的な有意水準とした。

C. 研究結果 および D. 考察

1. ジコホールの単離

ジコホールは GC 分析の際、熱分解により DCBP となり、これに基づくイオン (*m/z* 139, 250) が検出される。しかし、DCBP が生体中に残留した場合ジコホールと区別できなくなる。今回、母乳中で検出されるジコホールが DCBP でないことを確認するために、GPC による分画を試みた。従来、脱脂目的で使っている Bio Beads S-X3 ゲルではジコホールと DCBP の溶出分画は重なることが分かった。他の GPC を検討した結果、Shodex CLNpak EV2000 (昭和電工、溶媒: シクロヘキサン: 酢酸エチル (7:3), 流速 4 mL/min) を用いると DDT 類・ジコホールの分画と DCBP 分画の分離が可能であった。このカラム条件で中国母乳成分の分画を行い、ジコホールの同定の際、DCBP が残存していないことを確認した。Fig. 3a および Fig. 3b に標準ジコホールおよび中国母乳中のジコホールのクロマトグラムを示す。

2. 定量

Table 3 にジコホールと DDT 類 (*p,p'*-DDE, *p,p'*-DDD, *o,p'*-DDT and *p,p'*-DDT) の母乳中濃度を示す。ジコ

ホールは日本・宝塚を除く5地域の母乳で検出された。母乳中ジコホールの幾何平均は日本で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)。DDT濃度は中国で1358 ng/g lipidであり、日本(120 ng/g lipid)、韓国(144 ng/g lipid)より約10倍高かった。

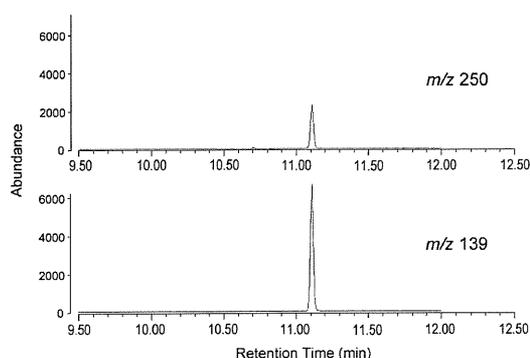


Fig. 3a Chromatogram of dicofol in standard solution

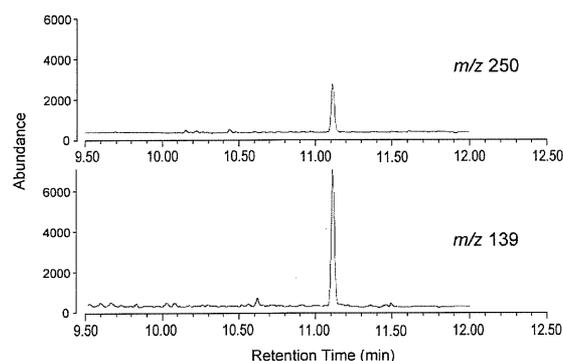


Fig.3b Chromatogram of dicofol in breast milk from China (Beijing).

3. DDT, ジコホールの特徴

ジコホール製品は農薬として広く使用されていること、以前から母乳中で検出されているDDTと同様の残留性を持つことなどを考えると、本研究でジコホールが母乳から検出されたことは妥当な結果である。ジコホールは中国のサンプルから最も高濃度で検出された。この結果は現在も中国で

ジコホール製品が使用されていることを反映している。しかし、そのジコホール濃度はDDT総濃度に比べると2桁低いng/g lipidのレベルであることが分かった。現状では母乳中のDDT類の由来はtechnical DDTの長期蓄積によるもので、ジコホール製品中の不純物DDTの由来であるとは考えにくい。

中国におけるジコホール製品には5-10%程度のo,p'-DDTとp,p'-DDTが不純物として混入している(Tao et al., 2007)。また、o,p'-DDT/p,p'-DDT比は7付近となることが報告されている(Qiu et al., 2005)。今回の調査では、中国の母乳における(o,p'-DDT/p,p'-DDT)比は0.12で、この割合は日本・韓国と大きな差がなかった(両者とも0.14)。ジコホールの体内での半減期は短いとされており(OSPAR Commission, 2002; Howard, 1991)、ジコホールの残留量のみではそのDDT類への寄与度を推定できない。今回、この低い濃度比(o,p'-DDT/p,p'-DDT)は、ジコホール製品がDDT汚染の主な原因ではないということを支持する。

日本の母乳中のジコホール濃度は、中国・韓国に比べ低かった。日本では2004年にジコホール製品(ケラセン)の製造が中止されており、今回、日本母乳で検出されたジコホールはまだジコホール製品が現在も使用されている中国などから輸入された食品に由来することも考えられる。今後、ジコホールの食品分析および個々の母乳モニタリングが必要と思われる。

4. 乳児の一日摂取量の推定と安全性評価

暫定耐容一日摂取量(provisional tolerable daily intake, PTDI)はDDT

類で0.02 mg/kg body weight、ジコホールで0.002 mg/kg body weight に設定されている (JMPR, 1992; 2000)。一歳の乳児 (体重7.3kg) の平均母乳摂取量を600 g/dayと推定しDDT類とジコホールの推定摂取量を求めると Table 4のようになる。ジコホールの推定摂取量は、すべてのプール試料でPTDIの<0.1~3.9%であった。一方DDT類の推定摂取量はPTDIの1.1-51.7%に相当し、ジコホールよりもかなり高い%であった。とくに、中国母乳はジコホールおよびDDTともに最も高い% (DDTの摂取量がPTDIの51.7%) であることは特記すべきで

ある。

5. 本研究の限界

本研究ではプール母乳を使用したため、偏差がわからなかった。さらに化学物質同士の相関、また関連項目 (年齢・BMI・出産回数) との相関が検討できなかった。また個々の母乳濃度からの摂取量についてPTDIに対する割合を計算できなかった。個々の母乳ではPTDIを超えてDDTを摂取する可能性がある。それゆえ個々の母乳中のDDT類のモニタリングが必要である。

Table 3

Concentrations (ng/g lipid) of dicofol and DDTs in human breast milk samples from China, Korea and Japan

