

2007; Todaka 2010; Murata 2011)。体内の曝露量は、食生活、年齢、体脂肪、喫煙、飲酒、生活環境などの多様な要因と相互的に影響するため、曝露量に関連する要因は国や地域で異なる。

出産可能年齢の女性を含む日本の成人1656名では、魚介類やアルコール摂取が増加するほど血中 PCBs・ダイオキシン類が有意に増加した(Arisawa 2011)。海外では、妊婦の曝露量に関連する要因として、飲酒や社会経済的要因を検討している。わが国の妊婦を対象とした東北と東京の研究では、複数の要因を調整する多変量解析により、母体血、臍帯血および母乳中 PCBs・ダイオキシン類が出産歴、母親の年齢および喫煙歴と有意に関連することを示した(Tajimi et al., 2006; Nakamura et al., 2007)。

しかし、一般環境における日本人妊婦の有機フッ素化合物(PFOS, PFOA)濃度については報告がまだなく、また、低濃度の水銀に関しては、東北地域での研究が1報あるが、対象者数が少ないため、社会経済的要因や食生活の影響に関する検討が十分に行われていない。

そこで本研究では、一般生活環境における妊婦の環境化学物質濃度に関連する要因のプロファイリングを飲酒や社会経済的な要因を含めて検討することを目的とした。

B. 研究方法

対象者は2002年7月から2005年10月に札幌市の一般病院・産科を受診した妊娠23週～35週の妊婦で、インフォームドコンセントを得られた母児514組である。妊婦とその配偶者から、自記式調査票により既往歴、教育歴、世帯収入、ライフスタイルなどの情報を得た。妊娠中期～後期に母親から採血し、高分解能ガスクロマトグラフィー・高分解能マスマスペクトロメトリー法

(HRGC/HRMS 法)で、426名の母体血中 PCBs・ダイオキシン類濃度、およびオンライン国相抽出-高速液体クロマトグラフィタンデム質量分析法(LC/MS/MS 法)で447名の母体血中 PFOS, PFOA 濃度を測定した。分娩後5日以内に採取した430名の母親の毛髪中総水銀濃度(Hg)を酸化燃焼金アマルガム法(AAS 法)で測定した。PCBs・ダイオキシン類を測定した426名のうち1名はPCDFsが異常高値を示したので、解析から除外した。

環境化学物質の濃度と両親の属性、飲酒、喫煙、社会経済的要因および妊婦の食事摂取頻度などの項目との関係は、Spearmanの相関係数およびStudent'sのt検定を用いて解析した。各濃度の相関はSpearmanの相関係数を用いて解析した。対数変換した各物質濃度を従属変数に、全ての関連要因を独立変数として投入し、重回帰分析のステップワイズ法により各物質濃度に有意に関連する要因を選択した。投入した変数は母親の属性(年齢、出産歴など)、両親の喫煙・飲酒状況、分娩年、採血時期、食物摂取頻度、および魚摂取量等である。毛髪水銀濃度の解析にのみ母親のパーマ状況を追加で投入した。また、PCBs・ダイオキシン類およびPFOA, PFOS濃度の解析にのみ採血時期(出産前、出産後)を追加投入した。

(倫理面への配慮)

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および研究協力施設の研究倫理委員会に諮り、承認を得たうえで実施した。

C. 研究結果

環境化学物質の濃度(中央値)はそれぞれ PCBs=107 ng/g lipid, Total ダイオキシン類 =13.9 TEQ pg/g lipid ,

PFOS=5.20ng/ml, PFOA=1.30ng/ml, および Hg=1.40ppm であった (表 1)。それぞれの物質濃度の相関は、PCBs とダイオキシン類が最も強く ($r=0.808$, $p<0.001$), PCBs と Hg ($r=0.380$, $p<0.001$), ダイオキシン類と Hg ($r=0.318$, $p<0.001$), ダイオキシン類と PFOS ($r=0.257$, $p<0.001$) および PFOS と PFOA ($r=0.240$, $p<0.001$) で中程度の相関が認められた (表 2)。単変量解析では、各物質濃度と母親の年齢、身長、出産歴、採血時期、分娩年、世帯収入、北海道の居住期間、母親の喫煙歴、妊娠中飲酒、1 日魚摂取量、遠海魚摂取、および牛乳摂取が有意に関連した (表 3)。ステップワイズ法で選択した母親の年齢、非妊娠時体重、出産歴、分娩年、採血時期、魚推定摂取量、遠海魚摂取頻度、および牛肉摂取頻度を重回帰分析の最終モデルとした (表 4)。

各物質濃度は、母親の年齢、非妊娠時体重、母親の妊娠中飲酒、魚推定摂取量 (g/day)、遠海魚摂取頻度および牛肉摂取頻度と正の関連を示した。特に、母親年齢の PCBs およびダイオキシン類濃度に対する標準化回帰係数 (Std β), 分娩年の PFOA 濃度に対する標準化回帰係数は正の関連を示す変数の中で高かった (PCBs:Std $\beta=0.469$, 95%CI ダイオキシン類:Std $\beta=0.348$, PFOA:Std $\beta=0.204$)。

一方で、各物質濃度は、母親の出産歴、母親の喫煙歴、出産後採血、北海道の居住期間と負の関連を示した。特に母親出産歴の PCBs・ダイオキシン類と PFOA 濃度に対する標準化回帰係数 (PCBs:Std $\beta=-0.292$, ダイオキシン類:Std $\beta=-0.359$, PFOA:Std $\beta=-0.379$), 分娩年のダイオキシン類および PFOS 濃度に対する標準化回帰係数 (ダイオキシン類:Std $\beta=-0.206$, PFOS:Std $\beta=-0.455$), 測定時期の PFOS 濃度に対する標準化回帰係数 (PFOS:Std $\beta=-0.226$) は負の関連を示した変数の中で

高かった。分娩年と PFOA を除く物質濃度は負の関連を示した。

さらに、魚推定摂取量と遠洋魚の総水銀濃度 (魚摂取量/Hg:Std $\beta=0.185$, 遠洋魚/Hg:Std $\beta=0.149$) および牛肉摂取量の PCBs 濃度 (牛肉摂取量/PCBs:Std $\beta=0.090$) に対する標準化回帰係数は正の関連を示した。

D. 考察

本研究から、妊婦の母体血および毛髪中の環境化学物質濃度は母親の年齢、非妊娠時体重、出産歴、分娩年、北海道居住期間、喫煙歴、妊娠中飲酒状況、1 日魚推定摂取量、遠海魚摂取頻度および牛肉摂取頻度と有意に関連することが示された。

本研究ならびにわが国における先行研究では、母親の加齢と共に PCBs・ダイオキシン類は増加していたことから (Nakamura et al., 2008; Tajimi et al., 2006), 一般生活環境による日常の摂取量が排出量を上回り、結果的に加齢とともに蓄積量が増加することが示唆された。

本研究では、母体血中 PCBs・ダイオキシン類および PFOS・PFOA 濃度は初産妊婦より経産妊婦で低かった。妊婦を対象にした先行研究でも同様の結果が認められており、女性に特有となる PCBs・ダイオキシン類の排出経路が妊娠から出産後の時期に存在すること示した日本および諸外国の先行研究と一致した (Milbrath et al., 2008; Nakamura et al., 2007; Tajimi et al., 2006)。

環境モニタリングや疫学研究では、PCBs・ダイオキシン類の環境中レベルが経年的に減少していることが報告されており (Link et al., 2007), 本研究でも認められた母親の加齢に伴う PCBs・ダイオキシン類濃度の増加および分娩年経過に伴う減少は、環境中レベルの経年変化や物質の体内

