

研究課題名

ネオニコチノイド系農薬の曝露実態把握と体内動態モデル構築

Exposure to and pharmacokinetics of neonicotinoid insecticides

共同研究者名

磯部友彦、岩井美幸、高木麻衣（国立環境研究所）、上山純（名古屋大学）、
国末達也、仲山慶、田上瑠美（愛媛大学）

（１）研究目的

環境省主導で実施されている「子どもの環境と健康に関する全国調査（エコチル調査）」では、化学物質曝露が子どもの成長・発達に与える影響を解明するために、化学物質の生体試料中濃度を曝露の指標とし、子どもの健康アウトカムとの関連について調査を進めている。エコチル調査では、個人の化学物質の生体試料中濃度を測定するため、参加者個人の化学物質曝露と健康影響の関連を明らかにすることができ、この点はこの研究デザインの大きなメリットである。既に、エコチル調査ではいくつかの化学物質について生体試料中濃度と健康アウトカムとの関連が報告されており、大規模疫学調査を実施する意義が示されつつある。一方で、これらの大規模調査では、コストや労力の観点から参加者１人から採取および化学分析できる生体試料には制限があり、曝露評価・アウトカム評価の精度や個人内の代表性を担保することが、その後の解析の信頼性向上のために不可欠である。多くの調査研究で１回の随時尿（あるいは早朝尿）の測定結果を曝露のサロゲートとして用いているが、例えば、化学物質によっては体内半減期が短いために個人内の濃度変動が大きく、個別の測定結果が個人の曝露を反映していると言えない場合もあるため、化学物質ごとに個人内変動を把握する必要がある。

我々の研究グループでは、日用品に含まれる化学物質について生体試料中濃度と曝露量の関係を明らかにする目的で調査を実施しており、以前の共同研究で調査協力者から生体試料（血液、尿）および曝露媒体試料（食事、飲料、パーソナルケア製品、ハウスダスト）を採取した。これまでに、フェノール系化合物、虫除け剤成分、フタル酸エステル類など一部の化学物質について曝露媒体と生体試料の化学分析により濃度データを取得し、その体内濃度や蓄積プロファイルを明らかにしてきた。本共同研究では、これらの試料およびデータを利用することで対象化学物質の体内動態パラメータの取得を進めている。これまでに、名古屋大学（分担研究者：上山純）で生体試料の採取を実施して化学分析用に分注・保管しており、基本属性や生活習慣など調査協力者に関する情報も整理され活用可能である。また、愛媛大学（分担研究者：国末達也、田上瑠美）で測定されたフ

エノール系化合物、名古屋大学（分担研究者：上山純）で測定された虫除け剤成分、2023 年度に本共同研究で取り組んだネオニコチノイド系農薬について、一部の体内動態パラメータを取得しており、曝露量との関連を解析している。

上述の通り、エコチル調査では化学物質の生体試料中濃度と健康影響との関連が解明されると期待できるが、現状では因果関係の解析や参照用量・基準値の策定に直接つなげることができない。化学物質のリスクは、曝露量と有害性の積で評価・管理されるため、健康影響を生じる生体試料中濃度が明らかになっても、曝露経路となる環境・食品等の曝露媒体の濃度に基準値を設定することは困難であり、エコチル調査の成果が化学物質のリスク管理に活用されることを妨げる一因となっている。ネオニコチノイド系農薬については、2023 年度の本共同研究で一部の物質について尿中半減期など体内動態パラメータの取得を進めているが、尿中濃度の個人内変動については情報が限られており、評価が必要である。そこで、今年度は、同一の調査協力者から複数回採取した尿試料を用いて、ネオニコチノイド系農薬濃度の個人内変動を明らかにする。ネオニコチノイド系農薬は世界的に多用される農薬であり、日本国内でも環境汚染や食品への残留が社会的関心事となっている(1-4)。世界中で食事等を介したヒトの曝露および健康影響も報告されているものの、サンプルサイズの制約や曝露評価の代表性、個人内変動、体内動態、曝露とアウトカムとの間の有害性発現経路に関する情報の欠如などから、日常的曝露と健康影響の関連を示した研究はこれまでに報告例がなく、大規模疫学調査等による解明が急務である。ヒト体内に取り込まれた化学物質のうち、尿中に排泄される化学物質は生体内半減期が数時間から数日と短いものが多い。従って採尿の時点によって、個人の曝露量を実際よりも過小・過大に評価するバイアスの可能性がある。濃度の個人内変動の大きさを明らかにすることにより、疫学調査の目的に適した採尿回数や対象集団の必要数の推定、統計解析手法の選択に活用できる。本研究では、曝露実態や体内動態について明らかにすることで、ネオニコチノイド系農薬曝露の健康影響について因果関係の解明に資する基礎データを提供する。

