



北海道大学
HOKKAIDO UNIVERSITY

環境研究総合推進費 令和元年度終了課題成果報告会
2020年

【5-1753】環境化学物質の複合曝露による 喘息・アレルギー、免疫系へ及ぼす影響の解明

北海道大学 環境健康科学研究教育センター

研究代表者 荒木 敦子

研究参画者

環境健康科学研究教育センター

岸玲子、アイツバマイゆふ、伊藤佐智子、宮下ちひろ、湊屋街子、小林澄貴、三浦りゆう

大学院医学研究院小児科学教室

有賀正

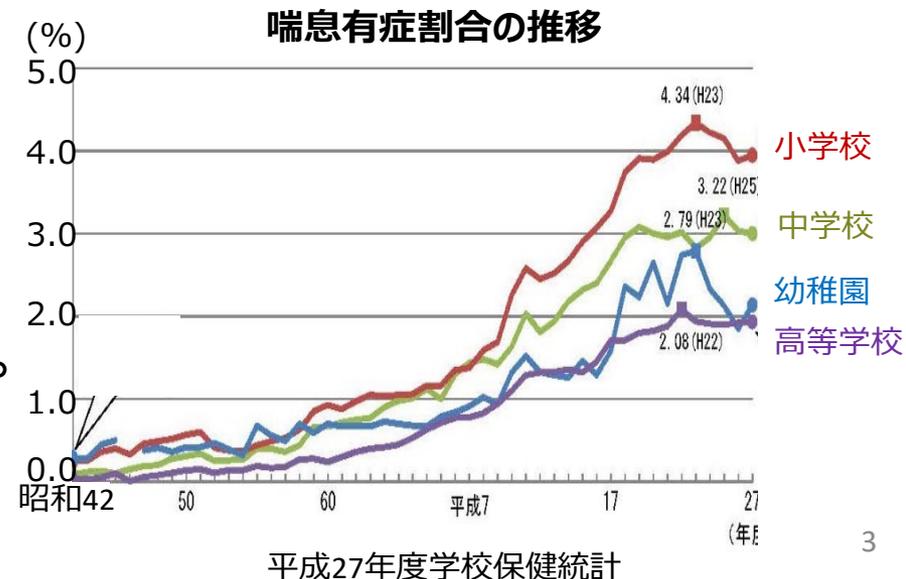
大学院医学研究院呼吸器内科学教室

西村正治、今野哲、ゴウダルジホウマヌ

- 研究背景
- 本研究の目的
- 本研究成果の報告
 - ・ 研究1：複合曝露と喘息・アレルギーとの予備的検討
(札幌市小学生を対象とした研究)
 - ・ 研究2：北海道スタディコホートをを用いた調査
 - ① 環境化学物質の曝露評価とアレルギーと炎症マーカーとの関連
 - ② 対面による喘息・アレルギー詳細調査の実施
- 本研究成果のまとめ
- 国民との対話
- 行政ニーズ/環境政策等への貢献

背景：喘息・アレルギーと化学物質の増加

- 過去30年、喘息やアレルギー性鼻炎などのアレルギー疾患が**増加**（平成27年度学校保健統計）。
- 原因として、**遺伝要因だけでは説明がつかず、住環境・食生活・生活習慣の変化など様々な要因**が考えられ、その一つとして**環境化学物質**による影響が懸念される。**特に人びとは日々様々な化学物質に複合的に曝露**されている。
- WHO/OECDがWorkshop on Risk Assessment of Combined Exposure to Multiple Chemicals 2011を開催するなど、その影響は世界的にみても喫緊の課題である。



リン酸トリエステル類

可塑性難燃剤



難燃性製品



電化製品



ワックス



床材

フタル酸エステル類

PVC・プラスチックの可塑剤



食事



パーソナルケア製品



プラスチック容器

ビスフェノール類

樹脂硬化剤、コーティング剤



缶食品



ポリカーボネート製品

リン酸トリエステル類

ハウスダスト中のリン酸トリエステル類濃度が高いと喘息やアレルギー性皮膚炎有症のリスク増加
(*Araki et al., 2014*)

フタル酸エステル類

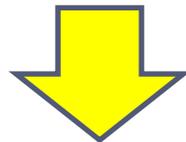
ハウスダスト中DEHP、BBzP濃度が高いと、児の喘息・アレルギー有症のリスク増加 (*Ait Bamai et al., 2014; Beko et al., 2015; Bornehag et al., 2004; etc.*)、胎児期DEHP曝露が高いと7歳までのアレルギー発症のリスク増加 (*Ait Bamai et al., 2018*)

