

厚生労働科学研究費補助金
化学物質リスク研究事業

ダイオキシン類等による胎児期曝露が幼児の発達に及ぼす影響の
前向きコホート疫学

(H15-化学-006)

平成15年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 佐藤 洋 (東北大学大学院医学系研究科)

平成16年3月

目次

I. 研究組織	1
II. 総括研究報告書	
ダイオキシン類等による胎児期曝露が幼児の発達に及ぼす影響の前向きコホート疫学 －4年目の到達点と中間報告－	3
佐藤 洋	
III. 分担研究報告書	
1. 胎児期メチル水銀曝露と出生児の神経行動学的指標	13
岡村州博、堺 武男	
2. 生後30ヶ月および42ヶ月時における追跡調査の方法について	21
(参考資料1) 生後30ヶ月で実施する質問紙	26
(参考資料2) 生後30ヶ月で実施するCBCL/2-3	27
(参考資料3) 生後30ヶ月で実施する育児環境調査用紙	30
細川 徹、村田勝敬	
3. レポータージーンアッセイによる臍帯血中ダイオキシン類分析の検討	33
齋藤善則、仲井邦彦	
4. 母乳および胎盤の有機塩素系農薬の化学分析	41
仲井邦彦、齋藤善則	
5. 妊娠期におけるカドミウム曝露評価－母体血・臍帯血・胎盤を用いた検討	60
仲井邦彦	
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	67
V. 研究成果の刊行物・別刷	69

I. 研究組織

主任研究者

佐藤 洋 (東北大学大学院 医学系研究科 環境保健医学 教授)

総括研究課題

ダイオキシン類等による胎児期曝露が幼児の発達に及ぼす影響の
前向きコホート疫学

－ 4年目の到達点と中間報告－

分担研究者

岡村州博 (東北大学大学院 医学系研究科 周産期医学 教授)

堺 武男 (宮城県立こども病院 副院長)

分担研究課題

胎児期メチル水銀曝露と出生児の神経行動学的指標

細川 徹 (東北大学大学院 教育学研究科 発達障害学 教授)

村田勝敬 (秋田大学医学部 環境保健学 教授)

分担研究課題

生後30ヶ月および42ヶ月時における追跡調査の方法について

(参考資料1) 生後30ヶ月で実施する質問紙

(参考資料2) 生後30ヶ月で実施するCBCL/2-3

(参考資料3) 生後30ヶ月で実施する育児環境調査用紙

齋藤善則 (宮城県保健環境センター 環境化学部 部長)

仲井邦彦 (東北大学大学院 医学系研究科 環境保健医学 助教授)

分担研究課題

レポータージーンアッセイによる臍帯血中ダイオキシン類分析の検討

仲井邦彦 (東北大学大学院 医学系研究科 環境保健医学 助教授)

齋藤善則 (宮城県保健環境センター 環境化学部 部長)

分担研究課題

母乳および胎盤の有機塩素系農薬の化学分析

仲井邦彦 (東北大学大学院 医学系研究科 環境保健医学 助教授)

分担研究課題

妊娠期におけるカドミウム曝露評価－母体血・臍帯血・胎盤を用いた検討

II. 総括研究報告書

ダイオキシン類等による胎児期曝露が幼児の発達に及ぼす影響の 前向きコホート疫学

－ 4年目の到達点と中間報告－

主任研究者 佐藤 洋（東北大学 大学院 医学系研究科 環境保健医学 教授）

研究要旨

PCB、ダイオキシン、メチル水銀など環境由来化学物質による周産期曝露の健康影響を評価するため、出生児の成長、とくに認知行動面の発達を指標とした前向きコホート調査を計画し、疫学研究を進めている。その主な課題は、1) 疫学集団とフィールドの確保、2) 化学物質曝露評価の方法の確立、3) 児の成長を追跡する神経行動学的評価法の確立、4) 各種交絡要因の測定、である。このうち、疫学集団とフィールド確保では、仙台市内2病院にてインフォームド・コンセントを実施し、2003年9月で登録を終了、2004年3月に最後の出産を終えた。到達点は事前説明を1500名に実施、その約46%に当たる687名より同意が得られ、644名が出産、生後3日目で実施する新生児行動評価の実施は580名であった。生後7ヶ月および18ヶ月における追跡調査もそれぞれ397名と238名で実施し、順調に推移している。コホート研究として十分なサンプル数を確保したと判断された。化学物質分析関係では、PCBを高分解能ガスクロマトグラフィー質量分析装置を用いた全異性体分析により、ダイオキシン類をレポータージーンアッセイにより解析を検討中である。母親毛髪総水銀については全ての測定を終了し、データベースへの記載が終了した288名について予備的な解析を実施した。その結果、a) 母親毛髪総水銀が高い場合に生後3日目におけるブラゼルトン新生児行動評価（NBAS）の運動クラスターが低下することが示され、b) マグロ/カジキ類摂取量と方位クラスターが、白身魚摂取量と慣れ現象クラスターがそれぞれ負に相関し、その一方でc) 青身魚摂取量が高い場合に原始反射で異常となる割合が減少する傾向が示された。この結果は魚摂取の功罪の両面性を暗示するものであったが、まだ予備検討の段階であり継続検討することとした。甲状腺ホルモン関連指標（TSH、総および遊離T4/T3）分析を、臍帯血および母体血にて全例で終了した。次に、児の認知行動面の発達を追跡する目的で、生後3日目にNBAS、生後7ヶ月および18ヶ月でBayley Scales of Infant Development、新版K式発達検査、Fagan Test of Infant Intelligenceを継続して実施した。さらに、まもなく開始する生後30ヶ月の追跡調査ではアンケートとしてChild Behavioral Checklist/2-3を採用し、生後42ヶ月における追跡調査でKauffmann Assessment battery for Children (K-ABC)を採用することとし、プロトコルの確立とテスター養成を実施中である。以上から、本研究は児の発達を追跡する前向きコホートとして十分な体制を確立し、児の成長と共に貴重なデータを収集することが可能と確信された。

分担研究者

細川 徹 東北大学教育学研究科 発達障害学・教授
岡村州博 東北大学医学系研究科 周産期医学・教授

堺 武男 宮城県立こども病院・副院長

村田勝敬 秋田大学医学部 環境保健学・教授

齋藤善則 宮城県保健環境センター環境化学部・部長

A. 研究目的

難分解性のため環境中で蓄積し、脂溶性のために生物濃縮を受け、食物連鎖によって生体に取り込まれる化学物質による人への健康影響が危惧されている。代表的な化学物質として、ダイオキシン類、PCBs、メチル水銀、農薬などがあげられる。その健康影響として危惧されているものとして子宮内膜症、悪性新生物（特に乳癌）、尿道下裂、精子数減少などが指摘されているが、胎児期は中枢神経系が発生、発達する時期に相当し、児の心理行動、認知面の発達遅延などへの関連性も強く危惧されている。実際に、海外では疫学的な科学的なデータに基づいて、周産期におけるPCB曝露と児の心理行動、認知面への影響が指摘されている。胎児または新生児への曝露が重要と考えられる理由であるが、まず第一に、この時期は脳の発生、発達時期に相当し、環境の変化に極めて感受性が高い。内分泌攪乱化学物質の多くは脂溶性であり、胎盤や未熟な血液-脳関門を越えて中枢神経系に作用しうる。母体から経胎盤または経母乳に化学物質が移行した場合、児の脳がその標的となることが危惧される。第二に、成人におけるこのような化学物質の主な摂取経路は食事であり、ダイオキシン類耐容一日摂取量(TDI)についてみれば多くの成人が基準以下とされている。しかしながら、児は母体に長年に渡って蓄積した化学物質を胎盤または母乳を通して短期間に受け取ることとなり、例えば新生児が母乳を通して摂取する量はTDIの40-100倍にも達するとも試算されている。これは授乳期という

