

由のPFCAs総摂取量 (C8からC14の合計、幾何平均値)から血中濃度を求めると、関西で2.9ng/mLであり、東北では0.7ng/mLであった。この値はTable 4の実際の血清中のC8の測定値と近く、血清中のC8は3割から9割が食事由来であると推測できる。近年PFCAsを高濃度に含有する化粧品・日焼け止め等の消費者製品の存在も報告されており(Fujii et al. 2013)、それらによる汚染を受けている可能性も考えられる。今後は生活様式等を含めた解析を行う必要がある。

E. 結論

本研究では京都大学生体試料バンクの保存試料を使用し、食事試料と血清試料中に含まれるPFCAsの測定を行い、日本におけるPFCAsの食事を通じた摂取量と血清中濃度の動向を明らかにした。その結果、総PFCAs 摂取量は最大値でもPFOAの耐容一日摂取量より十分に低い値であった。C8においては、血清中濃度の3割から9割が食事由来であると推測された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表・その他

第84回日本衛生学会学術総会
(2014年5月25-27日 岡山)

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

Apelberg, B.J., Witter, F.R., Herbstman, J.B., Calafat, A.M., Halden, R.U., Needham, L.L., Goldman, L.R., 2007. Cord serum concentrations of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) in relation to weight and size at birth. *Environ Health Persp* 115, 1670-1676.

Calafat AM, Wong LY, Kuklennyik Z, Reidy JA, Needham LL. 2007. Polyfluoroalkyl chemicals in the us population: Data from the national health and nutrition examination survey (nhanes) 2003-2004 and comparisons with nhanes 1999-2000. *Environmental Health Perspectives* 115:1596-1602.

D'Hollander W, de Voogt P, De Coen W, Bervoets L. 2010. Perfluorinated substances in human food and other sources of human exposure. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, Vol 208 208:179-215.

Fujii Y, Harada KH, Koizumi A. 2013. Occurrence of perfluorinated carboxylic acids (pfcas) in personal care products and compounding agents. *Chemosphere* 93:538-544.

Glynn A, Berger U, Bignert A, Ullah S, Aune M, Lignell S, et al. 2012. Perfluorinated alkyl acids in blood serum from primiparous women in sweden: Serial sampling during pregnancy and nursing, and temporal trends 1996-2010. *Environmental Science & Technology* 46:9071-9079.

Harada KH, Hitomi T, Niisoe T, Takanaka K, Kamiyama S, Watanabe T, et al. 2011. Odd-numbered

perfluorocarboxylates predominate over perfluorooctanoic acid in serum samples from japan, korea and vietnam. *Environment International* 37:1183-1189.

Kärman A, Harada KH, Inoue K, Takasuga T, Ohi E, Koizumi A., 2009. Relationship between dietary exposure and serum perfluorochemical (PFC) levels--a case study. *Environ Int* 35, 712-7.

Loccisano AE, Campbell JL, Jr., Butenhoff JL, Andersen ME, Clewell HJ, 3rd. 2012. Comparison and evaluation of pharmacokinetics of pfoa and pfos in the adult rat using a physiologically based pharmacokinetic model. *Reproductive toxicology* 33:452-467.

Niisoe T, Harada KH, Ishikawa H, Koizumi A. 2010. Long-term simulation of human exposure to atmospheric perfluorooctanoic acid (pfoa) and perfluorooctanoate (pfo) in the osaka urban area, japan. *Environ Sci Technol* 44:7852-7857.

Olsen GW, Burris JM, Ehresman DJ, Froehlich JW, Seacat AM, Butenhoff JL, et al. 2007. Half-life of serum elimination of perfluorooctanesulfonate, perfluorohexanesulfonate, and perfluorooctanoate in retired fluorochemical production workers. *Environ Health Perspect* 115:1298-1305.

Vestergren, R., Ullah, S., Cousins, I.T., Berger, U., 2012. A matrix effect-free method for reliable quantification of perfluoroalkyl carboxylic acids and perfluoroalkane sulfonic acids at low parts per trillion levels in dietary samples. *J Chromatogr A*

Yeung LW, Robinson SJ, Koschorreck J, Mabury SA. 2013. Part i. A temporal study of pfcas and their precursors in human plasma from two german cities 1982-2009. *Environ Sci Technol* 47:3865-3874.

Table1 Study area and study population

Sample type	Study Area	Year	City	N (All females)	Age	
					Mean (SD)	Range
Diet	Kansai	2003, 2004	Kyoto	18	51.8 (21.1)	21-76
	Tohoku	2004	Miyagi	16	21.5 (0.5)	21-22
Serum	Kansai	2004, 2005	Kyoto, Wakayama	30	37.7 (11.9)	24-63
	Tohoku	2003	Miyagi	30	45.2 (8.6)	30-59

Table 2

Recoveries and method detection limits for PFCAs analysis of serum and diet

Compound	(carbon atoms)	Quantification ions (confirmation ions) m/z	Instrument detection limit ^a (pg) (S/N=3)	Recovery of PFCAs ^b % (SD%)		Procedural blank (SD) (pg, n=8)
				Serum (500ng spiked, n=6)	Diet (50pg spiked, n=6)	
PFOA	(C8)	413 (394)	0.003	87(12)	72(11)	1.2(0.4)
PFNA	(C9)	463 (444)	0.003	94(8)	73(15)	1.4(0.9)
PFDA	(C10)	513 (494)	0.004	87(6)	79(7)	1.1(0.3)
PFUnDA	(C11)	563 (544)	0.004	95(7)	83(5)	1.3(0.4)
PFDoDA	(C12)	613 (594)	0.005	96(5)	91(11)	n.d.
PFTTrDA	(C13)	663 (644)	0.005	99(6)	89(12)	n.d.
PFTeDA	(C14)	713 (694)	0.007	106(7)	104(20)	n.d.

SD: relative standard deviation

^a 1 μ L injection^b All native PFCAs were spiked into samples before extraction.

Table 3

Dietary intake of PFCAs from composite food samples (ng day^{-1})

Area	Year (No. of pooled diets)	City		ng day^{-1}							Total (C8-C14)
				PFOA (C8)	PFNA (C9)	PFDA (C10)	PFUnDA (C11)	PFDoDA (C12)	PFTTrDA (C13)	PFTeDA (C14)	
Kansai	2003-2004 (n=18)	Kyoto	% of detection	100	78	61	83	56	78	39	-
			Median (Range)	16.4(2.3-72.1)	6.3(0.4-32.2)	2.8(0.7-34.4)	17.0(2.1-203.6)	1.5(0.4-40.0)	13.6(0.4-105.2)	0.8(0.4-27.4)	59.8(16.9-407.6)
			Mean \pm SD	18.9 \pm 16.3	7.8 \pm 8.3	7.5 \pm 10.2	50.1 \pm 67.0	9.1 \pm 12.6	26.1 \pm 31.8	7.8 \pm 9.9	127.2 \pm 129.1
			GM	14.6	3.9	3.2	20.5	2.4	8.3	2.3	78.9
Tohoku	2004 (n=16)	Miyagi	% of detection	81	88	94	88	38	75	0	-
			Median (Range)	5.2(0.4-14.4)	7.5(0.4-18.6)	4.4(0.8-7.9)	14.1(2.3-41.3)	0.6(0.3-73.1)	4.3(0.4-28.4)	-	39.7(24.0-107.2)
			Mean \pm SD	5.7 \pm 4.5	8.2 \pm 5.1	4.6 \pm 1.9	16.3 \pm 11.6	6.8 \pm 18.0	7.3 \pm 8.0	-	49.7 \pm 26.0
			GM	3.5	5.8	4.1	12.5	1.5	3.7	-	44.6

SD: standard deviation; GM: geometric mean;

Concentrations lower than the detection limits were given a value of half the detection limit for statistical analyses.

