

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590739

研究課題名(和文)新規残留性有機汚染物質群の汚染源と曝露の解明

研究課題名(英文)Source and exposure of emerging persistent organic pollutants

研究代表者

原田 浩二(Harada, Kouji)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：80452340

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：POPs候補物質である短鎖塩素化パラフィン、有機フッ素化合物を化学イオン化質量分析法を用いることで低濃度で検出できた。京都大学生体試料バンクにおいて収集されてきた陰膳試料の測定を行い、日本における食餌中濃度分布、地域差、他の曝露源との比較検討を行った。日本において有機フッ素化合物の摂取量はこの10年間で変動はなかった。血清試料も分析し、同族体の構成比が同じことを確認し、魚介類摂取との相関を示した。母乳試料も分析し、乳児の曝露量を明らかにした。短鎖塩素化パラフィンについて、特に中国で食事中で検出された。母乳試料では中国で塩素化トリデカン、日本は塩素化ウンデカンが一部認められた。

研究成果の概要(英文)：POPs candidates, short-chain chlorinated paraffins, organofluorine compounds, are detected at low concentrations by using a chemical ionization mass spectrometry. The measurements were performed for samples that has been collected in Kyoto University biological specimen bank. Dietary intake, geographic distribution in Japan, and the source of exposure were evaluated. There was no change over the past decade in intake of organofluorine compounds in Japan. Serum levels showed the similar composition ratio of the homologues and correlation between seafood intake. Levels in breast milk samples revealed the exposure of the infant. For short-chain chlorinated paraffins, it is detected in the food duplicate samples, especially in China. In the breast milk samples, chlorinated tridecane was observed in China, and some chlorinated undecane in Japan.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・衛生学

キーワード：残留性有機汚染物質 化学分析 モニタリング 汚染源 越境汚染

1. 研究開始当初の背景

残留性有機汚染物質 (Persistent Organic Pollutants: POPs) は、化学的に非常に安定で自然環境中では分解されにくい、食物連鎖を通じ生物体内において高濃度に蓄積される、海洋や大気などによる長距離移動性、ヒトや生態系に対する毒性を有する物質として特徴づけられる。2001年にストックホルムでストックホルム条約が採択され、生物全般に悪影響を与える12種類の化学物質が廃止された。その後9物質が追加されたが、まだ規制が及んでいないが残留性の高い物質が残されている。 POPs 候補物質はやはり難分解性、高蓄積性を持ち、有害性のおそれがある。しかし当初の12種類の物質に比べて、汚染状況やヒト曝露についての情報はほとんどなく、リスク評価にいたっていない。我々は、これまでに有機フッ素化合物、有機臭素化合物のヒト曝露を検討してきた。かつては有機塩素系農薬が主要な POPs と考えられてきて、調査の対象となつてこなかった。過去のどの程度曝露があつたのかを評価することは通常困難であるが、我々は京大生体試料バンクに保管されている試料を用いて過去の曝露量の評価を試みた。有機フッ素化合物、有機臭素化合物のヒト血清中濃度を過去にさかのぼって調査したが、いずれも80年代から2000年にかけて増加してきており、これらはそれぞれの原材料出荷量のトレンドに符合するものであつた (Koizumi et al., Environ Res 2005)。また一方で有機臭素化合物の陰膳食事試料を用いた評価では80年代と90年代で有意な変化がなく、それ以外の曝露源の寄与が推定された (Wada et al., J Occup Health 2005)。このように背景となるシナリオを検証することができた。一方で日本で1975年に製造禁止となつたポリ塩素化ビフェニルの食品中濃度が80年代から2000年までに10分の1になつたものの、血清中濃度は1940年代出生の群では低下しておらず、高塩素化体は依然蓄積が続いていることを示した (Koizumi et al., Environ Health Prev Med 2009)。

2. 研究の目的

本研究では潜在的に環境汚染が疑われる

POPs 候補物質を対象として汚染調査およびヒト曝露評価を行う。 POPs 候補物質として、予備的研究にて東アジアでこの10年間で汚染の進行が見られた短鎖塩素化パラフィン (金属加工油、PCBの代替品)、有機フッ素カルボン酸を中心に、残留性がありながら曝露情報の限られている物質を対象とした。具体的には以下の項目について明らかにすることを目的とした。

