

学 位 論 文 要 旨 (和文)

氏 名 岩 渕 勝 己

1 題目

有機フッ素化合物の環境中及びラット体内における動態に関する研究

2 要旨

有機フッ素化合物 (Perfluoroalkyl acid ; PFAA) は、化学的に非常に安定な界面活性剤である。この化学的性質が非常に有用であることから、これまで工業的、商業的に広く利用されてきた。一方、この化学的な安定性は残留性有機汚染物質 (POPs) としての性質でもあり、これが要因となって全世界の環境中に拡散してきた。環境汚染が進んできていることでヒト生体への健康影響が懸念されているものの、環境中及び生体内における詳しい動態は、未だに十分には解明されていない。そこで本研究では、高感度で様々な試料に含まれる PFAA を分析する方法を確立して、環境中における PFAA の存在状況及び生体内における PFAA の動態を詳細に把握することを目的とし、以下の点について明らかにした。

[1] PFAA 分析方法

環境水中の PFAA は、極めて低濃度であるため分析が非常に難しい。筆者の所属する岩手県環境保健研究センターでは、この難問を解決し、非常に高感度で PFAA 分析する方法を開発した。本研究では、この方法及び先行研究で示されていた生体試料中からの PFAA 抽出方法を応用し、新たに生体試料及び底質に含まれる PFAA を高感度で分析する方法を考案した。

(1) 環境試料中の PFAA 分析方法

環境水からの PFAA の抽出は、当センターで 2001 年に開発された分析方法で行った。環境中の生体試料 (メダカ) からの PFAA の抽出は、いかに PFAA のロスなく多量に含まれるマトリクス成分を除去するかが鍵であり、既存の分析方法では行われていなかった固相カートリッジを使用したマトリクス成分の除去を行うことで、高感度で分析することが可能となった。底質からの PFAA の抽出は、既存の方法 (高速溶媒抽出装置 (AES) を利用する方法) とは異なった、本研究で確立した環境中の生体試料 (メダカ) からの抽出方法を応用した。ASE は利用せず、生体試料 (メダカ) の代わりに底質を用い、サンプル量及び操作手順等の改良を行うことで、生体試料と同様に高感度で分析することが可能となった。

(2) 生体試料中の PFAA 分析方法

ラット生体試料からの PFAA の抽出は、既存の方法よりも高感度で分析する必要があったことから、本研究で確立した、環境中の生体試料 (メダカ) からの抽出方法をさらに改良、応用した。サンプルを懸濁させる方法や抽出溶媒の量、操作手順等の改良を行うことで、高感度で分析する方法を確立した。