		Concentration (ng/g lipid)							Dicofol occupancy (%) Ratio				
		p,p'-DDE	* ^a p,p'-DDD	* ^a o,p'-DDT	* ^a p,p'-DDT	* ^a ΣDDTs ^d	* ^a Dicofol	* ^a Total ^e	* ^a Dicofol / Total ^e	p,p'-DDE/p,p'-DDT	o,p'-DDT/p,p'-DDT	Dicofol/p,p'-DDE	Dicofol/p,p'-DDT
China	Beijing1	996.00	7.67	4.03	47.50	1055.20	6.40	1061.60	0.6	20.97	0.08	0.006	0.13
	Beijing2	1237.30	8.59	7.68	50.41	1303.98	12.08	1316.06	0.9	24.54	0.15	0.010	0.24
	Beijing3	893.80	10.85	6.86	43.06	954.57	5.83	960.40	0.6	20.76	0.16	0.007	0.14
	Beijing4	2308.10	17.63	18.52	173.19	2517.44	19.09	2536.53	0.8	13.33	0.11	0.008	0.11
	GM (GSD) ^f	1262.72(1.5) A	10.60(1.4) A	7.92(1.9) A	65.01(1.9) A	1348.48(1.5) A	9.63(1.7) A	1358.26 (1.6) A	0.7	19.43(1.3) n.s.	0.12(1.4) n.s.	0.008(1.2) AB	0.15(1.4) n.s.
Korea	Busan1	86.60	5.17	1.82	21.44	115.03	2.13	117.16	1.8	4.04	0.08	0.025	0.10
	Busan2	156.10	4.33	1.84	10.69	172.96	0.80	173.76	0.5	14.60	0.17	0.005	0.07
	Seoul1	129.30	3.40	1.35	6.53	140.58	2.40	142.98	1.7	19.79	0.21	0.019	0.37
	Seoul2	129.20	3.98	1.73	11.52	146.43	2.96	149.39	2.0	11.21	0.15	0.023	0.26
	GM (GSD) ^f	122.59(1.3) B	4.17(1.2) B	1.67(1.2) B	11.46(1.6) B	142.26(1.2) B	1.87(1.8) A	144.40 (1.2) B	1.3	10.70(2.0) n.s.	0.14(1.5) n.s.	0.015(2.1) A	0.16(2.2) n.s.
Japan	Sendai1	116.50	1.91	0.77	4.84	124.02	0.81	124.83	0.6	24.07	0.16	0.007	0.17
	Sendai2	135.20	2.40	1.04	5.85	144.49	0.99	145.48	0.7	23.12	0.18	0.007	0.17
	Takayama1	75.30	5.25	0.69	7.07	88.31	0.32	88.63	0.4	10.66	0.10	0.004	0.05
	Takayama2	116.60	5.46	1.38	9.21	132.65	0.40	133.05	0.3	12.66	0.15	0.003	0.04
	Takarazuka1	95.00	2.90	1.02	7.46	106.38	<0.1 ^b	106.48	0.0	12.74	0.14	0.00053 ²⁾	0.0067 ²⁾
	Takarazuka2	117.90	2.99	0.95	6.44	128.28	<0.1 ^b	128.38	0.0	18.30	0.15	0.00042 ²⁾	0.0078 ²⁾
	GM (GSD) ^c	107.57(1.2) B	3.23(1.5) B	0.95(1.3) B	6.68(1.2) B	119.17(1.2) B	0.32(3.8) B	119.60 (1.2) B	0.3	16.11(1.4) n.s.	0.14(1.2) n.s.	0.003(2.5) B	0.05(3.0) n.s.

a. *p<0.05, Significant difference in the natural logarithms by one-way analysis of variance and multiple comparisons (Tukey's test). GMs with different letters differed significantly from each other countries among three sampling countries. For example, the letters A and B indicate that the corresponding values differ significantly at p < 0.05., while A and AB or AB and B indicated that the corresponding values do not differ significantly. n.s.: not significant.

b. Undetected chemicals (under the limits of detection; dicofol: >0.1 ng/g lipid) were treated on the one-half scale (dicofol: 0.05 ng/g lipid) for calculations.

c. GM: Geometric mean, GSD: Geometric standard deviation.

d. Four congeners: p,p'-DDE + p,p'-DDD + o,p'-DDT + p,p'-DDT.

e. Total: dicofol + p,p'-DDE + p,p'-DDD + o,p'-DDT + p,p'-DDT.

Table 4
Daily intake estimations and hazard assessment for 1-year-old infants

		ΣDDTs ^a		Dicofol	
		Estimated Intake (µg/kg-food/day)	% ^c	Estimated Intake (µg/kg-food/day)	% ^d
China	Beijing1	3.38	16.9	0.021	1.0
	Beijing2	4.50	22.5	0.042	2.1
	Beijing3	3.37	16.9	0.021	1.0
	Beijing4	10.35	51.7	0.078	3.9
	AM ^b	5.40	27.0	0.039	1.9
Korea	Busan1	0.31	1.6	0.006	0.3
	Busan2	0.37	1.8	0.002	0.1
	Seoul1	0.36	1.8	0.006	0.3
	Seoul2	0.40	2.0	0.008	0.4
	AM ^b	0.36	1.8	0.005	0.2
Japan	Sendai1	0.35	1.7	0.002	0.1
	Sendai2	0.42	2.1	0.003	0.1
	Takayama1	0.22	1.1	0.001	0.0
	Takayama2	0.38	1.9	0.001	0.1
	Takarazuka1	0.22	1.1	0.000	0.0
	Takarazuka2	0.36	1.8	0.000	0.0
	AM ^b	0.32	1.6	0.001	0.1

a. Four congeners: *p,p'*-DDE + *p,p'*-DDD + *o,p'*-DDT + *p,p'*-DDT.

b. AM: Arithmetic mean.

c. Percent of Provisional tolerable daily intake (PTDI: 0.02 mg/kg body weight) for DDTs by FAO/WHO Joint Meeting on Pesticide Residues (JMPR, 2000).

d. Percent of Provisional tolerable daily intake (PTDI: 0.002 mg/kg body weight) for dicofol by FAO/WHO Joint Meeting on Pesticide Residues (JMPR, 1992).

Table 5
Levels of DDTs and dicofol in human breast milk samples in different regions (ng/g lipid)

