

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

**生体試料バンクを有効活用した
食品および母乳の継続的モニタリング**

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者・ 小泉 昭夫
京都大学大学院医学研究科

平成 26 (2014) 年 5 月 28 日

目 次

I . 総括研究報告

生体試料バンクを有効活用した食品および母乳の継続的モニタリング	1
小泉 昭夫	

II . 分担研究報告

1. 汚染が懸念される物質のモニタリング	
(1) 日中韓の食事および母乳中に汚染の懸念されるフェノール性 ハロゲン化合物の残留調査	19
原口 浩一 (藤井 由希子)	
2. 汚染が懸念される物質のモニタリング	
(2) 生体試料バンクの保存試料を使用した食事経由の PFCA _s 摂取量 と血清中濃度の動向調査	35
小泉 昭夫 (藤井 由希子)	
3. 汚染が懸念される物質のモニタリング	
(3) 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	41
小泉 昭夫 原田 浩二 (藤井 由希子)	
4. 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	47
小泉 昭夫 原田 浩二 小林 果 (藤井 由希子) (新添 多聞)	

5. 系統的持続的な試料の収集と他機関への試料の提供 -----76

小泉 昭夫
原田 浩二
小林 果
(人見 敏明)
(藤井 由希子)
(新添 多聞)

6. 都市圏水環境における残留性有機フッ素カルボン酸の排出源推定 -----79

小泉 昭夫
(新添 多聞)
(藤井 由希子)

() は研究協力者。

III . 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 106

IV . 研究成果の刊行物・別刷 ----- 108

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
総括研究報告書

生体試料バンクを有効活用した食品および母乳の継続的モニタリング

研究代表者 小泉 昭夫 京都大学大学院医学研究科

研究要旨：

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

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

平成25年度においては、汚染が懸念される物質の継続的モニタリング、東北地方の被災地を含む系統的持続的な試料の収集、摂取した汚染物質の体内動態モデリング、大都市における水系への汚染物質負荷から食品の影響推定、および試料のバンキングについて理解を得るための市民フォーラムの諸活動を行った。

研究代表者	小泉 昭夫	京都大学大学院医学研究科・教授
研究分担者	原口 浩一	第一薬科大学薬学部・教授
研究分担者	原田 浩二	京都大学大学院医学研究科・准教授
研究分担者	小林 果	京都大学大学院医学研究科・特定助教
研究協力者	人見 敏明	京都大学大学院医学研究科・特定講師
研究協力者	新添 多聞	京都大学防災研究所・研究員
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

1. 汚染が懸念される物質のモニタリング

(1) 日中韓の食事および母乳中に汚染の懸念されるフェノール性ハロゲン化合物の残留調査

A. 研究目的

ヒトに残留が懸念されるフェノール性ハロゲン化合物(POC)として、我々はこれまでに2,4,6-tribromophenol (TBP), pentachlorophenol (PCP), tetrabromobisphenol A (TBBPA) および hydroxy-tetrabromodiphenyl ether (OH-BDE)の日本人における残留実態を食事、血液および母乳を用いて調査してきた。OH-BDEが海洋生物由来化学物質であるのに対し、これと同じ骨格を有するトリクロサン(5-chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy)phenol; TCS)は広く病院等で消毒剤として用いられ、また日常の化粧品や歯磨き粉等に添加されて利用されている。TCSは環境中に流出後、一部は河川や海底に蓄積されている。TCSの毒性は不明な点が多く、その疎水性や難分解性から魚介類から飲料水に至るまで検出され、ヒト体内への曝露が報告されている。また内分泌かく乱性が動物実験で指摘されるほか、過剰な使用はTCS耐性菌の出現リスクを高める可能性もある。このため、その継続的なモニタリングと毒性評価が必要となる。欧米ではヒトの血清や母乳中でTCS残留の報告がなされ、ヒトの食事からの摂取量が推定されている。日本における魚介類からTCSが検出されているが、東アジア圏におけるTCSの環境分布、食事やヒト体内の残留実態についての調査はほとんど行われていない。

そこで本研究は、京都大学生体試料バンクに保管してある日本、中国およ

び韓国の食事およびヒト母乳試料を用いて、TCSを含むフェノール性ハロゲン化合物の食事からの摂取量および母乳中の濃度を計測し、3か国での汚染実態を比較することを目的とした。分析対象項目として、古典的POPsの一部も測定したので、合わせて報告する。

B. 研究方法

日本、中国および韓国の食事ホモジネートは24時間に摂取する食事・飲料(間食等すべて含む)をボランティア(30名)から提供されたものをそれぞれ専用ミキサーで混ぜ均一化し、100g前後の小さなボトルに分け、冷凍保存した。

日本、中国および韓国の母乳試料は京都大学生体試料バンクに保存されている試料のうち、2010年に韓国(ソウル市)の30~38歳の女性10名(平均年齢32歳)、2009年に中国(北京市)の25~30歳の女性10名(平均年齢28歳)および2010年に日本(京都市)の21~37歳の女性10名(平均年齢32歳)から提供された母乳を使用した。

この研究に関するプロトコール(E25)は京都大学大学院医学研究科・医学部及び医学部附属病院医の倫理委員会により承認され、参加者全員から書面による同意を得た。

食事ホモジネートから汚染物質の分析法は、従来の方法に従った。(1) 脂肪抽出、(2) ゲル浸透クロマトグラフィー(GPC)、(3) KOH+EtOH/ヘキサンによる液-液分配抽出と誘導體化(メチル化)、(4) シリカゲルカラムによる精製、の順序で行い、GC-MSにより定量した。

C. 研究結果

TCSはすべての母乳から検出され

た。その平均値は韓国で49 ng/g lipid、中国で47 ng/g lipid、日本で77 ng/g lipidで最高値は中国人母乳の217 ng/g lipidであった。TBPについては韓国および中国の母乳でそれぞれ19 および25 ng/g lipidを示し、日本の母乳では4 ng/g lipidの低い値を示した。TBBPAについては、韓国の母乳10検体中2検体で、中国の3検体で、日本の3検体で検出され、その最高値は日本人の15 ng/g lipidであった。OH-BDEについては、2'-OH-BDE68が韓国および中国の母乳それぞれ1検体で検出されたのみであった。

食事に混入しているPOCsについて、陰膳方式で収集した食事を調査した。TCS、TBPおよびPCPはすべての食事から検出された。韓国では、TCSの一日摂取量は、1990年で約1.5 µg/dayの比較的低い値を示したが、2009年には3.4 µg/dayへ増加した。中国および日本人のTCS摂取量はいずれも2.5~3.7 µg/dayで推移し、経年変化は認められなかった。TBPの摂取量は、韓国で増加傾向を示したが、中国では摂取量に経年変化はなく、日本では減少傾向を示した。一方PCPの摂取量は韓国で増加したが、中国および日本の食事では大きく減少した。OH-PBDEのうち、2'-OH-BDE68が、全食事30検体中13検体から検出された。中国では摂取量の増加傾向を示したが、韓国および日本では減少傾向を示した。6-OH-BDE47は日本の食事5検体から検出され、最高値7.4 µg/dayを示したが、韓国および中国の食事からは検出されなかった。

D. 考察

今回の調査で、母乳中のTCS濃度を3か国で比較すると、ほぼ同範囲で分布していることがわかる。母乳中の

TCS濃度はスウェーデンで最初に調査され、そのときの濃度はnd(未検出)~300 ng/g lipidで、今回の調査結果とほぼ同範囲にある。米国での調査では、母乳中に0~2100 ng/g lipidの範囲で検出されている。最近のオーストラリア人の母乳中TCS濃度は平均1.3 ng/g milkと報告されている。この値を脂肪量あたりの濃度に換算すると、脂肪含量を3%とした場合、43 ng/g lipidに相当し、今回のアジアでの調査結果よりやや低い値である。

乳児の1日の母乳の摂取量を800 g/dayと仮定して日本の乳児の曝露量を計算すると、TCS母乳濃度77 ng/g lipid(約2.3 ng/g milkに相当)の場合、乳児のTCS摂取量は平均1.8 µg/day(最大値4.8 µg/day)と推定される。ラット授乳による仔のTCSのNOAELは50 mg/kg/dayとされており、今回の値はこれの4桁低いレベルに相当する。このため現状ではTCS曝露が乳児に影響を与える可能性は低いと思われる。

今回調査したフェノール性ハロゲン化合物のうち、TCSは2009年の食事では、3か国ともほぼ同レベルを示した。3か国での生活用品のなかに含まれるTCSが環境中へ放出されたあと魚介類へ蓄積され、食品へ移行していると考えられる。

TBPはTCSとほぼ同じ、または低い摂取量であった。2009年の食事では韓国で最もTBP摂取量が多く、中国、日本の順であった。TBPは海藻で生産、放出され、海洋魚で39 µg/kg dry wetと推定されている。一方でTBPは難燃剤としても使用され、ハウスダスト成分でもある。このため、TBPのヒト曝露は食事および吸入の両方を考慮する必要がある。

TBBPAは30検体中5検体から最大

1080 ng/dayが検出され、昨年度の調査結果と類似した。TBBPAは関西地域の内海の魚介類(45中26)や海鳥、海棲哺乳動物のほか、土壌でも検出されている。中国の食品では最大2 ng/g wetのTBBPAが報告されている。今回の中国の食事でのTBBPA調査では1280 ng/dayを示している。中国の食事のTBBPA値が母乳中濃度に反映されると推察される。事実、中国の母乳中のTBBPAは平均4.5 ng/g lipidで日本、韓国より濃度が高い。日本人の食事によるTBBPAの推定一日摂取量(EDI)は、英国の調査結果より高かった。しかし、欧州の毒性委員会(COT)はTBBPAの毒性評価を低く設定し、ADIを1 mg/kgbw/dayとしている。今回のTBBPAのEDI/ADI比はかなり低いため、母乳の乳児への影響は少ないと思われる。

OH-PBDEとして、2'-OH-BDE68および6-OH-BDE47を定量した。日本の食事では6-OH-BDE47のほうが比較的高濃度で検出されたが、韓国および中国の食事では2'-OH-BDE68のみが検出された。他の異性体は検出されないことから、これらPBDEの代謝物でなく、海洋生物由来と考えられる。

環境中のPOCの動態については、環境微生物によるメチル化体の生成と食事中への混入に伴うヒト曝露が考えられる。対象となったPOCはいずれも内分泌かく乱性が指摘されているため、今後MeO体の動向を含めてモニタリングを継続する必要がある。

2. 汚染が懸念される物質のモニタリング

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

A. 研究目的

有機フッ素化合物のペルフルオロアルキルカルボン酸類 (PFCAs)は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。

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。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。

現在までPFCAsのヒトへの曝露源は不明な点が多いが、食事が主な曝露源とされている報告もあり、曝露管理の視点から食事中のPFCAsの動向の把握は重要である。本研究では日本におけるPFCAsの血清中濃度の動向に加え、食事経由の摂取量の動向も明らかにすることを目的に、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、2000年前後の食事試料と血清試料中に含まれるPFCAsの測定を行った。

B. 研究方法

京都大学生体試料バンクの保存試料を使用した。陰膳食事試料は東北地域(宮城)は2004年、関西地域(京都)

は2003-2004年に採取された各16-18試料の分析を行った。血清試料は東北地域(宮城)2003年、関西地域(京都)で2004-2005年に採取された各30試料の分析を行った。また対象者は全て女性とした。

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、1ng 11H-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。

C. 研究結果

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2003-2004年、79 ng/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2004年、45 ng/dayであった。コンジェナー毎に見ると、C11が最も摂取量が高かった。

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2004-2005年、10.2 ng/mLであった。コンジェナー毎に見ると、C8が最も高く、続いてC9であった。C8が全PFCAsの内の半分以上を占めていた。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2003

年、5.9 ng/mLであった。コンジェナー毎に見ると、関西と同様にC8が最も高かったが、続いて高いのは関西とは異なりC11であった。

D. 考察

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Total PFCAs摂取量は407.6 ng/day(内PFOA; 72.1 ng/day)であった(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)は現在まで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1500 ng/kg-体重/dayと設定されている。体重を50 kgと仮定すると、今回のPFOAの分析値はTDIの0.1%以下であり、十分に下回る結果であった。

食事経由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の1-コンパートメントモデルで評価した場合、食品経由のPFCAs総摂取量(C8からC14の合計、幾何平均値)から血中濃度を求めると、関西で2.9 ng/mLであり、東北では0.7 ng/mLであった。この値は実際の血清中のC8の測定値と近く、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。今後は生活様式等を含めた解析を行う必要がある。

3. 汚染が懸念される物質のモニタリング

(3) 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

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。

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

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。平成21年度から23年度における厚生科学研究費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。

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40mL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¹³C₁₂標識CB-111を添加し、GC/MS分析に供した。

C. 研究結果

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の主成分はβ-HCHであり、総HCHsの80%を占めた。2012年の結果は、β-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。

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、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。

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 のほかに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。

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。

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。

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1 ng/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。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。

4. 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

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、環境中に検出されており、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。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以外のより短鎖長のペルフルオロカルボン酸塩 (PFCA_s)、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。これらの短鎖PFCA_sはPFOAよりも毒性が低いと考えられ、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。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PFCA_s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。長鎖PFCA_sレベルの増加は、最近十年でヒト血清中、日常の食事でも認められている。

本研究では、マウスおよびヒトにおけるC6-C14 PFCA_s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PFCA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PFCA_s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。

B. 研究方法

動物実験は、8~10週齢 (体重20~30g) マウスを用いて行った。各PFCAは、IVまたは強制経口投与した。PFCA_s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PFCA_sを尾静脈 (IV用量0.31 μmol/kg、注入体積0.1mL/kg) を介して、または経口投与 (強制経口投与量3.13 μmol/kg、注入体積0.1mL/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。PFCA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。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56mL/kgマウス体重および雌マウス65mL/kgマウス体重と推定された。総脂肪組織をマウスの総体重の2.3%であると仮定した。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)。

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。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囊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。

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、2-コンパートメントモデルを用いて分析した。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。

C. 研究結果

IV投与後のマウス毒物動態解析では、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。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。2-コンパートメントモデルは、マウスにおいてPFCAの動態を十分記載できた。PFCA(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。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。AUCはC8で最大に達し、鎖長が増加すると減少した。投与後24時間のPFCAの組織分布について、C6からC14のPFCA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PFCA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PFCA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%)。

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。C7からC14のタイムコースは性別で違いはなく、よく2-コンパートメント毒物動態モデルによってシミュレートされた。AUCは、C8で最大となり、炭素数の減少に伴って増加した。静脈内投与に対する強制経口投与の投与量調整後のAUC比は炭素数7~13のPFCAでは1に近く、C14では1未満となった。

物質収支の検討では、静脈内投与と比べて強制経口投与でC6、C7、C12およびC14のPFCAの総回収は低かった。C8~11のPFCAの総回収率は類似していた。これらの結果は、IVおよび強制経口投与の両方の分布様式を反映していた。C6、C7のPFCAが尿中に回収され、C8~14のPFCAの大部分は、肝臓や血清中に回収された。PFCAのわずかな量が糞便中に排泄され、腸からの効率的な吸収とそれによる腸肝循環を示唆した。

マウスでのIV投与で、C8の尿クリアランス(雄:13.1 mL/d/kg、雌:9.8 mL/d/kg)は、C7と比較して有意に少

なかった（雄：336.7 mL/d/kg、雌：216.3 mL/d/kg）。C7は、糞便クリアランスが最も高かったが、C7の尿クリアランスよりも小さかった。糞便クリアランスはC9で最も低かった。総クリアランスはC7が最大で（雄：347.4 mL/d/kg、雌：265.7 mL/d/kg）、C10が最低であった（雄：2.2 mL/d/kg、雌：2.8 mL/d/kg）。雌雄間の有意な差はなかった。

強制経口投与ではIV投与のものと類似のPFCAsクリアランスパターンを示した。C8尿クリアランス（雄：9.2 mL/d/kg、雌：6.6 mL/d/kg）は、C7（雄：248.8 mL/d/kg、雌：166.7 mL/d/kg）より有意に低かった。C7は、糞便クリアランスが最も高かったが、C7の尿クリアランスよりも小さかった。糞便クリアランスはC9で最も低かった。総クリアランスはC7が最大で（雄：292.5 mL/d/kg、雌：190.2 mL/d/kg）、C10が最低であった（雄：3.9 mL/d/kg、雌：2.2 mL/d/kg）。

強制経口投与およびIV投与のPFCAs糞便クリアランスを比較すると、長鎖PFCAs（C13とC14）に違いが存在した。強制経口投与後24時間の糞便は、排出された胆汁と腸を通過し吸収されなかったPFCAs両方を含んでいると考えられた。PFCAsの実質的な糞便クリアランスはIV投与の糞便クリアランスで示される。理論的吸収率はPFCAsが効率的に腸内で吸収されることを示唆し、雌雄とも94%から104%の範囲であった。

マウスの血清中のPFCA濃度に基づいた単純な2-コンパートメントモデルを開発した。このモデルは、3.13 μmol (PFOA 1.3 mg) / kgの用量を強制経口投与後の、血清中濃度の経時変化をよく説明した。このモデルを評価するために、反復強制経口投与（20

mg/kg）での血清濃度の毒物動態に適用した。40mg/kg以上の単回強制経口投与は、マウスにおいてPFOAの非線形薬物動態がみられるため、強制経口投与（20mg/kg）を用いて、用量モデルを推定した。血清PFOA濃度は、初回投与後約8日までに定常状態に達し、最小および最大の血清濃度は、雄マウスでそれぞれ約260および185 $\mu\text{g/mL}$ 、雌マウスでそれぞれ300および400 $\mu\text{g/mL}$ であった。以前の研究では、20 mg/kgを毎日強制経口投与により、7日後には雄マウスで181 $\mu\text{g/mL}$ 、雌マウスで178 $\mu\text{g/mL}$ 、17日後には、雄マウスで199 $\mu\text{g/mL}$ 、雌マウスで171 $\mu\text{g/mL}$ の血清中PFOA濃度を示した。本研究では、モデルによる予測血清濃度は、雌マウスでわずかに高かった一方、雄マウスで同様の結果が得られたことがわかった。これらの結果は、反復投与実験をPFOA単回投与による単純な2-コンパートメント毒物動態学モデルを用いてシミュレートすることができることを確認した。

ヒト血清ではC6は検出されなかったためクリアランスを分析しなかった。ヒトのPFCAs尿クリアランスは、マウスのものより2倍以上小さく、鎖長が長いほど減少した。胆汁クリアランスは、C9で最低であり、C9からC14でPFCAs鎖長が長いほど増加した。糞便への排泄率を計算するために、胆汁中PFCAsが再吸収され腸肝循環する際のPFCAs再吸収率を推定した。マウス実験に基づいて報告された200mL/kgの分布容積とヒトでの3.8年の血清半減期、およびそのC8が尿と胆汁を経由した糞中排泄のみであると仮定して、胆汁排泄されたC8の再吸収率は0.98と算出された。我々は、この再吸収率が他のPFCAsに適用されると仮定した。胆汁クリアランスから推定さ

れたPFCA_s糞便クリアランスも同様にヒトでマウスより2倍小さかった。総クリアランス(尿・糞便クリアランス)の鎖長との関係は、ヒトとマウスの間で類似していた。クリアランスは鎖の長さの関数として減少し、C9(0.062 mL/d/kg)で最も低かった。それにもかかわらず、ヒトでの総クリアランスはマウスより50~100倍小さかった。

マウスの脳と血清との間でPFCA_sの濃度勾配を評価した。勾配は、一般的には鎖長が長いほど増加し、C8、C9とC10で大きく、C11-C14では小さかった。これらの結果は、PFCA_sがヒト血液脳関門も自由に通過しない可能性を示唆された。ヒトでは、CSF中のPFCA濃度は、血清濃度の100倍以下であった。脳出血及び髄液漏患者では平均PFCA濃度は1.3pg/mLから70pg/mLの範囲であったのに対し、水頭症患者では、0.38pg/mLから37pg/mLの範囲であった。血清に対するPFCA_sの比率は、脳出血や髄液漏患者に比べて水頭症患者で小さかった。CSF中の実質的により高いPFCA_s(C11、C12およびC13)が脳出血及び髄液漏患者において検出されたことは興味深い。

D. 考察

本研究により明らかにPFCA_sの毒物動態は二分類できた。C6およびC7のPFCA_sが尿中に体内から急速に排泄され、C8より長いアルキル鎖を有するPFCA_sは主に肝臓で堆積していた。尿による排泄は肝臓による排出よりも急速であった。このような毒物動態特性はPFCA_sが体内に蓄積されるかどうかを予測することができる。C10からC14のPFCA_sの総クリアランスは鎖長に伴い増加し、PFCA_sの親油性

との関わりを意味し、主に胆汁を經由して糞中に排出された。それゆえに、C9からC11のPFCA_sはマウスではほとんど蓄積した。効率的に尿を通じて排泄されたC6とC7のPFCA_sは、他のより長い鎖長のPFCA_sよりも有意に短い半減期を示した。

鎖長に伴い生物蓄積を引き起こすメカニズムはよく理解されていない。我々の研究は鎖長とともにPFCA_sの分布容積が増加することが観察された。これは長鎖PFCA_sの血清および肝臓脂肪酸結合タンパク質との親和性が高いことを示唆し、鳥類の血清タンパク質が短鎖PFCA_sとは結合が強くなく、より長い鎖に親和性が増加することを示す以前の研究によって支持される。これらの結果より、未結合のC6とC7のPFCA_sは糸球体濾過により排泄され、一方C7より長いPFCA_sはタンパク質との親和性から、腎臓での排泄を妨げるのかもしれないと考えられた。長鎖PFCA_s(>C8)が肝臓に優先的に蓄積することは、肝臓脂肪酸結合タンパク質との高い親和性に理由があるかもしれない。PFCA_sとの結合親和性は、より長鎖PFCA_sで増加することが知られている。さらなる研究が、PFCA(>C7)の肝臓での蓄積を理解するために必要である。

本研究では、ヒトとマウスで9種類の炭素鎖長の異なるPFCA_sの毒物動態学プロファイルを報告した。総クリアランス(尿・糞便クリアランス)の鎖長依存性が2種間で類似していたが、その速度には大きな違いがあることがわかった。種間のPFCA排出速度の差が生じる機構はわかっていない。3Mが運営するC8(PFOA)製造工場の退職労働者の疫学研究では、血清半減期が3.8年であったことを明らかにした。別の研究では、C8(PFOA)の血清

消失半減期は、マウス（15～20日）、ラット（＜1～15日）およびカニクイザル（20～35日）とはるかに短いことがわかっている。今回の研究では、ヒトでのPFCAsの長い半減期は、腎臓からの乏しい除去に起因していた。マウスでは、C7とC8の尿中クリアランスはヒトのものよりそれぞれ500倍、300倍だった。これとは対照的に、糞便クリアランスの大きさは10倍の範囲内であった。以前のトランスポーター実験では、腎臓におけるトランスポーターが関与している可能性があることを示唆した。

5. 系統的持続的な試料の収集と他機関への試料の提供

A. 研究目的

POPs のリスク評価に向けたヒト曝露の長期モニタリングのための試料バンクの創設が 2003 年に行われた。以降、試料の継続的な収集が続いている。今年度は東日本大震災の被災地での経年的変化を捉えることを含めて、国内の成人男女を対象に血液、母乳、食事の各試料を収集し、ヒト生体試料バンクに収納・登録した。また近年、中国での食品偽装などによりどのような物質に対処すべきかを検討するため、上海市で油脂試料を収集した。

バンクの試料は、他機関の研究者の申請に応じて、提供を行ってきた。

また継続的に試料のバンキングを行っていくため、対象となる地域住民にこれまでの研究の成果、意義を伝え、さらに意見を交換するためのフォーラムを地域の健康推進企画を通じて行った。

B. 研究方法

血液試料は、これまでの継続性を考慮して、京都府宇治市にて収集した。市民を対象とした健康推進企画において、研究の趣旨を説明して、協力に前向きな参加者に、対面での口頭説明を加え、同意書に書面にて同意をいただいた方を対象とした。またこの際にこれまでの研究の成果についても紹介する講演を行った。

母乳試料は、昨年度、東日本大震災の影響を評価するために宮城県仙台市を選定した。この対照としてこれまでの継続性、また協力機関の状況から、宇治、高山2地点を選定した。母乳の収集においては、各研究協力機関で出産後、母乳外来、乳幼児健診を受診されている母親を対象として説明を行い、書面にて同意書をいただいた方を対象とした。

食事検体は福島県相双地方3地域において陰膳法で1日食の試料を収集した。

上海市で、スーパーマーケットにおいて複数銘柄の油脂試料を購入した。

食事からの農薬摂取を評価する目的で、名古屋大学へ尿試料 102 検体（1990 年代～2010 年）を提供した。食事からの臭素系難燃剤の摂取を評価するため、母乳試料 30 検体（日中韓 2008 年）、陰膳食事試料 30 検体（150 日食分・日中韓 1990 年代、2008 年）を第一薬科大学に提供した。

C. 結果

平成25年度を通じて、宇治市において血清、全血試料各130検体を収集した。国内2地域において母乳試料25検体を収集した。陰膳法では福島県で201食日分の検体を試料バンクに収納・登録した。上海市における食用油・乳類の試料5検体を採取し、試料バンクに収納・登録した。

第一薬科大学に提供した母乳試料 30 検体（日中韓 2008 年）、陰膳食事試料 30 検体（150 日食分・日中韓 1990 年代、2008 年）の分析結果は本報告書に記載した。名古屋大学へ提供した尿試料 102 検体（1990 年代～2010 年）は現在分析を実施している。

D. 考察

2013 年度の試料収集ではこれまでの対象地域で継続することを基本とした。協力機関への依頼、参加が得られ、当初の目標通りに収集がなされた。

血液試料、母乳試料は陰膳食事試料からのデータを補完する目的で採取されており一定の年齢層を対象に提供を依頼し、当初の予定の通り収集できた。東北地方ではこれまでも試料を収集してきたことから、東日本大震災の前後での変化を今後評価できると考えられる。

倫理面にも十分に対応を施した検体収集を進めることができた。また、フォーラムを通じて今後も継続してバンキングを行うための協力関係を維持できると考えられた。また各汚染物質の専門的分析を行う他機関に試料を提供することで食の安全に関する研究の推進に資することができた。拡充された試料バンクは食品衛生、環境保健研究者へ提供できると期待される。

6. 都市圏水環境における残留性有機フッ素カルボン酸の排出源推定

A. 研究目的

有機フッ素カルボン酸（perfluorinated carboxylic acids, PFCAs）のうち、8 つの炭素原子を持つペルフルオロオクタン酸

（perfluorooctanoic acid, PFOA）は界面活性剤、撥水剤、塗料、フッ素樹脂製造用添加剤などとして 1940 年代より工業、商業目的で広く活用されてきた。近年その残留性、生物濃縮性に注目が集まるとともに、動物実験で発がん性が示唆され、疫学調査でヒト胎児の成長毒性が示唆されるなど、健康影響が懸念されるようになった。フッ素樹脂製造過程以外の排出源については、その用途や生産量などほとんど明らかになっていない。

北海道、京都、沖縄で採取した食事試料における炭素数 8 から 14 の PFCAs 全体の濃度を 1992 年と 2000 年代後半で比較したところ、有意に上昇していた。また、家庭の掃除機ダスト試料を調べたところ、77 検体のほとんどから PFCAs が検出され、炭素数 9、8、11 の順で濃度が高かった。さらに、原材料として PFCAs の前駆体であるフッ素化合物を含んでいる化粧品等の調査を行ったところ、化粧品 15 製品中 13 製品、日焼け止め 9 製品中 8 製品から PFCAs が検出された。

以上の調査結果はいずれも PFCAs の未知の汚染源が存在し、ヒトの曝露源となっていること、特に炭素数 9 以上の長鎖成分で増加傾向にあることを強く示唆している。従って、食の安全を確保するためにも、環境中 PFCAs の排出源を探る必要がある。

排出源として、特定の事業所における生産活動による排出と不特定の一般家庭などにおける消費活動による排出が考えられるが、いずれの場合も下水処理場を通して河川に放流される。淀川水系は主に宇治川、桂川、木津川から成り、京都府と大阪府の府境

で合流し淀川となる。京都府南部の都市部から出る排水はすべて淀川水系の処理場を通じて淀川に注ぐ。7つの下水処理場の処理人口の総計は200万人を超えており、大都市圏を流域にもつ水系と考えてよい。本研究では淀川水系の河川水を採取し、炭素数7から14のPFCA_s(PFH_xA、PFOA、PFNA、PFDA、PFUnA、PFDoA、PFTrA、PFTeA)の濃度を測定して河川による輸送量の推定を行い、下水処理場を通じた大都市圏からの排出量を見積もった。

B．研究方法

2013年5月8日に淀川水系の44地点で河川水を採取した。比較のために、PFOAの大規模な排出源として知られてきた摂津市に位置するフッ素樹脂製造拠点を管轄地域に含む下水処理場の排水も採取した。

水試料500mLは石英フィルターで濾過し、逆相陰イオン交換樹脂カートリッジに通水し、1%アンモニアメタノールで溶出した。石英フィルターは50mLメタノールで洗浄し、懸濁物中のPFCA_sを抽出した。

メタノール抽出液を乾燥させ、臭化ベンジルでエステル化し、GC/NCI/MSにて分析した。

河川によるPFCA_sの輸送量を評価するため、サンプリング当日の河川流量の推定を行った。国土交通省の2000年代前半の河川流量2004年5月3日の値を用いた。

下水処理場からの排水量は処理能力に一定の稼働率を掛けた値とし、桂川と西高瀬川の合流部のバランスから推定した。

測定地点におけるPFCA_s濃度に推定流量を掛けた値をその地点における輸送量とした。河川流量とPFCA_s

輸送量は河川の合流地点の上流側の和と下流側の値を比較して検証を行った。下水処理場の最も近くの下流側と上流側の測定点における輸送量の差をその下水処理場の管轄地域からの排出量とした。

7つの下水処理場および3つの仮想の下水処理場について、PFCA_s排出量を変数として因子分析を行った。軸の回転にはバリマックス回転を用いた。

河川水中PFCA_sの排出源について推定するため、面源と点源の可能性について検討を行った。面源の指標として下水道の処理人口、点源の指標として2012年度工業統計の製造品出荷額との比較を行った。その際、工業統計は行政区ごとに与えられるため、各下水処理場の管轄地域について和をとった値をPFCA_sの排出量と比較した。

C．研究結果

淀川水系で最も濃度が高いのは西高瀬川の下水処理場上流部で、PFOA濃度が45.4 ng/Lであった。比較のために採取した摂津市の下水処理場排水と同程度であったが、流量がほとんどなく、地中に堆積した汚染物質が雨水とともに流れ出して滞留していると考えられる。

琵琶湖から流れ出る宇治川と琵琶湖疏水、上流部に工業地域が存在する木津川、都市部を流れる山科川の測定点は全体が同程度の汚染レベルである。淀川も同程度であるが、河口に近づくにつれて流量が増していくため、濃度は下がっていく。同じく工業地域が上流部に存在する桂川は下水処理場からの排水の流入により濃度が大きく増加するが、それ以前の濃度は非常に低い。また、山間部を源流に持ち、主に住宅地を流れる鴨川および高野川の濃度は低い。

淀川水系における典型的な組成は宇治川、淀川に見られるように、PFOAがおよそ40%を占め、次いでPFHpAとPFNAがそれぞれ20%強を占めるといふものである。PFOAの排出源である摂津市での組成も同様であるが、淀川水系の水源である琵琶湖でもすでに同様の組成が見られる。また鴨川、高野川、山科川でも同様である。これに対して、桂川ではPFOAが最大の成分ではあるが、全体に占める割合が小さく、他の河川に比べて長鎖成分(PFNA、PFDA、PFUnA)の占める割合が大きい。木津川ではPFOAの占める割合が他の河川よりも大きく、5割を超える。西高瀬川は下水処理場の上流部と下流部で組成が異なり、上流部では淀川水系に典型的な組成であるが、下流部ではPFNAがPFOAと並んで主成分となった。