半減期に依存する生体の長期的な曝露状況を反映した結果であると考えられる (Glynn et al., 2007 ; Ibarluzea et al., 2011)。

一方で、わが国の環境モニタリング調査では、PFOS, PFOA の分布および経年変化は物質により異なることが報告されており (Zushi et al., 2010), 本研究で認められた分娩年と PFOS, PFOA 濃度との関連の相違は、環境中や体内曝露量の分布あるいはバックグラウンドレベルの経年変化が物質間で異なることを示していると考えられた。

本研究では、毛髪水銀濃度と母親年齢、分娩年には有意な関連が認められなかったが、体内半減期が 90 日程度の水銀では長期的曝露状況を反映しなかったことが考えられる。

本研究の北海道に 2 年以上住んでいる妊婦は、2 年未満の妊婦より母体血中ダイオキシン類濃度が低かった。我々の先行研究では、北海道の曝露量は日本国内および諸外国より相対的に低いレベルであると報告しており (Konishi et al., 2009), 北海道で長く住んでいる妊婦ほど曝露量が低いという結果は、母体血中濃度が過去 2 年の居住地での曝露状況を反映したと考えられた。

本研究では、喫煙歴がある妊婦で PCBs・ダイオキシン類および PFOS 濃度が低かった。先行研究では喫煙が薬物代謝酵素の誘導促進を起こして、PCBs・ダイオキシン類排出が亢進することが報告されているが (Milbrath et al., 2008), 本研究はダイオキシン類だけでなく、PFOS の代謝亢進も起こる可能性も初めて示した。また、妊娠中の PCBs・ダイオキシン類と PFOS の排出促進は胎児の曝露量増加と直結するため、次世代へのリスク評価を行う上で重要な要因であると考えられた (Lackman et al., 2000)。

本研究では、妊婦の飲酒が PCBs・ダイ

オキシン類濃度の増加と有意に関連していた。日本の成人を対象者にした先行研究はアルコール摂取が肝臓代謝に悪影響を与え、この変化にダイオキシン類の代謝も影響を受ける可能性を報告しているが (Arisawa 2011), 本研究は、妊娠中のアルコール摂取が母体血中 PCBs・ダイオキシン類濃度を増加させる可能性も初めて報告した。

曝露源や物質の特性が類似するため PCBs とダイオキシン類濃度の間には高い相関がみられたが、関連要因には相違が認められた。PCBs・ダイオキシン類と水銀濃度の中程度の相関は、毛髪水銀が生体の環境化学物質曝露の指標になることを示したが、水銀と PFOS, PFOA 濃度の弱い相関は有機フッ素化合物の物質特性および曝露状況の違いを反映した可能性が考えられた。

E. 結論

本研究では、毛髪水銀濃度は魚摂取量や遠海魚摂取頻度が増えると増加した。遠海魚は体脂肪率が高く、水系食物連鎖の上位にいたため水銀蓄積量が高いと報告されている。一方、PCBs 濃度は牛肉摂取頻度が増えると増加した。近年、わが国では、食生活の欧米化と魚摂取量の減少が報告されていることから (Matsumura 2001), わが国でも肉類が環境化学物質の主要な曝露源となっていることが考えられ、魚摂取に加えて牛肉摂取が PCBs の主要な摂取源である可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- (1) 宮下ちひろ, 佐々木成子, 岡田恵美子, 小林澄貴, 蜂谷紀之, 岩崎雄介, 中澤裕之, 梶原淳, 戸高尊, 岸玲子. 妊婦血と毛髪環境化学物質に関連する要因-環境と子

どもの健康北海道スタディー.第 82 回
日本衛生会学術総会.京都市.Mar.
24-26, 2012.

G. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

参考文献

- (1)Glynn, A., Aune, M., Darnerud, P.O., Cnattingius, S., Bjerselius, R., Becker, W., and Lignell, S. (2007). Determinants of serum concentrations of organochlorine compounds in Swedish pregnant women: a cross-sectional study. *Environ Health* 6, 2.
- (2)Murata K, Yoshida M, Sakamoto M, Iwai-Shimada M, Yaginuma-Sakurai K, Tatsuta N, Iwata T, Karita K, Nakai K.(2011).Recent evidence from epidemiological studies on methylmercury toxicity. *Nihon Eiseigaku Zasshi. Sep*;66(4):682-95.
- (3)Todaka, T., Hirakawa, H., Kajiwara, J., Hori, T., Tobiishi, K., Yasutake, D., Onozuka, D., Sasaki, S., Miyashita, C., Yoshioka, E., et al. (2010). Relationship between the concentrations of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and polychlorinated biphenyls in maternal blood and those in breast milk. *Chemosphere* 78, 185-192.
- (4)Arisawa, K., Uemura, H., Hiyoshi, M., Kitayama, A., Takami, H., Sawachika, F., Nishioka, Y., Hasegawa, M., Tanto, M., Satoh, H., et al. (2011). Dietary patterns and blood levels of PCDDs, PCDFs, and dioxin-like PCBs in 1656 Japanese individuals. *Chemosphere* 82, 656-662.
- (5)Tajimi, M., Uehara, R., Watanabe, M., Oki, I., Ojima, T., and Nakamura, Y. (2005). Relationship of PCDD/F and Co-PCB concentrations in breast milk with infant birthweights in Tokyo, Japan. *Chemosphere* 61, 383-388.
- (6)Nakamura, T., Nakai, K., Matsumura, T., Suzuki, S., Saito, Y., and Satoh, H. (2008). Determination of dioxins and polychlorinated biphenyls in breast milk, maternal blood and cord blood from residents of Tohoku, Japan. *Sci Total Environ* 394, 39-51
- (7)Milbrath, M.O., Wenger, Y., Chang, C.W., Emond, C., Garabrant, D., Gillespie, B.W., and Jolliet, O. (2009). Apparent half-lives of dioxins, furans, and polychlorinated biphenyls as a function of age, body fat, smoking status, and breast-feeding. *Environ Health Perspect* 117, 417-425.
- (8)Ibarluzea, J., Alvarez-Pedrerol, M., Guxens, M., Marina, L.S., Basterrechea, M., Lertxundi, A., Etxeandia, A., Goni, F., Vioque, J., Ballester, F., et al. (2011). Sociodemographic, reproductive and dietary predictors of organochlorine compounds levels in pregnant women in Spain. *Chemosphere* 82, 114-120.
- (9)Zushi Y, Tamada M, Kanai Y, Masunaga S.(2010). Time trends of perfluorinated compounds from the sediment core of Tokyo Bay, Japan (1950s-2004). *Environ Pollut. Mar*;158(3):756-63. Epub 2009 Nov 2.
- (10)Konishi, K., Sasaki, S., Kato, S., Ban, S., Washino, N., Kajiwara, J., Todaka,

- T., Hirakawa, H., Hori, T., Yasutake, D., et al. (2009). Prenatal exposure to PCDDs/PCDFs and dioxin-like PCBs in relation to birth weight. *Environ Res* 109, 906-913.
- (11)Lackmann, G.M., Angerer, J., and Tollner, U. (2000). Parental smoking and neonatal serum levels of polychlorinated biphenyls and hexachlorobenzene. *Pediatr Res* 47, 598-601.
- (12)Matsumura, Y. (2001). Nutrition trends in Japan. *Asia Pac J Clin Nutr* 10 Suppl, S40-47.

