

## E. 結論

今回、「陰膳方式」食事の汚染調査では、従来の塩素系POPに加えて、ジコホールおよびエンドスルファンが比較的高濃度に食事に混入していることを明らかにした。しかし、それらの1日摂取量は暫定許容摂取量(PTDI/ADI)をかなり下回っており、摂取による影響はないと思われる。今回、天然由来の残留成分であるCl<sub>7</sub>-MBPおよびBr<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub>-DBPを食事から始めて定量した。今後、食事中のビピロール類の摂取量の影響評価を行うとともに、これを環境汚染物質の動向を知る上で、汚染マーカーとして活用を検討する。

## 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

Briz, V.; Molina-Molina, J. M.; Sánchez-Redondo, S.; Fernández, M. F.; Grimalt, J. O.; Olea, N.; Rodríguez-Farré, E.; Suñol, C., Differential estrogenic

effects of the persistent organochlorine pesticides dieldrin, endosulfan, and lindane in primary neuronal cultures. *Toxicol Sci* 2011, 120, 413-427.

Chan, W.-H.; Liao, J.-W.; Chou, C.-P.; Chan, P.-K.; Wei, C.-F.; Ueng, T.-H., Induction of CYP1A1, 2B, 2E1 and 3A in rat liver by organochlorine pesticide dicofol. *Toxicol Lett* 2009, 190, 150-155.

Desalegn, B.; Takasuga, T.; Harada, K. H.; Hitomi, T.; Fujii, Y.; Yang, H. R.; Wang, P.; Senevirathna, S. T. M. L. D.; Koizumi, A., Historical trends in human dietary intakes of endosulfan and toxaphene in China, Korea and Japan. *Chemosphere* 2011, 83, 1398-1405.

Fujii, Y.; Ito, Y.; Harada, K. H.; Hitomi, T.; Koizumi, A.; Haraguchi, K., Regional variation and possible sources of brominated contaminants in breast milk from Japan. *Environ Pollut* 2012, 162, 269-74.

Fujii, Y.; Haraguchi, K.; Harada, K. H.; Hitomi, T.; Inoue, K.; Itoh, Y.; Watanabe, T.; Takenaka, K.; Uehara, S.; Yang, H.-R.; Kim, M.-Y.; Moon, C.-S.; Kim, H.-S.; Wang, P.; Liu, A.; Hung, N. N.; Koizumi, A., Detection of dicofol and related pesticides in human breast milk from China, Korea and Japan. *Chemosphere* 2011, 82, 25-31.

Gribble, G. W.; Blank, D. H.; Jasinski, J. P., Synthesis and identification of two halogenated bipyrroles present in seabird eggs. *Chem Commun* 1999, 21, 2195-2196.

Haraguchi, K.; Hisamichi, Y.; Kotaki, Y.; Kato, Y.; Endo, T., Halogenated bipyrroles and methoxylated tetrabromodiphenyl Ethers in tiger shark (*Galeocerdo cuvier*) from the Southern Coast of Japan. *Environ Sci Technol* 2009, 43, 2288-2294.

Haraguchi, K.; Hisamichi, Y.; Endo, T., Bioaccumulation of naturally occurring mixed halogenated dimethylbipyrroles in whale and dolphin products on the

- Japanese market. *Arch Environ Contam Toxicol* 2006, 51, 135-41.
- Haraguchi, K., Koizumi, A., Inoue, K., Harada, K.H., Hitomi, T., Minata, M., Tanabe, M., Kato, Y., Nishimura, E., Yamamoto, Y., Watanabe, T., Takenaka, K., Uehara, S., Yang, H.R., Kim, M.Y., Moon, C.S., Kim, H.S., Wang, P., Liu, A., Hung, N.N., 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, 1072-1079.
- Hoekstra, P. F.; Burnison, B. K.; Garrison, A. W.; Neheli, T.; Muir, D. C. G., Estrogenic activity of dicofol with the human estrogen receptor: Isomer- and enantiomer-specific implications. *Chemosphere* 2006, 64, 174-177.
- JMPR, 1992. Monographs of Toxicological Evaluations. No. 842. Dicofol, Pesticide Residues in Food: 1992 Evaluations. Part II Toxicology. FAO/WHO Joint Meeting on Pesticide Residues. Percent of provisional tolerable daily intake (PTDI 2µg/kg bw for dicofol by FAO/WHO)
- Koizumi, A., Yoshinaga, T., Harada, K., Inoue, K., Morikawa, A., Muroi, J., Inoue, S., Eslami, B., Fujii, S., Fujimine, Y., Hachiya, N., Koda, S., Kusaka, Y., Murata, K., Nakatsuka, H., Omae, K., Saito, N., Shimbo, S., Takenaka, K., Takeshita, T., Todoriki, H., Wada, Y., Watanabe, T., Ikeda, M., Assessment of human exposure to polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in Japan using archived samples from the early 1980s and mid-1990s. *Environ Res* 2005, 99, 31-39.
- Koizumi, A., Harada, K.H., Inoue, K., Hitomi, T., Yang, H.R., Moon, C.S., Wang, P., Hung, N.N., Watanabe, T., Shimbo, S., Ikeda, M., Past, present, and future of environmental specimen banks. *Environ Health Prev Med* 2009, 14, 307-318.
- Lu, F., A review of the acceptable daily intakes of pesticides assessed by the World Health Organization. *Regul Toxicol Pharmacol* 1995, 21, 352-364. (ADI/TDI =6µg/kg bw/day for endosulfan set by FAO/WHO)
- Tittlemier, S.; Borrell, A.; Duffe, J.; Duignan, P. J.; Fair, P.; Hall, A.; Hoekstra, P.; Kovacs, K. M.; Krahn, M. M.; Lebeuf, M.; Lydersen, C.; Muir, D.; O'Hara, T.; Olsson, M.; Pranschke, J.; Ross, P.; Siebert, U.; Stern, G.; Tanabe, S.; Norstrom, R., Global distribution of halogenated dimethyl bipyroles in marine mammal blubber. *Arch Environ Contam Toxicol* 2002, 43, 244-255.
- Tittlemier, S. A.; Kennedy, S. W.; Hahn, M. E.; Reddy, C. M.; Norstrom, R. J., Naturally produced halogenated dimethyl bipyroles bind to the aryl hydrocarbon receptor and induce cytochrome P4501A and porphyrin accumulation in chicken embryo hepatocytes. *Environ Toxicol Chem* 2003, 22, 1622-31.
- Vetter, W.; Jun, W.; Althoff, G., Non-polar halogenated natural products bioaccumulated in marine samples. I. 2,3,3',4,4',5,5'-Heptachloro-1'-methyl-1,2'-bipyrole (Q1). *Chemosphere* 2003, 52, 415-422.
- Weber, J.; Halsall, C. J.; Muir, D.; Teixeira, C.; Small, J.; Solomon, K.; Hermanson, M.; Hung, H.; Bidleman, T., Endosulfan, a global pesticide: A review of its fate in the environment and occurrence in the Arctic. *Sci Total Environ* 2010, 408, 2966-2984.
- Wu, J.; Vetter, W.; Gribble, G. W.; Schneekloth Jr, J. S.; Blank, D. H.; Görls, H., Structure and synthesis of the natural heptachloro-1'-methyl-1,2'-bipyrole (Q1). *Angew Chemie - Int Ed* 2002, 41, 1740-1743.
- Yang, X.; Wang, S.; Bian, Y.; Chen, F.; Yu, G.; Gu, C.; Jiang, X., Dicofol application resulted in high DDTs residue in cotton fields from northern Jiangsu province, China. *J Hazard Materials* 2008, 150, 92-98.

