

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 10 月 6 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2014～2016

課題番号：26304043

研究課題名(和文)ベクターコントロールのための薬剤散布の生態系およびヒト健康に与える影響評価

研究課題名(英文)Ecological and human risk assessment of vector control pesticides

研究代表者

池中 良徳 (Ikenaka, Yoshinori)

北海道大学・(連合)獣医学研究科・准教授

研究者番号：40543509

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,500,000円

研究成果の概要(和文)：WHOはハマダラカの駆除のためDDTの使用を推進しており、アフリカ等の途上国を中心に、室内残留散布として使用されている。一方、DDTは難分解性で環境中の長期間残留が知られ、発がんや内分泌攪乱などの生体影響も疑われている。当該研究では、南アフリカ共和国・クワズルナタール州をベクターコントロールモデル地域とし、DDT・IRSの潜在的な毒性リスク評価を行った。

ニワトリ、ラット、野生鳥類の卵の採取し、その分析を行った結果、いずれの試料からも極めて高濃度のDDT蓄積が観察された。本研究結果は、環境負荷が小さいとされるDDT・IRSにおける、潜在的な毒性影響および環境リスクの存在を示唆していた。

研究成果の概要(英文)：WHO recommended to use DDT for controlling Anopheles, and allow to use more than 5000 tons as indoor residual spraying (IRS) in developing countries mainly in Africa. On the other hand, DDT is well known chemical that is persistence in the environment and has long half-life, with carcinogenicity and endocrine disruption. IRS is considered low environmental burden because spraying occurs inside the house, however, there is insufficient research about the effect on human and animals. From our data, chicken accumulated very high concentration of DDT with the cancer risk for humans health. Moreover, wild rats was accumulated DDT with exceeded the levels that in experimentally exposed rat had cause the liver function disorder. Furthermore, I could detect DDTs from all the examined eggs from wild birds. These results indicated that DDT IRS that has been considered as low environmental impact has potential toxicological effects and environmental risks.

研究分野：環境毒性学

キーワード：ベクターコントロール DDT 屋内限定散布(IRS) 野生動物 化学物質感受性評価 種差 南アフリカ共和国

1. 研究開始当初の背景

■ 病原体媒介生物の制圧は人類にとって極めて緊急性の高い課題であり、種々の対策案が検討され実施されてきているが、DDT やピレスロイド等の薬剤散布は経済的 benefit の観点から未だに主流である。一方、我々の研究グループの先行調査より、アフリカの Vector Control 地域のヒト血漿・母乳から 10 ppm を超える極めて高濃度の DDT が検出された。また、野生鳥類や魚類の組織から 1,000 ppm を超える通常の管理・使用では考えられない高濃度の DDT が検出された。DDT やピレスロイド等の薬剤は、世界的に猛威を振るマラリアによる死亡率を短期間で減少させ、一定の benefit を挙げている事は事実である。しかし、当該先行研究で得られた極めて高濃度の蓄積濃度は、中・長期的には、高いケミカルハザードの risk をヒトや野生動物に与える可能性がある。南アフリカ共和国において、申請者の現地カウンターパートらにより、マラリアコントロール地域で生活するヒトの血漿や母乳から DDTs が 3-17ppm (脂肪当量) という、極めて高濃度で蓄積されている事が報告された (Dyk et al. 2010)。

■ DDT・IRS は、環境負荷が小さいと考えられ推奨されてきたが、本調査結果はその根底を揺らがすものであった。マラリアコントロールに一定の benefit がある DDT であるが、強い残留性・生物蓄積性・長距離移動性があることは周知の事実であり、日本近海の高濃度の一部からは、現在でも 5 ppm (脂肪当量) を超える蓄積が報告されている (Hisamichi et al. 2012)。

2. 研究の目的

以上の背景を基、当該研究の目的は Vector Control に用いられる DDT やピレスロイドの中・長期使用時のヒト健康や生態系に対する risk を明らかにする事である。