ビスフェノール類

児のBPA濃度が高いと呼吸機能が低下、喘鳴の増加、呼吸器感染症有症のリスク増加
(*Spanier et al., 2014; Donohue et al., 2013; Gascon et al., 2015*)

先行研究の課題と本研究の目的

- フタル酸エステル類は日本の**学童の曝露実態に関するデータがほとんどない**。リン酸トリエステル類、ビスフェノールA代替物質BPS, BPF等は**ヒトのデータそのものがほとんどない**
- 単一の化合物曝露によるアレルギー/感染症への影響は報告されているが**十分ではない**
- 実生活に近い**複数の化合物による曝露影響はほとんど検討されていない**、これは**世界的にみても喫緊の課題**



学童の環境化学物質への曝露実態、および複合曝露も含めた喘息・アレルギーへの影響を解明する

研究 1 : 複合曝露とアレルギーの予備的検討

目的 : フタル酸エステル類・リン酸トリエステル類の**混合曝露、複合曝露とアレルギー**の関連を解析するための**統計モデルの予備検討**

対象 : 札幌市立小学校12校の学童128人のデータ (過去のプロジェクトで既にアウトカムの収集および曝露評価が実施済み)

アウトカム : 喘息・アレルギーをISAAC調査票で定義

曝露評価

- 尿中リン酸トリエステル類7化合物13代謝物 (LC-ESI-MS/MSで分析)
- 尿中フタル酸エステル類3化合物6代謝物 (GC/MSで分析)

研究 1 : 統計解析モデル

単一化合物曝露

- 各化学物質ごとにアレルギーとの関連をロジスティック回帰分析

混合曝露

① Weighted Quantile Sum (WQS) Regression Model

(Gennings et al., 2013)

- 相関の強い化合物について、**その混合を一つの変数としてアウトカムとの関連を解析**するモデル
- 欠点：一度に**正負どちらか方向の関連**しか検討できない

② Quantile g-computation (qg-comp) Model (Keli et al, 2019)

- WQSを発展させたモデルで、**正負の向きの寄与割合を同時に推定**

複合曝露

- 混合曝露で寄与割合の大きい2つの化合物について各物質を3分位とし、Low(T1とT2)とHigh(T3)の2値変数の組み合わせをカテゴリカル化
- Low×Low群に対し、High×High群を複合曝露の影響としてアウトカムとの関連を検討

結果：対象者の属性とアレルギー有病率

		n	%
性	男児	68	53.1
	女児	60	46.9
学年	2	14	10.9
	3	35	27.3
	4	27	21.1
	5	24	18.8
	6	28	21.9
世帯年収	< 300万円	6	4.7
	3-500万円	25	19.5
	5-800万円	50	39.1
	>800万円	28	21.9
	欠損	19	14.8
喘鳴	あり	29	22.7
鼻結膜炎	あり	47	36.7
湿疹	あり	36	28.1

リン酸トリエステル、フタル酸エステル類曝露レベル

- BDCIPPとDPHPはアメリカNHANES 2013-2014の6-11歳児より低め（Ospinaら2018）、TBOEPはオーストラリアよりも高い（Van den Eedeら2015）
- フタル酸エステル類ΣDEHPは諸外国よりは少し高めから同程度（Ait Bamaiら2015）
- リン酸トリエステル類の曝露濃度はフタル酸エステル類よりも低い

親化合物	代謝物(nM)	n	>LOD (%)	Min	25%tile	50%tile	75%tile	Max
EHDPHP	5HO-EHDPHP	113	80.0	<LOD	0.05	0.11	0.24	3.05
TBOEP	ΣTBOPE	128	99.2	<LOD	1.08	1.88	4.29	15.11
TCIPP	ΣTCIPP	128	95.3	<LOD	0.62	0.95	2.29	42.0
TPHP	ΣTPHP	128	83.6	<LOD	1.41	2.13	3.65	23.4
TDCIPP	BDCIPP	128	55.3	<LOD	<LOD	0.20	0.29	10.2
TECP	uTCEP	113	85.2	<LOD	0.10	0.19	0.36	1.13
DBP	ΣDBP	128	96.7	<LOD	98.4	236	759	31500
BBzP	MBzP	128	78.9	<LOD	27.6	62.9	124	6310
DEHP	ΣDEHP	127	100.0	82.3	265	442	631	29100

