

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 20 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25293151

研究課題名(和文)胎児期の非蓄積性殺虫剤曝露の解明と出生児の成長・発達への影響に関するコホート研究

研究課題名(英文)A cohort study on exposure levels of non-persistent insecticides during the fetal period and their effects on the children's development

研究代表者

上島 通浩(KAMIJIMA, Michihiro)

名古屋市立大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：80281070

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：近年、小児における低用量化学物質曝露の健康影響リスクが注目されている。本研究課題では神経系への作用を殺虫機序とする殺虫剤に着目し、個人曝露量として尿中曝露マーカーの測定が可能な出生コホートを設定するとともに、胎児期(妊婦)の曝露マーカーの検出状況を調べた。また、コホート参加児を対象とした将来の殺虫剤曝露の評価に向けて、3歳児における横断的検討を行った。さらに、体内での代謝の個人差が尿中のマーカー濃度に影響を与えるかについて、曝露量の多い集団で横断的に解析した。

研究成果の概要(英文)：In recent years, health risks due to exposure to low-level chemicals have drawn global attention. This project, focusing on insecticides, aimed to build a birth cohort in which their urinary exposure biomarkers could be measured and to estimate their levels during pregnancy. In addition, cross-sectional surveys were conducted in different populations to clarify the biomarker levels in 3-year-old children and if the individual difference in their metabolism could affect their urinary concentrations.

研究分野：衛生学

キーワード：環境対応 人間生活環境 有害化学物質 社会医学

1. 研究開始当初の背景

近年、小児における低用量化学物質曝露の健康影響リスクが注目されている。感受性が高いのは器官形成期であるが(Selevan et al, 2000)、神経系は胎児期を通じて形成されるだけでなく、出生後もシナプス形成や髄鞘化が進み、脳重量は生後24か月で出生時の約3倍にまで増大する。したがって、高感受性期における神経発達影響物質の安全確保という視点で衛生基準を設定するには、まず、胎児期から乳幼児期にかけての曝露実態を、個人曝露量として正確に把握する必要がある。この点に関し、鉛、水銀、ポリ塩化ビフェニル(PCB)など生体中に蓄積する化学物質の研究は近年増えてきたが、体内半減期の短い非蓄積性物質については研究の蓄積がきわめて少ない。特に、現在使用されている、神経系に作用点をもつ殺虫剤については、国内の情報ほとんどない。したがって、これらの点について解明するには、出生コホートを設定し、器官形成期の曝露量とともに児の成長・発達の状況を追跡する必要がある。

2. 研究の目的

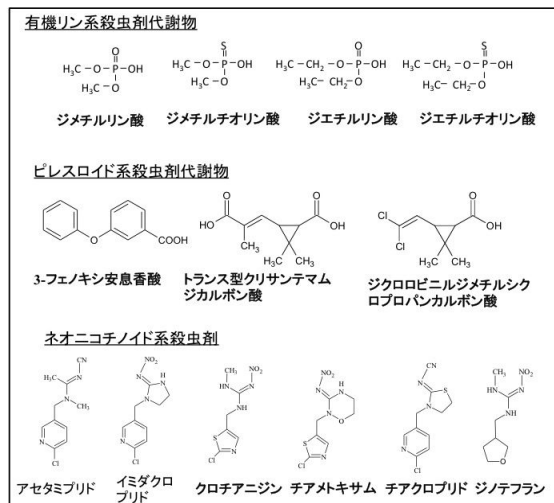
本研究は、器官形成期における非蓄積性殺虫剤への曝露と児の成長・発達との関連を明らかにするという目的の下に、以下の3つの具体的課題について実施した。(1)出生コホートとして胎児期における母体の生体試料を収集する。(2)胎児期の曝露の状況に関して、妊娠中の殺虫剤曝露マーカーの検出率について、また、妊娠期間中の生体試料採取時期によりその濃度に差があるかについて調べる。また、生後の器官形成期における曝露の状況について知見を得る。(3)影響の個人差を生じさせる要因に関して、殺虫剤の体内動態に影響を与えることが想定される代謝酵素および遺伝子多型が、実際に尿中の代謝物濃度に影響を与えているかを解明する。