Table 1 Information on dietary samples used in duplicate diet study from five districts

食事の収集地域	採取年	n	提供者 の年齢	平均体重	1日食事量 (g)	脂肪含量 (%)	
北海道	大樹	2010	10	26	54	1980	2.09
宮城	仙台	2005	10	21	-	1787	2.39
岐阜	高山	2010	10	38	-	1538	2.39
京都	京都	2004	10	69	-	1905	1.66
山口	山口	2005	10	38	-	1875	1.70

Table 2. GC/MS condition for selected ion monitoring (SIM) used in this study

Carrier gas	Helium (head pressure 3 psi)		
Injection mode	Splitless		
Column	HP-5MS (30% dimethylpolysiloxane, 30 m × 0.25 mm i.d. and 0.25 µm film thickness, J&W Scientific, CA, USA)		
Oven	70 °C (1.5 min), then 20 °C/min to 230 °C (0.5 min), and then 4 °C/min to 280 °C (5 min)		
Temperature	Injector (250 °C), transfer line (280 °C), and ion source (150 °C)		
Ionization mode	Electron capture negative ionization (ECNI)		
Reagent gas	Methane		
Analytes	GC $t_R$ (min)	Target ion ( $m/z$ )	LOQ* (ng/mL)
4,4'-DDT	14.45	71 (235)	1.0
4,4'-DDD	13.60	71 (235)	1.0
4,4'-DDE	12.76	318 (316)	1.0
dicofol	11.21	250 (139)	0.4
HCB	9.47	284 (286)**	0.1
α-HCH,	9.37	71 (255)	0.2
β-HCH	9.65	71 (255)	0.2
γ-HCH	9.74	71 (255)	0.2
<i>trans</i> -chlordane	11.77	412 (410)	0.2
<i>cis</i> -chlordane	12.14	412 (410)	0.2
oxychlordane	11.78	424 (426)	0.4
<i>trans</i> -nonachlor	12.51	444 (446)	0.1
<i>cis</i> -nonachlor	13.78	444 (446)	0.1
α-endosulfan	12.40	404 (406)	0.1
β-endosulfan	13.51	404 (406)	0.1
hexaBB	15.91	79 (161)	0.1
tetraBB	9.62	79 (161)	0.1
BDE-47	16.45	79 (161)	0.2
Cl <sub>7</sub> -MBP	12.46	386 (388)	0.2
Br <sub>4</sub> Cl <sub>2</sub> -DBP	17.98	79 (544)	0.2
2'-MeO-BDE68	17.74	79 (161)	0.2
6-MeO-BDE47	18.29	79 (161)	0.2
α- [ <sup>13</sup> C] endosulfan (IS)	12.40	385 (387)	0.1