限られた期間における曝露であるため、これをもって悪影響が引き起こされると結論することは早計と思われるものの、児の神経系の感受性を考慮するなら極めて危惧される点である。従って、内分泌攪乱化学物質の最大の標的集団は成人というよりも胎児または新生児と考えることが妥当と考えられる。本研究の目的は、環境由来化学物質による周産期曝露を把握し、生まれた児の健康影響、特に心理行動および知能の発達を前向きに追跡することであり、そのためにコホート研究を計画した。本年度は調査4年目に当たり、疫学研究の到達点を整理し、メチル水銀曝露に関する予備的なデータを提出すると共に、その他の化学物質分析について述べる。また今後の児の成長を追跡するための方法論に関しても報告する。

B. 研究方法

フィールドの確立

2003年9月に新規の妊婦登録作業を終了し、出産も2004年3月に無事に終えた。児の発達を追跡するため、東北大学医学系研究科内コラボスペースを活用し、音、温湿度環境に加え、児の安全性や居住性に配慮した部屋を新たに整備し、発達検査での使用を開始した。

児の発達の追跡

児の成長を追跡するための神経行動学的な手法に関して、本年度も引き続き生後7及び18ヶ月において新版K式発達検査、Bayley Scale of Infant Development (BSID) を、また生後7ヶ月では新奇好性に基づく認知検査であるFagan Test of Infant Intelligence (FTII) を実施した。

Table 1. コホート調査の到達点 (2004年3月9日現在)

母親			新生児			追跡調査	
事前説明	同意数	同意率	出産数	NBAS実施数	母乳採取数	7ヶ月	18ヶ月
1500	687	45.8%	644	580	570	397	238

市内2病院においてインフォームド・コンセント作業を実施し、その総数を示した。登録期間は2000年12月から2003年9月であり、最後の出産は2004年3月に無事に終了した。登録数には母親の辞退や転院による脱落、低体重児や先天奇形など除外されたケースを含み、詳細は本文に記した。生後7または18ヶ月の発達検査は進行中であり、2004年3月末の到達点で記載した。

BSIDに関しては、国内に標準化されたプロトコールは存在しない。このため、米国Rochester大学 Strong Children's Hospital の Davidson 博士との共同作業で信頼性、妥当性評価を行うこととした。実際には、すでに平成13年度に食品衛生協会の「外国への日本人研究者派遣事業」の支援を得て、検査担当者を Rochester 大学に滞在させプロトコール和訳版の妥当性を検討した。さらに、本年度は Rochester 大学より BSID トレーナーの派遣を受けた(実際には、Rochester 大学が実際に疫学調査を展開しているセイシェル共和国厚生省の看護師 Choisy Octavie 氏)。2週間に渡る滞在を実現し、基本的な検査事項の再確認、客観評価を受けた。

生後30及び42ヶ月における発達検査がまもなく始まるため、そのプロトコールの検討を実施した。

化学分析

生体試料の化学分析に関しては、母親毛髪総水銀、臍帯血および母体血甲状腺ホルモン関連指標 (TSH、総および遊離 T3/T4) について全例で分析を実施した。総水銀分析は還元気化法により実施し、甲状腺ホルモン関連指標はエスアールエル社に分析を委託しRIAによった。有

機塩素系化学物質のうち、ダイオキシン類はレポータージーンアッセイである CALUX Assay とし、臍帯血を用いた予備的な検討を実施した。PCBs は文献的な考察から同族体分析ではなく全異性体分析が必要と判断し、分析方法について基礎検討を実施した。農薬類は有機塩素系農薬について、胎盤、母乳を用いて例数20であるものの、検索的な分析を実施した。

交絡要因

児の成長と化学物質曝露を関連づける上で様々な交絡要因を把握しておく必要があり、引き続き食事、育児環境、社会経済的環境、母親IQなどについてデータ収集を実施した。食事調査については前年度までと同様に半定量式食物摂取頻度調査 (FFQ) を行った。追跡調査に際して育児環境評価の質問紙を児の成長に合わせて更新し、児が30ヶ月の時点で使用するための質問紙を新たに準備した。母親IQの検査は前年度と同様に引き続きRaven's Standard Matricesにより実施した。

倫理申請

東北大学医学系研究科倫理委員会の承認は2000年10月23日に取得(番号2000-96)済み

Table 2. 心理行動検査指標

方法	実施時期
Brazelton Neonatal Behavioral Assessment Score (NBAS)	生後3日目
Bayley Scale for Infant Development (BSID)	7ヶ月
新版 K 式発達検査	7ヶ月
Fagan Test of Infant Development (FTII)	7ヶ月
Bayley Scale of Infant Development (BSID)	18ヶ月
新版 K 式発達検査	18ヶ月
Child Behavior Checklist (CBCL/2-3)	30ヶ月
Kauffmann Assessment Battery for Children (K-ABC)	42ヶ月

生後7ヶ月、18ヶ月における検査の次ぎに、30ヶ月頃のアンケート調査、42ヶ月における知能検査の方針を決定した。30ヶ月におけるアンケートでは、Child Behavior Checklist for Age2-3を、42ヶ月における検査としてはK-ABCを実施するためのプロトコールの確立とテスター養成を進めている。

であるが、2004年3月末に更新の必要があった。このため2004年3月に継続申請を行い、2004年4月1日から2009年3月31日までの5年間の研究期間で継続承認を得た（番号 2004-050）。

C. 研究結果

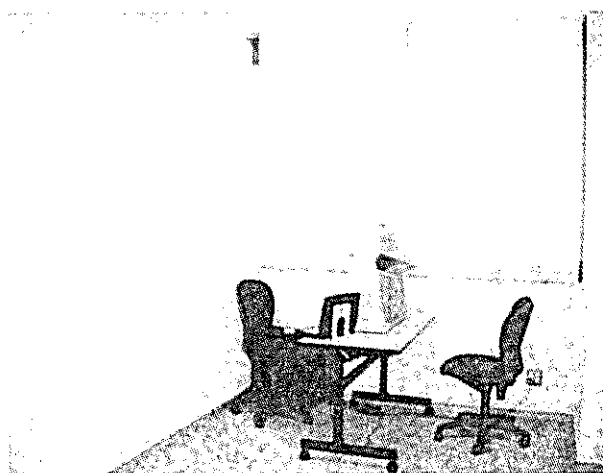
フィールドの確立

2003年9月をもって登録作業を終了し、その最後の出産を2004年3月に迎えた。最終的な登録と出産状況の到達点をTable 1に集計した。すなわち、事前説明を1500名に実施し、その約45.8%に当たる687名より同意が得られた。こ

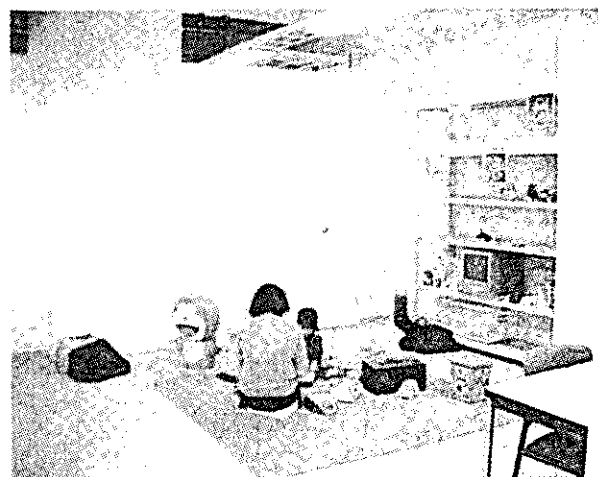
の687名のうち、84名が出産時まで除外となった。その内訳は、産院における生体試料採取の取り逃し8例、出産前転院17名、死産1名、低体重24名、早期産14名、児の疾患もしくは入院14名、母親からの辞退6名であった。新生児の登録基準は、a) 在胎週数36週以上42週以下、b) 体重2400g以上、ただし在胎週数36週の場合は2500g以上、c) 先天奇形や感染症等の重大な疾患がないこと、であった。児の入院の理由は、口蓋裂3例（軽度の場合は母親の同意を得て調査継続）、心室中隔欠損2例（手術が必要な場合のみ除外し、自然治癒が期待される場



