

機関番号：13901

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21790551

研究課題名(和文) 殺虫剤曝露指標の実践的応用を目指した基礎的研究

研究課題名(英文) Basic study for clinical application of the biomarkers for insecticide exposure

研究代表者：

上山 純(UEYAMA JUN)

名古屋大学・医学部(保健学科)・助教

研究者番号：00397465

研究成果の概要(和文)：

有機リン系殺虫剤(OP)およびピレスロイド系殺虫剤(PYR)曝露レベルの評価には尿中に排泄されるそれぞれの代謝物測定が最近汎用されている。本研究ではこのバイオマーカーの臨床応用するにあたり、いまだ明らかになっていない特長を新たに見出した。実験動物レベルでは、1) OP と PYR の同時曝露では、OP が PYR の加水分解を阻害することにより PYR 由来の尿中代謝物 3 フェノキシ安息香酸(3PBA)の排泄量が低下すること、2) PYR 代謝物類の排泄速度はオスに比べてメスの方が速く、これには代謝酵素の一つである UDP グルクロン酸転移酵素(UGT)のサブタイプ 1A6 および 2B1 の発現性差が関与していることを明らかとした。ヒトを対象とした研究として、一般健常人、農業従事者および殺虫剤散布作業者をリクルートし、それぞれの尿中 OP 代謝物であるジアルキルリン酸類を網羅的に測定した。その結果、1) 夏における一般健常人 146 名(うち女性 18 名)の測定値(幾何平均値)はジメチルリン酸 7.0、ジメチルチオリン酸 3.4、ジエチルリン酸 0.8 およびジエチルチオリン酸 0.3 g/g creatinine であった。このうち、ジメチルリン酸およびジエチルリン酸の測定値は夏に比べて冬で有意に低い値を示した。すなわち、尿中 OP 代謝物量には季節差があり、OP 曝露の季節変動がある可能性を示唆することができた。2) これらの測定値を既報と比較した場合、日本人の OP 代謝物排泄量はアメリカ、中国およびドイツ人の排泄量と同等かそれ以下であることを初めて明らかとした。今後は化学物質曝露の影響を受けやすい新生児や小児を対象として OP 代謝物のモニタリングを行い、健康影響との関連も明らかにする予定である。

研究成果の概要(英文)：

Urinary pyrethroid (PYR) metabolites, e.g. 3-phenoxybenzoic acid (3-PBA), and organophosphorus insecticide (OP) metabolites, e.g. dialkylphosphate (DAP), have been used as the most sensitive biomarker for environmental PYR and OP exposure since the late 1990s. The objective is to clarify the fundamental characteristics of urinary OP and PYR metabolite for the practical usage. Our study had three major findings. First, the most salient findings are the distribution of urinary DAP concentrations in Japanese non- and occupational OP exposure workers, suggesting that the urinary DAP concentrations in Japanese workers were approximately at the same or lower levels than those in other countries. Second, there was seasonal differences of urinary DAP concentrations (summer > winter). Third, PYR metabolite, 3-PBA, excretion was decreased by co-exposure of OP due to part in carboxylesterase inhibition.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：環境毒性学

科研費の分科・細目：衛生学

キーワード：農薬、殺虫剤、バイオモニタリング

1. 研究開始当初の背景

本研究は、殺虫剤曝露指標として最近報告されたいくつかの生体試料マーカーの体内動態と殺虫剤曝露状況との関連性を明らかにすることにより、これらの殺虫剤曝露バイオマーカーとしての利用に必要な基礎的情報を提供することを目的とする。世界中で汎用されている殺虫剤の中に有機リン系殺虫剤とピレスロイド系殺虫剤がある。最近では中毒症状を示さないような低濃度の殺虫剤曝露が及ぼす不顕性の健康影響に関する研究が進められている。低濃度殺虫剤曝露の研究を困難としている要因の一つとして、殺虫剤曝露レベルの正確な評価方法が確立されていないことが挙げられる。これに伴い、いくつかの新規殺虫剤曝露マーカー（血中 グルクロニダーゼ活性、尿中殺虫剤代謝物量など）が報告されているが、これらの殺虫剤曝露のリスクアセスメントに必要な基礎的な体内動態に関する知見が非常に少ない。

2. 研究の目的

1) 各種殺虫剤曝露マーカーの関連性を明らかにする。2) 性差・年齢差・混合曝露などの外的要因が及ぼす殺虫剤曝露マーカーの体内動態への影響を明らかにする。3) 新規殺虫剤曝露マーカーのヒトへの応用を試みる。すなわち、一般生活者集団および高濃度殺虫剤曝露群を対象とした調査で各種曝露マーカーの有用性を検討する。