3. 研究の方法

(1)妊婦約5,700人が参加する出生コホートにおいて本研究の目的を説明し、同意を得られた方から得た尿および血液を-80℃で凍結保存した。生体試料の採取は、原則として妊娠前期および中後期に2回行われた。(2)有機リン系殺虫剤代謝物であるジアルキルリン酸4種類(ジメチルリン酸、ジメチルチオリン酸、ジエチルリン酸、ジエチルチオリン酸)、ピレスロイド系殺虫剤代謝物3種類(3-フェノキシ安息香酸、トランス型クリサンテマムジカルボン酸、ジクロロビニルジメチルシクロプロパンカルボン酸)、ネオニコチノイド系殺虫剤6種類(アセタミプリド、イミダクロプリド、クロチアニジン、チアメトキサム、チアクロプリド、ジノテフラン)の尿中濃度を測定した(図1)。測定は高速液体クロマトグラフトンデム型質量分析計(有機リン系、ネオニコチノイド)およびガスクロマトグラフ質量分析計(ピレスロ

イド系)により行った。

図1. 本研究で対象とした殺虫剤および薬剤代謝物



(3)有機リン系殺虫剤の代謝酵素であるパラオキシナーゼ1(PON1)に着目し、遺伝子多型(PON1Q192R、L55M)および異なる有機リン系薬剤を基質としたときの酵素活性の個体差を調べた。代謝酵素活性が尿中代謝物量に影響を与えるかについては知見がないので、まずは影響があった場合に観察しやすい曝露量の多い集団において、関連の有無を調査し、一般的な環境曝露レベルにおいて外挿できるか検討することとした。PON1遺伝子多型(一塩基多型)はTaqMan法で、PON1酵素活性はクロルピリホス、クロルピリホスメチル、フェントロチオンの各オキソン体に対するエステラーゼ活性およびアリルエステラーゼ活性として、測定した。

なお、本研究は該当する機関の倫理審査委員会の承認を得て実施した。

4. 研究成果

(1)尿については妊娠前期2,233人、中後期2,495人、血液は前期3,750人、中後期2,635人分を収集した。収集できた試料量は参加者によって異なり、尿では30ml超~3ml以下、血液は全血、血清ともに0.1ml~1.5mlの間であった。これにより胎児期におけるコホート試料が構築された。(2)1回目の採尿を妊娠16週以前に実施した者を対象に、殺虫剤曝露マーカーを測定した。有機リン系およびピレスロイド系殺虫剤については、全員が妊娠前期、中後期の尿でいずれかの代謝物を検出したが、ネオニコチノイド系殺虫剤については、いずれかの薬剤が検出された参加者は、前期81%、中後期82%であった。なお、集団の12%は、2回採取した尿いずれにおいてもネオニコチノイド系殺虫剤6種類の濃度が検出下限値未満であった。また、濃度レベルは一般生活環境における他の成人集団に対する調査結果(Ueyama et al. 2009, 2012, 2015)と比較し

て低めと考えられた。対象とした3系統の薬剤それぞれに妊娠前期、中後期の尿中濃度を対応のある検定で比較したところ、測定者数が少ない時点では差があることが疑われた薬剤を含め、いずれも有意差が認められなかった。

