

201131055A

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

乳幼児用食品中のビスフェノール系化合物の汚染実態の解明及びその健康影響評価

平成23年度 総括研究報告書

研究代表者 中尾 晃幸

平成24（2012）年4月

目 次

I. 総括研究報告

乳幼児用食品中のビスフェノール系化合物の汚染実態の解明及びその健康影響評価----1
中尾晃幸

II. 研究成果の刊行に関する一覧表-----5

乳幼児用食品中のビスフェノール系化合物の汚染実態の解明及びその健康影響評価

研究代表者 中尾 晃幸 摂南大学薬学部講師

【研究要旨】 乳幼児用食品中のビスフェノール系化合物による汚染実態を解明するに当たり、高精度分析法の確立を行った。ブランク管理が非常に困難とされるこれら化合物の分析に対し、洗浄方法や分析法の細部に改良を加え再現性のある高精度分析法の構築に成功した。本分析法を採用し、乳幼児用食品中のビスフェノール系化合物（主にテトラブロモビスフェノールA；TBBPA及びビスフェノールA；BPA）による汚染実態の解明に着手した。検討した食品は、粉ミルク、離乳食調理用食材（カボチャ、トマト、パプリカ、ジャガイモ、鶏肉、豚肉、牛肉）を選定した。粉ミルクからTBBPA及びBPAともに検出され、その濃度はそれぞれ3.3～3.8 ng/g、3.5～11 ng/gであった。また、離乳食調理用食材からは肉類において、TBBPAが2.2～3.9 ng/g、BPAが2.9～4.1 ng/gであり、牛、豚、鶏の相違はなかった。一方、野菜類及びいも類はいずれも1 ng/g以下であり、TBBPA及びBPAによる汚染はほとんどないことが明らかとなった。健康影響評価を解明するため動物実験にも着手した。TBBPA曝露マウスにおいて、その代謝物や体内動態（分布、排泄）について検討した。経口投与後、24時間で全投与量の約40%が未変化体として排泄され、72時間後には代謝物も含めほとんどが排泄されることが明らかとなった。また、抱合体（グルクロン酸及び硫酸抱合）としても分布し、尿中では主にグルクロン酸抱合体として排泄されることも解明し、今後の健康影響評価を遂行するに当たり基礎的な知見となった。

研究分担者氏名：角谷 秀樹
所属研究機関名：摂南大学
職名：助教

A. 研究目的

食品の安全性確保のため、過去より厚生労働省等を中心に多くの食品・食事試料中の有害化学物質による汚染調査が行われ、国民に情報提供がなされてきた。しかし、乳幼児用食品中のBPAやTBBPA等による汚染実態及びその健康影響評価に特化した研究は、現在まで皆無に等しい。BPAの健康影響への知見は、乳幼児の知能の発育障害の他、性周期異常、内分泌や免疫系への毒性影響等の多数の報告が行われている。一方、TBBPAの毒性機構は未だ不明な点が多く、現在までの知見は、TBBPA曝露マウスにおける、総コレステロール値や肝重量の増加、甲状腺ホルモン受容体の活性化、TBBPAを摂取したRSウイルス感染マウスのサイトカインの分泌異常等が観察されている。従って、乳幼児用食品の安全性の確保には、まず、上記化合物の分析法の構築し、乳幼児が摂取する食品・食事試料の汚染調査、さらには、1日摂取量を基礎とした上記化合物、とりわけTBBPAによる健康影響の検討が急務となる。

本研究の目的は、我々の環境中で大量に使用されているビスフェノール系化合物に焦点を当て、乳幼児食品・食事中の汚染実態と1日摂取量の解明並びに健康影響評価を行うことである。

B. 研究方法

本研究体制は、中尾(代表者)と角谷(分担者)が緊密な連携体制を取りながら、計画を遂行する。期間は2年間とし、分担内容は、まず、両者が協力してBPAやTBBPA等のビスフェノール系化合物の高精度迅速型同時一斉分析法を確立した後、中尾が主に乳幼児用食品中の上記化合物による汚染実態の検討を、角谷が主に細胞や動物を用いて上記化合物の健康影響に関する検討を行う。

1) ビスフェノール系化合物の高精度迅速型分析法の構築(中尾、角谷)；初年度は、上記化合物の最適な抽出・精製・定量法の検討を行う(図1)。抽出法は、高水分含量試料を対象とした簡易迅速型の乾燥条件(40～60℃で乾燥→凍結乾燥)の検討も加え、メタノール/ジクロロメタン等の数種類の溶媒の組合せも検討しながら、高速溶媒抽出装置を用いて最適抽出条件を検討する。精製法は、当研究室が

