

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）
総括研究報告書

生体試料バンクを有効活用した食品および母乳の継続的モニタリング

研究代表者 小泉 昭夫 京都大学大学院医学研究科・教授

研究要旨：

平成23年3月11日に我が国は、東日本大震災という未曾有の災害に見舞われ、同3月15日には福島第一原子力発電所の爆発事故が発生し、東北地域における食糧生産に大きな影響を与えることになった。震災はまた、放射能のみならず化学物質による汚染も引き起こし、多くの国民が重大な懸念を抱いている。平時でも、我が国の食料自給率はカロリーベースで40%程度であり、震災後はより多くを海外に依存している現状がある。食の安全を確保するために、ポジティブリスト制度が導入されたが、実際に検査されるのは約10%であり、諸外国での不正な使用が行われてきたDDTなどのPOPs(Persistent organic compounds：難分解性残留汚染物質)などは捕捉できない可能性がある。適切なリスク管理には、主な生産国および我が国でのランダムサンプリングによる食事からの曝露評価も活用することが必要である。また特殊な事例として乳児に関しては、母乳を通じた間接的な曝露評価を行うことも必要になる。

我々の研究目的は、生体試料バンクを有効活用し、東日本大震災以降の食の化学物質汚染への国民の不安に対して科学的に妥当な情報を提供するとともに、引き続き継続モニタリングを行い、食の安全と安心の基盤を強化することである。

平成26年度においては、近年使用が増加しているネオニコチノイド農薬を含む汚染が懸念される物質の継続的モニタリング、持続的な試料の収集、摂取した汚染物質の体内動態モデリング、および試料のバンキングについて理解を得るためのフォーラムの諸活動を行った。

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	原口 浩一	第一薬科大学薬学部・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	人見 敏明	京都大学大学院医学研究科・特定研究員
研究協力者	藤井 由希子	第一薬科大学薬学部・助教
研究協力者	新添 多聞	京都大学医学研究科・特定研究員

1. 汚染が懸念される物質のモニタリング

(1) ネオニコチノイド農薬摂取量を尿試料により評価する生物学的モニタリングの手法の開発

A. 研究目的

ネオニコチノイド系農薬は、稲、果樹、野菜などに幅広く使用されており、主要な害虫、特にカメムシに優れた防除効果を持ち、ヒトや水生生物に対する毒性が弱いことから多くの都道府県で使用されている。一方で、EUで農薬審査を行う欧州食品安全機関(EFSA)が、2013年1月に、3種類のネオニコチノイド系農薬(イミダクロプリド、クロチアニジンおよびチアメトキサム)について、蜜蜂への影響に関する評価結果を公表し、EU理事会はこれら3種類の農薬を規制した。さらに、2013年12月、EFSAはネオニコチノイド系農薬2品目(アセタミプリドおよびイミダクロプリド)の発達・神経毒性の潜在的な関連性を評価した。食品安全委員会農薬評価書では日本人の平均推定摂取量はイミダクロプリド307 μg /人/日、クロチアニジン206 μg /人/日、チアメトキサム265 μg /人/日、ジノテフラン713 μg /人/日とされている。しかしこれらの推定値は、一定の使用条件で観察された最大値で、加工・調理による残留農薬の増減が全くないとの仮定であり、実測による評価が喫緊の課題である。また個人の曝露量を測定するための簡便なバイオマーカーを同定し、生物モニタリングを確立することが必要である。

動物実験の結果では、イミダクロプリド、クロチアニジン、アセタミプリド、ジノテフランの4種類の主たるネオニコチノイド系農薬は、消化管からの吸収率が高く、生物学的半減期が短

く尿中に大部分が排泄されることから、24時間尿中排泄量から一日摂取量を推定できる可能性が高い。しかし、モニタリングの指標となる尿中代謝産物は現在まで報告されていない。そこで、これら4種類のネオニコチノイド農薬について、摂取による負荷前後の24時間尿を採取し、負荷量に対応して増加する尿中代謝産物を見出し、その物質についてバイオリジカルモニタリングの指標となり得るかどうかを検討した。

京都府下健康な男女373名の随時尿試料の採取を行った。モニタリング指標となる産物の尿中濃度から、373名の4種類のネオニコチノイド系農薬の一日摂取量の推定を行った。以上をもって食品安全委員会の報告された推定値と実測値との比較を行った。

B. 研究方法

・測定試料

採尿容器を調査対象者に配布し、調査開始後24時間までの尿を採取した。ネオニコチノイド系農薬のうち、安定同位体である重水素化されたものがある、アセタミプリド、イミダクロプリド、クロチアニジン、ジノテフランについては、ベースラインを考慮しなくてよいため、摂取量を2 μg /人/日程度と5 μg /人/日程度に分けることで、用量反応関係を評価した。負荷後の24時間尿を採取した。尿中ネオニコチノイドを分析し、24時間での排泄量を計算した。曝露前をコントロールとした。

