様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　４ 年　６ 月　６ 日現在

機関番号：１６３０１
研究種目：若手研究
研究期間：2020～2021
課題番号：２０Ｋ１９９７５

研究課題名（和文）ハウスダスト中化学物質プロファイル解明とペット動物を用いた健康リスク評価法の開発

研究課題名（英文）Elucidation of environmental chemical profiles in house dust and development of health risk assessment methods using pet animals

研究代表者

水川　葉月（MIZUKAWA, HAZUKI）

愛媛大学・農学研究科・准教授

研究者番号：６０６１２６６１

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、室内における主要な化学物質曝露源であるハウスダストに着目し、ネオニコチノイド等の農薬成分および全自動同定・定量データベースシステム（AIQS-DB）による網羅的スクリーニング分析を組み合わせることで、微量有害物質の詳細プロファイルとその地域特性を解明した。また、小児におけるフィプロニルのリスクが認められ、フタル酸エステル類のリスクの可能性が指摘された。小児と同様の活動域、行動様式をとるペットにおいても健康リスクが懸念され、血清や首輪タグを使ったペットの化学物質曝露量解明や、ペット動物を歩哨動物とした健康リスク評価法の構築に向けた基礎的情報を得ることが出来た。

研究成果の学術的意義や社会的意義
本研究では、夾雑成分を多く含み高度な精製技術を要するハウスダストを対象に膜ろ過精キットを用いた新たな前処理方法を開発し、微量・定量分析と多成分の網羅的スクリーニング分析を組み合わせることで1008成分の化学物質の簡易迅速一斉分析法を確立した。また、ハウスダストを介した室内の微量化学物質汚染実態の解明や曝露源推定を行うとともに、リスク評価ではハウスダストの取り込みによる小児やネコに対する健康リスクも指摘した。以上より、本研究はヒトの身近な化学物質汚染として大きな社会的インパクトをもたらすだけでなく、学術的･社会的波及効果は大きいと考える。

研究成果の概要（英文）：This study focused on the detailed profiles of trace organic pollutants and their regional characteristics by combining target analysis of pesticides such as neonicotinoids and exhaustive screening analysis using an Automated Identification and Quantification System with a database (AIQS-DB) in house dust which is the major indoor source of exposure to chemicals.
The detailed profiles of contaminants and their regional characteristics were elucidated in house dust collected in Ehime and Hokkaido. A risk of fipronil in children was observed, and a possible risk of phthalates was noted. Health risks are also a concern in pets, which have similar activity ranges and behavior patterns as children, and basic information was obtained for elucidating chemical exposure in pets using serum and passive sampler such as collar tags, and for developing a health risk assessment method using pet animals as sentinel animals.

研究分野：環境化学

キーワード：ハウスダスト　室内環境　リスク評価　殺虫剤　膜ろ過精製法　全自動同定・定量データベースシステム

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

１．研究開始当初の背景

ヒトは 1 日の 85～90%を室内で過ごすことから、健全な室内環境の維持が重要な課題である。室内環境中には難燃剤、塗料、医薬品、殺虫剤、パーソナルケア用品など多様な人工化学物質が使用されており、室内での化学物質曝露がアレルギー疾患や化学物質過敏症の原因、もしくは症状を悪化させる要因の 1 つと危惧されている。本研究では準揮発性有機汚染物質曝露の汚染源であるハウスダストに着目する。ハウスダストは室内環境において微量有害物質のシンクであり、ヒトに対する曝露メディアとして重要であるが、その汚染監視やリスク管理の手法・指針等に関するガイドラインは確立されていない。そのため、有害化学物質の高感度微量分析に基づいた室内化学物質の発生源・動態解析の重要性が指摘されるとともに、ヒトの感受性の違いを考慮したリスク評価が求められている。しかしながら、ハウスダストは組成が複雑なため分析が難しく、また、既報で対象とされてきた物質群は重金属や可塑剤など限定的である。近年ヒトへの影響が注目されているネオニコチノイド系農薬やフィプロニルなどの殺虫剤は室内でも害虫駆除やペットのダニ駆除剤等に多用されるものの、その分析例は極僅かである。曝露リスク評価のために更なる汚染実態の把握や室内環境による発生源の違いなど基礎情報の拡充が求められている。

