

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K20465

研究課題名（和文）ネオニコチノイド系農薬のヒト尿を用いたバイオモニタリングと影響評価

研究課題名（英文）Biomonitoring and risk assessment of human health for Neonicotinoid insecticides using human urine

研究代表者

本田 匡人（Honda, Masato）

金沢大学・環日本海域環境研究センター・助教

研究者番号：80785791

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：ネオニコチノイド系農薬のヒトでの汚染調査と影響評価のため、新潟・石川・福岡でバイオモニタリング調査を実施した。2019年1-4月、8-10月、2020年7-9月に合計325人から尿検体を収集した。分析の結果、新潟県で比較的高濃度・頻度で農薬が検出され、各地域での3期間の間では第2・3期で比較的高濃度の農薬が検出される傾向があった。そのため農薬汚染は普遍的に発生しているが、同時に地域毎に農薬の使用時期・暴露量が異なる事も反映していると考えられた。質問票調査の結果、野菜類の摂取が農薬暴露に対して大きく寄与している事が確認された。同時に推定1日暴露量を算出した結果、健康へのリスクは低いと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果より、環日本海地域では新潟県においてネオニコチノイド系農薬のヒトでの暴露量が多い事等、本農薬の普遍的な汚染が示唆された。同時にヒトへのネオニコチノイド系農薬の暴露に主に野菜類の摂取が関与していることが確認された。

これらの結果は、今後の農薬類の疫学調査において基礎的知見を示す高い学術的意義と、近年社会的に注目される本農薬のヒト健康に及ぼすリスクに関する情報を一般社会に供する社会的意義の高いものである。今後本農薬の暴露と、酸化ストレスマーカー等の測定による生体内の酸化ストレスとの関連を調査することで、ネオニコチノイドの人体への健康影響について更に研究していく必要がある。

研究成果の概要（英文）：A biomonitoring study was conducted in Niigata, Ishikawa, and Fukuoka to investigate the contamination of neonicotinoid pesticides in humans and assess their effects. Total 325 Urine samples were collected from healthy individuals during January-April 2019, August-October 2019, and July-September 2020.

The analysis showed that pesticides were detected at relatively high concentrations and frequencies in Niigata Prefecture, and pesticides tended to be detected at relatively high concentrations in the second and third periods. Therefore, pesticide contamination was considered to be a universally occurrence, but at the same time, it was thought to reflect the fact that the timing and amount of pesticide use and exposure differed among regions. The results of the questionnaire survey confirmed that the consumption of vegetables is a major contributor to pesticide exposure. The health risk was considered to be low by calculation of estimated daily intake.

研究分野：環境毒性学

キーワード：ネオニコチノイド系農薬 環境汚染 バイオモニタリング 経口暴露

## 1. 研究開始当初の背景

ネオニコチノイド系農薬は 1990 年代頃から使用され始めた比較的新しい農薬群であり(図 1)、その昆虫に対する選択的な神経毒性により哺乳類などの他種の生物への影響が低いとして世界的に大量に使用されている。

しかし近年の研究で河川水や土壌などの環境中に広範囲な汚染が拡がっていることが報告されており (Sánchez-Bayo et al., 2016)、農業害虫以外では益虫であるミツバチの生息数の減少や生態系内の広範な昆虫類への悪影響が懸念されている(図 2)。

このネオニコチノイド系農薬は農産物やその加工品からも残留物が検出されており、人間社会にも暴露が及んでいる。近年、少数ではあるがヒトから高濃度のネオニコチノイド系農薬の検出が報告されており(Harada et al., 2016; Ueyama et al., 2014)、また疫学研究などでヒトへの影響(Cimino et al., 2017)、特に初期発達毒性(Gu et al., 2013)が報告されており、その将来的な影響が懸念されている。ヒトへの健康影響を評価するには、実際にどのような経路から、どの程度暴露・蓄積されているかを解析することは重要な課題であるが、ヒトでのバイオモニタリングの先行研究が少なく(Ueyama et al., 2014)、そのデータベースなどの基礎知見は乏しい。特にネオニコチノイド系農薬の一大消費地域であるアジア圏では、欧米圏に比較して、ヒトでのバイオモニタリング研究は殆ど行われていない。さらに環境中または生体中でネオニコチノイド系農薬は複雑に分解・代謝され、数多くの分解産物・代謝産物が存在していると考えられるが、代謝産物に関する基礎知見も不足している。