随時尿は1回を採尿容器に取った。尿中クレアチニン、尿中ネオニコチノイドを分析し、クレアチニン濃度で補正したネオニコチノイド濃度を計算した。

性別・年齢・身長・体重・BMI・職業・既往歴は採尿容器を配布する前に

聞き取りを行った。

食事記録は、24時間尿群は採尿開始後48時間後まで記録し、尿試料とともに回収した。随時尿群は、採尿容器を配布する前に採尿前24時間までの内容を聞き取った。

尿中クレアチニンは臨床検査機関で測定した。

尿中ネオニコチノイド代謝産物はLC-MS/MSで測定した。

・実験計画と試験集団

重水素標識ネオニコチノイド(クロチアニジン、ジノテフラン、イミダクロプリドおよびアセタミプリド)を健康成人9名に5 μg の単回経口摂取し、24時間蓄尿を、摂取後の連続した4日間に亘り集めた。非重水素標識ネオニコチノイド(2 μg の単回経口投与)を使用して、健康成人12人でモデルを検証するために負荷試験を実施した。24時間蓄尿を摂取前後の日に回収した後、随時尿試料を摂取後168時間まで24時間毎に採取した。

健康な男女373名の随時尿試料(2009年から2014年)を、宇治市、京都市で収集し、また京都大学生体試料バンクに保存されている試料を使用した。年齢、喫煙習慣、家庭での農薬使用量、前日の野菜の消費量を、自記式質問紙を用いて記録した。

尿試料は、京都大学生体試料バンクで分析まで-30 で保管した。

書面によるインフォームドコンセントを、すべての被験者から研究への参加前に得た。研究計画書は京都大学医の倫理委員会によって審査、承認された(E25およびE2166)。

・薬物動態学的モデリング

尿中代謝動態を記述するために、クロチアニジン、イミダクロプリドおよ

びジノテフランについては1コンパートメントモデル、アセタミプリドについては2コンパートメントモデルの薬物動態学的モデルを導入した。薬物動態学的モデルを開発するために、重水素標識ネオニコチノイドが、経口摂取され、尿中動態を追跡した試験を実施した。この試験では、標識されたネオニコチノイドのボラス投与として扱われ、投与後に瞬間的に体内に入ることができると仮定した。この試験では、投与後の尿試料を24時間ごとに収集した。

統計解析では、それらの化合物の薬物動態学的挙動が開発した薬物動態学的モデルに従うと仮定して、クロチアニジン、イミダクロプリド、ジノテフランおよびアセタミプリドの統計的特性を分析した。さらに、これらの化合物の毎日の摂取量は、繰り返しボラス投与計画で近似できると仮定した。

C . 研究結果

・体内動態パラメータと摂取量推定

標識化ネオニコチノイド5 μg 瞬時投与後96時間で観察された尿中排泄を動態モデルに当てはめてパラメータを得た。

2 μg 瞬時投与前後24時間で観察された尿中排泄をモデル化されたものと比較し、有意な相関が見られた。投与前が定常状態と仮定すると、クロチアニジン、イミダクロプリド、ジノテフラン、およびデスメチルアセタミプリドの毎日の摂取量は、動態モデルに基づいて推定 1.26 ± 1.12 、 1.58 ± 3.37 、 5.18 ± 6.40 、および $2.93 \pm 12.4 \mu\text{g}$ のようになった。

・健康な男女での尿中排出量と推定摂

取量

クロチアニジン、ジノテフラン、イミダクロプリド、チアメトキサム、デスメチルアセタミプリドは半分以上の試料で検出された。平均排出量としてはジノテフランが3.29 µg/day、デスメチルアセタミプリドが1.14 µg/day、クロチアニジンが0.51 µg/dayとなり、ついでイミダクロプリドが0.07 µg/dayであった。分布としては正規分布に従わず、大きく裾を引いた形となった。

これを摂取量に換算するとジノテフランが3.66 µg/day、アセタミプリドが1.94 µg/day、クロチアニジンが0.86 µg/dayとなり、ついでイミダクロプリドが0.53 µg/dayであった。本研究の対象者でもっとも高いのはジノテフランで64.5µgであった。これは農薬評価書の推定平均値10%程度であり、一日許容摂取量の1%未満であった。

・ネオニコチノイド濃度と関連する要因の探索

ここでは、検出される割合の高い15物質について検討した。クロチアニジン、デスメチルアセタミプリド、ジノテフラン、チアメトキサムは年齢、出産回数と関連していた。前日の食品摂取量との関係では、クロチアニジン、デスメチルアセタミプリド、ジノテフラン、イミダクロプリドが果実類と関連していた。野菜類とは、ジノテフラン、イミダクロプリドが関連していた。またジノテフランは穀類摂取量とも関連していた。茶類の摂取量、殺虫剤使用数とは有意な相関はなかった。性別との関連は見られなかった。野菜類の摂取習慣が多い群で尿中排出が高い傾向があったが有意ではなかった。クロチアニジン、ジノテフラン、イミダクロプリドが飲酒、喫煙習慣と関連があったが、理由は分からなかった。

・ネオニコチノイド農薬の間での相関関係

相関係数は最大で0.54でクロチアニジンとデスメチルアセタミプリドの間、またジノテフランとニテンピラムの間で0.49、チアクロプリドとニテンピラムの間で0.49と比較的高い相関が見られた。アセタミプリドはイミダクロプリド、デスメチルアセタミプリドと弱い相関が見られた。クロチアニジンはチアメトキサム、イミダクロプリド、チアクロプリドと弱い相関が見られた。

D．考察

体内動態試験では、クロチアニジンは3日以内、ジノテフランは1日で大部分が未変化体として回収された。イミダクロプリドについては、未変化体の排泄が少なく、アセタミプリドについては、未変化体はごく僅かであり、代謝物である脱メチルアセタミプリドがあり、排出速度も他の化合物よりも遅かった。尿中濃度ではイミダクロプリド、アセタミプリドは低いが、摂取量はクロチアニジンに並ぶ。