（２）研究方法

過去 3 年間に渡って名古屋大学で実施した介入試験により、曝露媒体試料、生体試料が得られており、日用品に含まれる化学物質を対象として分析を進めている。介入試験では計 100 名の協力者をリクルートし、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ことにより、日用品に含まれる化学物質の曝露を一定期間コントロールした。調査開始にあたり、各機関で倫理審査委員会の承認を受

けた。昨年度までに、調査協力者のうち5名から得られた尿試料のネオニコチノイド系農薬（アセタミプリド、クロチアニジン、ジノテフラン、イミダクロプリド、チアクロプリド、チアメトキサム、ニテンピラム、フロニカミド、スルホキサフロルおよび一部代謝物）計13物質を分析し、介入前日（Day0）の濃度を日常的な曝露レベルと考え、介入期間中の濃度推移を観察した(5)。介入期間中に尿中濃度が減衰する物質について排泄速度の変動から半減期を算出し、既報と同程度の半減期が得られることを確認した。今年度は、これらのうち介入前日（Day0）の尿試料と介入1日目（Day1）の早朝尿（FMV）を、介入の影響を受けていない尿と仮定し、個人内変動の指標として級内相関係数（Intra-class correlation: ICC）を算出した。

分析は、尿試料 100 μ l に内部標準溶液を添加し、アセトニトリルで除タンパク後 Isolute Hydro DME+カートリッジで前処理したのちに、高速液体クロマトグラフ-タンデム質量分析装置で定量した（図1）。高速液体クロマトグラフは、島津製作所製 Nexera X2 UHPLC、質量分析装置は島津製作所製 LCMS-8060、分析カラムには Waters 製 ACQUITY UPLC HSS C18 (2.1 mm I.D.×100 mm L, 1.8 μ m)を用いた。

