

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

Table 5. Infants allergies in relation to characteristics of infants.

		Food allergy					Eczema					Wheezing				
		No		Yes		p-value	No		Yes		p-value	No		Yes		p-value
		No.	(%)	No.	(%)		No.	(%)	No.	(%)		No.	(%)	No.	(%)	
Gender	Male	913	(87.5)	131	(12.5)	0.462	902	(86.4)	142	(13.6)	< 0.001	994	(95.2)	50	(4.8)	0.155
	Female	901	(88.5)	117	(11.5)		929	(91.3)	89	(8.7)		982	(96.5)	36	(3.5)	
Birth season	Spring	434	(88.8)	55	(11.2)	0.930	432	(88.3)	57	(11.7)	0.904	471	(96.3)	18	(3.7)	0.821
	Summer	408	(87.7)	57	(12.3)		415	(89.2)	50	(10.8)		446	(95.9)	19	(4.1)	
	Autumn	434	(88.0)	59	(12.0)		441	(89.5)	52	(10.5)		469	(95.1)	24	(4.9)	
	Winter	538	(87.5)	77	(12.5)		543	(88.3)	72	(11.7)		590	(95.9)	25	(4.1)	
Birth weight (g) ^a		3061.4 ± 386.2		3067.8 ± 382.5		0.477	3065.2 ± 387.0		3038.8 ± 374.7		0.707	3062.3 ± 387.0		3060.5 ± 355.3		0.638
Breast-feeding status	Maternal feeding	1116	(86.8)	170	(13.2)	0.180	1119	(87.0)	167	(13.0)	0.010	1241	(96.5)	45	(3.5)	0.253
	Artificial feeding	206	(90.7)	21	(9.3)		206	(90.7)	21	(9.3)		216	(95.2)	11	(4.8)	
	Mixed feeding	491	(89.6)	57	(10.4)		505	(92.2)	43	(7.8)		518	(94.5)	30	(5.5)	
Breast-feeding period (months)	< 6	376	(89.5)	44	(10.5)	0.284	384	(91.4)	36	(8.6)	0.054	396	(94.3)	24	(5.7)	0.067
	≥ 6	1437	(87.6)	203	(12.4)		1445	(88.1)	195	(11.9)		1579	(96.3)	61	(3.7)	
Day care attendance at 12 months	No	1532	(88.0)	208	(12.0)	0.812	1544	(88.7)	196	(11.3)	0.837	1684	(96.8)	56	(3.2)	< 0.001
	Yes	282	(87.6)	40	(12.4)		287	(89.1)	35	(10.9)		292	(90.7)	30	(9.3)	
ETS at 12 months ^b	No	930	(88.1)	126	(11.9)	0.892	943	(89.3)	113	(10.7)	0.459	1015	(96.1)	41	(3.9)	0.503
	Yes	884	(87.9)	122	(12.1)		888	(88.3)	118	(11.7)		961	(95.5)	45	(4.5)	
Pet parenting indoor at 12 months	No	1463	(88.0)	199	(12.0)	0.879	1477	(88.9)	185	(11.1)	0.834	1597	(96.1)	65	(3.9)	0.229
	Yes	351	(87.8)	49	(12.3)		354	(88.5)	46	(11.5)		379	(94.8)	21	(5.3)	

^aMean ± SD. ^bETS: Environmental tobacco smoke. Statistically significant, $p < 0.05$ by the t-test, χ^2 -test, and Mann-Whitney U-test.

Missing data: breast-feeding status (1), and breast-feeding period (2).

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

Table 6. Adjusted odds ratio (95% CI) between maternal PFC concentrations and allergies during the first 12 months of life.

		Food allergy			Eczema			Wheezing		
		OR	95%CI	p-value	OR	95%CI	p-value	OR	95%CI	p-value
log ₁₀ PFOA (C8)	Crude	1.22	(0.79 1.91)	0.372	0.66	(0.41 1.05)	0.078	0.98	(0.47 2.02)	0.953
	Model 1	1.10	(0.68 1.77)	0.711	0.67	(0.41 1.11)	0.282	2.24	(1.03 4.88)	0.043
	Model 2	1.05	(0.65 1.72)	0.831	0.70	(0.42 1.17)	0.179	2.22	(1.02 4.85)	0.046
	Model 3	1.07	(0.65 1.76)	0.782	0.75	(0.45 1.26)	0.403	1.99	(0.89 4.45)	0.092
log ₁₀ PFNA (C9)	Crude	1.36	(0.73 2.53)	0.337	0.70	(0.36 1.35)	0.283	0.47	(0.16 1.35)	0.159
	Model 1	1.29	(0.67 2.47)	0.441	0.75	(0.38 1.49)	0.408	0.93	(0.30 2.87)	0.904
	Model 2	1.13	(0.58 2.19)	0.722	0.74	(0.36 1.49)	0.398	0.94	(0.30 2.90)	0.911
	Model 3	1.10	(0.57 2.15)	0.772	0.74	(0.37 1.51)	0.415	0.75	(0.23 2.41)	0.630
log ₁₀ PFDA (C10)	Crude	0.94	(0.51 1.72)	0.830	0.50	(0.27 0.92)	0.026	0.79	(0.30 2.10)	0.634
	Model 1	0.91	(0.49 1.69)	0.770	0.52	(0.28 0.97)	0.038	1.15	(0.41 3.28)	0.791
	Model 2	0.83	(0.44 1.57)	0.571	0.52	(0.27 0.98)	0.042	1.17	(0.41 3.33)	0.770
	Model 3	0.83	(0.44 1.56)	0.563	0.53	(0.28 1.01)	0.054	1.03	(0.35 3.01)	0.953
log ₁₀ PFUnDA (C11)	Crude	1.15	(0.64 2.08)	0.646	0.75	(0.42 1.35)	0.337	0.59	(0.25 1.43)	0.245
	Model 1	1.24	(0.68 2.26)	0.480	0.78	(0.43 1.41)	0.402	0.59	(0.23 1.49)	0.266
	Model 2	1.05	(0.57 1.94)	0.865	0.70	(0.38 1.29)	0.253	0.60	(0.24 1.53)	0.285
	Model 3	1.03	(0.56 1.90)	0.917	0.69	(0.37 1.28)	0.241	0.61	(0.24 1.57)	0.310
log ₁₀ PFDoDA (C12)	Crude	1.20	(0.65 2.21)	0.556	0.65	(0.36 1.19)	0.160	0.55	(0.22 1.38)	0.199
	Model 1	1.26	(0.68 2.33)	0.464	0.67	(0.37 1.23)	0.194	0.58	(0.22 1.49)	0.258
	Model 2	1.17	(0.62 2.18)	0.630	0.65	(0.35 1.21)	0.178	0.58	(0.22 1.51)	0.264
	Model 3	1.16	(0.62 2.16)	0.644	0.65	(0.35 1.21)	0.173	0.58	(0.22 1.52)	0.267
log ₁₀ PFTTrDA (C13)	Crude	0.72	(0.40 1.32)	0.289	0.67	(0.36 1.24)	0.201	0.58	(0.22 1.48)	0.252
	Model 1	0.76	(0.41 1.40)	0.375	0.68	(0.36 1.27)	0.226	0.59	(0.23 1.56)	0.289
	Model 2	0.71	(0.38 1.32)	0.276	0.67	(0.35 1.27)	0.215	0.59	(0.23 1.55)	0.287
	Model 3	0.70	(0.37 1.30)	0.258	0.67	(0.35 1.27)	0.221	0.57	(0.21 1.53)	0.264
log ₁₀ PFHxS (C6)	Crude	1.18	(0.70 2.00)	0.537	0.58	(0.34 0.99)	0.044	0.71	(0.31 1.66)	0.432
	Model 1	1.13	(0.66 1.93)	0.664	0.60	(0.35 1.04)	0.066	1.07	(0.44 2.63)	0.879
	Model 2	1.04	(0.61 1.80)	0.876	0.60	(0.34 1.05)	0.072	1.01	(0.41 2.51)	0.975
	Model 3	1.06	(0.61 1.82)	0.846	0.61	(0.35 1.07)	0.087	0.93	(0.37 2.35)	0.873
log ₁₀ PFOS (C8)	Crude	1.35	(0.69 2.65)	0.383	0.59	(0.29 1.18)	0.135	0.44	(0.15 1.32)	0.145
	Model 1	1.23	(0.61 2.45)	0.564	0.63	(0.31 1.30)	0.212	0.83	(0.27 2.57)	0.746
	Model 2	1.05	(0.52 2.14)	0.882	0.60	(0.29 1.26)	0.177	0.87	(0.28 2.73)	0.814
	Model 3	1.05	(0.51 2.13)	0.900	0.64	(0.30 1.34)	0.234	0.78	(0.25 2.44)	0.663
log ₁₀ total PFCs	Crude	1.36	(0.61 3.06)	0.450	0.40	(0.17 0.94)	0.035	0.44	(0.12 1.65)	0.221
	Model 1	1.21	(0.52 2.82)	0.658	0.44	(0.18 1.06)	0.068	1.34	(0.32 5.57)	0.691
	Model 2	1.00	(0.42 2.40)	0.995	0.43	(0.17 1.07)	0.068	1.35	(0.32 5.69)	0.684
	Model 3	1.00	(0.42 2.41)	0.997	0.46	(0.18 1.14)	0.094	1.09	(0.25 4.75)	0.905