ヒトの胎児期から小児期は化学物質に対して感受性の高い時期であり、ハイリスクライフステージ中の微量有害物質の監視と曝露対策が求められるが、ヒトを用いた研究は倫理的・技術的にも試料採取が極めて難しく、測定化学物質も限定的であるため、乳幼児の包括的な曝露実態把握は容易ではない。一方、（一社）ペットフード協会の調査によると、2018 年では飼いイヌ、飼いネコの 80%以上が室内で飼育されており、ヒトと同様に恒常的に室内の化学物質に曝露されていると推察される。とくにネコや小型犬は 1 日中室内飼育されることも多く、グルーミングや床に近い高さで生活するため、床材やハウスダストに含まれる化学物質の高曝露も予想される。ヒトの乳幼児も床を這い回り口舐めすることで、イヌやネコと類似の化学物質曝露を受けている可能性があり、ペット動物を指標とした化学物質汚染の実態解明は、乳幼児の曝露実態把握やリスク評価のモデル構築にも有用と考えられる。近年では、非侵襲的にヒトの汚染実態をモニタリングする手法として、リストバンド型サンプラーなどが用いられているが、小児・乳幼児では装着や回収が困難であるのが現状である。このような課題を解消するため、乳幼児と同様の行動様式・行動範囲を持つペット動物に首輪型のパッシブサンプラーを装着することで、モニタリングが困難である乳幼児の代わりに室内の微量有害物質の汚染実態や曝露量、曝露経路などを明らかにすることが出来ると考え、室内化学物質汚染の新規モニタリング手法の確立に繋がることが期待できる。

２．研究の目的

本申請研究の目的は、ハウスダストの報告例が乏しいネオニコチノイド系農薬やフィプロニル、トリアゾール系殺菌剤等について液体クロマトグラフタンデム質量分析計（LC-MS/MS）を用いた同定・定量を実施するとともに、全自動同定・定量データベースシステム（AIQS-DB）による網羅的スクリーニング分析法を確立する。本手法を用いて国内外のハウスダストを分析することで、多様な有害化学物質の詳細プロファイルと地域特性を明らかにする。また、ヒトと身近なイヌやネコに焦点を当て、ペット動物における化学物質曝露量をモニタリングし、室内環境の汚染実態把握とリスク評価を実施する。さらに、ペット動物を“歩哨動物”とした新たな室内汚染のモニタリング法の確立と有効性を確認するとともに、ヒトへの健康リスク評価法の構築を検証する。

３．研究の方法

本研究では、1. 先端分析機器を用いたハウスダスト中新規微量化学物質の分析法の確立、2. 国内外で採取したハウスダスト中微量化学物質の詳細プロファイルの解明と地域特性の把握、3. ペット動物の化学物質曝露量の分析測定、4. ペット動物を“歩哨動物”とした新規室内汚染モニタリング法の検討について取り組んだ。

これまでハウスダスト等の夾雑物質を多く含む試料に適した農薬成分の高精度かつ多成分一斉分析法は確立されていない。そこで、本研究では食品中残留農薬の簡易一斉分析法（膜ろ過精製法：SPEEDIA 法）（岡本ら 2019 日本食品衛生学会）を一部改変し、検討を行った。

また、日本国内のハウスダスト汚染実態解明とリスク評価を行うため、愛媛県（n＝26）および北海道（n＝10）の一般家庭において掃除機を用いてダストを採取し、確立した分析法で化学物質の分析を行った。試料採取の際には家庭用薬剤の使用状況、世帯人数や築年数などの家庭環

