

Environment Research and Technology Development Fund

環境研究総合推進費 終了研究成果報告書

5-2003 化学物質体内動態モデル及び曝露逆推計モデル構築システムの開発
(J P M E E R F 2 0 2 0 5 0 0 3)

令和2年度～令和4年度

Systematic Development of Pharmacokinetic and Exposure Reconstruction Models for Chemicals of
Personal Use

〈研究代表機関〉

国立研究開発法人 国立環境研究所

〈研究分担機関〉

国立大学法人 東海国立大学機構 名古屋大学

国立研究開発法人 産業技術総合研究所

国立大学法人 愛媛大学

○図表番号の付番方法について

「Ⅰ. 成果の概要」の図表番号は「0. 通し番号」としております。なお、「Ⅱ. 成果の詳細」にて使用した図表を転用する場合には、転用元と同じ番号を付番しております。

「Ⅱ. 成果の詳細」の図表番号は「サブテーマ番号. 通し番号」としております。なお、異なるサブテーマから図表を転用する場合は、転用元と同じ図表番号としております。

令和5年5月

目次

I. 成果の概要	1
1. はじめに（研究背景等）	1
2. 研究開発目的	2
3. 研究目標	2
4. 研究開発内容	4
5. 研究成果	5
5-1. 成果の概要	5
5-2. 環境政策等への貢献	10
5-3. 研究目標の達成状況	11
6. 研究成果の発表状況	16
6-1. 査読付き論文	16
6-2. 知的財産権	16
6-3. その他発表件数	16
7. 国際共同研究等の状況	16
8. 研究者略歴	17
II. 成果の詳細	
II-1 バイオモニタリングによる曝露逆推計モデルの構築と研究基盤整備 (国立研究開発法人 国立環境研究所)	19
要旨	19
1. 研究開発目的	20
2. 研究目標	20
3. 研究開発内容	20
4. 結果及び考察	22
5. 研究目標の達成状況	33
6. 引用文献	34
II-2 曝露モニタリングのための食事・生活用品介入試験 (国立大学法人 東海国立大学機構 名古屋大学)	35
要旨	35
1. 研究開発目的	35
2. 研究目標	35
3. 研究開発内容	36
4. 結果及び考察	39
5. 研究目標の達成状況	48
6. 引用文献	48
II-3 曝露媒体中化学物質濃度の計測と曝露量推計 (国立研究開発法人 産業技術総合研究所)	49
要旨	49

1. 研究開発目的	50
2. 研究目標	50
3. 研究開発内容	50
4. 結果及び考察	52
5. 研究目標の達成状況	63
6. 引用文献	64
II-4 生体試料計測による化学物質体内動態の把握 (国立大学法人 愛媛大学)	65
要旨	65
1. 研究開発目的	65
2. 研究目標	65
3. 研究開発内容	66
4. 結果及び考察	69
5. 研究目標の達成状況	78
6. 引用文献	78
III. 研究成果の発表状況の詳細	80
IV. 英文Abstract	84

I. 成果の概要

課題名 5-2003 化学物質体内動態モデル及び曝露逆推計モデル構築システムの開発

課題代表者名 磯部 友彦 (国立研究開発法人 国立環境研究所 / 主幹研究員)

重点課題 主：【重点課題⑮】化学物質等の包括的なリスク評価・管理の推進に係る研究

行政要請研究テーマ (行政ニーズ)：(5-1) 子どもの化学物質ばく露低減策に活用可能なばく露シナリオの解明

研究実施期間 令和2年度～令和4年度

研究経費

109,200 千円 (合計額)

(各年度の内訳：令和2年度：39,000 千円、令和3年度：35,100 千円、令和4年度：35,100 千円)

研究体制

(サブテーマ1) バイオモニタリングによる曝露逆推計モデルの構築と研究基盤整備 (国立環境研究所)

(サブテーマ2) 曝露モニタリングのための食事・生活用品介入試験 (東海国立大学機構名古屋大学)

(サブテーマ3) 曝露媒体中化学物質濃度の計測と曝露量推計 (産業技術総合研究所)

(サブテーマ4) 生体試料計測による化学物質体内動態の把握 (愛媛大学)

研究協力機関

研究協力機関はない。

本研究のキーワード 体内動態、内分泌攪乱物質、消失半減期、化学物質体内動態モデル、曝露逆推計モデル、曝露係数、バイオモニタリング

1. はじめに (研究背景等)

現在、化学物質のリスク評価に用いられる曝露評価は曝露モデルを用いて行われており、曝露量は曝露媒体 (環境、食品等) 濃度と媒体摂取 (接触) 量から推計される。化学物質リスクは、この曝露量 (推計値) と有害性 (ハザード) の積で評価され、曝露媒体濃度に基づいて管理される。一方で、近年世界中で取り組まれている化学物質の健康影響に関する疫学調査では、対象化学物質の生体試料中濃度を「曝露」の指標として、健康アウトカムとの関連が解析されている。環境省の実施する「子どもの環境と健康に関する全国調査 (エコチル調査)」でも、化学物質の生体試料中濃度を「曝露指標」とし、子どもの健康に対する影響について調査を進めている。これらの疫学調査では、生体試料中濃度と影響の関係が明らかにされるが、体内での動態が把握できていないために体内濃度から曝露量を推定する方法がなく、現状では基準となる曝露媒体濃度から化学物質管理に直結していない。米国、カナダ、EU、韓国などでは、対象化学物質の体内濃度測定 (バイオモニタリング) 結果を化学物質管理に利用する取り組みが進んでいるものの、ここでも体内濃度から曝露量を推計する方法がないことが課題となっている。実際に、ほとんどの化学物質は曝露量に基づいて管理されているが、当該化学物質の曝露量と体内濃度との関係が明らかになっている物質はごくわずかである (実験動物に対する高濃度曝露の結果を除く)。そこで本研究では、バイオモニタリングによって得られた体内濃度と、曝露モデルによって得られた曝露量とを結びつける曝露逆推計モデルを構築する。そのために、曝露媒体を一定期間コントロールする

ことで化学物質曝露量を把握する介入試験を実施し、体内濃度の推移の計測、体内動態モデルを組み合わせることで、生体試料中濃度から化学物質の曝露量を推計する手法を開発する。

2. 研究開発目的

本研究では、バイオモニタリングによって得られた体内濃度と、曝露モデルによって得られた曝露量とを結びつける曝露逆推計モデルの構築を目的とする。研究協力者を対象に、曝露媒体を一定期間コントロールすることで化学物質曝露量を把握する介入試験を実施し、曝露媒体試料・生体試料の計測と体内動態モデルを組み合わせることで、体内濃度から化学物質の曝露量を推計する手法を開発する。

サブテーマ1では、サブテーマ2の介入試験で得られた曝露媒体試料・生体試料の分析結果（サブテーマ3・4）を用いて曝露逆推計モデルを構築する。経皮曝露のモデル化学物質としてパラベン類（防腐剤）及びトリクロサン（殺菌剤）、経口曝露のモデル化学物質としてフタル酸エステル類及び農薬（有機リン、ピレスロイド、ネオニコチノイド、フィプロニル等）を対象とし、生体試料中濃度と曝露媒体中濃度の実測値から体内動態モデルを構築して皮膚吸収率、血中濃度推移、尿中排泄速度等の動態モデルパラメータを算出する。これらのパラメータに基づいて、生体試料中濃度から曝露媒体中濃度を推計する曝露逆推計モデルを構築する。また、介入試験で得られた試料は、将来的に他の化学物質の評価に用いることのできるよう分注・長期保管して試料バンク化する。さらに、曝露係数及び動態モデルパラメータ等を情報収集あるいは体内動態モデルを用いて算出し、データベースとして公開することで、化学物質の体内動態に関する研究基盤を提供する。サブテーマ2は、3年間で約100名の20～50歳の健康な男女をリクルートし、化学物質の曝露量をコントロールするための介入試験を実施する。協力者には、5日間の全ての食事と飲料水及びその期間に使用するパーソナルケア製品（シャンプー、ハンドソープ、基礎化粧品等）を提供してそれらの製品のみを使用して生活してもらい、摂取量・使用量等を記録し、モデル化学物質曝露量を把握する。調査期間内及び期間前後の全ての随時尿、調査期間前後の血液を採取、分析することで、モデル化学物質の体内濃度を経時的に追跡する。サブテーマ3では、介入試験で利用した食事やパーソナルケア製品中のモデル化学物質濃度を分析し、曝露媒体中濃度と摂取量・使用量からそれぞれの物質の曝露量を算出する。サブテーマ4では、モデル化学物質の曝露マーカーを探索し、介入試験で採取した生体試料のモデル化学物質濃度を分析して、体内動態（代謝による変化を含む）を把握する。

3. 研究目標

全体目標	<p>本研究の最終目標は、バイオモニタリングによって得られた生体試料中化学物質濃度と、曝露モデルによって得られた曝露量とを結びつける曝露逆推計モデル（exposure reconstruction model）の構築とその調査手法の確立である。本研究で曝露逆推計モデルを構築することにより、種々の化学物質について体内濃度から曝露量を推計することが可能となるため、将来的にエコチル調査等の成果（生体中濃度と健康影響の関連）に基づいた化学物質のリスク管理を実現する。</p> <p>曝露逆推計モデルの構築に必要な、皮膚吸収率、血中濃度推移、尿中排泄速度等の動態モデルパラメータは、曝露媒体中濃度と生体試料中濃度の実測値から体内動態モデルを構築することで算出する。食事及びパーソナルケア製品使用の介入試験を実施して曝露媒体試料、生体試料を採取、分析し、体内動態モデルを構築する。本研究で実施する介入試験は、化学物質の投与を行わないため協力者の負担を軽減でき、かつ食事及びパーソナルケア製品使用を把握することで曝露量をコントロールできることから、化学物質の体内動態研究分野では独創性の高い手法である。</p>
------	--

	<p>3年間で約100名の協力者に対して介入試験を行い、食事及びパーソナルケア製品使用についてこちらで提供するものを5日間使用していただく。経皮曝露のモデル化学物質としてパラベン類（防腐剤）及びトリクロサン（殺菌剤）、経口曝露のモデル化学物質としてフタル酸エステル類及び農薬（有機リン、ピレスロイド、ネオニコチノイド、フィプロニル等）を対象とし、その期間の曝露媒体（食事、パーソナルケア製品、ハウスダスト）と生体試料（血液及び尿）を採取、分析することで、曝露量と体内濃度の推移を実測する。これらの実測値を用いて体内動態モデルを構築し、動態モデルパラメータを算出する。ここで得たパラメータを用いることで、曝露逆推計モデルを構築する。曝露逆推計モデルは、上記のモデル化学物質あるいはそれ以外の化学物質を実測することで検証する。採取した試料は、分注・長期保管して試料バンク化することで他の化学物質の評価に用いることのできるよう整備するとともに、曝露係数及び動態モデルパラメータ等のデータベースを公開し、化学物質の体内動態に関する研究基盤を提供する。</p>
--	---

サブテーマ1	バイオモニタリングによる曝露逆推計モデルの構築と研究基盤整備
サブテーマリーダー /所属機関	磯部友彦／国立環境研究所
目標	<p>生体試料中化学物質濃度から曝露量を推計する曝露逆推計モデルの構築を目標とする。曝露逆推計モデルの構築に必要な動態モデルパラメータは、介入試験で得られた試料の化学分析結果から体内動態モデルを構築することで算出する。まず、サブテーマ2と協力して介入試験を実施し、曝露媒体試料、生体試料を採取する。得られた試料は、サブテーマ3と4でそれぞれ曝露媒体試料と生体試料を分析し、曝露量と生体内の濃度を明らかにする。これらの実測値を用いて体内動態モデルを構築し、モデル化学物質の動態モデルパラメータを算出する。得られたパラメータを用いることで曝露逆推計モデルを構築する。これにより、生体試料中濃度から曝露媒体中濃度を推計することが可能となる。また、介入試験で得られた試料は、将来的に他の化学物質の評価に用いることのできるよう分注・長期保管して試料バンク化する。さらに、曝露係数及び動態モデルパラメータ等を情報収集あるいは体内動態モデルを用いて算出し、データベースとして公開することで、化学物質の体内動態に関する研究基盤を提供する。</p>

サブテーマ2	曝露モニタリングのための食事・生活用品介入試験
サブテーマリーダー /所属機関	上山純／名古屋大学
目標	<p>化学物質の体内動態研究を効率的、かつ低侵襲に実施するための食事・パーソナルケア製品の介入試験を実施し、曝露媒体試料と生体試料を採取する。介入試験は3年間で100名の20～50歳の健康な男女を協力者のリクルートを目指し、食事及びパーソナルケア製品使用についてこちらで提供するものを5日間使用していただく。曝露媒体・生体試料は、汚染の少ない保管容器を工夫するなど、サブテーマ1で試料バンク化を想定してブランク・分注方法など最適な採取方法を提案する。</p>

サブテーマ 3	曝露媒体中化学物質濃度の計測と曝露量推計
サブテーマリーダー /所属機関	小栗朋子／産業技術総合研究所
目標	介入試験で使用する、食事、飲料、間食、パーソナルケア製品、ハウスダストなどの曝露媒体の化学物質濃度を測定し、モデル化学物質の曝露量を推計する。曝露媒体試料の分析法を整備し、分析結果を用いて皮膚吸収率を含め曝露媒体中濃度から体内濃度を予測するモデルを構築する。

サブテーマ 4	生体試料計測による化学物質体内動態の把握
サブテーマリーダー /所属機関	国末達也／愛媛大学
目標	バイオモニタリングに最適な分析法の開発と、介入試験で得られる生体試料の化学物質分析を目標とする。そのため、生体試料の採取頻度や前処理法の検討、適切な曝露マーカーの探索、測定精度・感度の向上を進め、生体試料分析法を最適化する。開発した分析法を用いて生体試料を分析し、尿中濃度の経時的推移など体内濃度を実測する。

4. 研究開発内容

本研究は、バイオモニタリングによって得られた体内濃度と、曝露モデルによって得られた曝露量とを結びつける曝露逆推計モデルの構築を最終的な目的とし、その調査手法の確立と試料及び動態モデルパラメータのデータベース化を目指した。研究協力者を対象に、曝露媒体の摂取・使用を一定期間コントロールすることで化学物質曝露量を把握する介入試験を実施し、曝露媒体・生体試料の計測と体内動態モデルを組み合わせることで、生体試料中濃度から化学物質曝露量の推計を試みた。

サブテーマ 1 では、介入試験で得られた曝露媒体・生体試料の分析結果を用いて動態モデルパラメータを算出し、化学物質曝露の逆推計を試みた。経皮曝露のモデル化学物質としてパラベン類（防腐剤）及びトリクロサン（殺菌剤）、経口曝露のモデル化学物質としてフタル酸エステル類及び農薬（ネオニコチノイド、フィプロニル等）を対象とし、生体試料の分析結果に基づいて、薬物動態解析ソフトウェアで体内動態を解析し、尿中排泄速度、消失半減期、皮膚吸収率、血中濃度推移等の動態モデルパラメータを算出した。曝露媒体試料及び生体試料については将来の活用を想定してバンク化し、曝露係数及び動態モデルパラメータをデータベース化した。

サブテーマ 2 では、食事・飲料及びパーソナルケア製品の摂取・使用をコントロールした介入調査を実施し、曝露媒体試料及び生体試料を収集することを目的とした。3年間で約 100名の 20～50歳の健康な男女をリクルートし、化学物質の曝露量と排泄量をモニタリング可能な介入試験を計画した。参加者には、5日間の全ての食事と飲料水及びその期間に使用するパーソナルケア製品（シャンプー、ハンドソープ、基礎化粧品等）を提供してそれらの製品のみを使用して生活してもらい、摂取量・使用量等を記録し、化学物質曝露量を把握した。また、行動記録票を作成して、本調査のデザインで制御されていない化学物質曝露の機会を後ろ向きに模索することも可能とした。

サブテーマ 3 では、介入試験で使用した食事やパーソナルケア製品中の化学物質濃度を分析し、それぞれの物質の曝露量の算出を目的とした。介入試験で提供した、食事、飲料、間食、パーソナルケア製品、ハウスダストなどの曝露媒体について、フタル酸エステル類（代替物質を含む）及びパラベン類・トリクロサン等のフェノール系化合物を対象として分析法を整備した。曝露媒体試料の分析結果に基づいて、曝露媒体中濃度と摂取量・使用量、その他各種、曝露係数を用いて、それぞれの物質の曝露量を推計した。

サブテーマ4では、介入試験で採取した生体試料について化学物質濃度を分析し、体内動態（代謝による変化を含む）を把握することを目的とした。経皮曝露のモデル化学物質としてパラベン類（防腐剤）及びトリクロサン（殺菌剤）、経口曝露のモデル化学物質としてフタル酸エステル類、農薬（ネオニコチノイド、フィプロニル、忌避剤）、リン系難燃剤を対象とし、バイオモニタリングに最適な分析法を開発した。生体試料の採取頻度や前処理法の検討、適切な曝露マーカーの探索、測定精度・感度の向上を進め、生体試料分析法を最適化した。開発した分析法を用いて介入試験で得られた生体試料を分析し、尿中濃度の経時的推移など体内濃度を実測する。

5. 研究成果

5-1. 成果の概要

1) 介入試験実施

化学物質の体内動態研究を効率的、かつ低侵襲に実施するための食事・飲料及びパーソナルケア製品の摂取・使用をコントロールする介入試験を実施し、曝露媒体試料（食事、パーソナルケア製品、ハウスダスト）と生体試料（血液及び尿）を採取した。参加者のリクルートは、研究実施機関の掲示板（web）、広報誌、ホームページ、チラシ設置・配布にて募集した。実行可能性を評価するため、8月に5名を対象としたプレ試験を実施し、試料採取と処理、保管や記録に関して手順の確認と改善を行った。介入試験実施に際し、動画による調査説明、来場時間の分散化、アクリル板／消毒液／非接触体温計の設置などにより参加者の不安を軽減するとともに、現場で対応するスタッフは名古屋大学関係者を中心に配置することで他機関からの移動を抑制するなど、感染症拡大防止対策を徹底した。最終的に、一度で実施可能な最大人数を25名と設定した。その後、新型コロナウイルス感染症による国の緊急事態宣言期間と重複しないよう、また実施季節を可能な限り分散させて介入調査を実施した。介入試験は10月に20名をリクルートして第1回目、2月に25名をリクルートして第2回目、2021年度6月及び7月に第3回及び第4回の介入調査を実施した。体調不良等による直前の辞退者が各回数ずつあったものの、最終的な調査参加者数は、プレ試験、第1回目、第2回目、第3回目、第4回目の総計100名を確保し、目標を達成した。血液試料、尿試料、食事試料、ハウスダスト試料も計画通りに採取した。参加者の責任による介入期間中の尿検体採取忘れ・ミスの件数は、プレ試験で1名（1検体）、第1回目で2名（3検体）、第2回目で2名（2検体）、第3回目で1名（1検体）、第4回目（2検体）であった。腐敗による尿検体の損失はなかった。介入試験の実施時期及び参加者数を表-2.2に示した。

表-2.2 計5回の介入調査における尿及び血液検体の収集結果

	8/17 (プレ試験)	10/25 (第1回)	2/8 (第2回)	6/21 (第3回)	7/12 (第4回)
調査対象者数	5 (M3, F2)	20 (M5, F15)	25 (M18, F7)	25 (M11, F14)	25 (M11, F14)
尿採取忘れ、採取ミス	1名 (1検体)	2名 (3検体)	2名 (2検体)	1名 (1検体)	2名 (2検体)
腐敗	0	0	0	0	0
蓄尿作成	-	20名分	25名分	25名分	25名分
採血人数	5	20	25	25*	25

*参加者1名（女性）がDay12において採血困難だったため、血液検体収集を中止

2) 試料バンク・データベース構築

本研究で採取された、生体試料及び曝露媒体試料の試料バンク化するとともに、参加者の属性情報、生活習慣、食生活、曝露係数、算出された動態モデルパラメータ等の化学物質の体内動態及びリスク評価の研究基盤となり得る各種情報についてデータベースを構築した。とくに、パーソナルケア製品使用に関する曝露係数は、実測値に基づいた使用量の計測とweb調査の結果を合わせて取得しており、ボディ

ソープ等の両調査で共通に使用されている製品について、web 調査の結果がやや高い傾向は示したものの、数倍程度の範囲で一致しており、曝露係数として現実的で信頼性の高い情報を得ることができた。

3) 曝露媒体試料及び生体試料の化学分析法の確立

(i) 曝露媒体試料の分析法開発と曝露量評価

介入試験で採取された、食事、飲料、間食、パーソナルケア製品、ハウスダストなどの曝露媒体について、フタル酸エステル類及び代替物質・分解物（フタル酸エステル類 12 種、代替物質 7 種、分解物 2 種）、フェノール系化合物（パラベン類 9 種、トリクロサン・トリクロカルバン、ベンゾフェノン類 5 種、ビスフェノール類 7 種、テトラプロモビスフェノール A、アルキルフェノール類 4 種の計 24 種）を対象として、分析法を確立した。フタル酸エステル類及び代替物質・分解物については、ハウスダスト及び食事中濃度の標準添加回収率はそれぞれ 76~106%、74~105%であり、併行精度はともに 10%以内であった。パーソナルケア製品 17 種中濃度の添加回収率は 90~110%であった。フェノール系化合物については、ハウスダスト・食事試料中濃度の測定値の日内・日間変動は 15%以内、内部標準物質による補正回収率は 76~110%、74~120%、ハウスダスト試料の絶対回収率は 48~96%であった。

確立した分析法を用い、曝露媒体（食事、パーソナルケア製品、ハウスダスト）中のフタル酸エステル類（代替物質を含む）及びフェノール系化合物を分析し、本研究で記録した摂取量・使用量と既存の報告による曝露係数・保持係数に基づいてそれぞれの物質の曝露量を算出した。フタル酸ジ-n-ブチル（DnBP）及びフタル酸ジエチルヘキシル（DEHP）の曝露量を表-3.11 に、メチルパラベン、エチルパラベン、n-プロピルパラベン、n-ブチルパラベンの曝露量を表-3.13 にそれぞれ示す。

表-3.11 ハウスダスト及び食事、PCPs を介した DnBP 及び DEHP の曝露量

	曝露量 [$\mu\text{g}/\text{day}$]						
	DnBP			DEHP			
	幾何平均値	幾何標準偏差	中央値	幾何平均値	幾何標準偏差	中央値	
ダスト	0.317	3.1	0.286	42.6	2.2	46.2	
食 事	朝食	1.7	2.6	1.95	24.0	1.6	25.7
	昼食	2.5		3.28	32.6	1.8	27.3
	夕食	3.7	1.7	3.61	33.5	1.4	32.3
	間食	-	-	1.32	-	-	17.7
PCPs 製品	0.108	3.7	0.152	0.141	1.8	0.145	

表-3.13 ハウスダスト及び食事、PCPs を介したパラベン類の曝露量

	曝露量 [$\mu\text{g}/\text{day}$](n=88)						
	Methyl paraben			Ethyl paraben			
	幾何平均値	幾何標準偏差	中央値	幾何平均値	幾何標準偏差	中央値	
ダスト	0.11	2.2	0.093	0.01	2.5	0.016	
食 事	朝食	0.23	1.7	0.17	0.03	2.6	0.017
	昼食	0.21	1.3	0.20	0.34	1.6	0.45
	夕食	0.26	1.4	0.24	0.79	1.4	0.76
	PCPs 製品	0.25	2.8	0.33	0.12	2.8	0.16

	曝露量 [$\mu\text{g}/\text{day}$](n=88)						
	n-Propyl paraben			n-Butyl paraben			
	幾何平均値	幾何標準偏差	中央値	幾何平均値	幾何標準偏差	中央値	
ダスト	0.010	2.5	0.009	0.002	3.3	0.002	
食 事	朝食	0.023	2.6	0.031	0.010	1.5	0.008
	昼食	0.019	1.6	0.012	0.018	3.8	0.008

夕食	0.020	1.4	0.026	0.022	4.0	0.010
PCPs 製品	0.070	2.9	0.099	0.043	2.9	0.062

(ii) 生体試料の分析法開発と尿中濃度推移の把握

生体試料については、フェノール系化合物（パラベン類 9 種、トリクロサンとトリクロカルバン、ベンゾフェノン類 5 種、ビスフェノール類 7 種、テトラブロモビスフェノール A、アルキルフェノール類 4 種の計 24 種）、フタル酸エステル類（代替物質を含む尿中代謝物 24 種）、ネオニコチノイド系殺虫剤 9 種とそれらの代謝物 4 種、忌避剤（Picaridin、DEET）と DEET 代謝物、リン酸エステル系難燃剤を対象として、ヒト尿に適用可能な分析法を開発した。いずれの物質群についても、日内・日間変動は 20% 以内、回収率は 50~150% の範囲内であり、バイオモニタリングに適用可能な高精度分析法を確立した。

確立した分析法を用い、尿試料中のフェノール系化合物、フタル酸エステル類（代替物質を含む尿中代謝物）、ネオニコチノイド系殺虫剤、忌避剤、リン酸エステル系難燃剤を分析し、検出状況、濃度範囲、介入期間中の濃度推移等について明らかにした。尿試料中のメチルパラベン濃度について、参加者 30 名から採取した全ての随時尿を分析し、介入期間中の濃度変動を解析した結果、概して減少傾向を示した（図-4.6）。この結果は、既存の報告の通りパーソナルケア製品の使用がパラベン類の主要な曝露経路であること、さらにはパラベンの添加されていない製品を数日間使用することで曝露を低減できることを示している。介入調査開始時の濃度と比べ、調査期間中の尿中濃度は 1~2 桁程度低値を示しており、パラベン類が極めて短時間で体外に排泄されることを示唆している。本研究の調査デザインで、半減期の短い化学物質について曝露をコントロールすることにより、体内濃度が低減する様子をモニタリングできることが確認された。一方で、参加者によっては、介入期間初期の濃度が高くないために濃度変動が不明瞭な場合や、期間中に増減を繰り返す場合もあり、日常生活における経常的曝露の個人差が大きいこと、及び今回の調査デザインで制御できていない曝露経路が存在していることが考えられる。

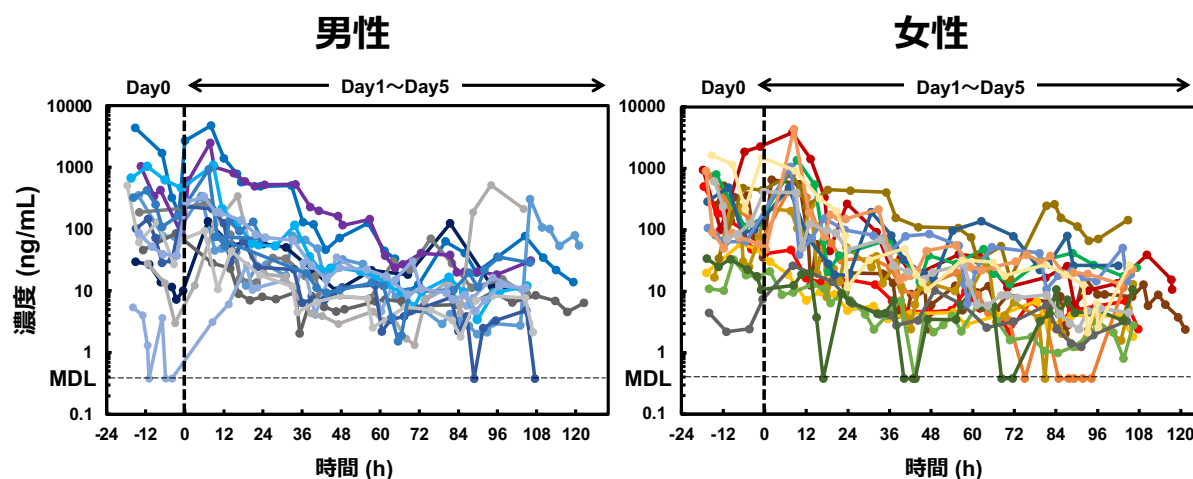


図-4.6 介入試験前日（Day0）から介入試験中（Day1~Day5）における随時尿中メチルパラベン濃度の推移

4) 体内動態モデル及び曝露逆推計モデル

(i) 動態モデルパラメータの算出

参加者 30 名分の随時尿のフェノール系化合物測定結果から、検出率の高かった 8 物質を対象として動態モデルパラメータの算出を試みた。尿中の化学物質濃度（容量ベース）と尿量、排泄間隔から求めた尿中排泄速度の経時変化（例として 3 種のパラベン類の尿中排泄速度を図-1.3 に示す）から、薬物動態解析ソフトウェア（Phoenix WinNonlin version 8.3.4, Certara 社）を用いて、消失半減期 $T_{1/2}$ (hour)、最大

排泄速度 Rmax (ng/hour)、最大排泄速度到達時間 Tmax (hours)、排泄速度-時間曲線下面積 AURC (ng)を算出した。このうち、最大排泄速度 Rmax (ng/hour)、最大排泄速度到達時間 Tmax (hours)、排泄速度-時間曲線下面積 AURC (ng)を表-1.6 に示した。他の評価対象物質についても、同様に尿中排泄速度と経過時間の関係から消失半減期を算出し、表-0.1 に示す。パラベン類（メチル、エチル、プロピル）の消失半減期は 10 時間程度以下で既存の報告と概ね一致していた。その他の対象物質についても、10~20 時間程度と見積もられ、対象としたフェノール系化合物、DEET、ネオニコチノイド系農薬が曝露後に速やかに代謝排泄されることを示している。これらの結果から、介入試験期間中に曝露をコントロールしたパラベン類だけでなく、ベンゾフェノン類、ビスフェノール類、トリクロサン、DEET、ネオニコチノイド系農薬など対象物質の一部については、消失半減期をはじめとする動態モデルパラメータを取得することができた。本研究により、化学物質投与を行わずに動態モデルパラメータを取得する調査方法が確立され、化学物質の体内動態研究の推進への貢献が期待される。

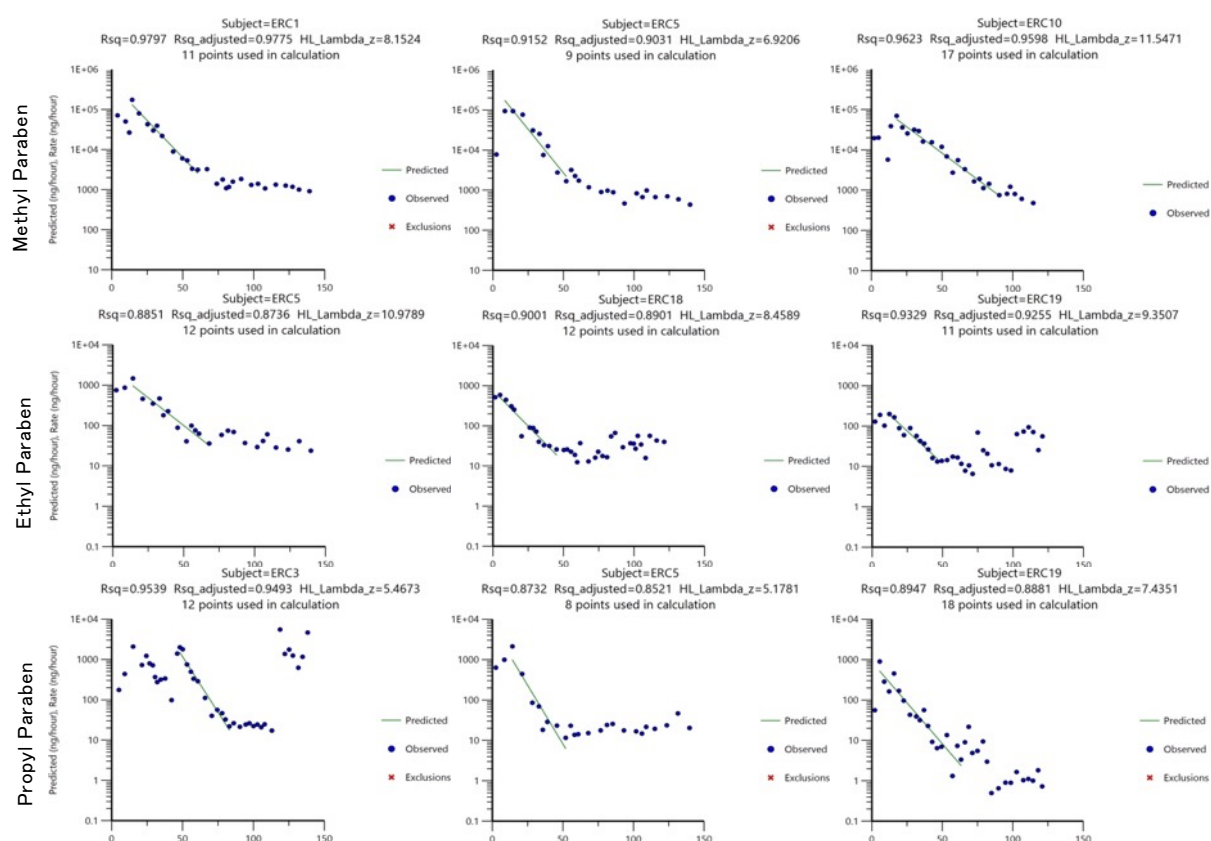


図-1.3 介入期間中のパラベン類の尿中排泄速度の経時変化(ng/hour)

表-1.6 フェノール類 8 物質の動態モデルパラメータ

	N	R ²	Tmax (hour)	Rmax (ng/hour)	AURC (ng)
MeP	27	0.86±0.12	23±31	27600±35500	510000±591000
EtP	24	0.83±0.14	45±42	585±1020	16000±29900
PrP	25	0.85±0.11	47±42	1260±2080	24300±44200
BP1	9	0.76±0.11	49±42	116±552	2330±9090
BP3	12	0.82±0.14	49±41	600±2860	11200±43200
BPF	14	0.74±0.12	59±43	291±330	14000±6520
BPS	23	0.81±0.14	52±38	81±111	1970±2520
TCS	9	0.74±0.12	60±38	75±200	3590±8830

MeP : メチルパラベン、EtP : エチルパラベン、PrP : プロピルパラベン、BP1 : ベンゾフェノン-1、BP3 : ベンゾフェノン-3、BPF : ビスフェノール F、BPS : ビスフェノール S、TCS : トリクロサン

表-0.1 本研究で算出した消失半減期のまとめ

		消失半減期 (hour)			
		N	R ²	Mean	SD
MeP	メチルパラベン	27	0.86±0.12	10.5	2.7
EtP	エチルパラベン	24	0.83±0.14	10.8	3.3
PrP	プロピルパラベン	25	0.85±0.11	7.7	3.3
BP1	ベンゾフェノン-1	9	0.76±0.11	13.8	3.3
BP3	ベンゾフェノン-3	12	0.82±0.14	10.2	2.5
BPF	ビスフェノール F	14	0.74±0.12	20.3	7.5
BPS	ビスフェノール S	23	0.81±0.14	13.0	3.7
TCS	トリクロサン	9	0.74±0.12	16.8	6.8
DEET	DEET	5		6.5	1.4
DHMB	DEET 代謝物	5		6.7	2.9
DCBA	DEET 代謝物	5		7.5	2.7
THM	チアメトキサム	2		15	
CLO	クロチアニジン	2		13	

(ii) 曝露逆推計モデルの作成

介入期間中の尿中濃度と尿量から尿中総排泄量を算出し、尿排泄率の報告値を用いて単回の曝露だったと仮定した場合の曝露量を推計した(表-0.2)。尿中総排泄量の中央値(範囲)はメチルパラベンが300(120-770) µg、トリクロサンが0.15(0.025-7.1) µg、忌避剤(DEET代謝物)が3300(440-14000) µgだった。尿排泄率の報告値はメチルパラベンが15~18%、トリクロサンが20%~80%、忌避剤(DEET代謝物)が7.5%であり、単回の曝露だったと仮定した場合の曝露量はそれぞれ1700-2000(670-5100) µg、0.19-0.76(0.03-35) µg、44000(5900-190000) µgと推計された。一方で、PCPs製品、食事、ハウスダスト等の曝露媒体の分析結果に基づいて、これらの使用・摂取に由来する曝露量を算出したところ、それぞれ3900(35-14000) µg、24(11-19) µg、74000-370000 µgとなり、いずれの物質についても尿中総排泄量から算出した曝露逆推計値と比べて高値ではあったものの、同じ桁あるいは1~2桁の範囲で一致していた。なお、PCPs製品を介した曝露量は、行動記録に記載されていた介入試験前日(Day0)の使用製品の測定値と介入期間中の同等製品使用量から算出し、食事及びハウスダストを介した曝露量については寄与率が低かったため介入期間の曝露量と同程度と仮定して介入期間中に得られた試料の分析結果に基づいて算出した。

本研究の尿中総排泄量と曝露媒体中濃度から算出した曝露量から尿排泄率を計算すると、メチルパラベン10%(2.4~44%)、トリクロサン0.75%(0.16%~34%)、忌避剤(DEET代謝物)3.3%(0.5-6.1%)と見積もられ、いずれも既存の報告値と比べ低値を示した。メチルパラベンについては、曝露媒体の評価により、主要な曝露源がPCPs製品使用であり、食事及びハウスダストの摂取に伴う曝露は極めて低いことが明らかになっており、本研究ではPCPs製品使用を介した経皮曝露に対する尿中の排泄量を計測したと考えられる。それに対して、先行研究におけるメチルパラベンの尿排泄率は経口投与した試験から算出されており、曝露経路により尿排泄率が異なることが影響している可能性がある。トリクロサンについては、曝露媒体の評価から主要な曝露源は食事による経口摂取であることが示されており、先行研究でも経口摂取から評価されている。ただし、先行研究ではマウスウォッシュ液の経口摂取から排泄率を算出しているのに対し、本研究では食事を介してトリクロサンに曝露していることから、腸管での吸収率が異なると推察される。トリクロサンは比較的脂溶性が高い(log₁₀ オクタノール/水分分配係数:4.76)ため、食事時の脂質とともに尿よりも便への排泄が多くなった可能性がある。忌避剤(DEET代謝物)については、本研究も報告値も経皮曝露に基づいて尿排泄率が算出されており、本研究の結果は報告値の半分程度であるものの近い値となっている。本研究では、参加者のDEETを含む製品の使用

重量から曝露量を算出しているため、塗布する際に手や衣類などに残って尿排泄率を過小評価している可能性がある。フタル酸エステルについては、尿中排泄率から逆推計した1日あたりの曝露量と曝露媒体の測定から算出した曝露量が、DnBPとDEHPの両物質でほぼ同程度となった。しかしながら、フタル酸エステル類、とくにDnBPについては経気道曝露の寄与も無視できないという報告もあり、曝露媒体の分析による曝露量は過小評価の可能性がある。今後、経気道曝露を含め曝露評価を精緻化する必要がある。ビスフェノールFについては、すべての検体で食事やハウスダストの摂取から算出した曝露量が尿中排泄量を大幅に上回っており、尿中排泄率を100%としても説明がつかない結果となった。今回の介入調査デザインで取得した曝露媒体以外からの曝露経路の存在が推察された。ビスフェノールFを含むビスフェノール類は樹脂の原料だけでなく、滅菌器材等の医療用器具や病院・工場・学校・公共施設等の床に使用されるフロアコーティング剤にも使用されている。本研究の参加者はほとんどが大学関係者であることから、大学・医療機関等に起因する曝露の存在が考えられる。本介入試験では、自宅外における曝露量を評価できていないため、自宅外活動における曝露の把握は今後の課題である。

以上の結果から、本研究の調査デザインにより、日常的な曝露のある半減期の短い物質について、曝露のない数日間の尿中排泄量が測定できれば、尿中排泄率に基づいて単回の曝露量を逆推計可能なことが示された。本研究により、化学物質投与を行わずに動態モデルパラメータを取得する調査方法が確立され、生体試料や曝露媒体試料、参加者の属性情報等がバンク化、データベース化されているため、将来的に別の化学物質の評価にも活用できることに加え、調査アプローチ自体を別研究に応用することも可能である。

表-0.2 本研究で算出した曝露量と逆推計値の比較

		PCPs 製品	食事	ハウスダスト	曝露量 (合計)	尿中排泄量	排泄率報告値	曝露逆推計値
		(μg)	(μg)	(μg)	(μg)	(μg)		(μg)
メチルパラベン	中央値	3900	0.83	0.16	3900	300	15-18%	1700-2000
	範囲	(35-14000)	(0.79-0.83)	(0.067-0.56)	(35-14000)	(120-770)		(670-5100)
トリクロサン	中央値	<MDL	24	0.0047	24	0.15	20-80%	0.19-0.76
	範囲		(11-29)	(0.00093-0.25)	(11-29)	(0.025-7.1)		(0.03-35)
ビスフェノールF	中央値	<MDL	<MDL	0.00071	0.0019	2.5	NA	NA
	範囲		(<MDL-0.0078)	(0.00015-0.0038)	(0.00015-0.0090)	(1.5-4.7)		
DEET (代謝物)	中央値	NA	NA	NA	NA	3300	7.5%	44000
	範囲	(74000-370000)			(74000-370000)	(440-14000)		(5900-190000)
DnBP ($\mu\text{g/day}$)	中央値	0.18	10.4	0.33	10.6	21.7	84%	22.4
	幾何平均	0.12	8.9	0.36	9.5	22.8		23.5
DEHP ($\mu\text{g/day}$)	中央値	0.14	108	46.9	168	22.7	5.9-23%	146
	幾何平均	0.14	89.8	43.0	168	23.0	(代謝物)	149

NA: Not available

5-2. 環境政策等への貢献

<行政等が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

<行政等が活用することが見込まれる成果>

化学物質の安全確保に関する環境行政において、上流側（製造、排出）における規制・管理と、下流側（環境内濃度、生体内濃度）における管理があり、国民の化学物質曝露低減については、上流側・下流側両方の対策が必要である。特に、国民の化学物質曝露を低減するために排出規制や環境基準等の策定が必要になった際に、化学物質の体内濃度からそれに該当する規制・管理の対象となる環境中濃度を推計することが必要であり、本研究は、そのために必須の体内動態モデルを提供する。実際に、エコチル調査等では、化学物質の体内濃度を健康影響の指標として多様な物質の影響を評価しているが、影響のある体内濃度が判明したとしても排出規制や環境基準等の策定に直接つながらないのが現状である。世界的にほとんど情報のない、日用品中の化学物質について、投与試験を実施することなく、体内動態モデルを構築し、化学物質管理行政の基礎となる情報を提供する。従来の曝露評価法（媒体濃度からのモデル推計）では、様々な曝露シナリオを想定して曝露経路ごとの曝露量を積算する。しかしながら、この方法では、曝露シナリオや曝露係数等の複数の仮定が必要なために不確実性が大きくなってしまいう点、個人の曝露を必ずしも適切に評価できない点などの制約がある。本研究課題で構築される曝露逆推計モデル（exposure reconstruction model）のアプローチを適用することで、曝露指標（体内濃度）から個人の曝露量を推計することが可能となり影響評価研究の結果と直結する。すなわち、エコチル調査等で明らかになった、健康影響を引き起こす化学物質の体内濃度から、環境行政の対象となる環境中・製品中の化学物質濃度を推計することを可能とし、化学物質曝露を適切に管理し、安全・安心な化学物質の製造と利用を通して、国民の生活の質の向上に貢献する。米国や EU などでもバイオモニタリングで得られた結果を化学物質管理に利用する検討が進んでおり、本研究課題は国際社会の取り組みにも貢献することができる。さらに、エコチル調査で子どもの健康に影響することが判明した化学物質について曝露低減策を講じる上で、本課題で構築する曝露逆推計モデルに基づいて曝露量を算出し、既存の曝露モデルにより媒体中濃度を推計することにより、効果的な化学物質管理と曝露リスク低減策の提案を可能とする。本研究課題の成果が環境産業等に直接活用されるものではないが、安全な化学物質の製造のための基礎的情報を提供し、化学工業分野で低リスク製品の開発につながることを期待される。

