

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 20 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究（S）

研究期間：2008～2012

課題番号：20221003

研究課題名（和文） アジア途上地域における POPs 候補物質の汚染実態解明と生態影響評価

研究課題名（英文） Environmental Contamination and Ecological Risk of Novel POPs in the Asian Developing Region

研究代表者

田辺 信介（TANABE SHINSUKE）

愛媛大学・沿岸環境科学研究センター・教授

研究者番号：60116952

研究成果の概要（和文）：POPs 候補物質（有機臭素系難燃剤など）に注目し、途上地域を中心にその分析法の開発、広域汚染の実態解明、廃棄物投棄場等汚染源の解析、生物蓄積の特徴、バイオアッセイ等による影響評価、過去の汚染の復元と将来予測のサブテーマに取り組み、環境改善やリスク軽減のための科学的根拠を国際社会に提示するとともに、当該研究分野においてアジアの広域にまたがる包括的な情報を蓄積することに成功した。

研究成果の概要（英文）：Focusing on novel and emerging POPs (e.g. brominated flame retardants), development of analytical methods, status of contamination, revelation of pollution sources, bioaccumulation features, risk assessment by bioassay/microarray, and temporal and future trends were studied. The present study provided many scientific evidences to the international society for improving the environmental pollution and toxicological measures, and successfully acquired the comprehensive information over the Asian region.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	31,600,000	9,480,000	41,080,000
2009年度	26,000,000	7,800,000	33,800,000
2010年度	25,400,000	7,620,000	33,020,000
2011年度	24,100,000	7,230,000	31,330,000
2012年度	18,000,000	5,400,000	23,400,000
総計	125,100,000	37,530,000	162,630,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学、放射線・化学物質影響科学

キーワード：アジア途上地域・POPs 候補物質・環境汚染・リスク評価・歴史トレンド

1. 研究開始当初の背景

POPs 候補物質（新規残留性有機汚染物質）、すなわち電子電気機器等に含まれる有機臭素系難燃剤や撥水材、表面処理剤等として利用されている有機フッ素化合物等は、最近までヒトや環境中の汚染レベルが上昇し、その動向に学術的・社会的関心が集まっている。しかし、これら POPs 候補物質のモニタリング調査やリスク評価の研究は先進諸国が中心で、途上国の汚染実態はほとんど明らかにされていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、国際社会において大きな関心を集めている POPs 候補物質、およびその発生源としてまた不適切管理地域として懸念されているアジアの途上地域を対象に、環境・生態系汚染の現状と経年変化およびバイオアッセイ/マイクロアレイ等による影響評価の基礎データを集積・解析し、環境改善や対策技術構築のための科学的根拠を提示することにある。具体的には、1) 分析法の開

発、2) アジア途上地域における広域汚染の実態解明、3) 廃棄物投棄場等汚染源の解析、4) 生物蓄積の特徴、5) バイオアッセイ/マイクロアレイによる影響評価、6) 過去の汚染の復元と将来予測のサブテーマに取り組んだ。

3. 研究の方法

本研究は、研究代表者の他に5名の研究分担者、2名の連携研究者(平成23年度より研究分担者に変更)、7名の研究協力者の組織体制で実施した。現在大きな学術的・社会的関心を集めている POPs 候補物質、すなわち PBDEs (ポリ臭素化ジフェニールエーテル) や HBCDs (ヘキサブロモシクロドデカン) などの有機臭素系難燃剤および PFOS (パーフルオロオクタンスルホン酸) などの有機フッ素化合物、重金属類、さらには非意図的生成物質の塩素化および臭素化ダイオキシン類などに注目し、アジアの途上地域を中心に上記6つのサブテーマについて究明を試みた。なお、本研究を遂行するにあたっては、愛媛大学の貴重な研究基盤「生物環境試料バンク(es-BANK)」の冷凍保存試料および途上国研究者の人材ネットワークを有効に活用した。