境、家電家具の設置状況などのアンケートも実施した。採取したハウスダストは、風乾後 212μm メッシュサイズでふるい、分析時まで－20℃で保管した。さらに、汚染プロファイルの地域差を調査するため、海外（タイ、モンゴル）で採取したハウスダストについても分析を試みた。以上より得られた結果を解析し、ハウスダスト中多様な環境化学物質の詳細プロファイルを解明するとともに、アンケート結果に基づく曝露源の推定を行った。統計解析には JMP を用い、マンホイットニーU 検定による二変量解析と対話型変数選択法による重回帰分析を実施した。さらに、検出された化学物質濃度と各機関が発効している TDI（耐容一日摂取量）、ADI（一日摂取許容量）やハウスダスト摂取量、標準体重を用いて小児および青年・大人のハザード比（HQ）を算出し、リスク評価を行った。

さらに、ペット動物の化学物質曝露量の分析測定のため、ペットのイヌ・ネコ飼い主の協力のもと血清を採取するとともに、血清を対象とした農薬成分の簡易一斉分析法を開発した。血清採取時には、年齢や犬種・猫種、既往歴や餌の種類、駆逐薬の処方有無などアンケートを行った。また、包括的に室内汚染実態を解明するため、血清採取した家庭からハウスダストも採取した。ペット動物を“歩哨動物”とした室内環境モニタリングの手法として、首輪に装着するパッシブサンプラーについて、ペットモニタリング製品メーカーやガス測定メーカーなどの企業とともに素材や形状、測定方法などについて検討した。

４．研究成果

４-（１）先端分析機器を用いたハウスダスト中新規微量化学物質の分析法の確立

本研究では、ハウスダストの簡易迅速一斉分析を行うために、食品中残留農薬の簡易一斉分析法である膜ろ過精製法（SPEEDIA 法）を一部改変して検討した。膜ろ過精製では、精製過程において膜ろ過精製キット（SPEEDIA；三浦工業株式会社）の膜ろ過カートリッジ、吸着カートリッジ、脱水・精製カートリッジを用いており、特徴としては、操作が遠心分離のみであること、短時間で処理が可能であること、膜ろ過による高い精製効果が期待されることがあげられる。ハウスダスト 0.3 g をアセトニトリルで超音波抽出し、濃縮、フィルターろ過した。その後、ろ液を膜ろ過精製キットの膜ろ過カートリッジに充填するが、その際、夾雑物質の影響を考慮して規定充填量の 10 分の 1 に減量して膜ろ過精製を行った。その後、ろ液の一部を LC-MS/MS で測定した。残りの膜ろ過ろ液はキットの吸着カートリッジ、脱水・精製カートリッジで処理し、回収液を GC-MS で測定した。LC-MS/MS ではネオニコチノイド系、フェニルピラゾール系殺虫剤、トリアゾール系殺菌剤など 66 成分の微量・定量分析を、GC-MS では全自動同定・定量データベースシステム（AIQS-DB）を用いて多環芳香族、可塑剤や難燃剤などを含む 942 成分のスクリーニング分析を行った（図 1）。LC-MS/MS による農薬分析では、回収率を算出するため農薬成分混合標準液を抽出液に添加し、回収試験を行った。

その結果、66 成分中 52 成分で 70～120%、9 成分で 50～70%の回収率となり、8 割以上の成分で良好な回収率を得られたことから、ハウスダスト中農薬成分の一斉分析法を確立することができた。また本法は従来 1～1.5 日要していた前処理を 5 時間で完了することができる簡易迅分析法である。一方、AIQS-DB を用いた GC-MS 分析では、多成分スクリーニング分析であるため添加回収実験は行わず、実試料でのみ分析を行った。