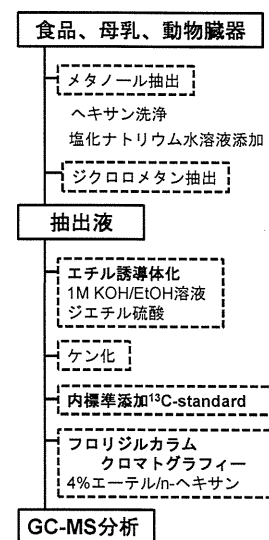


図1 ビスフェノール系化合物の分析法の概要

開発したフロリジルを用いたフラッシュカラムクロマト法あるいは当研究室現有の3台の自動クリーンアップ装置により分析時間の短縮化を図る。予試験では、フロリジルカラムを用いることによりBPAやTBBPAの良好な分離が既に観察されている。定量法は、当研究室現有の高分解能GC/MS(JEOL JMS700:EI-SIM法、キャピラリーカラム:BPX-5;SGE社)により同時一斉定量可能な測定法を構築する。最終的には上記分析の全工程を3日以内に達成可能な分析法の構築を目指す。

2)表1に示す乳幼児食品中の上記化合物による汚染実態の解明(中尾);表中の①～④の分類の中、①製造会社別市販粉ミルク4品目、及び②離乳食調理用食品の中、I型(2群;計20品目)とII型(5群;計45品目)の食品とその加工食品の汚染実態を解明する。なお、②の検討食品は、日本食品標準成分表に従い、18群の食品の中、日本人の摂取量が多い、I型;野菜類、果実類、II型;魚介類、肉類、卵類(国産のみ)、乳類、油脂類及びIII型;穀類、芋類、豆類、菓子類の計11群の食品とその加工食品(卵類を除く)のそれぞれ5品目の、総計105品目を対象とする。

表1 調査対象となる乳幼児食品の分類

食品の分類	食品及び加工食品の一例
①市販人工乳(粉ミルク)	製造会社別粉ミルク製品(4製品)
②離乳食調理用食品 I～Ⅲ型	
I型(野菜類、果実類)	カボチャ、にんじん、ほうれん草 リンゴ、バナナ、イチゴ、ミカン
II型(魚介類、肉類、卵類、 乳類、油脂類)	サンマ、イワシ、鶏肉、牛肉、豚肉、 チーズ、ヨーグルト、牛乳、菜種油
III型(穀類、芋類、豆類、菓子類)	おかゆ、パン、そうめん、マカロニ、 乳ボーロ、ジャガイモ、豆腐、枝豆
③市販離乳食用食品	離乳食用冷凍・レトルト食品
④母乳及び離乳食(陰膳方式)	母乳(20検体)、離乳食(3日分)

3)TBBPA曝露マウスにおけるTBBPA及びその代謝物等の体内動態に関する検討(角谷);実験動物(C57BL/6マウス)を用いて、各臓器・組織・血液中のTBBPA、1～3脱臭素化体及びBPAを定量する。マウスへのTBBPAの投与から1、6、12、24、48、72時間後に心採血後、灌流脱血し、臓器(肝臓、腎臓、脾臓、胸腺、膵臓、脂肪、脳)等及び排泄物を採取する。次に、上記分析法を用いて生体試料中の上記化合物を定量する。

(倫理面への配慮)

本研究課題の遂行には、多くの市販食品及び人体(母乳)試料を用いる必要があることから、まず、本研究計画案を薬学部の臨床薬学研究倫理委員会に提出、審議して頂き、本委員会並びに教授会の承認を得る。そして、母乳や離乳食試料等の提供の依頼の際には、従来より協力頂いている産婦人科医師や

看護学部教授と一緒に各被験者の方と面談し、研究の趣旨等をよく説明した後、試料提供同意書の提出をお願いすることになっている。またこの時、被験者の年齢、被験乳幼児の経月別の生長度(体重・身長・アレルギーの有無等)、家族構成、食事嗜好、喫煙の有無、生活環境(住居情報、在宅時間、周辺環境等)に関してアンケート調査を実施するため、母乳測定データも含め個人情報等の保護に関しては、十分配慮して取り扱う方針であることを書面、並びに口頭で被験者に伝えるつもりである。さらに、測定データの通知を希望する被験者には、分析データの解析終了後に、その結果を通知すると共に、高濃度汚染が観察された被験者に対しては、無意味な不安を煽ることなく、汚染経路の推定及び体内負荷軽減策等も含め、代表者が懇切丁寧に説明、指導する。一方、市販の乳幼児用食品の汚染実態研究においても、有害化学物質における食品汚染データは、非常にセンシティブな内容(産地、製造者等)が含まれることより、その取扱い方次第では、風評等により生産者、製造者、行政関係者及び消費者に多大な不利益を与える可能性を秘めていることより、無闇に不安を扇動することの無いように、その公表に当たっては、厚生労働省と十分に事前協議する。さらに、本研究計画には、遺伝子の組換えや動物を使用する内容等が含まれていることから、本学部の組換えDNA実験委員会の「組換えDNA委員会規定マニュアル」及び動物委員会の「動物利用規定マニュアル」に従って、平成23年度4月初旬に、詳細な研究計画を記載した使用申請書類等を両委員会に提出し、上記の両委員会にて審議、承認を得た後に、適正な管理運営の基で、本研究課題を精力的に遂行する。

