

学位論文題名

有機フッ素化合物 (11種類) の胎児期曝露による
出生時体格への影響

学位論文内容の要旨

[背景と目的] 有機フッ素化合物 Perfluorinated Compounds (PFCs) は残留性有機汚染物質である。ヒトは主に飲料水や赤肉や魚介類を通して曝露されるが、PFCs は胎盤透過性が報告されており、子宮内での胎児曝露による児への発育影響が懸念されている。Perfluorooctane sulfonate (PFOS, C8) は、環境中での残留性、生物蓄積性、長距離移動性、毒性が懸念されることから国際規模で規制する等の対策が進められている。日常生活レベルの PFOS, Perfluorooctanoic acid (PFOA, C8) 曝露によるヒトの出生時体格への影響については、まだ一致した結論に至っていない。また、PFOS, PFOA より炭素鎖数の長い Perfluoroalkyl carboxylic acids (PFCAs) は、PFOS, PFOA の血中濃度が経年低下しているのに対して、濃度が上昇していることが報告されている。PFNA (C9) の妊娠期曝露は、げっ歯類の仔死亡、仔の体重減少、発達の遅延に関係することや、より炭素鎖が長い PFCAs は、PFOA より低濃度で生物学的な反応を起こすことが報告されている。しかし、ヒトへの影響についての報告は極めて少なく規制も行われていない。本研究では環境化学物質にもっとも脆弱な胎児を対象として一般生活レベルによる PFCs 曝露、特に炭素鎖の長い PFCAs に焦点をあて胎児発育への影響を大規模な前向き出生コホート研究を用いて明らかにすることを目的とした。具体的には、(1) 超高速液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法 (UPLC/MS/MS) による血漿中 PFCs (11 種類) の一斉分析法の構築 (2) 児の体格への影響を検討する上で曝露の動向を考慮したサンプリングを行う必要があった。そこで、北海道の妊婦血液中 PFCs 濃度の経年曝露実態調査を行った。(3) 11 種類の PFCs 胎児期曝露が出生時体重に及ぼす影響について検討した。

[対象と方法] (1) 簡便な前処理方法を改良し、移動相由来のブランクピークの低減、グラジエント条件及び MS 条件設定を検討した。次に、検出限界値の算出、標準血清を用いて精度管理を行った。(2) 2003 年から 2011 年の間に北海道内全域 37 産科病院で妊婦健診を受け、参加同意をした妊婦のうち、ベースライン調査票、分娩時の医療診療記録、後期母体血漿の 3 点が揃った妊婦から多胎、先天異常児を除外し、2003 年、2005 年、2007 年、2009 年、2011 年の各年 30 名を無作為抽出法し測定を行った。2003 年と 2011 年の PFCs の濃度の差の比較は、PFCs を自然対数に変換後、t 検定を行った。母体血漿中 PFCs 濃度が測定検出限界未満であった場合には、測定検出限界値の半値を割り当てた。濃度は、幾何平均値で示した。(3) 北海道全域 37 病院妊婦健診を受けた妊婦とその児を対象に 2003 年 2 月から参加を呼びかけ 32,900 人中 17,869 人 (参加登録率: 54.3%) を登録した。この 17,869 人に対して各年から対象者をランダムに抽出した結果、最終的に 1,986 名を対象とした。研究参加登録時に妊娠時の年齢、既往歴などの質問を含んだ自記式質問票への回答を依頼し、出産記録は病院から入手した。この研究は、北海道大学大学院の研究倫理委員会の承認を得て行われた。統計解析は、PFCs を自然対数に変換後、母体血中の 8 種類の PFCs 濃度と出生時体重との関連については重回帰分析を行った。交絡因子の調整は、出産時の母親の年齢、母親の妊娠前 BMI、出産回数、在胎週数、児の性別、母親の教育歴、妊娠後期血漿コチニン濃度、妊娠初期の飲酒歴、そして、各 PFC の濃度

を除いたその他 10 種類の PFCs の合計濃度で調整を行った。すべての統計解析には、JMP for Windows, version 9.0 を用い、P 値が 0.05 未満の場合に統計学的に有意な差を認めるとした。