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1. 妊婦の母体血および毛髪中の環境化学物質濃度

	N	GM	(95%CI)	Minimum	Percentile			Maximum
					25th	50th	75th	
Total PCBs (ng/g lipid)	425	105	(47.9-229)	17.8	73.0	107	148	495
Total Dioxins-TEQ (TEQ pg/g lipid)	425	13.5	(6.32-26.9)	3.17	9.94	13.9	18.2	43.4
PFOS (ng/mL)	447	4.94	(2.00-11.0)	1.30	3.40	5.20	7.00	16.2
PFOA (ng/mL)	447	1.16	(0.25-2.90)	0.25	0.80	1.30	1.80	5.30
Hg (ppm)	430	1.34	(0.58-2.95)	0.24	0.96	1.40	1.89	7.55

TEQs were calculated with toxic equivalency factor values (Van den Berg et al. 2006)

GM: geometric mean

表2. 環境化学物質濃度の相関

		Total Dioxins- TEQ (TEQ pg/g lipid)	PFOS (ng/mL)	PFOA (ng/mL)	Hg (ppm)
Total PCBs (pg/g lipid)	r	0.81**	0.09	0.11*	0.38**
	N	425	376	376	378
Total Dioxins-TEQ (TEQ pg/g lipid)	r		0.26**	0.17**	0.32**
	N		376	376	378
PFOS (ng/mL)	r			0.24**	0.12*
	N			447	386
PFOA (ng/mL)	r				0.02
	N				386

*p<0.05, **p<0.01

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. 妊婦の基本的属性、喫煙、および食生活と環境化学物質との関連

Characteristics	N(%)	Mean±SD	Total PCBs (ng/g lipid)	Total Dioxins (pg/g TEQ lipid)	PFOS (ng/mL)	PFOA (ng/mL)	Hg (ppm)
Maternal characteristics							
Maternal age (years)	510	30.37±4.9.10	r=0.399 **	r=0.239 **	r=-0.154 **	r=-0.078	r=0.027
Maternal high	506	158.24±5.2.72	r=0.063	r=0.096 *	r=0.023	r=0.041	r=-0.051
Parity							
0	240(47.7)		127±67.3 *	16.41±7.17 **	6.21±2.88 **	1.72±0.86 **	1.47±0.75
≥1	263(52.3)		111±56.6	13.45±5.62	5.00±2.36	1.10±0.68	1.57±0.85
Blood sampling period							
During pregnancy	354(70.7)		118±59.6	15.17±6.55	6.04±2.64	1.49±0.88 **	1.52±0.82
After delivery	147(29.3)		121±68.7	14.22±6.61	4.26±2.36	1.14±0.60	1.52±0.77
Detection year (2002-2005)	504		r=-0.014	r=-0.199 **	r=-0.558 **	r=0.176 **	r=-0.103 *
Annual household income (million yen)							
<5	345(68.3)		111±55.3 **	14.15±6.21	5.54±2.65	1.39±0.87	1.46±0.80
≥5	160(31.7)		133±72.7	16.28±7.06	5.64±2.75	1.42±0.74	1.62±0.78
Residence duration in Hokkaido (years)							
<2	60(11.7)		138±70.5 *	17.86±8.46	5.15±2.76	1.39±0.65	1.46±0.72
≥2	454(88.3)		117±61.1	14.53±6.23	5.62±2.68	1.40±0.85	1.53±0.81
Maternal smoking history							
No	228(44.9)		124±61.7	15.95±6.76	6.01±2.86	1.47±0.90	1.62±0.81
Yes	280(55.1)		114±62.8	13.88±6.25	5.22±2.49	1.34±0.76	1.44±0.79
Maternal alcohol intake during pregnancy							
No	357(69.5)		115±59.8	14.62±6.57	5.56±2.69	1.40±0.87	1.50±0.82
Yes	157(30.5)		127±67.6	15.47±6.57	5.61±2.68	1.39±0.74	1.57±0.75
Deep-sea fish							
<1 time/week	234(46.1)		114±58.1	14.18±6.20	5.41±2.76	1.41±0.85	1.33±0.63 **
≥1 time/week	274(53.9)		123±65.7	15.48±6.84	5.71±2.62	1.39±0.82	1.68±0.89
Estimated value of fish intake during pregnancy (g/day)	430	38.8(0.0-400.0) [†]	r=0.185 **	r=0.122 *	r=-0.026	r=-0.042	r=0.229 **
Beef intake during pregnancy							
<1 time/week	373(73.9)		116±57.7	14.63±6.41	5.47±2.58	1.41±0.82	1.46±0.73
≥1 time/week	132(26.1)		128±74.8	15.58±7.06	5.87±2.94	1.36±0.85	1.68±0.94
Egg intake during pregnancy							
<1 time/week	20(4.0)		112±43.3	14.57±5.43	4.37±1.83 *	1.50±1.12	1.54±0.68
≥1 time/week	486(96.0)		119±63.1	14.91±6.62	5.62±2.70	1.39±0.82	1.52±0.81
Milk intake during pregnancy							
<1 time/week	72(14.2)		104±63.3	12.75±6.37 *	5.34±2.84	1.36±0.86	1.53±0.99
≥1 time/week	436(85.8)		121±62.0	15.22±6.55	5.61±2.66	1.40±0.82	1.52±0.77

[†]Median (minimum-maximum)

*, **Statistically significant (p<0.05, p<0.01 respectively) using the t-test, Spearman correlation test

†; p-value < 0.1

表4 妊婦の基本的属性、喫煙、飲酒、食生活に対する環境化学物質の回帰係数および標準化回帰係数(95%信頼区間)

	Total PCBs log10			Total Dioxin-TEQ log10			PFOS(ng/mL)log10			PFOA(ng/mL)log10			Hg (ppm)log10		
	β	Std β	(95%CI)	β	Std β	(95%CI)	β	Std β	(95%CI)	β	Std β	(95%CI)	β	Std β	
Maternal characteristics															
Age (years)	0.022	0.469	(0.018, 0.026)**	0.014	0.348	(0.011, 0.018)**	-0.003	-0.070	(-0.007, 0.000)	0.000	-0.001	(-0.005, 0.005)	0.000	0.001	(-0.004, 0.004)
Pre-pregnancy weight (kg)	0.001	0.021	(-0.002, 0.003)	0.003	0.129	(0.001, 0.005)*	-0.001	-0.056	(-0.003, 0.000)	-0.001	-0.032	(-0.004, 0.002)	0.000	-0.007	(-0.003, 0.002)
Parity	-0.128	-0.292	(-0.167, -0.089)**	-0.138	-0.359	(-0.172, -0.105)**	-0.069	-0.157	(-0.103, -0.035)**	-0.214	-0.379	(-0.264, -0.164)**	-0.001	-0.003	(-0.044, 0.041)
Delivery year (2002-2005)	-0.009	-0.037	(-0.030, 0.012)	-0.043	-0.206	(-0.061, -0.025)**	-0.113	-0.455	(-0.132, -0.094)**	0.065	0.204	(0.038, 0.093)**	-0.024	-0.089	(-0.049, 0.002)
Residence duration in Hokkaido	-0.044	-0.061	(-0.104, 0.017)	-0.081	-0.128	(-0.133, -0.028)*	0.016	0.022	(-0.039, 0.071)	-0.044	-0.046	(-0.124, 0.036)	0.030	0.041	(-0.038, 0.097)
Sampling period	0.002	0.003	(-0.040, 0.043)	-0.006	-0.014	(-0.042, 0.030)	-0.113	-0.226	(-0.151, -0.074)**	-0.089	-0.139	(-0.145, -0.033)*	-0.001	-0.002	(-0.046, 0.044)
Smoking history	-0.016	-0.036	(-0.053, 0.022)	-0.046	-0.120	(-0.079, -0.014)*	-0.069	-0.156	(-0.102, -0.035)**	-0.037	-0.065	(-0.086, 0.012)	-0.038	-0.086	(-0.079, 0.004)
Alcohol drinking during pregnancy	0.057	0.119	(0.016, 0.097)*	0.046	0.110	(0.011, 0.081)*	0.000	0.000	(-0.036, 0.036)	0.042	0.069	(-0.010, 0.095)	0.029	0.060	(-0.016, 0.074)
Estimated values of fish intake (g/day) ^c	0.053	0.082	(-0.003, 0.108)	0.023	0.042	(-0.025, 0.072)	-0.004	-0.006	(-0.051, 0.044)	-0.032	-0.041	(-0.101, 0.037)	0.106	0.185	(0.050, 0.161)**
Beef intake	0.045	0.090	(0.003, 0.088)*	0.027	0.060	(-0.010, 0.064)	0.008	0.017	(-0.029, 0.046)	-0.003	-0.005	(-0.058, 0.051)	0.042	0.084	(-0.005, 0.089)
Deep-fish intake	0.011	0.024	(-0.028, 0.050)	0.015	0.038	(-0.019, 0.048)	0.033	0.075	(-0.002, 0.068)	0.016	0.028	(-0.035, 0.066)	0.065	0.149	(0.023, 0.108)*