体内動態試験を行った4物質以外では、チアメトキサムが多くの試料で検出されたが濃度は低かった。ニテンピラム、チアクロプリドはほとんど検出されなかったが、使用量、摂取量が少ないのか、体内で代謝されているのかは今後の検討が必要である。

ネオニコチノイド排出量と関連する要因に年齢があったが、野菜などの摂取量と交絡していると考えられた。相関した食材が農薬ごとに差異が見られたのは、農薬使用パターン、残留度合いに違いがあったためと考えられた。ジノテフランは家庭用殺虫剤で多く使用されているが、相関は見られ

なかった。

ネオニコチノイドの中で相関が見られたが、アセタミプリド、デスメチルアセタミプリドは親化合物、代謝物という関係である。クロチアニジンはそれ自体が農薬として使用されているが、チアメトキサムの代謝物でもあるため、今回見られたクロチアニジンのいくらかはチアメトキサムに由来すると考えられた。チアメトキサムからデスメチルチアメトキサムへの代謝はほとんどないと考えられた。その他、代謝物の関係にない相関関係については、混用あるいは土壌で残留していた可能性が考えられた。

ネオニコチノイド4種の体内動態モデルを確立することができた。

一般集団で、ネオニコチノイドの曝露量を推定でき、現時点で大きなリスクはないと考えられた。

2. 汚染が懸念される物質のモニタリング

(2) 日本人母乳中の臭素系難燃剤 HBCDs, 2,4,6-TBP, TBBP-Aの汚染実態の解明

A. 研究目的

最近二十年の間に、POPs モニタリングの範囲は、現在使用中の臭素化合物へと拡大している。特にポリ臭化ジフェニルエーテル (PBDEs) などの臭素系難燃剤 (brominated flame retardants :BFR) は、海洋哺乳動物及びヒトで検出されて注目を集めている。BFR は 2004 年、アジア市場の PBDE 製品の規制を受け、ヘキサブROMシクロドデカン類 (HBCDs) とテトラブROMビスフェノール A (TBBP-A) のような他の難燃剤の使用へとシフトしてきている。

PBDEs については日本における野生生物組織とヒトへの蓄積についていくつかの先行研究があるが、HBCDs と TBBP-A についての情報は少ない。本研究では現在不足している母乳中 HBCD、TBBP-A、2,4,6-TBP の汚染実態の把握とその濃度に影響を与える要因を解明するために、日本の 6 地域に住む異なる年齢と出産回数の母親から採取した 64 検体の母乳試料の分析を行なった。

B. 研究方法

2008 年から 2010 年の間に日本の 6 地域 (宮城、東京、岐阜、京都、兵庫、長崎) で採取した母乳を用いた。母乳約 5mL に内標準として 3 種の $^{13}\text{C}_{12}$ -labelled HBCD 異性体、 $^{13}\text{C}_{12}$ -labelled TBBP-A、 $^{13}\text{C}_6$ -labelled 2,4,6-TBP を添加した。次にジクロロメタン/ヘキサン(1:1, v/v)を加え、抽出液を濃縮し脂肪量を測定した。GPC 処理後、回収率を見るために d18- β -HBCD を添加した。

C. 研究結果・考察

64検体の母乳試料に含まれる脂質は0.8~2.9%、幾何平均で12%であった。全試料中で HBCD 異性体の α -HBCDs、 β -HBCDs および γ -HBCDs はそれぞれ100%、91%、64%の割合で検出された。 α -HBCDの幾何平均値は2.2ng/g lipidであり、全HBCD異性体合計の平均値の83% (24-100%)を占めた。一方 β -HBCD と γ -HBCD はそれぞれ 9.6% (0.08-51%)と7.0% (0.12-75%)であった。HBCD合計では幾何平均値で2.2ng/g lipidであった。フェノール性 BFR のうち、2,4,6-TBP と TBBP-A は 90%と97%で検出され、それぞれ幾何平均値で0.9と2.9ng/g lipidであった。HBCDsの異性体の中で、 α -HBCDの割

合が高いことは先行研究と一致している。今回の α -HBCDの平均濃度(2008-2010年の母乳試料)は先行研究よりも高く、日本の環境中におけるHBCDの濃度の増加を示している。現在の日本のHBCDsの濃度はスウェーデン、ロシア、フィリピン、ノルウェー(0.25-0.86ng/g lipid)よりも高く、中国、ベルギー、カナダ、ベトナム、イギリス(1.0-3.8ng/g lipid)と同程度であった。試料収集や分析方法は一部で異なるものの、HBCDsがアメリカにくらべ、アジアやヨーロッパで高い傾向は先行研究と一致している。日本人の脂肪組織中のHBCDs(0.85-39 ng/g lipid)がアメリカのものより高いことが報告されている。母乳中のHBCDsとTBBP-Aは先行研究のPBDEsと同程度の濃度であった。TBBP-Aは α -HBCDとPBDEsと同レベルで検出された。TBBP-Aは日本での先行研究が少なく比較はできないが、本研究でのTBBP-A(幾何平均, 2.9 ng/g lipid)は中国の都市部居住者の母乳中濃度(平均 0.4 ng/g lipid)よりも高く、イギリスやフランスと同程度であった。本研究では3検体において非常に高濃度のTBBP-A (>100 ng/g lipid) が検出された。これは職業曝露によるものと思われる。2,4,6-TBPの日本人中濃度についての研究は妊娠中女性についてのみ報告されており(130 pg/g lipid)、本研究の分析結果はそれと同程度であった。また、ノルウェーの母乳試料の分析結果(0.077-26 pg/g wet)とも同程度であった。