Country	Region (Name)	Year	Number of samples	Representative value	Concentration (ng/g lipid)							ΣDDTs	Dicofol	Ratio p,p'-DDE/p,p'-DDT	Reference
					<i>o,p'</i> -DDT	<i>p,p'</i> -DDT	<i>o,p'</i> -DDE	<i>p,p'</i> -DDE	<i>o,p'</i> -DDD	<i>p,p'</i> -DDD	<i>p,p'</i> -DDT				
Japan	Sendai	2009	30(2pools)	AM ^a	0.9	5	-	126	-	2.2	134	0.90	23.5	This study	
	Sendai	2007	20	AM ^a	1.4	7	-	250	-	1.7	260	- ^b	36.2	Haraguchi et al., 2009	
	Takarazuka	2008	30(2pools)	AM ^a	1.0	7	-	106	-	2.9	117	<0.1	15.3	This study	
	Takayama	2008	30(2pools)	AM ^a	1.0	8	-	96	-	5.4	110	0.36	11.8	This study	
	Kyoto	2007-2008	20	AM ^a	0.5	6	-	150	-	1.5	160	- ^b	23.4	Haraguchi et al., 2009	
	Takayama	2007	20	AM ^a	0.6	4	-	92	-	1.1	97	- ^b	23.0	Haraguchi et al., 2009	
	Osaka	1998	49	AM ^a	- ^b	18	-	270	-	- ^b	288	- ^b	15.2	Konishi et al., 2001	
China	Beijing	2007-2008	60 (4 pools)	AM ^a	9.3	79	-	1359	-	11.2	1458	10.85	17.3	This study	
	Beijing	2007	25	AM ^a	8.0	38	-	1250	-	5.7	1300	- ^b	32.9	Haraguchi et al., 2009	
	Beijing	1998	60	Median	<100	240	-	1720	-	- ^b	2040	- ^b	7.2	Yu et al., 2006	
Korea	Seoul	2007	30 (2 pools)	AM ^a	1.5	9	-	129	-	3.7	144	2.68	14.3	This study	
	Seoul	2007	20	AM ^a	2.0	10	-	170	-	2.0	180	- ^b	17.0	Haraguchi et al., 2009	
	Busan	2008-2009	30 (2 pools)	AM ^a	1.8	16	-	121	-	4.8	144	1.47	7.6	This study	
	Masan	1994-1995	10	AM ^a	- ^b	22	-	162	-	4.4	283	- ^b	7.4	Kang et al., 2000	

a. AM: Arithmetic mean.

b. Not measured.

c. N/A: Not available.

6. 他の研究との比較

今回の研究結果と欧米での先行研究との比較をTable 5に示す。ジコホールについては過去の報告が見当たらず、比較ができない。DDT濃度については、過去10年間で日中韓の母乳中DDT類濃度は減少傾向にある。中国の母乳中DDT濃度は1983年から2008年の間に 7700 ng/g lipidから1300 ng/g lipidに減少している(Haraguchi et al., 2009; Yu et al., 2006)。しかし、中国でのDDT類濃度は日本、韓国に比べ依然として10倍以上高い。p,p'-DDEはp,p'-DDTの分解・代謝物であり、p,p'-DDEとp,p'-DDTの比はp,p'-DDTが環境中に放出されてからの時間を示す指標とされ、この比が低いほど近年の暴露を示すとされている(Wong et al., 2005)。中国北京では1993年はこの比は5.6であったが(Yu et al., 2006)、2007年には32.9(Haraguchi et al., 2009)本研究では17.3であった。この結果、北京でのp,p'-DDTへの暴露は過去に使用していたDDTの蓄積によるものでdicofol製品による寄与は低いと考えられる。

E. 結論

今回の研究では、母乳中のジコホールの定性、定量法を確立した。その手法を用いて、日中韓の母乳試料からジコホールを検出した。そのレベルは中国母乳で最も高く、日本・韓国で低かった。ジコホールのDDT濃度に対する割合は0.003-0.015で3国間で差はみられなかった。この結果、母乳にはDDT類に比べて2桁低いレベルでジコホールが残留していることがわかった。しかし、日本・韓国と中国ではDDTレベルに大きな差があり、母乳を通じてのDDT類

の摂取量は無視できない量である。中国ではジコホール製品は使用されており、将来にわたるモニタリングが必要である。

【注釈】

1,本文中の"ジコホール"とは化学物質そのものであり、"ジコホール製品"とはパッケージ化された農薬製品としてのジコホールを差す。"DDT", "DDT製品"も同様の意味を表す。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Fujii Y, Haraguchi K, Harada KH, Hitomi T, Inoue K, Itoh Y, Watanabe T, Takenaka K, Uehara S, Yang HR, Kim MY, Moon CS, Kim HS, Wang P, Liu A, Hung NN, Koizumi A., Detection of dicofol and related pesticides in human breast milk from China, Korea and Japan.,Chemosphere. 2011 Jan;82(1):25-31.

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

- JMPR, 1992. Monographs of Toxicological Evaluations. No. 842. Dicofol, Pesticide Residues in Food: 1992 Evaluations. Part II Toxicology. FAO/WHO Joint Meeting on Pesticide Residues.
- JMPR, 2000. Monographs of Toxicological Evaluations. No. 972. DDT, Pesticide Residues in Food: 2000 Evaluations. Part II Toxicology. FAO/WHO Joint Meeting on Pesticide Residues.
- Burke, E.R., Holden, A.J., Shaw, I.C., 2003. A method to determine residue levels of persistent organochlorine pesticides in human milk from Indonesian women. *Chemosphere* 50, 529–535.
- Chao, H.R., Wang, S.L., Lin, T.C., Chung, X.H., 2006. Levels of organochlorine pesticides in human milk from central Taiwan. *Chemosphere* 62, 1774–1785.
- Haraguchi, K., Koizumi, A., Inoue, K., Harada, K.H., 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, N.N., 2009. Levels and regional trends of persistent organochlorines and polybrominated diphenyl ethers in Asian breast milk demonstrate POPs signatures unique to individual countries. *Environ. Int.* 35, 1072–1079.
- Howard, P.H., 1991. Handbook of Environmental Fate and Exposure Data for Organic Chemicals, vol. 3. Lewis Publishers, Chelsea, MI.
- Hui, L.L., Hedley, A.J., Kypke, K., Cowling, B.J., Nelson, E.A., Wong, T.W., van Leeuwen, F.X., Malisch, R., 2008. DDT levels in human milk in Hong Kong, 2001–02. *Chemosphere* 73, 50–55.
- Koizumi, A., Harada, K., Inoue, K., Hitomi, T., Yang, H.-R., Moon, C.-S., Wang, P., Hung, N., Watanabe, T., Shimbo, S., Ikeda, M., 2009. Past, present, and future of environmental specimen banks. *Environ. Health Prevent. Med.* 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. *Environ. Res.* 99, 31–39.
- Konishi, Y., Kuwabara, K., Hori, S., 2001. Continuous surveillance of organochlorine compounds in human breast milk from 1972 to 1998 in Osaka, Japan. *Arch.*