河川中PFCAs濃度に推定流量を掛けて淀川水系による輸送量を算出した。淀川の本流である宇治川による輸送量は、琵琶湖から流れ出す時点で既に大きい。宇治川は桂川、木津川と合流するが、木津川による輸送量は合流部での桂川、宇治川よりは小さい。琵琶湖疏水は流量が小さいため輸送量は小さい。山科川による輸送量はさらに小さいが、桂川上流よりも大きい。宇治川水系合流後の輸送量はPFCAs全体で237 g/dayであり、成分としてはPFOA、PFHpA、PFNAの順で多く、それぞれ56%、24%、11%を占める。

下水処理場の下流部と上流部の輸送量の差から、それぞれの排出量を推定した。PFCAs全体の排出量は77.4～64.2 g/dayであった。主要成分であるPFOAの排出量で見ると、38.6～20.1 g/dayである。

PFCAs排出量を変数として2つの因子を抽出したところ、バリマックス回

転後の因子寄与率は第1因子が0.494、第2因子が0.456となり、適合度検定のp値は0.007となった。因子負荷量から、短鎖成分(PFHpA、PFOA)は第1因子、長鎖成分(PFDA、PFUnA)は第2因子の影響を受け、中間のPFNAは双方の影響を受けていることがわかる。

下水処理場の第1因子得点と処理人口とを比較したところ有意な相関が得られた。工業統計「食料品製造業」の出荷額と高い相関が得られた。特にPFOA、PFNA、PFDA(炭素数8-10)で相関が高いが、PFUnA(炭素数11)は相関が比較的低い。ただし、桂川上流は、該当地域である南丹市、亀岡市での出荷額の大きさに対してPFCAsの排出量が非常に低く、常に回帰直線による予測値との差が大きい。

D. 考察

淀川水系の河川水中PFCAs濃度の測定値から河川による輸送量を推定した。成分として卓越するのはPFOAで、その輸送量は桂川、宇治川、木津川合流点の下流側で133 g/dayとなった。これは気象条件による変動を考慮しなければ年間49 kgに相当する。淀川水系の中で最も寄与が大きいのは本流である宇治川であるが、琵琶湖から流れ出す地点でのPFCAs輸送量は木津川との合流点の上流側における輸送量のおよそ3分の1強におよぶ。木津川では上流部の影響はさらに顕著であり、PFOA輸送量は最上流部とあまり変化が見られない。これに対して桂川では京都市内の下水排水が流入するまではPFCAs輸送量は非常に小さかった。

桂川、宇治川、木津川の上流部に、該当する地域に相当する仮想の下水処理場があると仮定し、下水処理場を通じた地域からのPFCAs排出という

観点から評価を行った。排出量の最小、最大はそれぞれ2.13～77.4 g/day と幅があった。因子分析の結果、共通の排出源（第1因子）が存在し、一部処理場には別の排出源（第2因子）が影響していることが強く示唆された。また、因子負荷量から、第1因子は短鎖成分、第2因子は長鎖成分に影響を与える排出源であることも示唆される。

面源の指標として処理人口、点源の指標として工業統計の製造品出荷額を用いて比較を行った。第1因子と都市の規模を表す処理人口には有意な相関が見られた。筆者らは化粧品や日焼け止め製品の多くにPFCAsが含まれていることを確認しており、生活排水が第1因子に影響している可能性がある。工業統計でPFCAs排出量と最も高い相関が得られたのが食料品製造業であった。近年、食品の撥水、撥油性包装材のコーティングにPFCAsの前駆種である polyfluoroalkyl phosphate esters (PAPs) が使用されており、実際に市場に流通する食品からPAPsおよびPFCAsが検出されたという報告がなされている。PFHpAで比較的相関が低いことや回帰直線から大きくはずれる測定点もあることから、因子分析で示された第1因子との関連を断定することはできないが、可能性を否定することもできない。

E. 総括の結論

本研究の目的である継続的な食事中試料の汚染化学物質モニタリング、そのための分析手法の検討、動態モデリング、東北大震災被災地を含む系統的持続的な試料の収集、市民とのコミュニケーションについて、当初の予定の通りに実施できた。

F. 健康危険情報
なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Fujii Y, Harada KH, Hitomi T, Kobayashi H, Koizumi A, Haraguchi K. Temporal trend and age-dependent serum concentration of phenolic organohalogen contaminants in Japanese men during 1989-2010. *Environ Pollut* 2014;185C:228-33.
- (2) Fujii Y, Harada KH, Koizumi A. Occurrence of perfluorinated carboxylic acids (PFCAs) in personal care products and compounding agents. *Chemosphere* 2013;93:538-44.
- (3) Fujii Y, Nishimura E, Kato Y, Harada KH, Koizumi A, Haraguchi K. Dietary exposure to phenolic and methoxylated organohalogen contaminants in relation to their concentrations in breast milk and serum in Japan. *Environ Int* 2014;63C:19-25.
- (4) Harada KH, Niisoe T, Imanaka M, Takahashi T, Amako K, Fujii Y, Kanameishi M, Ohse K, Nakai Y, Nishikawa T, Saito Y, Sakamoto H, Ueyama K, Hisaki K, Ohara E, Inoue T, Yamamoto K, Matsuoka Y, Ohata H, Toshima K, Okada A, Sato H, Kuwamori T, Tani H, Suzuki R, Kashikura M, Nezu M, Miyachi Y, Arai F, Kuwamori M, Harada S, Ohmori A, Ishikawa H, Koizumi A. Radiation dose rates now and in the future for

- residents neighboring restricted areas of the Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014;111:E914-23.
- (5) Koizumi A, Niisoe T, Harada KH, Fujii Y, Adachi A, Hitomi T, Ishikawa H. ¹³⁷Cs Trapped by Biomass within 20 km of the Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant. *Environ Sci Technol* 2013;47:9612-8.
- (6) Liu W, Yin T, Okuda H, Harada KH, Li Y, Xu B, Yang J, Wang H, Fan X, Koizumi A, Miyata T. Protein S K196E mutation, a genetic risk factor for venous thromboembolism, is limited to Japanese. *Thromb Res* 2013;132:314-5.
- (7) Matsubara F, Sagara Y, Kato Y, Harada K, Koizumi A, Haraguchi K. Detection of antibodies to human T-cell leukemia virus types 1 and 2 in breast milk from East asian women. *Biol Pharm Bull* 2014;37:311-4.
- (8) Nanayakkara S, Senevirathna S, Abeysekera T, Chandrajith R, Ratnatunga N, Gunarathne E, Yan J, Hitomi T, Muso E, Komiya T, Harada KH, Liu W, Kobayashi H, Okuda H, Sawatari H, Matsuda F, Yamada R, Watanabe T, Miyataka H, Himeno S, Koizumi A. An Integrative Study of the Genetic, Social and Environmental Determinants of Chronic Kidney Disease Characterized by Tubulointerstitial Damages in the North Central Region of Sri Lanka. *J Occup Health* 2014;56:28-38.
- (9) Yan J, Inoue K, Asakawa A, Harada KH, Watanabe T, Hachiya N, Koizumi A. Methylmercury Monitoring Study in Karakuwacho Peninsula Area in Japan. *Bull Environ Contam Toxicol* 2014.
- (10) Kato Y, Haraguchi K, Onishi M, Ikushiro S, Endo T, Ohta C, Koga N, Yamada S, Degawa M., 3,3',4,4'-Tetrachlorobiphenyl-mediated decrease of serum thyroxine level in C57BL/6 and DBA/2 mice occurs mainly through enhanced accumulation of thyroxine in the liver. *Biol Pharm Bull*, 37:504-509, 2014.
- (11) Kimura O, Ohta C, Koga N, Haraguchi K, Kato Y, Endo T. Carrier-mediated uptake of nobiletin, a citrus polymethoxyflavonoid, in human intestinal Caco-2 cells. *Food Chem.* 154:145-150, 2014.
- (12) Kato Y, Onishi M, Haraguchi K, Ikushiro S, Ohta C, Koga N, Endo T, Yamada S, Degawa M. A possible mechanism for 2,3',4,4',5'-pentachlorobiphenyl-mediated decrease in serum thyroxine level in mice. *Biol. Pharm. Bull.* 36:1594-1601, 2013.

2. 著書

Akio Koizumi, Kouji Harada, Yukiko Fujii. Comparing pesticides in human breast milk from China, Korea and Japan. In: Handbook of dietary and nutritional aspects of human breast milk: Prevention, treatment and toxicity. edited by: Sherma Zibadi, Ronald Ross Watson and Victor R. Preedy, pp. 743-758, 2013, Wageningen Academic Publishers. ISBN 978-90-8686-209-2

3. 学会発表

- (ア) 尼子克己、今中美栄、坂本裕子、上山恵子、藤井由希子、西田梨那、原田由紀、江間麻美、小笠原晶子、原田浩二、小泉 昭夫. 福島県川内村帰村住民の食品による内部被ばくと栄養摂取状況. 第67回 日本栄養・食糧学会大会、2013年5月24日.
- (イ) 高菅卓三、苗田千尋、原田浩二、小泉昭夫. 短鎖塩素化パラフィンのトピックと環境化学的問題点(日本・韓国・中国における調査結果). 第22回 日本環境化学会討論会、2013年7月31日.
- (ウ) 苗田千尋、原田浩二、高菅卓三、小泉昭夫. 短鎖塩素化パラフィンの日本・韓国・中国の食品・母乳における調査結果. 第22回 日本環境化学会討論会、2013年7月31日.
- (エ) 要石真利、大原栄二、尼子克己、今中美栄、原田浩二、小泉 昭夫. 福島県川内村帰村住民の24時間陰膳調査(第1報) - 食品群別分類とセシウム含有量について - . 第60回 日本栄養改善学会学術総会、2013年9月12日.

(オ) 上山恵子、坂本裕子、久木久美子、松岡幸代、今中美栄、原田浩二、小泉 昭夫. 福島県川内村帰村住民の24時間陰膳調査(第2報) - 栄養摂取状況について - . 第60回 日本栄養改善学会学術総会、2013年9月12日.

(カ) 山本佳奈子、井上登紀子、大畑仁美、今中美栄、原田浩二、小泉 昭夫. 福島県川内村帰村住民の食環境に関する調査結果. 第60回 日本栄養改善学会学術総会、2013年9月12日.

H. 知的財産の出願・登録状況(予定を含む)

- 1. 特許の取得
なし
- 2. 実用新案登録
なし
- 3. その他
なし

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）
分担研究報告書

汚染が懸念される物質のモニタリング
(1) 日中韓の食事および母乳中に汚染の懸念されるフェノール性ハロゲン化合物の残留調査

研究分担者 原口 浩一 第一薬科大学薬学部・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

日本、中国および韓国の母乳および食事中的フェノール性ハロゲン化合物（POC）について、その残留濃度を比較調査した。今回、新たに抗菌剤として用いられているトリクロサン（TCS）の母乳での残留実態と食事経由での曝露量について3か国で比較調査した。2009-2010年の母乳中におけるTCSの平均残留量は韓国（ソウル）で49 ng/g lipid、中国（北京）で45 ng/g lipid、日本（京都）で77 ng/g lipidであった。1990年および2009年に陰膳方式で収集した食事試料に基づくTCSの一日摂取量は、韓国で増加傾向を示したが、中国および日本の食事で3 µg/day前後と推定され、両年代で大きな変動は見られなかった。このことから、TCSは、過去10年間は食事経由でヒトは曝露され、一部は母乳中に排泄されるものと思われる。他のフェノール性臭素化合物の母乳中濃度については、tetrabromobisphenol A (TBBPA)が食事、母乳ともに中国で高く、2,4,6-tribromophenol (TBP)は韓国で高かった。水酸化PBDEのうち6-OH-BDE47が日本の食事では検出されたが、母乳中には検出されなかった。

A. 研究目的

ヒトに残留が懸念されるフェノール性ハロゲン化合物(POC)として、我々はこれまでに2,4,6-tribromophenol (TBP)、pentachlorophenol (PCP)、tetrabromobisphenol A (TBBPA)および hydroxy-tetrabromodiphenyl ether (OH-BDE)の日本人における残留実態を食事、血液および母乳を用いて調査してきた (Fujii et al., 2012; Fujii et al 2014)。OH-BDEが海洋生物由来化学物質であるのに対し、これと同じ骨格を有するトリクロサン

(5-chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy) phenol; TCS, Fig.1)は広く病院等で消毒剤として用いられ、また日常の化粧品や歯磨き粉等に添加されて利用されている。TCSは環境中に流出後、一部は河川や海底に蓄積されている (Rodorix 2010)。TCSの毒性は不明な点が多く、その疎水性や難分解性から魚介類から飲料水に至るまで検出され、ヒト体内への曝露が報告されている (Bedoux et al 2012)。また内分泌かく乱性が動物実験で指摘されるほか、過剰な使用はTCS耐性菌の出現リスクを高める可能性もある。このため、

その継続的なモニタリングと毒性評価が必要となる (Dayan, 2007; Dannand Hontela, 2011)。欧米ではヒトの血清や母乳中でTCS残留の報告がなされ (Allmyr et al 2006; Dayan, 2007)、ヒトの食事からの摂取量が推定されている (Canosa et al 2008)。日本における魚介類からTCSが検出されているが (Miyazaki et al 1984; Okumura et al 1996)、東アジア圏におけるTCSの環境分布、食事やヒト体内の残留実態についての調査はほとんど行われていない。

そこで本研究は、京都大学生体試料バンクに保管してある日本、中国および韓国の食事およびヒト母乳試料を用いて、TCSを含むフェノール性ハロゲン化合物の食事からの摂取量および母乳中の濃度を計測し、3か国での汚染実態を比較することを目的とした。分析対象項目として、古典的POPsの一部も測定したので、合わせて報告する。

B. 研究方法

1) 食事 (陰膳方式) および母乳収集

日本、中国および韓国の食事ホモジネートは24時間に摂取する食事・飲料 (間食等すべて含む) をボランティア (30名) から提供されたものをそれぞれ専用ミキサーで混ぜ均一化し、100g前後の小さなボトルに分け、冷凍保存した。

日本、中国および韓国の母乳試料は京都大学生体試料バンクに保存されている試料のうち、2010年に韓国 (ソウル市) の30~38歳の女性10名 (平均年齢32歳)、2009年に中国 (北京市) の25~30歳の女性10名 (平均年齢28歳) および2010年に日本 (京都市) の21~37歳の女性10名 (平均年

齢32歳) から提供された母乳を使用した (Koizumi et al., 2009)。

この研究に関するプロトコール (E25) は京都大学大学院医学研究科・医学部及び医学部附属病院医の倫理委員会により承認され、参加者全員から書面による同意を得た。Table 1およびTable 2に参加者の地域、採取年、年齢、食事量および脂肪含量を示す。

2) 化学物質

TCS、TBP、TBBPAおよびPCPはCambridge Isotope Laboratories社製を用いた。内標準として用いた¹³C-triclosan、¹³C-methyltriclosan、¹³C-endosulfan、および4-OH-[¹³C] PCB187はWellington Laboratories社製を用いた。シリンジスパイクはストックホルム大学 (Dr. G. Marsh) より譲渡された4'-methoxy-BDE121を用いた。分析に使用した溶媒は残留農薬試験用または高速液体クロマトグラフィー用を用いた。シリカゲル (Wako gel S-1) は和光純薬より購入し、使用前に130℃で3時間乾燥させた。

3) サンプル前処理

食事ホモジネートから汚染物質の分析法は、従来の方法に従った (Fujii et al 2014)。(1) 脂肪抽出、(2) ゲル浸透クロマトグラフィー (GPC)、(3) KOH+EtOH/ヘキサンによる液-液分配抽出と誘導體化 (メチル化)、(4) シリカゲルカラムによる精製の手順で行い、GC-MSにより定量した。その方法をFig. 2に示す。

(1) 母乳試料10g、食事試料15gに0.1% ギ酸 (5 mL)、エタノール:ジエチルエーテル:n-ヘキサン (2:1:7) 20mLの有機溶媒および内標準物質 (¹³C-triclosan, ¹³C-methyltriclosan, ¹³C-endosulfan, および4-OH-[¹³C]

PCB187、各2.0 ng/mL)を加えて、ホモジナイズし、遠心分離により上層を分離した。2回繰り返し抽出した液を濃縮し脂肪含量を測定した。

(2) 脂肪分はジクロロメタン(DCM) : n-ヘキサン(1:1 v/v) に溶解し、Bio-Beads S-X3 カラム (40g, バイオラッド社製) に付した。移動相は同溶媒を用い、流速 4 mL/minで、最初の96mL溶出で脂質を除去し、その後の 64mLを回収した。

(3) GPC 溶出液をn-ヘキサン(10 mL) 溶液とし、1M KOH-エタノール(7:3)溶液(2mL)で分配抽出を行い、上層(中性物質)と下層(フェノール性物質)を分離した。中性分画は1mLまで濃縮した。フェノール性分画は 1M 塩酸 2mLを加えた後、n-ヘキサン:ジエチルエーテル (8:2, v/v, 10 mL)で逆抽出操作を3回を行い、抽出液を濃縮し、ジアゾメタン(ジエチルエーテル溶液)を加えてO-メチル化を行った後、ヘキサン溶液 1mLとった。

(4) 両分画とも、シリカゲルカラム(0.2g, Wako gel S-1) に付して、DCM/n-hexane (12:88, v/v, 15mL)で溶出した。溶出液はシリンジスパイクとして4'-methoxy-BDE121を加え、200 µLにまで濃縮し、GC-MSの分析試料とした。

4) 分析機器と定量

GC-MSはAgilent GC/MSD-5973iに6890N-GCを接続した装置を用いた。イオン化モードは負イオン化化学イオン化(ECNI)を、試薬ガスはメタンを用いた。GC/MSの設定条件と分析対象物質の検出イオンをTable 3に示す。物質の定量はイオンクロマトグラム上のシグナルを内標準と比較して作成した検量線で行った。

5) 品質管理と品質保証

ブランク操作は10サンプル毎に行い、妨害ピークが存在しないことを確認した。標準物質および内標準物質(Table 2 に記載分について1-10 ng/mL)の市販牛乳への添加回収率は74~99%、相対標準偏差は12%以下であった(n=5)。定量限界(LOQ)はシグナル/ノイズ比 = 10で算出すると、0.1 から10 ng/g lipidの範囲であった(Table 2)。分析値がLOQ以下であった場合、LOQの1/2の値を平均値の計算に用いた。検量線は各物質とも0.1~5.0 ng/mLの範囲で直線性を示した(> 0.99)。精度管理のため Standard Reference Material (SRM1954, Organic Contaminants in Non-Fortified Human Milk, NIST)を用いて定量した結果、4,4'-DDE、HCB、trans-nonachlor についての分析値は、いずれも認証値の15%以内であった。

C. 研究結果

1) 母乳中のPOC

Table 4に韓国(ソウル)、中国(北京)および日本(京都)の母乳中のPOCsの濃度を示す。TCSはすべての母乳から検出された。その平均値は韓国で49 ng/g lipid、中国で47 ng/g lipid、日本で77 ng/g lipidで最高値は中国人母乳の217 ng/g lipidであった。TBPについては韓国および中国の母乳でそれぞれ19および25 ng/g lipidを示し、日本の母乳では4 ng/g lipidの低い値を示した。TBBPAについては、韓国の母乳10検体中2検体で、中国の3検体で、日本の3検体で検出され、その最高値は日本人の15 ng/g lipidであった。OH-BDEについては、2'-OH-BDE68が韓国および中国の母乳それ

ぞれ1検体で検出されたのみであった。

2) 食事中的POC

食事に混入しているPOCsについて、陰膳方式で収集した食事を調査した。韓国、中国および日本人の一日摂取量をTable 5 に示す。TCS、TBPおよびPCPはすべての食事から検出された。韓国では、TCSの一日摂取量は、1990年で約1.5 µg/dayの比較的低い値を示したが、2009年には3.4 µg/dayへ増加した。中国および日本人のTCS摂取量はいずれも2.5～3.7 µg/dayで推移し、経年変化は認められなかった。TBPの摂取量は、韓国で増加傾向を示したが、中国では摂取量に経年変化はなく、日本では減少傾向を示した。一方PCPの摂取量は韓国で増加したが、中国および日本の食事では大きく減少した。OH-PBDEのうち、2'-OH-BDE68が、全食事30検体中13検体から検出された。中国では摂取量の増加傾向を示したが、韓国および日本では減少傾向を示した。6-OH-BDE47は日本の食事5検体から検出され、最高値7.4 µg/dayを示したが、韓国および中国の食事からは検出されなかった。

D. 考察

1) 母乳中のTCS

今回の調査で、母乳中のTCS濃度を3か国で比較すると、ほぼ同範囲で分布していることがわかる。母乳中のTCS濃度はスウェーデンで最初に調査され、そのときの濃度はnd(未検出)～300 ng/g lipidで (Adolfsson-Erici et al 2002)、今回の調査結果とほぼ同範囲にある。米国での調査では、母乳中に0～2100 ng/g lipidの範囲で検出されている (Dayan 2007)。最近のオーストラリア人の母乳中TCS濃度は

平均1.3 ng/g milkと報告されている (Toms et al 2011)。この値を脂肪量あたりの濃度に換算すると、脂肪含量を3%とした場合、43 ng/g lipidに相当し、今回のアジアでの調査結果よりやや低い値である。Allmyrら (2006)はTCS含有製品を使っている母親の母乳では、使用していない母乳より高いTCS濃度を示すことを明らかにした。TCS含有製品の使用頻度が母乳濃度に影響していると考えられる。

乳児の1日の母乳の摂取量を800g/dayと仮定して日本の乳児の曝露量を計算すると、TCS母乳濃度77 ng/g lipid (約2.3 ng/g milkに相当)の場合、乳児のTCS摂取量は平均1.8 µg/day (最大値4.8 µg/day)と推定される。ラット授乳による仔のTCSのNOAELは50mg/kg/dayとされており (Dayan, 2007)、今回の値はこれの4桁低いレベルに相当する。このため現状ではTCS曝露が乳児に影響を与える可能性は低いと思われる。

2) 食事中的POCs

今回調査したフェノール性ハロゲン化合物のうち、TCSは2009年の食事では、3か国ともほぼ同レベルを示した。3か国での生活用品のなかに含まれるTCSが環境中へ放出されたあと魚介類へ蓄積され、食品へ移行していると考えられる (Rüdel et al 2013)。TBPはTCSとほぼ同じ、または低い摂取量であった。2009年の食事では韓国で最もTBP摂取量が多く、中国、日本の順であった。TBPは海藻で生産、放出され、海洋魚で39 µg/kg dry wet と推定されている (Whitfield et al 1999)。一方でTBPは難燃剤としても使用され、ハウスダスト成分でもある (Suzuki et al 2008)。このため、TBPのヒト曝露は食事および吸入の両方

を考慮する必要がある。

TBBPAは30検体中5検体から最大1080 ng/day が検出され、昨年度の調査結果と類似した。TBBPAは関西地域の内海の魚介類(45中26)や海鳥、海棲哺乳動物のほか、土壌でも検出されている(Watanabe et al 1983)。中国の食品では最大2ng/g wetのTBBPAが報告されている (Shi et al 2009)。今回の中国の食事のTBBPA調査では1280 ng/dayを示し、Shiら(2009)の報告よりも高い値となっている(Shi et al 2009)。中国の食事の高いTBBPA値が母乳中濃度に反映されると推察される。事実、中国の母乳中のTBBPAは平均4.5 ng/g lipidで日本、韓国より濃度が高い。日本人の食事によるTBBPAの推定一日摂取量(EDI)は、英国の調査結果より高かった (Driffield et al 2008)。しかし、欧州の毒性委員会 (COT) はTBBPAの毒性評価を低く設定し、ADIを1mg/kgbw/dayとしている。今回のTBBPAのEDI/ADI比はかなり低いため、母乳の乳児への影響は少ないと思われる。TBBPAは血液で短い半減期を有するため、母乳でTBBPA検出は過去の曝露の蓄積でなく、最近の曝露を反映していると考えられる (Hagmer et al 2000)。

OH-PBDEとして、2'-OH-BDE68および6-OH-BDE47を定量した。日本の食事では6-OH-BDE47のほうが比較的高濃度で検出されたが、韓国および中国の食事では2'-OH-BDE68のみが検出された。他の異性体は検出されないことから、これらPBDEの代謝物でなく、海洋生物由来 (Haraguchi et al., 2010) と考えられる。食事中にはこれらのOH体がメチル化された2'-MeO-BDE68および6-MeO-BDE47が検出されたが、これらの濃度比は母乳中の濃度比と大きく異なることから、

両者の体内挙動に違いがあると予想される。OH-PBDEの体内曝露は、発達期のT4の減少による脳神経発達への影響など (Meerts et al., 2001) が懸念されている。

環境中のPOCの動態については、環境微生物によるメチル化体の生成と食事中への混入に伴うヒト曝露が考えられる。たとえば、TCSは海洋細菌によりメチル化されmethyltriclosanとして魚介類で検出されている (Balmer et al 2004)。また、TBPやTBBPAは環境微生物によりメトキシ体へ変換する (Allard et al 1987; George and Haggblom 2008)。一方、TBPのメチル化体はラット肝ミクロゾームにより容易に脱メチル化されTBPに代謝されることが報告されている (太田ら 2010)。このため、環境中でPOCのメチル化体が生成し、食品混入によるヒト曝露により体内で再び脱メチルされる挙動 (代謝活性化) が考えられる (Wan et al., 2010; James et al., 2012)。対象となったPOCはいずれも内分泌かく乱性が指摘されているため、今後MeO体の動向を含めてモニタリングを継続する必要がある。

E . 結論

今回、汚染の懸念される物質として、トリクロサン関連物質を中心に調査した結果、フェノール性ハロゲン化合物のなかで、TCSが最も高濃度で食事および母乳から検出された。日中韓の3か国で比較するとTCS濃度差はみられないことから、生活用品に含まれるTCSが一様に食事経由でヒトに曝露され母乳に排泄されていると考えられる。TBP、TBBPAおよびPCPなどのPOCのほか、OH-BDEも検出された

が、日中韓でその分布に違いが見られた。OH-BDEはTCSと同じ骨格を有する臭素化合物であり、影響評価に関する報告は少ないので、そのヒト曝露量についての動向と毒性評価を再検討したい。

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

Adolfsson-Erici, M.; Pettersson, M.;

Parkkonen, J.; Sturve, J.,
Triclosan, a commonly used
bactericide found in human
milk and in the aquatic
environment in Sweden.
Chemosphere 2002, 46:
1485-1489.

Allard, A. S.; Remberger, M.;

Neilson, A. H., Bacterial
O-methylation of
halogen-substituted phenols.
Appl Environ Microbiol
1987, 53: 839-845.

Allmyr, M.; Adolfsson-Erici, M.;

McLachlan, M. S.;

Sandborgh-Englund, G.,
Triclosan in plasma and milk
from Swedish nursing
mothers and their exposure
via personal care products.
Sci Total Environ 2006, 372:
87-93.

Balmer, M. E.; Poiger, T.; Droz, C.;

Romanin, K.; Bergqvist, P. A.;

Müller, M. D.; Buser, H. R.,
Occurrence of methyl
triclosan, a transformation
product of the bactericide
triclosan, in fish from various
lakes in Switzerland. *Environ
Sci Technol* 2004, 38: 390-395.

Bedoux, G.; Roig, B.; Thomas, O.;

Dupont, V.; Le Bot, B.,
Occurrence and toxicity of
antimicrobial triclosan and
by-products in the
environment. *Environ Sci
Pollut Res* 2012, 19:
1044-1065.

Canosa, P.; Rodríguez, I.; Rubí, E.;

Ramil, M.; Cela, R.,
Simplified sample
preparation method for
triclosan and methyltriclosan
determination in biota and
foodstuff samples. *J
Chromatogr A* 2008, 1188:
132-139.

Dann, A. B.; Hontela, A., Triclosan:
Environmental exposure,
toxicity and mechanisms of
action. *J Appl Toxicol* 2011,
31: 285-311.

Dayan, A. D., Risk assessment of
triclosan [Irgasan®] in
human breast milk. *Food
Chem Toxicol* 2007, 45:
125-129.

Driffield, M.; Harmer, N.; Bradley,
E.; Fernandes, A. R.; Rose,

- M.; Mortimer, D.; Dicks, P., Determination of brominated flame retardants in food by LC-MS/MS: diastereoisomer-specific hexabromocyclododecane and tetrabromobisphenol A. *Food Addit Contam Part A* 2008,25: 895-903.
- 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: 269-274.
- Fujii, Y.; Nishimura, E.; Kato, Y.; Harada, K. H.; Koizumi, A.; Haraguchi, K., Dietary exposure to phenolic and methoxylated organohalogen contaminants in relation to their concentrations in breast milk and serum in Japan. *Environ Int* 2014,63: 19-25.
- George, K. W.; Haggblom, M. M., Microbial O-methylation of the flame retardant tetrabromobisphenol-A. *Environ Sci Technol* 2008,42: 5555-5561.
- Hagmar L, Sjodin A, Hoglund P, Thuresson K, Rylander L, Bergman A. Biological half-lives of polybrominated diphenyl ethers and tetrabromobisphenol-A in exposed workers. *Organohalogen Compd* 2000, 47:198–201.
- Haraguchi, K.; Kotaki, Y.; Relox, J. R.; Romero, M. L. J.; Terada, R., Monitoring of naturally produced brominated phenoxyphenols and phenoxyanisoles in aquatic plants from the Philippines. *J Agric Food Chem* 2010,58:12385-12391.
- James, M. O.; Marth, C. J.; Rowland-Faux, L., Slow O-demethylation of methyl triclosan to triclosan, which is rapidly glucuronidated and sulfonated in channel catfish liver and intestine. *Aquatic Toxicol* 2012, 124-125: 72-82.
- 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., 2009. Past, present, and future of environmental specimen banks. *Environ Health Prev Med* 2009, 14:307-318.
- Meerts, I. A.; Letcher, R. J.; Hoving, S.; Marsh, G.; Bergman, A.; Lemmen, J. G.; van der Burg, B.; Brouwer, A., In vitro estrogenicity of polybrominated diphenyl ethers, hydroxylated PDBEs, and polybrominated bisphenol A compounds. *Environ Health Perspect* 2001,109: 399-407.
- Miyazaki, T.; Yamagishi, T.; Matsumoto, M., Residues of 4-chloro-1-(2,4-dichlorophenoxy)-2-methoxybenzene (triclosan methyl) in aquatic biota. *Bull Environ Contam Toxicol* 1984, 32: 227-232.
- Okumura, T.; Nishikawa, Y., Gas chromatography-mass spectrometry determination of triclosans in water, sediment and fish samples

- via methylation with diazomethane. *Anal Chim Acta* 1996, 325: 175-184.
- 太田千穂、原口浩一、遠藤哲也、加藤善久、松原 大、古賀信幸、海洋生物由来の2,4,6-tribromoanisoleの動物肝ミクロゾームによる代謝とその関連化合物の抗酸化活性、中村学園大学研究紀要2012, 44: 215-223.
- Rodricks, J.V., Swenberg, J.A., Borzelleca, J.F., Maronpot, R.R., Shipp, A.M., Triclosan: a critical review of the experimental data and development of margins of safety for consumer products. *Crit Rev in Toxicol* 2010, 40:422-484.
- Rüdel, H.; Böhmer, W.; Müller, M.; Fliedner, A.; Ricking, M.; Teubner, D.; Schröter-Kermani, C., Retrospective study of triclosan and methyl-triclosan residues in fish and suspended particulate matter: Results from the German Environmental Specimen Bank. *Chemosphere* 2013, 91:1517-1524.
- Shi, Z. X.; Wu, Y. N.; Li, J. G.; Zhao, Y. F.; Feng, J. F., Dietary exposure assessment of Chinese adults and nursing infants to tetrabromobisphenol-A and hexabromocyclododecanes: occurrence measurements in foods and human milk. *Environ Sci Technol* 2009, 43: 4314- 4319.
- Suzuki, G.; Takigami, H.; Watanabe, M.; Takahashi, S.; Nose, K.; Asari, M.; Sakai, S.-i., Identification of brominated and chlorinated phenols as potential thyroid-disrupting compounds in indoor dusts. *Environ Sci Technol* 2008, 42: 1794-1800.
- Toms, L. M. L.; Allmyr, M.; Mueller, J. F.; Adolfsson-Erici, M.; McLachlan, M.; Murby, J.; Harden, F. A., Triclosan in individual human milk samples from Australia. *Chemosphere* 2011, 85: 1682-1686.
- Wan, Y.; Wiseman, S.; Chang, H.; Zhang, X.; Jones, P. D.; Hecker, M.; Kannan, K.; Tanabe, S.; Hu, J.; Lam, M. H.; Giesy, J. P., Origin of hydroxylated brominated diphenyl ethers: natural compounds or man-made flame retardants? *Environ Sci Technol* 2009, 43: 7536-7542.
- Watanabe, I., Kashimoto, T., Tatsukawa, R., The flame retardant tetrabromobisphenol A and its metabolite found in river and marine sediments in Japan. *Chemosphere* 1983, 12: 1533-1839.
- Whitfield, F. B.; Helidoniotis, F.; Shaw, K. J.; Svoronos, D., Distribution of bromophenols in species of marine algae from eastern Australia. *J Agric Food Chem* 1999, 47: 2367-73.

