

## 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

榎野 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・PFDoA・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・PFDoA・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・PFDaA・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)																					
Column	Ethylene-bridged (BEH) C18 column (1.7 $\mu$ m, 62.1 $\times$ 100 mm) (Waters)																					
Column temp	50																					
Flow rate	0.3 mL/min																					
Injection volume	10 $\mu$ 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- <sup>13</sup> C <sub>3</sub>	3.95	0.08	402	99	50	30
	PFOA	4.25	0.08	413.03	368.76	17	11
	PFOA- <sup>13</sup> C <sub>4</sub>	4.26	0.08	417.09	372.7	17	11
3. Time 4.35-4.7	PFTTrDA	4.42	0.1	663	619	22	15
	PFNA- <sup>13</sup> C <sub>9</sub>	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- <sup>13</sup> C <sub>4</sub>	4.57	0.1	503.05	80	45	40
3. Time 4.7-8.0	PFDA- <sup>13</sup> C <sub>9</sub>	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

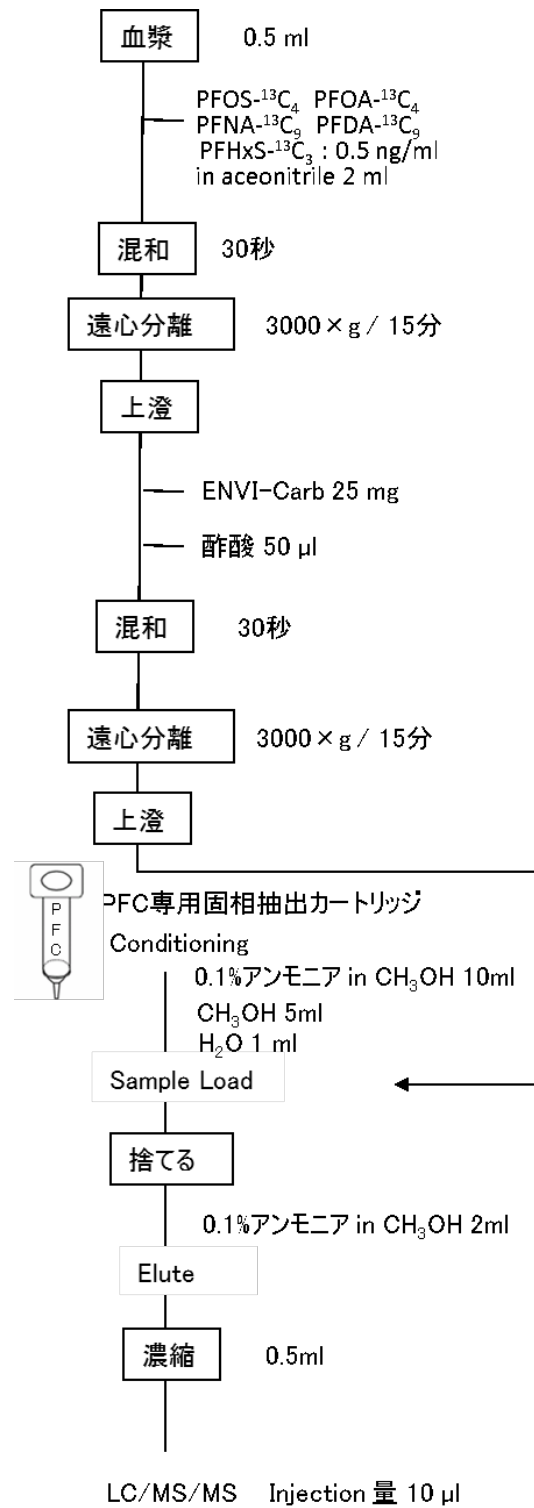
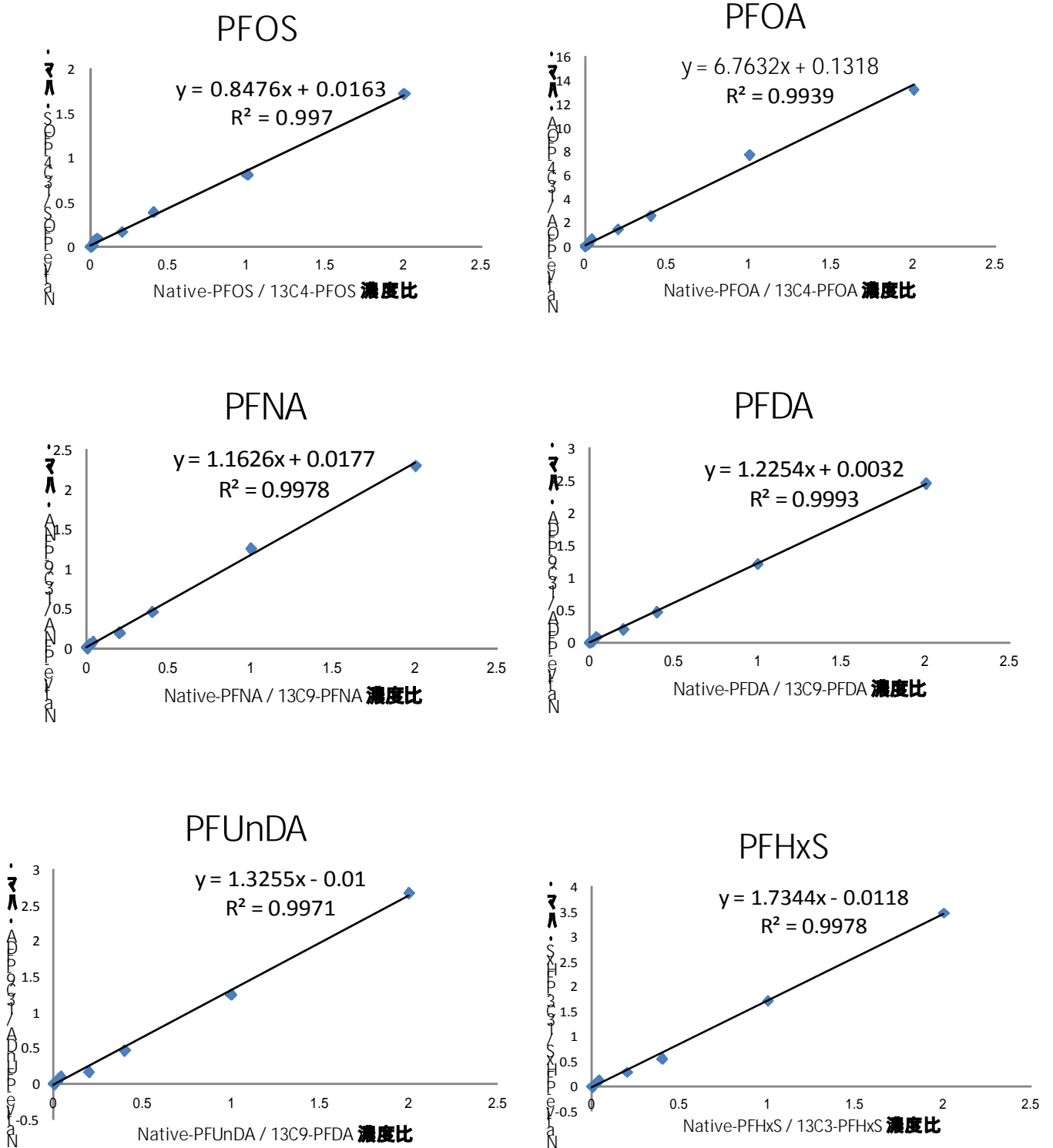


