

ードで測定したところ、標準品由来と推測されるピークが検出された。何らかのイオン付加体と考えられるが、形態の特定にはさらに検討が必要である。無機ヒ素をポジティブモードで測定することができれば、有機ヒ素化合物とあわせて 8 種を同時測定することが可能となる。

E. 結論

研究 1: 精米及び玄米を分析対象とした無機ヒ素分析法の開発

昨年度までに開発した HPLC-ICP-MS 法により分析する食品を精米及び玄米に特化させ、より選択的に無機ヒ素を分析可能とする分析法に改良した。改良 HPLC-ICP-MS 法の性能を評価し、価数の変換が原因となり As(III) と As(V) を独立して定量するには十分な性能を確認できない場合があった。しかし、As(III) と As(V) の量の和を無機ヒ素量とすれば、十分な性能で分析できることを確認した。

検討 2) LC-MS/MS 等を用いた無機ヒ素及び有機ヒ素化合物の化学形態別分析法の開発

LC-MS/MS による、6 種の有機ヒ素化合物の測定条件を変更して 2 種の無機ヒ素についても同時に測定できるようにした上で、検量線濃度範囲を決定して暫定定量下限値を定めた。認証標準試料を測定したところ、測定溶液を 10 倍希釈することで抽出液由来のマトリクス成分の影響なく測定できるようになり、希釈倍率をさらに高くすることで試料由来のマトリクス成分の影響を低減することができた。希釈倍率を上げることで定量下限値が高くなることになるが、必要とする精度を考慮して条件を設定することで、実試料において LC-MS/MS で有機ヒ素化合物 6 種及び無機ヒ素 2 種を測定することができることを確認した。

また、LC-QTOF/MS で標準品の精密質量測定を行い、有機ヒ素のイオン形態を確認した。今後は、測定条件のさらなる改良を行い、認証標準品や添加回収試験により性能を評価する予定である。

3. 摂取量を推定すべき新規有害物質の選定研究

3-1. ダイオキシン様活性を有する新規有害物質に関する研究

A. 研究目的

ダイオキシン類(DXNs)や多環芳香族炭化水素類(PAHs)は、食品に微量に含まれる、健康リスク管理上の対象物質の1つである。DXNsやPAHsは化合物群の種類が多く、現在の分析法においては、標準品を指標に、GC/MS分析による定量結果の総和を評価値として用いる等としているが、分析法が煩雑で費用が高価であることから、簡易分析法の提案もなされている。例えば、DXNsにおいては、バイオアッセイによる簡易分析法が環境分野における公定法として採用されている。そのバイオアッセイで鍵となっているアрил炭化水素レセプター(AhR)は、DXNs等の環境汚染物質をリガンドとするため別名ダイオキシンレセプターとも呼ばれ、それらの生体毒性発現に関与していることが指摘されている。DXNsの簡易分析法は、このメカニズムを利用したバイオアッセイであり、スクリーニングとして用いることが可能となっている。一方で、AhRは一部PAHsやその他の植物性食品成分をリガンドとし活性化されることが報告されているが、その詳細につい

てはごく一部が明らかにされているのみである。

バイオアッセイは迅速で低廉であるため、スクリーニングとして有用であるが、もし上述したような有害物質を簡便に、総合的にスクリーニングできるようなシステムがあり、それを用いて総合的なリスク管理値のようなものが算出できれば、食品の安全性における新たなリスク評価・管理の施策実施に有意義である。またバイオアッセイを適応するには、その評価で検出する有害物質以外の化合物についても把握する必要がある。

そこで本研究では、DXNsの簡便測定法として採用されているAhRを用いた技術開発を進める。AhRについては、DXNs及び一部PAHs以外の有害物質との相互作用に関する情報が少ない。また一部の食品成分との相互作用について報告があるが、まだ未解明な部分も多い。本研究では、DXNs様活性を有する物質の探索及び活性と物質の構造相関の解明を試みる。

H25年度には、データの乏しいPAHs(ニトロ化体、ハロゲン化体、アミノ化体を含む)39種及び食品に残留

する農薬 23 種、さらに食品成分としてあげられるアミノ酸及びその代謝物 14 種等について、AhR 活性を指標にバイオアッセイ(ケイラックスアッセイ)により DXNs 様活性を評価した。H26 年度には、H25 年度の結果から明らかになった DXNs 様活性物質を中心に、評価の信頼度を確保する目的で、複数の評価系を使って比較検討を行った。また H25 年度からの続きとして PAHs 検出の報告がある食品抽出物について、カラムクロマトグラフィーを用いた分画を行い、各分画物の DXNs 様活性を評価した。さらに、野菜や果物を中心とした食品試料 39 種類について抽出物を調製し、未検討である酵母を用いたアッセイにより DXNs 様活性を評価した。今年度の本研究では、これまでの続きとして、PAHs 検出の報告があり DXNs 様活性が認められている食品(紅茶、かつお節、ウイスキー)抽出物について活性に寄与する成分を精査した。さらにバイオアッセイの DXNs 様活性に対する PAHs の影響について考察するため、それら抽出物中の PAHs 含量について GC-MS 分析を実施した。一方で、自然毒の原因物質数種の DXNs 様活性についても評価した。