学籍番号	—	氏 名	岩 渕 勝 己
<p>[2] 環境中の PFAA 存在実態の把握</p> <p>各サンプルは、2013～2016 年にかけて全国 10 地点から採取した。</p> <p>(1) 環境水に含まれる PFAA</p> <p>環境水は、トータルで 26 サンプル採取した。PFAA の検出率は、Perfluorocarboxylic acid (PFCA; CXA (X は炭素数)) の C5A～C10A、Perfluorosulfonic acid (PFSA; CXS (X は炭素数)) の C8S は 100 %、C11A、C4S、C6S は 85%以上であった一方で、C14A と C10S は、すべての年、地点で 0%であった。PFAA の組成比は、C5A～C9A 及び C8S が大きい傾向にあった。</p> <p>(2) 底質に含まれる PFAA</p> <p>底質は、環境水と同様にトータルで 26 サンプル採取した。PFAA の検出率は、C8A～C12A、C8S で 62～88%であった一方で、C4S、C6S、C7S はすべての年、地点で 0%であった。PFAA の組成比は、C8A～C12A 及び C8S が大きい傾向にあった。</p> <p>(3) メダカに含まれる PFAA</p> <p>メダカは、トータルで 617 匹採取した。PFAA の検出率は、C8A が 60 %、C9A が 73 %、C10A が 90 %、C11A が 99 %、C12A が 93 %、C13A が 96 %、C14A が 76 %、C8S が 95 %であった。PFAA の組成比は、C9A～C13A 及び C8S が大きい傾向にあった。オスとメスで検出量に有意差が見られた地点、PFAA はあったものの、一定の傾向は見られなかった。体長と検出量との間で相関が見られた地点、PFAA もあったが、負の相関となっているものもあった。</p> <p>(4) PFAA の移行と蓄積</p> <p>PFAA は、環境水から底質及びメダカに移行し、最終的には平衡状態になるものと考えられることから、環境水とメダカの PFAA 濃度の相関、PFAA のメダカへの生物濃縮、環境水と底質の PFAA 濃度の相関を検討した。環境水とメダカの PFAA 濃度の間には、環境水中の PFAA 濃度と正の相関が見られた。環境水と底質の PFAA 濃度の間には、底質の乾燥重量あたりの濃度よりも強熱減量 (IL) あたりの濃度のほうが、相関が高くなる傾向があり、PFAA は底質に含まれる有機物に結合していることが示唆された。底質とメダカについても、IL あたりの PFAA 濃度で比較したほうが、相関が高くなった。このことから、底質に含まれる IL あたりの PFAA 濃度を分析することで、そこに生息するメダカに蓄積する PFAA の濃度を推定できる可能性が示唆された。</p> <p>[3] ラット体内における PFAA 動態の把握</p> <p>(1) 単回投与試験</p> <p>環境中からの検出が多い 4 種の PFAA (C6A、C8A、C9A、C8S) について、C6A、C8A、C8S 100 µg/kg BW、C9A 50 µg/kg BW をラットに投与し、各臓器における濃度、その経時変化、消失速度定数、半減期を求めた。C6A の最高濃度への到達時間は、各臓器とも投与後 1 時間で、その他の PFAA では脳と全血以外で投与後 12 時間であった。C6A の半減期は、それぞれの臓器の間でほぼ同じであり、他の PFAA よりもかなり短く 0.10～0.12 日程度であった。他の PFAA については、肝臓と全血の半減期が他の臓器と比較して数倍長く、肝臓においては、他の臓器との差は 2.5～8.5 倍、全血においては、1.5～2.2 倍であった。外挿によって算出した初期濃度は、C6A は血清中で最も高く、他の PFAA は肝臓において最も高かった。各臓器への送達は、C8S は投与されたほぼすべてが肝臓に配分され、続いて C9A が 87 %、C8A が 44 %、C6A は 4.6 %であった。4 種の PFAA とも、脳への送達は 0.1 % 未満で、非常に少なかった。</p>			

学籍番号	—	氏 名	岩 渕 勝 己
<p>(2) 長期投与試験</p> <p>C6A は、単回投与試験の結果から非常に迅速に排出されることが予測されたとおり、ほとんど蓄積されていなかった。他の PFAA は、多くが肝臓に蓄積されており、続いて血清又は腎臓に蓄積されていた。1、3 か月後の臓器中の PFAA 濃度を単回投与試験結果から推定したところ、実際の測定値とかなり近似していた。各用量群（低、中、高用量群）における各臓器の PFAA 濃度を用量標準化して比較したところ、PFAA 摂取量（dose rate）が高くなっても臓器へ取り込まれる割合は一定で、濃度に依存して臓器へ取り込まれる割合が高くなっていく傾向は見られなかった。この結果から、1～25 µg/L の用量範囲では、各臓器の PFAA 濃度は用量に比例していると考えられた。</p> <p>(3) PFAA の動態</p> <p>C6A は、単回投与後の各臓器における排出曲線がほぼ同じであったことから、1-コンパートメントモデルが適用可能と考えられた。C6A 以外の PFAA については、各臓器で排出曲線が異なっており、それぞれの臓器が独立した 1-コンパートメントであり、その集合体である生体での授受により複雑な挙動を示すものと考えられた。従って、従来のコンパートメントモデルは適用することができなかった。</p> <p>(4) ヒトのデータとの比較</p> <p>C8A の使用が自主規制される中、その代替品として今後環境中への負荷量が増加することが懸念されている C6A について、本研究のデータとヒトのデータを分析した先行研究のデータを比較したところ、ヒトには臓器により C6A が非常に蓄積されることが報告されており、ほとんど蓄積されないラットとの間には大きな蓄積の差があることが明らかとなった。一般的に短鎖の化学物質は長鎖の化学物質よりも半減期が短いとされるため、炭素数が 6 つの PFAA のヒト体内における動態は、C6S も含め、非常に特異的である可能性が考えられた。ヒトにおける C6A の体内動態や毒性に関しては、今後さらなる研究が必要である。</p>			