- Environ. Contam. Toxicol. 40, 571–578.
- Kunisue, T., Nakanishi, S., Oka, N., Sato, F., Tsurumi, M., Tanabe, S., 2006. Dioxins and related compounds in albatrosses from the Torishima Island, Japan: accumulation features by growth stage and toxicological implications. Environ. Sci. Technol. 40, 6919–6927.
- Kunisue, T., Someya, M., Kayama, F., Jin, Y., Tanabe, S., 2004. Persistent organochlorines in human breast milk collected from primiparae in Dalian and Shenyang, China. Environ. Pollut. 131, 381–392.
- Lessenger, J.E., Riley, N., 1991. Neurotoxicities and behavioral changes in a 12-yearold male exposed to dicofol, an organochloride pesticide. J. Toxicol. Environ. Health 33, 255–261.
- Liu, X., Zhang, G., Li, J., Yu, L.L., Xu, Y., Li, X.D., Kobara, Y., Jones, K.C., 2009. Seasonal patterns and current sources of DDTs, chlordanes, hexachlorobenzene, and endosulfan in the atmosphere of 37 Chinese cities. Environ. Sci. Technol. 43, 1316–1321.
- Minh, N.H., Someya, M., Minh, T.B., Kunisue, T., Iwata, H., Watanabe, M., Tanabe, S., Viet, P.H., Tuyen, B.C., 2004. Persistent organochlorine residues in human breast milk from Hanoi and Hochiminh City, Vietnam: contamination, accumulation kinetics and risk assessment for infants. Environ. Pollut. 129, 431–441.
- Nakata, H., Kawazoe, M., Arizono, K., Abe, S., Kitano, T., Shimada, H., Li, W., Ding, X., 2002. Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyl residues in foodstuffs and human tissues from china: status of contamination, historical trend, and human dietary exposure. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 43, 473–480.
- OSPAR Commission, 2002. Hazardous Substances Series: Dicofol.
- Poon, B.H., Leung, C.K., Wong, C.K., Wong, M.H., 2005. Polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in human adipose tissue and breast milk collected in Hong Kong. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 49, 274–282.
- Qiu, X., Zhu, T., 2010. Using the o,p0-DDT/ p,p 0-DDT ratio to identify DDT sources in China. Chemosphere 34, 56–89. doi:10.1016/j.chemosphere.2010.08.049.
- Qiu, X., Zhu, T., Yao, B., Hu, J., Hu, S., 2005. Contribution of dicofol to the current DDT pollution in China. Environ. Sci. Technol. 39, 4385–4390.
- Settimi, L., Masina, A., Andrión, A., Axelson, O., 2003. Prostate cancer and exposure to pesticides in agricultural settings. Int. J. Cancer 104,

- 458–461.
- Tao, S., Li, B.G., He, X.C., Liu, W.X., Shi, Z., 2007. Spatial and temporal variations and possible sources of dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) and its metabolites in rivers in Tianjin, China. *Chemosphere* 68, 10–16.
- Turgut, C., Gokbulut, C., Cutright, T.J., 2009. Contents and sources of DDT impurities in dicofol formulations in Turkey. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 16, 214–217.
- Wong, M.H., Leung, A.O., Chan, J.K., Choi, M.P., 2005. A review on the usage of POP pesticides in China, with emphasis on DDT loadings in human milk. *Chemosphere* 60, 740–752.
- Yang, X., Wang, S., Bian, Y., Chen, F., Yu, G., Gu, C., Jiang, X., 2008. Dicofol application resulted in high DDTs residue in cotton fields from northern Jiangsu province, China. *J. Hazard Mater.* 150, 92–98.
- Yu, H.F., Zhao, X.D., Zhao, J.H., Zhu, Z.Q., Zhao, Z., 2006. Continuous surveillance of organochlorine pesticides in human milk from 1983 to 1998 in Beijing, China. *Int. J. Environ. Health. Res.* 16, 21–26.
- Zhao, G., Xu, Y., Li, W., Han, G., Ling, B., 2007. PCBs and OCPs in human milk and selected foods from Luqiao and Pingqiao in Zhejiang, China. *Sci. Total. Environ.* 378, 281–292.

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10地域の
母乳試料：ペンタクロロシクロペンタジエン類

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

我々は日中韓の母乳POPs調査において、日本は中国や韓国よりPCBやクロルデン類(CHLs)が比較的高い汚染傾向にあることを報告した。本研究では、日本の10地域で収集した母乳(n=200)中のPOPsを詳細に調査し、汚染の地域差、年齢差、出産回数、POPs濃度間の相関および乳児の推定摂取量とその評価を行った。母乳POPs関連物質の残留分布は、(1) DDTs, PCBs, HCHs, CHLsのグループ(49-120 ng/g lipid), (2) HCB, heptachlorepoide (HCE), dieldrin のグループ (2.8-8.3 ng/g lipid), および(3) toxaphene, endosulfan, dicofol, BDE-47 のグループ (0.4-2 ng/g lipid) に分けられた。グループ(1)では HCHs が山口で、CHLs が沖縄で有意に高濃度であった。グループ(2)では HCB が北海道で、dieldrin が沖縄で有意に高濃度を示した。endosulfan以外でPOPs濃度間に相関性が見られた。グループ(1)および (2)はいずれも初産婦が経産婦より有意に濃度が高かった。加齢とともに母乳PCB濃度は上昇傾向を示した(p<0.05)。しかしそれ以外のPOPsと年齢との間には有意な相関はみられなかった。CHLsに着目すると、乳児の推定平均摂取量はCHLsの暫定耐容一日摂取量(PTDI=0.5 µg/kg-body wt/day)の45%に相当し、全試料の6.5%がPTDIを超過した。本調査結果は、今後POPsの経年的なモニタリングを行う上で基礎資料となりうる。

A. 研究目的

我々は日中韓の母乳におけるPOPs調査において、日本では中国や韓国よりPCBsやクロルデン類(CHLs)が比較的高い汚染傾向にあることを報告した (Haraguchi et al. 2009)。本研究では、日本の10地域に居住する健康人(n=200)の母乳中POPsを詳細に調査し、汚染の地域差、年齢差、出産回数、POPs間の相関および乳児の推定

摂取量の評価を行った。

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; 2009)の保存試料から 総計200人の試料を分析対象とした。母乳の内訳は10地域(北海道、宮城、東京、福井、岐阜、京都、兵庫、岡山、山口、沖縄)からなり、

それぞれ20人のボランティアから、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、

参加者全員から書面による同意を得た。Table 1に、参加者の居住地域、採取年、出産回数、年齢、BMI (body mass index)および母乳中の脂質%を示す。

Table 1 Information of participants and lipid contents of milk samples from ten regions of Japan

region	year	n	Number of delivery			Age	BMI	lipid (%)
			1	2	3			
Hokkaido	2005	20				30.5		2.30
Miyagi	2008-2009	20	10	7	3	28.0	22.7	4.06
Tokyo	2010	20	10	7	3	32.0	21.8	4.22
Fukui	2005-2006	20				29.8		3.03
Gifu	2009	20	10	7	3	29.5	20.9	4.89
Kyoto	2009-2010	20	10	7	3	30.0	21.3	4.88
Hyogo	2008-2009	20	10	7	3	30.9	20.5	2.69
Okayama	2009-2010	20	13	7	0	30.0	21.0	2.14
Yamaguchi	2005-2006	20				30.5		4.42
Okinawa	2005-2006	20				30.3		2.63