B. 研究方法

1. 試薬及び試料

PAHs の標準物質は下記を用いた：
benzo[*c*]fluorene、benzo[*a*]anthracene、cyclopenta[*c, d*]pyrene、chrysene、5-methylchrysene、benzo[*b*]fluorathene、benzo [*k*]fluorathene 、benzo[*j*]fluorathene、benzo [*a*]pyrene、indeno[*1, 2, 3-c, d*]pyrene、dibenzo [*a, h*]anthracene、benzo[*g, h, i*]perylene、dibenzo [*a, l*]pyrene 、 dibenzo[*a, e*]pyrene 、 dibenzo [*a, i*]pyrene 、 dibenzo[*a, h*]pyrene(いずれも Accu standard 社)、D12-benzo[*a*] anthracene、D12-chrysene 、 D12-benzo[*b*] fluoranthene 、 D12-benzo[*k*] fluoranthene、D12-benzo [*a*]pyrene、D12-indeno[*1, 2, 3-c, d*]pyrene、D14-dibenzo[*a, h*]pyrene、D12-benzo [*g, h, i*] perylene、D14-dibenzo[*a, i*]pyrene、D12-perylene(いずれも CIL 社)。

天然由来成分は以下を用いた：
monocrotaline(Toronto 社) 、 senecionine(Sigma 社)、heliotrine、lycorine(いずれも LATOXAN 社)、solanine、aconitine、colchicine (いずれも和光純薬社)、epichatechin gallate、epigallocatechin gallate、theaflavin 類(theaflavinm、 theaflavin 3-*O*-gallate、theaflavin 3'-*O*-gallate、 theaflavin 3, 3'-*di-O*-gallate)(いずれも長良サイエンス社)を用いた。

ジメチルスルホキシド(DMSO)(生化学用)は和光純薬製を用いた。その

他の試薬は特級又は高速液体クロマトグラフィー用を用いた。活性評価には、RPMI1640 培地、ペニシリン/ストレプトマイシン溶液、リン酸緩衝生理食塩水、0.25%トリプシン溶液(いずれもナカライテスク社)、牛胎児血清(FBS)(Invitrogen 社)、Lysis 試薬、ルシフェラーゼアッセイシステム(いずれも Promega 社)を用いた。かつお節、紅茶、ウイスキー抽出物については、H25 または H27 年度に抽出したものをを用いた。

2. 使用機器及び分析条件

マイクロプレートリーダーは Enspire(Perkin Elmer 社製)を使用した。

逆相 HPLC は、Shimadzu Prominence システム(島津製作所)を使用した。測定条件は下記のとおり。カラム：L-column ODS(2.1 I.D. × 150 mm)(化学物質評価研究機構)、カラム温度：40°C、流速：0.3 mL/min、測定波長：200–400 nm、移動相：(A)5%酢酸及び(B)アセトニトリル〔濃度勾配条件(B in A)：0→30 min(0→50%)、30→35 min(50→85%)、35→40 min(85%)、40→50 min(85→90%)、50→55 min(90→100%)、55→60 min(100%)〕。

GC-MS は、TSQ Quantum GC(サーモフィッシャーサイエンティフィック社)を使用した。測定条件は下記のとおり。カラム：Select PAH(30 m×0.25

mm×0.15 µm)(アジレント・テクノロジー社)、昇温条件：70°C(0.4 min)-50°C/min、180°C(0 min)-7°C/min、230°C(7 min)-50°C/min、280°C(7 min)-30°C/min、350°C(10 min)、注入口温度：340°C、注入量：2 µL、流量：1 mL/min、イオン化室温度：280°C、測定イオン：SRM 法。

NMR は Bruker AVANCE500(ブルカー・バイオスピン社)(¹H-NMR: 500 MHz、¹³C-NMR: 126 MHz)を使用し、測定溶媒としてメタノール-*d*₄を用いた。ケミカルシフトはそれぞれの溶媒由来ピーク〔メタノール-*d*₄(¹H: 3.30 ppm、¹³C: 49.0 ppm)〕を基準とした。高分解能(HR)ESI-MS は microTOF-Q(ブルカー・ダルトニクス社)を使用し、測定溶媒にはアセトニトリルを用いた。分光光度計は Shimadzu UV mini-1240(島津製作所)を使用した。

3. 試料調製

紅茶：紅茶(11.0 g)を 80% エタノール(50 mL)でホモジナイズ後、ろ過し、ろ液を濃縮して抽出物(787.8 mg)を得た。抽出物を Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィーにより分画し、エタノールに不溶な沈殿部を含めて 8 画分(Fr. 1~8)を得た。活性の強かった Fr. 3(136 mg)について、YMC-gel ODS(YMC 社)カラムクロマトグラフィーによる分離精製を行い、HPLC で 1 ピ

