

Table 2. Concentrations (ng/mL wet) of triclosan and POPs in human serum from Japan and Korea

| | Japan (Kyoto) | | | Korea (Seoul) | | | p value |
|--------------|---------------|-------------|-------------|---------------|-------------|-------------|---------|
| | n>LOQ(%) | mean ± SD | (range) | n>LOQ(%) | mean ± SD | range | |
| age | | 52.3 ± 14.9 | (24-69) | | 34.8 ± 7.81 | (24-48) | |
| TCS | 19 (100) | 3.08 ± 1.56 | (0.97-7.73) | 19 (100) | 1.07 ± 0.66 | (0.4-3.5) | <0.001 |
| HCB | 19 (100) | 0.06 ± 0.05 | (0.01-0.18) | 19 (100) | 0.11 ± 0.15 | (0.01-0.66) | 0.160 |
| β-HCH | 19 (100) | 1.48 ± 2.28 | (0.11-8.0) | 19 (100) | 0.37 ± 1.12 | (0.02-5.0) | 0.065 |
| trans-NC | 19 (100) | 0.68 ± 0.81 | (0.13-3.73) | 19 (100) | 0.17 ± 0.10 | (0.02-0.34) | 0.001 |
| α-endosulfan | 19 (100) | 0.22 ± 0.11 | (0.07-0.50) | 18 (95) | 0.03 ± 0.03 | (<LOQ-0.15) | 0.155 |
| dicofol | 19 (100) | 0.03 ± 0.02 | (0.02-0.09) | 17 (89) | 0.01 ± 0.01 | (<LOQ-0.04) | 0.006 |
| PCB153 | 19 (100) | 1.92 ± 1.76 | (0.53-8.5) | 19 (100) | 0.40 ± 0.36 | (0.11-1.42) | 0.001 |

LOQ: Limit of quantification, SD: standard deviation; Concentrations lower than the detection limits were considered to be equal to half of the detection limit for statistical analyses.

Table 3. Spearman's rank correlation coefficients between age and concentrations of analytes in Japanese women (N=19).

| | Age | TCS | HCB | β-HCH | trans-NC | α-endosulfan | dicofol |
|--------------|----------------|----------------|-------|----------------|----------------|--------------|---------------|
| TCS | 0.267 | | | | | | |
| HCB | 0.263 | -0.069 | | | | | |
| β-HCH | 0.593** | 0.490** | 0.282 | | | | |
| trans-NC | 0.413 | 0.647** | 0.341 | 0.642** | | | |
| α-endosulfan | -0.069 | 0.123 | 0.626 | 0.056 | 0.327 | | |
| dicofol | 0.059 | 0.244 | 0.066 | 0.429 | 0.332 | 0.189 | |
| PCB153 | 0.618** | 0.675** | 0.036 | 0.674** | 0.748** | 0.005 | 0.458* |

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Table 4. Spearman's rank correlation coefficients between age and concentrations of analytes in Korean women (N=19).

| | Age | TCS | HCB | β-HCH | trans-NC | α-endosulfan | dicofol |
|--------------|--------|--------|-------|----------------|---------------|--------------|---------|
| TCS | -0.386 | | | | | | |
| HCB | 0.428 | 0.006 | | | | | |
| β-HCH | 0.107 | -0.409 | 0.005 | | | | |
| trans-NC | 0.264 | -0.194 | 0.224 | 0.764** | | | |
| α-endosulfan | -0.186 | 0.269 | 0.178 | 0.364 | 0.345 | | |
| dicofol | 0.278 | -0.420 | 0.011 | -0.011 | 0.567* | -0.066 | |
| PCB153 | 0.394 | -0.058 | 0.193 | 0.960** | 0.844* | 0.269 | 0.561 |

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

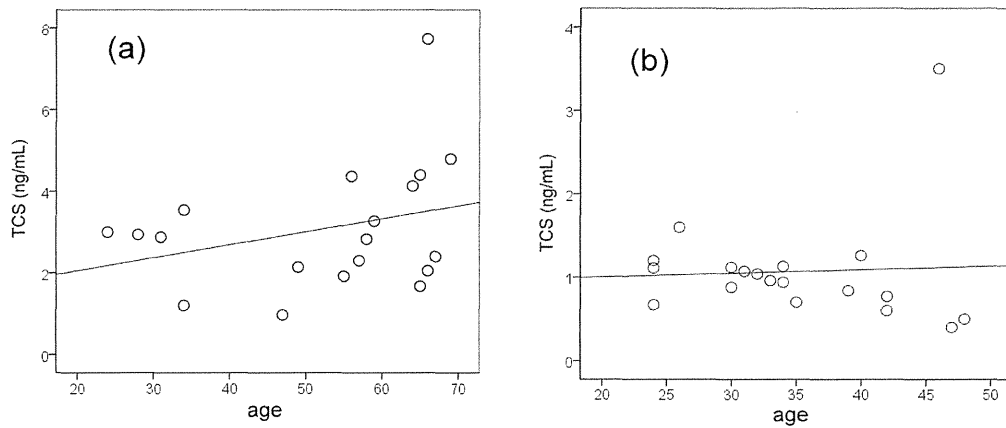


Fig. 1. Relationships between the age of females in Japan, Kyoto (a) and Korea, Seoul (b) and serum concentrations of TCS. Speaman's rank correlation coefficients, (a) $r = 0.267$, $p = 0.269$; (b) $r = 0.386$, $p = 0.102$

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 10

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
長期動向調査

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

難分解性の有機フッ素化学物質であるペルフルオロアルキルカルボン酸類 (PFCAs) は撥水加工剤製造等に広く使用されてきた化学物質であるが、ヒト生体試料中から広く検出され広範囲の汚染が懸念されている。本研究では日本におけるその汚染実態の経年的変化を明らかにすることを目的に、1980 年前後から 2010 年代までの食事中、血清中の PFCAs (炭素数 8 から 14 まで) の測定を関西・東北地域の試料を用いて行った。関西における食品経由の PFCAs 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。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。このように総 PFCAs 摂取量は東北の 2000 年代を除き一貫して上昇傾向であるが、最大値でも PFOA (炭素鎖 8) の耐容一日摂取量より低い値であった (TDI の 0.1%)。血清中濃度も同様に上昇傾向が見られ、C8 においては 3 割から 9 割が食事由来であると推測された。食事由来の摂取量の増減と一致しない部分については、近年 PFCAs を高濃度に含有する化粧品・日焼け止め等の消費者製品の存在も報告されており、それらによる汚染を受けている可能性も考えられる。

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) は全ての水素原子がフッ素原子に置換した炭素鎖 (CF_3 (CF_2) $_n$ -: ペルフルオロアルキル鎖/Rf 基) を持つ化学物質である。この Rf 基は環境中、生体中で分解不可能でありその多くは最終的にカルボン酸、スルホン酸となり安定化し環境中に残留する。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 (Apelberg et al., 2007, Fei et al., 2007)。

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

(Calafat et al. 2007; Harada et al. 2011) (Glynn et al. 2012)。また最近、ドイツにおいて1982年からの血清中PFCAsの長期動向が明らかにされ、長鎖PFCAs(炭素鎖9, 炭素鎖11)の1990年前後における一時的な増加が報告された(Yeung et al. 2013)。

