

人体試料中のダイオキシン類及び関連化合物の分析ならびに測定方法の開発

研究代表者 岸 玲子 北海道大学環境健康科学研究教育センター 特別招へい教授
研究分担者 荒木 敦子 北海道大学環境健康科学研究教育センター 准教授
研究分担者 宮下 ちひろ 北海道大学環境健康科学研究教育センター 特任准教授
研究分担者 堀 就英 福岡県保健環境研究所保健科学部生活化学課 課長

研究要旨

北海道内の医療機関で 94 名の妊産婦から採取された臍帯血試料を対象にダイオキシン類・PCBs の異性体定量分析を実施した。臍帯血 94 例のうちダイオキシンは 92 例、PCBs は 94 例すべての定量結果が得られた。定量値を過去の報告事例と比較したところ同等かやや低い濃度となり、職業性の曝露等に由来する特異的な高濃度事例は認められなかった。結果として 94 名の妊産婦から採取された臍帯血試料は、本研究事業の主たる目的である一般的なヒトの集団におけるダイオキシン類・PCBs の次世代影響評価に適切な試料であると考えられた。

研究協力者

安武 大輔，平川 博仙，新谷 依子
（福岡県保健環境研究所）

A . 研究目的

ダイオキシン類及びその関連物質である PCBs は難分解性の有機塩素系化学物質であり、環境中で長期間にわたり安定かつ持続的に残留することが知られている。一般的にダイオキシン類・PCBs の摂取経路は食品であり、日常的に摂取された当該物質の殆どは体内に吸収・蓄積され、代謝排泄される量は極めて僅かである。これらの化学物質は妊娠期に胎盤を經由して母親から胎児へ、出産後は母乳を介して乳児に移行することが明らかにされている。近年、胎児の発育や発達、さらに小児期から青年期にかけての健康は胎児期における環境要因に影響を受けることが示唆されている。よって生体防御機構の未発達な胎児や乳児期におけるダイオキシン類・PCBs 曝露のリスク、影響等を解明する必要がある。そこで本研究では、ダイオキシン類・PCBs による次世代の健康影響評価に資するため、北海道内の医療機関で採取された臍帯血試料中のダイオキシン類・PCBs の異性体定量

分析を実施した。

B . 研究方法

2002～2012 年に北海道内の医療機関を受診し、調査の同意を得た妊産婦 94 名について、分娩時に臍帯血を採取して調査試料とした。採取後の臍帯血は密閉可能な容器に移され、北海道大学で冷凍保存された。測定は福岡県保健環境研究所で実施した。臍帯血を採取した時点での妊産婦 94 名の年齢、出産歴は下記のとおりであった。

<u>年齢(歳)</u>	最低	18
	最高	39
	平均	30.7
	中央値	31
<u>出産歴(人)</u>	初回	54
	1回	30
	不明	10

アセトン、ヘキサン等の有機溶媒は関東化学製のダイオキシン分析用を用いた。硝酸銀シリカゲルは富士フィルム和光純薬製のダイオキシン分析用を、濃硫酸は同社製の有害金属測定用をそれぞれ使用した。活性炭（ナカライテスク製）はトルエンで約 30 時間還流洗浄し、無水硫酸ナトリウムに対して 0.1%（w/w）になる

分担研究報告書

よう混合して用いた。

臍帯血の抽出には高速溶媒抽出装置 ASE-350（Thermo 製）を使用した。冷凍状態の臍帯血試料を室温で解凍し，その約 6 g を ASE-350 用の抽出セルに秤量した。凍結乾燥を行った後，クリーンアップスパイクを添加し，抽出溶媒にアセトン/ヘキサン（1:3, v/v）を用いて抽出した。抽出条件の詳細は既報の通りであった¹⁾。得られた抽出液を減圧濃縮し，風袋を量った秤量瓶に移して乾燥し，脂肪重量を測定した。