BSID実施を考慮して作成した検査室。検査風景は母親の許可を得て全てDVD録画し保存される。前室から見た光景を撮影した。



FTII実施を考慮して作成した検査室。前室に隣接。将来的にはK-ABCや運動機能検査などの実施を想定して設計した。



前室に設置したプレイルーム風景。検査前に児が検査環境に慣れることと、この前遊びからも発語などを採点できるように配慮した。



アンケート等を母親にインタビュー形式で実施するためのスペース。前室に設置し、母親が子どもに目を配りながら安心して参加できるように配慮した。

Fig. 1. 東北大学コラボスペースに設置された検査会場。検査室は3部屋からなり、前室（母親へのインタビュー用机を併設）、BSID実施用検査室、FTII実施用検査室に分かれる。児の安全性を考慮してバリアフリーとし、同時に2組の検査を実施してもプライバシー保護が可能となるよう配慮した。音環境、温度環境の維持にも十分に配慮し設計した。

合は継続)、リンパ管先天奇形1例、消化管出血に伴う回復手術1例、頭蓋内出血1例、IUGR (尿道下裂併発) 1例、強度痙攣1例、血性嘔吐1例、呼吸不全1例、強度黄疸と溶血1例、肝臓肥大1例であった。この時点で登録新生児数は603名となった。

このうちNBASを実施した症例は580名で、残りの14名は登録は継続であるものの、NBASの実施は見送った。その理由は、感染症に伴う入院3名 (MRSAでの入院1名を含む)、一過性頻呼吸1名、腸管出血1名、不整脈1名、血性嘔吐3名、発熱1名、チアノーゼ1名、中等度黄疸1名、不明2名、であった。

生後7ヶ月の追跡検査では、2004年1月31日の時点で解析すると、児の成長過程から467名が対象となった。このうち4名が遠方転勤により不参加、残りの463名に案内を送付した。その結果、397名で発達検査を実施、残りの64名が不参加であり、その内訳は返信なし29名、返信があるものの不参加を表明が35名、であった。なお、この返信無しの場合でも、その後の生後18ヶ月の発達検査に17名が到達しており、改めて案内を送付した。その結果は、約半数の9名から返信があり、そのうち6名で発達検査を無事に終了した。結局、対象者463名のうち、連絡が完全に取れないのは20名程度であり、率で約5%であった。

同様に生後18ヶ月についてみると、2004年1月31日の時点での解析であるが、追跡対象者数は287名。このうち4名が遠方転勤により不参加、283名に案内を送付した。255名から返信があり、発達検査を実施したのは228名であった。不参加の55名の内訳は、返信なしが28名、返信があったものの不参加が27名であった。完全に連絡が取れないのは約5-8%程度と見積もられた。

児の発達の追跡

心理検査の概要をTable 2に整理した。BSIDに関して、Rochester大学Davidson博士らとの共同作業により信頼性評価を実施し、トレーナーとして派遣を受けたChoisy Octavie氏より、検査手法、判断基準、採点法などに関して合格点を得た。今後はRochester大学のGolden Stan-

dardに合致していることを常時確認するため、検査数の約10%の画像記録をRochester大学に送付し、客観評価を継続することが必要と考えられた。

生後30ヶ月及び42ヶ月における発達検査の方法について、Table 2に示した概要を決定した。その詳細は分担報告書に述べたとおりであるが、まず生後30ヶ月での調査は郵送によるアンケート法とした。これは生後7ヶ月、18ヶ月、30ヶ月の検査を重複し同時並行して実施するにはスケジュールの調整が困難であること、発達の評価にはやはり知能検査が有用であり、そのもっとも若年で実施できるK-ABCでも生後42ヶ月程度まで待つことが適当であること、などを考慮した。また、生後42ヶ月での解析では、知能検査としてK-ABCの採用を決定したが、同時にいくつかの運動機能検査、反応時間検査などの採用を検討中である。これは後述するように胎児期メチル水銀曝露とNBASの運動クラスターが相関したことから、運動機能の発達を詳しく解析する必要があると考えられたためでもある。

なお、発達検査を実施するために東北大学のコラボスペースに検査会場を設計した。検査会場と検査風景をFig. 1に示した。

化学分析

母親毛髪総水銀について全例で分析を終了したものの、データベース入力、児の発達検査結果のデータ解析などとの関係から、両者の関連性を統計学的に解析可能なのは288名分のNBASの結果であった。この予備的な解析結果は分担研究報告書にまとめた。その特徴として、母親毛髪総水銀濃度とNBASの運動クラスターが負に相関することを見いだした。回帰直線の傾きは小さいものの、統計学的には有意な相関性であり、低濃度メチル水銀の胎児期曝露の影響評価が重要と考えられた。また並行してFFQの結果とNBASを解析し、注目すべき点として、青身魚摂取量が増加すると、NBASの原始反射で異常反射となる割合が減少する傾向が見いだされた。メチル水銀の主な摂取経路は魚摂取であり、魚摂取の功罪の両面性を暗示する結果となった。

ダイオキシン類の分析として臍帯血のCALUX Assayの検討に取り組んだ。その結果は分担研究報告書にまとめたとおりであるが、ダイオキシン類分析に回せる臍帯血の量は約10 mLに限定される。その10 mLで分析を実施した場合、検出限界以下となる割合が少なくなることが示された。その結果に基づき、分担研究報告書に今後の対策を整理した。

臍帯血および母体血の甲状腺ホルモン関連指標（TSH、総および遊離T3/T4）について全例で分析を終了した（結果は示さず）。この結果の解析に関してはNBASやFFQ、メチル水銀曝露との関連性で今後検討を行う予定である。

有機塩素系農薬について例数20ながら胎盤と母乳で探索的な分析を実施し、分担研究報告書にその概要を述べた。DDT、DDE、HCBなどの化学種について検出され、1970年代に使用が禁止されて長い期間が経過した現在でも未だに検出されることが改めて確認された。また、胎盤と母乳の間に相関が観察され、曝露評価の試料として胎盤の活用が示唆された。一部の農薬では魚摂取との間に関連性が示唆されたものの、メチル水銀のような高い相関は観察されず、農薬曝露の汚染源は魚に限定されず多様とも考えられた。有機リン系農薬に関しては分析戦略に関して文献検索をし分担報告書に記載した。農薬の曝露評価に関しては、今後とも様々な検討が必要と考えられた。

交絡要因

食事については半定量式のFFQを用いた。育児環境評価の方法についても海外疫学で主要となっている訪問法であるHOME (Home Observation for Measurement of Environment) から派生し、国内で質問紙法として完成された育児環境調査票の使用を決定したことを昨年度に述べた。本年も引き続きその方法を応用した。

社会経済的環境の評価法はHollingshead Four Factor Measuresを用いることとし、昨年度の報告書にて日本語化したものとその実施プロトコルを記した。継続して使用してみて、特に大きな支障は感じられず、順調に推移した。

母親IQの測定に関しては、言語を用いないRaven's Standard Matricesを使用した。日本国

内ではこのカラー印刷された短縮版が45歳以上で標準化されているのみであり、若年者での標準化データはない。従って、素点での解析を想定して実施した。

D. 考察

フィールドの確立

疫学研究では標本数とバイアスの制御が重要な鍵を握る。本研究では標本数として687名の対象者よりインフォームド・コンセントを取得し、十分なサンプルサイズの確保に成功した。また脱落についても結果で述べたとおり、比較的最小限に推移しており、順調に進捗しているものと判断された。追跡率は追跡調査の信頼性に関わる重要な指標である。今後とも脱落を極力抑える工夫を考案し、サンプル数の確保につとめることが大切であろう。現在は共働きの家庭が少なくなく、児の発達検査への参加は家族にとって少くない負担となる。そのためには、a) 参加しやすい調査の実施、b) 参加者との信頼関係の構築、が重要と考えられた。その過程で、調査結果を登録者に還元する作業も重要な鍵と考えられた。