\*Limits of quantification; S/N = 10, \*\*confirmation ion

Table 3. Dietary intake (ng/day) of organohalogenes from five districts in Japan

region	f req %	LOD	Kyoto				Hokkaido				Miyagi				Gifu				Yamaguchi				total									
			mean	SD	median	min	max	mean	SD	median	min	max	mean	SD	median	min	max	mean	SD	median	min	max	mean	SD	median	min	max					
DDE	100	1	127.19	76.42	123.04	28.21	216.59	52.95	69.48	29.89	3.73	202.15	31.54	40.31	12.10	3.27	120.12	20.42	29.47	4.20	1.88	92.70	63.01	75.66	26.79	2.12	215.64	59.02	69.90	29.89	1.88	216.59
DDD	84	1	14.51	15.45	8.89	1.04	50.53	13.08	14.46	10.10	1.10	46.38	7.36	10.47	3.73	.50	34.06	4.59	5.99	2.04	.50	18.08	15.12	22.93	5.24	.50	69.93	10.93	14.92	5.99	.50	69.93
DDT	72	1	11.51	7.86	10.74	1.30	23.97	10.08	13.75	5.40	.50	39.65	4.02	4.24	2.41	.50	10.64	3.02	5.27	1.29	.50	17.32	5.69	5.72	4.23	.50	17.48	6.86	8.48	3.52	.50	39.65
dicofol	84	0.4	1.26	.96	.80	.20	2.71	.81	.64	.54	.20	2.04	0.67	0.99	4.43	.68	25.54	1.44	2.18	.45	.20	6.15	6.32	9.08	2.28	.20	28.47	3.70	6.55	1.03	.20	28.47
HCB	100	0.1	10.55	9.03	6.01	1.67	26.84	16.24	11.57	15.40	1.65	33.39	11.94	10.26	10.10	4.16	39.04	11.99	9.03	10.16	3.86	34.95	20.99	16.72	12.96	7.49	55.94	14.34	11.84	10.12	1.65	55.94
alphaHCH	86	0.2	1.88	1.63	1.41	.43	6.04	4.94	6.36	1.40	.10	17.00	1.36	1.12	.97	.38	3.35	1.97	2.08	1.25	.36	7.23	4.01	4.56	2.03	1.10	14.95	2.83	3.84	1.31	.10	17.00
betaHCH	100	0.2	8.03	7.25	3.54	.32	23.44	5.24	6.39	2.96	.28	20.75	2.85	2.82	2.01	.64	10.04	2.30	1.80	1.74	.38	6.45	4.27	2.33	3.19	2.03	9.32	4.14	4.71	2.61	.28	23.44
gammaHCH	86	0.2	2.02	2.07	1.21	.45	6.30	1.22	.96	.96	.08	3.24	1.39	.67	1.07	.38	2.63	.48	.52	.94	.10	1.89	2.26	2.46	1.52	.23	7.13	1.45	1.62	.91	.08	7.13
transCHL	88	0.2	1.18	.84	.96	.28	3.62	.73	.56	.50	.18	1.84	.34	.11	.35	.10	.51	.54	.34	.42	.22	1.41	5.58	4.07	4.44	2.75	16.62	1.67	2.69	.61	.10	16.62
cisCHL	100	0.2	1.96	.76	2.04	1.04	3.72	2.58	.80	2.56	1.65	4.15	2.63	1.20	2.02	1.35	4.69	2.41	.88	2.44	1.30	4.62	3.50	1.00	3.35	2.33	4.93	2.62	1.05	2.36	1.04	4.93
transNC	100	0.2	13.02	8.99	13.47	2.32	26.53	5.19	4.72	3.81	.64	15.36	2.37	1.11	2.20	.85	4.86	2.91	4.11	1.51	.81	14.46	15.47	10.80	12.18	5.19	36.77	7.79	8.57	3.85	.64	36.77
cisNC	86	0.2	5.15	3.90	5.16	.52	13.53	2.00	1.75	1.57	.10	4.77	.50	.27	.45	.27	1.17	1.44	2.83	.55	.10	9.47	5.05	5.88	2.19	.98	19.23	2.83	3.86	1.01	.10	19.23
oxyCHL	84	0.4	4.81	3.46	4.60	1.07	11.05	3.41	3.19	2.35	.44	9.16	.88	.68	1.14	.20	1.90	1.52	1.98	.75	.20	5.36	3.51	3.68	2.48	.20	11.86	3.06	1.44	.20	11.86	
endi	100	0.1	22.09	7.00	21.83	12.13	33.19	37.43	16.92	34.11	8.30	60.57	44.66	18.52	37.49	20.44	81.62	35.70	9.39	34.94	21.06	52.97	24.93	5.11	24.94	14.96	30.30	32.96	14.71	30.19	8.30	81.62
endII	100	0.1	11.46	7.70	10.42	3.62	29.87	26.20	18.82	23.42	8.46	88.83	39.67	25.21	30.88	12.14	85.17	21.08	7.91	20.70	7.90	36.24	20.33	9.23	7.84	11.19	35.03	25.75	17.53	19.18	3.62	85.17
HeBB	40	0.1	.78	1.02	.64	.05	3.16	.17	.12	.15	.05	.34	.07	.04	.06	.05	.17	.12	.10	.11	.05	.33	.11	.14	.07	.05	.49	.25	.52	.29	.05	3.16
TeSB	60	0.1	.34	.31	.25	.05	.88	.39	.69	.12	.05	2.31	.09	.09	.07	.05	.34	.17	.11	.14	.05	.41	.09	.09	.10	.05	.28	.21	.36	.10	.05	2.31
BDE47	88	0.2	6.33	5.41	4.90	1.26	15.79	.49	.87	.18	.10	2.89	.59	.60	.30	.10	1.97	.50	.57	.33	.10	1.81	.62	.65	.51	.10	2.30	1.70	3.34	.42	.10	15.79
MeO68	84	0.2	29.54	29.82	16.69	3.81	84.21	.39	.46	.21	.10	1.55	1.22	1.55	.89	.10	5.16	.53	1.09	.19	.10	3.58	1.56	2.34	.67	.10	7.66	6.65	17.29	.51	.10	84.21
BH47	54	0.2	13.19	15.15	5.15	.00	30.85	.20	.22	.16	.10	.77	.65	1.01	.31	.10	3.28	.45	.58	.24	.10	1.81	1.60	2.30	.76	.10	7.66	3.22	8.31	.35	.00	30.85
BH42	58	0.2	3.03	4.76	1.28	.10	15.79	3.92	6.35	.31	.10	16.23	.54	.81	.34	.10	2.67	.26	.26	.18	.10	.90	1.74	2.94	.30	.10	9.32	1.90	3.91	.26	.10	16.23
Q1	80	0.2	32.00	35.60	15.23	.76	100.64	1.38	1.63	.64	.05	4.82	2.46	6.81	.28	.10	21.85	2.01	4.35	.19	.10	13.86	5.38	14.27	.72	.21	45.96	8.65	20.58	.70	.05	100.64
TBP	100	0.1	27.80	16.35	24.51	3.20	50.96	20.64	15.01	14.90	7.04	49.87	77.92	45.73	91.22	12.07	137.24	41.07	55.14	28.04	.98	188.33	10.52	10.18	7.12	1.65	32.01	35.99	40.15	23.19	.98	188.33
TBA	86	0.1	3.58	3.72	2.39	.28	12.35	3.61	3.53	3.40	.27	12.46	1.50	.99	1.04	.62	3.57	2.91	3.74	1.24	.05	10.24	1.74	2.04	.84	.20	6.06	2.67	3.03	1.44	.05	12.46
PCP	100	0.1	4.30	2.80	3.83	.67	9.10	1.67	1.21	1.40	.46	4.58	1.91	1.21	1.89	.36	3.72	.41	.25	.38	.07	.45	2.78	3.67	1.09	.34	11.41	2.21	2.48	1.20	.07	11.41
PCA	94	0.1	1.09	.92	1.15	.05	2.71	.24	.14	.22	.05	.56	.29	.11	.25	.15	.49	.19	.10	.18	.05	.36	.30	.15	.28	.05	.55	.42	.53	.24	.05	2.71
TBBPA	28	10	15.68	18.20	13.40	5.00	62.50	70.33	126.85	18.25	5.00	343.52	21.68	34.62	12.79	5.00	113.18	9.58	14.49	9.58	5.00	50.82	55.90	160.86	55.90	5.00	514.00	34.63	92.85	10.63	5.00	514.00