5-3. 研究目標の達成状況

全体目標	目標の達成状況
<p>本研究の最終目標は、バイオモニタリングによって得られた生体試料中化学物質濃度と、曝露モデルによって得られた曝露量とを結びつける曝露逆推計モデル（exposure reconstruction model）の構築とその調査手法の確立である。本研究で曝露逆推計モデルを構築することにより、種々の化学物質について体内濃度から曝露量を推計することが可能となるため、将来的にエコチル調査等の成果（生体中濃度と健康影響の関連）に基づいた化学物質のリスク管理を実現する。</p> <p>曝露逆推計モデルの構築に必要な、皮膚吸収率、血中濃度推移、尿中排泄速度等の動態モデルパラメータは、曝露媒体中濃度と生体試料中濃度の実測値から体内動態モデルを構築することで算出する。食事及びパーソナルケア製品使用の介入試験を実施して曝露媒体試料、生体試料を採取、分析し、体内動態モデルを構築する。本研究で実施する</p>	<p><u>目標どおりの成果をあげた。</u></p> <p>まず、過去3年間のコロナ禍にも関わらず、計画数の対面の介入調査を順調かつ安全に実施できたことは、当初の目標を上回る成果である。スタッフ及び調査参加者の感染対策や参加者の心理的身体的ストレスへの配慮など追加作業が発生しただけでなく、調査会場の確保、調査時期の設定、資材調達についても計画時と比べ、コストや労力が膨らんだが、計画通りの参加者数を確保し予定通りの調査を実施することができた。本研究により、化学物質投与を行わずに動態モデルパラメータを取得する調査方法が確立され、生体試料や曝露媒体試料、参加者の属性情報等がバンク化、データベース化されているため、将来的に別の化学物質の評価にも活用できることに加え、調査アプローチ自体を別研究に応用することも可能であり、この分野の研究推進に貢献できると考えている。</p>

<p>介入試験は、化学物質の投与を行わないため協力者の負担を軽減でき、かつ食事及びパーソナルケア製品使用を把握することで曝露量をコントロールできることから、化学物質の体内動態研究分野では独創性の高い手法である。</p> <p>3年間で約100名の協力者に対して介入試験を行い、食事及びパーソナルケア製品使用についてこちらで提供するものを5日間使用していただく。経皮曝露のモデル化学物質としてパラベン類（防腐剤）及びトリクロサン（殺菌剤）、経口曝露のモデル化学物質としてフタル酸エステル類及び農薬（有機リン、ピレスロイド、ネオニコチノイド、フィプロニル等）を対象とし、その期間の曝露媒体（食事、パーソナルケア製品、ハウスダスト）と生体試料（血液及び尿）を採取、分析することで、曝露量と体内濃度の推移を実測する。これらの実測値を用いて体内動態モデルを構築し、動態モデルパラメータを算出する。ここで得たパラメータを用いることで、曝露逆推計モデルを構築する。曝露逆推計モデルは、上記のモデル化学物質あるいはそれ以外の化学物質を実測することで検証する。採取した試料は、分注・長期保管して試料バンク化することで他の化学物質の評価に用いることができるよう整備するとともに、曝露係数及び動態モデルパラメータ等のデータベースを公開し、化学物質の体内動態に関する研究基盤を提供する。</p>	<p>介入試験期間に採取した曝露媒体試料（食事、パーソナルケア製品、ハウスダスト）と生体試料（血液及び尿）について、パラベン類・トリクロサン等のフェノール系化合物、フタル酸エステル類（代替物質を含む）、農薬類（ネオニコチノイド、フィプロニル、忌避剤等）、リン系難燃剤の分析法を確立し、曝露量と体内濃度の推移を実測した。パラベン類、トリクロサン、忌避剤等は、調査期間中に尿中濃度の減少傾向が認められ、尿中排泄速度の推移から消失半減期を推算することができた。算出した消失半減期は、既存の報告値と概ね一致しており、本研究で確立した調査手法により動態モデルパラメータを取得できることが示された。これらの結果より、介入期間中の曝露をコントロールすることができ、曝露経路が単一、かつ、尿中排泄量が測定できれば、本研究で得られた尿中排泄率に基づいて単回の曝露量を逆推計可能であることが示された。一方で、ネオニコチノイド系農薬やフタル酸エステルなど、介入試験で曝露をコントロールできていない物質については、一部について消失半減期を算出することができたものの、今回の調査デザインでは曝露経路と曝露量を特定できなかったため、尿中排泄率等の動態モデルパラメータを求めることができなかった。また、経常的な反復曝露がある場合や曝露経路が複数ある場合など、並行曝露と吸収・分布・代謝を考慮したモデル作成は今後の課題である。曝露係数及び動態モデルパラメータ等を情報収集あるいは体内動態モデルを用いて算出し、化学物質の体内動態に関する研究基盤を提供するためのデータベースを構築した。とくに、パーソナルケア製品使用についてはサブテーマ2で実測値に基づいた使用量も計測しており、web調査と合わせて信頼性の高い情報を提供することが可能である。</p> <p>上記の研究成果から、当初の目標は十分達成できたといえる。</p>
---	---

サブテーマ1 目標	目標の達成状況
<p>生体試料中化学物質濃度から曝露量を推計する曝露逆推計モデルの構築を目標とする。曝露逆推計モデルの構築に必要な動態モデルパラメータは、介入試験で得られた試料の化学分析結果から体内</p>	<p><u>目標どおりの成果をあげた。</u></p> <p>介入試験は、コロナ禍にも関わらず順調かつ安全に実施し、化学物質投与を行わずに動態モデルパラメータを取得する調査方法を確立した。得られ</p>

<p>動態モデルを構築することで算出する。まず、サブテーマ 2 と協力して介入試験を実施し、曝露媒体試料、生体試料を採取する。得られた試料は、サブテーマ 3 と 4 でそれぞれ曝露媒体試料と生体試料を分析し、曝露量と生体内の濃度を明らかにする。これらの実測値を用いて体内動態モデルを構築し、モデル化学物質の動態モデルパラメータを算出する。得られたパラメータを用いることで曝露逆推計モデルを構築する。これにより、生体試料中濃度から曝露媒体中濃度を推計することが可能となる。また、介入試験で得られた試料は、将来的に他の化学物質の評価に用いることのできるよう分注・長期保管して試料バンク化する。さらに、曝露係数及び動態モデルパラメータ等を情報収集あるいは体内動態モデルを用いて算出し、データベースとして公開することで、化学物質の体内動態に関する研究基盤を提供する。</p>	<p>た生体試料及び曝露媒体試料のデータベース化・バンク化し、将来の活用に備えて保管している。パラベン類、トリクロサン、忌避剤等は、調査期間中に尿中濃度の減少傾向が認められ、尿中排泄速度の推移から消失半減期を推算することができた。算出した消失半減期は、既存の報告値と概ね一致しており、本研究で確立した調査手法により動態モデルパラメータを取得できることが示された。これらの結果より、介入期間中の曝露をコントロールすることができた物質のうち、曝露経路が単一、かつ、尿中排泄量が測定できれば、本研究で得られた尿中排泄率に基づいて単回の曝露量を逆推計可能なことが示された。一部のフタル酸エステルでは、1日あたりの尿中排泄量から曝露量を推計できる可能性も示唆された。一方で、ネオニコチノイド系農薬など、介入試験で曝露をコントロールできていない物質については、一部について消失半減期を算出することができたものの、今回の調査デザインでは曝露経路と曝露量を特定できなかったため、尿中排泄率等の動態モデルパラメータを求めることができなかった。また、経常的な反復曝露がある場合や曝露経路が複数ある場合など、並行曝露と吸収・分布・代謝を考慮したモデル作成は今後の課題である。曝露係数及び動態モデルパラメータ等を情報収集あるいは体内動態モデルを用いて算出し、化学物質の体内動態に関する研究基盤を提供するためのデータベースを構築した。とくに、パーソナルケア製品使用についてはサブテーマ 2 で実測値に基づいた使用量も計測しており、web 調査と合わせて信頼性の高い情報を提供することが可能である。</p> <p>上記の研究成果から、当初の目標は十分達成できたといえる。</p>
---	---

サブテーマ 2 目標	目標の達成状況
<p>化学物質の体内動態研究を効率的、かつ低侵襲に実施するための食事・パーソナルケア製品の介入試験を実施し、曝露媒体試料と生体試料を採取する。介入試験は 3 年間で 100 名の 20～50 歳の健康な男女を協力者のリクルートを目指し、食事及びパーソナルケア製品使用についてこちらで提供するものを 5 日間使用していただく。曝露媒体・</p>	<p><u>目標を上回る成果をあげた。</u></p> <p>研究計画通りに、合計 100 名(20～43 歳、男性 48%)をリクルートして介入調査を実施できた。すなわち、調査対象者に 5 日間の全ての食事と飲料水及びその期間に使用するパーソナルケア製品(シャンプー、ハンドソープ、基礎化粧品等)を提供し、それらの製品のみを使用して生活してもらい、摂取</p>

<p>生体試料は、汚染の少ない保管容器を工夫するなど、サブテーマ1で試料バンク化を想定してバンク・分注方法など最適な採取方法を提案する。</p>	<p>量・使用量等を記録、さらに期間中の尿、血液、ハウスダストの収集を完遂した。その後各分析機関で標的物質の定量分析を行うための分注や輸送を実施済である。また、健康関連 QOL を指標とした予備的な調査によって、参加者に過度な負担をかけることなく、本研究では介入調査の実施、曝露媒体や生体試料の収集も実施されたことを証明した。保管容器の工夫、例えば使用前のアルコール洗浄及び検体取扱者に臨床検査技師を採用、自動分注装置の活用により、現在のところは汚染が考えられる分析上のトラブルは見られておらず、採取後の環境汚染のない検体セットができた。なお、個人情報、倫理審査で承認された方法を遵守して管理しており、各種試料等の移送及び保管も計画通り進めた。研究目標はすべて達成され、web システムを多用するなど効率的な介入調査の枠組みは将来の追加調査にも応用可能であり、COVID-19 感染対策や参加者のストレスへの配慮など追加での作業が発生したにも関わらず、計画通りの参加者数を確保し、生体試料、曝露媒体試料を採取できた。したがって、当初の目標を上回る成果をあげたといえる。</p>
--	--

サブテーマ3 目標	目標の達成状況
<p>介入試験で使用する、食事、飲料、間食、パーソナルケア製品、ハウスダストなどの曝露媒体の化学物質濃度を測定し、モデル化学物質の曝露量を推計する。曝露媒体試料の分析法を整備し、分析結果を用いて皮膚吸収率を含め曝露媒体中濃度から体内濃度を予測するモデルを構築する。</p>	<p><u>目標どおりの成果をあげた。</u> フタル酸エステル類及び代替物質・分解物（フタル酸エステル類 12 種、代替物質 7 種、分解物 2 種）、フェノール系化合物（パラベン類 9 種、トリクロサン・トリクロカルバン、ベンゾフェノン類 5 種、ビスフェノール類 7 種、テトラプロモビスフェノール A、アルキルフェノール類 4 種の計 24 種）を対象として、各種曝露媒体試料に適用可能な分析法を確立した。フタル酸エステル類及び代替物質・分解物については、ハウスダスト及び食事中濃度の標準添加回収率はそれぞれ 76～106%、74～105%であり、併行精度はともに 10%以内であった。パーソナルケア製品 17 種中濃度の添加回収率は 90～110%であった。フェノール系化合物については、ハウスダスト・食事試料中濃度の測定値の日内・日間変動は 15%以内、内部標準物質による補正回収率は 76～110%、74～120%、ハウスダスト試料の絶対回収率は 48～96%であった。次に確立した分析</p>

	<p>法を用いて、ハウスダスト・食事・パーソナルケア製品試料に含まれるフタル酸エステル類及び代替物質、フェノール系化合物の計測を行い、曝露媒体経由の曝露量、寄与率を明らかとし、サブテーマ1のモデル構築に必要なデータを取得した。</p> <p>上記の研究成果から、当初の目標は十分達成できたといえる。</p>
--	---

サブテーマ4目標	目標の達成状況
<p>バイオモニタリングに最適な分析法の開発と、介入試験で得られる生体試料の化学物質分析を目標とする。そのため、生体試料の採取頻度や前処理法の検討、適切な曝露マーカーの探索、測定精度・感度の向上を進め、生体試料分析法を最適化する。開発した分析法を用いて生体試料を分析し、尿中濃度の経時的推移など体内濃度を実測する。</p>	<p><u>目標どおりの成果をあげた。</u></p> <p>内分泌かく乱作用が疑われているフェノール系化合物（パラベン類9種、トリクロサンとトリクロカルバン、ベンゾフェノン類5種、ビスフェノール類8種、アルキルフェノール類4種の計24種）を対象として、ヒト尿に適用可能な分析法を開発した。本分析法の日内・日間変動は15%以内、内部標準物質の回収率は50～150%を示し、さらに測定毎に分析したヒト尿の認証標準試料における濃度変動は±20%以内と計画通り高精度分析法の確立に成功した。次に、確立した分析法を用いて、調査参加者73名から採取した介入試験前日の24h蓄尿試料及び調査参加者30名の全ての随時尿試料を分析し、介入試験前日から介入試験期間中の濃度変動を明らかにした。フタル酸エステル類については、尿中代謝物24種の分析法（日内・日間変動：15%以内、補正回収率：79～124%）を確立し、調査参加者のうち95名から採取した介入試験前日の24h蓄尿試料及び調査参加者20名の調査期間中に排泄された全ての随時尿試料を分析し、介入試験前日から介入試験期間中の濃度変動を明らかにした。また、ネオニコチノイド系殺虫剤9種とそれらの代謝物4種及び忌避剤（Picaridin、DEET）とDEET代謝物を対象に、調査参加者5名分の随時尿を分析し、濃度変動を明らかにした。このように、体内動態の解析や消失半減期の推定に必要な随時尿中の化学物質濃度の経時的推移について、調査参加者5～30名分のデータを集積することができた。加えて、尿中リン酸エステル系難燃剤の分析法開発にも成功し、調査参加者73名の介入試験前日の24h蓄尿試料を分析することにより、これら化学物質におけるヒト曝露実態も明らかにした。</p>

上記の研究成果から、当初の目標は十分達成できたといえる。

6. 研究成果の発表状況

6-1. 査読付き論文

<件数>

3件

<主な査読付き論文>

- 1) Gwon H.R., Oh H.J., Chang K.H., Isobe T., Lee S.Y., Kim J.H., You S.J., Kim J.G., Kim J.W. (2021) Occurrence, distribution, and potential exposure risk of organophosphate flame retardants in house dust in South Korea. *Science of the Total Environment*, 770, 144571 (IF: 10.754)
- 2) Nishihama Y., Lai Y., Isobe T., Nakayama S.F. (2022) Optimal method for determining the intraclass correlation coefficients of urinary biomarkers such as dialkylphosphates from imputed data. *Environment International*, 170, 107553 (IF: 13.352)
- 3) Ueyama J., Hayashi M., Hirayama M., Nishiwaki H., Ito M., Saito I., Tsuboi Y., Isobe T., Ohno K. (2023) Effects of Pesticide Intake on Gut Microbiota and Metabolites in Healthy Adults. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20 (1), 213 (IF: 4.614)

6-2. 知的財産権

特に記載すべき事項はない。

6-3. その他発表件数

査読付き論文に準ずる成果発表	0件
その他誌上発表（査読なし）	1件
口頭発表（学会等）	23件
「国民との科学・技術対話」の実施	13件
マスコミ等への公表・報道等	0件
本研究費の研究成果による受賞	0件
その他の成果発表	2件

7. 国際共同研究等の状況

本課題実施以前からの共同研究等を通じて、ドイツ Ruhr-University Bochum の Dr. Holger Koch の研究グループと動態モデルパラメータ取得の重要性や精緻な体内動態モデル構築の必要性について議論を進めており、今回の研究デザインについても利用可能な生体試料・曝露媒体試料のセットが採取された際には是非とも活用したいとの申し出をいただいている。Dr. Koch は *International Journal of Hygiene and Environmental Health (IJHEH)* 誌の Co-Editor-in-Chief であると同時にドイツの Human Biomonitoring Commission メンバーでもあり、バイオモニタリングで得られた結果に基づいた化学物質のリスク低減や規制を行う枠組みの策定に携わっているため、本課題で得られる試料を提供することで有意義な共同研究を展開できると考えている。また、曝露逆推計については、US EPA の Dr. John Wambaugh から、動態モデルパラメータの共有や他の化学物質への適用などについて共同研究の申し出があり、本課題のデータ共有を含め議論を開始している。

8. 研究者略歴

研究代表者

磯部友彦

2001年東京農工大学連合農学研究科博士課程修了、博士（農学）。2001年国立環境研究所 NIES ポストドクフェロー、2005年愛媛大学沿岸環境科学研究センターCOE 研究員、2008年愛媛大学上級研究員・特任講師、2013年愛媛大学沿岸環境科学研究センター准教授、2014年国立環境研究所主任研究員、2021年国立環境研究所主幹研究員。

研究分担者

1) 中山祥嗣

岡山大学医学部卒。2004年岡山大学大学院医学研究科社会医学専攻修了。博士（医学）。2005年 U.S. Environmental Protection Agency。2011年国立環境研究所総合影響評価研究室室長、2016年国立環境研究所曝露動態研究室室長、2019年国立環境研究所エコチル調査コアセンター次長。

2) 岩井美幸

2010年東北大学大学院医学系研究科博士課程短期修了、博士（医学）。2009年日本学術振興会特別研究員 DC2、2011年日本学術振興会特別研究員 PD、2015年国立環境研究所任期付研究員、2019年～2020年マウントサイナイ医科大学在外派遣研修、2020年国立環境研究所主任研究員。

3) 高木麻衣

2006年東京農工大学農学部卒、2011年東京大学大学院新領域創成科学研究科環境システム学専攻博士課程修了、博士（環境学）、2011年国立環境研究所特別研究員、2014年同環境健康センター任期付研究員、2016年同福島支部、2021年同環境リスク・健康領域主任研究員。

4) 上山純

1999年神戸常盤短期大学卒業（臨床検査技師免許取得）、2009年金沢大学大学院医学系研究科循環医科学専攻修了、博士（医学）。2005年名古屋大学医学部附属病院検査部（臨床検査技師）、2006年名古屋大学医学部保健学学科助教、2011年名古屋大学大学院医学系研究科准教授。

5) 小栗朋子

2000年信州大学農学部卒業、2013年東京大学大学院新領域創成科学研究科環境システム学専攻博士課程修了、博士（環境学）。2013年国立環境研究所資源循環・廃棄物研究センター特別研究員、2015年名古屋市立大学エコチル調査愛知ユニットセンター特任助教、2016年国立環境研究所環境リスク・健康研究センター特別研究員、2018年産業技術総合研究所安全科学研究部門主任研究員。

6) 篠原直秀

1999年東京大学工学部化学システム工学科卒業、2004年東京大学大学院新領域創成科学研究科環境学専攻修了、博士（環境学）。2004年産業技術総合研究所化学物質リスク管理研究センター研究員、2011年産業技術総合研究所安全科学研究部門主任研究員、2017年早稲田大学理工学術院客員准教授（併任）。

7) 国末達也

2004年愛媛大学連合農学研究科博士課程修了、博士（農学）。2004年愛媛大学沿岸環境科学研究センターCOE 研究員、2008年 New York State Department of Health 主任研究員、2012年鳥取大学農学部教授、2014年愛媛大学沿岸環境科学研究センター教授。

8) 仲山慶

2003年九州大学大学院生物資源環境科学府博士課程修了、博士（農学）。2003年愛媛大学沿岸環境科学研究センターCOE 研究員、2005年 City University of Hong Kong リサーチフェロー、2006年愛媛大学沿岸環境科学研究センター助手、2010年愛媛大学沿岸環境科学研究センター講師。

9) 田上瑠美

2015年愛媛大学大学院理工学研究科博士後期課程修了、博士（理学）。2014年日本学術振興会特別研究員 DC2、2015年日本学術振興会特別研究員 PD、2016年愛媛大学沿岸環境科学研究センター特定研究員、2019年愛媛大学沿岸環境科学研究センター助教（特定教員）、2022年愛媛大学沿岸環境科学研究センター助教（テニユア育成教員）、2023年愛媛大学沿岸環境科学研究センター准教授。

II. 成果の詳細

II-1 バイオモニタリングによる曝露逆推計モデルの構築と研究基盤整備

国立研究開発法人 国立環境研究所

環境リスク・健康領域	曝露動態研究室（主幹研究員）	磯部友彦
環境リスク・健康領域	曝露動態研究室（エコチル調査コアセンター次長）	中山祥嗣
環境リスク・健康領域	曝露動態研究室（主任研究員）	岩井美幸
環境リスク・健康領域	曝露動態研究室（主任研究員）	高木麻衣

【要旨】

サブテーマ1は、生体試料中の化学物質濃度から曝露量を推定する曝露逆推計モデルの構築と、介入試験で得られた生体試料及び動態モデルパラメータのデータベースの構築を目的とした。サブテーマ2で実施した介入試験で得られた曝露媒体試料・生体試料はそれぞれ将来的な利用を想定してデータベース化した上で配布しやすい形態で分注・保管している。曝露媒体試料・生体試料の分析結果（サブテーマ3・4）を用いて動態モデルパラメータ取得と曝露逆推計モデル構築を試みた。経皮曝露のモデル化学物質としてパラベン類（防腐剤）、トリクロサン（殺菌剤）、忌避剤について、尿中排泄速度、消失半減期、皮膚吸収率、血中濃度推移等の動態モデルパラメータを算出した。尿中排泄速度の推移から算出した消失半減期は、パラベン類（メチル、エチル、プロピル）は10時間程度以下、その他の対象物質も10～20時間程度と見積もられた。いずれの対象物質の半減期も、半日程度以下（最大でBPFの20.3時間）と短く、これらのフェノール系化学物質が曝露後に速やかに代謝排泄されることを示している。パラベン類の消失半減期（メチルパラベン10.5時間、エチルパラベン10.8時間、プロピルパラベン7.7時間）は既報とほぼ同程度であり、本研究で提案した調査デザインにより動態モデルパラメータを取得できることが示された。一方で、経口曝露のモデル化学物質として分析対象とした、フタル酸エステル類及び農薬（ネオニコチノイド、フィプロニル等）については、一部の参加者の尿中排泄速度の推移から消失半減期を算出することができたものの、介入試験期間中の曝露がコントロールされていなかったために曝露経路と曝露量を特定できず、尿中排泄率等の動態モデルパラメータの算出には至らなかった。トリクロサンについては、曝露媒体の分析結果から食事を介した曝露がメインであることがわかり、調査期間中の尿中排泄速度の推移から消失半減期を推算することができた。

評価対象物質のうち、メチルパラベン、トリクロサン、忌避剤については、尿中排泄率に基づいて単回の曝露量を逆推計可能であることが示唆された。介入期間中の尿中濃度と尿量から算出した尿中総排泄量と尿中排泄率の報告値を用いて単回の曝露だったと仮定した場合の曝露量を推計し、曝露媒体の分析結果から算出した曝露量と比較した。その結果、曝露媒体の分析結果から算出した曝露量は尿中総排泄量から算出した曝露逆推計値と比べて高値ではあったものの、その差は同じ桁あるいは1～2桁の範囲だった。本研究の尿中排泄量と曝露媒体の分析結果から算出した曝露量から算出した尿中排泄率は、メチルパラベンが2.4～44%（中央値10%）、トリクロサンが0.16%～34%（中央値0.75%）忌避剤（DEET）が3.3%と見積もられ、いずれも既存の報告と同程度または数倍の範囲だった。また、経常的な曝露のあるフタル酸エステルについても、尿中排泄率の情報が得られれば、1日あたりの尿中排泄量を用いて1日あたりの曝露量の逆推計が可能と示唆された。これらの結果から、単純な条件であれば生体試料中濃度から曝露量を逆推計できることが示され、化学物質の投与を行わずに動態モデルパラメータを取得する手法として、本研究で提案した調査デザインが非常に効果的であると考えられる。経常的な反復曝露がある場合や曝露経路が複数ある場合など、並行曝露と吸収・分布・代謝を考慮したモデル作成は今後の課題である。

また、曝露係数及び動態モデルパラメータ等を情報収集あるいは体内動態モデルを用いて算出し、化学物質の体内動態に関する研究基盤を提供するためのデータベースを構築した。

1. 研究開発目的

本研究では、バイオモニタリングによって得られた体内濃度と、曝露モデルによって得られた曝露量とを結びつける曝露逆推計モデルの構築を目的とした。研究協力者を対象に、曝露媒体を一定期間コントロールすることで化学物質曝露量を把握する介入試験を実施し、曝露媒体試料・生体試料の計測と体内動態モデルを組み合わせることで、体内濃度から化学物質の曝露量を推計する手法を開発することを目指した。サブテーマ1では、サブテーマ2で実施した介入試験で得られた曝露媒体試料・生体試料の分析結果（サブテーマ3・4）を用いて曝露逆推計モデル構築を試みた。経皮曝露のモデル化学物質としてパラベン類（防腐剤）及びトリクロサン（殺菌剤）、経口曝露のモデル化学物質としてフタル酸エステル類及び農薬（ネオニコチノイド、フィプロニル等）を対象とし、生体試料中濃度と曝露媒体中濃度の実測値から体内動態モデルを構築して皮膚吸収率、血中濃度推移、尿中排泄量、尿中排泄速度等の動態モデルパラメータを算出した。これらのパラメータに基づいて、生体試料中濃度から曝露媒体中濃度を推計する曝露逆推計モデル構築を試みた。また、介入試験で得られた試料は、将来的に他の化学物質の評価に用いることのできるよう分注・長期保管して試料バンクとしてデータベース化した。さらに、曝露係数及び動態モデルパラメータ等を情報収集あるいは体内動態モデルを用いて算出し、化学物質の体内動態に関する研究基盤を提供することを目的としたデータベースを構築した。

2. 研究目標

生体試料中化学物質濃度から曝露量を推計する曝露逆推計モデルの構築を目標とする。曝露逆推計モデルの構築に必要な動態モデルパラメータは、介入試験で得られた試料の化学分析結果から体内動態モデルを構築することで算出する。まず、サブテーマ2と協力して介入試験を実施し、曝露媒体試料、生体試料を採取する。得られた試料は、サブテーマ3と4でそれぞれ曝露媒体試料と生体試料を分析し、曝露量と生体内の濃度を明らかにする。これらの実測値を用いて体内動態モデルを構築し、モデル化学物質の動態モデルパラメータを算出する。得られたパラメータを用いることで曝露逆推計モデルを構築する。これにより、生体試料中濃度から曝露媒体中濃度を推計することが可能となる。また、介入試験で得られた試料は、将来的に他の化学物質の評価に用いることのできるよう分注・長期保管して試料バンク化する。さらに、曝露係数及び動態モデルパラメータ等を情報収集あるいは体内動態モデルを用いて算出し、データベースとして公開することで、化学物質の体内動態に関する研究基盤を提供する。

3. 研究開発内容

1) 介入試験準備

採択決定後、直ちに全機関で介入試験の準備を開始し、主たる実施機関の国立環境研究所から倫理審査を申請し（国立環境研究所医学研究倫理審査委員会：承認番号 2020-002）、全ての機関で承認を得た。コロナ渦で対面の打ち合わせや機関間の人の移動が制限されていたため、少なくとも月に1度、8月以降は原則毎週、web会議を実施して進捗状況や各機関における活動制限の状況などを確認しながら研究を進めた。介入試験準備として、介入期間中に使用するパーソナルケア製品（PCPs：シャンプー、ハンドソープ、基礎化粧品等）を選定した。採血や採尿に使用する容器等の準備、リクルート方法や各種資材の配布方法の検討を進めた。

2) 試料バンク構築

介入試験で得られた生体試料について、試料バンク化を想定して分注し、血液試料についてはヘマトクリット値（赤血球パルス波高値検出法）及び血清クレアチニン（酵素法）、尿試料については比重及び尿中クレアチニン（酵素法）を測定した。生体試料及び曝露媒体試料について、統一したクライオチューブに分注した上で試料情報のデータベースを構築し、国立環境研究所内のディープフリーザーに保管した。

3) 動態モデルパラメータデータベース構築

介入試験参加者を対象として、生活習慣に関する質問票及び介入期間中の行動記録、製品使用記録をデータ化するとともに、食習慣についてBDHQ（簡易型自記式食事歴法質問票：brief-type self-administered diet history questionnaire）を用いて栄養評価を実施して結果を返却した。評価対象とした化学物質について、本研究で得られた消失半減期、皮膚吸収率、血中濃度推移、尿中排泄量、尿中排泄速度等の動態モデルパラメータに関してデータベースを作成した。また、曝露係数調査のための web 質問票を開発し、web 調査を実施した。Web アンケート調査会社を通して調査協力の同意が得られた 20 代から 60 代の男性 1119 名、女性 1201 名を対象とした（年代、性別がおおよそ均等になるように調整）。回答期間は 2021 年の 2 月と 2022 年の 2 月、8 月の 1 週間とした。なお、一部地域では、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の蔓延予防対策ため緊急事態宣言や蔓延防止等重点措置が発令されていた。曝露係数として、喫煙本数、入浴時間、プール利用時間、飲水量、屋外滞在時間、電子機器使用時間、パーソナルヘア製品（化粧品、スキンケア用品、バス用品、衛生用品等）の使用頻度や使用量、消毒剤の使用回数についての質問に回答してもらい、結果を集計した。成人女性のパーソナルケア製品使用量の推計には、以前の推進費（課題番号：5-1557）で開発した簡易調査票を用いた。この簡易調査票では、製品の種類（化粧水、歯磨き粉、シャンプーなど）ごと、また製品の形状（水状、乳状、オイルなど）ごとに、1 回の使用量を視覚的に判断する簡易スケールを選択、使用頻度（回/週）を web 上で回答するものであり、これらの情報と先行して実施した実態調査の結果に基づいて、週に何グラム使用するか推計した。ただし、成人男性の PCPs 使用量に対する妥当性は未確認であるため、使用量の推計については女性に対してのみ行った。性別による違いの解析は 2021-2022 年 2 月の調査（男女各 600 名）で、季節変動の解析については、同一の調査会社で実施した 2 月調査（男女各 600 名）と 8 月調査（8 月調査（男女各 350 名））で比較した。2022 年 8 月の調査は異なる 2 社（A 社男女各 350 名、B 社男性 249、女性 251 名）で実施し、調査会社の違いによる結果の差異を検討した。解析には、R（Version 4.2.3）を用いた。

4) 体内動態モデル／曝露逆推計モデルの作成

(1) 薬物動態解析ソフトウェアを用いた動態モデルパラメータの推定

生体試料の分析結果に基づいて、薬物動態解析ソフトウェア（Phoenix WinNonlin version 8.3.4, Certara 社）で体内動態を解析した。Phoenix WinNonlin は、ノンコンパートメント解析（Non-Compartmental Analysis: NCA）や薬物動態・薬力学（Pharmacokinetics and Pharmacodynamics : PK/PD）モデリング及びシミュレーション解析に対応する世界標準ソフトウェアであり、米国 FDA（Food and Drug Administration: 食品医薬品局）や日本の医薬品医療機器総合機構（PMDA）といった規制当局に導入されており、医薬品開発で多用されている。今回の解析では、消失半減期 $T_{1/2}$ (hours)、最大排泄速度 R_{max} (ng/hour)、最大排泄速度到達時間 T_{max} (hours)、排泄速度-時間曲線下面積 AURC (ng) を算出した。尿を用いた体内動態モデルでは、尿中の容量ベースの化学物質濃度とその尿量、排泄までの経過時間のデータから尿中排泄速度を求めた。尿中排泄速度と経過時間の関係から、6 点以上のデータが継続的に減少しておりその回帰直線の決定係数が 0.5 以上の場合に解析対象とし、次式の傾き (α) から消失半減期を算出した。解析にあたって、尿中の化学物質濃度が MDL 未満の濃度は、 $MDL/\sqrt{2}$ の値を代入した。

消失半減期

$$T_{1/2} = \ln 2 / \alpha$$

なお、尿中濃度を用いた体内動態モデル構築は単回投与を想定しており、介入試験前日に当該化学物質の曝露があったと仮定して単回投与による体内動態を解析した。この解析手法は、医薬品開発の段階で、血中半減期を予測するための簡便な手法として用いられることがある。本研究では、その手法を日用品由来の化学物質に当てはめ、ヒトでの体内動態の把握に応用できるか検討を進めた。現在の介入プロトコルでどういった物質に対してモデルの当てはまりが良いか検討するとともに、生物学的半減期等の動態モデルパラメータが算出できるか検討することを目的とした。なお、日常的な曝露のある物質については反復投与が想定されるが、血中濃度の推移を計測する必要があるため本研究のデザインでは体内動態モデルの構築は困難であり、この点は本研究の限界の 1 つであり今後の研究課題でもある。

(2) 曝露逆推計モデルの作成

介入試験前日の 24 h 蓄尿試料からの検出率が 80%以上であり、曝露媒体であるパーソナルケア製品、ハウスダスト、食事試料のいずれかにおいて比較的高濃度で検出されたメチルパラベン、トリクロサン、ビスフェノール F、ビスフェノール S を対象に、経皮吸収または経口摂取に由来する曝露量、尿中への排泄量、尿中排泄率を次式から推算した。

曝露量

パーソナルケア製品

$$\text{曝露量} (\mu\text{g}) = \text{製品中濃度} (\mu\text{g/g}) \times \text{使用回数} \times \text{一回の使用量} (\text{g}) \times \text{保持係数}$$

食事

$$\text{曝露量} (\mu\text{g/day}) = \Sigma [\text{食事中濃度} (\mu\text{g/g}) \times \text{食事摂取量} (\text{g})] (3 \text{食} \times 5 \text{日間})$$

ハウスダスト

$$\text{曝露量} (\mu\text{g/day}) = \text{ハウスダスト中濃度} (\mu\text{g/g}) \times \text{ハウスダスト摂取量} (\text{g/day}) \times 5 (\text{day})$$

尿中排泄量

$$\text{尿中排泄量} (\mu\text{g}) = \Sigma [\text{随時尿中濃度} (\mu\text{g/mL}) \times \text{各尿量} (\text{mL})]$$

尿中排泄率

$$\text{尿中排泄率} (\%) = \text{尿中排泄量} (\mu\text{g}) / \text{曝露量} (\mu\text{g}) \times 100$$

ここで、パーソナルケア製品中濃度、食事中濃度、ハウスダスト中濃度、随時尿中濃度、一回の使用量、尿量、及び食事摂取量は、本研究の実測値、使用回数は個人アンケートの値、保持係数は製品の使用形態に応じて EU の消費者安全委員会の推奨値 0.01~1¹⁾とし、ハウスダスト摂取量は US EPA の Exposure Factors Handbook を参照して 0.02 g/day²⁾とした。また、介入試験前日にパラベン含有パーソナルケア製品を 2 回使用した場合、曝露量は 2 回目の製品使用~24 h 後までの総和とし、尿中排泄量は 2 回目の製品使用~24 h 後までの総和から 1 回目の製品使用に伴う尿中排泄量を差し引いた値とした。1 回目の製品使用に伴う尿中排泄量は、2 回目の製品使用の直前に測定された尿中排泄速度 ($\mu\text{g/h}$) と各個人の消失速度定数 (/h) から推算した。

4. 結果及び考察

1) 介入試験準備

パーソナルケア製品 (PCPs) は、製品に記載されている成分表示から保存料や香料等の添加が少ないものを中心に候補リストを作成し、最終的にスキンケア、メイク、ボディケア、バス、衛生用品など計 27 品目を選定した (表-1.1)。体に合わない製品があった場合に別の製品を使用していただけるよう、それぞれの製品の代替品も準備した。

表-1.1 介入期間中に使用したパーソナルケア製品

種別	ブランド/メーカー名	製品名
1 化粧水	無印良品	化粧水・敏感肌用
2 乳液	無印良品	乳液・敏感肌用
3 美容液/保湿クリーム	コープ	モイスチャーエッセンス
4 リップクリーム	ロート製薬	メンソレータム薬用リップスティック
5 化粧下地	セザンヌ	皮脂テカリ防止下地保湿タイプ
6 ファンデーション	ファンケル	クリームファンデーションモイスチャー
7 ボディーローション	WAKODO	ミルふわベビーローション
8 ハンドクリーム	DHC	オリーブハンドクリーム
9 日焼け止め	コープ	サンヴェールプラス UV
10 クレンジングオイル	カウブランド	無添加メイク落としオイル
11 洗顔料	カウブランド	無添加洗顔フォーム (クリーム)
12 ボディーソープ	カウブランド	無添加ボディソープ (クリーム)

13	シャンプー	カウブランド	無添加シャンプー
14	リンス、コンディショナー	カウブランド	無添加トリートメント
15	ハンドソープ	MIYOSHI	無添加せっけん 泡のハンドソープ
16	制汗剤/シート	DHC	薬用デオドラントシート
17	歯磨き粉	シャボン玉せっけん	シャボン玉せっけん歯磨き
18	ウェットティッシュ	ユニ・チャーム	シルコット 除菌ウェットティッシュ アルコール
19	手指消毒スプレー	—	70% エタノール
20	マウスウォッシュ	第一三共ヘルスケア	プレスラボシトラスミント (ノンアルコールタイプ)
21	シェービングフォーム	DHC	シェービングフォーム
22	ヘアトニック	マンダム	Lucido
23	虫刺され薬	池田模範堂	ムヒ
24	虫よけ	アース製薬	サラテクトやさしいジェル
25	整髪料	ムーンソープ	ナチュラルスタイリング&スムースバリアクリーム
26	コンタクトレンズ洗浄液	健栄製薬	コンタクトレンズ用生理食塩水
27	点眼薬	Santen	ソフトサンティア (第三類医薬品)

2) 試料バンク構築

尿試料、血液試料はそれぞれ 50ml のポリプロピレンチューブ及び採血管(全血:ヘモガード EDTA2K、血清:ヘモガード血清分離剤)に採取し、2ml クライオチューブに分注した。血液試料は、全血及び血清それぞれ 299 検体採取し、全血 3289 本、血清 1495 本に分注した。尿試料は、随時尿 3037 検体と蓄尿 475 検体を採取し、41663 本に分注した。このうち、化学分析用試料として全血試料 1196 本、尿試料 14048 本を各機関に配布した。残りは試料バンクとして活用するため、保管・管理しやすいよう SBS ラックに収納して試料データベースを作成し、-80°C で保存した。検体の管理は、全てクライオチューブ底面の QR コードで行い、個人情報漏洩や検体取り違いの可能性を低減した上で、データのトレーサビリティを維持している。コロナ渦の影響で分注用のクライオチューブ、ラック、ピペットチップの調達に重大な遅延が生じたが、分注の自動化により進捗の遅れは最小限に留めた。

3) データベース構築

介入試験参加者の普段の食習慣について BDHQ 質問票(成人用)を用いて栄養評価を実施し、参加者に結果を返却した。BDHQ は、大規模な栄養疫学研究等に用いることを目的として開発され、専用の栄養価計算プログラムによっておよそ 30 種類の栄養素とおよそ 50 種類の食品の摂取量を算出することができる。現時点で収集した 100 名分の BDHQ の集計結果と、比較として国民健康・栄養調査の 20 代のデータ及びエコチル調査で実施された食物摂取頻度調査票(FFQ)の結果概要を表-1.2 に示す。これにより、介入試験の参加者の主要栄養素の摂取量は、20 代の一般的成人男女の全国平均と比べてやや低い値を示した。これは、調査手法の違いや対象集団の属性の違いが影響していると思われる。また、エコチル調査参加者を対象として実施された FFQ の結果と比べて低い傾向を示したが、エコチル調査が妊婦を対象として実施されたことに起因していると思われる。

表-1.2 BDHQ 集計結果概要 (100 名分)

	本調査		令和元年「国民健康・栄養調査」(20-29 歳)*		エコチル調査妊婦(20-29 歳)*
	男 (N=48)	女 (N=52)	男	女	女
身長 (cm)	平均	173	158	171.5	157.5
	SD	5.4	5.3	6.6	5.5
	P25	168	155		
	Median	174	159		
	P75	176	161		
	平均	63.7	49.3	67.6	52.0

体重 (kg)	SD	9.8	9.2	13.3	8.1	
	P25	58.8	46.5			
	Median	63.5	50.0			
	P75	67.0	53.6			
エネルギー (kcal/日)	平均	1913	1410	2199	1600	2336
	SD	541	519	710	445	
	P25	1562	1042			1699
	Median	1765	1349	2153	1567	2133
水摂取量 (g/日)	P75	2180	1720			2688
	平均	1653	1201			2415
	SD	584	553			
	P25	1279	780			1571
タンパク量 (g/日)	Median	1604	1027			2112
	P75	1970	1502			2868
	平均	69.6	54.3	80.1	61.1	73.6
	SD	23.3	23.9	30.0	18.4	
脂質 (g/日)	P25	54.0	39.7			48.9
	Median	65.6	48.0	75.5	60.6	64.2
	P75	82.5	63.4			85.6
	平均	57.9	50.2	72.9	55.5	68.6
炭水化物 (g/日)	SD	20.2	20.7	32.0	21.9	
	P25	43.6	35.1			41.4
	Median	55.8	43.7	71.1	53.7	58.6
	P75	69.0	64.1			81.9
食塩 (g/日)	平均	257	175	286	202	320
	SD	80	73	97	64	
	P25	206	135			240
	Median	244	158	274	199	298
食塩 (g/日)	P75	291	201			370
	平均	8.3	5.7	10.6	8.3	
	SD	3.0	2.6	4.3	3.1	
	P25	12.0	9.6			
食塩 (g/日)	Median	10.1	7.1	9.8	8.1	
	P75	10.3	7.7			