LOD: Limit of Detection

Araki et al., Environ Int. 2018; Bastiaensen et al., Environ Res 2019

単一化合物曝露との関連

第1三分位をRef.とした時に、第3三分位の**BDCIPP**と **Σ 2TCIPP**が**鼻結膜炎のリスクを上げた。**

	喘鳴 (n=29)	鼻結膜炎 (n=47)	湿疹 (n=36)
	OR (95%CI)	OR (95%CI)	OR (95%CI)
5HO-EHDPHP	3.21 (0.86, 11.89)	1.06 (0.39, 2.91)	2.59(0.79, 8.46)
BDCIPP	1.25 (0.39, 4.03)	2.93 (1.04, 8.28)*	1.96 (0.66, 5.84)
uTCEP	1.61 (0.46, 5.61)	1.37 (0.80, 1.87)	0.79 (0.25, 2.47)
Σ TBOEP	1.33 (0.43, 4.13)	1.24 (0.48, 3.88)	1.85 (0.63, 5.42)
ΣTCIPP	0.56 (0.18, 1.78)	4.53 (1.59, 12.9)*	1.03 (0.36, 2.96)
Σ TPhP	1.64 (0.53, 5.05)	2.67 (0.97, 7.36)⁺	1.11 (0.38, 3.25)
Σ DBP	0.48 (0.15, 1.54)	0.84 (0.32, 2.24)	0.69 (0.24, 2.02)
MBzP	1.20 (0.23, 3.48)	0.88 (0.33, 2.36)	0.83 (0.29, 2.36)
Σ DEHP	0.75 (0.23, 2.37)	1.09 (0.40, 2.99)	2.92 (0.82, 10.4)

標準化クレアチニン値で補正した値を3分位とし、第1三分位をRefとした時の第3三分位のOR (95%CI)

各化合物はモデルに個別に投入、*P<0.05, ⁺P<0.1

性・年齢、世帯年収、ダンプネス指数で調整

混合曝露、複合曝露とアレルギー性鼻結膜炎¹¹

① 混合曝露 (WQS)

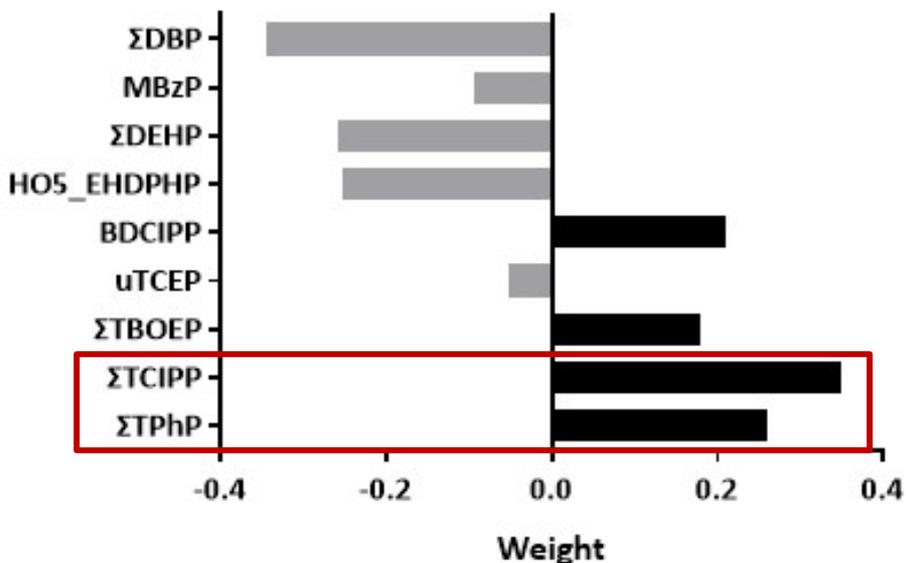
WQS index	OR (95% CI)
Positive	2.60 (1.38, 5.14)*
Negative	0.58 (0.29, 1.12)

WQS indexをモデルに投入、indexがIQR上昇した時のOR(95% CI)

