

の乖離の原因である可能性はあるが、現時点では *PONI* 遺伝子型の有機リン殺虫剤代謝への関与については、明快な結論を得られなかった。今回の研究では使用したサンプル数が少

なく、曝露群において最終曝露から尿、血液採取までの時間を統一していないため、今後これらの点をふまえた研究が必要である。

厚生労働科学研究費補助金（食品・化学物質安全総合研究事業）  
分担研究報告書

化学物質によるヒト生殖・次世代影響の解明と内分泌かく乱作用  
検出のための新たなバイオマーカーの開発  
— 有機リン系殺虫剤ジクロロボスの雄性生殖毒性の評価 —

研究協力者

岡村 愛 名古屋大学大学院医学系研究科社会生命科学講座環境労働衛生学  
上山 純 名古屋大学医学部保健学科検査技術科学専攻

分担研究者

上島 通浩 名古屋大学大学院医学系研究科社会生命科学講座環境労働衛生学  
柴田 英治 愛知医科大学医学部衛生学講座  
市原 学 名古屋大学大学院医学系研究科社会生命科学講座環境労働衛生学  
高木 健次 名古屋大学医学部保健学科検査技術科学専攻

研究要旨

前年度に実施した雄性ラットに対するジクロロボス（DDVP）の9週間皮下投与実験に引き続き、尿中代謝物ジメチルリン酸(DMP)を測定し、血中アセチルコリンエステラーゼ活性および尿中 DMP との量反応関係を解析した。尿中 DMP 量は、投与量にしたがい増加した。投与量からみたとき量反応関係は不明瞭であるものの精子運動性の軽度の低下がみとめられ、体内曝露指標である赤血球コリンエステラーゼ活性や尿中 DMP 量に運動精子率は有意に回帰した。したがって、DDVP は精巣病理組織学的変化やテストステロン値に有意な変化をもたらさないが、赤血球コリンエステラーゼ活性を著明に減少させる曝露量においては、軽度の運動精子率低下をきたすことが示唆された。

過去にジクロロボスを扱う作業員集団で斎藤らが測定した尿中 DMP の最大値は 0.71 mg/l（斎藤ら、1984）で、この値を本研究で得られた回帰式に用いると運動精子率の低下は 0.63%と計算された。すなわち、DDVP は高用量下で精子運動性を低下させる可能性があるが、職域の曝露量で運動精子率としては DDVP

単独で低下することではなく、一般生活環境の曝露レベルではリスクを無視して問題ないと考えられる。

## A. 研究目的

これまでに我々は、殺虫剤散布作業者を対象に行った生殖機能調査において、作業者の精子運動性が非曝露群と比較して散布頻度の高い夏期に有意に低い（動きの遅い精子が多い）<sup>1)</sup>ことを報告した。殺虫剤や温熱への曝露、繁忙期の生活スタイルなど、殺虫剤散布作業との関連を示唆する結果であり、作業に関連する有害要因を殺虫剤に限定して考えた場合、調査集団が使用していた殺虫剤の中で使用頻度が高く、動物実験で精巣毒性の報告(Krause et al;1974他)のある殺虫剤はジクロロボス(DDVP)であった。しかし、DDVPの男性生殖毒性の有無については議論があるため、ラットを用いた皮下投与実験を行ったところ、昨年度の報告書で記載したように、精子数に有意な差は見られなかったが、精子運動性の有意な低下をみとめた。その後、今年度は尿中代謝物の測定結果も出そろい、代謝物やコリンエステラー

ゼ値との量反応関係を検討したので、ここに報告する。

## B. 研究方法

動物の処置については昨年度の報告書を参照。尿中代謝物はDDVPの代謝物であるジメチルリン酸(DMP)を上山らの方法(本報告書第2章高木らの報告を参照)により測定した。