脂肪重量を確定後，脂肪を少量のヘキサンで溶解し，硫酸処理を行った。次に硝酸銀シリカゲル及び活性炭カラム等による精製を行い， non-ortho PCBs を除く PCBs と non-ortho PCBs を含むダイオキシン類の 2 つの画分を得た。各画分を濃縮して 1.5 mL 容の濃縮バイアルに移し，各々にシリンジスパイクを添加して高分解能 GC/MS（HRGC/HRMS）の測定試料とした。

画分 の最終検液量は 100 μ L であり，このうちの 1 μ L を HRGC/HRMS（Agilent 6890/JEOLJMS-800D）に注入して測定した。一方，画分 の最終検液量は全量 200 μ L とし，このうち 100 μ L を大量試料注入装置（アイスティサイエンス製 LVI-S200）付き HRGC/HRMS（Agilent 6890 / Micromass AutoSpec Premier）に注入して測定した。上記 と から得られた SIM クロマトグラムを解析し，ダイオキシン類（29 種化合物）及び PCBs（約 70 種類の 3～10 塩素化体）を定量した。

本分担研究の実施にあたり，臍帯血中のダイオキシン類・PCBs の定量精度の確保を目的として，国内の 6 機関と共同で分析精度管理を実施した。結果として，当研究所の測定値は他の測定機関とよく一致しており，測定精度が確保されていることが確認できた²⁾。

ダイオキシン類及び PCBs 濃度は脂肪重量あたりの濃度（lipid weight basis）または全血重量あたりの濃度（whole blood weight basis）で表記した。ダイオキシン類濃度（pg/g）の 2,3,7,8-TCDD 毒性当量（TEQ）への換算には，2,3,7,8-TCDD 毒性等価係数（WHO-TEF（2005））を用いた。定量下限値未満となった化合物の濃度は，定量下限値の 1/2 値として取り扱い，TEQ を算出した。

（倫理面への配慮）

本研究は，北海道大学環境健康科学研究教育センターおよび大学院医学研究科・医の倫理委員会の倫理規定ならびに福岡県保健環境研究所疫学研究に関する倫理規定に従って実施した。インフォームド・コンセントは研究代表者が行い，福岡県保健環境研究所は臍帯血試料と試料リストを取り扱う。臍帯血が入った容器及び試料リストには，研究代表者によって匿名化され個人情報と連結不可能な ID のみが記載されている。よって福岡県保健環境研究所で個人情報を取り扱うことはない。

C．結果及び考察

妊産婦 94 名から採取した臍帯血試料の分析を実施した。このうち 2 例についてはダイオキシン類の測定中に装置の不具合が発生したためデータを取得することができなかった。結果として，ダイオキシン類は 92 例，PCBs は 94 例について定量結果が得られた。

臍帯血試料（94 例）を ASE-350 で抽出して得られた脂肪の含量は，重量あたり平均 0.33%（範囲 0.22%～0.56%）であった。当研究所における臍帯血試料の抽出事例や他の報告事例と同等の脂肪含量が得られた³⁾⁴⁾。

表 1 にダイオキシン類（29 化合物）の

分担研究報告書

定量結果の概要を示す。臍帯血 92 例のダイオキシン類濃度（Total TEQ）は、平均 4.0 pg/g lipid（範囲 2.6 ~ 11 pg/g lipid）であった。また、全血重量あたりの濃度で表すと、Total TEQ 値は平均 0.012 pg/g whole（範囲 0.0077 ~ 0.026 pg/g whole）であった。

これまでの調査研究で、臍帯血や胎盤組織等のダイオキシン類・PCB 濃度は妊産婦の出産歴と関連があり、出産回数が多いほど濃度が低くなる傾向が認められている。これは母親の体内に蓄積していたダイオキシン類・PCBs が出産に伴う授乳や胎盤の摘出等によって体外に排出されたためと考えられる⁵⁾。