そこで本研究課題の核心をなす学問的問いは『汎用されるネオニコチノイド系農薬はどの程度ヒトを汚染しており、また健康への潜在リスクはあるか?』である。

## 2. 研究の目的

ネオニコチノイド系農薬のヒトへの汚染と健康影響を評価するには、親化合物および代謝産物のヒト バイオモニタリング研究とそれによるデータベース構築は必須である。

そこで本研究の目的は、ネオニコチノイド系農薬による環境汚染のヒトでの暴露実態の把握と健康影響評価を目指し、ネオニコチノイド系農薬および代謝産物のヒト尿を用いたバイオモニタリング調査、尿中濃度から換算した暴露量推定による健康影響の評価である。特に金沢を主とした環日本海地域での地域調査を実施し、アジア圏で不足しているネオニコチノイド系農薬のヒトバイオモニタリングの基礎知見(データベース)の発展にも寄与する。

本研究の独自性はネオニコチノイド系農薬および代謝産物のヒト バイオモニタリングを主眼とし、これまで重要視されてこず検体回収に制約も多いことから、特にアジア圏で不足しているヒトでの基礎知見を得る点である。また農地が多くネオニコチノイド系農薬の使用量も多い環日本海地域に着目し、各地域の研究機関と連携することで検体回収を容易にした新規の研究である。これら基礎知見を蓄積することにより、ネオニコチノイド系農薬のヒトおよび哺乳類への実影響評価へと繋げていく。

## 3. 研究の方法

### (1) ネオニコチノイド系農薬および代謝産物の測定方法の確立

ネオニコチノイド系農薬および代謝物はその親水性の高さにより、主に尿中に排出されることが考えられた(Harada et al., 2016)。尿はバイオモニタリング研究において主な検体の 1 つであり、採取および実験操作が容易である。そのため本研究ではヒトでのネオニコチノイド

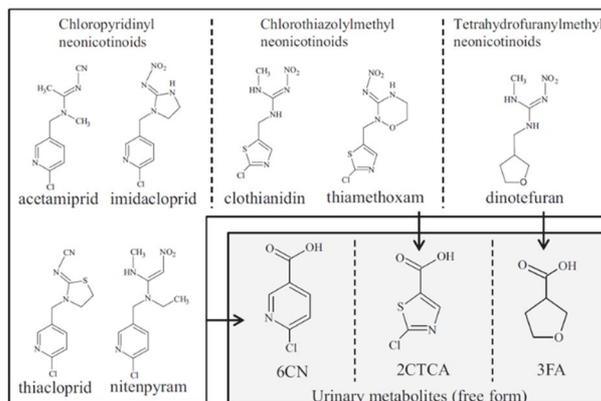


図 1. ネオニコチノイド系農薬の構造 (Nomura et al., 2013)

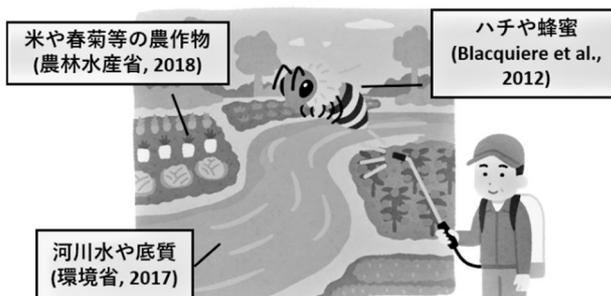


図 2. ネオニコチノイド系農薬の汚染例 (Blacquiere et al., 2012; 国立環境研究所, 2016/2017/ 2018)

系農薬の体内への蓄積を反映し得る尿を用いてバイオモニタリングを実施した。

尿中の親化合物だけでなく、代謝産物も含めた簡便かつ効率的な固相抽出(SPE)および高速液体クロマトグラフィー/質量分析(LC/MS)による測定方法の確立を目指し、研究協力者であるK. Kannan 教授と協力し分析を行い、親化合物と代謝物の一斉分析手法の開発にも取り組んだ。その結果をまとめ、学術論文として発表した：Honda, M., Robinson, M., & Kannan, K. (2019). A simple method for the analysis of neonicotinoids and their metabolites in human urine. Environmental Chemistry, 16(3), 171-178.