## C. 研究結果

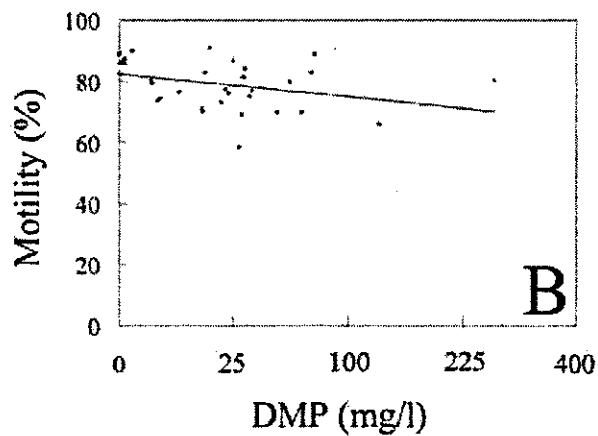
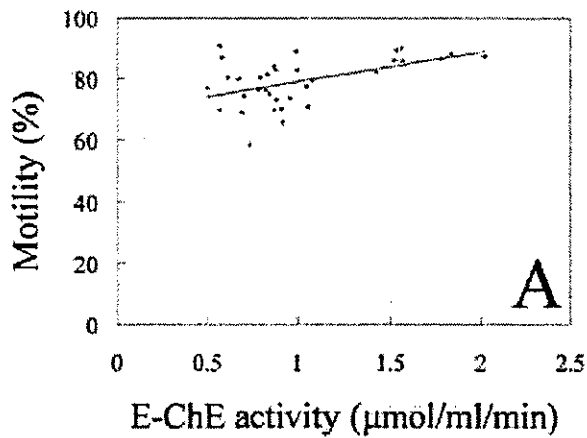
精子数に有意な差は見られなかったが、運動精子率は1, 4 mg/kg群で有意に低下し、4 mg/kg群の低下は対照群の約14%であった(表1)。尿中DMP量は、投与量にしたがい増加した。運動精子率は赤血球コリンエステラーゼ活性および尿中DMP濃度に有意に回帰した( $p < 0.05$ ) (図1)が、血漿コリンエステラーゼ活性への回帰は有意ではなかった。

表1 精子数、頭部形態および運動精子率

	0 mg/kg	1 mg/kg	2 mg/kg	4 mg/kg
N	8	8	9	9
精子数 (x 10 <sup>6</sup> /g 精巣上部 尾部重量)	314 ± 113	315 ± 93	352 ± 148	349 ± 79
精子頭部形態異常 (%)	2.0 ± 1.1	2.9 ± 1.8	3.1 ± 1.4	2.2 ± 1.1
運動精子率 (%)	87.1 ± 2.4	76.8 ± 4.4*	79.2 ± 8.6	74.6 ± 2.2*

Values are means ± SD. \* indicates significant difference at  $p < 0.05$  when compared with the control group.

図1 運動精子率は赤血球コリンエステラーゼ活性(E-ChE)および尿中 DMP 濃度との関係



## D. 考察

投与量からみたとき量反応関係は不明瞭であるものの精子運動性の軽度の低下がみとめられ、体内曝露指標である赤血球コリンエステラーゼ活性や尿中 DMP 量に運動精子率は有意に回帰した。したがって、昨年報告した内容とあわせて考えると、DDVP は精巣病理組織学的変化やテストステロン値に有意な変化をもたらさないが、赤血球コリンエステラーゼ活性を著明に減少させる曝露量においては、軽度の運動精子率低下をきたすことが示唆される。

過去にジクロロボスを扱う作業集団で斎藤らが測定した尿中 DMP の最大値は 0.71 mg/l (斎藤ら、1984) で、この値を本研究で得られた回帰式に用いると運動精子率の低下は 0.63%と計算された。これは、ラットと人間との間の種差の不確定係数を用いない仮定であるが、曝露量の多い職域でもジクロロボスによる運動精子率の低下は事実上観察されないことになる。このことは、職域集団で観察された現象、すなわち、運動精子率が変わらずに動きの遅い精子が増えた原因がジクロロボスにある可能性を否定するものではないが、職域の数十倍の DMP が尿中に排泄される状況でも精子数や組織学的な変化、テストステロン値の変動を伴わ

ないことを考えると、ジクロロボス単独の精子運動性への影響は、曝露がきわめて多くアセチルコリンエステラーゼ活性が低下する特殊な状況を除き事実上問題にならないと考えられる。