Table 1. Information of breast milk samples collected in Korea, China and Japan.

Area	year	n	Age (range)	Parity	Lipid %
Seoul	2010	10	32.1 (30-38)	2.0	2.0
Beijing	2009	10	27.8 (25-30)	1.0	2.5
Kyoto	2010	10	31.6 (21-37)	1.6	3.1

Table 2. Information of dietary homogenates in duplicate diet study from Seoul (Korea), Beijing (China) and Kyoto (Japan), 1990 and 2009.

Area	Sampling year	Number of pooled	Age	Dietary homogenate (g)	Lipid (%) of homogenate
Seoul	1990	10 (5 pooled)	37.8(35.8-45.6)	1777	0.73
	2009	10 (5 pooled)	35.8 (33.6-41.6)	2062	1.70
Beijing	1990	10 (5 pooled)	35.5 (33.0-38.4)	2249	1.30
	2009	10 (5 pooled)	26.5 (25.8-27.8)	3054	2.34
Kyoto	1990	10 (5 pooled)	21.6 (21.0-21.8)	1693	1.57
	2009	10 (5 pooled)	26.6 (22.0-36.0)	1579	1.75

Table 3. Selected ion monitoring (SIM) used in the GC/MS analysis for dietary food from Kyoto area.

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)		
Ionization mode	ion source (150 °C for ECNI, 230 for EI)		
Reagent gas	Electron ionization (EI) and electron capture negative ionization (ECNI)		
Reagent gas	Methane for ECNI		
Analytes	GC t _R (min)	Target ion (m/z)	LOQ* (ng/mL)
4,4'-DDE	12.76	318 (316)**	1.0 (EI)
HCB	9.47	284 (286)	0.1(ECNI)
β-HCH	9.65	71 (255)	0.2(ECNI)
trans-chlordane	11.77	412 (410)	0.2(ECNI)
PCB153	13.75	360(362)	0.5(EI)
Triclosan (methylated)	12.14	302 (304)	0.1(EI)
TBP (methylated)	8.90	79 (81)	0.05(ECNI)
PCP (methylated)	9.52	278 (280)	0.05(ECNI)
TBBPA (methylated)	22.13	79 (81)	10(ECNI)
2'-OH-BDE68 (methylated)	17.74	79 (161)	0.2(ECNI)
6-OH-BDE47 (methylated)	18.29	79 (161)	0.2(ECNI)
4-OH-[¹³ C]-PCB187	17.38	438 (422)	0.2(ECNI)
α- [¹³ C] endosulfan (IS)	12.40	385 (387)	0.1(ECNI)
¹³ C-triclosan (methylated)	12.14	314 (316)	0.1 (EI)
¹³ C-methyltriclosan	12.14	314 (316)	0.1 (EI)

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

Table 4. Concentration of selected organohalogen compounds in breast milk from Korea, China and Japan.

Congener	Concentration (ng/g lipid, mean± SD)		
	Korea (Seoul)	China (Beijing)	Japan (Kyoto)
<i>phenolic</i>			
triclosan (TCS)	49±29 (13-101)	45±61 (13-217)	77±69 (16-199)
2,4,6-tribromophenol (TBP)	19±20 (4.0-7.3)	25±30 (6.9-89)	4.3±3.0 (1.4-12)
pentachlorophenol (PCP)	0.6±0.4 (0.1-1.5)	0.8±1.0 (0.2-3.2)	1.1±1.1 (nd-3.8)
2'-hydroxy-BDE68	0.1±0.2 (nd-0.8)	0.0±0.1 (nd-0.3)	nd
6-hydroxy-BDE47	nd	nd	nd
tetrabromobisphenol A (TBBPA)	0.3±0.7 (nd-2.1)	4.5±13 (0.0-4.0)	2.4±4.6 (nd-15)
<i>POPs</i>			
4,4'-DDE	116±115 (17-413)	2067±1409 (172-4977)	125±77 (38-242)
β-HCH	13.4 ±8.7 (4.9-34)	315±198 (0.0-728)	25±16 (7.1-46)
hexachlorobenzene (HCB)	49±14 (22-68)	221±90 (51-346)	63±20 (38-93)
trans-nonachlor (t-NC)	2.4±1.2 (0.7-4.4)	2.2±1.0 (0.9-4.5)	16±8.5 (7.8-33)
PCB153	18±10 (4-35)	24±12 (7.1-43)	60±39 (19-128)

Table 5. Mean dietary intake (ng/day) of organohalogen congeners by women in Korea, China and Japan

Congeners	Mean dietary intake ng/day					
	Korea (seoul)		China (Beijing)		Japan (Kyoto)	
	1990	2009	1990	2009	1990	2009
<i>phenolic</i>						
triclosan (TCS)	1474	3346	3308	3731	2470	3346
2,4,6-tribromophenol (TBP)	890	2336	1134	1328	1804	925
pentachlorophenol (PCP)	371	587	3143	567	868	94
2'-hydroxy-BDE68	54	30	8	113	394	7
6-hydroxy-BDE47	nd	nd	nd	nd	7463	197
tetrabromobisphenol A (TBBPA)	953	327	1449	1280	322	566
<i>POPs</i>						
4,4'-DDE	579	11162	11236	993	1509	394
beta-HCH	159	244	2041	355	236	60
hexachlorobenzene (HCB)	519	3485	2536	4555	1824	747
trans-nonachlor (t-NC)	26	352	16	3	244	49
PCB153	59	661	53	27	554	169

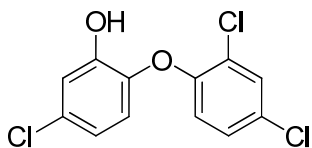


Fig. 1 Structure of TCS

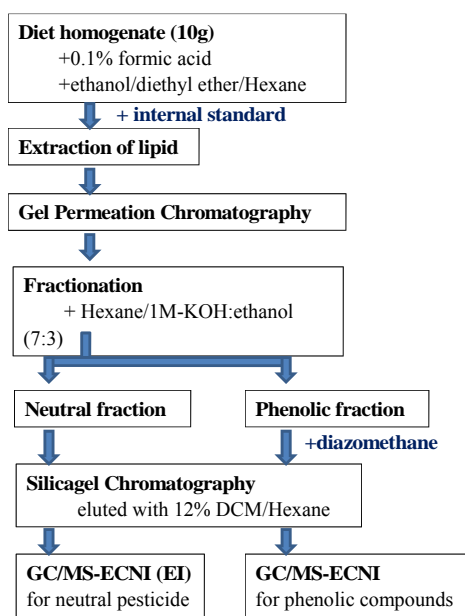


Fig. 2 Analytical methods for neutral and phenolic organohalogen pesticides in breast milk and dietary homogenates.

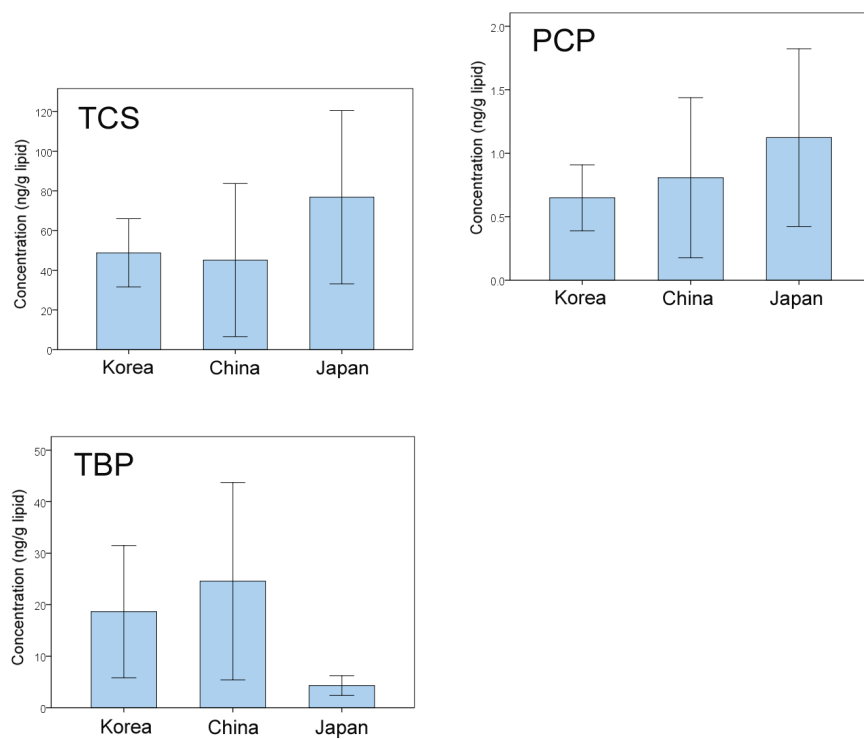


Fig. 3 Comparison of concentrations of POCs in breast milk from Korea, China and Japan.

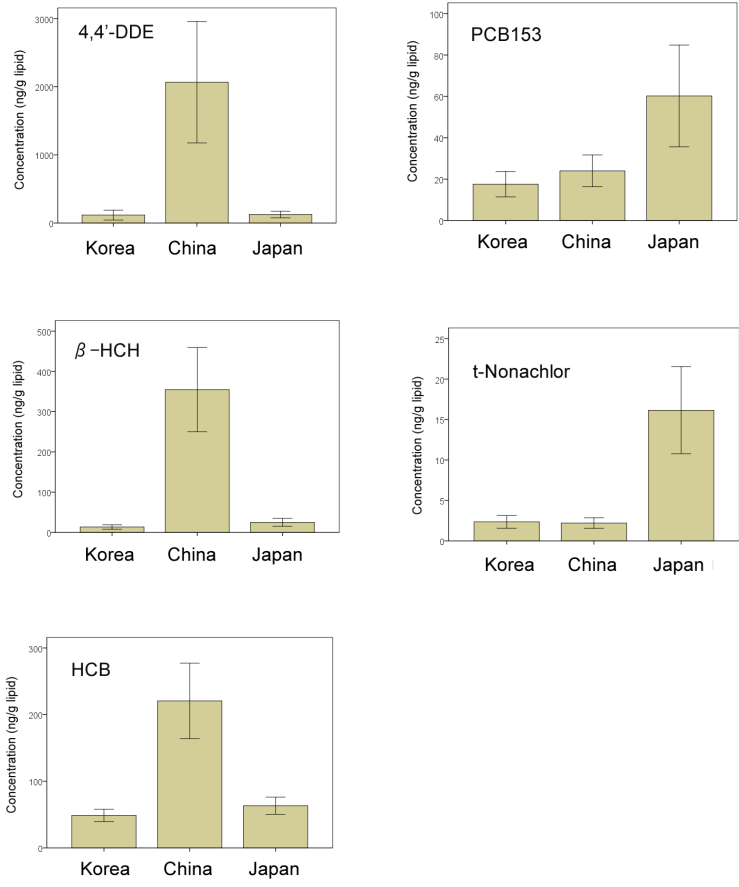


Fig. 4 Comparison of POPs concentrations in breast milk from Korea, China and Japan.

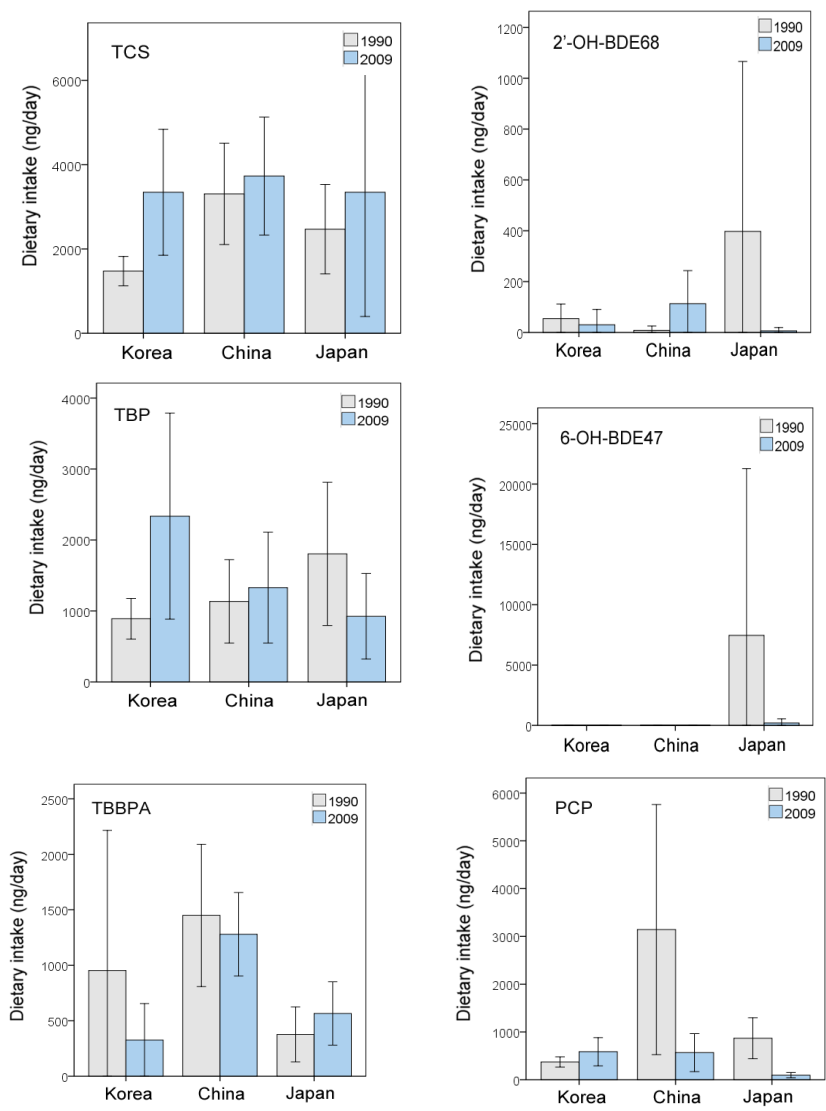


Fig. 5 Dietary intake (ng/day) of phenolic organohalogen in people of Korea, China and Japan.

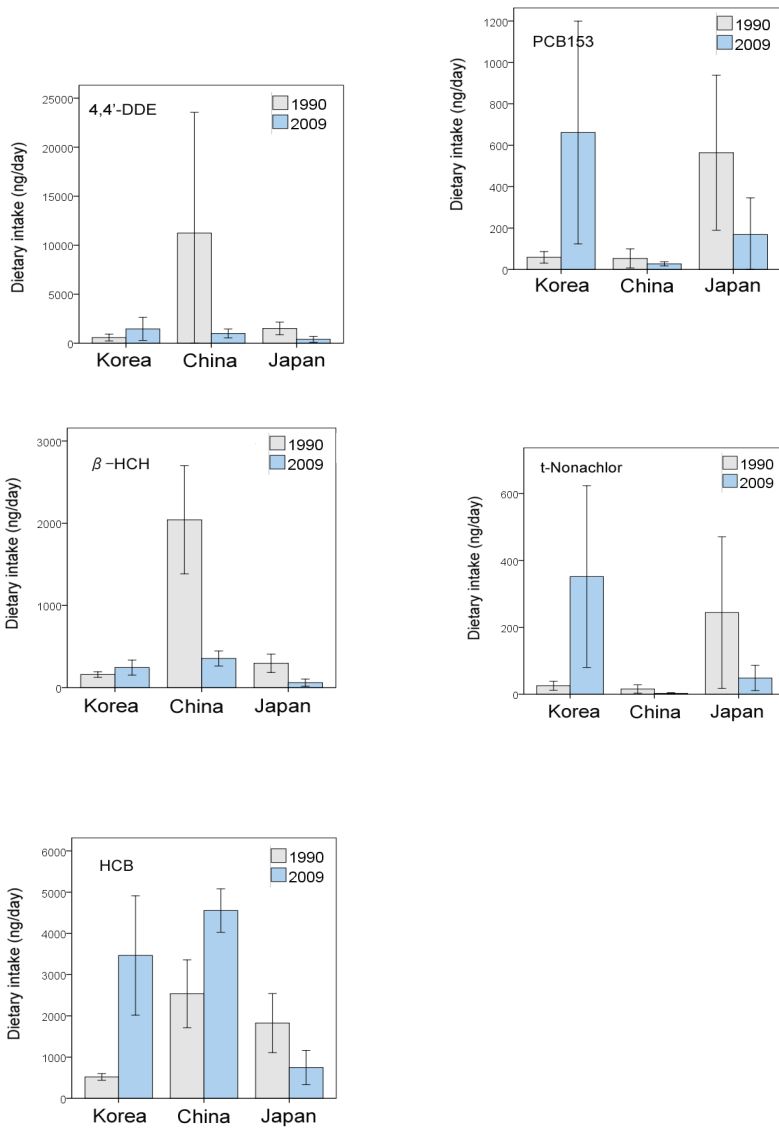


Fig. 6 Dietary intake of POPs in Korea, China and Japan, 1990 and 2009

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）
分担研究報告書

汚染が懸念される物質のモニタリング

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

研究代表者 小泉 昭夫 京都大学医学研究科・教授
研究協力者 藤井 由希子 京都大学医学研究科・大学院生

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を明らかにすることを目的に、2000年前後の食事中、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79 ng/day、東北におけるPFCAsの総摂取量 (C8からC14の合計、幾何平均値) は45 ng/dayであった。総PFCAs摂取量は最大値でも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%)。血清中濃度は、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 PFCA 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 PFCA 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 PFCA 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 PFCA の血清中濃度の動向に加え、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 PFCA 分析法の確立」にて報告) を利用し、2000 年前後の食事試料と血清試料中に含まれる PFCA 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 9 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 Table 1 に示す。陰膳食事試料は東北地域 (宮城) は 2004 年、関西地域 (京都) は 2003-2004 年に採取された各 16-18 試料の分析を行った。血清試料は東北地域 (宮城) 2003 年、関西地域

(京都) で 2004-2005 年に採取された各 30 試料の分析を行った。また対象者は全て女性とした。

3) 分析方法

食事試料は約 1g、血清試料は 0.1mL をそれぞれを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) 0.3 mL、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、上清を量り取った。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、1 ng 11H-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/ 5973 MSD, 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 とした。昇温条件は 70 で 2 分保持後、100 まで 20 /min、280 まで 30 /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 (Table 2)。

C. 研究結果

1) 食事経由のPFCAs摂取量

食事試料の添加回収試験の結果はC8、C9、C10、C11、C12、C13、C14について、それぞれ72±11%、73±15%、79±7%、83±5%、91±11%、89±12%、104±20%であった (Table 2)。PFCAsの一日摂取量(ng/day)をTable 3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2003-2004年、79 ng/dayであった (Table 3)。

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) は2004年、45 ng/dayであった (Table 3)。コンジェナー毎に見ると、C11が最も摂取量が高かった。

2) 血清中PFCAs濃度

血清試料の添加回収試験の結果はC8、C9、C10、C11、C12、C13、C14について、それぞれ87±12%、94±8%、87±6%、95±7%、96±5%、99±6%、106±7%であった (Table 2)。血清中のPFCAs濃度の測定結果はTable 4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2004-2005年、10.2 ng/mLであった。コンジェナー毎に見ると、C8が最も高く、続いてC9であった。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2003年、5.9 ng/mLであった。コンジェナー毎に見ると、関西と同様にC8が最も高かったが、続いて高いのは関西とは異なりC11であった。

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Total PFCAs摂取量は407.6 ng/day (内PFOA ; 72.1 ng/day) であった (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) は現在まで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%以下であり、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

食事経由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、食品より摂取されたPFCAs量から計算される血清中濃度は以下ようになる。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、また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

由のPFCAs総摂取量（C8からC14の合計、幾何平均値）から血中濃度を求めると、関西で2.9ng/mLであり、東北では0.7ng/mLであった。この値はTable 4の実際の血清中のC8の測定値と近く、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、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動向を明らかにした。その結果、総PFCAs 摂取量は最大値でもPFOAの耐容一日摂取量より十分に低い値であった。C8においては、血清中濃度の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

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.

Table1 Study area and study population

Sample type	Study Area	Year	City	N (All females)	Age	
					Mean (SD)	Range
Diet	Kansai	2003, 2004	Kyoto	18	51.8 (21.1)	21-76
	Tohoku	2004	Miyagi	16	21.5 (0.5)	21-22
Serum	Kansai	2004, 2005	Kyoto, Wakayama	30	37.7 (11.9)	24-63
	Tohoku	2003	Miyagi	30	45.2 (8.6)	30-59

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)
PFDoDA (C12)	613 (594)	0.005	96(5)	91(11)	n.d.
PFTTrDA (C13)	663 (644)	0.005	99(6)	89(12)	n.d.
PFTeDA (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							Total (C8-C14)
				PFOA (C8)	PFNA (C9)	PFDA (C10)	PFUnDA (C11)	PFDoDA (C12)	PFTTrDA (C13)	PFTeDA (C14)	
Kansai	2003-2004 (n=18)	Kyoto	% of detection	100	78	61	83	56	78	39	-
			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)	13.6(0.4-105.2)	0.8(0.4-27.4)	59.8(16.9-407.6)
			Mean±SD	18.9±16.3	7.8±8.3	7.5±10.2	50.1±67.0	9.1±12.6	26.1±31.8	7.8±9.9	127.2±129.1
			GM	14.6	3.9	3.2	20.5	2.4	8.3	2.3	78.9
Tohoku	2004 (n=16)	Miyagi	% of detection	81	88	94	88	38	75	0	-
			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)	4.3(0.4-28.4)	-	39.7(24.0-107.2)
			Mean±SD	5.7±4.5	8.2±5.1	4.6±1.9	16.3±11.6	6.8±18.0	7.3±8.0	-	49.7±26.0
			GM	3.5	5.8	4.1	12.5	1.5	3.7	-	44.6

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							Total (C8-C14)
				PFOA (C8)	PFNA (C9)	PFDA (C10)	PFUnDA (C11)	PFDoDA (C12)	PFTTrDA (C13)	PFTeDA (C14)	
Kansai	2004-2005 (n=30)	Kyoto	% of detection	100	100	100	100	90	100	37	-
			Median (Range)	5051(2153-35337)	1864(571-9701)	609(178-3603)	1337(224-9040)	96(0-1401)	197(59-1045)	0(0.0-142)	9157(3655-56371)
			Mean±SD	7051±6325	2430±2197	854±730	1697±1590	157±246	214±188	29±48	12431±10447
			GM	5694	1899	697	1379	67	180	3	10212
Tohoku	2003 (n=30)	Miyagi	% of detection	100	100	100	100	100	100	7	-
			Median (Range)	2523(1147-5858)	1114(396-2631)	421(191-767)	1418(748-3108)	93(13-231)	203(103-536)	0.0(0.0-137.0)	6017(3306-11129)
			Mean±SD	2703±1115	1178±434	443±131	1598±622	107±57	246±123	7.0±27.0	6283±1905
			GM	2499	1103	424	1490	90	220	1.0	5992

SD: standard deviation; GM: geometric mean;

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

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）
分担研究報告書

汚染が懸念される物質のモニタリング

（3）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 (α -HCH, β -HCH, γ -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 μ 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、抽出精製で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 β -HCHであり、総HCHsの80%を占めた。2012年の結果は、 β -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、オクタクロロステレンは、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) ^a	(mean±SD) (range)	31.5±5.0 20-42
Parity(<i>n</i>)	1 2 3 4	58 29 8 3
Smoking	non ex current	48 18 1
Drinking ^c	non ex current social	29 56 0 12

Table 2. Mean concentrations (ng g_{lipid}⁻¹) 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).

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）
分担研究報告書

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PFCA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PFCA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PFCA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PFCA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PFCA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PFCA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PFCA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 ± 2 、 $50\pm 10\%$ 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PFCAは、IVまたは強制経口投与した。PFCA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PFCA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。

PFCA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($370\ \text{g}$)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 μL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ン酸(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 \pm SD)は、PFOAで0.60 \pm 0.1、PFNAで0.43 \pm 0.1、PFDAで0.50 \pm 0.1、PFUnDAで0.53 \pm 0.1、PFD_oDAで0.70 \pm 0.2、PFTrDAで0.88 \pm 0.2、PFTeDAで1.05 \pm 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PFCA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PFCA(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PFCAの動態を十分記載できた。血清PFCA濃度から得られたパラメータを表5に示す。

PFCA(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PFCAの組織分布を示す。C6からC14のPFCA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PFCA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PFCA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PFCA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-コンパートメント分析をC6では行わなかった。図3に示すように、C7からC14のタイムコースは性別で違いはなく、よく2-コンパートメント毒物動態モデルによってシミュレートされた(表5)。AUCは、C8で最大となり、炭素数の減少に伴って増加した。静脈内投与に対する強制経口投与の投与量調整後のAUC比は炭素数7~13のPFCAsでは1に近く、C14では1未満となった(表5)。物質収支の検討では、静脈内投与と比べて強制経口投与でC6、C7、C12およびC14のPFCAsの総回収は低かった(表6、表7)。C8~11のPFCAsの総回収率は類似していた。これらの結果は、IVおよび強制経口投与の両方の分布様式を反映していた。C6、C7のPFCAsが尿中に回収され、C8~14のPFCAsの大部分は、肝臓や血清中に回収された。PFCAsのわずかな量が糞便中に排泄され、腸からの効率的な吸収とそれによる腸肝循環を示唆した。

C-3. マウスにおけるPFCAsの尿と糞便クリアランス

マウスでのIVおよび強制経口投与後のPFCAs尿・糞便クリアランスを表8に示す。IV投与で、C8の尿クリアランス(雄: 13.1 mL/d/kg、雌: 9.8 mL/d/kg)は、C7と比較して有意に少なかった(雄: 336.7 mL/d/kg、雌: 216.3 mL/d/kg)(表8)。C7は、糞便クリアランスが最も高かったが、C7の尿クリアランスよりも小さかった。糞便クリアランスはC9で最も低かった。総クリアランスはC7が最大で(雄: 347.4 mL/d/kg、雌: 265.7 mL/d/kg)、C10が最低であった(雄: 2.2 mL/d/kg、雌: 2.8 mL/d/kg)。男女間の有意な差はなかった。

強制経口投与ではIV投与のものと類似のPFCAsクリアランスパターンを示した。C8尿クリアランス(雄: 9.2 mL/d/kg、雌: 6.6 mL/d/kg)は、C7(雄: 248.8 mL/d/kg、雌: 166.7 mL/d/kg)より有意に低かった(表8)。C7は、糞便クリアランスが最も高かったが、C7の尿クリアランスよりも小さかった。糞便クリアランスはC9で最も低かった。総クリアランスはC7が最大で(雄: 292.5 mL/d/kg、雌: 190.2 mL/d/kg)、C10が最低であった(雄: 3.9 mL/d/kg、雌: 2.2 mL/d/kg)。

強制経口投与およびIV投与のPFCAs糞便クリアランスを比較すると、長鎖PFCAs(C13とC14)に違いが存在した(表8)。強制経口投与後24時間の糞便は、排出された胆汁と腸を通過し吸収されなかったPFCAs両方を含んでいると考えられた。PFCAsの実質的な糞便クリアランスはIV投与の糞便クリアランスで示される。PFCAsの腸管吸収係数を評価するために、次式を用いて理論的に吸収された部分を計算した。

$$\begin{aligned} \text{理論的吸収率 (\%)} &= \\ &100 - \text{recovery in feces by gavage (\%)} \\ &\times \frac{\text{Fecal CL by gavage} - \text{Fecal CL by IV}}{\text{Fecal CL by gavage}} \end{aligned}$$

--- eq (3)

結果を表8に記載した。理論的吸収率はPFCAsが効率的に腸内で吸収されることを示唆し、雌雄とも94%から104%の範囲であった。

C-4. 毒物動態学モデル評価

ラットとサルにおけるPFOAの生理学的薬物動態モデルは、これまでにいくつかの動物実験から入手した化学的パラメータを使用して開発され

ている(Loccisano et al. 2011; 2012)。本研究では、マウスの血清中のPFCA濃度に基づいた単純な2-コンパートメントモデルを開発した。このモデルは、3.13 μmol (PFOA 1.3 mg) / kgの用量を強制経口投与後の、血清中濃度の経時変化をよく説明した。このモデルを評価するために、反復強制経口投与(20 mg/kg)での血清濃度の毒物動態に適用した(Lou et al. 2009)。40 mg/kg以上の単回強制経口投与は、マウスにおいてPFOAの非線形薬物動態がみられるため(Lou et al. 2009)、強制経口投与(20 mg/kg)を用いて、図4に示す用量モデルを推定した。血清PFOA濃度は、初回投与後約8日までに定常状態に達し、最小および最大の血清濃度は、雄マウスでそれぞれ約260および185 $\mu\text{g/mL}$ 、雌マウスでそれぞれ300および400 $\mu\text{g/mL}$ であった。以前の研究では、20 mg / kgを毎日強制経口投与により、7日後には雄マウスで181 $\mu\text{g/mL}$ 、雌マウスで178 $\mu\text{g/mL}$ 、17日後には、雄マウスで199 $\mu\text{g/mL}$ 、雌マウスで171 $\mu\text{g/mL}$ の血清中PFOA濃度を示した(Lau et al. 2006)。本研究では、モデルによる予測血清濃度は、雌マウスでわずかに高かった一方、雄マウスで同様の結果が得られたことがわかった(図4)。これらの結果は、反復投与実験をPFOA単回投与による単純な2-コンパートメント毒物動態学モデルを用いてシミュレートすることができることを確認した。また、このモデルは他のPFCAsについて適用し、単回経口投与のモデルから、反復経口投与におけるPFCAクリアランスを予測することが可能である。用量はまた、1.3 mg/kgから20 mg/kgにスケールアップすることができた。

表5は、モデルの数値結果を示す。

IVおよび強制経口投与の両方で、 $>C7$ のPFCAsの λ_2 は λ_1 よりもはるかに小さく、PFCAsが体内組織に急速に分配し、初期の段階で血液および組織間で平衡化した可能性があることを示していた。これらの結果は、モデルの最初の指数関数は、長期的な観測では無視でき、1-コンパートメント毒物動態学モデルで $>C7$ のヒト血清中PFCAsの毒物動態学を予測するために十分であることが示唆された(Niisoe et al. 2010)。