胎児期曝露の重要性は、厚生労働省医薬局化学物質安全対策室による「内分泌かく乱化学物質の健康影響に関する検討会・中間報告書追補」の2-4-2項「PCBの高濃度暴露は、甲状腺異常を来す可能性」があり、「PCBは日常摂取されるレベルで、小児の神経系の発達に悪影響を与える可能性が示唆される」として問題提起されている。また、中間報告追補では、行政的な科学規準の策定を2005年度までに行うとしている。本コホートでは、すでに687名の対象者を登録し、フィールドの確立に関しては順調に推移している。その全ての母体血、臍帯血の甲状腺ホルモン関連指標の分析も終了した。本研究の成果は上記の「行政的な科学規準の策定を2005年度までに行う」というタイミングに十分に間に合うと予想され、厚生行政に有用な資料を提供することが可能と期待された。

児の発達の追跡

児の発達の遅延の有無は、同一の社会文化的背景を有する集団で標準化作業を行い、その集

団の中における位置から判定する方法がよく用いられる。そのためには心理検査方法そのものが標準化された検査法であることが必要である。しかし、これまでも述べてきたように、海外の疫学では日本においてほとんど用いられていないBSIDが採用されており、調査結果が海外の疫学と異なった場合に、検査手法の精度や妥当性が問われることになることは容易に想像され、海外研究と共通のバッテリーを組むことが有用と考えられる。特に新版K式発達検査は海外で無名に近い存在であり、発達検査のバッテリーとして若干の危惧が感じられた。実際に、メチル水銀の疫学ではフェロー諸島における結果(メチル水銀の摂取により児の発達が遅れたという結果が出され、米国EPAがメチル水銀の安全基準を定める上でのモデルとして採用された)に対し、セイシェルにおける結果と対立した(毛髪総水銀が高い方が児の認知の発達が進んでおり、水銀摂取は栄養摂取の単なるマーカーに過ぎないとされた)。その差異であるが、両地域における生態系が異なり、従って人間への曝露状況も異なっていたことがその主要な原因と思われるが、心理検査バッテリーが異なり、また英語版を現地語に翻訳する上での妥当性などを含め大きな議論が交わされており、検査方法の選択とその信頼性評価は極めて重要な部分と考えられた。PCB疫学ではこれまでに5つの報告があるが、いずれもPCB曝露の影響を認めた報告である。仮に本研究で初めてnegativeな結果が出た場合、当然にその批判は心理検査バッテリーの妥当性に及ぶものと推測される。このような事情を鑑み、本研究でもBSIDの使用を決定した。BSID採用の主要な問題点を改めてまとめると、a) 国内で標準化されておらず、信頼性評価、妥当性評価で慎重を期す必要があること、b) 標準化されていないため、発達指数などの数値で結果を表現することが不可能であり、素点での解析が必要となること、である。そのため1) 国内でも標準化されている新版K式発達検査を並行して実施する、2) BSIDのデータを米国のデータとつきあわせて絶対的な位置を決める、3) 心理検査担当者を米国やその他の国で実施されている疫学調査に派遣し交流すると共に、4) 米国で実施されている

精度管理下に入り信頼性を確保する、などの方策を決定した。本年度はこのためにセイシェル共和国よりBSIDトレーナーを招聘し、実地的な指導を受けると共に客観評価を実施した。

今後の予定として、生後30ヶ月頃にアンケート法による調査を、42ヶ月頃に知能検査を予定している。詳細は分担研究報告書にまとめたが、両方法とも日本語化がすでに行われており、使用に際して方法論上の問題点はとくにない。K-ABCについては海外の疫学について文献的な考察も実施し、有用性が認められた方法であることから採用を決めた。また、生後42ヶ月での解析では、K-ABCと並行していくつかの運動機能検査、反応時間検査などの採用を検討中である。これは分担研究報告書で述べたように胎児期メチル水銀曝露とNBASの運動クラスターが相関したことから、運動機能の発達を詳しく解析する必要があると考えられたためである。

化学分析

曝露指標の化学分析に関しては、毛髪総水銀の分析を終了し、その他の重金属類の分析方法を決定した。

ダイオキシン類については、分担研究報告書に述べたところであるが、比較的多量の臍帯血が分析に必要とわかった。その対策として、1) 臍帯血で50 mL以上採取でき、ダイオキシン類分析に20-30 mLを使用できる検体から分析する方法、2) CALUX Assay 中でPCDDsおよびPCDFsとCo-PCBsの二つの分画に分けないで一緒に分析する方法、3) CALUX Assayの高感度化の結果を待つ方法、がある。その具体的な方法について早急に決定し、分析を実施する。

PCBs全異性体分析に関しては、方法論上の検討はほぼ終了しており、あとは委託分析を行う上での費用面の手当が解決すれば分析を実施可能である。ただ、全異性体分析が実施可能な機関は限られており、また環境省がダイオキシン類で委託分析の資格審査を行っているが、血液の分析資格で申請があった機関の全てが合格となるわけではないことからわかるように、高感度GC/MS分析は高度の精度管理が要求される分析である。測定精度で十分な保証を確保

しつつ、貴重な生体試料の分析を計画すべきと考えている。

臍帯血および母体血の甲状腺ホルモン関連指標（TSH、総および遊離 T3/T4）について、結果でも述べたとおりまだNBASやFFQとの関連性は未検討である。早急にデータベース化し、統計学的な解析を実施したい。

農薬は本年度の分担研究報告書で述べた有機塩素系農薬に加え、有機リン系農薬の健康影響も強く懸念される。その分析戦略についても分担研究報告書に簡単に整理を試みたが、多数検体での解析はかなり困難とも想定された。また臍帯血を有機リン系農薬の解析に用いることは臍帯血の量から考えて不可能であり、胎盤もしくは母乳の活用が期待される。さらに、農薬そのものよりは共通代謝物を測ることで曝露状況を推定する方法が有望とも考えられた。農薬の解析に関しては、どの試料を用いて（胎盤か母乳か）、またどのような分析方法により実施するのか、それはまた言い換えればどのような作業仮説と枠組みで解析するのか、戦略的な検討が必要と考えられた。

E. 結論

生活環境由来の化学物質と児の健康影響、特に心理行動および知能の成長との関連性を検証する前向きコホート研究を4年間に渡って実施した。最終的に687名の対象者よりインフォームド・コンセントを取得し調査フィールドを確立した。総水銀、甲状腺ホルモン関連指標の分析を全て終了し、288名での予備的な解析ながら、毛髪総水銀に関してNBASスコアとの関連性で知見を得た。ダイオキシン類の分析方法を臍帯血を用いて検討した。農薬に関しても分析方法の検討を開始し、分析試料として胎盤を利用する方法について知見を得た。児の成長の追跡は、生後30ヶ月、42ヶ月にて実施する方法について決定し、その準備を進めている。以上から、化学物質の分析がまだ完了しないために十分な解析結果を提出するにはまだ時間がかかるものの、児の認知行動面における神経行動学的な発達を長期間追跡する前向きコホートとして十分な体制を確保したと判断している。本研究は児の成長を待つて結果を解析するものであ

り、最終的な結論を導くにはまだ時間が必要であるが、胎児期曝露の健康リスクについて、厚生行政に有用な科学的資料を提供することが可能と期待された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Nakai K, Suzuki K, Oka T, Murata K, Sakamoto M, Okamura K, Hosokawa T, Takeo S, Nakamura T, Saito Y, Kurokawa N, Kameo S, Satoh H. The Tohoku Study of Child Development: A Cohort Study of Effects of Perinatal Exposures to Methylmercury and Environmentally Persistent Organic Pollutants on Neurobehavioral Development in Japanese Children. *Tohoku Journal of Experimental Medicine* 202:227-237(2004).

Murata K, Weihe P, Budtz-Jorgensen E, Jorgensen PJ, Grandjean P. Delayed brainstem auditory evoked potential latencies in 14-year-old children exposed to methylmercury. *Journal of Pediatrics*. 144:177-83 (2004).