2,4,6-TBP および TBBP-A の間には正の相関が見られ($r = 0.286$, $p < 0.05$)、これら2つのフェノール性BFRが類似の動態を示すことが示唆された。HBCD異性体の β -HBCDと α 及び γ -HBCDとの間に相関は見られなかつ

たが、 β -HBCDとフェノール性BFRとの間には相関が見られた($r = 0.44$, $p < 0.01$)。年齢との相関関係は γ -HBCDにおいてのみ見られた($r = 0.278$, $p < 0.01$)。出産回数との関連は、 γ -HBCDにおいてのみ正の相関が見られた。TBBP-A、 γ -HBCDは経産婦で初産婦より高い傾向が見られたが有意差はなかった($p > 0.05$)。

本研究では2008~2010年の母乳試料中に同程度のHBCDsとTBBP-Aの検出が確認された。本研究では日本の母乳中HBCDs濃度は先行研究と比較して、上昇傾向を示すことを明らかにした。HBCDsの中で α -HBCDが最も高濃度であったが、 β -HBCDはフェノール性BFRと相関を示し、 γ -HBCDは年齢との相関がみられた。日本国内のフェノール性BFRの経年変化については先行研究がないことから現在も不明である。本研究はBFRの体内負荷量は出産回数や年齢とは無関係であることを示唆し、別の要因、例えば食事内容や使用する電化製品等の個々人のライフスタイルとの関連が考えられる。

3. 汚染が懸念される物質のモニタリング

(3) 日本および韓国人血清中のトリクロサン汚染実態の解明

A. 研究目的

ヒトに残留が懸念されるフェノール性ハロゲン化合物(POC)のうち、我々は本研究課題で、これまでに2,4,6-tribromophenol (TBP)、pentachlorophenol (PCP)、tetrabromobisphenol A (TBBP-A)およびhydroxy-tetrabromodiphenyl ether (OH-BDE)の残留実態を母乳を用い

て調査してきた。汚染が懸念されるトリクロロサン (5-chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy) phenol; TCS) については、日本の食事、母乳中濃度を昨年度の報告書にまとめた。TCS は、OH-BDE と同様の骨格を有し、広く医療現場で消毒剤として用いられている。また日常の化粧品や歯磨き粉に添加されて利用されており、環境中に流出すると一部は河川や海底に蓄積される。TCS の毒性は低いとされるが、その疎水性や難分解性のため魚介類から飲料水に至るまで検出され、ヒト体内への曝露が報告されている。TCS は、動物実験で内分泌かく乱性が指摘されている。また、過剰な使用は TCS 耐性菌の出現リスクを高める可能性もある。日本における魚介類からも TCS が検出され、ヒトの食事からの摂取量が推定されている。欧米ではヒトの血清や母乳中で TCS 残留の報告がなされ、継続的なモニタリングと毒性評価が行われている。我々は前回の報告で日本人の食事からの TCS の曝露量と母乳中濃度を報告した。しかし、血清中の濃度について他のアジア諸国との比較はなされていない。

本研究は、京都大学ヒト試料バンクに保管してある日本および韓国の血清試料を用いて、TCS の血清中濃度を計測するための分析法を確立し、日韓両国での調査結果を海外の先行研究結果と比較検証することを目的とした。また、TCS の比較対象物質として、古典的 POPs および関連残留農薬であるエンドスルファン、ジコホールについても測定し、相関性を調べたので合わせて報告する。

B . 研究方法

血清収集

京都大学ヒト生体試料バンクに保

存されている試料のうち、2007年に韓国(ソウル市)の24~48歳の女性19名(平均年齢35歳)および2009年に日本(京都市)の24~69歳の女性19名(平均年齢52歳)から提供された血清を使用した。この研究に関するプロトコル(E25)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、参加者全員から書面による同意を得た。

C . 研究結果

血清中の TCS (PFB 誘導体)

TCS はすべての血清から検出され、その平均値は日本で 3.08 ng/mL (0.97 ~ 7.7 ng/mL) 韓国で 1.07 ng/mL (0.4 ~ 3.5 ng/mL) で、有意に日本の TCS 濃度が高かった ($p < 0.001$)。

血清中の POPs 濃度

血清中の中性分画から検出される古典的 POPs のうち、trans-NC、dicofol および PCB153 は日本の血清で有意に高濃度であった。残留農薬のうち、HCB、 β -HCH および α -endosulfan 濃度は $< LOQ \sim 0.66$ ng/mL の範囲で残留したが、日韓両国で有意差は見られなかった。

TCS 濃度の年齢および他の POPs 濃度との関連性

日韓における TCS 濃度と年齢との関連では、両国とも TCS 濃度に年齢との関連性は見られなかった。TCS と他の POPs 濃度との相関係数は、韓国の血清では、TCS は他の POPs と相関性は見られなかったが、日本の血清では、TCS と HCH、trans-NC および PCB153 との間に正の相関性がみられた ($p < 0.05$)。