C-5. ヒトでの尿中および胆汁クリアランス

ヒトでのPFCAs尿中および胆汁中クリアランスを表9に示す。ヒト血清、胆汁および尿中PFCAs濃度を表11に示している。ヒト血清ではC6は検出されなかったためクリアランスを分析しなかった。ヒトのPFCAs尿クリアランスは、マウスのものより2倍以上小さく、鎖長が長いほど減少した(図5)。胆汁クリアランスは、C9で最低であり、C9からC14でPFCAs鎖長が長いほど増加した(表9)。

糞便への排泄率を計算するために、胆汁中PFCAsが再吸収され腸肝循環する際の、PFCAs再吸収率を推定した。マウス実験に基づいて報告された200 mL/kgの分布容積(Harada et al. 2007; Niisoe et al. 2010)と、ヒトでの3.8年の血清半減期(Olsen et al., 2007)、およびそのC8が尿と胆汁を経由した糞中排泄のみであると仮定して、胆汁排泄されたC8の再吸収率は0.98と算出された。我々は、この再吸収率が他のPFCAsに適用されると仮定した。表9は、胆汁クリアランスから推定されたPFCAs糞便クリアランスを示している。推定糞便クリアランスも同様にヒトでマウスより2倍小さ

かった。総クリアランス(尿・糞便クリアランス)の鎖長との関係は、ヒトとマウスの間で類似していた。クリアランスは鎖の長さの関数として減少し、C9(0.062 mL/d/kg)で最も低かった(図5)。それにもかかわらず、ヒトでの総クリアランスはマウスより50~100倍小さかった。

C-6. マウスと人間の中樞神経系におけるPFCA

PFOS及びPFOA(C8)が細胞膜電位を変化させ、チャネルゲーティング特性に影響を与えることが知られている(Harada et al. 2005b; Harada et al. 2006; Matsubara et al. 2007)。これはPFCAが神経毒性を引き起こす可能性を示唆している。我々は以前、CSF、血清との間で、PFOSとPFOA(C8)の大きな濃度勾配があることを報告しており、これらの物質は血液脳関門のため中樞神経系に入ることができないことを示唆していた(Harada et al. 2007)。これらのことから、マウスの脳と血清との間でPFCAの濃度勾配を評価した(表10)。勾配は、一般的には鎖長が長いほど増加し、C8、C9とC10で大きく、C11-C14で小さかった。これらの結果は、PFCAがヒト血液脳関門も自由に通過しない可能性を示唆された。

ヒトでは、CSF中のPFCA濃度は、血清濃度の100倍以下であった(表10)。脳出血及び髄液漏患者では平均PFCA濃度は1.3 pg/mLから70 pg/mLの範囲であったのに対し、水頭症患者では、0.38 pg/mLから37 pg/mLの範囲であった。血清に対するPFCAの比率は、脳出血や髄液漏患者に比べて水頭症患者で小さかった。CSF中の実質的に高いPFCA(C11、C12およびC13)が脳出血及び髄液漏患者におい

て検出されたことは興味深い。この現象は、中樞神経系への血清の直接流入と関連付けることができるかもしれない(Yang and Rosenberg 2011)。

C-7. この研究の限界

本研究では、いくつかの限界がある。まず、PFCA毒物動態学モデルは短期的な観察期間によるものだった。それにもかかわらず、我々のモデルは、単回および反復投与、またC8用量をスケールアップしてシミュレートすることができた。モデルは、他のPFCAに適用されるかどうか、さらなる検討が必要である。第二に、ヒト腸肝循環でのPFCA再吸収率やマウスでのCSF/血清の比などのいくつかのパラメータは、推定であり、不確実性がある。

C-8. PFCAの生物蓄積に関連して

本研究により明らかにPFCAの毒物動態は二分類できた。C6およびC7のPFCAが尿中に体内から急速に排泄され、C8より長いアルキル鎖を有するPFCAは主に肝臓で堆積していた。尿による排泄は肝臓による排出よりも急速であった。このような毒物動態特性はPFCAが体内に蓄積されるかどうかを予測することができる。C10からC14のPFCAの総クリアランスは鎖長に伴い増加し、PFCAの親油性との関わりを意味し、主に胆汁を經由して糞中に排出された。それゆえに、C9-C11のPFCAはマウスではほとんど蓄積した。効率的に尿を通じて排泄されたC6とC7のPFCAは、他のより長い鎖長のPFCAよりも有意に短い半減期を示した。

鎖長に伴い生物蓄積を引き起こすメカニズムはよく理解されていない。我々の研究は鎖長とともにPFCAの

分布容積が増加することが観察された。これは長鎖PFCAsの血清および肝臓脂肪酸結合タンパク質との親和性が高いことを示唆し、鳥類の血清タンパク質が短鎖PFCAsとは結合が強くなく、より長い鎖に親和性が増加することを示す以前の研究によって支持される(Jones et al. 2003)。これらの結果より、未結合のC6とC7のPFCAsは糸球体濾過により排泄され、一方C7より長いPFCAsはタンパク質との親和性から、腎臓での排泄を妨げるのかもしれないと考えられた。長鎖PFCAs (>C8) が肝臓に優先的に蓄積することは、肝臓脂肪酸結合タンパク質との高い親和性に理由があるかもしれない(Zhang et al. 2013)。PFCAsとの結合親和性は、より長鎖PFCAsで増加することが知られている(Zhang et al. 2013)。さらなる研究が、PFCA(>C7)の肝臓での蓄積を理解するために必要である。

C-9. 種差への示唆

本研究では、ヒトとマウスで9種類の炭素鎖長の異なるPFCAsの毒物動態学プロファイルを報告した。総クリアランス(尿・糞便クリアランス)の鎖長依存性が2種間で類似していたが、その速度には大きな違いがあることがわかった。種間のPFCA排出速度の差が生じる機構はわかっていない。3Mが運営するC8 (PFOA)製造工場の退職労働者の疫学研究では、血清半減期が3.8年であったことを明らかにした(Olsen et al. 2007)。別の研究では、C8(PFOA)の血清消失半減期は、マウス(15~20日)、ラット(<1~15日)およびカニクイザル(20~35日)と、はるかに短いことがわかっている(Lau et al. 2007)。

今回の研究では、ヒトでのPFCAs

の長い半減期は、腎臓からの乏しい除去に起因していた(Harada et al. 2005a; Niisoe et al. 2010)。マウスでは、C7とC8の尿中クリアランスはヒトのものよりそれぞれ500倍、300倍だった。これとは対照的に、糞便クリアランスの大きさは10倍の範囲内であった。以前のトランスポーター実験では、腎臓におけるトランスポーターが関与している可能性があることを示唆した(Minata et al. 2010; Tan et al. 2008; Yang et al. 2010)。しかし、種間で異なる排出パターンとなる理由には決定的ではない。また、わずかに高い脳/血清分配率が、長鎖PFCAsについてマウスで観察された。ヒトCSF中PFCAsは血清の1.0%から2.5%の範囲であった。この結果は、ヒト血液脳関門が例えばOAT3のようないくつかの有機アニオン輸送体によって維持され、積極的にCSFから血清中に、これらの化合物を輸送することがあり得ることを示した(Mori et al. 2004)。

D. 結論

本研究でマウスおよびヒトにおけるPFCAsの包括的な毒物動態研究が示された。この研究のハイライトは、マウスおよびヒトで異なるアルキル鎖長の様々なPFCAsを評価したことである。PFCAs (>C7)の大きな蓄積は、肝臓に特異的結合タンパク質があることを示唆し、PFCAの生物蓄積のために重要な役割を持つと考えられた。また、PFOAの単純な2-コンパートメント毒物動態モデルは、単回投与又は反復投与、小用量または大用量の両方で血清濃度をシミュレートすることが示された。これらの情報は、他の種でもPFCAsの生物蓄積性を評価するために有用であろう。

E . 健康危険情報

なし

F . 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表・その他

なし

G . 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

H . 文献

Chang SC, Das K, Ehresman DJ, Ellefson ME, Gorman GS, Hart JA, et al. 2008. Comparative pharmacokinetics of perfluorobutyrate in rats, mice, monkeys, and humans and relevance to human exposure via drinking water. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology* 104:40-53.

Chengelis CP, Kirkpatrick JB, Myers NR, Shinohara M, Stetson PL, Sved DW. 2009a. Comparison of the toxicokinetic behavior of perfluorohexanoic acid (pfhxa) and nonafluorobutane-1-sulfonic acid (pfbs) in cynomolgus monkeys and rats. *Reproductive toxicology* 27:400-406.

Chengelis CP, Kirkpatrick JB, Radovsky A, Shinohara M. 2009b. A 90-day repeated dose oral (gavage) toxicity study of perfluorohexanoic acid (pfhxa) in rats (with functional observational battery and motor activity determinations). *Reproductive toxicology* 27:342-351.

Das KP, Grey BE, Zehr RD, Wood CR, Butenhoff JL, Chang SC, et al. 2008.

Effects of perfluorobutyrate exposure during pregnancy in the mouse. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology* 105:173-181.

Fujii Y, Harada KH, Koizumi A. 2012. Analysis of perfluoroalkyl carboxylic acids in composite dietary samples by gas chromatography/mass spectrometry with electron capture negative ionization. *Environmental science & technology* 46:11235-11242.

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 K, Inoue K, Morikawa A, Yoshinaga T, Saito N, Koizumi A. 2005a. Renal clearance of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoate in humans and their species-specific excretion. *Environ Res* 99:253-261.

Harada K, Xu F, Ono K, Iijima T, Koizumi A. 2005b. Effects of pfos and pfoa on I-type ca2+ currents in guinea-pig ventricular myocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 329:487-494.

Harada KH, Ishii TM, Takatsuka K, Koizumi A, Ohmori H. 2006. Effects of perfluorooctane sulfonate on action potentials and currents in cultured rat cerebellar purkinje cells. *Biochem Biophys Res Commun* 351:240-245.

Harada KH, Hashida S, Kaneko T, Takenaka K, Minata M, Inoue K, et al. 2007. Biliary excretion and cerebrospinal fluid partition of perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate in humans. *Environmental toxicology and pharmacology* 24:134-139.

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.
- Jones PD, Hu W, De Coen W, Newsted JL, Giesy JP. 2003. Binding of perfluorinated fatty acids to serum proteins. *Environmental toxicology and chemistry / SETAC* 22:2639-2649.
- Koizumi A, Yoshinaga T, Harada K, Inoue K, Morikawa A, Muroi J, et al. 2005. Assessment of human exposure to polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in japan using archived samples from the early 1980s and mid-1990s. *Environmental Research* 99:31-39.
- Koizumi A, Harada KH, Inoue K, Hitomi T, Yang HR, Moon CS, et al. 2009. Past, present, and future of environmental specimen banks. *Environmental health and preventive medicine* 14:307-318.
- Kudo N, Suzuki E, Katakura M, Ohmori K, Noshiro R, Kawashima Y. 2001. Comparison of the elimination between perfluorinated fatty acids with different carbon chain length in rats. *Chemico-biological interactions* 134:203-216.
- Lau C, Thibodeaux JR, Hanson RG, Narotsky MG, Rogers JM, Lindstrom AB, et al. 2006. Effects of perfluorooctanoic acid exposure during pregnancy in the mouse. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology* 90:510-518.
- Lau C, Anitole K, Hodes C, Lai D, Pfahles-Hutchens A, Seed J. 2007. Perfluoroalkyl acids: A review of monitoring and toxicological findings. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology* 99:366-394.
- Liao CY, Wang T, Cui L, Zhou QF, Duan SM, Jiang GB. 2009. Changes in synaptic transmission, calcium current, and neurite growth by perfluorinated compounds are dependent on the chain length and functional group. *Environmental Science & Technology* 43:2099-2104.
- Loccisano AE, Campbell JL, Jr., Andersen ME, Clewell HJ, 3rd. 2011. Evaluation and prediction of pharmacokinetics of pfoa and pfos in the monkey and human using a pbpk model. *Regulatory toxicology and pharmacology : RTP* 59:157-175.
- 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.
- Lou I, Wambaugh JF, Lau C, Hanson RG, Lindstrom AB, Strynar MJ, et al. 2009. Modeling single and repeated dose pharmacokinetics of pfoa in mice. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology* 107:331-341.
- Matsubara E, Harada K, Inoue K, Koizumi A. 2006. Effects of perfluorinated amphiphiles on backward swimming in paramecium caudatum. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 339:554-561.
- Matsubara E, Nakahari T, Yoshida H, Kuroiwa T, Harada KH, Inoue K, et al. 2007. Effects of perfluorooctane sulfonate on tracheal ciliary beating frequency in mice. *Toxicology* 236:190-198.
- Minata M, Harada KH, Karrman A, Hitomi T, Hirose M, Murata M, et al. 2010. Role of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha in hepatobiliary injury induced by ammonium perfluorooctanoate in mouse liver. *Industrial health* 48:96-107.
- Mori S, Ohtsuki S, Takanaga H, Kikkawa T, Kang YS, Terasaki T. 2004. Organic

- anion transporter 3 is involved in the brain-to-blood efflux transport of thiopurine nucleobase analogs. *Journal of neurochemistry* 90:931-941.
- 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.
- Ohmori K, Kudo N, Katayama K, Kawashima Y. 2003. Comparison of the toxicokinetics between perfluorocarboxylic acids with different carbon chain length. *Toxicology* 184:135-140.
- 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.
- Rao CR, Toutenburg H, Fieger A, Heumann C, Nittner T, Scheid S. 1999. *Linear Models: Least Squares and Alternatives*. Springer Series in Statistics.
- Riches AC, Sharp JG, Thomas DB, Smith SV. 1973. Blood volume determination in the mouse. *The Journal of physiology* 228:279-284.
- Tan YM, Clewell HJ, 3rd, Andersen ME. 2008. Time dependencies in perfluorooctylacids disposition in rat and monkeys: A kinetic analysis. *Toxicology letters* 177:38-47.
- Tatum-Gibbs K, Wambaugh JF, Das KP, Zehr RD, Strynar MJ, Lindstrom AB, et al. 2011. Comparative pharmacokinetics of perfluorononanoic acid in rat and mouse. *Toxicology* 281:48-55.
- US EPA, 2012. *New Chemical Review of Alternatives for PFOA and Related Chemicals*. <http://www.epa.gov/oppt/pfoa/pubs/altnewchems.html> Access date: 13 February 2014
- Upham BL, Deocampo ND, Wurl B, Trosko JE. 1998. Inhibition of gap junctional intercellular communication by perfluorinated fatty acids is dependent on the chain length of the fluorinated tail. *International Journal of Cancer* 78:491-495.
- Vanden Heuvel JP, Kuslikis BI, Van Rafelghem MJ, Peterson RE. 1991. Tissue distribution, metabolism, and elimination of perfluorooctanoic acid in male and female rats. *Journal of biochemical toxicology* 6:83-92.
- Yang CH, Glover KP, Han X. 2010. Characterization of cellular uptake of perfluorooctanoate via organic anion-transporting polypeptide 1a2, organic anion transporter 4, and urate transporter 1 for their potential roles in mediating human renal reabsorption of perfluorocarboxylates. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology* 117:294-302.
- Yang Y, Rosenberg GA. 2011. Blood-brain barrier breakdown in acute and chronic cerebrovascular disease. *Stroke; a journal of cerebral circulation* 42:3323-3328.
- Zhang L, Ren XM, Guo LH. 2013. Structure-based investigation on the interaction of perfluorinated compounds with human liver fatty acid binding protein. *Environ Sci Technol* 47:11293-11301.

表 1. Study profile of PFCA toxicokinetics in mice

Administration methods	Dosage amount ($\mu\text{mol/kg}$)	Sex (N)	Serum sampling	Urine and feces sampling	Tissue sampling (liver, kidney, brain, adipose tissue)
intravenous (IV)	0.31	Male (9), Female(9)	Time course (0, 0.5, 1, 3, 6, 12, 24hr after dosing)	24 hr after dosing	24 hr after dosing
gavage	3.13	Male (9), Female(9)	Time course (0, 1, 3, 6, 12, 24hr after dosing)	24 hr after dosing	24 hr after dosing

表2. Demographic characteristics of human donors

No	sex	Age (yrs)	Disease	Treatment
CSF^a-serum pair				
1	male	56	liquorrhoea	spinal drainage
2	male	73	hydrocephalus after cerebral infarction	bone and duraplasty after craniotomy
3	male	74	cerebral hemorrhage	ventriculo-peritoneal shunt
4	male	70	hydrocephalus after cerebral infarction	cerebral drainage after external decompression
5	female	80	cerebral hemorrhage	cerebral drainage
6	male	60	normal pressure hydrocephalus	cerebral drainage
7	male	74	normal pressure hydrocephalus	cerebral drainage
Bile-serum pair				
1	female	68	carcinoma of the head of the pancreas	Nasobiliary drainage
2	male	74	choledocholithiasis	percutaneous transhepatic biliary drainage
3	female	90	choledocholithiasis	Nasobiliary drainage
4	male	75	cholecystolithiasis	percutaneous transhepatic gallbladder drainage
5	male	81	choledocholithiasis	Nasobiliary drainage
Urine-serum pair				
1	male	23	healthy volunteer	-
2	male	21	healthy volunteer	-
3	male	22	healthy volunteer	-
4	male	21	healthy volunteer	-
5	male	21	healthy volunteer	-
6	female	22	healthy volunteer	-
7	female	22	healthy volunteer	-
8	female	21	healthy volunteer	-
9	female	22	healthy volunteer	-
10	female	28	healthy volunteer	-

a. cerebrospinal fluid

表3. Target ions and method detection limits

Compound (carbon atoms)	Quantification ions (confirmation ions)	m/z	Method detection limit ^a					
			Animal samples		Human samples			
			IV ^b nmol g ⁻¹	gavage ^c nmol g ⁻¹	Serum ^d ng mL ⁻¹	Bile ^e ng mL ⁻¹	Urine ^f pg mL ⁻¹	CSF ^g pg mL ⁻¹
PFHxA	(C6)	313 (294)	0.02	0.2	-	-	-	-
PFHpA	(C7)	363 (344)	0.02	0.2	0.04	1.2	6.4	5.6
PFOA	(C8)	413 (394)	0.003	0.03	0.2	1.0	3.5	16
PFNA	(C9)	463 (444)	0.001	0.01	0.1	0.4	1.3	4.0
PFDA	(C10)	513 (494)	0.001	0.01	0.05	0.3	0.8	1.3
PFUnDA	(C11)	563 (544)	0.001	0.01	0.04	0.3	0.5	2.5
PFDoDA	(C12)	613 (594)	0.0003	0.003	0.02	0.1	0.3	1.0
PFTTrDA	(C13)	663 (644)	0.0003	0.003	0.02	0.1	0.8	1.0
PFTeDA	(C14)	713 (694)	0.0003	0.003	0.01	0.1	0.2	0.2

a. The method detection limit is defined as the concentration that produces a signal three times higher than that of the blank.

b. Sample volume was approximately 10mg.

c. Sample volume was approximately 1mg.

d. Sample volume was approximately 0.5mL.

e. Sample volume was approximately 1mL.

f. Sample volume was approximately 30mL.

g. Sample volume was approximately 10mL.

表4. Recoveries of PFCA in each sample

Compound (carbon atoms)						
	Mice	Liver	Kidney	Brain	Adipose tissue	Feces
		1 ng spiked (n=3)	1 ng spiked (n=3)	1 ng spiked (n=3)	1 ng spiked (n=3)	1 ng spiked (n=3)
PFHxA	(C6)	116(10)	101(21)	133(12)	59(16)	120(51)
PFHpA	(C7)	108(6)	125(22)	144(26)	84(26)	166(64)
PFOA	(C8)	105(5)	128(22)	139(23)	89(34)	90(16)
PFNA	(C9)	109(7)	134(27)	145(23)	97(38)	89(5)
PFDA	(C10)	100(4)	127(25)	128(20)	91(35)	81(3)
PFUnDA	(C11)	98(8)	120(23)	115(17)	93(39)	103(3)
PFDoDA	(C12)	95(3)	96(20)	98(17)	80(36)	107(2)
PFTTrDA	(C13)	84(4)	107(29)	98(14)	89(45)	74(1)
PFTeDA	(C14)	91(5)	106(20)	100(14)	89(38)	62(6)

Humans		Serum	Bile	Urine	CSF
		1 ng spiked (n=3)	0.1 ng spiked (n=3)	0.1 ng spiked (n=3)	0.1 ng spiked (n=3)
	PFHxA	(C6)	69(15)	74(7)	100(15)
PFHpA	(C7)	58(14)	84(19)	76(4)	80(27)
PFOA	(C8)	65(14)	97(10)	72(3)	80(22)
PFNA	(C9)	73(13)	97(6)	68(2)	90(23)
PFDA	(C10)	71(10)	80(7)	71(3)	90(25)
PFUnDA	(C11)	67(11)	69(5)	77(1)	74(22)
PFDoDA	(C12)	68(7)	56(10)	82(6)	58(14)
PFTTrDA	(C13)	57(8)	54(3)	70(5)	61(16)
PFTeDA	(C14)	62(7)	64(7)	63(4)	79(16)

^a All native PFCAs were spiked into samples before extraction

表5. Elimination of PFCAs determined by the two-compartment model in mice after IV or gavage administration

a. Intravenous injection with a target dose of 0.313 $\mu\text{mol/kg}$

	PFHpA (C7)	PFOA (C8)	PFNA (C9)	PFDA (C10)	PFUnDA (C11)	PFDoDA (C12)	PFTTrDA (C13)	PFTeDA (C14)
Male								
C_1 ($\mu\text{mol/L}$)	0.8(0.3)	0.2(0.1)	0.2(0.1)	0.4(0.2)	0.3(0.1)	0.2(0.1)	0.2(0.1)	0.3(0.1)
λ_1 (hr^{-1})	1.59 (0.50)	0.03 (0.02)	0.18 (0.11)	1.20(0.37)	0.82 (0.25)	0.75 (0.33)	0.62(0.32)	0.38 (0.22)
C_2 ($\mu\text{mol/L}$)	3.8(0.9)	1.6(0.4)	1.3(0.4)	1.0(0.2)	0.7(0.2)	0.4(0.1)	0.4(0.1)	0.4(0.1)
λ_2 (hr^{-1})	0.20(0.1)	0.00014 (0.0001)	0.00004 6 (0.0000 4)	0.00013 (0.0001)	0.000052 (0.00004)	0.00035 (0.0002)	0.00058 (0.0003)	0.0043 (0.002)
AUC of 24 hours ($\mu\text{mol/L hr}$ (0 to 24hr))	22.2(8.4)	42.2(9.9)	33.2 (10.3)	24.2(6.0)	17.6(3.7)	9.5(3.1)	9.2(3.1)	9.0(3.2)
Volume distribution (L/kg) ^a	0.07 (0.01)	0.18 (0.04)	0.22 (0.06)	0.25(0.06)	0.33 (0.06)	0.57 (0.21)	0.58(0.20)	0.55 (0.18)
Female								
C_1 ($\mu\text{mol/L}$)	0.9(0.2)	0.5(0.3)	0.6(0.3)	0.4(0.2)	0.3(0.2)	0.5(0.2)	0.4(0.2)	0.5(0.2)
λ_1 (hr^{-1})	1.40 (0.63)	0.03 (0.02)	0.03 (0.02)	0.11(0.07)	0.61 (0.16)	1.50 (0.70)	0.98(0.51)	1.24 (0.62)
C_2 ($\mu\text{mol/L}$)	3.5(1.1)	1.7(0.5)	1.6(0.4)	1.3(0.3)	0.9(0.3)	0.5(0.1)	0.4(0.1)	0.3(0.1)
λ_2 (hr^{-1})	0.18 (0.08)	0.00021 (0.0001)	0.00042 (0.0003)	0.00046 (0.0003)	0.00043 (0.0003)	0.00023 (0.0002)	0.00027 (0.0002)	0.00079 (0.0005)
AUC of 24 hours ($\mu\text{mol/L hr}$ (0 to 24hr))	23.6 (14.2)	49.5 (11.9)	47.4 (11.0)	33.4(8.4)	22.2(6.9)	11.9(3.3)	9.3(2.6)	7.5(1.7)
Volume distribution (L/kg) ^a	0.08 (0.02)	0.15 (0.04)	0.15 (0.04)	0.20(0.05)	0.28 (0.08)	0.35 (0.10)	0.43(0.14)	0.43 (0.13)

表5. (続き)

b. Gavage administration with a target dose of 3.13 $\mu\text{mol/kg}$

	PFHpA (C7)	PFOA (C8)	PFNA (C9)	PFDA (C10)	PFUnDA (C11)	PFDoDA (C12)	PFTrDA (C13)	PFTeDA (C14)
Male								
C_1 ($\mu\text{mol/L}$)	-19(2)	-20(2)	-19(3)	-18(4)	-15(4)	-11(4)	-9(3)	-6(3)
λ_1 (hr^{-1})	0.8(0.3)	0.3(0.1)	0.3(0.1)	0.2(0.1)	0.2(0.1)	0.2(0.1)	0.2(0.1)	0.2(0.1)
C_2 ($\mu\text{mol/L}$)	29(6)	23(4)	20(4)	19(4)	16(4)	11(4)	9(3)	6(2)
λ_2 (hr^{-1})	0.18 (0.06)	0.025 (0.004)	0.014 (0.004)	0.021(0.01)	0.033 (0.01)	0.041 (0.01)	0.042 (0.01)	0.040 (0.01)
AUC of 24 hours ($\mu\text{mol/L hr}$ (0 to 24hr))	141(51)	348(76)	335(63)	277(44)	170(30)	90(21)	69(21)	44(17)
Female								
C_1 ($\mu\text{mol/L}$)	-15(1)	-17(5)	-16(5)	-14(4)	-8(3)	-4(1)	-4(0)	-3(1)
λ_1 (hr^{-1})	0.2(0.1)	0.2(0.1)	0.2(0.1)	0.2(0.1)	0.2(0.1)	0.2(0.1)	0.3(0.1)	0.2(0.1)
C_2 ($\mu\text{mol/L}$)	38(6)	30(3)	27(3)	22(3)	14(4)	6(1)	4(1)	3(1)
λ_2 (hr^{-1})	0.14 (0.05)	0.021 (0.0004)	0.0022 (0.001)	0.0070(0.002)	0.0081 (0.003)	0.0058 (0.002)	0.0021 (0.0002)	0.0048 (0.001)
AUC of 24 hours ($\mu\text{mol/L hr}$ (0 to 24hr))	215(156)	495(64)	535(63)	414(61)	248(78)	117(27)	84(23)	51(12)

c. Ratio of dose adjusted AUC (gavage average AUC / IV average AUC ratio, both are adjusted with administrated dose)

	PFHpA (C7)	PFOA (C8)	PFNA (C9)	PFDA (C10)	PFUnDA (C11)	PFDoDA (C12)	PFTrDA (C13)	PFTeDA (C14)
Male								
	0.6	0.8	1.0	1.1	1.0	0.9	0.7	0.5
Female								
	0.9	1.0	1.1	1.2	1.1	1.0	0.9	0.7

Values are mean (SD).

a. See text (Section 2.4)

表6. Distribution and excretion of PFCAs 24 hr after IV administration (0.313 μmol/kg)

	PFHxA (C6)	PFHpA (C7)	PFOA (C8)	PFNA (C9)	PFDA (C10)	PFUnDA (C11)	PFDoDA (C12)	PFTrDA (C13)	PFTeDA (C14)
Male (N=9), Average body weight of mice (g) 25.9 (1.5), Average of administrated dose (nmol) 8.2 (0.5)									
Serum ^a	nmol<0.03	<0.03	2.65(0.5)	2.23(0.4)	1.61(0.3)	1.13(0.2)	0.62(0.1)	0.50(0.1)	0.47(0.2)
	% ^b -	-	32.3%(4.5%)	27.2%(6.0%)	19.6%(4.1%)	13.7%(2.4%)	7.5%(1.5%)	6.1%(1.2%)	5.7%(0.9%)
Liver	nmol<0.03	0.10(0.2)	3.88(0.4)	5.62(0.9)	6.55(1.3)	6.43(1.4)	5.46(1.3)	5.97(1.4)	5.26(1.5)
	% ^b -	1.3%(2.6%)	47.4%(4.8%)	68.5%(12.3%)	79.9%(17.5%)	78.4%(9.2%)	66.6%(18.3%)	72.8%(18.7%)	64.2%(18.9%)
Kidney	nmol<0.01	0.02(0.04)	0.11(0.02)	0.09(0.02)	0.09(0.01)	0.10(0.02)	0.09(0.02)	0.16(0.03)	0.21(0.03)
	% ^b -	0.2%(0.5%)	1.3%(0.2%)	1.1%(0.1%)	1.1%(0.2%)	1.2%(0.2%)	1.2%(0.2%)	1.9%(0.4%)	2.6%(0.5%)
Brain	nmol<0.01	<0.01	0.01(0.003)	0.01(0.01)	0.02(0.01)	0.03(0.01)	0.02(0.01)	0.03(0.01)	0.03(0.01)
	% ^b -	-	0.1%(0.0%)	0.1%(0.1%)	0.2%(0.1%)	0.3%(0.1%)	0.3%(0.1%)	0.4%(0.1%)	0.4%(0.1%)
Adipose tissue ^c	nmol<0.01	0.01(0.01)	0.13(0.20)	0.05(0.03)	0.04(0.03)	0.05(0.04)	0.05(0.04)	0.09(0.06)	0.12(0.08)
	% ^b -	0.1%(0.1%)	1.5%(2.3%)	0.6%(0.4%)	0.5%(0.4%)	0.7%(0.4%)	0.6%(0.4%)	1.1%(0.7%)	1.5%(0.9%)
Urine	nmol8.31(5.1)	8.11(4.2)	0.61(0.4)	0.11(0.1)	0.021(0.027)	0.008(0.007)	0.004(0.004)	0.004(0.004)	0.003(0.003)
	% ^b 101.3%(27.5%)	99.0%(27.3%)	7.4%(4.5%)	1.3%(0.7%)	0.3%(0.1%)	0.1%(0.03%)	0.0%(0.02%)	0.1%(0.03%)	0.04%(0.01%)
Feces	nmol0.38(0.4)	0.26(0.4)	0.05(0.04)	0.04(0.02)	0.04(0.02)	0.05(0.02)	0.04(0.02)	0.06(0.03)	0.09(0.05)
	% ^b 4.7%(5.4%)	3.2%(5.3%)	0.6%(0.5%)	0.5%(0.2%)	0.5%(0.2%)	0.6%(0.2%)	0.5%(0.2%)	0.8%(0.3%)	1.1%(0.6%)
Total ^d	nmol8.72(1.9)	8.51(2.1)	7.44(0.8)	8.14(1.1)	8.37(1.4)	7.80(1.5)	6.30(1.4)	6.81(1.4)	6.19(1.5)
Total recovery ^d	% ^b 106.3%(48.2%)	103.7%(42.9%)	90.7%(9.8%)	99.2%(11.9%)	102.1%(17.3%)	95.1%(19.2%)	76.8%(18.3%)	83.1%(18.4%)	75.5%(18.6%)

表6. (続き)

	PFHxA (C6)	PFHpA (C7)	PFOA (C8)	PFNA (C9)	PFDA (C10)	PFUnDA (C11)	PFDoDA (C12)	PFTTrDA (C13)	PFTeDA (C14)
Female (N=9), Average body weight of mice (g) 20.1 (1.2), Average of administrated dose (nmol) 6.4 (0.4)									
Serum ^a	nmol<0.02	<0.02	2.01(0.8)	2.06(0.8)	1.45(0.5)	0.93(0.3)	0.48(0.2)	0.36(0.2)	0.27(0.3)
	% ^b -	-	31.5%(7.1%)	32.2%(9.7%)	22.7%(5.9%)	14.6%(3.5%)	7.5%(1.6%)	5.7%(1.6%)	4.2%(1.8%)
Liver	nmol<0.03	0.03(0.1)	1.93(0.3)	2.93(0.4)	3.41(0.5)	3.41(0.5)	3.00(0.5)	3.49(0.5)	3.01(0.4)
	% ^b -	0.5%(1.0%)	30.2%(4.1%)	45.8%(7.2%)	53.3%(8.9%)	53.3%(8.2%)	46.9%(6.7%)	54.6%(7.5%)	47.1%(6.4%)
Kidney	nmol<0.01	<0.01	0.09(0.01)	0.10(0.01)	0.10(0.02)	0.11(0.02)	0.10(0.02)	0.14(0.03)	0.16(0.03)
	% ^b -	-	1.4%(0.2%)	1.6%(0.2%)	1.6%(0.4%)	1.7%(0.4%)	1.6%(0.4%)	2.2%(0.5%)	2.5%(0.6%)
Brain	nmol<0.01	<0.01	0.01(0.002)	0.01(0.003)	0.02(0.01)	0.03(0.01)	0.03(0.01)	0.03(0.01)	0.03(0.01)
	% ^b -	-	0.1%(0.03%)	0.2%(0.06%)	0.4%(0.1%)	0.5%(0.1%)	0.4%(0.1%)	0.5%(0.2%)	0.5%(0.2%)
Adipose tissue ^c	nmol<0.01	0.01(0.01)	0.06(0.02)	0.07(0.05)	0.08(0.07)	0.09(0.08)	0.09(0.07)	0.15(0.09)	0.19(0.10)
	% ^b -	0.1%(0.2%)	0.9%(0.3%)	1.1%(0.7%)	1.3%(1.0%)	1.5%(1.2%)	1.4%(1.0%)	2.3%(1.2%)	2.9%(1.4%)
Urine	nmol5.05(1.7)	4.23(2.3)	0.41(0.3)	0.14(0.1)	0.03(0.01)	0.01(0.002)	0.004(0.003)	0.004(0.002)	0.003(0.003)
	% ^b 79.0%(29.1%)	66.1%(37.6%)	6.4%(3.8%)	2.2%(1.2%)	0.4%(0.2%)	0.1%(0.04%)	0.1%(0.05%)	0.1%(0.03%)	0.1%(0.04%)
Feces	nmol1.00(0.85)	0.84(0.85)	0.08(0.06)	0.06(0.03)	0.05(0.03)	0.06(0.03)	0.04(0.02)	0.05(0.02)	0.06(0.04)
	% ^b 15.6%(13.5%)	13.1%(13.5%)	1.3%(1.0%)	0.9%(0.4%)	0.8%(0.4%)	0.9%(0.4%)	0.7%(0.3%)	0.8%(0.4%)	1.0%(0.6%)
Total ^d	nmol6.13(1.8)	5.32(2.4)	4.09(0.5)	4.43(0.5)	4.61(0.6)	4.35(0.5)	3.68(0.5)	4.26(0.5)	3.83(0.5)
Total recovery ^d	% ^b 94.9%(43.4%)	79.9%(48.9%)	71.7%(8.2%)	84.1%(11.2%)	80.5%(10.3%)	72.5%(8.6%)	58.6%(6.6%)	66.2%(7.9%)	58.3%(7.2%)

Values are mean (SD). Lower values in parentheses are the mean percentages.

a. calculated by assuming 56 mL/kg-mice body weight for male-mice blood volume and 65 for female-mice (Richers et al., 1972)

b. % of administrated dose

c. calculated by assuming 2.3 % for mice body-fat percentage (Richers et al., 1972)

d. Total of Blood, Liver, Kidney, Brain, Adipose tissue, Urine and Feces.

