

Table 1. Information of food homogenate, human serum and breast milk from Okinawa

Sample	City	n	M/F	Year	Mean Age
diet04 (duplicate diet study)	Okinawa	10	M4/F6	2004	32.2 (20–50)
diet09 (duplicate diet study)	Okinawa	10	M	2009	36
breast milk	Okinawa	9	F	2005–2006	31.4 (26–39)
serum	Okinawa	10	F	2006	43.7 (40–47)

Table 2. GC/MS condition and limit of quantification (LOQ) of target chemicals.

Carrier gas	helium (head pressure of 3 psi)		
Injection mode	splitless		
Column	HP-5MS (30 m × 0.25 mm i.d. 0.25 μm film thickness, J&W Scientific)		
Oven	70 °C (1.5 min) - 20 °C/min to 230 °C (0.5 min) - 4 °C/min to 280 °C (5 min)		
Temperature	injector (250 °C), transfer line (280 °C), ion source (150 °C)		
Ionization mode	electron capture negative ionization (ECNI)		
Reagent gas	methane		
Analytes	GC t_R , min	Target ion, m/z	LOQ*, ng/mL
<i>p,p'</i> DDE**	12.44	318(235)***	0.05
HCB	9.35	284 (282)	0.002
trans-nonachlor	12.28	444 (442)	0.01
α-endosulfan	12.19	404 (406)	0.01
[¹³ C] α-endosulfan (IS)	12.19	415 (417)	0.02
PCB-153	13.65	360 (358)	0.01
PCB-187	14.70	394 (392)	0.01
[¹³ C]PCB-153 (IS)	13.65	372 (374)	0.01
tribromophenol (TBP, methylated)	8.77	81 (79)	0.002
pentachlorophenol (PCP, methylated)	9.40	280 (278)	0.001
[¹³ C]PCP (IS) (methylated)	9.40	292 (290)	0.001
4-OH-PCB187 (methylated)	17.02	424 (409)	0.02
BDE-47	16.11	81 (79)	0.05
BDE-99	19.52	81 (79)	0.1
BDE-153	23.14	81 (79)	0.1
6-OH-BDE47 (methylated)	17.93	81 (79)	0.05
TBBPA (methylated)	21.71	81 (79)	0.1
[¹³ C]4-OH-PCB187 (IS) (methylated)	17.02	438 (423)	0.02

*S/N =3, **EI mode, ***Confirmation ion

Table 3. Dietary exposure of organohalogens in Okinawa area

sample	Concentration pg/g wet weight)									
	diet04 (n=10)					diet09 (n=10)				
	median	mean	SD	min	max	median	mean	SD	min	max
congener										
4,4'-DDE	70.5	70.6	26.5	23.1	106	53.4	74.7	64.4	17.9	220
HCB	10.3	10.96	3.4	7.5	17.5	11	15.72	10.8	7.5	41.7
PCB-153	7.5	8.56	4.3	3.1	14.7	6.9	15.16	15.6	3	50
PCB-180	2.05	2.38	1.9	1	7.5	2.3	4.05	4.4	0.4	13.9
PCB-187	0.95	1.11	0.6	0.4	1.9	1.35	2.83	3.7	0.1	11.5
PCB-183	0.5	0.69	0.4	0.3	1.2	0.65	0.91	1.0	0.1	3.1
trans-nonachlor	0.5	0.54	0.3	0.1	1.1	1	1.52	1.3	0.3	4.5
α -endosulfan	16.15	18.55	8.3	12	41.3	17.2	18.0	6.4	10.5	29.7
TBP	72.4	76.19	29.1	23.6	131	27.2	31.7	17.4	11.7	68.1
PCP	2.05	2.56	1.5	1	5.3	1.1	1.24	1.0	0.2	3.3
TBA	2.35	2.98	2.6	0.8	9.1	12.75	12.69	8.3	2.1	25.7
PCA	0.6	0.64	0.4	0.2	1.6	0.45	0.63	0.4	0.3	1.2
BDE-47	3.4	3.17	1.3	0.5	4.9	1.45	14.15	37.8	<LOQ	121
BDE-99	<LOQ	2.44	4.4	<LOQ	12.2	<LOQ	86.08	268.4	<LOQ	850
BDE-153	<LOQ	0.24	0.8	<LOQ	2.4	<LOQ	0	0.0	<LOQ	0
TBBPA	4.5	6.58	4.9	1.5	14.1	1.7	1.71	1.7	<LOQ	4.4
4-OH-PCB187	<LOQ	0.01	0.0	<LOQ	0.1	<LOQ	0.3	0.7	<LOQ	2.1
6-OH-BDE47	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	2.8	6.81	12.1	<LOQ	39.6
2'-MeO-BDE68	<LOQ	2.2	4.0	<LOQ	12.2	4	23.04	51.5	0.8	166.7
6-MeO-BDE47	<LOQ	0.38	1.0	<LOQ	3	4.15	5.89	7.1	<LOQ	20.8
ratio										

TBA/TBP		0.03	0.1		0.2	0.5	0.52	0.4	0.1	1.3
PCA/PCP	0.25	0.33	0.2	0.1	0.7	0.55	0.83	0.8	0.3	3

Table 4 Concentration of organohalogens from breast milk and serum from Okinawa area

sample	Concentration, pg/g lipid					Concentration, pg/g serum				
	breast milk (n=9)					serum (n=10)				
	median	mean	SD	min	max	median	mean	SD	min	max
4,4'-DDE	76097	91063	51053.6	30890	177352	1848	1952.2	1492.4	250	5250
HCB	7149	7089	3198.5	2766	12626	133.5	135.8	46.5	59	214
PCB-153	15972	13899	6353.9	4189	20753	235	214.6	65.9	64	286
PCB-180	9526	7780	4204.7	2302	13888	133	123.3	44.9	23	180
PCB-187	4435	3883	1963.8	1023	6290	38	34.9	13.5	9	56
PCB-183	995	826	345.6	230	1199	9	10.4	6.9	4	27
trans-nonachlor	52373	66911	35949	29254	144036	83	109.6	70.5	27	254
α -endosulfan	1032	1110	562.8	348	1954	133	156.9	82.8	96	373
TBP	1056	1167	745.5	131	2734	26	40.2	30.1	18	100
PCP	630	577	366.3	87	1094	143	216	166	87	633
TBA	386	445	248.9	28	850	10.5	22.1	28.1	4	87
PCA	33	37	18.6	7	68	2.5	5.4	8.6	1	29
BDE-47	566	873	735.3	93	1990	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
BDE-99	325	540	513.5	<LOQ	1134	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
BDE-153	395	381	184.1	130	646	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
TBBPA	720	1035	650.8	392	2216	<LOQ	40.5	78.0	<LOQ	238
4-OH-PCB187	<LOQ	29	59.0	<LOQ	159	42	45.3	21.3	21	79
6-OH-BDE47	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	90	152	146	<LOQ	417
2'-MeO-BDE68	193	421	530.6	<LOQ	1606	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
6-MeO-BDE47	193	249	192.4	<LOQ	529	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ

Table 5 Estimated daily intake (ng/kg body weight/day) of organohalogens for dietary food and breast milk in Okinawa

	ADI/PTDI ^a	food		breast milk	
		EDI	EDI/ADI	EDI ^b	EDI/ADI
			(%)		(%)
4,4'-DDE	10	3003	30	354	3.5
HCB	2	541	27	28	1.4
PCB-153	1	475	47	54	5.4
PCB-180	1	127	13	30	3.0
PCB-187	1	78	7.8	15	1.5
PCB-183	1	32	3.2	3.2	0.32
trans-nonachlor	0.5	39	7.8	260	52
α -endosulfan	6	753	13	4.3	0.072
PCP	3	82	2.7	4.5	0.15
BDE-47	40 ^c	243	0.61	2.2	0.0056
BDE-99	40 ^c	989	2.5	1.7	0.0043
BDE-153	40 ^c	6.1	0.015	0.14	0.00036
TBBPA	1000	185	0.019	3.4	0.00034
TBP	-	2332	-	2.1	-
TBA	-	288	-	1.5	-
PCA	-	26	-	4.0	-
4-OH-PCB187	-	3.9	-	0.11	-
6-OH-BDE47	-	119	-	<0.19	-
2'-MeO-BDE68	-	420	-	1.6	-
6-MeO-BDE47	-	104	-	0.97	-

^a $\mu\text{g}/\text{kg}$ body weight/day

^b. The breast milk consumption rate and body weight for infants were assumed to be 750 g/day and 5 kg, respectively (Oostdam et al.,1999).

^c. No observed adverse effect level

Table 6. Comparison of concentration ratios of methoxylated and phenolic compounds in food, breast milk and serum from Okinawa

	food*			breast milk**			serum***		
	phenolic	methoxylated	ratio	phenolic	methoxylated	ratio	phenolic	methoxylated	ratio
TBA/TBP	53.9	7.84	0.15	1167	444	0.38	40	22.06	0.55
PCA/PCP	1.91	0.63	0.33	577	37	0.06	216	5.24	0.02
MeO/OH-PCB	0.76	0.00	0.00	129	0	0.00	45	0.00	0.00
MeO/OH-BDE	9.02	6.26	0.69	0.00	280	na	191	0.00	0.00
diMeO/TBBPA	5.18	0.00	0.00	1035	0	0.00	101	0.00	0.00

na= not available

*pg/g wet (n=20), **pg/g lipid (n=9), ***pg/g serum (n=10)

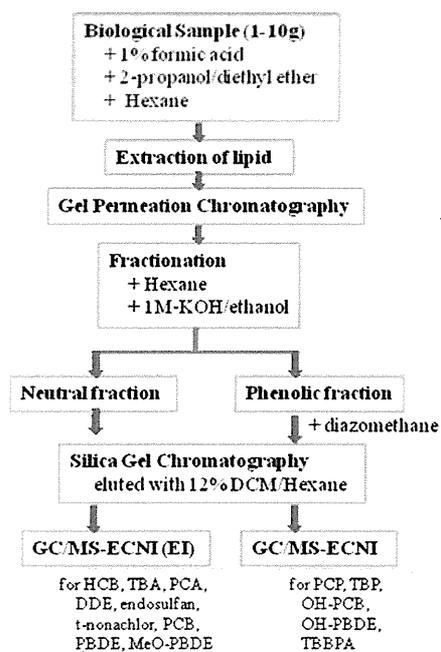


Fig. 1 Analytical procedure for organohalogen in food, breast milk and serum samples

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

日韓越での血液中難分解性有機フッ素化合物の汚染源の検討

研究代表者 小泉 昭夫 京都大学医学研究科
研究分担者 原田 浩二 京都大学医学研究科
研究協力者 藤井 由希子 京都大学医学研究科

研究要旨

本研究では近年広範な生態系の汚染が確認され、製造企業の一部が自主的な製造中止を行った有機フッ素化合物ペルフルオロオクタン酸PFOA(C8)および類縁物質を対象とし、そのヒトへの潜在的汚染源を統計学的手法により検討した。製造中止という2002年前後でその後の汚染の減少に寄与しているかを評価するものである。また日韓越で国際的な比較を行った。日韓越における成人血中有機フッ素カルボン酸(PFCAs)調査で得られた521名のデータを使用し、共通する因子を抽出するため因子分析を行った。2つの主要因子を明らかにした。特徴的なPFCA組成は因子1に対応するPFUnDAとPFTrDAなどの奇数鎖PFCAsであった。特にPFOAが低濃度であるハノイでも、PFUnDAは、日韓と同等の血中濃度を示した。また、PFOAより長い鎖長のPFCAsのレベルは近年大幅に日本と韓国で上昇していた。長鎖PFCAレベルは、ほとんどの地点でPFOA濃度を超えた。この知見は、東アジアにおける食事等の曝露源の存在を示唆している。

A. 研究目的

試料バンクとして収集された試料により、アジア諸国での環境汚染の現状を調査することは、各国での対策の現状、経済状況を反映する情報をもたらすものである。また化学物質の使用量、環境への排出量から予想される各国のヒトへの曝露データを蓄積する必要がある。それをを用いた統計学的解析により、どのように汚染源の特徴を明らかにし、その変遷を描き出すことができれば多種の媒体からの曝露のうちから、食事由来であるのか、他の汚染源が主要であるのかを判断することが可能になる。本研究では近年汚染が確認され、製造企業の一部が自主