DDT やピレスロイド等の農薬は、特に 14 歳以下で高濃度に慢性暴露されると、発がんや生殖器の奇形、繁殖障害、神経障害を引き起こすことが散布地域での疫学調査及び動物実験により明らかにされている。申請者は、先行研究で得られたヒトや野生動物中の極めて高い残留レベル (血清中 7 ppm 以上、母乳中 17 ppm 以上、鳥類 1,000 ppm 以上) は、十分に毒性学的 threshold を凌駕するものであると考えている。すなわち、このまま散布し続けることで Vector Control の短期的 benefit を超える risk が、中・長期的には出てくる可能性がある。Vector Control の為に、“がんの村”、“奇形児の村”を作ってしまった意味がないのである。

そこで、当該研究は、実際に DDT やピレスロイドの散布が行われている南アフリカ共和

国とエチオピア連邦共和国でカウンターパートと共同でサーベイランスを実施する。また、未だ明らかにされていないアフリカの希少野生動物や家畜へのこれら薬剤の毒性影響を明らかにするための評価手法を確立する。

3. 研究の方法

Vector Control のため、DDT やピレスロイドが数 10 トン～数 100 トン散布されている南アフリカ共和国・リンボポ州とクワズルナタール州、及びエチオピア・リフトバレーを調査実施国・地域とする。これらの地域は、アフリカ諸国の中でも特に DDT が散布されている地域であり、先行研究により、ヒト血漿や母乳中から極めて高い濃度の DDT が検出されている。主要地域における網羅的な調査の他、特に汚染が進んでいる地域を重点調査行きとして調査を進める。

4. 研究成果

本研究機関を通じて、合計 4 回にアフリカ地域に渡航して試料採集を行った。採取した試料は、環境試料 (土壌、水、底質) 魚類、両生類 (アフリカツメカエル他) 鳥類 (ニワトリ、コシベニペリカン、クロスキハシコウ、コサギの各卵) 哺乳類 (野生ラット) であり、蓄積する DDT の分析およびリスク評価を実施した。

(1) ニワトリに蓄積する DDTs の実態と食品としての発がんリスク評価

採集した全個体から DDTs が検出され、筋肉中の各濃度は、p,p'-DDT、p,p'-DDE、p,p'-DDD および o,p'-DDT でそれぞれ 9.7 ± 14.7 (平均 \pm SD)、 17.5 ± 22.7 、 1.2 ± 1.8 、 0.3 ± 1.2 ng/g wet wt であった。肝臓中では、p,p'-DDT、p,p'-DDE、p,p'-DDD、o,p'-DDT および o,p'-DDD 濃度はそれぞれ 17.1 ± 29.7 、 164.1 ± 257.1 、 35.6 ± 45.7 、 3.8 ± 8.5 、 2.1 ± 4.1 ng/g wet wt であった。総 DDTs 濃度は、筋肉中で 28.8 ± 37.2 ng/g wet wt であり、肝臓中では 223 ± 317 ng/g wet wt であった。p,p'-DDT 以外の DDTs (p,p'-DDE、p,p'-DDD および o,p'-DDT) の濃度を比べたところ、筋肉と比べ、肝臓において有意に高く蓄積していることが明らかになった。

本研究で明らかにしたニワトリの筋肉中の DDTs 濃度は、FAO が定める外因性残留基準 (ERLs) である $5 \mu\text{g/g lip}$ (JMPR, 1996) を、測定した半数以上 (17 サンプルのうち 8 サンプル) が超過しており、このニワトリの摂食はヒトに対する DDTs 暴露の一因となることが予想される。同州のニワトリに関する先行研究でも、3 つの村から採取したニワトリの脂肪における総 DDTs 濃度は、それぞれ 21.2、11、36.5 $\mu\text{g/g lip}$ と ERLs を超過しており