Murata K, Sakamoto M, Nakai K, Iwasaki Y, Dakeishi M, Iwata T, Terui S. Neurodevelopmental effects of methylmercury in Japanese children: a cross-sectional study in Akita. In: NIMD FORUM 2003, in press (2004).

Suzuki K, Nakai K, Oka T, Hosokawa T, Okamura K, Sakai T, Satoh H. Effects of perinatal exposure to environmentally persistent organic pollutants and chemicals on neurobehavioral development in Japanese children: III. maternal smoking confounds neonatal neurobehavioral status. *Organohalogen Compounds* 65:218-221(2003).

Satoh H. Behavioral teratology of mercury and its compounds. *Tohoku Journal of Experimental Medicine* 201:1-9(2003).

Iwasaki Y, Sakamoto M, Nakai K, Oka T, Dakeishi M, Iwata T, Satoh H, Murata K. Estimation of daily mercury intake from seafood in Japanese women: Akita cross-sectional study. *Tohoku Journal of Experimental Medicine* 200:67-73(2003).

Murata K, Sakai T, Morita Y, Iwata T, Dakeishi M. Critical dose of lead affecting delta-aminolevulinic acid levels. *Journal of Occupational Health*. 45:209-14 (2003).

Arisawa K, Matsumura T, Tohyama C, Saito H, Satoh H, Nagai M, Morita M, Suzuki T. Fish intake, plasma ω -3 polyunsaturated fatty acids, and polychlorinated dibenzo-p-dioxins/polychlorinated dibenzo-furans and coplanar polychlorinated biphenyls in the blood of the Japa-

nese population. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 76:205-215(2003).
Nakaya N, Tsubono Y, Hosokawa T, Nishino Y, Ohkubo T, Hozawa A, Shibuya D, Fukudo S, Fukao A, Tsuji I, Hisamichi S. Personality and the risk of cancer. *Journal of the National Cancer Institute*. 95:799-805 (2003).
村田勝敬. “キンメダイ勧告”の背景. *医学のあゆみ* 208: 641-642 (2004).
村田勝敬, 嶽石美和子, 佐藤洋. メチル水銀基準摂取量のゆくえ. *公衆衛生* 67:531-533 (2003).
村田勝敬. 鯨と環境保健. *秋田県公衆衛生学雑誌* 1: 47-49 (2003).

2. 学会発表

Suzuki K, Nakai K, Oka T, Hosokawa T, Okamura K, Sakai T, Satoh H. Effects of perinatal exposure to environmentally persistent organic pollutants and chemicals on neurobehavioral development in Japanese children: III. maternal smoking confounds neonatal neurobehavioral status. In: 23rd International Symposium on Halogenated Organic Pollutants and Persistent Organic Pollutants. Boston, U.S.A., 2003年8月24-29日.
Satoh H, Nakai K, Oka T, Suzuki K, Hosokawa T, Okamura K, Sakai T, Nakamura T, Takahashi H. Cohort study on the neurobehavioral effects of perinatal exposure to halogenated organic environmental pollutants and heavy metals in Japanese children: Protocol and preliminary results on the neonatal behavioral assessment scale. In: International Invitational Conference on Child Development and the Environment. Victoria, Mahe, Republic of Seychelles, 2003年11月3-6日.
Nakai K, Suzuki K, Kameo S, Satoh H. A protocol and the present state for the prospective cohort study in Japan. In: NIMD Forum 2003. Niigata, 2003年11月20日.
Murata K. A cross-sectional study in Japan. In: NIMD Forum 2003. Niigata, 2003年11月20日.
鈴木恵太, 仲井邦彦, 岡知子, 細川徹, 岡村州博, 堺武男, 佐藤洋. 内分泌攪乱化学物質の周産期曝露が出生後の発達に及ぼす影響に関するコホート研究: ブラゼルトン新生児行動評価法について. In: 内分泌攪乱化学物質特別シンポジウム. 神奈川県葉山町, 2003年6月13-14日.
仲井邦彦, 鈴木恵太, 岡知子, 中村朋之, 細川徹, 岡村州博, 堺武男, 佐藤洋. 内分泌攪乱化学物質の周産期曝露が出生後の発達に及ぼす影響に関するコホート研究: 調査プロトコール. In: 内分泌攪乱化学物質特別シンポジウム. 神奈川県葉山町, 2003年6月13-14日.
鈴木恵太, 仲井邦彦, 岡知子, 細川徹, 黒川修行,

亀尾聡美, 菅原典夫, 岡村州博, 堺武男, 佐藤洋. 妊娠期間中の母親の喫煙が新生児へ及ぼす影響—ブラゼルトン新生児行動評価を用いて—. In: 第39回宮城県公衆衛生学会学術総会. 仙台, 2003年7月4日.
岡知子, 鈴木恵太, 仲井邦彦, 黒川修行, 亀尾聡美, 細川徹, 岡村州博, 堺武男, 佐藤洋. 環境由来化学物質による周産期曝露の健康影響に関するコホート—第三報—新生児行動評価の結果より—. In: 第52回東北公衆衛生学会. 秋田, 2003年7月25日.
佐藤洋. メチル水銀胎児期曝露の出生後の影響: 国際的な研究の動向を中心に. In: フォーラム2003: 衛生薬学・環境トキシコロジー 東京, 2003年10月23-24日.
佐藤洋. 環境汚染物質とこどもの発達. In: 第24回宮城県母性衛生学会学術集会. 仙台, 2003年10月26日.
佐藤洋. 環境汚染と子供の発達. In: 平成15年度日本学術会議東北地区会議公開学術講演会. 仙台, 2003年11月14日.
鈴木恵太, 仲井邦彦, 岡知子, 細川徹, 岡村州博, 堺武男, 佐藤洋. 環境由来化学物質の周産期曝露が児の発達に及ぼす影響に関するコホート調査: 甲状腺ホルモンと新生児の神経行動学的発達の指標との関連について. In: 環境ホルモン学会(日本内分泌攪乱化学物質学会)第6回研究発表会. 仙台, 2003年12月2-3日.
中村朋之, 仲井邦彦, 鈴木恵太, 岡知子, 齊藤善則, 佐藤洋. 環境由来化学物質の周産期曝露が児の発達に及ぼす影響に関するコホート調査: 生体試料におけるPCBs及びダイオキシン類の分析戦略. In: 環境ホルモン学会(日本内分泌攪乱化学物質学会)第6回研究発表会. 仙台, 2003年12月2-3日.
佐藤洋. 魚介類に蓄積するメチル水銀の胎児期曝露と生後の発達への影響—国際的な研究の現況と今後の課題—. In: 第2回小児等の環境保健に関する国際シンポジウム, 東京, 2004年3月22-23日.
鈴木恵太, 岡知子, 仲井邦彦, 岡村州博, 細川徹, 中村朋之, 堺武男, 亀尾聡美, 佐藤洋. 重金属ならびに内分泌攪乱化学物質の周産期曝露が出生後の発達に及ぼす影響に関するコホート研究: プロトコールと途中経過. In: 第74回日本衛生学会. 東京, 2004年3月25-27日.
仲井邦彦, 岡知子, 鈴木恵太, 岡村州博, 坂本峰至, 安武章, 村田勝敬, 亀尾聡美, 佐藤洋. 妊婦を対象とした毛髪総水銀濃度の調査. In: 第74回日本衛生学会. 東京, 2004年3月25-27日.
佐藤洋. メチル水銀と健康リスク評価—シンポジウム—. In: 第74回日本衛生学会. 東京, 2004年

3月25-27日.

亀尾 聡美, 仲井 邦彦, 鈴木 恵太, 岡知子, 黒川 修
行, 菅原 典夫, 佐藤 洋. 重金属ならびに内分泌攪
乱化学物質の周産期曝露が出生後の発達に及ぼ
す影響に関するコホート研究: 重金属曝露評価
法の検討. In: 第74回日本衛生学会. 東京, 2004
年3月25-27日.