また、コホート参加児を対象とした将来の殺虫剤曝露の評価に向けて、3歳児における横断的検討を行った。各曝露マーカーの検出率は、有機リン系(ジメチルリン酸 100%、ジメチルチオリン酸 95.5%、ジエチルリン酸 99.1%、ジエチルチオリン酸 89.7%)およびピレスロイド系(3-フェノキシ安息香酸 100%、トランス型クリサンテマムジカルボン酸 91.9%、ジクロロピニルジメチルシクロプロパンカルボン酸 99.6%)において高く、ネオニコチノイド系殺虫剤はこれに比べて低い結果(アセタミプリド 12.1%、イミダクロプリド 15.2%、クロチアニジン 8.1%、チアメトキサム 25.1%、チアクロプリド 0%、ジノテフラン 57.8%)であった。検出率 60%以上の物質について計算した幾何平均濃度は、最も高かったジメチルリン酸で 14.0 µg/L であった。また、ネオニコチノイド系殺虫剤の合計濃度、ジメチルリン酸、ピレスロイド系殺虫剤の3つのマーカーの夏の濃度は、冬の濃度より有意に高い結果であった。これらの結果は、成人(Ueyama et al. 2012, 2015 他)と同様の傾向である。さらに、アセタミプリド、ジノテフラン、6種類のネオニコチノイド系殺虫剤のいずれかが検出された群では、不検出群に比べてジアルキルリン酸の濃度が有意に高かった。個人の濃度としては、有機リン系(ジメチルチオリン酸 0.43~230.37 µg/L)、ピレスロイド系(ジクロロピニルジクロロシクロプロパンカルボン酸 0.14~48.72 µg/L)、ネオニコチノイド(ジノテフラン 検出下限値未満~62.25 µg/L)ともに、個人差の大きいことが明らかになった。

児の成長・発達との関連についてのコホートからの調査結果の発表までには時間を要するが、上記の結果を今後の検討において念頭に置く必要があると考えられる。

(3) PON1 活性の強さは、基質となる有機リン殺虫剤のオキソン体代謝物により大きく異なった。活性の個人差に関しては、最大 6.3 倍(クロルピリホスメチル)~64.6 倍(フェニトロチオン)の違いがみられ、有機リン殺虫剤の解毒的代謝酵素活性には個人差が存在すると考えられた。一方、Q192R 多型に対応する PON1 活性は、クロルピリホスメチルを基質とした時に Q アレルが増加すると血中酵素活性が増加する一方、クロルピリホスについては逆に減少したが、尿中ジアルキルリン酸量としてみたとき、多型間で有意差は認められなかった。L55M 多型については、クロルピリホスにおいて LL 型で活性が有意に高かったが、やはり尿中ジアルキルリン酸量には有意差が認められなかった。ただし、多型間で活性に有意差がなかったフェニト

ロチオンに関しては、血中の PON1 活性が高いと尿中代謝物量が有意に少なくなった。また、尿中ジエチルチオリン酸濃度に対するクロルピリホスオキソナーゼ活性と Q192R 多型の交互作用が有意であり、ジエチルチオリン酸に代謝される有機リン殺虫剤への曝露が非常に高い集団では、この多型間で健康へのリスクが異なってくる可能性が示された。ただし、本検討では対象者数が限られ、また一時点でスポット採取された尿による横断的検討からの結論であるので、一般化にはさらなる研究が必要である。

以上より、PON1 活性の個人差は大きく、しかしその差は Q192R および L55M 多型のみでは説明できないこと、しかし、一部の有機リン殺虫剤については活性の個人差が尿中代謝物濃度の変動に關与することが示唆された。ただし、(1)で述べたコホートにこの結論を外挿し、酵素活性の層別化にもとづいてリスクを評価する必要があるかに関しては、(2)で明らかになった妊婦の尿中代謝物濃度に照らしたとき、その優先度は高くはないと考えられた。

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 10 件)

1. Osaka A, Ueyama J, Kondo T, Nomura H, Sugiura Y, Saito I, Nakane K, Takaishi A, Ogi H, Wakusawa S, Ito Y, Kamijima M. Exposure characterization of three major insecticide lines in urine of young children in Japan -neonicotinoids, organophosphates, and pyrethroids. Environ Res. 査読有. 147. (2016). 89-96
DOI 10.1016/j.envres.2016.01.028.

2. Sato H, Ito Y, Ueyama J, Kano Y, Arakawa T, Gotoh M, Kondo T, Sugiura Y, Saito I, Shibata E, Kamijima M. Effects of Paraoxonase 1 gene polymorphisms on organophosphate insecticide metabolism in Japanese pest control workers. J Occup Health. 査読有. 58. (2016). 56-65
DOI 10.1539/joh.15-0175-0A.

