

—有害環境汚染物質に対する新規健康影響評価法・診断法の確立と
社会普及啓発の検討—

代表者	本平航大	北海道大学大学院獣医学院
研究分担者	池中良徳	北海道大学大学院獣医学研究院
拠点構成員	野見山桂	愛媛大学沿岸環境科学研究センター

— 研究目的 —

医療技術・科学技術が著しく進歩する現代ではあるが、マラリアや新型コロナウイルスに代表されるように私たち人類は依然として感染症の危険に脅かされている。特に開発途上国では感染症が国益を揺るがす大きな問題である。その中で抗生物質や殺虫剤などの多くの化学物質が人・動物における感染症コントロールのために広く世界中で使用されてきた。

しかしながら、その陰で開発途上国における殺虫剤散布の管理、動物に対する抗生物質使用の管理が不十分である可能性も示唆されているが、こうした化学物質によるヒト・動物の健康へ脅威（ケミカルハザード）は目に見えにくく、感染症ほどの関心が向けられていない。研究結果を社会に還元し、問題解決に導くために、人々の意識を変えていくことにも力を入れる必要がある。

化学物質による感染症コントロールは現在も必要不可欠であり、汚染状況をモニタリングし、健康影響を明らかにすることは緊急の課題である。

こうした背景を鑑み、本研究では1. **開発途上国における環境中、動物中、農畜産物中の環境汚染物質や残留動物用医薬品をモニタリングし、途上国にその結果を還元すること**、2. **環境汚染物質に対する生体への健康影響評価を実施すること**、3. **開発途上国での環境汚染物質に対する教育活動**を目的とした。

－ 研究内容 －

1. 環境汚染物質、残留動物用医薬品のモニタリング

本研究ではアフリカにおける環境汚染物質、またアジアにおける残留動物用医薬品のモニタリングを実施する予定であったが、新型コロナウイルス感染症の影響を受け、アフリカを対象とした研究活動を中止し、本年はモンゴル国における残留動物用医薬品のモニタリングに関する研究に注力した。モンゴル国をはじめとした開発途上国では人員、予算など、複数の問題から先進国が実施している残留動物用医薬品のモニタリングが出来ないケースが散見される。そこで本研究では開発途上国でも実施可能な安価で簡易な手法の確立を実施した。今回は特にモンゴル国でも利用されているタイロシン、テトラサイクリン、イベルメクチンの3種類の動物用医薬品の解析を実施した。手法の評価のため3 mlの水、ないし3 gの合いびき肉(牛・豚)に既知の濃度のタイロシン、イベルメクチンを添加し、添加医薬品を開発した手法で抽出、精製しHPLCを用いて各医薬品の回収率を算出した。同様に1 mlの水、ないし1 gの肉に濃度既知のテトラサイクリンを添加し添加回収試験を実施した。タイロシン、テトラサイクリンはHPLC/UV、イベルメクチンはHPLC/MSにより定量を行った。

2. 環境汚染物質に対する生体への健康影響評価

殺虫剤 DDT を依然散布している南アフリカ共和国にて 2017 年にサンプリングを行い、当該研究室にて保存していた野生げっ歯類の肝臓を用いて、DDT とその代謝物の濃度、また肝臓中の遺伝子発現量の関連性を定量的 PCR にて調査した。

3. 開発途上国での環境汚染物質に対する教育活動

「1. 環境汚染物質、残留動物用医薬品のモニタリング」の開発では、事前にモンゴル国と多数の会議を実施し、予算や人員の点からも無理のない手法を検討した。開発した新しい手法は日本で添加回収試験などの検証を行った後、モンゴル国に輸出し、現地の研究者とその適合性を確認した。技術輸出には Facebook Messenger などオンラインのツールを利用し、添加回収試験の結果などをもって、技術が正確に輸出されているか確認した。