検体の前処理として、500 μL の尿に内標準物質を添加後、-glucuronidase を添加し酵素処理を行い、Bond Elut Plexa (60 mg / 3 mL , Agilent)を用いて対象物質を抽出・精製した。濃度分析では、LCMS-8045 (Shimadzu)を用いて濃度測定を行った。

## (2) 金沢を中心とした環日本海地域におけるヒトバイオモニタリング

日本において日本海沿岸地域には新潟県をはじめ多くの農業地帯が存在し、そのためネオニコチノイド系農薬も多く使われている(国立環境研究所, 2018)。そこで本研究では日本でも高濃度の汚染が広がっていると懸念される日本海側地域を、金沢を中心としてヒト尿検体を

表1. 検体情報

	期間	石川	新潟	福岡
第1回	2019年1月~4月	77	12	20
第2回	2019年8月~10月	68	13	27
第3回	2020年7月~9月	79	15	14
合計		224	40	61
年齢(才)		2-70	23-67	21-61
平均年齢		33.7±14.8	46.5±14.3	31.6±10.8
男女比		165:59	30:10	57:4

採集し、その汚染実態を調査した。この際検体回収は技術的に容易であるため、研究協力として九州大学大嶋雄治教授、新潟食料農業大学佐藤根妃奈助教に検体採集を委託し、各地から尿検体を収集した。

尿検体は第1期(2019年1-4月)、第2期(2019年8-10月)、第3期(2020年7-9月)の計3回、石川県・金沢大学、福岡県・九州大学、新潟県・新潟食料農業大学をそれぞれの地域での主として、健康者のべ325人から収集した。検体の採集期間、検体提供者の年齢層などを表1に示す。収集方法はプラスチックカップに採尿し密閉して分析まで-30℃で冷凍保存した。また尿検体収集時に、検体提供者に対して身体情報・住居環境・食生活などに関するアンケート調査も並行して実施した。

本研究は金沢大学医学倫理審査委員会の許諾を受け(試験番号:2018-059(050))、金沢大学における人を対象とする生命科学・医学系研究に関する規程および関連する法規・条例を遵守し実施した。

## (3) 暴露量推定による健康影響評価

Harada et al.(2016)の研究を参考に主要なネオニコチノイド系農薬の推定摂取量を以下の式を用いて算出し、厚労省の定める環境基準値との比較を行いリスク評価を実施した。

## 4. 研究成果

### (1) 汚染状況

各県ごとでのネオニコチノイドの検出結果を表2に示す(THX:Thiomethoxam、ACE:Acetamidoprid、THI:Thiacloprid、TA:Thiacloprid-Amido;灰色:検出率50%以上)、0%から75%の範囲でネオニコチノイドが検出された。全3回を通して、新潟県の検体において比較的高濃度および高頻度で農薬が検出された。

3県間では第2期(2019年8-10月)において、新潟県で他2県に対して有意に高い濃度の農薬が検出された。また各地域での3期間の間では、新潟では第2期、石川では第3期(2020年7-9月)において他期間に対して有意に高い濃度の農薬が検出された。本農薬の主要な使用目的が稲作と想定した場合、石川では第1期は不使用

表2. 尿中濃度の調査結果(濃度単位:ng/mL)