福岡県保健環境研究所では 2009 ~ 2011 年度に福岡県内在住の妊産婦(29 名、平均年齢 32.0 才)を対象に臍帯血中のダイオキシン類(mono-ortho PCB を除く 21 化合物)濃度を測定しており、これらを今回の臍帯血の分析結果と比較した。ここでは本分担研究及び福岡県調査ともに初産及び出産 2 回目の妊産婦に該当する測定値を選び、データを比較した。本研究で 92 例中 82 例、福岡県調査では 29 例中 26 例の妊産婦が当該条件に一致した。

上記の条件でダイオキシン類濃度（mono-ortho PCB を除く 21 化合物、Total TEQ）を比較すると、本分担研究で平均 3.9 pg/g lipid（範囲 2.6 ~ 9.1 pg/g lipid）となり、福岡県調査では平均 6.5 pg/g lipid（範囲 3.1 ~ 18 pg/g lipid）となり、平均値及び濃度範囲ともに本研究が低い値となっていた。一般的に生体試料中のダイオキシン類濃度は加齢に伴い増加する傾向が認められるが、両集団の平均年齢はともに約 31 歳で同等であった。

さらに臍帯血中ダイオキシン類濃度の国内調査事例として、東北地方で 49 名の妊産婦から採取された試料について平均 10 pg/g lipid（範囲 3.2 ~ 23 pg/g lipid）と

報告されている(2008 年)³⁾。本研究の結果はこの調査結果と比較しても低い傾向であった。

PCBs(81 化合物)の定量結果の概要を表 2 に示した(脂肪重量あたり濃度のみ)。臍帯血 94 例中の Total PCBs 濃度は、平均 33 ng/g lipid（範囲 6.6 ~ 200 ng/g lipid）であった。全血重量あたり濃度は、平均 98 pg/g whole（範囲 25 ~ 460 pg/g whole）であった。臍帯血中の PCBs 濃度については、過去に環境省の調査事例(1999 ~ 2004 年)がある⁶⁾。これによると、臍帯血 49 例中の Total PCBs 濃度は平均 81 ng/g lipid（範囲 30 ~ 390 ng/g lipid）であり、全血重量あたりでは平均 98 pg/g whole（範囲 25 ~ 460 pg/g whole）であった。本研究で測定した臍帯血 49 例中の Total PCB 濃度は、ダイオキシン類濃度と同様に過去の分析事例と比較して低い傾向であった。

一方、Total PCBs 濃度(脂肪重量あたり)について 94 例の分布を見ると、93 例が 60 ng/g lipid 未満であったのに対し、残る 1 例のみが 200 ng/g lipid と高くなっていた。当該の妊産婦については、ダイオキシン類濃度も測定しており、他の妊産婦に対して同様に濃度が高かった。図 1 に脂肪重量あたりの Total dioxin 濃度及び Total PCBs 濃度との相関を示した。両者に良好な正の相関($R^2 = 0.9049$)が得られた。

環境中のダイオキシン類と PCBs の起源は異なり、前者は主に焼却や燃焼等の非意図的過程であり、後者は過去に工業製品として製造された意図的産物に由来する。臍帯血中の Total dioxin 濃度及び Total PCB 濃度について、1 名の臍帯血が他者と比べて高い濃度を示したが、Total dioxin と Total PCB 間の濃度相関は全員でほぼ一致していた。このことから、本今回の事例は試料採取や分析操作中の汚

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）

分担研究報告書

染や被験者の一時的な高濃度曝露に起因するものでなく，日常的な食事を介した持続的な摂取に由来したものと考えられる。

D. 結論

94名の妊産婦から提供された臍帯血中のダイオキシン類及びPCBsの定量値を国内の分析事例と比較したところ，濃度は同等かやや低い結果となり，職業性の曝露等に由来する特異的な高濃度の事例は認められなかった。94名の妊産婦から採取された臍帯血試料は，本研究の主たる目的である一般的なヒトの集団におけるダイオキシン類・PCBsの次世代影響評価に適切な試料であると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1. 新谷依子, 堀就英ほか. 血液中 PCB 濃度分析のクロスチェック(2017年度): 第 27 回環境化学討論会. 那覇市. 2018.5.22.-25.