2. 対象物質

POPs 関連物質のうち、DDTs (p,p'-DDT, o,p'-DDT, p,p'-DDE, p,p'-DDD), PCBs (PCB-74, PCB-101, PCB-105, PCB-118, PCB-128, PCB-138, PCB-149, PCB-153, PCB-156, PCB-170, PCB-174, PCB-180, PCB-183, PCB-187), hexachlorocyclohexane (α -HCH, β -HCH, γ -HCH), chlordanes (cis-CHL, trans-CHL, oxychlordanes, cis-nonachlor, trans-nonachlor), hexachlorobenzene (HCB),

heptachlor, cis-heptachlor epoxide (HCE), aldrin, dieldrin, endrin, toxaphenes (#26, #50), α -endosulfan, β -endosulfan, BDE-47 および dicofolを分析対象とした。内標準物質として BDE-47 の定量に 4-methoxy-BDE121を用い、それ以外の物質の定量には、 ^{13}C -labeled cis-chlordaneを用いた。

3. 分析の前処理

母乳試料5mLに内標準(^{13}C -cis-

CHLおよび4-methoxy-BDE121)を加え、2%シュウ酸カリウム5mL、ジエチルエーテル：エタノール(1:1)溶液5mLを加えた後、ヘキサン15mLで脂質を抽出した。脂質の重量を測定した後、ヘキサン：ジクロロメタン溶液に溶かし、GPC (gel permeation chromatography、Bio-Beads S-X3)で目的成分を分画した。溶出液を濃縮した後、シリカゲルカラム (0.2g, Wako-gel S1, 和光純薬)に付し、12%ジクロロメタン・ヘキサン溶液15mLで溶出した液を200 μ Lまで濃縮し、GC-MSの分析試料とした。

4 測定法および精度管理

GC/MSはAgilent GC/MSD-5973iに6890N-GCを接続した装置を用いた。測定条件をTable 2に示す。各標準溶液(1~20 ng/mL)の回収率は85~91%の間にあり再現性は良好であった(RSD<12%, n=5)。主な異性体の精度管理はcod liver oil SRM 1588b (NIST)を用いて行い、その定量値は認証値と10%以内で一致した。対象物質が検出限界(LOD)以下の場合、ゼロとして計算した。PCBsとDDTsの定量は、従来の方法(EIモード, Haraguchi et al. 2009)で行い、その他のPOPsはTable 2のECNIモードでイオン検出を行い、定量した。

Table 2 GC/MS condition and limit of detection of POPs for breast milk analysis.

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		
Analytes	GC <i>t_R</i> , min	Target ion, <i>m/z</i>	LOD*, ng/g lipid
HCB	9.33	284 (286)**	0.002
α-HCH	9.25	71 (255)	0.01
β-HCH	9.54	71 (255)	0.01
aldrin	10.96	330 (332)	0.10
dieldrin	12.46	380 (382)	0.30
endrin	13.65	380 (382)	0.20
heptachlor	10.47	300 (302)	0.30
heptachlor epoxide	11.53	388 (390)	0.20
trans-chlordane	11.91	412 (410)	0.01
cis-chlordane	12.19	412 (410)	0.02
oxy-chlordane	11.56	424 (426)	0.08
trans-nonachlor	12.28	444 (446)	0.01
cis-nonachlor	13.51	444 (446)	0.01
α-endosulfan	12.29	404 (406)	0.01
β-endosulfan	13.51	404 (406)	0.01
parlar 26	13.05	377 (379)	0.08
parlar 50	15.07	413 (415)	0.10
mirex	16.88	368 (406)	0.20
BDE-47	16.12	79 (161)	0.05
PCB-153	13.65	360 (352)	0.01
[¹³ C]cis-chlordane (IS)	12.19	385 (387)	0.02
4-methoxy-BDE-121 (IS)	20.25	79 (161)	0.10

*S/N =3, **Confirmation ion

5. 統計解析

SPSS (Version 14.0 for Windows 2007) を用いて、ANOVA, Tukey's HSD test で POPs の地域差を検定した。Spearman's rank correlation coefficient を求め、POPs 濃度間の相関性を評価した。出産回数ごとの有意差検定は Kruskal-Wallis test を用いた。P 値が 0.05 以下を統計的な有意水準とした。

C. 研究結果 および考察

1. POPs の定量

Table 3 (末尾に記載) に各地域における母乳中の POPs 濃度 (中央値) および全地域の平均値 ± 標準偏差 (最小値-最大値) を示す。最も高い濃度成分は、 Σ DDT (120±98 ng/g lipid), Σ PCB (88±53 ng/g lipid), Σ CHL (49±28 ng/g lipid), Σ HCH (66±173 ng/g lipid) この 4 種をグループ(1)とした。2番目に高い濃度成分は、HCB (8.3±4.8 ng/g lipid), HCE (5.9±4.9 ng/g lipid), dieldrin (2.8±2.4 ng/g lipid) で、これら 3 種をグループ(2)とした。3番目の濃度成分として、toxaphene #50 (1.2±1.3 ng/g lipid), α -endosulfan (1.3±1.3 ng/g lipid), BDE-47 (0.4±0.4 ng/g lipid), dicofol (0.4±0.5 ng/g lipid) をグループ(3)とした。そのプロファイルを図 1 に示す。

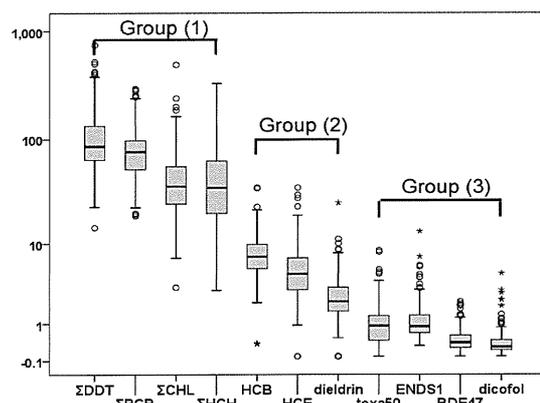


Fig. 1 Box plot of median concentrations (ng/g lipid) of POPs in Japanese breast milk (n=200)

2. 地域差

グループ(1)ではHCHsが山口で、CHLsが沖縄で有意に高濃度であった。グループ(2)ではHCBが北海道で、dieldrinが沖縄で有意に高濃度であった。Fig. 2～Fig. 12に地域別のPOPs濃度分布の箱ひげ図を示す。

2-1. HCHs

HCHsの主成分は β -HCHであり、総HCHsの98%を占めた。山口の母乳で中央値が103 ng/g lipidを示し、岐阜の中央値(23 ng/g lipid)の約5倍高濃度であった。最大値は山口の母乳(2361 ng/g lipid)でみられた。