図 1. 血漿中の有機フッ素化合物抽出の前処理方法

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



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>	-	-	-	-

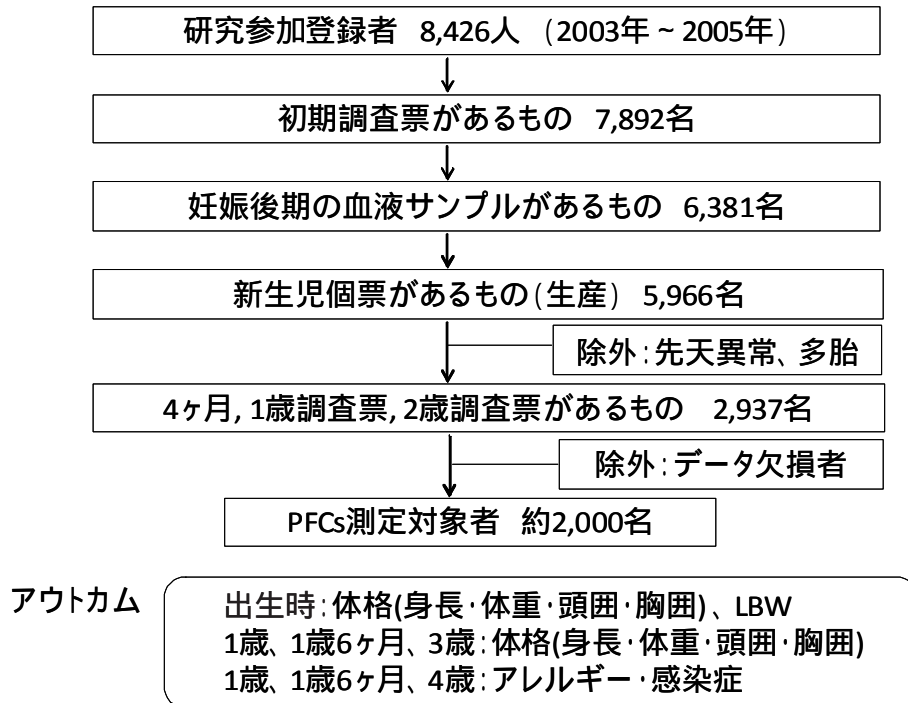
Native / Internal standard 濃度比・面積比の検量線から濃度計算