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

該当なし

参考文献

1. Todaka T, Hirakawa H, et al. New protocol for dioxin analysis of human blood. *Fukuoka Acta Med.* 2007; 94: 148-157.
2. 新谷依子, 堀就英ほか. 血液中ダイオキシン類およびPCB濃度測定のカロスチェック. 福岡医誌 2017; 108: 83-93.
3. Nakamura T, Nakai K, et al.

Determination of dioxins and polychlorinated biphenyls in breast milk, maternal blood and cord blood from residents of Tohoku, Japan. *Sci. Total Environ.* 2008; 394: 39-51.

4. 環境省請負調査「平成 16 年度ヒト臍帯におけるダイオキシン類等化学物質の蓄積・曝露状況の継続的調査」報告書. 平成 17 年 3 月.
5. 環境省環境研究・技術開発推進費研究「妊婦におけるダイオキシン摂取が胎児健康に及ぼす影響のリスク評価に関する研究」成果報告書. 平成 21 ~ 23 年度.
6. 環境省「ヒト臍帯におけるダイオキシン類等化学物質の蓄積・曝露状況の継続的調査」平成 11 年度より平成 16 年度総括報告書. 平成 17 年 3 月.

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
 分担研究報告書

表 1 . 臍帯血（92 例）のダイオキシン類濃度測定結果

同族体名	脂肪重量あたり濃度 (pg/g lipid)				全血重量あたり濃度 (pg/g whole)			
	定量下限値	平均	最小	最大	定量下限値	平均	最小	最大
2,3,7,8-TCDD	1	0.66	ND	4.1	0.003	0.0019	ND	0.011
1,2,3,7,8-PeCDD	1	0.63	ND	3.6	0.003	0.0019	ND	0.010
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2	1.2	ND	5.0	0.006	0.0036	ND	0.018
1,2,3,6,7,8-HxCDD	2	2.8	ND	14	0.006	0.0090	ND	0.033
1,2,3,7,8,9-HxCDD	2	1.1	ND	5.0	0.006	0.0033	ND	0.012
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	2	12	ND	56	0.006	0.037	ND	0.17
OCDD	4	88	22	310	0.01	0.27	0.094	0.96
2,3,7,8-TCDF	1	ND	—	—	0.003	ND	—	—
1,2,3,7,8-PeCDF	1	2.1	ND	8.3	0.003	0.0065	ND	0.018
2,3,4,7,8-PeCDF	1	2.0	ND	8.1	0.003	0.0063	ND	0.019
1,2,3,4,7,8-HxCDF	2	1.1	ND	4.4	0.005	0.0031	ND	0.010
1,2,3,6,7,8-HxCDF	2	1.1	ND	5.6	0.005	0.0030	ND	0.013
2,3,4,6,7,8-HxCDF	2	ND	—	—	0.005	ND	—	—
1,2,3,7,8,9-HxCDF	2	ND	—	—	0.005	ND	—	—
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2	1.4	ND	8.8	0.005	0.0039	ND	0.020
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	2	ND	—	—	0.005	ND	—	—
OCDF	4	ND	—	—	0.01	ND	—	—
3,4,4',5'-TCB (CB81)	10	ND	—	—	0.03	ND	—	—
3,3',4',4'-TCB (CB77)	10	13	ND	33	0.03	0.040	ND	0.095
3,3',4,4',5'-PenCB (CB126)	10	7.0	ND	28	0.03	0.021	ND	0.066
3,3',4,4',5,5'-HxCB (CB169)	10	5.2	ND	17	0.03	0.015	ND	0.039
2',3,4,4',5'-PeCB (CB123)	10	16	ND	150	0.03	0.048	ND	0.46
2,3',4,4',5'-PeCB (CB118)	10	1400	120	9500	0.03	4.3	0.62	22
2,3,4,4',5'-PeCB (CB114)	10	92	ND	700	0.03	0.27	ND	1.6
2,3,3',4,4'-PeCB (CB105)	10	290	ND	1800	0.03	0.88	ND	4.1
2,3',4,4',5,5'-HxCB (CB167)	10	130	ND	1300	0.03	0.38	ND	3.1
2,3,3',4,4',5-HxCB (CB156)	10	420	ND	2700	0.03	1.3	ND	6.2
2,3,3',4,4',5'-HxCB (CB157)	10	120	ND	700	0.03	0.35	ND	1.6
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (CB189)	10	30	ND	450	0.03	0.086	ND	1.4
Total PCDDs		110	27	380		0.33	0.12	1.2
Total PCDFs		13	10	37		0.037	0.025	0.087
Total PCDD/PCDFs		120	37	390		0.37	0.15	1.2
Total non-ortho PCBs		30	20	64		0.091	0.060	0.16
Total mono-ortho PCBs		2600	410	17000		7.6	1.2	40
Total dioxin-like PCBs		2600	430	17000		7.7	1.2	40
Total dioxins		2700	480	18000		8.1	1.4	41
Total PCDDs-TEQ		2.0	1.3	5.4		0.0059	0.0040	0.017
Total PCDFs-TEQ		1.2	0.64	3.9		0.0034	0.0017	0.0092
Total PCDDs/PCDFs-TEQ		3.1	2.0	7.4		0.0093	0.0057	0.022
Total non-ortho PCBs-TEQ		0.86	0.65	3.3		0.0025	0.0020	0.0078
Total mono-ortho PCBs-TEQ		0.076	0.0065	0.52		0.00023	0.000035	0.0012
Total dioxin-like PCBs-TEQ		0.94	0.66	3.9		0.0028	0.0020	0.0090
Total-TEQ		4.0	2.6	11		0.012	0.0077	0.026

