

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 25 日現在

機関番号：37107

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2014～2015

課題番号：26881008

研究課題名(和文)フェノール性ハロゲン化合物およびメトキシ体の泌乳期マウス動態と乳児暴露評価

研究課題名(英文)Kinetics of phenolic and methoxylated organohalogen compounds in lactation mouse and their infant-exposure assessment

研究代表者

藤井 由希子(Fujii, Yukiko)

第一薬科大学・薬学部・助教

研究者番号：80733542

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：抗菌・消毒薬として使用されているフェノール性ハロゲン物質のOH-TCSを泌乳期マウスに投与すると、肝臓で水酸化が起こり、ジヒドロキシ体(OH-OH-TCS)として血中で検出された。また、OH-TCSのメトキシ体であるM-TCSを投与すると脱メチル化体(OH-TCS)、水酸化体(OH-M-TCS) およびOH-OH-TCS が血中にて検出された。M-TCSを投与するとは血中・肝臓ではOH-TCSが多く検出され、一方、脂肪・乳腺では未変化体のM-TCSが多くみられた。投与されたM-TCSは母乳にも検出され、さらに仔の血中でも検出されたことにより、母乳を通じた仔への移行が明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Triclosan (OH-TCS) is a phenolic organohalogen compound, which has been used for antibacterial agents. In this study, we administrated OH-TCS and methoxylated triclosan (M-TCS) to lactation mouse. After administration, 1) OH-TCS were metabolized to dihydroxide TCS (OH-OH-TCS). 2) M-TCS were metabolized to OH-TCS, OH-M-TCS, and OH-OH-TCS. OH-TCS were mainly distributed to blood and liver of the lactation mouse. On the other hands, M-TCS were mainly distributed to their adipose tissue and mammary gland. Administrated M-TCS were also detected in breast milk indicating the infant transfer via breast milk.

研究分野：衛生学・環境保健

キーワード：母乳分泌 衛生学 マウス 体内動態 環境保健 トキシコロジー

### 1. 研究開始当初の背景

ヒトへの影響が懸念される環境化学物質のうち、フェノール性有機ハロゲン化合物(POC)には、難燃剤 tribromophenol (TBP) および tetrabromobisphenol A (TBB), 農薬 pentachlorophenol (PCP) の他、polybrominated diphenyl ether (PBDE) や PCB の代謝物(OH-PBDE, OH-PCB), があげられる。これらは種々の内分泌かく乱性、神経発達毒性または免疫毒性を有しており、ヒトでは血液残留成分としてモニタリングの対象となっている。

OH-PBDE と同様の骨格を有する POC の一種である抗菌剤(消毒薬)のトリクロサン(OH-TCS)は現在、病院や化粧品の消毒剤として使用されている。先行研究(Allard et al 1987, George et al., 2008)によると POC は環境中の微生物によりメチル化することが示唆されており、OH-TCS も環境中でメチルトリクロサン(M-TCS)に変換され、魚介類などの海洋生物組織に蓄積する可能性がある。しかしながら、メチル化により脂溶性の上がった M-TCS の体内動態および代謝等に対する研究は限られている。

### 2. 研究の目的

上記のような背景から、母乳を通じた POC の母子移行による乳児への影響についての基礎情報を得るために、(1) OH-TCS の体内でのメチル化、脱メチル化を含めたマウスを用いた体内動態試験、(2) ヒトでの残留実態調査、を行った。

### 3. 研究の方法

OH-TCS と M-TCS を成体マウスに 30mg/kg 単回経口投与し、投与後 4 時間に採血を行った。これら採血された血液を用いて、GC-MS(EI)にて代謝物の測定を行った。

次に OH-TCS と M-TCS を泌乳期マウスに 30mg/kg 単回経口投与し、投与後 0.5 時間から 24 時間までの間に 10 点の採血を行った。また、24 時間後の腸内代謝物、肝臓代謝物の血中濃度変化、糞・尿排泄率、各組織分布を調べた。また泌乳期マウスに M-TCS を投与後 2,6,8,24 時間後に仔の採血を行い、合わせて母乳の採取も行った。OH-TCS, M-TCS の血中濃度・体内分布は pentafluorobenzoyl ester で誘導体化した後 GC-MS (ECNI)で測定した。試薬ガスはメタンを用いた。

また、日本で採取されたヒト母乳サンプルの分析を行い、その汚染実態の把握を行った。試料 10 g に有機溶媒および内標準物質を加えて、抽出後、ゲル浸透クロマトグラフィーを用いて精製を行った。誘導体化試薬はジアゾメタンを用い、GC-MS (ECNI)で測定した