岡 知子, 鈴木 恵太, 仲井 邦彦, 村田 勝敬, 坂本 峰
至, 菅原 典夫, 亀尾 聡美, 佐藤 洋. 重金属なら
びに内分泌攪乱化学物質の周産期曝露が出生後
の発達に及ぼす影響に関するコホート研究: 母
親の魚摂取調査による水銀曝露評価. In: 第74
回日本衛生学会. 東京, 2004年3月25-27日.

G. 知的所有権の取得状況

なし

III. 分担研究報告書

胎児期メチル水銀曝露と出生児の神経行動学的指標

分担研究者 岡村州博（東北大学医学系研究科 周産期医学分野 教授）

堺 武男（宮城県立こども病院 副院長）

研究要旨

環境由来残留性化学物質の一つであるメチル水銀による胎児期曝露の健康影響について、行動科学的な手法に基づいて解析を行うため、出生後3日目にブラゼルトン新生児行動評価（NBAS）を実施した。メチル水銀曝露レベルは母親毛髪総水銀から測定し、魚摂取量は半定量式食物摂取頻度調査により聞き取りを行った。統計学的解析は重回帰分析とし、交絡要因として母親年齢、飲酒および喫煙習慣、出産方法、児の性別、出生順位、在胎週数、体重、Apgar score (1 min)、NBAS テスターなどを考慮した。サンプル数288例でありまだ予備検討段階であるものの、出産時の母親毛髪総水銀は、NBASの運動クラスターと負に相関し、まぐろ/かじき類の摂取が方位クラスターと、白身魚摂取量が慣れ現象と負に相関した。一方、青身魚ではその摂取量が高い程、原始反射で異常な反応を示す割合は低下する傾向を示した。以上の結果は、母親の魚摂取が出生児の神経行動学的な発達に対して影響を及ぼしうることを示唆しており、特に軽度ながらメチル水銀摂取が児の発達にマイナスに影響する一方で、青身魚摂取は児の原始反射の獲得に貢献しうる可能性が示された。魚は新生児の脳の発達に必須の栄養素でもある不飽和脂肪酸などを含む重要な食品であり、食の安全性に関して公衆衛生学的な解析を今後とも継続する必要があるものと結論された。

研究協力者

岡（菅原）知子

（東北大学医学系研究科 環境保健医学分野）

鈴木恵太

（東北大学医学系研究科 環境保健医学分野）

A. 研究目的

本コホート調査では、環境残留性有機汚染物質（POPs）およびメチル水銀の周産期曝露影響について、神経行動学的な手法から分析することを目的としている。化学物質のうち、メチル水銀の分析が終了し、一部のデータは心理学的な指標との関連性について解析可能となった。本分担研究では、解析が終了した母親毛髪水銀と、出産3日目に実施したNBASの結果について解析を実施した。

メチル水銀による汚染事故として我が国で発生した水俣病がよく知られているが、現在では

そのような高濃度短期曝露は存在しない。しかしながら、水銀はそれ以上分解されない元素であり、生態系でメチル化され食物連鎖を経て生物濃縮され、主に魚摂取によって人間に取り込まれる。このため、現在のメチル水銀曝露の特徴は、低濃度ながら長期間に渡る曝露となることである。メチル水銀は神経系に対して親和性が高く、その標的臓器は脳と考えられる。特に、発生、発達段階にある脳はメチル水銀に対して感受性が高く、胎児期における曝露に起因する健康リスクの有無が問題となっている。実際に、出生コホートが北欧フェロー諸島で実施され、出産時の母親毛髪総水銀濃度が8-12 ppmを越える場合、6-7歳で実施する検査（例えば、Boston Naming Test）で統計学的に有意な発達遅延が観察され、その影響は14歳頃の追跡でも消失しないことが示されている。インド洋セイシェル共和国で行われた同様な出生コホートで

は必ずしもそのようなメチル水銀の負の影響は示されないばかりか、逆に児の発達と正相関する結果も得られており、意見の不一致が見られる。セイシェル共和国における結果は、毛髪総水銀は魚摂取量を反映しており、魚摂取の量が多いほど栄養学的に恵まれ、子どもの発達にプラスに寄与したためではないかと考察されている。いずれにしても、日本人は魚を多食する食習慣を有しており、食物連鎖で魚に生物濃縮される化学物質を同時に取り込むこととなる。この魚摂取の功罪に関して、感受性がもっとも高いと考えられる胎児および新生児に焦点を当て、公衆衛生学的な視点から詳細な解析を行う

ことが求められている。

B. 研究方法

対象者への事前説明、インフォームドコンセント取得、出産、生後3日目のNBAS、さらにはその後のフォローに関して、Fig. 1にその流れを図示した。調査全体では687名の妊婦さんの同意を得て、その全ての出産を終え毛髪総水銀の分析も終了しているものの、今回の解析では2000年12月から2002年8月までに出産を終え、データベース入力終了している288名の結果を用いた。コホート全体のプロトコルはすでに報告した通りであるが、出産直後の母親

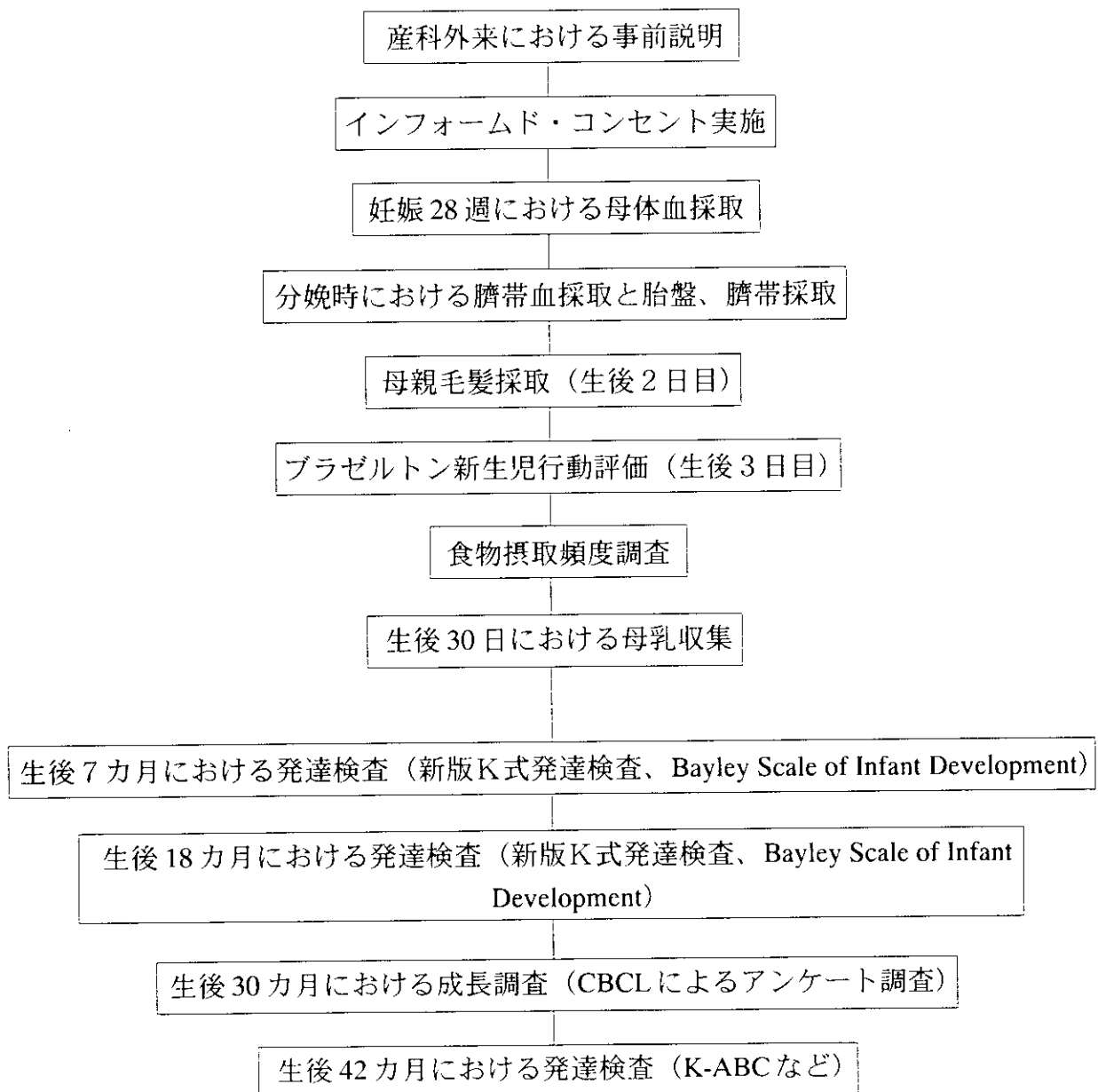


Fig. 1. Schedule of neurobehavioral assessments.