(ND : 定量下限値未満)

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）

分担研究報告書

表 2 . 臍帯血（94 例）の PCBs 濃度測定結果（ND：定量下限値未満）

同族体名	脂肪重量あたり濃度 (pg/g lipid)				同族体名	脂肪重量あたり濃度 (pg/g lipid)			
	定量下限値	平均	最小	最大		定量下限値	平均	最小	最大
2,2',6-TCB(CB19)	10	150	ND	2400	2,2',3,4,5,5'-HxCB(CB141)	10	50	ND	280
2,2',5-TCB(CB18)	10	830	ND	2600	2,2',3,4,4',5-HxCB(CB137)	10	180	ND	1100
2,4,5-TCB(CB29)	10	120	ND	950	2,2',3,3',4,5'-HxCB(CB130)	10	190	ND	1600
2,4,4'-TCB(CB28)	10	1200	220	2900	2,3,3',4',5',6-HxCB(CB164)	10	1100	110	8800
2,3',4'-TCB(CB33)	10	990	ND	2300	2,2',3,4,4',5'-HxCB(CB138)	10	2700	160	23000
2,3,4'-TCB(CB22)	10	530	ND	1400	2,3,3',4,4',6-HxCB(CB158)	10	42	ND	400
3,4,4'-TCB(CB37)	10	220	ND	1600	2,2',3,3',4,4'-HxCB(CB128)	10	61	ND	400
2,2',6,6'-TeCB(CB54)	10	8.2	ND	130	2,3',4,4',5,5'-HxCB(CB167)	10	130	ND	1300
2,2',5,5'-TeCB(CB52)	10	1600	580	4000	2,3,3',4,4',5-HxCB(CB156)	10	420	ND	2700
2,2',4,5'-TeCB(CB49)	10	470	120	1700	2,3,3',4,4',5'-HxCB(CB157)	10	110	ND	700
2,2',4,4'-TeCB(CB47)	10	380	ND	1500	2,2',3,4',5,6,6'-HpCB(CB188)	10	5.3	ND	32
2,2',3,5'-TeCB(CB44)	10	700	170	1600	2,2',3,3',5,6,6'-HpCB(CB179)	10	33	ND	280
2,3',4',6-TeCB(CB71)	10	340	95	1200	2,2',3,3',5,5',6-HpCB(CB178)	10	280	ND	2800
2,3,4',5-TeCB(CB63)	10	44	ND	230	2,2',3,4,4',5,6-HpCB(CB182)	10	1200	100	15000
2,4,4',5-TeCB(CB74)	10	1000	250	3000	2,2',3,4,4',5',6-HpCB(CB183)	10	300	ND	3200
2,3',4',5-TeCB(CB70)	10	530	85	1600	2,2',3,4,4',5,6-HpCB(CB181)	10	5.6	ND	66
2,3',4',5'-TeCB(CB76)	10	ND	—	—	2,2',3,3',4',5,6-HpCB(CB177)	10	270	ND	3400
2,3',4,4'-TeCB(CB66)	10	510	75	1600	2,2',3,3',4,4',6-HpCB(CB171)	10	100	ND	1000
2,3,3',4',-/2,3,4,4'-TeCBs(CB56/60)	10	310	49	1100	2,2',3,3',4,5,5'-HpCB(CB172)	10	170	ND	1800
2,2',4,6,6'-PeCB(CB104)	10	9.2	ND	170	2,2',3,4,4',5,5'-HpCB(CB180)	10	2200	140	21000
2,2',3,5',6-PeCB(CB95)	10	900	206	3400	2,3,3',4,4',5',6-HpCB(CB191)	10	16	ND	180