ークのフラクション Fr. A(20.4 mg)、B(5.0 mg)、C(7.9 mg)、D(1.5 mg)を得た。

かつお節：かつお節(10.1 g)を 80% エタノール(50 mL)でホモジナイズ後、ろ過し、ろ液を濃縮して抽出物(1.6 g)を得た。抽出物を Sephadex LH-20(GE Healthscience)カラムクロマトグラフィーにより分画し、6 画分(Fr. 1~6)を得た。

ウイスキー：ウイスキー(4 L)を減圧濃縮後、凍結乾燥して抽出物(2.3 g)を得た。抽出物を Sephadex LH-20 カラムクロマトグラフィーにより分画し、13 画分(Fr. 1~13)を得た。

4. PAHs 分析

GC-MS 法により分析した。

5. 活性評価方法

評価はレポータージーンアッセイ〔ルシフェラーゼ遺伝子を導入した培養細胞を利用したレポータージーンアッセイ(ケイラックスアッセイ)]により行った。ケイラックスアッセイは、ダイオキシン類応答性組換え細胞 H1L6.1c2 を用いたレポータージーンアッセイを利用してダイオキシン類の毒性等量を測定する方法(ダイオキシン類応答性組換え細胞 H1L6.1c2 は、ホタルルシフェラーゼ遺伝子の上流域に 4 個のダイオキシン応答配列

DRE を含むシトクロム P450(CYP1A1)プロモーターを持つプラスミド pGudLuc6.1 をマウス肝ガン細胞 Hepa1c1c7 に導入した細胞)である。具体的な評価方法を以下に記す。

ケイラックスアッセイ：化合物及び抽出物を DMSO に溶解し、試料溶液とした(コントロールは DMSO)。試料溶液は 4~6 段階の濃度(0.1~100,000 nM の範囲で 4~6 段階)に DMSO で希釈して調製した。試料 4 μ L を試験管に入れ、RPMI1640 培地(+8% FBS + 1%ペニシリン/ストレプトマイシン)400 μ L を加えて攪拌後、そのうち 200 μ L を一晩前培養した 96 穴マイクロプレート中のダイオキシン類応答性組換え細胞 H1L6.1c2(約 1.5×10^5 cell/well)に 1 ウェルずつ暴露し、CO₂ インキュベーター(37°C、5%CO₂ 濃度)で 20~24 時間培養した。培養後、培地を取り除き、ウェルを洗浄後、顕微鏡下で細胞の生存を確認した。Lysis 試薬 300 μ L で細胞壁を溶解後、プレートミキサーで 10 分間振とうした。振とう後、10 分間放置し、基質としてルシフェリン 50 μ L を加え、ルミノメーターにより発光度(RLU)を測定した。

(倫理面への配慮)

本研究では研究用に確立された細胞株を使用しているため、該当する事由はないと考える。

C. D. 研究結果及び考察

1. 食品抽出物中の DXNs 様活性物質の精査

PAHs 検出の報告があり、DXNs 様活性が認められている食品試料(紅茶、かつお節、ウイスキー)の抽出物について、AhR 活性を指標に DXNs 様活性物質を精査した。各抽出物についてカラムクロマトグラフィーによる分画を行い、紅茶抽出物については 8 画分、かつお節抽出物については 6 画分、ウイスキー抽出物については 13 画分を得た(紅茶、かつお節抽出物については H26 年度報告済)。各画分の AhR 活性をケイラックスアッセイにより評価した。紅茶分画物の AhR 活性は、Fr. 3 で最も強かった。各分画物の HPLC 分析を行ったところ、Fr. 3 には数ピークが観察された。それらを明らかにする目的で、Fr. 3 について YMC gel ODS カラムクロマトグラフィーによる精製を行ったところ、HPLC のピークが単一な Fr. A~D を得た。単離した各フラクションについて、NMR 等の各種機器分析データ及び標品との分析データの直接比較に基づき、Fr. A は caffeine、B は epigallocatechin gallate(EGCG)、C は epicatechin gallate(ECG)、D は rutin と同定した。A~D の $^1\text{H-NMR}$ データを以下に記す。
A(Caffeine) : $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 7.83

(1H, s)、3.95 (3H, s)、3.50 (3H, s)、3.32 (3H, s)。

B (EGCG) : $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 6.94 (2H, s)、6.49 (2H, s)、5.95 (2H, s)、5.52 (1H, m)、4.96 (1H, brs)、2.97 (1H, dd, $J=4.5$, 17 Hz)、2.82 (1H, dd, $J=2$, 5, 17 Hz)。

C (ECG) : $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 6.94 (2H, s)、6.92 (1H, d, $J=2$ Hz)、6.80 (1H, dd, $J=2$, 8 Hz)、6.68 (1H, d, $J=8$ Hz)、5.95 (2H, s)、5.52 (1H, m)、5.02 (1H, brs)、2.98 (1H, dd, $J=5$, 17 Hz)、2.84 (1H, dd, $J=2$, 17 Hz)。