β; regression coefficient provide the expected change in the log-transformed concentrations for a one-unit change in the independent variable.

Std β; standardized partial regression coefficients

^c coefficient β show the correspondence to 10 fold increase in estimated values, because of the log-transformed values.

*, **Statistically significant (p<0.05, p<0.01 respectively) by using the multiple regression analysis.

有機フッ素化合物（PFCs）の胎児期曝露評価と児への健康影響評価

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 センター長・特任教授

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

研究分担者 佐々木 成子 北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 助教

研究要旨

本研究対象者において有機フッ素化合物(PFCs)の曝露評価を行うために、ヒト試料のPFCsの測定系の確立を検討した。標準血清(NIST standard reference material (SRM) 1957)を用いて血中PFCs濃度14種を世界の他機関との測定値を比較したところ、同様の測定値が得られた。さらに、研究対象者である妊婦4名の予備測定を実施したところ、母体血漿中PFOS濃度は平均5.94 ng/ml、PFOA濃度は平均1.48 ng/mlであり、東豊コーホートスタディのPFOS・PFOA濃度と同様の結果であった。以上より、ヒト血清中もしくは血漿中PFCsの一斉分析の測定系を確立することができた。今後は、対象者約2,000名の母体血中PFCs濃度14種の一斉分析を行う。また、児への健康影響を評価するために、前向きコーホート研究およびNested-ケースコントロール研究のデザインで、児の体格(身長・体重・胸囲・頭囲)、Small for Gestational Age (SGA)、Low Birth Weight (LBW)、早産、先天異常、アレルギー疾患・感染症への影響を検討する。本分析法によりPFCsの胎児期曝露評価が可能となり、北海道における妊婦のPFCs汚染実態を把握するとともに、出生後の児の健康影響を検討することでPFCsの胎児期曝露の影響を解明できるものと期待される。

研究協力者

樫野 いく子, 岡田 恵美子

(北海道大学大学院医学研究科
予防医学講座公衆衛生学分野)

松浦 英幸

(北海道大学農学研究院応用生命科学部門
生命有機化学分野生物有機化学研究室)

性・高残留性の物質であり、環境中に放出され自然界および生体内で分解を受けずに蓄積されることから、人体への健康影響が懸念されている。

動物実験では、肝肥大、内分泌障害(甲状腺ホルモン減少、血清コレステロール値減少)、運動機能の低下、発達障害、免疫抑制、仔の出生体重減少などが示されている。ヒトにおいては母体の曝露による胎盤透過性が報告され、胎児への移行が示唆されている。疫学研究では胎児期のPFCs曝露による出生時体格、出生後の神経行動発達、免疫・アレルギー疾患、甲状腺疾患などへの影響が報告されている。

A. 研究目的

PFOS・PFOA・PFNA・PFHxS・PFDA・PFUnDAのような有機フッ素化合物(PFCs)は、撥水の性質を利用して衣類、建材、フッ素系の表面コーティング剤、界面活性剤などに広く使用されている。難分解

しかし、これまで多くの先行研究では主に PFOS・PFOA に焦点が当てられ、他の PFCs の影響については明らかにされていない。また、PFOS 以外の PFCs は規制の対象外であるため、ヒトに及ぼす影響を明らかにすることは極めて重要である。

本研究では、妊婦における PFCs の曝露評価を行うために、ヒト試料の測定系の確立を検討することを目的に標準血清(NIST standard reference material (SRM) 1957)を用いて血中 PFCs 濃度 14 種(PFOS・PFOA・PFNA・PFDA・PFUnDA・PFBS・PFHxS・PFBA・PFPeA・PFHxA・PFHpA・PFD0A・PFTrDA・PFTeDA)について海外および国内の他機関との測定値を比較する。また、研究対象者である妊婦 4 名の予備測定を実施する。

B. 研究方法

血漿中の PFCs を測定するのに LC/MS/MS(北海道大学農学研究科に設置)が適した条件かを確認するために、研究対象とする PFCs(PFOS・PFOA・PFNA・PFDA・PFUnDA・PFHxS)の標準品を用いて検量線を作成した。この時の機器の条件設定の詳細については、表 1, 表 2 に示す。

機器の状態を確認後、我々の開発した血漿中 PFCs 前処理方法(図 1)の正確性を検討するために、標準血清(NIST standard reference material (SRM) 1957)を用いて血中 PFCs 濃度 14 種を世界の他機関との測定値を比較した。この時、血清に添加する内部標準物質は、PFOS- $^{13}\text{C}_4$ ・PFOA- $^{13}\text{C}_4$ ・PFNA- $^{13}\text{C}_9$ ・PFDA- $^{13}\text{C}_9$ ・PFHxS- $^{13}\text{C}_3$ を用いた。

北海道内の約 40 産科医療施設で実施し

た出生前向きコホート研究(北海道スタディ)対象者の血漿を実際に測定することで、札幌市の一般病院・産科で実施した東豊コホートスタディで測定されている結果と比較検討を行った。

(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

標準液を用いて検量線を作成したところ、6 種類すべての PFCs において R^2 が 0.993 以上であり、綺麗な直線性を示した(図 2)。標準血清を用いた血中 PFCs 濃度 14 種を他機関との測定値を比較した結果、ほぼ同様の結果が示された(表 3)。さらに、北海道スタディの検体の測定を行った結果、PFOS・PFOA については、同様の結果を示した(表 4)。また、本研究の対象者は PFOS・PFOA・PFNA・PFDA・PFUnDA が検出可能であった。PFBS・PFHxS・PFBA・PFPeA・PFHxA・PFHpA・PFD0A・PFTrDA・PFTeDA については検出限界以下であった。

D. 考察

血漿中 PFCs の一斉分析の測定系を確立したことにより、本研究の対象者は母体血

中 PFOS・PFOA・PFNA・PFDA・PFUnDA 濃度とアウトカムとの関連の検討が可能であると考えられる。PFBS・PFHxS・PFBA・PFPeA・PFHxA・PFHpA・PFDoA・PFTrDA・PFTeDA については低濃度もしくは検出限界以下が予測されるが、北海道における妊婦の PFCs の曝露状況を把握することが可能である。