D . 考察

1) 血清中の TCS

日本および韓国の血清中の TCS 濃度を比較すると、日本での TCS 曝露量が多いことがわかる。昨年度の報告でも日本人母乳中の TCS が韓国母乳より高い結果がでており、TCS 曝露は日本人に比較的多いことが推察される。Hong Kong で測定された TCS 血清濃度は 0.15 ~ 10 ng/mL であり、本結果と同濃度であった。ベルギーの血清では、0.1 ~ 9.2 ng/mL (total TCS) が検出されている。スウェーデンの血清での TCS 濃度は中央値で 0.52 ng/mL を示した。オーストラリアでは 4.1 ~ 13 ng/mL の範囲で抱合体を含む TCS が検出され、また、アメリカでも TCS 血清中濃度の平均値は 1.1 ng/mL と示された。ラット授乳による仔の TCS の NOAEL は 50mg/kg/day とされており、前回の母乳中の値はこれの約 1/20 のレベルに相当した。このため現状の TCS 血清レベルがヒトに影響を与える可能性は低いと思われる。

2) 血清中の TCS 濃度と年齢および他の残留農薬との関連性

東アジア(日本と韓国)におけるヒト血清中の TCS 濃度を測定した結果、日本(京都)で 3 ng/mL 前後を示し、韓国(ソウル)のそれより高濃度であった。TCS の血清濃度はほかの POPs と異なり年齢に依存せず、また他の残留性化学物質との相関性は低かった。このことから、TCS は POPs と異なる経路で曝露されていることも示唆された。今回調査した TCS は hydroxy-BDE と同じ骨格を有するハロゲン化合物であり、日本人の TCS 曝露による影響評価を今後も継続する必要があると思われる。

4. 汚染が懸念される物質のモニタリング

(4) 生体試料バンクの保存試料を使用した食事経由の PFCAs 摂取量と血清中濃度の動向調査

A . 研究目的

有機フッ素化合物のペルフルオロアルキルカルボン酸類 (PFCAs) は環境中、生体中で分解不可能でありその多くは環境中に残留する。カルボン酸の炭素鎖 8 のものは PFOA (C8) と呼ばれフッ素樹脂合成や界面活性剤として大量に使用され、また疫学研究では出生体重の低下が報告されており、そのヒトへの健康影響が懸念されている。

PFCAs の血清中濃度の経年変化についてはいくつかの先行研究で、2000 年前後からの増加が見られている。現在まで PFCAs のヒトへの曝露源は不明な点が多いが、食事が主な曝露源とされている報告もあり、曝露管理の視点から食事の PFCAs の長期動向の把握は重要である。しかしながらその分析法は煩雑であり、食事中 PFCAs の長期動向を報告した研究はまだない。

本研究では日本における PFCAs の血清中濃度の長期動向に加え、食事経由の摂取量の動向も明らかにすることを目的に、1980 年前後から、2010 年代にかけて、食事試料と血清試料中に含まれる PFCAs の測定を行った。

B . 研究方法

京大生体試料バンクの保存試料を使用した。陰膳食事試料は東北地域(宮城・福島)は 1981 年、1992 年、2004 年、2011 年、関西地域(京都・和歌山)は 1979 年、1993 年、2003-2004

年、2011年に採取された各年12-26試料の分析を行った。血清試料は東北地域(宮城)1981年、1997年、2003年、2011年、関西地域(京都・和歌山)で1983年、1993年、2004-2005年、2011年に採取された各年15-30試料の分析を行った。また対象者は全て女性とした。

C. 研究結果

1. 食事経由のPFCAs摂取量

食事試料の添加回収試験の結果はC8、C9、C10、C11、C12、C13、C14について、それぞれ72±11%、73±15%、79±7%、83±5%、91±11%、89±12%、104±20%であった。

関西地方:関西におけるPFCAsの総摂取量(C8からC14の合計、幾何平均値)は2010年代(2011年、122ng/day)が最も高く、続いて2000年代(2003-2004年、79ng/day)、1990年代(1993年、67ng/day)、最後は1980年前後(1979年、21ng/day)であった。コンジェナー毎に見ると、C11が1980年前後から2000年代を通じてもっとも摂取量が多かったが、2010年代はC8が上回っていた。C8に関しては1980年前後から一貫した上昇が見られている。C13は1990年代ではC8と並ぶ摂取量があるが、2000年代、2010年代と減少傾向が確認された。C9は1980年前後から1990年代にかけて上昇し、2000年代でいったん下降後、2010年代で再び上昇している。

東北地方:東北におけるPFCAsの総摂取量(C8からC14の合計、幾何平均値)も2010年代(2011年、89ng/day)が最も高く、続いて1990年代(1992年、70ng/day)、2000年代(2004年、45ng/day)、1980年前後(1981年、37ng/day)であった。コンジェナー毎に見ると、C11が全年代を通じてもっ

とも摂取量が高かった。C11は1980年前後から1990年代にかけて上昇し、2000年代でいったん下降後、2010年代で再び上昇している。同様の傾向は他のコンジェナーではC8、C13で見られた。

2. 血清中PFCAs濃度

血清試料の添加回収試験の結果はC8、C9、C10、C11、C12、C13、C14について、それぞれ87±12%、94±8%、87±6%、95±7%、96±5%、99±6%、106±7%であった。