*令和元年「国民健康・栄養調査」

**Michikawa et al. (2018) <https://doi.org/10.2188/jea.JE20170018>

日本人の曝露係数に関するデータベースを構築するため、生活習慣やパーソナルケア製品使用に関する Web 質問票調査を実施した。男性、女性、調査時期における、生活習慣及びパーソナルケア製品使用について、利用（使用、行為者）率及び中央値と 95 パーセンタイル値（P95）を表-1.3 及び表-1.4 にそれぞれ示した。COVID-19 への対応による生活の変化や季節による変化があると予想されるため単純比較はできないが、喫煙率（男性のみ）、喫煙本数、浴槽につかる時間、PC 使用時間については既報³⁾⁻⁵⁾と同程度であった。一方、PC の使用率については既報⁵⁾と大きな乖離があった。本調査が Web アンケートであったことがバイアスとなっている可能性は否定できない。浴槽につかる時間は男性よりも女性で有意に長く（Wilcoxon U test, $p=0.02$ ）、平日、休日ともに、PC の使用時間は男性の方が有意に長かった（Wilcoxon U test, $p<0.01$ ）。2021 年と 2022 年では、どの係数も有意な差はなかった。浴槽に浸かる頻度や時間については、男女ともに冬季で高く、一方、シャワーを浴びる頻度や時間は夏季で高くなった（Wilcoxon U test, $p<0.01$ ）。浴槽入浴時間の違いは、既報⁶⁾では、浴槽に浸かる時間とともに、シャワーを浴びる時間も冬季で長くなったが、本調査では、シャワーを浴びる時間の傾向は既報と逆であった。女性のパーソナルケア製品の使用量（g/week）については、顔用日焼け止め、洗顔料、ボディソープ、コンディショナーでは夏季で多く、その他クリーム、ハンドクリームは冬季で多かった（Wilcoxon U test, $p<0.01$ ）。夏季は紫外線対策、発汗等のため、冬季は乾燥対策のためと考えられた。睡眠時間が夏季の方が長かった（ $p<0.05$ ）。加熱式・電子タバコのみの方の割合は 2 月の 14%（男性）、12%（女性）から 8 月は 20%、33%にそれぞれ増加し、紙たばこの併用者は 41%、27%から 33%、15%にそれぞれ

れ減っていた。これは季節変動よりむしろ、半年間の嗜好の変化の可能性もあると考えられた。他の曝露係数では、冬季と夏季で差は認められなかった。Web 調査会社 A 社と B 社の差については、男性の喫煙率は B 社が低めで、A 社の方が既報³⁾には近かった。喫煙者の喫煙本数に有意な差はなかった (Wilcoxon U-test, $p>0.05$)。ただし、紙たばこと加熱式・電子タバコのハイブリッドの割合が男女ともに会社によって大きく異なった。理由は不明であるが、N 数の違いや、会社のモニターの習慣の違いの可能性もあるので注意が必要である。その他、男性の浴槽に浸かる時間、シャワー頻度、飲用水量、女性の睡眠時間、飲用水量に差があった (Wilcoxon U-test, $p<0.05$)。パーソナルケア製品使用量については、化粧下地を除いて両社の差は認められなかった。

表-1.3 生活習慣に関わる曝露係数

	A 社 (2021・2022 年 2 月)			A 社 (2022 年 8 月)			B 社 (2022 年 8 月)		
	N=男性 600、女性 600			N=男性 350、女性 350			N=男性 249、女性 251		
男性	率	中央値	P95	率	中央値	P95	率	中央値	P95
喫煙率 (本)	30%	15	30	29%	15	30	22%	12	25
紙たばこのみ	45%	15a	30a	47%	13a	30a	50%	15a	30a
ハイブリッド	41%	15a	30a	33%	16a	31a	22%	11a	22a
加熱式・電子たばこのみ	14%	11a	20a	20%	15a	20a	28%	10a	20a
飲用水量 (L)		1.5	4		2	4		1.5	4
睡眠時間 (時間)		7	8		6	8		6	8
浴槽に浸かる頻度 (回/週)	82%	6	7	71%	3	7	71%	2	7
浴槽に浸かる時間 (分/回)		10	30		10	30		10	30
シャワー頻度 (回/週)	76%	6	7	86%	7	7	90%	7	7
シャワー時間 (分/回)		10	20		10	30		10	20
屋外滞在時間 (分/日)	94%	60	600	97%	60	600	98%	60	520
プールで泳ぐ時間 (分/月)	6%	50a	250a	7%	30a	340a	7%	60a	340a
携帯使用時間 (平均) (時間/日)	81%	2	8	88%	2	6	88%	2	6
携帯使用時間 (休日) (時間/日)	81%	2	10	87%	2	9	88%	3	8
PC 使用時間 (平均) (時間/日)	88%	3	10	87%	3	10	87%	3	10
PC 使用時間 (休日) (時間/日)	85%	3	10	85%	3	10	84%	2	10
女性	率	中央値	95%値	率	中央値	95%値	率	中央値	95%値
喫煙率 (本)	13%	13a	25a	11%	10a	20a	10%	10a	20a
紙たばこのみ	62%	13a	21a	53%	8a	18a	68%	10a	20a
ハイブリッド	27%	14a	25a	15%	15a	20a	4%	-	-
加熱式・電子たばこのみ	12%	10a	24a	33%	12a	22a	28%	10a	19a
飲用水量 (L)		1.5	4		1.7	4		1.5	3
睡眠時間 (時間)		7	8		6	8		6	8
浴槽に浸かる頻度 (回/週)	83%	7	7	68%	2	7	75%	3	7
浴槽に浸かる時間 (分/回)		15	50		10	40		10	37
シャワー頻度 (回/週)	78%	7	7	84%	7	7	92%	7	7
シャワー時間 (分/回)		10	30		10	30		10	30

屋外滞在時間 (分/日)	95%	60	480	93%	60	440	94%	40	420
プールで泳ぐ時間 (分/月)	3%	45a	670a	2%	50a	300a	2%	350a	660a
携帯使用時間 (平均) (時間/日)	85%	2	8	87%	2	8	89%	3	7
携帯使用時間 (休日) (時間/日)	85%	2	10	87%	3	10	89%	4	10
PC 使用時間 (平均) (時間/日)	79%	2	9	74%	2	8	70%	2	9
PC 使用時間 (休日) (時間/日)	72%	2	8	68%	1	8	61%	1	7

a: 行為者のみ

表-1.4 パーソナルケア製品の使用率 (%) と使用量 (g/週)

	A 社 (2021/2022 年 2 月)				A 社 (2022 年 8 月)				B 社 (2022 年 8 月)			
	男		女		男		女		男		女	
N	600		600		350		350		249		251	
	率	率	中央値	P95	率	率	中央値	P95	率	率	中央値	P95
アイシャドウ	2	53			1	53			0.4	59		
アイブロウ	1	58			1	63			0	67		
アイライナー	1	36			1	38			0	42		
チーク	1	23			2	29			0	25		
リップクリーム	28	67			21	56			20	65		
マスカラ	1	35			1	33			0	43		
顔用日焼け止め	15	52	0.3	7	20	67	1.8	7.8	24	73	2.1	12.6
化粧下地	1	46	-	2.5	2	42	-	2.5	2	57	0.4	3.7
ファンデーション	3	62	0.4	3.2	3	64	0.5	3.5	2	67	0.5	3.7
化粧水	25	81	3.5	28	26	83	6.7	28	26	86	6.8	35
乳液	17	49	-	9.8	15	49	-	9.8	17	48	-	7.8
その他クリーム	13	53	0.6	11	10	42	-	11	12	46	-	11
ハンドクリーム	32	75	1.4	8	19	53	0.2	4.4	25	60	0.6	5.6
クレンジング	2	66	2.5	12	3	64	2.9	14	3	69	3	14
洗顔料	50	84	3.5	15	49	87	3.5	18	45	85	3.5	21
ボディソープ	61	72	21	63	64	75	21	84	68	73	21	84
シャンプー	87	94	21	63	86	96	21	63	90	97	21	69
リンス	42	86	21	63	40	91	21	84	47	90	21	63
洗い流さないトリートメント	5	38	-	21	2	34	-	15	4	34	-	21
歯磨き粉	91	94	5.6	17	91	97	6.3	16	96	97	6.3	16.8
ハンドソープ	59	79	7	50	57	81	9	53	69	84	14	70
虫よけ	18	22			23	25			20	30		

4) 体内動態モデル／曝露逆推計モデルの作成

(1) 薬物動態解析ソフトウェアを用いた動態モデルパラメータの推定

(i) フェノール系化合物

参加者 30 名分の随時尿の測定結果 (サブテーマ 4) を用いて、検出率の高かったフェノール類 8 物質を対象として動態モデルパラメータの算出を試みた。一例として、介入調査期間中の尿中メチルパラベン濃度 (クレアチニン重量あたり) の経時変化を図-1.2 に示した。この図から、ほぼ全ての参加者について、介入期間中に尿中メチルパラベン濃度の減少傾向が観察され、既存の報告の通りパーソナルケア製品の使用がパラベン類の主要な曝露経路であること、さらにはパラベンの添加されていない製品を数日間使用することで曝露を低減できることが確認された。介入調査開始時の濃度と比べ、調査期間中の尿中濃度は 1~2 桁程度低値を示しており、パラベン類が極めて短時間で体外に排泄されることを示し

ている。一方で、参加者によっては、介入期間初期の濃度が高くないために濃度変動が不明瞭な場合や、期間中に増減を繰り返す場合もあり、日常生活における経常的曝露の個人差が大きいこと、及び介入によって濃度低下が見られない物質があることから今回の調査デザインで制御できていない曝露経路が存在していることが示唆された。

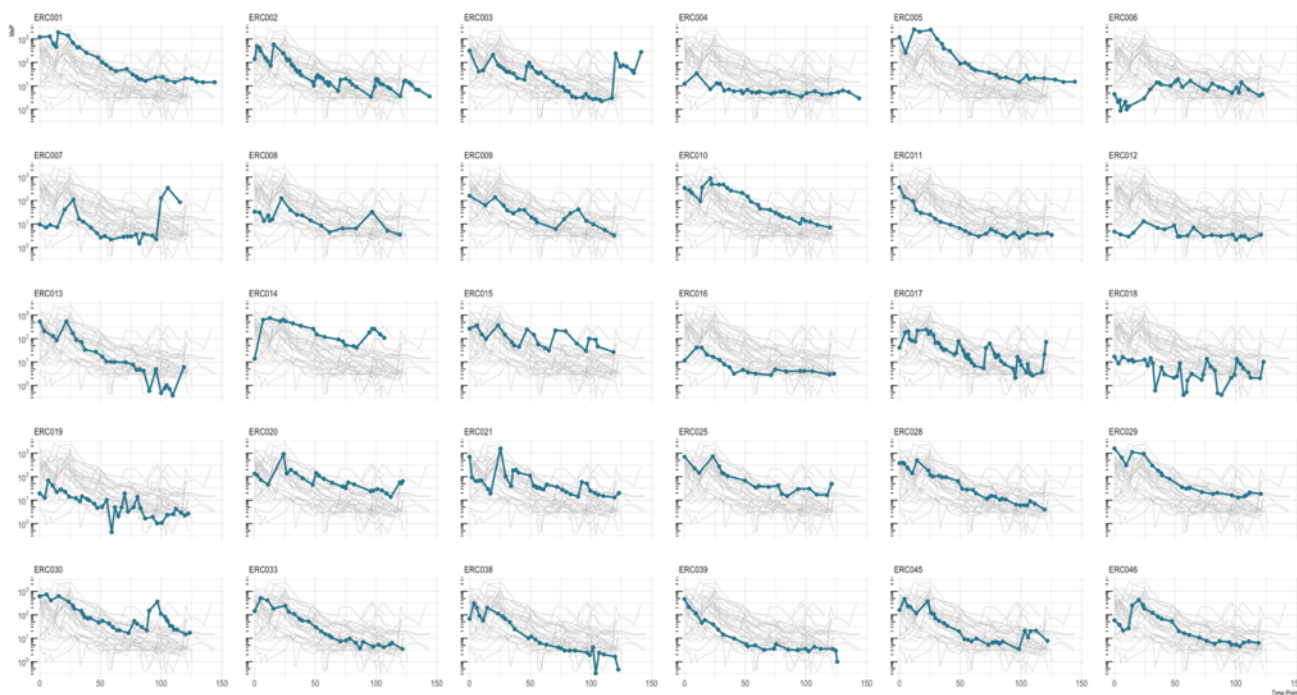


図-1.2 介入期間中の尿中メチルパラベン濃度の経時変化(ng/g-creatinine)

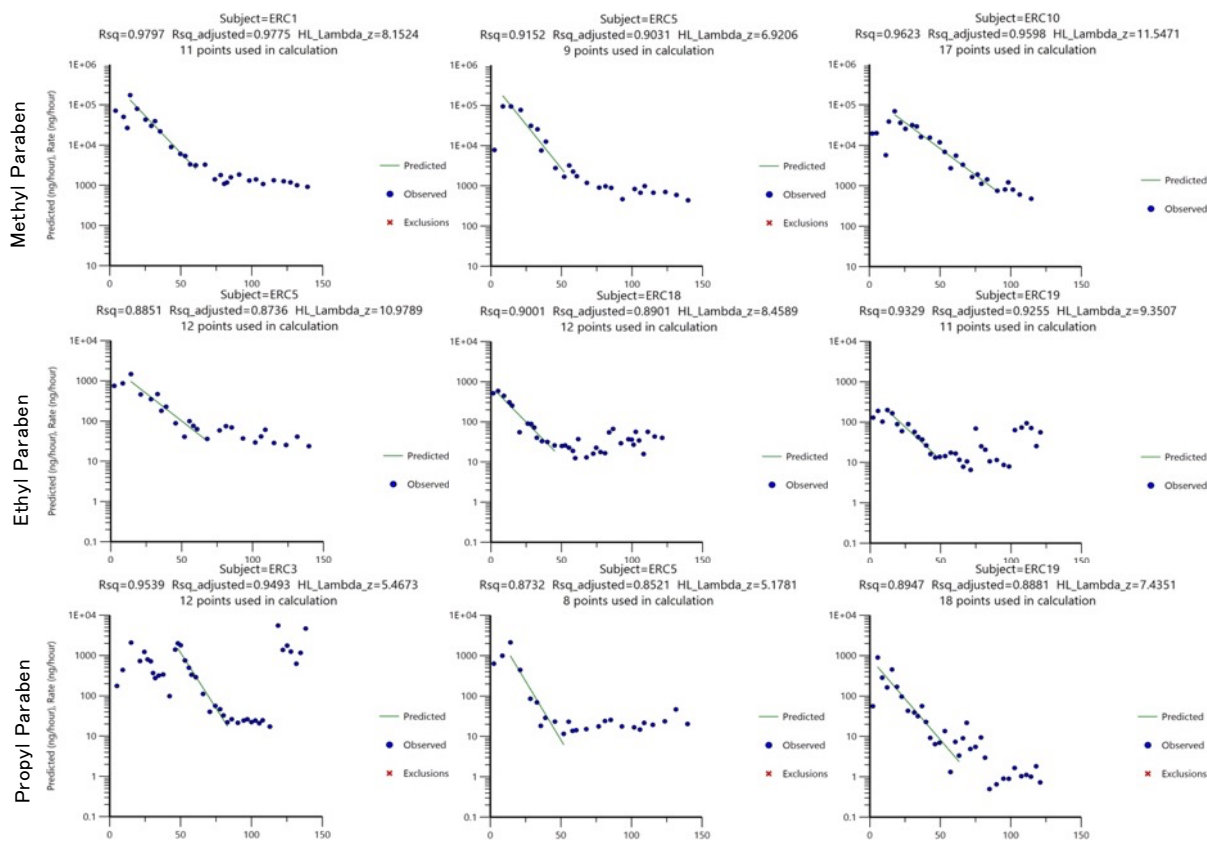


図-1.3 介入期間中のパラベン類の尿中排泄速度の経時変化(ng/hour)

尿中の化学物質濃度（容量ベース）と尿量、排泄間隔から求めた尿中排泄速度の経時変化の例を図-1.3 に示した。尿中排泄速度と経過時間の関係から、6 点以上のデータが継続的に減少しておりその回帰直線の決定係数が 0.5 以上の要件を満たした参加者は、メチルパラベン(27 人)が最も多く、次いでプロピルパラベン (25 人)、エチルパラベン (24 人)、BPS (23 人) の順だった。BPF (14 人)、BP3 (12 人)、BP1 (9 人) とトリクロサン (9 人) はこの要件を満たした参加者は半数未満だった。これらの結果に基づいて本研究で算出したフェノール類 8 物質の消失半減期を表-1.5 にまとめた。パラベン類（メチル、エチル、プロピル）は 10 時間程度以下、その他の対象物質も 10~20 時間程度と見積もられた。いずれの対象物質の半減期も、半日程度以下（最大で BPF の 20.3 時間）と短く、これらのフェノール系化学物質が曝露後に速やかに代謝排泄されることを示している。また、表-1.6 には、今回のモデル解析で得られた最大排泄速度 Rmax (ng/hour)、最大排泄速度到達時間 Tmax (hours)、排泄速度-時間曲線下面積 AURC (ng)を示した。

表-1.5 フェノール類 8 物質の消失半減期 (hour)

	MeP	EtP	PrP	BP1	BP3	BPF	BPS	TCS
Mean	10.5	10.8	7.7	13.8	10.2	20.3	13.0	16.8
SD	2.7	3.3	3.3	3.3	2.5	7.5	3.7	6.8
CV	26	30	43	24	25	37	28	40
Median	10.7	11.0	7.4	13.7	9.6	19.2	12.8	16.1
Minimum	6.0	4.4	2.8	9.1	7.1	9.5	6.3	9.3
Maximum	17.3	19.9	16.9	18.6	16.7	31.1	20.5	29.2
No. of estimated subjects	27	24	25	9	12	14	23	9

MeP：メチルパラベン、EtP：エチルパラベン、PrP：プロピルパラベン、BP1：ベンゾフェノン-1、BP3：ベンゾフェノン-3、BPF：ビスフェノール F、BPS：ビスフェノール S、TCS：トリクロサン

表-1.6 フェノール類 8 物質の動態モデルパラメータ

	N	R ² (Mean±SD)	Tmax (hour)	Rmax (ng/hour)	AURC (ng)
MeP	27	0.86±0.12	23±31	27600±35500	510000±591000
EtP	24	0.83±0.14	45±42	585±1020	16000±29900
PrP	25	0.85±0.11	47±42	1260±2080	24300±44200
BP1	9	0.76±0.11	49±42	116±552	2330±9090
BP3	12	0.82±0.14	49±41	600±2860	11200±43200
BPF	14	0.74±0.12	59±43	291±330	14000±6520
BPS	23	0.81±0.14	52±38	81±111	1970±2520
TCS	9	0.74±0.12	60±38	75±200	3590±8830

MeP：メチルパラベン、EtP：エチルパラベン、PrP：プロピルパラベン、BP1：ベンゾフェノン-1、BP3：ベンゾフェノン-3、BPF：ビスフェノール F、BPS：ビスフェノール S、TCS：トリクロサン

Shin et al. (2003)の報告によると、経皮曝露後の血清中濃度の推移から算出したメチルパラベン、エチルパラベン、プロピルパラベンの半減期は、それぞれ 12.2±1.6 時間、12.0±6.9 時間、9.3±2.2 時間であり⁷⁾、本研究で推定された尿中の対応するパラベン類の半減期（メチルパラベン 10.5 時間、エチルパラベン 10.8 時間、プロピルパラベン 7.7 時間）とほぼ同等であった。ビスフェノール S については、ヒトに対して経口投与した際の血清中濃度の半減期は 6.8±0.7 時間と報告されており⁸⁾、本研究で推定された尿中の半減期（13.0±3.7 時間）の約半分程度だった。これは、先行研究では対象者数が 7 名と本調査（23 名）より少ないこと、BMI 平均が 25 と体格も大きいこと、半減期推定に使用した媒体が血清だったことなどの違いが影響している可能性がある。トリクロサンについては、経口投与後の尿中濃度から半減期を推定した報告があり、平均値は 10.8 時間（3.3~22 時間）と本研究と比べてやや短い結果が得られている⁹⁾。先行研究では、トリクロサン曝露は単回の経口投与であるのに対し（トリクロサン入り洗口剤の飲用）、本研究では食事中を介した曝露のため腸管吸収率が大きく異なると考えられ、さらに、介

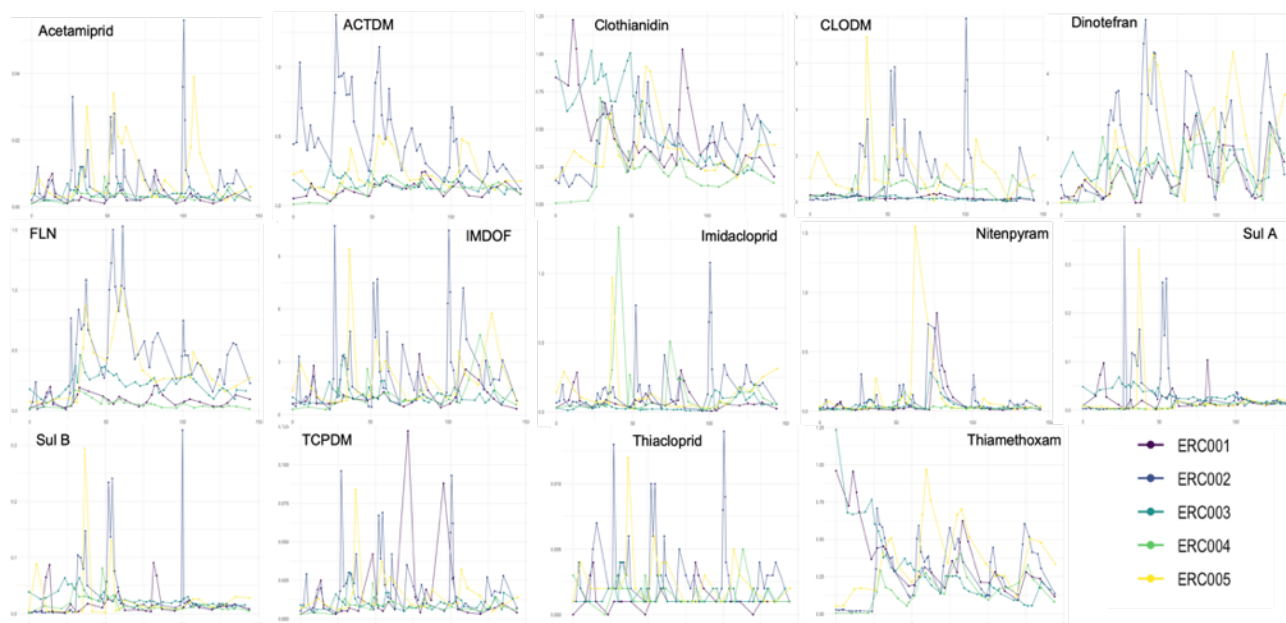


図-1.4 介入期間中の尿中ネオニコチノイド農薬濃度の経時変化($\mu\text{g/g-cre}$)

入調査期間中にも制御されていない曝露源から経口、経皮、吸入などを介して曝露した可能性があり、その影響で消失半減期がやや長めに評価されたと考えられる。いずれの先行研究も、経皮あるいは経口投与により半減期を算出しているが、このアプローチでは評価対象物質によっては倫理上・リスク管理上の問題が生じる可能性もあるため、多数の化学物質を評価するには適していない。本研究では、化学物質を投与せずに動態モデルパラメータを直接把握することが可能であることが示され、参加者に負担や不安を与えることのない新たな調査手法を確立することができた。

一方で、対象物質のうち、パラベン類、ビスフェノール類、トリクロサン以外の物質については、消失半減期に関する情報はヒトを対象とした先行研究はなく、動物実験のデータしか得られない。例えば、BP3のラットへの経口投与により、消失半減期は0.71時間と見積もられており¹⁰⁾、これは本研究で得られた結果と比べて1桁程度短い。また、ラット尿中のBPFの消失半減期は、オスで 9.02 ± 2.69 時間、メスで 21.8 ± 3.96 時間と報告されており¹¹⁾、本研究の結果(20.3 ± 7.5 時間)とメスでは同程度だったものの、オスでは半分程度だった。これらの結果は、化学物質の吸収、分布、代謝、排泄はヒトと実験動物で大きく異なるために、動物実験の結果からヒトの体内動態を予測することは困難であることを示唆している。このことから、動態モデルパラメータをヒト対象の調査から直接取得することの重要性が示された。普段の生活で定常的な曝露があると考えられる参加者（今回は介入試験開始前の尿中濃度の高かった参加者を便宜的に定常的な曝露があったと仮定した）については、介入試験期間中に代替PCPsを使用することによって尿中濃度の低下傾向が認められ、モデルをあてはめることにより動態モデルパラメータを算出することができた。定常的な曝露があると考えられる参加者に対するモデルの適合度を示す R^2 値はいずれも0.7以上と高く（表-1.6）、モデルによる予測の妥当性が高いことを示している。それに対して、介入前からほとんど曝露がないと考えられる参加者（同様に、介入試験開始前の尿中濃度の低かった参加者を便宜的に定常的な曝露がなかったと仮定した）については、介入期間中の排泄速度の変化は小さく、本モデルの適合度は低かった。今回の調査デザインでは、介入期間中に濃度低下が見られない物質（想定していない曝露経路がある物質）、尿モデルでは反復投与を想定したモデルを構築することができないため、別なアプローチ（連続的に血液採取する）を検討する必要があり、今後の研究課題の1つである。また、いずれの物質についても T_{max} の値が報告値と比べて大きく評価されており、これは本研究では介入試験の前日の0時を基点として評価しているために、必ずしも曝露からの時間を表しているわけではないことが原因と思われる。これらの点も、今回の研究デザインの限界と考えられる。

(ii) ネオニコチノイド系農薬

参加者 5 名について介入試験前日 (Day0) の尿試料中のネオニコチノイド系農薬を分析した結果、チアメトキサム、クロチアニジン、アセタミプリド-デスマethylについては全検体、ジノテフラン、スルホキサフロル、クロチアニジン-デスマethylについても 70%以上の検体から検出され、日常生活におけるこれらの物質の経常的曝露が示唆された。一方で、アセタミプリド及びチアクロプリドについては大半の検体が報告下限値未満であり、これらの物質については定常的な曝露が少ないか、代謝排泄が早いために適切なバイオマーカーを選択する必要があると示唆された。介入期間中 (Day0~Day5) の各物質の濃度推移を調べたところ、個人及び物質によって異なる傾向を示した (図-1.4)。チアメトキサムなど一部の物質については、介入期間中に濃度が減衰する傾向を示す参加者もいた (図-1.5)。生活習慣によって経常的曝露量が異なることから、介入期間中の濃度変動に個人差が生じたと思われる。今回参加者に配布した 8 種の飲料についてもネオニコチノイド系農薬を分析し、チアメトキサム、クロチ

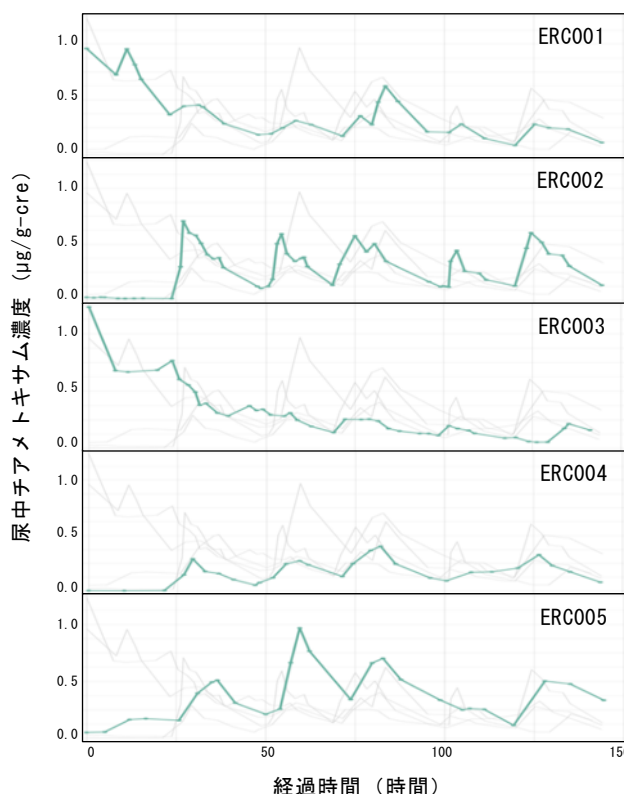


図-1.5 介入期間中の尿中チアメトキサム濃度の経時変化(µg/g-cre)

アニジン、チアクロプリドがそれぞれ 0.04–0.52 µg/l、0.013–0.24 µg/l、0.05–0.16 µg/l で検出されたが、参加者の行動記録、飲料の摂取記録等との関連は認められなかった。介入前日 (Day0) の濃度を日常的な曝露レベルとし、介入期間中に減衰傾向が認められた参加者 (ERC001 及び ERC003) について、チアメトキサム、クロチアニジンの尿中排泄速度の推移から消失半減期を推算した。モデル推計には Phoenix WinNonlin (Cetara Inc. USA)ソフトウェアを用い、ノンコンパートメントモデルに基づく半減期はそれぞれ 15 時間、13 時間と計算された。これらの値は既存の報告と概ね一致しており¹²⁾、曝露のコントロールができれば、体内動態に関する情報を取得できると考えられる。

(2) 曝露逆推計モデルの作成

(i) メチルパラベン

介入期間中の尿中濃度と尿量から、尿中の総排泄量を算出したところ、中央値 (範囲) は 300 (120-770) µg だった。メチルパラベンを経口投与した先行研究における排泄率は 15~18%と報告されていることから¹³⁾、単回の曝露だったと仮定した場合、曝

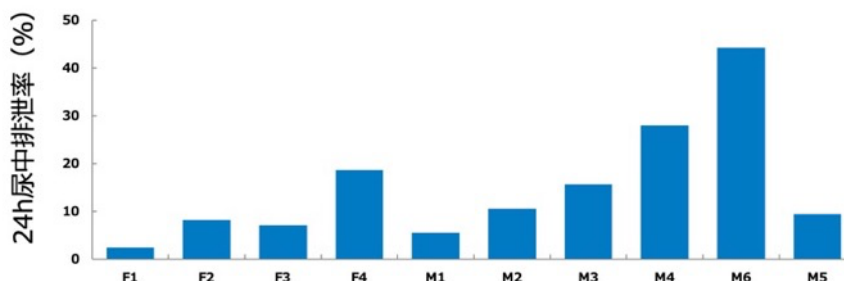


図-1.6 参加者 10 名におけるメチルパラベンの尿中排泄率の推定値

露量は 1700-2000 (670-5100) µg と推計される。介入試験前日の PCPs 製品使用が 1 回のみだったと仮定し、食事及びハウスダストの摂取に由来する曝露が期間中変化しないとすると、それぞれの経路の曝露量は PCPs 製品使用が 3900 (35-14000) µg/time、食事が 0.83(0.79-0.83) µg/day、ハウスダストが 0.16 (0.067-0.56) µg/day と算出され、尿中排泄量からの推計値と比べ 2 倍程度になることが示された。また、曝露媒

体の分析により、メチルパラベン¹⁾の主要な曝露源はパーソナルケア製品であり、食事及びハウスダストの摂取に伴う曝露量は極めて低値であった。本研究では、参加者に介入試験前日の PCPs 製品の使用状況を記録していただいているため、尿中排泄量に基づいて、介入試験前日の PCPs 製品使用を介した経皮曝露に対する尿中排泄率を推算した。PCPs 製品中メチルパラベン濃度を測定した参加者 10 名におけるメチルパラベンの尿中排泄率を図-1.6 に、算出時の仮定及び尿中排泄量等を表-1.7 に示す。尿中排泄率は 2.4~44% (中央値 10%、幾何平均値 11%) と見積もられ、メチルパラベンを経口投与した先行研究における排泄率 (15~18%) の報告値¹³⁾と比べて若干低い結果となった。これは、先行研究が経口曝露であったのに対して、本研究は PCPs 製品を介した経皮曝露だったことが影響していると思われる。尿中排泄率が最も高い値 (44%) を示した参加者が使用したパラベン含有製品は歯磨き粉のみであり、経口曝露であったことに起因している可能性がある。さらに、歯磨き粉の保持係数を 0.05¹⁾として推算したが、この値の算出方法や妥当性に関する情報が公開されていないため、保持係数について再検討の必要性が示唆された。これらの結果から、パーソナルケア製品等の使用による経皮曝露について、曝露のない数日間の尿中排泄量が測定できれば、尿中排泄率に基づいて単回の曝露量を逆推計可能なことが示された。

表-1.7 参加者 10 名のメチルパラベン曝露量と尿中排泄率の推定値及び使用した PCP 製品

Original ID	ERC028	ERC029	ERC090	ERC093	ERC046	ERC057	ERC045	ERC033	ERC038	ERC039
曝露量 (µg)	2657	5891	2923	1549	7626	7121	1604	2006	83	35
24h 尿中排泄量 (µg)	64	485	207	289	421	747	251	562	37	3.4
24h 尿中排泄率 (%)	2.4	8.2	7.1	19	5.5	11	16	28	44	9.4
半減期 (h)	12	7.0	8.9	17	11	8.8	6.1	11	4.2	12
Day0 に使用したパラベン含有製品 [1 回目]	化粧水	化粧水	乳液	乳液	化粧水、洗顔料	化粧水、洗顔料	化粧水、歯磨き粉、髭剃りジェル	化粧水、乳液、コンディショナー、ボディソープ、歯磨き粉	歯磨き粉	髭剃りクリーム
Day0 に使用したパラベン含有製品 [2 回目]	化粧水、乳液、ボディソープ	化粧水、乳液、トリートメント、歯磨き粉	乳液	乳液、保湿クリーム	化粧水、洗顔料、コンディショナー	化粧水、洗顔料、コンディショナー	化粧水、歯磨き粉、トリートメント		歯磨き粉	
備考	*	*	*	*	**	*	*	***	*	**

* 1 回目のパラベン含有製品使用に由来するバックグラウンドを差し引いた

** Day(-1)の PCP 使用は不明だが、使用直前の排泄速度からバックグラウンドを推定し差し引いた

*** 単回使用 [製品使用が Day0 の採尿 1 回目と 2 回目の間であり、バックグラウンドの推定に必要な使用直前の排泄速度が算出できないため]

(ii) トリクロサン

介入期間中の尿中濃度と尿量から、尿中の総排泄量を算出したところ、中央値 (範囲) は 0.15 (0.025-7.1) µg だった。トリクロサンを含有するマウスウォッシュ液を経口摂取した先行研究における尿排泄率は 20%~80%⁹⁾と報告されており、単回の曝露だったと仮定した場合、曝露量は 0.19-0.76 (0.03-35) µg と推計される。PCPs 製品、

食事、ハウスダストの摂取に由来する曝露量は、それぞれ MDL 未満、24 (11-29) µg/day、0.0047 (0.00093-0.25) µg/day と算出され、尿中排泄量からの曝露推計値は曝露媒体から算出した曝露量と比べ 2 桁程度

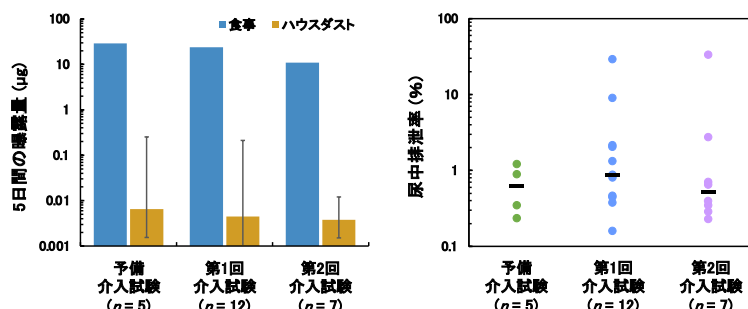


図-1.7 トリクロサンの曝露量と尿中排泄率の推定値

低値を示した。参加者が使用した PCPs 製品にはトリクロサンが添加されていなかったこと、食事試料から比較的高濃度のトリクロサンが検出されたことから、トリクロサンの主要な曝露源は食事による経口摂取であることが示された。食事試料、ハウスダスト試料及び随時尿試料を分析した参加者 24 名におけるトリクロサンの曝露量と尿中排泄率を図-1.7 に示す。尿中排泄量から推計した曝露量が曝露媒体から算出した曝露量と比べて低かった原因として、摂取する媒体の違いが考えられる。トリクロサンを含有するマウスウォッシュ液を経口摂取した先行研究における排泄率は 20%~80%⁹⁾と報告されているのに対し、本研究では食事を介してトリクロサンに曝露していることから、腸管での吸収率が異なると推察される。トリクロサンは比較的脂溶性が高い (log₁₀ オクタノール/水分配係数: 4.76) ため、食事中の脂質とともに尿よりも便への排泄が多くなった可能性がある。この結果、食事を介したトリクロサン曝露は、本研究の結果を用いて算出した尿中排泄率 0.75% (0.16%~34%) に基づいて逆推計するのが妥当と考えられる (図-1.7)。

(iii) ビスフェノール F

スフェノール F については、すべての検体で食事やハウスダストの摂取から算出した曝露量が尿中排泄量を大幅に上回っており、尿中排泄率が 100%だとしても説明がつかない結果となった。今回の介入調査デザインで取得した曝露媒体以外からの曝露経路の存在が推察された。ビスフェノール F を含むビスフェノール類は樹脂の原料だけでなく、滅菌器材等の医療器具や病院・工場・学校・公共施設等の床に使用されるフロアコーティング剤にも使用されている。本研究の参加者はほとんどが大学関係者であることから、大学・医療機関等に起因する曝露の存在が考えられる。本介入試験では、自宅外における曝露量を評価できていないため、自宅外活動における曝露の把握は今後の課題である。

(iv) 忌避剤 (虫除け剤)

100 名の参加者のうち、のべ 5 名が介入期間中に虫除け剤の使用記録があったため、使用前後の尿中忌避剤成分 (DEET 及び代謝物 DHMB、DCBA) を測定し、動態モデルパラメータの算出を試みた (表-1.8)。その結果、半減期はいずれも 7 時間前後と推算されたが、尿中排泄量は親化合物の DEET と比べて二次代謝物の DCBA が 2~3 桁程度高く、介入試験期間後の尿からも検出されたことから、長期的に体内に残留している可能性がある。製品中の DEET 濃度 (成分表示) と製品使用量の記録から、1 回の製品使用あたりの DEET 塗布量は 74~370mg/回と見積もられ、尿中排泄率はそれぞれ DEET が 0.004%、DHMB が 0.0007%、DCBA が 3.3%だった。既存の研究では、DEET の吸収率は 7.5%と報告されており¹⁴⁾、本研究の尿中排泄率の見積もりはこの半分程度と近い値であったことから、多少の過小評価の懸念はあるものの尿中の DEET 代謝物濃度から曝露量を逆推計できる可能性が示された。

表-1.8 尿中忌避剤 (DEET 及び代謝物) の半減期、尿中排泄量、尿中排泄率

		DEET	DHMB	DCBA
消失半減期(hour)	平均値	6.5	6.7	7.5
	SD	1.4	2.9	2.7
累積尿中排泄量(μg)	中央値	3	0.5	3300
	P25-P75	2-27	0.25-1.2	440-14000
尿中排泄率(%)	中央値	0.004	0.0007	3.3
	P25-P75	0.002-0.013	0.0004-0.0008	0.5-6.1

DEET に代わって近年使用量が増加している忌避剤成分 (ピカリジン) について、参加者 1 名が使用しており、上述と同様の方法で消失半減期を推算したところ、3.4 時間と見積もられた。ピカリジンを含む製品の使用者がこの 1 名のみだったため、当該参加者に協力いただき、既知量の製品を塗布して塗布後の尿中及び血中のピカリジン濃度推移を測定した。その結果、尿中濃度を用いたノンコンパートメントモデルからは、消失半減期が 3.6 時間と介入試験で得られた結果とほぼ同じだった。また、血中濃度のノンコンパートメントモデルでは、消失半減期は 2.5 時間と見積もられ、尿中濃度を用いた場合と比べ

やや短い結果であったが、血中の最高濃度到達時間 T_{max} が尿と比べてやや短いことなどが影響しているものと思われる。血中濃度の推移からは、ノンコンパートメントとワンコンパートメントの解析の違いの影響についても検討したが、ワンコンパートメントモデルによる消失半減期は 4.3 時間とほとんど差は認められなかった。いずれにせよ、尿中濃度の推移から算出された消失半減期は、既存の血中濃度を用いるモデルと同等の結果であったことから、本研究の調査デザインにより妥当な数値を取得することが示されるとともに、少なくとも今回対象とした半減期の短い物質については、ノンコンパートメントとワンコンパートメントの解析の違いは影響しないことが確認された。

(v) フタル酸エステル類

参加者 20 名分の随時尿を測定し、検出濃度と尿量から介入試験期間中の 1 日あたりの尿中排泄量を算出したところ、DnBP は中央値 21.7 $\mu\text{g}/\text{day}$ (幾何平均±幾何標準偏差: 22.8±445 $\mu\text{g}/\text{day}$)、DEHP は中央値 22.7 $\mu\text{g}/\text{day}$ (幾何平均±幾何標準偏差: 23.0±508 $\mu\text{g}/\text{day}$) となった。既存の文献より、DnBP 代謝物 MnBP の尿中排泄率は 84%、DEHP 代謝物 MEHP、MEHHP、MEOHP、MECPP の尿中排泄率はそれぞれ 5.9%、23%、15%、19%と報告されている^{15,16)}。1 日あたりの尿中排泄量とこれらの尿中排泄率を用いて 1 日あたりの曝露量を逆推計したところ、DnBP は中央値 22.4 $\mu\text{g}/\text{day}$ (幾何平均±幾何標準偏差: 23.5±287 $\mu\text{g}/\text{day}$)、DEHP は中央値 146 $\mu\text{g}/\text{day}$ (幾何平均±幾何標準偏差: 149±3280 $\mu\text{g}/\text{day}$) となった。それに対し、曝露媒体の測定から算出した曝露量は、それぞれ DnBP が中央値 10.6 $\mu\text{g}/\text{day}$ (幾何平均±幾何標準偏差: 9.5±473 $\mu\text{g}/\text{day}$)、DEHP が中央値 168 $\mu\text{g}/\text{day}$ (幾何平均±幾何標準偏差: 168±586 $\mu\text{g}/\text{day}$) であり、いずれも尿中濃度からの推計値とほぼ同程度となった。これにより、経常的な曝露のある物質についても、尿中排泄率の情報が得られれば、曝露を逆推計可能なことが示唆された。ただし、本研究では経気道曝露を考慮していないため、曝露媒体の分析による曝露量は過小評価されている可能性がある。フタル酸エステル類、とくに DnBP については経気道曝露の寄与が大きいという報告もあり、経気道曝露を含めた曝露評価は今後の課題である。