(Barnhoorn, 2009)、本研究はこの先行研究と同様の結果が得られたと言える。一方、過去の研究により、ヒトの DDT の無毒性量 (NOAEL) は 0.25 mg/kg bw per day であり (JMPR, 1984)、それを基に算出された耐容一日摂取量 (TDI) は 0.01 mg/kg bw である (Solecki, 2000)。一方、本研究で解析したニワトリを摂取することによる DDTs の推定一日摂取量 (EDI) は最大で 0.00018 mg/kg bw と算出され、耐容一日摂取量は大きく下回っていた。一方、本 TDI である 0.01 mg/kg bw はラットの発達毒性の NOAEL である 1 mg/kg に安全係数である 1/100 を乗じて求められた数値であるが、Laug et al. 1950 はラット (*Osborne Mendel* 系) における投与実験 (15-27 week) で、肝障害の NOAEL を 0.05 mg/kg/day と報告している他、Duby et al. 1971 は繁殖毒性において、NOAEL を 0.75 mg/kg/day、Palanza et al. 1999 は発達毒性 (精巣重量の減少) の LOAEL を 0.018 mg/kg/day と報告している。仮に、Palanza et al. 1999 の LOAEL を基に TDI を算出すると、0.000018 mg/kg となり、本研究で得られた EDI は TDI を上回る計算になる。今後、より正確な TDI 算出のために、DDT の毒性について理解を深める必要がある。

本研究の結果、重要なタンパク資源であるニワトリを継続的に摂取することにより、発がんリスクがある事が示された。今後、DDT・IRS の手法やニワトリの飼育方法の改善などが必要であり、ニワトリやヒトにおける DDTs 暴露量を減少させることが重要である。

(2) ラットに蓄積する DDTs とその毒性影響評価

ラットの肝臓において、全ての個体から DDTs が検出され、p,p-DDT, p,p-DDE, p,p-DDD, o,p-DDT, および o,p-DDD でそれぞれ 243 ± 400 (平均 \pm SD), 862 ± 1086 , 1434 ± 1734 , 48 ± 37 , 8.9 ± 16 ng/g-wet weight であった。

これまで、DDT の毒性を明らかにするため、ラットやマウス等の実験動物を用いた投与実験が行われ、肝毒性、神経毒性、免疫毒性、発がん性等、様々な毒性影響が報告されてきた。Laug ら (1950) は 5 mg/kg を最小濃度とする DDT 含有餌を 20 週間連続摂取させると肝臓に微細な変化 (小葉中心性肝細胞肥大や好酸性顆粒の増加等) が起き、その際の、腎周囲の脂肪中の DDT 濃度は 45-107 $\mu\text{g/g lipid}$ である事を報告している。本研究の結果、1 個体を除く他の全ての個体で、45 $\mu\text{g/g lipid}$ 以上であった。即ち、今回捕獲されたラットに関しては潜在的に肝毒性が生じている可能性が考えられた。

一方、DDT の発生毒性に関して、1 mg/kg bw/day と報告される (the Agency of Toxic

Substances and Disease Registry in 1994) NOAEL を超えている個体が存在する可能性がある。発生毒性の NOAEL である 1 mg/kg bw/day は 20 mg/kg の DDT を含有するエサを 5 g 摂取する必要がある。Laug et al. 1950 は、ラットに 1、5、10、50 mg/kg の DDT を 20 週間投与し、その脂肪組織中に蓄積する DDT 濃度との関係を報告している。その結果、1、5、10、50 mg/kg の投与でそれぞれ 11、45、65、217 $\mu\text{g/g lipid}$ の蓄積が観察されている。これを基に、回帰式を作成すると (Fig. 2-5)、 $y = 4.0x + 18.4$ ($R^2 = 0.99$) と極めて良い相関を得ることが出来るため、20 mg/kg の DDT 暴露における脂肪蓄積量は 98 $\mu\text{g/g lipid}$ と推定できた。今回、98 $\mu\text{g/g lipid}$ を超えた個体は、24 個体中 7 個体であり、発生毒性影響が懸念される蓄積量であった。

次に次世代への影響に関する考察する。BALB/c マウスに対して $F_0 \sim F_5$ の 6 世代連続で 2.8-3.0 mg/kg の DDT を継続的に投与したところ、繁殖率や運動性に差は見られなかったが、白血球増多症が確認され、これは特に後世代で顕著にみられた。白血病と悪性腫瘍の発生率は、DDT 投与群の方が対照群よりも有意に高く、とくに F_3 世代と F_2 世代で顕著な差が確認され、発生率は世代を経ることで増加していった (Tarjan et al., 1969)。