2,2',3,5,5'-PeCB(CB92)	10	190	5	500	2,2',3,3',4,4',5-HpCB(CB170)	10	790	ND	7700
2,2',4,5,5'-PeCB(CB101)	10	840	190	2000	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(CB189)	10	29	ND	450
2,2',4,4',5-PeCB(CB99)	10	970	120	5400	2,2',3,3',5,5',6,6'-OoCB(CB202)	10	100	ND	1100
2,3',4,4',6-PeCB(CB119)	10	21	ND	140	2,2',3,3',4,5',6,6'-OoCB(CB201)	10	12	ND	260
2,3,4',5,6-PeCB(CB117)	10	140	ND	620	2,2',3,3',4,4',5,5',6'-OoCB(CB200)	10	8.4	ND	140
2,2',3,4,5'-PeCB(CB87)	10	190	ND	620	2,2',3,3',4,5,5',6-/2,2',3,3',4,5',6,6'-OoCB(CB198/199)	10	310	ND	3500
2,2',3,4,4'-PeCB(CB85)	10	120	ND	320	2,2',3,4,4',5,5',6-OoCB(CB203)	10	150	ND	2300
2,3,3',4',6-PeCB(CB110)	10	200	ND	720	2,2',3,3',4,4',5,6-OoCB(CB195)	10	61	ND	550
2,3,3',4',5-PeCB(CB107)	10	100	ND	470	2,2',3,3',4,4',5,5'-OoCB(CB194)	10	400	ND	2500
2',3,4,4',5-PeCB(CB123)	10	16	ND	150	2,3,3',4,4',5,5',6-OoCB(CB205)	10	24	ND	390
2,3',4,4',5-PeCB(CB118)	10	1400	120	9500	2,2',3,3',4,5,5',6,6'-NoCB(CB208)	10	24	ND	640
2,3,4,4',5-PeCB(CB114)	10	91	ND	700	2,2',3,3',4,4',5,6,6'-NoCB(CB207)	10	10	ND	270
2,3,3',4,4'-PeCB(CB105)	10	290	ND	1800	2,2',3,3',4,4',5,5',6-NoCB(CB206)	10	280	ND	2000
2,2',3,5,5',6-HxCB(CB151)	10	10	ND	130	2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-DeCB(CB209)	10	69	ND	410
2,2',3,3',5,6'-HxCB(CB135)	10	76	ND	400	Total TrCBs		4000	730	9500
2,2',3,4',5,6-HxCB(CB147)	10	30	ND	340	Total TeCBs		5900	2200	16000
2,2',3,4,4',6-HxCB(CB139)	10	160	ND	720	Total PeCBs		5500	1100	23000
2,2',3,3',5,6-HxCB(CB134)	10	19	ND	200	Total HxCBs		10000	820	92000
2,3,3',5,5',6-HxCB(CB165)	10	ND	—	—	Total HpCBs		5400	430	57000
2,2',3,4',5,5'-HxCB(CB146)	10	800	60	8200	Total OoCBs		1100	40	10000
2,2',3,3',4,6'-HxCB(CB132)	10	8.4	ND	330	Total NoCBs		310	15	2300
2,2',4,4',5,5'-HxCB(CB153)	10	4400	320	43000	Total PCBs (ng/g)		33	6.6	200
2,3',4,4',5,5'-HxCB(CB168)	10	ND	—	—					