		第1回 2019年1月~4月			第2回 2019年8月~10月			第3回 2020年7月~9月		
		検出頻度	平均値	最大値	検出頻度	平均値	最大値	検出頻度	平均値	最大値
石川県	THX	55.3%	0.18	1.98	29.9%	0.26	3.67	39.2%	0.87	8.51
	ACE	2.6%	<LOD	0.09	41.8%	0.17	1.41	43.0%	0.19	1.6
	THI	0.0%	<LOD	<LOD	0.0%	<LOD	<LOD	0.0%	<LOD	<LOD
	TA	2.6%	<LOD	0.55	37.3%	0.24	2.26	32.9%	0.85	26.14
	Total		0.19	1.98		0.67	4.17		1.91	27.32
新潟県	THX	66.7%	0.21	0.42	33.3%	1.75	7.91	0.0%	<LOD	<LOD
	ACE	0.0%	<LOD	<LOD	75.0%	0.14	0.49	66.7%	0.24	1.85
	THI	8.3%	<LOD	0.05	58.3%	0.6	2.73	35.7%	0.56	4.15
	TA	0.0%	<LOD	<LOD	58.3%	1.38	10.48	53.3%	0.94	6.51
	Total		0.21	0.42		3.88	13.28		1.73	7.12
福岡県	THX	65.0%	0.27	1.21	14.8%	0.16	2.35	21.4%	0.32	1.86
	ACE	5.0%	<LOD	0.2	3.7%	0.03	0.86	57.1%	0.34	1.9
	THI	0.0%	<LOD	<LOD	0.0%	<LOD	<LOD	0.0%	<LOD	<LOD
	TA	0.0%	<LOD	<LOD	7.4%	0.47	8.37	14.3%	0.64	6.97
	Total		0.28	1.21		0.66	8.37		1.3	6.97

時期・第2期は使用期間直後・第3期は使用時期と想定され、新潟ではこれよりも早い時期、福岡ではこれよりも遅い時期であると想定される。そのため本結果は農薬汚染が食物を介して季節を問わず普遍的に発生しているが、同時に地域ごとにネオニコチノイド系農薬の使用時期・量および暴露量が異なる事も反映していると考えられた。

### (2) アンケート調査結果との関連解析

アンケート内容との比較を行いネオニコチノイド暴露経路の推定を行った。第1期・福岡県では、ACE濃度と比較して、野菜の嗜好性を示す「通常の野菜の摂取」および「有機野菜の選択」と有意な正の相関がみられた( $p = 0.01, r = 0.54$ ;  $p = 0.005, r = 0.6$ )。また、尿検体を採取する直近3日間の米( $p = 8.0 \times 10^{-4}, r = 0.64$ )、根野菜( $p = 0.02, r = 0.52$ )、葉野菜( $p = 0.001, r = 0.67$ )の摂取回数とも正の相関がみられた。第2期・新潟県では、ACE濃度と比較して米( $p = 0.02, r = 0.69$ )、THI濃度と比較して果菜類( $p = 0.04, r = 0.61$ )、豆製品( $p = 0.02, r = 0.67$ )、野菜ジュース( $p = 0.005, r = 0.78$ )の摂取回数と正の相関がみられた。

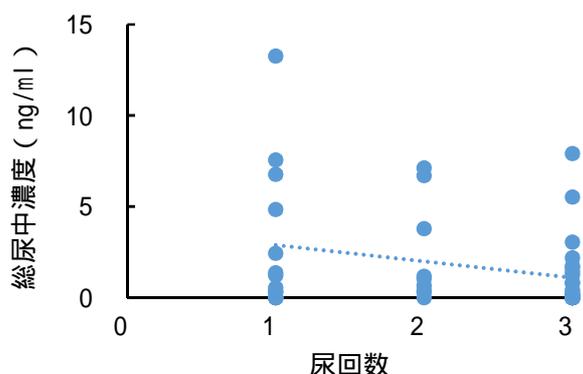


図3. 総尿中濃度と採取時尿回数の相関

全期間を通して、新潟県で得られた検体のネオニコチノイドの合計尿中濃度と、その日のうち何回目の尿かを比較したところ、有意な負の相関がみられた(図3)。

### (3) 暴露量の推定

ネオニコチノイドの尿中濃度から、一日摂取量の推定を行った。

$$DI = CV \times \frac{M1}{M2} \times \frac{1}{f}$$

(DI:一日摂取量、C:尿中濃度、V:一日の尿量、M1:親化合物の量、M2:代謝物の量、f:尿排出係数)

上記の式を用いて、一日の尿量を2L、尿排出係数を文献値より0.5(Harada et al., 2016)としてネオニコチノイド親化合物のTHI、ACE、THXの一日摂取量を推定した。一日摂取量を検体提供者の体重で割ったものを食品安全委員会が定める一日許容摂取量(ADI)と比較した。ADI値はそれぞれTHI:0.012 mg/kg-body weight/day、ACE:0.071 mg/kg-body weight/day、THX:0.018 mg/kg-body weight/dayとした。