1) 曝露評価と生物学的モニタリング手法の確立：食事試料、生体試料を用いて POPs 候補物質の分析手法を確立すること。食事をを用いた曝露評価や母乳を用いた生物学的モニタリングが可能となり、母乳の安全評価も可能とすること。

2) 汚染が懸念される物質のモニタリング：上記手法を用い、多種類の POPs などの曝露評価を食事試料、血清、母乳を用いて行うこと。日本のみならず、周辺各国の試料を用いることで各国の特徴を描出し、有用な比較対照とすること。

3) 汚染源の詳細調査：2)の結果から、ヒト曝露が経年的に増加している疑いがある化学物質について、汚染源を調査すること。

3. 研究の方法

1) 曝露評価と生物学的モニタリング手法の確立： POPs 候補物質の分析法を開発した。化学的な性質がこれまでの POPs に類似していることから DDT 及び他の化合物について確立された方法で測定を試みた。また抽出、精製の効率が低い試料もありえたので、検出に高感度な分析が可能な化学イオン化質量分析法を用いた。

2) 食事試料、血清、母乳試料の分析1で開発された分析手法で試料の測定を行った。京大生体試料バンクにおいて収集されてきた陰膳試料の測定を行い、日本における食餌中濃度分布、地域差、他の曝露源との比較検討を行った。また地域差、経年変化が体内濃度に反映されているかを知るために血清試料も分析し、相関を検討した。

さらに乳児への曝露を検討するため、母乳試料も分析し、血清から母乳への移行のしやすさと乳児の曝露量を明らかにした。上記の検討を行ううえで、まず複数の検体からプール試料を作成し、各グループ、年代での傾向を抽出し、さらに個別試料の分析し、検証を行った。

また中国、韓国で得られた試料の分析を実施した。

3) 汚染源の詳細調査 モニタリングの結果、汚染の進行が見られた POPs 候補物質、また汚染が際立っている地域、製品について、より詳細な調査を実施した。食事からの摂取については、食品群との関連調査を実施した。また食事以外からの摂取についても考慮し、室内粉じん、生活用品などの試料も採取、分析を検討した。

4. 研究成果

1) 曝露評価と生物学的モニタリング手法の確立: POPs 候補物質である短鎖塩素化パラフィン、有機フッ素化合物を化学イオン化質量分析法を用いることで低濃度で検出できた。

有機フッ素カルボン酸をベンジルエステルに誘導し、EI、ECNI でのフラグメントを決定した。EI では分子量関連イオン(benzyl PFOA では m/z 504)を認め、一方、ECNI ではベンジル基を脱離した PFOA アニオン(m/z 413)が効率よく生成した。ベンジルラジカルが電子の非局在化により安定化するためと考えられた。

イオンペア抽出した食事試料を ECNI で測定した。検出限界は 2pg/g から 10pg/g となった。前回、陰イオン交換抽出、LC/MS/MS を用いた場合より (MDL: 100 pg g⁻¹ for n-PFNA, 500 pg g⁻¹ for n-PFDA and n-PFUnDA; Kärrman et al. Environ Int 2009)、1~2 桁の改善が見られた。

2) 食事試料、血清、母乳試料の分析: 京都大学生体試料バンクにおいて収集されてきた陰膳試料の測定を行った。日本・中国・韓国の 1990 年代、2000 年代の食事試料の比較検討を行った。

有機フッ素カルボン酸摂取量はソウルで 1990 年に比べ、2000 年代では有意に増加が見られた。さらに特徴的なパターンとして、奇数鎖有機フッ素カルボン酸が偶数鎖有機フッ素カルボン酸よりも日本・韓国で優位に見られた。この傾向は先行研究の血清中 PFCAs のモニタリング値(Harada et al., 2011)と類似しており、食品が PFCAs の主要な摂取経路だと推測される。PFOA(C8)よりも長鎖の有機フッ素カルボン酸(炭素数 C9-C14)の割合は三カ国平均で 1990 年代から 2000 年代にかけて 68%から 82%へと増加しており、東アジアにおける長鎖有機フッ素カルボン酸の曝露が増加していることが示唆される。