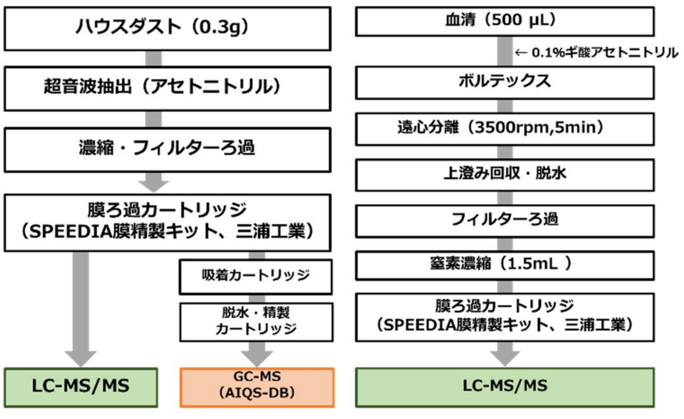

図1　ハウスダストおよび血清におけるLC-MS/MSを用いた農薬66成分分析とGC-MS-AIQS-DBを用いたスクリーニング分析のフローチャート

４-（２）国内外で採取したハウスダスト中微量化学物質の詳細プロファイルの解明と地域特性の把握

上記で確立した分析法を用いて愛媛県および北海道の一般家庭で採取したハウスダストを分析した。その結果、LC-MS/MS では殺虫剤 14 成分・殺菌剤 3 成分・除草剤 5 成分の計 22 成分が検出され、濃度範囲は 0.67～26,000 ng/g であった。とくに、ゴキブリやシロアリ駆除剤として室内で使用されているネオニコチノイド系、フェニルピラゾール系、ピレスロイド系殺虫剤等が主要成分として検出された。これらのうち、検出濃度はフィプロニルで最も高く、検出頻度は木材保存剤に使用されているトリアゾール系殺菌剤のテブコナゾールで最も高かった。GC-MS によ

るスクリーニング分析の結果、46 成分が検出され、濃度範囲は 0.68～936 μg/g であった。その中でも、可塑剤のフタル酸ビス 2 エチルヘキシル（DEHP）が検出濃度・頻度ともに高値でり、その他にフタル酸エステル類のフタル酸ジ-n-ブチル（DBP）、フタル酸ジイソブチル（DIBP）、フタル酸ジシクロヘキシル（DCHP）やリン酸エステルのリン酸トリス(1,3-ジクロロ-2-プロピル)、殺虫剤のクロルフェナピルなどが検出された。採取地域間で検出成分を比較すると、ジノテフラン、アセタミプリド、テブフェノジド、DCHP は愛媛県でのみ検出された。一方、チアクロプリドとフィプロニルスルフィドは北海道でのみ検出されており、DEHP は北海道で有意に高値であった。このことから、ハウスダスト中化学物質濃度やプロファイルは採取地域間で異なることが明らかとなり、気候や湿度、室内の気密性、使用薬剤の違いを反映していると考えられる。