D (rutin) : $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 7.66 (1H, d, $J=2$ Hz)、7.62 (1H, dd, $J=2$, 8)、6.86 (1H, d, $J=8$, H-5'), 6.38 (1H, $J=2$)、6.20 (1H, d, $J=2$)、5.10 (1H, d, $J=8$ Hz)、4.51 (1H, brs)、3.80-3.25 (10H, m)。

ここでは単離されなかったが、紅茶には theaflavin 類の含有が知られている。そこで、入手可能な theaflavin 類の標品も加え、紅茶抽出物の HPLC 成分プロファイリングを行った。その結果、Fr. 3 に検出したピークは、分画前の総抽出物においても観察されていることが示された。

次に、Fr. 3 より単離、同定した A~D についてバイオアッセイにより AhR 活性を評価した。評価した化合物のうち、C が濃度依存的に顕著な AhR 活性を示しており、紅茶由来の活性物

質として ECG を明らかにすることができた。ECG は緑茶ポリフェノールの一つで、茶カテキンとして有効成分として知られているものである。よって、DXNs 様活性のみで有害性を判断するのは難しいことが考察された。

かつお節分画物の AhR 活性をみると、Fr. 2~5 に活性が認められた。各分画物の HPLC クロマトグラムをみると、特徴的なピークは観察されず、すべての画分が保持時間 5 分以内に同様なパターンのピークを示し、本分離精製条件により化合物を単離することはできなかった。よって、芳香族を含まない化合物の関与が示唆された。

ウイスキー分画物の AhR 活性をみると、活性は Fr. 4 等に認められた。各画分について HPLC 分析を行ったところ、活性の認められた Fr. 4 では顕著なピークは観察されず、芳香族以外の化合物の関与が考察された。

2. 食品中の PAHs 分析

AhR 活性と PAHs 含量との関連を考察する目的で、AhR 活性を認め PAHs 検出の報告がある本研究で検討中の食品(紅茶、かつお節、ウイスキー)抽出物について、PAHs 含量を GC-MS 分析により測定した。その結果、紅茶抽出物についてはいくつかの PAHs を検出したが、いずれも低濃度であり、

PAHs 以外の化合物の関与が大きいことが考えられる。かつお節抽出物についてみると、PAHs 含量は低濃度であったが、3 試料の中で値は最も高かった。よって、これらの影響も多少あるだろうことが示唆された。ウイスキー抽出物については 2 濃度で検討したが、いずれも PAHs は検出されなかった。よって、ウイスキー抽出物の AhR 活性は PAHs 以外の物質によるものと考察された。

3. 自然毒原因物質の AhR 活性

植物由来の自然毒原因物質について、AhR 活性を評価した。対象物質として、pyrrolizidine alkaloid 3 種 (monocrotaline、senecionine、heliotrine; コンフリーやフキ等に含まれる肝毒性のある有毒成分)、lycorine(ヒガンバナ科植物の有毒成分)、solanine(ジャガイモの有毒成分)、aconitine(トリカブトの有毒成分)、colchicine(イヌサフランの有毒成分)について、バイオアッセイにより AhR 活性を評価した。その結果、ピロリチジンアルカロイドはいずれも活性を示さなかったが、colchicine は顕著な AhR 活性を示し、DXNs 様活性をはじめて明らかにした。また、lycorine も若干の活性を示した。

E. 結論

PAHs 検出の報告がある食品(紅茶、

かつお節、ウイスキー)抽出物について DXNs 様活性に寄与する成分を精査した結果、紅茶抽出物に含まれた epicatechin gallate(ECG)に活性があることを明らかにした。ウイスキー、かつお節抽出物由来活性画分については、芳香族ではない化合物の活性への関与が示唆された。一方で、バイオアッセイの DXNs 様活性に対するそれら食品抽出物中の PAHs の影響について考察するため、各抽出物中の PAHs 含量について GC-MS 分析した結果、いずれの PAHs 濃度も低濃度であり、PAHs 以外の物質が活性に影響していることが示唆された。

これまでも同様の傾向はみられたが、PAHs 含量の多い食品で検索しても、有害物質以外のものが AhR 活性を示すことが示唆された。よって、衛生化学分野でいわれている“DXNs 様 (AhR)活性 = 有害性”には例外もあり、

特に食品成分では大半が例外であることが考察された。

また、自然毒の原因物質数種について DXNs 様活性を評価した結果、イヌサフランに含まれる colchicine が顕著な DXNs 様活性を示し、ヒガンバナ科植物に含まれる lycorine も若干の活性を認めた。これらは DXNs 様物質として新たな知見となった。なお、ピロリチジンアルカロイドやジャガイモの有毒成分 solanine 等は活性を示さなかった。