Hojo et al., 2006 は、SD ラットに 0、5、50、350 mg/kg の 4 つの濃度の p,p'-DDT を含有した餌を摂取させ、その親世代とその子世代に対する毒性を観察した。高濃度である 50 mg/kg と 350 mg/kg に関しては、親個体において振戦が生じた後、死亡や肝臓に対する病理的な変化が確認された。しかし、最高濃度の 350 mg/kg の食餌でも、生殖や出生後の処々の毒性は確認されなかった。子世代においては、50、350 mg/kg において血中エストロジオールの有意な減少、350 mg/kg においてプロゲステロン濃度の有意な増加、また、350 mg/kg においてオスでは性成熟 (包皮分離) の遅れが確認された (Hojo et al., 2006)。

上記実験で毒性影響が観察された濃度は、いずれも非常に高濃度であるが、マラリアコントロール地域では数 10 年に渡り DDT が散布され続けられるため、世代を跨いだ長期的な毒性影響について、詳細な評価を今後行って行く必要がある。世代時間が短いラットで多世代影響が観察された場合、同じ哺乳類であるヒトに対しても潜在的な毒性リスクがあると考えられる。

(3) DDT の環境拡散と野生動物への影響 ~ 野生鳥類の卵に蓄積する DDTs とその特徴 ~

野鳥の卵として、コシベニペリカン (*pelecanus rufescens*) ($n = 6$)、クロスキハシコウ (*Anastomus lamelligerus*) ($n = 5$)、

およびコサギ(*Egretta garzetta*) (n = 7)の卵を巣から採取した。

本調査の結果、全てのサンプルで DDTs が検出された。コシベニペリカンでは p,p' -DDT, p,p' -DDE, p,p' -DDD および o,p' -DDT でそれぞれ 18.5 ± 20.6 (平均 \pm SD), 396.6 ± 239.0 , 117.1 ± 78.2 , 26.1 ± 4.5 ng/g wet、クロスキハシコウでは p,p' -DDT, p,p' -DDE, p,p' -DDD および o,p' -DDT でそれぞれ 13.9 ± 13.1 , 232.2 ± 99.0 , 12.3 ± 8.5 , 21.9 ± 6.8 ng/g wet、コサギでは p,p' -DDT, p,p' -DDE, p,p' -DDD および o,p' -DDT でそれぞれ 30.9 ± 15.9 , 518.6 ± 358.6 , 8.2 ± 9.2 , 28.7 ± 15.6 ng/g wet であった。蓄積パターンに着目すると、p,p' -DDD の濃度がコシベニペリカンで有意に高かった。コシベニペリカンにおいては、本研究で調査した他種と比べて、p,p' -DDT が有意に高いわけではないことから、最近の多量な暴露による p,p' -DDD の増加が生じているわけではなく、また、p,p' -DDE が有意に高いわけではないことから、過去に多量の暴露を受け、代謝物である p,p' -DDD と p,p' -DDE が高濃度に残留しているという可能性も低い。以上より、コシベニペリカンは p,p' -DDD のみが有意に蓄積しやすい事が考えられ、p,p' -DDT から p,p' -DDD に代謝する経路における代謝能が高い可能性が原因の一つとして考えられる。また、p,p' -DDD から p,p' -DDE もしくは p,p' -DDMU, p,p' -DDA-CI に代謝される経路における代謝能が低いために、p,p' -DDD が蓄積している可能性も考えられる。今後、コシベニペリカンにおける DDT 代謝能に関して調査していくことが求められる。

ここで、p,p' -DDT と同様に o,p' -DDT の蓄積も全ての鳥類で確認された。しかし、代謝産物である o,p' -DDE や o,p' -DDD は全て検出限界以下であり、p,p' -DDT と o,p' -DDT の代謝経路・代謝能の鳥類間の種差が存在する可能性が考えられた。