## E. 結論

雄性ラットに対する DDVP の 9 週間皮下投与後、運動精子率はアセチルコリンエステラーゼ活性が著明に阻害される 4mg/kg で最大で約 14%低下し、運動率は赤血球コリンエステラーゼ活性や尿中 DMP 濃度に有意に回帰した。したがって、DDVP は高用量下で精子運動性を軽度に低下させる可能性があるが、運動精子率としては職域の曝露量で低下することはなく、一般生活環境の曝露レベルではリスクを無視して問題ないと考えられる。

## F. 文献

- 1) Kamijima M, Hibi H, Gotoh M, Taki K, Saito I, Wang H, Itohara S, Yamada T, Ichihara G, Shibata E, Nakajima T, Takeuchi Y. A Survey of Semen Indices in Insecticide Sprayers. J Occup Health 46, 109-118, 2004

## II-3. 有機溶剤

上島通浩

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）  
分担研究報告書

化学物質によるヒト生殖・次世代影響の解明と内分泌かく乱作用  
検出のための新たなバイオマーカーの開発

— 不妊外来受診者における有機溶剤取り扱い職歴の調査 —

分担研究者

上島 通浩 名古屋大学大学院医学系研究科社会生命科学講座環境労働衛生学

研究要旨

有機溶剤は共通の性質として麻酔作用を持つため、排卵障害のリスク要因であるとの仮説を検証する目的で、不妊患者の有機溶剤取り扱い歴を含む職業歴、生活習慣、飲酒・喫煙等の状況について横断研究を実施した。不妊外来受診者に占める有機溶剤使用歴のある者の割合は、一般集団に比べ多い可能性があるため、排卵障害に注目した解析に加え、今後は不妊症全体に占める曝露のオッズの上昇についても検証する必要がある。

A. 研究目的

日常生活や職場において曝露する様々な化学物質や物理的因子の中には、生殖機能に影響を及ぼし、不妊症のリスク要因になりうると考えられるものがある。有機溶剤については、グリコールエーテル類やプロモプロパンの生殖腺への直接作用による生殖毒性が知られている他、直接作用がない溶剤についても中枢神経を介した生理周期のかく乱や妊孕性の低下の報告が欧米からなされている。しかし、日本国内において不妊

症の原因として有機溶剤曝露を検討した報告はほとんどない。そこで、有機溶剤を含む生殖器系に影響を与えている可能性のある職業因子を明らかにする目的で、不妊患者の職業歴、生活習慣、飲酒・喫煙等の状況について横断研究を実施した。有機溶剤は共通の性質として麻酔作用を持つため、排卵障害のリスク要因であるとの仮説を検証する目的で、リコールバイアスを考慮する必要のない不妊外来受診者間で比較を行った。

## B. 研究方法

調査対象：

名古屋市および近郊の3医療機関の不妊外来を受診した女性336人を対象に、飲酒・喫煙、仕事や趣味で曝露を受けた化学物質（有機溶剤、農薬、金属、医薬品、その他）および物理的因子（放射線、紫外線、電磁波、温熱、騒音、その他）などについての自記式質問票を、インフォームドコンセントを得て実施した。上記のうち、記載に不備のなかった292人を対象として解析した。

症例・対照の分類は、各医療機関から得た診断名を基に、排卵障害の存在が確認、あるいは強く予想される者を症例群、排卵障害がおそらくないといえる症例および排卵障害の有無について決めがたい不妊症と考えられる者を対照群とした。

## C. 研究結果及び考察

対象者の背景要因：

症例、対照を含む平均年齢は31歳、初潮年齢は13歳、結婚後月数は57カ月、不妊期間は44カ月であった。症例群と対照群の間には有意差はみられなかった。

飲酒・喫煙の状況：

飲酒・喫煙と排卵障害との間には

有意な関連は見られなかった。先行研究では飲酒・喫煙と不妊の間に有意な関係が示されているものがあったが、今回の結果から排卵障害に限定したリスクではないと考えられる。