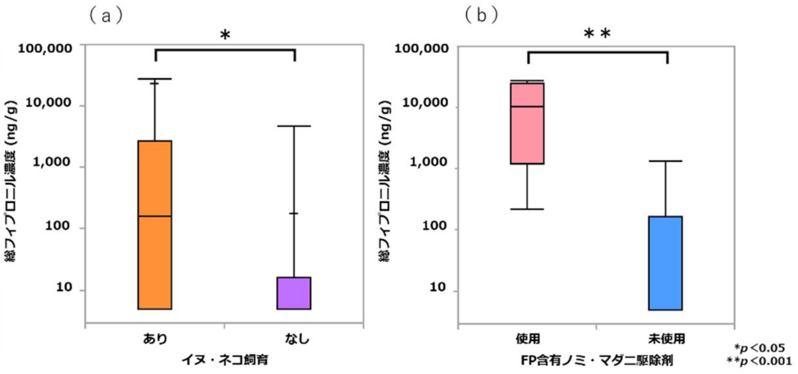

図2　イヌ・ネコ飼育の有無（a）とノミマダニ駆除剤の使用有無（b）における総フィプロニル濃度（フィプロニルおよびその分解物５成分）

また、アンケート項目と検出物質について統計解析を行い、曝露源を推定したところ、世帯人数やペット飼育の有無、使用薬剤、ベッドの有無の項目で有意な相関が認められた。とくに、ペットを飼育している家庭は未飼育家庭よりも総フィプロニル濃度（フィプロニルとその分解物５成分）が有意に高値であり、さらにフィプロニル含有のペット用ノミマダニ駆除剤を使用した家庭は未使用の家庭よりも高濃度であった（図 2）。このことから、室内で使用したフィプロニルがハウスダストに移行・蓄積していることが明らかとなった。また、DIBP と DBP、フタル酸エステル類総濃度は、世帯人数の増加に伴い濃度も高くなったことから、使用家具数や種類、使用薬剤数の違い、室内活動の活発さを反映していると推察された。一方で、ベッド無しの家庭ではベッド有りの家庭よりフタル酸エステル類の濃度が高くなることも明らかとなり（図 3）、布団やシーツなどの寝具に含まれる可塑剤成分が床に敷いた布団からダストへ直接移行し、蓄積した可能性が示唆された。以上の結果より、ハウスダスト中化学物質の濃度や起源は家庭環境やライフスタイルにより大きく異なることが明らかとなった。また、化学物質汚染源の推定にはアンケートによる家庭環境の把握が有効である。

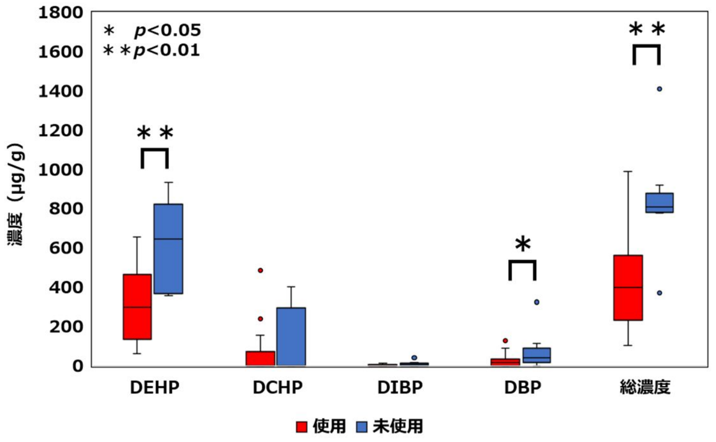

図3　ベッドの使用有無によるフタル酸エステル類の濃度

検出された 22 成分について小児、青年・大人のハザード比（HQ）を算出し、曝露リスク評価を行ったところ、小児でフィプロニルの HQ が 1 を超えたことからリスクありと考えられる（図 4）。また、フタル酸エステル類の DBP や DEHP は 0.1≦HQ＜1 となり、リスクの懸念ありとなった。一方、その他 19 成分については HQ＜0.1 となり、リスクの懸念はないと考えられる。また、各成分の HQ について小児と青年・大人で比較すると、小児の方が青年・大人より高くなり、小児でよりリスクが高いことが明らかとなった。このことから、小児への有害化学物質曝露抑制対策が必要である。しかしながら、HQ は単成分のみを対象としていることから複合的な曝露影響評価は出来ず、また、化学物質の ADI や TDI 情報も限られることから、詳細な情報収集や複合曝露評価、小児へのリスク評価が必要である。

さらに、海外の室内汚染実態を把握し、詳細プロファイルの国別比較するために予備的検討を行った。日本（n＝3）、タイ（n＝1）、モンゴル（n＝2）で採取したハウスダストについて GC-MS-AIQS-DB によるスクリーニング分析を行ったところ、殺虫剤や多環芳香族炭化水素、医薬品などが検出され、濃度や検出成分数、種類についてサンプル間で違いが認められた。国内のハウス