コシベニペリカンに関する考察

カッシュクペリカンにおける DDT の最大無作用量(NOEL)は $0.5 \mu\text{g/g egg wet wt}$ (Cooper, 1991)、繁殖成功に対する臨界値は $3 \mu\text{g/g egg wet wt}$ であると報告されている(USDoI, 1998)。また、 $1 \mu\text{g/g egg wet wt}$ の濃度で 5-10% 卵殻の薄化が認められている(Blus et al., 1974)。このカッシュクペリカンと同属であるコシベニペリカンの DDTs 濃度を比較すると、6 サンプル中 2 サンプルにおいて、NOEL を超えており、そのうち 1 サンプルでは $1.18 \mu\text{g/g wet wt}$ を示した。これは卵殻の薄化の基準値である $1 \mu\text{g/g wet wt}$ を超過していた。よって、本研究で得られたコシベニペリカンでは、繁殖成功率への影響は少ないと考えられるが、

卵殻の薄化の可能性は示唆された。今回の調査では、卵殻厚の測定は行っていないため、今後の研究が求められる。

コサギに関する考察

アマサギでは、p,p' -DDE の濃度が上昇するほど卵殻菲薄化が認められることが報告されており、 10 ng/g wet では卵殻の厚さは約 0.24 mm であるのに対し、 100 ng/g wet では卵殻の厚さは約 0.19 mm と薄くなっていた(Bouwman et al., 2013)。本研究の結果、アマサギと同じ科に分類されるコサギの p,p' -DDE 濃度は最小濃度でも $214.5 \text{ ng/g wet wt}$ (平均 \pm SD; $518.6 \pm 358.6 \text{ ng/g wet wt}$) であり、全ての卵で 100 ng/g wet を超えていた。この結果より、種差を考慮してもコサギでも十分に卵殻の薄化が生じていると考えられる。また、コサギと同属であるユキコサギに関して、DDE の濃度が $5 \mu\text{g/g wet wt}$ である場合、腹卵数および生殖力が減少し、卵の崩壊が確認されている(Henry et al., 1985)。しかし、本研究のコサギでは DDE の濃度は最大で $1.17 \mu\text{g/g wet wt}$ であり、 $5 \mu\text{g/g wet wt}$ より低値であった。そのため、ユキコサギで確認されているような生殖力の減少等の影響は少ないかもしれない。今後、コサギおよびユキコサギに対する NOAEL 等を算出していく必要がある。

クロスキハシコウに関する考察

クロスキハシコウに関しては、同じ属や科に属する種を対象とした先行研究が無かったため、本研究では水鳥のなかで同様の食性であるホオジロガモと比較した。ホオジロガモでは、DDE は 520 ng/g wet wt の濃度で、卵の崩壊や卵殻の 15.4% の菲薄化が確認されている(Zicus et al., 1988)。本研究におけるクロスキハシコウの卵中の DDE 濃度は $82.2\text{-}304.2 \text{ ng/g wet wt}$ であったため、クロスキハシコウの卵の濃度は毒性影響のある濃度より低値であると考えられる。ただし、野生鳥類の化学物質感受性には大きな種差がある事が報告されているため、各鳥類種の DDT 感受性を明らかにし、種ごとの毒性影響評価を行うことが求められる。

(4) まとめ

以上、本研究は DDT・IRS が実際に行われている南アフリカ共和国・クワズルナタール・ポンゴラ川流域における DDT の環境動態および生物蓄積特性を明らかにしたものである。DDT を室内散布すると、ヒトや野生ラットに対しては直接暴露又は食物を介する間接暴露を受けている可能性が示唆された。特に、食物として、フリーレンジのニワトリが高濃度の DDT を蓄積していることが明らかになり、ヒトにとっての大きな DDT の摂取経路となっていると考えられた。また、IRS により散布された DDT は環境中を土壌や河川等を通じて

拡散し、生物濃縮により鳥類などの高次捕食者に高濃度蓄積していることが考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 49 件)