*P<0.05

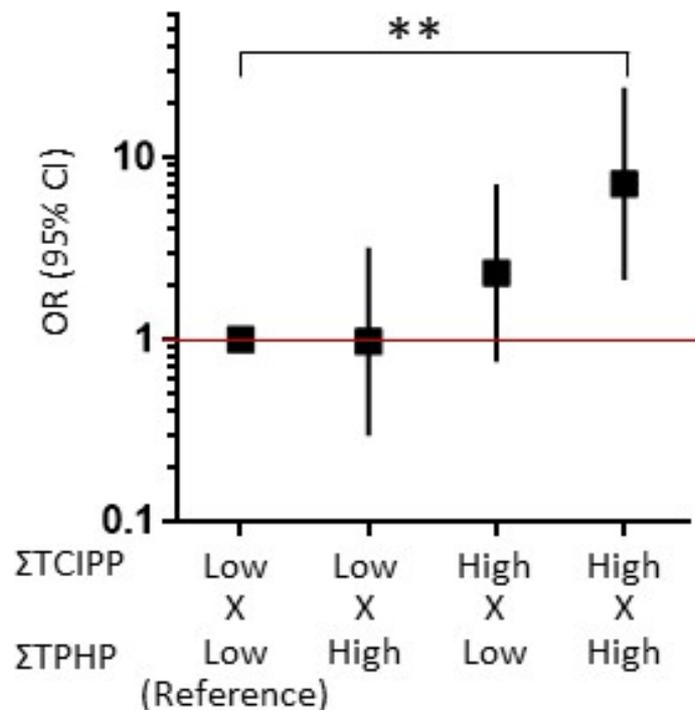
性、年齢、世帯年収、ダンプネス指数で調整

各化合物のWeight (qg-comp)



② 複合曝露

ΣTCIPPとΣTPhPともに濃度が高いと鼻結膜炎のリスクは約7倍



Low ≤T2、High = T3

Low x Lowをリファレンスとし、Low x High, High x Low, High x HighのOR(95%CI)をロジスティック回帰分析
性、年齢、世帯年収、ダンプネス指数で調整、

研究2：出生コホート 北海道スタディ

目的：研究1の限界であるサンプルサイズの少なさ、質問紙調査のみのアウトカム評価を克服するため、研究2として北海道スタディを対象集団とし、より大きなサンプルサイズで、客観的なアウトカム評価（バイオマーカー）を含めた検討を行う

胎児期 出生

ケースコホート研究 7歳(400名)

対面による詳細調査 9-11歳

胎児期曝露評価

縦断解析

質問紙調査および尿の回収 アウトカム

- ISAAC調査票による喘息・アレルギー
- 尿中炎症関連マーカー

曝露評価（尿）

- リン酸トリエステル類代謝物
- ビスフェノール類
- フタル酸エステル類代謝物

縦断解析

対面調査（診察、採血・採尿） アウトカム

- ISAAC調査票
- 呼気中一酸化窒素濃度（FeNO）
- 尿中炎症マーカー
- 特異的・非特異的IgE、好酸球数
- ジフテリア・破傷風抗体価

曝露評価（尿）

- フタル酸エステル類代謝物
- ビスフェノール類
- リン酸トリエステル類代謝物

調査説明・同意取得

身長・体重

呼気一酸化窒素濃度測定

診察、採血



小児科12医院の
協力により実施

方法：ケースコホート研究 (曝露評価とアレルギー/炎症マーカーとの関連)

対象：ケースコホートとして抽出した北海道スタディ7歳児400名

- ISAACで定義した喘鳴・皮膚炎・鼻結膜炎あり各100名、合計240名
(重複があるため)
- いずれの症状なし160名

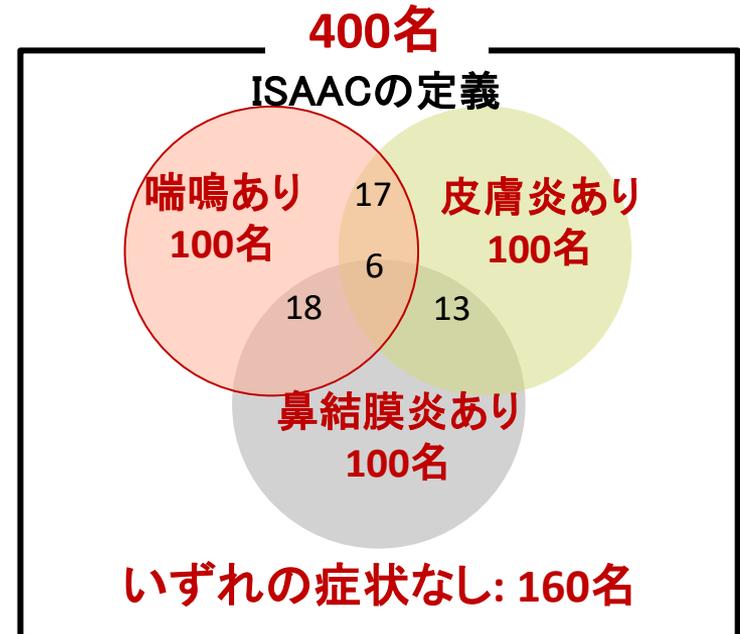
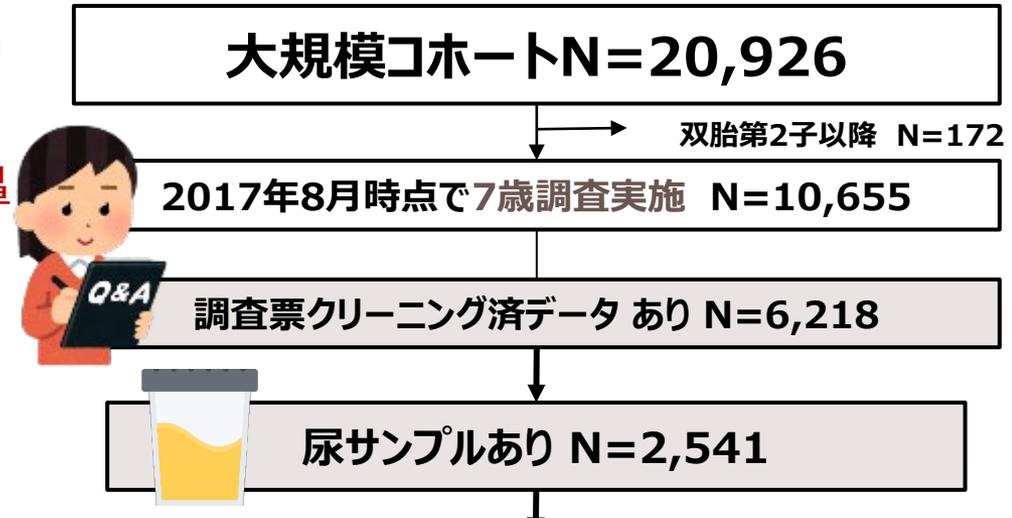
アウトカム評価