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(D'Hollander et al. 2010)、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(Kärman et al., 2009; Vestergren et al., 2012)、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、食事経路の摂取量の動向も明らかにすることを目的に、新規の分析法(平成23年度の厚生労働科学研究費補助金(食品の安心安全確保推進研究事業)の「食事試料中のPFCAs分析法の確立」にて報告)を利用し、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

1. 対象物質

調査対象物質は、PFOA (C8)、perfluorononanoic acid (PFNA; C9)、perfluorodecanoic acid (PFDA; C10)、perfluoroundecanoic acid (PFUnDA; C11)、perfluorododecanoic acid (PFDoDA; C12)、perfluorotridecanoic acid (PFTrDA; C13)、およびperfluorotetradecanoic acid (PFTeDA; C14)の7化合物とした。

2. 対象集団

京都大学生体試料バンクの保存試料を使用した。対象集団の詳細はTable1に示す。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。

3. 分析法

新規の分析法(平成23年度の厚生労働科学研究費補助金(食品の安心安全確保推進研究事業)の「食事試料中のPFCAs分析法の確立」にて報告)を利用し、分析を行った。

食事試料は約1g、血清試料は0.1mlをそれぞれ分注し分析用試料とした。分注後、¹³C標識のC8、C9、C10、C11、C12の内部標準、t-ブチルメチルエーテル(MTBE)1ml、0.5Mテトラブチルアンモニウム溶液(TBA)0.3ml、0.5M炭酸ナトリウム緩衝液0.6mlを加えた。チューブローターにて24時間回転混和させた後、遠心分離を行い、上清を量りとった。さらにMTBEを1ml追加し、24時間回転、遠心分離、上清を取る操作を繰り返した(計2回の抽出)。この溶液を高純度窒素気流で乾固し、1ng¹¹H-PFUnDAを加えた臭化ベンジルアセトン溶液を添加し、ベンジルエステル誘導体化した。分析は誘導体化後24時間以内に行った。

GC/MS (Agilent 6890GC/5973MSD, Agilent Technologies Japan, Ltd., Tokyo, Japan)を用いて

測定した。DB-5MS (全長30m、内径0.25mm、膜厚1 μ m)のカラムで分離し、Single ion monitoringを使用し、化学イオン化陰イオンモードで分析した。試薬ガスにはメタンを用いイオン源温度は150 $^{\circ}$ Cとした。昇温条件は70 $^{\circ}$ Cで2分保持後、100 $^{\circ}$ Cまで20 $^{\circ}$ C/min、280 $^{\circ}$ Cまで30 $^{\circ}$ C/minで昇温した。Table 2に示すイオンを測定した。

4. 検出限界、ブランク値、回収率

装置の検出限界 (IDL)はシグナル/ノイズ比=3にて設定を行った。操作ブランクにはMilli-Q waterを使用した(計8)。ブランク値が検出された場合は、ブランク値の平均に、標準偏差の3倍の値を加えた数値をMethod detection limit (MDL)として扱った。回収率は、血清試料に500pg、食事試料に50pgの各標準物質を抽出前のサンプルに添加し、抽出後に添加した11H-PFUnDAと比較することで確認を行った (Table2)。

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 \pm 11%、73 \pm 15%、79 \pm 7%、83 \pm 5%、91 \pm 11%、89 \pm 12%、104 \pm 20%であった (Table2)。PFCAsの一日摂取量 (ng/day)をTable3に示す。

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 (Fig.1.上グラフ)。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に抜かれている (Fig.1.下グラフ)。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 (Fig.1.上グラフ)。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 (Fig.1.下グラフ)。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 \pm 12%、94 \pm 8%、87 \pm 6%、95 \pm 7%、96 \pm 5%、99 \pm 6%、106 \pm 7%であった (Table2)。血清中のPFCAs濃度の測定結果はTable4に示す。

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 (Fig.1.上グラフ)。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)(Fig.2.下グラフ)。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(Fig.2.上グラフ)。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(Fig.2.下グラフ)。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(Calafat et al. 2007)、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(Harada et al. 2011)。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。食事時のPFCAsも2004年の宮城を除き増加傾向であった。食事経路の曝露量と血中濃度を関連付けるには体内動態を考慮する必要がある。先行研究により、分布容積、半減期等が明らかにされているC8を例にとると食品から摂取量されたPFCAsから計算される血清中濃度から以下ようになる。C8の分布容積は200ml/kg(Niisoe et al. 2010)、半減期は3.8年(Olsen et al. 2007)であり、腸管での吸収率が高いと考えられている(Loccisano et al. 2012)。これらを考慮すると、体重50kgと仮定し、1-コンパートメントモデルで評価(Niisoe et al., 2010)した場合、食品経路の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。この値はTable4の実際の血清中の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。近年PFCAsを高濃度に含有する化粧品・日焼け止め等の消費者製品の存在も報告されており(Fujii et al. 2013)、それらによる汚染を受け

ている可能性も考えられる。今後は生活様式等を含めた解析を行う必要がある。

E. 結論

本研究では京都大学生体試料バンクの保存試料を使用し、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の測定を行い、日本におけるPFCAsの食事を通じた摂取量と血清中濃度の長期動向を明らかにした。その結果、総PFCAs摂取量は2000年代の東北を除いて上昇傾向であるが、最大値でもPFOAの耐容一日摂取量より十分に低い値であった。血清中濃度も同様に上昇傾向が見られ、C8においては、3割から9割が食事由来であると推測された。

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

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 (PFCAs) の経年変化 (1980-2010年代)、第84回日本衛生学会学術総会 (2014年5月25-27日岡山)

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

- Apelberg, B.J., Witter, F.R., Herbstman, J.B., Calafat, A.M., Halden, R.U., Needham, L.L., Goldman, L.R., 2007. Cord serum concentrations of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) in relation to weight and size at birth. *Environ Health Persp* 115, 1670-1676.
- Calafat AM, Wong LY, Kuklennyik Z, Reidy JA, Needham LL. 2007. Polyfluoroalkyl chemicals in the us population: Data from the national health and nutrition examination survey (nhanes) 2003-2004 and comparisons with nhanes 1999-2000. *Environmental Health Perspectives* 115:1596-1602.
- D'Hollander W, de Voogt P, De Coen W, Bervoets L. 2010. Perfluorinated substances in human food and other sources of human exposure. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, Vol 208 208:179-215.
- Fujii Y, Harada KH, Koizumi A. 2013. Occurrence of perfluorinated carboxylic acids (pfcas) in personal care products and compounding agents. *Chemosphere* 93:538-544.
- Glynn A, Berger U, Bignert A, Ullah S, Aune M, Lignell S, et al. 2012. Perfluorinated alkyl acids in blood serum from primiparous women in sweden: Serial sampling during pregnancy and nursing, and temporal trends 1996-2010. *Environmental Science & Technology* 46:9071-9079.
- Harada KH, Hitomi T, Niisoe T, Takanaka K, Kamiyama S, Watanabe T, et al. 2011. Odd-numbered perfluorocarboxylates predominate over perfluorooctanoic acid in serum samples from japan, korea and vietnam. *Environment International* 37:1183-1189.
- Kärman A, Harada KH, Inoue K, Takasuga T, Ohi E, Koizumi A., 2009. Relationship between dietary exposure and serum perfluorochemical (PFC) levels--a case study. *Environ Int* 35, 712-7.
- Loccisano AE, Campbell JL, Jr., Butenhoff JL, Andersen ME, Clewell HJ, 3rd. 2012.