Fig. 1 Analytical procedure for pesticides and halogenated bipyrroles in dietary samples

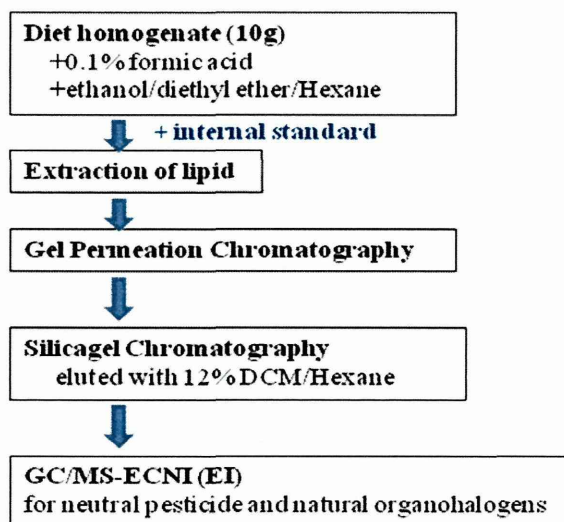
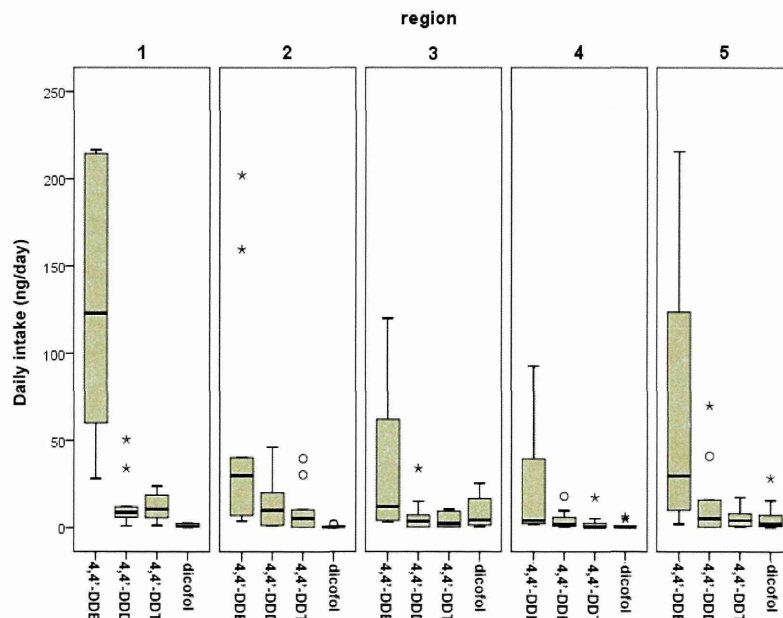


Fig. 2-1 Profiles of dietary contaminants (DDTs and dicofol) from five regions. 1 = Kyoto, 2 = Hokkaido, 3= Miyagi, 4 = Gifu, 5= Yamaguchi



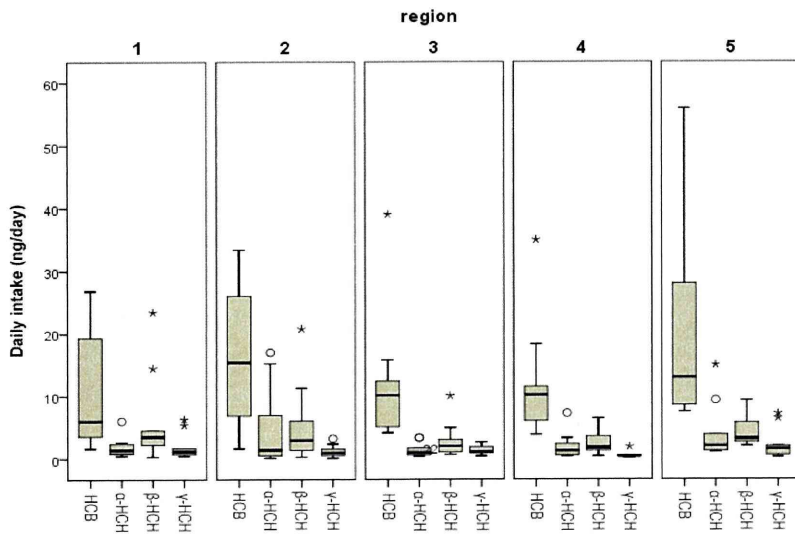


Fig. 2-2 Profiles of dietary contaminants (HCB and HCHs) from five districts. 1 = Kyoto, 2 = Hokkaido, 3= Miyagi, 4 = Gifu, 5= Yamaguchi