- ISAAC喘鳴・皮膚炎・鼻結膜炎
- 炎症マーカー (アレルギーとの関連が報告されている8-OHdG, HEL, HNE)

曝露評価

- リン酸トリエステル類 (ベルギーと協力)
- ビスフェノール類 (ベルギーと協力)
- フタル酸エステル類 (参画者が測定)

統計解析：研究1と同様のモデル



曝露評価 1 : リン酸トリエステル類の濃度分布

- 14代謝物中8代謝物の検出率 >50%だった。
- 最も高濃度はTPHP代謝物DPHP、次いでTCIPP代謝物BCIPHIPPだった。
- 札幌市小学生の濃度とは同程度 (Ait Bamai et al., 2019; Araki et al., 2019)
- BBOEHEP濃度はオーストラリアよりも高かった。
- DPHP, BCIPHIPP, BDCIPP濃度は米国より低く、欧、中国とは同程度。
- BCIPHIPP、BDCIPP、EHPHPは2012年から2017年で上昇傾向が認められた。 n=400

Parents	Metabolites (ng/mL)	LOQ	>LOQ(%)	25%tile	50%tile	75%tile	Max
TCIPP	BCIPP	1.00	0	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1.81
	BCIPHIPP	0.04	99	0.18	0.38	0.95	14.67
TNBP	DNBP	0.15	12	<LOQ	<LOQ	<LOQ	4.34
TPHP	DPHP	0.10	97	0.28	0.46	0.73	12.94
	4-HO-DPHP	0.50	1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1.44
	4-HO-TPHP	0.01	1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.07
	3-HO-TPHP	0.01	2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.25
TDCIPP	BDCIPP	0.05	74	<LOQ	0.13	0.28	22.73
TBOEP	BBOEP	0.05	62	<LOQ	0.11	0.27	4.69
	BBOEHEP	0.01	99	0.09	0.22	0.55	8.14
	3-HO-TBOEP	0.01	8	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.11
EHDPHP	EHPHP	0.05	93	0.18	0.31	0.58	4.84
	5-HO-EHDPHP	0.01	53	<LOQ	0.01	0.02	1.51

LOQ: limit of quantification

Ait Bamai et al., Environ Int 2019; Bastiaensen Environ Res 2020

曝露評価 2 : ビスフェノール類濃度分布

- 本分析法は、ラウンドロビン・テスト（試験所間比較）で10pptレベルまでの測定値の妥当性が確認できている。
- **BPAの濃度が最も高く**、中央値で893 pg/mL、検出90.2%。
- **次いで BPS** 106 pg/mL (79.3%)、**BPF** 66 ng/mL (83.3%)。
- BPF, BPSは最も高い曝露濃度が中央値の1000倍だった。
- BPA, BPF, BPS 濃度は2013-2014に収集されたアメリカの6-11歳児の尿中濃度よりも低い (Lehmler et al., 2018)。