Table 4

Concentration of PFCAs in serum samples (pg ml^{-1})

Area	Year (No. of pooled diets)	City		ng day^{-1}							Total (C8-C14)
				PFOA (C8)	PFNA (C9)	PFDA (C10)	PFUnDA (C11)	PFDoDA (C12)	PFTTrDA (C13)	PFTeDA (C14)	
Kansai	2004-2005 (n=30)	Kyoto	% of detection	100	100	100	100	90	100	37	-
			Median (Range)	5051(2153-35337)	1864(571-9701)	609(178-3603)	1337(224-9040)	96(0-1401)	197(59-1045)	0(0.0-142)	9157(3655-56371)
			Mean \pm SD	7051 \pm 6325	2430 \pm 2197	854 \pm 730	1697 \pm 1590	157 \pm 246	214 \pm 188	29 \pm 48	12431 \pm 10447
			GM	5694	1899	697	1379	67	180	3	10212
Tohoku	2003 (n=30)	Miyagi	% of detection	100	100	100	100	100	100	7	-
			Median (Range)	2523(1147-5858)	1114(396-2631)	421(191-767)	1418(748-3108)	93(13-231)	203(103-536)	0.0(0.0-137.0)	6017(3306-11129)
			Mean \pm SD	2703 \pm 1115	1178 \pm 434	443 \pm 131	1598 \pm 622	107 \pm 57	246 \pm 123	7.0 \pm 27.0	6283 \pm 1905
			GM	2499	1103	424	1490	90	220	1.0	5992

SD: standard deviation; GM: geometric mean;

Concentrations lower than the detection limits were given a value of half the detection limit for statistical analyses.

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

(3) 東日本大震災後の宮城県における母親の母乳中残留性有機汚染物質の検討

研究代表者	小泉 昭夫	京都大学大学院医学研究科・教授
研究分担者	原田 浩二	京都大学大学院医学研究科・准教授
研究協力者	藤井 由希子	京都大学大学院医学研究科・大学院生

研究要旨

東日本大震災によって建物が倒壊し、津波により様々な廃棄物が発生、拡散した。これに伴い施設などに保管・管理されていた多様な化学物質が環境中に放出されたと考えられるが、放射性物質を除き、化学物質への曝露調査はほとんど実施されていなかった。本研究では、震災時に環境中に流出した化学物質のうち、生物に蓄積して健康を脅かす可能性のある残留性有機汚染物質に着目し、2012年に宮城県授乳婦から提供してもらった母乳試料100検体を調査した。化学分析により、震災を前後して経時的な変化があったのかを検討した。環境汚染物質の分析としては、GC-ECNI-MSを用いた高感度分析法を用いて、残留性有機汚染物質のうち、有機塩素系農薬、PCB類を測定した。またこれまで監視対象でなかった物質（塩素系難燃剤、塩素系非意図的生成物）も検索し、それらによる環境汚染の現状を評価した。その結果、2012年時点で、過去の水準とほぼ同程度であった。今後の追跡調査の端緒となると考えられた。

A. 研究目的

東日本大震災によって建物が倒壊し、津波により様々な廃棄物が発生、拡散した。これに伴い施設などに保管・管理されていた多様な化学物質が環境中に放出されたと考えられるが、放射性物質を除き、化学物質汚染のヒト曝露調査はほとんど実施されていない(1-2)。

本研究では、震災時に環境中に流出した化学物質のうち、生物に蓄積して健康を脅かす可能性のある残留性有機汚染物質に着目し、震災以前より継続的にバンキングしている母乳試料を、環境汚染物質の化学分析に使用した。これまでのモニタリング結果により試料中の化学物質濃度の時系列的

変動を評価した。環境汚染物質の分析としては、GC-ECNI-MSを用いた高感度分析法を駆使し、これまで監視対象でなかった物質も検索し、それらによる環境汚染の現状を把握することを目的とした。

B. 研究方法

・測定試料

平成24年度に宮城県仙台市で収集された母乳試料100検体を、環境汚染物質の化学分析に使用した(3)。平成21年度から23年度における厚生労働科学研究費補助金による課題で得られた化学物質濃度と比較し、震災後の時系列的変動を評価した。環境汚染物質の分析としては、GC-ECNI-MSを

用いた高感度分析法を駆使し、これまで監視対象でなかった物質も検索し、それらによる環境汚染の現状を把握した。

この研究に関する計画書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ている(E25)。母乳提供者全員から書面による同意を得ている。

Table 1 に、参加者の居住地域、採取年、出産回数、年齢、喫煙、飲酒習慣を示す。

・試薬

POPs 関連物質のうち、DDTs (p,p'-DDT, p,p'-DDE, p,p'-DDD)、PCBs (PCB-118, PCB-138, PCB-146, PCB-153, PCB-156, PCB-170, PCB-180, PCB-182/187, PCB-194, PCB-199, PCB-206)、hexachlorocyclohexane (α -HCH, β -HCH, γ -HCH)、chlordanes (cis-CHL, trans-CHL, oxychlordane, cis-nonachlor, trans-nonachlor)、pentachlorobenzene (PeCB)、hexachlorobenzene (HCB)、heptachlor、cis-heptachlor epoxide (HCE)、toxaphenes (#26, #50)、octachlorostyrene、Dec 602、Dec 603、Dec 604、Dec 605を分析対象とした。定量化のための標準液として使用された Expanded POPs Pesticides Calibration Solutions CS1-CS6 (ES-5464)、Expanded POPs Pesticides Cleanup Spike (ES-5465)、syn-DP、anti-DP、POPs Toxaphene Calibration Solutions with PCB Syringe (ES-5351)、octachlorostyrene (ULM-4559) は Cambridge Isotope Laboratoriesより購入した。Native PCB Solution/Mixture for MS Detection (BP-MS)、Mass-Labelled PCB Congeners

(P48-M-ES) は Wellington Laboratoriesより購入した。Dec 602 (95%)、Dec 603 (98%)、Dec 604 (98%)は Toronto Research Chemical Inc. (Toronto, ON,)より購入した。

$^{13}\text{C}_{12}$ -2,3,3',5,5' - ペンタクロロビフェニル (CB-111、CIL社製) を定量の内部標準として使用した。イソプロパノール、ジエチルエーテル、ヘキサン、ノナン、ジクロロメタンは残留農薬試験及びポリ塩化ビフェニル試験用 (関東化学社製) を使用した。フロリジルは和光純薬製を使用した。

・抽出、精製と機器分析

母乳試料を攪拌し、試料5mLをポリプロピレン製遠沈管に分取し、抽出溶媒 (2:1:3 (vol / vol) イソプロパノール/ジエチルエーテル/ヘキサン) 9mL、炭素13標識標準物質 (PCB類、有機塩素系農薬、Dechlorane plus) 500pgを加えて、ボルテックス攪拌の後、遠心分離した。有機層をナスフラスコに移しとり、再度、抽出溶媒8mLを加えて抽出操作を繰り返した。合わせた有機層を、ロータリーエバポレーターを用いて濃縮させた。粗抽出液を、メスフラスコを用いてヘキサン10mLに希釈した。一部を量り取り脂質重量を計量した。蒸留水を粗抽出液に加え、ボルテックス攪拌の後、遠心分離した後、水層を除去した。

粗抽出液10mLを8g活性化フロリジルカラム (Florisil PR、和光純薬製) に滴下し、ヘキサン20mLで溶出させ (第一画分)、10% ジクロロメタン/ヘキサン溶液40 mLで溶出させた (第二画分)。溶出液はロータリーエバポレーターを用いて約1mLに濃縮させた。ノナン0.1mLに濃縮して $^{13}\text{C}_{12}$ 標識CB-111を添加し、GC/MS分析に供した。

・化学分析

GC/MSは、Agilent 6890、5973iを用いた。キャピラリーカラムはHP-5MSを用いて、全長30m×内径0.25mm、膜厚0.25 μ mとした。DDT類は電子イオン化法で分析した。それ以外の測定対象物質はメタンガスを用いた負イオン化学イオン化法で分析した。