5. 研究目標の達成状況

目標どおりの成果をあげた。

サブテーマ 1 は、生体試料中化学物質濃度から曝露量を逆推計することを目標とし、そのための動態モデルパラメータは、化学物質の投与を行わずに曝露をコントロールする介入試験によって取得することを目指した。介入試験は、コロナ禍にも関わらず順調かつ安全に実施することができ、得られた生体試料及び曝露媒体試料はそれぞれ将来的な利用を想定してデータベース化した上で配布しやすい形態で分注し、保管している。曝露逆推計については、介入期間中の曝露をコントロールすることができた物質のうち、曝露経路が単一、かつ、尿中排泄量が測定できれば、本研究で得られた尿中排泄率に基づいて単回の曝露量を逆推計可能なことが示された。評価対象物質のうち、パラベン類、トリクロサン、忌避剤等は、調査期間中に尿中濃度の減少傾向が認められ、尿中排泄速度の推移から消失半減期を推算することができた。既存の報告値が得られるものについては概ね一致しており、本研究で確立した調査手法により動態モデルパラメータを取得できることが示された。さらに、経常的な反復曝露がある場合や曝露経路が複数ある場合など、並行曝露と吸収・分布・代謝を考慮したモデル作成は今後の課題ではあるが、単純な条件であれば生体試料中濃度から曝露量を逆推計することができることが示され、化学物質の投与を行わずに動態モデルパラメータを取得する手法として、本研究で提案した調査デザインが非常に効果的であると考えられる。一方で、ネオニコチノイド系農薬やフタル酸エステルなど、介入試験で曝露をコントロールできていない物質については、一部について消失半減期を算出することができたものの、今回の調査デザインでは曝露経路と曝露量を特定できないことから、尿中排泄率等の動態モデルパラメータの算出には至らなかった。評価対象物質に応じて曝露を適切にコントロールすることができれば、生体試料中濃度からの逆推計も可能と考えられるが、今後の課題として検討したい。

また、曝露係数及び動態モデルパラメータ等を情報収集あるいは体内動態モデルを用いて算出し、化学物質の体内動態に関する研究基盤を提供するためのデータベースを構築した。とくに、パーソナルケア

製品使用についてはサブテーマ 2 で実測値に基づいた使用量も計測しており、web 調査と合わせて信頼性の高い情報を提供することが可能である。現在、データベース構築までは完了し、一部共同研究者には情報共有しているが、今後は一般公開を想定してインターフェース等の検討を進める。

6. 引用文献

- 1) The SCCS Notes of Guidance for the testing of cosmetic ingredients and their safety evaluation, 11th revision, 30-31 March 2021, SCCS/1628/21.
- 2) USEPA, 2017. Soil and Dust Ingestion (Chapter 5). Exposure Factors Handbook EPA/600/R-17/384F.
- 3) 厚生労働省, 国民健康・栄養調査 (令和元年), 2019, https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kenkou_eiyouchousa.html
- 4) 産業総合技術研究所, 暴露係数ハンドブック, 2007, <https://unit.aist.go.jp/riss/crm/exposurefactors/factor.html>
- 5) 総務省統計局「平成 28 年社会生活基本調査」, 2017, <https://www.e-stat.go.jp/stat-search/files?page=1&toukei=00200533&tstat=000001095335>
- 6) 時事通信社 (2002) 入浴に関する世論調査
- 7) Shin MY, Choi JW, Lee S, Kim S, Kho Y, Choi K, Kim S. Pharmacokinetics of transdermal methyl-, ethyl-, and propylparaben in humans following single dermal administration. *Chemosphere* 2023, 310, 136689.
- 8) Oh J, Choi JW, Ahn YA, Kim S. Pharmacokinetics of bisphenol S in humans after single oral administration. *Environment International* 2018, 112, 127-133.
- 9) Sandborgh-Englund, G.; Adolfsson-Erici, M.; Odham, G.; Ekstrand, J. Pharmacokinetics of Triclosan Following Oral Ingestion in Humans. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A* 2006, 69, 1861-1873.
- 10) Kadry AM, Okereke CS, Abdel-Rahman MS, Friedman MA, Davis RA. Pharmacokinetics of benzophenone-3 after oral exposure in male rats. *Journal of Applied Toxicology* 1995 Mar-Apr;15(2):97-102.
- 11) Lee, S.; Sup An, K.; Jin Kim, H.; Jin Noh, H.; Lee, J.; Lee, J.; Seuk Song, K.; Chae, C.; Yeol Ryu, H. Pharmacokinetics and Toxicity Evaluation Following Oral Exposure to Bisphenol F. *Archives of Toxicology* 2022, 96, 1711-1728.
- 12) Harada KH, Tanaka K, Sakamoto H, Imanaka M, Niisoe T, Hitomi T, Kobayashi H, Okuda H, Inoue S, Kusakawa K, Oshima M, Watanabe K, Yasojima M, Takasuga T, Koizumi A. Biological Monitoring of Human Exposure to Neonicotinoids Using Urine Samples, and Neonicotinoid Excretion Kinetics. *PLoS One*. 2016, 11(1): e0146335.
- 13) Moos, R.K., Angerer, J., Dierkes, G., Brüning, T., Koch, H.M., 2016. Metabolism and elimination of methyl, iso- and n-butyl paraben in human urine after single oral dosage. *Archives of Toxicology* 90, 2699-2709.
- 14) Antwi FB, Shama LM, Peterson RK. Risk assessments for the insect repellents DEET and picaridin. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 2008, 51(1), 31-36.
- 15) Koch HM, Christensen KLY, Harth V, Lorber M, Brüning T, 2012, Di-n-butyl phthalate (DnBP) and diisobutyl phthalate (DiBP) metabolism in a human volunteer after single oral doses, *Archives of Toxicology* 86, 1829-1839
- 16) Koch HM, Bolt HM, Preuss R, Angerer J., 2005. New metabolites of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) in human urine and serum after single oral doses of deuterium-labelled DEHP, *Archives of Toxicology* 79, 367-376

II-2 曝露モニタリングのための食事・生活用品介入試験

国立大学法人 東海国立大学機構 名古屋大学
大学院医学系研究科総合保健学（准教授） 上山純

[要旨]

サブテーマ 2 では、調査対象者に 5 日間の全ての食事と飲料水及びその期間に使用するパーソナルケア製品（シャンプー、ハンドソープ、基礎化粧品等）を提供し、それらの製品のみを使用して生活してもらい介入試験を実施した。介入試験期間中の、食事・飲料・パーソナルケア製品等の摂取量・使用量等を記録し、さらに期間中の全ての随時尿、期間前後の血液、及び期間中に採取されたハウスダストを収集した。その後各分析機関で化学分析を行うための分注や輸送を行うことがサブテーマ 2 の役割である。当初の予定より早期に目標の 100 名（20～50 歳）の健康な男女をリクルートし、5 回に分けて介入試験を完遂した。対象者の特徴は、いわゆる成人 AYA 世代(Adolescent and Young Adult)であり、喫煙者や飲酒習慣が顕著に低いことが一般生活者集団との違いの特徴の一つであった。新型コロナウイルス感染対策下において、目立ったトラブルやインシデントもなく介入調査を実施し、各サブテーマで実施する化学分析への検体及び情報収集することができた。一部の参加者に対して心理的・身体的ストレスを評価し、介入試験参加によるストレスが大きくないことを確認した。本研究により、化学物質の投与を行わずに動態モデルパラメータを取得するための新たな調査方法を確立することができた。

1. 研究開発目的

本研究では、バイオモニタリングによって得られた体内濃度と、曝露モデルによって得られた曝露量とを結びつける曝露逆推計モデルの構築を目的とした。研究協力者を対象に、曝露媒体を一定期間コントロールすることで化学物質曝露量を把握する介入試験を実施し、曝露媒体試料・生体試料の計測と体内動態モデルを組み合わせることで、体内濃度から化学物質の曝露量を推計する手法の開発を試みた。

サブテーマ 2 では、安全かつプロトコルに準拠した介入調査を実施し、曝露媒体試料及び生体試料を収集することを主な目的とした。3 年間で約 100 名の 20～50 歳の健康な男女をリクルートし、化学物質の曝露量をコントロールした介入試験を計画した。参加者には、5 日間の全ての食事と飲料水及びその期間に使用するパーソナルケア製品（シャンプー、ハンドソープ、基礎化粧品等）を提供してそれらの製品のみを使用して生活してもらい、摂取量・使用量等を記録し、モデル化学物質曝露量を把握した。また、行動記録票を作成して、本調査のデザインで制御されていない化学物質曝露の機会を後ろ向きに模索することも可能とした。介入期間中の調査期間内及び期間前後の全ての随時尿、調査期間前後の血液を採取し、環境中の化学物質に汚染しないよう、事前の容器の選定や洗浄方法を検討した。介入試験で得られた試料は、測定を担当する施設に輸送方法を整えるとともに、将来的に他の化学物質の評価に用いることのできるよう分注方法等を検討した。

2. 研究目標

化学物質の体内動態研究を効率的、かつ低侵襲に実施するための食事・パーソナルケア製品の介入試験を実施し、曝露媒体試料と生体試料を採取する。介入試験は 3 年間で 100 名の 20～50 歳の健康な男女を協力者のリクルートを目指し、食事及びパーソナルケア製品使用についてこちらで提供するものを 5 日間使用していただく。曝露媒体・生体試料は、汚染の少ない保管容器を工夫するなど、サブテーマ 1 で試料バンク化を想定してブランク・分注方法など最適な採取方法を提案する。

3. 研究開発内容

1) 介入試験実施

介入試験実施に向け、調査会場及び説明会場の設営、参加者のリクルート、調査説明動画の作成、参加者からの同意取得と謝礼手続き等の準備を進めた。研究対象者が介入調査中に提供する情報は、主にオンライン経由で収集することとし、ArcGIS 社が提供する情報収集ツール Survey123 を応用した。参加者

<p>研究責任者 磯部友彦 殿</p> <p style="text-align: center;">調査協力への同意書</p> <p>私は、今回の調査（「食事・パーソナルケア製品の介入試験」）について、説明を受け、以下の項目について十分理解しました。</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> 介入試験を通して化学物質の体内動態を明らかにすることが目的の研究であるということ <input type="checkbox"/> 研究への協力は自由意志で行うものであること <input type="checkbox"/> 希望すればいつでも研究協力を中止できること <input type="checkbox"/> 5日間の介入試験（食事・パーソナルケア製品の使用）があること <input type="checkbox"/> 介入試験期間は提供された食事を摂ること <input type="checkbox"/> 食事提供に関する免責事項について <input type="checkbox"/> 介入試験期間は提供されたパーソナルケア製品を使用すること <input type="checkbox"/> 介入試験期間の採尿をすること <input type="checkbox"/> 計3回の採血があること <input type="checkbox"/> 介入試験期間のハウスダストを採取すること <input type="checkbox"/> 質問票による年齢や学歴、生活習慣、食習慣などの調査があること <input type="checkbox"/> 希望すれば食習慣に関する評価結果が報告されること <input type="checkbox"/> 調査協力に対する謝礼が提供されること <input type="checkbox"/> 希望すれば詳しい研究計画書を閲覧できること <input type="checkbox"/> 研究結果は、匿名化した上で学術発表されること <input type="checkbox"/> 個人情報 は国立環境研究所と名古屋大学で厳重に管理されること <input type="checkbox"/> 試料は研究実施機関や民間の分析機関で化学物質等の分析に使用されること <input type="checkbox"/> 提供した試料やデータは、匿名化された上で解析が行われること <input type="checkbox"/> 将来的に共同研究等による試料提供の可能性があること <input type="checkbox"/> 試料およびデータは、研究期間終了後10年間国立環境研究所で保管されたのちに破棄されること <input type="checkbox"/> 倫理委員会の承認が得られれば、保管期間の延長があること <input type="checkbox"/> 本研究に関する利益相反はないこと <input type="checkbox"/> この研究から知的財産権が生じた場合に、それは私に属さないこと <input type="checkbox"/> 本学学生の場合は研究参加に関わらず、学内の成績等には一切関係しないこと <p>上記の研究の説明者 説明担当者自署： _____ 説明日： _____ 年 _____ 月 _____ 日</p> <p>調査についての説明を受けて、内容をよく理解したので、調査に参加します。</p> <p>食習慣調査の結果報告の希望をご記入ください。 食習慣調査の結果について報告を、 <input type="checkbox"/> 希望します <input type="checkbox"/> 希望しません</p> <p>ご本人の署名： _____ 電話番号 _____</p> <p>ご住所：〒 _____</p> <p>同意の年月日： _____ 年 _____ 月 _____ 日</p>	
--	--

図-2.1 介入調査で使用した同意書（同意撤回書は掲載省略）

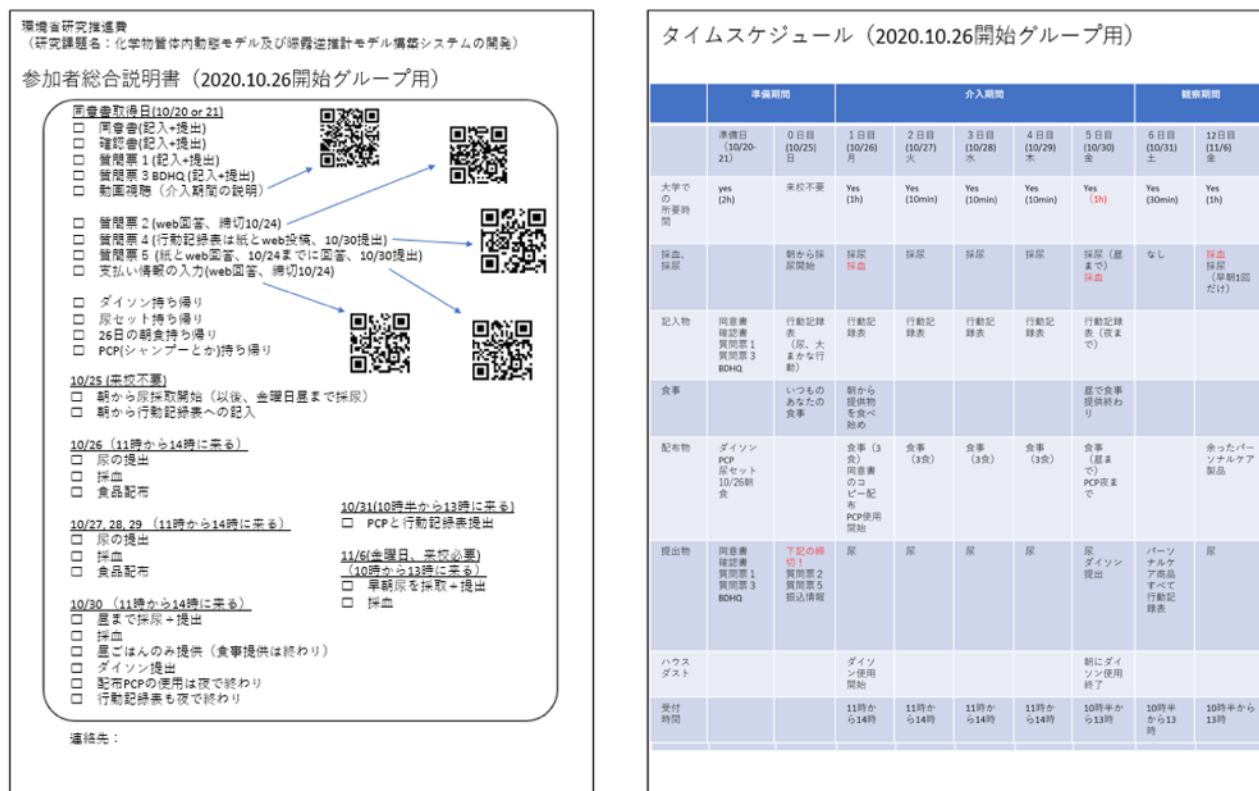


図-2.1 介入調査で使用した参加者配布用総合説明書 (左) とタイムスケジュール一覧 (右)

リクルートまでの流れを例示すると、チラシ受け取り→動画で研究内容紹介→事務局へ連絡→インフォームドコンセント取得作業となる (図-2.1 同意書)。対象者は配布する QR コードを用いてスマートフォン等から日常的に使用している PCPs、提供する嗜好品等の情報をテキスト及び画像で収集するシステムを構築した (図-2.1)。参加者からの質問は対面及び E メールで受け付けることとした。

図-2.2 には、介入調査で使用した参加者配布用の PCP 使用状況質問票 (質問票 5: 左上) と、介入調査期間中の行動記録用紙 (質問票 4: 右) を示した。各個人が使用する PCP 製品は多種多様であり、さらに刻一刻と商品のバージョンが変更となるため、画像として商品の全体と表示部分を収集することとした。これにより、参加者の負担の大幅な軽減とともに記載漏れによる化学物質曝露情報の欠落を最小限とした。また、介入期間中の行動記録は紙ベースで記入する方式を基本としたが、提供した食事を残した場合のその割合を把握するために、スマートフォンによる画像撮影と送付を依頼している。これにより、さらに詳細な化学物質の経口摂取量の把握が可能となる。なお、食事で食べきれなかったものについては、原則破棄を依頼した。

研究計画のうち、介入試験に関する項目について参加者説明資料や同意書、調査時に使用する質問票等を作成するとともに、名古屋大学医学部生命倫理委員会において研究の承認を得た (承認番号 2020-0187)。生命倫理委員会からの主な指摘として、「新型コロナウイルス感染対策」「提供する食事の安全性確保」「参加者の行動制限への負担」が挙げられた。会場への入場人数制限、換気設備の追加、体温チェック等で感染対策を施した。また、食事の輸送には保冷車による輸送とその途中の温度管理をモニタリングし、さらに配布用バックは保冷可能な素材を採用することで安全性確保した (写真-2.1)。

質問票 5

対象者 ID: ERC009 52003-1 1回

質問票 5 (10/24 までに完成、10/30 に提出)

この質問票は、普段（調査期間中の時点）ご使用されているパーソナルケア製品を調査する目的で行います。可能な限りすべて書いてください。種類などは裏面を参考にしてください。
なお、上山研究室内の学生が個人を特定できる状態でこれらの情報を載せることはありません。

作業 1) 普段使用しているパーソナルケア製品を下表にリストアップ
作業 2) 各製品の写真を QR コード先に投稿してください。
なお、「my 製品 ID」は、「行動記録用紙」に使用可能です

my 製品 ID	品名 (※裏面を参考にしてください)	製品名、ブランド名やメーカー名など(可能な限り)
my-01	化粧水	フェイシャルトリートメント エッセンス、SK-2
my-02	日焼け止め	スキンアクア トーンアップUV エッセンス、ロート
my-03	コンタクトレンズ洗浄液	ソフトコンタクトレンズ洗浄液 メニコソ エピカコールド
my-01	化粧水	豆乳イソフラボン化粧水、アトナ
my-02	乳液	肌ラボ 潤滑 ローション、ロート製薬

質問票 4

対象者 ID: ERC009 52003-1 1回

調査期間中の行動記録用紙

下記の記入方法、次ページの記入例を参考に、調査期間中の食事、探尿、製品使用の時間、ご提供したものの以外の飲食物、パーソナルケア製品について記録していただくようお願いいたします。

記入方法

- 行動 起床・就寝時間、移動や運動等、日々の活動の概要を記録してください。また、飲料のたいの目量も可能な範囲で記録してください。(例: 7:00 起床、7:30 お茶 100ml、など)
- 食事 提供した食事(朝食、昼食、夕食、間食)を食べた時刻に○をつけ、行動欄にその種類を記入してください。(例: 7:30 朝食、など)
食事を残した、あるいは食べずに保管した場合はその食べ残し等を下の QR コードから写真を送付してください。保管した食事は、できるだけ介入期間内に食べないようにお願いします。

探尿 尿を採取した時間帯に○をつけ、右の欄書欄に探尿ボトルに貼付したものと同じシールを貼ってください。尿ボトルにも情報記入をお願いします。

PCPの詳細(商品の裏面も)



食事状況の詳細



時刻	行動	食事	製品	提供されたもの以外の飲食物、パーソナルケア製品等の使用	探尿	探尿	排便	備考 (採尿シール貼付)
5:00								
6:00								
7:00								
8:00								
9:00	起床	朝食	1,4,17	my-04				ERC009CU12 52003-1 1回
10:00								

図-2.2 介入調査で使用した参加者配布用の PCP 使用状況質問票（質問票 5：左上）と、介入調査期間中の行動記録用紙（質問票 4：右）

写真-2.1 「新型コロナウイルス感染対策」「提供する食事の安全性確保」を目的に使用した物品類。①排気装置、②アクリル板、③換気用扇風機、④ハンディタイプ体温計、⑤体温計、⑥保冷バック小、⑦保冷バック大、⑧保冷剤、⑨レンタル冷蔵庫

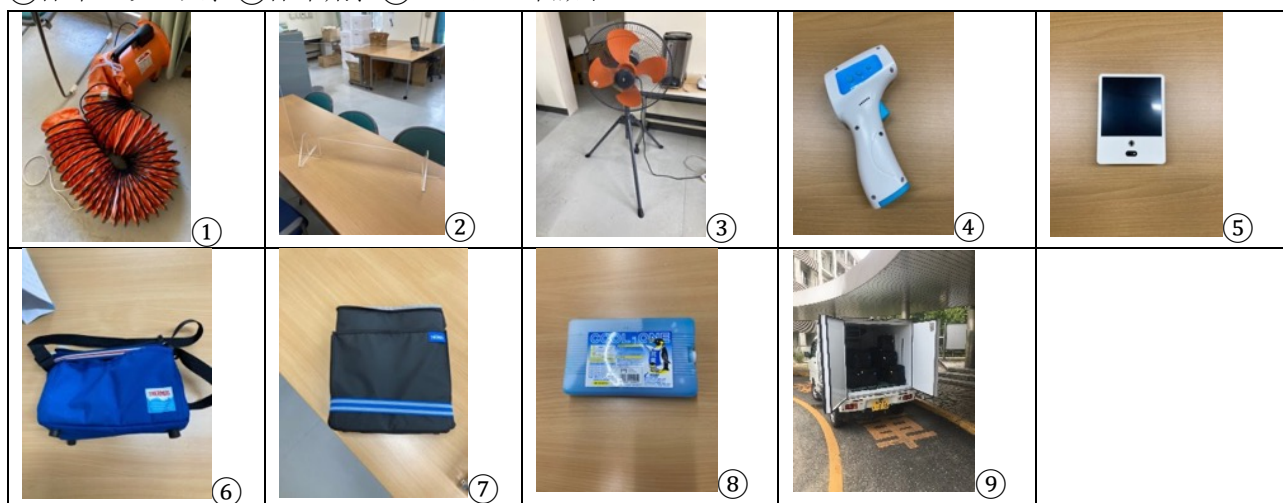


表-2.1 に、生体試料及びハウスダスト収集に用いた物品の一覧を示す。対象者には事前に採血に関する不安を聴取し、場合によっては簡易ベットを用いた採血も実施した。採尿に用いる PP ボトル（アイボーイ）及び尿分注容器、掃除機内部の洗浄は国立環境研究所で実施し、その後介入調査実施会場へ送付された。なお、採血の担当者は採血業務経験のある看護師 2 名及び臨床検査技師 1 名で対応した。

表-2.1. 各種試料収集に用いた物品一覧

用途	一般名	商品名、その他
採血器具	採血用針	NIPRO ルアーアダプター付きセーフタッチ PSV セット (ホルダー付き)
	採血管	ベクトンディッキンソン バキュテイナ採血管 血清分離材入り
		ベクトンディッキンソン バキュテイナ採血管 EDTA-Na 入り
	酒精綿	HAKUZO 消毒用エタノール綿エレファワイパーEW
	グローブ	アズワン ナビロール医療ニトリル手袋
その他	駆血帯、毛布、カイロ (冬季) 等	
採尿	ボトル	アズワン アイボーイ PP 広口 250ml 及び 500ml 配布前の容器アルコール洗浄は国立環境研究所にて実施
	尿比重測定	デジタル尿比重屈折計 UG-D を用いて、即日測定
ハウスダスト	家庭用掃除機 サイクロン式	使用前の内部洗浄は国立環境研究所にて実施

2) 介入試験参加者のストレス評価

一部の参加者を対象として、Qualitest 株式会社の SF-36v2 日本語版を用いて介入試験参加による心理的・身体的ストレスを評価した。SF-36 は、米国で作成された健康関連 QOL (HRQOL: Health Related Quality of Life) を測定するための調査票で、170 カ国語以上に翻訳されて国際的に広く使用されている。国民標準値と比較することで、介入試験に参加したことによる参加者の健康状態 (身体機能、日常役割機能 (身体)、体の痛み、全体的健康感、活力、社会生活機能、日常役割機能 (精神)、心の健康) への影響を評価することができる。

4. 結果及び考察

1) 介入試験実施

リクルートは研究グループ所属機関の掲示板 (web)、広報誌、ホームページ、チラシ設置・配布にて募集した。実行可能性を評価するため、8 月に 5 名を対象としたプレ試験を実施し、試料採取と処理、保管や記録に関して手順の確認と改善を行った。介入試験実施に際し、動画による調査説明、来場時間の分散化、アクリル板/消毒液/非接触体温計の設置などにより参加者の不安を軽減するとともに、現場で対応するスタッフは名古屋大学関係者を中心に配置することで他機関からの移動を抑制するなど、感染症拡大防止対策を徹底した。最終的に、一度で実施可能な最大人数を 25 名と設定した。

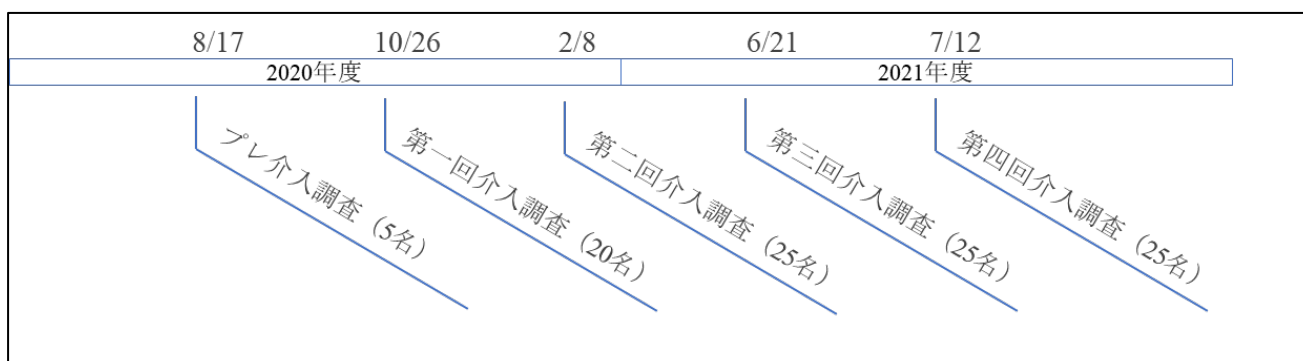


図-2.3 介入調査実施時期

その後、新型コロナウイルス感染症による国の緊急事態宣言期間と重複しないよう、また実施季節を可能な限り分散させて介入調査を実施した。介入試験は 10 月に 20 名をリクルートして第 1 回目、2 月に 25 名をリクルートして第 2 回目、2021 年度 6 月及び 7 月に第 3 回及び第 4 回の介入調査を実施した (図-2.3)。体調不良等による直前の辞退者が各回数名ずつあったものの、最終的な調査参加者数は、プレ

試験、第1回目、第2回目、第3回目、第4回目の総計100名を確保し、目標を達成した。血液試料、尿試料、食事試料、ハウスダスト試料も計画通りに採取した。参加者の責任による介入期間中の尿検体採取忘れ・ミスは、プレ試験で1名（1検体）、第1回目で2名（3検体）、第2回目で2名（2検体）、第3回目で1名（1検体）、第4回目（2検体）であった。腐敗による尿検体の損失はなかった。介入試験の実施時期及び参加者数を表-2.2に示した。

表-2.2 計5回の介入調査における尿及び血液検体の収集結果

	8/17 (プレ試験)	10/25 (第1回)	2/8 (第2回)	6/21 (第3回)	7/12 (第4回)
調査対象者数	5 (M3, F2)	20 (M5, F15)	25 (M18, F7)	25 (M11, F14)	25 (M11, F14)
尿採取忘れ、採取ミス	1名 (1検体)	2名 (3検体)	2名 (2検体)	1名 (1検体)	2名 (2検体)
腐敗	0	0	0	0	0
蓄尿作成	-	20名分	25名分	25名分	25名分
採血人数	5	20	25	25*	25

*参加者1名（女性）がDay12において採血困難だったため、血液検体収集を中止

参加者の基本属性概要を表-2.3に、一部の質問票調査への回答傾向を表-2.4に示す。COVID-19感染拡大下で介入試験を実施せざるを得なかったことから参加者の募集は名古屋大学内の掲示等に限られたため、参加者のほとんどが20代であった。また、化学物質曝露の季節変動や個人内変動を確認する目的で、19名については2回の介入調査参加とした。特殊な解析を除いて、2回目参加のデータは除外して記述統計値等を示す。令和元年における国民健康栄養調査(20代)から、BMI平均：男性22.9、女性21.0、喫煙率：男性26%、女性8%と比較すると身長や体重は20代男女の平均的体格の範囲内と考えられた。喫煙率は極めて低い傾向を示した。平成17年の国民健康栄養調査(20歳代)における、飲酒習慣率(週3日以上)は男性19%、女性21%であったが、本調査対象者では週3日以上の飲酒習慣率はわずか5%であった。持病としてアレルギー性鼻炎23%、アトピー性皮膚炎7%、食物アレルギー7%の有病率であった。その他に気管支喘息や蕁麻疹等を罹患している対象者も含まれた。アレルギー性鼻炎に限ると、日本国民全体の有病率49.2%¹⁾と比較して低い値である。服用している処方薬としては、抗アレルギー剤、整腸剤、漢方、抗うつ剤、塗り薬等が挙げられた。質問票調査では、日常生活における各種化製品の使用状況についても調査を行い、一例として図-2.4のような結果が得られている。

表-2.3 参加者の基本属性(19名は2回参加)

	女性	男性
人数	40	39
年齢(歳)	22.1±3.4	22.5±4.0
身長(cm)	157.8±5.3	172.6±5.6
体重(kg)	50.8±7.6	64.3±9.5
BMI(kg/m ²)	20.3±2.2	21.6±3.0

表-2.4 質問票調査の回答の一例

質問項目(N=79)	人数	(%)
なんらかのアレルギーがある	27	34
なんらかの処方薬を使用している	14	18
本人の喫煙		
「もともと吸わない」	74	94
「以前(1年以上前)吸っていたが現在は吸っていない」	1	1
「吸う(1年以内)」	4	5
家族の喫煙		

「もともと吸わない」	59	75
「以前（1年以上前）吸っていたが現在は吸っていない」	8	10
「同居人が吸う（1年以内）」	5	6
無回答	7	9
飲酒		
「毎日飲む」	1	1
「週5～6日」	2	2.5
「週3～4日」	2	2.5
「週1～2日」	10	13
「月1～3日」	39	49
「飲まない／ほとんど飲まない」	25	32

介入試験期間中は、血液及び尿、PCPs、食事と飲料、ハウスダストの試料を採取するとともに、質問票及び行動記録を回収した。血液試料は調査期間中に3回採取し、EDTA入り採血管と分散剤入り採血管それぞれ2本ずつに分取した。分離剤入り採血管については凝固確認後直ちに遠心分離して血清試料を得た。その後、外注業者に渡すまで4℃暗所で保管し、採血当日には検査センターに輸送した。尿試料は、全ての随時尿を全量ポリプロピレン製のボトルに採取して会場に持参してもらい、受領した検体は重量と比重を測定後、分注用にポリプロピレン製遠心チューブに分取した（写真-2.2）。各随時尿の50分の1あるいは25分の1量を混合し、蓄尿を作成した。これにより、その日の代表的な数値をモニタリングすることが可能となり、効率的な分析対象者の抽出や迅速な傾向観察が可能となる。その後、尿検体は冷凍条件で国立環境研究所に移送され、自動分注装置にて分注した。尿検体の流れの概略を示すと、介入調査実施施設（収集）→国立環境研究所（分取）→化学分析分担施設（産総研、愛媛大学、名古屋大学）となり、ハウスダストも同様である。一方、血液検体の流れは、介入調査実施施設（収集）→分析委託業者→国立環境研究所（分取）→化学分析分担施設（国立環境研究所、産総研、愛媛大学、名古屋大学）である。

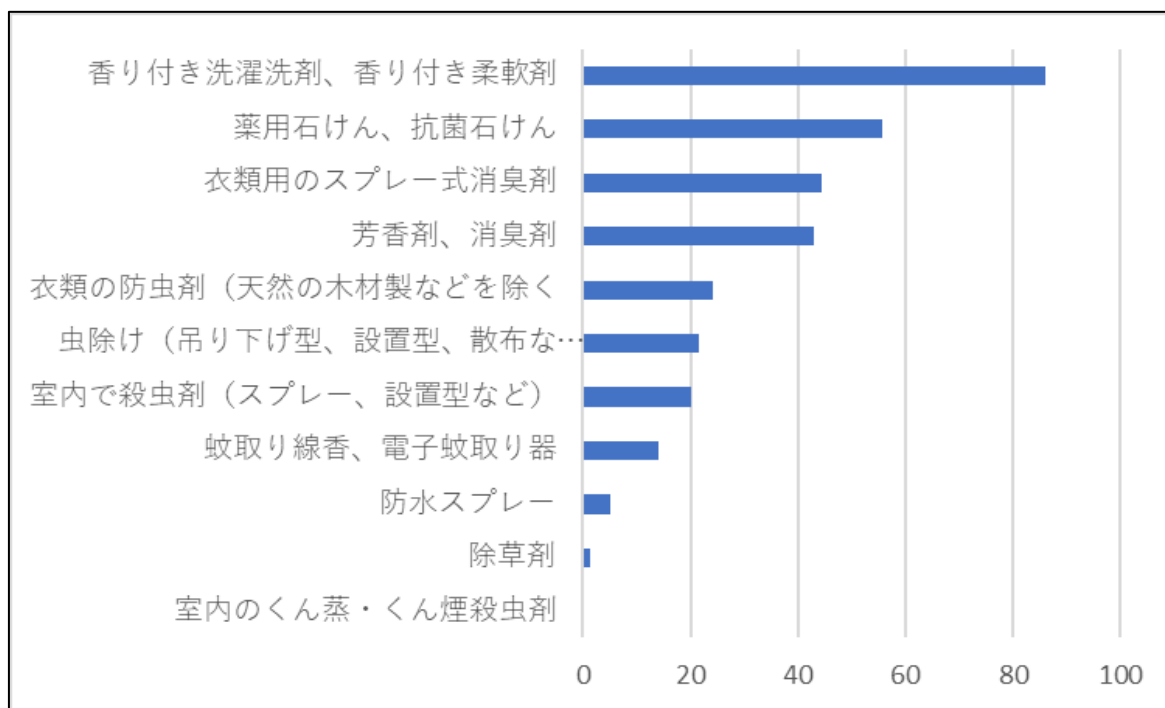


図-2.4 質問票調査による製品使用の状況把握

写真-2.2 参加者からの尿収集と分注作業。①尿の劣化を防ぐために可能な限り採取後の尿は冷蔵庫保管とした、②回収した尿ボトル、③分注作業及び蓄尿作成作業、④分注作業

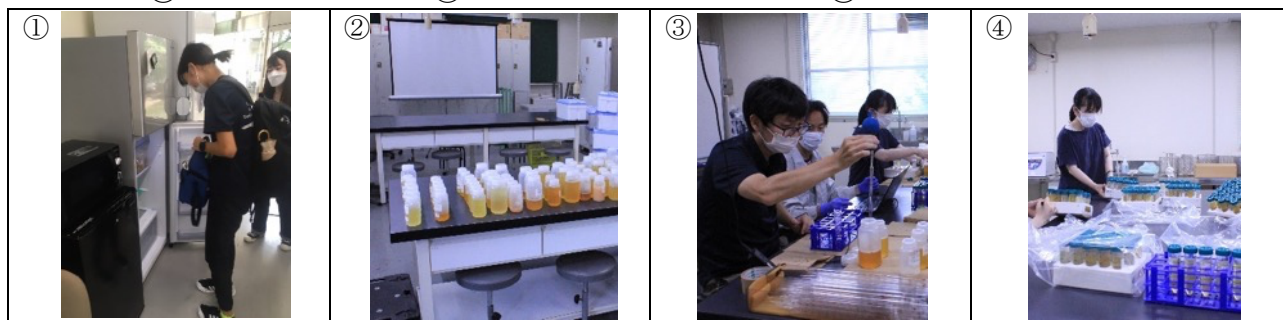


写真-2.3 に調査参加者の様子、図-2.5 に介入期間中に配布した食事及び飲料等の一覧、表-2.5 に自由配布した飲料一式、表-2.6 に配布した食事では量的に十分でない対象者に配布した補助食品一式を示す。

写真-2.3 調査参加者の様子。①介入期間中は毎日健康チェックや行動記録用紙等をチェックする、②採血、③参加者による飲料の持ち帰り、④一日分の食事等を持ち帰宅



表-2.5 自由配布した飲料一式

商品名	メーカー名	内容量(ml)
日本コカ・コーラ	綾鷹	525
	コカコーラ	500
サントリーフーズ株式会社	BOSS ブラックコーヒー	500
	BOSS カフェラテ	500
	なっちゃんオレンジ	425
キリンビバレッジ	午後の紅茶 無糖	500
	午後の紅茶 ミルクティー	500
岐阜県森林組合連合会	ミネラルウォーター	500

表-2.6 配布した食事では量的に十分でない対象者に配布した補助食品一式

商品名	メーカー名
鯖缶 (味噌)	伊藤食品
味噌汁	味の素
サトウのごはん 200g	サトウ食品
コモパン (いちご)	コモ
コモパン (クリーム)	コモ
スープはるさめ (かきたま)	エースコック
まるごと1個分完熟トマトのスープパスタ	味の素
カロリーメイト (プレーン)	大塚製薬
in BAR PROTEIN	森永

カントリーマアム (パニラ/ココア)
 ブラックサンダー
 ポテトチップスクリスプ
 じゃがりこサラダ bits
 ハッピーターン
 キャラメルコーン
 ポンカレー

不二家
 有楽製菓
 カルビー
 カルビー
 亀田製菓
 東ハト
 大塚食品

プレ調査	day1	day2	day3	day4	day5
8月17日	8月18日	8月19日	8月20日	8月21日	8月21日
朝	朝	朝	朝	朝	朝
昼	昼	昼	昼	昼	昼
夜	夜	夜	夜	夜	夜
10月26日	10月27日	10月28日	10月29日	10月30日	10月30日
朝	朝	朝	朝	朝	朝
昼	昼	昼	昼	昼	昼
夜	夜	夜	夜	夜	夜
2月8日	2月9日	2月10日	2月11日	2月12日	2月12日
朝	朝	朝	朝	朝	朝
昼	昼	昼	昼	昼	昼
夜	夜	夜	夜	夜	夜
6月21日	6月22日	6月23日	6月24日	6月25日	6月25日
朝	朝	朝	朝	朝	朝
昼	昼	昼	昼	昼	昼
夜	夜	夜	夜	夜	夜
7月12日	7月13日	7月14日	7月15日	7月16日	7月16日
朝	朝	朝	朝	朝	朝
昼	昼	昼	昼	昼	昼
夜	夜	夜	夜	夜	夜

図-2.5 介入期間中に配布した食事および飲料等の一覧

ハウスダスト収集は、同一機種種の掃除機を配布し、各家庭で一定期間使用することで行った(写真-2.4)。プレ試験実施時に、介入期間のみの回収ではファインダストが十二分ではないと判断し、それ以降は収集期間を延長し、IC 取得直後から自宅での掃除機使用を依頼した。ハウスダスト検体の流れは、介入調査実施施設(収集、掃除機から分取)→国立環境研究所(ファインダストのふるい分け)→化学分析分担施設であり、各施設にて分析まで保管している(国立環境研究所、産総研、愛媛大学、名古屋大学)。

写真-2.4 ハウスダスト収集の様子。①IC 取得以降から介入期間終了時まで使用したサイクロン式掃除機、②掃除機からダストを回収する様子、③④ダストから髪の毛や雑多なゴミを除去し、ファインダストを抽出する様子

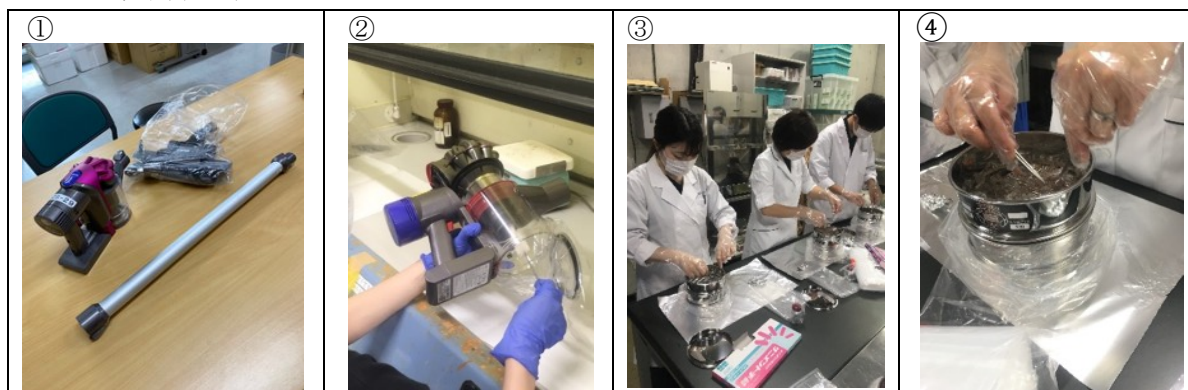


図 2-6 に全 5 回の介入調査における day0 の排尿回数,尿量,尿中クレアチニン濃度を示す。Day0 の 24 時間尿量の平均値±標準偏差は、女性で 0.90 ± 0.57 L/day (range, 0.31-3.93)、男性で 1.19 ± 0.41 L/day (range, 0.53-2.19)であり、統計的有意($p=0.006$, Student's-test)に男性で高い値を示した。また、Day0 の 24 時間における排尿回数の平均値±標準偏差は、女性で 5.1 ± 2.4 (range, 2-17)、男性で 4.7 ± 1.4 (range, 2-8)であった。