有機溶剤職歴を含む物理化学因子との関連：

症例、対照を含む曝露者数とその割合を表に示した。職業性の有機溶剤使用歴のある者の割合は、8%に達し、このうちほとんどの者は有機溶剤健康診断を受診していなかった。有機溶剤使用者数に関する国の統計としては、特殊健康診断受診者数に関するものが唯一であるが、平成15年には男女をあわせ年間約50万人が受診している（平成16年度版「労働衛生のしおり」）。これは同年の就業者人口6316万人（うち女性は2597万人）の0.8%、生産年齢（15-64歳）人口8540万人の0.6%に相当するが、有機溶剤健康診断受診対象業務への従事者は男性が多いことを考えると、不妊外来受診者に占める有機溶剤使用歴のある者の割合は、一般集団に比べ多い可能性がある。したがって、排卵障害に注目した解析に加え、今後は一般女性に対しての不妊症全体に占める曝露のオッズの上昇についても検証する必要がある。



表 調査対象者の職業的な有害因子への曝露状況

症例+対照 (N=292)	
有機溶剤	23
殺虫剤	2
金属	9
放射線	13
電磁波	6
温熱	5
騒音	12
交代制勤務	31
医薬品・抗生物質	6
屋外作業	5

## II-4. 有機スズ化合物

王海蘭、上島通浩、那須民江、丁 訓誠、李 衛華、  
宮田麻衣子、山ノ下理

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）  
分担研究報告書

化学物質によるヒト生殖・次世代影響の解明と内分泌かく乱作用  
検出のための新たなバイオマーカーの開発

— 有機スズ中毒元患者の健康状況調査 —

研究協力者

王 海蘭 日本学術振興会外国人特別研究員（H16.4-8）・  
社団法人日本食品衛生協会リサーチ・レジデント（H16.9-H17.3）

分担研究者

上島 通浩 名古屋大学大学院医学系研究科社会生命科学講座環境労働衛生学

主任研究者

那須 民江 名古屋大学大学院医学系研究科社会生命科学講座環境労働衛生学

研究要旨

中国において塩化トリメチルスズの中毒集団の横断研究を行った。生殖内分泌系および甲状腺機能に関しては元中毒患者群と対照群との間、あるいは重症者と軽症者の間に有意な差を認めなかったが、神経系の自覚症状や腱反射には差を認めた。すなわち、トリメチルスズの急性中毒からの快復後長期間経た後の生体影響としては、子供の発達影響の可能性は別として、生殖影響が仮に問題となるにしてもその程度は神経系に比べ十分小さいことが明らかとなった。

## A. 研究目的

有機スズ化合物は、炭素とスズの直接結合をもつ化合物の総称で、プラスチックの安定剤や、殺菌剤、防腐材及び海洋防付着ペンキなどに幅広く使われている。トリブチルスズやトリフェニルスズはイボニシのインポセックスの原因とされる。これらの有機スズ化合物は現在船底塗料としては用いられていないが、別の種類のスズ化合物は食品包装にも用いられる塩化ビニル等の安定剤として用いられているため、類縁化合物のヒトでのデータは重要である。

トリメチルスズ( $(\text{CH}_3)_3\text{Sn}$ )は無色の液体で、融点  $23^\circ\text{C}$ 、沸点  $182^\circ\text{C}$ 、水に不溶である。トリメチルスズはスズ化合物の中で最も強い神経毒性を持つ化学物質と報告され<sup>1</sup>、近年、生産販売量は制限されているが、プラスチックの安定剤や、虫、ねずみの化学不妊剤、及び殺菌、殺虫剤として使われている<sup>2</sup>。Guardら<sup>3</sup>及びHallasら<sup>4</sup>の研究によると、無機スズ及び有機スズは河口生態系で生物や非生物ルートでメチル化され、トリメチルスズになる。生体影響に関する報告は、動物実験研究や、事故による少人数の中毒例がほとんどである。特に生殖・次世代影響についてはラットでの研究があるが<sup>5,6</sup>、疫学報告は皆無である。このため、本研究課題では1998年に中国で発生したトリメチルスズ中毒事件の元患