2-2. CHLsおよびHCE

全国10地域の母乳中のCHLsの平均値は49 ng/g lipid, 中央値は36 ng/g lipid (範囲3-492 ng/g lipid)であった。沖縄の母乳試料(n=20)で最も高く、平均値115 ng/g lipid, 中央値81 ng/g lipid (範囲39-492 ng/g lipid)であった。次いで山口、北海道の順で、岐阜で最も低かった(平均値24ng/g lipid, 中央値20ng/g lipid, 範囲3-51ng/g lipid)。

クロルデン製品はtrans-CHL, cis-CHL およびtrans-nonachlor のほかにheptachlorを約7%含む (Taguchi and Yakushiji 1988)。heptachlorは単独で農薬として使用されたため、クロルデン類とは別に定量した。クロルデン類は一部生体内でoxy-CHLへ変換され、またheptachlorは土壌や生体内でcis-heptachlor epoxide (HCE)として蓄積する。今回の母乳調査ではheptachlorは検出されなかった。

全国の母乳中のHCEの平均値は5.9 ng/g lipid, 中央値4.8 ng/g lipid, 範囲nd~35 ng/g lipidであった。福井で最も高く(平均値9.9 ng/g lipid, 中央値7.2 ng/g lipid)、次いで北海道、最も低い母乳試料は岡山(平均値3.7 ng/g lipid, 中央値3.2 ng/g lipid)であった。CHLs濃度の高い母乳(沖縄、山口)では、かならずしもHCE濃度は高くなかった。このことはCHLsとheptachlorの動向、由来が地域によって異なることを示唆している。

2-3. dieldrin

ドリル剤は1975年に農薬登録が失効し、1981年使用禁止になった。母乳200のうち194試料でdieldrinが検出され、144試料でendrinが検出された。aldrinはすべての試料で検出されなかった。aldrinは体内でdieldrinへ代謝されたと思われる(Shen et al 2005)。dieldrinの全国平均値は2.8 ng/g lipid(中央値2.2 ng/g lipid)で、沖縄で高濃度であった。

2-4. toxaphenes

母乳中のtoxapheneはparlar#26および#50の2異性体が主成分とされている。#50濃度の全国平均値は1.2 ng/g lipidで、北海道で比較的高濃度(1.7 ng/g lipid)であった。toxapheneは日本では農薬として登録されたことがないため、国外からの輸入食品のほか、欧米からの長距離輸送を経て日本近海の魚介類を通じてヒト曝露が考えられる。

2-5. endosulfanおよびdicofol

日中韓の母乳調査で報告したように、endosulfan,dicofolともに日本の母乳中でも検出された。今回の調査では、 α -endosulfanが1.3 ng/g lipid、

dicofolが0.4 ng/g lipidで広く分布し、いずれも北海道で濃度が高かった。これらは過去のデータが少ないため、今後、経年変化などの動向を注視していく必要がある。

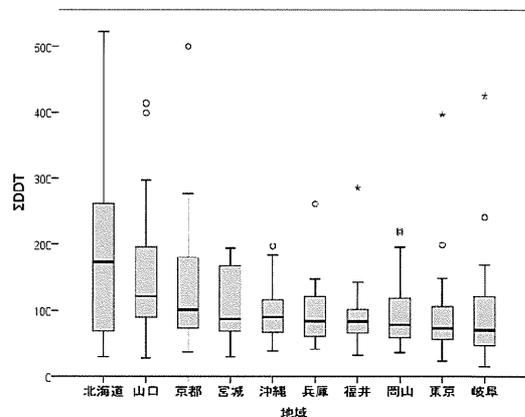


Fig. 2 Distribution of DDTs

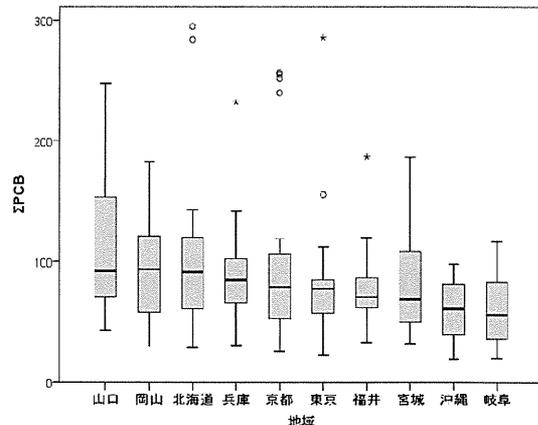


Fig. 3 Distribution of PCBs

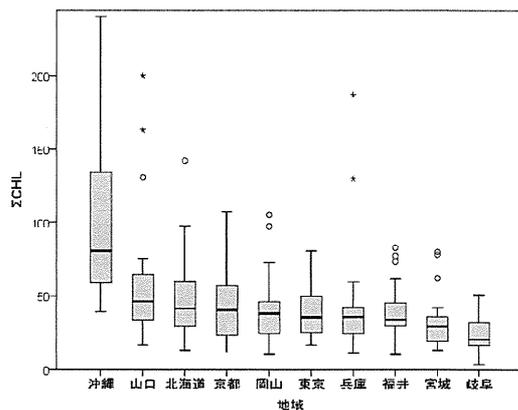


Fig. 4 Distribution of CHLs

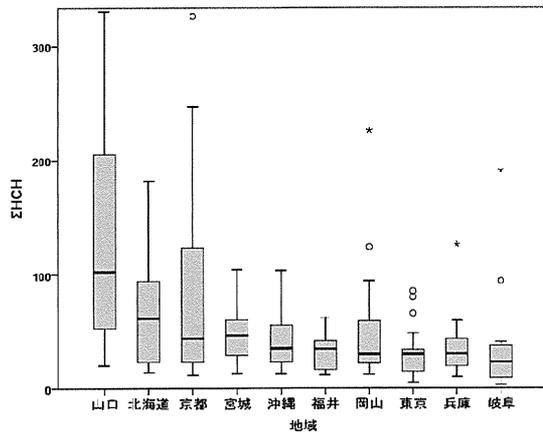


Fig. 5 Distribution of HCHs

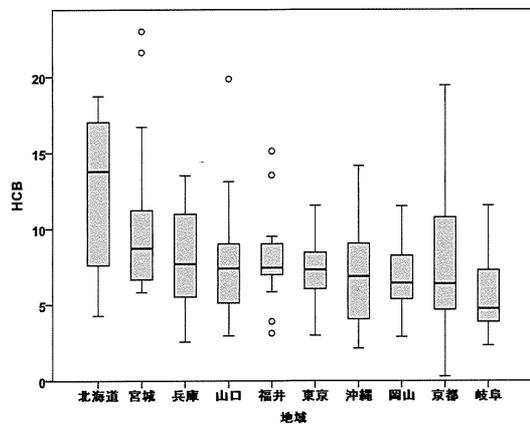


Fig. 6 Distribution of HCB

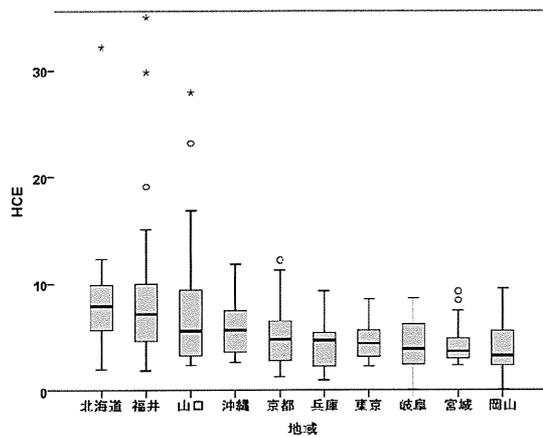


Fig. 7 Distribution of heptachlor epoxide (HCE)