— 研究成果 —

1. 3. 環境汚染物質、残留動物用医薬品のモニタリングと教育活動

タイロシン、イベルメクチンの農畜産物中からの抽出、精製工程では混ざりあわない2種の溶媒を用いて精製する溶媒抽出法（液々分配）と呼ばれる技術を繰り返すだけで前処理が完了する手法を検討した。

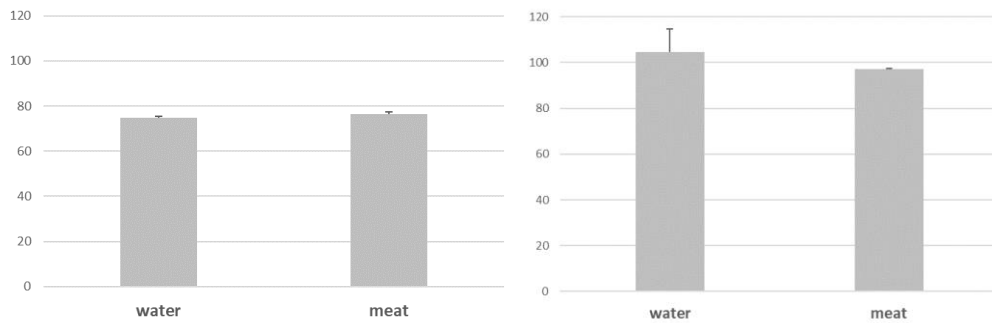


Fig 1 タイロシン添加回収試験結果（左：北海道大学、右：モンゴル生命科学大学）

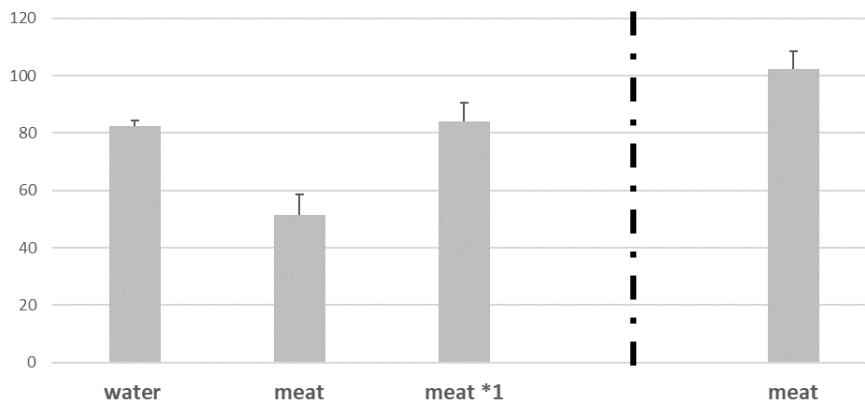


Fig 2 イベルメクチン添加回収試験結果（左：北海道大学、右：モンゴル生命科学大学）*1はモンゴル生命科学大学に輸出したメソッドとは異なり、キットを用いて精製を実施した。