今後の計画：PFCs の胎児期曝露による児への健康影響評価

本研究では、前向きコホート研究および Nested-ケースコントロール研究のデザインで、PFCs の胎児期曝露による児の体格（身長・体重・胸囲・頭囲）、Small for Gestational Age (SGA), Low Birth Weight (LBW), 早産、先天異常、アレルギー疾患・感染症への影響を検討することが可能である（参考表 1）。Danish National Birth Cohort において胎児期の PFCs 曝露と 5 ヶ月・12 ヶ月時の体格との負の関連が報告されていることから (Andersen et al. 2010), 本研究でも出生時体格のみならず 1 歳・1 歳 6 ヶ月・3 歳時の体格についても継続して検討する。

前向きコホート研究では、2003 年～2005 年の研究参加登録者 8,426 名のうち、初期調査票があるもの 7,892 名、妊娠後期の血液サンプルがあるもの 6,381 名、新生児個票があるもの（生産）5,966 名から先天異常、多胎を除外し、4 ヶ月・1 歳・2 歳調査票があるもの 2,937 名からデータ欠損者を除外した約 2,000 名を対象とする。約 2,000 名の母体血中 PFCs 濃度を測定し、出生時・1 歳 6 ヶ月・3 歳時の体格、LBW, アレルギー感染症との関連について解析を行う（参考図 1）。

SGA をアウトカムとした Nested-ケースコントロール研究では、前向きコホート研究と同様に母体血中 PFCs 濃度を測定する約 2,000 名の中から、1 対 2 の割合でケースとコントロールを選出する。ケースである SGA 224 名 (7.62 %) と、児の性別、出産経歴、在胎週数でマッチングを行ったコントロール 448 名で解析を行う（参考図 2）。

先天異常をアウトカムとした Nested-ケースコントロール研究では、前向きコホート研究のデザインで除外した先天異常を有する対象者をケースとし、母体血中 PFCs 濃度の測定を行う。コントロールは、母体血中 PFCs 濃度を測定する約 2,000 名の中から 1 対 2 の割合で選出する。ケースである先天異常 86 名 (1.48 %), 児の性別、出産病院、母の年齢でマッチングを行ったコントロール 172 名で解析を行う（参考図 3）。

今後は、対象者約 2,000 名の母体血中 PFCs 濃度 14 種の一斉分析を行う。北海道における妊婦の PFCs 汚染実態を把握するとともに、出生後の児の健康影響を検討することで PFCs の胎児期曝露の影響を解明することが可能である。

E. 結論

本研究対象者において PFCs の曝露評価を行うために、ヒト血清中もしくは血漿中 PFCs の一斉分析の測定系を確立した。本分析法により PFCs の胎児期曝露評価が可能となり、北海道における妊婦の汚染実態の解明および児への健康影響の解明に大きく貢献できるものと期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表
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

2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

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

表 1. LC/MS/MS による有機フッ素化合物測定条件(装置)

Instrument	LC: ACQUITY UPLC system (Waters) MS/MS: Micromesh Quattro Premier tandem quadrupole mass spectrometer (Waters)																					
Colum	Ethylen-bridged (BEH) C18 column (1.7 μ m, 62.1 \times 100 mm) (Waters)																					
Colum temp	50 $^{\circ}$ C																					
Flow rate	0.3 mL/min																					
Injection volume	10 μ l																					
Mobile phase (vol/vol)	A: 2mM Aq. Ammonium acetate B: 2mM ammonium Columacetate/MeOH																					
Measurement time	8 min																					
LC/MS/MS gradient	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Time (min)</th> <th>% A</th> <th>% B</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.00</td> <td>70</td> <td>30</td> </tr> <tr> <td>0.20</td> <td>70</td> <td>30</td> </tr> <tr> <td>5.00</td> <td>0</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>6.50</td> <td>0</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>7.00</td> <td>70</td> <td>30</td> </tr> <tr> <td>8.00</td> <td>70</td> <td>30</td> </tr> </tbody> </table>	Time (min)	% A	% B	0.00	70	30	0.20	70	30	5.00	0	100	6.50	0	100	7.00	70	30	8.00	70	30
Time (min)	% A	% B																				
0.00	70	30																				
0.20	70	30																				
5.00	0	100																				
6.50	0	100																				
7.00	70	30																				
8.00	70	30																				

表 2. LC/MS/MS による有機フッ素化合物測定条件(MS)

Function	PFCs	RT	Dwell	Precursor Ion (m/z)	Product Ion (m/z)	Cone (V)	Collision (eV)
1. Time 0-3.0	PFBA	0.62	0.1	213	169	18	8
	PFPeA	2.49	0.1	263	219	15	9
	PFBuS	2.75	0.1	299	80	45	29
2. Time 3.0-4.35	PFHxA	3.34	0.08	313	269	15	10
	PFHpA	3.86	0.08	363	319	16	10
	PFHxS	3.91	0.08	399	99	50	30
	PFHxS- 13 C ₃	3.95	0.08	402	99	50	30
	PFOA	4.25	0.08	413.03	368.76	17	11
	PFOA- 13 C ₄	4.26	0.08	417.09	372.7	17	11
3. Time 4.35-4.7	PFTrDA	4.42	0.1	663	619	22	15
	PFNA- 13 C ₉	4.56	0.1	472	427	16	11
	PFNA	4.57	0.1	463	419	16	11
	PFOS	4.57	0.1	498.99	80	45	40
	PFOS- 13 C ₄	4.57	0.1	503.05	80	45	40
3. Time 4.7-8.0	PFDA- 13 C ₉	4.82	0.1	522	477	17	12
	PFDA	4.84	0.1	513	469	17	12
	PFUnDA	5.06	0.1	563	519	18	12
	PFDoA	5.26	0.1	613	569	20	13
	PFTeDA	5.56	0.1	713	669	15	14