### 4. 研究成果

成体マウスに OH-TCS を投与すると、一部水酸化が起こり、ジヒドロキシ体(OH-OH-TCS)として血中で検出された。一

方、M-TCS は検出されなかった。また、M-TCS を投与すると脱メチル化体(OH-TCS)、水酸化体(OH-M-TCS) およびジヒドロキシ体(OH-OH-TCS) が血中にて検出された。この結果から、OH-TCS の腸内細菌叢でのメチル化は起きないが、M-TCS は肝臓の代謝酵素によると思われる脱メチル化が起きることが明らかになった。M-TCS の代謝物の中では OH-TCS の濃度が最大であり、主たる代謝物であることが示唆された。よって次の泌乳期マウスでの体内動態試験では M-TCS の代謝物として OH-TCS をモニタリング対象とすることとした。

泌乳期マウスに OH-TCS を投与したところ、投与後 24 時間までに血中で OH-TCS は検出限界以下となり、成体マウスと同様に OH-TCS は速やかに排泄されることが確認された。一方、泌乳期マウスに M-TCS を投与したところ、M-TCS は血中にはほとんど検出されないものの、OH-TCS は投与後 2 時間と 20 時間付近に二相性ピークが見られ、腸肝循環の可能性を示唆した。M-TCS を投与した場合の体内組織への分布は、血中・肝臓では OH-TCS が多く検出され、一方、脂肪・乳腺・母乳へは、M-TCS の分配が多くみられた。これらの現象は、M-TCS から OH-TCS への代謝活性化に加え、メチル化による脂溶性の増加の影響を受けていると考えられる。また、興味深いことに仔の血中 OH-TCS は 24 時間までの観察ではあるが、経時的に濃度の増加が確認された。これは母乳経路で M-TCS が乳児へ移行し、仔の肝臓で OH-TCS へと代謝された後、血中に残留することを示唆している。

ヒト母乳サンプルについては、限られた検体しか測定することができなかった。しかしながら、測定した 20 検体からはすべて OH-TCS が検出されたことからその汚染の広がりが示唆される(平均は約 80ng/g-lipid)。M-TCS については、標準品と対応するピークは平均で約 7 ng/g-lipid の response で検出された。しかし、ピークの断定には至っておらず、分析法の確立が次の課題となる。また、OH-TCS, M-TCS のヒトへの曝露源として海産物が強く疑われることから、今後は海産物のモニタリングも求められる。

### <引用文献>

Allard, A. S.; Remberger, M.; Neilson, A. H., Bacterial O-methylation of halogen-substituted phenols. Appl Environ Microbiol 1987,53: 839-845.

George, K. W.; Haggblom, M. M., Microbial O-methylation of the flame retardant tetrabromobisphenol-A. Environ Sci Technol 2008, 42: 5555-5561.

### 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. Fujii, Y., Niisoe, T., Harada, K.H., Uemoto, S., Ogura, Y., Takenaka, K., Koizumi, A., 2015a. Toxicokinetics of perfluoroalkyl carboxylic acids with different carbon chain lengths in mice and humans. *J Occup Health* 57, 1-12.
2. Fujii, Y., Sakurada, T., Harada, K.H., Koizumi, A., Kimura, O., Endo, T., Haraguchi, K., 2015b. Long-chain perfluoroalkyl carboxylic acids in Pacific cods from coastal areas in northern Japan: a major source of human dietary exposure. *Environ Pollut* 199, 35-41.
3. Cao, Y., Harada, K.H., Liu, W., Yan, J., Zhao, C., Niisoe, T., Adachi, A., Fujii, Y., Nouda, C., Takasuga, T., Koizumi, A., 2015. Short-chain chlorinated paraffins in cooking oil and related products from China. *Chemosphere* 138, 104-111.
4. Endo, T., Kimura, O., Fujii, Y., Haraguchi, K., 2016a. Relationship between mercury, organochlorine compounds and stable isotope ratios of carbon and nitrogen in yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) taken from different regions of the Pacific and Indian Oceans. *Ecological Indicators* 69, 340-347.
5. Endo, T., Kimura, O., Ohta, C., Koga, N., Kato, Y., Fujii, Y., Haraguchi, K., 2016b. Metal Concentrations in the Liver and Stable Isotope Ratios of Carbon and Nitrogen in the Muscle of Silvertip Shark (*Carcharhinus albimarginatus*) Culled off Ishigaki Island, Japan: Changes with Growth. *PLoS One* 11, e0147797.
6. Kimura, O., Fujii, Y., Haraguchi, K., Ohta, C., Koga, N., Kato, Y., Endo, T., 2016. Effect of quercetin on the uptake and efflux of aristolochic acid I from Caco-2 cell monolayers. *The Journal of pharmacy and pharmacology*.
7. Niisoe, T., Senevirathna, S.T., Harada, K.H., Fujii, Y., Hitomi, T., Kobayashi, H., Yan, J., Zhao, C., Oshima, M., Koizumi, A., 2015. Perfluorinated carboxylic acids discharged from the Yodo River Basin, Japan. *Chemosphere*

138, 81-88.