C. 研究結果

研究結果について、A)ビスフェノール系化合物の高精度迅速型分析法の構築、B)乳幼児食品中のビスフェノール系化合物による汚染実態の解明及びC)TBBPA曝露マウスにおけるTBBPA及びその代謝物等の体内動態の3つのテーマに沿って報告する。A)のビスフェノール系化合物の高精度迅速型分析法の構築では、ブランクを如何に低減させ、ビスフェノール系化合物の高精度迅速型の分析法を構築するかに焦点を当てた。一般的な環境試料中のTBBPA分析法では、ブランク値が高くなることから、*m*-ヘキサン洗浄を追加し、誘導体化剤の添加量を調整することにより、ブランク値を低減させ、再現性のある分析法の構築に成功した。

次に、B)の乳幼児用食品中のビスフェノール系化合物による汚染実態の解明においては、乳幼児用食品は粉ミルク(4検体)、離乳食調理用食品(野菜類(カボチャ、トマト、パプリカ)、肉類(鶏、豚、牛)、芋類(ジャガイモ))を対象とし、TBBPA及びBPA濃度を測定した。その結果(表2～4)、

粉ミルク 4 製品からは両化合物とも検出され、その濃度は TBBPA が 3.3～3.8 ng/g、BPA が 3.5～11 ng/g であった。一方、離乳食調理用食品として野菜類（カボチャ、トマト、パプリカ）、芋類（ジャガイモ）、肉類（鶏、豚、牛）を使用した。すべての野菜類と芋類の TBBPA 及び BPA はいずれも 1 ng/g（湿重量）以下であった。肉類は TBBPA が 2.2～3.9 ng/g、BPA が 2.9～4.1 ng/g であったが、鶏、豚、牛による相違はほとんどなかった。

表2 粉ミルク中に含まれるTBBPA及びBPA濃度 (ng/g)

	A	B	C	D
TBBPA	3.5	3.5	3.3	3.8
BPA	3.5	3.9	11	4.2

表3 野菜類及びいも類に含まれるTBBPA及びBPA濃度 (ng/g)

	カボチャ	トマト	パプリカ	ジャガイモ
TBBPA	0.71	0.37	0.43	0.037
BPA	0.81	0.57	0.094	0.051

表4 肉類(鶏、豚、牛)中に含まれるTBBPA及びBPA濃度 (ng/g)

	鶏	豚	牛
TBBPA	2.2	3.5	3.9
BPA	4.1	3.9	2.7

C) の TBBPA 曝露マウスにおける TBBPA 及びその代謝物等の体内動態においては、投与 24 時間後の排泄及び体内分布を確認したところ、24 時間後には全投与量の約 40% が未変化体として糞及び尿中に排泄されていた（表 5）。今回、TBBPA 検出された未変化体のほとんどが糞中に排泄されていることが明らかになった。また、未変化体の各臓器（肝臓、心臓、脂肪組織、脳など）への分布を調査したところ、投与量に対する分布率は極めて低いものの、その分布率は肝臓＞腸管＞心臓＞脾臓＞腎臓＞腸管膜脂肪＞褐色脂肪の順であった（図 2）。

表5 TBBPA曝露マウスによる24時間後の排泄率(%)

	糞	尿
TBBPA未変化体	44	2.0
TBBPA抱合体	21	0

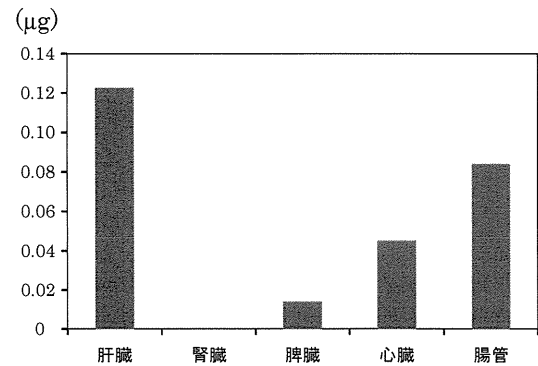


図2 TBBPA曝露マウスによる24時間後の体内分布

この結果より、TBBPA が脂肪組織のような高脂質含有組織への蓄積はほとんどなく、速やかに排泄されることを明らかにした。さらに、尿中の主な代謝物として TBBPA のグルクロン酸抱合体が検出されるとともに、肝臓では脱ブROM化体も検出された。