的な製造中止を行った有機フッ素化合物ペルフルオロオクタン酸PFOA (C8)および類縁物質を対象とし、ヒト血液への曝露強度を指標にその潜在的汚染源を統計学的手法により検討した。製造中止という2002年前後でその後の汚染の減少に寄与しているかを評価するものである。また日韓越で国際的な比較を行った。

B. 研究方法

京都大学生体試料バンクで収集された日韓越において採取された521名の成人を用いて血中有機フッ素カルボン酸(PFCAs)の曝露を評価した。これらの試料は京都大学生体試料

バンクから提供され、521名の年齢、属性を表1に示す。

分析法は以下の手順に従った。血清試料は除タンパク、活性炭処理を行った(Powley et al., Anal Chem 2005, 77, 6353-6358)。前処理は、血清0.5mlを分取し、内部標準1ng、アセトニトリル4mlを加えて、遠心分離による除タンパクの後、上清を取り、Envi-carb粉末20mgを添加して30sec混和した。遠心分離の後、窒素気流で乾固させ、1:1H₂O/アセトニトリルに溶解させ、PALL Acrodiscにてろ過し、バイアルに封入した。試料液はApplied Biosystems社API3200式液体クロマトグラフィ・タンデム質量分析機で分析された。また炭素数6から14までのペルフルオロカルボン酸 (C6からC14) を分析した(以下炭素数で記載する)。血清試料を同様に処理し、処理液を窒素気流で乾固させ、0.1 M 臭化ベンジルアセトン溶液に溶解させ、バイアルに封入した。60℃で1時間反応させ、試料液はAgilent社ガスクロマトグラフィ質量分析機で分析した。

血液中濃度は対数変換して統計解析に用いた。炭素鎖の異なる有機フッ素カルボン酸同士の相間関係はスピアマンの相関係数を用いて評価した。また共通する因子を抽出するため因子分析を行った。因子分析は相関係数行列から計算した。初期解はバリマックス回転により変形し、因子スコアを計算した。3群間での違いはTukey-KramerのHSD検定で示した。2群間での比較はStudentのt検定を用いた。有意水準は0.05とした。

C. 研究結果

C6, C14は全ての検体で検出されなかったため解析から除外した。

日韓越での血中有機フッ素カルボ

ン酸濃度の要約を表2、3、4に示す。経年的な比較では炭素鎖7のPFHpAは経年的にいずれの地域でも減少した。炭素鎖8のPFOAは大阪、京都といったフッ素樹脂製造工場に近い地域では有意な減少を示したが、他の地域では大きな変動は見られなかった。C9以上の有機フッ素カルボン酸は韓国、大阪を除いた日本で経年的な増加を示した。

2003年以前ではPFOAが有機フッ素カルボン酸合計の50%以上を占めていたが、2008年前後では50%以下にまで低下し、炭素鎖9以上の長鎖有機フッ素カルボン酸が上回るになっていた。

長鎖有機フッ素カルボン酸のなかでも、奇数鎖であるPFNA、PFUnDA、PFTrDAがその間にある偶数鎖であるPFDA、PFDoDAより高い値を示していた。

521検体でのPFCAs間の相間係数を表5に記載した。PFHpAは、PFOA間 ($\rho = 0.398$) の相間を除き、他のPFCAsとの相関は比較的小さかった。PFOAは有意にPFNAとPFDA (ρ 係数 > 0.5) と相間しているが、PFUnDA、PFDoDAとPFTrDAとの相関は弱かった。一般的には、PFCA濃度は隣接する炭素鎖長のPFCAsの間に強い相関を示した。

データの潜在的なパターンを抽出するために、PFCA濃度を、因子分析を用いて解析した。固有値のうち、因子1と2は、それぞれ49.72パーセントと19.40パーセント (固有値 > 1) を説明した(表6)。バリマックス回転後、第一因子に対応する第一固有ベクトルは、PFNAよりも長いPFCAsに高い相関を示した。第二因子に対応する第二固有ベクトルはPFDAより短い鎖PFCAsにより強い相関を持っていた。

大阪と京都ではPFCAの地域汚染源があるので、因子分析の結果に影響するかどうかを評価した。大阪と京都の試料を除いて検討したが、因子1と因子2の相間行列の違いは5%未満であり、固有値の変化はなかった。

因子分析により抽出された2つの固有ベクトルはPFCA間でアジアの特徴的パターンを示した。第一のパターンはPFUnDAの優位性(因子1)、もう一つがPFOAの優位性(因子2)である。新たに抽出した2つの固有ベクトルを座標として、因子得点を其々の時点で求めた。その因子得点の時間推移を図1に示す。日本と韓国(大阪を除く)で、スコアプロットの内容はこれらの期間中に因子1のスコアが増加し、因子2のスコアは、減少を示し、右下に移動した。日本では大阪を除いて、因子1得点が大幅に増加したが、すでに2004年に高い因子1得点(0.92)を有していた(スチューデントのt検定により $p < 0.05$)。因子1得点の増加は釜山、ソウルでも観察された。ハノイの因子1得点は2007年から2009年の他の地域に比べて低かったが、それでも2003年以前の釜山、ソウル、仙台と京都での得点を超えていた。日本のすべての地点で因子2得点は有意に減少し、また、釜山とソウルで1994年から2008年で有意な減少が見られた。ハノイでの因子2得点は、すべての地点の中で最も低かった。

D. 考察

2002年に米国3M社は有機フッ素化合物のなかでもヒトに蓄積しやすい、C8およびC8Sの製造を中止した。C8Sは、C8S単量体として合成されたもの、あるいはフッ素ポリマーの最終分解物であり、紙の表面加工、撥水・撥油表面加工、泡消火剤、メッキ処理の消

泡剤、半導体製造の添加剤などとして利用されてきた。一方C8は、撥水加工やフッ素ポリマーの製造過程での助剤として利用されてきた。米国3M社以外のフッ素化学メーカーではC8Sを利用せずにC8や炭素の異なる化学物質を界面活性剤、乳化剤に用いてきたこともあり、国や地域によっては3M社のみに対応が有効な汚染対策になりうるかはどうか慎重な評価が為されてきた(Hogue, 2004; Prevedouros et al., 2006)。