3. 上島通浩、小栗朋子、加藤沙耶香、榎原毅. 環境省エコチル調査～子どもの健康と環境に関する全国調査～保健師ジャーナル. 査読無. 72. (2016). 291-295 DOI なし

4. 上島通浩. 子どもの健康と環境に関する世界の取り組みの現状と環境省エコチル調査. 愛知県小児科医会会報. 査読無. 印刷中(2016). DOI なし

5. 龍田希、仲井邦彦. 水銀、農薬、PCB 曝露-東北スタディの成果ほか 児の精神神経発

達と環境化学物質(1). 公衆衛生. 査読無.
80. (2016). 303-308. DOI なし

6. 仲井邦彦、龍田 希. 水銀、農薬の曝露
実態. 環境化学物質の曝露(1). 公衆衛生.
査読無. 79. (2015). 271-276. DOI なし

7. Toshima H, Yoshinaga J, Shiraishi H, Ito
Y, Kamijima M, Ueyama J. Comparison of
different urine pretreatments for
biological monitoring of pyrethroid
insecticides. J Analyt Toxicol. 査読有.
39. (2015). 113-119
DOI 10.1093/jat/bku142

8. Ueyama J, Nomura H, Kondo T, Saito I,
Ito Y, Osaka A, Kamijima M. Biological
monitoring method for urinary
neonicotinoid insecticides using LC-MS/MS
and its application to Japanese adults. J
Occup Health. 査読有. 56. (2014). 461-468
DOI 10.1539/joh.14-0077-0A

9. Ueyama J, Saito I, Takaishi A, Nomura
H, Inoue M, Osaka A, Sugiura Y, Hayashi Y,
Wakusawa S, Ogi H, Inuzuka K, Kamijima M,
Kondo T. A revised method for
determination of dialkylphosphate levels
in human urine by solid-phase extraction
and liquid chromatography with tandem mass
spectrometry: application to human urine
samples from Japanese children.
Environ Health Prev Med. 査読有. 19. (2014).
405-413
DOI 10.1007/s12199-014-0407-5

10. 上島通浩、榎原毅、宮田麻衣子、加藤沙
耶香、若林千鶴子、伊藤由起、齋藤伸治、杉
浦真弓. 子どもの健康と環境に関する全国
調査(エコチル調査): 概要並びに東海地区
における実施状況と今後の展望. 東海産科婦
人科学会雑誌. 査読無. 51. (2014). 9-15 DOI
なし

[学会発表](計 12 件)

1. 佐藤博貴、伊藤由起、上島純、加納裕也、
荒川朋弥、五藤雅博、近藤高明、上島通浩. 有
機リン系殺虫剤分解酵素活性と尿中代謝物
の関連. 平成 27 年度 日本産業衛生学会東海
地方会学会
2015 年 11 月 14 日名古屋大学(愛知県・名古
屋市)

2. 上島通浩. バイオロジカルモニタリング
による農薬の個人曝露評価. 第 23 回農薬レギ
ュラトリーサイエンス研究会(招待講演)
2015 年 11 月 30 日 文部科学省研究交流セン
ター(茨城県・つくば市)

3. 上島通浩、伊藤由起、上島純. 殺虫剤の
個人曝露量測定と健康リスク評価. 第 42 回日
本毒性学会学術年会(招待講演)2015 年 6 月
29 日~7 月 1 日. 金沢県立音楽堂(石川県・
金沢市)

4. Sato H, Ito Y, Ueyama J, Kano Y, Arakawa
T, Gotoh M, Kondo T, Sugiura T, Shibata E,
Kamijima M. Paraoxonase 1 (PON1)
polymorphisms, serum enzyme activity and
urinary metabolite concentrations of
organophosphorus insecticides in pest
control workers in Japan. 31st
International Congress on Occupational
Health. 2015 年 6 月 2 日 COEX Convention
Center, Seoul (Korea)

5. 佐藤博貴、伊藤由起、上島純、加納裕也、
荒川朋弥、五藤雅博、近藤高明、杉浦友香、
齋藤勲、柴田英治、上島通浩. 有機リン系殺
虫剤散布作業における、パラオキソナーゼ
1 酵素活性と尿中代謝物濃度の関連. 第 88 回
日本産業衛生学会 2015 年 5 月 13 日~5 月 16
日 グランフロント大阪ナレッジキャピタル
(大阪府・大阪市)