より後頭部から毛髪を採取し、還元気化法により総水銀を分析した。毛髪中水銀は95%以上がメチル水銀であり、総水銀の分析でもメチル水銀曝露をよく反映した指標となる。NBASは生後3日目に新生児室など温度や背景騒音が制御できる環境下で実施した。NBASのクラスター分類と実施風景をそれぞれTable 1とFig. 2に示した。NBASテストは、長崎大学に設置されているNBAS訓練コースに派遣し基礎訓練を受け、またテスト間での評価の一致を確認し調査に参加した。出産4日目に半定量式食物摂取

頻度調査を実施し、同時に妊娠中の飲酒と喫煙習慣、職業、学歴などに関して質問紙法により調査を行った。統計学的解析は、個別の指標間の相関関係を解析後に、重回帰分析を実施した (Table 3)。主要な交絡要因を Table 2 に示した。調査に先立ち、東北大学医学系研究科に設置の倫理委員会に申請し調査実施の許可を受けた (受付番号2000-54。3年を目処に継続申請を行うこととしており、すでに2004年4月以降の調査に対しても受付番号2004-50で許可を受けて

Table 1. Seven cluster scoring categories of NBAS

Cluster	Content
Habituation	Response decrement to light, bell, and tactile stimulation.
Orientation	Animate and inanimate visual, auditory orientation items, and alertness.
Motor	Tonus, motor maturity, pull-to-sit, defensive movements and level of activity
Range of state	Peak of excitement, rapidity of build-up, irritability, lability of states and the cluster
Regulation of state	Cuddliness, consolability, self-quieting activity, and hand-to-mouth activity
Autonomic stability	Tremors, startles and skin color.
Reflex	Record of the number of unusual reflection. e.g., plantar grasp, Babinski, ankle tonus.

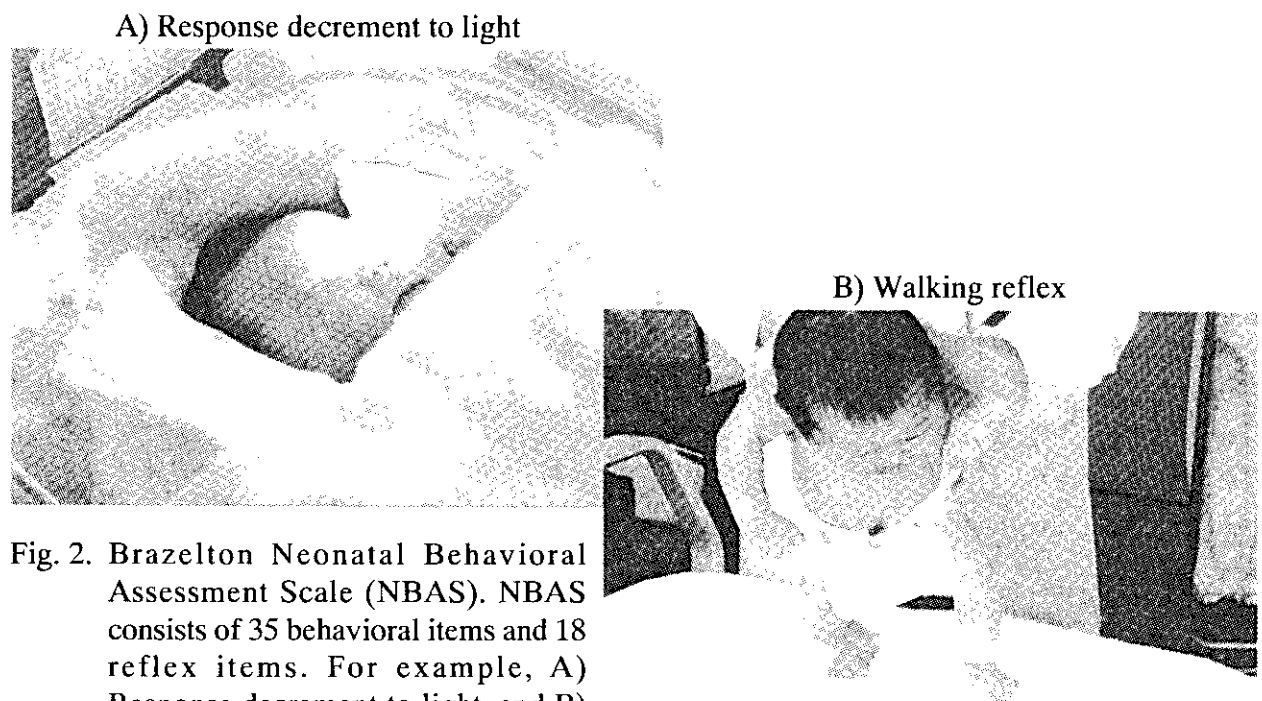


Fig. 2. Brazelton Neonatal Behavioral Assessment Scale (NBAS). NBAS consists of 35 behavioral items and 18 reflex items. For example, A) Response decrement to light, and B) Walking reflex.

Table 2. Analysis

1. Univariate analysis

Maternal hair mercury levels and FFQ
Correlation with each index.

2. Multivariate analysis

Analyses controlling for covariates were performed using a multiple regression analysis.

Table 3. Covariates

• **Mother**

Age, delivery type (SP-D/CS), Drinking during pregnancy (yes/no), Smoking (no/ceased during pregnancy/yes)

• **Infant**

Sex (male/female), Parity (first/other), Gestational age (weeks), Birth weight (g), Apgar score i min

• **NBAS Examiner (four persons)**

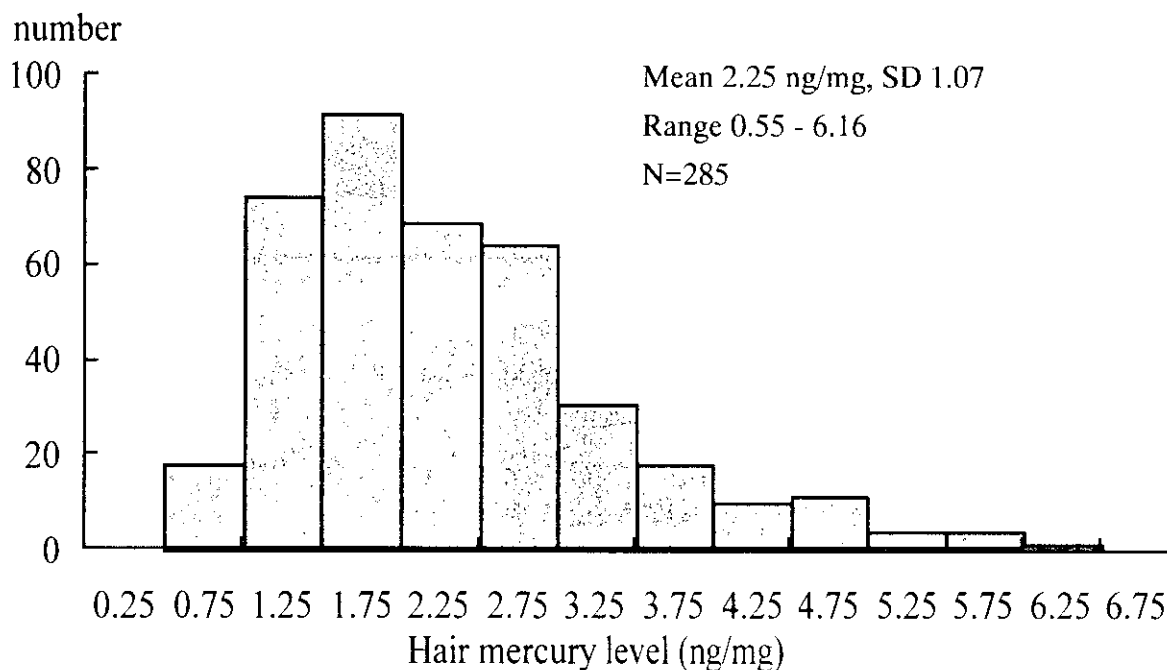


Fig. 3. Maternal hair mercury distribution.