3. 研究の方法

平成21年度には、ラットに殺虫剤を投与した後の各種殺虫剤曝露マーカーの体内動態をモニタリングし、各マーカーの曝露に対する感度や時間的変化を明らかにする。さらに、各種マーカーの体内動態に影響すると予想される因子（性差・年齢差・複合曝露を含む薬物相互作用などの外的因子）を加えた実験を施し、曝露マーカーの基礎的データを重積する。生体試料の収集。

有機リン系殺虫剤曝露マーカーの体内動態に関する検討：本研究では代謝物の基本的な体内動態を解析するために雄 Wistar ラットの頸静脈にポリエチレンチューブをカニューレートすることでルートを確保、その一日後に覚醒下で殺虫剤あるいは代謝物を投与し、経時的に採血・採尿を行うことで血中および尿中バイオマーカー値 - 時間推移を観察する。この方法により、頻回に行う採血および

麻酔が及ぼす曝露マーカーの体内動態への影響を避けることができる。曝露マーカーは Voss 変法(ChE)、Quistad らの方法(APH)、phenolphthalein 法(グルクロニダーゼ)および GC/MS 法(ジアルキルリン酸類)を用いて網羅的に測定する。使用薬剤として日本での使用頻度の高いフェントロチオン、アセフェート(代謝後メタミドフォス)、ジクロルボス(DDVP)およびダイアジノン(DZN)を用い、投与量は半数致死量の1/10量を上限とし、血中 ChE 活性に影響を及ぼさない濃度を下限に設定する。

曝露マーカーのヒトへの応用：尿および血液サンプルをコントロール群として食品流通事業所職員約300名、殺虫剤曝露群として東海地区殺虫剤散布事業所職員約50名から8月(夏)および2月(冬)の二回に分けて採取する。採取したサンプルは名古屋大学医学部保健学科内の冷凍庫(-80℃)に測定まで保管する。

4. 研究成果

実験動物レベルでは、1) OP と PYR の同時曝露では、OP が PYR の加水分解を阻害することにより PYR 由来の尿中代謝物3 フェノキシ安息香酸(3PBA)の排泄量が低下すること、2) PYR 代謝物類の排泄速度はオスに比べてメスのほうが速く、これには代謝酵素の一つである UDP グルクロン酸転移酵素(UGT)のサブタイプ 1A6 および 2B1 の発現性差が関与していることを明らかとした。ヒトを対象とした研究として、一般健常人、農業従事者および殺虫剤散布作業者をリクルートし、それぞれの尿中 OP 代謝物であるジアルキルリン酸類を網羅的に測定した。その結果、1) 夏における一般健常人 146 名(うち女性 18 名)の測定値(幾何平均値)はジメチルリン酸 7.0、ジメチルチオリン酸 3.4、ジエチルリン酸 0.8 およびジエチルチオリン酸 0.3 g/g creatinine であった。このうち、ジメチルリン酸およびジエチルリン酸の測定値は夏に比べて冬で有意に低い値を示した。すなわち、尿中 OP 代謝物量には季節差があり、OP 曝露の季節変動がある可能性を示唆することができた。2) これらの測定値を既報と比較した場合、日本人の OP 代謝物排泄量はアメリカ、中国およびドイツ人の排泄量と同等かそれ以下であることを初めて明らかとした。今後は化学物質曝露の影響を受けやすい新生児や小児を対象として OP 代謝物のモニタリ

ングを行い、健康影響との関連も明らかにする予定である。

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7件)

1) Takayuki Noda, Fumie Abe, Jun Ueyama, Miki Kato, Miki Katoh, Masayuki Nadai, Hiroko Saito, Takaaki Hasegawa. Endotoxin does not alter the pharmacokinetics of micafungin, but it impairs biliary excretion of micafungin via multidrug resistance-associated protein 2 (ABCC2/Mrp2) in rats, J Infect Chemother. in press 査読あり

2) Tamon Hayachi, Fumie Abe, Miki Kato, Hiroko Saito, Jun Ueyama, Yuya Kondo, Kuniyuki Imai, Miki Katoh, Masayuki Nadai, Takaaki Hasegawa. Involvement of sulfate conjugation and multidrug resistance-associated protein 2 (MRP2) in sex-related differences in the pharmacokinetics of garenoxacin in rats. J Infect Chemother. 2011. 17. 24-29 査読あり