3-2. 国際動向を踏まえた摂取量推定すべき有害化学物質の探索に関する研究

A. 研究目的

国民の健康保護ための施策策定には、懸念される有害物質のリスク情報が必要となる。食品には意図的・非意図的に無数の化合物が含まれ、そのリスクの程度も多様なので、リスク管理の優先順位づけのため

に目安となる情報が必要になる。意図的に使用されるもの(食品添加物や残留農薬)についてはほとんどの国で許認可制をとっており、安全性に関する情報を吟味してリスクが管理されている一方、非意図的に食品に含まれる汚染物質については情報

が少なく、リスクの高いものもある。本年度の当分担研究課題では、渡邊の分担研究課題で得られた日本人の金属類の推定摂取量を用いて、これら金属の暴露マージン(MOE)の試算を行い、リスク管理の優先順位の高いものの同定を試みた。

B. 研究方法

日本人の食事からの金属類の摂取量には、渡邊らが2013年～2015年に推定した各種元素類摂取量の平均値と最大値を用いた。単位は体重を50kgと仮定しての $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ である。摂取量その他、毒性影響の指標となる値(Point of Departure: POD)の単位も $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ である。

得られている摂取量推定値に対応する金属類の安全性の目安となる量を世界各国の食品安全担当機関あるいはリスク評

価機関、公的データベース等から探した。これらの数値を用いてMOEを計算した。
MOE = 毒性の参照値/摂取量

その他の略語は以下の通りである。

NOAEL : No Observed. Adverse Effect Level. 無毒性量.

LOAEL. : Lowest Observed. Adverse Effect Level. 最小毒性量

BMDL : ベンチマーク用量の95%信頼下限値

TWI : tolerable weekly intake 耐容週間摂取量

EFSA : European Food Safety Authority 欧州食品安全機関

EPA : US Environmental Protection Agency 米環境保護庁

C. D. 結果及び考察

各種元素のMOE試算値と試算されたMOEに対する考察を、元素ごとにまとめる。

ホウ素

平均摂取群 (28.1)	最大摂取群 (37.1)	POD
14	11	ヒトの耐容上限摂取量 (400)
341	259	ラット胎仔の体重減少のNOAEL (9600)

動物を用いた毒性試験で胎児の体重減少についてはNOAEL 9.6 mg/kg/d と BMDL₀₅ : 10.3 mg/kg/d の二つの近い値があったため、小さい方を採用した。MOEは平均でも最大でも100以上なので安全上の懸念とはならない。

耐容上限摂取量は栄養素としてのミネラルを考えた場合の指標であり、この値を超え

なければ問題はないというもので特に MOE を計算する必要は無いが参考までに加えた。

アルミニウム

平均摂取群 (70.8)	最大摂取群 (463.2)	POD
706	108	マウス LOAEL (50000)

POD はマウスの握力低下や体重減などで、最大摂取群でも MOE は 100 を超えている。

ニッケル

平均摂取群 (2.9)	最大摂取群 (4.5)	POD
97	62	ラット移植胎児消失の BMDL ₁₀ (280)
0.38	0.24	ヒト経口暴露後の接触性皮膚炎の BMDL ₁₀ (1.1)

一般的な毒性に関する MOE は平均摂取群では約 100 で最大摂取群でも 62 と 100 より小さい値であるが、POD の指標が移植胎児の消失なので妊娠初期でなければ懸念とはならない。アレルギー性の接触性皮膚炎を指標とした場合には MOE は普通の食事で 1 より小さくなる。アレルゲンとなる食品に関しては、大抵 MOE は 1 より小さくなるのでこれだけでニッケルをリスクが高いとみなすことはない。食品安全上の懸念というよりもアレルギーを誘発するようなニッケル製アクセサリーなどを身につけるのは、特にアレルギーの既往症や家族歴があるような人では避けた方が良いという注意喚起である。

セレン

平均摂取群 (1.8)	最大摂取群 (2.0)	POD
8	8	セレン中毒の NOAEL (15)
0.56	0.50	成人の適切摂取量 (1)

セレンはヒトの必須微量元素で欠乏症もあるが中毒の報告もあり、安全域が比較的狭い。しかし平均摂取群と最大摂取群に摂取量の差はほとんどないことから、通常の食生活で著しい摂りすぎになることはないと考えられる。必要量は摂れているようなので特に欠乏する心配は無いようである。むしろセレンサプリメントなどは必要ないと明確に

言える。

カドミウム

平均摂取群 (0.37)	最大摂取群 (0.65)	POD
27	15	尿タンパク、EPA の NOAEL (10)
3.8	2.1	尿タンパク、EFSA の TWI のもとになった値 (1.40)
5.4	3.1	尿タンパク、食品安全委員会のヒト健康に悪影響を及ぼさない量(2)

ヒトでの腎機能障害(尿中タンパク質量が一定以上になる)をエンドポイントとしていくつかの機関により若干異なる毒性学的参照値が提案されている。どの値を用いても比較的数字は小さく、リスク管理の優先順位としては高いほうである。ヒトのデータがもとになっているため、動物実験で得られた毒性学的参照値よりは不確実性が小さくなるため数値が小さくても許容できるという判断も可能ではある。