表7. Distribution and excretion of PFCAs 24 hr after gavage administration (3.13 μmol/kg)

	PFHxA (C6)	PFHpA (C7)	PFOA (C8)	PFNA (C9)	PFDA (C10)	PFUnDA (C11)	PFDoDA (C12)	PFTTrDA (C13)	PFTeDA (C14)
Male (N=9), Average body weight of mice (g) 24.3 (1.6), Average of administrated dose (nmol) 77.1 (5.0)									
Serum ^a	nmol<0.32	<0.32	20.85(5.9)	23.74(3.8)	19.05(3.0)	10.96(2.0)	5.48(1.4)	3.88(1.3)	2.57(1.1)
	% ^b -	-	27.0%(6.4%)	30.8%(3.9%)	24.7%(3.1%)	14.2%(2.3%)	7.1%(1.7%)	5.0%(1.7%)	3.3%(1.5%)
Liver	nmol<0.36	<0.36	30.30(2.9)	54.11(7.1)	63.08(11.8)	69.48(10.0)	54.81(10.4)	51.24(9.7)	34.53(7.6)
	% ^b -	-	39.3%(3.1%)	70.2%(7.0%)	81.8%(12.3%)	90.1%(11.9%)	71.1%(10.9%)	66.5%(10.5%)	44.8%(8.8%)
Kidney	nmol<0.07	<0.07	1.02(0.3)	0.74(0.2)	0.73(0.2)	0.76(0.2)	0.74(0.2)	0.99(0.3)	1.12(0.3)
	% ^b -	-	1.3%(0.1%)	1.0%(0.1%)	0.9%(0.05%)	1.0%(0.1%)	1.0%(0.05%)	1.3%(0.1%)	1.5%(0.1%)
Brain	nmol<0.07	<0.07	0.10(0.1)	0.11(0.1)	0.18(0.1)	0.29(0.2)	0.21(0.1)	0.22(0.1)	0.16(0.1)
	% ^b -	-	0.1%(0.0%)	0.1%(0.1%)	0.2%(0.1%)	0.4%(0.1%)	0.3%(0.05%)	0.3%(0.04%)	0.2%(0.03%)
Adipose tissue ^c	nmol<0.11	<0.11	0.07(0.07)	0.06(0.06)	0.04(0.03)	0.03(0.02)	0.02(0.01)	0.02(0.01)	0.02(0.01)
	% ^b -	-	0.1%(0.1%)	0.1%(0.1%)	0.05%(0.04%)	0.04%(0.03%)	0.03%(0.02%)	0.03%(0.02%)	0.02%(0.01%)
Urine	nmol47.01(9.5)	36.42(26.2)	3.26(2.3)	0.32(0.2)	0.08(0.05)	0.03(0.02)	0.02(0.01)	0.02(0.01)	0.01(0.01)
	% ^b 61.0%(10.3%)	47%(31%)	4%(3%)	0.4%(0.2%)	0.1%(0.1%)	0.04%(0.02%)	0.02%(0.01%)	0.03%(0.01%)	0.02%(0.01%)
Feces	nmol5.90(5.6)	6.06(5.5)	1.38(0.9)	1.05(0.6)	0.99(0.5)	0.94(0.4)	0.83(0.4)	2.36(1.2)	4.73(2.0)
	% ^b 7.7%(7.6%)	7.9%(7.5%)	1.8%(1.2%)	1.4%(0.8%)	1.3%(0.7%)	1.2%(0.6%)	1.1%(0.5%)	3.1%(1.6%)	6.1%(2.7%)
Total ^d	nmol52.92(8.6)	43.25(23.9)	54.31(5.6)	67.74(8.3)	73.95(12.1)	78.06(10.0)	61.01(10.2)	59.16(9.4)	44.45(7.2)
Total recovery ^d	% ^b 68.6%(10.0%)	55.5%(28.5%)	73.9%(7.1%)	103.9%(8.6%)	109.1%(12.3%)	107.0%(11.3%)	80.6%(10.4%)	76.2%(9.7%)	56.0%(7.6%)

表7. (続き)

Female (N=9), Average body weight of mice (g) 20.6 (2.2), Average of administrated dose (nmol) 65.3 (7.1)									
Serum ^a	nmol	<0.22	24.56(4.4)	20.08(4.5)	16.70(4.2)	10.20(2.9)	5.41(1.5)	4.05(1.1)	2.79(0.7)
	% ^b	-	37.6%(4.8%)	30.8%(4.8%)	25.6%(4.9%)	15.6%(3.5%)	8.3%(1.9%)	6.2%(1.4%)	4.3%(0.8%)
Liver	nmol	<0.30	1.18(1.7)	17.68(3.2)	33.10(6.3)	41.48(8.0)	45.17(9.4)	37.32(8.4)	35.02(8.6)
	% ^b	-	1.8%(2.7%)	27.1%(5.0%)	50.7%(10.6%)	66.3%(13.8%)	69.2%(16.4%)	57.1%(14.8%)	53.6%(15.1%)
Kidney	nmol	<0.05	0.10(0.2)	0.90(0.3)	0.83(0.2)	0.81(0.2)	0.86(0.2)	0.81(0.1)	1.07(0.2)
	% ^b	-	0.2%(0.1%)	1.4%(0.1%)	1.3%(0.1%)	1.2%(0.05%)	1.3%(0.04%)	1.2%(0.04%)	1.6%(0.04%)
Brain	nmol	<0.06	0.07(0.02)	0.08(0.02)	0.15(0.04)	0.21(0.06)	0.17(0.05)	0.18(0.05)	0.13(0.04)
	% ^b	-	0.1%(0.01%)	0.1%(0.01%)	0.2%(0.02%)	0.3%(0.04%)	0.3%(0.04%)	0.3%(0.04%)	0.2%(0.03%)
Adipose tissue ^c	nmol	<0.11	0.04(0.01)	0.03(0.01)	0.04(0.01)	0.03(0.01)	0.03(0.02)	0.03(0.02)	0.02(0.02)
	% ^b	-	0.1%(0.03%)	0.1%(0.02%)	0.1%(0.03%)	0.05%(0.03%)	0.05%(0.05%)	0.05%(0.04%)	0.04%(0.03%)
Urine	nmol	43.10(13.3)	29.95(15.6)	2.62(1.5)	0.38(0.2)	0.10(0.1)	0.03(0.01)	0.01(0.005)	0.01(0.004)
	% ^b	66.0%(17.3%)	45.9%(21.5%)	4.0%(2.5%)	0.6%(0.3%)	0.1%(0.1%)	0.04%(0.02%)	0.02%(0.01%)	0.02%(0.01%)
Feces	nmol	3.68(4.3)	3.98(3.5)	0.93(0.6)	0.65(0.5)	0.62(0.4)	0.58(0.3)	0.47(0.3)	1.10(0.7)
	% ^b	5.6%(7.9%)	6.1%(6.1%)	1.4%(1.0%)	1.0%(0.7%)	1.0%(0.6%)	0.9%(0.6%)	0.7%(0.5%)	1.7%(1.3%)
Total ^d	nmol	46.78(13.4)	38.05(14.0)	39.06(6.5)	47.85(7.5)	52.54(8.2)	53.53(9.4)	43.14(8.2)	41.41(8.4)
	Total recovery ^d % ^b	71.6%(17.0%)	53.9%(21.1%)	71.7%(7.7%)	84.5%(12.6%)	69.1%(13.9%)	87.4%(15.6%)	67.7%(14.3%)	63.5%(14.8%)

Values are mean (SD). Lower values in parentheses are the mean percentages.

a. calculated by assuming 56 mL/kg-mice body weight for male-mice blood volume and 65 for female-mice (Richers et al., 1972)

b. % of administrated dose

c. calculated by assuming 2.3 % for mice body-fat percentage (Richers et al., 1972)

d. Total of Blood, Liver, Kidney, Brain, Adipose tissue, Urine and Feces.

表8. Urinary and fecal clearance of perfluoroalkyl carboxylates in mice

a. IV administration ^c Compound (carbon atoms)								
Agerage (mL/day/kg)	PFHpA (C7)	PFOA (C8)	PFNA (C9)	PFDA (C10)	PFUnDA (C11)	PFDoDA (C12)	PFTTrDA (C13)	PFTeDA (C14)
Male (N=9)								
Urinary clearance	336.7(93.5)	13.1(8.1)	2.9(1.6)	0.8(0.4)	0.4(0.1)	0.4(0.2)	0.4(0.3)	0.4(0.1)
Fecal clearance	10.7(18.1)	1.1(0.8)	1.0(0.4)	1.4(0.6)	2.4(0.9)	4.0(1.6)	6.3(2.5)	9.7(4.7)
Total clearance b	347.4(86.1)	14.2(8.4)	3.9(1.9)	2.2(0.9)	2.8(1.0)	4.4(1.6)	6.8(2.5)	10.0(4.6)
Female (N=9)								
Urinary clearance	216.3(120.9)	9.8(5.9)	3.6(1.9)	1.0(0.4)	0.4(0.1)	0.4(0.3)	0.5(0.3)	0.5(0.4)
Fecal clearance	40.4(43.6)	2.0(1.6)	1.5(0.7)	1.8(0.9)	3.0(1.4)	4.4(2.2)	6.7(3.1)	9.9(5.8)
Total clearance b	256.7(124.4)	11.8(6.1)	5.1(2.3)	2.8(1.2)	3.4(1.5)	4.8(2.4)	7.2(3.2)	10.4(6.0)
Total (Male; N=9, Female; N=9)								
Urinary clearance	276.5(121.8)	11.4(7.0)	3.3(1.7)	0.9(0.4)	0.4(0.1)	0.4(0.2)	0.4(0.3)	0.4(0.3)
Fecal clearance	25.5(36.3)	1.5(1.3)	1.2(0.6)	1.6(0.7)	2.7(1.2)	4.2(1.9)	6.5(2.8)	9.8(5.1)
Total clearance b	302.1(113.4)	13.0(7.2)	4.5(2.1)	2.5(1.0)	3.1(1.3)	4.6(2.0)	7.0(2.8)	10.2(5.2)
b. Gavage administration ^a								
Male (N=9)								
Urinary clearance	248.8(169.0)	9.2(6.2)	0.9(0.5)	0.3(0.2)	0.2(0.1)	0.2(0.1)	0.3(0.1)	0.3(0.1)
Fecal clearance	43.6(40.3)	4.0(2.5)	3.1(1.7)	3.6(1.8)	5.5(2.6)	9.2(4.1)	33.9(17.6)	106.0(46.6)
Total clearance b	292.5(153.8)	13.1(7.4)	4.0(1.7)	3.9(1.8)	5.7(2.6)	9.4(4.1)	34.2(17.6)	106.3(46.6)
Female (N=9)								
Urinary clearance	166.7(76.0)	6.6(3.8)	0.9(0.5)	0.3(0.2)	0.1(0.1)	0.1(0.1)	0.2(0.1)	0.2(0.1)
Fecal clearance	23.5(21.7)	2.4(1.5)	1.5(1.0)	1.9(1.1)	2.9(1.7)	5.1(3.2)	16.9(12.0)	48.5(38.1)
Total clearance b	190.2(21.7)	9.0(1.5)	2.4(1.0)	2.2(1.1)	3.1(1.7)	5.2(3.2)	17.1(12.0)	48.7(38.1)
Total (Male; N=9, Female; N=9)								
Urinary clearance	207.8(133.9)	7.9(5.1)	0.9(0.4)	0.3(0.1)	0.2(0.1)	0.2(0.1)	0.2(0.1)	0.3(0.1)
Fecal clearance	33.6(33.1)	3.2(2.2)	2.3(1.6)	2.7(1.7)	4.2(2.5)	7.1(4.1)	25.4(17.1)	77.3(50.8)
Total clearance b	241.4(128.6)	11.1(6.3)	3.2(1.7)	3.0(1.7)	4.4(2.5)	7.3(4.2)	25.6(17.1)	77.5(50.8)
c. Theoretical absorbed portions from the gut ^d (% of administrated dose)								
Male	94.1	98.7	99.1	99.2	99.3	99.4	97.5	94.4
Female	104.4	99.8	100.0	100.0	100.0	99.9	99.0	97.6
Total	98.3	99.2	99.5	99.6	99.6	99.6	98.2	96.0

Values are mean (SD).

a) PFCAs which eliminated between 0 to 24hr after gavage administration (gavage dose: 3.13 μ mol/kg)

b) Sum of urinary clearance and fecal clearance

c) PFCAs which eliminated between 0 to 24hr after IV administration. (IV dose: 0.313 μ mol/kg)

d) See text (Section 3.3)

表9. Urinary, biliary and fecal clearances of PFCAs in humans

(mL/day/kg) ^b	PFHpA (C7)	PFOA (C8)	PFNA (C9)	PFDA (C10)	PFUnDA (C11)	PFDoDA (C12)	PFTrDA (C13)	PFTeDA (C14)
Urinary clearance (Male=5, Female=5)	0.674(0.374)	0.044(0.01)	0.038(0.01)	0.015(0.01)	0.005(0.00)	0.005(0.00)	0.006(0.01)	< MDL ^d
Biliary clearance (Male=3, Female=2)	<MDL ^c	2.62(3.6)	1.20(1.2)	2.51(2.1)	3.02(3.0)	3.27(3.2)	3.57(3.3)	11.22(4.4)
Estimated fecal clearance ^a	-	0.052(0.05)	0.024(0.02)	0.050(0.04)	0.060(0.04)	0.065(0.04)	0.071(0.05)	0.224(0.20)
Total Clearance (Urinary clearance + Estimated fecal clearance)	0.674	0.096	0.062	0.066	0.065	0.070	0.077	0.224

Values are mean (SD).

a) See text (section 3.5)

b) calculated by assuming human body weight as 50kg,

c) PFHpA concentration in bile are less than method detection limits.

d) PFTeDA concentration in human urine are less than method detection limits.

表10. Concentration gradients of PFCAs between the serum and brain in mice and the serum and CSF in humans

Compound (carbon atoms)	PFHpA (C7)	PFOA (C8)	PFNA (C9)	PFDA (C10)	PFUnDA (C11)	PFDoDA (C12)	PFTrDA (C13)	PFTeDA (C14)
a. Whole Brain tissue in mice (Male N=9, Female N=9) ^b								
Brain tissue concentration (pmol/g) ^b	4(3)	25(7)	66(23)	66(23)	93(29)	82(23)	104(28)	97(27)
Brain /Serum ratio	<MDL(Serum)	0.015(0.01)	0.059(0.02)	0.059(0.02)	0.125(0.03)	0.211(0.06)	0.360(0.12)	0.413(0.15)
b. Cerebral spinal fluids in Human (Male N=6, Female N=1)								
Total								
CSF concentration (pg/mL)	<5.6	50.8(19.1)	18.2(8.1)	9.1(6.7)	19.4(25.7)	2.2(2.3)	3.3(3.9)	0.8(0.7)
CSF/Serum ratio	n.d.(n.d.)	0.021(0.013)	0.015(0.012)	0.015(0.016)	0.010(0.012)	0.016(0.022)	0.011(0.011)	0.025(0.024)
hydrocephalus (Male N=4)								
CSF concentration (pg/mL)	<5.6	36.7(8.8)	13.8(7.4)	5.6(3.9)	5.8(2.7)	0.5(0.0)	1.0(1.0)	0.4(0.2)
CSF/Serum ratio	n.d.(n.d.)	n.s. 0.013(0.005)	n.s. 0.007(0.003)	n.s. 0.005(0.002)	n.s. 0.003(0.003)	* 0.003(0.001)	n.s. 0.003(0.003)	* 0.011(0.005) n.s.
cerebral hemorrhage and liquorrhoea (Male N=2, Female N=1)								
CSF concentration (pg/mL)	<5.6	69.6(7.0)	24.1(5.0)	13.8(7.4)	37.4(33.5)	4.4(1.6)	6.5(4.1)	1.3(0.7)
CSF/Serum ratio	n.d.(n.d.)	n.s. 0.031(0.015)	n.s. 0.025(0.012)	n.s. 0.029(0.015)	n.s. 0.020(0.012)	* 0.035(0.024)	n.s. 0.021(0.008)	* 0.045(0.025) n.s.

Values are mean (SD).

a. Brain tissues are collected after 24hr IV injection. (IV dose: 0.313 μmol/kg)

b. * indicates values are significantly different between the CSF/Serum ratios (p<0.05 by Student's t test)

表 1 1. Levels of PFCAs in human urine and bile

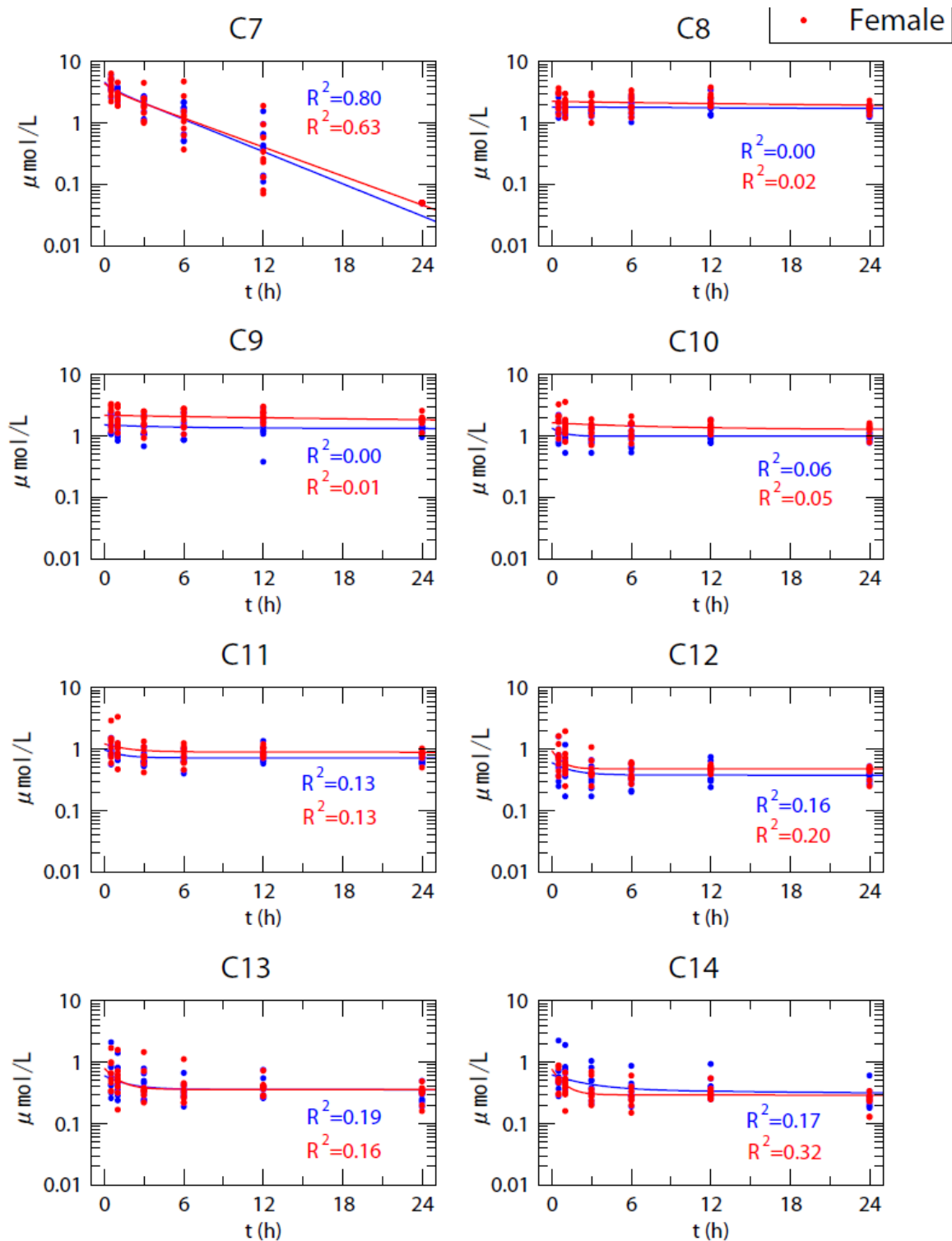
a. Urine-Serum pair

		Compound (carbon atoms)							
(Male=5, Female=5)		PFHpA	PFOA	PFNA	PFDA	PFUnDA	PFDoDA	PFTTrDA	PFTeDA
		(C7)	(C8)	(C9)	(C10)	(C11)	(C12)	(C13)	(C14)
Urine	ng/day	2.72(1.27)	13.15(5.46)	1.80(0.60)	0.26(0.20)	0.25(0.21)	0.02(0.02)	0.04(0.07)	<0.01
Serum	ng/mL	0.07(0.05)	5.96(2.82)	0.95(0.34)	0.33(0.11)	0.96(0.37)	0.07(0.03)	0.15(0.05)	0.01(0.01)

b. Bile-Serum pair

		Compound (carbon atoms)							
(Male=3, Female=2)		PFHpA	PFOA	PFNA	PFDA	PFUnDA	PFDoDA	PFTTrDA	PFTeDA
		(C7)	(C8)	(C9)	(C10)	(C11)	(C12)	(C13)	(C14)
Bile	ng/day	<332	562(300)	125(105)	134(156)	385(441)	54(64)	90(112)	37(38)
Serum	ng/mL	0.21(0.11)	8.17(7.78)	2.35(1.78)	1.23(1.39)	2.79(2.81)	0.31(0.29)	0.44(0.44)	0.06(0.02)

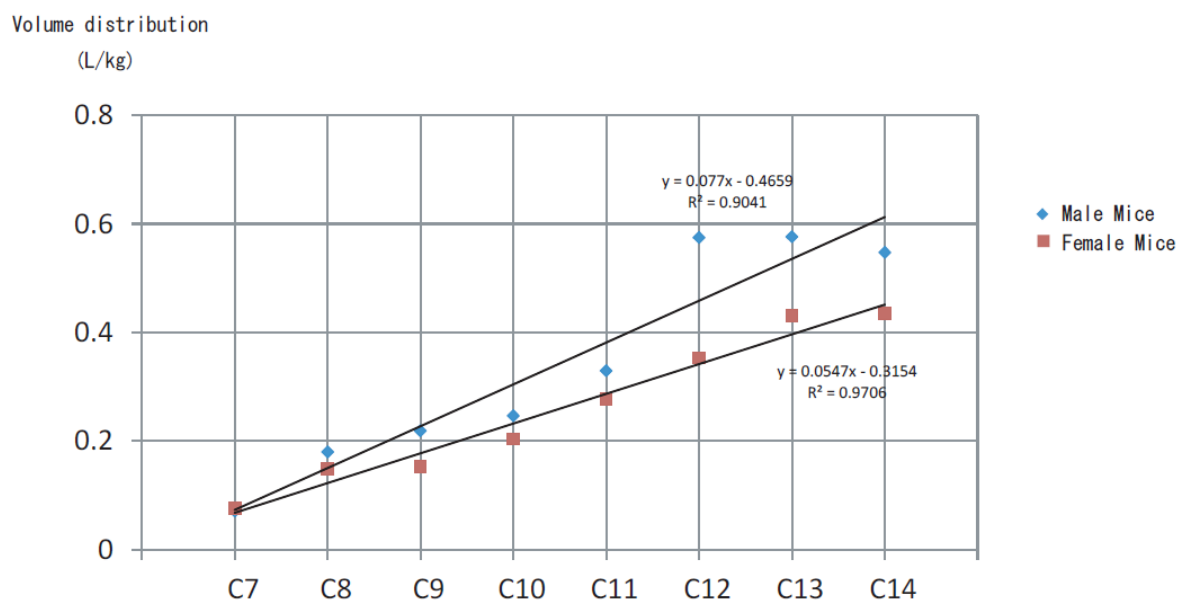
Values are mean (SD).



☒ 1. Simulated serum concentrations in mice after IV administration (0 to 24 hr).

Values derived from 表 1.

Dots indicate the observed values with IV administration.



☒ 2. Volume distribution of IV administered PFCAs in male and female mice

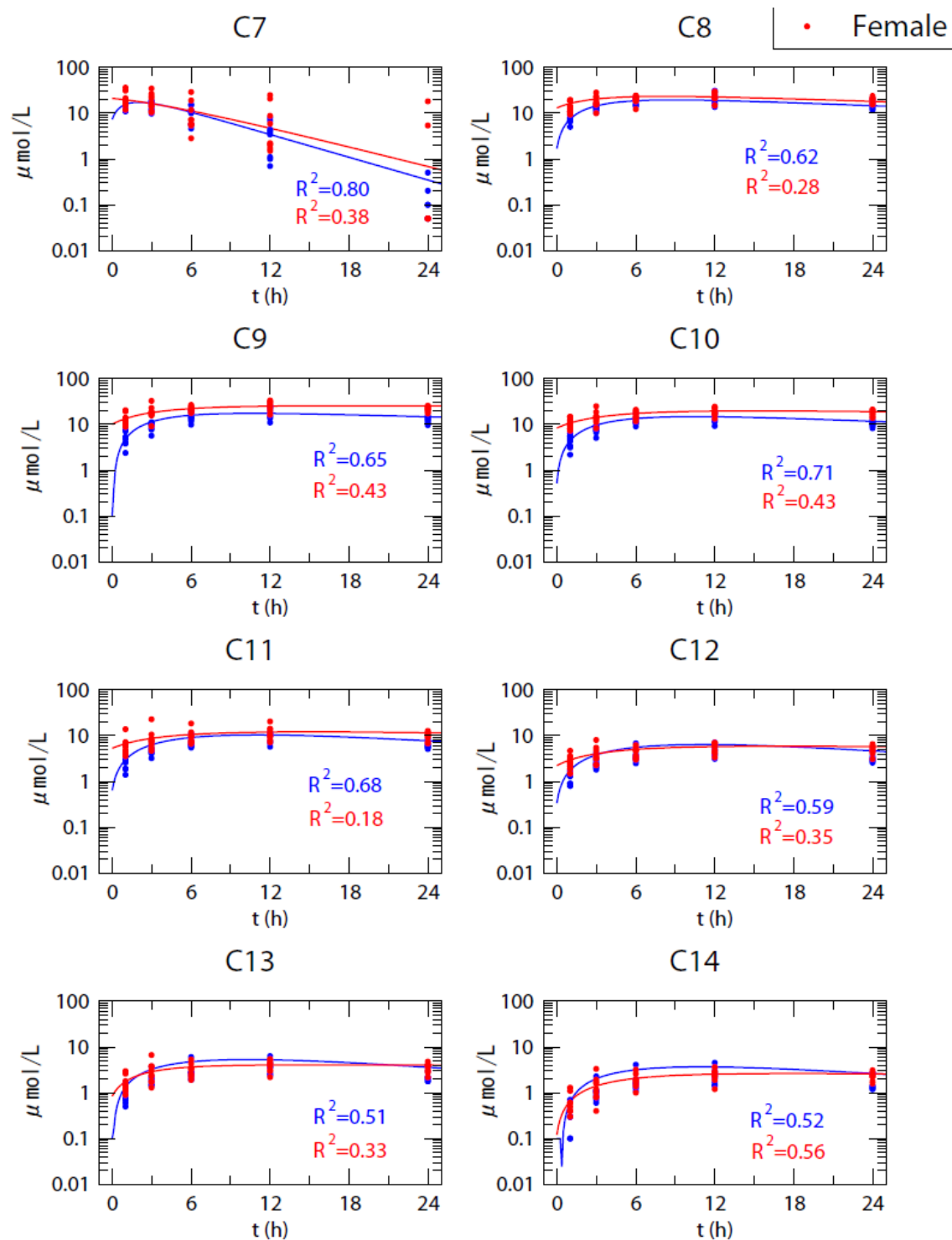
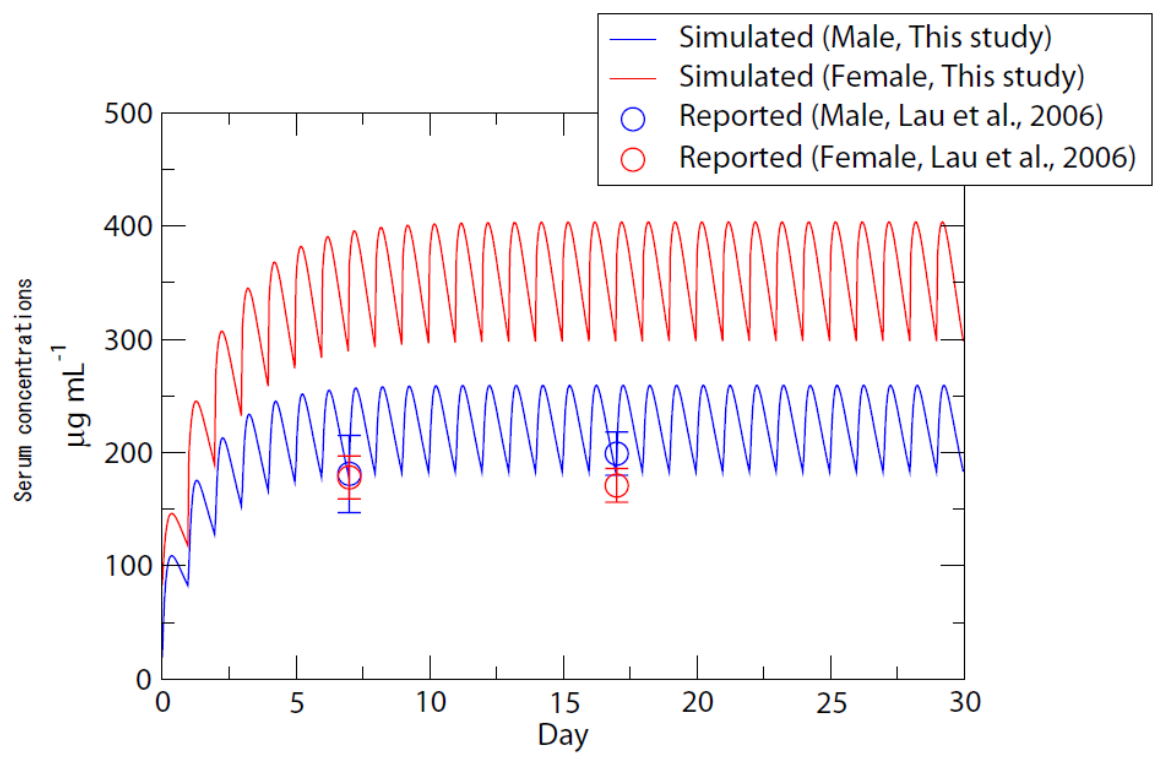


图 3. Simulated serum concentrations in mice after gavage administration (0 to 24 hr).