検出限界 (IDL) はS/N比3として定義した。ブランクサンプルではIDL以下なので、検出限界 (MDL) の値はIDLに等しいとした。

ブランク試料を用いて、抽出精製のコンタミネーションを評価した。

C. 研究結果

母乳(n=100)中の結果をTable 2に示す。

・PCB類

PCB総濃度(11 congeners)は15.2-242 ng/g lipid、mean 76.2 pg/g lipidであった。同族体のパターンはこれまでの母乳中PCBを測定した結果に合致している。2005年からの測定値と比較して、2012年はほぼ等しい結果であった。

・ヘキサクロロシクロヘキサン

HCHsの主成分は β -HCHであり、総HCHsの80%を占めた。2012年の結果は、 β -HCHは0.24-58.86 ng/g lipid、mean 10.7 ng/g lipid であり、2008年からの測定結果の変動の範囲内であった。2009年の測定値はプール試料を測定しているため、平均値が下がったと考えられる。

・クロロベンゼン類

ヘキサクロロベンゼンは、2.78-58.93 ng/g lipid、mean 11.58 ng/g

lipid であった。

これまでの測定では2007年で突出しているが、その後は10 ng/g lipidから20 ng/g lipidの水準であり、2012年も同程度であった。

ペンタクロロベンゼンは2009年にストックホルム条約に追加指定された物質であり、今回、測定対象とした。0.05-3.45 ng/g lipid、mean 0.55 ng/g lipid であり、経年的な比較対象がないが、ヘキサクロロベンゼンに比べて存在量はわずかであった。

オクタクロロスチレンは有機塩素化合物製造時、塩化マグネシウムの精錬時の副生物である。フィンランドとデンマークで母乳の測定例があるが(4)、それ以外に調査例が無いため、今回測定対象とした。2012年の測定結果は0.04-3.19 ng/g lipid、mean 0.46 ng/g lipid であり、既報の0.05-0.70 ng/g lipidの範囲と同程度であった。

・クロルデン類

母乳中総クロルデン類の平均値は39.76 ng/g lipidであった。クロルデン製品はtrans-chlordane、cis-chlordaneおよびtrans-nonachlorのほか、heptachlorを含む。クロルデン類は生体内で代謝物oxy-chlordaneへ変換され、またheptachlorは土壌や生体内でheptachlor epoxideとして蓄積する。母乳中では、trans-nonachlor、oxy-chlordaneが主要な構成となっており、これまでの測定結果と同等であった。

2007年から2009年の測定では総クロルデン類は30-40 ng/g lipidであり、2012年もこの変動の範囲であった。

・mirex, toxaphenes

トキサフェンおよびマイレックスは日本では農薬登録されなかったが、諸外国での使用の影響を受けて食事

から摂取していると考えられている。

2012年のマイレックス分析結果は0.20-6.32 ng/g lipid、mean 1.31 ng/g lipid であり、トキサフェンは0.39-350 ng/g lipid、mean 9.50 ng/g lipid であった。トキサフェンは1例が高濃度で、異性体P26、P50ともに高かった。

2008年、2009年の測定と比較しても平均値に著明な変化はなかった。

・ DDT類

DDTs類のうち、p,p'-DDE が主要な構成となっている。母乳中総DDT類は3.28-670 ng/g lipid、mean 73.49 ng/g lipid であった。2007年から2009年の測定では総DDT類は107-257 ng/g lipidであり、2012年もこの変動の範囲であった。

・ その他塩素系化合物

Dechlorane類はいずれの試料からも検出されなかった (Dec602, 603, 605の検出限界は1ng/mL、Dec 604は20 ng/mL)。

D. 考察

今回得られた母乳中POPs濃度はこれまでに報告されている定量値の範囲内である(5-7)。東日本大震災による影響は現時点では確認できなかった。中長期的な変化について、試料バンクを用いた継続した調査が必要である。

今回、これまでに国内で測定例がない塩素系化合物の測定を試みた。ペンタクロロベンゼン、オクタクロロスチレンは、検出されても他のPOPsに比べれば微量であり、他国での測定例と大きな違いはなかった。Dechlorane類は難燃剤としての利用が現在もなされているが、検出される試料がなか

ったことから、食事などを介した曝露はそれほど大きくないと予想される。

E. 結論

宮城県における母乳試料中残留性有機汚染物質濃度は、震災を前後して明確な変化がなかった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

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

(1) Bird, Winifred A., and Elizabeth Grossman. "Chemical aftermath: contamination and cleanup following the Tohoku earthquake and tsunami." *Environmental health perspectives* 119.7 (2011): a290.

(2) Shibata, Tomoyuki, Helena Solo-Gabriele, and Toshimitsu Hata. "Disaster waste characteristics and radiation distribution as a result of the Great East Japan Earthquake." *Environmental science & technology* 46.7 (2012): 3618-3624.

(3) Koizumi A, Harada K, Inoue K, Hitomi T, Yang H-R, Moon C-S,

Wang P, Hung N, Watanabe T, Shimbo S, Ikeda M. Past, present, and future of environmental specimen banks. *Environmental Health and Preventive Medicine* 2009;14:307-18.

(4) Damgaard IN, Skakkebaek NE, Toppari J, Virtanen HE, Shen H, Schramm KW, Petersen JH, Jensen TK, Main KM. Persistent pesticides in human breast milk and cryptorchidism. *Environ Health Perspect* 2006;114:1133-8.

(5) Fujii Y, Ito Y, Harada KH, Hitomi T, Koizumi A, Haraguchi K. Comparative survey of levels of chlorinated cyclodiene pesticides in breast milk from some cities of China, Korea and Japan. *Chemosphere* 2012;89:452-7.

(6) Haraguchi K, Koizumi A, Inoue K, Harada KH, Hitomi T, Minata M,

Tanabe M, Kato Y, Nishimura E, Yamamoto Y, Watanabe T, Takenaka K, Uehara S, Yang HR, Kim MY, Moon CS, Kim HS, Wang P, Liu A, Hung NN. Levels and regional trends of persistent organochlorines and polybrominated diphenyl ethers in Asian breast milk demonstrate POPs signatures unique to individual countries. *Environ Int* 2009;35:1072-9.

(7) Inoue K, Harada K, Takenaka K, Uehara S, Kono M, Shimizu T, Takasuga T, Senthilkumar K, Yamashita F, Koizumi A. Levels and concentration ratios of polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in serum and breast milk in Japanese mothers. *Environ Health Perspect* 2006;114:1179-85.

Table 1. Characteristics of donors of breast milk samples

Sampling site	Japan	Sendai
Year		2012
<i>n</i>		100
Age (year) ^a	(mean±SD) (range)	31.5±5.0 20-42
Parity(<i>n</i>)	1 2 3 4	58 29 8 3
Smoking	non ex current	48 18 1
Drinking ^c	non ex current social	29 56 0 12

Table 2. Mean concentrations (ng g_{lipid}⁻¹) of POPs in breast milk samples from Sendai, Japan.

