

令和 3 年 6 月 25 日現在

機関番号：37107

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K00574

研究課題名(和文)天然および人工由来の臭素化ビフェノールのヒト曝露と体内動態研究

研究課題名(英文) Human exposure and disposition of naturally occurring brominated biphenols and anthropogenic persistent organohalogenes

研究代表者

原口 浩一 (Haraguchi, Koichi)

第一薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：00258500

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトや海洋哺乳動物に蓄積する臭素化ビフェノール(OH-BDE)が食物連鎖を通じてヒトへ曝露される経路を検証するために、海藻や海洋生物(鯨類、魚介類)およびヒトの食事・母乳についてOH-BDEの分布特性を調べた。海藻(Sargassum sp.)に分布するMeO-BDEはヒトP450(CYP2B6)により脱メチル化されることが分かった。海藻由来のOH-BDEは、生物濃縮によりMeO-BDEとして鯨類や魚介類に残留しており、食事を通じてヒトに曝露され、脱メチル化体(OH-BDE)として血液や母乳に残留することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒトや海洋哺乳動物には残留性有機汚染物質(POPs)と同レベルで天然由来の臭素化ビフェノール類(OH-BDE)が広範囲で検出されている。本研究では、海藻由来のOH-BDEのメチル化体が、食物連鎖により魚介類やヒト食事に検出されること、またヒトに取り込まれたMeO-PBDEは容易に脱メチル化されやすいことを明らかにした。OH-BDEは、抗菌・抗酸化能や内分泌かく乱性を有すると考えられ、そのヒト影響研究の基礎資料となる。

研究成果の概要(英文)：The origin of naturally produced and persistent brominated biphenyls (OH-BDEs) was found to be marine alga (Sargassum sp.) from east Asia. These OH-BDEs were accumulated as methoxylated products in higher trophic organisms such as cetaceans, followed by fish. Human exposure to MeO-BDEs via diet may result in hepatic metabolism by CYP2B6 to OH-BDEs, of which 6-OH-BDE47 may be retained in blood of human.

研究分野：環境衛生

キーワード：体内動態 臭素化合物 海藻 天然化合物

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生体残留性を有する天然化学物質(NHCs)のうち、海藻を起源とする臭素化ビフェノール(OH-BDE)は、臭素系難燃剤(PBDE)の代謝物と物性が類似している。OH-BDEは海洋生物に広く分布することが分かり、日本人血液にも残留している。海藻に分布するフェノール類は、海洋細菌によって臭素化、縮合反応によって二量体化され、さらに生物濃縮性の高いO-メチル化体(MeO-BDE)となる。この脂溶性NHCsが食物連鎖によりヒトに曝露され体内に残留すると考えられる。これまで、日本の食事にはOH-BDEとMeO-BDEが同レベルで混在している。MeO-BDEは脱メチル化により代謝活性化する。ヒト血液残留するOH-BDEはPBDEの代謝産物ではなく、天然由来と考えられる。しかし、天然OH-BDEの発生源、生産種、化学形態、分布地域および濃縮経路は不明である。ヒト曝露によるOH-BDEの影響を予測する上でもその曝露経路、実態および体内動態の解明が求められる。

2. 研究の目的

- (1) 海洋生物が産生する3種の臭素化合物(dimethoxy-BDE)の脱メチル化機構を明らかにするために、動物肝ミクロゾーム(Ms)によるin vitro代謝、ヒト肝Msおよびヒト肝チトクロムP450(CYP)による代謝を検討した。
- (2) 東アジアで採取した海藻のMeO-/OH-BDEの化学形態(組成)分布の種差、地域差(台湾、フィリピンおよび日本)を調べ、同時に市販海藻食品についても調べた。
- (3) 日本近海の鯨類中のNHCsの残留実態および環境動態を人工のフッ素化カルボン酸(PFCAs)と比較し、種差、地域差(日本海と太平洋側)での組成の違いを調べ、OH-BDEを指標としてPFCAsの動態を調べた。また、北海道近海の魚介類(マダラ)についても同様の分布を調べ、鯨類と比較した。
- (4) ヒト母乳中の天然NHCs(MeO-BDE)の汚染実態を人工POP(S) (PBDE, HBCD および PFCAs)と比較し、それらの特性を調べた。
- (5) 日本の幼児の離乳食中の天然(MeO-BDE)および人工(PCB, PBDE, pesticide)の成分組成および濃度を測定し、幼児が食事経由で一日に摂取する量を比較し、またその曝露源を推定した。
- (6) 市販のエビ食品に残留する天然NHCsの残留実態を明らかにし、人工の有機フッ素化スルホン酸(PFSAs)およびフッ素化カルボン酸(PFCAs)の組成と濃度を比較し、ヒト曝露量を推定した。