OR for a 10-fold increase in maternal PFC concentrations.

Model 1: adjusted for maternal age, parity and infant gender.

Model 2: adjusted for model 1 + maternal educational level, maternal serum cotinine level, maternal allergic history and paternal allergic history.

Model 3: adjusted for model 2 + breast-feeding period and day care attendance.

微量ダイオキシン類、水酸化 PCB (OH-PCB) の測定法の開発

研究分担者 梶原 淳睦 福岡県保健環境研究所保健科学部生活化学課長

研究要旨

血液及び母乳中のダイオキシン、PCB 及び OH-PCB 類一斉分析法を開発し、札幌コーホート (N=514) の妊婦の血液中ダイオキシン、PCB 類を測定終了し、OH-PCB 濃度を測定中である。これまでの測定の結果、血液中総 OH-PCB 濃度の平均は 40pg/g で血液中総 PCB 濃度の約 4%であった。本分析法の精度管理のため国内 4 分析機関で同一試料を用いたクロスチェック試験を実施した。各分析機関の OH-PCB 主要 6 種異性体の測定値の変動率 (CV) は 9~17%で良く一致し、我々の一斉分析法の分析精度の信頼性は確保されたと考えられた。また、北海道コーホートの微量化学物質分析の予備検討として、臍帯血中 PCB 濃度を測定したところ総 PCB 濃度の平均は 80ng/g lipid であった。

研究協力者

平田 輝昭、千々和 勝己、平川 博仙、
堀 就英、中川 礼子、高橋 浩司、
新谷 依子、岡元 冬樹、高尾 佳子、
飛石 和大、宮脇 崇

(福岡県保健環境研究所)

戸高 尊

(九州大学医学部学術研究員)

飯田 隆雄

(北九州生活科学センター理事)

A. 研究目的

科学技術の発展に伴い様々な化学物質が生産、副生あるいは非意図的に生成され環境や人体に蓄積されている。特に、ダイオキシン類および PCB 類は環境中で極めて安定で、環境汚染物質として広く分布し、食物連鎖を介してヒト体内に蓄積され、内分泌かく乱物質 (EDC) として働くことが知られている。また、ヒト体内に蓄積された PCB 類は、チトクローム P450 等の酵素により OH-PCB に代謝され排泄されるが、

一部の OH-PCB は甲状腺ホルモンと類似した構造を持つため、生体内に残留することが報告され、PCB よりも強い EDC 作用があるのではないかと懸念されている。さらに、これら化学物質が母体に取り込まれ、母胎内で胎児に影響を及ぼし先天異常や発達障害を引き起こすのではないかと危惧されている。なぜなら胎児は EDC の影響を最も敏感に受けると考えられているからである。従って、妊婦体内に蓄積されたダイオキシン、PCB 類及び OH-PCB と出生児の先天異常との関係を明らかにすることは極めて重要である。

本研究では先天異常の疫学研究の基礎資料を得ることを目的に、妊婦血液及び母乳中のダイオキシン類濃度 (PCDDs7 種、PCDFs10 種、ノンオルソ-PCB 4 種、モノオルソ-PCB 8 種 合計 29 種) 及び非ダイオキシン様 PCB 類 (58 異性体) 濃度を精密に測定し、母体血 426 件、母乳 250 件のダイオキシン類及び PCB 類の異性体ごとの濃度データを明らかにした。さらに、ダ

イオキシシ、PCB 類一斉分析法を改良し、同一試料から OH-PCB（5 異性体）も同時に測定できる分析法を開発し、測定している。今年度は本分析法の精度管理のため国内 4 分析機関で同一試料を用いたクロスチェック試験を実施し、本分析法の信頼性を検討した。

また、北海道コーホートの微量化学物質分析の予備検討として、臍帯血中 PCB 濃度を測定した。

B. 研究方法

血液および母乳中ダイオキシシ、PCB 及び OH-PCB 類一斉分析方法を Figure 1 に示した。測定は札幌コーホートで集められた妊婦の血液の内、PCB 濃度の高い検体から順に分析を行っている。

血液中 OH-PCB 濃度測定の精度管理は当所を含む国内の 4 分析機関に同一検体（血液及びその血清）を配付し、OH-PCB 濃度を測定した。分析方法は各分析機関が日常行っている分析方法とした。

臍帯血中 PCB 濃度の測定は Figure 1 の分析方法に従い、臍帯血 6 g を用いて分析した。測定検体は北海道コーホートで集められた臍帯血 44 件である。

（倫理面への配慮）

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

C. 研究結果

今年の血液中ダイオキシシ、PCB 及び OH-PCB 一斉分析法で測定した妊婦の血液中総 PCB 及び OH-PCB 濃度を表 1 に示した。これまでの測定は血液中 PCB 濃度の高

い検体から順に 20 件であるが、血液中総 OH-PCB 濃度の平均は 40pg/g-wet であった。同じ血液の総 PCB 濃度の平均は 911pg/g-wet であったので、総 OH-PCB 濃度は総 PCB 濃度の約 4% であった。

OH-PCB 濃度測定のカロスチェックの結果を表 2 に示した。機関 A、B は誘導体化し高分解能 GC/MS を用いた測定を行っており、機関 C、D は誘導体化せずに直接 LC/MS で分析している。各分析機関の OH-PCB 主要 6 種異性体の測定値の変動率（CV）は 9~17% で測定値は良く一致した。

臍帯血血中 PCB 濃度の測定結果を表 3 に示した。臍帯血中総 PCB 濃度の平均は 80 ng/g lipid であり、札幌コーホートで測定した妊婦の血液中総 PCB 濃度の平均（110ng/g lipid）の約 73% であった。また、臍帯血の脂肪含量は 0.18% で血液の脂肪含量（0.38%）の約 1/2 であった。