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

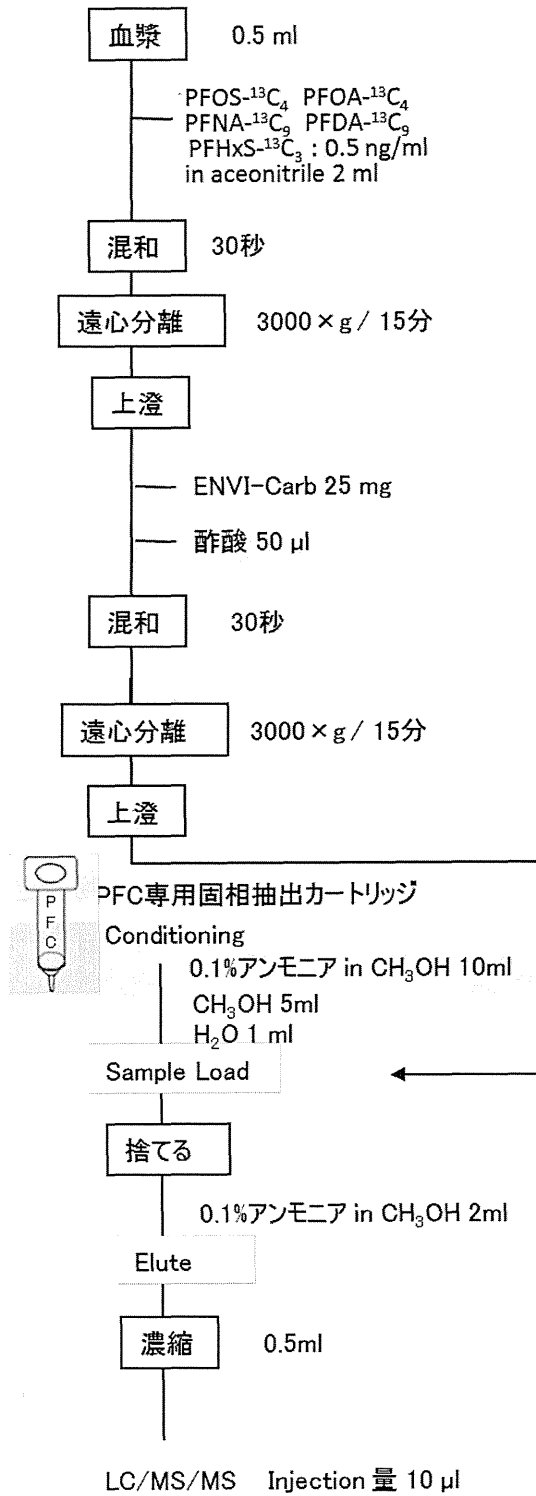
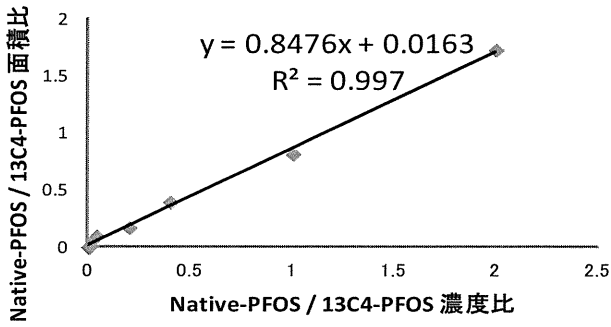
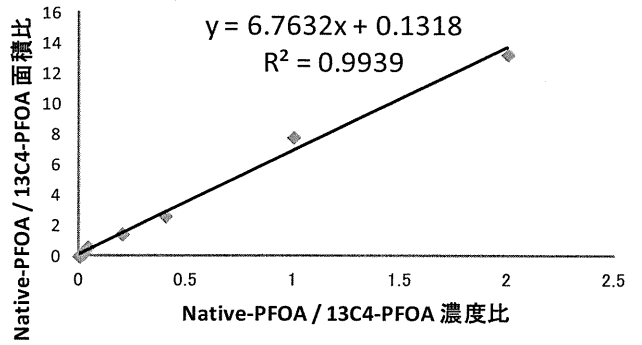


図 1. 血漿中の有機フッ素化合物抽出の前処理方法

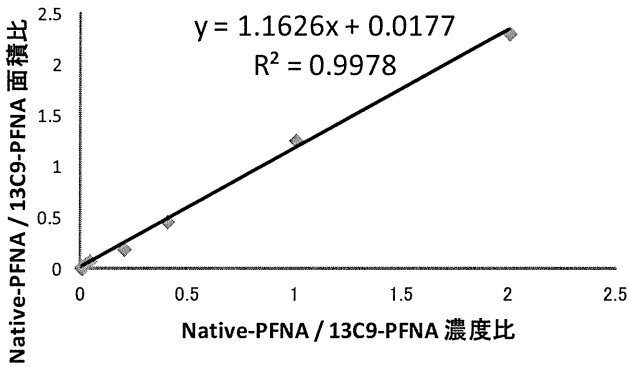
PFOS



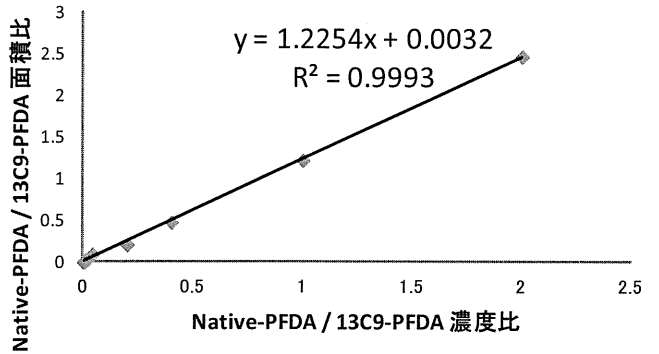
PFOA



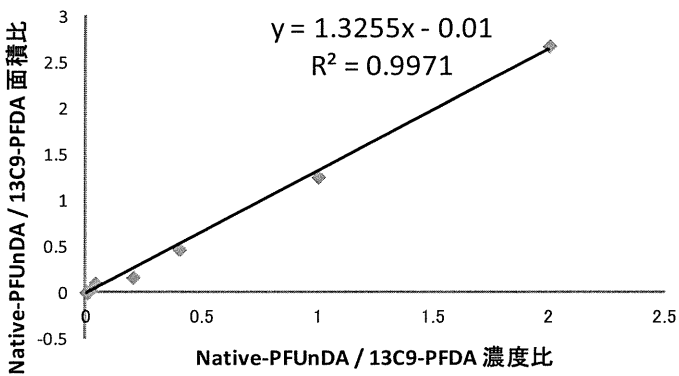
PFNA



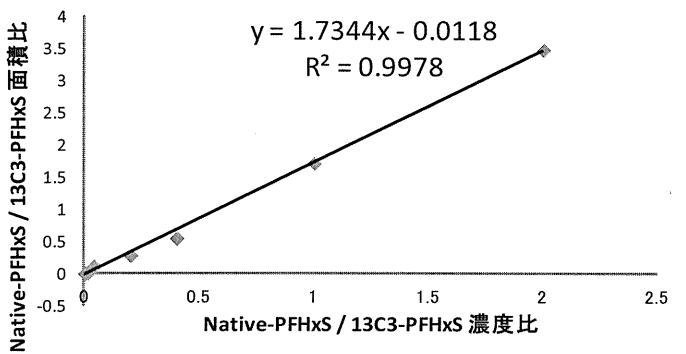
PFDA



PFUnDA



PFHxS



x = Native / Internal standard 濃度比
 y = Native / Internal standard 面積比

図 2. 標準液による検量線

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. 標準血清を用いた有機フッ素化合物濃度

	北大 (ng/ml)	NIST (ng/g)	CDC (ng/g)	3M (ng/g)	U. Toronto (ng/g)	Env. Canada (ng/g)	EPA (ng/g)	京都大学 (ng/ml)
PFBA	ND	-	-	<0.05	-	-	-	-
PFPeA	ND	-	-	<0.05	-	-	-	-
PFHxA	ND	<0.093	-	<0.05	<0.05	-	NR	<0.05
PFHpA	ND	0.279	<0.4	0.277	0.33	<0.61	<1.0	0.27
PFOA	5.55	4.43	4.88	5.36	4.81	5.13	5.86	4.77
PFNA	0.474	0.762	0.833	0.97	-	0.934	0.869	0.96
PFDA	0.299	0.393	<0.2	0.285	0.327	0.53	<1.0	0.26
PFUnDA	0.359	0.176	<0.2	0.159	0.216	0.105	<0.5	0.174
PFDoA	ND	<0.073	<0.2	<0.05	<0.025	0.203	<0.25	0.16
PFBS	ND	<0.075	<0.1	<0.02	-	-	<0.25	<0.1
PFHxS	5.17	3.01	3.22	3.53	3.88	5.15	5.23	-
PFOS	22.0	21.0	19.8	23.6	21.0	21.9	19.5	-
PFOSA	-	0.116	<0.1	<0.1	-	-	-	-

Standard 血清: NIST standard reference material (SRM) 1957. Keller et al. 2010; Harada et al. 2011 を改変