今回はC6-14の有機フッ素カルボン酸を調査し、C9以上の化合物が大阪を除くアジアの各地域の住民の血液で経年的に上昇していることが明らかになった。これはベトナムのハノイの住民でも観察され、C8のパターンとは明らかに異なるものであった。図2のように欧米での調査ではこのようなパターンは見られず、C11などの長鎖成分が占める割合は低いのと対照的な結果であった(Haug et al., 2009; Joensen et al., 2009)。因子分析による検討では、2つの独立な因子が存在することが示唆された。長鎖有機フッ素カルボン酸はPFOAとは独立して存在していることが示されていた。構造的には近い物質ではあるが、C9以上は生物蓄積性の高い物質であることから(Martin et al., 2003)、曝露源は食物連鎖により濃縮を受けた生物を含む食事など共通の経路である可能性が示唆される。また欧米とは明らかに異なるパターンを示していることからアジアでの特有な汚染源を考慮すべきと考えられた。

このように有機フッ素化合物への曝露を、試料バンクを用いたモニタリングデータをもとに統計学的に捉えることを試み汚染源の絞り込みが一定程度可能であることを示し得た。即

ち様々な曝露源について抽出された独立したパターンがどのように現れるかを検討することで、どの曝露経路に注目すべきかを方向付けることができると考えられる。今後の汚染源の変化も捉えることが出来る点で有用であると考えられた。

4カ国のなかで中国のみ、血液試料を持ち出すことができなかった。今後、試料からの抽出処理を現地で行う体制作りを探っていく必要があると考えられた。

E. 結論

本研究では、東アジアの三国からの血清試料を分析したモニタリングデータから、2つの主要因子を明らかにした。特徴的なPFCA組成は因子1に対応するPFUnDAとPFTrDAなどの奇数鎖PFCAであった。特にPFOAが低濃度であるハノイでも、PFUnDAは、日韓と同等の血中濃度を示した。また、PFOAより長い鎖長のPFCAのレベルは近年大幅に日本と韓国で上昇していた。長鎖PFCAレベルは、ほとんどの地点でPFOA濃度を超えた。この知見は、東アジアにおける曝露源の存在を示唆している。

F. 健康危険情報
なし

G. 研究発表

1. 論文発表
Harada KH, Yang HR, Moon CS, Hung NN, Hitomi T, Inoue K, Niisoe T, Watanabe T, Kamiyama S, Takenaka K, Kim MY, Watanabe K, Takasuga T, Koizumi A: Levels of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoic acid in female serum samples from Japan in 2008, Korea in 1994-2008 and Vietnam in

2007-2008. *Chemosphere* 2010, 79:314-319
Harada, K.H., Hitomi, T., Niisoe, T., Takenaka, K., Kamiyama, S., Watanabe, T., Moon, C.S., Yang, H.R., Hung, N.N., Koizumi, A., 2011. Odd-numbered erfluorocarboxylates predominate over perfluorooctanoic acid in serum samples from Japan, Korea and Vietnam. *Environ Int* in press.

2. 学会発表・その他

原田浩二、Moon Chan-Seok、Yang Hye-Ran、人見敏明、井上佳代子、新添多聞、渡辺孝男、加美山茂利、竹中勝信、渡邊清彦、高菅卓三、小泉昭夫、日本、韓国、ベトナムの成人女性における血中有機フッ素化合物の評価、第19回 日本環境化学会討論会、2010年6月9-11日 中部大学
原田浩二、Moon Chan-Seok、Yang Hye-Ran、人見敏明、井上佳代子、新添多聞、渡辺孝男、加美山茂利、竹中勝信、小泉昭夫、東アジアにおける血中有機フッ素化合物の変遷、第80回日本衛生学会総会、2010年5月9-11日 仙台国際センター

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

Haug LS, Thomsen C, Becher G: Time trends and the influence of age and gender on serum concentrations of perfluorinated compounds in

archived human samples. *Environ Sci Technol* 2009, 43:2131-2136
 Joensen UN, Bossi R, Leffers H, Jensen AA, Skakkebaek NE, Jorgensen N: Do perfluoroalkyl compounds impair human semen quality? *Environ Health Perspect* 2009, 117:923-927
 Martin JW, Mabury SA, Solomon KR, Muir DCG: Bioconcentration and tissue distribution of perfluorinated acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 2003, 22:196-204
 Hogue C: Government & policy -

Perfluorinated pollutant puzzle. *Chem Eng News* 2004, 82:17-19,59
 Prevedouros K, Cousins IT, Buck RC, Korzeniowski SH: Sources, fate and transport of perfluorocarboxylates. *Environ Sci Technol* 2006, 40:32-44
 Powley CR, George SW, Ryan TW, Buck RC: Matrix effect-free analytical methods for determination of perfluorinated carboxylic acids in environmental matrixes. *Anal Chem* 2005, 77:6353-6358

Table 1
 Study area and study population

Sampling site	Population (x10 ³)	Latitude and longitude	Year	n (%female)	Age ^a	(range)
Japan						
Sendai	1,031	38°17'04" N 140°55'46" E	2008	50 (100)	37.5±9.44	(21-53)
	1,023	-	2003	50 (100)	36.6±10.1	(20-59)
Takayama	94 (65) ^b	36°08'13" N 137°15'16" E	2008	50 (100)	40.5±4.78	(29-49)
	67	-	2003	50 (100)	39.9±4.5	(31-45)
Kyoto	1,466	35°01'18" N 135°46'38" E	2009	30 (50)	33.2±14.7	(21-68)
	1,469	-	2002	30 (50)	35.4±11.3	(21-58)
Osaka	2,652	34°45'31" N 135°31'52" E	2008	50 (100)	45.9±8.92 ^{A*}	(30-63)
	2,619	-	2004	10 (100)	60.9±6.3 ^B	(49-69)
Korea						
Busan	3,711	35°14'39" N 129°05'54" E	2008	35 (100)	40.1±6.44 ^{A*}	(18-49)
	3,732	-	2000	30 (100)	35.4±4.27 ^B	(28-45)
	3,961	-	1994	39 (100)	42.3±4.65 ^A	(34-52)
Seoul	10,421	37°27'52" N 127°01'56" E	2007	36 (100)	34.5±8.24	(20-54)
	10,798	-	1994	24 (100)	38.0±7.41	(24-51)
Vietnam						
Hanoi	6,232	21°00'08" N 105°49'50" E	2007-2008	37 (100)	30.2±5.76	(20-40)

* Means of age with different letters differed significantly ($p < 0.05$ by Tukey's HSD test). For example, the letters A and B indicate that the corresponding values differ significantly at $p < 0.05$.