Compounds	Sendai, Japan				
	2005 (n=40) Inoue et al.	2007 (n = 20) Haraguchi et al.	2009 (n = 10 (30) Fujii et al.	2008-2009 (n=20) 厚生労働科学研究	2012 (n = 100) Present study
CB74	2.75(1.55)	4.21(2.81)	-	2.82(1.46)	-
CB101	-	1.16(1.26)	-	1.01(0.91)	-
CB99	4.15(2.13)	4.32(2.81)	-	4.36(2.63)	-
CB118	5.65(3.28)	7.25(4.34)	-	6.18(3.63)	1.31(1.37)
CB105	-	2.01(1.34)	-	1.58(0.88)	-
CB146	2.56(1.42)	4.41(3.05)	-	3.80(2.46)	3.88(2.86)
CB153	23.83(12.37)	22.78(17.04)	35.93(9.32)	25.16(14.22)	26.21(18.47)
CB138	13.58(6.82)	15.62(10.60)	-	14.59(8.28)	18.09(13.34)
CB128	-	1.10(0.71)	-	0.90(0.55)	-
CB155	-	-	-	1.88(1.28)	-
CB156	1.85(1.03)	3.23(2.20)	-	1.96(1.10)	0.83(0.71)
CB174	-	-	-	1.21(0.69)	-
CB187	5.11(2.86)	4.15(3.48)	-	5.82(3.47)	6.56(4.73)
CB182/183	-	1.74(1.28)	-	1.56(0.92)	-
CB179	-	-	-	1.20(0.77)	-
CB180	9.68(5.46)	9.27(7.20)	-	8.06(4.42)	11.83(8.31)
CB170	3.50(1.95)	4.47(3.27)	-	2.87(1.59)	3.90(2.68)
CB199	0.97(0.54)	-	-	-	1.31(0.85)
CB194	0.94(0.52)	-	-	-	1.03(0.65)
CB206	0.21(0.11)	-	-	-	0.28(0.55)
ΣPCB	78.57(40.56)	86.42(55.39)	-	84.98(46.53)	76.16(51.36)
α-HCH	-	-	0.26(0.11)	0.13(0.09)	2.09(2.60)
β-HCH	-	-	6.90(5.29)	46.73(23.46)	10.65(10.08)
γ-HCH	-	-	0.11(0.23)	0.05(0.09)	0.67(0.77)
ΣHCH	-	-	-	46.91(23.46)	13.41(11.08)
PeCB	-	-	-	-	0.55(0.49)
HCB	-	47.00(56.70)	19.30(7.53)	10.27(4.88)	11.58(7.40)
Octachlorostyrene	-	-	-	-	0.46(0.45)
Oxy-chlordane	-	-	14.44(5.99)	9.61(6.62)	10.76(9.74)
Trans-chlordane	-	-	0.21(0.17)	0.09(0.06)	0.46(1.35)
Cis-chlordane	-	2.01(3.11)	0.25(0.10)	0.16(0.11)	0.44(0.61)
Trans-nonachlor	-	20.91(28.11)	37.38(19.89)	20.34(10.88)	24.73(24.32)
Cis-nonachlor	-	7.13(8.28)	5.62(3.28)	3.03(2.40)	3.37(3.21)
ΣChlordane	-	30.05(38.76)	-	33.23(19.29)	39.76(35.71)
Heptachlor epoxide	-	-	5.15(1.89)	4.37(1.94)	4.20(4.57)
Mirex	-	-	1.11(0.35)	0.58(0.76)	1.31(0.99)
Toxaphene (P26)	-	-	1.11(0.38)	0.95(1.04)	1.52(5.33)
Toxaphene (P50)	-	-	2.09(0.72)	1.65(1.85)	1.64(6.34)
ΣToxaphene	-	-	-	2.59(2.86)	3.17(11.62)
ppDDE	-	246.75(229.05)	-	104.56(53.86)	69.59(88.33)
ppDDT	-	6.87(4.46)	-	2.08(1.64)	2.24(2.65)
ppDDD	-	1.70(0.95)	-	-	1.66(2.12)
ΣDDT	-	256.50(231.65)	-	106.64(54.63)	73.49(90.09)

Data are presented as Mean(Standard deviation).

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

炭素鎖の異なる有機フッ素カルボン酸のヒト・マウス体内動態モデル

研究代表者	小泉 昭夫	京都大学大学院医学研究科・教授
研究分担者	原田 浩二	京都大学大学院医学研究科・准教授
研究分担者	小林 果	京都大学大学院医学研究科・特定助教
研究協力者	藤井 由希子	京都大学大学院医学研究科・大学院生
研究協力者	新添 多聞	京都大学防災研究所・研究員

研究要旨

ペルフルオロアルキルカルボン酸(PFCAs)は多数の炭素鎖の異なる同族体をもつ残留性有機汚染物質である。前年度の課題でヒトとマウスともにPFCAsの尿中クリアランスは鎖長が長くなるにつれ低下し、糞中クリアランスは増加することを見出した。今年度はさらに中枢神経系への移行を評価し、また2-コンパートメントモデルによる体内動態のモデル化を試みた。血中PFCA濃度の推移を2-コンパートメントモデルに当てはめて、パラメータ解析を行ったところ、分布容積は鎖長が大きくなるにしたがい増加し、AUCはC8で最大となり、より大きいPFCAsでは減少した。また糞便中クリアランスを静脈投与、経口投与で比較し、PFCAsの理論的腸管吸収率を計算したところ、94% - 104%と極めて高い吸収率を示した。2-コンパートメントモデルで既報の高用量PFOA反復投与実験の経口投与量をシミュレートしたところ、実験値に近い結果が得られた。また排出と分布の速度は十分離れているため、1-コンパートメントモデルとしても記述しうると考えられた。総クリアランスはマウスでC10、ヒトでC9が最も低くなるが、その大きさは50 - 100倍の差があった。脳脊髄液へのPFCAsの移行は小さく、血液脳関門の障壁があると考えられた。以上のPFCAs特性と体内動態モデルはPFCAsの蓄積性の理解に資するものであった。

A. 研究目的

ペルフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) やペルフルオロオクタン酸 [PFOA, 8個の炭素原子を持ち (C8) と略称する] のような過フッ素化学物質は、環境で検出されており、それらの毒物動態学は広範囲に検討されてきた。それらの生物学的半減期は、他の実験動物モデルよりもヒトでかなり長い(Ohmori et al. 2003; Olsen et al.

2007)。ヒトにおけるより長い生物学的半減期の理由は明らかでない。

PFOAは肝毒性、発生毒性、免疫毒性および内分泌攪乱を引き起こすことが判明している(Lau et al. 2007)。したがって、PFOA以外のより短鎖長のペルフルオロカルボン酸塩 (PFCAs)、例えばペルフルオロブタン酸とペルフルオロヘキサン酸 (C4からC6) が、商用アプリケーションに使用されている(EPA, 2012)。これら

の短鎖PFCAsはPFOAよりも毒性が低いと考えられ(Chengelis et al. 2009a; Das et al. 2008)、おそらくそれは、PFOAに比べて比較的短い半減期に起因する(Chang et al. 2008; Chengelis et al. 2009b)。対照的に、ペルフルオロノナン酸(PFNA、C9)とペルフルオロデカン酸(PFDA、C10)などの長鎖PFCAsは、げっ歯類においてPFOAよりも比較的長い半減期を示した(Kudo et al. 2001; Ohmori et al. 2003; Tatum-Gibbs et al. 2011)。直鎖PFCAsが生物学的に代謝されないことはよく知られている(Vanden Heuvel et al. 1991)。さらに、いくつかのインビトロ研究は、生物学的活性は、親化合物のアルキル鎖長に依存することを見出している(Liao et al. 2009; Matsubara et al. 2006; Upham et al. 1998)。それにもかかわらず、長鎖PFCAsレベルの増加は、最近10年でヒト血清中、日常の食事で認められている(Glynn et al. 2012; Harada et al. 2011; Fujii et al. 2012)。

本研究では、マウスおよびヒトにおけるC6-C14のPFCAsの毒物動態学の違いを調査することを目的とした。マウスにおけるPFCA強制経口投与後、静脈内投与(IV)後の24時間について、血清濃度、組織分布および排出が評価された。ヒトのPFCAsの尿クリアランス、胆汁クリアランスおよび脳脊髄液(CSF)移行は、比較のために収集した。これらの比較は、これまで、その毒性学的重要性にもかかわらず、報告されていない。

B. 研究方法

B-1. 動物実験

動物:全ての実験は、8~10週齢(体重20~30g)マウスを用いて行った。FVB/NJCLマウスは日本クレア(東京)から購入し、京都大学動物実験施設に収容した。標準的な市販の実験用固形飼料(F-2、3.73kcal/g、船橋農場(株)、千葉県、日本)を用いた。全ての動物は、12時間の明/暗サイクルで周囲温度 $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、 $50\pm 10\%$ の湿度に維持した。マウスを個々に代謝ケージに入れ、水および食物に自由にアクセスさせた。