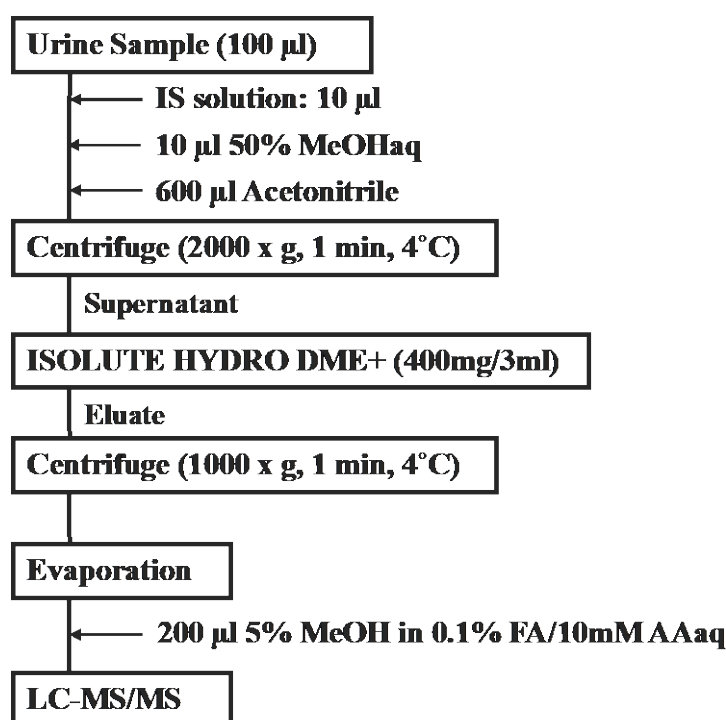


図1. 尿中ネオニコチノイド系農薬の分析フロー

(3) 研究成果

級内相関係数 (ICC) とは、一般的な相関係数 (例: ピアソンの積率相関係数) とは異なり、データそのもの一致度を調べるための統計的指標値であり、一般的には医療分野における検査や測定の信頼性を評価する指標として用いられる。本研究では、同一分析法で測定された複数回の尿試料中の濃度変動を個人内変動の指標として用いることができると仮定し、検査者内信頼性の評価に用いられる ICC(1,1)を算出することとした。ICC(1,1)は下記 (式 1) により求め、0.4 以上だった場合は中程度の一致、0.7 以上だった場合は十分な一致と評価した。

$$ICC(1,1) = \frac{BMS - WMS}{BMS + (k - 1) WMS}$$

ここで、BMS はサンプル間の変動を、WMS は測定ごとの変動と誤差の和を、k は測定回数を示している。昨年の分析結果により(5)、介入期間中にネオニコチノイド系農薬濃度に変動が認められることが多く、介入によって尿中濃度に影響していることが推察されたため、介入の影響を受けていない尿試料として、介入前日 (Day0) の尿試料と介入 1 日目 (Day1) の早朝尿 (FMV) を、ICC(1,1)の算出に用いることとした。また、5 名の調査協力者のうち採尿回数の最も少なかった 3 回分の尿試料の結果を用いて、全員から検出された物質 (チアメトキサム、ジノテフラン、クロチアニジン、アセタミプリドデスメチル) の 4 物質について、ICC(1,1)を算出した。その結果、チアメトキサム、ジノテフラン、クロチアニジンについてはいずれも ICC(1,1)は 0.7 を超過しており、個人内の再現性が比較的高く、単回の採尿でも測定結果が曝露を反映すると示唆された。一方で、アセタミプリドデスメチルについては ICC(1,1)が 0.7 を下回っていたが、中程度の一致度を示しているため、大規模なバイオモニタリング等でサンプルサイズが確保できる場合は、単回の採尿による尿中濃度の測定結果を曝露の指標として用いることができると考えられる。

表 1. 5 名の 3 回分の尿試料の結果から算出された級内相関係数 (ICC(1,1))

	ICC(1,1)
Thiamethoxam	0.887
Dinotefran	0.774
Clothianidin	0.883
ACTDM	0.685

これらの結果は、先行研究により算出されたネオニコチノイド系農薬の ICC (6,7)や我々のグループが別研究で算出したリン系農薬代謝物の ICC (8)と比べて高値を示しており、調査協力者の生活習慣や食生活、尿を採取した季節などの違いが尿中濃度の個人内変動に影響していることが推察される。

(4) 今後の課題

今回の解析では、介入前日 (Day0) の尿試料と介入 1 日目 (Day1) の早朝尿 (FMV) を、介入の影響を受けていない尿と仮定し、個人内変動の指標として級内相関係数 (ICC(1,1)) を算出したが、尿試料としてはほぼ丸 1 日分のデータしか取得できておらず、個人の日内変動を示すのみとなってしまう。また、調査協力者間の 1 日あたりの採尿回数に差が認められたため、ICC(1,1)の算出には最少採尿回数の 3 回分のデータしか用いることができず、ICC(1,1)を過大評価した可能性を否定できない。今後、介入の影響を受けていない尿を複数回採取することにより、個人内の日間変動を示す ICC の算出を予定している。

【参考文献】

1. Marfo JT et al. (2015) PLoS ONE 10(11): e0142172.
2. Ueyama J et al. (2014) J Occup Health 56, 461–468.
3. Anai A et al. (2021) Int J Hyg Environ Health 236, 113797.
4. Harada KH et al. (2016) PLoS ONE 11(1): e0146335.
5. Nguyen HT et al. (2024) Chemosphere, 349, 140920.
6. Li AJ et al. (2020) Environ Int 135, 105415.
7. Li F et al. (2022) Chemosphere 307, 135705
8. Nishihama Y et al. (2022) Environ Int 170, 107553.