【結果】(1) 検出限界値は PFHxA(C6), PFHpA(C7), PFDA(C10), PFUnDA(C11), PFDoA(C12), PFTrDA(C13), PFTeDA(C14) = 0.1, PFHxS(C6), PFOA = 0.2, PFOS, PFNA = 0.3 であった。また標準液による検量線は、すべての PFCs で $R^2 = 0.995$ 以上であり高い直線性が認められた。標準血清の PFCs 濃度は、他の 7 機関で報告されている範囲内の濃度を示し、血液中に低濃度に存在する PFCs の測定を可能とした。(2) 2003 年から 2011 年まで total PFCs (11 種類) 濃度の幾何平均値は、8.98 ng/mL であった。11 種類の PFCs のうち最も濃度が高かったのは、PFOS 3.62 ng/mL であり、次に PFOA 1.34 ng/mL, Perfluoroundecanoic acid (PFUnDA) 1.19 ng/mL, PFNA 1.06 ng/mL の順に濃度が低値を示した。Total PFCs ($p < 0.001$), PFOS ($p < 0.001$), PFOA ($p = 0.006$) は、2003 年に比べて 2011 年度では有意に濃度が低下した。それに対して、PFNA など PFOS, PFOA より炭素鎖数の長い PFCAs は軽度上昇または横ばいであった。(3) より炭素鎖数の長い PFCAs は、血漿中の PFOS, PFOA に比べて低濃度であるにも関わらず出生時体重との関連が認められ、PFNA 濃度が 2.7 倍上がるのに従って 41.9g 出生時体重が減少した ($p = 0.024$)。さらに、その関連は男児でより顕著であり、2.7 倍上がるのに対し 59.3g の出生時体重が減少した ($p = 0.023$)。また PFUnDA と PFTrDA は女児において、濃度が上昇するに従って出生時体重の減少が認められた。一方、PFHxS, PFOS, PFOA, PFDoA 曝露は出生時体重に有意な関連は認められなかった。

【考察】(1) 本測定条件により簡便な前処理方法で精度の高い 11 種類の PFCs の一斉分析法を構築した。(2) 本研究対象の北海道の妊婦は、血中の PFOS, PFOA 濃度が 2003 年に比べて 2011 年で有意に低下した。これは、2009 年に残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約で PFOS に規制がかかる前に製造業者が自粛し始めていたことが考えられる。また、PFOA は、「2010/15 年 PFOA 管理プログラム」により企業が自主規制した影響が考えられる。これに対し、PFNA は製造が続けられ 2000 年には日本では 25 トン、PFUnDA は 7 トン排出されており、PFOA より炭素鎖が長い PFCAs は欧州より比較的高い濃度を示す可能性が示唆された。(3) PFCs 曝露が出生時体重に影響する生体メカニズムとして、ペルオキシソソーム増殖因子活性化受容体 (PPAR) α の関与が示唆されている。胎仔マウス PFNA 曝露による PPAR α の活性は肝臓で認められ、PPAR α ノックアウトマウス実験では PFNA の出生時体重への関与が報告された。また、PFNA は PPAR α による β -酸化活性を引き起こした。また、肝臓への PFNA の蓄積や β -酸化活性は、雌に比べて雄で活性を引き起こすことが報告され、本研究の結果を裏付けた。しかし、ヒトでの報告は、まだ少ないため、さらなるデータの蓄積が必要である。PFUnDA, PFTrDA は、女児において濃度の上昇に従い体重の減少が認められた。Liu らは、解釈には注意が必要だが、他の PFCs に比べ、PFTrDA は母体血中よりも臍帯血中の濃度が高いことを示しており、その傾向は特に女児において顕著であったと報告している。これらの知見は、今回の解析結果と同じ方向性を示すものであったが、PFTrDA のヒトに対する影響に関してはいまだ不明な点が多く、慎重に解釈・検討する必要がある。

【結論】PFCs はヒトの生体内に蓄積される残留性有機汚染物質であるが、ヒトの健康に対する影響は、短期的にも長期的にも不明な点が多い。本研究では、日常生活レベルでの胎児期曝露は、児の体格の成長に負の影響を与える可能性が示され、妊婦の体内負荷量を増加させないことが必要であると考えられた。そのため、PFCs の製造や環境への排泄を規制し、環境モニタリング調査により監視することが重要である。本研究は、日常生活を行う上での PFCs の次世代の健康影響を出生前向きコホート研究で疫学的に検討した点において意義深いと考える。