- Comparison and evaluation of pharmacokinetics of pfoa and pfos in the adult rat using a physiologically based pharmacokinetic model. *Reproductive toxicology* 33:452-467.
- Niisoe T, Harada KH, Ishikawa H, Koizumi A. 2010. Long-term simulation of human exposure to atmospheric perfluorooctanoic acid (pfoa) and perfluorooctanoate (pfo) in the osaka urban area, japan. *Environ Sci Technol* 44:7852-7857.
- Olsen GW, Burris JM, Ehresman DJ, Froehlich JW, Seacat AM, Butenhoff JL, et al. 2007. Half-life of serum elimination of perfluorooctanesulfonate, perfluorohexanesulfonate, and perfluorooctanoate in retired fluorochemical production workers. *Environ Health Perspect* 115:1298-1305.
- Vestergren, R., Ullah, S., Cousins, I.T., Berger, U., 2012. A matrix effect-free method for reliable quantification of perfluoroalkyl carboxylic acids and perfluoroalkane sulfonic acids at low parts per trillion levels in dietary samples. *J Chromatogr A*
- Yeung LW, Robinson SJ, Koschorreck J, Mabury SA. 2013. Part i. A temporal study of pfcas and their precursors in human plasma from two german cities 1982-2009. *Environ Sci Technol* 47:3865-3874.

Table 1 Study area and study population

| Sample type | Study Area | Year | City | N (All females) | Age | |
|-------------|------------|------------|-----------------|--------------------|-------------|-------|
| | | | | | Mean (SD) | Range |
| Diet | Kansai | 1979 | Wakayama | 15 | 52.0 (11.6) | 35-69 |
| | | 1993 | Kyoto | 25 | 53.7 (4.0) | 47-61 |
| | | 2003, 2004 | Kyoto | 18 | 51.8 (21.1) | 21-76 |
| | | 2011 | Kyoto | 18 | 66.0 (4.9) | 57-75 |
| | Tohoku | 1981 | Miyagi | 18 | 44.8 (8.6) | 31-57 |
| | | 1992 | Miyagi | 12 | 52.9 (10.8) | 31-68 |
| | | 2004 | Miyagi | 16 | 21.5 (0.5) | 21-22 |
| | | 2011 | Fukushima | 26 | 55.1 (13.0) | 30-79 |
| Serum | Kansai | 1983 | Kyoto | 15 | 43.7 (3.2) | 40-50 |
| | | 1993 | Kyoto | 30 | 44.1 (3.0) | 40-50 |
| | | 2004, 2005 | Kyoto, Wakayama | 30 | 37.7 (11.9) | 24-63 |
| | | 2011 | Kyoto | 30 | 57.1 (14.3) | 23-69 |
| | Tohoku | 1981 | Miyagi | 27 | 45.3 (8.2) | 33-57 |
| | | 1997 | Miyagi | 30 | 20.9 (1.2) | 19-23 |
| | | 2003 | Miyagi | 30 | 45.2 (8.6) | 30-59 |
| | | 2007 | Miyagi | 30 | 42.8 (9.9) | 23-59 |

Table 2

Recoveries and method detection limits for PFCAs analysis of serum and diet

| Compound (carbon atoms) | Quantification ions (confirmation ions) m/z | Instrument detection limit ^a (pg) (S/N=3) | Recovery of PFCAs ^b % (SD%) | | Procedural blank (SD) (pg, n=8) |
|---------------------------|---|--|--|-------------------------|---------------------------------|
| | | | Serum (500ng spiked, n=6) | Diet (50pg spiked, n=6) | |
| PFOA (C8) | 413 (394) | 0.003 | 87(12) | 72(11) | 1.2(0.4) |
| PFNA (C9) | 463 (444) | 0.003 | 94(8) | 73(15) | 1.4(0.9) |
| PFDA (C10) | 513 (494) | 0.004 | 87(6) | 79(7) | 1.1(0.3) |
| PFUnDA (C11) | 563 (544) | 0.004 | 95(7) | 83(5) | 1.3(0.4) |
| PFD _o DA (C12) | 613 (594) | 0.005 | 96(5) | 91(11) | n.d. |
| PFT _r DA (C13) | 663 (644) | 0.005 | 99(6) | 89(12) | n.d. |
| PFT _e DA (C14) | 713 (694) | 0.007 | 106(7) | 104(20) | n.d. |

SD: relative standard deviation

^a 1 µL injection^b All native PFCAs were spiked into samples before extraction.

Table 3

Dietary intake of PFCAs from composite food samples (ng day⁻¹)