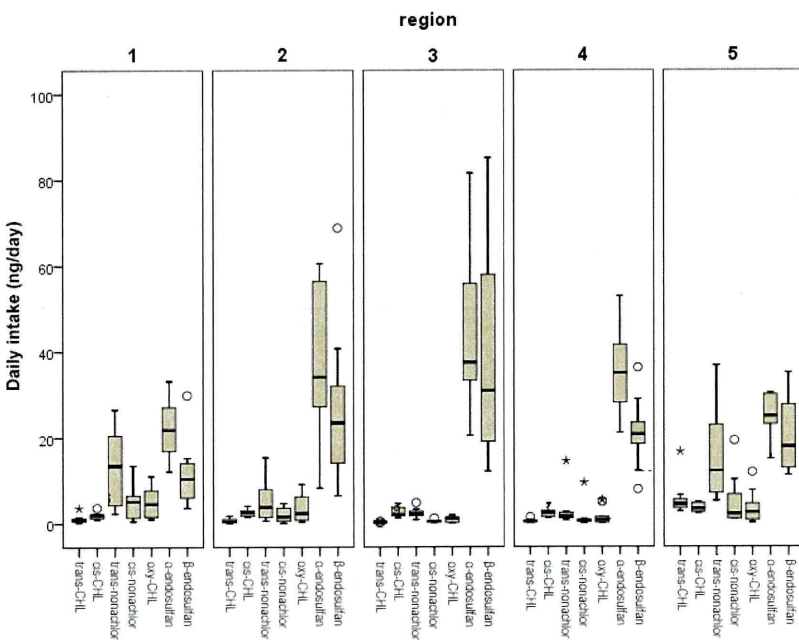


Fig. 2-3 Profiles of dietary contaminants (CHLs and endosulfans) from five districts. 1 = Kyoto, 2 = Hokkaido, 3= Miyagi, 4 = Gifu, 5= Yamaguchi

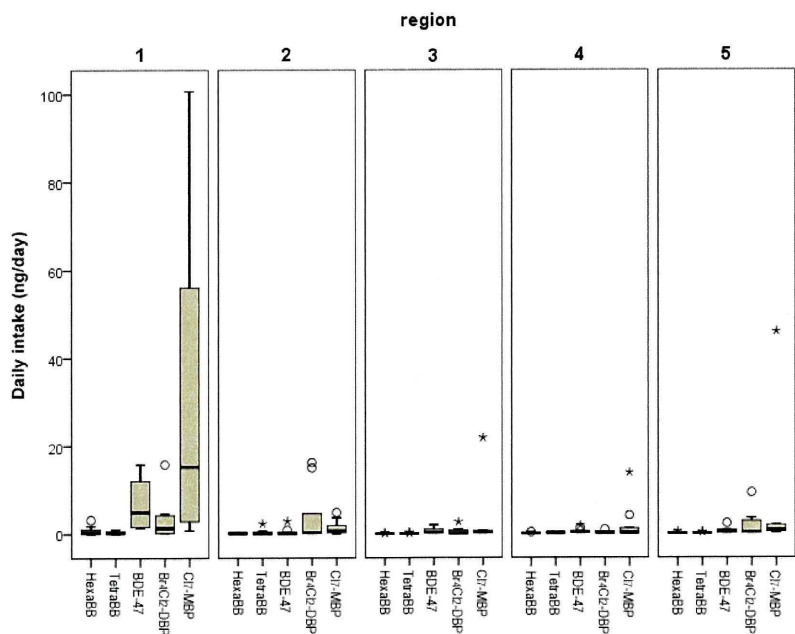


Fig. 2-4 Profiles of dietary contaminants (HBB, BDE-47 and bipyroles) from five districts. 1 = Kyoto, 2 = Hokkaido, 3= Miyagi, 4 = Gifu, 5= Yamaguchi

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）  
総合研究報告書 資料2

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 ( $\alpha$ -HCH,  $\beta$ -HCH,  $\gamma$ -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 $\mu$ 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 $\beta$ -HCHであり、総HCHsの80%を占めた。2012年の結果は、 $\beta$ -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) <sup>a</sup>	(mean±SD) (range)	31.5±5.0 20-42
Parity( <i>n</i> )	1	58
	2	29
	3	8
	4	3
Smoking	non	48
	ex	18
	current	1
Drinking <sup>c</sup>	non	29
	ex	56
	current	0
	social	12

Table 2. Mean concentrations (ng g<sub>lipid</sub><sup>-1</sup>) 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).