^a Data are presented as mean ± standard deviation.

^b Takayama city merged with neighboring cities in 2005. Numbers in parentheses denote populations areas corresponding to those used in 2003.

Table 2
Serum concentrations of PFCAs in Japan

Sampling site	Year	n		Concentration (ng mL ⁻¹)							ΣPFCAs
				PFHpA	PFOA	PFNA	PFDA	PFUnDA	PFDoDA	PFTTrDA	
Sendai	2008	50	GM(GSD)	0.06(2.17)*	2.44(1.56)	1.80(1.40)*	0.72(1.46)*	3.00(1.59)*	0.17(1.99)*	0.60(2.00)*	9.13(1.41)*
			median	0.07	2.36	1.82	0.73	2.97	0.19	0.74	9.00
			range	<0.05-0.37	0.85-6.05	0.90-3.58	0.31-1.58	1.15-8.08	<0.1-0.52	<0.1-1.43	3.81-17.52
	2003	50	GM(GSD)	0.15(3.75)	2.65(1.61)	1.01(1.85)	0.52(1.71)	1.68(1.75)	0.10(1.85)	0.31(2.12)	6.92(1.51)
			median	0.22	2.59	1.07	0.55	1.79	0.11	0.37	7.18
			range	<0.05-1.25	0.87-7.59	0.21-4.94	0.09-1.57	0.32-5.70	<0.1-0.37	<0.1-1.13	2.74-17.94
Takayama	2008	50	GM(GSD)	0.04(2.29)*	2.51(1.84)	1.78(1.42)*	0.85(1.51)*	3.12(1.51)	0.20(2.15)*	0.60(2.66)	9.87(1.39)
			median	<0.05	2.08	1.72	0.80	3.11	0.24	0.77	9.28
			range	<0.05-0.49	0.82-11.25	1.01-4.50	0.26-2.68	1.28-7.13	<0.1-0.61	<0.1-2.46	5.44-22.09
	2003	50	GM(GSD)	0.11(2.35)	3.19(1.62)	1.30(1.73)	0.65(1.63)	2.74(1.60)	0.14(1.88)	0.55(1.72)	9.18(1.49)
			median	0.13	3.21	1.29	0.69	2.69	0.15	0.56	9.39
			range	<0.05-1.72	1.36-20.28	0.64-9.88	0.18-2.26	0.77-7.81	<0.1-0.51	0.16-1.98	4.49-37.04
Kyoto	2009	30	GM(GSD)	0.11(1.98)*	5.28(1.57)*	2.78(1.42)*	1.10(1.45)	3.20(1.64)*	0.24(1.87)*	0.45(1.57)*	13.67(1.42)
			median	0.11	5.52	2.69	1.01	3.15	0.25	0.45	13.86
			range	<0.05-0.31	2.60-16.52	1.34-4.40	0.60-2.25	1.20-11.26	<0.1-0.99	0.22-1.15	6.60-26.81
	2002	30	GM(GSD)	0.23(1.89)	7.12(1.54)	2.09(1.67)	0.91(1.66)	1.89(1.65)	0.12(2.04)	0.31(1.83)	12.98(1.52)
			median	0.23	7.20	2.15	0.90	1.72	0.14	0.30	12.67
			range	0.08-1.25	2.69-19.64	0.81-5.37	0.35-2.54	0.72-5.44	<0.1-0.37	<0.1-1.00	5.38-33.75
Osaka	2008	50	GM(GSD)	0.07(3.11)*	13.46(1.79)*	3.54(1.62)*	1.11(1.60)*	3.05(1.73)*	0.16(2.55)	0.52(2.62)	23.08(1.64)*
			median	<0.05	12.80	3.32	1.10	2.98	0.19	0.72	22.77
			range	<0.05-1.11	5.59-201.68	0.85-14.57	0.36-2.80	1.01-8.79	<0.1-0.75	<0.1-1.95	10.77-220.07
	2004	10	GM(GSD)	0.21(2.00)	29.54(1.29)	6.41(1.38)	2.38(1.48)	5.45(1.46)	0.25(2.28)	0.44(2.40)	45.42(1.27)
			median	0.23	28.90	6.87	2.53	5.83	0.35	0.51	45.91
			range	0.05-0.45	20.60-45.20	3.07-9.22	1.41-4.17	3.19-9.01	<0.1-0.51	<0.1-1.02	31.67-65.57
			detection%	100	100	100	100	100	90	90	

GM: Geometric mean; GSD: Geometric standard deviation

* GMs between time points are significantly different in each sampling site (p<0.05 by Student's t test after log transformation).