関西地方:関西における血清中PFCAs濃度(C8からC14の合計、幾何平均値)は2010年代(2011年、15.2ng/ml)が最も高く、続いて2000年代(2004-2005年、10.2ng/ml)、1990年代(1993年、60.4ng/ml)、最後は1980年前後(1979年、29.1ng/ml)であった。コンジェナー毎に見ると、C8が全年代を通じてもっとも高く、続いてC9であった(1993年を除く)。全年代を通じてC8が全PFCAsの内の半分以上を占めていた。

東北地方:東北における血清中PFCAs濃度(C8からC14の合計、幾何平均値)は1980年代(1981年、0.4ng/ml)が最も低く、続く1990年代では約13倍に増加していた(1992年、5.2ng/ml)。その後の2000年代(2003年、69.9ng/ml)、2010年前後(2007年、67.6ng/day)は大きな上昇は見られなかった。コンジェナー毎に見ると、関西と同様にC8が全年代を通じてもっとも高かったが、続いて高いのは関西とは異なりC11であった。またC8についても関西とは異なり2004年から2011年にかけて減少が見られた。

D. 考察

1. 耐容一日摂取量との比較

本研究では、食事中PFCAs濃度を測定し、摂取量を計算した。全食事サンプルの分析を通じ、最大のPFCAs総摂取量は1482ng/day（内PFOA；100ng/day）であった（2011年京都の採取試料）。2014年現在まで長鎖を含むPFCAsの体重あたりの耐容一日摂取量（TDI）は設定されていないが、PFOAについては欧州食品安全機関（EFSA）により1500ng/kg-体重/dayと設定されている。体重を50kgと仮定すると、今回のPFOAの分析値はTDIの0.1%であり、十分に下回る結果であった。

2. 食事由来のPFCAs摂取量と・血清中濃度との関連

米国3M社の2002年のC8 PFOA製造中止以降、米国では成人血中のC8が25%減少し、特定汚染源を持つとされる大阪市でも同様にC8血中濃度は減少が確認されている。しかしながら本研究ではそのC8について、関西地方の対象集団において2003-2004年から2011年においても継続した増加が確認された。一方東北では2004年から2011年にかけてC8の減少が見られるもののC8からC14までを合計した総PFCAs濃度では両方の地域で増加傾向である。食事中のPFCAsも2004年の宮城を除き増加傾向であった。体重50kgと仮定し、1-コンパートメントモデルで評価した場合、食品経由の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2010年代は6.2ng/ml、2000年代は2.9ng/ml、1990年代で1.8ng/ml、1980年前後で0.5ng/mlであり、東北で2010年代は2.1ng/ml、2000年代は0.7ng/ml、1990年代で1.3ng/ml、1980年代で0.4ng/mlであった実際の血清中のC8の測定値と近く、1981年

の宮城を除き血清中のC8は3割から9割が食事由来であると推測できる。

5. 汚染が懸念される物質のモニタリング

(5) 炭素鎖の異なる有機フッ素カルボン酸と魚類摂取と関連の不飽和脂肪酸による検討

A. 研究目的

有機フッ素化合物は界面活性剤、フッ素樹脂製造の添加剤として用いられてきた。残留性のほか、疫学研究で出生体重の低下が示唆されるなど懸念が示されている。米国3M社が製造を2002年から中止した後、米国では成人血中PFOS濃度が60%、PFOA濃度が25%減少したと報告された。近年ペルフルオロオクタノ酸PFOA(C8)以外の長鎖PFCAs類（C9-C13）の血中での増加が認められた。長鎖PFCAsの濃度を規定する因子は不明である。そのため、本研究では血清中PFCAsと魚介類摂取の生物学的指標であるn-3系多価不飽和脂肪酸との関連を検討した。

B. 研究方法

2013年の京都在住の成人131名の血清試料を京都大学生体試料バンクから選択した。

C. 研究結果

C8、C9、C10、C11が全ての試料で検出された。C8より鎖長の長いPFCAsが全PFCAsの50%以上を占めており、以前の報告と同様の結果となった。また奇数鎖C9、C11、C13が偶数鎖C10、C12より高かった。

血清中PFCAs濃度と関連する因子について検討を行った。性別で有意な差は見られなかった。単変量解析では、

年齢との相関はC8、C9、C10、C11、C12で有意になった。魚介類摂取のバイオマーカーであるエイコサペンタエン酸/アラキドン酸比(EPA/AA)とC8、C9、C10、C11、C12は正の相関を示した。EPA/AAは年齢と相関していたため年齢、性別をさらに調整し、共分散分析を行ってもEPA/AAとC8、C9、C11、C12との間に有意な相関が認められた。

D. 考察

PFCAs、特に長鎖PFCAsは陰膳食事中で検出され、食事が主要な曝露源であると考えられる。生物濃縮性の高い長鎖PFCAsは魚類に比較的蓄積し、食事からの摂取に占める割合が高くなっている可能性がある。

結論として健康な男女血清中PFCAs濃度と魚介類摂取の生物学的指標EPA/AA比は有意な相関を示した。

6. 系統的持続的な試料の収集と他機関への試料の提供

A. 研究目的

POPsのリスク評価に向けたヒト曝露の長期モニタリングのための試料バンクの創設が2003年に行われた。以降、試料の継続的な収集が続いている。今年度は生物学的モニタリングを実施するため、国内の成人男女を対象に尿試料を収集し、ヒト生体試料バンクに収納・登録した。