者29人及び対照者26人について症例対照研究を行った。

1998年12月上旬から、1999年1月中旬にかけて、中国江西省袴巒地方で調理油(ラード)による中毒事件が発生した。中毒者の症状は主に頭痛、ふらふらする、眩暈、記憶力減退及び精神異常であった。衛生管理機構の調査によると、中毒者全員が発症直前に数箇所の食品販売店から購入したラードを調理油として食べた。これらの食品販売店で販売されたラードは同じ会社から購入したものであり、容器は再利用されたドラム缶で表面のペンキの下にmethyltin mercapideと書いたラベルが見つかった。ドラム缶に貯蔵するラードから塩化トリメチルスズを検出し、ラードサンプル中スズ総量は369.9—1460 mg/kgであった。死亡した患者の血液、心臓及び肝臓からも塩化トリメチルスズを検出した。この中毒事件について、中毒患者は1002名、内には軽度中毒患者942名、重度中毒患者60名(死亡3例)であった。

事件当時ある病院に入院した225名の患者の資料を私達が平成14年度に解析した結果では、主な臨床症状は頭痛、眩暈、耳鳴、聴力減退、記憶力減退、幻聴、幻視及び抑うつ状態、躁状態などの神経系症状と、吐き気、嘔吐、腹痛等の消化器系症状であった。重症患者には振戦や意識障害も見られた。ロジスティック回

帰分析によると、患者が摂取したラードの総量と倦怠感、行動異常、昏睡、痙攣、躁状態、幻覚、振戦、構音障害の間に有意な関連がみられた。一日当たり摂取したラード量と記憶障害、躁状態、幻覚症状の間に有意な関連が見られた。したがって、本調査の実施にあたっては、生殖内分泌、甲状腺機能の検査とともに神経系の残存症状の有無についても留意した。

## B. 研究方法

本研究の実施にあたっては、名古屋大学医学部倫理委員会の承認を得た。

### B-1) 予備調査

本調査の2週間前に予備調査を行って、地元の衛生管理局から患者の名簿を入手し、村の臨床医の協力を得て元患者と連絡を取り、対照者にも調査への協力の意思を確認した。

### B-2) 本調査

調査期間：2005年1月13-14日

調査対象：事件当時中毒患者の多発した一つの村を今回の調査対象として選んだ。当時この村では重症患者11人、軽症患者34人が発生した。今までに元患者のうち一人が死亡し、転居した元患者と出稼ぎ中の元患者を除いた29人全員が今回の調査に参加した。29人のうち、中毒発症当時の重症者は9人、軽症者は20人、性別は男性12人（重症5人、軽症7人）、

女性17人（重症4人、軽症13人）であった。

対照者は性を調整した同じ村に住む、年齢の近い、26人の村民とした。大人の女性患者14人に対して対照者16人、大人男性患者10人に対して対照者10人とした。患者と対照者の年齢はTable 1で示した。女性においては年齢を±2歳で調整したが、労働可能年齢の男性に関しては仕事の都合で対照者の年齢の調整はできなかった。なお本調査は、名古屋大学医学部倫理委員会の承認を得て実施した。現在の年齢が15歳以下の元患者5人（男性2人—14,15歳、女性3人—7, 10, 13歳）には採血を避ける倫理的配慮により対照者を設定しなかった。

調査内容：調査は二日間かけて行った。村近くの病院の協力で、元患者と対照者に病院に来てもらって検査内容について説明し、“説明・同意書”（インフォームドコンセントの書式）にサインを得た後に検診を行った。

各対象者に問診、体重・血圧・脈拍測定、神経内科的診察、採血、採尿、毛髪採取を行った。問診では年齢、性別など属性と中毒当時の症状及び現在残る自覚症状、中毒後に妊娠・出産した子供の状況を調査した。神経内科的診察では専門医による温痛覚、触覚、筋張力(muscular tone)、筋力、指鼻試験、対指試験、腹壁反射、膝腱反射、アキレス腱反射、バ

ビンスキー現象、oppenheim 反射、Hoffmann 反射の検査を行った。

血液サンプルについて、貧血検査—Hb, RBC, WBC, 肝機能検査—総ビリルビン、直接ビリルビン, AST, ALT, 甲状腺機能—TSH, Free T4, 性ホルモン— LH, FSH, テストステロン或は E2, HBsAg の測定を行った。