D. 考察

妊婦の血液中 OH-PCB 濃度を測定し、同一人の血液中 PCB 濃度と比較したところ、総 OH-PCB 濃度は総 PCB 濃度の約 4% であったが、OH-PCB 濃度と PCB 濃度に相関は見られなかった。今後分析数を増やし異性体ごとの関係についても解析する予定である。

OH-PCB 類の分析法は血液から抽出、精製後誘導体化し高分解能 GC/MS 等を用いて測定する方法が報告されている。しかし、①誘導体化の際に異性体により反応性が異なる可能性があること、②LC/MS/MS を用い分離測定が出来れば誘導体化を省略できること、③我々の血液中ダイオキシシ、PCB 一斉分析法で同時に OH-PCB も分析することができればより簡便になるため新たな分析法を開発した。今回、誘導体化し高分解能 GC/MS を用いた測定を行っている国

内の他機関等と同一試料を用いたクロスチェックを実施した結果、各分析機関の OH-PCB 主要 6 種異性体の測定値の変動率 (CV) は 9~17% で良く一致した。従って、我々の一斉分析法の分析精度の信頼性は確保されたものと考えられた。さらに、この試料の OH-PCB 20 異性体を測定した結果から、我々が測定対象としている OH-PCB5 異性体 (4HO-CB107、4HO-CB146、3HO-CB153、4HO-CB172、4HO-CB187) の総量が OH-PCB 異性体 20 種の総量の約 83% を占めていることが明らかになった。従って、我々が測定している OH-PCB5 異性体を測定することで血液中 OH-PCB の大部分が測定できていることが確認できた。しかし、定量下限値は誘導体化 GC/MS 法の 0.5~1.4pg/g-wet に対し、非誘導体化 LC/MS 法では 7~8pg/g-wet であり、誘導体化 GC/MS 法の方が 5 倍程感度が良かった。今後も分析法を検討し感度の向上を計りたい。

北海道コーホートの臍帯血中 PCB 濃度を測定した結果、臍帯血中総 PCB 濃度の平均値は 80 ng/g lipid であり、札幌コーホートで測定した妊婦の血液中総 PCB 濃度の平均値 (110ng/g lipid) の 73% 程度であった。異性体別では血液も臍帯血も HxCB153 が最も濃度の高い異性体であるが、臍帯血で 3 塩素化体や 4 塩素化体濃度が極端に高い検体があったため、平均値での濃度順位は血液と臍帯血で異なっている。一方、中央値で比較した場合は異性体の濃度順位はほぼ同じであった。さらに、臍帯血の脂肪含量は 0.18% で血液の脂肪含量 (0.38%) の約 1/2 であり、検体重量当たりの臍帯血中 PCB 濃度は母体血中 PCB 濃度の 40% 程度であると考えられる。胎盤では PCB 類等の化学物質の一部の通過を抑えることが知られており、母体血より臍帯血の PCB 濃度

が低い理由と考えられている。

本研究で開発した分析法は約 5g の血液、母乳、臍帯血等の生体試料からダイオキシン、PCB 及び OH-PCB 類の一斉分析が可能となるため母体の化学物質による汚染実態の解明に大きく貢献するものと期待される。今後も妊婦の生体試料中の微量化学物質を測定し、ダイオキシン、PCB 及び OH-PCB 類濃度と先天異常との関係を解析する基礎資料を提供する。

E. 結論

PCB の代謝物である OH-PCB の一部は、生体内に残留しやすく PCB よりも毒性が強いと考えられていることから、母体内で胎児に及ぼす影響が危惧されている。少量の血液からダイオキシン、PCB 及び OH-PCB 類を同時に測定できる一斉分析法を開発し、札幌コーホートの妊婦血液の分析を進めている。一方、本分析法の精度管理のため国内の他分析機関とクロスチェックを行い本分析法の信頼性を確認した。また、北海道コーホートの臍帯血の微量開学物質も分析を開始し、本年度は PCB 濃度を測定した。本分析法の開発により少量の血液で多種類の化学物質の測定が可能になり、汚染実態の解明が大きく進展するものと期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1) 論文発表

1. Tsukimori K, Uchi H, Mitoma C, Yasukawa F, Chiba T, Todaka T, Kajiwara J, Yoshimura T, Hirata T, Fukushima K, Wake N, Furue M. Maternal exposure to high levels of

- dioxins in relation to birth weight in women affected by Yusho disease. *Environ Int.* 38(1). 79-86. 2012.
2. Tobiishi K, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, kajiwara J, Hirata T, Sasaki S, Miyashita C, Yoshioka E, Yuasa M, Kishi R, Iida T, Uchi H, Furue M. Determination of hydroxylated polychlorinated biphenyls (OH-PCBs) in the blood of pregnant woman by LC/MS/MS. *Organohalogen Compounds.* 74. 43-45. 2012.
 3. Nagayama J, Tanaka H, Shimojo Saito T, Hirakawa H, Kajiwara J, et al. COMPARISON OF LIPID EXTRACTION FROM THE SERUM BY THREE DIFFERENT METHODS. *Organohalogen Compounds.* 74. 136-139. 2012.
 4. Hori T, Takahashi K, Kajiwara J, Morokuma S, Otera Y, Yamamoto T, Kawamoto T, Hirata T, Furue M, Tsukimori K, et al. CHARACTERIZATION OF DIOXINS IN SETS OF PLACENTAL TISSUE, MATERNAL BLOOD AND UMBILICAL CORD BLOOD SAMPLES COLLECTED FROM JAPANESE PREGNANT WOMEN. *Organohalogen Compounds.* 74. 763-766. 2012.
 5. Kiyomi Tsukimori, Hirohi Uchi, Shouji Tokunaga, Fumiko Yasukawa, Takahiro Chiba, Jumboku Kajiwara, Teruakai Hirata, Masutake Furue, et al. Blood levels of PCDDs, PCDFs, and coplanar PCBs in Yusho mothers and their descendants: Association with fetal Yusho disease. *Chemosphere.* (2012) in press
- 2) 学会発表
1. Tobiishi K, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, kajiwara J, Hirata T, Sasaki S, Miyashita C, Yoshioka E, Yuasa M, Kishi R, Iida T, Uchi H, Furue M. Determination of hydroxylated polychlorinated biphenyls (OH-PCBs) in the blood of pregnant woman by LC/MS/MS. 32TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM HALOGENATED PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS, Cairns, Australia, (2012, August)
 2. Nagayama J, Tanaka H, Shimojo Saito T, Hirakawa H, Kajiwara J, et al. COMPARISON OF LIPID EXTRACTION FROM THE SERUM BY THREE DIFFERENT METHODS. 32TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM HALOGENATED PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS, Cairns, Australia, (2012, August)
 3. Hori T, Takahashi K, Kajiwara J, Morokuma S, Otera Y, Yamamoto T, Kawamoto T, Hirata T, Furue M, Tsukimori K, et al. CHARACTERIZATION OF DIOXINS IN SETS OF PLACENTAL TISSUE, MATERNAL BLOOD AND UMBILICAL CORD BLOOD SAMPLES COLLECTED FROM JAPANESE PREGNANT WOMEN. 32TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM HALOGENATED PERSISTENT ORGANIC

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

- POLLUTANTS, Cairns , Australia,
(2012, August)
4. 梶原淳睦、戸高尊、平川博仙、堀就英、
宮脇崇、飛石和大、高尾佳子、平田輝
明、岸玲子、古江増隆. 「血液中 PCB
類濃度のクロスチェック」 第 21 回環
境化学討論会. 松山市; 2012 7/11-13
- H. 知的所有権取得
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