血清中有機フッ素カルボン酸濃度に関連する因子について検討を行った。性別で有意な差は見られなかった。単変量解析では、年齢との相関は炭素数 C8, C9, C10, C11, C12 で有意になった。魚介類摂取のバイオマーカーであるエイコサペンタエン酸/アラキドン酸比(EPA/AA)と炭素数 C8, C9, C10, C11, C12 は正の相関を示した。EPA/AA は年齢と相関していたため年齢、性別をさらに調整し、共分散分析を行っても EPA/AA と C8, C9, C11, C12 との間に有意な相関が認められた。

母乳試料の有機フッ素カルボン酸も分析し、乳児の曝露量を明らかにした。炭素数 C8, C9 が大半の検体で検出された。日本では炭素数 C11 も多く検出された。中国では炭素数 C8 でも 63%の検出割合であった。

Kruskal-Wallis (Steel-Dwass)での検定では炭素数 C8, C9, C10, C11 で日本が韓国に比べ有意に高く、炭素数 C13 では韓国と中国の間のみ有意差が見られた。また日中韓では約 50%が炭素数 C8、残りの 50%が炭素数 C9-C13 で占められていた。有機フッ素カルボン酸間の相関は炭素数 C8-C9 間に比較的強い相関があったが、炭素数 C8 は長鎖有機フッ素カルボン酸と相関がなかった。一方、炭素数 C9, C11, C13 間で強い相関が見られた。因子分析では 2 因子に分離でき、長鎖と炭素数 C8 では由来が異なることが示唆された。

短鎖塩素化パラフィンについて、特に中国で食事中で検出された。試料中の脂肪含量を測定した結果、脂肪含量の高い試料ほど SCCPs 濃度が高い傾向が認められたため、中国の市場において、脂肪含量が高いと考えられる食品を調査した。

母乳試料では日本 44 検体中 8 検体で微量検出された。韓国 16 検体中 1 検体で微量検出された。中国 17 検体全てにおいて検出され、他の二か国と比較して、1 桁高い濃度であった。炭素数別の濃度では塩素化トリデカン(C13)を中心に特徴的な傾向が認められた。

中国で入手した油脂類、菓子類、乳製品においては、製品ごとのばらつきが大きかったものの、油脂類において $\mu\text{g/g}$ (wet) レベルの濃度が検出された。同年、中国から日本に輸入された油脂類においても中央値では同等程度の濃度が検出され、最大値 ($7.5 \mu\text{g/g}$ (wet)) を示すものが確認された。

3) 汚染源の詳細調査

クリーナーダスト中で有機フッ素カルボン酸は高濃度で検出され、PFNA(C9)、PFUDA(C11)、PFTTrDA(C13)は、和歌山で最も高く、中央値はそれぞれ 29 ng/g、22 ng/g、7.8 ng/g であることが分かった。PFOA 濃度が大阪でもっとも高く、78 ng/g であったが、他の地域では PFNA より低い結果となった。PFCAs 間での相関から因子分析を行った。3 因子が固有値 1 以上を示し、第一因子は奇数鎖長鎖 PFCAs、第二因子は C7, C8、第三因子は偶数鎖長鎖 PFCAs に因子負荷を有していた。電解フッ素化、フッ素テロマーヨージド、フッ素テロマーオレフィンからの PFCAs 製造プロセスの違いを示していると考えられた。

化粧品 15 製品中 13、日焼け止め 9 製品中 8 で有機フッ素カルボン酸が検出された。フッ素アルコールリン酸エステルの表示のある製品からは全て有機フッ素カルボン酸が検出された。総有機フッ素カルボン酸(炭素鎖 6-14)の濃度は化粧品で最大 $5.9 \mu\text{g/g}$ 、日焼け止めで最大 $19 \mu\text{g/g}$ であった。これは今までに報告された生活用品に含まれる有機フッ素カルボン酸のレベルを大き