試料収集:各PFCAは、IVまたは強制経口投与した。PFCAsをエタノール/水/ジメチルスルホキシド(5:4:1)に溶解し、IVおよび強制経口投与の両方にMilli-Q水により最終調製した。単回用量PFCAsを尾静脈(IV用量 $0.31\ \mu\text{mol}/\text{kg}$ 、注入体積 $0.1\text{mL}/\text{kg}$)を介して、または経口投与(強制経口投与量 $3.13\ \mu\text{mol}/\text{kg}$ 、注入体積 $0.1\text{mL}/\text{kg}$)で投与した。各投与群は、9雄マウスと9雌マウスの18匹を含んでいた。

PFCA血清中濃度の経時変化を観察するために、全血試料を、IV又は強制経口投与後0、1、3、6、12および24時間後に尾静脈から採取した。追加の採取は、静脈内投与の0.5時間目に行われた。研究プロトコルは、表1にまとめている。

24時間後まで、尿と便を代謝ケージに集めた。次いで、マウスをセボフルラン麻酔下に置き、頸椎脱臼により安楽死させた。全血の一部を採取し、遠心分離し(370g)血清を単離した。肝臓、腎臓および脳組織を回収し、秤量した。脂肪組織は、腹部腸間膜脂肪から採取した。マウスにおける総血清は、雄マウス $56\text{mL}/\text{kg}$ マウス体重および雌マウス $65\text{mL}/\text{kg}$ マウス体重と推定された(Riches et al. 1973)。総脂肪組織をマウスの総体重の2.3%であると

仮定した(Riches et al. 1973)。全ての実験手順は、京都大学動物実験委員会により承認された(MedKyo11067)。

B-2. ヒト試料：尿、胆汁および脳脊髄液と対血清

胆汁、CSFおよび尿、血清データを含むすべてのヒト試料は京大大学生体試料バンクの保存試料から採取した(Koizumi et al. 2005; Koizumi et al. 2009)。提供者の属性を表2に要約した。24時間胆汁試料は経鼻胆道ドレナージ、経皮経肝胆道ドレナージや経皮経肝胆嚢ドレナージによって撮影された。5mLの血液試料を同じ日にポリプロピレンチューブに肘静脈から採取した。CSF試料は脳室ドレナージ、腰椎ドレナージ、脳室シャントまたは硬膜形成術の際に採取された。血液試料10mLも同じ日に提供された。24時間の蓄尿試料を健常者から収集し、採尿の最後に10mLの血液を採取した。京都大学の倫理委員会によって研究計画書は検討、承認された(E25)。書面によるインフォームドコンセントは、サンプル採取の前にすべての参加者から得られた。

B-3. 生物試料中のPFCA濃度の決定

試料の均質化と準備：マウス組織及び糞便を秤量し、マウス組織グラムあたり15mLの水/メタノール(1:1)で希釈した。試料ホモジナイザーを用いてホモジナイズした。ホモジネートの一部(PFCA濃度に応じて0.1~1mL)を15mLのポリプロピレンチューブに移した。全血、血清および尿試料について、各試料約10~100 μ Lと1mLのメタノール1.5mLをマイクロ遠心チューブに入れ、3時間混合した。得られた溶液の一部(濃度に応じて0.1~1mL)を15mLのポリプロピレンチュー

ブに移した。ヒト試料については、各試料の約0.5~30mLを、直接15または50mLのポリプロピレンチューブに移した。

PFCAの化学分析：全ての試料においてPFCA濃度の決定は、以前に報告された方法(Fujii et al. 2012)を用いて行った。測定対象化学物質はペルフルオロヘキサ酸(PFHxA, C6)、ペルフルオロヘプタン酸(PFHpA, C7)、PFOA(C8)、PFNA(C9)、PFDA(C10)、ペルフルオロウンデカン酸(PFUnDA, C11)、ペルフルオロドデカン酸(PFDoDA, C12)、ペルフルオロトリデカン酸(PFTrDA, C13)とペルフルオロテトラデカン酸(PFTeDA, C14)であった。操作ブランクのコントロールは、10試料ごとに分析した。分析法検出限界(MDL)は、シグナル/ノイズ比3倍となる濃度として定義した(表3)。総回収率は表4に示した。

B-4. PFCAの毒物動態学解析

24時間で、全血と血清との間のPFCAの比は、血清PFCA濃度を全血試料中のPFCA濃度に変換するために使用した。血清濃度データは、以下の式によって記載される2-コンパートメントモデルを用いて分析した。

$$C(T) = C_1 \exp(-\lambda_1 * t) + C_2 \exp(-\lambda_2 * t) \quad \dots \text{eq (1)}$$

C_1 、 C_2 、 λ_1 、 λ_2 を取得するために、血清中PFCAレベルを最小二乗アプローチと非線形最適化により2-コンパートメント毒物動態学モデルに適合させた(Rao et al., 1999)。IV投与試験では分布容積は次のように定義された。

$$\text{分布容積} = \text{用量} / C(0) \quad \dots \text{eq (2)}$$

B-5. マウスおよびヒト試料中のPFCAクリアランス

マウスの尿クリアランス (CL_{U-mice}) を、24時間中尿中排泄総量を0~24時間の各PFCA血清濃度の曲線下面積 (AUC) で割ることによって決定した。マウス糞便クリアランス (CL_{F-mice}) は、24時間中糞便中排泄総量を0~24時間の各PFCA血清濃度のAUCで割ることによって決定した。

各PFCAのヒト尿 ($CL_{U-human}$) と胆汁クリアランス ($CL_{B-human}$) は、24時間累積尿・胆汁排泄量を各PFCA血清濃度で割ることによって決定した。

B-6. 統計分析

検出限界よりも低い濃度値は、検出限界の半分を与えた。ヒトCSF中の各PFCA平均値間の差はスチューデントのt検定を用いて検定した。p値< 0.05を統計的に有意とみなした。

C. 研究結果

C-1. IV投与後のマウス毒物動態解析

各PFCAのための血清濃度に対する全血濃度の割合 (平均 \pm SD) は、PFOAで0.60 \pm 0.1、PFNAで0.43 \pm 0.1、PFDAで0.50 \pm 0.1、PFUnDAで0.53 \pm 0.1、PFDoDAで0.70 \pm 0.2、PFTrDAで0.88 \pm 0.2、PFTeDAで1.05 \pm 0.2であった。各化学物質の平均比率を、対応する血清濃度に変換するために、全血濃度に乗じた。

対数目盛で血清中PFCA濃度の時間経過とその当てはめ曲線を図1に示す。C6は投与後0.5時間であっても血清中に検出されなかったため、その血中動態を解析しなかった。他のPFCA (C7-C14) の場合は、血清レベルはMDLを超えていた。図1に示

すように、C7は時間依存的に血清から消失した。他の化合物 (C8-14) は血清からの遅い消失が特徴の非常にユニークな動態プロファイルを示した (表5)。2-コンパートメントモデルは、マウスにおいてPFCAの動態を十分記載できた。血清PFCA濃度から得られたパラメータを表5に示す。