いる)。

C. 結果

288名の母親のうち、69名が妊娠中に飲酒を、12名が習慣的な喫煙をしていた。出産時に採取された母親毛髪の根本から3 cmの総水銀濃度の分布をFig. 2.に示した。毛髪は通常は毎月1.1

cm伸長するとされることから、出産の3-4ヶ月前に渡るメチル水銀曝露を反映するものと考えられる。母親毛髪総水銀濃度は0.55 ppmから6.16 ppm、平均は 2.25 ± 1.07 ppm (mean \pm SD)であった。食物摂取頻度調査に基づく魚摂取量は、 28405 ± 20064 g/year (77.8 g/day)であり、分布は584-181076.5 g/yearであった。魚摂取量と

毛髪総水銀濃度の間には有意な相関関係が認められた (図示せず)。

NBASスコアと母親毛髪総水銀および魚摂取量との個別の関連性について検討した。まず母親毛髪総水銀濃度は、回帰直線の傾きは小さいながらも、運動クラスターと統計学的に有意な

負の相関を示した (Fig. 5)。またマグロ/カジキ類摂取量は、方位クラスターと (Fig. 6)、白身魚摂取量は慣れ現象クラスターと (図示せず)、それぞれ相関した。青身魚摂取量は、原始反射における異常反射の発生と負に相関した (Fig. 7)。交絡要因を考慮した重回帰分析の結

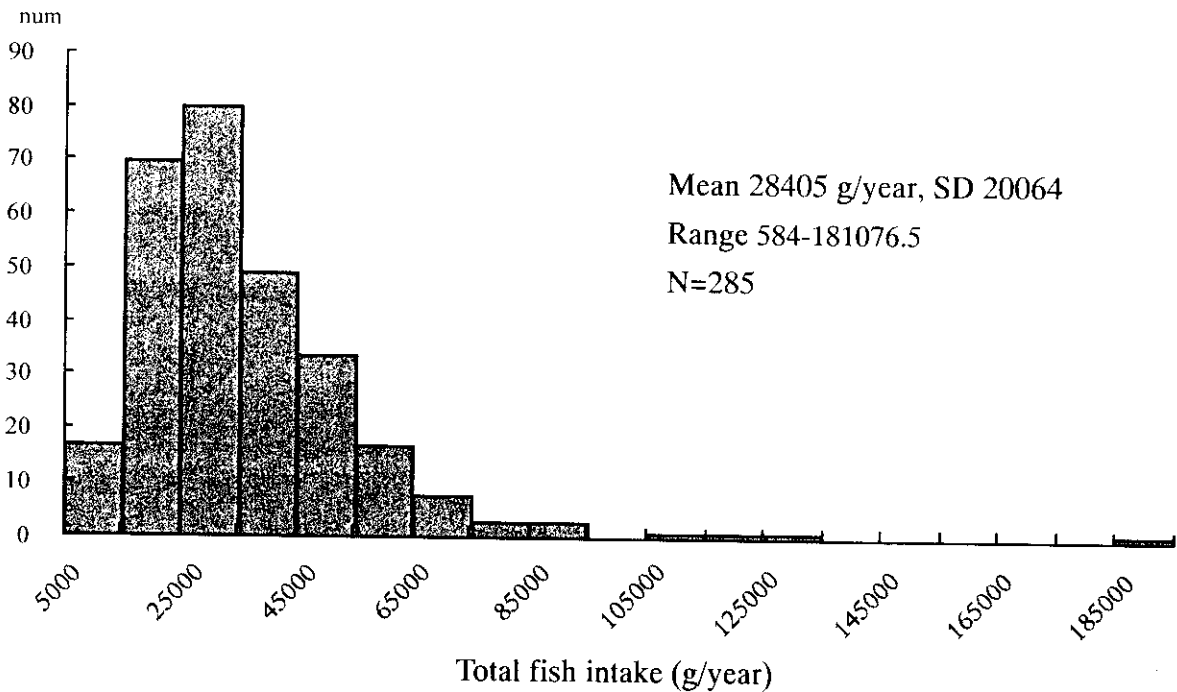


Fig. 4. Maternal fish intake distribution.

Motor Cluster

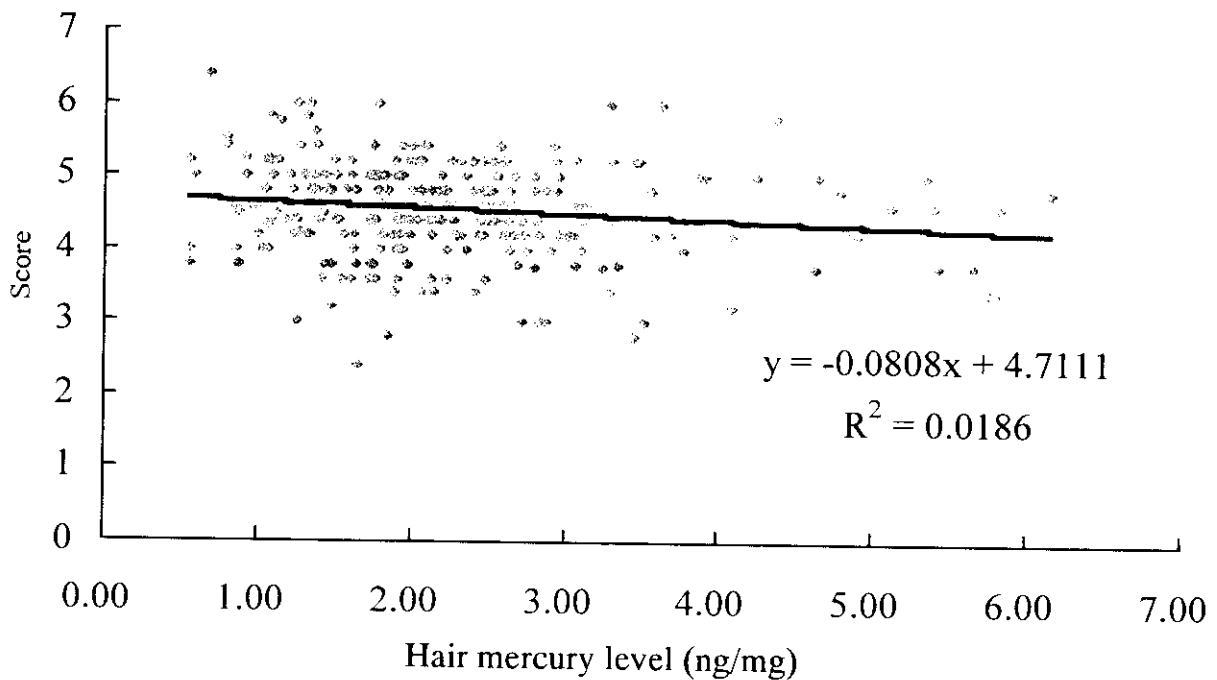


Fig. 5. Association between maternal hair mercury concentration and the score of motor cluster in NBAS.