全3期分を総合し各検体におけるネオニコチノイドの暴露量を推定した結果(図4)、THIでは新潟県の検体で高い傾向を示し、THXでは石川県の検体で高い傾向を示した。一方でACEでは三県で大きな差異は見られなかった。これらの結果をADIと比較した結果、最大濃度を検出した検体でもADIの10%を下回るネオニコチノイド摂取が示唆された。

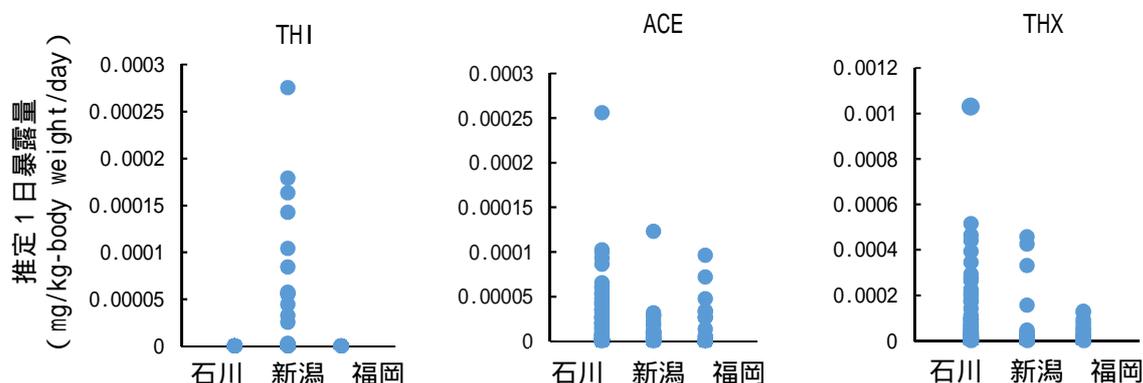


図4. 各ネオニコチノイド系農薬の推定1日暴露量

#### (4) 考察および結論

今回の調査において、新潟県の検体から高頻度でネオニコチノイドが検出され、暴露量が高い傾向にあると考えられた。また全体的に8月から10月の農繁期直後あたり(第2・3期)で暴露量が多くなる傾向がみられた(図5)。検出された濃度は過去の報告と同程度であり(Ueyama et al., 2014)、推定1日摂取量とADIの比較より現状での暴露状況がヒト健康に及ぼす健康リスクは低いと考えられた。

アンケート結果と尿中濃度の比較結果より、農作物の摂取とネオニコチノイド尿中濃度に正の相関がみられたことからヒトへのネオニコチノイド系農薬の暴露に主に野菜類の摂取が関与していることが確認された。

その他の比較要素(例:住環境・肉類の摂取量など)との有意な相関は検出されなかったことから、農作物の摂取が主なネオニコチノイド暴露経路と考えられた。

尿の回数と負の相関があったことより、尿中ネオニコチノイド濃度の日内変動が示唆されたことから、今後のヒト尿を用いたバイオモニタリング調査での尿中クレアチニン濃度などによる濃度補正の必要性が示唆された(Li et al., 2020)。

今回の調査より、環日本海側ではヒト健康に直接的に影響するレベルでのネオニコチノイド暴露は確認されなかったが、野菜類の摂取が多いほどネオニコチノイドに暴露されやすいことが確認された。しかし未だネオニコチノイド系農薬のヒト健康を含む生体影響には不明な点が多いことを考慮し、今後ネオニコチノイド親化合物とその代謝物の暴露と、酸化ストレスマーカー等の測定による生体内の酸化ストレスとの関連を調査することで、ネオニコチノイドの人体への健康影響について更に研究していく必要がある。

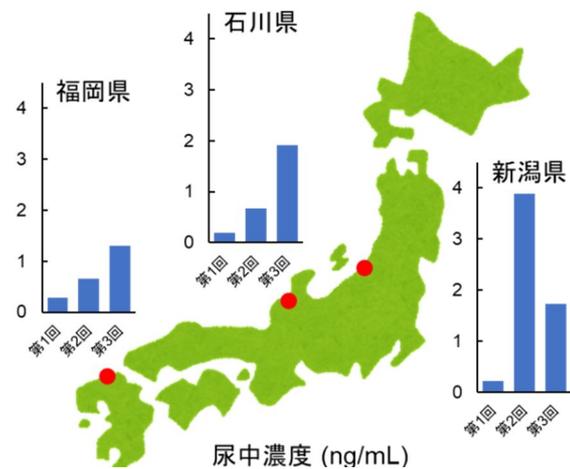


図5. 日本海沿岸地域におけるヒト尿中の総ネオニコチノイド系農薬濃度 (ng/mL)