PFCA (C7-C14) の分布容積は、雌雄ともにPFCAの鎖長の増加に相関し、雌雄間で差を示さなかった (図2)。その分布容積は、C7は血液、C8とC9は細胞外の水分、C11とC12は体水分の総量にほぼ対応していた。特異的組織結合は、C13およびC14について示唆された。これらの結果は、鎖長が分布容積の決定要因であることを示した (表5)。AUCはC8で最大に達し、鎖長が増加すると減少した (表5)。表6では、投与後24時間PFCAの組織分布を示す。C6からC14のPFCAの総回収率は男性で76%より大きく、雌でやや低かった (58%より大きい)。C6、C7のPFCAについては、投与量のほぼ全ては、わずかな部分だけ糞便中に排泄され、24時間後までに尿中に回収した。対照的に、C8のごく一部が尿 (6~7%) で、さらに少ない量が糞便 (<1%) 中に排泄された。大部分が血清および肝臓 (61~79%) に保持され、腎臓にも部分的に分布した (1.3~1.4%)。C9からC14のPFCAについては、分布パターンはC8と同様であった。しかし、C9からC14のPFCAは雌雄とも尿と糞便中排泄はC8のそれよりもはるかに低く、ほとんどが肝臓に保持された (雄で64~80%、雌で46~55%)。

C-2. マウスでの強制経口投与後のPFCA毒物動態学

強制経口投与後、C6は、全てのサン

プリング時点の血清中に検出されなかった。したがって、2-コンパートメント分析をC6では行わなかった。図3に示すように、C7からC14のタイムコースは性別で違いはなく、よく2-コンパートメント毒物動態モデルによってシミュレートされた(表5)。AUCは、C8で最大となり、炭素数の減少に伴って増加した。静脈内投与に対する強制経口投与の投与量調整後のAUC比は炭素数7~13のPFCAsでは1に近く、C14では1未満となった(表5)。物質収支の検討では、静脈内投与と比べて強制経口投与でC6、C7、C12およびC14のPFCAsの総回収は低かった(表6、表7)。C8~11のPFCAsの総回収率は類似していた。これらの結果は、IVおよび強制経口投与の両方の分布様式を反映していた。C6、C7のPFCAsが尿中に回収され、C8~14のPFCAsの大部分は、肝臓や血清中に回収された。PFCAsのわずかな量が糞便中に排泄され、腸からの効率的な吸収とそれによる腸肝循環を示唆した。

C-3. マウスにおけるPFCAsの尿と糞便クリアランス

マウスでのIVおよび強制経口投与後のPFCAs尿・糞便クリアランスを表8に示す。IV投与で、C8の尿クリアランス(雄:13.1 mL/d/kg、雌:9.8 mL/d/kg)は、C7と比較して有意に少なかった(雄:336.7 mL/d/kg、雌:216.3 mL/d/kg)(表8)。C7は、糞便クリアランスが最も高かったが、C7の尿クリアランスよりも小さかった。糞便クリアランスはC9で最も低かった。総クリアランスはC7が最大で(雄:347.4 mL/d/kg、雌:265.7 mL/d/kg)、C10が最低であった(雄:2.2 mL/d/kg、雌:2.8 mL/d/kg)。男女間の有意な差はなかった。

強制経口投与ではIV投与のものと類似のPFCAsクリアランスパターンを示した。C8尿クリアランス(雄:9.2 mL/d/kg、雌:6.6 mL/d/kg)は、C7(雄:248.8 mL/d/kg、雌:166.7 mL/d/kg)より有意に低かった(表8)。C7は、糞便クリアランスが最も高かったが、C7の尿クリアランスよりも小さかった。糞便クリアランスはC9で最も低かった。総クリアランスはC7が最大で(雄:292.5 mL/d/kg、雌:190.2 mL/d/kg)、C10が最低であった(雄:3.9 mL/d/kg、雌:2.2 mL/d/kg)。

強制経口投与およびIV投与のPFCAs糞便クリアランスを比較すると、長鎖PFCAs(C13とC14)に違いが存在した(表8)。強制経口投与後24時間の糞便は、排出された胆汁と腸を通過し吸収されなかったPFCAs両方を含んでいると考えられた。PFCAsの実質的な糞便クリアランスはIV投与の糞便クリアランスで示される。PFCAsの腸管吸収係数を評価するために、次式を用いて理論的に吸収された部分を計算した。

$$\begin{aligned} \text{理論的吸収率 (\%)} = & 100 - \text{recovery in feces by gavage (\%)} \\ & \times \frac{\text{Fecal CL by gavage} - \text{Fecal CL by IV}}{\text{Fecal CL by gavage}} \end{aligned}$$

--- eq (3)

結果を表8に記載した。理論的吸収率はPFCAsが効率的に腸内で吸収されることを示唆し、雌雄とも94%から104%の範囲であった。

C-4. 毒物動態学モデル評価

ラットとサルにおけるPFOAの生理学的薬物動態モデルは、これまでにいくつかの動物実験から入手した化学的パラメータを使用して開発され

ている(Loccisano et al. 2011; 2012)。本研究では、マウスの血清中のPFCA濃度に基づいた単純な2-コンパートメントモデルを開発した。このモデルは、3.13 μmol (PFOA 1.3 mg) / kgの用量を強制経口投与後の、血清中濃度の経時変化をよく説明した。このモデルを評価するために、反復強制経口投与 (20 mg/kg) での血清濃度の毒物動態に適用した(Lou et al. 2009)。40 mg/kg以上の単回強制経口投与は、マウスにおいてPFOAの非線形薬物動態がみられるため(Lou et al. 2009)、強制経口投与 (20 mg/kg) を用いて、図4に示す用量モデルを推定した。血清PFOA濃度は、初回投与後約8日までに定常状態に達し、最小および最大の血清濃度は、雄マウスでそれぞれ約260および185 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、雌マウスでそれぞれ300および400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であった。以前の研究では、20 mg / kgを毎日強制経口投与により、7日後には雄マウスで181 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、雌マウスで178 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、17日後には、雄マウスで199 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、雌マウスで171 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の血清中PFOA濃度を示した(Lau et al. 2006)。本研究では、モデルによる予測血清濃度は、雌マウスでわずかに高かった一方、雄マウスで同様の結果が得られたことがわかった(図4)。これらの結果は、反復投与実験をPFOA単回投与による単純な2-コンパートメント毒物動態学モデルを用いてシミュレートすることができることを確認した。また、このモデルは他のPFCAについて適用し、単回経口投与のモデルから、反復経口投与におけるPFCAクリアランスを予測することが可能である。用量はまた、1.3 mg/kgから20 mg/kgにスケールアップすることができた。

表5は、モデルの数値結果を示す。

IVおよび強制経口投与の両方で、>C7のPFCAの λ_2 は λ_1 よりもはるかに小さく、PFCAが体内組織に急速に分配し、初期の段階で血液および組織間で平衡化した可能性があることを示していた。これらの結果は、モデルの最初の指数関数は、長期的な観測では無視でき、1-コンパートメント毒物動態学モデルで>C7のヒト血清中PFCAの毒物動態学を予測するために十分であることが示唆された(Niisoe et al. 2010)。

C-5. ヒトでの尿中および胆汁クリアランス

ヒトでのPFCA尿中および胆汁中クリアランスを表9に示す。ヒト血清、胆汁および尿中PFCA濃度を表11に示している。ヒト血清ではC6は検出されなかったためクリアランスを分析しなかった。ヒトのPFCA尿クリアランスは、マウスのものより2倍以上小さく、鎖長が長いほど減少した(図5)。胆汁クリアランスは、C9で最低であり、C9からC14でPFCA鎖長が長いほど増加した(表9)。

糞便への排泄率を計算するために、胆汁中PFCAが再吸収され腸肝循環する際の、PFCA再吸収率を推定した。マウス実験に基づいて報告された200 mL/kgの分布容積(Harada et al. 2007; Niisoe et al. 2010)と、ヒトでの3.8年の血清半減期(Olsen et al., 2007)、およびそのC8が尿と胆汁を経由した糞中排泄のみであると仮定して、胆汁排泄されたC8の再吸収率は0.98と算出された。我々は、この再吸収率が他のPFCAに適用されると仮定した。表9は、胆汁クリアランスから推定されたPFCA糞便クリアランスを示している。推定糞便クリアランスも同様にヒトでマウスより2倍小さ