4. 研究成果

(1) 分析法の開発

既存の POPs および臭素系難燃剤 PBDEs、水酸化 PCBs 等代謝物、臭素化やミックスハロゲン化のダイオキシン類 (PXDD/DFs、Co-PXBs)、ナフタレン類 (PXNs)、POPs 候補物質の代替品 (BTBPE: トリブロモフェノキシエタン、DBDPE: デカブロモジフェニルエタン、DP: デクロランプラスなど) について、前処理技術と高分解能型ガスクロマトグラフ-質量分析計 (GC-HRMS) の高度化で、現場適用型の分析技術を完成した。新規 POPs の臭素系難燃剤 HBCDs 異性体 3 種 (α , β , γ)、PFOS や PFOA はじめ炭素鎖の異なるパーフルオロ化合物 (PFC) 9 種、およびクロルデコンについては、LC-MS/MS (液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計) による高感度・高精度分析法を開発し、汚染の時空間分布の解明に適用した (図1、図5)。また、エンドスルファン、短鎖塩素化パラフィン (SCCPs) については、NCI (負化学イオン化) 法を用いた GC-HRMS 高感度測定手法を確立した。さらに、複数種の有機スズ化合物および生産量と消費量が増加している有機リン系難燃剤 (リン酸エステル類) についても GC-MS または LC-MS/MS による分析法を開発した。これらの一部について国際相互検定にも参加し良好な結果を得た。加えて、GC-HR-TOFMS (高分解能型時間飛行質量分析計) 分析技術を環境試料に適用し、多くの未知有機ハロゲン化合物の検索同定や半定量が可能となり、本技術の有効性が拡大した。DR-CALUX と化学

分析法を統合した TIE アプローチについては、包括毒性評価値に対する既知毒性物質の寄与割合推定法を確立し、実試料 (ハウスダストやイガイ等) に適用して臭素化ダイオキシン類のリスクが無視できないこと (図4) を示すなど本手法の有用性を実証した。未知毒性物質の検索同定手法は、POPs や POPs 候補物質を含む化学分析法 (液-液分配分画、シリカゲルカラム分画や HPLC 分画等) を確立し、実試料へ適用可能な段階にまで高度化した。

既存の POPs および POPs 候補物質の高感度・高感度分析法を開発できたことは、貴重な環境・生物試料の有効活用、多様な有害物質の一斉同時分析、GC-HR-TOFMS によるスクリーニング分析と未知化学物質のデータバンク整備等の具体化に繋がる有用な成果である。また、TIE アプローチは優先評価物質の選定ツールとして実用可能な段階になっており、環境施策への貢献が期待できる。上記の成果は学術論文や国際シンポジウム等で発表し、新しい化学物質の包括的な検索同定や測定技術の総合化の観点においてその新規性が高く評価された。

(2) 広域汚染の実態解明

新規 POPs および候補物質によるアジア-太平洋地域の広域汚染の実態解明を目的に、海洋堆積物、二枚貝のイガイ、回遊魚のカツオ、陸棲・沿岸棲および外洋棲の水棲哺乳動物、ヒトの母乳等を対象に分析を試みた。その結果、PFOS などの有機フッ素化合物および PBDEs や HBCDs などの有機臭素化合物をこれらの試料から検出し、既存の POPs に加え難燃剤・撥水材等として利用された新規 POPs や候補物質の汚染もアジア全域に及んでいることを実証した。分布の特徴を解析したところ有機フッ素化合物と HBCDs は日本や韓国で相対的に高い濃度が認められ、この種の物質の利用と汚染は先進国が中心で途上国へは未だ拡大していないことが判明した。一方、難燃剤の PBDEs は経済成長の著しい新興国で高濃度汚染が認められ (図1)、中国・インド・ベトナム等で拡大をみせる電子電気機器廃棄物 (e-waste) リサイクル施設が大きな汚染源として機能していることが推察された。また、新規 POPs として生産・