ダスト測定結果と同様に家庭環境や気候、室内構造による検出物質の違いに加え、各国で使用される農薬や可塑剤、難燃剤等には違いがあると予想されたが、試料数が少ないため詳細なプロファイルを考察するには不十分であった。今後はハウスダストの様々な家庭環境における広範囲なサンプリングとモニタリングを実施し、更なる室内汚染実態の解明と詳細プロファイル解析、アンケートに基づく曝露源の推定が重要である。

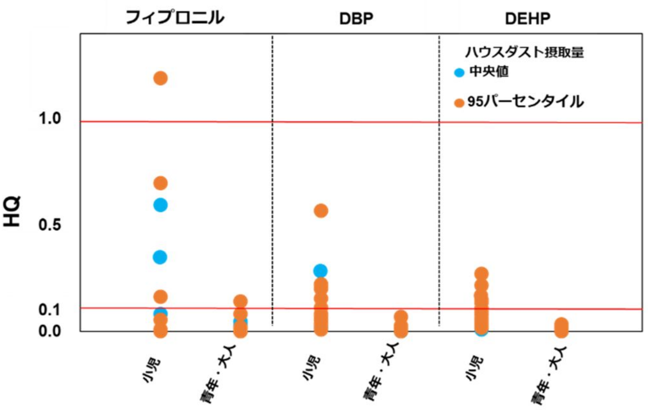

図４　フィプロニル、DBP、DEHPのハザード比（HQ）

4-（3）ペット動物の化学物質曝露量の分析測定およびペット動物を“歩哨動物”とした新規室内汚染モニタリング法の検討

小児と同様の生息範囲や行動様式を持つペットのイヌやネコにおいても、ハウスダストからの高濃度化学物質曝露と健康悪影響が懸念される。とくに、4-（2）で報告したハウスダスト中化学物質濃度と報告されているネコのハウスダスト取り込み量を用いて HQ を算出したところ、フィプロニル、DBP、DEHP で HQ≦1 となり、小児よりも高い HQ 値を示したことから、ネコに対するリスクはより高いと考えられる。そこで、ペットの化学物質曝露量を把握するため、血清中微量化学物質の分析方法を検討した。試料は動物病院の協力のもと、イヌ・ネコ血清および家庭内ハウスダストを採取した。採取したハウスダストについては、4-（2）で分析を実施および報告済みである。分析法は膜ろ過精製法を一部改良し、LC-MS/MS を用いた血清中農薬66 成分の分析方法を開発した。血清 500μＬに 1%ギ酸アセトニトリルを添加し、ボルテックス、遠心分離した後、上澄み液を回収した。上澄み液は無水硫酸ナトリウムで脱水し、フィルターろ過、濃縮した後、濃縮液を膜ろ過カートリッジに充填し、遠心分離後、ろ液を LC-MS/MS で測定した（図 1）。本法において、抽出液に農薬標準液を加えた添加回収試験を行ったところ、60 成分で 70～120%と良好な回収率を得たことから、膜ろ過精製法を用いた血清中微量農薬成分の分析法を確立した。今後は、動物病院で採取したイヌ・ネコ血清を用いて、化学物質曝露量を測定するとともに、ペットのリスク評価を行う。さらに、ハウスダストの結果と照らし合わせて、ハウスダストと血中化学物質プロファイルや濃度の関係を解析し、室内化学物質汚染の曝露経路や曝露量、曝露源を考察するとともに、ペット動物を歩哨動物とした小児の健康リスク評価法の構築に向けた基盤的情報を収集する。

ペットを歩哨動物とした新規室内汚染モニタリング法に向けて、首輪装着のタグ型パッシブサンプラーやモニタリングセンサーの開発や試用について、協力企業とともに協議を行った。形状や採取化学物質、吸着材素材、対象物質などについて意見を交わした。今後は更なる検討協議を行い、装着型パッシブサンプラーを開発するとともに実際のイヌやネコを対象に装着実験などを行う。最終的なゴールとして、ペット動物を用いた室内汚染モニタリング法を開発するとともに、ペットの曝露量から乳幼児の曝露量を推定し、外挿を試みる。