かった。総クリアランス（尿・糞便クリアランス）の鎖長との関係は、ヒトとマウスの中で類似していた。クリアランスは鎖の長さの関数として減少し、C9（0.062 mL/d/kg）で最も低かった（図5）。それにもかかわらず、ヒトでの総クリアランスはマウスより50～100倍小さかった。

C-6. マウスと人間の中枢神経系におけるPFCA

PFOS及びPFOA(C8)が細胞膜電位を変化させ、チャネルゲーティング特性に影響を与えることが知られている(Harada et al. 2005b; Harada et al. 2006; Matsubara et al. 2007)。これはPFCAが神経毒性を引き起こす可能性を示唆している。我々は以前、CSF、血清との間で、PFOSとPFOA(C8)の大きな濃度勾配があることを報告しており、これらの物質は血液脳関門のため中枢神経系に入ることができないことを示唆していた(Harada et al. 2007)。これらのことから、マウスの脳と血清との間でPFCAの濃度勾配を評価した（表10）。勾配は、一般的には鎖長が長いほど増加し、C8、C9とC10で大きく、C11-C14で小さかった。これらの結果は、PFCAがヒト血液脳関門も自由に通過しない可能性が示唆された。

ヒトでは、CSF中のPFCA濃度は、血清濃度の100倍以下であった（表10）。脳出血及び髄液漏患者では平均PFCA濃度は1.3 pg/mLから70 pg/mLの範囲であったのに対し、水頭症患者では、0.38 pg/mLから37 pg/mLの範囲であった。血清に対するPFCAの比率は、脳出血や髄液漏患者に比べて水頭症患者で小さかった。CSF中の実質的に高いPFCA（C11、C12およびC13）が脳出血及び髄液漏患者におい

て検出されたことは興味深い。この現象は、中枢神経系への血清の直接流入と関連付けることができるかもしれない(Yang and Rosenberg 2011)。

C-7. この研究の限界

本研究では、いくつかの限界がある。まず、PFCA毒物動態学モデルは短期的な観察期間によるものだった。それにもかかわらず、我々のモデルは、単回および反復投与、またC8用量をスケールアップしてシミュレートすることができた。モデルは、他のPFCAに適用されるかどうか、さらなる検討が必要である。第二に、ヒト腸肝循環でのPFCA再吸収率やマウスでのCSF/血清の比などのいくつかのパラメータは、推定であり、不確実性がある。

C-8. PFCAの生物蓄積に関連して

本研究により明らかにPFCAの毒物動態は二分類できた。C6およびC7のPFCAが尿中に体内から急速に排泄され、C8より長いアルキル鎖を有するPFCAは主に肝臓で堆積していた。尿による排泄は肝臓による排出よりも急速であった。このような毒物動態特性はPFCAが体内に蓄積されるかどうかを予測することができる。C10からC14のPFCAの総クリアランスは鎖長に伴い増加し、PFCAの親油性との関わりを意味し、主に胆汁を經由して糞中に排出された。それゆえに、C9-C11のPFCAはマウスではほとんど蓄積した。効率的に尿を通じて排泄されたC6とC7のPFCAは、他のより長い鎖長のPFCAよりも有意に短い半減期を示した。

鎖長に伴い生物蓄積を引き起こすメカニズムはよく理解されていない。我々の研究は鎖長とともにPFCAの

分布容積が増加することが観察された。これは長鎖PFCAの血清および肝臓脂肪酸結合タンパク質との親和性が高いことを示唆し、鳥類の血清タンパク質が短鎖PFCAとは結合が強くなく、より長い鎖に親和性が増加することを示す以前の研究によって支持される(Jones et al. 2003)。これらの結果より、未結合のC6とC7のPFCAは糸球体濾過により排泄され、一方C7より長いPFCAはタンパク質との親和性から、腎臓での排泄を妨げるのかもしれないと考えられた。長鎖PFCA (>C8) が肝臓に優先的に蓄積することは、肝臓脂肪酸結合タンパク質との高い親和性に理由があるかもしれない(Zhang et al. 2013)。PFCAとの結合親和性は、より長鎖PFCAで増加することが知られている(Zhang et al. 2013)。さらなる研究が、PFCA (>C7) の肝臓での蓄積を理解するために必要である。

C-9. 種差への示唆

本研究では、ヒトとマウスで9種類の炭素鎖長の異なるPFCAの毒物動態学プロファイルを報告した。総クリアランス(尿・糞便クリアランス)の鎖長依存性が2種間で類似していたが、その速度には大きな違いがあることがわかった。種間のPFCA排出速度の差が生じる機構はわかっていない。3Mが運営するC8 (PFOA)製造工場の退職労働者の疫学研究では、血清半減期が3.8年であったことを明らかにした(Olsen et al. 2007)。別の研究では、C8(PFOA)の血清消失半減期は、マウス(15~20日)、ラット(<1~15日)およびカニクイザル(20~35日)と、はるかに短いことがわかっている(Lau et al. 2007)。

今回の研究では、ヒトでのPFCA

の長い半減期は、腎臓からの乏しい除去に起因していた(Harada et al. 2005a; Niisoe et al. 2010)。マウスでは、C7とC8の尿中クリアランスはヒトのものよりそれぞれ500倍、300倍だった。これとは対照的に、糞便クリアランスの大きさは10倍の範囲内であった。以前のトランスポーター実験では、腎臓におけるトランスポーターが関与している可能性があることを示唆した(Minata et al. 2010; Tan et al. 2008; Yang et al. 2010)。しかし、種間で異なる排出パターンとなる理由には決定的ではない。また、わずかに高い脳/血清分配率が、長鎖PFCAについてマウスで観察された。ヒトCSF中PFCAは血清の1.0%から2.5%の範囲であった。この結果は、ヒト血液脳関門が例えばOAT3のようないくつかの有機アニオン輸送体によって維持され、積極的にCSFから血清中に、これらの化合物を輸送することがあり得ることを示した(Mori et al. 2004)。

D. 結論

本研究でマウスおよびヒトにおけるPFCAの包括的な毒物動態研究が示された。この研究のハイライトは、マウスおよびヒトで異なるアルキル鎖長の様々なPFCAを評価したことである。PFCA (>C7) の大きな蓄積は、肝臓に特異的結合タンパク質があることを示唆し、PFCAの生物蓄積のために重要な役割を持つと考えられた。また、PFOAの単純な2-コンパートメント毒物動態モデルは、単回投与又は反復投与、小用量または大用量の両方で血清濃度をシミュレートすることが示された。これらの情報は、他の種でもPFCAの生物蓄積性を評価するために有用であろう。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表・その他

なし

G. 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

H. 文献

Chang SC, Das K, Ehresman DJ, Ellefson ME, Gorman GS, Hart JA, et al. 2008. Comparative pharmacokinetics of perfluorobutyrate in rats, mice, monkeys, and humans and relevance to human exposure via drinking water. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology* 104:40-53.

Chengelis CP, Kirkpatrick JB, Myers NR, Shinohara M, Stetson PL, Sved DW. 2009a. Comparison of the toxicokinetic behavior of perfluorohexanoic acid (pfhxa) and nonafluorobutane-1-sulfonic acid (pfbns) in cynomolgus monkeys and rats. *Reproductive toxicology* 27:400-406.

Chengelis CP, Kirkpatrick JB, Radovsky A, Shinohara M. 2009b. A 90-day repeated dose oral (gavage) toxicity study of perfluorohexanoic acid (pfhxa) in rats (with functional observational battery and motor activity determinations). *Reproductive toxicology* 27:342-351.

Das KP, Grey BE, Zehr RD, Wood CR, Butenhoff JL, Chang SC, et al. 2008.

Effects of perfluorobutyrate exposure during pregnancy in the mouse. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology* 105:173-181.

Fujii Y, Harada KH, Koizumi A. 2012. Analysis of perfluoroalkyl carboxylic acids in composite dietary samples by gas chromatography/mass spectrometry with electron capture negative ionization. *Environmental science & technology* 46:11235-11242.