Lesa A Thompson, Wageh Sobhy Darwish, Yoshinori Ikenaka, Shouta MM Nakayama, Hazuki Mizukawa and Mayumi Ishizuka, Organochlorine pesticide contamination of foods in Africa: incidence and public health significance, *JVMS*, 査読有, 2017, in press, DOI: 10.1292/jvms.16-0214

Yohannes YB, Ikenaka Y, Nakayama SMM, Mizukawa H, Ishizuka M, Trace Element Contamination in Tissues of Four Bird Species from the Rift Valley Region, Ethiopia, *BECT*, 査読有, Vol. 98, 2017, pp 172-177, DOI: 10.1007/s00128-016-2011-4

Yohannes YB, Ikenaka Y, Nakayama SMM, Mizukawa H, Ishizuka M, DDTs and other organochlorine pesticides in tissues of four bird species from the Rift Valley region, Ethiopia, *Sci. Total Environ.* 査読有, Vol. 574, 2017, pp1389-1395, DOI:10.1016/j.scitotenv.2016.08.056

Saengtienchai A, Ikenaka Y, Bortey-Sam N, Jermnark U, Mizukawa H, Kawai YK, Nakayama SMM, Ishizuka M, 査読有, Vol. 190, 2016, pp38-47, DOI: 10.1016/j.cbpc.2016.08.005.

Gerber R, Smit NJ, van Vuren JH, Nakayama SMM, Yohannes TB, Ikenaka Y, Ishizuka M, Wepener V, Bioaccumulation and human health risk assessment of DDT and other organochlorine pesticides in an apex aquatic predator from a premier conservation area, *Sci. Total. Environ.* 査読有, Vol. 550, 2016, pp 522-533, DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.01.129

他 44 本

[学会発表](計 120 件)

アクソルン サエンティエンチャイ、ハリネズミは化学物質高感受性種? African hedgehog (*Atalerix albiventris*)で観察された低薬物代謝能、第 43 回日本毒性学会学術年

会、2016 年 6 月 30 日、ウイックあいち、愛知県名古屋市

Ruan Gerber, Insights into sub-tropical lowland river food webs using stable isotopes, 24th Symposium on Environmental Chemistry, 2015 年 6 月 25 日、札幌コンベンションセンター、北海道札幌市

Lesa A Thompson, Vector-controlling pesticides in free-ranging chickens in KwaZulu-Natal, South Africa, 24th Symposium on Environmental Chemistry, 2015 年 6 月 25 日、札幌コンベンションセンター、北海道札幌市

Lesa A Thomposn, Vector-controlling pesticides disseminating via international waterways to accumulate in free-ranging freshwater and marine fish species, Vth International Wildlife Management COngress 2015, 2015 年 7 月 27 日、札幌コンベンションセンター、北海道札幌市

池中良徳、ベクターコントロールのための薬剤散布の生態系およびヒト健康に与える影響評価、第 23 回環境化学討論会、2014 年 5 月 15 日、京都大学、京都府京都市

他 115 件

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

池中 良徳 (IKENAKA, Yoshinori)
北海道大学大学院獣医学研究科・准教授
研究者番号: 40543509

(2)研究分担者

石塚 真由美 (ISHIZUKA, Mayumi)
北海道大学大学院獣医学研究科・教授
研究者番号: 50332474

(3)連携研究者

櫻井 達也 (SAKURAI Tatsuya)
東京慈恵会医科大学総合医科学研究センター・講師
研究者番号: 60547777

宮原 裕一 (MIYABARA Yuichi)
信州大学先鋭領域融合研究群・准教授
研究者番号: 80311330

下鶴 倫人 (SHIMOZURU Michito)
北海道大学大学院獣医学研究科・准教授
研究者番号：50507168

中山 翔太 (NAKAYAMA Shouta)
北海道大学大学院獣医学研究科・助教
研究者番号：90647629

水川 葉月 (MIZUKAWA Hazuki)
北海道大学大学院獣医学研究科・助教
研究者番号：60612661

(4)研究協力者

Prof. van Vuren Johan

Dr. Wynand Vlok

Prof. Nico Smit

Prof. Paul Grobler

Dr. Yared Beyene

Dr. Endale Teju