4-（4）今後の展開と社会的意義

室内はヒトの重要な生活空間であるにも関わらず、室内中で曝露し得る低用量の化学物質影響評価はまだ十分な検討がなされていないのが現状である。本研究では、ハウスダストの多成分一斉分析による微量化学物質のプロファイル解析の実施に加え、リスク評価においては小児やネコの健康リスクを指摘した。今後はペットを歩哨動物とした室内曝露量測定法の開発と有効性を検証するとともに、乳幼児の曝露評価法の構築にまで踏み込んだ包括的なアプローチで研究を展開する。非侵襲的で簡便なパッシブサンプラーである首輪を用いて長期間室内の化学物質をモニタリングし、ペットを歩哨動物としたモニタリング手法の有用性が実証できれば、将来の乳幼児に対する有害化学物質の曝露調査や大規模疫学調査においても活用が期待でき、学術的独自性のみならず社会的波及効果は大きいと考えている。

5．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計0件

〔学会発表〕　計9件（うち招待講演　0件／うち国際学会　1件）

1．発表者名 佐藤楓夏、島崎真琴、水川葉月、国末達也、田辺信介、野見山桂
2．発表標題 ネコ用ウェットフードにおける有機ハロゲン化合物の汚染実態とリスク評価
3．学会等名 環境化学オンライン研究発表会2020
4．発表年 2020年

1．発表者名 Kraisiri Khidkhan, Yoshinori Ikenaka, Takahiro Ichise, Shouta M. M. Nakayama, Hazuki Mizukawa, Kei Nomiyama, Hisato Iwata, Koji Arizono, Keisuke Takahashi, Keisuke Kato, Mayumi Ishizuka
2．発表標題 Species variations in cytochrome P450-mediated metabolism of neonicotinoids among cats, dogs, rats, and humans
3．学会等名 環境化学オンライン研究発表会2020
4．発表年 2020年

1．発表者名 白石百香、水川葉月、川嶋文人、岡本みなみ、 高橋真
2．発表標題 ペットフードを対象とした残留性農薬成分の簡易一斉分析法の開発と汚染実態の解明
3．学会等名 第29回環境化学討論会
4．発表年 2021年

1．発表者名 佐藤楓夏、島崎真琴、水川葉月、国末達也、田辺信介、野見山桂
2．発表標題 イヌ・ネコ用ペットフード中有機ハロゲン化合物の汚染実態とリスク評価
3．学会等名 第29回環境化学討論会
4．発表年 2021年

１．発表者名
中島舞、水川葉月、 川嶋文人、岡本みなみ、高橋真

２．発表標題
膜ろ過精製法を用いたハウスダウト中家庭用薬剤などの簡易迅速分析法の開発と曝露実態調査

３．学会等名
2021年室内環境学会学術大会

４．発表年
2021年

１．発表者名
水川葉月

２．発表標題
ハウスダストに含まれる化学物質の網羅的一斉分析法に関する予備的研究

３．学会等名
2021年室内環境学会学術大会

４．発表年
2021年

１．発表者名
水川葉月

２．発表標題
室内におけるペット動物の化学物質汚染とリスク評価

３．学会等名
2021年度愛媛大学農学部 高大連携企画

４．発表年
2022年

１．発表者名
Fuka Sato, Hazuki Mizukawa, Yoshinori Ikenaka, Nozomu Yokoyama, Mitsuyoshi Takiguchi, Kei Nomiyama

２．発表標題
ペット動物における有機フッ素化合物の汚染実態解明

３．学会等名
5th International Chemical Hazard Symposium（国際学会）

４．発表年
2022年

１．発表者名 中島舞、水川葉月、川嶋文人、岡本みなみ、横山望、池中良徳、高橋真
２．発表標題 膜ろ過精製法を用いたハウスダスト中家庭用薬剤等の 曝露実態解明とリスク評価
３．学会等名 環境化学物質３学会合同大会
４．発表年 2022年

〔図書〕　計0件

〔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

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