| Area | Year (No. of pooled diets) | City | | ng day ⁻¹ | | | | |
|----------------|----------------------------|----------------|-----------------|----------------------|----------------|-----------------|-----------------|---------------|
| | | | | PFOA (C8) | PFNA (C9) | PFDA (C10) | PFUnDA (C11) | PFDoDA (C12) |
| Kansai | 1979 (n=15) | Wakayama | % of detection | 73 | 40 | 67 | 67 | 33 |
| | | | Median (Range) | 2.6(0.4-9.8) | 0.7(0.4-8.9) | 2.5(0.9-7.9) | 9.6(2.6-24.1) | 0.6(0.4-14.3) |
| | | | Mean±SD | 3.7±3.0 | 2.1±2.5 | 3.2±2.2 | 10.7±7.7 | 3.3±4.5 |
| | | | GM | 2.4 | 1.2 | 2.5 | 8.0 | 1.3 |
| | 1993 (n=25) | Kyoto | % of detection | 92 | 96 | 64 | 92 | 60 |
| | | | Median (Range) | 11.7(0.6-27.8) | 8.6(0.7-22.8) | 3.4(0.8-33.7) | 27.3(3.3-69.6) | 2.3(0.3-15.3) |
| | | | Mean±SD | 12.8±8.1 | 9.9±5.2 | 4.3±6.3 | 28.2±18.9 | 3.6±3.9 |
| | | | GM | 9.3 | 8.3 | 2.8 | 21.0 | 2.0 |
| | 2003-2004 (n=18) | Kyoto | % of detection | 100 | 78 | 61 | 83 | 56 |
| | | | Median (Range) | 16.4(2.3-72.1) | 6.3(0.4-32.2) | 2.8(0.7-34.4) | 17.0(2.1-203.6) | 1.5(0.4-40.0) |
| | | | Mean±SD | 18.9±16.3 | 7.8±8.3 | 7.5±10.2 | 50.1±67.0 | 9.1±12.6 |
| | | | GM | 14.6 | 3.9 | 3.2 | 20.5 | 2.4 |
| 2011 (n=18) | Kyoto | % of detection | 100 | 100 | 89 | 83 | 44 | |
| | | Median (Range) | 31.2(14.6-99.5) | 12.8(3.5-379.5) | 6.3(0.9-603.2) | 32.5(2.5-336.5) | 1.0(0.5-67.6) | |
| | | Mean±SD | 34.6±18.9 | 35.2±86.5 | 41.7±140.3 | 68.2±92.0 | 14.1±20.1 | |
| | | GM | 31.2 | 15.2 | 8.2 | 29.6 | 3.5 | |
| Tohoku | 1981 (n=18) | Miyagi | % of detection | 56 | 67 | 11 | 67 | 83 |
| | | | Median (Range) | 2.5(0.6-10.3) | 7.0(0.5-24.4) | 1.5(1.0-14.7) | 9.2(2.7-24.6) | 4.3(0.5-27.0) |
| | | | Mean±SD | 3.5±3.2 | 8.8±8.3 | 2.3±3.1 | 10.6±7.0 | 6.2±6.9 |
| | | | GM | 2.2 | 4.3 | 1.7 | 8.6 | 3.9 |
| | 1992 (n=12) | Miyagi | % of detection | 83 | 83 | 92 | 83 | 67 |
| | | | Median (Range) | 9.0(0.6-21.0) | 6.9(0.6-26.2) | 7.1(1.0-14.1) | 28.4(2.9-98.5) | 6.0(0.6-26.4) |
| | | | Mean±SD | 9.2±6.3 | 10.4±9.4 | 7.0±4.1 | 32.7±27.9 | 8.1±8.9 |
| | | | GM | 6.4 | 5.9 | 5.7 | 20.9 | 3.9 |
| | 2004 (n=16) | Miyagi | % of detection | 81 | 88 | 94 | 88 | 38 |
| | | | Median (Range) | 5.2(0.4-14.4) | 7.5(0.4-18.6) | 4.4(0.8-7.9) | 14.1(2.3-41.3) | 0.6(0.3-73.1) |
| | | | Mean±SD | 5.7±4.5 | 8.2±5.1 | 4.6±1.9 | 16.3±11.6 | 6.8±18.0 |
| | | | GM | 3.5 | 5.8 | 4.1 | 12.5 | 1.5 |
| 2011 (n=26) | Fukushima | % of detection | 96 | 92 | 58 | 81 | 65 | |
| | | Median (Range) | 8.0(0.6-217.6) | 6.5(0.6-239.5) | 4.6(0.7-43.3) | 31.0(3.2-182.3) | 11.8(0.4-61.0) | |
| | | Mean±SD | 21.9±42.1 | 19.2±46.2 | 8.5±10.3 | 58.0±59.7 | 16.4±17.8 | |
| | | GM | 10.5 | 7.5 | 4.2 | 28.3 | 6.0 | |

SD: standard deviation; GM: geometric mean;

Concentrations lower than the detection limits were given a value of half the detection limit for statistical analyses.

Table 4

Concentration of PFCAs in serum samples (pg ml⁻¹)

| Area | Year (No. of pooled diets) | City | | ng day ⁻¹ | | | | |
|----------------|----------------------------|----------------|----------------|----------------------|-----------------|----------------|----------------|---------------------------|
| | | | | PFOA (C8) | PFNA (C9) | PFDA (C10) | PFUnDA (C11) | PFD _o DA (C12) |
| Kansai | 1983 (n=15) | Wakayama | % of detection | 100 | 100 | 100 | 100 | 80 |
| | | | Median (Range) | 1475(220-7098) | 331(141-2498) | 150(80-707) | 311(164-1646) | 45(0-269) |
| | | | Mean±SD | 2274±2222 | 736±813 | 218±174 | 496±425 | 53±65 |
| | | | GM | 1580 | 454 | 175 | 377 | 17 |
| | 1993 (n=30) | Kyoto | % of detection | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | | | Median (Range) | 3169(1082-9894) | 991(260-1925) | 423(93-1770) | 1086(279-2899) | 84(17-216) |
| | | | Mean±SD | 3777±2137 | 1017±459 | 546±369 | 1272±694 | 94±52 |
| | | | GM | 3183 | 887 | 430 | 1066 | 80 |
| | 2004-2005 (n=30) | Kyoto | % of detection | 100 | 100 | 100 | 100 | 90 |
| | | | Median (Range) | 5051(2153-35337) | 1864(571-9701) | 609(178-3603) | 1337(224-9040) | 96(0-1401) |
| | | | Mean±SD | 7051±6325 | 2430±2197 | 854±730 | 1697±1590 | 157±246 |
| | | | GM | 5694 | 1899 | 697 | 1379 | 67 |
| | 2011 (n=30) | Kyoto | % of detection | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | | | Median (Range) | 8504(1610-16837) | 3759(867-11384) | 1123(243-7587) | 2033(499-4998) | 144(31-527) |
| | | | Mean±SD | 9075±4230 | 4123±2532 | 1419±1389 | 2144±1047 | 172±99 |
| GM | | | 7914 | 3451 | 1057 | 1896 | 147 | |
| Tohoku | 1981 (n=27) | Miyagi | % of detection | 100 | 96 | 100 | 100 | 19 |
| | | | Median (Range) | 175(60-654) | 54(0-335) | 26(4-54) | 139(71-246) | 0(0-46) |
| | | | Mean±SD | 195±116 | 73±87 | 27±11 | 143±43 | 5±12 |
| | | | GM | 171 | 45 | 24 | 140 | 1 |
| | 1997 (n=30) | Miyagi | % of detection | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | | | Median (Range) | 2237(1134-10531) | 849(335-3332) | 378(206-1295) | 1203(593-2845) | 84(46-229) |
| | | | Mean±SD | 2586±1659 | 1043±699 | 410±191 | 1242±454 | 99±41 |
| | | | GM | 2292 | 885 | 377 | 1163 | 92 |
| | 2003 (n=30) | Miyagi | % of detection | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| | | | Median (Range) | 2523(1147-5858) | 1114(396-2631) | 421(191-767) | 1418(748-3108) | 93(13-231) |
| | | | Mean±SD | 2703±1115 | 1178±434 | 443±131 | 1598±622 | 107±57 |
| | | | GM | 2499 | 1103 | 424 | 1490 | 90 |
| 2007 (n=30) | Miyagi | % of detection | 100 | 100 | 100 | 100 | 77 | |
| | | Median (Range) | 2185(686-6382) | 1655(656-3906) | 549(200-1161) | 1662(589-5053) | 124(0-465) | |
| | | Mean±SD | 2617±1364 | 1771±837 | 633±304 | 2053±1201 | 143±119 | |
| | | GM | 2314 | 1585 | 555 | 1714 | 36 | |

SD: standard deviation; GM: geometric mean;

Concentrations lower than the detection limits were given a value of half the detection limit for statistical analyses.