バンクの試料は他機関の研究者の申請に応じて、提供を行ってきた。

また試料の利用を推進するため、環境化学研究者が参加する学術集会でフォーラムを行った。

B. 研究方法

京都大学大学院医学研究科・医学部および医学部附属病院 医の倫理委員会より、E25「POPsのリスク評価に向けてのヒト曝露長期モニタリングのための試料バンク創設に関する研究」の研究計画の承認を得て、本研究は実施された。

尿試料

尿試料は、これまでの継続性を考慮して、京都府京都市、宇治市にて収集した。京都府ではこれまでに1990年代、2000年代にかけて血清試料および食餌試料に加えて、尿試料も収集されている。以上の点から採取対象地域とした。大学生、市民を対象とした健康推進企画において、研究の趣旨を説明して、協力に前向きな参加者に、対面での口頭説明を加え、同意書に書面にて同意を頂いた方を対象とした。

またこの際にこれまでの研究の成果についても紹介する講演を行った。

他機関への試料の提供

食事からの農薬摂取を評価する目的で、名古屋大学へ尿試料102検体(1990年代～2010年)を提供した。

食事からの臭素系難燃剤の摂取を評価するため、血清試料120検体(2007年～2010年)を第一薬科大学に提供した。

食事からの塩素系農薬の摂取を評価するため陰膳食事試料55検体(2011年)を大阪府立公衆衛生研究所に提供した。

バンクの利用の促進

2014年5月15日に京都大学で開催された第23回日本環境化学会討論会において、京都大学生体試料バンク：現在までの成果と現状および将来についてのフォーラムを行った。

C. 研究結果

試料の収集

平成 26 年度を通じて、京都市、宇治市において尿試料 294 検体を収集した。

他機関への試料の提供

第一薬科大学に提供した血清試料 120 検体（2007 年～2010 年）の分析結果は本報告書に記載した。

名古屋大学へ提供した尿試料 102 検体（1990 年代～2010 年）は分析が完了した。

大阪府立公衆衛生研究所へ提供した陰膳食事試料 55 検体（2011 年）は分析が進行中である。

バンクの利用の促進

フォーラムで紹介し、利用の問い合わせが 3 件あり、1 件は提供を実施し、他の問い合わせについては詳細について検討を行っている。

D. 考察

国内での血液、母乳、食事、尿の各検体の採取は 2003 年度の試料バンク創設からほぼ同一方法で行われた。2014 年度の試料収集ではこれまでの対象地域で継続することを基本とした。協力機関への依頼、参加が得られ、当初の目標通りに収集がなされた。

尿試料は生物学的モニタリングにより食事試料からのデータを補完する目的で採取されており、一定の年齢層を対象に提供を依頼し、当初の予定の通り収集できた。

検体の収集に当たってはこれまで生体試料バンクに収集された試料を考え、それに相応する機関、個人に協力をお願いしたことで、試料のほとんどが目標通りに実施できたことが確

かめられた。また、倫理面にも十分に対応を施した検体収集を進めることができた。

また各汚染物質の専門的分析を行う他機関に試料を提供することで食の安全に関する研究の推進に資することができた。

拡充された試料バンクは食品衛生、環境保健研究者へ提供できると期待される。

初期の全体計画に沿って尿 294 検体が収集された。検体収集にはそれぞれの専門的な機関に全面的な協力を得て実施できた。その結果、将来のモニタリングの土台となる試料収集と収納および関連するライフスタイル情報が収載できた。

他機関へ、陰膳食事試料55検体、尿試料102検体、血清試料120検体の提供を試料バンクから行った。

E. 総括の結論

本研究の目的である継続的な食事から摂取する汚染化学物質のモニタリング、そのための分析手法の検討、動態モデリング、系統的持続的な試料の収集、試料を使用する専門家とのコミュニケーションについて、当初の予定の通りに実施できた。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Fujii, Y.; Sakurada, T.; Harada, K. H.; Koizumi, A.; Kimura, O.; Endo, T.; Haraguchi, K.