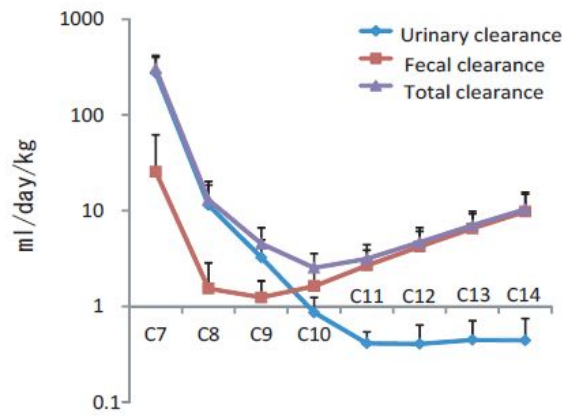
Values derived from 表 1.

Dots indicate the observed values with gavage administration.

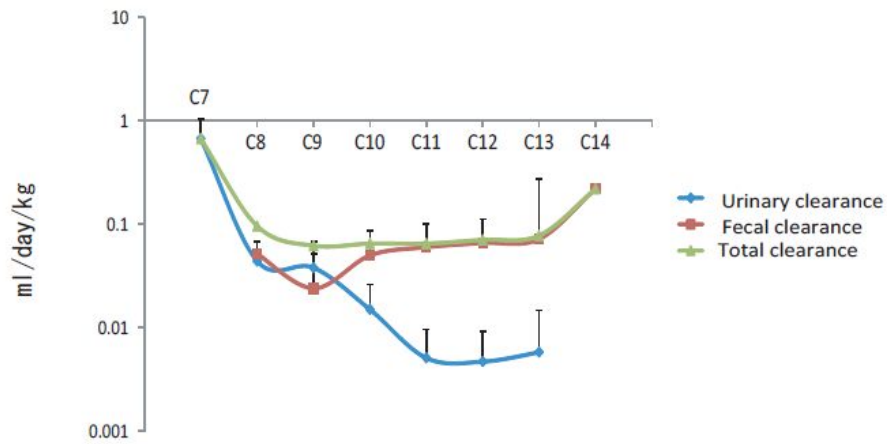


☒ 4. Simulated serum PFOA levels with repeated daily dosing

a. Mice PFCA clearances (IV administration)



b. Human PFCA clearances



c. Comparison of PFCA clearances in mice and human

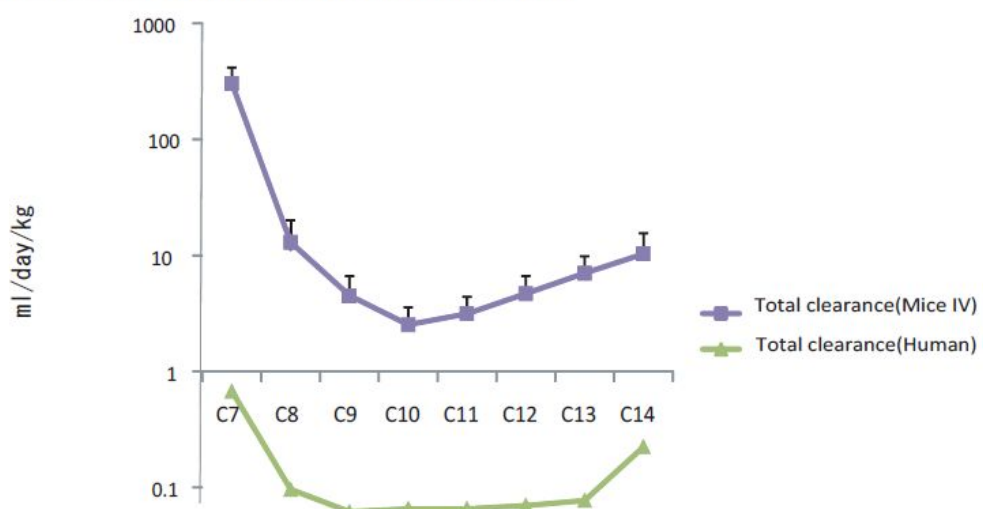


图 5. PFCA clearances in mice and humans

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）
分担研究報告書

系統的持続的な試料の収集と他機関への試料の提供

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	人見 敏明	京都大学大学院医学研究科・特定講師
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

化学物質曝露を評価し、過去の曝露と現在の曝露を評価するための試料を採取した。試料収集を開始し、京大大学生体試料バンクへ成人男女の血液(血清、全血)130検体、母乳25検体、陰膳食事201検体、海外流通食品5検体を収納、登録した。また他機関へ、尿試料102検体(1990年代~2010年)、母乳試料30検体(日中韓2008年)、陰膳食事試料30検体(150日食分・日中韓1990年代、2008年)を試料バンクから提供を行った。

試料のバンキングについて理解を得るための医療従事者・市民フォーラムを行った。

A．研究目的

POPs のリスク評価に向けたヒト曝露の長期モニタリングのための試料バンクの創設が 2003 年に行われた。以降、試料の継続的な収集が続いている。今年度は東日本大震災の被災地での経年的変化を捉えることを含めて、国内の成人男女を対象に血液、母乳、食事の各試料を収集し、ヒト生体試料バンクに収納・登録した。また近年、中国での食品偽装などによりどのような物質に対処すべきかを検討するため、上海市で油脂試料を収集した。

バンクの試料は他機関の研究者の申請に応じて、提供を行ってきた。

また継続的に試料のバンキングを行っていくため、対象となる地域住民

にこれまでの研究の成果、意義を伝え、また意見を交換するためのフォーラムを地域の健康推進企画を通じて行った。

B．研究方法

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

試料収集にあたり、採血器具の違いによるコンタミネーションを極力抑え、均一な状態を確保するため、血液採取については同一の採血針、抗凝固

剤(エチレンジアミン四酢酸二カリウム塩)入り採血管を使用し、同一規格の凍結保存チューブに分取した。母乳試料はアセトン洗浄したポリプロピレン製チューブを京都大学より送付し、各施設で用いている採乳容器から移す、もしくは直接採乳した。

採取された血液はエチレンジアミン四酢酸二カリウム塩により抗凝固処理された。血液は全血 3 mL を分取した後、遠心分離器により 3000 rpm で 10 分間遠心し、血漿成分を分離し、おおよそ 3 mL を分取した。

試料の提供とともに質問紙の回答をお願いし、年齢、転居歴、生活習慣についての情報を得た。

血液試料

血液試料は、これまでの継続性を考慮して、京都府宇治市にて収集した。京都府ではこれまでに 1993 年に血液試料、1996 年から 1997 年に血清試料および陰膳食餌試料が、近年では 2003 年から 2012 年にかけて血清試料および食餌試料に加えて、母乳試料も収集されている。以上の点から今年度も採取対象地域とした。市民を対象とした健康推進企画において、研究の趣旨を説明して、協りに前向きな参加者に、対面での口頭説明を加え、同意書に書面にて同意を頂いた方を対象とした。

またこの際にこれまでの研究の成果についても紹介する講演を行った。

母乳試料

母乳試料は、昨年度、東日本大震災の影響を評価するために宮城県仙台市を選定した。この対照としてこれまでの継続性、また協力機関の状況から、宇治、高山2地点を選定した。母乳の収集においては、各研究協力機関で出

産後、母乳外来、乳幼児健診を受診されている母親を対象として説明を行い、書面にて同意書をいただいた方を対象とした。

食事試料

食事検体は成人住民が市場、小売店、自家栽培野菜を利用して一日3食の食事献立とする統一的方法を用い、採取法は陰膳法でおこなった。

また福島県相双地方3地域において陰膳法で一日食の試料を収集した。

調査は、2013年8月と11月に行った。各食事検体は献立票に料理名を記録し、食物・食材毎に仕分けしたものを電子天秤で秤量し、重量を記録した。秤量後、一日分の全量を大型ホモミキサで粉碎・ホモジナイズ処理を行った。各検体は凍結乾燥を行い、500mL容ポリビンに移して常温で、試料バンクに収納した。

海外流通食品の収集

上海市で、スーパーマーケットにおいて複数銘柄の油脂試料を購入した。

他機関への試料の提供

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

食事からの臭素系難燃剤の摂取を評価するため、母乳試料 30 検体(日中韓 2008 年)、陰膳食事試料 30 検体(150 日食分・日中韓 1990 年代、2008 年)を第一薬科大学に提供した。

C. 研究結果

血液試料の収集

平成 25 年度を通じて、宇治市において血清、全血試料各 130 検体を収集した。

母乳試料の収集

平成 25 年度を通じて、国内 2 地域において母乳試料 25 検体を収集した。

食事検体の収集

陰膳法では福島県で 201 食日分の検体を試料バンクに収納、登録した。

海外流通食品の収集

上海市における食用油・乳類の試料 5 検体を採取し、試料バンクに収納、登録した。

他機関への試料の提供

第一薬科大学に提供した母乳試料 30 検体（日中韓 2008 年）、陰膳食事試料 30 検体（150 日食分・日中韓 1990 年代、2008 年）の分析結果は本報告書に記載した。

名古屋大学へ提供した尿試料 102 検体（1990 年代～2010 年）は現在分析を実施している。

D．考察

国内での血液、母乳、食事の各検体の採取は 2003 年度の試料バンク創設からほぼ同一方法で行われた。2013 年度の試料収集ではこれまでの対象地域で継続することを基本とした。協力機関への依頼、参加が得られ、当初の目標通りに収集がなされた。また中国で脂溶性物質を含むと考えられる個別品目について採取した。

血液試料、母乳試料は食事試料からのデータを補完する目的で採取されており、一定の年齢層を対象に提供を依頼し、当初の予定の通り収集できた。東北地方ではこれまでも食事試料を収集してきたことから、東日本大震災の前後での変化を評価でき、有益な情報をもたらすことが期待される。

以上のように検体の収集に当たっ

てはこれまで生体試料バンクに収集された試料を考え、それに相応する機関、個人に協力をお願いしたことで、収集された食事、血液、母乳の各試料のほとんどが目標通りに実施できたことが確かめられた。また、倫理面にも十分に対応を施した検体収集を進めることができた。

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

拡充された試料バンクは食品衛生、環境保健研究者へ提供できると期待される。

E．結論

初期の全体計画に沿って食事 201 検体、同一対象者の血清と全血が共に 130 検体、母乳 25 検体が収集された。検体収集にはそれぞれの専門的な機関に全面的な協力を得て実施できた。その結果、将来のモニタリングの土台となる試料収集と収納および関連するライフスタイル情報が収載できた。

他機関へ、尿試料 102 検体、母乳試料 30 検体、陰膳食事試料 30 検体を試料バンクから提供を行った。

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

なし

H．知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む）

なし

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）
分担研究報告書

都市圏水環境における残留性有機フッ素カルボン酸の排出源推定

研究代表者 小泉 昭夫 京都大学大学院医学研究科・教授
研究協力者 新添 多聞 京都大学防災研究所・研究員
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

本研究では、都市部から河川への残留性有機フッ素カルボン酸（PFCAs）の排出の実態を明らかにすることを目的に、淀川水系の河川水を採取、分析して、下水処理場を通じた排出という観点から解析を行った。その結果、桂川、宇治川、木津川全体でPFCAsの排出量は 237 ng day^{-1} となった。組成としては炭素数8の成分が卓越するが、地域によっては長鎖成分が多く含まれていた。下水処理場からの排出量に対する因子分析の結果、2つの排出源が存在し、その1つは食料品製造業との関連が示唆され今後食品の汚染については評価が必要と考えられた。

A．研究目的

有機フッ素カルボン酸（perfluorinated carboxylic acids, PFCAs）のうち、8つの炭素原子を持つペルフルオロオクタノ酸（perfluorooctanoic acid, PFOA）は界面活性剤、撥水剤、塗料、フッ素樹脂製造用添加剤などとして1940年代より工業、商業目的で広く活用されてきた。近年その残留性、生物濃縮性に注目が集まるとともに、動物実験で発がん性が示唆され（Abdellatif et al., 1991; Nilsson et al., 1991）、疫学調査でヒト胎児の成長毒性が示唆される（Fei et al., 2009; Washino et al., 2009）など、健康影響が懸念されるようになった。2006年、米国環境保護庁の呼びかけでフッ素樹脂大手8社がPFOA自主削減プログラムを開始す

るなど、PFOAの製造と排出削減の取り組みが進んでいる（EPA, 2013; ダイキン工業, 2012）。一方、フッ素樹脂製造過程以外の排出源についてはいまだ不明な点が多い。また、PFOA以外のPFCAsやその前駆体については、その用途や生産量などほとんど明らかになっていない。

筆者らが2000年代前半と後半に日本で採取したヒトの血清におけるPFCAs濃度を調べたところ、炭素数7と8のPFCAs濃度には減少が見られたが、炭素数9から13のPFCAs濃度はすべて増加しており、炭素数7から13のPFCAs濃度の総和も上昇していた（Harada et al., 2011）。また、2010年頃に日本、韓国、中国で採取された母乳を調べたところ、日本の試料において炭素数8から10のPFCAsが韓国、中国より有意に高いレベルで

検出された(Fujii et al., 2012a)。

一方、北海道、京都、沖縄で採取した食事試料における炭素数 8 から 14 の PFCAs 全体の濃度を 1992 年と 2000 年代後半で比較したところ、有意に上昇していた(Fujii et al., 2012b)。また、家庭の掃除機ダスト試料を調べたところ、77 検体のほとんどから PFCAs が検出され、炭素数 9、8、11 の順で濃度が高かった(Liu et al., 2011)。さらに、原材料として PFCAs の前駆体であるフッ素化合物を含んでいる化粧品等の調査を行ったところ、化粧品 15 製品中 13 製品、日焼け止め 9 製品中 8 製品から PFCAs が検出された(Fujii et al., 2013)。

以上の調査結果はいずれも PFCAs の未知の汚染源が存在し、ヒトの曝露源となっていること、特に炭素数 9 以上の長鎖成分で増加傾向にあることを強く示唆している。従って、食の安全を確保するためにも、環境中 PFCAs の排出源を探る必要がある。

排出源として、特定の事業所における生産活動による排出と不特定の一般家庭などにおける消費活動による排出が考えられるが、いずれの場合も下水処理場を通して河川に放流される。淀川水系は主に宇治川、桂川、木津川から成り、京都府と大阪府の府境で合流し淀川となる。京都府南部の都市部から出る排水はすべて淀川水系の処理場を通じて淀川に注ぐ。7つの下水処理場の処理人口の総計は 200 万人を超えており、大都市圏を流域にもつ水系と考えてよい(表 1)。本研究では淀川水系の河川水を採取し、炭素数 7 から 14 の PFCAs (PFHxA、PFOA、PFNA、PFDA、PFUnA、PFDoA、PFTrA、PFTeA; 表 2) の濃度を測定して河川による輸送量の推定を行い、下水処理場を通じた大都

市圏からの排出量を見積もった。

B . 研究方法

B-1. 河川水採取

2013年5月8日に淀川水系の44地点で河川水を採取した(表 3、図 1)。比較のために、PFOAの大規模な排出源として知られてきた摂津市に位置するフッ素樹脂製造拠点(Saito et al., 2004; Niisoe et al., 2010)を管轄地域に含む下水処理場の排水も採取した(図 1 ; P45)。川の表層水を汲み上げ、メタノールと純粋で洗浄したポリエチレン容器に懸濁物とともに2L採取し、4 で保存した(図 2)。

B-2. 分析

水試料500mLは石英フィルターで濾過し、逆相陰イオン交換樹脂カートリッジに通水し、1%アンモニアメタノールで溶出した。石英フィルターは50mLメタノールで洗浄し、懸濁物中のPFCAsを抽出した。

メタノール抽出液を乾燥させ、臭化ベンジルでエステル化し、GC/NCI/MSにて分析した。

B-3. 河川流量とPFCAsの輸送量および排出量の推定

河川によるPFCAsの輸送量を評価するため、サンプリング当日の河川流量の推定を行った。淀川水系の流量データは必ずしも充実しているとはいえないが、国土交通省より2000年代前半の河川流量が提供されている(<http://www1.river.go.jp/>)。気象庁アメダス(<http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php>)によれば、淀川水系流域では同年4月30日に10ミリを超える降水が観測されたのを最後に、採取日までの1週間は目立った

降水は確認されておらず、サンプリング当日は静穏時に典型的な流量であったと思われる。利用できる河川流量データのうち、本研究の採取日までのおよそ1週間の天候が似通っていたと思われる2004年5月3日の値を用いた(表4)。ただし、同日の測定データの欠損している観測点については異なる日の中から同様の条件のデータを選んだ。

サンプリング地点における流量は、近傍にその河川流量の観測点が存在するときはその値を用い、存在しないときは河川合流部における流量のバランスから推定した。また、下水処理場からの排水量は処理能力(表1)に一定の稼働率を掛けた値とし、桂川と西高瀬川の合流部のバランスから推定した。

$$F_{P4} + C_{SP2} \times f + F_{P12} + F_{P8} = F_{P5} \quad (1)$$
$$F_{P8} = F_{P7} + C_{SP1} \times f$$

ここで、 F は測定地点における流量、 C は処理能力、 f は稼働率。P7では晴天時はほとんど流れがないため(図3)、 F_{P7} は F_{P8} の1%と仮定した。

測定地点におけるPFCAs濃度に推定流量を掛けた値をその地点における輸送量とした。河川流量とPFCAs輸送量は河川の合流地点の上流側の和と下流側の値を比較して検証を行った。次に、下水処理場(SP1-7)の最も近くの下流側と上流側の測定点における輸送量の差をその下水処理場の管轄地域からの排出量とした。ただし、SP2については桂川と西高瀬川に放流しており(京都市, 2013)、それぞれの放流量が不明である。そこで、桂川と西高瀬川の合流点の上流側と下流側の輸送量のバランスを仮定してSP2からの排出量を求めた。

桂川の上流には南丹市と亀岡市、木

津川の上流には伊賀市と名張市が存在し、下水処理場からの排水を放流している。また、宇治川(瀬田川)および琵琶湖疏水の上流は琵琶湖であるが、滋賀県の下水処理場の排水はすべて河川を通じて琵琶湖に放流される。そこで、本研究では測定点のうち桂川最上流部(P1)、宇治川(瀬田川)最上流部(P16)と琵琶湖疏水取水口(P27)、木津川最上流部(P30)におけるPFCAsは、それぞれの上流部の地域を管轄する仮想の下水処理場(SP01-03)からの排水であるとみなして評価した(表5)。

B-4. 因子分析

7つの下水処理場(SP1-7)および3つの仮想の下水処理場(SP01-03)について、PFCAs排出量を変数として因子分析を行った。軸の回転にはバリマックス回転を用いた。分析にはR Version3.1.0(The R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria)を使用した。

B-5. 排出源の推定

河川水中PFCAsの排出源について推定するため、面源と点源の可能性について検討を行った。面源の指標として下水道の処理人口、点源の指標として2012年度工業統計の製造品出荷額(経産省, 2013)との比較を行った。その際、工業統計は行政区ごとに与えられるため、各下水処理場の管轄地域について和をとった値をPFCAsの排出量と比較した(表5)。ただし、SP1とSP2の管轄地域は行政区で分離することができないため、全体を一つの処理場(SP1+2)として扱った。

C. 研究結果

C-1. 河川水中PFCAs濃度

採取地点における河川水中PFCAs濃度を表6および図4に示す。淀川水系で最も濃度が高いのは西高瀬川の下水处理場(SP2)上流部(P7)で、PFOA濃度が 45.4 ng L^{-1} であった(図4b)。比較のために採取した摂津市の下水处理場排水(P45)と同程度であった。前述の通り、P7付近では晴天時は流量がほとんどなく(図3)、地中に堆積した汚染物質が雨水とともに流れ出して滞留することで知られている。

琵琶湖から流れ出る宇治川(図4e)と琵琶湖疏水(図4f)、上流部に工業地域が存在する木津川(図4g)、都市部を流れる山科川(図4f)の測定点は全体が同程度の汚染レベルである。淀川も同程度であるが、河口に近づくにつれて流量が増していくため、濃度は下がっていく(図4h)。同じく工業地域が上流部に存在する桂川は下水处理場からの排水の流入により濃度が大きく増加するが、それ以前の濃度は非常に低い(図4a)。また、山間部を源流に持ち、主に住宅地を流れる鴨川および高野川の濃度は低い(図4c、d)。

C-2. 組成

図5は各測定点における河川水中PFCAsの組成である。淀川水系における典型的な組成は宇治川(図5e)、淀川(図5h)に見られるように、PFOAがおよそ40%を占め、次いでPFHpAとPFNAがそれぞれ20%強を占めるといものである。PFOAの排出源である摂津市(P45)での組成も同様であるが(図5b)、淀川水系の水源である琵琶湖でもすでに同様の組成が見られる(図5e、f)。また鴨川(図5c)、

高野川(図5d)、山科川(図5f)でも同様である。これに対して、桂川ではPFOAが最大の成分ではあるが、全体に占める割合が小さく、他の河川に比べて長鎖成分(PFNA、PFDA、PFUnA)の占める割合が大きい(図5a)。木津川ではPFOAの占める割合が他の河川よりも大きく、5割を超える(図5g)。西高瀬川は下水处理場SP2の上流部と下流部で組成が異なり、上流部では淀川水系に典型的な組成であるが、下流部ではPFNAがPFOAと並んで主成分となる。

C-3. 河川流量とPFCAsの輸送量および下水处理場からの排出量の推定

観測値を基に静穏時の淀川水系の流量を推定したところ、桂川、宇治川、木津川の合流下部における流量は $144 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ における比率はそれぞれ18%、73%、9%であった(表7、図6)。国土交通省による流量データのうち、3点における観測値は推定には使用しなかったが、推定値とよく一致している。式(1)から推定した下水处理場の稼働率は61%となったが、晴天時においても下水处理場からの排水が河川流量を増大させていることがわかる。

河川中PFCAs濃度に推定流量を掛けて淀川水系による輸送量を算出した(表8、図7)。淀川の本流である宇治川による輸送量は、琵琶湖から流れ出す時点で既に大きい(図7e)。下流に向かって徐々に増えていくが、P25の下流で大きく増大している。宇治川はP25とP26の間でSP6の排水が流入し、P26とP34の間で桂川、木津川と合流するが、合流点の上流側の測定地点(宇治川:P26、桂川:P6、木津川:P33)における輸送量を比較すると、桂川の影響も大きいことがわかる。

桂川による輸送量はP4までは小さいが、SP1とSP2の排水が流入するP4とP5の間、SP5の排水が流入するP5とP6の間で大きく増大する(図7a)。木津川による輸送量は合流部での桂川、宇治川よりは小さいが、P4までの桂川よりは遥かに大きく、SP7の排水の流入地点より上流のP30の値とあまり変化がない(図7g)。琵琶湖疏水は流量が小さいため輸送量は小さい(図7f)。山科川による輸送量はさらに小さいが、P4までの桂川よりも大きい。西高瀬川は濃度は非常に大きかったが流量が小さいため、輸送量としては小さい(図7b)。鴨川、高野川による輸送量は無視できるほどに小さい(図7c、d)。宇治川水系合流後のP34における輸送量はPFCAs全体で237 g day⁻¹であり、成分としてはPFOA、PFHpA、PFNAの順で多く、それぞれ56%、24%、11%を占める。

推定輸送量の検証のため、河川合流地点の下流部の推定値と上流部の推定値の和を比較したところ非常に高い相関が見られた(図8)。ただし、対数スケールでの回帰直線の傾きが0.983となることから、下流側で若干の過小評価となる傾向がある。

下水処理場の下流部と上流部の輸送量の差から、それぞれの排出量を推定した(表9、図9)。B-3で述べた通り、桂川、宇治川、木津川の上流部についても仮想の下水処理場があるとして評価した。ただし、PFDoA、PFTrA、PFTeAは推定輸送量が非常に微量であり解析が困難であるため、PFHpA、PFOA、PFNA、PFDA、PFUnAについて行った。PFCAs全体の排出量はSP5、SP02、SP6の順で大きく、それぞれ77.4、71.9、64.2 g day⁻¹であった。主要成分であるPFOAの排出量で見ると、SP02、SP6、SP5の順

で大きく、それぞれ38.6、35.2、20.1 g day⁻¹である。SP5はPFCAsの排出量が多いだけでなく、PFNA、PFDA、PFUnAの長鎖成分が多いという点でも特異的である。

C-4. 因子分析

排出源について検討するため因子分析を行った。PFCAs排出量を変数として2つの因子を抽出したところ、バリマックス回転後の因子寄与率は第1因子が0.494、第2因子が0.456となり、適合度検定のp値は0.007となった。因子負荷量から、短鎖成分(PFHpA、PFOA)は第1因子、長鎖成分(PFDA、PFUnDA)は第2因子の影響を受け、中間のPFNAは双方の影響を受けていることがわかる(表10)。

図10は各下水処理場の因子得点の散布図である。SP5のみが第2因子を持ち、その他は第1因子の軸に沿うように並んでいることから、長鎖成分が多いという特性を有するSP5は特異な排出源を持つことが強く示唆される。また、SP1、SP3、SP4、SP7、SP01はほぼ同じ位置で重なっている。

C-5. 排出源の推定

下水処理場の第1因子得点と処理人口とを比較したところ有意な相関が得られた(図11、 $p=0.018$)。

工業統計の製造品出荷額は産業分類ごとに値が与えられる。因子分析の結果から特異であると判定されたSP5を除く下水処理場からのPFCAs推定排出量と比較したところ、「食品製造業」の出荷額と高い相関が得られた(図12)。特にPFOA、PFNA、PFDA(炭素数8-10)で相関が高いが、PFUnA(炭素数11)は相関が比較的低い。ただし、桂川上流のSP01は、該当地域である南丹市、亀岡市での出

荷額の大きさに対してPFCAsの排出量が非常に低く、常に回帰直線による予測値との差が大きい。

D . 考察

本研究では淀川水系の河川水中PFCAs濃度の測定値から河川による輸送量を推定した(表8)。成分として卓越するのはPFOAで、その輸送量は桂川、宇治川、木津川合流点の下流側(P34)で 133 g day^{-1} となった。これは気象条件による変動を考慮しなければ年間49 kgに相当する。Zushi et al. (2011) は東京湾に注ぐ6つの河川のPFCAs排出量を評価しているが、PFOAについては年間4.7–28.0 kgとなっており、本研究による評価値はこれより大きい。2003年の調査で関西の飲料水中PFOA濃度が高いことが報告されているが(Saito et al., 2004)、現在の飲料水中PFCAs濃度を他の地域と比較してみる必要がある。

淀川水系の中で最も寄与の大きいのは本流である宇治川であるが、琵琶湖から流れ出す地点(P16)でのPFCAs輸送量は木津川との合流点の上流側(P26)における輸送量のおよそ3分の1強におよぶ。木津川では上流部の影響はさらに顕著であり、PFOA輸送量は最上流部(P30)とあまり変化が見られない。これに対して桂川では京都市内の下水排水が流入するまではPFCAs輸送量は非常に小さかった。

次に、桂川、宇治川、木津川の上流部に、該当する地域に相当する仮想の下水処理場があると仮定し、下水処理場を通じた地域からのPFCAs排出という観点から評価を行った(表9)。排出量の最小、最大はそれぞれ 2.13 g day^{-1} (SP01)、 77.4 g day^{-1} (SP5)

と幅があった。因子分析の結果、SP5以外には共通の排出源(第1因子)が存在し、SP5には別の排出源(第2因子)が影響していることが強く示唆された(図10)。また、因子負荷量から、第1因子は短鎖成分、第2因子は長鎖成分に影響を与える排出源であることも示唆される。

排出源を推定するため、面源の指標として処理人口、点源の指標として工業統計の製造品出荷額を用いて比較を行った。因子分析により排出量から抽出した第1因子と都市の規模を表す処理人口には有意な相関が見られた(図11)。筆者らは化粧品や日焼け止め製品の多くにPFCAsが含まれていることを確認しており(Fujii et al., 2013)、生活排水が第1因子に影響している可能性がある。

工業統計の値は23の産業分類ごとに与えられるが、その中でPFCAs排出量と最も高い相関が得られたのが食料品製造業であった。近年、食品の撥水、撥油性包装材のコーティングにPFCAsの前駆種であるpolyfluoroalkyl phosphate esters(PAPs)が使用されており、実際に市場に流通する食品からPAPsおよびPFCAsが検出されたという報告がなされている(Trier et al., 2011; Gebbink et al., 2013)。PFHpAで比較的相関が低いことやSP01のように回帰直線から大きくはずれる測定点もあることから(図12)、因子分析で示された第1因子との関連を断定することはできないが、可能性を否定することもできない。

E . 結論

本研究では都市部におけるPFCAs排出の実態を明らかにすることを目

的に、淀川水系の河川水を採取、分析して、下水処理場を通じた排出という観点から解析を行った。

冒頭に述べた通り、摂津市にはフッ素樹脂の製造拠点が存在し、PFOAの排出源であったが、環境への排出は2012年には2000年比で99%以上削減されたとされている(ダイキン工業, 2012)。実際、本研究による摂津市の下水処理場からの排水(P45)のPFOA濃度は2003年の報告値(Saito et al., 2004)より3桁減少していた。

しかしながら本研究の成果により、PFOAは現在も淀川に排出されており、その量は桂川、宇治川、木津川全体で133 ng day⁻¹に及び、他のPFCAs成分の輸送量も合計すれば同程度であることが分かった。また、地域によっては長鎖成分が多く含まれていることも明らかになった。さらに、排出源について検討した結果、PFCAs排出量には生活排水との関連とともに、食料品製造業との関連が示唆された。食品の撥水、撥油性包装材のコーティングにPFCAsの前駆種であるpolyfluoroalkyl phosphate esters (PAPs)が使用されているため、実際に市場に流通する食品からPAPsおよびPFCAsについて測定する必要がある。以上の結果は、食の安心、安全にとって潜在的な脅威と成り得る問題である。また、飲料水の供給源であるため水質調査と排出源に関する検討も継続していく必要がある。