6. 上島純、大坂彩、野村洸司、齋藤勲、近
藤高明、黄木弘子、高石亜有子、伊藤由起、
上島通浩. 3 歳児における尿中殺虫剤曝露指
標の相関関係 第 85 回日本衛生学会 2015 年
3 月 26 日~3 月 28 日 和歌山県民文化会館(和
歌山県・和歌山市)

7. 杉浦友香、上島純、上田裕子、涌澤伸哉、
上島通浩. 使い捨てオムツを用いた原中低
分子代謝物類の網羅的分析. 第 85 回日本衛生
学会 2015 年 3 月 26 日~3 月 28 日
和歌山県民文化会館(和歌山県・和歌山市)

8. 大坂彩、上島純、野村洸司、齋藤勲、近
藤高明、黄木弘子、高石亜有子、伊藤由起、
上島通浩. 3 歳児を対象とした有機リン
系・ピレスロイド系・ネオニコチノイド系殺
虫剤の尿中曝露指標一斉分析. 第 42 回産業中
毒・生物学的モニタリング研究会. 2014 年 10
月 25 日~10 月 25 日松本市中央公民館(長野
県・松本市)

9. 佐藤博貴、伊藤由起、上島純、加納裕也、
荒川朋弥、五藤雅博、近藤高明、杉浦友香、
齋藤勲、柴田英治、上島通浩. 有機リン系殺
虫剤曝露と尿中代謝物濃度および代謝酵素
活性の関連について. 第 42 回 産業中毒・生
物学的モニタリング研究会 2014 年 10 月 25
日~10 月 25 日 松本市中央公民館(長野県・
松本市)

10. 佐藤博貴、伊藤由起、荒川朋弥、加納裕
也、上島純、五藤雅博、柴田英治、近藤高明、
上島通浩. 害虫防除作業における殺虫剤

解毒作用へのパラオキシナーゼ1遺伝子多型の影響.第87回日本産業衛生学会 2014年5月25日~5月27日 岡山コンベンションセンター(岡山県・岡山市)

11. 大坂彩、上山純、近藤高明、野村洸司、齋藤勲、犬塚君雄、黄木弘子、高石亜有子、上島通造. 日本人小児を対象とした尿中ピレスロイド系殺虫剤代謝物の高感度分析.第84日本衛生学会 2014年5月25日~5月27日 岡山コンベンションセンター(岡山県・岡山市)

12. 上山純、野村洸司、齋藤勲、近藤高明、伊藤由起、上島通造. LC-MS/MSによる尿中ネオニコチノイド系殺虫剤類の同時定量分析法.第84日本衛生学会 2014年5月25日~2014年5月27日 岡山コンベンションセンター(岡山県・岡山市)

〔図書〕(計 0 件)

〔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://www.med.nagoya-cu.ac.jp/hygiene.dir/study.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

上島 通浩(KAMIJIMA Michihiro)
名古屋市立大学 大学院医学研究科 教授
研究者番号: 80281070

(2)研究分担者

伊藤 由起(ITO Yuki)
名古屋市立大学 大学院医学研究科 講師
研究者番号: 80452192

上山 純(UEYAMA Jun)
名古屋大学 大学院医学系研究科 准教授
研究者番号: 00397465

仲井 邦彦(NAKAI Kunihiko)
東北大学 大学院医学系研究科 教授
研究者番号: 00291336

(3)連携研究者

榎原 毅(EBARA Takeshi)
名古屋市立大学 大学院医学研究科 講師
研究者番号: 50405156

(4)研究協力者

加藤 沙耶香(KATO Sayaka)
名古屋市立大学 大学院医学研究科 特任

助教

研究者番号: 40723002

小栗 朋子(OGURI Tomoko)
名古屋市立大学 大学院医学研究科 特任
助教

研究者番号: 30737341

佐藤 博貴(HIROTAKA Sato)
名古屋市立大学 大学院医学研究科 助教

研究者番号: 70775965