Table 3
Serum concentrations of PFCAs in Korea

Sampling site	Year	n		Concentration (ng mL ⁻¹)							ΣPFCAs
				PFHpA	PFOA	PFNA	PFDA	PFUnDA	PFDoDA	PFTTrDA	
Busan	2008	35	GM(GSD)	0.04(1.92)* ^A	4.67(1.40)	1.91(1.45)* ^A	0.91(1.38)	2.91(1.54)* ^A	0.20(2.03)* ^{AB}	0.94(1.92)* ^A	11.87(1.38)* ^A
			median	<0.05	4.64	1.98	0.92	3.00	0.22	0.92	12.34
			range	<0.05-0.16	2.77-9.80	1.02-3.89	0.44-1.76	1.03-7.62	<0.1-0.81	<0.1-2.74	6.70-24.13
			detection%	40	100	100	100	100	85.7	97.1	
	2000	30	GM(GSD)	0.10(1.59) ^B	3.69(1.47)	1.77(1.41) ^A	0.84(1.45)	2.06(1.66) ^{AB}	0.14(1.61) ^A	0.72(1.67) ^A	9.58(1.39) ^B
			median	<0.1	3.98	1.92	0.87	2.27	<0.2	0.76	9.53
			range	<0.1-0.28	1.19-7.33	0.89-3.61	0.32-1.47	0.58-3.95	<0.20-0.39	<0.20-1.73	4.31-16.00
			detection%	30	100	100	100	100	33.3	100	
	1994	39	GM(GSD)	0.10(1.58) ^B	4.11(1.43)	1.35(1.96) ^B	0.89(1.65)	1.37(2.81) ^B	0.11(1.61) ^B	0.36(2.90) ^B	9.05(1.46) ^B
			median	<0.1	3.98	1.28	0.94	1.82	<0.20	0.49	8.85
			range	<0.1-0.32	1.72-9.63	<0.10-5.20	0.25-2.98	<0.20-13.16	<0.20-1.03	0.10-2.89	4.08-32.50
			detection%	35.9	100	97.4	100	92.3	7.7	69.2	
Seoul	2007	36	GM(GSD)	0.03(1.48)	2.29(1.34)	1.13(1.32)* ^A	0.58(1.38)	2.18(1.48)* ^A	0.12(2.03)	0.59(2.10)* ^A	7.10(1.35)* ^A
			median	<0.05	2.21	1.11	0.57	2.37	0.14	0.74	7.23
			range	<0.05-0.12	1.22-4.64	0.74-2.01	0.32-1.00	1.10-5.62	<0.10-0.38	<0.10-1.54	3.94-12.55
			detection%	13.9	100	100	100	100	66.7	97.2	
1994	24	GM(GSD)	0.08(1.00)	2.09(1.54)	0.65(2.01)* ^B	0.45(2.06)	0.54(3.89) ^B	0.10(1.26)	0.16(2.40) ^B	4.63(1.49) ^B	
		median	<0.1	2.31	0.76	0.50	0.89	<0.20	<0.20	4.78	
		range	<0.1	0.89-4.09	<0.1-1.73	<0.1-1.18	<0.20-3.59	<0.20-0.31	<0.20-1.08	2.56-10.69	
		detection%	0	100	95.8	95.8	70.8	4.2	25		

GM: Geometric mean; GSD: Geometric standard deviation

* GMs among different time points are significantly different in each sampling sites (p<0.05 by Student's t test or Tukey's HSD test after log transformation). 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.

Table 4
Serum concentrations of PFCAs in Hanoi, Vietnam

Sampling site	Year	n	Concentration (ng mL ⁻¹)	PFCA							ΣPFCAs
				PFHpA	PFOA	PFNA	PFDA	PFUnDA	PFDoDA	PFTTrDA	
Hanoi	2007-2008	37	GM(GSD)	0.03(1.00)	0.61(1.55)	0.89(1.47)	0.82(1.67)	1.55(1.53)	0.09(1.85)	0.36(3.38)	4.73(1.38)
			median	<0.05	0.63	0.91	0.85	1.58	0.11	0.65	4.81
			range	<0.05	0.20-1.43	0.35-1.65	0.19-2.03	0.57-3.95	<0.10-0.26	<0.10-1.99	2.58-9.43
			detection%	0	100	100	100	100	51.4	86.5	

GM: Geometric mean; GSD: Geometric standard deviation

Table 5
Correlation between different chain length F

Combination		ρ	p value
PFOA	PFHpA	0.398	3.08E-21
PFNA	PFHpA	0.223	2.83E-07
PFNA	PFOA	0.734	6.30E-89
PFDA	PFHpA	0.165	1.55E-04
PFDA	PFOA	0.534	1.12E-39
PFDA	PFNA	0.727	9.59E-87
PFUnDA	PFHpA	0.019	6.60E-01
PFUnDA	PFOA	0.323	4.31E-14
PFUnDA	PFNA	0.646	1.02E-62
PFUnDA	PFDA	0.689	1.78E-74
PFDoDA	PFHpA	0.055	2.08E-01
PFDoDA	PFOA	0.235	5.61E-08
PFDoDA	PFNA	0.462	7.52E-29
PFDoDA	PFDA	0.563	8.25E-45
PFDoDA	PFUnDA	0.740	2.37E-91
PFTTrDA	PFHpA	-0.117	7.58E-03
PFTTrDA	PFOA	0.063	1.51E-01
PFTTrDA	PFNA	0.264	9.23E-10
PFTTrDA	PFDA	0.360	2.25E-17
PFTTrDA	PFUnDA	0.552	9.36E-43
PFTTrDA	PFDoDA	0.471	4.55E-30

ρ: Spearman's rank correlation coefficient

Table 6
Factor analysis among PFCAs

	Initial solution		Varimax rotated	
	F1	F2	F1	F2
Eigenvalue	3.48	1.36		
Contribution (%)	49.72	19.40		
Eigenvector				
PFHpA	0.092	0.618	-0.198	0.713
PFOA	0.365	0.480	0.327	0.819
PFNA	0.474	0.179	0.673	0.610
PFDA	0.469	0.036	0.745	0.459
PFUnDA	0.446	-0.230	0.858	0.168
PFDoDA	0.374	-0.266	0.760	0.066
PFTTrDA	0.274	-0.481	0.719	-0.244
Factor score (mean±standard deviation)				
Sendai	2008		0.31±0.78*	-0.41±0.67*
	2003		-0.84±0.90	0.17±0.92
Takayama	2008		0.50±0.67*	-0.49±0.85*
	2003		-0.10±0.76	0.02±0.81
Kyoto	2009		0.44±0.68*	0.68±0.52*
	2002		-0.46±0.85	1.29±0.50
Osaka	2008		0.91±1.03	1.17±0.78*
	2004		0.92±0.71	2.42±0.48
Busan	2008		0.68±0.67 ^{†A}	-0.28±0.56 ^{†A}
	2000		0.06±0.61 ^B	0.15±0.46 ^A
	1994		-0.48±0.95 ^C	0.42±0.63 ^B
Seoul	2007		0.02±0.69 ^{†A}	-0.92±0.36 ^{†A}
	1994		-1.49±0.90 ^B	-0.22±0.48 ^B
Hanoi	2007-2008		-0.27±0.74	-1.48±0.65

F1: 1st factor; F2: 2nd factor

* Means between time points are significantly different (p<0.05 by Student's t test)

† Means among different time points are significantly different (p<0.05 by Student's t test or Tukey's HSD test). For example, the letters A and B indicate that the corresponding values differ significantly at p<0.05., while A and A or B and B indicated that the corresponding values do not differ significantly.