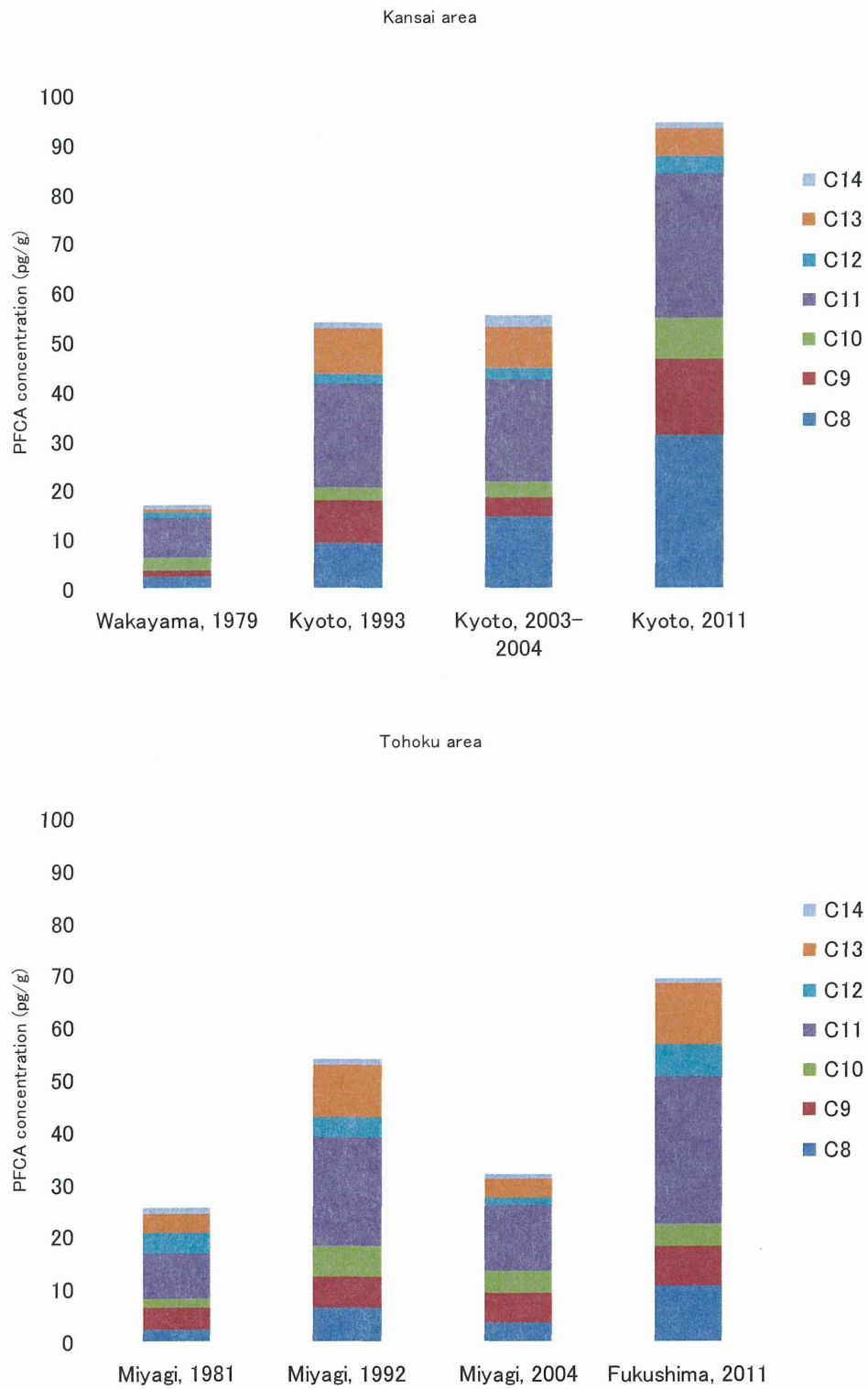


Figure 1. Profile and trend of PFCA levels in food samples

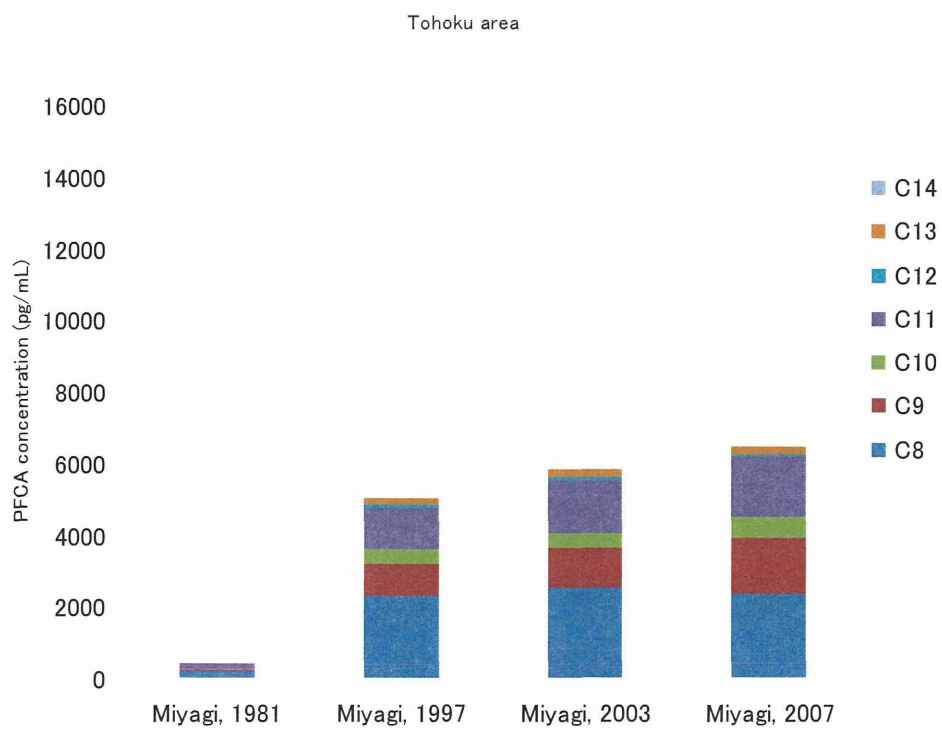
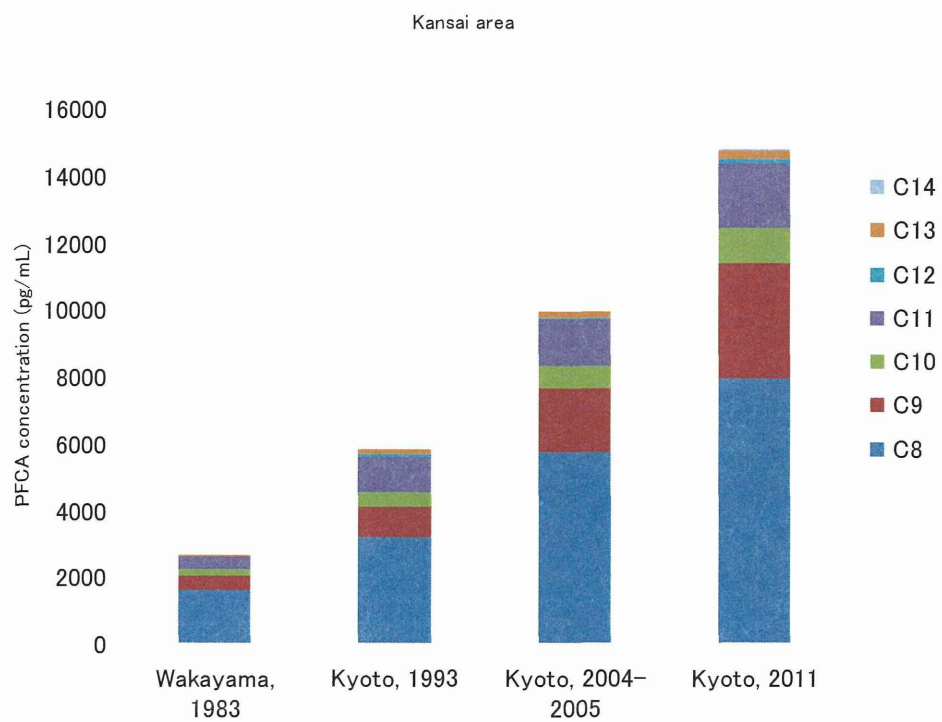