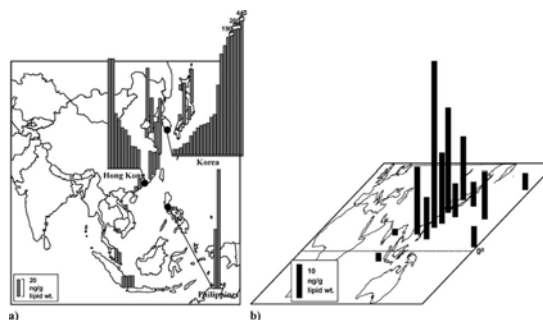


図1: イガイ(a)およびカツオ(b)から検出された臭素系難燃剤 PBDEs の汚染分布

蓄積したのに対して脳の蓄積レベルは有意に低値を示し、血液-脳関門の働きによる化学物質の脳移行の抑制が示唆された。また、多様な栄養段階の魚介類試料を分析し、窒素・炭素安定同位体の測定結果と併せて解析したところ、既知の POPs と同様に PBDEs や HBCDs も食物連鎖を通して高次栄養段階の生物に高濃縮することが判明した。さらに、新たに確立した水酸化代謝物の分析法を野生高等動物やヒトの血液に適用したところ、OH-PCBs や OH-PBDEs の異性体残留パターンは動物種や生息域によって大きく異なった。血中 OH-PCBs/PCBs 濃度比は陸棲哺乳動物に比べ海棲哺乳動物で低値を示し、本種の PCBs 代謝能は相対的に弱いと推察された。スナメリの脳と血液の濃度比から、OH-PCBs は OH-PBDEs に比べ脳移行しやすい傾向が認められ、とくに脳下垂体に集積することが判明した。また、ヒトや海棲哺乳動物の血中 OH-PBDEs 異性体パターンを解析したところ、その大半は天然起源および MeO-PBDEs の脱メチル化代謝物に由来することが示唆された。さらに、ゴマフザラシ等の鰭足類は他の動物種に比べプロモフェノール類を特異的に高蓄積することが明らかとなった。

サブテーマ4では、*es-BANK* の冷凍保存試料を活用することで新規 POPs の生物蓄積の特徴や濃縮・代謝特性・起源等を比較生物学的に解析し、斬新な成果を多数得た。多様な生物種について代謝物の蓄積を網羅的に解析した研究は他に例がなく、本研究成果の独創性・新規性はきわめて高い。

(5) 影響評価

アジア沿岸域で採取したイガイを対象に、塩素化および臭素化ダイオキシン類の化学分析と DR-CALUX バイオアッセイを実施し、未知のダイオキシン様活性物質が相当量存在すること(図4)、海洋起源の低臭素化ダイオキシン類(1,3,7-TriBDD・1,3,8-TriBDD)が未知の Ah 受容体(AhR)アゴニストであることを解明した。また、AhR、アンドロゲン受容体(AR)、エストロゲン受容体 α (ER α)