く上回っており(Washburn et al., 2005)、この高濃度有機フッ素カルボン酸が含まれたパーソナルケア製品は人への直接曝露の原因、もしくはハウスダストや下水の汚染原因となる可能性がある。

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 16 件)

1. Junxia Yan, Kayoko Inoue, Akihiro Asakawa, Kouji H. Harada, Takao Watanabe, Noriyuki Hachiya, Akio Koizumi、Methylmercury Monitoring Study in Karakuwacho, a Peninsula Area in Japan. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 査読あり、2014

doi: 10.1007/s00128-014-1241-6

2. Harada KH, Niisoe T, Imanaka M, Takahashi T, Amako K, Fujii Y, Kanameishi M, Ohse K, Nakai Y, Nishikawa N, 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 and Koizumi A. Radiation dose rates now and in the future for residents neighboring restricted areas of Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant. Proc Natl Acad Sci USA. 査読あり、111(10): E914-923, 2014

doi: 10.1073/pnas.1315684111

3. 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. Poll. 査読あり. 185: 228-233, 2014

doi: 10.1016/j.envpol.2013.11.002

4. 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. 査読あり. 63(1): 19-25, 2014

doi: 10.1016/j.envint.2013.10.016

5. Liu W, Tanabe M, Harada KH, Koizumi A. Levels of urinary isoflavones and lignan polyphenols in Japanese women. Environ. Health Prev. Med. 査読あり. 18(5): 394-400, 2013

doi: 10.1007/s12199-013-0338-6

6. Fujii Y, Harada KH, Koizumi A. Occurrence of perfluorinated carboxylic acids (PFCAs) in personal care products and compounding agents. Chemosphere. 査読あり. 93(3): 538-544, 2013

doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.06.049

7. Harada KH, Fujii Y, Adachi A, Tsukidate A, Asai F, Koizumi A. Dietary Intake of Radiocesium in Adult Residents in Fukushima Prefecture and Neighboring Regions after the Fukushima Nuclear Power Plant Accident: 24 hr-Food Duplicate Survey in December 2011. Environ Sci Technol. 査読あり. 47(6):2520-2526, 2013

doi: 10.1021/es304128t

8. Liu W, Takahashi S, Sakuramachi Y, Harada KH, Koizumi A. Polyfluorinated telomers in indoor air of Japanese houses. Chemosphere. 査読あり. 90 (5): 1672-1677, 2013

doi: 10.1016/j.chemosphere.2012.09.062

9. Fujii Y, Harada KH, Koizumi A. Analysis of perfluoroalkyl carboxylic acids in composite dietary samples by gas chromatography/mass spectrometry with electron capture negative ionization. Environ Sci Technol. 査読あり. 46(20): 11235-11242, 2012

doi: 10.1021/es302536g

10. 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. 査読あり, 89(4): 452-457, 2012

doi: 10.1016/j.chemosphere.2012.05.098

11. Koizumi A, Harada KH, Niisoe T, Adachi A, Fujii Y, Hitomi T, Kobayashi H, Wada Y, Watanabe T, Ishikawa H. Preliminary assessment of ecological exposure of adult residents in Fukushima prefecture to radioactive cesium through ingestion and inhalation. Environ. Health Prev. Med. 査読あり. 17(4): 292-298, 2012

doi: 10.1007/s12199-011-0251-9

12. Fujii Y, Yan J, Harada KH, Hitomi T, Yang H, Wang P, Koizumi A. Levels and profiles of long-chain perfluorinated carboxylic acids in human breast milk and infant formulas in East Asia. Chemosphere. 査読あり. 86(3): 315-321, 2012

doi: 10.1016/j.chemosphere.2011.10.035

13. Fujii Y, Ito Y, Harada KH, Hitomi T, Koizumi A, Haraguchi K. Regional variation and possible sources of brominated contaminants in breast milk from Japan. Environ. Poll. 査読あり. 162:269-274, 2012
doi: 10.1016/j.envpol.2011.11.022

14. Liu W, Chen S, Harada KH, Koizumi A. Analysis of perfluoroalkyl carboxylates in vacuum cleaner dust samples in Japan. Chemosphere. 査読あり, 85(11): 1734-1741, 2011
doi: 10.1016/j.chemosphere.2011.09.024