3. 研究の方法

- (1) 3種の天然化合物 tetrabromoveratrole (TBV), tetrabromo-1,4-dimethoxybenzene (TDB)および 2,2'-dimethoxy-3,3',5,5'-tetrabromobiphenyl (diMeO-BB80) について、3種の酵素誘導剤で前処理したラット、モルモットの肝ミクロゾーム(Ms)をNADPH系と共にインキュベートし、反応代謝物(代謝活性)の誘導剤による種差を調べた。ヒト肝Msおよび12種のヒトP450(CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2B6, CYP2E1, CYP3A4 and CYP3A5)を用いて、代謝活性(脱O-メチル化)に関するP450分子種を調べた。
- (2) OH-BDEの起源、化学形態を明らかにするために、東アジア(日本、韓国、台湾、フィリピン)および米国西海岸で海藻を採取した。内訳は、日本産および韓国産ひじき(*Sargassum fusiforme*)、アカモク(*S. horneri*)、アラメ(*Eisenia bicyclis*)、台湾産ヒイラギモク(*S. ilicifolium*)、カリフォルニア産タマハハキモク(*S. muticum*)、フィリピン産ヒラミモク(*S. oligocystum*)であった。また、日本の市販海藻食品としてひじきを購入した。試料は粉末にして、有機溶媒で抽出し、常法に従い精製後、フェノール体(酸性分画)とメトキシ体(中性分画)をそれぞれGC/MS(ECNI)で定量した。
- (3) ストランディングネットワーク北海道より供与された鯨類組織(n=37)のうち、肝臓、血液および脂肪組織を、生息地域(日本海側と太平洋側)に分類し、人工(perfluoroalkyl carboxylic acid (PFCAs))および天然NHCs(OH/MeO-BDE, Br₄Cl₂-dimethylbipyrrole (Br₄Cl₂-DBP))の組成、濃度をGC/MSまたはLC/MS/MSにて定性、定量した。
- (4) 日本人母乳を収集し、人工(PCB, PBDE, PFCAs)と天然NHCs(MeO-BDEs, Br₄Cl₂-DBP)のヒト曝露量を推定した(京都大学ヒト由来試料バンク提供 n=30, 福岡県育児相談会提供 n=17)。試料は有機溶媒で抽出後、従来の方法で処理しGC/MSで分析した。
- (5) 福岡の幼児の離乳食(一日陰膳食, n=46)をホモジナイズし、一部を常法に従って処理し、天然NHCs(MeO-

BDE, 2,4,6-tribromophenol (TBP))および人工 (PBDE, PCB, pesticides)について濃度を調べるとともに、幼児の一日曝露量を推定し、影響評価を行った。また、NHCsの汚染源を特定するために、陰膳食のほか、魚介類、海藻および肉類の離乳食についても調べた。

- (6) 市販されている乾燥エビ食品(小エビ、桜エビ)の国内産、台湾産および中国産(計29検体)を収集した。粉末化した後、人工化学物質(PFCAs, PFSA)および天然NHCs(MeO-BDE)の組成、濃度をGC/MSまたはLC/MS-MSにて定量した。

4. 研究成果

- (1) 海藻由来 MeO-BDE の動物およびヒト肝ミクロゾームによる代謝

動物肝 Ms

3種の dimethoxy 化合物の代謝実験で、フェノバルビタール(PB)誘導型の肝チトクロム P450 (CYP2B および CYP3A) により、容易に一脱 O-メチル化された。二脱 O-メチル化体への代謝活性はわずかであった。モルモットとラットの間で PB 誘導型の肝 Ms では、一脱 O-メチル化体の生成量は大きく異なり、種差があることが分かった。

ヒト肝 CYP

ヒト肝 Ms による代謝では、一脱 O-メチル化体のほかに微量の二次代謝物(二脱 O-メチル化体)が検出された。12種のヒト CYP 代謝では、TBV に対して CYP2B6、次いで CYP2C19 が高一脱 O-メチル化活性を示した。TDB に対して CYP2B6 のほか CYP1B1 と CYP2C9*1 が活性を示した。一方、2,2'-diMeO-BB80 に対しては CYP2B6 および CYP2C9*1 のほか、CYP2C19, CYP3A4, CYP2A6 が活性を有していた。以上、3種の dimethoxy 体はいずれもヒト肝で速やかに一脱 O-メチル化されること、その CYP 分子種では主として CYP2B6 が代謝に関与していることが明らかになった。