アンチモン

平均摂取群 (0.03)	最大摂取群 (0.20)	POD
11667	1750	寿命、血糖、コレステロールの LOAEL (350)

特に明確な毒性影響が知られていないため、漠然としたエンドポイントであるが暴露マージンは大きく、懸念とはならない。

バリウム

平均摂取群 (9.2)	最大摂取群 (15.1)	POD
6848	4172	腎症の BMDL ₁₀ (63000)

MOE は最大摂取群でも 4172 と大きく、健康上の懸念とはならない。

鉛

平均摂取群 (0.20)	最大摂取群 (0.71)	POD

2.5	0.7	発達神経毒性の BMDL ₀₁ (0.5)
7.5	2.1	血圧の BMDL ₀₁ (1.5)
3.2	0.9	慢性腎疾患の BMDL ₁₀ (0.63)

鉛の健康影響のうち、発達神経毒性については特に子どもの知能への不可逆的影響であるため、遺伝毒性発がん物質と同様に安全とみなせる量は存在しないと考えられている。ただしあてはまるのは発育中の子どものみである。この摂取量は特に子どもを対象に評価したものではないが、そのままの値を使用した。一般論として子どもは体重あたりのエネルギー必要量が大人より多いため、食品由来の有害物質暴露量は成人より多くなることが多い。MOE は平均摂取群で 2.5、最大摂取群では 0.7 と 1 より小さく、これは鉛による有害影響が出ている可能性を否定できないため、リスク管理の優先順位は高い。血圧上昇と慢性腎疾患をエンドポイントとした場合の MOE についても一桁未満であり、成人においてもリスク管理の優先順位は高い。なお鉛の暴露源は食品以外に大気と土壌(埃など)と水(鉛の水道管)があり、特に子どもでは土壌由来が無視できない場合がある。

ウラン

平均摂取群 (0.02)	最大摂取群 (0.05)	POD
3000	1200	ラット腎毒性の LOAEL(60)

ウランの食事からの摂取による MOE は最大摂取群でも 1000 以上あり、安全上の懸念とはならない。ただしウランは地域により水に含まれるため飲料水からの暴露のほうが多い。

ヒ素

総ヒ素としての毒性の参照値はない

無機ヒ素

平均摂取群 (0.35)	最大摂取群 (0.51)	POD
8.6	5.9	がん、JECFA の BMDL ₀₅ (3)
0.9	0.6	がん、EFSA の BMDL ₀₁ 下限 (0.3)
22.9	15.7	がん、EFSA の BMDL ₀₁ 上限 (8)

無機ヒ素は遺伝毒性発がん物質とみなされ、毒性のエンドポイントはヒトでのがんの発症率の増加である。地域により飲料水の濃度が高く疫学データの多くは水由来の暴露であるが食品由来の暴露でも同じ影響があるとみなされる。MOE は平均摂取群でも一桁未満と小さく、リスク管理の優先順位は高い。日本の場合、飲料水由来のヒ素暴露はあまりないと考えられるが、コメに含まれる有機ヒ素のうちメチルアルシン酸は無機ヒ素と同様の発がん性が指摘されていることに注意が必要である。つまりコメを多く食べている場合、発がん性のヒ素の暴露量は無機ヒ素だけで計算すると過小推定になる可能性がある。なお FDA が 2016 年に発表した評価では無機ヒ素の有害影響として妊娠中の胎児への影響と小さな子どもの知能への影響を確度が高いとしているが、用量反応関係についてのデータが不十分で POD や参照用量は導出できないと発表している。しかしながら、アメリカ人のヒ素摂取量が子どもで成人より多いため、妊婦と乳幼児にコメ由来の無機ヒ素暴露量を減らすよう助言している。

無機水銀

平均摂取群 (0.17)	最大摂取群 (0.34)	POD
353	176	ラット腎毒性の BMDL ₁₀ (60)

無機水銀の暴露マージンは最大摂取群でも 100 を超える。

スズ

平均摂取群 (2.9)	最大摂取群 (22.6)	POD
11034	1416	ヒト食欲不振(32000)

スズの明確な毒性影響は確認されていないが、報告されている中では食事中の濃度が 150 mg/kg 以上で食欲不振という有害影響があったため、それを体重当たりの摂取量に換算して POD とした。MOE は 1000 を上回り安全上の懸念とはならない。

クロム

平均摂取群 (0.53)	最大摂取群 (0.94)	POD
539623	30426	Cr(III)のラット慢性毒性試験の NOAEL (286000)

377	213	Cr(VI)のラット血液病変の BMDL05 (200)
1887	1064	Cr(VI)のマウス腫瘍性病変の BMDL10 (1000)
208	117	Cr(VI)のマウス非腫瘍性病変の BMDL10 (110)