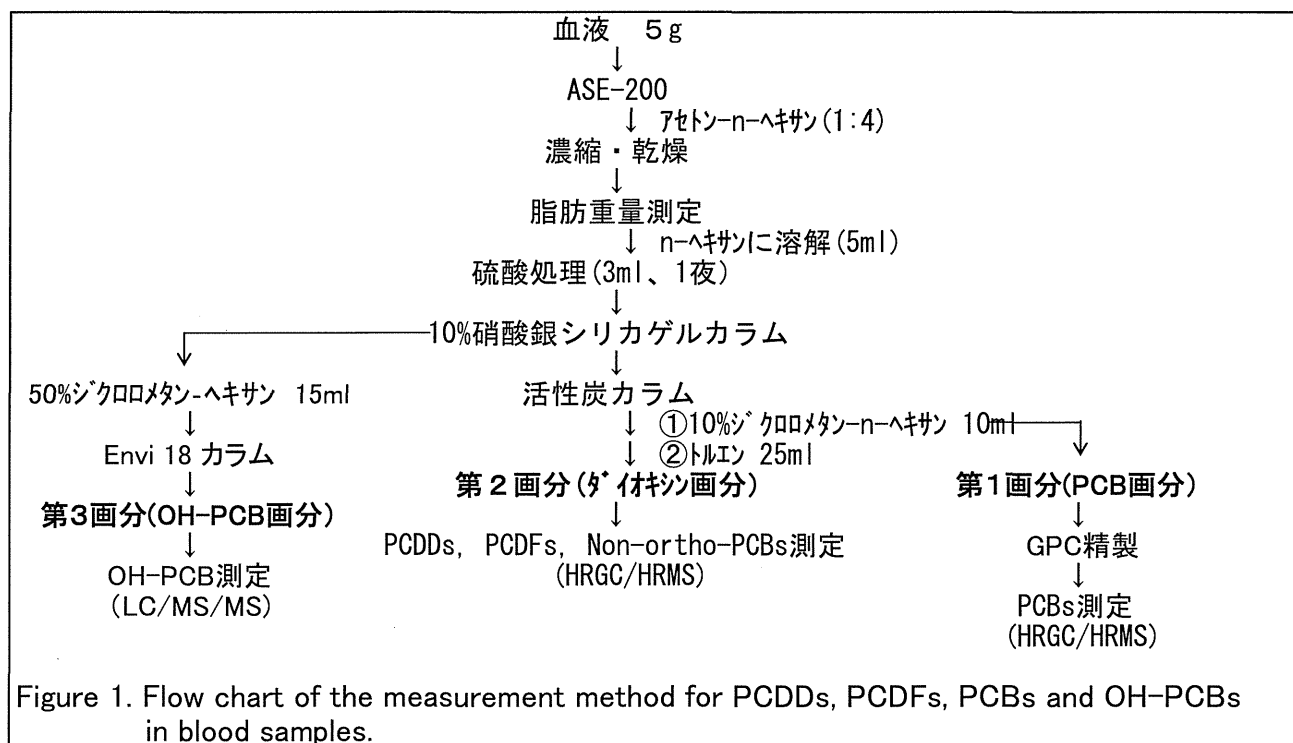


Figure 1. Flow chart of the measurement method for PCDDs, PCDFs, PCBs and OH-PCBs in blood samples.

表1 妊婦の血液中PCB、OH-PCB濃度

Congeners	Mean	Median	Min.	Max.	SD	CV
Total PCBs	911	950	499	1290	234	0.257
Total OH-PCBs	40	40	ND	88	24.4	0.609
4-OH-CB107	4	ND	ND	35	9.4	2.33
4-OH-CB146 + 3-OH-CB153	20	22	ND	38	13.1	0.671
4-OH-CB187	15	18	ND	35	12.1	0.784
4'-OH-CB172	1	ND	ND	14	3.4	3.26

ND:Not detected, SD:Standard deviation, CV:Coefficient Variation (pg / g-wet)

表2 国内4機関の血液中水酸化PCB測定結果の比較

PCB No.	Compounds	A	B	C	D	Mean	SD	CV
4HO-CB107	4-OH-2,3,3',4',5'-PeCB	36	28	32	37	33	4.2	0.13
3HO-CB138	3'-OH-2,2',3,4,4',5'-HxCB	7.3	10	9.7	-	9	1.5	0.16
4HO-CB146	4-OH-2,2',3,4',5,5'-HxCB	39	40	28	36	43	7.3	0.17
3HO-CB153	3-OH-2,2',4,4',5,5'-HxCB	13	4.6	10	-	10	1.1	0.11
4HO-CB172	4'-OH-2,2',3,3',4,5,5'-HpCB	9.7	-	9.7	11.6	10	1.1	0.11
4HO-CB187	4-OH-2,2',3,4',5,5',6'-HpCB	49	52	42	49	48	4.2	0.09
	Total OH-PCBs	154	135	131	133	138	10.6	0.08

(pg/g-wet)

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

表3 さい帯血中PCB濃度測定結果

	PCB concentration (n=44, pg/g lipid)				
	MEAN	SD	Median	Min	Max
245-TrCB(#29)	84	348	22	ND	2311
244'-TrCB(#28)	2770	11092	613	ND	70989
344'-TrCB(#37)	2131	2475	1167	ND	9185
22'55'-TeCB(#52)	7308	41001	514	207	271878
22'45'-TeCB(#49)	2678	15561	85	ND	103065
22'44'-TeCB(#47)	2837	16362	140	ND	108359
22'35'-TeCB(#44)	4413	24676	265	ND	163325
23'46'-TeCB(#71)	915	5221	46	ND	34602
23'45'-TeCB(#63)	124	503	41	ND	3357
244'5'-TeCB(#74)	2779	7391	1472	401	50038
23'45'-TeCB(#70)	2660	14632	191	ND	96993
23'44'-TeCB(#66)	2215	10465	429	199	69682
233'4'/'2344'TeCBs(#56/60)	837	4047	123	16	26798
22'35'6'-PeCB(#95)	3110	16926	192	ND	111956
22'355'-PeCB(#92)	758	3527	101	ND	23278
22'455'-PeCB(#101)	2653	13737	342	105	91183
22'44'5'-PeCB(#99)	2230	4938	1189	458	33392
23'4'56'-PeCB(#117)	864	4321	145	43	28820
22'345'-PeCB(#87)	1494	8142	151	58	54139
22'344'-PeCB(#85)	347	1783	56	ND	11871
233'4'6'-PeCB(#110)	2135	11850	183	ND	78743
233'4'5'-PeCB(#107)	138	101	126	ND	536
2'344'5'-PeCB(#123)	38	32	38	M	152
23'44'5'-PeCB(#118)	3047	4163	2243	584	28339
2344'5'-PeCB(#114)	142	90	123	ND	380
233'44'-PeCB(#105)	806	1217	530	174	8199
22'355'6'-HxCB(#151)	309	674	168	59	4566
22'33'56'-HxCB(#135)	322	1612	66	ND	10760
22'34'56'-HxCB(#147)	154	728	41	ND	4869
22'344'6'-HxCB(#139)	126	666	ND	ND	4428
22'33'56'-HxCB(#134)	109	661	ND	ND	4393
233'55'6'-HxCB(#165)	—	1	ND	ND	13
22'34'55'-HxCB(#146)	1490	1827	1009	285	12003
22'33'46'-HxCB(#132)	116	198	72	ND	1070
22'44'55'-HxCB(#153)	8867	8187	6355	1820	49635
22'3455'-HxCB(#141)	51	68	41	ND	468
22'344'5'-HxCB(#137)	305	196	270	ND	799
22'33'45'-HxCB(#130)	263	197	259	ND	952
233'4'5'6'-HxCB(#164)	2261	1487	1845	508	6218
22'344'5'-HxCB(#138)	5131	3952	4099	1330	22249
22'33'44'-HxCB(#128)	132	98	117	ND	565
23'44'55'-HxCB(#167)	242	173	213	ND	802
233'44'5'-HxCB(#156)	799	899	557	120	5808
233'44'5'-HxCB(#157)	163	108	129	ND	492
22'33'566'-HpCB(#179)	25	27	16	ND	140
22'33'55'6'-HpCB(#178)	458	366	363	ND	2115
22'344'56'-HpCB(#182)	1988	1970	1344	407	11554
22'344'5'6'-HpCB(#183)	557	642	384	69	4100
22'344'56'-HpCB(#181)	43	138	ND	ND	838
22'33'4'56'-HpCB(#177)	406	311	367	ND	1303
22'33'455'-HpCB(#172)	172	119	144	ND	503
22'344'55'-HpCB(#180)	3629	2393	2838	766	11613
233'44'5'6'-HpCB(#191)	50	45	41	ND	260
22'33'44'5'-HpCB(#170)	1347	1017	950	260	4808
233'44'55'-HpCB(#189)	58	43	42	ND	156
22'33'55'66'-OcCB(#202)	117	82	81	ND	330
22'33'45'66'-OcCB(#200)	19	16	13	ND	57
22'33'45**'-OcCB(#201/198)	339	463	207	43	3005
22'344'55'6'-OcCB(#203)	266	208	202	ND	1063
22'33'44'56'-OcCB(#195)	103	83	84	ND	358
22'33'44'55'-OcCB(#194)	433	384	318	ND	2337
233'44'55'6'-OcCB(#205)	15	11	15	ND	52
22'33'455'66'-NoCB(#208)	109	337	45	ND	2270
22'33'44'566'-NoCB(#207)	36	72	19	ND	473
22'33'44'55'6'-NoCB(#206)	151	146	127	ND	919
22'33'44'55'66'-DeCB(#209)	91	147	54	11	968
Total TrCBs	4985	11602	1826	243	73305
Total TeCBs	26764	139797	3267	1297	928098
Total PeCBs	17761	70226	5419	2149	469935
Total HxCBs	20844	19806	15348	4727	124390
Total HpCBs	8733	6163	6654	1849	29976
Total OcCBs	1292	970	917	236	5027
Total NoCBs	296	381	200	ND	2280
Total PCBs	80766	242076	34834	12707	1626683
Lipid contents(%)	0.184	0.019	0.189	0.146	0.225