15. Harada KH, Takasuga T, Hitomi T, Wang PY, Matsukami H, Koizumi A. Dietary exposure to short-chain chlorinated paraffins has increased in Beijing, China. Environ Sci Technol. 査読あり, 45(16):7019-7027, 2011
doi: 10.1021/es200576d

16. Harada KH, Hitomi T, Niisoe T, Takenaka K, Kamiyama S, Watanabe T, Moon CS, Yang HR, Hung NN, Koizumi A. Odd-numbered perfluorocarboxylates predominate over perfluorooctanoic acid in serum samples from Japan, Korea and Vietnam. Environ. Int. 査読あり. 37(7): 1183-1189, 2011
doi: 10.1016/j.envint.2011.04.011

〔学会発表〕(計 11 件)

1. 原田浩二、藤井由希子、趙山、大島匡世、大澤めぐみ、巖俊霞、藤原登司一、新添多聞、小林果、人見敏明、小泉昭夫、ヒト血清中ペルフルオロアルキルカルボン酸とn-3系不飽和脂肪酸との関連、第 23 回 日本環境化学会討論会、2014 年 5 月 14-16 日 京都大学

2. 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 31-8 月 2 日 東京農工大学

3. 藤井由希子、原田浩二、小泉昭夫、食事中ペルフルオロアルキルカルボン酸(PFCAs)の GC/ECNI/MS 高感度分析、第 83 回 日本衛生学会総会、2013 年 3 月 24-26 日 金沢大学

4. 藤井由希子、原田浩二、小泉昭夫、化粧品・日焼け止とその原料化成品中のペルフルオロアルキルカルボン酸(PFCAs)の検出、第 83 回 日本衛生学会総会、2013 年 3 月 24-26 日 金沢大学

5. 原田浩二、藤井由希子、小泉昭夫、

GC-ECNI-MS による食事試料中ペルフルオロカルボン酸の分析、第 21 回 日本環境化学会討論会、2012 年 7 月 11-13 日 愛媛県民文化会館

6. 藤井由希子、原田浩二、新添多聞、小泉昭夫、炭素鎖の異なる有機フッ素カルボン酸における体内動態の相違、第 82 回 日本衛生学会総会、2012 年 3 月 24-26 日 京都大学

7. 原田浩二、高菅卓三、人見敏明、王培玉、小泉昭夫、日中韓の食事試料中の短鎖塩素化パラフィンとその汚染源の探索、第 51 回 近畿産業衛生学会、2011 年 11 月 5 日 奈良県立文化会館

8. 小泉昭夫、藤井由希子、原田浩二、有機フッ化カルボン酸化合物(C7~C12)の体内動態、第 51 回 近畿産業衛生学会、2011 年 11 月 5 日 奈良県立文化会館

9. 藤井由希子、原田浩二、小泉昭夫、炭素鎖の異なる有機フッ素カルボン酸における体内動態の相違、第 51 回 近畿産業衛生学会、2011 年 11 月 5 日 奈良県立文化会館

10. 原田浩二、劉万洋、陳聖英、小泉昭夫、クリーナーダスト中ペルフルオロアルキルカルボン酸(PFCAs)の分析、第 20 回 日本環境化学会討論会、2011 年 7 月 16-17 日 熊本県立大学

11. 藤井由希子、原田浩二、小泉昭夫、母乳中ペルフルオロアルキルカルボン酸の分析法の検討、第 20 回 日本環境化学会討論会、2011 年 7 月 16-17 日 熊本県立大学

〔図書〕(計 1 件)

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, 2013 Apr, Wageningen Academic Publishers. ISBN 978-90-8686-209-2

Akio Koizumi, Kouji Harada, Yukiko Fujii. Comparing pesticides in human breast milk from China, Korea and Japan. pp 743-758.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://hes.med.kyoto-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

原田 浩二 (HARADA KOUJI)
京都大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：80452340

(2)研究分担者
なし

(3)連携研究者
小泉 昭夫 (KOIZUMI AKIO)
京都大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：50124574