資料 [I I]  
懸念される新規汚染物質の  
モニタリング

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）  
総合研究報告書 資料3

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

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

近年開発され、使用量が増加してきているネオニコチノイド系農薬の摂取量は明らかではない。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時間尿中濃度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、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。以上をもって、モニタリング手法を確立した。京都府下の市民373名のスポット尿サンプルの採取を行い、モニタリング指標となる産物の尿中濃度から、4種類のネオニコチノイド農薬の一日摂取量の推定を行った。以上より食品安全委員会の2012年に報告された推定値と実測値との比較・評価を行った。

負荷後、尿中濃度の上昇が認められ、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。摂取量と尿中濃度の関係から推定される一日摂取量は平均で0.53 $\mu$ gから3.66 $\mu$ gであり、集団の最大値はジノテフランで64.5 $\mu$ g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。

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。

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（Regulation (EU) No 485/2013）。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（EFSA Journal 2013;11(12):3471. doi: 10.2903/j.efsa.2013.3471）。日本人の平均推定摂取量はイミダクロプリド307 $\mu$ g/人/日、クロチアニジン206 $\mu$ g/人/日、チアメトキサム265 $\mu$ g/人/日、ジノテフラン713 $\mu$ g/人/日とされている（食品安全委員会農薬評価書）。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ロジカルモニタリングの指標となり得るかどうかを検討する。以上をもってモニタリング手法を確立する。

京都府下健康な男女373名の随時尿試料の採取を行う。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う。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う。

## 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 $\mu$ g/人/日程度と5 $\mu$ g/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 $\mu$ g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（図1）。非重水素標

識ネオニコチノイド (2 $\mu$ g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(表1)。

尿試料は、京都大学生体試料バンクで分析まで-30 $^{\circ}$ C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)。

#### ・試薬

アセタミプリド、イミダクロプリド、チアクロプリド、チアメトキサム、ニテンピラムはAccuStandard(ニューヘブ、CT、USA)から入手した。クロチアニジン、ジノテフラン、およびチアクロプリドアミドは和光純薬(大阪、日本)から入手した。デスメチル-アセタミプリドおよびデスメチル-チアメトキサムは、Sigma-Aldrich社(セントルイス、MO、USA)から入手した。重水素標識アセタミプリド(アセタミプリド-d6)は林純薬(大阪、日本)から入手した。重水素標識アセタミプリド-d3、クロチアニジン-d3、イミダクロプリド-d4、およびチアメトキサム-d4は、Dr. Ehrenstofer社(アウグスブルク、ドイツ)から入手した。重水素標識ジノテフラン-d3とチアクロプリド-d4は、それぞれ、@rtMolecule(ポワティエ、フランス)とCDN isotopes

(ケベック州、カナダ)から入手した。

・尿試料中のネオニコチノイドの抽出  
尿試料1mLと回収率サロゲート(アセタミプリド-d3、クロチアニジン-d3、イミダクロプリド-d4、チアクロプリド-d4、およびチアメトキサム-d4は0.2 ng、ジノテフラン-d3は2ng)を合わせ、珪藻土カラムにロードした(InertSep K-solute 2mL、ジーエルサイエンス、東京、日本)(図2)。負荷後10分、標的分析対象をジクロロメタン25mLで2分間溶出した。溶出液を約10mLにロータリーエバポレーターで減少させ、さらに窒素気流下で約1mLにした。溶液をSupelclean ENVIcarb-II/PSA固相カートリッジに通した(A500 mg、B500mg、Sigma-Aldrich社)。標的分析対象を、10分間で、10mLの20%ジクロロメタン/アセトニトリル(v/v)を用いてチューブに溶出した。溶液を窒素気流を用いて乾燥するまで蒸発させ、30%メタノール水中に再溶解した。

#### ・機器分析

分析は、島津Nexeraシステム(島津製作所、京都、日本)と6500トリプル四重極MS/MS装置(AB SCIEX、MA、USA)で陽イオンモード大気圧エレクトロスプレーインターフェースを用いて行った。分離は、Atlantis T3(100mm、2.1 mm、3 $\mu$ m、Waters、MA、USA)で行った。カラムは、40 $^{\circ}$ Cに維持した。注入容量は10 $\mu$ Lであり、流速は200 $\mu$ L/minとした。勾配プログラムは、0.1%ギ酸/10 mM酢酸アンモニウム水とアセトニトリルからなる二つの移動相を用いた(表2)。各分析物に対して最適化されたパラメータを有する多重反応モニタリングプログラムで、各物質2つの生成物イオン



の測定に使用した（表2）。

装置検出限界（IDL）がSN比3のピークを生成する分析物の質量として定義された（表3）。回収率の平均は64%から100%となった（表3）。変動係数は最大で21%であった。

ストック溶液を希釈し、少なくとも7点検量線のために使用した（表3）。

#### ・ 質保証

アセタミプリド、クロチアニジン、ジノテフラン、イミダクロプリド、チアクロプリド、およびチアメトキサムの定量は、重水素標識化合物を用いた内部標準法を用いて行った。他の標的分析物のために、外部標準法を使用した。尿試料の回収率は表2に記載されている。操作ブランクはそれぞれ16個のサンプルごとに評価し、検出可能なネオニコチノイド汚染はなかった（N=29）。

#### ・ 統計分析

全ての統計分析は、JMPソフトウェア（SASインスティテュート社）を用いて行った。p < 0.05の値は統計的有意性を示すと考えられた。検出限界以下の濃度は、0とした。平均値間の差異は、分散分析（ANOVA）により行った。

#### ・ 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

ニコチノイドのボー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（図3）。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（Koizumi, 1983）。さらに、これらの化合物の毎日の摂取量は、繰り返しボーラス投与計画で近似できると仮定した。