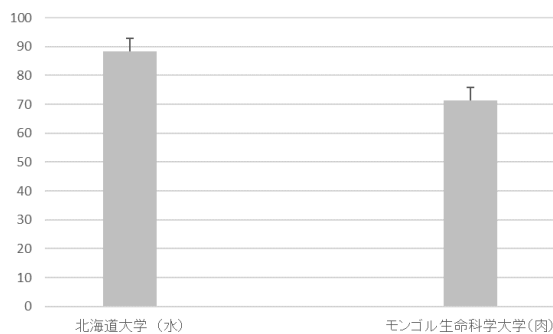


Fig 3

テトラサイクリン添加回収試験結果

代表者 1 ml 水、モンゴル生命科学大学

1 g meat を用いた添加回収試験結果

Fig 1, 2 にはタイロシン、イベルメクチンの添加回収試験の結果を示した。モンゴル国でも同様の手法を検討してもらい、双方で許容できる結果が得られた。この手法は水、アセトニトリル、ヘキサンなどの溶媒のみを利用するため、通常抽出・精製で利用されるキットやカートリッジを利用する手法と比較し、はるかに安価な手法と言える。しかしながら、イベルメクチンに関して、日本では HPLC/MS を利用しており、精製過程が不十分であったせいか、夾雑物によると考えられる見かけ上の回収率の低下がみられた。モンゴル国ではイオン化効率に影響しない蛍光検出器を利用しているため、本手法で問題なく解析が可能であり、高い回収率を導き出した。モンゴル国での正確な残留動物用医薬品の定量を確認するため、同様のサンプルを日本とモンゴル国の両国で定量することが考えられる。日本では本手法における MS 検出器でのイベルメクチンの定量が出来なかったため、* 1 に記したようにキットを用いた精製を行い、高い回収率が得られた。モンゴル国では* 1 の手法は、実施が困難であるが、日本でモンゴル国の手法を評価する際に* 1 の手法が有用であると考えられる。また* 1 の試験法は DDT の抽出、精製手法と近似しており、共通の抽出、精製過程を用いてイベルメクチン、DDT の抽出、精製が可能となった。

上記の手法ではテトラサイクリンの抽出は出来なかったため、カートリッジを用いた抽出、精製を検討した。Fig 3 には Oasis HLB カートリッジを用いた添加回収試験の結果を示した（北海道大学：水、モンゴル生命科学大学：肉）。同じ手法をとっているものの、モンゴル国では回収率の改善が必要であると考えられる。タイロシンの手法と比較し、カートリッジを使う分、コストはかかるものの工程が少なく、操作が容易な手法を開発した。

イベルメクチンはすでに安定した回収率を得ることが出来ていたため、モンゴル国で本手法を用いた畜産物中の残留動物用医薬品の定量を開始した。スーパーマーケットから羊肉、牛肉などの計 75 サンプルを入手し、試験を実施したところ、1 サンプルから本手法の定量限界を超えるイベルメクチンを検出した。（都市封鎖中に伴い、現地での研究を中断中）

2. 環境汚染物質に対する生体への健康影響評価

本研究では肝臓における脂肪酸の代謝などに関与することが知られている *Fasn, Acaca* などの遺伝子に着目し定量的 PCR を実施したが、今回用いた野生げっ歯類においてはこうした遺伝子と肝臓中 DDT また代謝物である DDE, DDD の間に有意な関連性は確認できなかった。

— 成果発表 —

- ・ SaSSOH, 「COLLABORATIVE WORK WITH MONGOLIA : EASY, CHEAP AND EFFICIENT METHOD DEVELOPMENT FOR DRUG RESIDUE IN ANIMAL PRODUCTS」, Sep. 2020, Sapporo Japan
- ・ SCIENTIFIC CONFERENCE “NEW GENERATION TOWARDS AGRICULTURAL SUSTAINABLE DEVELOPMENT, 「Validation of Method for Analysis of ivermectin residue in meat by HPLC-FD and some results」, Nov. 2020, Mongolia

— 今後の問題点 —

モンゴル国における残留動物用医薬品に関しては、回収率やばらつきの改良、また手技が確実にモンゴル生命科学大学に輸送されていることの確認などの追加検証が必要である。添加回収試験では、今回残留基準値からみて非常に高い濃度を使用しており、濃度の低下させたくて同様の結果が出ることを現地で検証する必要がある。またモンゴル国では多数の動物用医薬品が利用されており、他の動物用医薬品に関しても手法を確立していくとともに、モンゴル生命科学大学で無理なく維持できる仕組みを構築していく必要がある。

また本研究はアフリカ諸国における殺虫剤の汚染状況に関してもモニタリングする予定であったが、新型コロナウイルス感染症のため、アフリカでのサンプリングを実施することはできなかった。しかし、アフリカ諸国では依然として DDT をはじめとする毒性が報告されている化学物質が利用されており、アフリカ諸国での環境汚染物質のモニタリングを実施していく必要がある。