N=400

pg/mL	LOQ	> LOQ (%)	Min	25th	50th	75th	Max
BPAF	20	19.4	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	93
BPF	20	83.3	>LOQ	31	66	166	95888
BPA	300	90.2	>LOQ	523	893	1678	19439
BPB	20	30.6	>LOQ	>LOQ	>LOQ	23	209
BPZ	40	13.9	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	911
BPS	40	79.3	>LOQ	46	106	242	21420
BPAP	40	23.0	>LOQ	>LOQ	>LOQ	>LOQ	471

LOQ: limit of quantification

曝露評価 3 : フタル酸エステル類濃度分布

- **全ての児の尿からDnBP, DEHPの代謝物が検出された。**
- 尿中濃度は5cx-MEPP > MnBP > 5OH-MEHP > 5oxo-MEHPの順で高かった。
- DEHP代謝物は、諸外国と同程度か少し高めと考えられる。
- MBzPは諸外国よりも低く、これはハウスダスト中濃度が諸外国よりも低い結果と一致していた (Ait Bamai et al., 2014) 。
- DiNPは構造異性体の混合物であり、本研究では**DiNP代謝物は異性体も含めた**定量をしており、過小評価することなくDiNP曝露を評価しているといえる。

n=400

Parentsf	Metabolites (ng/mL)	LOD	>LOD (%)	25th%	Median	75th%	Max
DiBP	MiBP	0.95	99.7	<LOD	7.0	12.1	27.4
DnBP	MnBP	0.78	100	2.6	20.6	35.1	58.8
BBzP	MBzP	0.10	99.0	<LOD	0.7	1.5	3.5
DEHP	MEHP	1.5	100	0.5	2.4	4.1	7.0
	5oxo-MEHP	0.05	100	1.3	12.3	20.5	33.2
	5OH-MEHP	0.15	100	1.8	16.5	26.8	43.8
	5cx-MEPP	0.12	100	2.4	23.3	38.5	67.0
DiNP	MiNP	0.09	96.9	<LOD	0.4	0.7	1.2
	OH-MiNP	0.05	100	0.3	2.3	4.1	7.5
	cx-MiNP	0.11	99.7	<LOD	1.4	2.5	4.7

LOQ: limit of detection

Partly presented by Ketema et al., ISEE/ISES-AC, 2019

リン酸トリエステル類、ビスフェノール類、フタル酸エステル類の 混合曝露とアレルギーとの関連

- 分析したリン酸トリエステル類代謝物、ビスフェノール類、フタル酸エステル類代謝物のうち、検出率 >50%の21化合物で混合曝露で検討した。
- **混合曝露**WQS indexが25%値から75%値になったときの**喘鳴のリスクは2倍、鼻結膜炎と湿疹は約1.8倍**だった。
- 喘鳴はBDCIPP、cx-MiNP、BBOEHEP、鼻結膜炎はBPF、BPA、5OH-MEHP、湿疹はBBOEHEP、5oxo-MEHP、BPSの寄与が大きかった。

喘鳴 OR (95%CI)

鼻結膜炎 OR (95%CI)

湿疹 OR (95%CI)