クロムは三価 Cr(III)と六価 Cr(VI)で毒性が大きく異なり、食品中に存在するのは主に Cr(III)である。ただし Cr(VI)と区別して測定してはいないので全てが Cr(III)であった場合と全てが Cr(VI)であった場合を仮定し試算した。Cr(III)のみでは MOE は非常に大きな値となり安全上の懸念とはならない。仮に Cr(VI)が若干含まれていたとしても MOE はがん以外のエンドポイントでは最大摂取群でも 100 を超える。がんについても最大摂取群で全てのクロムが Cr(VI)であるという現実的ではない仮定をした場合でも MOE は 1000 以上あり、リスクとなる可能性は低い。

コバルト

毒性参照値無し

モリブデン

平均摂取群 (4.3)	最大摂取群 (6.3)	POD
33	22	尿酸値増加の LOAEL(140)
0.2	0.2	適切摂取量(1)

データがあまりなく、日本人の摂取量は欧州(成人 1 日あたり 58 $\mu\text{g/day}$ から 157 $\mu\text{g/day}$)より多いようである。MOE は最大摂取群でもヒトでの有害影響の指標について二桁以上はある。

メチル水銀

平均摂取群 (0.13)	最大摂取群 (0.32)	POD
10.8	4.4	神経発達、EPA のハイエンド (1.4)
6.2	2.5	神経発達、EPA のローエンド (0.8)
9.2	3.8	神経発達、EFSA と食品安全委員会 (1.2)

メチル水銀に関しては妊娠中の母親の摂取による胎児の神経発達への影響が主なエ

ンドポイントであるため、対象となるのは妊婦である(米国では幼児も対象になっているが日本では子どもは含まないとしている)。今回の摂取量推定は特に妊婦を対象にしたものではないが、計算された暴露マージンは1桁であった。従ってリスク管理の必要性があるが、妊婦に対してはメチル水銀の多い魚の摂取に関する助言というリスク管理対策が既にとられている。

以上の結果から、一般的な毒性については MOE 100 以下、遺伝毒性発がん物質あるいはその他の閾値のない毒性影響については MOE 10000 以下をリスク管理の優先順位が高いという判断基準を用いると、日本人にとってリスク管理の優先順位が高いのは、無機ヒ素、鉛、カドミウム、メチル水銀ということになる。このうちメチル水銀に関しては、既に対象集団への食

事助言というリスク管理対策がとられている。カドミウムについても一定濃度以上のカドミウムを含むコメのリスク管理は行われてきた。これらの対策の有効性については継続的にモニタリングする必要がある。鉛とヒ素についてはカドミウムやメチル水銀よりリスク管理の優先順位は高いと考えられるが、リスク管理対策についてはまだ不十分である。

II. 分担研究報告 1

各種有害物質の適時及び継続的な摂取量推定研究

渡邊敬浩

平成 27 年度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
食品を介したダイオキシン類等有害物質摂取量の評価と
その手法開発に関する研究

研究分担報告書
各種有害物質の適時及び継続的な摂取量推定研究

研究代表者及び研究分担者

渡邊敬浩 国立医薬品食品衛生研究所食品部

研究要旨

有害物質の摂取量推定値は、健康リスクの管理を目的とする行政施策における規格値の設定等及び、設定後の経過を継続的に監視することを通じた施策効果検証のための科学的根拠となる。また、自らがどのような有害物質のどのくらいの量を摂取しているかという、国民の関心への答えでもある。行政また国民のニーズに合致した有害物質の摂取量推定値を得るためには、健康リスクの大きさを踏まえ懸念の高い有害物質を選定し、分析法開発、品質保証、実態調査、摂取量推定の各分野を有機的に連携させ、得られた成果に応じて調整や見直しをしつつ、適時かつ継続的に研究を実施することが必要である。

本研究課題では、1)各種有害物質の適時及び継続的な摂取量推定、2)摂取量推定の実施の判断に必要な有害物質濃度の実態等の調査に区分し、研究を実施した。

1)各種有害物質の適時及び継続的な摂取量推定：鉛、カドミウム、ヒ素(総ヒ素並びに無機ヒ素)、水銀(総水銀並びにメチル水銀)を含む元素類及び PCBs を取り上げ、マーケットバスケット方式によるトータルダイエット研究の一環として全国・全年齢層平均摂取量を推定した。また、一地域に限定して幼児(1～3 歳児)における摂取量も推定し、当該地域における全年齢層平均摂取量と比較した。メチル水銀については、確率論的な手法を用いた摂取量推定も試行した。さらに、摂取量推定値の分布に基づく推定手法の評価も試みた。低濃度ながらも含有の実態が明らかとなった臭素系難燃剤(ヘキサブプロモシクロドデカン；HBCD)及び塩素系難燃剤(デクロラン類)の摂取量推定を試行した。2)摂取量推定の実施の判断に必要な有害物質濃度の実態調査：EU 等の一部の国においては既に規制がされている多環芳香族炭化水素類(PAHs)、また生体内における代謝によって生じることが懸念されている水酸化 PCBs を対象に食品の濃度実態等を調査した。