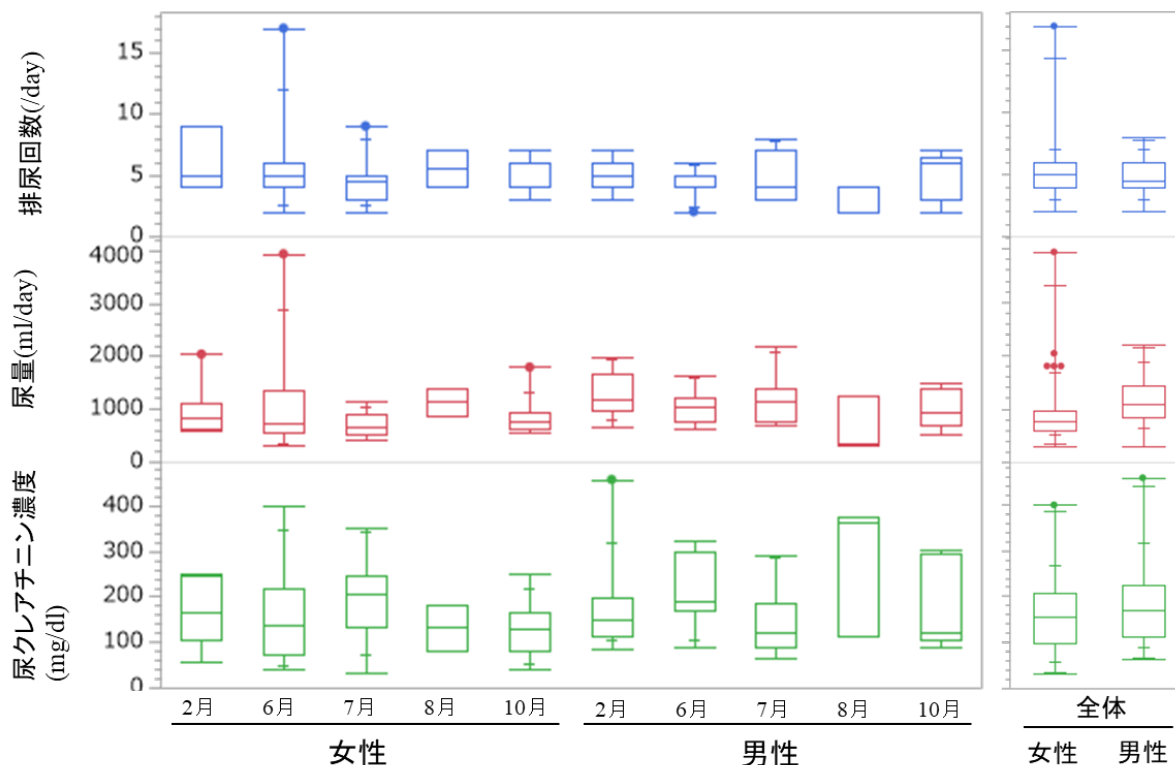


図-2.6 全 5 回の介入調査における day0 の排尿回数,尿量,尿中クレアチニン濃度

各実施回で排尿回数、尿量、クレアチニン濃度で顕著な傾向はみられなかった。8月実施調査は5名のデータのため、参考値としたい。

血中ヘマトクリット値は $45.1 \pm 4.2\%$ 、血清クレアチニン濃度は $0.74 \pm 0.15 \text{ mg/dL}$ （いずれも $n=299$ ）、尿中クレアチニン濃度は $123.0 \pm 81.8 \text{ mg/dL}$ 、比重は 1.019 ± 0.008 であり（ $n=3037$ ）であり、いずれも概ね健常者の報告範囲内だった。なお、尿試料についてクレアチニン濃度と比重との関係を調べたところ（図-2.7）、必ずしも直線関係にはならないことが確認されており、とくに尿比重の高い検体についてはクレアチニン濃度が頭打ちになる傾向が観察され、尿中化学物質濃度の評価の際に注意が必要と考えられる。

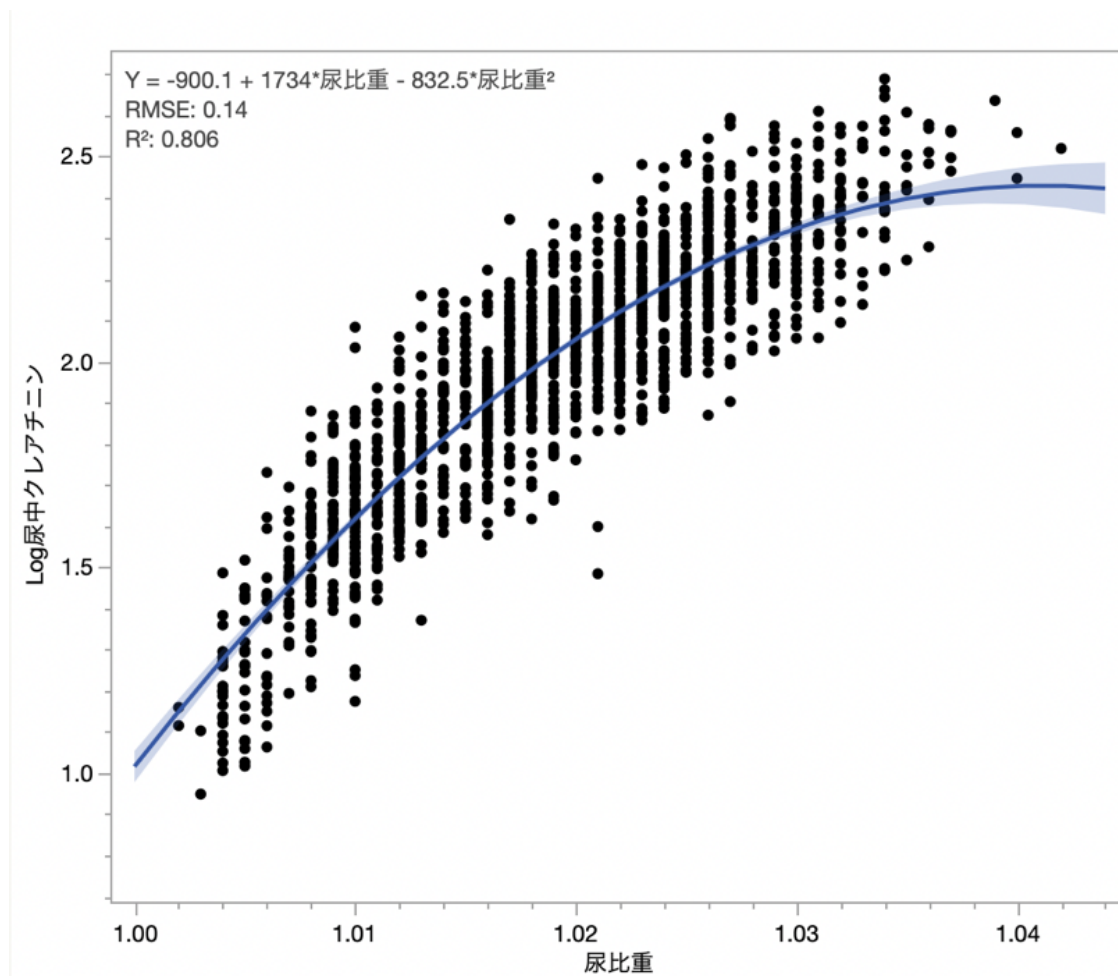


図-2.7 尿比重と尿中クレアチニン濃度の関係

表-2.7には、介入期間中に使用するために配布したPCPs製品の1回あたりの使用量(g)を示した。PCPs製品は、各参加者に配布する前に容器を含む総重量を測定しておき、介入試験期間後に返却された製品重量を再度測定することで使用総重量を求めた。参加者には、介入試験期間中の製品使用について記録していただいているため、使用総重量を期間中の総使用回数で割ることで1回あたりの使用量を算出した。パーソナルケア製品の使用量に関する情報は極めて限られており、重要な曝露係数の1つである。これらの使用量に製品中の化学物質濃度を乗じることで、PCPs製品使用1回あたりの曝露量を見積もることが可能となる。今回得られた値は、あくまで配布した製品を介入期間中に使用された量に基づ

いて算出しているが、実測に基づいたデータがほとんど得られないことから、製品カテゴリごとの曝露係数としても使用できる可能性が高く、貴重な基礎データとして活用が期待できる。

表-2.7 配布したパーソナルケア製品の1回あたりの使用量 (g)

製品 ID	製品使用者数	平均	標準偏差	P25	中央値	P75
1	89	1.36	1.10	0.60	1.06	1.69
2	83	0.80	0.99	0.37	0.60	0.87
3	63	0.56	0.36	0.32	0.49	0.70
4	49	0.03	0.14	0.00	0.01	0.01
5	41	0.16	0.08	0.09	0.13	0.22
6	31	0.19	0.17	0.07	0.16	0.21
7	46	3.84	3.55	1.45	2.71	5.31
8	38	0.50	0.39	0.20	0.40	0.75
9	42	0.94	0.77	0.33	0.85	1.27
10	48	1.78	1.22	1.22	1.51	2.08
11	95	1.41	0.80	0.83	1.14	1.88
12	100	6.41	4.17	3.93	5.58	7.38
13	100	6.34	3.14	4.27	6.00	7.35
14	95	3.95	2.36	2.03	3.49	5.55
15	88	2.17	2.32	1.18	1.66	2.25
16	29	12.08	11.98	8.57	8.99	13.32
17	97	0.82	0.52	0.42	0.71	1.08
18	62	9.08	8.32	4.68	6.95	9.72
19	66	0.89	0.67	0.41	0.67	1.18
20	44	10.91	8.47	7.02	8.41	11.13
21	12	2.44	2.22	0.92	1.43	4.18
22	11	3.56	6.70	0.84	1.50	2.63
23	14	0.29	0.34	0.06	0.12	0.56
24	5	2.53	2.79	0.87	1.50	4.72
25	24	0.25	0.25	0.05	0.22	0.38
26	54	7.78	18.42	2.37	5.84	7.39
27	30	0.13	0.07	0.09	0.11	0.17

図-2.8には、質問票調査の結果の一部を示す。調査参加者の住居に関する調査の結果、64.6%は集合住宅（アパート、マンションなど）に住んでいた。総務省統計局（2005年）によると、日本の共同住宅居住者割合は約39.5%と報告されており、本調査参加者の特徴のひとつに、集合住宅居住者割合の高さが挙げられる。また全体の48%が一人暮らしであった（図-2.8左）。住宅の築後年数は、20年以上が34%と最も高く、次いで10年以上の22%であった（図-2.8右）。これは、参加者の募集を大学の掲示板等を通じて行ったために、参加者の大半が20歳代の学生だったことによると思われる。参加者リクルートの観点ではバイアスのある集団となっはいるものの、20歳代の生活習慣、食生活、曝露係数等について情報がほとんどないことから、本研究で得られたデータは価値の高いものと考えられる。

図-2.9 には、調査参加者の自宅の床面積と最も長い時間を過ごす部屋の床材について調査した結果を示す。ほぼ半数の参加者が 30m^2 以下と回答しており、いわゆるワンルームあるいは1K（ワンケー）の一人暮らしでよく使用される住居を反映していると思われる（図-2.9 左）。室内にドアなどの仕切りは少なく、玄関から居室までがひとつにつながっている、あるいは玄関やキッチンと居室スペースがドアで仕切られている間取りが想像できる。部屋の容積が小さいため、化学物質の気中濃度やハウスダスト中の濃度は、日用品の使用によって、あるいは換気や掃除によって変動が大きいことが考えられるが、想像の域をでない。最も長い時間を過ごす部屋の床材を調査した結果、68%の参加者が板張り・フローリングの床材と回答した。一方で、畳と回答した対象者はわずか1%であり、本研究では畳で過ごした場合の化学物質曝露の特徴を捉えることは困難であると思われる。「その他」の回答には、「フローリングの上のじゅうたん」などがあつた（図-2.9 右）。

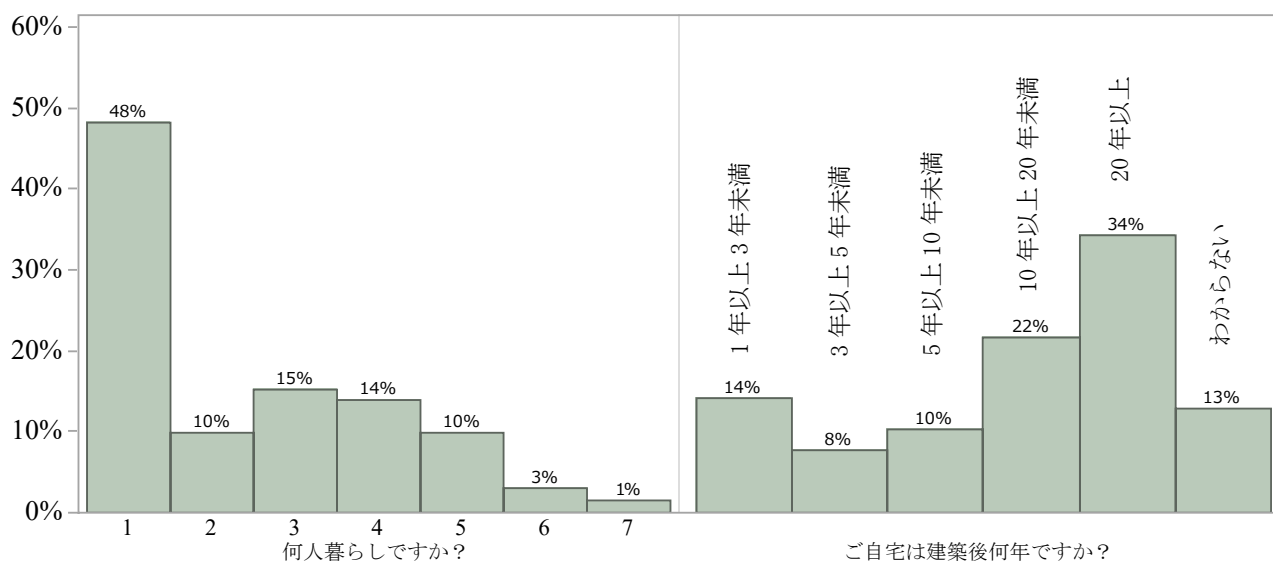


図-2.8 介入調査参加者の住宅に関するアンケート調査結果の一例

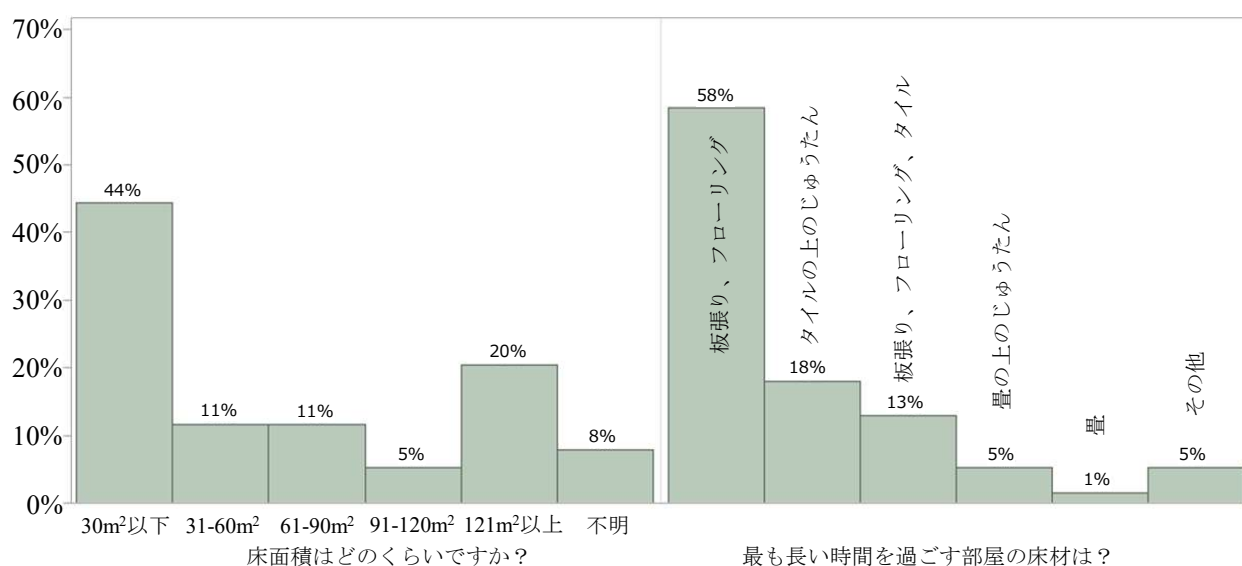


図-2.9 介入調査参加者の住宅に関するアンケート調査結果の一例

2) 介入試験参加者のストレス評価

第1回目調査期間中(day6)において介入試験参加による心理的身体的ストレスを評価(QOL アンケート SF-36)した結果を表-2.8に示す。国際的に普及している健康関連 QOL (HRQOL: Health Related Quality of Life)尺度であり、振り返り期間が過去1週間と比較的短期のストレスチェックが可能であることが特徴である。国民標準値がすでに報告されていることから²⁾、比較検討が可能となった。評価項目は以下の8項目である。

(1)身体機能 (2)日常役割機能(身体) (3)体の痛み (4)全体的健康感 (5)活力 (6)社会生活機能 (7)日常役割機能(精神) (8)心の健康

いずれの参加者に対しても過度な負荷を与えていないことを確認した。日常役割機能(身体・精神)において、最小値が参考値の25thを下回ったが、当該参加者にヒアリングを行ったところ、これは介入調査によるアルバイト制限によるものであるとの回答を得た。

表-2.7 介入調査開始後6日目におけるSF-36スコアと同年代日本人の参考スコア(数値が低いほどQOLは低い)

	身体機能	日常役割機能(身体)	体の痛み	全体的健康観	活力	社会生活機能	日常役割機能(精神)	心の健康
介入試験参加者								
中央値	57	56.7	61	62	59	56	57	60
最小値	52	37	48	49	47	35	49	47
比較参考値: 20-29歳 (N=384)								
中央値	57	57	54	49	47	52	57	47
P25	52	45	44	47	41	41	39	39

5. 研究目標の達成状況

目標を上回る成果をあげた。

調査対象者に対して何ら化学物質を投与することなく、化学物質の体内動態研究を効率的、かつ低侵襲に実施すべく、予定の3年を前倒しして2年で100名(20~50歳)をリクルートし、計画通りの介入調査を実施できた。健康関連QOLを指標とした予備的な調査によって、参加者に過度な負担をかけることなく、本研究では介入調査の実施、曝露媒体や生体試料の収集も実施されたことが証明された。保管容器の工夫、例えば使用前のアルコール洗浄及び検体取扱者に臨床検査技師を採用、自動分注装置の活用により、現在のところは汚染が考えられる分析上のトラブルは見られておらず、採取後の環境汚染のない検体セットができた。なお、個人情報、倫理審査で承認された方法を遵守して管理しており、各種試料等の移送及び保管も計画通り進めた。

研究目標はすべて達成され、webシステムを多用するなど効率的な介入調査の枠組みは将来の追加調査にも応用可能であり、当初の予定よりも優れた成果が得られている。

6. 引用文献

- 1) 日本耳鼻咽喉科学会会報 2020年 123巻 6号 p.485-490
- 2) Fukuhara S, Ware JE Jr, Kosinski M, Wada S, Gandek B. Psychometric and clinical tests of validity of the Japanese SF-36 Health Survey. *The Journal of Clinical Epidemiology* 1998 Nov;51(11):1045-53.

II-3 曝露媒体中化学物質濃度の計測と曝露量推計

国立研究開発法人 産業技術総合研究所

安全科学研究部門（主任研究員） 小栗朋子

安全科学研究部門（主任研究員） 篠原直秀

〔要旨〕

介入試験の参加者 100 名に提供した食事、飲料、間食、パーソナルケア製品（PCPs 製品）、参加者宅のハウスダストなどの曝露媒体試料に含まれるモデル化学物質濃度を計測し、曝露媒体経由の曝露量を推計した。モデル化学物質として、フタル酸エステル類及び代替物質・分解物（フタル酸エステル類 12 種、代替物質 7 種、分解物 2 種）、フェノール系化合物（パラベン類 9 種、トリクロサン・トリクロカルバン、ベンゾフェノン類 5 種、ビスフェノール類 7 種、テトラプロモビスフェノール A、アルキルフェノール類 4 種の計 24 種）を測定対象物質とした。対象物質を計測するにあたって、あらかじめ各種曝露媒体試料に適用可能な分析法を整備した。フタル酸エステル類及び代替物質・分解物については、ハウスダスト及び食事中濃度の標準添加回収率はそれぞれ 76~106%、74~105%であり、併行精度はともに 10%以内であった。パーソナルケア製品 17 種中濃度の添加回収率は 90~110%であった。フェノール系化合物については、ハウスダスト・食事試料中濃度の測定値の日内・日間変動は 15%以内、内部標準物質による補正回収率は 76~110%、74~120%、ハウスダスト試料の絶対回収率は 48~96%であった。

フタル酸エステル類及び代替物質・分解物については、本研究で対象とした曝露媒体、ハウスダスト、食事（間食含む）、PCPs 製品試料より検出された。ハウスダスト試料ではフタル酸ジエチルヘキシル（DEHP）が 100%の住宅のハウスダストで検出され、平均値は $2.9 \times 10^3 \mu\text{g/g-dust}$ 、最大値は $1.6 \times 10^4 \mu\text{g/g-dust}$ であった。DEHP の他に 70%以上の住宅で検出したのは、フタル酸ジイソブチル（DiBP）、フタル酸ジ-n-ブチル（DnBP）、フタル酸ジイソノニル（DINP）、フタル酸ジイソデシル（DIDP）、シクロヘキサン-1,2-ジカルボン酸ジイソノニル（DINCH）、2,2,4-トリメチル-1,3-ペンタンジオールジイソブチレート（TMPDB（TXIB））、アジピン酸ジエチルヘキシル（DEHA）、テレフタル酸ジエチルヘキシル（DEHT）、アセチルクエン酸トリブチル（ATBC）、トリメリット酸トリオクチル（TOTM）、2-エチル-1-ヘキサノール、テキサノールであった。出荷量ベースでは、2020 年度に DINP が DEHP を上回っているが、住宅内ではまだ DEHP の存在量が DINP を大きく上回っていることが確認された。食事試料では、DEHP が 99%の食事試料（N=72）で検出され、食事試料の実重量当たり含有量の平均値は $0.070 \mu\text{g/g-wet weight}$ であった。DEHP の他に 50%以上の食事試料で検出したのは、DnBP であった。間食は DEHP 及び DnBP が全ての試料（N=4）で検出された。PCPs 製品 18 種に含まれる DEHP 濃度は $0.0067 \sim 2.2 \mu\text{g/g}$ 、DnBP 濃度は ND~ $0.094 \mu\text{g/g}$ であった。

介入試験前日に被験者 10 名が使用したパラベン含有製品（成分表示にパラベンの記載がある製品）からメチルパラベン、エチルパラベン、プロピルパラベンが検出された。最大濃度は 2700、2.3、1300 $\mu\text{g/g}$ であり、パラベン類の中でもメチルパラベンに相当量曝露されていることが示された。介入試験期間中に配布した代替製品（成分表示にパラベンの記載がない製品）については、ほとんどの製品においてパラベン類は未検出、一部から検出されたものの極めて低濃度であった。食事試料からはメチルパラベン、エチルパラベン、プロピルパラベン、ベンジルパラベン、ヘプチルパラベン、ペンチルパラベン、トリクロサン、ビスフェノール A、ビスフェノール S、ビスフェノール F が検出された。中でもトリクロサンは相対的に高濃度（<MDL~110 ng/g wet weight ）を示した。食品を調査したアメリカの先行研究において、抗菌剤として使用されるトリクロサンが比較的高濃度で検出されている（最大濃度：22 ng/g ）¹⁾。ハウスダスト試料の 50%以上の検体から、メチルパラベン、エチルパラベン、n-プロピルパラベン、iso-プロピルパラベン、n-ブチルパラベン、ベンジルパラベン、トリクロサン、トリクロカルバン、4-水酸化ベンゾフェノン、ベンゾフェノン 1、ベンゾフェノン 3、ビスフェノール A、ビスフェノール AF、ビスフェノール F、ビスフェノール S、テトラプロモビスフェノール A、分岐 4-ノニルフェノール異性体が検出された。濃度はビスフェノール A が最も高く（中央値：14,000 ng/g ）、次いでメチルパラベン（中央値：4,700 ng/g ）、分岐 4-ノニルフェノール異性体（中央値：1,200 ng/g ）の順に高値を示した。

曝露媒体中濃度と食事摂取重量・使用量、その他曝露係数を用いて、それぞれの物質の曝露量推計を行った。フタル酸エステル類のうち DEHP 及び DnBP は主要な曝露源が食事由来であり、ハウスダスト由来の曝露は一日あたりの総曝露量に対して約 30%及び 6%、PCPs 製品使用の寄与はごくわずかだった。パラベン類のうち、メチルパラベン、エチルパラベン、n-プロピルパラベンについて一日あたりの総曝露量に対する PCPs 製品、食事、ハウスダストの寄与を推計した結果、メチルパラベンについては日常生活下では PCPs 製品使用、エチルパラベンが食事、ハウスダストが主な曝露源であり、n-プロピルパラベンは食事と PCPs 製品使用が同程度の寄与を示した。

1. 研究開発目的

本研究では、バイオモニタリングによって得られた体内濃度と、曝露モデルによって得られた曝露量とを結びつける曝露逆推計モデルの構築を目的とする。研究参加者を対象に、曝露媒体を一定期間コントロールすることで化学物質曝露量を把握する介入試験を実施し、曝露媒体試料・生体試料の計測と体内動態モデルを組み合わせることで、体内濃度から化学物質の曝露量を推計する手法を開発した。

サブテーマ3では、介入試験中に研究協力者に提供した食事、飲料、間食、パーソナルケア製品、ハウスダスト試料に含まれるモデル化学物質濃度を計測し、曝露媒体中濃度と摂取量・使用量からそれぞれの物質の曝露量を推計した。

2. 研究目標

介入試験で使用する、食事、飲料、間食、パーソナルケア製品、ハウスダストなどの曝露媒体の化学物質濃度を測定し、モデル化学物質の曝露量を推計する。曝露媒体試料の分析法を整備し、分析結果を用いて皮膚吸収率を含め曝露媒体中濃度から体内濃度を予測するモデルを構築する。

3. 研究開発内容

1) 食事試料／PCPs 試料／ハウスダスト試料の採取と分注

主たる実施機関である国立環境研究所の倫理審査委員会承認を受けて、産業技術総合研究所生命倫理委員会 ヒト由来試料実験部会に申請し、研究実施の承認を得た(通知文書番号:第 71160030-A-20201012-011 号、整理番号:ヒ 2020-0334)。介入試験は平日 5 日間に実施した。食事は介入試験 5 日間の 3 食に加えて、間食及び飲料を用意し、介入期間中は参加者に統一した食事を摂取していただいた。食事試料は、1 食をまとめて予め洗浄(有機溶媒で洗浄後、400°C で加熱)したステンレス製容器に入れて一時保管し、ホモジナイズしたのちに凍結乾燥して分注した。分注には、分析対象物質など目的に応じて対応できるように、PP 製チューブとガラス瓶を使用し、分析用チューブは分担機関に、長期保管用チューブは国立環境研究所に輸送し、それぞれ冷凍保存した。サブテーマ1で選択されたパーソナルケア製品(PCPs: シャンプー、ハンドソープ、基礎化粧品等)を配布し、介入期間中は参加者に統一した製品を使用していただいた。PCPs 30 種について、食事試料と同様に PP 製チューブとガラス瓶に分注し、分析用チューブは分担機関に、長期保管用チューブは国立環境研究所に輸送し、それぞれ冷凍保存した。ハウスダストは、ハンディタイプのクリーナーを参加者に提供し、介入期間中、参加者宅のダストを捕集していただいた。捕集したハウスダスト試料はクリーナーからチャック付きポリ袋に移し、一時保管後、ふるいがけを行った。250 μ m 以下の画分を分析用試料とした。ハウスダスト試料のふるい分けの際には、実試料と同様に JIS 試験用粉体 15 種(混合ダスト)もふるいに掛け、ブランクチェック試料とした。

2) 曝露媒体中フタル酸エステル類分析

フタル酸エステル類(フタル酸ジエチル(DEP)、フタル酸ジプロピル(DnPP)、フタル酸ジ-n-ブチル(DnBP)、フタル酸ジイソブチル(DiBP)、フタル酸ジ-n-ペンチル(DnPentylP)、フタル酸ベンジルブチル(BBP)、フタル酸ジ-n-ヘキシル(DnHexylP)、フタル酸ジシクロヘキシル(DCHP)、フタル酸ジエチルヘキシル(DEHP)、フタル酸ジオクタール(DNOP)、フタル酸ジイソノニル(DINP)、フタル酸ジイソデシル(DIDP)、フタル酸エステル類の代替物として、2,2,4-トリメチル-1,3-ペンタンジオールジイソブチレート(TMPDB(TXIB))、シクロヘキサン-1,2-ジカルボン酸ジイソノニル(DINCH)、アジピン酸ジエチルヘキシル(DEHA)、アジピン酸イソノニル(DINA)、テレフタル酸ジエチルヘキシル(DEHT)、アセチルクエン酸トリブチル(ATBC)、トリメリット酸トリオクタール(TOTM)、フタル酸エステル類の環境中分解物(溶剤としても使用される)として、2-エチル-1-ヘキサノール、2,2,4-トリメチル-1,3-ペンタンジオールモノイソブチレート(TMPMB(テキサノール))について分析法を検討し、分析値の妥当性評価を行った。

ハウスダスト試料 (約 25 mg を秤取)は、内部標準物質 (DEP-d4, DnPP-d4, DnBP-d4, DnPentylP-d4, BBP-d4, DnHP-d4, DCHP-d4, DEHP-d4) を添加したジクロロメタン 3 mL で超音波抽出し、0.2 μm のフィルターで濾過した後、ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS) により分析した。対応する内部標準物質のない物質 (DiBP, DNOP, DINP, DIDP, TXIB, DINCH, DEHA, DINA, DEHT, ATBC, TOTM, 2-エチル-1-ヘキサノール, テキサノール) については、PEG 300 (ポリエチレングリコール) を分析ごとに 1 μL 注入されるように添加して分析を行なった上で、最も保持時間の近い内部標準物質を用いて解析した。また、一部の試料・物質は、5~1000 倍に希釈して再度分析を行った。25 mg のハウスダストに 2 μg の標準を添加した際の回収率は、DEP、DnPP、DiBP、DnBP、DnPentylP、BBP、DnHexylP、DCHP、DEHP については 95%~110%であり、そのばらつきは全て 10%を下回っていた。その他の物質については、PEG 300 を添加せずに分析した場合、添加回収率が 110%~160%と高くばらつきも大きかったため、PEG 300 を添加して分析した。その場合、DINA、TOTM、ATBC 以外の物質の添加回収率は、85%~97%であり、ばらつきも 10%を下回っていた。DINA、TOTM、ATBC については、添加回収率は 76%、112%、117%であり、TOTM はばらつきも 15%と大きかった。認証標準物質 NIST SRM2585 Organic Contaminants in House Dust の分析を行った結果、DEP・DiBP・DnHexylP・DCHP は 5.7~10.3 $\mu\text{g}/\text{g-dust}$ 、DnBP は 32 $\mu\text{g}/\text{g-dust}$ 、BBP は 100 $\mu\text{g}/\text{g-dust}$ 、DEHP は 590 $\mu\text{g}/\text{g-dust}$ で検出された。既存の値が報告されている DEP、DiBP、DnBP、BBP、DEHP については、既存の値とほぼ同等の値が得られた。

ホモジナイズ後に凍結乾燥させた食事試料 (約 2 g を秤取)は、超純水 8 mL 及び内部標準物質 (DEP-d4, DnPP-d4, DnBP-d4, DnPentylP-d4, BBP-d4, DnHP-d4, DCHP-d4, DEHP-d4, DEHA-d8, DEHT-d4) を添加したアセトニトリル 8 mL を追加後、塩析して、遠心分離・冷凍した後、その上澄み液に C18 及びフロリジルを 500 mg ずつ追加して振とうした後、GC-MS により分析した。内部標準物質としては、ATBC-d3 及び DINCH-d6 についても使用を検討したが、他成分の分析に影響が生じることから、最終的には使用しなかった。また、GC-MS としては、フタル酸エステル類 8 種 (DEP, DnPP, DnBP, DnPentylP, BBP, DnHP, DCHP, DEHP) については、Agilent 6890 GC - Agilent 5973MSD を、その他の物質については、Agilent 7890GC - Agilent 5977MSD を用いた。食事試料中のフタル酸エステル類の分析法についても検討を進めた。食事試料に対する DEP、DnPP、DiBP、DnBP、BBP、DnHexylP、DCHP、DEHP の添加回収率は、85%~105%であった。DnPentylP の回収率は少し低く、74%~88%であった。

PCPs 試料は、前述の内部標準物質を添加後、ヘキサンで超音波処理・振とう・遠心・上澄み分取を行った後、メタノールを添加して振とう・遠心・上澄み分取、再度ヘキサンで超音波処理・振とう・遠心・上澄み分取を行い、分取した上澄みを合わせた液を窒素吹付で濃縮後、GC-MS により分析した。添加回収率は、シャンプーなど 11 種類については 95%~110%であったが、洗顔フォームやクレンジングオイルなど 13 種類についてはバックグラウンドの影響のため、精確に測定できなかった。液状の PCPs 試料 11 種類については、約 1 mL を秤取後、内部標準物質を添加したアセトニトリル 2 mL を追加後、塩析して、遠心分離・冷凍し、その上澄み液に C18 及びフロリジルを 500 mg ずつ追加して振とうした後、GC-MS により分析した。

3) 曝露媒体中フェノール類分析

パラベン類 9 種 (メチルパラベン、エチルパラベン、*n*-プロピルパラベン、イソプロピルパラベン、*n*-ブチルパラベン、イソブチルパラベン、ベンジルパラベン、ペンチルパラベン、ヘプチルパラベン)、トリクロサン、トリクロカルバン、ベンゾフェノン類 5 種 (4-水酸化ベンゾフェノン、ベンゾフェノン 1、ベンゾフェノン 2、ベンゾフェノン 3、ベンゾフェノン 8)、ビスフェノール類 7 種 (ビスフェノール A、ビスフェノール AF、ビスフェノール B、ビスフェノール C、ビスフェノール F、ビスフェノール S、ビスフェノール Z)、テトラプロモビスフェノール A、アルキルフェノール類 4 種 (4-ノニルフェノール、*n*-ノニルフェノール、4-*t*-オクチルフェノール、*n*-オクチルフェノール) の計 24 種を対象物質として、UFLC (Shimadzu UFLC-XR) - MS/MS (Sciex QTRAP 5500) で定性・定量した。

ハウスダスト試料 ($n = 92$) は、5 mg を 1.5 mL マイクロチューブに計量し、MeOH / CH₃CN (1:1, v/v) 300 μL 、内部標準物質混合溶液 20 μL を添加後、超音波抽出処理した。遠心分離 (12000 g, 10 min, 4 °C)

により得た上澄み液を 10 mL ガラス試験管に採取した。残渣に対して同様の抽出操作を再度行った。抽出液の上澄み液に Milli-Q water 400 μ L、5% NH₄OH を 25 μ L 添加して、振とうした。逆相-陰イオン交換ミックスモードポリマーが充填された Oasis® MAX カートリッジを、MTBE 1 mL、MeOH 1 mL、Milli-Q water 1 mL でコンディショニングした後、抽出液を負荷した。その後、5% NH₄OH 1 mL、5% NH₄OH in MeOH 1 mL、2% ギ酸含有 Milli-Q water / MeOH (6 : 4) 1 mL の順にカートリッジに通水して洗浄後、吸引によりカートリッジを乾燥させた。乾燥後、2% ギ酸含有 MTBE / MeOH (3 : 7) 1 mL を用いて、カートリッジに保持された対象化学物質を抽出した。その後、窒素気流下で乾固まで濃縮し、Bisphenol AF-d4 20 μ L、CH₃CN 230 μ L、Milli-Q water 750 μ L を加えて再溶解後、シリンジフィルター (0.2 μ m) でろ過した溶液を最終試料溶液とした。本分析法の日内・日間変動は 15%以内、内部標準物質による補正回収率は 70~120%、内部標準物質の回収率は 50~150%を示した。

介入試験期間中に提供した食事試料 ($n = 76$) は、QuEChERS 法により抽出・精製した。凍結乾燥後、1 g を 50 mL ポリプロピレン遠沈管に計量し、Milli-Q water 2 mL、CH₃CN 3.25 mL、内部標準物質混合溶液 250 μ L を添加した。1 分間振とうしたのち、Supel QuE Citrate (EN) を添加して再度 1 分間振とうした。続いて、遠心分離 (2000 rpm, 5 min) を行い、上澄み液 550 μ L を Supel QuE PSA/C18 (EN) に添加した。1 分間振とうしたのち、遠心分離 (3000 g, 5 min) した。その後、上澄み液 220 μ L をガラスバイアルに採取し、Bisphenol AF-d4 20 μ L、CH₃CN 230 μ L、Milli-Q water 750 μ L を加えて振とう後、シリンジフィルター (0.2 μ m) でろ過した溶液を最終試料溶液とした。本分析法の日内・日間変動は 15%以内、内部標準物質による補正回収率は 70~120%、内部標準物質の回収率は 50~150%を示した。

介入試験期間中に提供した飲料水 ($n = 8$) は、逆相-陰イオン交換ミックスモードポリマーが充填された Oasis® MAX カートリッジを用いて固相抽出した。飲料水 250 μ L に、MeOH 150 μ L、内部標準物質混合溶液 20 μ L、Milli-Q water 400 μ L、5% NH₄OH を 25 μ L 添加して、振とうした。抽出液を Oasis® MAX カートリッジに負荷した。その後、5% NH₄OH 1 mL、5% NH₄OH in MeOH 1 mL、2% ギ酸含有 Milli-Q water / MeOH (6 : 4) 1 mL の順にカートリッジに通水して洗浄後、吸引によりカートリッジを乾燥させた。乾燥後、2% ギ酸含有 MTBE / MeOH (3 : 7) 1 mL を用いて、カートリッジに保持された対象化学物質を抽出した。その後、窒素気流下で乾固まで濃縮し、Bisphenol AF-d4 20 μ L、CH₃CN 230 μ L、Milli-Q water 750 μ L を加えて再溶解後、シリンジフィルター (0.2 μ m) でろ過した溶液を最終試料溶液とした。

介入試験前日の 24h 蓄尿中パラベン類濃度が相対的に高値を示した被験者 10 名が、介入試験前日に使用したパラベン含有 PCP 製品 ($n = 24$) と介入試験期間中に配布したパラベンを含まない PCP 製品 ($n = 27$) を化学分析に供試した。試料 20 mg を 5 mL ポリプロピレンチューブに計量し、MeOH 2 mL を添加後、15 分間超音波抽出処理した。抽出液 100 μ L に MeOH 130 μ L、内部標準物質混合溶液 20 μ L、Milli-Q water 750 μ L を加えて攪拌し、1:1,000 (mg:mL) 溶液を作製した。また、抽出液 10 μ L に MeOH 220 μ L、内部標準物質混合溶液 20 μ L、Milli-Q water 750 μ L を加えて攪拌し、1:10,000 (mg:mL) 溶液を作製した。成分表示にパラベンと記載されている含有製品については、抽出液 10 μ L に MeOH 990 μ L を加えて 1/100 に希釈し、その希釈溶液 10 μ L に、MeOH 220 μ L、内部標準物質混合溶液 20 μ L、Milli-Q 750 μ L を加えて攪拌することにより 1:1,000,000 (mg:mL) 溶液を作製した。

4. 結果及び考察

1) 食事試料/PCPs 試料/ハウスダスト試料の採取

介入試験期間に参加者に提供した食事と同じものをもう一食分用意し(陰膳)、陰膳は一食分ごとにホモジナイズ後、冷凍した。冷凍した試料の一部を凍結乾燥した後、乳鉢やスパテル等を用いて粉碎した。粉碎した凍結乾燥試料は試料保存容器に分注した。試料保存容器は、分析対象物質による汚染や吸着等の影響に対応するためにポリプロピレン製チューブと褐色ガラスバイアルを用意した。本研究期間中に、介入試験はプレ試験 1 回、本試験 4 回を実施し、各試験期間に 14 食の提供(プレ試験のみ 16 食提供)を行ったため、陰膳試料として 72 検体が得られた。食事とは別に提供した間食(菓子、レトルト食品) 14 種は、5 つにグルーピングし、グルーピングした単位でホモジナイズ後、冷凍した。冷凍した試料の一部を凍結乾燥し、粉碎した凍結乾燥試料を試料保存容器に分注した。間食試料は 5 検体であつ

た。食事と一緒に参加者に提供した市販飲料（緑茶、コーヒー、紅茶、ジュース、ミネラルウォーター等）8種は、それぞれ種類ごとに試料保存容器に分注した。飲料試料は8検体であった。

PCPsはホモジナイズ後、分析対象物質による汚染や吸着等の影響に対応するためにポリプロピレン製チューブと褐色ガラスバイアルを用意し、PCPsの性状（固形、液状、クリーム状、泡状、シート状）に応じて3～10gをそれぞれ分注した。PCPsは参加者全員に配布した27種及び希望者に配布した3種の計30種（30検体）を化学分析用試料とした。参加者宅から採取したハウスダスト（100検体）は、ふるい分け後、250 μ m以下の画分を化学分析用のハウスダスト試料とした。

すべての曝露媒体試料（食事試料/PCPs試料/ハウスダスト試料）は、化学分析用試料として各分担機関に配布した。さらに長期保管用として分注した試料は国立環境研究所に-80 $^{\circ}$ Cにて保管した。

2)曝露媒体中フタル酸エステル類分析のQA/AC

ハウスダスト中フタル酸エステル類の定量下限値、添加回収率を表6に示す。25mgの標準ハウスダストに2 μ gの標準を添加した際の添加回収率は、DEP、DnPP、DiBP、DnBP、DnPentylP、BBP、DnHexylP、DCHP、DEHP、DIDP、TXIB、テキサノールについては95%～110%であり、そのばらつきは全て10%を下回っていた（表3-1）。一方、PEG 300を添加せずに分析した場合、DNOP、DINP、DINCH、DEHA、DINA、DEHT、ATBCは、添加回収率が110%～160%と高く、ばらつきも大きかった。PEG 300を添加して分析した場合、DINA、TOTM、ATBC以外の物質の添加回収率は、85%～97%であり、ばらつきも10%を下回っていた（表3-1）。DINAについては、76%と少し低く、TOTM、ATBCについては112%及び117%と少し高く、TOTMはばらつきも15%と大きかった（表-3.1）。また、認証標準物質NIST SRM2585 Organic Contaminants in House Dustの分析を行った結果、DEP・DiBP・DnHexylP・DCHPは5.7～10.3 μ g/g-dust、DnBPは32 μ g/g-dust、BBPは100 μ g/g-dust、DEHPは590 μ g/g-dustで検出された。これらの内、既存の値が報告されているDEP、DiBP、DnBP、BBP、DEHPについては、既存の値とほぼ同等の値であった（表-3.2）。