Figure 2. Profile and trend of PFCA levels in serum samples

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 1 1

炭素鎖の異なる有機フッ素カルボン酸と魚類摂取に由来する不飽和脂肪酸との
関連の検討

研究代表者 小泉 昭夫 京都大学大学院医学研究科・教授

研究要旨

ヒト血清には PFOA のほか、長鎖 PFCA_s が認められるが、その濃度を規定する因子は不明である。本研究では京都の健常者 131 名の血清中 PFCA_s と n-3 系不飽和脂肪酸を同時定量した。単変量解析では、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/アラキドン酸比と PFOA、PFNA、PFUnDA は正の相関を示した。年齢、性別をさらに調整し、共分散分析を行っても有意な因子であった。

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 (Olsen et al., 2008)。近年ペルフルオロオクタン酸 PFOA(C8) 以外の長鎖 PFCA 類 (C9-C13) の血中での増加が認められた (Harada et al., 2011)。長鎖 PFCA_s 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 PFCA_s 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 (Koizumi et al., 2009)。試料 0.5 mL に 0.5 M テトラブチルアン

モニウム塩水溶液 (pH10) 0.5 mL、サロゲート標準溶液 (PFC-MXA, Wellington Laboratories; Docosahexaenoic Acid-d5, Cayman Chemical) を加え、1 mL の methyl t-butyl ether (MTBE) で抽出し、再度 1 mL MTBE で抽出した。有機層を乾固させ、PFCA_s は 0.1 M 臭化ペンタフルオロベンジル / 0.1 M 18-Crown-6 アセトン溶液、炭酸水素カリウム粉末 1 片、内部標準溶液 11H-PFUnDA を加えて、60℃ で 60 分間加熱して、ペンタフルオロベンジルエステル誘導体とした。Agilent 6890GC/5973MSD inert で、HP-5MS を用いて分離し、化学イオン化 (メタンガス、負イオン化モード) で測定した。測定対象の脂肪酸類は全て $[M-C_7H_2F_5]^-$ により定量した。

C. 研究結果

分析値の要約を表 1 に示す。C8、C9、C10、C11 が全ての試料で検出された。C8 より鎖長の長い PFCA_s 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(表1)。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(図1)。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(図2)。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(Fujii et al., 2012)。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。

E. 結論

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。

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

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)

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

Fujii Y, Harada KH, Koizumi A. Analysis of perfluoroalkyl carboxylic acids in composite dietary samples by gas chromatography/mass spectrometry with electron capture negative ionization. *Environ Sci Technol* 2012;46:11235-42.

Harada KH, Hitomi T, Niisoe T, Takenaka K, Kamiyama S, Watanabe T, Moon CS, Yang HR, Hung NN, Koizumi A. Odd-numbered perfluorocarboxylates predominate over perfluorooctanoic acid in serum samples from Japan, Korea and Vietnam. *Environ Int* 2011;37:1183-9.

Koizumi A, Harada K, Inoue K, Hitomi T, Yang HR, Moon CS, Wang P, Hung N, Watanabe T, Shimbo S, Ikeda M. Past, present, and future of environmental specimen banks. *Environ Health Prev Med* 2009;14:307-18.

Olsen GW, Mair DC, Church TR, Ellefson ME, Reagen WK, Boyd TM, Herron RM, Medhdizadehkashi Z, Nobiletti JB, Rios JA, Butenhoff JL, Zobel LR. Decline in perfluorooctanesulfonate and other polyfluoroalkyl chemicals in American Red Cross adult blood donors, 2000-2006. *Environ Sci Technol* 2008;42:4989-95.

Table 1. Serum concentrations of PFCAs in Kyoto, Japan in 2013

| | n | Age (yr) | Concentration (pg mL ⁻¹) | | | | | | | | |
|--------|-----|----------|--------------------------------------|-------|-----------|-----------|-----------|----------|--------|---------|--------|
| | | | PFHpA | PFOA | PFNA | PFDA | PFUnDA | PFDODA | PFTrDA | PFTeDA | |
| Total | 131 | Mean±SD | 63±15 | 63±30 | 4626±2449 | 3020±2202 | 869±1132 | 998±602 | 141±79 | 191±72 | 17±113 |
| | | Median | 67 | 57 | 4079 | 2509 | 659 | 895 | 124 | 183 | ND |
| Male | 37 | Mean±SD | 60±18 | 61±37 | 4102±2629 | 3022±3025 | 1024±1968 | 920±568 | 131±67 | 203±101 | 26±150 |
| | | Median | 66 | 52 | 3305 | 2229 | 618 | 813 | 115 | 195 | ND |
| Female | 94 | Mean±SD | 64±14 | 64±27 | 4832±2358 | 3019±1799 | 808±529 | 1029±615 | 144±83 | 187±57 | 14±95 |
| | | Median | 68 | 60 | 4571 | 2695 | 686 | 933 | 126 | 183 | ND |

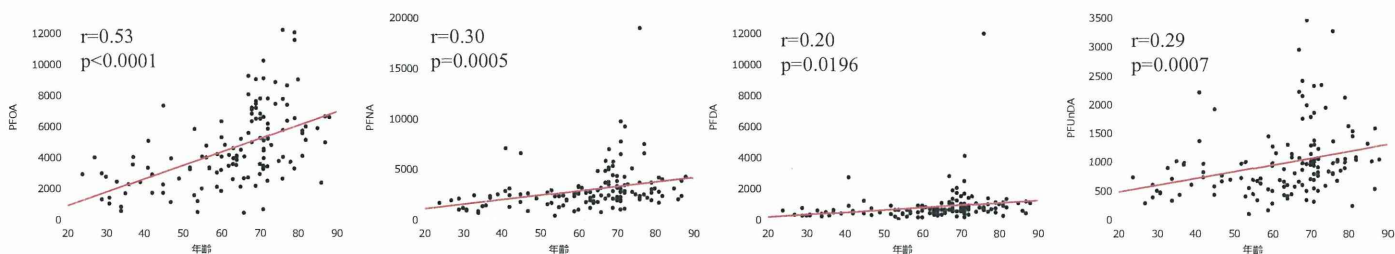


Fig. 1. Association between serum PFCAs concentrations and age of donors.