水酸化 PCB (OH-PCB) 胎児期曝露による母児甲状腺機能への影響

研究代表者 岸 玲子 北海道大学環境健康科学研究教育センター特任教授
研究分担者 梶原 淳睦 福岡県保健環境研究所保健科学部生活化学課長

研究要旨

水酸化 PCB(OH-PCB)は、PCB が生体内で代謝を受け産生される物質である。近年 OH-PCB が PCB と同様に生体内に蓄積し、妊娠中の曝露により胎盤を透過して胎児へ移行することが報告されているが、胎児の発育に必要な母児甲状腺ホルモン値への影響はほとんど研究されていない。そこで本研究では、妊娠期の母体血中 OH-PCB 曝露と母児甲状腺ホルモン値 (TSH、FT4) との関連を検討した。2003 年～2005 年に同一産科医院にて参加登録した母児 514 組のうち、母体血中 OH-PCB 濃度および甲状腺ホルモン値の両方が得られた母 205 名、児 219 名 (うち男児 103 名、女児 116 名) を解析対象として重回帰分析を行った。その結果、母体血中 Σ OH-PCB 濃度と母児甲状腺ホルモン値との間に crude 解析、交絡要因で調整を行った adjust model での解析ともに有意な関連は認められなかった。今後、さらに詳細な異性体レベルの解析や代謝遺伝子多型が及ぼす PCB 濃度と OH-PCB 濃度との関係も含めて甲状腺ホメオスターシスへの影響を検討し、学童期まで追跡して神経発達や体格成長へ及ぼす影響も評価する必要がある。

研究協力者

伊藤 佐智子
(北海道大学環境健康科学研究教育センター)
戸高 尊 (九州大学医学部学術研究員)

A. 研究目的

PCB は毒性が発見されたのち国内で 1972 年に製造が中止され、2004 年にストックホルム条約でその使用と廃棄が禁止された。しかし PCB を含む製品は現在も使用され、安定性と長期にわたる蓄積性のため、環境中や生体から検出され続けている (Schechter 2001)。これまで PCB 胎児期曝露が生後の神経発達を妨げるという報告があり (Grandjean et al. 2001、Jacobson and Jacobson 1996)、成人よりも環境物質に脆弱とされる胎児への影響検討が注目されてきた。

PCB の一部は生体内で Cytochrome450 による酸化を受けた後、大部分が OH-PCB

へ代謝され速やかに体外へ排出されるとされてきたが、近年 OH-PCB は PCB 同様生体内や環境中に蓄積することが報告されている (Letcher et al. 2000)。そのため OH-PCB のヒトへの健康影響が懸念されているが、生体内における PCB の代謝経路は明らかになっていない。またこれまで PCB の健康影響とされてきたものが本来は OH-PCB の影響である可能性があり、早急に解明が必要である。OH-PCB は PCB よりも甲状腺ホルモンによく似た構造を有し、Transthyretin (TTR) と強い結合力を有することから (Brouwer et al. 1998)、PCB よりも体内の甲状腺機能維持へ強く影響を与えるとされており、これまで血清中の OH-PCB 濃度と甲状腺ホルモン FT4 との間に負の関連がみられたが、PCB 濃度と FT4 とは関連がみられなかった (Sandau et al. 2002) という報告や PCB、OH-PCB 濃度ともに T3 との関連がみられ

たという報告（Dallaire et al. 2009）があるが、一致した結果は得られていない。甲状腺ホルモンは胎児発育において重要な役割を示し、胎児は自らの甲状腺が分泌を開始するまでの妊娠初期は母親の甲状腺ホルモンに依存している（de Escobar et al. 2004；Calvo et al. 2002）。OH-PCB は胎盤通過性を有し、母体血中より臍帯血中の OH-PCB/PCB 濃度比が高い（Kawashiro et al. 2008）ことから、感受性が高い胎児への影響を直ちに明らかにする必要があるが、OH-PCB 胎児期曝露による児甲状腺機能への影響についての疫学報告はわずか 1 報である（Dallaire et al. 2009）。さらに甲状腺ホルモンは児の脳神経発達に重要な役割を示すことが知られており、脳神経の発生・発育時期の甲状腺機能異常は脳神経発達障害を招くと考えられる（Haddow et al. 1999）。これまでに OH-PCB 曝露と 5-6 歳の注意力低下との関連が報告され（Roze et al. 2009）、また男児において臍帯中の OH-PCB 濃度と 2 歳、5 歳時の体重との関連がみとめられたとの報告があるが（Yonemoto et al. 2011、Yonemoto et al. 2012）、これらの結果は OH-PCB 曝露による甲状腺ホルモン値変動を介している可能性がある。しかし、胎児期 OH-PCB 曝露による生後の行動情緒や体格成長へ影響を与える可能性については研究が不足しており十分な結果が得られていないため、わが国における早急な検討と予防対策が急務である。