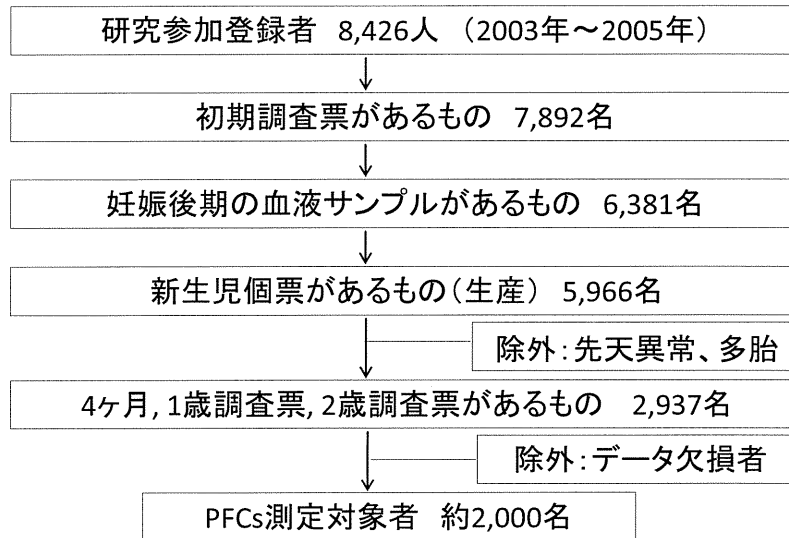
表 4. 北海道スタディ対象者の血漿中有機フッ素化合物濃度

	PFOS	PFOA	PFNA	PFHxS	PFDA	PFUnDA
水Blank	ND	ND	ND	ND	ND	ND
北海道スタディ1	5.52	1.14	ND	ND	ND	0.28
北海道スタディ2	6.28	1.55	0.93	ND	0.43	1.50
北海道スタディ3	8.50	2.25	0.72	ND	0.53	1.44
北海道スタディ4	3.44	1.00	2.52	ND	0.81	4.43
北海道スタディ平均値	<u>5.94</u>	<u>1.48</u>	1.39	ND	0.59	1.91
東豊コホート中央値	<u>5.20</u>	<u>1.30</u>	-	-	-	-

Native / Internal standard 濃度比・面積比の検量線から濃度計算

参考表 1. 北海道スタディにおける児のアウトカム

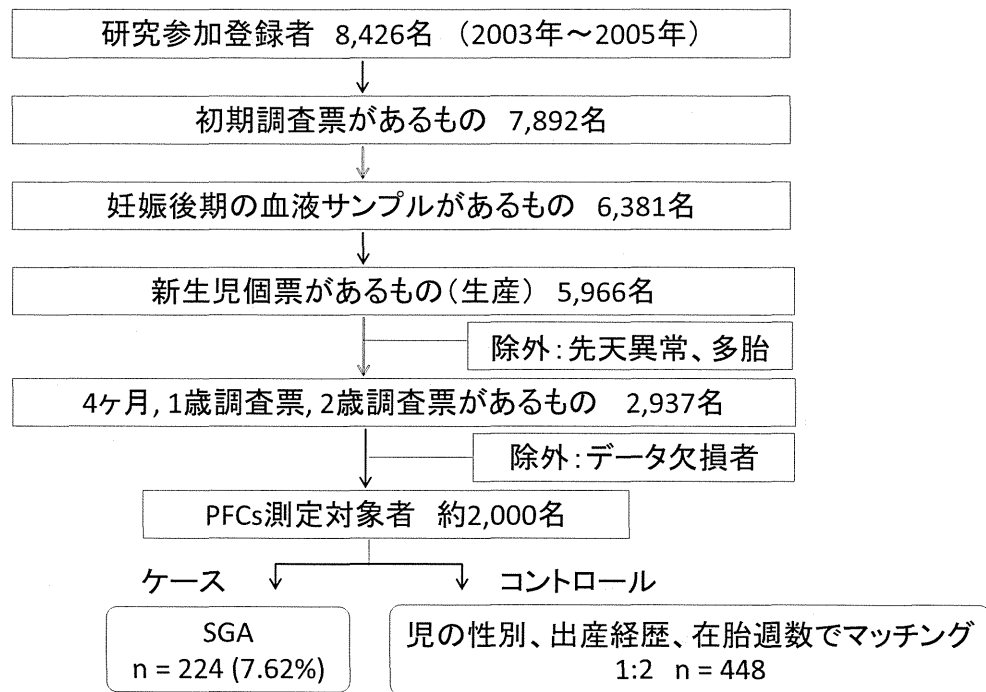
調査票(月齢)	アウトカム	研究デザイン
新生児個票(出生時)	体格(身長・体重・頭囲・胸囲)	前向きコーホート研究
	SGA: Small for Gestational Age (出生時体重が標準値の10パーセンタイル未満)	Nested-ケースコントロール研究 (case: n=224)
	LBW: Low Birth Weight (出生時体重が2500g未満)	前向きコーホート
	早産(在胎週数が37週未満)	Nested-ケースコントロール研究 (case: n=195)
	先天異常	Nested-ケースコントロール研究 (case: n=86)
4ヶ月調査票(4ヶ月)	体格(身長・体重・頭囲・胸囲)	前向きコーホート研究
1歳調査票(12ヶ月)	1歳時の体格(身長・体重・頭囲・胸囲)	前向きコーホート研究
	アレルギー・感染症	前向きコーホート研究
2歳調査票(24ヶ月)	1歳6ヶ月時の体格(身長・体重・頭囲・胸囲)	前向きコーホート研究
	アレルギー・感染症	前向きコーホート研究
4歳調査票(48ヶ月)	3歳時の体格(身長・体重・頭囲・胸囲)	前向きコーホート研究
	アレルギー・感染症	前向きコーホート研究



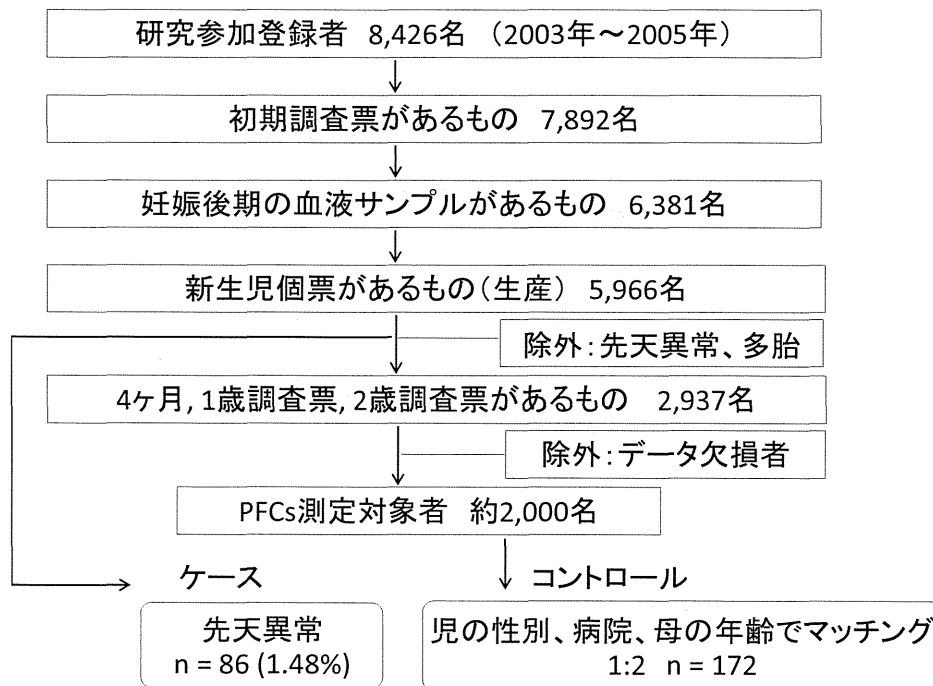
アウトカム

- ① 出生時: 体格(身長・体重・頭囲・胸囲)、LBW
- ② 1歳、1歳6ヶ月、3歳: 体格(身長・体重・頭囲・胸囲)
- ③ 1歳、1歳6ヶ月、4歳: アレルギー・感染症