尿サンプルについて、ウロペーパー II を使って、ウロビリノーゲン、潜血、ケトン体、ブドウ糖、蛋白質、pH を測定した。

毛髪サンプルについて、有害ミネラル—Be, Al, Ni, As, Cd, Sn, Hg, Pb, 必須ミネラル—Mg, P, Ca, Cr, Mn, Fe, Cu, Zn, Mo, Se, I, 参考測定ミネラル—Li, V, Co, Ge, Na, K の量を ICP-MS により測定した (SRL)。

## C. 研究結果

1) 神経内科検査では、元患者 27 人と対照者 25 人 (一人脳梗塞既往歴を持たため除いた) とともに温痛覚、触覚、筋張力、筋力、指鼻試験、対指試験、腹壁反射、バビンスキー現象、Oppenheim 反射、Hoffmann 反射は全員正常であった。膝腱反射については 27 人中 10 人、対照者 25 人中 1 人が減弱し。アキレス腱反射については 27 人中 9 人、対照者 25 人中 1 人で減弱していた。両反射とも有意な差を示した (Table 2)。

2) 貧血、肝機能、甲状腺機能検査結果は、男女別で、患者と対照者の間で有意な差は見られなかった (Table

3-1)。重症患者、軽症患者と対照者の間にも有意な差は見られなかった (Table 3-2)。HBsAg 陽性者は、患者中 3 人、対照者中 6 人で、有意な差が無かった。

3) 尿検査の結果は、患者と対照者とも異常者を見られなかった。

4) 毛髪中ミネラル検査では、男女別で、患者と対照者の測定結果は Table 4-1 に示した。スズの量は元患者の中に一人高値者 (2064.09 ppb) がみられたが、患者と対照者との間に有意な差はなかった。男性患者の毛髪では P, Cu, Ge の量は対照者より有意に高かった。女性患者の毛髪では Ca, K の量は対照者より有意に低かった、Li, V の量は、対照者より有意に高かった。男女を合計した重症患者、軽症患者と対照者の測定結果は Table 4-2 に示した。軽症患者では Be, As, Cd, Fe, Li, Co の量は対照者より有意に高かったが、重症患者では有意な差が無かった。

5) 性ホルモン関係の検査については、大人女性患者の中閉経者 7 人、月経期 1 人、妊娠中 1 人であった。卵胞期や、排卵期、或は黄体期の 5 人はいずれも LH, FSH, E2 のレベルは正常範囲だった (Table 5)。閉経者の LH, FSH, E2 レベルは対照者と比べ、有意な差が見られなかった (Table 6)。大人男性患者の LH, FSH のレベルは対照者より有意な差が見られなかったが、Testosterone のレベルは対照より有意に高かった (Table 7)。

6) 元患者達に現在残る自覚症状は Table 8 で示した。記憶力減退、反応が遅い、頭痛、眩暈、力が乏しいという訴えが目立った。

7) 15歳以下の5人のデータは Table 9 で示した。中毒当時重症だった7歳の女児の毛髪中スズの量は434.04 ppb と測定され、他の4人より高かった。又、母親はこの子が風邪を引きやすい、学習能力が低下していると述べた。

#### D. 考察

今回の調査結果では、毛髪中のスズの量は元患者29人中28人の平均値には対照者と差が無く、6年前の中毒当時摂取したスズ量と現在の毛髪中のスズ量との関連は見られなかった。高値者(2064.09 ppb)のスズ量は平均値より約20倍高く、別の原因で毛髪に入ったことが考えられた。また、貧血、肝機能、甲状腺機能及び尿の検査結果では当時スズ中毒との関連は見られなかった。元患者には膝腱反射とアキレス腱反射の減弱者が多く、現在でも神経系への影響が残存していると考えた。男性患者のテストステロンレベルは対照者より高かったが、対照者より約10歳若いことが原因と考えられる。

今回の調査では元患者と対照者ともほぼ全員毛髪中有害ミネラルBe, Al, Ni, As, Cd, Pbの量は日本人の基準値より高く、生活環境中での曝露量が高いと思われた。調査対象の自覚症