標識クロチアニジン、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ための薬物動態モデル

#### 1. 1コンパートメント薬物動態モデル

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、投与量の大部分は、親化合物として尿中に排泄されることが報告されている。そこで1コンパートメントモデルを適用した（図4）。以下のように24時間の尿中排泄量を算出する。

$$V \frac{dc}{dt} = M \times r - k \times c \quad \text{----- Eq1}$$

Vは分布体積であり、cは濃度であり、Mは、単一のボーラス投与量であり、rはコンパートメント分布する割合、kがクリアランスである（図4）。投与は、ボーラスを与えられていることから、M × rはEq1から消える。

$$V \frac{dc}{dt} = -k \times c \quad \text{----- Eq2}$$

初期条件は次式  $c(0) = \frac{M \times r}{V}$  で与えられる。

$$U(N) = \int_{24(N-1)}^{24N} k \times c \, dt \quad \text{----- Eq3}$$

$$U(N) = M \times r \times \left\{ e^{-\alpha \times 24(N-1)} - e^{-\alpha \times 24N} \right\} \quad \text{----- Eq4}$$

$\alpha$  は、 $\frac{k}{V}$  に等しい。

U (N) はN-1日目とN日の間、尿中に排泄されるネオニコチノイドの量である (Nは1以上)。

a. 2コンパートメント薬物動態モデル

2コンパートメントモデルでは、第一コンパートメントは親化合物、第二コンパートメントは代謝産物の動態速度を示している。モデルは、アセタミプリドおよびその代謝物であるデスメチルアセタミプリドの速度を示している。つまり2つの微分方程式を有する (図4)。

$$V1 \frac{dc1}{dt} = M \times r - k1 \times c1 - k2xc1 \quad \text{-----Eq5}$$

$M \times r$ は投与後、すぐに消える。

$$V1 \frac{dc1}{dt} = -k1 \times c1 - k2xc1 \quad \text{-----Eq6}$$

$$V2 \frac{dc2}{dt} = -k2 \times c1 - k3 \times c2 \quad \text{-----Eq7}$$

初期条件は $c1(0) = \frac{M \times r}{V1}$  および $c2(0) = 0$ をとることができる。次のように尿中排泄が与えられる。

$$U1(N) = \int_{24(N-1)}^{24N} k1 \times c1 dt$$

$$U1(N) = M \times r \times \frac{k1}{k1+k2} \times (e^{-\frac{k1+k2}{V1} \times 24(N-1)} - e^{-\frac{k1+k2}{V1} \times 24N}) \quad \text{-----Eq8}$$

同様に、尿中代謝物の排泄量を得られる。

$$U2(N) = \left( \frac{M \times r \times k2}{k3 \times V1 - (k1+k2) \times V2} \right) \times \left( \frac{k1 \times V1}{k1+k2} \times \left( e^{-\frac{(k1+k2) \times 24(N-1)}{V1}} - e^{-\frac{(k1+k2) \times 24N}{V1}} \right) - V2 \times \left( e^{-\frac{k1+k2}{V1} \times 24(N-1)} - e^{-\frac{k1+k2}{V1} \times 24N} \right) \right)$$

Eq9に上記の式を簡素化することができる。

$$= \frac{(k2 \times k3 \times M \times r)}{k3 \times (k1+k2) - (k1+k2)^2} \times \frac{1}{\frac{1}{V1} - \frac{1}{V2}} \times \left[ \frac{1}{\alpha} \left( e^{-\alpha \times 24(N-1)} - e^{-\alpha \times 24N} \right) - \frac{1}{\beta} \left( e^{-\beta \times 24(N-1)} - e^{-\beta \times 24N} \right) \right]$$

Where  $\alpha = \frac{k1+k2}{V1}$ ,  $\beta = \frac{k3}{V2}$ .

N日の総尿中排泄は下記のようになる。

$$U(N) = U1(N) + U2(N) \quad \text{-----Eq10}$$

When  $k1 \ll k2$ , then  $U1 \ll U2$  and thus  $U \approx U2$ . Thus we will obtain Eq11.

$$U(N) = \frac{M \times r}{\frac{1}{\alpha} - \frac{1}{\beta}} \times \left[ \frac{1}{\alpha} \left( e^{-\alpha \times 24(N-1)} - e^{-\alpha \times 24N} \right) - \frac{1}{\beta} \left( e^{-\beta \times 24(N-1)} - e^{-\beta \times 24N} \right) \right]$$

-----Eq11

実際には、アセタミプリドの大部分は、デスメチルアセタミプリドとして排泄される。

b. 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

1.前提

i番目の個人がM (i, j) の一日摂取量とj番目のサンプリングでU (i, j) の尿中排泄量を持つと仮定する。M (i, j) はE [M (i, j)]とV [M (i, j)]を持つと仮定する。

i および j にかかわらず、E [M (i, j)] = E (M)、V [M (i, j)] = V (M) とする。

これらの仮定は、単に毎日の摂取量は、任意の日ですべての被験者に共通の単一の平均と分散を持っていることを意味する。反復投与における毎日の尿中排泄量 (定常状態下での尿中排

泄) UStを、導入する。この仮説のもと、以下の関係を得ることができる。

$$E [USt (i, j)] = E (USt) \text{ と } V [USt (i, j)] = V (USt)$$

UStは、Mに等しい摂取量に対応する尿中排泄に対応する。以下の議論では、E (USt) とV (USt) で、E (M) とV (M) を相関させることができる方法を検討する。