表-3.1 ハウスダスト中のフタル酸エステル類の定量下限値及び添加回収率

物質	直線性範囲	決定係数	定量下限 [μ g/g-dust] ^{*1}	JIS 15 dust への 添加回収率	PEG 添加
DEP	0.01-5	1.00	0.6	101% \pm 3.1%	なし
DnPP	0.01-2	1.00	0.6	101% \pm 2.3%	なし
DiBP	0.01-2	0.999	0.6	104% \pm 2.0%	なし
DnBP	0.01-5	1.00	0.7	104% \pm 2.2%	なし
DnPentylP	0.01-5	1.00	0.6	99.2% \pm 2.4%	なし
フタル酸エ ステル類	DnHexylP	0.01-5	1.00	98.9% \pm 2.1%	なし
BBP	0.01-5	0.999	2.4	95.0% \pm 4.6%	なし
DCHP	0.01-5	1.00	0.6	94.9% \pm 3.3%	なし
DEHP	0.01-5	1.00	3.0	106% \pm 2.6%	なし
DNOP	0.01-2	0.999	1.2	85.5% \pm 3.5%	あり
DINP	0.02-2	0.995	2.3	96.8% \pm 7.9%	あり
DIDP	0.05-1	0.995	5.9	88.2% \pm 6.4%	あり
TXIB	0.009-2	0.996	1.1	94.2% \pm 3.0%	あり
DINCH	0.02-0.9	0.997	2.2	87.1% \pm 5.7%	あり
フタル酸エ ステル類代 替物	DEHA	0.009-0.9	1.000	89.2% \pm 2.4%	あり
DINA	0.05-2	0.996	5.5	76.0% \pm 3.7%	あり
DEHT	0.01-1	0.997	1.2	86.7% \pm 2.0%	あり
ATBC	0.02-1	0.996	2.5	112% \pm 4.3%	あり
TOTM	0.02-1	0.926	2.4	117% \pm 15%	あり
フタル酸エ ステル類の 分解物 (+溶 剤用途)	2E1H	0.008-0.8	0.999	87.3% \pm 9.1%	あり
テキサノール	0.01-2	1.000	1.1	89.9% \pm 9.9%	あり

※1 定量下限値は JIS 試験用粉体 15 種の blank の 10 σ もしくは検量線の直線性の下限

表-3.2 認証標準物質 NIST SRM2585 中のフタル酸エステル類測定結果

	本研究における測定値 [$\mu\text{g/g-dust}$]			文献値 [$\mu\text{g/g-dust}$]	
	Mean	SD	RSD	Bergh et al. (2012) ²⁾	Mercier et al. (2014) ³⁾
DEP	6.44	0.244	3.79%	6.7 \pm 0.34	8.24 \pm 0.74
DnPP		N.D. (<0.8)		-	-
DiBP	5.69	0.254	4.47%	6.0 \pm 0.26	6.67 \pm 0.40
DnBP	31.8	0.698	2.20%	31 \pm 1.1	33,3 \pm 2.3
DnPentylIP		N.D. (<0.8)		-	-
BBP	102	4.55	4.46%	93 \pm 1.9	98,7 \pm 7.9
DnHexylIP	10.3	2.03	19.7%	-	-
DCHP	9.85	1.26	12.8%	-	-
DEHP	591	14.6	2.47%	570 \pm 97	552 \pm 55

食事試料中のフタル酸エステル類の分析法についても検討を進めた。食事試料に対する DEP、DnPP、DiBP、DnBP、BBP、DnHexylIP、DCHP、DEHP の添加回収率は、85%~103%であった（表-3.3）。DnPentylIP の回収率は少し低く、74%~88%であった。

表-3.3 食事試料中のフタル酸エステル類の定量下限値及び添加回収率

物質名	直線性範囲	決定係数	定量下限 [$\mu\text{g/g-dry}$ food] ^{*1}	食事試料 A へ の添加回収率 ^{*2}	食事試料 B へ の添加回収率 ^{*2}	PEG 添 加
DEP	0.01-2	1.00	0.04	85.8% \pm 1.1%	87.8% \pm 0.22%	なし
DnPP	0.01-2	1.00	0.04	85.1% \pm 1.4%	86.8% \pm 1.0%	なし
DiBP	0.02-2	0.935	0.08	91.2% \pm 2.6%	95.6% \pm 0.35%	なし
DnBP	0.01-2	1.00	0.04	86.2% \pm 0.35%	86.1% \pm 1.2%	なし
DnPentylIP	0.01-2	0.997	0.04	88.0% \pm 1.0%	73.9% \pm 3.2%	なし
DnHP	0.01-2	0.996	0.04	88.3% \pm 6.4%	92.6% \pm 0.30%	なし
BBP	0.01-2	1.00	0.04	87.9% \pm 1.9%	87.3% \pm 0.89%	なし
DCHP	0.01-2	1.00	0.04	90.8% \pm 0.72%	103% \pm 1.4%	なし
DEHP	0.02-2	1.00	0.08	85.1% \pm 5.9%	92.6% \pm 4.9%	なし

PCPs 試料中のフタル酸エステル類の分析法についても検討を進めた。ヘキサン抽出を繰り返して濃縮する方法では、シャンプーなど 11 種類については添加回収率が 95%~110%であったが、洗顔フォームやクレンジングオイルなど 13 種類についてはバックグラウンドの影響のため、精確に測定できなかった。液状の PCPs11 種類については、おおむね添加回収率が 90%~110%であった。

3) 曝露媒体中フェノール系化合物分析の QA/AC

ハウスダスト試料中のパラベン類やトリクロサン、ビスフェノール類について、代替物質、関連物質を含めた分析法の日内・日間変動は 10%以内、内部標準物質による補正回収率は 76~110%、内部標準物質の絶対回収率は 44~96%を示した（表-3.4）。

測定対象とした食事試料中のパラベン類やトリクロサン、ビスフェノール類の分析法の日内・日間変動は 10%以内、内部標準物質による補正回収率はノニルフェノール類 4 種を除く他の物質では 74~120%を示した（表-3.5）。

表-3.4 ハウスダスト中フェノール系化合物の検出下限値・定量範囲及び添加回収率

Target Compound	MDL (ng/g)	Linearity range (ng/mL)	Determination Coefficient (R ²)	Relative recovery rate (mean \pm SD, %)	Absolute recovery rate (mean, %)
-----------------	---------------	-------------------------------	---	---	---

Methyl paraben	21	0.1-10	0.996	110 ± 3.7	84 ± 2.1
Ethyl paraben	1.0	0.01-10	0.999	98 ± 2.9	82 ± 0.48
<i>n</i> -Propyl paraben	1.5	0.01-10	0.998	99 ± 2.7	88 ± 1.3
Isopropylparaben	0.52	0.01-10	0.998	100 ± 0.81	85 ± 1.1
<i>n</i> -Butyl paraben	2.1	0.01-10	0.998	100 ± 9.8	96 ± 6.6
Isobutyl paraben	1.3	0.01-10	0.998	91 ± 6.6	88 ± 3.0
Benzyl paraben	0.72	0.005-2	0.998	96 ± 1.9	93 ± 2.8
Heptyl paraben	0.57	0.002-2	0.997	78 ± 0.23	90 ± 3.1
Pentyl paraben	0.30	0.002-2	0.997	91 ± 0.46	91 ± 0.57
Triclosan	1.6	0.02-20	0.999	100 ± 3.7	77 ± 11
Triclocarban	2.4	0.01-10	0.999	110 ± 1.5	48 ± 24
4-Hydroxybenzophenone	2.0	0.02-20	0.999	110 ± 1.7	90 ± 1.9
Benzophenone-1	1.7	0.01-10	0.998	95 ± 8.5	89 ± 2.9
Benzophenone-2	0.54	0.01-10	0.998	91 ± 9.5	76 ± 6.4
Benzophenone-3	3.3	0.01-50	0.999	100 ± 4.0	78 ± 3.6
Benzophenone-8	1.8	0.02-20	0.999	79 ± 6.2	74 ± 3.2
Bisphenol A	96	0.1-50	0.999	76 ± 12	66 ± 2.5
Bisphenol AF	0.36	0.002-2	0.999	98 ± 3.0	81 ± 1.4
Bisphenol B	2.4	0.05-50	0.998	78 ± 2.9	63 ± 1.8
Bisphenol C	6.0	0.1-50	0.998	83 ± 6.0	71 ± 4.3
Bisphenol F	15	0.1-50	0.999	94 ± 1.3	72 ± 0.88
Bisphenol S	0.90	0.01-10	0.998	110 ± 2.0	94 ± 2.2
Bisphenol Z	9.0	0.1-50	0.999	89 ± 2.2	70 ± 3.4
TBBPA	15	0.1-50	0.999	93 ± 2.4	67 ± 22
4-nonylphenol isomers	180	1-50<	0.998	81 ± 19	44 ± 12
4- <i>n</i> -Nonylphenol	9.6	0.1-50<	0.999	100 ± 3.3	56 ± 4.7
4- <i>tert</i> -Octylphenol	100	0.1-50<	0.998	99 ± 15	55 ± 7.6
4- <i>n</i> -Octylphenol	110	0.1-50<	0.999	100 ± 4.0	63 ± 0.70

表-3.5 食事試料中フェノール系化合物の検出下限値・定量範囲及び添加回収率

Target Compound	MDL (ng/g dry weight)	Linearity range (ng/mL)	Determination Coefficient (R ²)	Relative recovery rate (mean ± SD, %)	
				10 ng/g	50 ng/g
Methyl paraben	3.7	0.1-10	0.996	120 ± 4.5	100 ± 2.2
Ethyl paraben	0.083	0.01-10	0.999	110 ± 4.8	99 ± 1.3
<i>n</i> -Propyl paraben	0.092	0.01-10	0.998	96 ± 1.3	96 ± 0.76
Isopropylparaben	0.11	0.01-10	0.998	98 ± 1.3	100 ± 0.87
<i>n</i> -Butyl paraben	0.20	0.01-10	0.998	110 ± 8.0	100 ± 11
Isobutyl paraben	0.17	0.01-10	0.998	110 ± 10	90 ± 2.2
Benzyl paraben	0.017	0.005-2	0.998	100 ± 1.9	96 ± 1.4
Heptyl paraben	0.026	0.002-2	0.997	74 ± 2.0	74 ± 0.50
Pentyl paraben	0.0078	0.002-2	0.997	100 ± 2.7	89 ± 0.58
Triclosan	1.6	0.02-20	0.999	120 ± 8.0	93 ± 13
Triclocarban	0.32	0.01-10	0.999	96 ± 2.4	97 ± 4.9
4-Hydroxybenzophenone	1.6	0.02-20	0.999	94 ± 2.4	97 ± 0.76
Benzophenone-1	0.052	0.01-10	0.998	75 ± 5.2	74 ± 0.76
Benzophenone-2	0.069	0.01-10	0.998	110 ± 3.5	120 ± 0.29
Benzophenone-3	1.2	0.01-50	0.999	96 ± 0.66	99 ± 2.5
Benzophenone-8	0.12	0.02-20	0.999	120 ± 1.0	110 ± 11
Bisphenol A	19	0.1-50	0.999	(<MDLのため算出不可)	100 ± 16
Bisphenol AF	0.079	0.002-2	0.999	98 ± 1.0	95 ± 3.0
Bisphenol B	0.42	0.05-50	0.998	110 ± 6.2	100 ± 0.29
Bisphenol C	1.9	0.1-50	0.998	96 ± 3.9	96 ± 3.5
Bisphenol F	0.41	0.1-50	0.999	93 ± 3.9	94 ± 3.3
Bisphenol S	0.26	0.01-10	0.998	96 ± 2.1	100 ± 2.8
Bisphenol Z	0.13	0.1-50	0.999	85 ± 6.1	84 ± 1.3
TBBPA	1.4	0.1-50	0.999	100 ± 0.29	88 ± 0.29
4-nonylphenol isomers*	130	1-50<	0.998		
4- <i>n</i> -Nonylphenol*	9.8	0.1-50<	0.999	120 ± 15	90 ± 6.6

4- <i>tert</i> -Octylphenol*	5.4	0.1-50<	0.998	100 ± 17	91 ± 4.6
4- <i>n</i> -Octylphenol*	5.0	0.1-50<	0.999	19 ± 5.8	13 ± 3.6

*回収率や操作ブランクの観点から、最終的には食事試料の測定対象物質から除外

4) 曝露媒体中フタル酸エステル類分析

添加回収率が良好であった 14 物質についてのハウスダスト中のフタル酸エステル類、代替物、分解物の濃度を表-3.6 に示す。DEHP は、100%の住宅のハウスダストで検出され、平均値は $2.9 \times 10^3 \mu\text{g/g-dust}$ 、最大値は $1.6 \times 10^4 \mu\text{g/g-dust}$ であった。DEHP 以外の物質は、6 軒の住宅のハウスダストは試料が少なすぎたため、測定対象外とした。DEHP の他に 70%以上の住宅で検出したのは、DiBP (検出率 95%; 平均値 $4.8 \mu\text{g/g-dust}$; 最大値 $25 \mu\text{g/g-dust}$)、DnBP (検出率 98%; 平均値; $41 \mu\text{g/g-dust}$)、DINP (検出率 100%; 平均値; $2.5 \times 10^2 \mu\text{g/g-dust}$)、DIDP (検出率 61%; 平均値; $7.2 \mu\text{g/g-dust}$)、DINCH; 検出率 79%; 平均値; $76 \mu\text{g/g-dust}$)、TXIB (検出率 75%; 平均値; $1.6 \mu\text{g/g-dust}$)、DEHA (検出率 100%; 平均値; $26 \mu\text{g/g-dust}$)、DEHT (検出率 100%; 平均値; $3.1 \times 10^2 \mu\text{g/g-dust}$)、ATBC (検出率 93%; 平均値; $1.1 \times 10^2 \mu\text{g/g-dust}$)、TOTM (検出率 100%; 平均値; $32 \mu\text{g/g-dust}$)、2-エチル-1-ヘキサノール (検出率 99%; 平均値; $7.1 \mu\text{g/g-dust}$)、テキサノール (検出率 83%; 平均値; $6.4 \mu\text{g/g-dust}$) であった。出荷量ベースでは、2020 年度に DINP が DEHP を上回っているが、住宅内ではまだ DEHP の存在量が DINP を大きく上回っていることが確認された。

表-3.6 ハウスダストに含まれるフタル酸エステル類等の濃度 (DEHP は n=100, それ以外は n=94)

物質	ダスト中濃度 [$\mu\text{g/g-dust}$]		検出率	
	平均	SD		
DEP	0.451	0.664	42.6%	
DnPP	N.D.(<0.3)	N.D.(<0.3)	10.6%	
DiBP	4.83	4.96	94.7%	
DnBP	40.9	124	97.9%	
DnPentylP	N.D.(<0.5)	N.D.(<0.5)	10.6%	
フタル酸エステル類	DnHexylP	N.D.(<1.2)	N.D.(<1.2)	1.06%
	BBP	2.38	4.11	25.5%
	DCHP	0.391	0.810	54.3%
	DEHP	2937	2702	100%
	DNOP	2.30	6.40	26.6%
	DINP	249	213	100%
	DIDP	7.82	8.02	60.6%
	TXIB	1.60	1.50	74.5%
	DINCH	73.3	271	78.7%
フタル酸エステル類	DEHA	32.1	139.8	100%
代替物	DINA	13.0	30.8	38.3%
	DEHT	369	740	100%
	ATBC	100	381	92.6%
	TOTM	30.9	44.5	100%
フタル酸エステル類	2-エチル-1	7.13	4.57	98.9%
分解物	-ヘキサノール			
(溶剤としても使用)	テキサノール	6.41	10.0	83.0%

食事試料中のフタル酸エステル類の濃度を表-3.7 (調査時期毎; 2020 年 8 月、2021 年 2 月、2021 年 6 月、2021 年 7 月)、表-3.8 (朝、昼、夕、間食毎) に示す。DEHP は、99%の食事試料 (N=72) で検出され、食事試料の実重量当たり含有量の平均値は $0.070 \mu\text{g/g-wet weight}$ (標準偏差 (SD) : $0.085 \mu\text{g/g-wet weight}$) であった。DEHP の他に 50%以上の食事試料で検出したのは、DnBP (検出率: 68%、平均値:

0.0075 µg/g-wet weight、SD : 0.0069 µg/g-wet weight) であった。間食については、DEHP 及び DnBP が全ての試料(N=4)で検出した (平均値 : 0.31 µg/g-wet weight 及び 0.017 µg/g-wet weight、SD : 0.32 µg/g-wet weight 及び 0.012 µg/g-wet weight)。図-3.1 には、食事試料中のフタル酸エステル類の濃度と寄与割合を示しており、全ての食事・間食試料中で DEHP の寄与が大半を占めることが明らかとなった。添加回収率が良好であった PCPs のうち 18 種類の製品に含まれる DEHP 濃度は 0.0067~2.2 µg/g、DnBP 濃度は ND~0.094µg/g であった (表-3.9)。

表-3.7 食事試料中のフタル酸エステル類の濃度 (調査時期別、間食は除く)

物質名	プレ (N=16) [µg/g]		第 1 期 (N=14) [µg/g]		第 2 期 (N=14) [µg/g]	
	平均	SD	平均	SD	平均	SD
DEP	ND (<0.001 – <0.004)	-	ND (<0.001 – <0.004)	-	ND (<0.001 – <0.004)	-
DnPP	ND (<0.001 – <0.004)	-	ND (<0.001 – <0.004)	-	ND (<0.001 – <0.004)	-
DiBP	ND (<0.002 – <0.008)	-	ND (<0.003 – <0.007)	-	ND (<0.003 – <0.007)	-
DnBP	0.0062	0.0061	0.014	0.0073	0.011	0.0050
DnPentylP	ND (<0.001 – <0.004)	-	ND (<0.001 – <0.004)	-	ND (<0.001 – <0.004)	-
DnHexylP	ND (<0.001 – <0.004)	-	ND (<0.001 – <0.004)	-	ND (<0.001 – <0.004)	-
BBP	ND (<0.001 – <0.004)	-	ND (<0.001 – <0.004)	-	ND (<0.001 – <0.004)	-
DCHP	ND (<0.001 – <0.004)	-	ND (<0.001 – <0.004)	-	ND (<0.001 – <0.004)	-
DEHP	0.040	0.033	0.070	0.045	0.040	0.019

物質名	第 3 期 (N=14) [µg/g]		第 4 期 (N=14) [µg/g]	
	平均	SD	平均	SD
DEP	ND (<0.001 – <0.004)	-	ND (<0.002 – <0.005)	-
DnPP	ND (<0.001 – <0.004)	-	ND (<0.002 – <0.005)	-
DiBP	ND (<0.003 – <0.007)	-	ND (<0.003 – <0.01)	-
DnBP	0.0039	0.0019	ND (<0.002 – <0.005)	-
DnPentylP	ND (<0.001 – <0.004)	-	ND (<0.002 – <0.005)	-
DnHexylP	ND (<0.001 – <0.004)	-	ND (<0.002 – <0.005)	-
BBP	ND (<0.001 – <0.004)	-	ND (<0.002 – <0.005)	-
DCHP	ND (<0.001 – <0.004)	-	ND (<0.002 – <0.005)	-
DEHP	0.14	0.16	0.059	0.029

※プレ : 2020 年 8 月、第 1 期 : 2020 年 10 月、第 2 期 : 2021 年 2 月、第 3 期 : 2021 年 6 月、第 4 期 ; 2021 年 7 月

表-3.8 食事試料中のフタル酸エステル類の濃度 (食事別)

物質名	全食事 (N=72) [µg/g]	朝食 (N=26) [µg/g]	昼食 (N=25) [µg/g]
-----	-------------------	------------------	------------------

	平均	SD	平均	SD	平均	SD
DEP	ND (0.001 – 0.005)	-	ND (0.001 – 0.003)	-	ND (0.002 – 0.005)	-
DnPP	ND (0.001 – 0.005)	-	ND (0.001 – 0.003)	-	ND (0.002 – 0.005)	-
DiBP	ND (0.001 – 0.005)	-	ND (<0.003 – <0.007)	-	0.003154786	0.0007
DnBP	0.0075	0.0069	0.0052	0.0064	0.0097	0.0078
DnPentylP	ND (0.001 – 0.005)	-	ND (0.001 – 0.003)	-	ND (0.002 – 0.005)	-
DnHexylP	ND (0.001 – 0.005)	-	ND (0.001 – 0.003)	-	ND (0.002 – 0.005)	-
BBP	ND (0.001 – 0.005)	-	ND (0.001 – 0.003)	-	ND (0.002 – 0.005)	-
DCHP	ND (0.001 – 0.005)	-	ND (0.001 – 0.003)	-	ND (0.002 – 0.005)	-
DEHP	0.070	0.085	0.056	0.050	0.089	0.13

物質名	夕食 (N=21) [μg/g]		間食 (N=4) [μg/g]	
	平均	SD	平均	SD
DEP	ND (0.002 – 0.003)	-	ND (<0.003 – <0.009)	-
DnPP	ND (0.002 – 0.003)	-	ND (<0.003 – <0.009)	-
DiBP	ND (0.002 – 0.003)	-	ND (<0.006 – <0.019)	-
DnBP	0.0078	0.0056	0.017	0.012
DnPentylP	ND (0.002 – 0.003)	-	ND (<0.003 – <0.009)	-
DnHexylP	ND (0.002 – 0.003)	-	ND (<0.003 – <0.009)	-
BBP	ND (0.002 – 0.003)	-	ND (<0.003 – <0.009)	-
DCHP	ND (0.002 – 0.003)	-	0.063	0.12
DEHP	0.064	0.044	0.31	0.32

※プレ：2020年8月、第1期：2020年10月、第2期：2021年2月、第3期：2021年6月、第4期；
2021年7月

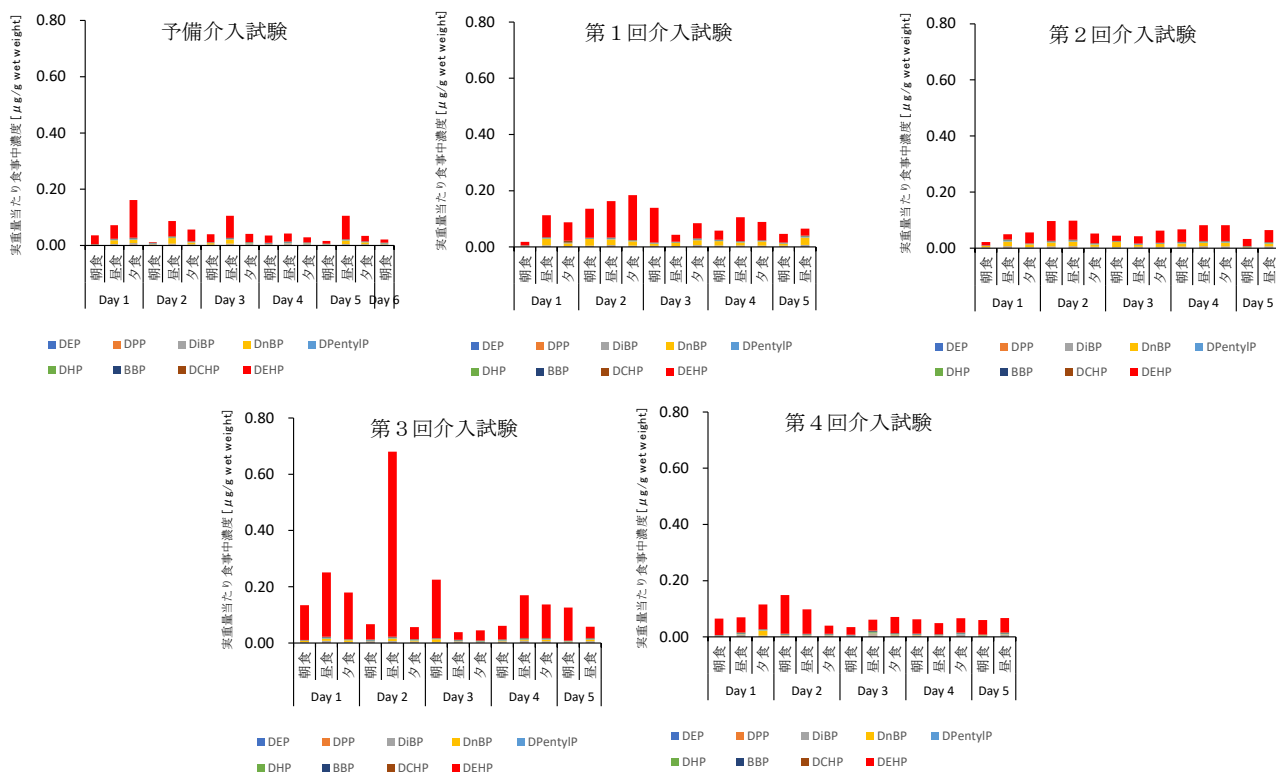


図-3.1 実重量当たりの食事中的フタル酸エステル類等の濃度

表-3.9 PCPs 製品に含まれるフタル酸エステル類濃度

	製品中含有量 [µg/g]		前処理
	DnBP	DEHP	
化粧水	0.0103	0.0703	塩析-アセトニトリル
乳液	0.0944	1.01	塩析-アセトニトリル
美容液	0.0162	0.373	塩析-アセトニトリル
化粧下地	N.D.(<0.0046)	0.0410	ヘキサン
ファンデーション	N.D.(<0.0041)	2.20	ヘキサン
ボディローション	0.0123	0.122	塩析-アセトニトリル
ハンドクリーム	0.0220	0.420	ヘキサン
クレンジングオイル	0.00905	0.103	塩析-アセトニトリル
ボディソープ	N.D.(<0.0033)	0.0630	ヘキサン
ハンドソープ	N.D.(<0.0038)	0.150	ヘキサン
ハミガキ粉	N.D.(<0.0034)	0.0150	ヘキサン
70%エタノール	0.0115	0.0225	塩析-アセトニトリル
マウスウォッシュ	0.00412	0.00864	塩析-アセトニトリル
ヘアトニック	0.0124	0.0375	塩析-アセトニトリル
虫刺され薬	0.00882	0.0147	塩析-アセトニトリル
虫よけジェル	N.D.(<0.0032)	0.0620	ヘキサン
コンタクトレンズ洗浄液	ND (<0.018)	0.00668	塩析-アセトニトリル
点眼薬	0.00189	0.0138	塩析-アセトニトリル

5) 曝露媒体中フェノール系化合物分析

介入試験前日に被験者 10 名が使用したパラベン含有製品（成分表示にパラベンの記載がある製品）からメチルパラベン、エチルパラベン、プロピルパラベンが検出された（表-3.10）。それぞれの検出率は 100%、42%、54%、最大濃度は 2700、2.3、1300 $\mu\text{g/g}$ であったことから、パラベン類の中でもメチルパラベンに相当量曝露されていることが示された。介入試験期間中に配布した代替製品（成分表示にパラベンの記載がない製品）については、ほとんどの製品においてパラベン類は未検出、一部から検出されたものの極めて低濃度であった。

表-3.10 被験者 10 名が Day0 に使用したパラベン含有 PCP 製品に含まれるフェノール系化合物濃度

	製品中含有量 [Mean,Min-Max, $\mu\text{g/g}$]		
	メチルパラベン	エチルパラベン	プロピルパラベン
化粧水	2000 (1200~3200)	0.53 (<0.016~2.3)	<0.010 (<0.010~1.5)
乳液・保湿クリーム	2300 (2200~2500)	<0.016 (<0.016~0.018)	440 (<0.010~1300)
フェイスパウダー	870	0.017	0.025
トリートメント・コンディショナー	2000 (1900~2000)	<0.016	<0.010 (<0.010~0.028)
洗顔料	2000	<0.016	0.011
ボディソープ	18 (14~22)	<0.016	6.9 (4.6~9.1)
髭剃りジェル・クリーム	1300 (800~1900)	0.029 (<0.016~0.051)	4.5 (<0.010~9.0)
歯磨き粉	1700 (1500~1700)	0.15 (0.063~0.28)	0.056 (<0.010~0.20)

介入試験期間中に提供した食事試料から、メチルパラベン、エチルパラベン、プロピルパラベン、ベンジルパラベン、ヘプチルパラベン、ペンチルパラベン、トリクロサン、ビスフェノール A、ビスフェノール S、ビスフェノール F が検出された（図-3.2）。中でもトリクロサンは相対的に高濃度（<MDL~110 ng/g wet weight ）を示した。食品を調査したアメリカの先行研究において、サンドイッチやブリトーなどの食品からトリクロサンが比較的高濃度で検出されている（検出率：58%、最大濃度：22 ng/g ）¹⁾。トリクロサンは抗菌剤として、まな板等の抗菌調理器具に使用されていることから、調理過程においてトリクロサンが食品に移行した可能性が考えられる。

ハウスダスト試料の 50%以上の検体から、メチルパラベン、エチルパラベン、n-プロピルパラベン、iso-プロピルパラベン、n-ブチルパラベン、ベンジルパラベン、トリクロサン、トリクロカルバン、4-水酸化ベンゾフェノン、ベンゾフェノン 1、ベンゾフェノン 3、ビスフェノール A、ビスフェノール AF、ビスフェノール F、ビスフェノール S、テトラブromoビスフェノール A、分岐 4-ニルフェノール異性体が検出された（図-3.3）。濃度はビスフェノール A が最も高く（中央値：14,000 ng/g ）、次いでメチルパラベン（中央値：4,700 ng/g ）、分岐 4-ニルフェノール異性体（中央値：1,200 ng/g ）の順に高値を示した。

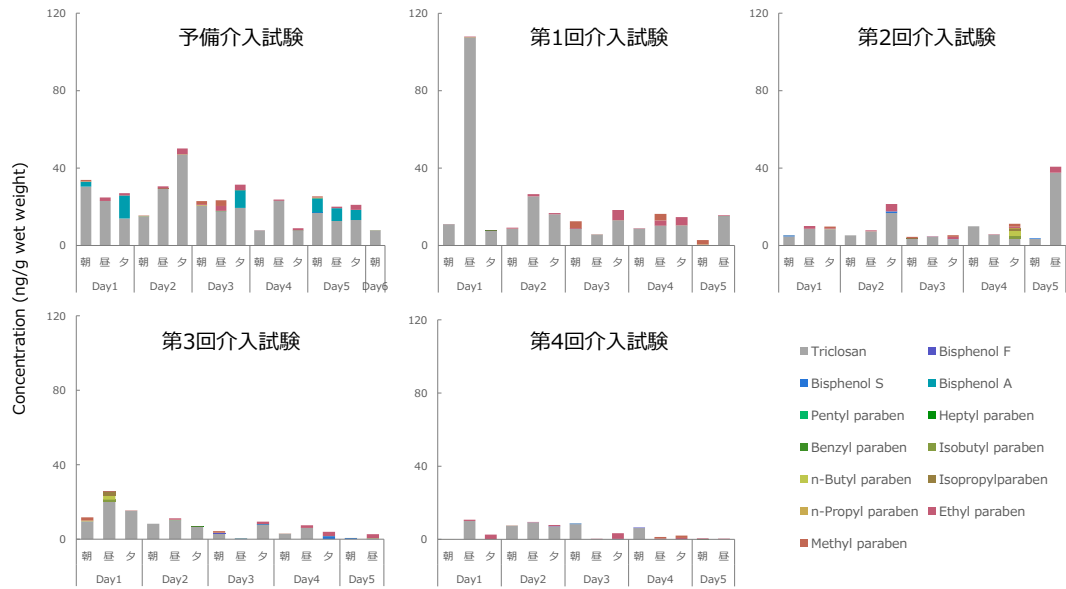


図-3.2 食事中のフェノール系化合物の濃度

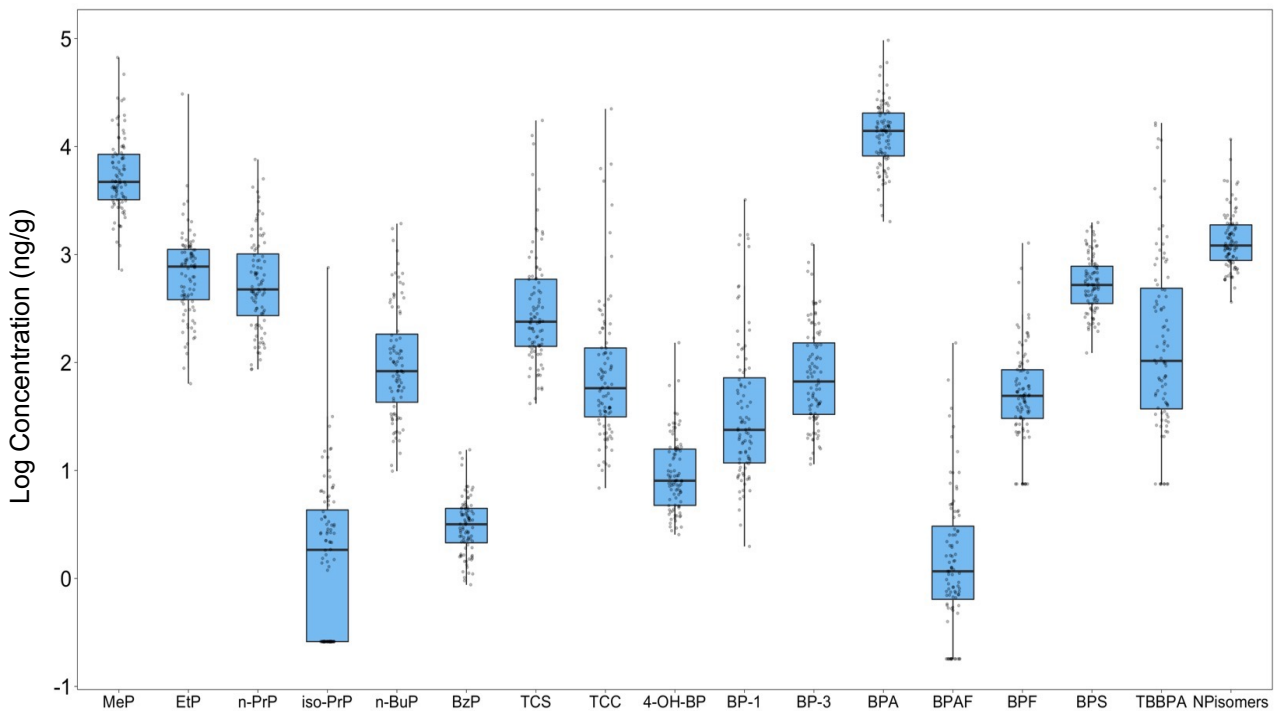


図-3.3 ハウスダスト中のフェノール系化合物の濃度（検出率 50%以上の物質のみ表示）

4)フタル酸エステル類への曝露量推計

EPA の Exposure Factors Handbook (US EPA 2017) ⁴⁾に基づき、ハウスダストを 20 mg/day で摂食すると仮定して、ハウスダスト中のフタル酸エステル類への曝露量を算出した(表-3.11)。食事からの曝露量については、陰膳での食事全量に接触率を掛けて摂食した食事の重量を求め、食事試料中のフタル酸エステル類の濃度を掛け合わせて求めた。また、間食の内、朝昼夕食後 15 分以内に摂った間食はそれぞれの食事を含め、それ以外の間食を間食として計算を行った。PCPs 製品については、それぞれの製品の 1 日当たりの使用量及び生物学的利用能 (bioavailability) を掛け合わせて曝露量を求めた。経皮曝露についての生物学的利用能 (bioavailability) は、デンマーク家畜食品局 (DVFA) (2003) の報告書 ⁵⁾を参考

に、DnBP は 100%、DEHP は 5%とした。使用量の多いシャンプーとリンスについては、濃度データが得られなかったが、ボディソープと同じ濃度だったと仮定して計算を行った。

本研究では、ハウスダスト由来の曝露量の割合は DnBP 及び DEHP に対して、それぞれ 5.8%±9.6%及び 30%±17%であった（表-3.12）。鈴木（2014）の研究⁶⁾では、DnBP 及び DEHP に対するハウスダスト由来の曝露の割合（平均±SD）は、DnBP 及び DEHP でそれぞれ 48%±24%及び 72%±18%であり、DnBP の寄与率が DEHP より小さい傾向は本研究と同様だったが、本研究の方がハウスダストの寄与率が小さかった。鈴木（2014）⁶⁾と比べて、本研究ではダスト由来の DnBP 及び DEHP の曝露量が 1/10 以下及び約 6 割であり、逆に食事由来の DnBP 及び DEHP の曝露量が 2 倍以上及び 1/2 以下であったことによる。Ji et al.(2014)⁷⁾は、台湾におけるフタル酸エステル類の食事・飲料水・空気・土壌・ハウスダストからの曝露寄与率を求めており⁷⁾、DnBP 及び DEHP へのハウスダストの寄与率は 1.5%及び 7.4%、食事の寄与率は 6.6%及び 40%と報告している。本研究で対象としなかった飲料水と空気の寄与率が多く、ハウスダストの寄与率も低い。これは、Ji et al.(2014)の推定⁷⁾におけるハウスダスト中の DnBP 及び DEHP の濃度が本研究の約 1/10 及び約 1/1000 であることによる。PCPs 由来の曝露の寄与は、DnBP 及び DEHP で 2.2%±4.8% 及び 0.11%±0.094%と非常に小さかった。

表-3.11 ハウスダスト及び食事、PCPs を介した DnBP 及び DEHP の曝露量

	曝露量 [µg/day]						
	DnBP			DEHP			
	幾何平均値	幾何標準偏差	中央値	幾何平均値	幾何標準偏差	中央値	
ダスト	0.317	3.1	0.286	42.6	2.2	46.2	
食 事	朝食	1.7	2.6	1.95	24.0	1.6	25.7
	昼食	2.5		3.28	32.6	1.8	27.3
	夕食	3.7	1.7	3.61	33.5	1.4	32.3
	間食	—	—	1.32	—	—	17.7
PCPs 製品	0.108	3.7	0.152	0.141	1.8	0.145	

表-3.12 ハウスダスト及び食事、PCPs の DnBP 及び DEHP の曝露量に対する寄与率

	寄与率						
	DnBP (N=94)			DEHP (N=100)			
	中央値	算術平均	標準偏差	中央値	算術平均	標準偏差	
ダスト	2.9%	5.8%	9.6%	26%	30%	17%	
食 事	朝食	22%	19%	8.2%	15%	15%	5.1%
	昼食	27%	26%	10%	19%	22%	10%
	夕食	33%	36%	11%	20%	21%	8.0%
	間食	11%	13%	11%	9.9%	11%	12%
PCPs 製品	1.3%	2.2%	4.8%	0.080%	0.11%	0.094%	

5) フェノール系化合物の曝露量推計

EPA の Exposure Factors Handbook (US EPA 2017)⁴⁾に基づき、ハウスダストを 20 mg/day で摂食すると仮定して、ハウスダスト中フェノール系化合物への曝露量を算出した。食事からの曝露量については、陰膳による食事摂取重量を食事試料中の濃度を掛け合わせて求めた。PCPs については、使用量は提供した PCPs 製品の差分、使用回数は個人アンケートの値、保持係数は製品の使用形態に応じて 0.01~1 (SCCS, 2021)⁸⁾とし、PCPs 製品中濃度と掛け合わせて、PCPs 製品からの曝露量を算出した。

パラベン類のうち、メチルパラベン、エチルパラベン、n-プロピルパラベンについて、介入試験前日 (Day0) の一日あたりの総曝露量を表-3.13 に示した(n=10)。また、比較のため介入試験期間中 (Day1-5) の一日あたりの総曝露量を表-3.14 に示した(n=88)。これらから、介入試験期間中は PCPs 製品の使用による曝露が低減されたことが確認された。さらに、介入試験前日 (Day0) の一日あたりの総曝露量に

対する PCPs 製品、食事、ハウスダスト由来の曝露の寄与を表-3.15 に示す。これにより、パラベン類のうちメチルパラベンについては日常生活下では PCPs 製品使用が主な曝露源であり、食事及びハウスダストを介した曝露の寄与割合は小さいことが明らかとなった。これは既存の報告とも一致しており、メチルパラベン類の曝露や体内動態を把握するには PCPs 製品の使用量と皮膚吸収率に関する情報の精緻化が必要と考えられる。一方で、エチルパラベンは食事を介した曝露がメインであり、n-プロピルパラベンは食事と PCPs 製品使用が同程度の寄与を示した。

表-3.13 介入試験前日 (Day0) のハウスダスト及び食事、PCPs を介したパラベン類の曝露量

	曝露量 [$\mu\text{g}/\text{day}$](n=10)								
	Methyl paraben			Ethyl paraben			n-Propyl paraben		
	GM	GSD	Median	GM	GSD	Median	GM	GSD	Median
ダスト	0.16	1.8	0.16	0.011	1.9	0.010	0.009	2.9	0.007
食事	朝食	0.17	1.2	0.17	0.015	2.0	0.010	1.9	0.008
	昼食	0.17	1.1	0.16	0.36	1.6	0.45	2.0	0.008
	夕食	0.36	1.3	0.41	0.77	1.2	0.76	2.7	0.059
PCPs 製品	2100	7.7	3900	0.028	18	0.022	0.16	88	0.10

表-3.14 介入試験期間中 (Day1-5) のハウスダスト及び食事、PCPs を介したパラベン類の曝露量

	曝露量 [$\mu\text{g}/\text{day}$](n=88)								
	Methyl paraben			Ethyl paraben			n-Propyl paraben		
	GM	GSD	Median	GM	GSD	Median	GM	GSD	Median
ダスト	0.11	2.2	0.093	0.01	2.5	0.016	0.01	2.5	0.009
食事	朝食	0.23	1.7	0.17	0.03	2.6	0.017	2.6	0.031
	昼食	0.21	1.3	0.2	0.34	1.6	0.45	1.6	0.012
	夕食	0.26	1.4	0.24	0.79	1.4	0.76	1.4	0.026
PCPs 製品	0.25	2.8	0.33	0.12	2.8	0.16	0.07	2.9	0.099

表-3.15 ハウスダスト及び食事、PCPs のパラベン類の曝露量に対する寄与率 (Day0)

	寄与率 (中央値) (%) (n=10)		
	Methyl paraben	Ethyl paraben	n-Propyl paraben
ダスト	0.003	1.0	4.0
食事	0.02	97	46
PCPs	100	2.0	50

5. 研究目標の達成状況

目標どおりの成果をあげた。

フタル酸エステル類及び代替物質・分解物 (フタル酸エステル類 12 種、代替物質 7 種、分解物 2 種)、フェノール系化合物 (パラベン類 9 種、トリクロサン・トリクロカルバン、ベンゾフェノン類 5 種、ビスフェノール類 7 種、テトラブロモビスフェノール A、アルキルフェノール類 4 種の計 24 種) を対象として、各種曝露媒体試料に適用可能な分析法を確立した。フタル酸エステル類及び代替物質・分解物については、ハウスダスト及び食事中濃度の標準添加回収率はそれぞれ 76~106%、74~105%であり、併行精度はともに 10%以内であった。パーソナルケア製品 17 種中濃度の添加回収率は 90~110%であった。フェノール系化合物については、ハウスダスト・食事試料中濃度の測定値の日内・日間変動は 15%以内、内部標準物質による補正回収率は 76~110%、74~120%、ハウスダスト試料の絶対回収率は 48~96%であった。次に、確立した分析法を用いて、ハウスダスト・食事・パーソナルケア製品試料に含まれるフタル酸エステル類及び代替物質、フェノール系化合物の計測を行い、曝露媒体経由の曝露量、寄与率を明らかとし、サブテーマ 1 で実施する体内濃度を予測するモデル構築に必要なデータを取得した。以上の成果から、当初の目的は十分達成したといえる。

6. 引用文献

- 1) Morgan MK, Clifton MS. Dietary Exposures and Intake Doses to Bisphenol A and Triclosan in 188 Duplicate-Single Solid Food Items Consumed by US Adults. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18(8).
- 2) Bergh C, Luongo G, Wise S, Östman CJA, chemistry b. Organophosphate and phthalate esters in standard reference material 2585 organic contaminants in house dust. 2012;402(1):51-9.
- 3) Mercier F, Gilles E, Saramito G, Glorennec P, Le Bot BJJCA. A multi-residue method for the simultaneous analysis in indoor dust of several classes of semi-volatile organic compounds by pressurized liquid extraction and gas chromatography/tandem mass spectrometry. 2014;1336:101-11.
- 4) U.S. Environmental Protection Agency (EPA), 2017, Update for Chapter 5 of the Exposure Factors Handbook -Soil and Dust Ingestion-, EPA/600/R-17/384F.
- 5) デンマーク家畜食品局 The Danish Veterinary and Food Administration (DVFA)(2003) Human exposure to selected phthalates in Denmark,
<http://www.foedevarestyrelsen.dk/Publikationer/Alle%20publikationer/2003015.pdf>
- 6) 鈴木, 2014. フタル酸エステル類曝露による男性生殖系発達・機能への影響に関する疫学調査及び健康リスク評価, 東京大学大学院新領域創成科学研究科博士論文
- 7) Ji Y, Wang F, Zhang L, Shan C, Bai Z, Sun Z, et al. A comprehensive assessment of human exposure to phthalates from environmental media and food in Tianjin, China. *Journal of hazardous materials*. 2014;279:133-40.
- 8) The SCCS Notes of Guidance for the testing of cosmetic ingredients and their safety evaluation, 11th revision, 30-31 March 2021, SCCS/1628/21.