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

1. 伊賀市, 2011. 下水道事業について;
<http://www.city.iga.lg.jp/ctg/C85/85.html>.
2. 亀岡市, 2013. 平成24年度亀岡市の下水道;
<http://www.city.kameoka.kyoto.jp/jougesuidou/documents/gesuidoutoukei242.pdf>.
3. 京都市, 2013. 平成25年度版 公共下水道統計年報, 京都市上下水道局;
<http://www.city.kyoto.lg.jp/suido/cmsfiles/contents/0000007/7558/toukeinenpou25-gesui.pdf>.
4. 京都府, 2013. 京の水環境保全と安全な暮らしのために(下水道・農業集落排水・浄化槽) 2013, 京都府文化環境部;
<http://www.pref.kyoto.jp/gesuido/1202428166882.html>.
5. 経産省, 2013. 工業統計調査平成24年確報市区町村編, 経済産業省;
<http://www.meti.go.jp/statistics/tyo/kougyo/result-2/h24/kakuho/sichoson/index.html>.
6. 滋賀県, 2014. 平成25年度滋賀県

- の下水道事業, 滋賀県琵琶湖環境部下水道課;
<http://www.pref.shiga.lg.jp/d/gesuido/sougoutyousei/siganogesuidoujijyou/h25.html>.
7. ダイキン工業, 2012. フッ素化学製品におけるPFOA全廃に向けた進捗状況;
<http://www.daikin.co.jp/press/2012/121221/index.html>.
 8. 名張市, 2009. 下水道建設室業務案内;
<http://www.city.nabari.lg.jp/hp/menu000000500/hpg000000480.htm>.
 9. Abdellatif A.G., Preat V., Taper H.S., Roberfroid M., 1991. The modulation of rat liver carcinogenesis by perfluorooctanoic acid, a peroxisome proliferator. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **111**, 530-537.
 10. EPA, 2013. *2010/2015 PFOA Stewardship Program*;
<http://www.epa.gov/oppt/pfoa/pubs/stewardship/index.html>.
 11. Fei C., McLaughlin J.K., Lipworth I., Olsen J., 2009. Maternal levels of perfluorinated chemicals and subfecundity. *Hum. Reprod.* **24**, 1200-1205.
 12. Fujii Y., Yan J., Harada K.H., Hitomi T., Yang H., Wang P., Koizumi A., 2012a. Levels and profiles of long-chain perfluorinated carboxylic acids in human breast milk and infant formulas in East Asia. *Chemosphere* **86**(3), 315-321.
 13. Fujii Y., Harada K.H., Koizumi A., 2012b. Analysis of perfluoroalkyl carboxylic acids in composite dietary samples by gas chromatography/mass spectrometry with electron capture negative ionization. *Environ. Sci. Technol.* **46**(20), 11235-11242.
 14. Fujii Y., Harada K.H., Koizumi A., 2013. Occurrence of perfluorinated carboxylic acids (PFCAs) in personal care products and compounding agents. *Chemosphere* **93**(3), 538-544.
 15. Gebbink WA., Ullah S., Sandblom O., Berger U., 2013. Polyfluoroalkyl phosphate esters and perfluoroalkyl carboxylic acids in target food samples and packaging—method development and screening. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **20**, 7949-7958.
 16. Harada K.H., Hitomi T., Niisoe T., Takenaka K., Kamiyama S., Watanabe T., Moon C.S., Yang H.R., Hung N.N., Koizumi A., 2011. Odd-numbered perfluorocarboxylates predominate over perfluorooctanoic acid in serum samples from Japan, Korea and Vietnam. *Environ. Int.* **37**(7), 1183-1189.
 17. Liu W., Chen S., Harada K.H., Koizumi A., 2011. Analysis of perfluoroalkyl carboxylates in vacuum cleaner dust samples in Japan. *Chemosphere* **85**(11), 1734-1741.
 18. Niisoe T., Harada K.H., 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**(20),

- 7852-7857.
19. Nilsson R., Beije B., Preat V., Erxson K., Ramel C., 1991. On the mechanism of the hepatocarcinogenicity of peroxisome proliferators. *Chem. Biol. Interact.* **78**, 235-250.
 20. Saito N., Harada K., Inoue K., Sasaki K., Yoshinaga T., Koizumi A., 2004. Perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate concentrations in surface water in Japan. *J. Occup Health* **46**, 49-59.
 21. Trier X., Granby K., Christensen JH., 2011. Polyfluorinated surfactants (PFS) in paper and board coatings for food packaging. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **18**, 1108-1120.
 22. Washino N., Saijo Y., Sasaki S., Kato S., Ban S., Konishi K., Ito R., Nakata A., Iwasaki Y., Saito K., Nakazawa H., Kishi R., 2009. Correlations between prenatal exposure to perfluorinated chemicals and reduced fetal growth. *Environ. Health Perspect.* **117**, 660-667.
 23. Zushi Y., Ye F., Motegi M., Nojiri K., Hosono S., Suzuki T., Kosugi Y., Yaguchi K., Masunaga S., 2011. Spatially detailed survey on pollution by multiple perfluorinated compounds in the Tokyo Bay basin of Japan. *Environ. Sci. Technol.* **45**, 2887-2893.

表1 . 京都府南部の下水処理場。

下水 処理場	名称	緯度 ^a	経度 ^a	主な管轄地域	処理人口 (10 ³ 人)	処理能 力(10 ³ m ³ d ⁻¹)
SP1 ^b	吉祥院	34.970	135.739	京都市(中京区、下 京区、南区)	85	114
SP2 ^b	鳥羽	34.951	135.734	京都市(山科区、伏 見区、西京区除く)	783	914
SP3 ^b	石田	34.939	135.797	京都市(山科区)	208	185
SP4 ^b	伏見	34.919	135.742	京都市(伏見区)	146	148
SP5 ^c	洛西	34.903	135.708	京都市(西京区)、 向日市、長岡京市	353	211
SP6 ^c	洛南	34.891	135.702	宇治市、城陽市、八 幡市、京田辺市	362	167
SP7 ^c	木津川 上流	34.776	135.801	木津川市	81	26.9
計					2,018	

^a放流口の位置。

^b京都市(2013)より引用。

^c京都府(2013)より引用。

表2 . 対象PFCAs。

PFCA	炭素数	略称
Perfluoroheptanoic acid	7	PFHpA
Perfluorooctanoic acid	8	PFOA
Perfluorononanoic acid	9	PFNA
Perfluorodecanoic acid	10	PFDA
Perfluoroundecanoic acid	11	PFUnDA
Perfluorododecanoic acid	12	PFDoDA
Perfluorotridecanoic acid	13	PFTrDA
Perfluorotetradecanoic acid	14	PFTeDA

表3. 河川水採取地点(2013年5月8日実施)

測定点	河川	緯度	経度
P1	桂川	35.0122	135.6765
P2	桂川	34.9993	135.7044
P3	桂川	34.9823	135.7147
P4	桂川	34.9574	135.7274
P5	桂川	34.9079	135.7167
P6	桂川	34.8949	135.6968
P7	西高瀬川	34.9728	135.7361
P8	西高瀬川	34.9499	135.7391
P9	鴨川	35.0797	135.7405
P10	鴨川	35.0382	135.7664
P11	鴨川	35.0274	135.7717
P12	鴨川	34.9465	135.7407
P13	高野川	35.0560	135.7912
P14	高野川	35.0341	135.7745
P15	琵琶湖(瀬田川始点)	34.9933	135.9056
P16	瀬田川(宇治川上流)	34.9784	135.9077
P17	瀬田川(宇治川上流)	34.9569	135.9111
P18	瀬田川(宇治川上流)	34.9162	135.8807
P19	宇治川	34.8783	135.8464
P20	宇治川	34.8818	135.8208
P21	宇治川	34.9164	135.7901
P22	宇治川	34.9271	135.7686
P23	宇治川	34.9202	135.7481
P24	宇治川	34.9141	135.7390
P25	宇治川	34.8965	135.7189
P26	宇治川	34.8916	135.6999
P27	琵琶湖疎水(取水口)	35.0134	135.8598
P28	山科川	34.9410	135.8000
P29	山科川	34.9310	135.7914
P30	木津川	34.7524	135.8367
P31	木津川	34.8349	135.7608
P32	木津川	34.8746	135.7321
P33	木津川	34.8892	135.7013
P34	淀川	34.8792	135.6788
P35	淀川	34.8530	135.6631
P36	淀川	34.7860	135.6095
P37	淀川	34.7737	135.5915
P38	淀川	34.7597	135.5736
P39	淀川	34.7385	135.5507
P40	淀川	34.7237	135.5112
P41	淀川	34.7079	135.4711
P42	淀川	34.6992	135.4549
P43	淀川	34.6891	135.4322
P44	淀川	34.6880	135.4275
P45	安威川	34.7795	135.5708

表4．国土交通省による2004年5月3日の河川流量 ($\text{m}^3 \text{s}^{-1}$)

観測所	河川	緯度	経度	日平均流量
天龍寺	桂川	35.012	135.679	12.7
桂	桂川	34.982	135.713	13.9
納所	桂川	34.908	135.718	23.8
深草	鴨川	34.966	135.759	2.59
鳥居川	瀬田川	34.973	135.906	71.9 ^a
向島	宇治川	34.927	135.770	90.2
淀	宇治川	34.898	135.718	103
勧修寺	山科川	34.958	135.811	2.55 ^b
飯岡	木津川	34.802	135.798	14.4
八幡	木津川	34.886	135.704	13.5
宇治	宇治川	34.894	135.804	91.5*
加茂	木津川	34.759	135.869	12.1*
高浜	淀川	34.868	135.669	139*

水文水質データベース (<http://www1.river.go.jp/>) より引用。

^a1995年4月5日の値。

^b1989年6月3日の値。

*推定値との比較に使用した。

表5．下水処理場の該当地域と2012年度工業統計における食料品製造業製品出荷額 (億円)

	該当地域	食料品製造業製品出荷額 ^a
SP1+2 ^b	京都市 (西京区、山科区、伏見区除く)	805
SP3	京都市山科区	152
SP4	京都市伏見区	354
SP6	宇治市、城陽市、八幡市、京田辺市	1517
SP7	木津川市	0
SP01 ^c	南丹市、亀岡市	600
SP02 ^d	滋賀県全域	1693
SP03 ^e	伊賀市、名張市	340

^a経済産業省 (2013) より引用。市区町村のうち、町村の値は含まない。

^bSP1とSP2の管轄地域は全体を一つの下水処理場とみなす。

^cP1におけるPFCAsはすべて亀岡市および南丹市からの排出と仮定した (処理人口109千人 (亀岡市, 2013; 京都府, 2013))。

^dP16およびP27のPFCAsの和は滋賀県全域からの排出と仮定した (処理人口1,117千人 (滋賀県, 2014))。

^eP30におけるPFCAsはすべて伊賀市および名張市からの排出と仮定した (処理人口89千人 (伊賀市, 2011; 名張市, 2009))。

表6 . 河川水中PFCAs濃度 (ng L⁻¹)

	PFHpA	PFOA	PFNA	PFDA	PFUnDA	PFDoDA	PFTTrDA	PFTeDA
P1	3.64E-01	1.03E+00	3.60E-01	9.54E-02	8.40E-02	2.40E-02	2.25E-02	1.69E-02
P2	4.24E-01	1.57E+00	1.53E+00	3.24E-01	2.56E-01	2.93E-02	2.25E-02	1.13E-02
P3	4.19E-01	1.53E+00	9.60E-01	2.34E-01	6.33E-01	1.43E-01	7.16E-02	1.95E-02
P4	4.97E-01	1.61E+00	2.04E+00	8.04E-01	6.35E-01	2.86E-02	8.87E-03	3.67E-03
P5	1.97E+00	7.17E+00	2.84E+00	1.51E+00	1.74E+00	2.98E-01	9.86E-02	2.81E-02
P6	4.23E+00	1.58E+01	8.62E+00	1.11E+01	9.56E+00	1.06E+00	1.32E-01	2.08E-02
P7	2.44E+01	4.54E+01	1.49E+01	3.63E+00	1.11E+00	1.75E-01	2.34E-02	1.82E-02
P8	4.58E+00	2.64E+01	2.73E+01	1.83E+00	8.70E-01	4.13E-02	1.91E-02	4.01E-03
P9	3.76E-01	3.96E-01	1.54E-01	3.70E-02	3.23E-02	1.61E-02	1.25E-02	9.80E-03
P10	4.47E-01	7.37E-01	3.27E-01	8.46E-02	7.63E-02	2.45E-02	1.13E-02	ND
P11	1.49E+00	1.89E+00	7.81E-01	9.94E-02	5.02E-02	1.42E-02	5.81E-03	ND
P12	1.26E+00	3.00E+00	1.40E+00	2.07E-01	9.43E-02	3.37E-02	1.66E-02	1.53E-02
P13	3.76E-01	3.96E-01	1.54E-01	3.70E-02	3.23E-02	1.61E-02	1.25E-02	9.80E-03
P14	8.60E-01	1.19E+00	3.37E-01	9.02E-02	3.49E-02	1.23E-02	6.18E-03	9.20E-03
P15	3.39E+00	7.20E+00	2.06E+00	6.21E-01	3.79E-01	1.09E-01	3.64E-02	3.64E-02
P16	2.25E+00	5.25E+00	1.45E+00	4.40E-01	2.19E-01	6.86E-02	2.55E-03	1.02E-02
P17	2.15E+00	6.14E+00	1.90E+00	5.69E-01	3.51E-01	1.41E-01	5.53E-02	1.57E-01
P18	2.61E+00	6.09E+00	1.68E+00	4.47E-01	2.25E-01	1.01E-01	3.05E-02	5.70E-02
P19	1.99E+00	6.36E+00	1.70E+00	4.05E-01	1.81E-01	4.57E-02	1.93E-02	1.40E-02
P20	2.00E+00	6.28E+00	1.93E+00	7.17E-01	3.70E-01	9.45E-02	2.87E-02	9.01E-02
P21	2.15E+00	5.69E+00	1.83E+00	4.95E-01	1.92E-01	7.55E-02	3.09E-02	3.34E-02
P22	2.14E+00	5.21E+00	1.51E+00	4.35E-01	1.61E-01	4.12E-02	1.59E-02	1.13E-02
P23	1.91E+00	5.46E+00	1.62E+00	3.36E-01	1.43E-01	3.58E-02	1.41E-02	1.22E-02
P24	1.95E+00	5.70E+00	1.71E+00	4.23E-01	1.66E-01	3.11E-02	1.24E-02	1.55E-02
P25	2.01E+00	5.86E+00	1.68E+00	3.91E-01	1.56E-01	3.53E-02	2.51E-02	1.20E-02
P26	2.82E+00	9.66E+00	3.16E+00	7.87E-01	6.18E-01	3.24E-01	1.26E-01	1.34E-02
P27	3.46E+00	5.36E+00	1.47E+00	4.03E-01	1.35E-01	3.60E-02	7.34E-03	1.71E-02
P28	3.17E+00	9.36E+00	2.36E+00	5.49E-01	2.33E-01	5.43E-02	3.53E-02	1.19E-02
P29	3.14E+00	1.15E+01	3.95E+00	1.10E+00	3.75E-01	5.55E-02	1.90E-02	7.26E-03
P30	1.32E+00	7.88E+00	4.86E-01	2.25E-01	3.18E-01	2.30E-01	3.60E-02	6.21E-02
P31	2.83E+00	8.96E+00	1.27E+00	3.05E-01	1.73E-01	3.80E-02	7.86E-03	ND
P32	2.86E+00	9.00E+00	1.44E+00	4.32E-01	2.39E-01	5.04E-02	1.71E-02	6.06E-03
P33	3.73E+00	8.67E+00	1.18E+00	3.14E-01	1.74E-01	4.75E-02	1.05E-02	1.05E-02
P34	4.52E+00	1.06E+01	2.09E+00	8.15E-01	5.83E-01	1.71E-01	5.05E-02	1.27E-01
P35	2.92E+00	9.71E+00	2.68E+00	7.83E-01	3.48E-01	8.02E-02	1.03E-02	5.15E-03
P36	2.76E+00	9.88E+00	2.48E+00	7.89E-01	5.93E-01	1.59E-01	1.22E-02	7.52E-03
P37	3.64E+00	1.04E+01	2.83E+00	8.08E-01	3.34E-01	1.87E-01	6.15E-03	1.23E-02
P38	2.85E+00	9.39E+00	2.41E+00	6.80E-01	3.46E-01	7.71E-02	9.46E-03	5.68E-03
P39	3.24E+00	1.05E+01	3.29E+00	1.17E+00	7.61E-01	2.67E-01	1.80E-02	1.57E-02
P40	2.34E+00	1.02E+01	2.33E+00	5.46E-01	3.29E-01	6.41E-02	1.47E-02	ND
P41	2.16E+00	7.96E+00	2.43E+00	5.34E-01	3.60E-01	6.24E-02	1.22E-02	4.57E-03
P42	2.40E+00	9.73E+00	4.06E+00	7.75E-01	4.08E-01	1.14E-01	6.01E-02	ND
P43	1.86E+00	6.06E+00	2.11E+00	3.97E-01	3.43E-01	7.62E-02	2.51E-02	3.32E-02
P44	1.41E+00	6.62E+00	2.04E+00	4.50E-01	4.25E-01	7.14E-02	3.83E-02	ND
P45	1.70E+01	4.08E+01	1.24E+01	1.39E+00	1.29E+00	2.60E-01	3.26E-02	4.47E-02

表7．河川水採取地点（P1～34）における推定流量（ $\text{m}^3 \text{s}^{-1}$ ）。P15は琵琶湖水のため除外した。カッコ内は推定に使用しなかった国土交通省による観測値。

測定点	推定流量
P1	12.7
P2	13.9
P3	13.9
P4	13.9
P5	23.8
P6	25.3
P7	0.00822
P8	0.814
P9	1.81
P10	1.81
P11	2.59
P12	2.59
P13	0.777
P14	0.777
P16	71.9
P17	71.9
P18	71.9
P19	71.9
P20	86.7 (91.5)
P21	86.7
P22	90.2
P23	103
P24	104
P25	104
P26	105
P27	13.0
P28	2.55
P29	3.44
P30	13.3 (12.1)
P31	13.5
P32	13.5
P33	13.5
P34	144 (139)

表8 . 淀川水系によるPFCAsの推定輸送量 (g day⁻¹)。P15は琵琶湖水のため、P35～45については流量が不明のため除外した。

	PFHpA	PFOA	PFNA	PFDA	PFUnDA	PFDoDA	PFTTrDA	PFTeDA	Total
P1	4.00E-01	1.13E+00	3.95E-01	1.05E-01	9.23E-02	2.64E-02	2.48E-02	1.86E-02	2.20E+00
P2	5.10E-01	1.89E+00	1.84E+00	3.89E-01	3.07E-01	3.52E-02	2.71E-02	1.35E-02	5.01E+00
P3	5.04E-01	1.84E+00	1.15E+00	2.81E-01	7.60E-01	1.72E-01	8.60E-02	2.34E-02	4.82E+00
P4	5.96E-01	1.93E+00	2.45E+00	9.66E-01	7.62E-01	3.44E-02	1.06E-02	4.41E-03	6.75E+00
P5	4.05E+00	1.47E+01	5.82E+00	3.10E+00	3.57E+00	6.13E-01	2.02E-01	5.77E-02	3.21E+01
P6	9.23E+00	3.45E+01	1.88E+01	2.42E+01	2.09E+01	2.31E+00	2.89E-01	4.54E-02	1.10E+02
P7	1.74E-02	3.22E-02	1.06E-02	2.58E-03	7.85E-04	1.24E-04	1.66E-05	1.29E-05	6.37E-02
P8	3.22E-01	1.86E+00	1.92E+00	1.29E-01	6.11E-02	2.91E-03	1.34E-03	2.82E-04	4.29E+00
P9	5.90E-02	6.21E-02	2.41E-02	5.80E-03	5.06E-03	2.52E-03	1.96E-03	1.53E-03	1.62E-01
P10	7.00E-02	1.15E-01	5.13E-02	1.33E-02	1.20E-02	3.84E-03	1.77E-03	ND	2.68E-01
P11	3.35E-01	4.24E-01	1.75E-01	2.23E-02	1.12E-02	3.17E-03	1.30E-03	ND	9.71E-01
P12	2.83E-01	6.71E-01	3.13E-01	4.64E-02	2.11E-02	7.55E-03	3.71E-03	3.42E-03	1.35E+00
P13	5.77E-02	8.01E-02	2.26E-02	6.06E-03	2.34E-03	8.23E-04	4.15E-04	6.18E-04	1.71E-01
P14	3.77E-02	8.47E-02	2.78E-02	5.29E-03	4.76E-03	2.25E-03	7.13E-04	1.07E-03	1.64E-01
P16	1.40E+01	3.26E+01	8.98E+00	2.73E+00	1.36E+00	4.26E-01	1.59E-02	6.34E-02	6.02E+01
P17	1.34E+01	3.82E+01	1.18E+01	3.54E+00	2.18E+00	8.79E-01	3.43E-01	9.76E-01	7.12E+01
P18	1.62E+01	3.78E+01	1.04E+01	2.78E+00	1.40E+00	6.30E-01	1.90E-01	3.54E-01	6.98E+01
P19	1.23E+01	3.95E+01	1.06E+01	2.51E+00	1.12E+00	2.84E-01	1.20E-01	8.70E-02	6.65E+01
P20	1.50E+01	4.70E+01	1.44E+01	5.37E+00	2.77E+00	7.08E-01	2.15E-01	6.75E-01	8.62E+01
P21	1.61E+01	4.27E+01	1.37E+01	3.71E+00	1.44E+00	5.66E-01	2.31E-01	2.50E-01	7.87E+01
P22	1.67E+01	4.06E+01	1.18E+01	3.39E+00	1.25E+00	3.21E-01	1.24E-01	8.77E-02	7.42E+01
P23	1.70E+01	4.87E+01	1.45E+01	3.00E+00	1.28E+00	3.19E-01	1.26E-01	1.08E-01	8.50E+01
P24	1.76E+01	5.14E+01	1.54E+01	3.81E+00	1.50E+00	2.80E-01	1.12E-01	1.40E-01	9.02E+01
P25	1.81E+01	5.27E+01	1.52E+01	3.52E+00	1.40E+00	3.18E-01	2.26E-01	1.08E-01	9.16E+01
P26	2.57E+01	8.80E+01	2.88E+01	7.17E+00	5.63E+00	2.95E+00	1.15E+00	1.22E-01	1.59E+02
P27	3.90E+00	6.04E+00	1.66E+00	4.53E-01	1.52E-01	4.05E-02	8.26E-03	1.93E-02	1.23E+01
P28	6.98E-01	2.06E+00	5.20E-01	1.21E-01	5.14E-02	1.20E-02	7.77E-03	2.61E-03	3.48E+00
P29	9.33E-01	3.43E+00	1.17E+00	3.28E-01	1.12E-01	1.65E-02	5.63E-03	2.16E-03	6.00E+00
P30	1.52E+00	9.08E+00	5.59E-01	2.60E-01	3.66E-01	2.65E-01	4.15E-02	7.15E-02	1.22E+01
P31	3.31E+00	1.05E+01	1.48E+00	3.56E-01	2.02E-01	4.44E-02	9.18E-03	ND	1.59E+01
P32	3.34E+00	1.05E+01	1.69E+00	5.05E-01	2.79E-01	5.89E-02	1.99E-02	7.08E-03	1.64E+01
P33	4.36E+00	1.01E+01	1.38E+00	3.67E-01	2.03E-01	5.54E-02	1.23E-02	1.23E-02	1.65E+01
P34	5.64E+01	1.33E+02	2.61E+01	1.02E+01	7.26E+00	2.14E+00	6.30E-01	1.58E+00	2.37E+02

表 9 . 下水処理場からのPFCAAs推定排出量 (g day⁻¹)

下水処理場	PFHpA	PFOA	PFNA	PFDA	PFUnDA	Total
SP1	3.04E-01	1.82E+00	1.91E+00	1.26E-01	6.04E-02	4.22E+00
SP2	2.85E+00	1.03E+01	1.15E+00	1.96E+00	2.72E+00	1.89E+01
SP3	2.35E-01	1.37E+00	6.55E-01	2.07E-01	6.01E-02	2.52E+00
SP4	5.91E-01	2.69E+00	9.57E-01	8.16E-01	2.23E-01	5.28E+00
SP5	5.19E+00	1.98E+01	1.30E+01	2.11E+01	1.73E+01	7.63E+01
SP6	7.55E+00	3.52E+01	1.36E+01	3.64E+00	4.22E+00	6.42E+01
SP7	1.79E+00	1.38E+00	9.24E-01	9.63E-02	4.78E-04*	4.19E+00
SP01	4.00E-01	1.13E+00	3.95E-01	1.05E-01	9.23E-02	2.13E+00
SP02	1.79E+01	3.86E+01	1.06E+01	3.19E+00	1.51E+00	7.19E+01
SP03	1.52E+00	9.08E+00	5.59E-01	2.60E-01	3.66E-01	1.18E+01

*負の値となったため、検出限界の2分の1と推定排水量の積を用いた。

表 10 . 因子分析におけるバリマックス回転後の因子負荷量。

	第1因子	第2因子
PFHpA	0.914	0.054
PFOA	0.976	0.208
PFNA	0.786	0.563
PFDA	0.181	0.978
PFUnDA	0.181	0.981

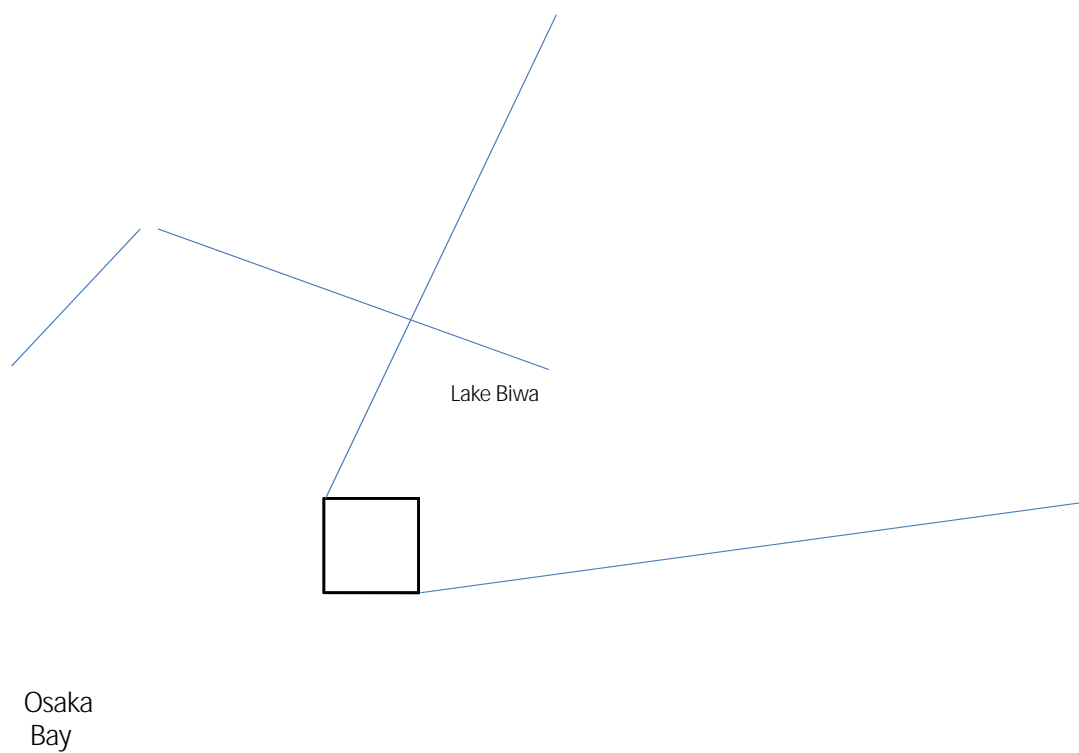


図1．淀川水系における河川水の採取地点（P1～44）。SP1～7は下水処理場の位置を表す。P45は比較に用いた安威川の下水処理場からの排水の採取地点。



図2 .河川水採取の様子(2013年5月8日実施)。上段左:P13、上段右:P12、
下段:P33(図1)。



図3 .西高瀬川の下水処理場SP1の上流部(P7)。

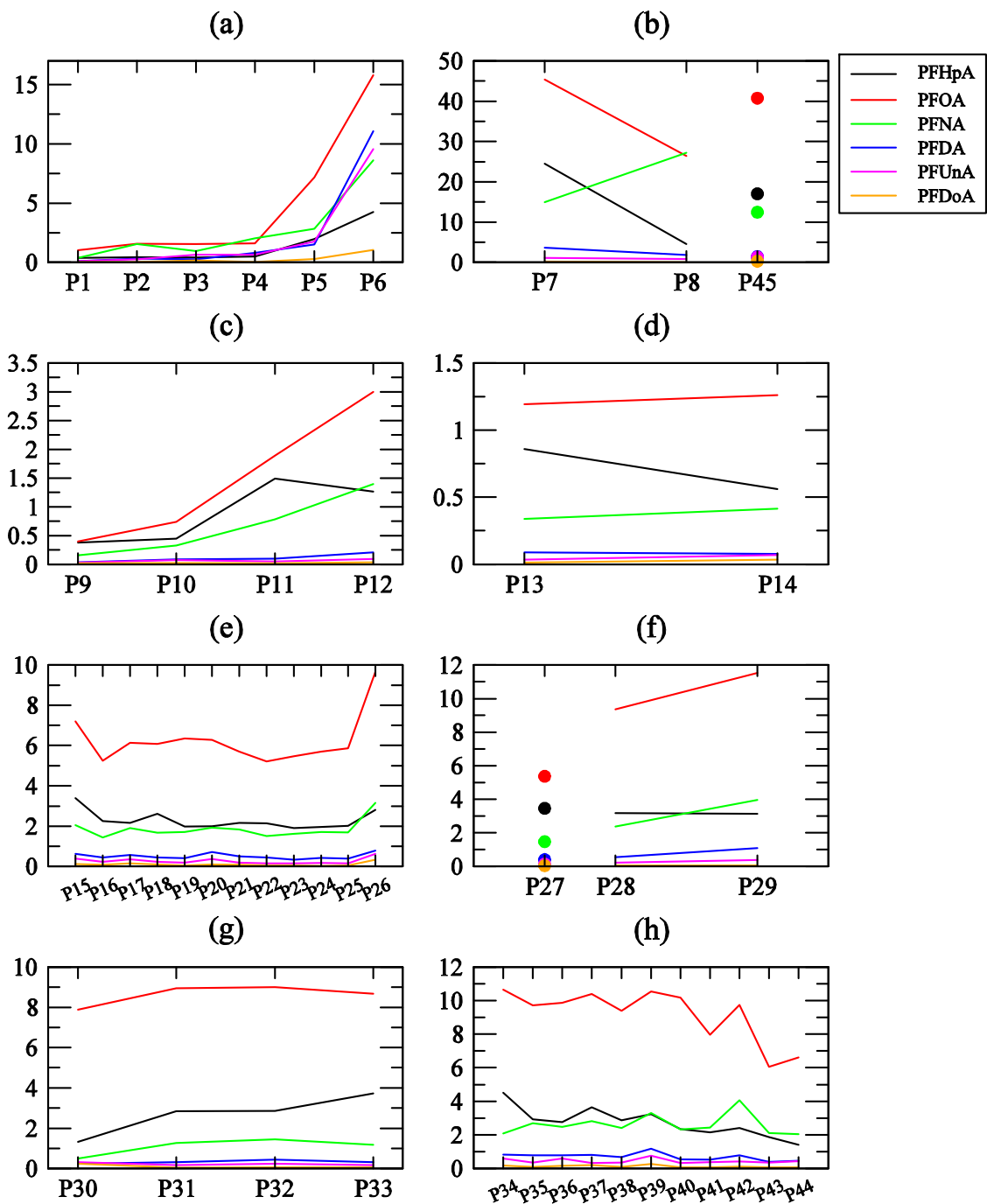


図4 . 河川水中PFCAs濃度 (ng L⁻¹)。黒、赤、緑、青、桃色、橙色線はそれぞれPFHpA、PFOA、PFNA、PFDA、PFUnA、PFDoAを表す。PFTrAおよびPFTeAについては微量のため省略した。横軸の左方向が上流側、右方向が下流側の測定点。(a) 桂川、(b) 西高瀬川 (P7-8) および安威川 (P45)、(c) 鴨川、(d) 高野川、(e) 宇治川、(f) 琵琶湖疏水 (P27) および山科川 (P28-29)、(g) 木津川、(h) 淀川。