### c. 1コンパートメントモデルにおける平均と分散推定

統計的特性を調べるために、確率過程を定義し、

$$M_0, \dots, M_j, \dots, M_i, \dots, M_0,$$

M<sub>0</sub>は0日目、すなわち、サンプリング日の摂取量を意味し、M<sub>j</sub>をサンプリングするj日前を示す。

下記方程式となる。

$$USt = M_0 \times r \times (1-a) + M_1 \times r \times (1-a)a + \dots + M_i \times r \times (1-a)a^i + \dots$$

$$M_j \times r \times (1-a)a^j + \dots$$

$$USt = \sum_0^{\infty} M_j r (1-a) \times a^j$$

Eq12

$\alpha = e^{-aT}$ 、 $M_i \times r \times (1-a)a^i$ 、または  $M_j \times r \times (1-a)a^j$  は、採尿前iまたはj日の食事摂取に起因するキャリーオーバーを表す。M<sub>i</sub>とM<sub>j</sub>は独立した確率変数である。毎日の摂取量が関心である場合、Tは24(時間)に等しい。Eq12から、以下の式を得ることができる。

$$E[USt] = E$$

$$(Mr(1-a) \sum_0^{\infty} a^i) = r \times E[M] \quad Eq13$$

次に摂取量の分散を考慮する。観察

により尿中排出量の分散を得ることができる。以下の議論では、摂取量の分散と、尿中排泄量の分散の関係を得る。

UStの分散V[USt], は、

$$V(USt) = \left( \sum_0^{\infty} r^2 (1-a)^2 \times a^{2j} \right) \times V(M)$$

$$= r^2 \times (1-a)^2 \times \frac{1}{(1-a^2)} \times V(M)$$

$$= r^2 \times \frac{1-a}{1+a} \times V(M) \quad Eq14$$

$$\alpha = e^{-aT},$$

と与えられる (M<sub>j</sub>, M<sub>i</sub>は独立)。

したがって、

$$V(M) = \frac{1+\alpha^{-aT}}{r^2(1-\alpha^{-aT})} V(USt) \quad Eq15$$

薬物動態が1コンパートメントモデルに従うネオニコチノイドは、Eq15からV (M) の分散を推定することができる。

### d. 2コンパートメントモデル分散推定

同様の論理は2コンパートメントモデルでE [USt]に適用することができる。

$$E[USt] = r \times E[M]$$

分散について、以下の確率過程を検討する。

アセタミプリドの尿中排泄は微量であることから

$$USt = M_0 \times r \times \left( \frac{1}{l} \right) \times \left[ \frac{1}{a} \times (1-a) - \frac{1}{\beta} (1-b) \right] + \dots$$

$$M_i \times r \times \left( \frac{1}{l} \right) \times \left[ \frac{1}{a} \times (1-a)a^i - \frac{1}{\beta} (1-b)b^i \right] + \dots + M_j \times r \times \left( \frac{1}{l} \right) \times \left[ \frac{1}{a} \times (1-a)a^j - \frac{1}{\beta} (1-b)b^j \right] + \dots \quad Eq16$$

ここで、

$$L =$$

$$\frac{1}{\alpha} - \frac{1}{\beta} \text{ and } \alpha = \frac{k_1+k_2}{V_1}, \beta = \frac{k_3}{V_2}, \alpha = e^{-\alpha T} \text{ and}$$

bは $e^{-\beta T}$ である。

$$V[US_t] = V \left\{ \sum_{i=0}^{\infty} (M_i \times r \times \left(\frac{1}{L}\right) \times \left[\frac{1}{\alpha} \times (1-a)a^i - \frac{1}{\beta}(1-b)b^i\right]) \right\}$$

$$= \left\{ \sum_{i=0}^{\infty} \left( r \times \left(\frac{1}{L}\right) \times \left[\frac{1}{\alpha} \times (1-a)a^i - \frac{1}{\beta}(1-b)b^i\right] \right)^2 \right\} V(M)$$

$$= \left\{ \frac{r^2}{L^2} \left( \frac{1}{\alpha^2} \frac{(1-e^{-\alpha T})}{(1+e^{-\alpha T})} + \frac{1}{\beta^2} \frac{(1-e^{-\beta T})}{(1+e^{-\beta T})} - \frac{2}{\alpha\beta} \frac{(1-e^{-\alpha T})(1-e^{-\beta T})}{(1-e^{-\alpha T}-\beta T)} \right) \right\} V(M)$$

..... Eq17

$$V(M) = \frac{V[US_t]}{\left\{ \frac{r^2}{L^2} \left( \frac{1}{\alpha^2} \frac{(1-e^{-\alpha T})}{(1+e^{-\alpha T})} + \frac{1}{\beta^2} \frac{(1-e^{-\beta T})}{(1+e^{-\beta T})} - \frac{2}{\alpha\beta} \frac{(1-e^{-\alpha T})(1-e^{-\beta T})}{(1-e^{-\alpha T}-\beta T)} \right) \right\}}$$

..... Eq18

薬物動態が2コンパートメントモデルに従うネオニコチノイドは、Eq18からV(M)の分散を推定することができる。

### 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 $\mu$ g瞬時投与後96時間で観察された尿中排泄をEq3、Eq10に当てはめてパラメータr、a、bを得た(表4、図5)。

2 $\mu$ g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(表5と図6)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、Eq13、Eq15、およびEq18に基づいて推定 $1.26 \pm 1.12$ 、 $1.58 \pm 3.37$ 、 $5.18 \pm 6.40$ 、および $2.93 \pm 12.4 \mu$ 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(表6)。平均排出量としてはジノテフランが3.29

$\mu$ g/day、デスメチルアセタミプリドが1.14  $\mu$ g/day、クロチアニジンが0.51  $\mu$ g/dayとなり、ついでイミダクロプリドが0.07  $\mu$ g/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(図7)。

これを摂取量に換算するとジノテフランが3.66  $\mu$ g/day、アセタミプリドが1.94  $\mu$ g/day、クロチアニジンが0.86  $\mu$ g/dayとなり、ついでイミダクロプリドが0.53  $\mu$ g/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64.5 $\mu$ g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5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、出産回数と相関していた(表7)。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相関していた。野菜類とは、ジノテフラン、イミダクロプリドが相関していた。またジノテフランは穀類摂取量とも相関していた。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