II-4 生体試料計測による化学物質体内動態の把握

国立大学法人 愛媛大学

沿岸環境科学研究センター（教授） 国末達也

沿岸環境科学研究センター（講師） 仲山慶

沿岸環境科学研究センター（助教） 田上瑠美

〔要旨〕

内分泌かく乱作用が疑われているフェノール系化合物（パラベン類 9 種、トリクロサンとトリクロカルバン、ベンゾフェノン類 5 種、ビスフェノール類 7 種、テトラブロモビスフェノール A、アルキルフェノール類 4 種の計 24 種）を対象として、ヒト尿に適用可能な分析法を開発した。本分析法の日内・日間変動は 15%以内、内部標準物質による補正回収率は 73~120%、内部標準物質の回収率は 50~150%を示し、さらに測定毎に分析した認証標準ヒト尿試料（SRM3673）における濃度変動は±20%以内と計画通り高精度分析法の確立に成功した。次に、確立した分析法を用いて、調査参加者のうち 73 名から採取した介入試験前日の 24h 蓄尿試料及び調査参加者 30 名の調査期間中に排泄された全ての随時尿試料を分析し、介入試験前日から介入試験期間中の濃度変動を解析した。その結果、パーソナルケア製品が主要な曝露源であるメチルパラベンは、介入試験期間中にパラベン類を含まないパーソナルケア製品を代替使用したため概して減少傾向を示した。一方、ビスフェノール F は概して一定濃度で推移し、介入試験期間中も継続した曝露経路が存在すると考えられた。フタル酸エステル類については、尿中代謝物 24 種の分析法（日内・日間変動：15%以内、補正回収率：79~124%）を確立し、調査参加者のうち 95 名から採取した介入試験前日の 24h 蓄尿試料及び調査参加者 20 名の調査期間中に排泄された全ての随時尿試料を分析し、介入試験前日から介入試験期間中の濃度変動を解析した。また、ネオニコチノイド系殺虫剤 9 種とそれらの代謝物 4 種及び忌避剤（Picaridin、DEET）と DEET 代謝物を対象に、調査参加者 5 名分の随時尿を分析し、濃度変動を解析した。その結果、一部の調査参加者において尿中濃度の急激な増加とその後の減少が確認された。このように、体内動態の解析や消失半減期の推定に必要な随時尿中の化学物質濃度の経時的推移について、調査参加者 5~30 名分のデータを集積することができた。加えて、尿中リン酸エステル系難燃剤の分析法開発にも成功し、調査参加者 73 名の介入試験前日の 24h 蓄尿試料を分析することにより、これら化学物質におけるヒト曝露実態も明らかにした。

1. 研究開発目的

本研究では、バイオモニタリングによって得られた体内濃度と、曝露モデルによって得られた曝露量とを結びつける曝露逆推計モデルの構築を目的とする。研究協力者を対象に、曝露媒体を一定期間コントロールすることで化学物質曝露量を把握する介入試験を実施し、曝露媒体試料・生体試料の計測と体内動態モデルを組み合わせることで、体内濃度から化学物質の曝露量を推計する手法を開発する。

サブテーマ 4 では、介入試験で採取した生体試料中の化学物質を分析することにより、体内動態の定量的な解析に必要な尿中濃度の経時的推移などの実測データを提供する。

2. 研究目標

バイオモニタリングに最適な分析法の開発と、介入試験で得られる生体試料の化学物質分析を目標とする。そのため、生体試料の採取頻度や前処理法の検討、適切な曝露マーカーの探索、測定精度・感度の向上を進め、生体試料分析法を最適化する。開発した分析法を用いて生体試料を分析し、尿中濃度の経時的推移など体内濃度を実測する。

3. 研究開発内容

1) 尿中フェノール系化合物分析

内分泌かく乱作用が疑われているフェノール系化合物（パラベン類 9 種、トリクロサンとトリクロカルバン、ベンゾフェノン類 5 種、ビスフェノール類 7 種、テトラブロモビスフェノール A、アルキルフェノール類 4 種の計 24 種）を対象として、ヒト尿に適用可能な分析法の確立に取り組んだ。確立した分析法（図-4.1）を用いて、介入試験前日に調査参加者 73 名から採取した 24h 蓄尿試料及び調査参加者 30 名から採取した全ての随時尿試料を化学分析に供試した。尿試料 250 μ l を 10 ml ガラス試験管に分取し、1.0 mol/l 酢酸アンモニウム緩衝液（ β -グルクロニダーゼ/アシルスルファターゼ含む）125 μ l を添加して脱抱合処理（37°C、16 時間）を行った。脱抱合後の溶液に、氷冷 MeOH 150 μ L、内部標準物質混合溶液、Milli-Q water 400 μ l、5% NH₄OH を 25 μ L 添加して、振とうした。逆相-陰イオン交換ミックスモードポリマーが充填された Oasis[®] MAX カートリッジを、MTBE 1 ml、MeOH 1 ml、Milli-Q water 1 ml でコンディショニングした後、抽出液を負荷した。その後、5% NH₄OH 1 ml、5% NH₄OH in MeOH 1 ml、2% ギ酸含有 Milli-Q water / MeOH (6 : 4) 1 ml の順にカートリッジに通水して洗浄後、吸引によりカートリッジを乾燥させた。乾燥後、2% ギ酸含有 MTBE / MeOH (3 : 7) 1 ml を用いて、カートリッジに保持された対象化学物質を抽出した。その後、窒素気流下で乾固まで濃縮し、Bisphenol AF-d4 20 μ l、CH₃CN 230 μ l、Milli-Q water 750 μ l を加えて再溶解して、これを最終試料溶液とした。

パラベン類 9 種（メチルパラベン、エチルパラベン、*n*-プロピルパラベン、イソプロピルパラベン、*n*-ブチルパラベン、イソブチルパラベン、ベンジルパラベン、ペンチルパラベン、ヘプチルパラベン）、トリクロサン、トリクロカルバン、ベンゾフェノン類 5 種（4-水酸化ベンゾフェノン、ベンゾフェノン 1、ベンゾフェノン 2、ベンゾフェノン 3、ベンゾフェノン 8）、ビスフェノール類 7 種（ビスフェノール A、ビスフェノール AF、ビスフェノール B、ビスフェノール C、ビスフェノール F、ビスフェノール S、ビスフェノール Z）、テトラブロモビスフェノール A、アルキルフェノール類 4 種（4-ノニルフェノール、*n*-ノニルフェノール、4-*t*-オクチルフェノール、*n*-オクチルフェノール）の計 24 種を対象物質として、液体クロマトグラフ（Shimadzu UFLC-XR）-タンデム質量分析計（Sciex 5500 QTRAP）で定性・定量した。

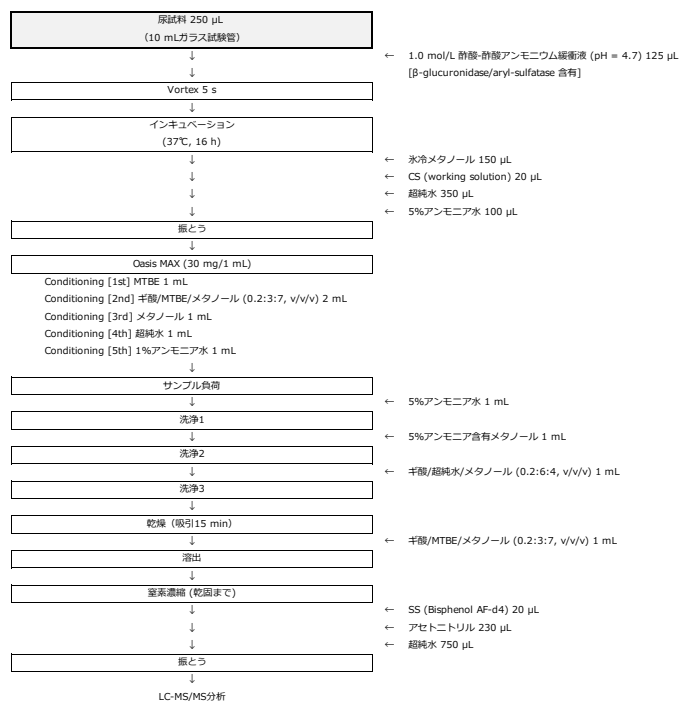


図-4.1 確立した分析法のフローチャート

2) 尿中ネオニコチノイド系殺虫剤分析

尿中のネオニコチノイド系殺虫剤及び関連物質 9 種 (Acetamiprid, Thiacloprid, Thiamethoxam, Dinotefran, Clothianidin, Imidacloprid, Nitenpyram, Sulfoxaflor, Flonicamid) 及び代謝物 4 種 (Thiacloprid-desmethyl, Acetamiprid-N-desmethyl, Clothianidin-desmethyl, Imidacloprid-olefin) を対象とした分析法を確立し、内部精度管理データを取得した。尿試料 100 μ l に内部標準溶液 10 μ l を添加し、10 μ l の 50%メタノール水溶液(v/v)と 600 μ l のアセトニトリルを加えて攪拌し、遠心分離後 (2000 x g, 1min) の上澄を ISOLUTE HYDRO DME+ (400mg/3ml)に通液した。遠心分離 (1000 x g, 1min) により抽出液を回収し、窒素による蒸発乾固後に 200 μ l の 5%メタノール/0.1%ギ酸/10mM 酢酸アンモニウム溶液で再溶解して測定溶液とした。ネオニコチノイド系殺虫剤及び代謝物 13 種は、超高速液体クロマトグラフ (Shimadzu Nexera X2 UHPLC) -タンデム質量分析計 (Shimadzu LCMS8060) で定性・定量した。分析カラムは Acquity UPLC HSS C18 (2.1mm i.d. x 100 mm x 1.8 μ m)を用いた。調査参加者のうち 5 名分について、調査期間中に排泄された全ての随時尿を化学分析に供試した。

3) 尿中忌避剤分析

忌避剤曝露評価に向けて、尿中 Picaridin、DEET 及びその代謝物である DHMB (N,N-diethyl-3-(hydroxymethyl)benzamide)、DCBA (3-(diethylcarbamoyl)benzoic acid)の測定法を確立し、介入調査で得られたヒト検体に適用した。

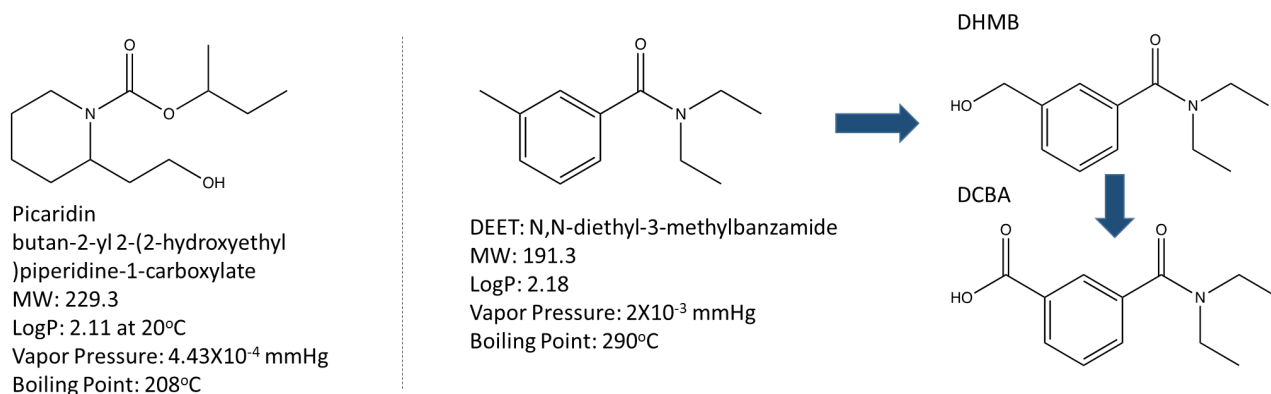


図-4.2 Picaridin、DEET とその尿中代謝物 (Tian and Yiin. 2014 を改変)

尿サンプルの前処理方法を図-4.3 に示す。Picaridin は Cayman Chemical Company、DEET は Cambridge Isotope Laboratories、DHMB 及び DCBA はコスモ・バイオ株式会社より購入した内部標準物質は Picaridin-D₃ 及び DEET-D₁₀ とした。固相抽出カラムは、EVOLUTE EXPRESS ABN 30 mg Plate (Biotage) を使用した。これらの精製及び抽出過程は自動固相抽出装置 Extrahera (バイオタージ・ジャパン株式会社) を使用した。20 代の男女 5 人の尿を混合し、クレアチニン濃度を 0.55 g/L になるように精製水で調整したものをプール尿として各種検討に使用した。

定量分析には、高速液体クロマトグラフータンデム質量分析計(LC-MS/MS) (Agilent Ultivo) を用いた。LC カラムには、InertSustainTM AQ-C18 (GL Sciences)、移動相 A には 0.1%ギ酸、移動相 B にはアセトニトリルを使用し、図中のグラジエント条件で分離定量を行った。

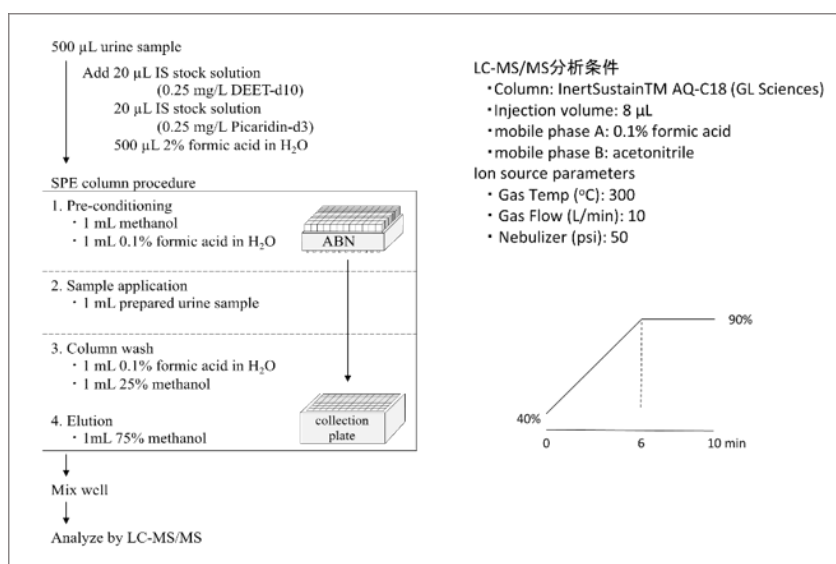


図-4.3 尿中忌避剤曝露マーカー分析における尿サンプル前処理法と分析機器条件

4) 尿中フタル酸エステル代謝物分析

尿中フタル酸エステル及び代替物質の代謝物24種フタル酸モノエチル (MEP)、フタル酸モノ-2-エチル5-カルボキシペンチル (MECPP)、フタル酸モノ-2-カルボキシメチルヘキシル (cx-MMHP)、フタル酸モノ-6-ヒドロキシ2-プロピルヘプチル (OH-MPHP)、フタル酸モノ-n-ブチル (MnBP)、フタル酸モノイソブチル (MiBP)、シクロヘキサン-1,2-ジカルボン酸-モノ-7-カルボキシ4-メチルペンチルエステル (cx-MINCH)、フタル酸モノベンジル (MBzP)、フタル酸モノ-2-エチル-5-オキソヘキシル (MEOHP)、フタル酸モノシクロヘキシル (MCHP)、フタル酸モノ-2-エチル-5-ヒドロキシヘキシル (MEHHP)、フタル酸モノ-n-ペンチル (MnPP)、フタル酸モノ-4-メチル-7オキソオクチル (oxo-MiNP)、フタル酸モノ-4-メチル-7ヒドロキシオクチル (OH-MiNP)、フタル酸モノ-6-オキシ-2プロピルヘプチル (oxo-MPHP)、フタル酸モノ-4-メチル-7カルボキシペンチル (cx-MINP)、フタル酸モノ-7-カルボキシオクチル (MCOP)、シクロヘキサン-1,2-ジカルボン酸-モノ-4-メチル-7オキソオクチルエステル (oxo-MINCH)、シクロヘキサン-1,2-ジカルボン酸-モノ-7-ヒドロキシ-4-メチルオクチルエステル (OH-MINCH)、フタル酸モノ-2-エチルヘキシル (MEHP)、フタル酸モノオクチル (MnOP)、フタル酸モノイソノニル (MiNP)、テレフタル酸モノ-2-エチルヘキシル (MEHTP)、シクロヘキサン-1,2-ジカルボン酸-モノ-4-メチルオクチルエステル (MINCH) を対象物質とした。

尿試料500 μ Lに対し、 β -グルクロニターゼ含有100mM酢酸アンモニウム緩衝液50 μ L と内部標準溶液を加えて脱抱合処理 (37°C、1.5時間) を行った後に、80%ギ酸溶液125 μ Lを加えた。Oasis MCXカートリッジに通液して固相抽出した。固相は0.1%ギ酸、0.1%ギ酸含有2.5%アセトニトリル、超純水で洗浄後、エタノールで溶出した。溶出液をエタノール/メタノール/100 mM重炭酸アンモニウム溶液で希釈したものを測定溶液とした。分析カラムにAcquity UPLC CSH Phenyl-Hexyl Column (1.7 μ m, 2.1 \times 100 mm)、リテンションギャップカラムにAtlantis T3 (3 μ m, 2.1 \times 50 mm)、移動相に2mM 酢酸/酢酸アンモニウム水溶液及び2 mM 重炭酸アンモニウム95%MeOHを用いて、液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計 (LC-MS/MS, Shimadzu LCMS-8060) で定量を行った。

5) 尿中リン酸エステル系難燃剤分析

内分泌かく乱作用が疑われているリン酸エステル系難燃剤のトリエステル体は、体内でジエステル体等に速やかに代謝され、尿から排泄されると考えられている。本研究では、トリエステル体とジエステル体を測定対象として、バックグラウンド汚染の低減を考慮した尿中リン酸エステル系難燃剤の分析法開発に取り組んだ。開発した分析法を用いて、介入試験前日に調査参加者 73 名から採取した 24h 蓄尿試料を化学分析に供試した。トリエステル体の分析では、Strata-X カートリッジを CH₃OH で前洗浄後、

Milli-Q water で平衡化した。尿試料 250 μ L に内部標準物質混合溶液を添加した後、平衡化したカートリッジに尿試料溶液を負荷した。次いで Milli-Q 水:CH₃OH (80:20, v/v) を用いてカートリッジを洗浄後、0.1% ギ酸含有 CH₃CN:CH₃OH (1:1, v/v) を用いてトリエステル体を溶出した。その後、窒素気流下で乾固まで濃縮し、CH₃CN 500 μ L、Milli-Q water 500 μ L を加えて再溶解して、これを最終試料溶液とした。ジエステル体の分析では、尿試料 250 μ L を等量の酢酸-酢酸アンモニウム緩衝液 (pH=4) で希釈後、内部標準物質混合溶液を添加した。Oasis WAX カートリッジを 5% NH₄ 含有 Milli-Q 水:CH₃OH (20:80, v/v) を用いて前洗浄後、10 mM 酢酸-酢酸アンモニウム緩衝液 (pH 4) で平衡化した。平衡化したカートリッジに尿試料溶液を負荷した。次いで 10 mM 酢酸-酢酸アンモニウム緩衝液 (pH 4)、CH₃OH、Milli-Q 水の順に洗浄後、5% NH₄ 含有 Milli-Q 水:CH₃OH (20:80, v/v) を用いてジエステル体を溶出した。その後、窒素気流下で乾固まで濃縮し、CH₃OH 100 μ L、Milli-Q water 900 μ L を加えて再溶解して、これを最終試料溶液とした。トリエステル体は、Triethyl phosphate (TEP)、Tris(2-chloroethyl) phosphate (TCEP)、Tripropyl phosphate (TPP)、Tris(2-chloroisopropyl) phosphate (TCIPP)、Tris(1,3-dichloroisopropyl) phosphate (TDCIPP)、Triphenyl phosphate (TPHP)、Tri-n-butyl phosphate (TNBP)、Tris(2-butoxyethyl) phosphate (TBOEP)、Tris(methylphenyl) phosphate (TMPP)、Tripentyl phosphate (TPEP)、2-ethylhexyl diphenyl phosphate (EHDPP) の計 11 物質、ジエステル体は、Bis(2-chloroethyl) phosphate (BCEP)、Bis(1-chloro-2-propyl) phosphate (BCIPP)、Bis(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (BDCIPP)、Bis(2-butoxyethyl) phosphate (BBOEP)、Bis(2-ethylhexyl) phosphate (BEHP)、Diphenyl phosphate (DPHP)、及び Bis(2-methylphenyl) phosphate (BMPP) の計 7 物質を対象とした。リン酸エステル系難燃剤の定性・定量には液体クロマトグラフ (Shimadzu UFLC-XR) -タンデム質量分析計 (Sciex 5500 QTRAP) を用いた。

4. 結果及び考察

1) 尿中フェノール系化合物分析

尿試料中のパラベン類やトリクロサン、ビスフェノール類について、代替物質、関連物質を含めた分析法を開発し、認証標準ヒト尿試料 (SRM3673) を分析してバリデーションを行った。本分析法の日内・日間変動は 15%以内、内部標準物質による補正回収率は 73~120%、内部標準物質の回収率は 50~150% を示した (表-4.1)。測定毎に分析した認証標準ヒト尿試料における濃度変動は \pm 20%以内 (図-4.4)、また測定値は認証値の範囲内であり、精度と確度ともに良好であった。

確立した分析法を用いて、介入試験前日に参加者 73 名から採取した 24h 蓄尿試料及び参加者 30 名から採取した全ての随時尿試料を分析した。介入試験前日に採取した 24h 蓄尿試料において、対象としたフェノール系化合物 28 種のうち、メチルパラベン、エチルパラベン、*n*-プロピルパラベン、*n*-ブチルパラベン、トリクロサン、ベンゾフェノン 1、ベンゾフェノン 3、ビスフェノール F、ビスフェノール S の 9 物質が、50%以上の検体から検出された。その濃度順位 (中央値) は、メチルパラベン > ビスフェノール F > エチルパラベン > *n*-プロピルパラベン > ベンゾフェノン 3 > ビスフェノール S > トリクロサン > *n*-ブチルパラベン > ベンゾフェノン 1 であった (図-4.5A)。男女間で比較すると、メチルパラベン、ビスフェノール F、ベンゾフェノン 1 の濃度は、女性で有意に高値を示した (図-4.5B)。この結果は、メチルパラベンが防腐剤としてスキンケア用品に、ベンゾフェノン 1 が紫外線吸収剤としてメイクアップ用品に一般的に添加されていることを考慮すると、それらパーソナルケア製品の使用量が男性より女性で多いことに起因すると推察された。実際に、参加者が介入試験前日に使用したパラベン含有製品を洗い流すタイプ、洗い流さないタイプ、口内洗浄タイプに分類し、1日あたりの使用頻度 (times/day) と 1回あたりの使用量 (g/time) を掛け合わせた「パラベン含有製品の使用量 (g/day)」を説明変数、蓄尿中メチルパラベン濃度 (log₁₀, ng/mL) を目的変数として重回帰分析した結果、洗い流さない製品の使用量と尿中濃度の間には有意な正の相関関係が認められ、洗い流さないタイプのパラベン含有製品の使用量が多い人ほど、蓄尿中メチルパラベン濃度は高値であることが示された。

他国で報告されている尿中濃度と比較すると、本研究で検出された濃度は、メチルパラベンで同程度、ベンゾフェノン 3 とトリクロサンで低値、ビスフェノール F は高値を示した。ベンゾフェノン 3 については、日本においてパーソナルケア製品への使用が許可されていないことが要因と推察された。トリク

ロサンについては、先行研究の2010年～2011年に日本人から採取された尿中濃度¹⁾の約1/5にまで低下していたことから、近年、企業の自主規制により使用量が減少していることが低値を示した理由と考えられる。ビスフェノールF濃度が諸外国に比べ高値を示した理由は明らかでないため、今後、曝露源の調査が必要である。

参加者30名から採取した全ての随時尿試料中の濃度変動を解析した結果、パーソナルケア製品が主要な曝露源であるメチルパラベンは、介入試験期間中にパラベン類を含まないパーソナルケア製品を代替使用したため概して減少傾向を示した(図-4.6)。一方、食事が主な曝露源と考えられているビスフェノールFは減少傾向を示さず一定濃度であったことから(図-4.7)、介入試験期間中も継続した曝露経路が存在すると考えられた。レシートなどの感光紙などに使用される²⁾ビスフェノールSは、一部の参加者の随時尿から比較的高い濃度で検出された(図-4.8)。介入試験前日または介入試験初日に濃度は高値を示し、その後、減少する傾向がみられた。先行研究において、レシートに触れる機会の多い会計業務従事者は、他業務従事者に比べ、尿中のビスフェノールSは高値を示すことが報告されている³⁾。本研究において尿中ビスフェノールSが高値を示した参加者は、感光紙などを介した一時的な曝露があった可能性が考えられる。

表-4.1 尿中フェノール系化合物の検出下限値、確度(補正回収率)、精度(日内日間変動)

対象物質	検出 下限値 (ng/mL)	検量線の 直線性の範囲 (ng/mL)	決定係数 (R ²)	補正 回収率 (%)	日内 変動 (RSD %)	日間 変動 (RSD %)	マトリ クス 効果 (%)	絶対 回収率 (%)	操作 ブランク (ng/mL)
Methyl paraben	0.38	0.1-10	0.996	110	2.4	4.5	-40	54	0.065
Ethyl paraben	0.080	0.01-10	0.999	100	4.0	4.7	-36	58	0.0047
n-Propyl paraben	0.038	0.01-10	0.998	100	3.1	2.7	-35	62	0.0022
Isopropylparaben	0.027	0.01-10	0.998	110	3.0	3.5	-29	64	<IDL
n-Butyl paraben	0.011	0.01-10	0.998	110	9.5	8.3	-33	67	<IDL
Isobutyl paraben	0.014	0.01-10	0.998	100	11	11	-17	88	<IDL
Benzyl paraben	0.010	0.005-2	0.998	100	3.9	5.4	-28	68	<IDL
Heptyl paraben	0.0070	0.002-2	0.997	97	3.3	3.6	-14	85	<IDL
Pentyl paraben	0.016	0.002-2	0.997	98	3.3	4.0	-26	73	<IDL
Triclosan	0.047	0.02-20	0.999	99	3.8	6.1	-29	65	0.0047
Triclocarban	0.043	0.01-10	0.999	110	4.4	7.0	-42	46	<IDL
4-OH-benzophenone	0.12	0.02-20	0.999	110	2.6	8.1	-32	62	0.0091
Benzophenone-1	0.043	0.01-10	0.998	120	5.4	6.0	-23	66	<IDL
Benzophenone-2	0.24	0.01-10	0.998	120	3.6	9.3	-21	62	<IDL
Benzophenone-3	0.083	0.01-50	0.999	100	5.3	4.3	-25	66	0.012
Benzophenone-8	0.037	0.02-20	0.999	100	8.5	7.2	-24	65	<IDL
Bisphenol A	2.9	0.1-50	0.999	100	3.3	5.5	-36	59	0.42
Bisphenol AF	0.14	0.002-2	0.999	100	3.8	5.0	-23	67	0.011
Bisphenol B	0.053	0.05-50	0.998	86	3.8	5.7	-35	61	<IDL
Bisphenol C	0.59	0.1-50	0.998	87	4.5	11	-40	54	<IDL
Bisphenol F	0.40	0.1-50	0.999	94	5.7	6.0	-48	45	<IDL
Bisphenol S	0.026	0.01-10	0.998	110	4.1	3.7	-27	66	0.0014
Bisphenol Z	0.098	0.1-50	0.999	73	6.1	12	-48	46	<IDL
TBBPA	0.36	0.1-50	0.999	100	3.8	7.4	-31	61	0.042
4-nonylphenol isomers	4.6	1-50<	0.998	83	5.5	5.7	-26	46	0.46
4-n-Nonylphenol	0.37	0.1-50<	0.999	96	2.1	6.4	-28	59	<IDL
4-tert-Octylphenol	1.3	0.1-50<	0.998	86	7.1	8.6	-31	38	<IDL
4-n-Octylphenol	1.4	0.1-50<	0.999	110	9.2	9.0	-26	50	<IDL

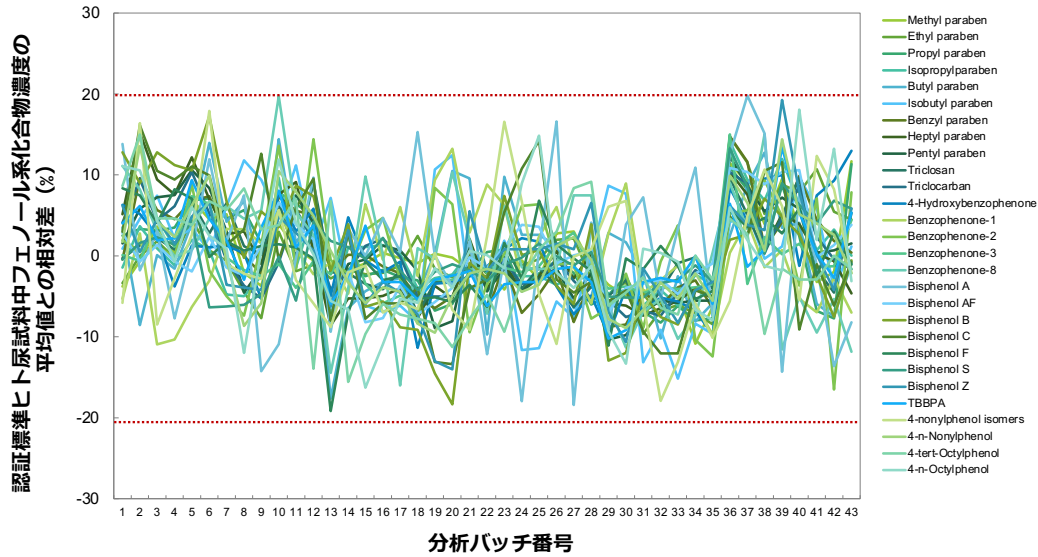


図-4.4 認証標準ヒト尿試料におけるフェノール系化合物濃度の変動（平均値との相対的な差）

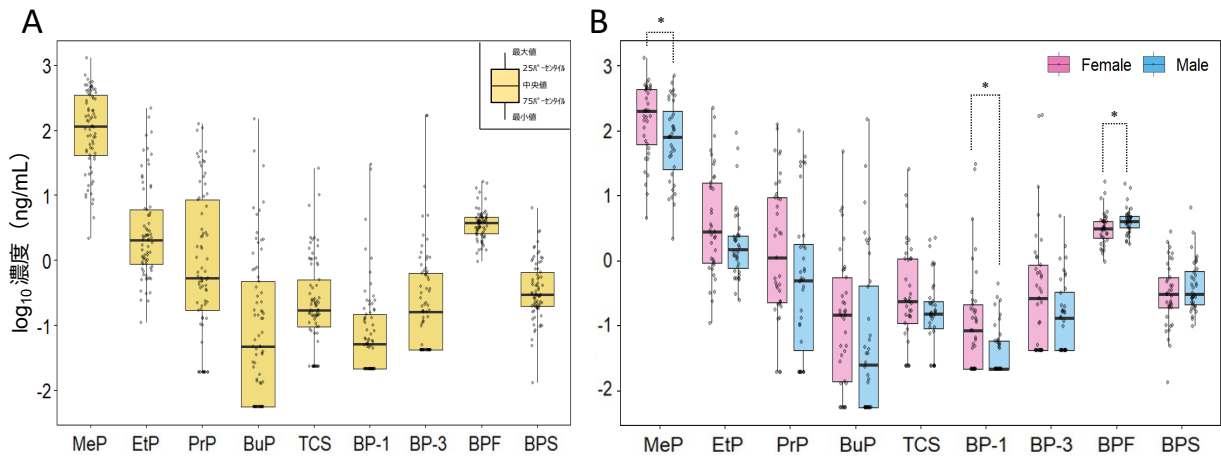


図-4.5 介入試験前日の24h蓄尿中フェノール系化合物の濃度（検出率50%以上の物質のみ表示、*男女間に有意差 [p < 0.05]）

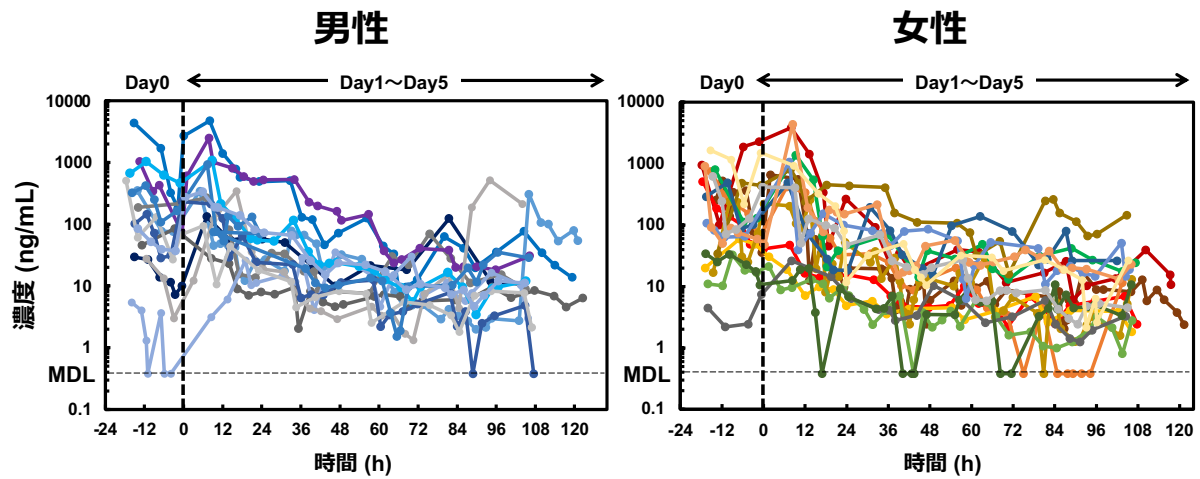


図-4.6 介入試験前日（Day0）から介入試験中（Day1～Day5）における随時尿中メチルパラベン濃度の推移

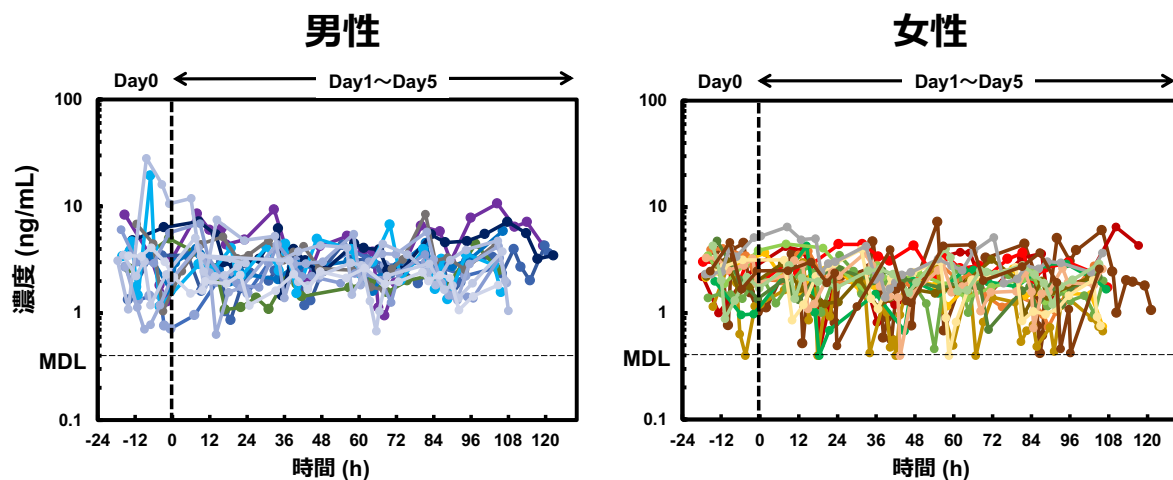


図-4.7 介入試験前日 (Day0) から介入試験中 (Day1~Day5) における
随時尿中ビスフェノール F 濃度の推移

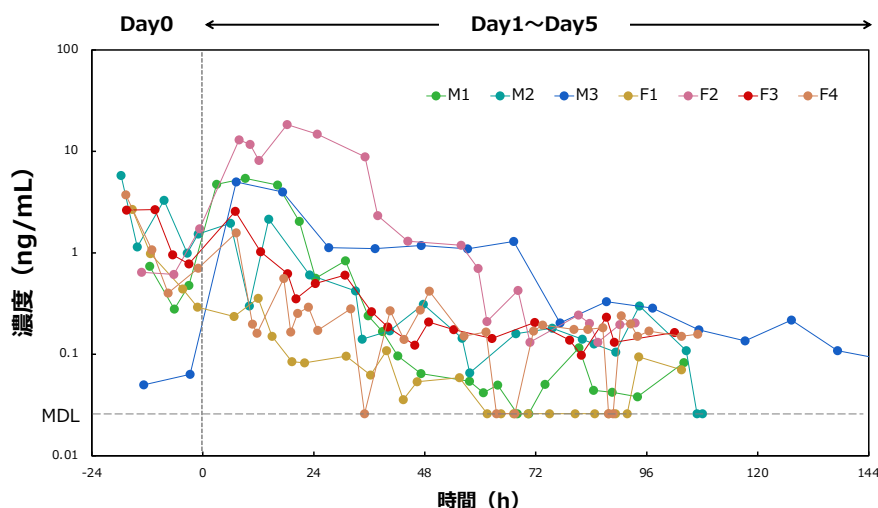


図-4.8 介入試験前日 (Day0) から介入試験中 (Day1~Day5) における
随時尿中ビスフェノール S 濃度の推移 (検出濃度の最大値が比較的高い参加者を抜粋)

2) 尿中ネオニコチノイド系殺虫剤分析

尿試料の分析精度は、検出下限値が 0.0004~0.072 ng/ml、報告下限値が 0.0010~0.77 ng/ml、併行精度が RSD = 0.4~11%、日間再現性が RSD = 1.5~5.9%であり、既存の報告と同程度の感度・精度の分析が可能となった(表-4.2)。参加者 5 名分の介入前日 (Day0) の尿を分析した結果の概要を表-4.3 に示す。チアメトキサム及びアセタミプリド-デスメチルについては全検体から、クロチアニジン、ジノテフラン、スルホキサフロル、クロチアニジン-デスメチルについても 70%以上の検体から検出され、日常生活におけるこれらの物質の経常的曝露が示唆された。チアメトキサム、ジノテフラン、クロチアニジンの尿中濃度の最大値は、それぞれ 1.75 ng/ml、1.48 ng/ml、1.54 ng/ml であり、これら 3 種の濃度が高い傾向は日本人を対象とした既存の報告⁴⁾⁷⁾と一致していたが、濃度範囲はやや低い傾向を示した。

表-4.2 尿中ネオニコチノイド分析の精度管理指標

Target Compound	MDL (ng/mL)	LCMRL (ng/mL)	Calibration Range (ng/mL)	Determination Coefficient (R ²)	Repeatability (RSD %)	QC repeat. (RSD %)	Blank
Acetamiprid	0.0007	0.0028	0.0025-0.5	0.9961	7.4	2.4	< MDL
Thiacloprid	0.0004	0.0010	0.0025-0.5	0.9973	10.7	1.6	< MDL
Thiamethoxam	0.0017	0.0737	0.01-2	0.9986	0.8	1.5	< MDL
Dinotefran	0.0027	0.0119	0.025-5	0.9969	0.4	1.7	< MDL
Clothianidin	0.0072	0.0196	0.025-5	0.996	0.7	3.1	< MDL
Imidacloprid	0.0124	0.0793	0.025-5	0.9982	4.7	1.7	< MDL
Nitenpyram	0.0063	0.0223	0.025-5	0.9961	5.7	1.6	< MDL
Thiacloprid-desmethyl	0.0010	0.0069	0.005-1	0.9987		2.4	< MDL
Sulfoxaflor A	0.0005	0.0013	0.0025-0.5	0.9971	2.7	2.8	< MDL
Sulfoxaflor B	0.0009	0.0016	0.0025-0.5	0.9941	3.7	5.9	< MDL
Flonicamid	0.0203	0.0550	0.05-10	0.999	0.5	4.2	< MDL
Acetamiprid-N-desmethyl	0.0082	0.0431	0.025-5	0.9996	0.7	2.2	< MDL
Clothianidin-desmethyl	0.0230	0.5827	0.1-20	0.9994	1.8	2.6	< MDL
Imidacloprid-olefin	0.0723	0.7685	0.5-100	0.9983	5.6	4.6	< MDL

MDL: 検出下限値

LCMRL: 報告下限値

表-4.3 尿中ネオニコチノイド系農薬の検出状況 (ng/ml)