こうして、食事等に含有する mono-および diMeO-BDEs は、ヒト曝露後は肝 CYP により脱メチル化体(OH-BDE)として体内に残留することが予想される。

- (2) 海藻における OH-BDE および MeO-BDE の含有量と分布

日本近海、台湾、フィリピンの海藻および日本市販食品(乾燥ひじき)では、MeO-BDEの組成と濃度が大きく異なった。すべての試料から 2'-MeO-BDE68, 6-MeO-BDE47, 2,2'-diMeO-BB80 を含む数種の MeO-BDEs およびその脱 O-メチル化体が検出された。東南アジアの海藻中の総臭素量と各 MeO-BDE 量の間には相関性はみられなかった。OH-BDEの生成量は総臭素量に依存しなかった。OH-BDEの生産は特定の海藻種に限定され、いくつかの環境要因(季節など)に影響されることが示唆された。MeO-BDEの含有量には、地域差および種差があり、Sargassum sp.が高濃度で、次いで Jania sp.に多く、他の種では微量であった。同種の海藻(Sargassum sp.)でも日本国内と東南アジアの地域間で組成の違いがみられた。特に 2'-MeO-BDE68 はフィリピン産に高濃度で含まれ、6-OH-BDE47 は日本で採取した海藻(S. fusiforme)で高濃度(2μg/g dry)であった。日本国内で購入した加工食品(乾燥ひじき)でも検出されることから、OH-BDEのヒト曝露源は食用海藻に由来することが示唆された。

- (3) 日本近海の鯨類における天然および人工ハロゲン化合物の残留実態

分析したすべての鯨類組織から、天然 Br₄Cl₂-DBP(ハロゲン化ビピロール類)および人工 PFCAs(長鎖フッ素化カルボン酸)が同レベルで検出された。肝臓組織の NHCs の主成分は Br₄Cl₂-DBP で、次いで halogenated methylbipyrrole (Cl₇-MBP)および 6-MeO-BDE47 であった。PFCAs では perfluoroundecanoic acid (PFUnDA, C11) および perfluorotridecanoic acid (PFtriDA, C13)が全異性体の 70%を占めた。イシイルカ(Phocoenoides dalli)の肝臓の成分濃度はネズミイルカ(Phocoena phocoena)の肝臓の成分濃度よりも有意に高く、これは生息地域および食性の違いによるものと考えられた。

一方、14種37検体の鯨類の肝臓中の NHCs および PFCAs の残留濃度を比較すると、両化合物群とも killer whale > toothed whale > baleen whale の順に高かった。地域別にみると、Br₄Cl₂-DBP が北日本の太平洋側に、PFCAs および Cl₇-MBP が日本海側に偏って分布している傾向がみられた。6-MeO-BDE47 の濃度に地域差はなく、一様に分布していた。天然 6-MeO-BDE47 は臭素系難燃剤(BDE-47)よりも高濃度で残留していることが分かった。鯨類 PFCAs の曝露源は同地域の魚介類(マグロ等)に残留する PFCAs に由来するとみられ、魚介類が日本人の食事の残留成分の汚染源になっていると思われる。

(4) ヒト母乳中の人工および天然化学物質の残留と曝露評価

臭素系難燃剤

hexabromocyclododecane (HBCD) では、 α -HBCD が最も高濃度 (2.2 ng/g) であった。2006 年調査の母乳と比較して増加傾向がみられた。また tetrabromobisphenol A (TBBPA) は 3.0 ng/g, tribromophenol (TBP) は 0.59 ng/g lipid で、以前に調査した PBDE と同レベルであった。これらは、他のアジア諸国より高い値を示した。HBCD 濃度は初産婦で高く、また母親の年齢と正の相関を示したが、ほかの生活習慣との関係は見いだせなかった。これらの難燃剤の乳児の一日摂取量はそれぞれの NOAEL 値よりもかなり低いことから、臭素系難燃剤の母乳を介した乳児への影響はないものと考えられる。