D. 考察

A) のビスフェノール系化合物の高精度迅速型分析法の構築では、ブランク値が極めて低い分析法に改良され、種々の食品試料に適用できるようになった。また、ブランク値が低減されることで、食品試料だけでなく、食品を包装しているフィルムや容器なども分析対象に広げることが可能となった。即ち、これまで不明であった食品容器あるいは乳瓶やその乳首からの移行についても調査可能であると言及される。

B) の乳幼児食品中のビスフェノール系化合物による汚染実態の解明では、これまで皆無であった乳幼児用食品中のビスフェノール系化合物による汚染実態が明らかとなった。粉ミルク（4検体）を分析したところ、TBBPAの濃度は検体毎にほとんど相違なく、3.3～3.8 ng/gであった。野菜類及びいも類中のビスフェノール系化合物は、極めて低濃度であった。特に、ジャガイモはTBBPA及びBPAがそれぞれ0.037と0.051であった。肉類についても動物種による相違は観察されなかった。ビスフェノール系化合物による食品への汚染は、軽度であると言及された。さらに、脂肪含有量が比較的高い肉類のデータから蓄積性はほとんどなく、主に包装容器や接触大気からの汚染であることが示唆された。

C) のTBBPA曝露マウスにおけるTBBPA及びその代謝物等の体内動態では、B) の肉類への汚染が裏付けられる結果となった。TBBPA曝露マウスの24時間後の糞及び尿中にTBBPA未変化体が全投与量の約40%が排泄されていることが明らかとなり、体内蓄積量が少ないことが判明した。小腸から吸収されたTBBPAは肝臓を経由し、全身に分布すると考えら

れたが、その分布率は、肝臓、腸管、心臓の順で高いことが判った。続いて、代謝物の分析を行ったところ、グルクロン酸抱合による代謝物が尿中で高く、肝臓では脱ブロム化が検出された。これまでの報告例から、TBBPAの脱ブロム化体であるトリブロモビスフェノールA (TriBBPA)、ジブロモビスフェノールA (DiBBPA)、モノブロモビスフェノールA (MoBBPA) は、乳がん細胞において臭素数が少ないほどエストロゲン活性が強くなることが明らかとなっている。このように脱ハロゲン化体が検出されたことより、これら化合物についても毒性評価の対象として、健康影響を確認することが重要である。

E. 結論

高精度迅速型分析法の構築に成功し、一部の乳幼児用食品の汚染実態が明らかとなった。その汚染レベルは1グラムあたり数ナノグラムであり、比較的低濃度であった。汚染実態の解明には、まだ検体数が乏しく、多数の食品、陰膳試料あるいは母乳などを検討試料とし、汚染実態の解明に努めたい。

健康影響評価では、マウスによる動態解析を中心に行った。速やかに排泄されるものの、一部は全身に分布し、臓器中に検出されることが判明した。また、グルクロン酸抱合体として尿中に排泄される経路も確認した。興味深いことに、肝臓中で脱ハロゲン化されたTriBBPA、DiBBPAおよびMoBBPAが検出されたことより、これら代謝物による二次的な毒性影響の可能性も示唆される結果となり、今後の課題といえる。

F. 健康危機情報

今回、分析した乳幼児食品中のビスフェノール系化合物の濃度は、比較的低く、現在のところ健康危機となる情報はない。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1)乳幼児食品中のビスフェノール系化合物による汚染実態の解明とその健康影響評価、第20回日本環境化学会、p38、2011
- 2)臭素系難燃剤TBBPAのペルオキシソーム増殖剤応答性受容体を介した生体影響、第20回日本環境化学会、p38、2011
- 3)高脂肪食含有食品中の塩素化、臭素化および塩素・臭素化ダイオキシン類による汚染実態の究明、第20回日本環境化学会、p76、2011
- 4)市販食品中の17種のPOPsによる汚染実態の解明、第20回日本環境化学会、p81、2011

- 5)種々のプラスチック製品含有化学物質が有するヒトのペルオキシソーム増殖剤応答性受容体活性、第20回日本環境化学会、p101、2011
- 6)Contamination levels of seventeen kinds of POPs in Japanese market foods, 31th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, p38、2011
- 7)Health assessment of tetrabromobisphenol A as brominated flame retardants through peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR), 31th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, p59、2011
- 8)Comparison of in vitro and in vivo cytochrome P450-1A activities induced by structural difference of TXDDs and DL-PXBs, 31th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, p59、2011
- 9)高脂肪食含有食品中の残留性有機汚染物質 (POPs) による汚染実態、第61回日本薬学会近畿支部総会・大会、p77、2011
- 10)置換臭素数が異なるビスフェノール系化合物が示すPPAR活性、第61回日本薬学会近畿支部総会・大会、p30、2011
- 11)臭素系難燃剤TBBPAの糖・脂質代謝系への毒性影響、第61回日本薬学会近畿支部総会・大会、p30、2011

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