Target Compound	#≥LCMRL	DF(%)	Min	Median	P95	Max
Acetamiprid	4	17	<LCMRL	<LCMRL	0.002	0.002
Thiacloprid	10	43	<LCMRL	<LCMRL	0.003	0.005
Thiamethoxam	23	100	0.004	0.024	0.683	1.75
Dinotefran	19	83	<LCMRL	0.140	0.910	1.48
Clothianidin	22	96	<LCMRL	0.137	0.663	1.54
Imidacloprid	11	48	<LCMRL	<LCMRL	0.048	0.060
Nitenpyram	0	0	<LCMRL	<LCMRL	<LCMRL	<LCMRL
Thiacloprid-desmethyl	2	9	<LCMRL	<LCMRL	0.002	0.003
Sulfoxaflor A	17	74	<LCMRL	0.002	0.034	0.037
Sulfoxaflor B	19	83	<LCMRL	0.002	0.024	0.033
Flonicamid	11	48	<LCMRL	<LCMRL	0.094	0.100
Acetamiprid-N-desmethyl	23	100	0.019	0.102	0.403	0.467
Clothianidin-desmethyl	17	74	<LCMRL	0.068	0.240	0.542
Imidacloprid-olefin	9	39	<LCMRL	<LCMRL	1.08	1.20

LCMRL: 報告下限値

DF: 検出率

3) 尿中忌避剤分析

開発した分析法の精度管理指標を表-4.4 に示す。非常に広範囲の濃度域においておよそ 15%以下の%RSDを示すことを証明し、良好な再現性を有する試験法であることが分かった。また、サンプル前処理後少なくとも 2 日間は安定的に測定可能であること、尿中忌避剤曝露マーカーは 4°Cのみならず 25°Cでも少なくとも一週間は安定であること、凍結融解操作でもそれらの物質は分解しないことを確認した。

表-4.4 尿中忌避剤曝露マーカー類の分析法の検量線、日内再現性、日間再現性、検出下限値及び定量下限値

	Concentration ($\mu\text{g/L}$ urine)	<i>n</i>	Results			
			Picaridin	DEET	DHMB	DCBA
Absolute recovery rate (%)	10		88	74	74	76
Within-run precision (% RSD)	0.5	12	10.2	6.9	17.0	13.3
	1	12	6.8	9.7	7.3	9.8
	3	12	4.2	3.8	7.4	5.8
	10	12	3.1	3.3	4.4	3.0
	20	12	1.2	2.6	7.5	6.7
	40	12	1.7	4.0	9.4	5.9
	200	6				4.0
	2000	6				3.8
	12000	6				4.4
Between-run precision (% RSD)	0.5	5	8.3	14.4	15.8	7.6
	1	5	4.8	9.2	11.9	3.1
	3	5	2.1	2.1	6.2	2.8
	10	5	1.4	0.9	8.6	5.9
	20	5	0.9	1.4	5.3	1.9
	40	5	2.0	1.7	10.2	6.7
	100	5				4.6
	1000	5				7.0
	12000	5				1.0
Calibration curve	Slope		0.036	0.050	0.028	0.015
	Intercept		-0.009	-0.011	-0.004	0.001
	r^2		0.999	0.999	0.999	0.999
	LOD ($\mu\text{g/L}$, S/N=3)		0.07	0.06	0.10	0.11
LLOQ ($\mu\text{g/L}$)		0.24	0.21	0.33	0.37	

N, number of observations; RSD, relative standard deviation; LOD, limit of detection; LLOQ, lower limit of quantification; S/N, signal-to-noise ratio

自記式の製品使用記録より、介入調査に参加した男女 100 名で Picaridin または DEET を含む製品の使用が認められたのは 5 名であった。5 名のうち 1 名は忌避剤の使用とともに、尿中 Picaridin、DEET、DHMB 及び DCBA 濃度の上昇が確認された Picaridin 及び DEET を使用し、4 名は DEET のみを使用していた。忌避剤マーカーとして尿中 picaridin、DEET、DEET 代謝物である *N,N*-diethyl-3-(hydroxymethyl)benzamide (DHMB)及び 3-(diethylcarbamoyl)benzoic acid (DCBA)の高感度測定法を開発後、上記 5 名の尿サンプルにその測定法を応用した。表-4.5 にその尿中忌避剤マーカーの最高濃度 ($\mu\text{g/L}$)(Cmax) と経過時間(Tmax)を示す。Picaridin の最高濃度は曝露後約 9 時間後に採取した尿の 50.0 $\mu\text{g/L}$ であった。対象者 1 では、DEET 及び代謝物の尿中濃度は他の対象者よりも高値を示した。Picaridin と比較して DEET 及びその代謝物は早期に尿中最大濃度を示した。尿中濃度は DCBA > DEET > DHMB の順に高値を示すことが判明した。図-4.9 に示すように、忌避剤塗布に応じて尿中マーカーは増加し、

およそ 20 時間以内にはバックグラウンドレベルまで低下していることがわかる。対象者 1 の Picaridin 及び DEET の尿中半減期は、約 3.5 時間及び 4.4 時間であった。

表-4.5 尿中忌避剤マーカーの最高濃度 (Cmax) と経過時間 (Tmax)

Subjects	age	sex	Cmax, µg/L (Tmax, h)			
			Picaridin	DEET	DHMB	DCBA
1	43	Male	50.0 (9.3)	69.8 (4.0)	4.9 (4.0)	44744 (4.0)
2	21	Female		24.3 (4.0)	1.1 (4.0)	10091 (4.0)
3	22	Male		5.1 (14.8)	0.4 (14.8)	7119(14.8)
4	20	Female		<LOD	<LOD	39 (11.5)
5	24	Female		10.7 (12.1)	0.4 (12.1)	7254 (12.1)

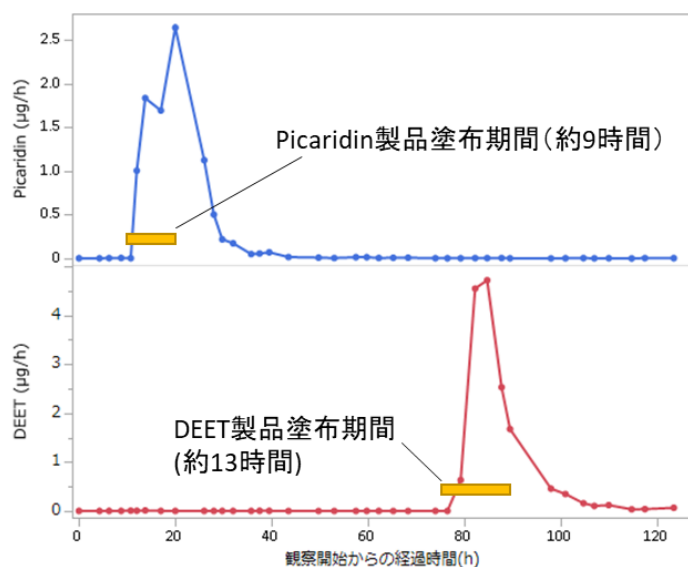


図-4.9 対象者 1 の尿中 Picaridin 及び DEET の尿中排泄量－時間推移

4) 尿中フタル酸エステル代謝物分析

尿中フタル酸エステル代謝物分析法の日内・日間変動は15%以内、標準物質の添加回収率は79～124%、内部標準物質の回収率は74～115%を示し、精度と確度ともに良好であった。介入試験前日に得た調査参加者95名の24時間蓄尿試料(95検体)を測定したところ、フタル酸モノエチル(MEP)、フタル酸モノ-2-エチル5-カルボキシペンチル(MECP)、フタル酸モノ-2-カルボキシメチルヘキシル(cx-MMHP)、フタル酸モノ-n-ブチル(MnBP)、フタル酸モノイソブチル(MiBP)、シクロヘキサン-1,2-ジカルボン酸-モノ-7-カルボキシ4-メチルペンチルエステル(cx-MINCH)、フタル酸モノ-2-エチル-5-オキシヘキシル(MEOHP)、フタル酸モノ-2-エチル-5-ヒドロキシヘキシル(MEHHP)、フタル酸モノ-4-メチル-7オキシオクチル(oxo-MiNP)、フタル酸モノ-4-メチル-7ヒドロキシオクチル(OH-MiNP)、シクロヘキサン-1,2-ジカルボン酸-モノ-4-メチル-7オキシオクチルエステル(oxo-MINCH)、シクロヘキサン-1,2-ジカルボン酸-モノ-7-ヒドロキシ-4-メチルオクチルエステル(OH-MINCH)、フタル酸モノ-2-エチルヘキシル(MEHP)、フタル酸モノオクチル(MnOP)の14物質で検出率50%以上であった。国内でデータが限られている非フタル酸系可塑剤1,2-シクロヘキサンジカルボン酸ジイソノニル(DINCH)の代謝物(OH-MINCH)濃度の幾何平均値は0.499 ng/mL_{sg}であり、濃度範囲は<0.13～8.29ng/mL_{sg}(比重補正值)であった(表-4.6)。欧州の既往報告値(幾何平均値0.61 ng/mL_{cre}; 最小～最大値<0.05～189 ng/mL_{cre}(クレアチニン補正值)⁸⁾と比べると同レベルから少し高い値であることが確認された。

次に介入試験前日の24時間蓄尿中OH-MINCH濃度が高かった15名、OH-MINCH濃度が低かった5名、計20名の調査参加者(男性:11名、女性9名)が介入試験前日～介入試験5日目に排泄したすべての随時尿

試料について計測し、介入試験前と介入試験中の濃度変動を解析した。例外的な調査参加者3名による濃度上昇を除き、介入試験期間を通じて濃度変動は大きくなかった（図-4.10）。

フタル酸エステル類の生物学的半減期は一般に半日程度とされる。介入試験開始直後（深夜0時）～24時間以内に尿中濃度上昇がみられた3名について、行動記録表から得られるパーソナルケア製品使用の情報や食事の摂取情報から曝露源を検討したが、明確な関連は認められなかった。

表-4.6 介入前日の24時間蓄尿中濃度（ng/mL比重補正值）

	GM (GSD)	Min-Max		GM (GSD)	Min-Max
MEP	10.6 (3.15)	<2.59-911	oxo-MiNP	0.875 (2.42)	<0.29-4.84
MECPP	5.90 (2.10)	<2.06-36.1	OH-MiNP	1.47 (2.09)	<0.18-6.63
cx-MMHP	6.15 (1.87)	<5.35-35.5	oxo-MPHP	0.345 (2.51)	<0.36-52.4
OH-MPHP	<0.257	<0.26-40.6	cx-MiNP+MCOP	1.62 (2.25)	<0.060-13.4
MnBP	14.4 (2.06)	<1.23-126	oxo-MINCH	0.328 (2.32)	<0.13-3.15
MiBP	6.42 (2.28)	1.38-223	OH-MINCH	0.499 (2.54)	<0.13-8.29
cx-MINCH	0.797 (1.97)	<0.41-8.01	MEHP	2.62 (2.57)	<1.10-11.5
MBzP	1.33 (2.28)	<1.48-46.4	MnOP	1.27 (2.67)	<0.25-8.52
MEOHP	4.32 (1.62)	<0.93-30.4	MiNP	<2.77	<2.77-5.88
MCHP	<0.95	<0.95	MEHTP	<2.00	<2.00
MEHHP	7.35 (1.83)	<1.56-44.8	MINCH	<0.81	<0.81
MnPP	<2.800	<2.800			

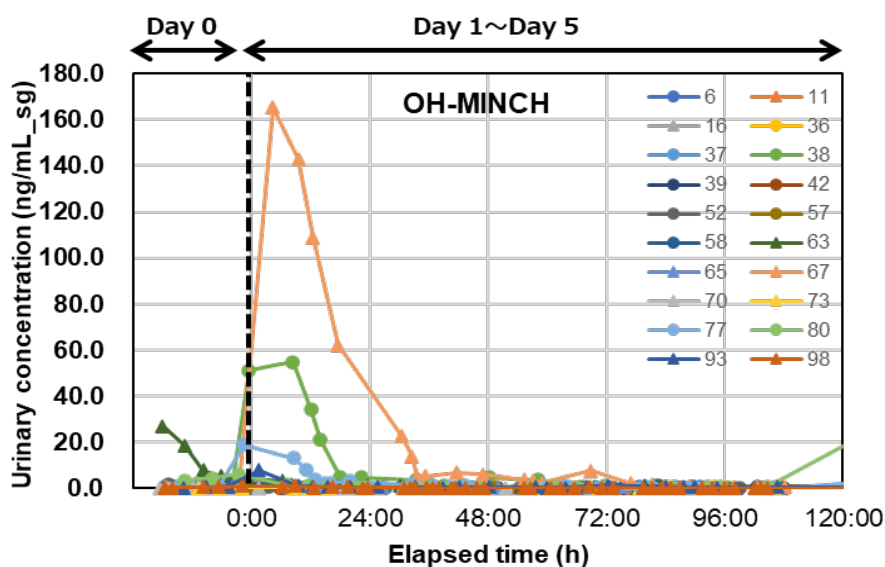


図-4.10 介入試験前、試験中尿中フタル酸代替物質濃度の経時変化

5) 尿中リン酸エステル系難燃剤（OPFRs）分析

リン酸トリエステル体の分析では、Strata-X カートリッジを用いることに加え、CH₃OH を用いた前洗浄操作により、カートリッジ由来のバックグラウンド汚染を低減させることに成功した。ジエステル体の分析では、逆相-弱陰イオン交換ポリマーが充填された Oasis WAX カートリッジを用いることに加え、5% NH₄ 含有 Milli-Q 水:CH₃OH (20:80, v/v) を用いた前洗浄操作により、カートリッジ由来のバックグラウンド汚染を低減させることに成功した。また、カートリッジの洗浄溶媒と抽出溶媒、そして希釈倍率を最適化することにより、トリエステル体（11種）とジエステル体（7種）それぞれに対して良好な確度（補正回収率：76–120%）と精度（日内・日間変動：<15%）を示す分析法を確立できた（表-4.7）。

表-4.7 尿中リン酸エステル系難燃剤の検出下限値、確度（補正回収率）、精度（日内日間変動）

対象物質	検出 下限値 (ng/mL)	検量線の 直線性の範囲 (ng/mL)	決定係数 (R ²)	補正 回収率 (%)	日内 変動 (RSD%)	日間 変動 (RSD%)	マトリク ス効果 (%)	絶対 回収率 (%)	操作 ブランク (ng/mL)
TEP	0.029	0.005-5	0.9989	97	1.9	4.3	-52	34 ± 8.4	0.0077
TCEP	0.013	0.02-50	0.9997	97	2.0	1.9	-32	72 ± 9.1	<IDL
TPP	0.022	0.005-2	0.9988	100	3.3	12	-12	62 ± 9.4	<IDL
TCIPP	0.31	0.2-50	0.9993	100	6.0	5.1	-18	52 ± 9.5	0.12
TDCIPP	0.077	0.05-50	0.9995	100	3.0	2.7	-17	81 ± 2.3	0.026
TPHP	0.11	0.01-10	0.9998	100	2.5	8.1	-12	61 ± 9.6	0.058
TNBP	0.064	0.005-2	0.9987	98	2.0	3.4	+0.68	72 ± 6.4	0.021
TBOEP	0.15	0.002-2	0.9993	110	3.4	3.2	+14	95 ± 5.9	0.046
p-TMPP	0.063	0.005-2	0.9992	96	1.3	3.9	-1.3	45 ± 5.4	0.014
TPEP	0.0044	0.002-1	0.9989	88	9.9	11	-4.3	42 ± 3.5	<IDL
EHDPP	0.020	0.005-2	0.9990	76	9.8	9.0	-8.2	37 ± 3.6	0.012
BCEP	1.1	0.5-50<	0.9991	110	7.3	8.7	+0.88	72 ± 9.0	<IDL
BCIPP	0.29	0.1-50<	0.9991	110	3.5	5.5	-20	82 ± 1.4	<IDL
DPHP	0.10	0.02-10	0.9971	120	2.3	2.1	-16	82 ± 2.0	0.020
BDCIPP	0.41	0.5-50<	0.9992	100	5.5	5.5	+5.0	82 ± 2.6	<IDL
BBOEP	0.025	0.005-1	0.9973	110	3.7	3.1	-16	81 ± 2.3	<IDL
DMPP	0.0099	0.005-1	0.9991	110	2.4	3.2	-15	83 ± 1.8	<IDL
BEHP	0.30	0.01-2	0.9983	97	8.4	8.8	-2.9	95 ± 8.2	0.042

開発した分析法を用いて、介入試験前日に参加者 73 名から採取した 24h 蓄尿試料中のリン酸エステル系難燃剤を定性・定量した。トリエステル体のうち、TEP が 88% の検体から検出され、中央値と最大値はそれぞれ 0.083、0.54 ng/mL であった（図-4.11）。一方、他のトリエステル体の検出率は 10% 未満であった。TEP のオクタノール/水分係数は低いことから（ $\log K_{ow}$: 0.80）⁹⁾、親化合物である tri-のまま尿中に排泄されやすいことが示唆された。ジエステル体のうち、DHP が 96% の検体から検出され、中央値と最大値はそれぞれ 0.32、2.4 ng/mL であった（図-4.11）。ヒト尿中における DHP の高い検出頻度は諸外国の報告^{10),11)}と一致する。DHP は、TPHP だけでなく、複数の aryl-OPFRs の代謝物であることが報告されており^{12),13)}、aryl-トリエステル体はポリウレタンフォームや塗料など様々な用途で使用されている。本研究で調査した尿試料において DHP が高検出率かつ相対的に高濃度を示した要因として、TPHP だけでなく複数の aryl-トリエステル体に曝露されている可能性が考えられた。BBOEP、BDCIPP、BCIPP 及び BCEP も一部の検体から検出されたものの、その検出率は 30% 未満であった。それぞれの親化合物である TBOEP、TDCIPP、TCIPP、TCEP は、日本の室内ダストから比較的高濃度で検出されている^{14)~16)}。ヒト肝臓の S9 画分を用いた *in vitro* 代謝試験において、トリエステル体はジエステル体だけでなくヒドロキシ体などにも代謝されることが報告されていることから¹⁷⁾、今後、リン酸エステル系難燃剤のヒト曝露を評価する上で、適切な曝露バイオマーカーの探索が必要である。

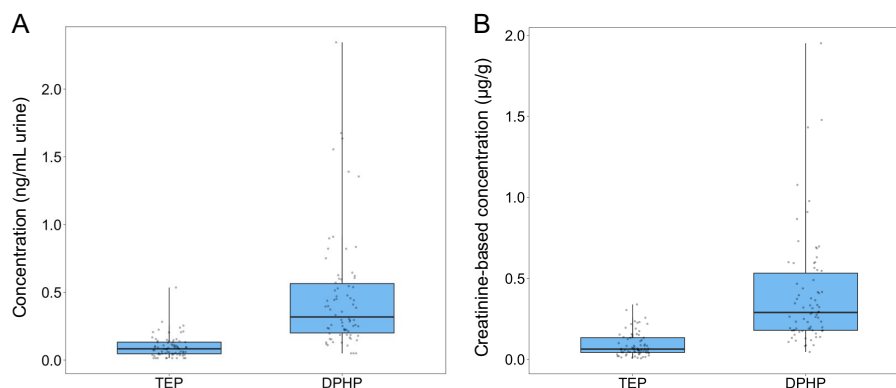


図-4.11 介入試験前日の 24h 蓄尿中リン酸エステル系難燃剤の濃度

5. 研究目標の達成状況

目標どおりの成果をあげた。

内分泌かく乱作用が疑われているフェノール系化合物（パラベン類 9 種、トリクロサンとトリクロカルバン、ベンゾフェノン類 5 種、ビスフェノール類 7 種、テトラブロモビスフェノール A、アルキルフェノール類 4 種の計 24 種）を対象として、ヒト尿に適用可能な分析法を開発した。本分析法の日内・日間変動は 15%以内、内部標準物質による補正回収率は 73~120%、内部標準物質の回収率は 50~150%を示し、さらに測定毎に分析したヒト尿の認証標準試料における濃度変動は±20%以内と計画通り高精度分析法の確立に成功した。次に、確立した分析法を用いて、調査参加者 73 名から採取した介入試験前日の 24h 蓄尿試料及び調査参加者 30 名の全ての随時尿試料を分析し、介入試験前日から介入試験期間中の濃度変動を明らかにした。フタル酸エステル類については、尿中代謝物 24 種の分析法（日内・日間変動：15%以内、補正回収率：79~124%）を確立し、調査参加者のうち 95 名から採取した介入試験前日の 24h 蓄尿試料及び調査参加者 20 名の調査期間中に排泄された全ての随時尿試料を分析し、介入試験前日から介入試験期間中の濃度変動を明らかにした。また、ネオニコチノイド系殺虫剤 9 種とそれらの代謝物 4 種及び忌避剤（Picaridin、DEET）と DEET 代謝物を対象に、調査参加者 5 名分の随時尿を分析し、濃度変動を明らかにした。このように、体内動態の解析や消失半減期の推定に必要な随時尿中の化学物質濃度の経時的推移について、調査参加者 5~30 名分のデータを集積することができた。加えて、尿中リン酸エステル系難燃剤の分析法開発にも成功し、調査参加者 73 名の介入試験前日の 24h 蓄尿試料を分析することにより、これら化学物質におけるヒト曝露実態も明らかにした。

上記の研究成果から、当初の目標は十分達成できたといえる。

6. 引用文献

- 1) Iyer, A.P., Xue, J., Honda, M., Robinson, M., Kumosani, T.A., Abulnaja, K., Kannan, K., 2018. Urinary levels of triclosan and triclocarban in several Asian countries, Greece and the USA: Association with oxidative stress. *Environmental Research* 160, 91–96.
- 2) Liao, C., Liu, F., Kannan, K., 2012. Bisphenol S, a new bisphenol analogue, in paper products and currency bills and its association with bisphenol a residues. *Environmental Science and Technology* 46, 6515–6522.
- 3) Pan, Y., Han, L., Chen, X., Wei, X., Zhou, X., Liang, D., Yin, R., Jiao, X., Li, H., Li, A.J., Qiu, R., 2023. Occurrence of emerging bisphenol S analogues in urine from five occupational populations in South China. *Environment International* 172, 107773.
- 4) Ueyama, J., Nomura, H., Kondo, T., Saito, I., Ito, Y., Osaka, A., Kamijima, M., 2014. Biological Monitoring Method for Urinary Neonicotinoid Insecticides Using LC-MS/MS and Its Application to Japanese Adults. *Journal of Occupational Health* 56, 461–468.
- 5) Ueyama, J., Harada, K. H., Koizumi, A., Sugiura, Y., Kondo, T., Saito, I., Kamijima, M., 2015. Temporal Levels of Urinary Neonicotinoid and Dialkylphosphate Concentrations in Japanese Women Between 1994 and 2011. *Environmental Science and Technology* 49, 24, 14522–14528.
- 6) Marfo, J.T., Fujioka, K., Ikenaka, Y., Nakayama, S.M.M., Mizukawa, H., Aoyama, Y., Ishizuka, M., Taira, K., 2015. Relationship between urinary n-desmethyl-acetamiprid and typical symptoms including neurological findings: A prevalence case-control study. *PLoS ONE* 10, 1–19.
- 7) Oya, N., Ito, Y., Ebara, T., Kato, S., Ueyama, J., Aoi, A., Nomasa, K., Sato, H., Matsuki, T., Sugiura-Ogasawara, M., Saitoh, S., Kamijima, M., 2020. Cumulative exposure assessment of neonicotinoids and an investigation into their intake-related factors in young children in Japan. *Science of The Total Environment* 750, 141630.

- 8) Kasper-Sonnenberg, M., Koch, H.M., Apel, P., R  ther, M., P  lmke, C., Brüning, T., Kolossa-Gehring, M., 2019. Time trend of exposure to the phthalate plasticizer substitute DINCH in Germany from 1999 to 2017: Biomonitoring data on young adults from the Environmental Specimen Bank (ESB). *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 222, 1084–1092.
- 9) Hansch, C., Hoekman, D., Leo, A., Zhang, L., Li, P., 1995. The expanding role of quantitative structure-activity relationships (QSAR) in toxicology. *Toxicology Letters* 79, 45–53.
- 10) Sun, Y., Gong, X., Lin, W., Liu, Y., Wang, Y., Wu, M., Kannan, K., Ma, J., 2018. Metabolites of organophosphate ester flame retardants in urine from Shanghai, China. *Environmental Research* 164, 507–515.
- 11) Hoffman, K., Butt, C.M., Webster, T.F., Preston, E. V., Hammel, S.C., Makey, C., Lorenzo, A.M., Cooper, E.M., Carignan, C., Meeker, J.D., Hauser, R., Soubry, A., Murphy, S.K., Price, T.M., Hoyo, C., Mendelsohn, E., Congleton, J., Daniels, J.L., Stapleton, H.M., 2017. Temporal Trends in Exposure to Organophosphate Flame Retardants in the United States. *Environmental Science and Technology Letters* 4, 112–118.
- 12) Ballesteros-G  mez, A., Van Den Eede, N., Covaci, A., 2015. In vitro human metabolism of the flame retardant resorcinol Bis(diphenylphosphate) (RDP). *Environmental Science and Technology* 49, 3897–3904.
- 13) Ballesteros-G  mez, A., Erratico, C.A., Eede, N. Van den, Ionas, A.C., Leonards, P.E.G., Covaci, A., 2015. In vitro metabolism of 2-ethylhexyldiphenyl phosphate (EHDPHP) by human liver microsomes. *Toxicology Letters* 232, 203–212.
- 14) Araki, A., Saito, I., Kanazawa, A., Morimoto, K., Nakayama, K., Shibata, E., Tanaka, M., Takigawa, T., Yoshimura, T., Chikara, H., Saijo, Y., Kishi, R., 2014. Phosphorus flame retardants in indoor dust and their relation to asthma and allergies of inhabitants. *Indoor Air* 24, 3–15.
- 15) Tajima, S., Araki, A., Kawai, T., Tsuboi, T., Ait Bamai, Y., Yoshioka, E., Kanazawa, A., Cong, S., Kishi, R., 2014. Detection and intake assessment of organophosphate flame retardants in house dust in Japanese dwellings. *Science of the Total Environment* 478, 190–199.
- 16) Ait Bamai, Y., Araki, A., Nomura, T., Kawai, T., Tsuboi, T., Kobayashi, S., Miyashita, C., Takeda, M., Shimizu, H., Kishi, R., 2018. Association of filaggrin gene mutations and childhood eczema and wheeze with phthalates and phosphorus flame retardants in house dust: The Hokkaido study on Environment and Children’s Health. *Environment International* 121, 102–110.
- 17) Van den Eede, N., Neels, H., Jorens, P.G., Covaci, A., 2013. Analysis of organophosphate flame retardant diester metabolites in human urine by liquid chromatography electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1303, 48–53.

Ⅲ. 研究成果の発表状況の詳細

(1) 誌上発表

<査読付き論文>

【サブテーマ1】

- 1) Gwon H.R., Oh H.J., Chang K.H., Isobe T., Lee S.Y., Kim J.H., You S.J., Kim J.G., Kim J.W. (2021) Occurrence, distribution, and potential exposure risk of organophosphate flame retardants in house dust in South Korea. *Science of the Total Environment*, 770, 144571 (IF: 10.754)
- 2) Nishihama Y., Lai Y., Isobe T., Nakayama S.F. (2022) Optimal method for determining the intraclass correlation coefficients of urinary biomarkers such as dialkylphosphates from imputed data. *Environment International*, 170, 107553 (IF: 13.352)

【サブテーマ2】

- 3) Ueyama J., Hayashi M., Hirayama M., Nishiwaki H., Ito M., Saito I., Tsuboi Y., Isobe T., Ohno K. (2023) Effects of Pesticide Intake on Gut Microbiota and Metabolites in Healthy Adults. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20 (1), 213 (IF: 4.614)

<その他誌上発表（査読なし）>

【サブテーマ1】

- 1) Sousa A.C.A., Malarvannan G., Isobe T., Rato L. (2022) Editorial: Obesogens in the XXI century: Emerging health challenges. *Frontiers in Endocrinology*, 13, 999908 (IF: 6.055)

(2) 口頭発表（学会等）

【サブテーマ1】

- 1) 高木麻衣、磯部友彦、岩井美幸、小林弥生、中山祥嗣：成人を対象としたパーソナルケア製品の使用に関する Web 質問調査、第 29 回日本環境化学討論会、2021 年 6 月 1 日～3 日（大阪、バーチャル）
- 2) 磯部友彦、岩井美幸、小林弥生、高木麻衣、中山祥嗣：クロマトグラフィー技術を活用した環境汚染物質の曝露動態研究、第 28 回クロマトグラフィーシンポジウム、2021 年 6 月 10 日～11 日（徳島、バーチャル）
- 3) 高木麻衣、磯部友彦、岩井美幸、小林弥生、中山祥嗣：Web 調査を利用した日本人のばく露係数データの取得、環境化学物質 3 学会合同大会（第 30 回環境化学討論会）、2022 年 6 月 14 日～16 日（富山）
- 4) 磯部友彦、中山祥嗣、岩井美幸、高木麻衣、上山純、小栗朋子、篠原直秀、国末達也、仲山慶、田上瑠美：化学物質の体内動態を把握するためのパーソナルケア製品使用と食事をコントロールした介入試験の提案、環境化学物質 3 学会合同大会（第 30 回環境化学討論会）、2022 年 6 月 14 日～16 日（富山）
- 5) Nguyen T., Isobe T., Iwai M., Takagi M., Ueyama J., Nakayama S.F. Assessment on exposure and elimination half-life of Neonicotinoids (NEOs) in human urine in Japan.環境化学物質 3 学会合同大会（第 30 回環境化学討論会）、2022 年 6 月 14 日～16 日（富山）
- 6) Nishihama Y., Nakayama S.F., Isobe T. (2022) Distinguishing heat-not-burn tobacco smokers from cigarette smokers using novel biomarkers and machine learning model. ISES 2022 Annual Meeting, 2022 年 9 月 25 日～29 日（リスボン、ポルトガル）
- 7) Isobe T. (2022) Exposure estimation from HBM data. ISES 2022 Annual Meeting, 2022 年 9 月 25 日～29 日（リスボン、ポルトガル）
- 8) Takagi M., Isobe T., Iwai M., Kobayashi Y., Nakayama S.F. Determination of exposure factors including use of personal care products via web-based questionnaire. ISES 2022 Annual Meeting, 2022 年 9 月 25 日～29 日（リスボン、ポルトガル）

- 9) Isobe T., Ueyama J., Iwai M., Takagi M., Oguri T., Shinohara N., Kunisue T., Nakayama K., Tanoue R., Nakayama S.F. Link the Results of the Birth Cohort Study to Chemical Regulation. Impacts of early life exposure to environmental contaminants: children's health in the Anthropocene, 2022年9月30日 (エヴォラ、ポルトガル)
- 10) Takagi M., Isobe T., Iwai M., Kobayashi Y., Nakayama S.F. (2022) Developing a Japanese Exposure Factors Database. Impacts of early life exposure to environmental contaminants: children's health in the Anthropocene, 2022年9月30日 (エヴォラ、ポルトガル)
- 11) 西浜柚季子, LAI Yonghang, 磯部友彦, 中山祥嗣 (2023) 尿バイオマーカーの級内相関係数を決定するための最適な方法の検討. 第93回日本衛生学会学術総会, 第93回日本衛生学会学術総会講演集, 78, 186
- 12) 磯部友彦, 中山祥嗣, 岩井美幸, 高木麻衣, 上山純, 小栗朋子, 篠原直秀, 国末達也, 仲山慶, 田上瑠美 (2023) 日用品等に含まれる化学物質の体内動態に関する研究. 第2回環境化学物質3学会合同大会 (第31回環境化学討論会), 2023年5月30日~6月2日 (徳島) 【演題登録済】

【サブテーマ2】

- 13) 上山純, 西原奈波, 高木麻衣, 岩井美幸, 北原悠吾, 磯部友彦: 尿中忌避剤及び代謝物同時測定法の妥当性評価とその応用. 環境化学物質3学会合同大会 (第30回環境化学討論会), 2022年6月14日~16日 (富山)
- 14) Nishihara N., Isobe T., Takagi M., Nakayama S.F., Iwai M., Kunisue T., Oguri T., Saito I., Ueyama J. High-sensitive determination method of insect repellents and its metabolites in human urine by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Impacts of early life exposure to environmental contaminants: children's health in the Anthropocene, 2022年9月30日 (エヴォラ、ポルトガル)

【サブテーマ3】

- 15) 小栗朋子, 篠原直秀, 高木麻衣, 上山純, 国末達也, 磯部友彦: 尿中代替フタル酸エステル類代謝物分析法の基礎的検討, 環境化学物質3学会合同大会 (第30回環境化学討論会), 2022年6月14日~16日 (富山)
- 16) 篠原直秀, 小栗朋子, 高木麻衣, 上山純, 磯部友彦: ハウスダスト中のフタル酸エステル類及びフタル酸代替物 ~DINCH 及び DEHA~, 環境化学物質3学会合同大会 (第30回環境化学討論会), 2022年6月14日~16日 (富山)
- 17) 小栗朋子, 篠原直秀, 高木麻衣, 上山純, 国末達也, 磯部友彦: フタル酸エステル類及び代替物質の尿中排泄, 環境化学物質3学会合同大会 (第31回環境化学討論会), 2023年5月30日~6月2日 (徳島) 【演題登録済】
- 18) 篠原直秀, 小栗朋子, 高木麻衣, 上山純, 磯部友彦: 食事中的フタル酸エステル類及びフタル酸代替物質の評価, 環境化学物質3学会合同大会 (第31回環境化学討論会), 2023年5月30日~6月2日 (徳島) 【演題登録済】

【サブテーマ4】

- 19) 大浦 奏, 田上瑠美, 上山 純, 磯部友彦, 国末達也: 内分泌かく乱化学物質のヒト尿中レベルと日内日間変動, 第29回日本環境化学討論会, 2021年6月1日~3日 (大阪、バーチャル)
- 20) 大浦 奏, 田上瑠美, 上山 純, 小栗朋子, 磯部友彦, 国末達也: ヒト尿中及びパーソナルケア製品中のフェノール性内分泌かく乱化学物質: 濃度変動と曝露評価, 第23回環境ホルモン学会, 2021年9月12日~13日 (北海道、バーチャル)
- 21) 大浦奏, 田上瑠美, 上山純, 小栗朋子, 磯部友彦, 国末達也: ヒト尿中及び曝露媒体中のフェノール性内分泌かく乱化学物質濃度と曝露量・排泄率の評価, 環境化学物質3学会合同大会 (第30回環境化学討論会), 2022年6月14日~16日 (富山)

- 22) 大浦奏、田上瑠美、磯部友彦、国末達也：バックグラウンド汚染の低減を考慮したヒト尿中有機リン酸エステル類の分析法開発、環境化学物質 3 学会合同大会（第 30 回環境化学討論会）、2022 年 6 月 14 日～16 日（富山）

(3) 「国民との科学・技術対話」の実施

【サブテーマ 1】

- 1) 磯部友彦：消費生活アドバイザー・コンサルタント・相談員協会（NACS）環境委員会勉強会（主催：消費生活アドバイザー・コンサルタント・相談員協会（NACS））、web 会議（参加者 10 名）、2020 年 7 月 28 日 19:00-21:00、演題：化学物質の曝露評価研究について
- 2) 中山祥嗣：第 91 回日本衛生学会市民公開講座、2021 年 3 月 6 日 14:00-16:00、web 会議（ライブアクセス数 202 人、総視聴数（3 月 22 日まで公開）740 回）、演題：今ここにある危機：化学物質が未来の子どもたちにおよぼす影響
- 3) 岩井美幸：第 91 回日本衛生学会市民公開講座、2021 年 3 月 6 日 14:00-16:00、web 会議（ライブアクセス数 202 人、総視聴数（3 月 22 日まで公開）740 回）、演題：化学物質のばく露を体内動態から考える
- 4) 磯部友彦：第 91 回日本衛生学会市民公開講座、2021 年 3 月 6 日 14:00-16:00、web 会議（ライブアクセス数 202 人、総視聴数（3 月 22 日まで公開）740 回）、演題：化学物質のばく露と体内濃度の関係を探る
- 5) 磯部友彦：LaMer 公開シンポジウム「生体試料を用いた化学物質ばく露評価研究」2022 年 1 月 27 日 15:00～17:00（Zoom 開催）、web 会議（ライブアクセス数 56 人）、演題：化学物質のリスク評価に必要な体内動態研究（講演とパネルディスカッションを含む）
- 6) 岩井美幸：LaMer 公開シンポジウム「生体試料を用いた化学物質ばく露評価研究」2022 年 1 月 27 日 15:00～17:00（Zoom 開催）、web 会議（ライブアクセス数 56 人）、演題：出生後の水銀ばく露（講演とパネルディスカッションを含む）

【サブテーマ 2】

- 7) 上山純：アジレント・テクノロジー サンプル前処理ウェビナー2020 特別講演、2020 年 10 月 16 日 15:00-15:50、web 会議（参加者 202 名）、演題：LC-MS/MS を用いた尿中グリホサート分析法の開発
- 8) 上山純：第 91 回日本衛生学会市民公開講座、2021 年 3 月 6 日 14:00-16:00、web 会議（ライブアクセス数 170 人、総視聴数（3 月 22 日まで公開）753 回）、演題：日常的に使用する殺虫剤や忌避剤のばく露を把握する
- 9) 上山純：LaMer 公開シンポジウム「生体試料を用いた化学物質ばく露評価研究」2022 年 1 月 27 日 15:00～17:00（Zoom 開催）、web 会議（ライブアクセス数 56 人）、演題：生体試料分析による殺虫剤や忌避剤のばく露評価法（講演とパネルディスカッションを含む）

【サブテーマ 3】

- 10) 蒲生昌志：令和 2 年度安全科学研究部門講演会「安全な社会を支えるリスク評価研究」2021 年 2 月 10 日 13:30～17:10、Web 会議（参加登録者人数：202 名）、演題：安全科学研究部門が取り組む新たな研究課題（本課題 5-2003 の紹介）
- 11) 小栗朋子：LaMer 公開シンポジウム「生体試料を用いた化学物質ばく露評価研究」2022 年 1 月 27 日 15:00～17:00（Zoom 開催）、web 会議（ライブアクセス数 56 人）、演題：化学物質の曝露評価-環境モニタリングと生物学的モニタリング-（講演とパネルディスカッションを含む）
- 12) 小栗朋子：令和 4 年度産総研エネルギー・環境シンポジウムシリーズ安全科学研究部門講演会「経済成長と環境保全・産業保安の両立～安全科学の新たな挑戦～」2023 年 2 月 7 日 13:30-17:10、産総研・臨海副都心センター（現地参加 59 名）、YouTube Live 配信、演題：化学物質のリスク評価・管理のための体内動態モデルの構築

【サブテーマ 4】

- 13) 国末達也、LaMer 公開シンポジウム「生体試料を用いた化学物質ばく露評価研究」2022 年 1 月 27 日（木）15:00～17:00（Zoom 開催）、web 会議（ライブアクセス数 56 人）、演題：LaMer における化学物質ばく露評価の取り組み（講演とパネルディスカッションを含む）

(4) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

(5) 本研究費の研究成果による受賞

特に記載すべき事項はない。

(6) その他の成果発表

- 1) Hue T. Nguyen, Tomohiko Isobe, Miyuki Iwai-Shimada, Mai Takagi, Jun Ueyama, Kana Oura, Rumi Tanoue, Tatsuya Kunisue, Shoji F. Nakayama (2023) Urinary concentrations and elimination half-lives of parabens, benzophenones, bisphenol and triclosan in Japanese young adults. *International Journal of Environmental Research and Public Health* (under review).
- 2) Nanami Nishihara, Yugo Kitahara, Mai Takagi, Mai Hayashi, Isao Saito, Satoru Watanabe, Miyuki Iwai-Shimada, Tomohiko Isobe, Jun Ueyama. Determination of skin-insect repellent picaridin and DEET in human urine using solid-phase extraction and liquid chromatography with tandem mass spectrometry and its application to a sample of Japanese adults. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* (under review).

IV. 英文Abstract

Systematic Development of Pharmacokinetic and Exposure Reconstruction Models for Chemicals of Personal Use

Principal Investigator: Tomohiko ISBOE, Shoji F. NAKAYAMA, Miyuki IWAI-SHIMADA, Mai TAKAGI

Institution: 16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki305-8506, JAPAN

Tel: +81-29-850-2910 / Fax: +81-29-850-2534

E-mail: isobe.tomohiko@nies.go.jp

Cooperated by: Nagoya University, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Ehime University

[Abstract]

Key Words: Pharmacokinetics, Endocrine disrupting chemicals, Elimination half-life, Pharmacokinetic model, Exposure reconstruction, Exposure factors, Biomonitoring

In the large-scale birth cohort studies, the health effects of chemicals have been assessed by examining the association between the chemical levels in biospecimens, such as blood and urine, and health outcomes. It is, however, not possible to estimate the exposure from the levels in the biospecimen because the information on pharmacokinetics is available only for limited chemicals. In this regard, exposure reconstruction, which is to back calculate the exposure from the levels in biospecimen, is necessary for evidence-based policy making using data from the birth cohort studies. Pharmacokinetic parameters are often extrapolated from animal experiments, but it is difficult to obtain the reliable data due to species differences in absorption, metabolism, and excretion. In addition, administering chemicals to study subjects may raise ethical and risk issues, so it is not suitable for evaluating multiple chemicals. To investigate the pharmacokinetics of the chemicals in the daily use products, we conducted an intervention trial with controlled diet and use of personal care products. This approach allows us to obtain pharmacokinetic parameters without administering chemicals to the participants.

From 2020 to 2021, we recruited 100 Japanese general adult men and women, and asked them to use/consume prepared personal care products and meals during the intervention period for 5 consecutive days. Biological samples (urine, blood) and exposure media samples (personal care products, diet, beverages, house dust) were collected before, during and after the intervention period and subjected to chemical analysis. These intervention trials were approved by the institutional ethical review committees of the participating institutions and were conducted with written informed consent from all the participants. Parabens, bisphenols, triclosan, phthalates, neonicotinoids, and insect repellent (DEET) were analyzed to determine the pharmacokinetic parameters.

Decreasing trends were observed for some chemicals such as parabens, triclosan, neonicotinoids, during the study period. Based on the trends in urinary excretion rate, elimination half-lives were calculated using PBPK model software. Estimated elimination half-lives for parabens (methyl-, ethyl- and n-propyl-), neonicotinoids (thiamethoxam and clothianidin) and DEET, which were in the range of 10-20 hours, were consistent with the previous reports, indicating exposure was reduced during the intervention period. Exposure amount could be back-calculated with acceptable uncertainty from the urinary excretion amount using the fraction urinary excretion for some analytes. These results showed that information on pharmacokinetics can be obtained by the research method established in this study without administering chemicals to the subjects.