学 位 論 文 要 旨 (英文)

氏 名 _____ 岩 渕 勝 己 _____

1 題目

Kinetics of Perfluoroalkyl Acids in both the Environment and in Rats.

2 要旨

Perfluoroalkyl acids (PFAAs) are chemically stable surfactants, making them very useful, both industrially and commercially. This chemical stability also makes them persistent organic pollutants (POPs), which allows them to spread through systems easily. They are therefore, a strong environmental pollutant, and there is growing concern about their impact on human health. Occurrences of PFAAs in the environment and its toxicokinetics in the body are not yet fully understood, therefore, in this study we developed highly sensitive analytical methods for detecting PFAAs in various samples. We also aimed to understand the occurrence of PFAAs in the environment and the kinetics of PFAAs in the body. The analysis methods and the results are described below.

[1] Analysis methods for PFAAs

The analysis of PFAAs in water is very difficult due to their extremely low concentration. The Iwate Prefectural Research Institute for Environmental Sciences and Public Health, to which the author belongs, developed a new, highly sensitive analytical method for measuring PFAAs in water. In this study, this analysis method, along with the analysis methods for PFAAs in biological samples published in previous research, was applied. Using the information gained from these analyses, new, highly sensitive methods for PFAAs in biological samples and sediments were devised.

(1) Analysis methods for PFAAs in environmental samples

The PFAAs from water were extracted using the analysis method developed in our laboratory in 2001. In the case of biological samples (here we studied the medaka fish), the key point of the extraction procedure is removing a large amount of matrix components without the loss of PFAAs. To accomplish this, we used a solid-phase cartridge that has not been used in previously reported studies. Using this method, we were able to successfully analyze the sample by removing the matrix component. The extraction of PFAAs from sediments is typically done using accelerated solvent extraction (ASE), however, we used a method developed based on the extraction established in this study for biological samples. By improving our procedures, we were able to analyze sediment samples with the same sensitivity we achieved with biological samples.

(2) Analysis methods for PFAAs in rat samples

For the extraction of PFAAs from rat samples, we needed a more sensitive method than what was previously used. We applied the method we used for medaka fish, but improved the sample suspension technique, and changed the amount of extraction solvent used, as well as other operating procedures.