そこで本研究では、一般生活環境レベルでの OH-PCB の妊娠期曝露が及ぼす母児甲状腺ホルモン値への影響を検討することを目的とした。

B. 研究方法

2003 年から前向き出生コホート研究「環境と子どもの健康に関する北海道研究」を実施中であり、そのうち 2003 年～2005 年に参加登録を行い、2005 年までに

札幌市内同一産科医院にて出産を終えた母児 514 組を対象とした。

妊婦とその配偶者の既往歴、教育歴、世帯収入、喫煙状況などの対象者の属性は妊娠中期から後期に実施した自記式調査票、児の性別、出生時体重、出産経歴などの出生時所見は医療診療録から得た。OH-PCB 曝露評価のため、妊娠中期から後期に採血を行い、貧血のために妊娠中に採血ができなかったものは分娩後に実施した。母体血中 OH-PCB 濃度は福岡県保健環境研究所で測定し、また母児甲状腺ホルモン値（TSH、FT4）は、札幌市が実施しているマスキングの結果を用いた。

母体血中 Σ OH-PCB 濃度と母児甲状腺ホルモン値の関連については多変量解析を行った。多変量解析の独立変数は、母体血中 Σ OH-PCB 濃度とした。なお、 Σ OH-PCB 濃度、母児 TSH、FT4 値は常用対数変換して解析に用いた。従属変数は、母児 TSH、FT4 値とし、母親は出産時年齢、非妊娠時 BMI、出産回数、OH-PCB 測定用採血時期で、児は母親の出産時年齢、非妊娠時 BMI、出産回数、OH-PCB 測定用採血時期に加え、在胎週数、出生時体重、生下時採血日数、帝王切開の有無で調整して性別ごとに重回帰分析を行った。また、他物質の影響も考慮し、母児ともに PFOS、PFOA 濃度での調整も行った。統計解析には SPSS for Windows、version 16.0J を用い、 $p < 0.05$ を統計学的有意とした。

（倫理面への配慮）

本研究は、北海道大学環境健康科学研究教育センターおよび北海道大学大学院医学研究科・医の倫理委員会の承認を得た。個人名及び個人データの漏洩については、データの管理保管に適切な保管場所を確保するなどの方法により行うとともに、研究者の道義的責任に基づいて個人データをいかなる形でも本研究の研究者以外の外部の者に触れられないように厳重に保管し、取り

扱った。

C. 研究結果

514 組の母児のうち、母体血中 Σ OH-PCB 濃度と濃度が得られた 231 名の母親について、母体血中 Σ OH-PCB 濃度と濃度の平均は 35.1pg/g-wet であった。この値は諸外国および国内と比較して低い数値であった。また、甲状腺ホルモン値との関連検討は OH-PCB 測定値および甲状腺ホルモン値の両方を有する母 205 名、児 219 名（うち男児 103 名、女児 116 名）を解析対象とし、母体血中 Σ OH-PCB 濃度と母児甲状腺ホルモン値との間に crude 解析、交絡要因で調整を行った adjust model 解析ともに有意な関連は認められなかった。（Table）

D. 考察

本研究では、一般生活環境レベルでの妊娠中 OH-PCB 暴露による母児甲状腺ホルモン値への影響について検討を行ったが、母児ともに有意な関連は認められなかった。

本研究の母体血中 OH-PCB 濃度は先行研究における妊婦と比較して低い濃度であった（Kawashiro et al. 2008; Park JS et al. 2007）。これまでの報告では OH-PCB の体内濃度は代謝前の物質である PCB の濃度と相関がみられ、本研究でも一致した結果が得られた。本研究では事前にコーホート内妊婦 20 名の体内 PCB 濃度を過去の報告と比較したところ、PCB の濃度はヨーロッパ諸国より低く、千葉県柏市とインドでの報告よりやや高かったが、OH-PCB/PCB 濃度比は最も低い値を示した（Dirtu AC et al. 2010、Eguchi A et al. 2012、Gómara B et al. 2012、Kawashiro et al. 2008、Soechitram SD et al. 2004、Fängström et al. 2002）。

これは申請者らのコーホート内妊婦では他のコーホート対象者と比較して、環境

中からの曝露量が低いことに加え、体内の PCB から OH-PCB への代謝能力が低い、または OH-PCB 体外排泄能力が高いため、体内 OH-PCB 濃度が低くなっている可能性も考えられる。妊娠期は体内の異物動態が変化する時期であるため PCB の代謝環境の変化や個々の代謝能力の違いによることが考えられるが、これまでヒトにおける PCB、OH-PCB の代謝経路は明らかになっておらず、個々人の生体内代謝環境による血中濃度差についての疫学研究はない。今後は代謝遺伝子多型も含めた検討が必要である。また、高塩基の PCB は水酸化されにくく、低塩基の PCB は水酸化されやすいことから、総 PCB 濃度が高値であっても総 OH-PCB 濃度は PCB の異性体の種類によることが多い。よって、PCB および OH-PCB 異性体ごとの検討が今後必要とされる。

児の胎児期 OH-PCB 曝露による甲状腺ホルモン値への影響はみとめられず、これは過去の報告と一致していた（Dallaire et al. 2009）。しかし、Yonemoto らの報告では臍帯中の OH-PCB 濃度と 2 歳時、5 歳時の体重との関連がみられたことから（Yonemoto et al. 2012）、胎児期の OH-PCB 曝露が生後も長期にわたって影響を及ぼすと考えられ、継続的な調査が必要と思われる。甲状腺ホルモンについては、母親の妊娠初期における甲状腺機能低下症と児の IQ 低下や神経心理学発達悪化との関連を示す報告があることから（Haddow et al. 1999）、胎児初期における母親の甲状腺ホルモン値が非常に重要であることが知られている。ラットでの動物実験では母ラットの OH-PCB 曝露後に胎児血清中 T4 値の低下と TSH 値の増加がみられた（Meerts et al. 2002）。T4 値の低下という点では PCB 曝露と同様の結果がみられ（Morse et al. 1996）、これは本来生体内で代謝された OH-PCB による影響であった可能性もある。しかし、ヒトについては

報告が少なく、代謝前の物質である PCB との結果の比較を行いながらさらに検討が必要である。

E. 結論

母体血中 OH-PCB 濃度の妊娠期曝露による母児甲状腺ホルモン値への影響はみとめられなかった。今後、OH-PCB 異性体レベルでの解析や、個人の代謝遺伝子多型が及ぼす PCB 濃度と OH-PCB 濃度との関係も含め、甲状腺ホメオスターシスへの影響を検討し、学童期まで追跡して神経発達や体格へ及ぼす影響も評価する必要があると考える。

F. 研究発表

1) 論文発表

なし

2) 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

参考文献

1. Schecter A, Cramer P, Boggess K, Stanley J, Pöpke O, Olson J, Silver A, Schmitz M. 2001. Intake of dioxins and related compounds from food in the U.S. population. *J Toxicol Environ Health A*. May 11;63(1):1-18.
2. Grandjean P, Weihe P, Burse VW, Needham LL, Storr-Hansen E, Heinzow B, et al., 2001.

Neurobehavioral deficits associated with PCB in 7-year-old children prenatally exposed to seafood neurotoxicants. *Neurotoxicol Teratol*. Jul-Aug;23(4):305-17.