学位論文審査の要旨

主査	教授	荒戸	照世
副査	教授	玉腰	暁子
副査	教授	大滝	純司
副査	教授	玉城	英彦
副査	准教授	伊藤	陽一

学位論文題名

有機フッ素化合物（11種類）の胎児期曝露による 出生時体格への影響

残留性有機汚染物質である有機フッ素化合物 Perfluorinated Compounds (PFCs) は胎盤透過性があり、子宮内での曝露による胎児への発育影響が懸念されている。PFOS (C8), PFOA (C8) は、残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約での規制や国際規模での自主規制が行われ、血中濃度の経年低下傾向が示されている。一方で、PFOS, PFOA より炭素鎖数の長い Perfluoroalkyl carboxylic acids (PFCAs) は、血中濃度上昇が報告され、動物実験での毒性指摘にも関わらず、ヒトへの影響についての報告は極めて少なく規制も行われていない。そこで、(1) 超高速液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法 (UPLC/MS/MS) による血漿中 PFCs (11 種類) の一斉分析法の構築、(2) 北海道の妊婦血液中 PFCs 濃度の経年調査、(3) 11 種類の PFCs 胎児期曝露が出生時体重に及ぼす影響について前向きコホート研究が行われた。その結果、(1) 簡便な前処理方法の改良や、移動相由来のブランクピークの低減対策、パラメータの設定等による精度の高い PFCs の一斉分析法が構築された。(2) 2003 年から 2011 年の各 PFCs 濃度は、PFOS, PFOA は低下、PFNA (C9), PFDA (C10) は上昇傾向を示し、PFUnDA (C11), PFTrDA (C13) などその他の PFCs に変化は認められなかった。(3) 北海道内全域 37 産科病院 1,986 名の妊婦における血中の PFNA は、PFOS, PFOA に比べて低濃度であるにも関わらず出生時体重と負の関連を示し、その関連は男児でより顕著であった。また、女兒において、PFUnDA と PFTrDA の濃度が上昇するに従って出生時体重の減少が認められた。一方、PFHxS, PFOS, PFOA, PFDoA の曝露量は出生時体重と有意な関連を認めなかった。

審査において、大滝教授より、炭素鎖数の長い PFCAs のヒト血中濃度が経年上昇し、欧州に比べて日本で濃度が高い理由、PFCs が出生時体重減少以外に健康影響を及ぼしている報告があるか否か、今回の結果を踏まえた妊婦の生活上の注意点について質問があった。玉腰教授より、PFCs の母体血中濃度と環境汚染度合いは一樣か否か、本研究における申請者の役割について質問があった。玉城教授より、キットを用いた PFCs の簡便測定の可能性と本検討における 1 検体あたりの測定費用、今回測定した PFCAs より炭素鎖の長い PFCAs は存在するのか否か、4 年間の研究時間

配分及び今後の研究計画について質問があった。伊藤准教授より、先行研究と異なる結果が得られた原因、他の環境化学物質が出生時体重に影響を与えている可能性、先天異常を outcome にする場合の研究デザイン及び本研究結果と先行研究における分析方法の違いも踏まえて考察することが望ましいとの助言があった。荒戸教授からは、PFCs の分析標準化の可能性に関し問われた。申請者は、大滝教授の質問には、東アジアでは炭素鎖数の長い PFCAs を使用した界面活性剤が主に生産されていることや食品からの PFCAs 摂取量が増加していることが欧州より血中濃度が高い理由であること、PFCs の血中濃度が高くなるに従って ADHD や甲状腺疾患のリスクが上昇しているという報告があること、ヒトへの曝露源の一つとしてハウスダストがあげられていることからこまめな掃除を心がけて欲しいことを述べた。玉腰教授の質問には、ヒト血中濃度に河川 PFCs 汚染濃度が反映されていること、申請者の役割は、前向きコホート研究の中で PFCs と出生時体重との関連を検討するための研究デザインを構築し、それに必要な PFCs 一斉分析法を構築後、約 2000 人の血中 PFCs 濃度を測定し、出生時体重との関連を検討したことであることを述べた。玉城教授の質問には、PFCs の測定は難しくキットなどでの測定は不可能であること、今回の測定費用は 1 検体約 1,000 円であったこと、さらにより炭素鎖数の長い PFCAs が存在する可能性が考えられること、研究期間は主に PFCs の一斉分析法の確立に費やしたこと、今後は胎児発育に影響を及ぼす原因と考えられている母体の栄養環境も含め PFCs の影響を評価したいことを述べた。伊藤准教授の質問には、他の環境化学物質について測定できていないことが本研究の限界であることなどを述べた。荒戸教授の質問には、機器によって設定するパラメータも異なるため PFCs の測定法の標準化は難しいことを述べた。

この論文は、11 種類の PFCs による胎児発育への影響を性差を含めて検討した世界で初めての研究であり、PFCs 対策への日本の基礎データになることが十分に期待できる。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。