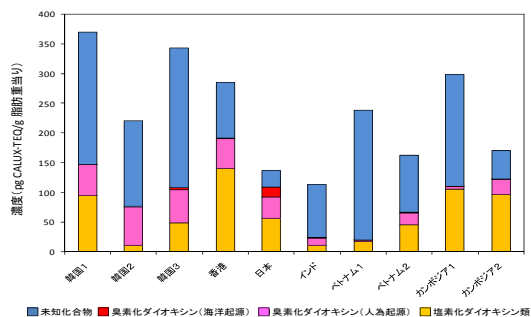


図4: アジア沿岸域で採取したイガイのダイオキシン類分析結果と CALUX バイオアッセイデータの比較

など7種のアゴニスト・アンタゴニストを検出するレポーター遺伝子アッセイ・バッテリーを用いて、大気粉塵・港湾底質・野生高等動物に蓄積する化学物質の受容体活性化能を測定し、その活性プロファイルに地域差や種差がみられることを示した。さらに、鳥類・水棲哺乳類から単離した AhR や constitutive androstane 受容体 (CAR) ・ペルオキシゾーム増殖剤応答性受容体 (PPAR α) の cDNA クローンを培養細胞に導入したバイオアッセイ系を新たに構築し、塩素化ダイオキシン類や有機臭素系難燃剤・有機フッ素化合物に対する活性プロファイルを測定した。各生物種の AhR アイソフォームごとにダイオキシン類同族・異性体の用量-応答曲線から 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) に対する各化合物の相対反応値 (REP) を求め、シトクロム P450 1A (CYP1A) 誘導等価係数 (IEF) を導くことに成功した。一方、哺乳類由来の CAR に関して物質間で解離定数 (KD) 値を比較したところ、ポリ臭素化ジフェニルエーテル (PBDE) は CAR に高い結合親和性を示した。ポリ塩化ビフェニル (PCB) 各同族体に関しては、オルソ位に置換塩素がある非ダイオキシン様 PCB は CAR に対して特異的結合親和性を示したのに対し、ダイオキシン様 PCB は特異的反応を示さなかった。次いで PPAR α と有機フッ素化合物の結合親和性を測定したところ、フッ素置換する直鎖炭素数と結合親和性の間に相関関係が認められた。加えて、カワウの遺伝子ライブラリおよびデータベースの構築、新規マイクロアレイプラットフォームの開発、データ解析手法の最適化を行ない、化学物質によって影響を受けた遺伝子群の変動パターンの特徴を抽出・数値化し、野生生物に適用可能な影響指標を確立した。

以上、多様なアッセイ系の構築や環境試料への適用性を検討することにより、POPs および POPs 候補物質による生体リスクの評価法を確立し、その定量的評価を可能にした。これらの成果はハイインパクトファクターの国際学術誌に掲載され、研究の先駆性・独創性が高く評価された。

(6) 汚染の過去復元と将来予測

愛媛大学の *es-BANK* に冷凍保存されている水棲哺乳類や柱状堆積物の試料を分析し、アジア地域における POPs 候補物質(とくに PBDEs および HBCDs) 汚染の歴史トレンドについて解析した。東京湾の柱状堆積物は1980年代以降急激な濃度上昇を示し、とくに先進国の HBCDs 汚染は近年著しく進行したことが判明した。南シナ海の中国沿岸で混獲されたスナメリの場合、1990年から2000年の10年間でPBDEs濃度は約5倍上昇したが、HBCDs濃度は約2倍の増加にとどまった。さらに海域の遠隔地生物(海棲イルカやオット

セイ) について分析したところ、PBDEs による汚染は 1980 年代以降有意に上昇し近年定常もしくは低減状態を示したのに対し、HBCDs は穏やかな濃度上昇の後、20 世紀末～今世紀になって急激な汚染レベルの増大が認められた (図 5)。類似のパターンは、陸域の遠隔生物バイカルアザラシでも確認された。また海棲のイルカでは、PFOS 等の有機フッ素化合物も近年急速な濃度上昇を示した。以上の結果より、途上国および遠隔地の POPs 候補物質汚染は、今後しばらく継続するものと予測された。レアメタルと水銀については、数種の鯨類を供試して解析を試み、外洋性鯨類のスジイルカとカズハゴンドウでは 1980 年代以降において肝臓中水銀濃度の有意な経年的上昇がみられた (図 6)。近年では中国が主要な水銀排出国となっていることから、本研究結果は中国起源の水銀排出量が増大し、大気経路で越境移動して北太平洋に沈着するとともに鯨類体内に生物濃縮されたことを示唆している。

サブテーマ 6 で明らかにしたアジア-太平洋地域における POPs 候補物質汚染の歴史トレンドは世界初の成果であり、国内外の学術集会で多数の招待講演を依頼されるなど国際的な注目を集めた。