WQS index

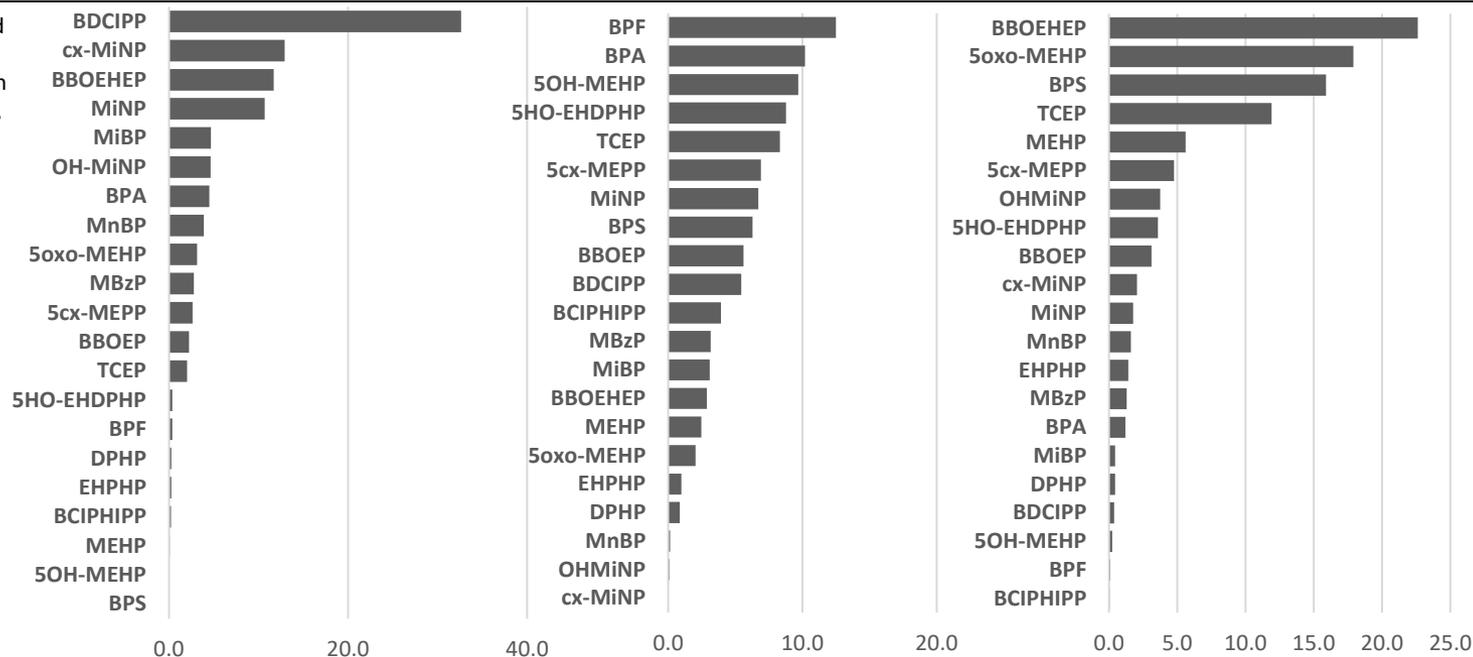
2.01 (1.31, 3.13)**

1.81 (1.08-3.05)*

1.78 (1.16-2.76)**

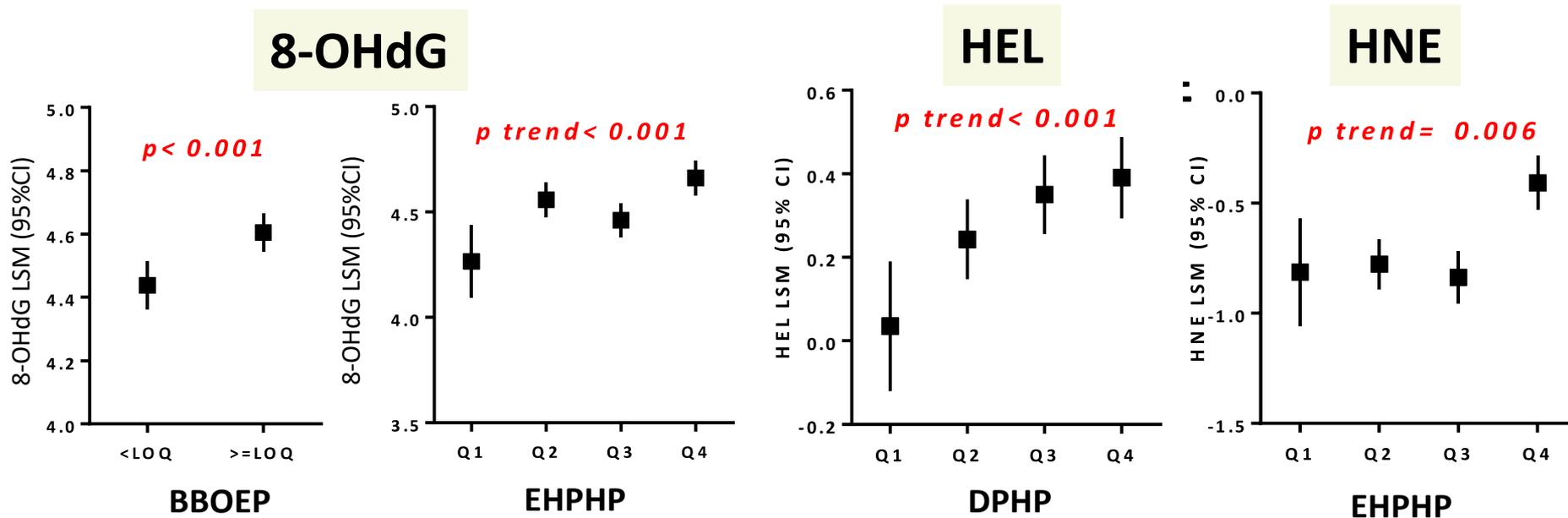
Metabolite levels were corrected by urinary creatinine levels and included into the WQS regression model, then adjusted for gender, BMI, ETS;