学籍番号	—	氏 名	岩 渕 勝 己
<p>[2] Results of PFAA values in the environment All of the samples were collected from 10 sites in Japan from 2013 to 2016.</p> <p>(1) PFAAs in water The detection rates of PFAAs from water were 100 % for Perfluorocarboxylic acid (PFCA with X carbons; CXA) of C5A to C10A and Perfluorosulfonic acid (PFSA; CXS) of C8S, and they were more than 85 % for C11A, C4S and C6S. On the other hand, C14A and C10S were not detected any year and in location. The composition ratios of PFAA tended to be larger for C5A to C9A and for C8S.</p> <p>(2) PFAAs in sediment The detection rates of PFAAs from sediment were 62 to 88 % for C8A to C12A, and C8S. On the other hand, C4S, C6S and C7S were not detected any year and in any location. The composition ratio of PFAA tended to be larger for C8A to C12A and for C8S.</p> <p>(3) PFAAs in medaka The detection rates of PFAAs from medaka were 60 % for C8A, 73 % for C9A, 90 % for C10A, 99 % for C11A, 93 % for C12A, 96 % for C13A, 76 % for C14A and 95% for C8S. The composition ratio of PFAA tended to be larger for C9A to C13A and for C8S. Although there were several sites where significant differences were observed between the types of PFAAs found in male and female medaka, the trend was not consistent. There were also several sites where a significant correlation between the body length of the medaka and the detected PFAA concentration was observed; however, in some instances, this correlation was negative.</p> <p>(4) PFAA migration and accumulation It was previously thought that PFAAs migrate from water to sediment or medaka, and then reach steady state. Thus, we examined the correlation of PFAA concentrations between water and medaka, between water and sediment, and between sediment and medaka. We found a positive correlation in the case of PFAA concentrations of water and medaka, where higher PFAA concentrations in water led to more PFAA accumulation in the medaka. When comparing PFAA concentrations between water and sediment, we found higher correlation rates for PFAA concentrations of sediment per ignition loss (IL), than with those of sediment per dry weight. This might suggest that PFAAs combine with the organic matter in sediment. For sediment and medaka, the correlations were higher when we used the PFAA concentrations per IL; thus, it may be possible to estimate the amount of PFAA accumulating in medaka by measuring PFAA concentrations per IL in sediment.</p> <p>[3] Understanding PFAA kinetics in rats (1) Single administration test The concentrations in each tissue, the time course of the concentrations, the elimination constants, and the half-lives of 4 PFAAs (C6A, C8A, C9A and C8S), which are usually detected in the environment, were calculated. The maximum concentration time of C6A was 1 hour after administration, whereas for the other PFAAs it was 12 hours after administration except for samples collected from the brain and whole blood samples. The half-life of C6A (approximately 0.10 to 0.12 days) was almost the same for each tissue, and it was much shorter than that for the other PFAAs. For the other PFAAs, the half-life in the liver and whole blood samples were several times longer than for the other tissues. The initial concentration was the highest in serum for C6A, and it was the highest in liver tissue for the other PFAAs. For PFAA deliveries to the tissues, almost all administered C8S was delivered to the liver, followed by 87 % of C9A, 44 % of C8A and 4.6 % of C6A. The delivery to the brain was less than 0.1 % for the 4 PFAAs.</p>			

学籍番号	—	氏 名	岩 渕 勝 己
<p>(2) Chronic administration test</p> <p>C6A had the lowest accumulation rates in the tissues, and we expected it to be eliminated rapidly based on the results from a single administration test. The other PFAAs accumulated primarily in the liver, followed by serum or kidneys. The PFAA concentrations in tissues at 1 and 3 months that were estimated based on a single administration test, were well fitted to the measured values. Dose-normalized PFAA concentrations in tissues for each dose group (low, medium and high dose group) were also compared, and even though the dose rate became higher, the uptake to tissues did not increase. Therefore, PFAA concentrations in tissues seemed to be proportional to the dose rate, in the range of 1 to 25 µg/L.</p> <p>(3) PFAA kinetics</p> <p>A one-compartment model appears to explain C6A movement through the rat's body based on the elimination curves calculated from tissues after a single C6A administration. For the other PFAAs, the elimination curves for each tissue were not the same. The body appeared to be an assortment of independent one-compartments in the elimination phase; thus the classical compartment model was not applicable.</p> <p>(4) Comparison to human data</p> <p>The use of C8A is now prohibited, so in the future we expect to see increases of C6A in the PFAA load into the environment. The results of this study suggest, however, that C6A does not accumulate in rats, whereas previous research suggests high accumulation rates in human bodies. Previous work also suggests that the half-life of C6S is longer than C8S in the human body. Generally short-chain chemicals have a shorter half-life than long-chain chemicals, so the kinetics of 6-carbon PFAA in a human body might be specific; this aspect merits further research.</p>			