・有害物質摂取量推定研究協力者

国立医薬品食品衛生研究所食品部

片岡洋平、林智子、林恭子、堤智昭、鍋師裕美、植草義徳、高附巧、五十嵐敦子、松田りえ子

北海道立衛生研究所

平間祐志、高橋哲夫、林玲子

新潟県保健環境科学研究所

今井美紗子

横浜市衛生研究所

堀里美

福井県衛生環境研究センター

五十嵐麻衣、佐藤かおり

名古屋市衛生研究所

中島正博、加藤陽康、高木恭子

滋賀県衛生科学センター

小林博美

香川県環境保健研究センター

上田淳司、安永恵

沖縄県衛生環境研究所

古謝あゆ子

福岡県保健環境研究所

高橋浩司、安武大輔、堀就英、小木曾俊孝

・有害物質実態調査研究協力者

国立医薬品食品衛生研究所食品部

堤智昭、足立利華、松田りえ子

福岡県保健環境研究所

安武大輔、堀就英、高橋浩司

有害物質の摂取量推定値は、健康リスクの管理を目的とする行政施策における規格値の設定等及び、設定後の経過を継続的に監視することを通じた施策効果検証のための科学的根拠となる。また、自らがどのような有害物質のどのくらいの量を摂取しているかという、国民の関心への答えでもある。従って、健康リスクの大きさを踏まえ、懸念の蓋然性の高い有害物質の信頼できる摂取量を適時かつ継続的に推定することが第一に必要である。

本研究では、1)各種有害物質の適時

及び継続的な摂取量推定、2)摂取量推定の実施の判断に必要な有害物質濃度の実態等の調査に大きく区分し、研究を実施した。信頼できる摂取量推定値を得るために不可欠であることから、昨年度検討した分析法の妥当性確認を含む分析結果の品質保証スキームは、本年度研究の実施に当たっても同じ水準を維持した。本分担課題報告書では、研究1)について、有害物質摂取量推定の部としてまず報告する。次いで、研究2)について、有害物質濃度実態調査の部として報告する。

各種有害物質の適時及び継続的な摂取量推定研究・研究報告書
有害物質摂取量推定の部

各種有害物質の適時及び継続的な摂取量推定研究・研究報告書
有害物質摂取量推定の部-元素類及び PCBs 摂取量の推定-

研究要旨

1)各種有害物質の全国・全年齢層平均摂取量の推定：本研究では、2015年にマーケットバスケット(MB)方式により調製したトータルダイエツト(TD)試料の分析を通じ、健康リスクが懸念される蓋然性の高い有害物質として、鉛、カドミウム、ヒ素(総ヒ素並びに無機ヒ素)、水銀(総水銀並びにメチル水銀)を含む元素類及び PCBs の全国・全年齢層平均摂取量(全国摂取量_{ave.})を推定した。その結果、元素類の全国摂取量_{ave.}は B:1417 µg/man/day、Al:3580 µg/man/day、Ni:143 µg/man/day、Se:86.9 µg/man/day、Cd:17.8 µg/man/day、Sb:0.872 µg/man/day、Ba:473 µg/man/day、Pb:12.1 µg/man/day、U:1.22 µg/man/day、Sn:80.3 µg/man/day、Cr:28.8 µg/man/day、Co:8.90 µg/man/day、Mo:197 µg/man/day と推定された。総ヒ素と無機ヒ素の全国摂取量_{ave.}は、それぞれ 214 µg/man/day、15.4 ng/man/day と推定された。総水銀とメチル水銀の全国摂取量_{ave.}は、それぞれ 8.37 µg/man/day、6.61 µg/man/day と推定された。PCBs の全国摂取量_{ave.}は、663 ng/man/day と推定された。耐用摂取量が設定されている有害物質については、必要に応じ便宜的に1日当たりの耐用摂取量(TDI)を算出した後、全国摂取量_{ave.}が占める割合(対 TDI 比)を求めた。その結果、対 TDI 比は Ni の 71%を筆頭に、メチル水銀が 58%、Se、Cd、Ba、B が 30%以上、Al が 20%以上、U が 10%以上となった。

2)特定地域における全年齢層平均摂取量と幼児摂取量との比較：2013年、2014年に引き続き、特定1地域で調製した TD 試料の分析を通じ、一部元素及び PCBs の全年齢層平均摂取量(摂取量_{ave.})と幼児(1~3歳児)における摂取量(摂取量_{inf.})とを推定し比較した。

3)2013年から2015年の3年間に推定した各有害物質摂取量を解析し、その推移や変動を明らかにし、原因等について考察した。①食品となる生物が必須とする、②環境に由来する、③食品の製造に使用される、④食品容器等から移行するといった考察された原因別に、推定される摂取量の大きさとはばらつきは異なると考えられた。

研究協力者

国立医薬品食品衛生研究所食品部