3. Jacobson JL, Jacobson SW. 1996. Dose-response in perinatal exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs): the Michigan and North Carolina cohort studies. *Toxicol Ind Health*. May-Aug;12(3-4):435-45.
4. Letcher RJ, Klasson Wehler E, Bergman Å. 2000. Methyl sulfone and hydroxylated metabolites of polychlorinated biphenyls. In: *New Types of Persistent Halogenated Compounds* (Paasivirta J, ed). Berlin:Springer-Verlag, 315-359.
5. Brouwer A, Morse DC, Lans MC, Schuur AG, Murk AJ, Klasson-Wehler E, Bergman A, Visser TJ. 1998. Interactions of persistent environmental organohalogenes with the thyroid hormone system: mechanisms and possible consequences for animal and human health. *Toxicol Ind Health*. Jan-Apr;14(1-2):59-84.
6. Sandau CD, Ayotte P, Dewailly E, Duffe J, Norstrom RJ. 2002. Pentachlorophenol and hydroxylated polychlorinated biphenyl metabolites in umbilical cord plasma of neonates from coastal populations in Québec. *Environ Health Perspect*. Apr;110(4):411-7.
7. de Escobar GM, Obregón MJ, del Rey FE. 2004. Maternal thyroid hormones early in pregnancy and fetal brain development. *Best Pract Res Clin*

- Endocrinol Metab. Jun;18(2):225-48.
8. Calvo RM, Jauniaux E, Gulbis B, Asunción M, Gervy C, Contempré B, Morreale de Escobar G. 2002. Fetal tissues are exposed to biologically relevant free thyroxine concentrations during early phases of development. *J Clin Endocrinol Metab.* Apr;87(4):1768-77.
 9. Kawashiro Y, Fukata H, Omori-Inoue M, Kubonoya K, Jotaki T, Takigami H, Sakai S, Mori C. 2008. Perinatal exposure to brominated flame retardants and polychlorinated biphenyls in Japan. *Endocr J.* Dec;55(6):1071-84.
 10. Dallaire R, Muckle G, Dewailly E, Jacobson SW, Jacobson JL, Sandanger TM, Sandau CD, Ayotte P 2009. Thyroid hormone levels of pregnant inuit women and their infants exposed to environmental contaminants. *Environ Health Perspect.* Jun;117(6):1014-20.
 11. Haddow JE, Palomaki GE, Allan WC, Williams JR, Knight GJ, Gagnon J, 1999. Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child. *N Engl J Med.* Aug 19;341(8):549-55.
 12. Roze E, Meijer L, Bakker A, Van Braeckel KN, Sauer PJ, Bos AF. 2009. Prenatal exposure to organohalogen, including brominated flame retardants, influences motor, cognitive, and behavioral performance at school age. *Environ Health Perspect.* Dec;117(12):1953-8.
 13. Yonemoto J., Kawahara J., Sone H., Hattori T, Matsumura T, Sugama S, Hamaguchi M, Ohya Y (2012) PRENATAL EXPOSURE TO OH-PCBs IN RELATION TO PHYSICAL DEVELOPMENT IN A BIRTH COHORT (T-Child) AT 5 YEARS OF AGE. 32nd International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, Organohalogen Compounds, 74
 14. Yonemoto J., Kawahara J., Sone H., Hattori T., Matsumura T., Ohya Y., Sugama S. (2011) Prenatal exposure to OH-PCBs in relation to body weight and neurodevelopment. 31th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, Abstract of 31th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, 73, 1211-1214
 15. Park JS, Linderholm L, Charles MJ, Athanasiadou M, Petrik J, Kocan A, Drobna B, Trnovec T, Bergman A, Hertz-Picciotto I. 2007. Polychlorinated biphenyls and their hydroxylated metabolites (OH-PCBS) in pregnant women from eastern Slovakia. *Environ Health Perspect.* Jan;115(1):20-7.
 16. Dirtu AC, Jaspers VL, Cernat R, Neels H, Covaci A. 2010. Distribution of PCBs, their hydroxylated metabolites, and other phenolic contaminants in human serum from two European countries. *Environ Sci Technol.* 2010 Apr 15;44(8):2876-83.
 17. Eguchi A, Nomiyama K, Devanathan G, Subramanian A, Bulbule KA, Parthasarathy P, Takahashi S, Tanabe S. 2012. Different profiles of anthropogenic and naturally

- produced organohalogen compounds in serum from residents living near a coastal area and e-waste recycling workers in India. *Environ Int.* 2012 Oct 15;47:8-16.
18. Gómara B, Athanasiadou M, Quintanilla-López JE, González MJ, Bergman A. 2012. Polychlorinated biphenyls and their hydroxylated metabolites in placenta from Madrid mothers. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2012 Jan;19(1):139-47.
 19. Soechitram SD, Athanasiadou M, Hovander L, Bergman A, Sauer PJ. 2004. Fetal exposure to PCBs and their hydroxylated metabolites in a Dutch cohort. *Environ Health Perspect.* 2004 Aug;112(11):1208-12.
 20. Fängström B, Athanasiadou M, Grandjean P, Weihe P, Bergman A. 2002. Hydroxylated PCB metabolites and PCBs in serum from pregnant Faroese women. *Environ Health Perspect.* 2002 Sep;110(9):895-9.
 21. Meerts IA, Assink Y, Cenijs PH, Van Den Berg JH, Weijers BM, Bergman A, Koeman JH, Brouwer A. 2002. Placental transfer of a hydroxylated polychlorinated biphenyl and effects on fetal and maternal thyroid hormone homeostasis in the rat. *Toxicol Sci.* Aug;68(2):361-71.
 22. Morse DC, Wehler EK, Wesseling W, Koeman JH, Brouwer A. 1996. Alterations in rat brain thyroid hormone status following pre- and postnatal exposure to polychlorinated biphenyls (Aroclor 1254). *Toxicol Appl Pharmacol.* Feb;136(2):269-79.

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

Table. Results of multiple linear regression analyses in maternal and infant serum TSH and FT4 by maternal OH-PCB levels

variables	log ₁₀ transformed TSH				log ₁₀ transformed FT4			
	Crude		Adjusted		Crude		Adjusted	
	B (95%CI)	p-value	B (95%CI)	p-value	B (95%CI)	p-value	B (95%CI)	p-value
log₁₀ transformed OH-PCB (pg/g)								
Mothers (n=205)	0.070 (-0.083 to 0.223)	0.369	0.023 (-0.166 to 0.212) ^a	0.809	-0.025 (-0.079 to 0.030)	0.373	0.015 (-0.049 to 0.080) ^a	0.638
Male infants (n=103)	0.067 (-0.167 to 0.300)	0.572	0.085 (-0.213 to 0.382) ^b	0.568	-0.025 (-0.078 to 0.027)	0.339	0.009 (-0.059 to 0.077) ^b	0.797
Female infants (n=116)	0.083 (-0.107 to 0.272)	0.389	0.144 (-0.077 to 0.366) ^b	0.199	0.025 (-0.026 to 0.077)	0.331	0.028 (-0.033 to 0.088) ^b	0.362

^a; adjusted for maternal age at delivery, BMI, parity, Log10 transformed PFOS and PFOA, blood sampling period of OH-PCBs and PFCs (PFOS, PFOA).

^b; adjusted for maternal age at delivery, parity, maternal BMI, gestational weeks, birth weight, experience of cesarean operation, Log10 transformed PFOS and PFOA, maternal blood sampling period of OH-PCBs and PFCs (PFOS, PFOA), blood sampling day after birth of thyroid hormones.

Statistically significant; * p < 0.05, ** p < 0.01.