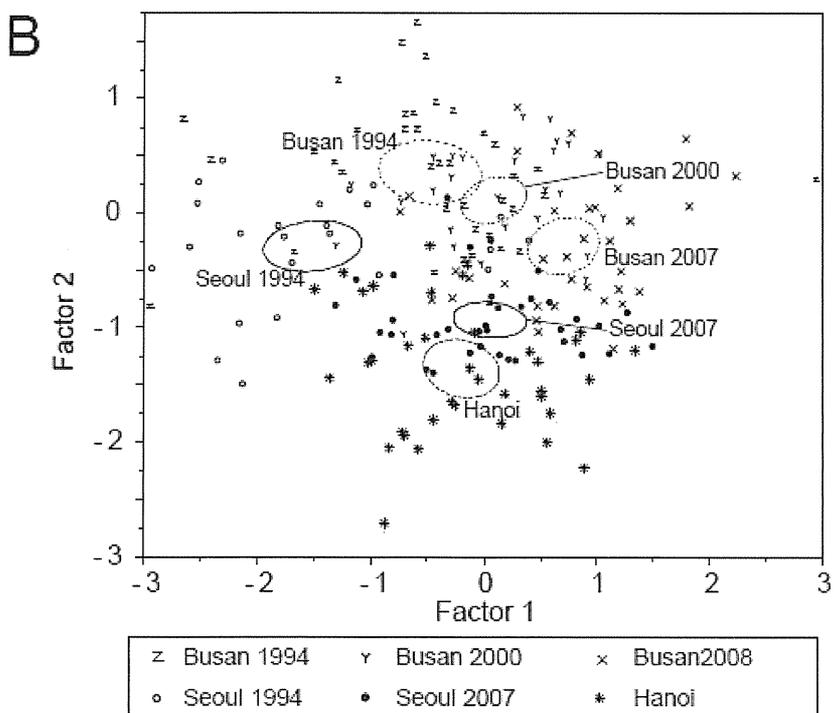
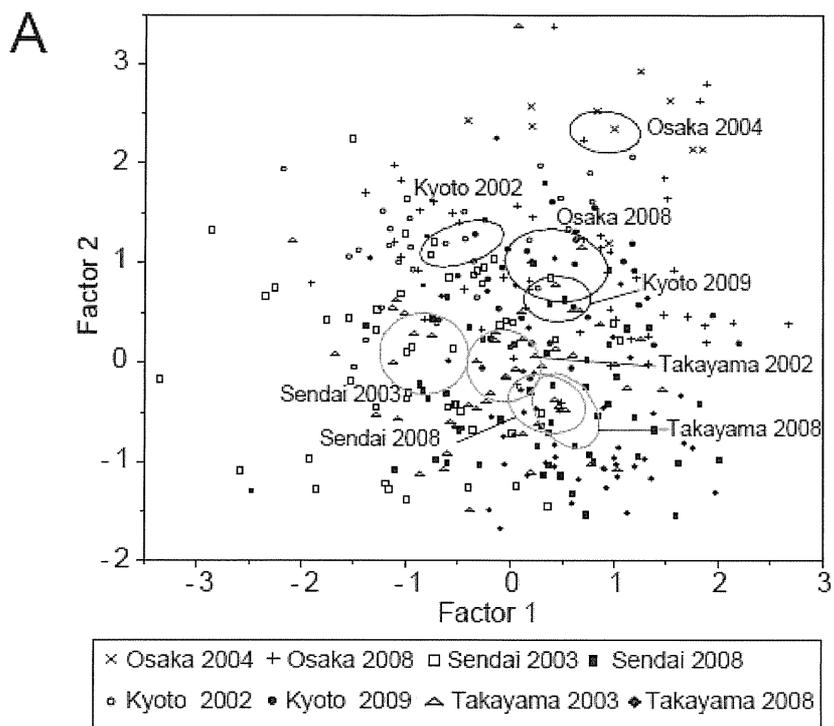


Fig. 1. Plot of first- and second factor scores of 521 samples in Japan (A) and Korea and Vietnam (B). Overall, 10% of the values locate within the boundary circles for each sampling site and time period.

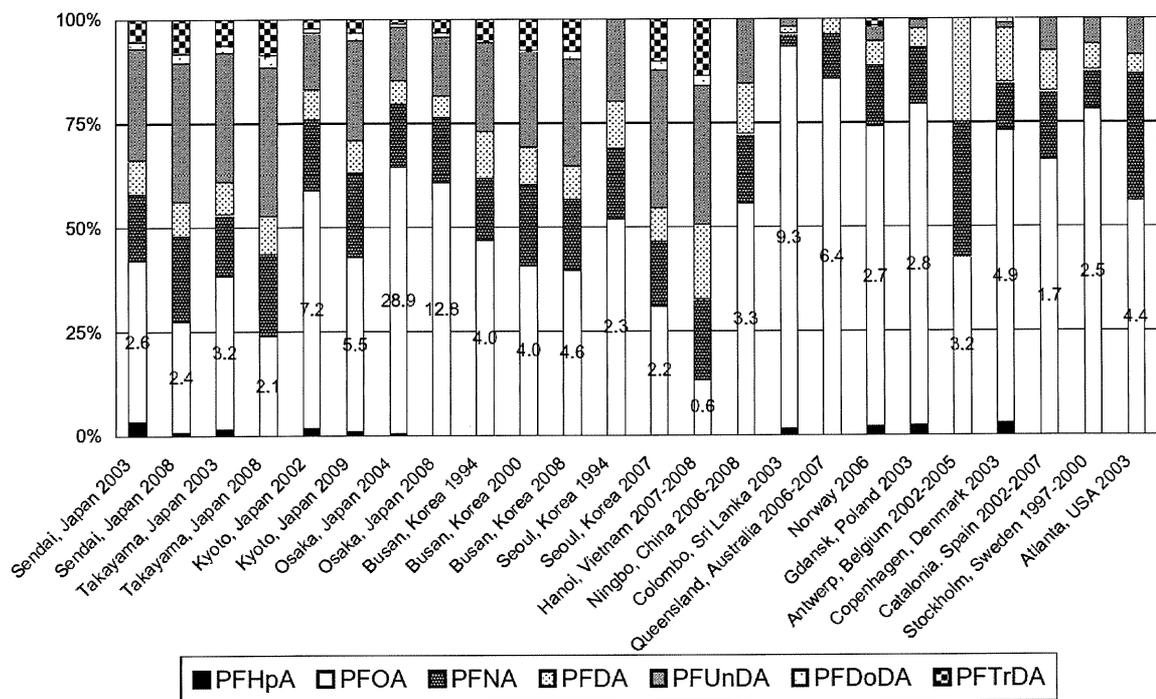


Fig. 2. Summary of PFCA composition in serum or whole blood samples from this study and from previous reports conducted in several other countries. The median concentration of PFOA (ng mL⁻¹) is presented numerically in each bar.