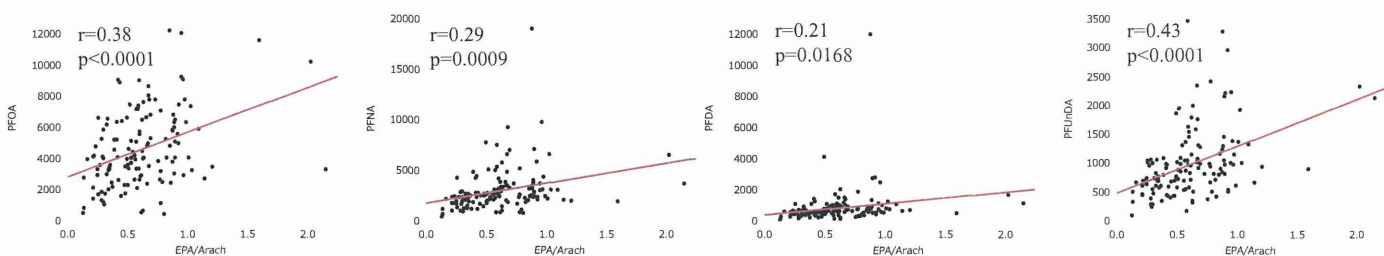


Fig. 2. Association between serum PFCAs concentrations and eicosapentaenoic acid/arachidonic acid ratio.

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12

炭素鎖の異なる有機フッ素カルボン酸のヒト・マウス体内動態モデル

| | | |
|-------|--------|-------------------|
| 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 | 藤井 由希子 | 京都大学大学院医学研究科・大学院生 |
| 研究協力者 | 新添 多聞 | 京都大学防災研究所・研究員 |

研究要旨

ペルフルオロアルキルカルボン酸(PFCAs)は多数の炭素鎖の異なる同族体をもつ残留性有機汚染物質である。前年度の課題でヒトとマウスともにPFCAsの尿中クリアランスは鎖長が長くなるにつれ低下し、糞中クリアランスは増加することを見出した。今年度はさらに中枢神経系への移行を評価し、また2-コンパートメントモデルによる体内動態のモデル化を試みた。血中PFCA濃度の推移を2-コンパートメントモデルに当てはめて、パラメータ解析を行ったところ、分布容積は鎖長が大きくなるにしたがい増加し、AUCはC8で最大となり、より大きいPFCAsでは減少した。また糞便中クリアランスを静脈投与、経口投与で比較し、PFCAsの理論的腸管吸収率を計算したところ、94% - 104%と極めて高い吸収率を示した。2-コンパートメントモデルで既報の高用量PFOA反復投与実験の経口投与量をシミュレートしたところ、実験値に近い結果が得られた。また排出と分布の速度は十分離れているため、1-コンパートメントモデルとしても記述しうると考えられた。総クリアランスはマウスでC10、ヒトでC9が最も低くなるが、その大きさは50 - 100倍の差があった。脳脊髄液へのPFCAsの移行は小さく、血液脳関門の障壁があると考えられた。以上のPFCAs特性と体内動態モデルはPFCAsの蓄積性の理解に資するものであった。

A. 研究目的

ペルフルオロオクタンスルホン酸(PFOS)やペルフルオロオクタン酸[PFOA, 8個の炭素原子を持ち(C8)と略称する]のような過フッ素化学物質は、環境で検出されており、それらの毒物動態学は広範囲に検討されてきた。それらの生物学的半減期は、他の実験動物モデルよりもヒトでかなり長い(Ohmori et al. 2003; Olsen et al. 2007)。ヒトにおけるより長い生物学

的半減期の理由は明らかでない。

PFOAは肝毒性、発生毒性、免疫毒性および内分泌攪乱を引き起こすことが判明している(Lau et al. 2007)。したがって、PFOA以外のより短鎖長のペルフルオロカルボン酸塩(PFCAs)、例えばペルフルオロブタン酸とペルフルオロヘキサン酸(C4からC6)が、商用アプリケーションに使用されている(EPA, 2012)。これらの短鎖PFCAsはPFOAよりも毒性が低いと考えられ(Chengelis et al.

2009a; Das et al. 2008)、おそらくそれは、PFOAに比べて比較的短い半減期に起因する(Chang et al. 2008; Chengelis et al. 2009b)。対照的に、ペルフルオロノナン酸 (PFNA、C9) とペルフルオロデカン酸 (PFDA、C10) などの長鎖PFCAsは、げっ歯類においてPFOAよりも比較的長い半減期を示した(Kudo et al. 2001; Ohmori et al. 2003; Tatum-Gibbs et al. 2011)。直鎖PFCAsが生物学的に代謝されないことはよく知られている(Vanden Heuvel et al. 1991)。さらに、いくつかのインビトロ研究は、生物学的活性は、親化合物のアルキル鎖長に依存することを見出している(Liao et al. 2009; Matsubara et al. 2006; Upham et al. 1998)。それにもかかわらず、長鎖PFCAsレベルの増加は、最近10年でヒト血清中、日常の食事で認められている(Glynn et al. 2012; Harada et al. 2011; Fujii et al. 2012)。

本研究では、マウスおよびヒトにおけるC6-C14のPFCAsの毒物動態学の違いを調査することを目的とした。マウスにおけるPFCAs強制経口投与後、静脈内投与 (IV) 後の24時間について、血清濃度、組織分布および排出が評価された。ヒトのPFCAsの尿クリアランス、胆汁クリアランスおよび脳脊髄液 (CSF) 移行は、比較のために収集した。これらの比較は、これまで、その毒性学的重要性にもかかわらず、報告されていない。

B. 研究方法

B-1. 動物実験

動物: 全ての実験は、8~10週齢(体重20~30g) マウスを用いて行った。

FVB / NJCLマウスは日本クレア (東京) から購入し、京都大学動物実験施設に収容した。標準的な市販の実験用固形飼料 (F-2、3.73kcal/g、船橋農場 (株)、千葉県、日本) を用いた。全ての動物は、12時間の明/暗サイクルで周囲温度 $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、 $50\pm 10\%$ の湿度に維持した。マウスを個々に代謝ケージに入れ、水および食物に自由にアクセスさせた。

試料収集: 各PFCAsは、IVまたは強制経口投与した。PFCAsをエタノール/水/ジメチルスルホキシド (5:4:1) に溶解し、IVおよび強制経口投与の両方にMilli-Q水により最終調製した。単回用量PFCAsを尾静脈 (IV用量 $0.31\ \mu\text{mol}/\text{kg}$ 、注入体積 $0.1\text{mL}/\text{kg}$) を介して、または経口投与 (強制経口投与量 $3.13\ \mu\text{mol}/\text{kg}$ 、注入体積 $0.1\text{mL}/\text{kg}$) で投与した。各投与群は、9雄マウスと9雌マウスの18匹を含んでいた。

PFCAs血清中濃度の経時変化を観察するために、全血試料を、IV又は強制経口投与後0、1、3、6、12および24時間後に尾静脈から採取した。追加の採取は、静脈内投与の0.5時間目に行われた。研究プロトコルは、表1にまとめている。

24時間後まで、尿と便を代謝ケージに集めた。次いで、マウスをセボフルラン麻酔下に置き、頸椎脱臼により安楽死させた。全血の一部を採取し、遠心分離し (370g) 血清を単離した。肝臓、腎臓および脳組織を回収し、秤量した。脂肪組織は、腹部腸間膜脂肪から採取した。マウスにおける総血清は、雄マウス $56\text{mL}/\text{kg}$ マウス体重および雌マウス $65\text{mL}/\text{kg}$ マウス体重と推定された(Riches et al. 1973)。総脂肪組織をマウスの総体重の2.3%であると仮定した(Riches et al. 1973)。全ての実験手順は、京都大学動物実験委員会

