

微量ダイオキシン類、水酸化（OH）PCB の測定法の開発（2）

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 和太、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）

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

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、

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 濃度測定のク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、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、LC/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、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

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

- 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.* 90(5). 1581-1588.2013.
- 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)

H . 知的所有権取得

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

- 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

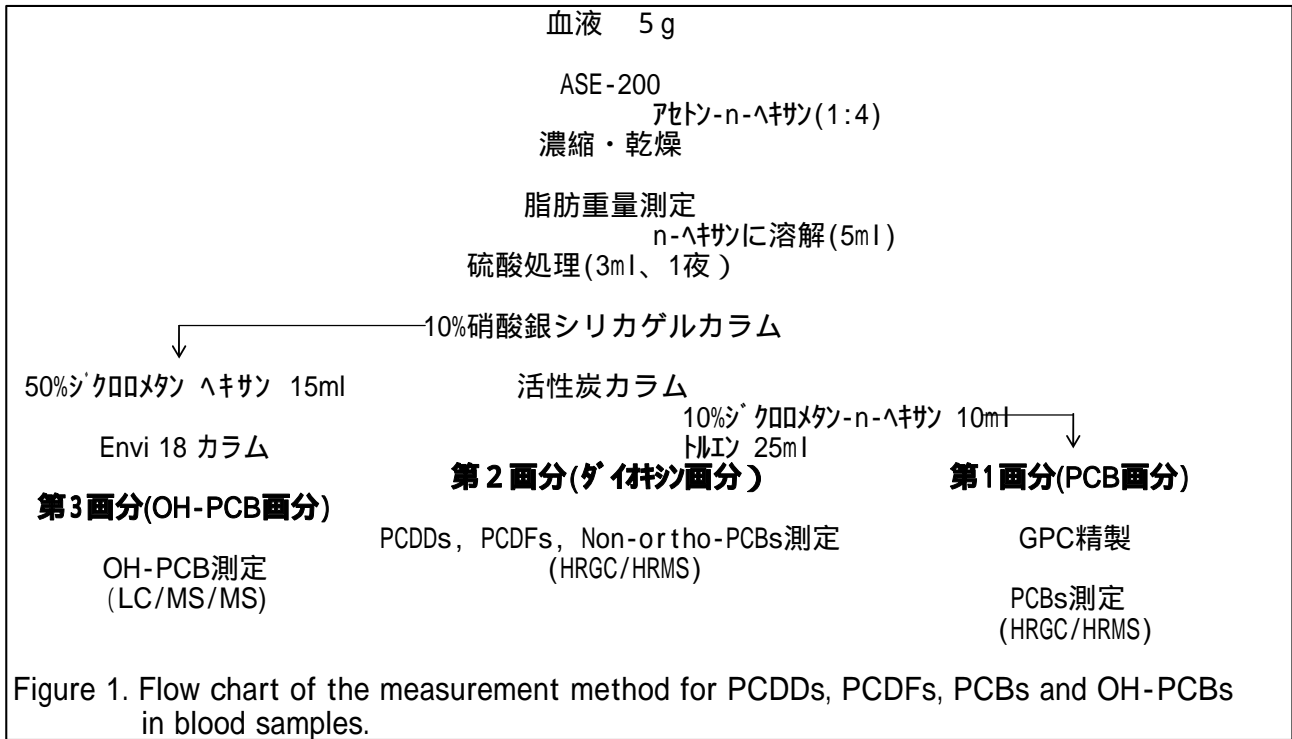


表1 妊婦の血液中PCB、OH-PCB濃度

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:Cocfficient 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',3,4,4',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				
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',3,4,4',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
23'4'6'-TeCB(#71)	915	5221	46	ND	34602
23'4'5'-TeCB(#63)	124	503	41	ND	3357
24'4'5'-TeCB(#74)	2779	7391	1472	401	50038
23'4'5'-TeCB(#70)	2660	14632	191	ND	96993
23'4'4'-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
23'4'5'6'-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