#### <引用文献>

- Blacquiere, T., Smaghe, G., Van Gestel, C. A., & Mommaerts, V. (2012). Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. *Ecotoxicology*, 21(4), 973-992.
- Cimino, A. M., Boyles, A. L., Thayer, K. A., & Perry, M. J. (2017). Effects of neonicotinoid pesticide exposure on human health: a systematic review. *Environmental health perspectives*, 125(2), 155-162.
- Gu, Y. H., Li, Y., Huang, X. F., Zheng, J. F., Yang, J., Diao, H., ... & Xu, W. P. (2013). Reproductive effects of two neonicotinoid insecticides on mouse sperm function and early embryonic development in vitro. *PloS one*, 8(7), e70112.
- Harada, K. H., Tanaka, K., Sakamoto, H., Imanaka, M., Niisoe, T., Hitomi, T., ... & Koizumi, A. (2016). Biological monitoring of human exposure to neonicotinoids using urine samples, and neonicotinoid excretion kinetics. *PloS one*, 11(1), e0146335.
- Li, A. J., Martinez-Moral, M. P., & Kannan, K. (2020). Variability in urinary neonicotinoid concentrations in single-spot and first-morning void and its association with oxidative stress markers. *Environment international*, 135, 105415.
- Nomura, H., Ueyama, J., Kondo, T., Saito, I., Murata, K., Iwata, T., ... & Kamijima, M. (2013). Quantitation of neonicotinoid metabolites in human urine using GC-MS. *Journal of Chromatography B*, 941, 109-115.
- Sánchez-Bayo, F., Goka, K., & Hayasaka, D. (2016). Contamination of the aquatic environment with neonicotinoids and its implication for ecosystems. *Frontiers in Environmental Science*, 4, 71.
- Ueyama, J., Nomura, H., Kondo, T., Saito, I., Ito, Y., Osaka, A., & Kamijima, M. (2014). Biological monitoring method for urinary neonicotinoid insecticides using LC-MS/MS and its application to Japanese adults. *Journal of occupational health*, 14-0077.
- 国立環境研究所, 2016/2017, 農薬の環境影響調査業務
- 国立環境研究所, 2018, 国内農産物における農薬の使用状況及び残留状況調査

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Honda Masato, Robinson Morgan, Kannan Kurunthachalam	4. 巻 16
2. 論文標題 A simple method for the analysis of neonicotinoids and their metabolites in human urine	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Environmental Chemistry	6. 最初と最後の頁 171 ~ 171
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1071/EN18240	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Masato Honda, Hina Satone, Hiroto Kawashima, and Yuji Oshima
2. 発表標題 Human Biomonitoring of Neonicotinoid Insecticides in Three Prefecture, Japan
3. 学会等名 SETAC SciCon2: SETAC North America 41st Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 本田 匡人
2. 発表標題 The pollution of Neonicotinoid insecticides in human around Japan sea area
3. 学会等名 Joint International Symposium on Sustainable Development and Environmental issues
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masato Honda, Hina Satone, Hiroto Kawashima, and Yuji Oshima
2. 発表標題 Human biomonitoring of neonicotinoid insecticides in Japan
3. 学会等名 ACS Spring 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	佐藤根 妃奈  (Satone Hina)	新潟食料農業大学・食料産業学科・助教  (33114)	
研究協力者	川島 洋人  (Kawashima Hiroto)	秋田県立大学・システム科学技術学部・准教授  (21401)	
研究協力者	大嶋 雄治  (Oshima Yuji)	九州大学・農学研究院 資源生物科学部門・教授  (17102)	
研究協力者	カンナン クルンチャチャラム  (Kannan Kurunthachalam)	ニューヨーク大学・Grossman School of Medicine・教授	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
米国	NYU Grossman School of Medicine		