参考図 1. 研究フロー: 前向きコーホート研究



参考図 2. 研究フロー：Nested-ケースコントロール研究(SGA がアウトカムの場合)



参考図 3. 研究フロー：Nested-ケースコントロール研究(先天異常がアウトカムの場合)

妊婦の有機フッ素化合物（PFCs）濃度の経年変化：2003年-2011年

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 佐々木成子 北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野助教
研究分担者 松浦 英幸 北海道大学大学院農学研究院応用生命科学部門生命有機化学分野
生物有機化学研究室教授
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
研究分担者 池野多美子 北海道大学環境健康科学研究教育センター特任講師
研究分担者 宮下ちひろ 北海道大学環境健康科学研究教育センター学術研究員

研究要旨

有機フッ素化合物（PFCs）は、難分解性、高残留性の環境化学物質である。疫学研究では、一般生活環境レベルの PFCs 胎児期曝露による児の健康影響が認められた。また近年では、炭素鎖の長い PFNA, PFDA のヒト血液中濃度が経年して上昇していることが報告されているが、日本における報告はわずかである。そこで本研究では、超高速液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析装置（UPLC-MS/MS）を用いた一斉分析により、妊婦の血液中 PFCs 11 化合物濃度を測定し、北海道における PFCs の曝露実態を明らかにするとともに、血中濃度の経年変化を検討した。対象者は、2003年～2011年に登録した妊婦 20,737 名から 2 年ごとに 30 名をランダム抽出した 150 名である。妊娠後期の母体血中 PFCs 11 化合物濃度を測定した結果、PFOS, PFOA 濃度は諸外国の妊婦と比較して低い濃度であった。2003年～2011年の間で、PFOS, PFOA 濃度は経年して有意に減少した一方で、PFNA, PFDA 濃度は有意な経年上昇が認められた。今後、長鎖の PFCAs に注目し、PFOS, PFOA を含めた PFCs 11 化合物の胎児期曝露によるリスク評価を行う予定である。

研究協力者

岡田 恵美子、櫻野 いく子
（北海道大学大学院医学研究科
予防医学講座公衆衛生学分野）
山本 潤（いであ株式会社環境創造研究所）

A. 研究目的

PFOS, PFOA に代表される有機フッ素化合物（PFCs）は、絶縁性、撥水撥油性をはじめとする優れた表面特性を有することから、衣類、建材、界面活性剤など幅広い分野で使用されている。人体への曝露経路には飲料水、食品、食品パッケージ、ハウスダストが報告されている。PFCs は難分解性、高残留性の物質であり、環境中に放出された後も自然界および生体内で分解

を受けずに蓄積されることから、人体への健康影響が懸念されている。

ヒトにおいても妊娠中の曝露により PFCs が血液胎盤関門を通過し、胎児へ移行することが報告された（Midasch et al. 2007; Monroy et al. 2008）。疫学研究では、PFCs の胎児期曝露が子どもの出生時体重に影響を及ぼすことが明らかにされており（Fei et al. 2007; Washino et al. 2009）、妊婦の曝露評価を行うことは極めて重要である。

PFOS, PFOA は、アメリカや欧州連合、カナダを始めとした世界各国での製造や使用の規制が始まり、2009年には残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約で制限物質として PFOS, PFOSF が新たに追加

された。しかし、PFCs は PFOS, PFOA 以外にも PFHxS や炭素鎖が長い PFNA, PFDA, PFUnDA, PFHxS など多く存在し、これらは未だ規制の対象外である。長鎖の PFCs は生物濃縮性が高く半減期が長いことが示唆されている (Martin et al. 2003; Ohmori et al. 2003)。ヒト血液中 PFNA, PFDA 濃度は経年して上昇していることが報告されていることから (Calafat et al. 2007; Glynn et al. 2012; Harada et al. 2011)、PFOS, PFOA だけではなく、その他の PFCs、特に長鎖のパーフルオロアルキルカンボン酸 (PFCA) の曝露実態を把握する必要があるが、日本においてこれらのヒト血液中濃度の報告はほとんどない。

本研究では、超高速液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析装置 (UPLC-MS/MS) を用いた一斉分析により、妊婦の血液中 PFCs 11 化合物濃度を測定し、北海道における PFCs の曝露実態を明らかにするとともに、血中濃度の経年変化を検討することを目的とした。

B. 研究方法

2003 年から現在進行中の北海道全域を対象とした前向きコホート研究「環境と子どもの研究に関する北海道スタディ」に参加登録し同意の得られた妊婦を対象とした。対象者は、2003～2011 年の参加登録者 20,737 名のうち、初期調査票、医療診療録、母体血検体があるものから、2003 年 1,944 名、2005 年 2,459 名、2007 年 1,820 名、2009 年 1,274 名、2011 年 1,103 名を抽出し、それぞれ 30 名ずつをランダムに抽出した 150 名である。

分析試料は妊娠 28～31 週の母体血漿を分析試料とした。前処理方法は、血漿 0.5 mL に安定同位体標識物質 PFHxA-¹³C₂, PFHxS-¹³C₃, PFOA-¹³C₄, PFNA-¹³C₅, PFOS-¹³C₄, PFDA-¹³C₂, PFUnDA-¹³C₂ を各 2.5 ng 添加し、アセトニトリル溶液 2 mL を加えて攪拌、15 分間遠心分離した。

液相を分取した後、Envi-carb 25 mg と酢酸 50 μ L を添加し、攪拌、遠心分離を 15 分間行った。次に分取した液相を窒素気流下で乾固させメタノール 0.5 mL に再溶解したものを試料溶液とした。LC 装置は Waters 製 ACQUITY UPLC system、MS/MS 装置は Waters 製 Micromass Quattro Premier を使用した分析カラムは Ethylen-bridged (BEH) C18 column (1.7 μ m, 2.1 \times 50 mm) を用い、リテンションギャップカラム BEH C18 column (1.7 μ m, 2.1 \times 100 mm) を設置した。移動相には 2 mM 酢酸アンモニウムの水/メタノール混液を用いて、流量 0.3 mL/min で送液し、試料溶液 5 μ L を UPLC/MS/MS に注入して PFCs 11 化合物 (PFHxA, PFHpA, PFOA, PFNA, PFDA, PFUnDA, PFDoDA, PFTrDA, PFTeDA, PFHxS, PFOS) の一斉分析を行った。Mass モニタリングイオンの値を Table 1、LC グラジエント条件を Table 2 に示す。装置検出下限値 (Instrumental detection limits: IDL) は 0.1～0.2 ng/mL、分析方法の検出下限値 (Method detection limits: MDL) は 0.2～0.3 ng/mL だった。標準血清 NIST standard reference material (SRM) 1950 を測定した結果、日本および諸外国の他機関と同様の値が得られたことから、本研究における PFCs 分析法の妥当性と信頼性が確立された (Keller et al., 2010; Harada et al., 2011)。IDL、MDL、標準血清の測定値を Table 1 に示す。

統計解析には、検出限界未満の対象者に MDL の半値を充てた。年齢を調整した平均値は、least square mean of ANCOVA model を用いて算出した。2003～2011 年の傾向をみるために、線形回帰分析を行った。各 PFCs の相関をみるために Spearman's rank correlation coefficient を用いた。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。