状中四肢の痺れ、倦怠感はAsの高値との関連があると考えた。

生殖・次世代影響および甲状腺機能に関しては、今回の調査範囲では元中毒患者群と対照群との間、あるいは重症者と軽症者の間に集団として有意な差は認められなかったが、中毒時2歳だった女児の免疫能や学習能力が低下している可能性があり、また、中毒者が事件後意識して妊娠しないようにしていることが明らかになった。

#### E. 結論

塩化トリメチルスズの中毒患者においては、生殖、次世代影響の存在を完全には否定できないものの少なくとも生殖内分泌および甲状腺機能においては明確な影響はみられず、むしろ神経系の残存影響が問題になると考えられた。

文献：

1. Annau Z. 1988. Organometals and brain development. *Progr. Brain Res.* **73**: 295-303.
2. Smith P and Smith L. 1975. Organotin compounds and applications. *Chem. Br.* **11**: 208-226.
3. Guard HE., Cobet AB., Coleman WM. 1981. Methylation of trimethyltin compounds by estuarine sediments. *Science* **213**: 770-771

4. Hallas LE., Means JC., Coney JJ. 1982. Methylation of tin estuarine microorganisms. *Science* **215**: 1505-1507.
5. Paule MG., Reuhl K., Chen JJ., Ali SF., Slikker W JR. 1986. Developmental toxicology of trimethyltin in the rat. *Toxicol Appl. Pharmacol.* **84**: 412-417
6. Miyake K., Misawa T., Aikawa H., Joshida T., Shigita S. 1989. The effects of prenatal trimethyltin exposure on development and learning in the rat. *Jpn J. Industr. Health* **31**: 363-371
7. Kreyberg S., Torvik A., Bjorneboe A., Wiik-Larsen W., Jacobsen D. 1992. Trimethyltin poisoning: report of a case with postmortem examination. *Clinical Neuropathology.* **11(5)**: 256-259
8. Besser R., Kramer G., Thumler R., Bohl J., Gutmann L., Hopf HC. 1987. Acute trimethyltin limbic-cerebellar syndrome. *Neurology.* **37**: 945-950.
9. Robert G. Feldman., Robera F White., Ikechukwu I Eriator. 1993. Trimethyltin encephalopathy. *Arch. Neurol.* **50**: 1320-1324.



**Table 1 Age of patient group and control group**

	patient	control
Female	44.79 ± 3.43 n=14	44.19 ± 3.21 n=16
Male	44.80 ± 11.76 n=10	54.9 ± 10.6 n=10
Total	44.79 ± 12.88 n=24	47.65 ± 12.33 n=26

Values are the means±standard deviations for each group.

**Table 2 reflexes of patients and control**

	patient		control		x <sup>2</sup>	P
	normal	decreased	normal	decreased		
Patellar reflex	17	10	24	1	8.49	0.0036
Achilles reflex	18	9	24	1	7.19	0.0073

Values are the means±standard deviations for each group.

**Table 3-1 Results of blood hematological and biochemical analyses**

	Male		Female	
	patient	control	patient	control
	n=10	n=10	n=14	n=16
Hb (g/dL)	11.60 ± 1.01	11.50 ± 1.17	10.10 ± 1.02	10.50 ± 1.38
RBC (10 <sup>12</sup> /L)	4.07 ± 0.39	4.04 ± 0.40	3.54 ± 0.36	3.70 ± 0.47
WBC (10 <sup>9</sup> /L)	4.86 ± 1.48	5.24 ± 1.41	4.78 ± 1.03	5.13 ± 1.23
N (%)	69.90 ± 6.15	68.13 ± 10.44	72.28 ± 6.08	70.81 ± 7.49
TBIL (umol/L)	10.83 ± 5.72	8.34 ± 1.17	8.49 ± 3.16	7.94 ± 2.84
DBIL (umol/L)	2.02 ± 0.68	1.61 ± 0.36	1.54 ± 0.73	1.81 ± 0.61
AST (IU/L)	25.47 ± 4.73	25.65 ± 5.65	23.52 ± 4.82	23.19 ± 5.99
ALT (IU/L)	24.73 ± 4.15	22.18 ± 8.16	20.84 ± 6.44	21.84 ± 7.33
TSH (uIU/ml)	1.26 ± 0.68	1.80 ± 0.83	2.44 (13) ± 1.58	2.46 ± 1.92
Free T4 (ng/dl)	1.26 ± 0.17	1.30 ± 0.15	1.22 ± 0.20	1.21 ± 0.16

Values are the means±standard deviations for each group. There was no significant difference from the control (t-test).