[学会発表](計11件)

1. 木下真璃伽、久我歩佳、藤井由希子、加藤善久、木村 治、遠藤哲也、太田千穂、古賀信幸、原口浩一 大型海洋ほ乳類を用いた有機フッ素化合物の肝臓蓄積実態の解明 日本薬学会第136回年会(横浜)2016年3月
2. 高木雅恵、森山綾香、藤井由希子、原口浩一、太田千穂、古賀信幸、加藤善久、木村 治、遠藤哲也 海藻食品に由来するヒト血液および尿中6-OH-BDE47の抱合体 日本薬学会第136回年会(横浜)2016年3月
3. 木村 治、藤井由希子、原口 浩一、太田 千穂、古賀 信幸、加藤 善久、遠藤 哲也 Caco-2 細胞におけるアリストロキア酸 I の膜透過に及ぼすケルセチンの影響 日本薬学会第136回年会(横浜)2016年3月
4. 遠藤哲也、木村 治、太田千穂、古賀信幸、加藤善久、藤井由希子、原口浩一 ツマジロザメの成長に伴う肝臓中有害金属濃度と必須金属濃度の変化 平成28年度 日本水産学会春季大会 2016年3月
5. 森 稜太、深水 彰徳、藤井由希子、加藤善久、木村 治、遠藤 哲也、原口 浩一 北海道沿岸に漂着したクジラ・イルカの残留性フッ素化合物の分析 分析化学会第64年会(2015年9月九州大学伊都キャンパス)
6. Fujii, Yukiko; Sakurada, Tsukasa; Kuga, Ayuka; Kinoshita, Marika; Harada, Kouji; Koizumi, Akio; Kimura, Osamu; Endo, Tetsuya; Haraguchi, Koichi. A MAJOR SOURCE OF DIETARY EXPOSURE TO LONG-CHAIN PERFLUORINATED CARBOXYLIC ACIDS, Society of Toxicology 54th Annual Meeting, San Diego, California, March 2015.
7. Takagi, Masae; Koyanagi, Yuhei; Moriyama, Ayaka; Kawano, Tatsumi; Fujii, Yukiko; Endo, Tetsuya; Haraguchi, Koichi, HUMAN EXPOSURE TO HYDROXYLATED PBDE: SEAWEEDES AS DIETARY SOURCE, Society of Toxicology 54th Annual Meeting, San Diego, California, March 2015.
8. Haraguchi, Koichi; Fujii, Yukiko; Kato, Yoshihisa. CONTAMINATION

TRENDS OF  
HEXABROMOCYCLODODECANES,  
TRIBROMOPHENOL AND  
TETRABROMOBISPHENOL A IN  
JAPANESE BREAST MILK. Society  
of Toxicology 54th Annual Meeting,  
San Diego, California, March 2015.

9. 久我歩佳、木下真璃伽、藤井由希子、櫻田司、原口浩一、太田千穂、古賀信幸、遠藤哲也 メチルトリクロサンのマウス代謝活性化と乳汁分泌 日本薬学会第135年会 神戸 2015年3月
10. 小柳侑平、河野龍海、高木雅恵、森山綾香、藤井由希子、松原 大、原口浩一、太田千穂、古賀信幸、海藻で生産される臭素化ビフェノール類の機能性評価、日本薬学会第135年会 神戸 2015年3月
11. 遠藤哲也・木村治・小笠原英樹・太田千穂・古賀信幸・加藤善久・藤井由希子・原口浩一、イタチザメの成長に伴う水銀分布と炭素および窒素安定同位体比の変化、平成27年度日本水産学会春季大会、品川 2015年3月

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

藤井 由希子 (FUJII, Yukiko)  
第一薬科大学・薬学部・助教  
研究者番号：80733542

### (2) 連携研究者

原口浩一 (HARAGUCHI, Koichi)  
第一薬科大学・薬学部・教授  
研究者番号：00258500