3) Ueyama J, Wakusawa S, Tatsumi Y, Hattori A, Yano M, Hayashi H. Preliminary study on spontaneous hepatitis in long-evans cinnamon rats: a blood exchange may improve the fetal hepatitis. Nagoya J Med Sci. 2010. 72. 173-177. 査読あり

4) Ueyama J, Kamijima M, Kondo T, Takagi K, Shibata E, Hasegawa T, Wakusawa S, Taki T, Gotoh M, Saito I. Revised method for routine determination of urinary dialkyl phosphates using gas chromatography-mass spectrometry. J. Chromatogra. B. 2010. 878. 1257-1263. 査読あり

5) 宮田聖子、野田明子、永井万由佳、大嶽正文、上山純、古池保雄。健常成人における成熟にんにくの血管内皮機能へ及ぼす影響。日本臨床生理学会雑誌。2010. 40. 103-108. 査読あり

6) Ueyama J, Hirosawa N, Mochizuki A, Kimata A, Kamijima M, Kondo T, Takagia K, Wakusawa S, Hasegawa T. Toxicokinetics of pyrethroid metabolites in male and female rats. Environmental Toxicology and Pharmacology. 2010. 30. 88-91. 査読あり

7) Ueyama J, Saito I, Kamijima M. Analysis and evaluation of pyrethroid exposure in human population based on biological monitoring of urinary pyrethroid metabolites. 2010. 35. 87-98. 査読あり

[学会発表](計6件)

1) 藤中沙奈恵, 上山純, 廣澤奈緒子, 近藤高明, 上島通浩, 高木健次, 平手彩夏, 長谷川高明, 涌澤伸哉 ペルメトリン由来 3-フェノキシ安息香酸の尿中排泄量に対する有機リン系殺虫剤の影響"第38回有機溶剤中毒研究会・第43回生物学的モニタリング・ハイパー研究会 合同研究会 2010/10/9. (愛知県長久手町)

2) 田中哲也, 近藤高明, 喜田優人, 一ノ谷英憲, 山本佳那実, 鈴木麻予, 服部由花, 木全明子, 上山純 健常成人集団での血清 carotenoid 値と metabolic syndrome 診断項目集積数との関連. 第56回東海公衆衛生学会学術大会 2010/7/24. (岐阜県岐阜市)

3) 喜田優人, 近藤高明, 田中哲也, 中川優子, 木下香織, 鈴木麻予, 服部由花, 一ノ谷英憲, 木全明子, 上山純, 森田えみ, 田村高志, 栗木砂家加, 富田耕太郎, 岡田理恵子, 川合紗世, 菱田朝陽, 内藤真理子, 若井建志, 浜島信之 非喫煙成人女性での尿中コチニン値と受動喫煙との関連. 第56回東海公衆衛生学会学術大会 2010/7/24. (岐阜県岐阜市)

4) 近藤高明, 一の谷英憲, 山本佳那実, 木全明子, 鈴木麻予, 服部由花, 木下香織, 中川優子, 上山純 健常成人集団での血清 carotenoid 値と骨密度との関連. 第80回日本衛生学会学術総会 2010/5/9. (宮城県仙台市)

5) 上山純, 伊藤牧, 斎藤勲, 高木健次, 近

藤高明、涌澤伸哉、仲井邦彦、佐藤洋、上島通浩．使い捨て紙オムツを利用した尿中殺虫剤代謝物測定を試み．第80回日本衛生学会学術総会 2010/5/9．（宮城県仙台市）

6) 齋藤峻、上山純、廣澤奈緒子、望月愛子、木全明子、高木健次、涌澤伸哉 ピレスロイド系殺虫剤代謝に關与するUDP-グルクロン酸転移酵素分子種の同定．第80回日本衛生学会学術総会 2010/5/9．（宮城県仙台市）

〔図書〕(計2件)

1) 20 Novel Biomarkers off Organophosphate Exposure. Satoh T, Inayat-Hussain SH, Kamijima M, Ueyama J. Wiley. Anticholinesterase Pesticides: Metabolism, Neurotoxicity, and Epidemiology. 2011. P625

2) -14 農薬類 上島通浩、伊藤由紀、上山純 分子予防環境医学研究会分子予防環境医学 生命科学研究所の予防・環境医学への統合 2011. P850

6. 研究組織

(1)研究代表者

上山純 (UEYAMA JUN)

名古屋大学・医学部 (保健学科)・助教

研究者番号：00397465

(2)研究分担者 なし

(3)連携研究者 なし