血液中のビスフェノール A（BPA）の分析

研究分担者 松村 徹 いであ株式会社環境創造研究所副所長

研究要旨

昨年度までに検討し、開発した血液中のビスフェノール A（BPA）の測定分析方法を用い、ヒト血液 101 検体（母体血 44 検体及び臍帯血 57 検体）に適用し結果を得た。全操作ブランク、MDL、二重測定及び回収率の品質管理項目の結果も安定しており血液試料 1mL を用いる測定分析手法としては完成したものとする。

研究協力者

山本 潤

（いであ株式会社環境創造研究所）

A. 研究目的

ビスフェノール A（以降 BPA）はポリカーボネート製のプラスチックを製造する際、モノマーや、エポキシ樹脂の原料として使用されている化学物質であり、摂取によりエストロゲン受容体が活性化され、エストロゲンに類似した生理作用を表すことが報告されている。低用量仮説の提唱によって注目を受けたが、ヒトに対する健康影響評価に関しては現在も諸説の報告例があり継続して研究が行われているところである。また、近年、BPA については尿道下裂との関連性について幾つか報告がなされているが、血中濃度は極低濃度であり、試料間の有意な濃度差を観測するためには精確な測定値が必要と考えられる。

BPA の体内負荷量を評価するにはヒト血液中における濃度データが必要であるが、存在量は極低く測定分析が困難であり、現在のところ、確からしい結果を用いて議論されているとは言えない状況と考えられる。本研究ではヒト血液中の BPA を議論可能な濃度レベルで精確に測定する手法を開発することを目的とした。

昨年度、固相抽出カラムを用いた前処理とそれに続く同位体希釈-液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計

（ID-LC/MS/MS）法を検討した。血液中 BPA の分析においてはブランク値の低減が最も重要であったため、試薬ブランク、個々の前処理段階におけるブランク、カートリッジからの溶出ブランク及び全操作ブランク、並びに前処理用カートリッジカラムのコンディショニング方法の検討を行い、最終的にブランク値を 0.1ng/mL 未満のレベルに安定して抑えることに成功した。本年度は確立した方法を実際のヒト血液試料 101 検体に適用し、結果を得た。

B. 研究方法

開発した同位体希釈-液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計（以降 ID-LC-MS/MS）をヒト血液試料 101 検体（母体血 44 検体及び臍帯血 57 検体）に適用した。内標準物質として、BPA-d₁₆ をクリーンアップスパイク、BPA-2,2',6,6'-d₄（BPA-d₄）をシリンジスパイクとして用いた。また、固相充填済み樹脂製カートリッジカラムとして ISOLUTE マルチモード（500mg/3mL, Biotage 社製; 904-0050-B）を用いた。

最終的に決定した分析フローを図 1 に LC-MS/MS の測定条件を表 1 に示す。

C. 研究結果・考察

(1) 操作ブランク及び分析法の検出下限値（MDL : Method Detection Limit）

試料 101 検体は、4 ロットにわけて分析を行い、各ロットについて操作ブランク試験をそれぞれ 5 回実施した。操作ブランク試験の結果を及びそれによって計算された MDL を表 2 に示す。操作ブランクの平均値は 1 回目 0.040ng/mL、2 回目 0.030ng/mL、3 回目 0.049ng/mL 及び 4 回目 0.036ng/mL と 0.1 ng/mL 未満であった。また 4 回の操作ブランク試験の結果より計算された MDL は 1 回目 0.032ng/mL、2 回目 0.015ng/mL、3 回目 0.048ng/mL 及び 4 回目 0.045ng/mL であった。昨年度と同様に、操作ブランク及び MDL は、0.1ng/mL 未満であった。

(2) 二重測定

測定分析における品質管理の一環として 8 試料（全検体数の 7.9%）について二重測定を実施した。結果を表 3 に示す。二重測定における差は 5.3～20%であった。

(3) ヒト血液の分析

ヒト血液試料 101 検体（母体血 44 検体及び臍帯血 57 検体）について BPA の測定分析を行った。結果を表 4 に示す。血液中の BPA 濃度は、ND～0.18ng/mL（平均値 0.075ng/mL、中央値 0.069ng/mL）であった。なお、表 4 における BPA 濃度は、操作ブランク値を差し引いた値で、ND は、4 回の分析ロットごとに求めた検出下限値（MDL）未満であることを示す。

(4) 回収率

検体の測定における各試料の回収率（クリーンアップスパイク内標準物質（BPA d-16）/シリンジスパイク内標準物質（BPA d-4））の値を用い、回収率を計算した。結果を表 4 に示す。全試料において回収率は 60～96%の範囲であった。なお、本分析方法は内標準法であるので回収率の数値は結果に影響を与えない。

(5) 装置の応答変動の確認

装置の応答変動の確認のため、チェック用標準液（PA 濃度 1.0ng/mL）を実試料 7～10 検体ごとに測定し、その相対感度係数（RRF）を検量線作成時の RRF と比較した。4 回の分析ロットにおける測定時の装置の応答変動を表 5 に示す。各測定におけるチェック標準液の RRF は、4 回の分析ロットで 89～101%の範囲であった。また、測定ごとの RRF（平均）は、0.98、0.99、0.98 及び 0.98 であり、測定間の差がないことが確認された。

D. 結論

本研究で開発した分析方法によって血液中の BPA を評価可能な濃度レベルでデータ取得可能となった。昨年度から実試料計 171 検体へ適用したが、全操作ブランク、MDL、二重測定及び回収率の品質管理項目の結果も安定しており、試料 1mL を用いる手法の開発としては現在の科学技術レベルの範囲においては完成したものと考える。ただし、試薬及び実験器具の品質管理には細心の注意が必要である。MDL の更なる低減に関しては装置本体の検出感度に依存するので今後の装置の進歩に期待したい。

E. 健康危険情報

該当なし

F. 研究発表

1) 論文発表

なし

2) 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

参考文献

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

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

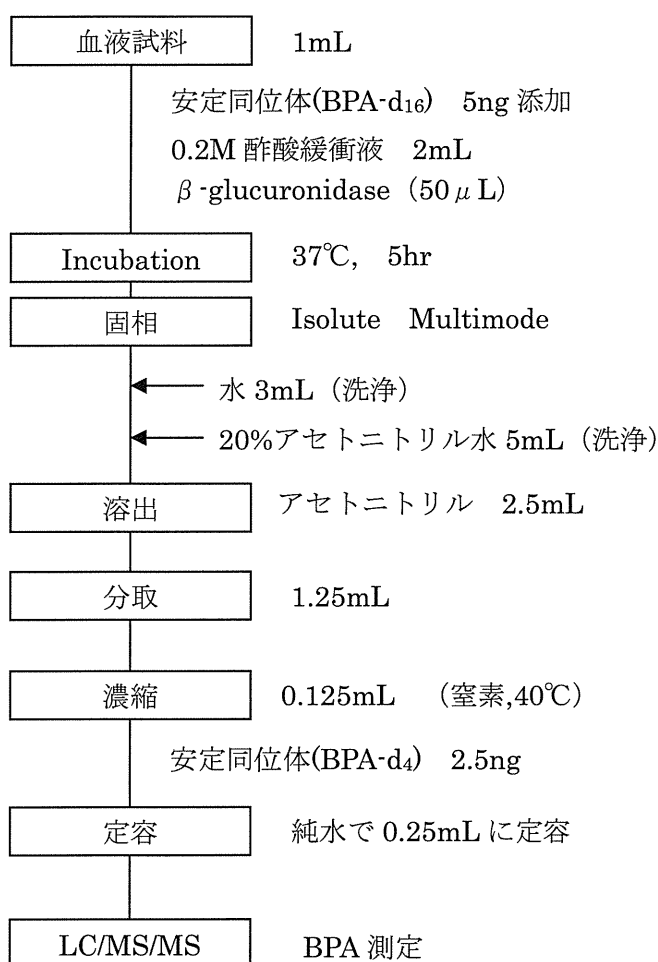


図 1. 血液中の BPA の分析フロー