**Table 3-2 Results of blood hematological and biochemical analyses**

	serious patient n=8	mild patient n=16	control n=26
Hb (g/dL)	10.81 ± 0.80	10.61 ± 1.47	10.84 ± 1.34
RBC (10 <sup>12</sup> /L)	3.80 ± 0.28	3.74 ± 0.53	3.82 ± 0.46
WBC (10 <sup>9</sup> /L)	4.41 ± 0.60	5.01 ± 1.40	5.15 ± 1.24
N (%)	71.38 ± 4.84	71.25 ± 0.79	70.04 ± 8.30
TBIL (umol/L)	10.33 ± 6.13	9.04 ± 3.51	8.10 ± 2.32
DBIL (umol/L)	2.02 ± 0.78	1.70 ± 0.73	1.73 ± 0.53
AST (IU/L)	24.38 ± 6.60	24.31 ± 3.83	24.14 ± 5.88
ALT (IU/L)	20.20 ± 6.28	23.59 ± 5.45	21.97 ± 7.50
TSH (uIU/ml)	1.76 ± 1.46	2.02 ± 1.38	2.21 ± 1.60
Free T4 (ng/dl)	1.27 ± 0.16	1.22 ± 0.20	1.25 ± 0.16

Values are the means±standard deviations for each group. Asterisk indicate that the value was significantly different from the control (\*P <0.05, Dunnetts multiple comparison)

**Table 4-1 Minerals content in the hair**

	Male		Female		test
	patient	control	patient	control	
	n=10	n=10	n=14	n=16	
Be (ppb)	8.54 ± 10.15	3.98 ± 3.67	8.03 ± 11.58	2.89 ± 2.21	a
Al (ppm)	17.33 ± 9.60	14.37 ± 9.11	16.34 ± 8.12	13.39 ± 9.32	b
Ni (ppb)	311.85 ± 324.05	126.97 ± 52.72	650.13 ± 782.76	345.31 ± 467.77	a
As (ppb)	631.77 ± 394.53	393.96 ± 277.20	392.43 ± 176.24	313.78 ± 222.44	b
Cd (ppb)	114.78 ± 98.35	50.51 ± 49.88	76.86 ± 37.36	53.70 ± 33.33	b
Sn (ppb)	136.64 ± 112.18	116.36 ± 183.86	231.91 ± 530.46	116.48 ± 170.08	a
Hg (ppm)	1.56 ± 0.63	1.65 ± 0.76	1.43 ± 0.56	1.65 ± 1.05	b
Pb (ppm)	1.96 ± 1.33	1.43 ± 1.67	1.81 ± 1.13	1.23 ± 0.74	b
Mg (ppm)	17.42 ± 9.82	10.59 ± 7.00	13.31 ± 10.68	20.53 ± 16.16	a
P (ppm)	211.05 ± 24.72*	171.69 ± 14.22	197.88 ± 36.74	219.90 ± 30.71	a
Ca (ppm)	87.15 ± 93.68	54.21 ± 16.36	67.20 ± 47.41*	116.83 ± 70.21	b
Cr (ppb)	98.34 ± 70.70	97.96 ± 75.34	57.83 ± 38.38	42.01 ± 23.26	b
Mn (ppm)	3.32 ± 3.95	0.79 ± 0.38	2.24 ± 1.67	2.01 ± 2.27	a
Fe (ppm)	17.64 ± 8.14	14.86 ± 6.75	16.20 ± 5.21	13.04 ± 5.94	b
Cu (ppm)	9.21 ± 2.38*	7.01 ± 0.51	8.52 ± 3.05	9.13 ± 2.25	b
Zn (ppm)	134.24 ± 28.29	126.30 ± 5.83	132.41 ± 48.19	140.36 ± 29.23	b