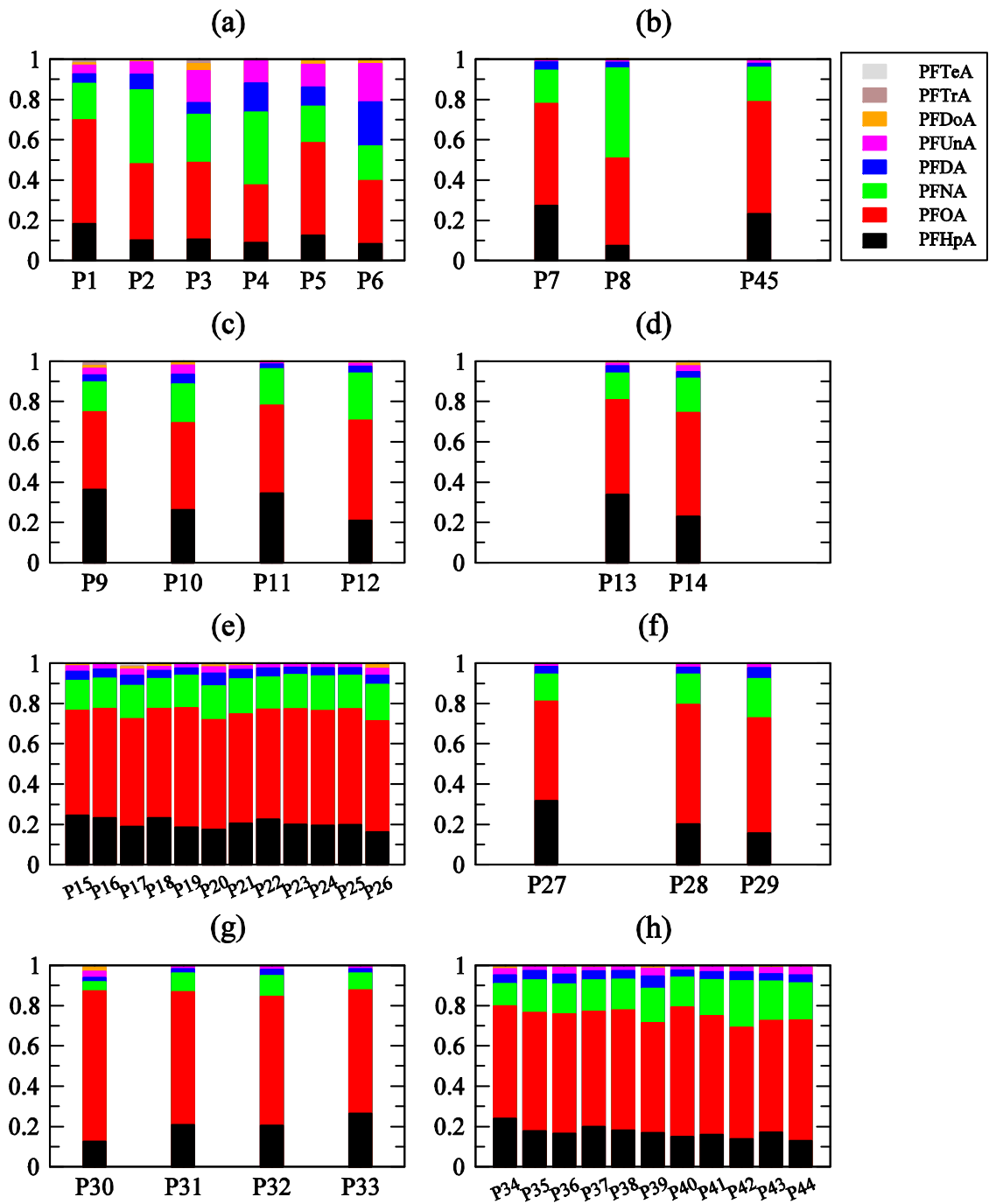


図5 . 河川水中PFCAsの組成。黒、赤、緑、青、桃色、橙色、茶色、灰色はそれぞれPFHpA、PFOA、PFNA、PFDA、PFUnA、PFDoA、PFTrA、PFTeAを表す。横軸の左方向が上流側、右方向が下流側の測定点。(a) 桂川、(b) 西高瀬川 (P7-8) および安威川 (P45)、(c) 鴨川、(d) 高野川、(e) 宇治川、(f) 琵琶湖疏水 (P27) および山科川 (P28-29)、(g) 木津川、(h) 淀川。

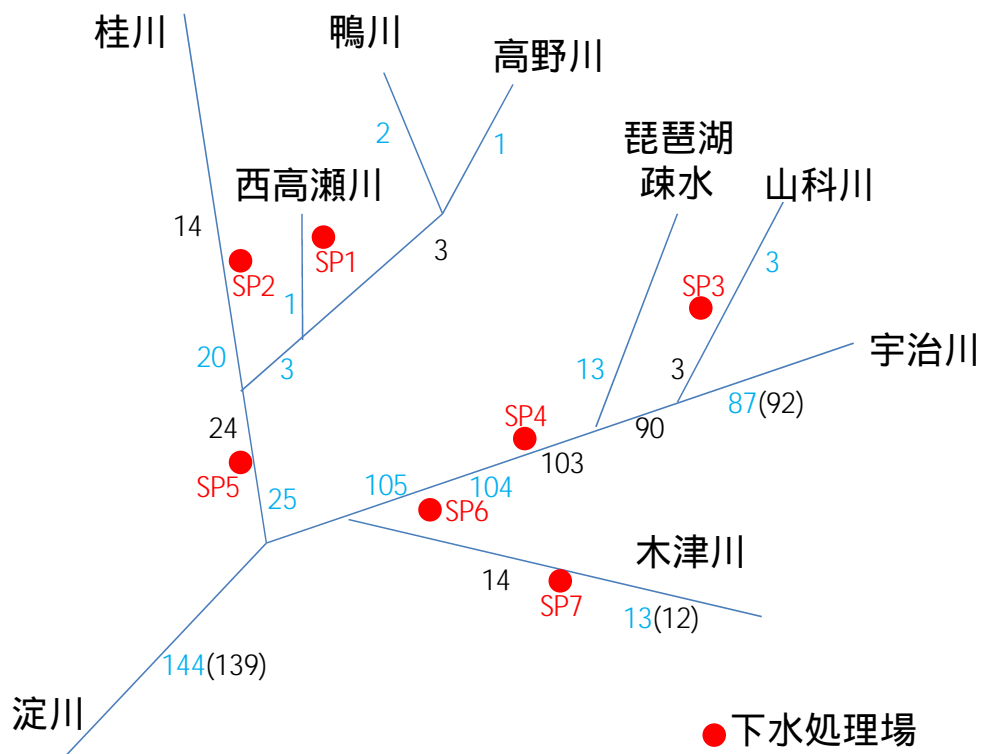


図6 . 淀川水系の流量 ($\text{m}^3 \text{s}^{-1}$) の推定値 (青字) と国土交通省による2004年5月3日の測定値 (黒字) 。カッコ内は推定に使用しなかった測定値。

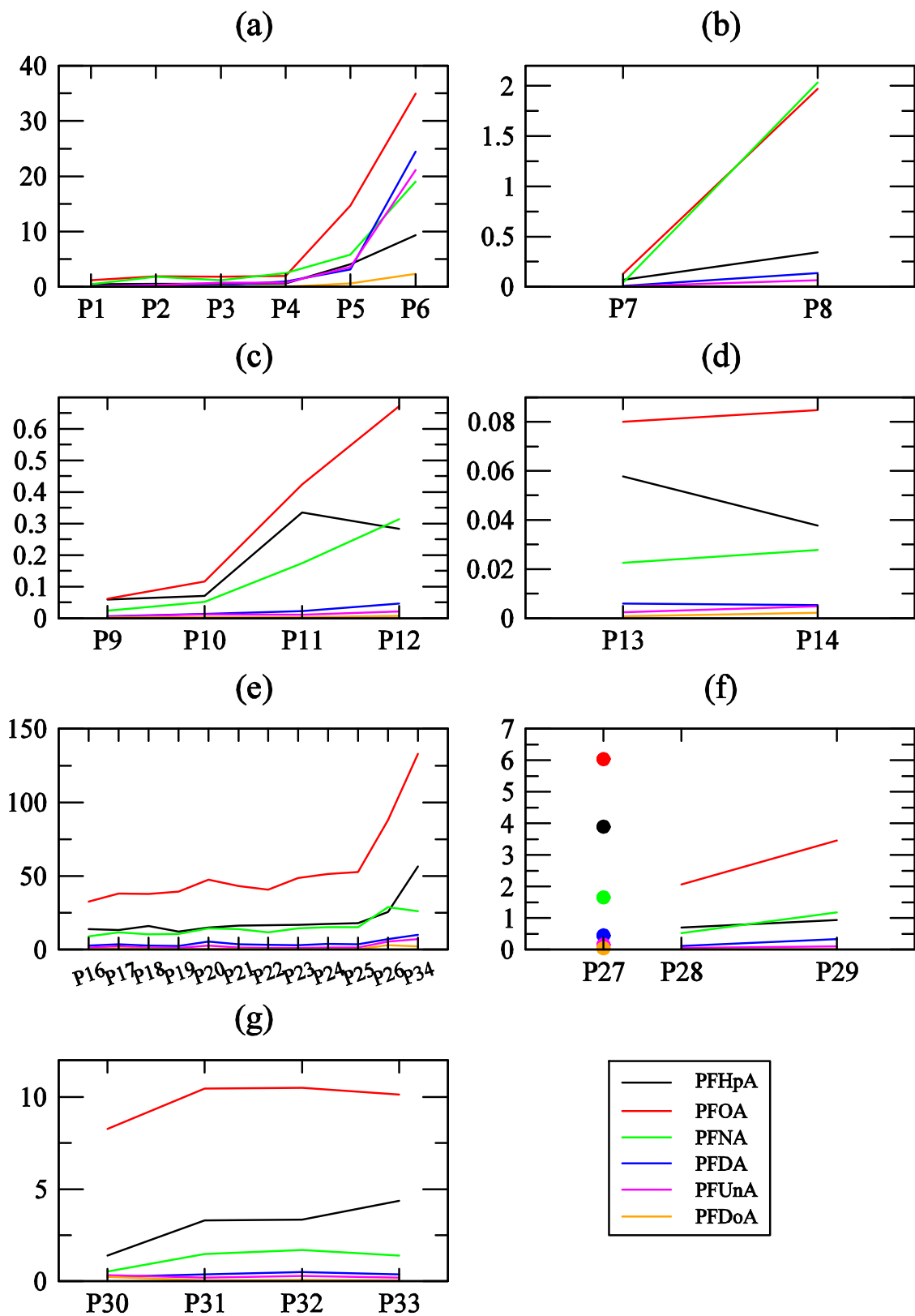


図7. 淀川水系によるPFCAs輸送量 (g day^{-1})。黒、赤、緑、青、桃色、橙色線はそれぞれPFHpA、PFOA、PFNA、PFDA、PFUnA、PFDoAを表す。PFTrAおよびPFTeAについては微量のため省略した。横軸の左方向が上流側、右方向が下流側の測定点。(a) 桂川、(b) 西高瀬川、(c) 鴨川、(d) 高野川、(e) 宇治川、(f) 琵琶湖疏水 (P27) および山科川 (P28-29)、(g) 木津川。P34は宇治川、桂川、木津川合流部の下流側の採取地点。

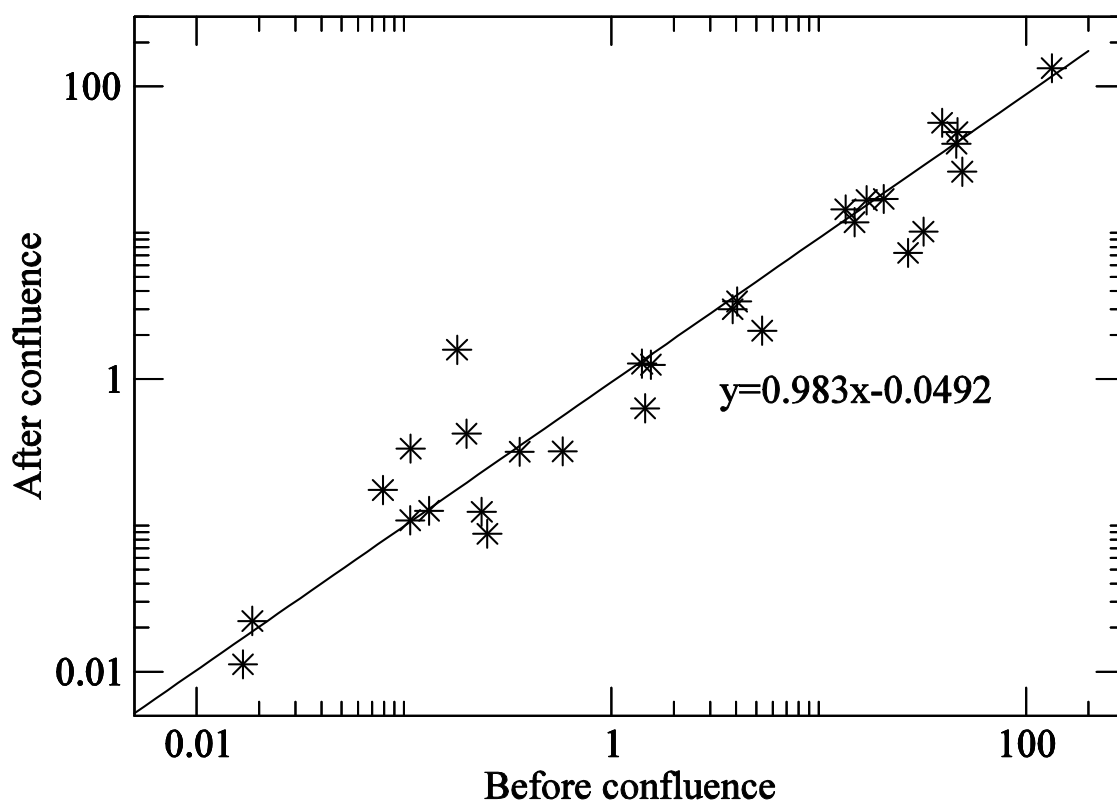


図8 . PFCAs輸送量の河川合流点の上流側の和（横軸）と下流側（縦軸）との比較（ g day^{-1} ）。直線は対数スケールでの回帰直線（ $R^2=0.95$, $p<<0.05$ ）。

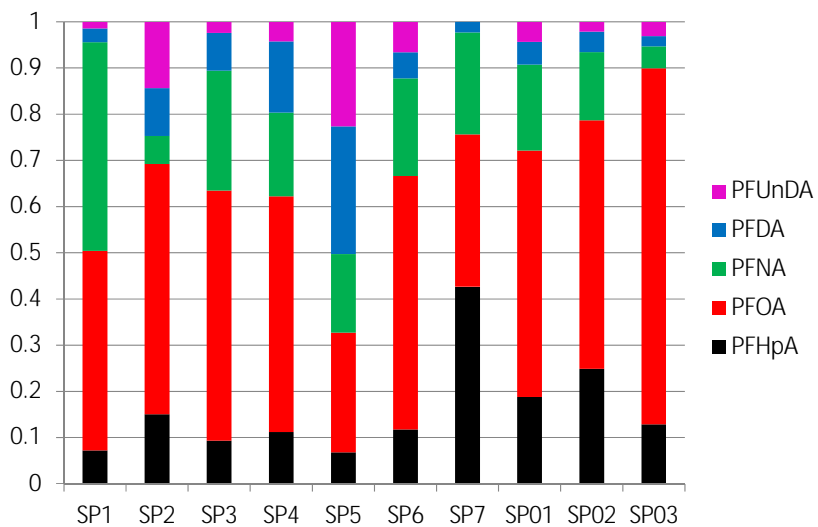
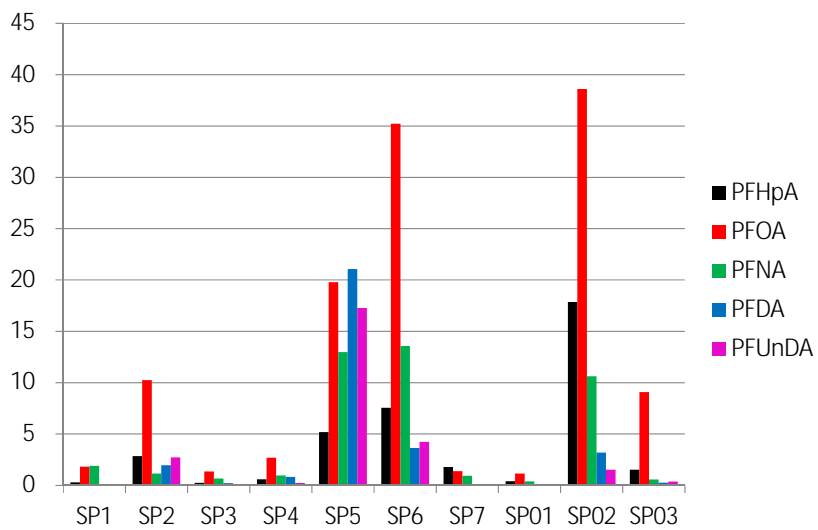


図9 . 下水処理場からのPFCAs排出量（上段、g day⁻¹）と組成（下段）。

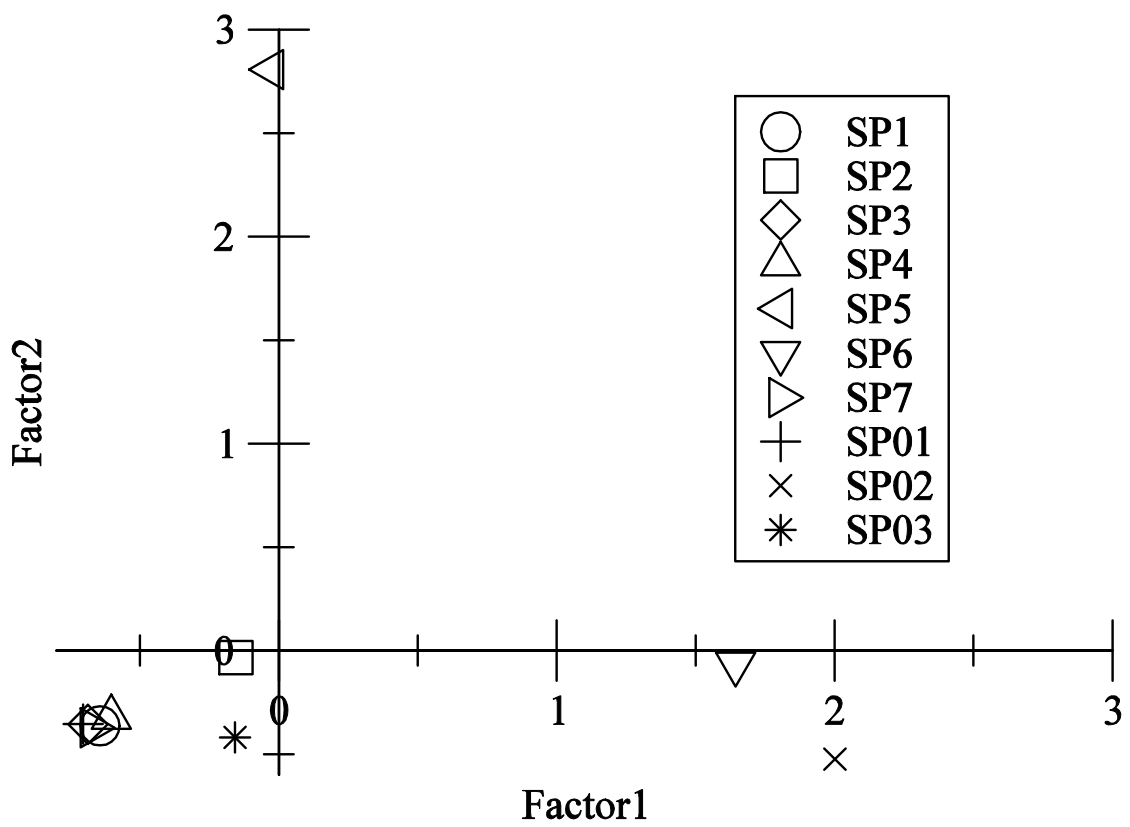


図 1 0 . 下水処理場からのPFCA_s排出量に対する因子分析による因子得点の散布図。

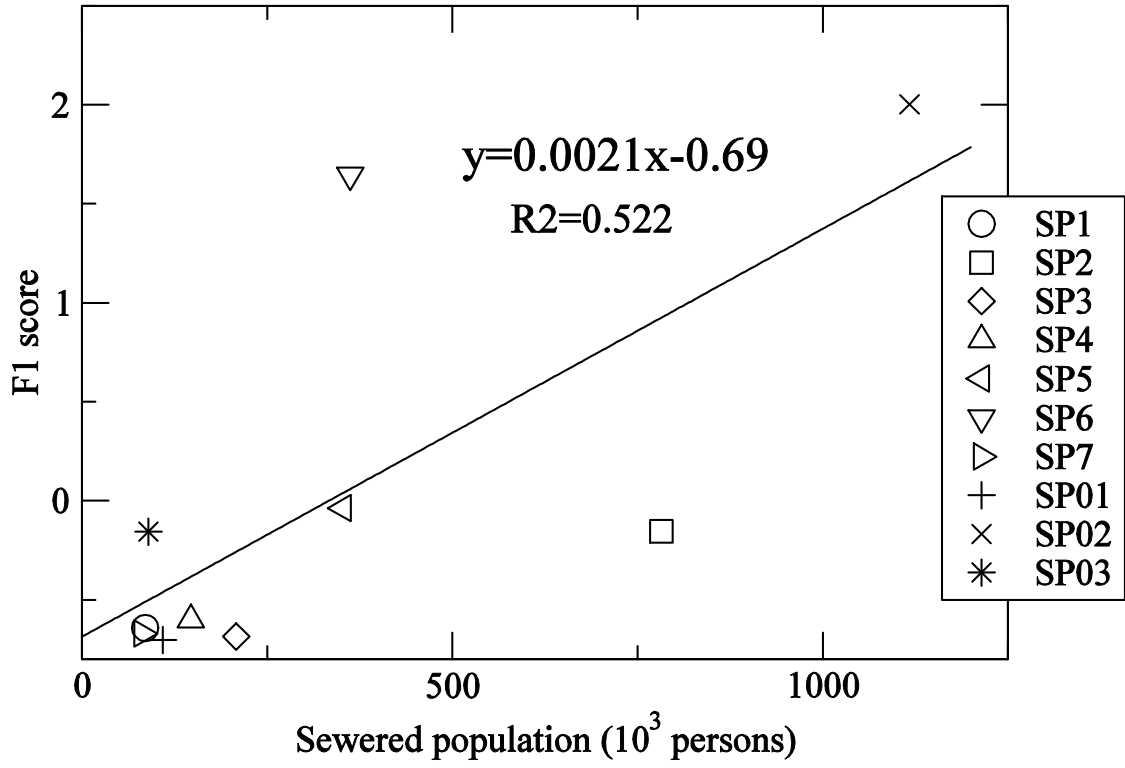


図 1 1 . 下水処理場の第1因子得点と処理人口 (千人) との比較。

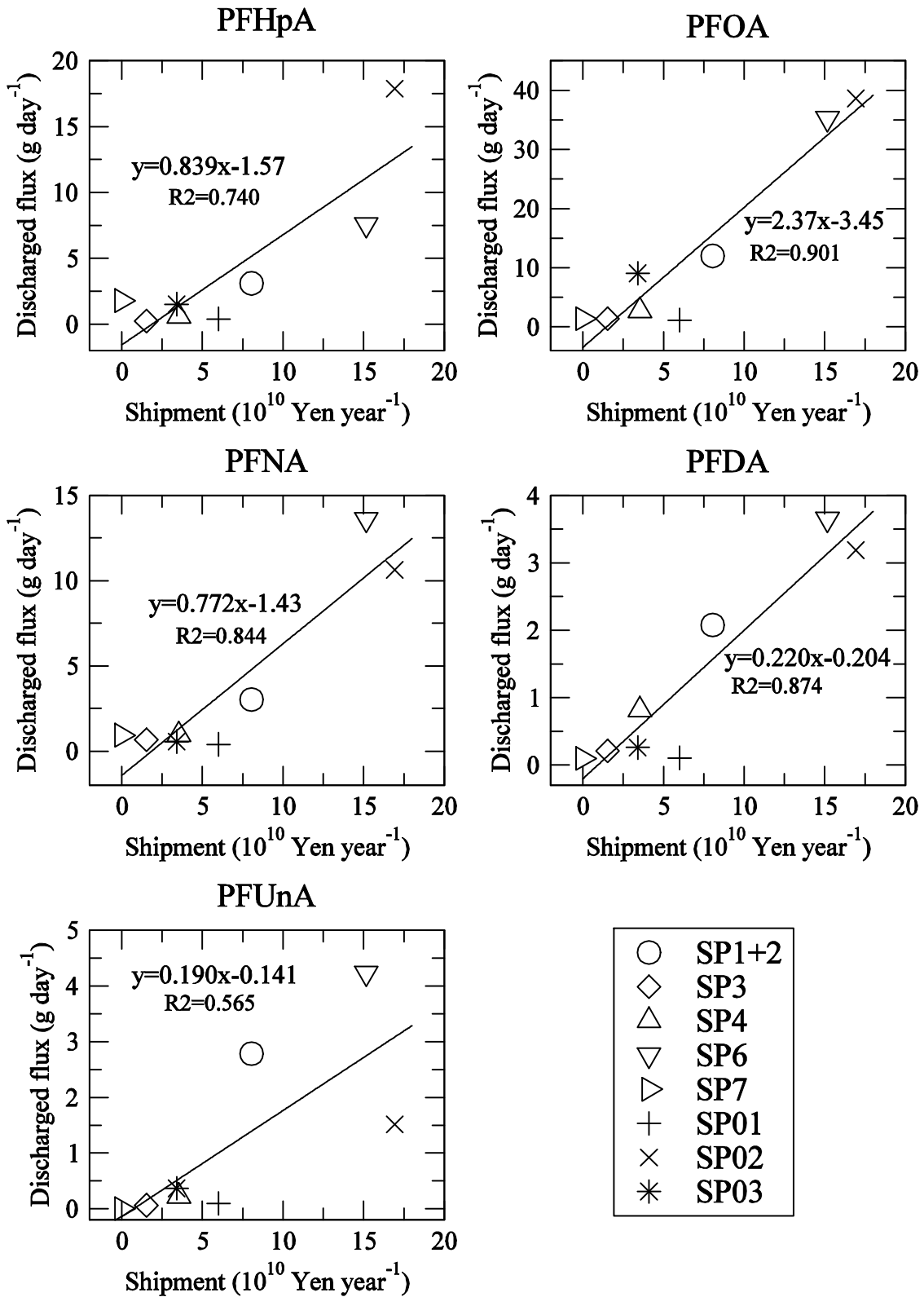


図 1 2 . SP5を除く下水処理場からのPFCAs排出量 (g day⁻¹) と管轄地域における食料品製造業の2012年度製造品出荷高 (100億円) の比較。

III . 研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
<u>Akio Koizumi</u> , <u>Kouji Harada</u> , <u>Yukiko Fujii</u> .	Comparing pesticides in human breast milk from China, Korea and Japan.	Sherma Zibadi, Ronald Ros Watson and Victor R. Proffeedy	Handbook of dietary and nutritional aspects of human breast milk: Prevention, treatment and toxicity.	Wageningen Academic Publishers	オランダ	2013	743-758

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Yan JX, Inoue K, Asakawa A, <u>Harada KH</u> , Watanabe T, Hachiya N, <u>Koizumi A</u> .	Methylmercury Monitoring Study in Karakuwacho, a Peninsula Area in Japan	Bull. Environ. Contam. Toxicol.	In press	In press	In press
<u>Harada KH</u> , Niisoe T, Imanaka M, Fujii Y, Ishikawa H, <u>Koizumi A</u> , et al.	Radiation dose rates now and in the future for residents neighboring restricted areas of Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant	Proc Natl Acad Sci USA.	111(10)	E914-923	2014
Matsubara F, Sagar a Y, Kato Y, Harada K, <u>Koizumi A</u> , Haraguchi K.	Detection of Antibodies to Human T-Cell Leukemia Virus Type 1 and 2 in Breast Milk from East Asian Women	Biol. Pharm. Bull.	37(2)	311-314	2014
Fujii Y, <u>Harada KH</u> , Hitomi T, Kobayashi H, <u>Koizumi A</u> , <u>Haraguchi K</u> .	Temporal trend and age-dependent serum concentration of phenolic organohalogen contaminants in Japanese men during 1989-2010	Environ. Poll.	185	228-233	2014
Fujii Y, Nishimura E, Kato Y, <u>Harada KH</u> , <u>Koizumi A</u> , <u>Haraguchi K</u> .	Dietary exposure to phenolic and methoxylated organohalogen contaminants in relation to their concentrations in breast milk and serum in Japan	Environ. Int.	63(1)	19-25	2014

Nanayakkara S, Senvirathna STMLD, Abeysekera T, Harada KH, Kobayashi H, Koizumi A, et al.	An integrative study of the genetic, social and environmental determinants of chronic kidney disease characterized by tubulointerstitial damages in the North Central Region of Sri Lanka	J. Occup. Health.	56(1)	28-38	2014
Koizumi A, Niisoe T, Harada KH, Fujii Y, Adachi A, Hitomi T, Ishikawa H.	¹³⁷ Cs trapped by biomass within 20 km of the Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant	Environ Sci Technol.	47(17)	9612-9618	2013
Fujii Y, Harada KH, Koizumi A.	Occurrence of perfluorinated carboxylic acids (PFCAs) in personal care products and compounding agents	Chemosphere.	93(3)	538-544	2013
Liu W, Yin T, Okuda H, Harada KH, Li Y, Xu B, Yang J, Wang H, Fan X, Koizumi A, Miyata T.	Protein S K196E mutation, a genetic risk factor for venous thromboembolism, is limited to Japanese	Thromb Res.	132(2)	314-315	2013
Kato Y, Haraguchi K, Onishi M, Ikushiro S, Endo T, Ohta C, Koga N, Yamada S, Degawa M.	3,3',4,4'-Tetrachlorobiphenyl-mediated decrease of serum thyroxine level in C57BL/6 and DBA/2 mice occurs mainly through enhanced accumulation of thyroxine in the liver	Biol Pharm Bull.	37	504-509	2014
Kimura O, Ohta C, Koga N, Haraguchi K, Kato Y, Endo T.	Carrier-mediated uptake of nobiletin, a citrus polymethoxyflavonoid, in human intestinal Caco-2 cells	Food Chem.	154	145-150	2014
Kato Y, Onishi M, Haraguchi K, Ikushiro S, Ohta C, Koga N, Endo T, Yamada S, Degawa M.	A possible mechanism for 2,3',4,4',5'-pentachlorobiphenyl-mediated decrease in serum thyroxine level in mice	Biol. Pharm. Bull.	36	1594-1601	2013

IV . 研究成果の刊行物・別刷