上述したように、本研究では POPs 候補物

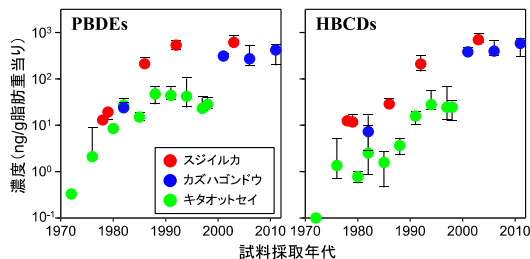


図 5 : 東アジアの鯨類・鯨脚類 (脂皮) から検出された臭素系難燃剤 PBDEs および HBCDs 汚染の経年変化

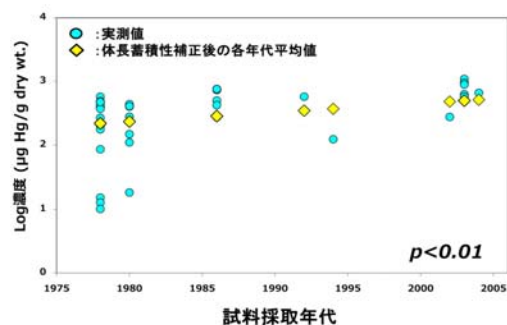


図 6 : スジイルカ肝臓中総水銀濃度の経年変化

質の分析法を体系的に整備してアジアの汚染モニタリングに適用し、汚染源の特徴と広域汚染の実態を時空間的に明らかにすると

ともに、生物蓄積性や生体リスクの評価に加え、代謝物を含むハイリスク化合物の同定や起源の推定にも成功した。当該分野においてアジアの広域にまたがる包括的な情報を提示できたことは、ストックホルム条約 (POPs 条約) 締約国会議の報告書に本研究成果の一部が引用されるなど、学術界のみならず、国際機関や途上国・先進国政府の行政施策と環境改善方策に大きな波及効果をもたらした。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 146 件)

- ① Tanabe, S. and Ramu, K.: Monitoring temporal and spatial trends of legacy and emerging contaminants in marine environment: results from the environmental specimen bank (*es*-BANK) of Ehime University, Japan. *Marine Pollution Bulletin*, 64(7), 1459-1474 (2012). DOI: 10.1016/j.marpolbul.2012.05.013
 - ② Isobe, T., Ogawa, S. P., Ramu, K., Sudaryanto, A. and Tanabe, S.: Geographical distribution of non-PBDE-brominated flame retardants in mussels from Asian coastal waters. *Environmental Science & Pollution Research*, 19(8), 3107-3117 (2012). DOI: 10.1007/s11356-012-0945-6
 - ③ Suzuki, G., Tue, N.M., van der Linden, S.C., Brouwer, A., van der Burg, B., Velzen, M.V., Lamoree, M., Someya, M., Takahashi, S., Isobe, T., Tajima, Y., Yamada, T., Takigami, H. and Tanabe, S.: Identification of major dioxin-like compounds and androgen receptor antagonist in acid-treated tissue extracts of high trophic-level animals. *Environmental Science and Technology*. 45(23), 10203-10211 (2011). DOI: 10.1021/es2024274
 - ④ Tanabe, S. and Minh, T. B.: Dioxins and organohalogen contaminants in the Asia Pacific region. *Ecotoxicology*, 19(3), 463-478 (2010). DOI: 10.1007/s10646-009-0445-8
 - ⑤ Nakayama, K., Handoh, I., Kitamura, S., Kim, E., Iwata, H. and Tanabe, S.: A microarray data analysis method to evaluate the impact of contaminants on wild animals. *Science of the Total Environment*, 408(23), 5824-5827 (2010). DOI: 10.1016/j.scitotenv.2010.08.065
 - ⑥ Tanabe, S., Ramu, K., Isobe, T. and Takahashi, S.: Brominated flame retardants in the environment of Asia-Pacific: an overview of spatial and temporal trends. *Journal of Environmental Monitoring*, 10(2), 188-197 (2008). DOI: 10.1039/B709928B
- [学会発表] (計 792 件)
- ① Takasuga, T., Nakano, T. and Shibata, Y.:

Unintentional POPs (PCBs, PCBz, PCNs) contamination in articles containing chlorinated paraffins and related impacted chlorinated paraffin products. 32st International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants (DIOXIN 2012), Cairns, Australia, August, 2012, Abstract Book, *Organohalogen Compounds*, 74, 1437-1440.