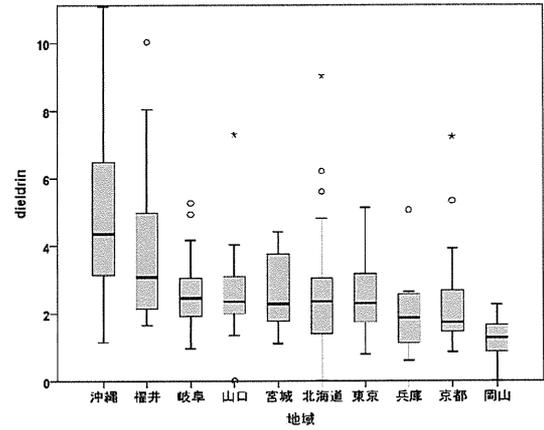


Fig. 8 Distribution of dieldrin

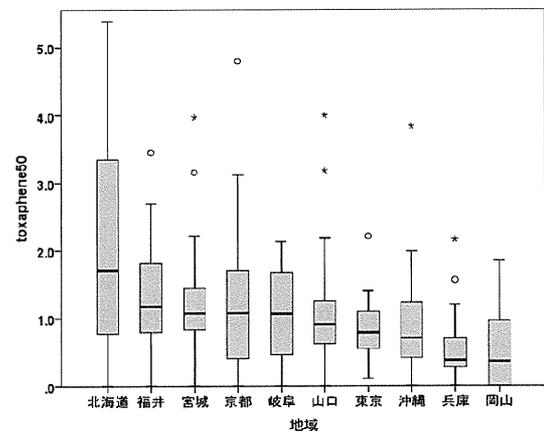


Fig. 9 Distribution of toxaphene #50

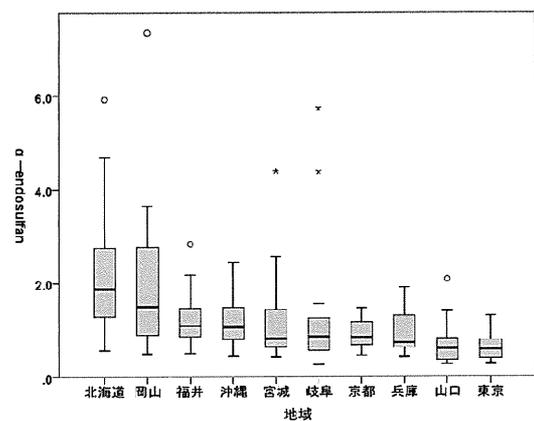


Fig. 10 Distribution of heptachlor epoxide (HCE)

α-endosulfan

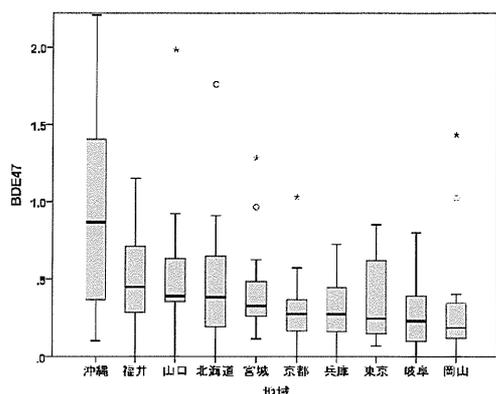


Fig. 11 Distribution of BDE-47

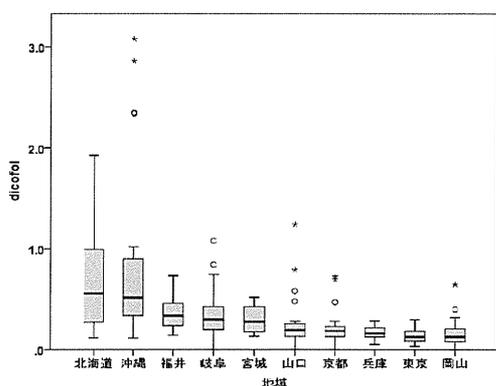


Fig. 12 Distribution of dicofol

2. POPs濃度間の相関性

POPs濃度間での相関係数をTable 4 に示す。CHLs, toxaphene#50, α-endosulfan, BDE-47およびdicofolについては脂質%と負の相関がみられた(p<0.05)。POPsとendosulfan濃度との間には相関性は見られなかった。しかしほかのPOPsどうしは、正の相関性を示した

3. 初産婦と経産婦

母乳試料(n=120)について、出産回数と濃度の関係を調べた。グループ(1), (2)のPOPs濃度は、初産婦 (parity 1, n=53)の方が経産婦 (n=42 for parity 2 and n=57 for parity 3)より有意に高濃度であった (Kruskal-Wallis test, P<0.05)。PCBsおよびCHLsについて、出産回数ごとの濃度の箱ひげ図をFig. 13に示す。

Table 4 Spearman's rank correlation coefficients between concentrations of major POPs in Japanese breast milk (n=200).

	Lipi d	ΣD DT	ΣPC B	ΣC HL	ΣH CH	HC B	HC E	diel drin	toxa 50	α-e ndo	BD E4 7
ΣD DT	-0.0 50	1									
ΣPC B	-0.1 59	0.73 9**	1								
ΣC HL	-0.2 20**	0.54 3**	0.54 3**	1							
ΣH CH	0.00 3	0.78 9**	0.61 2**	0.45 3**	1						
HC B	-0.1 26	0.60 0**	0.58 2**	0.52 8**	0.48 5**	1					
HC E	0.00 9	0.42 2**	0.33 6**	0.56 3**	0.34 0**	0.62 1**	1				
diel drin	0.11 8	0.26 1**	0.16 5*	0.39 9**	0.13 5	0.28 8**	0.58 4**	1			
toxa	0.17	0.34	0.35	0.29	0.23	0.49	0.47	0.39	1		