により承認された (MedKyo11067)。

B-2. ヒト試料：尿、胆汁および脳脊髄液と対血清

胆汁、CSFおよび尿、血清データを含むすべてのヒト試料は京都大学生体試料バンクの保存試料から採取した (Koizumi et al. 2005; Koizumi et al. 2009)。提供者の属性を表 2 に要約した。24時間胆汁試料は経鼻胆道ドレナージ、経皮経肝胆道ドレナージや経皮経肝胆嚢ドレナージによって撮影された。5mLの血液試料を同じ日にポリプロピレンチューブに肘静脈から採取した。CSF試料は脳室ドレナージ、腰椎ドレナージ、脳室シャントまたは硬膜形成術の際に採取された。血液試料10mLも同じ日に提供された。24時間の蓄尿試料を健常者から収集し、採尿の最後に10mLの血液を採取した。京都大学の倫理委員会によって研究計画書は検討、承認された (E25)。書面によるインフォームドコンセントは、サンプル採取の前にすべての参加者から得られた。

B-3. 生物試料中のPFCA濃度の決定

試料の均質化と準備：マウス組織及び糞便を秤量し、マウス組織グラムあたり15mLの水/メタノール (1:1) で希釈した。試料ホモジナイザーを用いてホモジナイズした。ホモジネートの一部 (PFCA濃度に応じて0.1~1mL) を15mLのポリプロピレンチューブに移した。全血、血清および尿試料について、各試料約10~100 μ Lと1mLのメタノール1.5mLをマイクロ遠心チューブに入れ、3時間混合した。得られた溶液の一部 (濃度に応じて0.1~1mL) を15mLのポリプロピレンチューブに移した。ヒト試料については、各試料の約0.5~30mLを、直接15または

50mLのポリプロピレンチューブに移した。

PFCAの化学分析：全ての試料においてPFCA濃度の決定は、以前に報告された方法 (Fujii et al. 2012) を用いて行った。測定対象化学物質はペルフルオロヘキサ酸 (PFHxA, C6)、ペルフルオロヘプタン酸 (PFHpA, C7)、PFOA (C8)、PFNA (C9)、PFDA (C10)、ペルフルオロウンデカン酸 (PFUnDA, C11)、ペルフルオロドデカン酸 (PFDoDA, C12)、ペルフルオロトリデカン酸 (PFTrDA, C13) とペルフルオロテトラデカン酸 (PFTeDA, C14) であった。操作ブランクのコントロールは、10試料ごとに分析した。分析法検出限界 (MDL) は、シグナル/ノイズ比3倍となる濃度として定義した (表 3)。総回収率は表 4 に示した。

B-4. PFCAの毒物動態学解析

24時間で、全血と血清との間のPFCAの比は、血清PFCA濃度を全血試料中のPFCA濃度に変換するために使用した。血清濃度データは、以下の式によって記載される2-コンパートメントモデルを用いて分析した。

$$C(T) = C_1 \exp(-\lambda_1 * t) + C_2 \exp(-\lambda_2 * t) \quad \text{--- eq (1)}$$

C_1 、 C_2 、 λ_1 、 λ_2 を取得するために、血清中PFCAレベルを最小二乗アプローチと非線形最適化により2-コンパートメント毒物動態学モデルに適合させた (Rao et al., 1999)。IV投与試験では分布容積は次のように定義された。

$$\text{分布容積} = \text{用量} / C(0) \quad \text{--- eq (2)}$$

B-5. マウスおよびヒト試料中の

PFCAクリアランス

マウスの尿クリアランス (CL_{U-mice}) を、24時間中尿中排泄総量を0~24時間の各PFCA血清濃度の曲線下面積 (AUC) で割ることによって決定した。マウス糞便クリアランス (CL_{F-mice}) は、24時間中糞便中排泄総量を0~24時間の各PFCA血清濃度のAUCで割ることによって決定した。

各PFCAのヒト尿 ($CL_{U-human}$) と胆汁クリアランス ($CL_{B-human}$) は、24時間累積尿・胆汁排泄量を各PFCA血清濃度で割ることによって決定した。

B-6. 統計分析

検出限界よりも低い濃度値は、検出限界の半分を与えた。ヒトCSF中の各PFCA平均値間の差はスチューデントのt検定を用いて検定した。p値< 0.05を統計的に有意とみなした。

C. 研究結果

C-1. IV投与後のマウス毒物動態解析

各PFCAのための血清濃度に対する全血濃度の割合 (平均±SD) は、PFOAで 0.60 ± 0.1 、PFNAで 0.43 ± 0.1 、PFDAで 0.50 ± 0.1 、PFUnDAで 0.53 ± 0.1 、PFDoDAで 0.70 ± 0.2 、PFTrDAで 0.88 ± 0.2 、PFTeDAで 1.05 ± 0.2 であった。各化学物質の平均比率を、対応する血清濃度に変換するために、全血濃度に乗じた。

対数目盛で血清中PFCAs濃度の時間経過とその当てはめ曲線を図1に示す。C6は投与後0.5時間であっても血清中に検出されなかったため、その血中動態を解析しなかった。他のPFCAs (C7-C14) の場合は、血清レベルはMDLを超えていた。図1に示すように、C7は時間依存的に血清から消失した。他の化合物 (C8-14) は血

清からの遅い消失が特徴の非常にユニークな動態プロファイルを示した (表5)。2-コンパートメントモデルは、マウスにおいてPFCAsの動態を十分記載できた。血清PFCAs濃度から得られたパラメータを表5に示す。

PFCAs (C7-C14) の分布容積は、雌雄ともにPFCAの鎖長の増加に相関し、雌雄間で差を示さなかった (図2)。その分布容積は、C7は血液、C8とC9は細胞外の水分、C11とC12は体水分の総量にほぼ対応していた。特異的組織結合は、C13およびC14について示唆された。これらの結果は、鎖長が分布容積の決定要因であることを示した (表5)。AUCはC8で最大に達し、鎖長が増加すると減少した (表5)。表6では、投与後24時間PFCAsの組織分布を示す。C6からC14のPFCAsの総回収率は男性で76%より大きく、雌でやや低かった (58%より大きい)。C6、C7のPFCAsについては、投与用量のほぼ全ては、わずかな部分だけ糞便中に排泄され、24時間後までに尿中に回収した。対照的に、C8のごく一部が尿 (6~7%) で、さらに少ない量が糞便 (<1%) 中に排泄された。大部分が血清および肝臓 (61~79%) に保持され、腎臓にも部分的に分布した (1.3~1.4%)。C9からC14のPFCAsについては、分布パターンはC8と同様であった。しかし、C9からC14のPFCAは雌雄とも尿と糞便中排泄はC8のそれよりもはるかに低く、ほとんどが肝臓に保持された (雄で64~80%、雌で46~55%)。

C-2. マウスでの強制経口投与後のPFCAs毒物動態学

強制経口投与後、C6は、全てのサンプリング時点の血清中に検出されなかった。したがって、2-コンパートメ