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

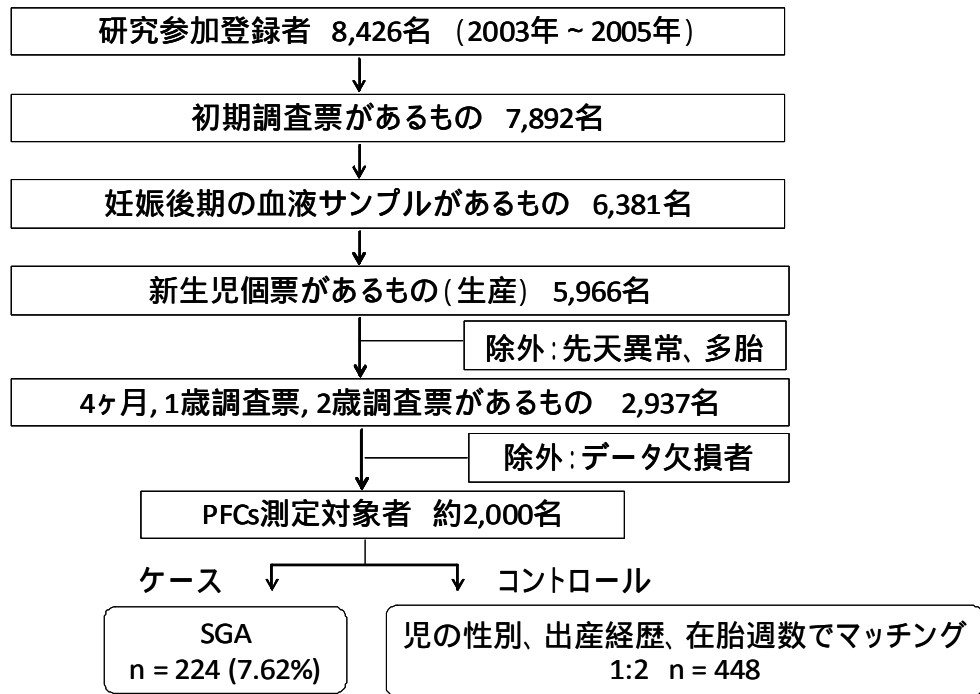
参考表 1. 北海道スタディにおける児のアウトカム

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 パーセントイル未満)	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)	前向きコホート研究
	アレルギー・感染症	前向きコホート研究
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)	前向きコホート研究
	アレルギー・感染症	前向きコホート研究
4歳調査票(42ヶ月)	3歳時の体格(身長・体重・頭囲・胸囲)	前向きコホート研究
	アレルギー・感染症	前向きコホート研究

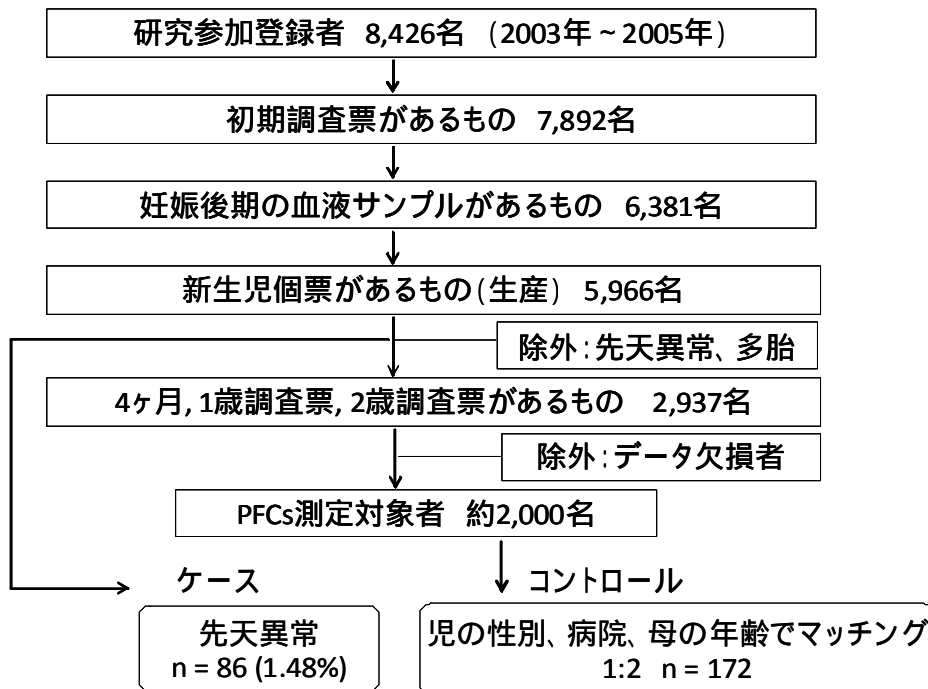


参考図 1. 研究フロー：前向きコホート研究

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



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)