Glynn A, Berger U, Bignert A, Ullah S, Aune M, Lignell S, et al. 2012. Perfluorinated alkyl acids in blood serum from primiparous women in sweden: Serial sampling during pregnancy and nursing, and temporal trends 1996-2010. *Environmental Science & Technology* 46:9071-9079.

Harada K, Inoue K, Morikawa A, Yoshinaga T, Saito N, Koizumi A. 2005a. Renal clearance of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoate in humans and their species-specific excretion. *Environ Res* 99:253-261.

Harada K, Xu F, Ono K, Iijima T, Koizumi A. 2005b. Effects of pfos and pfoa on l-type ca²⁺ currents in guinea-pig ventricular myocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 329:487-494.

Harada KH, Ishii TM, Takatsuka K, Koizumi A, Ohmori H. 2006. Effects of perfluorooctane sulfonate on action potentials and currents in cultured rat cerebellar purkinje cells. *Biochem Biophys Res Commun* 351:240-245.

Harada KH, Hashida S, Kaneko T, Takenaka K, Minata M, Inoue K, et al. 2007. Biliary excretion and cerebrospinal fluid partition of perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate in humans. *Environmental toxicology and pharmacology* 24:134-139.

Harada KH, Hitomi T, Niisoe T, Takanaka K, Kamiyama S, Watanabe T, et al. 2011. Odd-numbered perfluorocarboxylates predominate over

- perfluorooctanoic acid in serum samples from japan, korea and vietnam. *Environment International* 37:1183-1189.
- Jones PD, Hu W, De Coen W, Newsted JL, Giesy JP. 2003. Binding of perfluorinated fatty acids to serum proteins. *Environmental toxicology and chemistry / SETAC* 22:2639-2649.
- Koizumi A, Yoshinaga T, Harada K, Inoue K, Morikawa A, Muroi J, et al. 2005. Assessment of human exposure to polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in japan using archived samples from the early 1980s and mid-1990s. *Environmental Research* 99:31-39.
- Koizumi A, Harada KH, Inoue K, Hitomi T, Yang HR, Moon CS, et al. 2009. Past, present, and future of environmental specimen banks. *Environmental health and preventive medicine* 14:307-318.
- Kudo N, Suzuki E, Katakura M, Ohmori K, Noshiro R, Kawashima Y. 2001. Comparison of the elimination between perfluorinated fatty acids with different carbon chain length in rats. *Chemico-biological interactions* 134:203-216.
- Lau C, Thibodeaux JR, Hanson RG, Narotsky MG, Rogers JM, Lindstrom AB, et al. 2006. Effects of perfluorooctanoic acid exposure during pregnancy in the mouse. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology* 90:510-518.
- Lau C, Anitole K, Hodes C, Lai D, Pfahles-Hutchens A, Seed J. 2007. Perfluoroalkyl acids: A review of monitoring and toxicological findings. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology* 99:366-394.
- Liao CY, Wang T, Cui L, Zhou QF, Duan SM, Jiang GB. 2009. Changes in synaptic transmission, calcium current, and neurite growth by perfluorinated compounds are dependent on the chain length and functional group. *Environmental Science & Technology* 43:2099-2104.
- Loccisano AE, Campbell JL, Jr., Andersen ME, Clewell HJ, 3rd. 2011. Evaluation and prediction of pharmacokinetics of pfoa and pfos in the monkey and human using a pbpk model. *Regulatory toxicology and pharmacology : RTP* 59:157-175.
- Loccisano AE, Campbell JL, Jr., Butenhoff JL, Andersen ME, Clewell HJ, 3rd. 2012. Comparison and evaluation of pharmacokinetics of pfoa and pfos in the adult rat using a physiologically based pharmacokinetic model. *Reproductive toxicology* 33:452-467.
- Lou I, Wambaugh JF, Lau C, Hanson RG, Lindstrom AB, Strynar MJ, et al. 2009. Modeling single and repeated dose pharmacokinetics of pfoa in mice. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology* 107:331-341.
- Matsubara E, Harada K, Inoue K, Koizumi A. 2006. Effects of perfluorinated amphiphiles on backward swimming in paramecium caudatum. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 339:554-561.
- Matsubara E, Nakahari T, Yoshida H, Kuroiwa T, Harada KH, Inoue K, et al. 2007. Effects of perfluorooctane sulfonate on tracheal ciliary beating frequency in mice. *Toxicology* 236:190-198.
- Minata M, Harada KH, Karrman A, Hitomi T, Hirose M, Murata M, et al. 2010. Role of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha in hepatobiliary injury induced by ammonium perfluorooctanoate in mouse liver. *Industrial health* 48:96-107.
- Mori S, Ohtsuki S, Takanaga H, Kikkawa T, Kang YS, Terasaki T. 2004. Organic

- anion transporter 3 is involved in the brain-to-blood efflux transport of thiopurine nucleobase analogs. *Journal of neurochemistry* 90:931-941.
- Niisoe T, Harada KH, Ishikawa H, Koizumi A. 2010. Long-term simulation of human exposure to atmospheric perfluorooctanoic acid (pfoa) and perfluorooctanoate (pfo) in the osaka urban area, japan. *Environ Sci Technol* 44:7852-7857.
- Ohmori K, Kudo N, Katayama K, Kawashima Y. 2003. Comparison of the toxicokinetics between perfluorocarboxylic acids with different carbon chain length. *Toxicology* 184:135-140.
- Olsen GW, Burris JM, Ehresman DJ, Froehlich JW, Seacat AM, Butenhoff JL, et al. 2007. Half-life of serum elimination of perfluorooctanesulfonate, perfluorohexanesulfonate, and perfluorooctanoate in retired fluorochemical production workers. *Environ Health Perspect* 115:1298-1305.
- Rao CR, Toutenburg H, Fieger A, Heumann C, Nittner T, Scheid S. 1999. *Linear Models: Least Squares and Alternatives*. Springer Series in Statistics.
- Riches AC, Sharp JG, Thomas DB, Smith SV. 1973. Blood volume determination in the mouse. *The Journal of physiology* 228:279-284.
- Tan YM, Clewell HJ, 3rd, Andersen ME. 2008. Time dependencies in perfluorooctylacids disposition in rat and monkeys: A kinetic analysis. *Toxicology letters* 177:38-47.
- Tatum-Gibbs K, Wambaugh JF, Das KP, Zehr RD, Strynar MJ, Lindstrom AB, et al. 2011. Comparative pharmacokinetics of perfluorononanoic acid in rat and mouse. *Toxicology* 281:48-55.
- US EPA, 2012. *New Chemical Review of Alternatives for PFOA and Related Chemicals*. <http://www.epa.gov/oppt/pfoa/pubs/altnewchems.html> Access date: 13 February 2014
- Upham BL, Deocampo ND, Wurl B, Trosko JE. 1998. Inhibition of gap junctional intercellular communication by perfluorinated fatty acids is dependent on the chain length of the fluorinated tail. *International Journal of Cancer* 78:491-495.
- Vanden Heuvel JP, Kuslikis BI, Van Rafelghem MJ, Peterson RE. 1991. Tissue distribution, metabolism, and elimination of perfluorooctanoic acid in male and female rats. *Journal of biochemical toxicology* 6:83-92.
- Yang CH, Glover KP, Han X. 2010. Characterization of cellular uptake of perfluorooctanoate via organic anion-transporting polypeptide 1a2, organic anion transporter 4, and urate transporter 1 for their potential roles in mediating human renal reabsorption of perfluorocarboxylates. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology* 117:294-302.
- Yang Y, Rosenberg GA. 2011. Blood-brain barrier breakdown in acute and chronic cerebrovascular disease. *Stroke; a journal of cerebral circulation* 42:3323-3328.
- Zhang L, Ren XM, Guo LH. 2013. Structure-based investigation on the interaction of perfluorinated compounds with human liver fatty acid binding protein. *Environ Sci Technol* 47:11293-11301.