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$



リン酸トリエステル類代謝物と炎症マーカーとの関連

- 8-OHdGはDNA損傷、HELとHNEは炎症の病因や気道高感受性の役割を果たす炎症マーカー。
- **BBOEP, EHPHP, DPHP**は8-OHdG, HNE, HELとの間にそれぞれ有意な量反応関係が認められた。
- WQSでweight%が大きい2化合物で混合曝露との関連を検討したが、有意な関連は認められなかったことから、**単一化合物による影響が大きい可能性を示唆**。



All urinary OPFR metabolites and biomarkers are corrected creatinine levels. Urinary biomarkers are transformed natural log scales. PFR metabolites <75% of detection frequencies are categorized as <LOD and >=LOD. LSM (least square means) and 95% CI were adjusted by sex, environmental tobacco smoke, and BMI.

②対面による喘息・アレルギー詳細調査

子どもの特徴、喘息・アレルギーの有訴および測定値

項目	実施人数	平均値±標準偏差 /中央値 (25%-75%) /人数 (割合)
年齢	428	10.4 ± 0.96歳
身長	428	141.1 ± 8.5 cm
体重	428	35.8 ± 8.8 kg
喘鳴	428	32人 (9.2%)
鼻結膜炎	428	91人 (21.2%)
湿疹	428	96人 (22.4%)
全血中好酸球数 (cells/ μ L)	420	231.4 (122.8-425.5)
血清中総IgE (IU/mL)	417	129 (35.6-395.5)
FeNO (p.p.b)	423	17 (9-37)
尿中8-OHdG (ng/mL)	413	9.2 ± 4.5
尿中HEL (nmol/L)	408	126.2 ± 147.8
尿中HNE (μ g/mL)	365	32.5 ± 29.3
血清中 CC-16 (ng/mL)	413	5.8 ± 2.0
血清中ジフテリア抗体価 (IU/mL)	282	0.21 (0.15-0.41)
血清中破傷風抗体価 (IU/mL)	378	0.82 (0.52-1.41)

「国民との科学・技術対話」の実施

1. 高校出前講義「環境と私たちの健康」（2017年10月26日、2018年10月24日、2019年10月24日北海道札幌南高等学校、各約50名）
2. 市立札幌藻岩高校 総合的な学習の時間『ミライdesign』において講義「プラスチックに含まれる化学物質と健康」（2019年7月12日、北海道札幌市立藻岩高校、合計約80名）
3. 第22回地球研地域連携セミナー「身近な生活環境における化学物質と子どもたちの健康」（2018年6月30日、約30名）
4. 市民講演会「環境と私たちの健康とSDGs」（2019年10月2日、北海道大学学術交流会館、約50名）
5. 北海道大学環境健康科学研究教育センター：<https://www.cehs.hokudai.ac.jp/>
研究成果データベース「環境と健康ひろば」：<https://www.cehs.hokudai.ac.jp/hiroba/>
環境と子どもの健康に関する研究・北海道スタディ <https://www.cehs.hokudai.ac.jp/hokkaidostudy/>



本研究成果の科学的意義

1. 我が国の、学童のフタル酸エステル類5化合物10代謝物、リン酸トリエステル類7化合物14代謝物、ビスフェノール類7化合物の曝露実態を明らかにした。リン酸トリエステル類、ビスフェノール類の曝露評価は世界的に見ても知見は少ない。
2. 従来から行われてきた単一化合物曝露との関連に加えて、**現実により近い「混合曝露」「複合曝露」**を異なる統計モデルを用いて検討した。単一化合物モデルでは十分でなかった混合曝露によるアレルギーおよび炎症マーカーとの関連と、**寄与の大きい化合物**を示すことができた。
3. 札幌近郊に居住する学童の**一般集団428人**において、調査票によるアレルギーとともに、**アレルギー・免疫に関連する詳細なバイオマーカー値**を得た。今後、収集した検体を用いた子どもの曝露評価を実施し、胎児期化学物質曝露の結果も加えてアレルギー・バイオマーカーとの関連検討に活用できるデータを得た。

環境政策への貢献

1. 学童のデータが乏しい環境化学物質に関して、その**代替品も含めた曝露実態に関するデータ**を提供した
2. **現実により近い複合曝露によるアレルギーへの影響に関する科学的知見の提供により、複合曝露を考慮した化学物質の使用・管理**などの環境政策に貢献できる
3. 本研究結果は、**環境省エコチル調査**で検討すべき化学物質など、**基本課題の解決**に向けた有益な資料となる
4. 世界的にも懸念される、複合曝露に関するヒトでの研究成果は、我が国のみならず**グローバルな環境政策にとっても有益な科学的知見**となる