MeO-BDE

分析した母乳 (n=30) のうち、11 検体で 2'-MeO-BDE68 が、6 検体で 6-MeO-BDE47 が検出された。最高値は 6-MeO-BDE47 (42 ng/g lipid) であった。これらの濃度は臭素系難燃剤 (BDE47 および BDE-209) と同レベルであった。食事として摂取する魚類 (マダラ) に同一組成で検出されることから、魚介類が母乳 MeO-BDE の曝露源である可能性が示唆された。母乳を介して乳児の一日摂取量を算出すると PBDE の暫定一日許容量を大きく下回った。なお、今回検出した天然 MeO-BDE の曝露量については、リスク基準値は設定されていない。

(5) 乳幼児食事 (離乳食) の天然および人工化学物質の残留と摂取量の推定

陰膳食 46 検体のうち 31~91% の試料で化学物質の定量限界以上の値が得られた。乳幼児の食事は 2 つの年齢グループに分けて定量された。7~12 か月の乳幼児の食事よりも、13~24 か月グループの食事の中の化学物質で高濃度で検出された。高濃度を示したのは、hexachlorobenzene, DDE および 2'-MeO-BDE68 であった。陰膳食の 72% から 2'-MeO-BDE68 および 6-MeO-BDE47 を検出した。摂取量として最高値は 2'-MeO-BDE68 で 923 ng/day であった。MeO-BDE 摂取については許容量は設定されていないが、他の POPs の暫定摂取許容量よりかなり低い値であった。MeO-BDE の乳児への影響評価はまだ不明確なため継続調査が必要である。

4 種の海藻 (ふのり、ひじき、わかめ、こんぶ) では、2,4,6-tribromophenol (TBP) の含有量がわかめ、ひじきの順に高いことが分かった。離乳食を魚介類、海藻および肉類に分けると、TBP の摂取量は海藻と関連していた。MeO-BDE や POPs の摂取量は、魚介類と関連した。このことから、離乳食の TBP の曝露源は海藻であるのに対し、MeO-BDE の曝露源は魚介類であると推定された。

(6) 海産エビ食品における天然 NHCs および人工 PFCAs の定量

エビの粉末試料 (n=29) すべてから PFCAs (C8-C14) 7 種、PFASs 5 種および NHCs 7 種を検出した。PFCAs の主成分は PFUnDA (炭素数 11) で、これまで調査されている魚介類 (マダラ) と比較すると、約 1/10 の濃度であった。PFASs (炭素数 8 が主成分) は、PFCAs より低濃度で検出された。PFCAs と PFASs 濃度に相関性は見られなかった。一方、NHCs の主成分は 6-OH-および 6-MeO-BDE47 であったが、ハロゲン化ビピロール類 (Br₄Cl₂-DBP) は検出されなかった。NHCs の組成は、日本近海の海藻の NHCs と類似し、ヒトの食事、母乳および血液で検出される成分と一致した。海藻由来の NHCs は、エビなどに生物濃縮し、海産物食事を介してヒトへ残留することが示唆された。

以上、総括すると、ヒトや海洋哺乳動物に蓄積している臭素化ビフェノール (OH-BDE) は日本および東アジア海域の海藻 (特に Sargassum sp.) に由来しており、O-メチル化された MeO-BDE が生物濃縮によってエビや魚介類へ蓄積し、食事経路でヒトや海洋哺乳動物に曝露される経路が明らかになった。今後、MeO-BDE の脱 O-メチル化による OH-BDE の影響評価が求められる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Fujii Y, Kato Y, Sakamoto K, Matsuishi T, Harada KH, Koizumi A, Kimura O, Endo T, Haraguchi K.	4. 巻 616-617
2. 論文標題 Tissue-specific bioaccumulation of long-chain perfluorinated carboxylic acids and halogenated methylbipyrroles in Dall's porpoises (<i>Phocoenoides dalli</i>) and harbor porpoises (<i>Phocoena phocoena</i>) stranded in northern Japan.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Science of the Total Environment	6. 最初と最後の頁 554-563
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.scitotenv.2017.10.033	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 -
1. 著者名 Fujii Y, Kato Y, Masuda N, Harada KH, Koizumi A, Haraguchi K.	4. 巻 237
2. 論文標題 Contamination trends and factors affecting the transfer of hexabromocyclododecane diastereomers, tetrabromobisphenol A, and 2,4,6-tribromophenol to breast milk in Japan.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Environmental Pollution	6. 最初と最後の頁 936-943
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.envpol.2018.03.015	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 -
1. 著者名 Fujii Y, Kato Y, Kozai M, Matsuishi T, Harada KH, Koizumi A, Kimura O, Endo T, Haraguchi K.	4. 巻 136
2. 論文標題 Different profiles of naturally produced and anthropogenic organohalogens in the livers of cetaceans from the Sea of Japan and the North Pacific Ocean.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Marine Pollution Bulletin	6. 最初と最後の頁 230-242
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jat.3895	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 -
1. 著者名 Fujii Y, Tuda H, Kato Y, Kimura O, Endo T, Harada KH, Koizumi A, Haraguchi K.	4. 巻 247
2. 論文標題 Levels and profiles of long-chain perfluoroalkyl carboxylic acids in Pacific cod from 14 sites in the North Pacific Ocean.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Environmental Pollution	6. 最初と最後の頁 312-318
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.envpol.2019.01.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Fujii Y, Harada KH, Nakamura T, Kato Y, Ohta C, Koga N, Kimura O, Endo T, Koizumi A, Haraguchi K.	4. 巻 263
2. 論文標題 Perfluorinated carboxylic acids in edible clams: A possible exposure source of perfluorooctanoic acid for Japanese population.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Environmental Pollution	6. 最初と最後の頁 114369
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.envpol.2020.114369	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 -