50	3*	0**	0**	4**	3**	5**	7**	9**			
α -en	-0.7	0.04	0.11	0.11	-0.0	0.10	0.05	-0.0	0.01		
do	21**	6	8	9	23	1	1	16	5	1	
BD	-0.1	0.32	0.14	0.27	0.23	0.18	0.13	0.31	0.13	0.1	1
E47	46*	7**	1*	6**	7**	1	6	2**	7	23	
dico	-0.2	0.26	0.14	0.29	0.14	0.25	0.31	0.46	0.41	0.4	0.2
fol	03**	8**	1*	7**	5*	0**	6**	1**	2**	01*	65*
										*	*

*p<0.05, **p<0.01

4. 年齢差

PCBについて、全試料の提供者の年齢と濃度の関係を散布図 (Fig. 14) で示す。PCB濃度は加齢とともに有意に上昇した (p=0.007, r=0.190, n=200)。しかしそれ以外のPOPsはいずれも p>0.05であった。

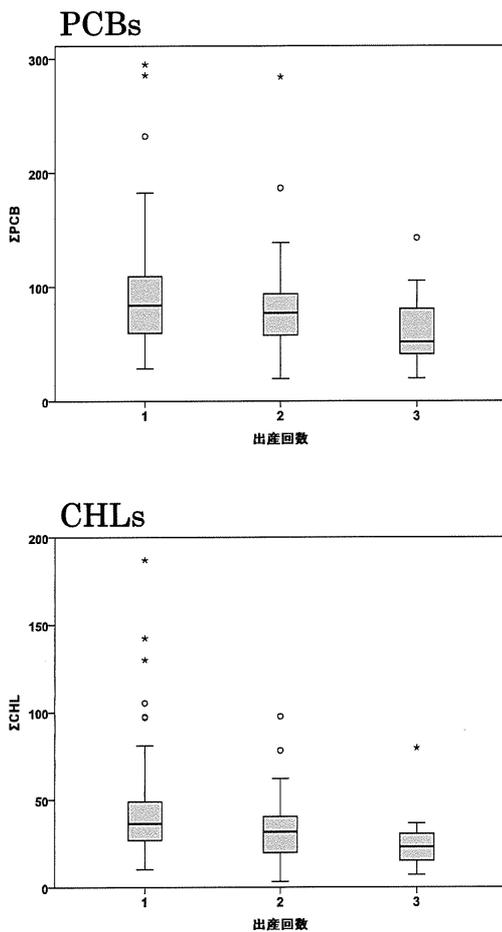


Fig. 13 Relationship between concentrations of PCBs and CHLs in Japanese breast milk and the number of deliveries. Parity 1 (n=63), Parity 2 (n=42), Parity 3 (n=15), P=0.042 for PCBs, P=0.004 for CHLs.

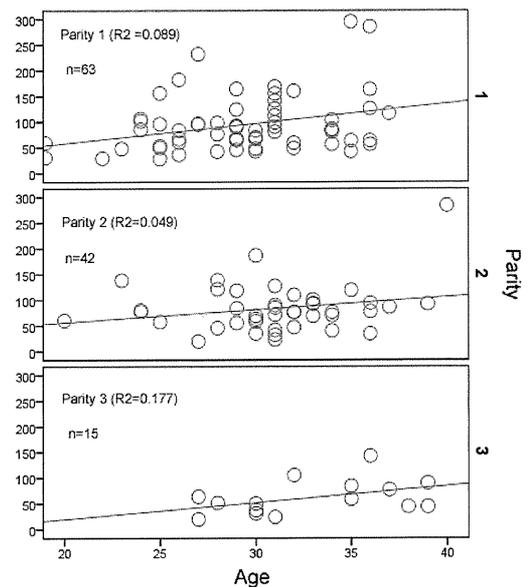


Fig. 14 Age-dependency of PCBs in Japanese breast milk (n=200)

5. 乳児のPOPs摂取量と評価

Table 5 に乳児 (体重5kg) の平均母乳摂取量を700 g/dayとした場合の、POPsの推定摂取量(EDI)の平均値を

示す。DDT, HCH, chlordane, heptachlor, dieldrin, endosulfan, dicofolについては暫定耐容一日摂取量 (PTDI, $\mu\text{g}/\text{kg}$ body weight/day)として、WHO, JMPR(2009) の基準値を用い、PCB, HCB, toxapheneについてはHealth Canada (1996)の設定値を用いて評価した。POPsのうち、CHLsの平均 EDIはPTDIの45%を示し、PTDIを超過する試料は200中13試料(6.5%)であった。PCBのEDIはPTDIの42%に相当し、これも13試料

がPTDIを超過した。HCHsについてはJMPR(2009)のPTDI ($5 \mu\text{g}/\text{kg}$ body wt/day) を用いるとEDIはPTDIの7.6%に相当した。しかしHealth Canada (1996)が設定しているPTDI ($0.3 \mu\text{g}/\text{kg}$ body wt/day)を用いると試料の22%がその基準を超えることになる。HCE, dieldrinのEDIはPTDIのそれぞれ12および14%であり、PTDIを超過するサンプルはわずかであった。

Table 5 Comparison of the estimated daily intakes (EDI) of environmental contaminants ($\mu\text{g}/\text{kg}$ body wt/day) with guideline values

	PTDI/ ADI	Average EDI (n=200) $\mu\text{g}/\text{kg}$ bw/day	EDI/TDI% (range)	% of POPs exceeding PTDI
DDT	10 ^a	0.60	6.0 (0.2-48)	0
	20 ^b	0.60	3.0 (0.1-24)	0
PCB	1 ^b	0.42	42 (4.5-221)	6.5
HCH	5 ^a	0.38	7.6 (0.2-384)	0.5
	0.3 ^b	0.38	126 (4.5-6400)	22
chlordane	0.5 ^a	0.22	45 (3-405)	6.5
	0.05 ^b	0.22	446 (31-4050)	95
HCB	0.27 ^b	0.04	14 (0.6-69)	0
heptachlor	0.1 ^{a,b}	0.022	12 (1.6-227)	4
dieldrin	0.1 ^{a,b}	0.014	14 (0-132)	0.5
toxaphene	0.2 ^b	0.010	4.9 (0-54)	0
endosulfa	6 ^a	0.005	0.1 (0.03-0.80)	0
n				
dicofol	2 ^a	0.002	0.1(0-0.6)	0

Values are based on current scientific information and may change as new data become available. ^aBased on WHO JMPR (2009), ^bBased on Health Canada (1996), according to Oostdam et al 1999..

6. 他の研究との比較

今回の調査結果を先行研究と比較したものをTable 6 (末尾に記載)に示す。今回の結果は、平均値から比較すると前回の結果(Haraguchi et al 2009)より低い残留濃度であった。過

去10年間のアジアの母乳調査でみると、グループ(1)のうち DDTs, HCHs, PCBsの濃度は減少しているが、CHLsについては横ばい状態にある。ほかのアジア、ヨーロッパの汚染濃度と比べても日本のCHLs濃度は高い。グルー