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

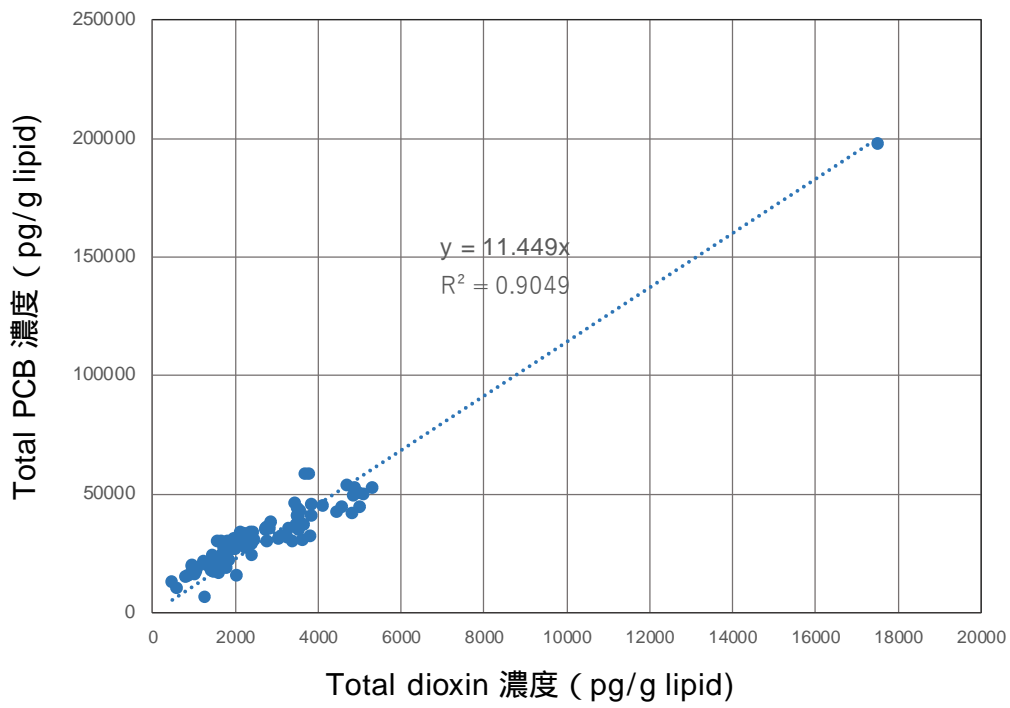


図 1 . 臍帯血中 Total dioxin 濃度と Total PCB 濃度の相関