1. 著者名 Fujii Y, Poma G, Malarvannan G, Soeda F, Toda A, Haraguchi K, Covaci A.	4. 巻 195
2. 論文標題 Estimation of dietary intake and sources of organohalogenated contaminants among infants: 24-h duplicate diet survey in Fukuoka, Japan.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Environmental Research	6. 最初と最後の頁 110745
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.envres.2021.110745	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 -

[学会発表] 計6件(うち招待講演 0件/うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Haraguchi K, Fujii Y, Kimura O, Endo T, Kato Y, Ohta C, Koga N.
2. 発表標題 Brominated catechols and guaiacols as possible sources of dihydroxylated PBDEs and hydroxylated dioxins in bivalves from Asia-Pacific.
3. 学会等名 Dioxin 2017: 37th International Symposium & 9th international PCB workshop. (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 藤井由希子、小川和加野、松原 大、原口浩一.
2. 発表標題 海藻 (Sargassum fusiforme) に含有される臭素化ピフェノール (6-OH-BDE47) の抗菌作用
3. 学会等名 第51回ビブリオシンポジウム
4. 発表年 2017年

1 . 発表者名 Fujii Y, Haraguchi K, Kato Y, Ohta C, Koga N, Kimura O, Endo T, Harada KH, Koizumi A.
2 . 発表標題 Edible fish is a source of human dietary exposure: perfluorinated alkyl acids in Pacific cods from North Pacific Ocean.
3 . 学会等名 Dioxin 2018: 38th International Symposium & 9th international PCB workshop. (国際学会)
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Haraguchi K, Fujii Y, Ohta C, Koga N, Kimura O, Endo T, Kato Y.
2 . 発表標題 Human exposure to brominated phenoxy phenols: seaweeds as source of hydroxylated and methoxylated PBDEs in Asia-Pacific.
3 . 学会等名 Dioxin 2018: 38th International Symposium & 9th international PCB workshop. (国際学会)
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Fujii Y, Poma G, Malarvannan G, Haraguchi K, Covaci A.
2 . 発表標題 Occurrence of anthropogenic and naturally produced organohalogens in baby food duplicates for Japanese infants.
3 . 学会等名 Dioxin 2019: 39th International Symposium & 11th international PCB workshop. (国際学会)
4 . 発表年 2019年

1 . 発表者名 Fujii Y, Nakamura T, Kato Y, Ohta C, Koga N, Kimura O, Endo T, Harada KH, Koizumi A, Haraguchi K.
2 . 発表標題 Seafood in lower trophic level is a possible source of human dietary exposure : perfluorinated carboxylic acids in Manila clam (<i>ruditapes philippinarum</i>) in Japan.
3 . 学会等名 Dioxin 2019: 39th International Symposium & 11th international PCB workshop. (国際学会)
4 . 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Endo T, Matsuishi T, Fujii Y, Haraguchi K.	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Nova (New York)	5. 総ページ数 50
3. 書名 Marine Environments: Diversity, Threats and Conservation	

〔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	藤井 由希子 (Fujii Yukiko)	第一薬科大学・薬学部・講師 (37107)	

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
---------	---------