- ② Iwata, H., Lee, J. S., Thuruthippallil, L. M. and Kim, E. Y.: *In vitro* transactivation of avian AHR1 and AHR2 by dioxins to assess the species-specific sensitivity and CYP1A induction in the population-level, SETAC North America 33rd Annual Meeting, Long Beach, California, USA., November, 2012, Abstract book 58.
- ③ Takahashi, S., Kannan, K. and Tanabe, S.: POPs and its related compounds in Asia-Pacific Region: legacy and emerging issues. GCOE Seminar on Water and Environment in Asian Mega Cities, Kyoto, Japan, November, 2011, Proceedings, 11-20.
- ④ Tanabe, S.: Monitoring studies on the contamination of brominated flame retardants in eastern Asian waters using archived samples from *es*-BANK, Ehime University, Japan. International Conference for Environmental Specimen Bank, Berlin, Germany, November, 2010, Abstracts, 14.
- ⑤ Takigami, H., Sato, M., Sakai, S., Tanabe, S. and Brouwer, A.: Application of a panel of nuclear receptor/reporter gene bioassays to marine harbor sediments in Asia. 29th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, DIOXIN 2009, Beijing, China, August, 2009, Abstract Book, 51.

[図書] (計 78 件)

- ① 磯部友彦・国末達也・田辺信介：アジア-太平洋地域の化学汚染，分子でよむ環境汚染，鈴木 聡編著，東海大学出版会，2-37 (2009)。
- ② Obayashi, Y., Isobe, T., Subramanian, An., Suzuki, S. and Tanabe, S. (Eds) : Interdisciplinary Studies on Environmental Chemistry, Vol. 2, Environmental Research in Asia for Establishing a Scientist's Network, TERRAPUB, Tokyo, Japan, 341pp (2009).

[その他]

ホームページ:

http://www.ehime-u.ac.jp/~cmes/tanabe/04_project/project_s.html

新聞掲載:

毎日新聞、平成 22 年 6 月 2 日、研究の現場から 化学汚染物質 途上国で深刻 他 8 件

TV 出演:

NHK 総合テレビ、平成 21 年 1 月 20 日 (火) 23:00~、爆笑問題のニッポンの教養「万物は汚れている」

日本テレビ、平成 21 年 12 月 5 日 (土) 19:56~、世界一受けたい授業・3 時間目理科「人間によって汚染された動物たち」

受賞:

田辺信介:平成 21 年 10 月 29 日、日本学術振興会 科学研究費補助金第一段審査貢献表彰

田辺信介:平成 23 年 6 月 29 日、紫綬褒章

岩田久人:平成 23 年 7 月 10 日、日本生態学会「第 16 回生態学琵琶湖賞」

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田辺 信介 (TANABE SHINSUKE)

愛媛大学・沿岸環境科学研究センター・教授
研究者番号: 6 0 1 1 6 9 5 2

(2) 研究分担者

岩田 久人 (IWATA HISATO)

愛媛大学・沿岸環境科学研究センター・教授
研究者番号: 1 0 2 7 1 6 5 2

(3) 研究分担者

高菅 卓三 (TAKASUGA TAKUMI)

愛媛大学・沿岸環境科学研究センター・客員教授
研究者番号: 1 0 4 5 1 3 7 9

(4) 研究分担者

高橋 真 (TAKAHASHI SHIN)

愛媛大学・農学部・准教授
研究者番号: 3 0 3 7 0 2 6 6

(5) 研究分担者

仲山 慶 (NAKAYAMA KEI)

愛媛大学・沿岸環境科学研究センター・講師
研究者番号: 8 0 3 8 0 2 8 6

(6) 研究分担者

滝上 英孝 (TAKIGAMI HIDETAKA)

独立行政法人国立環境研究所・資源循環・廃棄物研究センター・室長
研究者番号: 0 0 3 5 3 5 4 0

(7) 研究分担者

磯部 友彦 (ISOBE TOMOHIKO)

愛媛大学・上級研究員センター・講師
研究者番号: 5 0 3 9 1 0 6 6

(8) 研究分担者

鈴木 剛 (SUZUKI GO)

独立行政法人国立環境研究所・資源循環・廃棄物研究センター・特任研究員
研究者番号: 7 0 4 1 4 3 7 3