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生体試料：
日本人の化学物質曝露実態ー現在と20年前の比較

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、日本人に汚染の懸念されるPOPsおよび関連物質の曝露実態を20年前と比較し、その濃度推移を年齢別に調べることである。京都地域のヒト試料のうち、1989年、1999年および2010年の20歳代および50歳以上の男性血清（各10検体）を分析対象とし、POPs濃度の指標となる4,4'-DDE, hexachlorobenzene (HCB), t-nonachlor, PCB-153の他、POPs候補としてendosulfanおよびpentachlorophenol (PCP)、難燃剤としてtribromophenol (TBP)およびtetrabromobisphenol A (TBBPA)、さらにPCBおよびPBDEの水酸化体について濃度推移を調査した。

POPsのうち4,4'-DDE, HCB, t-nonachlorおよびPCBsは、各年代とも50歳以上が20歳グループより約2倍高い残留濃度を示した。現在の汚染状況を20年前と比較すると、endosulfanを除いて濃度は減少した。PCPは1989年の若年層で高濃度であったが、1999年以降では減少傾向であった。臭素系難燃剤のうちTBPは20年前よりも増加傾向を示した。TBBPAは1989年の血清から1検体、1999年で9検体、2010年で8検体検出された。PCB代謝物は4-OH-PCB187が母化合物と同レベルで、水酸化PBDEでは、6-OH-BDE47がPCPと同レベルで検出された。これらの結果は、フェノール性臭素化合物の濃度変化を今後も監視する必要があることを示し、モニタリング調査を行う上で基礎資料となる。

A. 研究目的

本研究班では、これまで日中韓越の母乳、血液、食事などに汚染の懸念される塩素系POPsについての曝露状況を比較してきた (Haraguchi et al 2009; Fujii et al 2012)。しかし、我が国の残留濃度の推移および年齢別の残留分布については情報が少ない。なかでも臭素系フェノール化合物

は内分泌攪乱作用や神経発達毒性を持ち、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)。したがって幅広い年齢層での曝露量の違いについてヒト試料を用いたモニタリングが求められる。

我々は汚染が懸念されるPOPs候補物質としてまず、endosulfanとpentachlorophenol (PCP)に注目した。

endosulfan は殺虫剤や木材の防腐剤として使用され、日本での農薬登録は2010年に失効した。一方、PCPは1955年に殺菌剤として、1957年に除草剤として農薬登録されたが、農薬製剤の副生成物としてダイオキシン類を含むことが問題となり、1990年に農薬登録が失効した (Sakai et al 2001)。これらは海産物中に汚染物質として発見され、それによって引き起こされる免疫機能の低下や甲状腺ホルモンレベルの変動が懸念される (Sjodin et al 2000; Gerhard et al 1999)。本研究班では endosulfan を母乳や食事から検出したが、成人の曝露状況のこれまでの推移は明らかでない。PCP は水酸化PCBと内分泌かく乱性の観点から懸念されるが、ヒト曝露の推移に関するデータが見られない。

フェノール性臭素化難燃剤である tribromophenol (TBP) および tetrabromobisphenol A (TBBPA) はプラスチック製品や繊維製品に添加され、2002年の年間生産量は、世界で130,000トン以上、そのうち85%がアジアで使われている (BSEF 2004; Watanabe and Sakai 1983)。特にTBBPA曝露は甲状腺ホルモンへの影響が懸念されている (Meerts et al 2000; 2001; Kitamura et al 2002)。マウスに経口摂取されたTBBPAは、胎盤を通過して胚仔や胎仔に移行する可能性が示唆されている (Fujitani et al 2006)。TBPやTBBPAは、魚介類から検出され (Watanabe et al 1983)、また屋内環境では、電化製品の廃棄物処理場やコンピュータ室の埃や空気中から検出されている (Sjodin et al 2001)。しかし、それらのヒト曝露実態のこれまでの推移は不明である。本研究の目的は、日本人に汚染の懸念されるこれらの化学物質の現在のヒ

ト曝露実態を20年前と比較し、その濃度推移を年齢別に調べることである。今回、京都地域のヒト試料のうち、1989年、1999年および2010年の20歳および50歳以上の男性血清を用いて、中性画分から4種のPOPs (4,4'-DDE, hexachlorbenzene (HCB), trans-nonachlor, PCB-153) および α -endosulfanを調査項目とし、フェノール性画分からは残留農薬としてPCPを、難燃剤としてTBPおよびTBBPAを、さらにPCBやPBDEの水酸化体を分析対象としてそれらの過去20年間の濃度推移について検討した。

B. 研究方法

1) サンプル収集

ヒト血清試料は京都大学生体試料バンク (Koizumi et al 2005; 2009) の保存試料から京都地区で1989年、1999年および2010年に20歳代の男性および50歳以上の男性から提供された血清 (それぞれ10検体) を使用した。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 に提供者の地域、採取年、年齢を示す。

2) 化学物質

POPsのうち、4,4'-DDE, HCB, trans-nonachlorは関東化学製のPesticide mix 1037溶液を用いた。PCB-153, PCB-180, PCB-187およびPCB-183はAccuStandard社のBP-MS溶液を用いた。PCP, TBP, TBBPA, 4-OH-PCB187および6-OH-BDE47はWellington社製を用いた。内標準として用いた $[^{13}\text{C}]$ PCB-153, $[^{13}\text{C}]$ α -endosulfan, $[^{13}\text{C}]$ 4-OH-PCB187