- Long-chain perfluoroalkyl carboxylic acids in Pacific cods from coastal areas in northern Japan: A major source of human dietary exposure. *Environ Pollut* 2015, 199, 35-41.
- (2) Zhao, C.; Fujii, Y.; Yan, J.; Harada, K. H.; Koizumi, A. Pentafluorobenzyl esterification of haloacetic acids in tap water for simple and sensitive analysis by gas chromatography/mass spectrometry with negative chemical ionization. *Chemosphere* 2015, 119C, 711-718.
- (3) Fujii, Y.; Niisoe, T.; Harada, K. H.; Uemoto, S.; Ogura, Y.; Takenaka, K.; Koizumi, A. Toxicokinetics of perfluoroalkyl carboxylates with different carbon chain lengths in mice and humans. *J Occup Health* 2015, 57, 1-12.
- (4) Yan, J.; Inoue, K.; Asakawa, A.; Harada, K. H.; Watanabe, T.; Hachiya, N.; Koizumi, A. Methylmercury monitoring study in Karakuwacho peninsula area in Japan. *Bull Environ Contam Toxicol* 2014, 93, 36-41.
- (5) Matsubara, F.; Sagara, Y.; Kato, Y.; Harada, K.; Koizumi, A.; Haraguchi, K. Detection of antibodies to human T-cell leukemia virus types 1 and 2 in breast milk from East asian women. *Biol Pharm Bull* 2014, 37, 311-314.
- (6) Harada, K. H.; Niisoe, T.; Imanaka, M.; Takahashi, T.; Amako, K.; Fujii, Y.; Kanameishi, M.; Ohse, K.; Nakai, Y.; Nishikawa, T.; Saito, Y.; Sakamoto, H.; Ueyama, K.; Hisaki, K.; Ohara, E.; Inoue, T.; Yamamoto, K.; Matsuoka, Y.; Ohata, H.; Toshima, K.; Okada, A.; Sato, H.; Kuwamori, T.; Tani, H.; Suzuki, R.; Kashikura, M.; Nezu, M.; Miyachi, Y.; Arai, F.; Kuwamori, M.; Harada, S.; Ohmori, A.; Ishikawa, H.; Koizumi, A. Radiation dose rates now and in the future for residents neighboring restricted areas of the Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014, 111, E914-923.
- (7) Fujii, Y.; Nishimura, E.; Kato, Y.; Harada, K. H.; Koizumi, A.; Haraguchi, K. Dietary exposure to phenolic and methoxylated organohalogen contaminants in relation to their concentrations in breast milk and serum in Japan. *Environ Int* 2014, 63, 19-25.
- (8) Fujii, Y.; Harada, K. H.; Hitomi, T.; Kobayashi, H.; Koizumi, A.; Haraguchi, K. Temporal trend and age-dependent serum concentration of phenolic organohalogen contaminants in Japanese men during 1989-2010. *Environ Pollut* 2014, 185, 228-233.
2. 著書
なし
3. 学会発表
- (ア) 小泉昭夫、京都大学生体試料バンク：現在までの成果と現状および将来。第23回 日本環境化学会討論会、2014年5月14-16日 京都大学。
- (イ) 原田浩二、藤井由希子、趙山、大島匡世、大澤めぐみ、巖俊霞、藤原登司一、新添多聞、小林果、人見敏明、小泉昭夫、ヒト血清中ペルフルオロアルキルカルボン酸とn-3系不

- 飽和脂肪酸との関連. 第23回 日本環境化学会討論会, 2014年5月14-16日 京都大学.
- (ウ) 原田浩二、今中美栄、桑守豊美、尼子克己、藤井由希子、藤原登司一、新添多聞、人見敏明、小泉昭夫. 福島県相双地方3地域における放射性セシウムの経口、経気摂取量調査. 第84回 日本衛生学会総会、2014年5月25-27日.岡山コンベンションセンター.
- (エ) 趙山、原田浩二、藤井由希子、巖俊霞、人見敏明、小泉昭夫. フルオロベンジル誘導体化による水道水中ハロ酢酸類の簡便・高感度GC-NCI-MS分析法. 第84回 日本衛生学会総会、2014年5月25-27日.岡山コンベンションセンター.
- (オ) 藤井由希子、小林果、新添多聞、原田浩二、人見敏明、小泉昭夫. 関西の血清中ペルフルオロアルキルカルボン酸 (PFCA) の経年変化 (1980-2010年代). 第84回 日本衛生学会総会、2014年5月25-27日.岡山コンベンションセンター.
- (カ) 今中美栄、坂本裕子、尼子克己、上山恵子、久木久美子、原田浩二、小泉昭夫. 福島県川内村帰村支援における食事調査結果から～帰村宣言より2年間の栄養評価と推移～. 第61回 日本栄養改善学会学術総会、2014年9月20-22日.
- (キ) 要石真利、藤原登司一、大原栄二、今中美栄、原田浩二、小泉昭夫. 福島県相馬市玉野地区および南相馬市原町区における原発事故後の栄養摂取状況. 第61回 日本栄養改善学会学術総会、2014年9月20-22日.
- (ク) 山本佳奈子、井上登紀子、大畑仁美、今中美栄、原田浩二、小泉昭夫. 福島県川内村帰村住民の食環境に関する質問紙調査結果(第2報). 第61回 日本栄養改善学会学術総会、2014年9月20-22日.
- (ケ) Toyomi Kuwamori, Yoko Miyaji, Masanori Kuwamori, Kouji Harada, Akio Koizumi. Investigating The Effect Of Food Preparation On Reducing Radioactive Cesium-137 Concentrations Of Foods In Fukushima. The 6th Asian Congress of Dietetics. 2014年8月21-24日, Taipei.
- (コ) 武蔵正明、廣野留都、伊永隆史、原田浩二、小泉昭夫、ヒト血清中アミノ酸の窒素安定同位体組成と魚介類食習慣の関係について. 第6回 日本安定同位体・生体ガス医学応用学会大会. 2014年10月31-11月1日, 東邦大学.
- (サ) 原田浩二、新添多聞、田中恵子、坂本裕子、今中美栄、大島匡世、草川浩一、奥田裕子、小林果、小泉昭夫、ヒトにおけるネオニコチノイド農薬の体内動態の検討. 第85回 日本衛生学会総会、2015年3月26-28日.
- (シ) 上山純、原田浩二、杉浦友香、大坂彩、小泉昭夫、上島通浩、日本人における尿中殺虫剤曝露指標濃度の過去20年間の経年推移. 第85回 日本衛生学会総会、2015年3月26-28日.
- (ス) 新添多聞、原田浩二、藤井由希子、Senevirathna Lalantha、人見敏明、小林果、巖俊霞、大島匡世、大澤めぐみ、小泉昭夫、淀川流域からの有機フッ素カルボン酸排出量の推定. 第85回 日本衛生学会総会、2015年3月26-28日.

H. 知的財産の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許の取得
なし

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし