

#### 採点基準

- 1) 子どもが絵の正確な名前を言わなくても、その絵の正確なその絵の全体を明らかに理解している場合は、正答とみなす。

例：問1 『顔』：「おじさん」「頭」「外国人」

#### 〔数唱〕（継次処理尺度）

用具 イーゼル1

#### 概略

検査者は、一連の数字をいう。

子どもは、同じ順序でその数字を復唱する。

#### 検査流れ

- 1) 教示「私が、いくつかの数字を言います。私が言い終わったら、私が言った通りに言って下さい。」
- 2) 子どもの注意を確認する。
- 3) 一連の数字を言う。

#### 留意事項

- 1) 各問題を実施する前に、子どもが検査者に注意を向けているか必ず確かめる。
- 2) 数字は、1秒に1つの速さで、声の調子を変えず、はっきりという。
- 3) いくつかの数字をまとめてリズムカルに言ってはならない。
- 4) 問題の最後の数字を言うときに声を下げるなど、これが最後であるとわかるような言い方をしてはいけない。
- 5) 問題の呈示が完全に終わらないうちに子どもが反応を始めたときは、ことばではなく、手を前に出すなどの動作で制止し、問題の呈示を最後まで続ける。
- 6) 検査者は、4は「ヨン」9は「キュウ」と読む。子どもは4を「シ」9は「ク」と答えてもよい。

#### 採点基準

- 1) 子どもがどのような速度で答えても、順序が正しければ正答とする。
- 2)\* 「Q」を出すとき、教示文の語尾を変化させて話すことは許容範囲内である。

#### 習得度尺度

##### 〔表現ごい〕

用具 イーゼル3

#### 概略

検査者は、身近にある物の写真を見せる。子どもは、その写真の名前を言う。

#### 検査の流れ

- 1) イーゼル3を子どもの前に置く
- 2) 写真のページを見せる
- 3) 教示「これは何ですか？」

#### 留意事項

- 1) 次のような反応に対しては、Qの場合に応じて使う。

- 子どもが写真の名前を言わず、そのものについて説明したり、特徴を言ったりした場合。  
→Q「そうですね。でもそれを何と言いますか。」\*「そうですね。でも、その名前を何と言いますか。」
- 子どもが答えた名前が幼児語などであり、正答か誤答かの判断がつかない場合。  
→Q「そうですね。でも他に何と言いますか。」例：(犬)「わんわん」  
\* 幼児語は誤答とする
- 子どもが写真の中の正答となる部分とは、別の部分の名前を言った場合。  
→Q「そうですね。でも（正答の部分に指差し）この名前は何と言いますか。」  
例：(耳)「お顔」

#### 採点基準

1) 正確な発音でなくても正答とみなす。

例：問2（かさ）「かちゃ」

#### [算数]

用具 イーゼル3

#### 概略

検査者は、動物園の絵を見せながら算数の問題を出す。

子どもは、その問題に答える。

#### 検査の流れ

- 1) イーゼル3を子どもの前に置く。
- 2) 子どもは、その問題に答える

#### 留意事項

- 1) 検査者は、イーゼルの両側が見えるように座る。
- 2) 必要に応じて問題文を繰り返して読んでもよい。その場合、問題文を言い換えて読んだり、数字を強調して言うてはいけない。

\* 子どもが質問してきた場合、そのポイントのみ答えるのではなく、全文を再度読み上げる。

#### [なぞなぞ]

用具 イーゼル3

#### 概略

検査者は、3つのヒントからなるなぞなぞを出す

子どもは、それに答える。

#### 検査の流れ

- 1) 問題順にそって、問題文を読み上げる。

#### 留意事項

- 1) 開始問題を始める前に、次のように言う  
「これから、なぞなぞを出します。よく聞いてください。」
- 2) 問題文は、自然な速さではっきりと読む。
- 3) 必要に応じて、問題文を繰り返して読んでもよい。その場合、問題文を言い換えて読んだり、ヒントと

なる言葉を強調して言ったりしてはいけない。

4) 子どもが正答となるべきものの名前を言わず、その物について説明した場合は、次のように言う。

Q「そうですね。でもそれを何と言いますか。」「\*そうですね。でも、別の言い方がわかりますか。」

\*概念がわかっている、正しい名前を言わなければならない。

例：問5（犬）「わんわん」

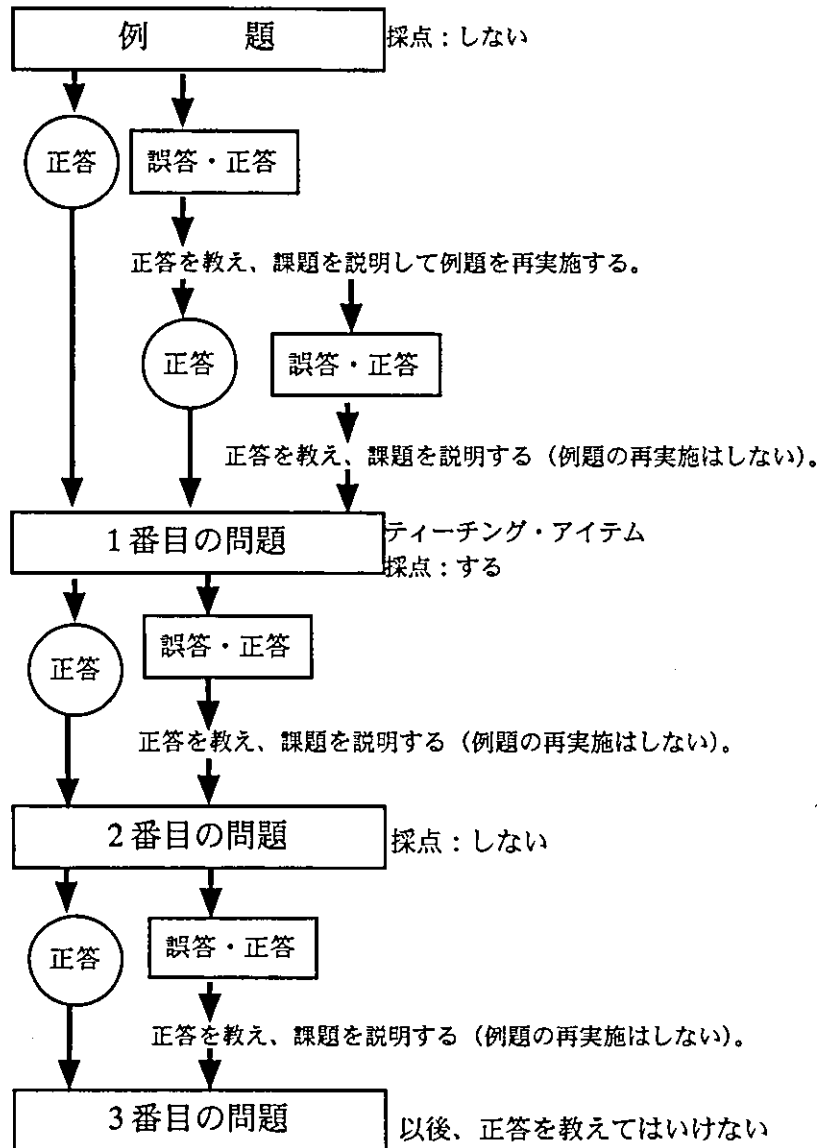


図 認知処理尺度の実施および採点の方法：例題とティーチングアイテムの流れ

育児と生活環境に関するアンケート

お母さまのお名前 \_\_\_\_\_

■ 家庭の様子をお聞きします。

1. 授乳期間について、授乳を止めた時期をお聞きします。 継続中 ・ 生後  カ月でやめた

2. 同居のご家族を教えてください。

祖父、祖母、ご主人

兄  人 ( 才、 才、 才)、 姉  人 ( 才、 才、 才)

弟  人 ( 才、 才、 才)、 妹  人 ( 才、 才、 才)

その他 ( ) 合計  人

3. 職業と役職、差し障りがなければ収入をお聞きします。

ご主人 会社員、公務員、自営業、パート、専業主夫、その他 ( )
職業 ( ) 役職 ( )
100万以下、100-300万、300-600万、600-900万、900-1200万、1200-3000万、3000万以上
ご自身 会社員、公務員、自営業、パート、専業主婦、その他 ( )
職業 ( ) 役職 ( )
100万以下、100-300万、300-600万、600-900万、900-1200万、1200-3000万、3000万以上

4. 喫煙について、同居家族の中で喫煙する方はおられますか？

- a) いない a) 子どもの前では喫煙しない (完全分煙)
- b) いる  人 → その場合は → b) 少しは分煙している
- c) 分煙はしていない

5. お母さまの現在の健康状態についてお聞きします。

- a) 健康である b) 通院している (病名 )
- c) 通院していないが具合が悪い (症状など )

■ お子さまについてお聞きします。

1. お子さまの健康状態はいかがですか？

- a) 健康である b) 通院している (病名 )
- c) 通院していないが具合が悪い (症状など )

2. お子さまは、現在、保育園等に通っていますか？

- a) いない
- b) いる → いつから通っていますか？ (お子さまが  才  カ月の頃から)

3. お子さまは、以前、「発達障害等の疑い」等の通知を受けたことがありますか？

- a) ない
- b) ある → いつ頃でしたか？ → お子さまが  才  カ月の頃  
どのような内容でしたか？ → (障害名等 )

今現在、施設や病院等に通っていますか？

- a) いない
- b) いる (差し支えなければ施設名や通所頻度を教えてください)  
(施設名 ) 通っている頻度 )

## 臍帯血中ダイオキシン類およびPCBs全異性体のGC/MS分析

分担研究者 斎藤善則（宮城県保健環境センター 環境化学部 部長）  
仲井邦彦（東北大学医学系研究科 環境保健医学分野 助教授）

### 研究要旨

環境残留性有機汚染物質（POPs）の周産期曝露影響については、以前よりダイオキシン類の寄与が危惧されてきたものの、ダイオキシン類曝露に起因した健康影響は未だ明確にされていない。オランダで行われた出生コホートにおいて、母乳中ダイオキシン類と児の発達との関連性が解析されているが、相関は確認されていない。一方POPs曝露に関しては、経母乳曝露より経胎盤曝露の影響が大きいことが示されており、オランダのコホートにおいても臍帯血PCBsは児の発達と関連するものの、母乳中PCBsは相関が観察されていないといった結果が報告されている。すなわちダイオキシン類の影響評価には、この出生前曝露影響を解析することが必要であり、臍帯血を用いた分析が望ましい。また、先のオランダのコホートに代表されるように児の発達とPCBsとの関連性を見出す試験の場合、先行のコホートにおけるPCBsの分析法は選択性並びに感度に乏しいガスクロマトグラフ-ECD（GC-ECD）を使用しているケースが殆どであり、限られた異性体と同族体分析に終始している。本コホートではダイオキシン類の胎児期曝露のリスク評価を一つの目的としているが同時にPCBsの全異性体分析を行うことにより要因となるべく異性体種の特特定も視野に入れている。そこで本分担研究では臍帯血中のダイオキシン類並びに全PCBs異性体について同一試料を出発点とした同位体希釈法による高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計（HR-GC/MS）を用いた同時分析の検討を行った。その結果、ダイオキシン類及びPCBsとも回収率は概ね50～120%以内であり、また検出感度も充分満足できるものであったことから今回検討した方法は今後の分析に充分適応可能な方法であると確認した。

研究協力者  
中村朋之（宮城県保健環境センター）

### A. 研究目的

環境残留性有機汚染物質（POPs）の周産期曝露影響については、過去に行われたコホート研究の成果によりPCBsの健康影響に関して若干の知見が蓄積され、高塩素化PCBs等の胎児期曝露によって発達遅延などが惹起されることが示唆されている。しかしながら、先行のコホートにおけるPCBsの分析法は選択性並びに感度に乏しいガスクロマトグラフ-ECD（GC-ECD）を使用しているケースが殆どであり、限られた異性体と同族体分析に終始している。一

方、ダイオキシン類はその毒性の強さから以前より健康影響が危惧されてきたものの、周産期曝露の影響に関しては未だに明確な科学的データは示されていない。例えば、過去にオランダで行われた出生コホートにて、母乳中ダイオキシン類と児の発達との関連性を解析され、相関が見られないことが報告されている。しかしながら並行して実施されたPCBsの評価では、母乳中PCBsと児の発達に関連性は見られなかったものの、臍帯血中のPCBsは児の発達と高い相関を示すことが確認されている。すなわち、POPs曝露に関しては経母乳曝露より経胎盤曝露の影響が大きいことを示唆するものであり、ダイオキシン類の健康影響評価には、この出生

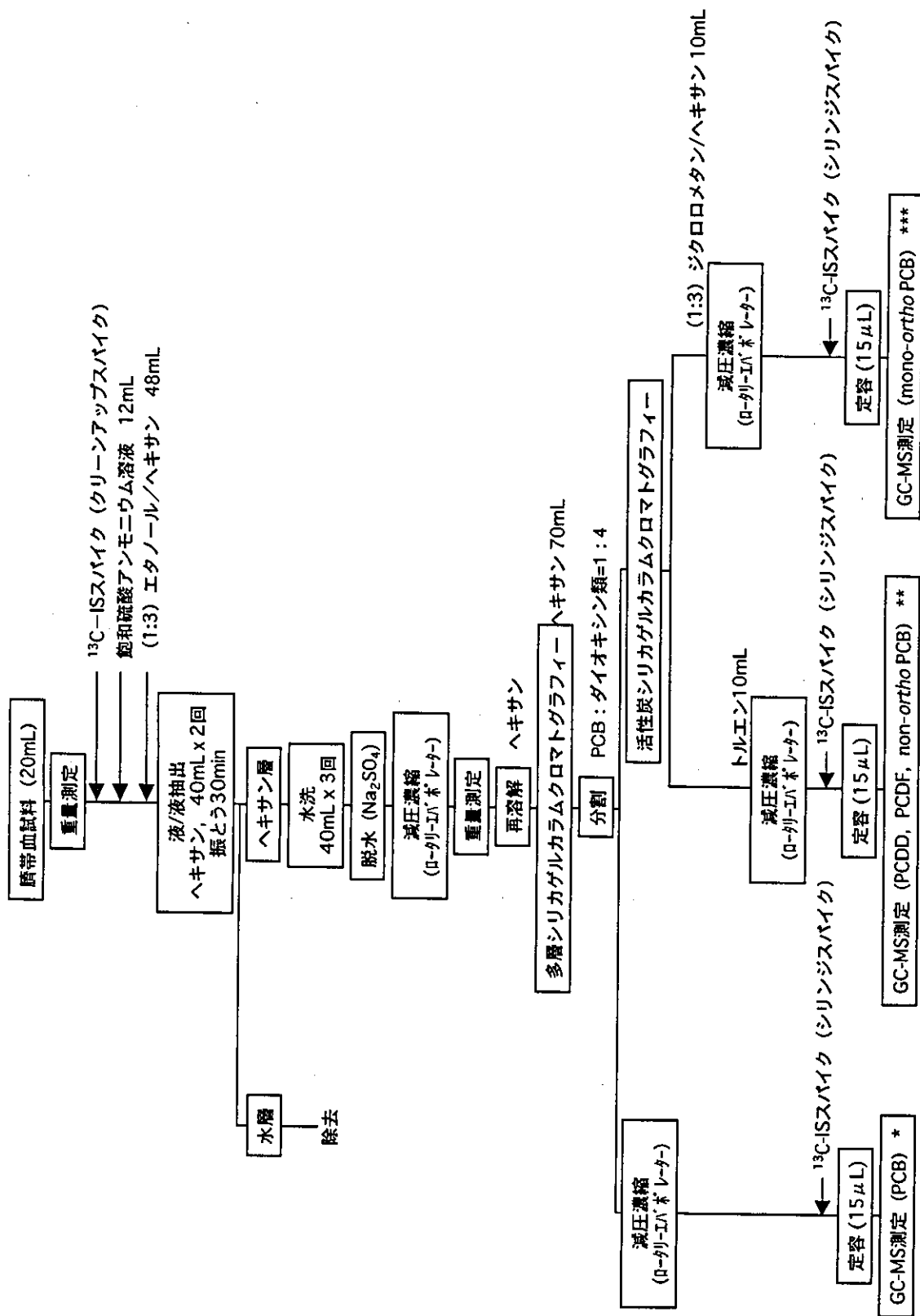


図1 臍帯血中のダイオキシン類及びPCBsの分析フロー

前曝露影響を解析することが必須であると考え、臍帯血を用いた分析が望ましい。本コホートの目的の一つは、ダイオキシン類の胎児期曝露のリスク評価であるが、前述した背景を考慮に入れ、本分担研究では臍帯血を対象に高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計 (HR-GC/MS) を用いたダイオキシン類並びに全PCBs異性体の同時分析について検討を行った。

## B. 研究方法

コホート調査において同意を得て採取した臍帯血を用いて、国土環境株式会社 (静岡県) に分析を委託してHR-GC/MSによる測定を行った。測定対象物質は、PCDDs, PCDFs, Co-PCBs, PCBsとした。図1に分析フローを示す。分析は臍帯血 20ml 全量を秤量後、表1に示したクリーンアップパイプを添加し、脂質分を抽出した。粗脂肪分を秤量した後、n-ヘキサンにて再溶解した粗抽出液を作成し、多層カラムクロマトグラフィーにて第一段階の精製を行った。次

に得られた精製液を全PCBs異性体測定用：ダイオキシン類測定用=1:4として分割した後、前者についてはそのまま濃縮し、シリンジスパイク添加後HR-GC/MS検液とした(図1中の\*)。後者については、再濃縮した後、活性炭カラムクロマトグラフィーにてPCDD/Fs及びnon-ortho Co-PCBsの画分(図1中の\*\*\*)とmono-ortho Co-PCBsの画分(図1中の\*\*)に分画し、それぞれの画分について濃縮後、表1に示したシリンジスパイクを添加しHR-GC/MS検液とした。

HR-GC/MSの測定条件については表2に、今回の分析における各化合物の検出及び定量下限値については表3に示した。

## C. 結果

臍帯血中のダイオキシン類毒性当量 (TEQ) 及びPCBs濃度の測定結果について、まずPCDD, PCDF, Co-PCB, およびその総TEQであるが(平均値および括弧内にその中央値を記

表1 添加したクリーンアップ及びシリンジスパイク種

物質	適用	異性体
ダイオキシン類	CS	2,3,7,8-TeCDD
		1,2,3,7,8-PeCDD
		1,2,3,4,7,8-HxCDD
		1,2,3,6,7,8-HxCDD
		1,2,3,7,8,9-HxCDD
		1,2,3,4,6,7,8-HpCDD
		OCDD
		2,3,7,8-TeCDF
		1,2,3,7,8-PeCDF
		2,3,4,7,8-PeCDF
		1,2,3,4,7,8-HxCDF
		1,2,3,6,7,8-HxCDF
		1,2,3,7,8,9-HxCDF
		2,3,4,6,7,8-HxCDF
		1,2,3,4,6,7,8-HpCDF
		1,2,3,4,7,8,9-HpCDF
		OCDF
		SS

物質	適用	異性体	
Co-PCB	CS	3,3',4,4'-TeCB (#77)	
		3,4,4',5'-TeCB (#81)	
		3,3',4,4',5'-PeCB (#126)	
		3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	
		2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	
		2,3,4,4',5'-PeCB (#114)	
		2,3',4,4',5'-PeCB (#118)	
		2',3,4,4',5'-PeCB (#123)	
		2,3,3',4,4',5'-HxCB (#156)	
		2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	
		2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)	
		2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	
		SS	2,3',4',5'-TeCB (#70)

物質	適用	異性体
PCBs	CS	4-MoCB (#3)
		2,4'-DiCB (#8)
		4,4'-DiCB (#15)
		2,4,4'-TriCB (#28)
		2,4',5'-TriCB (#31)
		3,4,4'-TriCB (#37)
		2,2',5,5'-TeCB (#52)
		3,3',4,4'-TeCB (#77)
		3,4,4',5'-TeCB (#81)
		2,2',3,5',6'-PeCB (#95)
		2,2',4,5,5'-PeCB (#101)
		2,3,3',4,4'-PeCB (#105)
		2,3,4,4',5'-PeCB (#114)
		2,3',4,4',5'-PeCB (#118)
		2',3,4,4',5'-PeCB (#123)
		3,3',4,4',5'-PeCB (#126)
		2,3,3',4,4',5'-HxCB (#156)
		2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)
		2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)
		3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)
		2,2',3,3',4,4',5'-HpCB (#170)
		2,2',3,4,4',5,5'-HpCB (#180)
		2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)
		2,2',3,3',4,4',5,5'-OcCB (#194)
		2,2',3,3',5,5',6,6'-OcCB (#202)
		2,2',3,3',4,4',5,5',6'-NoCB (#206)
	DeCB (#209)	
	SS	2,3',4',5'-TeCB (#70)
	2,3,3',5,5'-PeCB (#111)	
	2,2',3,4,4',5'-HxCB (#138)	
	2,2',3,3',5,5',6'-HpCB (#178)	

CS: クリーンアップスパイク, SS: シリンジスパイク

表2 ダイオキシン類及び全 PCBs 異性体分析の測定分析に用いた HR-GC/MS)の仕様と操作条件

<b>ガスクロマトグラフ(6890 series GC system, Agilent 社製)</b>	
試料注入口温度 : 280℃	
試料注入方法 : PCDDs, PCDFs, non-ortho PCBs:SCLV(SGE 社製) 上記以外:スプリットレス(6890 series injector, Agilent 社製)	
試料注入量 : PCDDs, PCDFs, non-ortho PCBs:7.5 μ L 上記以外:2.5 μ L	
カラム恒温槽温度 : PCDDs, PCDFs, non-ortho PCBs: 160℃(3.5min.)→(20℃/min.)→300℃(8min.)→(70℃/min.)→195℃(0.5min.)→(3℃/min.)→300℃(hold) mono-ortho PCBs: 130℃(1min.)→(15℃/min.)→210℃(0min.)→(3.0℃/min.)→290℃→(10℃/min.)→330℃(hold) PCB: 120℃(1min.)→(20℃/min.)→210℃(0min.)→(2.0℃/min.)→250℃→(10℃/min.)→330℃(hold)	
分離カラム : PCDDs, PCDFs, non-ortho PCBs: BPX-Dioxin I (内径:0.15mm, 長さ:30m:SGE) mono ortho Co-PCB:BPX5 (内径:0.25mm, 膜厚:0.25 μ m, 長さ:60m:SGE) PCBs: HT8-PCB((内径:0.25mm, 長さ 60m:SGE)	
<b>質量分析計(Micromass 社製, AutoSpec-Ultima)</b>	
測定方法 : SIM	
インターフェース温度 : 290℃	
イオン源温度 : 320℃	
トラップカレント : 500 μ A エレクトロンエネルギー : 30 ~ 40eV	
分解能 : 10,000 以上	
加速電圧 : 約 8,000V	
質量数補正 : ロックマス方式(PFK 使用)	
測定質量数 ダイオキシン類 TeCDDs:319.8965,321.8936,331.9368,333.9339 TeCDFs:303.9016,305.8987,315.9419,317.9389 PeCDDs:355.8546,357.8516,367.8949,369.8919 PeCDFs:339.8597,341.8567,351.9,353.897 HxCDDs:389.8157,391.8127,401.8559,403.853 HxCDFs:373.8208,375.8178,385.861,387.858 HpCDDs:423.7766,425.7737,435.8169,437.814 HpCDFs:407.7818,409.7789,419.822,421.8191 OCDD:457.7377,459.7348,469.7779,471.775 OCDF:441.7428,443.7399,453.783,455.7801	PCBs MoCB: 188.0393, 190.0363, 200.0795, 202.0766 DiCB: 222.0003, 223.9974, 234.0406, 236.0376 TrCB: 255.9613, 257.9584, 269.9986, 268.0016 PeCB: 325.8804, 327.8775, 337.9207, 339.9178 TeCB: 291.9194, 289.9224, 303.9597, 301.9626 HxCB: 359.8415, 361.8385, 371.8817, 373.8788 HpCB: 393.8025, 395.7995, 405.8427, 407.8398 NoCB: 463.7216, 461.7245, 475.7619, 473.7648 OcCB: 429.7606, 427.7635, 441.8008, 439.8038 DeCB: 497.6829, 499.6797, 509.7229, 511.7199

す), 0.0123 pg/g (0.0098 pg/g), 0.0078 pg/g (0.0058 pg/g), 0.0090 pg/g (0.0076 pg/g), および 0.0290pg/g (0.0220 pg/g) であった。脂肪量換算の場合は, 総 TEQ は 11.1 pg/g-fat (9.4 pg/

g-fat) となった。PCBs全異性体分析の結果を同族体別に示すと, MoCBs 0.22 pg/g (0.16 pg/g), DiCBs 0.82 pg/g (0.73 pg/g), TrCBs 2.9 pg/g (2.5 pg/g), TeCBs 10.2 pg/g (8.3 pg/g), PeCBs 23 pg/g



(20 pg/g), HxCBs 66 pg/g(53 pg/g), HpCBs 35 pg/g (26 pg/g), OcCBs 6.7 pg/g(4.7 pg/g), NoCBs 0.87 pg/g (0.52 pg/g), DeCB 0.45 pg/g (0.25 pg/g), Total PCBs 145 pg/g (115 pg/g)であった。今回の分析における回収率は概ね50~120%の範囲内にあり、検出感度についても従来の血液中ダイオキシン類並びに全PCBs分析と比較しても充分満足した値となり、分析精度および感度の両面から良好な結果を得ることができた。今回の得られた代表的マスキロマトグラムについてPCDD/Fsは図2に、全PCBsは図3に示した。マスキロマトグラムよりPCDD/Fsについては、2,3,7,8位塩素置換異性体を中心に検出されており、PCBsでは主に2, 2', 4, 4', 5, 5'位に塩素が置換された特定の異性体が検出されていた。

### 1. TEQ 濃度

臍帯血全血1グラムあたりの中央値はすでに述べた通り0.022pg-TEQであり、濃度範囲は

0.0053~0.13pg-TEQであった。平均値0.029 pg-TEQに対し標準偏差は0.0032pg-TEQであった。TEQは、定量下限以上の値はそのままの値を用い、定量下限未満の場合は0として各異性体のTEQを算出し、それらを合計してTotal TEQを算出した。

### 2. 全 PCBs 濃度

臍帯血全血1グラムあたりの中央値は115pgであり、濃度範囲は35~670pgであった。また平均値は145pg, 標準偏差は112pgであった。

### 3. 脂肪割合

臍帯血全血1グラムあたりの中央値は0.27%であり、濃度範囲は0.18~0.72%であった。また平均値は0.28%, 標準偏差は0.08%であった。

### D. 考察

臍帯血中のTotal TEQについては国内での結

表3-1 ダイオキシン類の検出および定量下限値 (LOD: Limit of detection, pg/g)

	LOD	LOQ		LOD	LOQ
2,3,7,8-TeCDD	0.001	0.003	3,3',4,4'-TeCB (#77)	0.01	0.03
1,2,3,7,8-PeCDD	0.001	0.003	3,4,4',5-TeCB (#81)	0.01	0.03
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.002	0.006	3,3',4,4',5-PeCB (#126)	0.01	0.03
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.002	0.006	3,3',4,4',5,5'-HxCB (#169)	0.01	0.03
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.002	0.006	2,3,3',4,4'-PeCB (#105)	0.01	0.03
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.002	0.006	2,3,4,4',5-PeCB (#114)	0.01	0.03
OCDD	0.004	0.01	2,3',4,4',5-PeCB (#118)	0.01	0.03
2,3,7,8-TeCDF	0.001	0.003	2',3,4,4',5-PeCB (#123)	0.01	0.03
1,2,3,7,8-PeCDF	0.001	0.003	2,3,3',4,4',5-HxCB (#156)	0.01	0.03
2,3,4,7,8-PeCDF	0.001	0.003	2,3,3',4,4',5'-HxCB (#157)	0.01	0.03
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.002	0.006	2,3',4,4',5,5'-HxCB (#167)	0.01	0.03
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.002	0.006	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB (#189)	0.01	0.03
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.002	0.006			
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.002	0.006			
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.002	0.006			
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.002	0.006			
OCDF	0.004	0.01			

表3-2 PCBsの検出および定量下限値 (LOD: Limit of detection, pg/g)

	LOD	LOQ
MoCB	0.03	0.1
DiCB	0.03	0.1
TriCB	0.03	0.1
TeCB	0.03	0.1
PeCB	0.03	0.1
HxCB	0.03	0.1
HpCB	0.03	0.1
OcCB	0.03	0.1
NoCB	0.03	0.1
DeCB	0.03	0.1

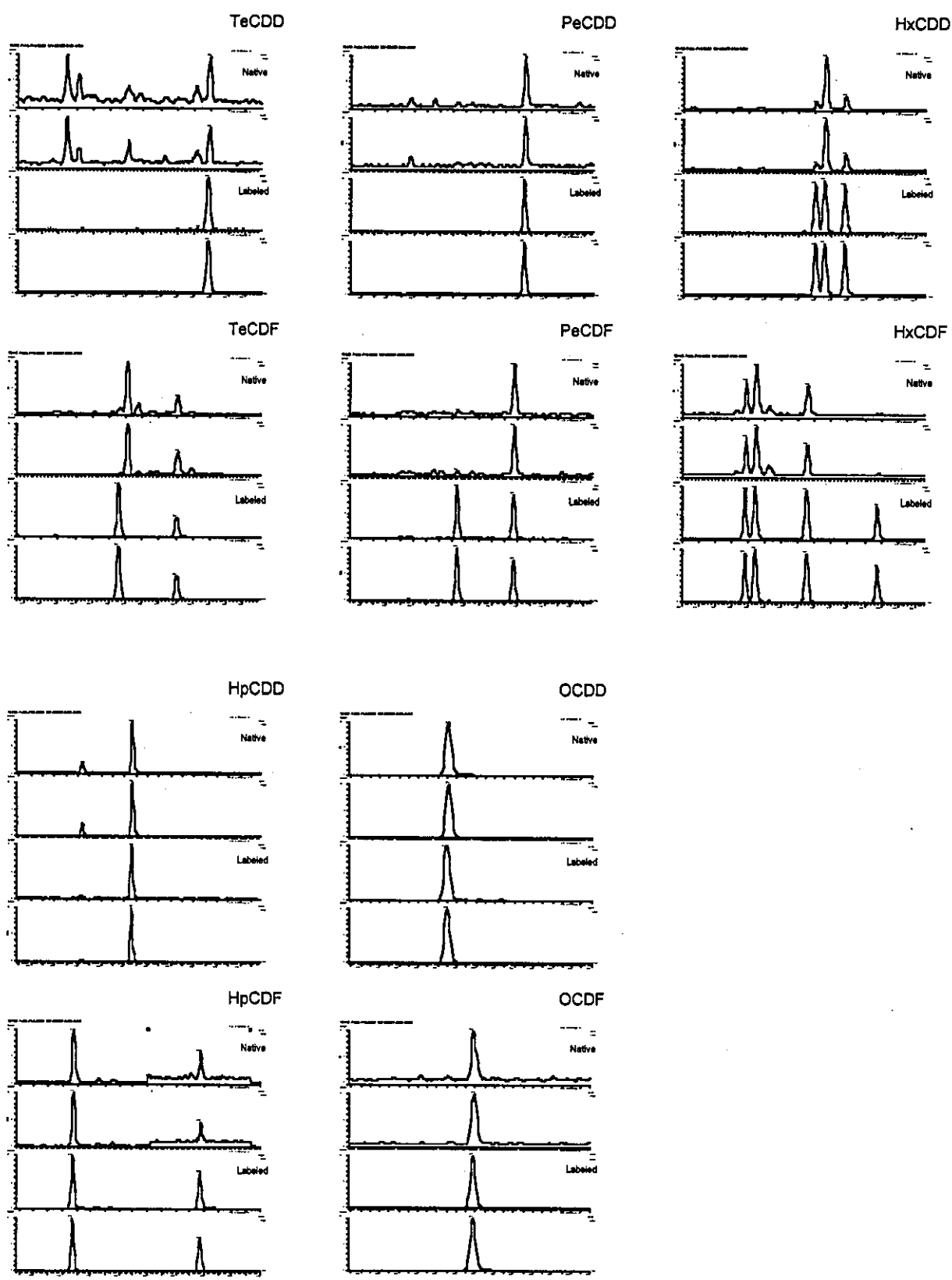


図2 臍帯血中のPCDD/Fsにおける代表的SIMマスククロマトグラム

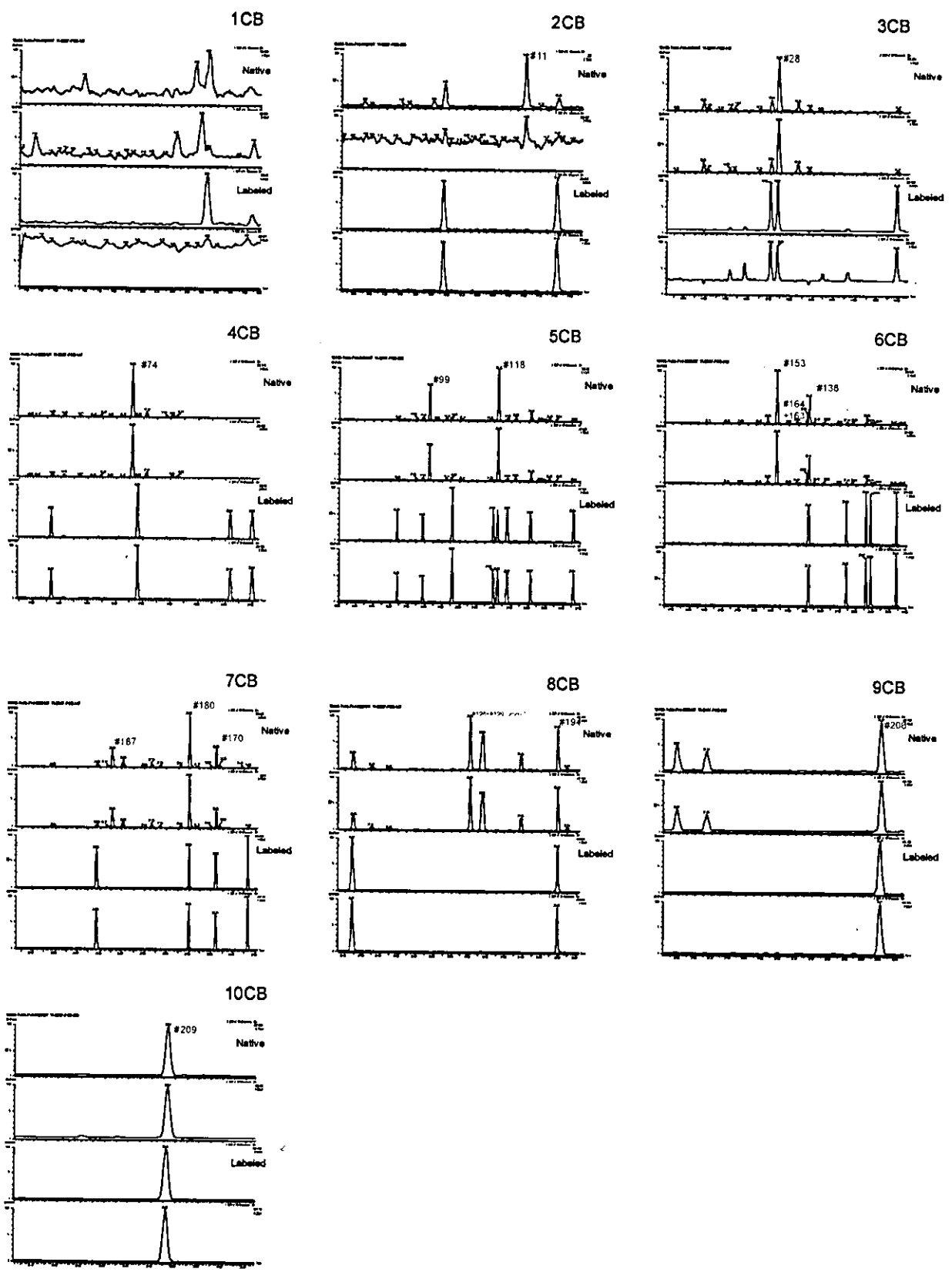


図3 臍帯血中のPCBsにおける代表的SIMマスククロマトグラム

果が殆どなく、厚生省の心身障害研究「臍帯血等のダイオキシン類濃度に関する研究」における森田らの臍帯血全血 20 試料を用いた報告は貴重である。この研究ではHR-GC/MSによる分析を行っているが、測定項目の対象がPCDD/FsからのTEQ算出であるため、比較項目をPCDD/FsによるTEQに限定し、臍帯血全血 1gあたりで結果を比較する。森田らの報告では中央値が0.0056pg-TEQ、濃度範囲が0.0017～0.027pg-TEQであるのに対し、本研究では中央値が0.016pg-TEQ、濃度範囲が0.0045～0.086pg-TEQと高めであった。

また臍帯血中の全PCBsについての国内の報告は、血清の結果ではあるが32試料を用いた深田らの報告があり、その結果は中央値が130pg、

濃度範囲が56～270pgであり、本研究結果が臍帯血全血1グラムあたり中央値115pg、濃度範囲35～670pgであることと比較して、血球成分にはPCBsが殆ど含有されていないといった上瀧らの報告から、ヘマトクリット値を考慮すると、本研究の結果はやや高めの結果となった。

以下今回測定した結果から、各種測定項目の相関、Total TEQの組成比及びTotal PCBs中の同族体組成比について検討した。

#### 1. 各種測定項目の相関

得られた分析結果について Total PCDDs, Total PCDFs, Total PCDD/Fs, non-ortho PCBs, mono-ortho PCBs, Total Co-PCBs, TEQ-PCDD/Fs, TEQ-Co-PCBs, Total TEQ, Total PCBsの測

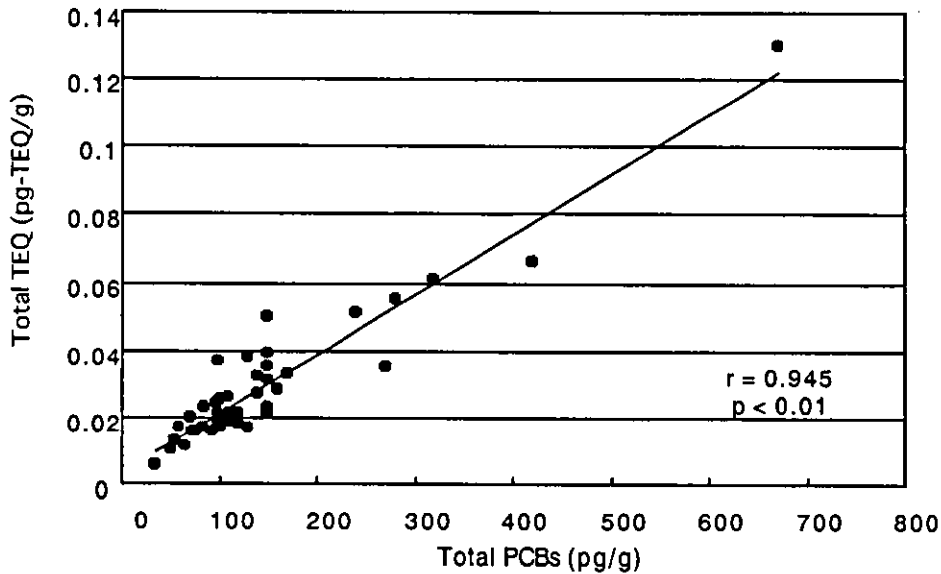


図4 臍帯血全血中の Total PCBs と Total TEQ の相関 (n=42)

表4 各測定項目間の単相関

	Total PCDDs	Total PCDFs	Total PCDD/Fs	non-ortho PCBs	mono-ortho PCBs	Total Co-PCBs	TEQ PCDD/Fs	TEQ Co-PCBs	Total TEQ	Total PCBs
Total PCDDs	1									
Total PCDFs	0.638	1								
Total PCDD/Fs	0.998	0.680	1							
non-ortho PCBs	0.657	0.767	0.681	1						
mono-ortho PCBs	0.765	0.741	0.782	0.940	1					
Total Co-PCBs	0.766	0.745	0.784	0.941	1.000	1				
TEQ PCDD/Fs	0.794	0.832	0.818	0.822	0.899	0.900	1			
TEQ Co-PCBs	0.673	0.742	0.695	0.976	0.974	0.973	0.854	1		
Total TEQ	0.781	0.826	0.804	0.909	0.960	0.961	0.980	0.940	1	
Total PCBs	0.763	0.768	0.783	0.941	0.977	0.977	0.889	0.951	0.945	1

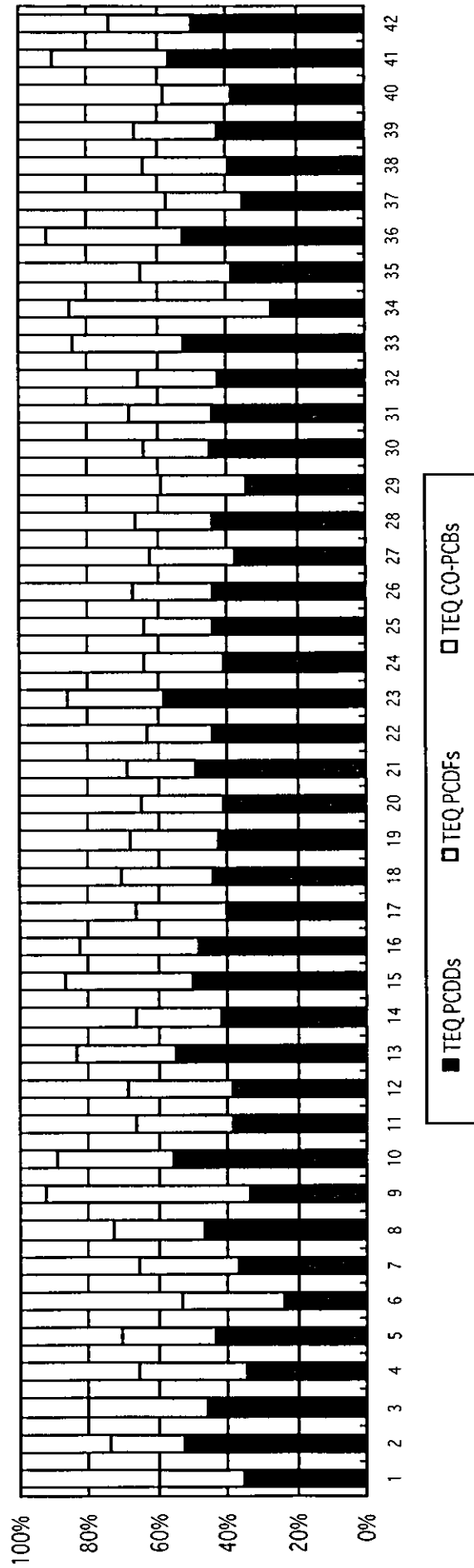


図5 各試料における各 TEQ 濃度の組成率

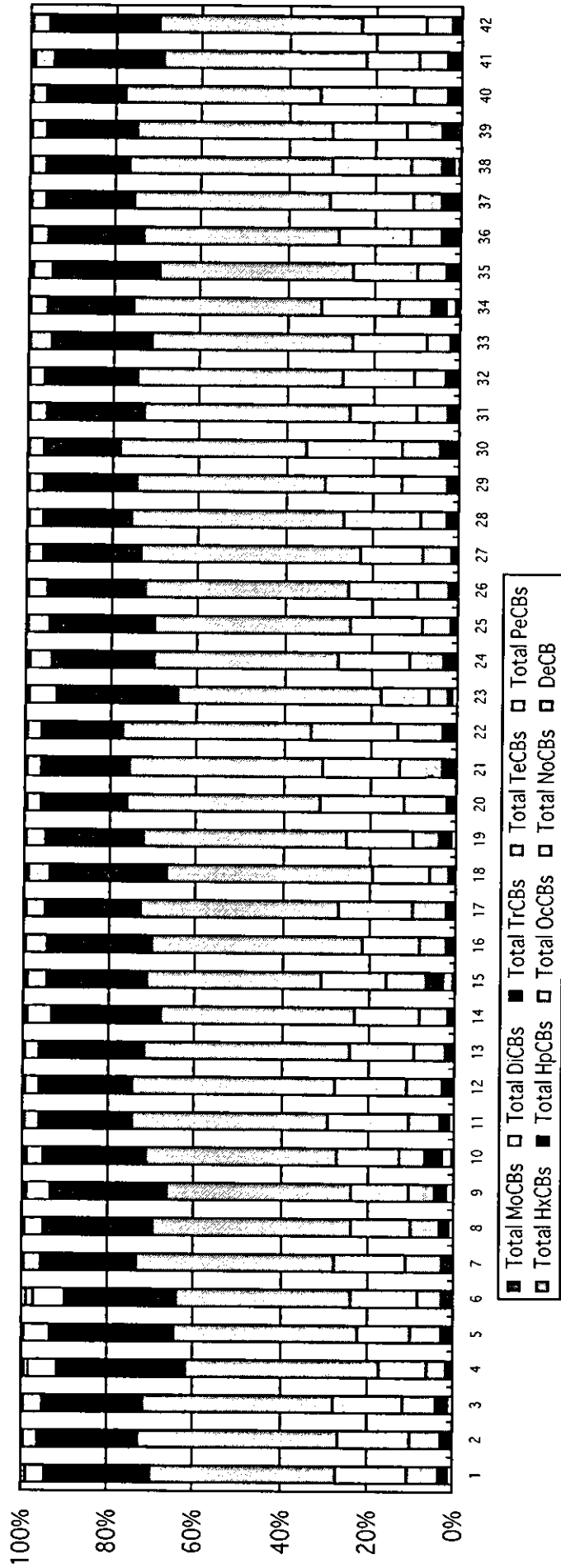


図6 各試料における Total PCBs の同族体組成率

定項目に分け、単相関による解析を行った。この結果、表4並びに図4に示したように曝露指標であるTotal PCBsとTotal TEQ間には強い相関 ( $r=0.945$ ,  $p < 0.01$ ) が観察された。このため、解析時の多重共線性が憂慮されることから、今後のダイオキシン類及び全PCBs分析のあり方について検討する必要性が示唆された。

## 2. Total TEQの組成比

PCDDs, PCDFs及びCo-PCBs各群のTotal TEQへの寄与割合を図5に示した(例として42検体分を示す)。概ね各試料ともTotal TEQに占めるPCDDs, PCDFs, Co-PCBsの割合はPCDDs > Co-PCBs > PCDFsであった。また、今回の臍帯血分析結果におけるTEQ寄与率の平均値はPCDD/Fs 69%, Co-PCBs 31%となり、ヒトへの主要な曝露源である食品におけるTEQ寄与率がPCDD/Fs 36%, Co-PCBs 64% (厚生科学研究「ダイオキシンの汚染実態把握及び摂取低減化に関する研究」平成11~15年度平均値)であることを考慮した場合、PCDD/FsとCo-PCBsの寄与率がほぼ逆転している様子が観察された。

## 3. Total PCBs中の同族体組成比

PCBs中の各同族体組成比を図6に示した(例として42検体分を示す)。この結果、試料間に大きな相違は認められず、PeCBs, HxCBs, HpCBsの和で総濃度の80%以上を占めていた。

## E. 結論

本コホート研究の主要な目的の一つは、POPsのうちダイオキシン類及びPCBsによる胎児期曝露によって健康影響が起こりうるか否かを明確にすることにある。目的を検証するためには臍帯血中のダイオキシン類及びPCBsの分析が必須であり、試料量として限られた臍帯血から十分な検出感度を維持した分析方法の確立が不可欠である。

今回同位体希釈法を用いたHR-GC/MSによる臍帯血中のダイオキシン類及び全PCBs異性体分析について検討した。全試料において回収率は概ね50~120%の範囲であり、また検出感度についても臍帯血20mlと分析試料量が少量

ではあるが、従来の血液中ダイオキシン類並びに全PCBs分析と比較しても充分満足した値となり、分析精度並びに感度の両面から非常に良好な結果を得ることができた。よって今回検討した上記方法は、非常に優れた方法であり、今後の本コホートへの適用が可能となった。

また、分析結果からTotal PCBsとTotal TEQ間には強い相関が観察され、結果解析時の多重共線性が憂慮されるため、分析を更に進めた上で、再度相関を確認し、今後のダイオキシン類及び全PCBs分析のあり方について検討する必要性が示唆された。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Nakai K, Nakamura T, Suzuki K, Oka T, Okamura K, Sugawara N, Saitoh Y, Ohba T, Kameo S, Satoh H. Organochlorine pesticide residues in human breast milk and placenta in Tohoku, Japan. *Organohalogen Compounds* 66:2537-2542 (2004).

Suzuki K, Nakai K, Oka T, Hosokawa T, Okamura K, Sakai T, Kurokawa N, Satoh H. Effects of perinatal exposure to environmentally persistent organic pollutants and heavy metals on neurobehavioral development in Japanese children: IV. thyroid hormones and neonatal neurobehavioral status. *Organohalogen Compounds* 66:3150-3156 (2004).

Satoh H, Nakai N, Suzuki K, Oka T, Murata K, Sakamoto M, Okamura K, Hosokawa T, Sakai T, Nakamura T, Saito Y, Kurokawa N, Kameo S. A cohort study of effects of perinatal exposures to methylmercury and environmentally persistent organic pollutants on neurobehavioral development in Japanese children: Study design and status report. *RMZ-Materials and Geoenvironment* 51:512-515 (2004).

Sakamoto M, Kubota M, Liu X-J, Murata K, Nakai K, Satoh H. Maternal and fetal mercury and n-3 polyunsaturated fatty acids as a consumption to fetus. *Environmental Science & Technology* 38:3860-3863 (2004).

Murata K, Sakamoto M, Nakai K, Whihe P, Dakeishi M, Iwata T, Liu X-J, Ohno T, Kurosawa T, Kamiya K, Satoh H. Effects of methylmercury on neurodevelopment in Japanese children in relation to Madeiran study. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 77:571-579 (2004).

### 2. 学会発表

Nakai K, Nakamura T, Suzuki K, Oka T, Okamura K,

- Sugawara N, Saitoh Y, Ohba T, Kameo S, Satoh H. Organochlorine pesticide residues in human breast milk and placenta in Tohoku, Japan. In: 24th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs. Berlin, Germany, September 6-10, 2004.
- Suzuki K, Nakai K, Oka T, Hosokawa T, Okamura K, Sakai T, Kurokawa N, Satoh H. Effects of perinatal exposure to environmentally persistent organic pollutants and heavy metals on neurobehavioral development in Japanese children: IV. thyroid hormones and neonatal neurobehavioral status. In: 24th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs. Berlin, Germany, September 6-10, 2004.
- Satoh H, Nakai N, Suzuki K, Oka T, Murata K, Mineshi S, Okamura K, Hosokawa T, Sakai T, Nakamura T, Saito Y, Kurokawa N, Kameo S. A cohort study of effects of perinatal exposures to methylmercury and environmentally persistent organic pollutants on neurobehavioral development in Japanese children: Study design and status report. In: 7th International Conference on Mercury as a Global Pollutant. Ljubljana, Slovenia, June 27-July 2, 2004.
- 仲井邦彦, 佐藤洋. 重金属ならびに内分泌かく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から. In: 5回生殖次世代影響研究会. 新潟, 2005年3月27-30日.
- 仲井邦彦, 佐藤洋. 重金属ならびに内分泌かく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. In: 第75回日本衛生学会研究会. 新潟, 2005年3月27-30日.
- 菅原典夫, 仲井邦彦, 大葉隆, 中村朋之, 鈴木恵太, 黒川修行, 亀尾聡美, 佐藤洋. 胎生期および出生後ポリ塩化ビフェニル曝露が出生仔の行動に及ぼす影響. In: 第75回日本衛生学会. 新潟, 2005年3月27-30日.
- 中村朋之, 仲井邦彦, 菅原典夫, 斎藤善則, 村田勝敬, 小泉敦子, 社村博司, 山本慎, 松村徹, 佐藤洋. 重金属ならびに内分泌かく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: 高分解能GC/MSによる臍帯血中ダイオキシン類及びPCB異性体分析の試み. In: 第75回日本衛生学会. 新潟, 2005年3月27-30日.
- 佐藤洋. 小児の発達に及ぼす食品中の環境汚染物質の影響. In: 平成16年度日本学術会議東北地区会議「科学者との懇談会及び公開学術講演会」. 弘前, 2005年2月17日.
- 仲井邦彦, 佐藤洋. 環境ホルモン(1)環境由来化学物質の胎児期曝露の影響. In: 第23回日本周産期・新生児医学会冬季シンポジウム. 東京, 2005年1月21-22日.
- 佐藤洋. 魚食による胎児期メチル水銀曝露が出生後の発達に与える影響—シンポジウム: 妊婦の魚を介したメチル水銀摂取が出生児の発達に与える影響. In: 日本薬学会第125年会. 東京, 2005年3月29-31日.
- 仲井邦彦, 鈴木恵太, 岡知子, 岡村州博, 細川徹, 堺武男, 坂本峰至, 村田勝敬, 中村朋之, 亀尾聡美, 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: 母親の魚摂取量と新生児の神経行動学的指標の関連性. In: 環境ホルモン学会(日本内分泌攪乱化学物質学会)第7回研究発表会. 名古屋, 2004年12月14-15日.
- G. 知的所有権の取得状況  
なし



## 胎児期における鉛曝露評価—母体血・臍帯血・胎盤を用いた検討

分担研究者 仲井邦彦（東北大学医学系研究科 環境保健医学分野 助教授）

### 研究要旨

胎児期における低濃度重金属曝露の影響評価を目的として、内分泌攪乱化学物質と並行して重金属の分析を実施し、出生児の行動指標などとの解析を意図した研究を実施した。本年度は、重金属の曝露評価のひとつとして、鉛を分析対象とした。鉛は、古くから小児性鉛中毒症や乳児の鉛脳症などの事例が知られており、血中鉛濃度が高いほど、児の知能指数が低下するなどの報告がある。本疫学調査でも鉛曝露の評価が必要かの検討を行うため、先ず、母体血・臍帯血・胎盤中の鉛濃度測定のための生体試料の前処理法、鉛濃度の分析方法を確立し、その測定の結果から、調査対象者における鉛曝露の程度を調べ、また母親から胎児への鉛の移行性を検討した。鉛の測定は、高純度硝酸と高純度過酸化水素を用いた湿式灰化ののち、誘導結合プラズマ質量分析装置を用いたが、母体血、臍帯血及び胎盤中の鉛濃度の測定が可能であった。その分析結果から、今回の対象者は比較的低濃度の鉛曝露であり、喫煙の影響も見られないことが示された。臍帯血の鉛濃度は、母体血と比べ若干低い値を示した一方で、母体血と臍帯血中鉛濃度の有意な正の相関が明らかとなり、これまでの様々な研究でも指摘されているように、鉛は、胎盤関門を通過し、胎児側へ移行していることが示唆された。

### 研究協力者

亀尾聡美 東北大学医学系研究科 環境保健医学・助手

臍帯血への鉛の移行性、さらに、喫煙との関連性について検討した。

### A. 研究目的

鉛の毒性に関しては、古くから小児性鉛中毒症や乳児の鉛脳症などの事例が知られている。これらの症状が起こるのは、鉛が胎盤関門・脳血液関門を通過しやすいためであり、米国では血中鉛濃度が高いほど、児の知能指数が低下するなどの多くの報告がある。日本においては、すでに鉛による曝露はほとんど問題にはならんとされているが、鉛管が上水に使われている場合に鉛曝露が発生する可能性もある。近年、血中鉛をモニタリングした報告はほとんどなく曝露実態は明らかではない。そこで本コホートを進める上で鉛曝露を考慮する必要があるかを検討するため、臍帯血などの鉛濃度を検討した。今回の検討では、母体血、臍帯血及び胎盤中の鉛濃度を測定すると共に、母体血から胎盤及び

### B. 研究方法

母親からインフォームド・コンセントを取得し、対象者の妊娠28週に母体血を、出産時に臍帯血、胎盤などの生体試料を採取し、鉛分析まで $-80^{\circ}\text{C}$ にて保存した。また、食事調査（半定量式食物摂取頻度調査：FFQ）、喫煙歴調査などのアンケート、出生時体重などの調査を行った。この詳細に関しては他章で述べた。

生体試料の鉛分析は、以下のような手順で行った。血中および組織中鉛濃度測定のための前処理として、保存していた母体血・臍帯血については、解凍後、全血 $200\mu\text{l}$ を、マイクロウェーブ灰化装置（マイルストーン、MLS-1200MEGA）を用いて、 $600\mu\text{l}$ の高純度硝酸、 $100\mu\text{l}$ の高純度過酸化水素を加えて、湿式灰化を行った。胎盤は、メタルフリーブレードによ

りホモジナイズ後、約 100 mg を同様にマイクロウエーブ灰化装置にて、高純度硝酸・高純度過酸化水素を加え湿式灰化を行った。灰化試料中の鉛濃度は、誘導結合プラズマ質量分析装置 (ICP-MS, パーキンエルマー, ELAN5000) により分析を行った。

### C. 研究結果

母体血、臍帯血及び胎盤中の鉛濃度 (平均値 ± SD) を以下に示す。母体血中鉛濃度 (n=79) は、 $8.370 \pm 3.474$  ng/ml、臍帯血中鉛濃度 (n=79) は、 $7.328 \pm 2.801$  ng/ml、胎盤中鉛濃度 (n=27) は、 $5.610 \pm 6.953$  ng/g であった (表 1)。母体血と比べ臍帯血中の鉛濃度が有意に低値を示していた ( $p < 0.05$ )。母体血中鉛濃度と臍帯血鉛濃度 (n=79) の値の間の相関を調べたところ、有意な正の相関 ( $r = 0.3477$ ,  $p < 0.0017$ ) が認められた (図 1)。

次に喫煙により血中鉛が増加するとする報告もあることから、喫煙歴と鉛濃度との関係を検討した (表 1)。過去喫煙者は、妊娠を機に喫煙を中止したグループであるが、喫煙者と過去喫煙者の合計 (n=39) では、母体血中鉛濃度は、

$8.057 \pm 3.398$  ng/ml、臍帯血中鉛濃度は  $7.141 \pm 2.723$  ng/ml、非喫煙者 (n=40) の母体血は  $8.838 \pm 3.478$  ng/ml、臍帯血は  $7.510 \pm 2.888$  ng/ml であった。母体血中鉛濃度および臍帯血中鉛濃度について、喫煙者+過去喫煙者、非喫煙者群間に統計学的な有意差は見られなかった。喫煙者+過去喫煙者、非喫煙者群のいずれにおいても母体血と比べ臍帯血中の鉛濃度が低い傾向が観察されたが、非喫煙者群では特に母体血に比較して臍帯血中の鉛濃度が有意に低くなる現象が確認された ( $p < 0.05$ )。

今回の測定では胎盤の分析サンプル数が 27 例とまだ少なく、母体血、臍帯血、胎盤の 3 者で分析を終了した結果について表 2 にまとめた。母体血中鉛濃度 (n=27) は  $8.032 \pm 2.350$  ng/ml、臍帯血中鉛濃度 (n=27) は  $7.137 \pm 2.725$  ng/ml、胎盤中鉛濃度 (n=27) は、前述の通り  $5.610 \pm 6.953$  ng/g であった。母体血中鉛濃度と臍帯血鉛濃度の値の間には、n=27 でも有意な正の相関 ( $r = 0.4169$ ,  $p < 0.0305$ ) が確認された (図 2)。しかしながら、母体血中鉛濃度と胎盤中鉛濃度の間、臍帯血中鉛濃度と胎盤中鉛濃度の間には、有意な相関関係は見い出されなかった (図

表 1. 喫煙歴別による母体血・臍帯血・胎盤中の鉛濃度

Sample	Pb Concentration (ppb) mean ± SD		
	Total n=79	Smoker + Ex-Smoker n=39	Non-Smoker n=40
Mother Blood (ng/ml)	$8.370 \pm 3.474$	$8.057 \pm 3.398$	$8.838 \pm 3.478$
Cord Blood (ng/ml)	$7.328 \pm 2.801$	$7.141 \pm 2.723$	$7.510 \pm 2.888$
Placenta (ng/g)	$5.610 \pm 6.953$ (n=27)	$5.940 \pm 7.870$ (n=18)	$4.491 \pm 4.977$ (n=9)

表 2. 母体血・臍帯血・胎盤中の鉛濃度

Sample	n	Pb Concentration (ppb)	
		mean ± SD	range
Mother Blood (ng/ml)	n=27	$8.032 \pm 2.350$	2.389 ~ 12.777
Cord Blood (ng/ml)	n=27	$7.137 \pm 2.725$	2.254 ~ 12.011
Placenta (ng/g)	n=27	$5.610 \pm 6.953$	1.172 ~ 36.604

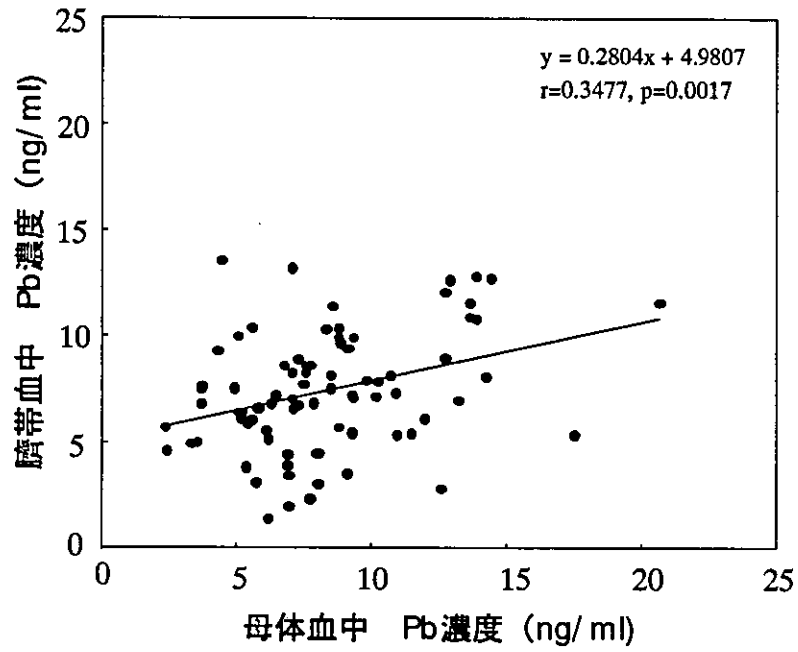


図1 母体血と臍帯血中の鉛濃度の関係 (n=79).

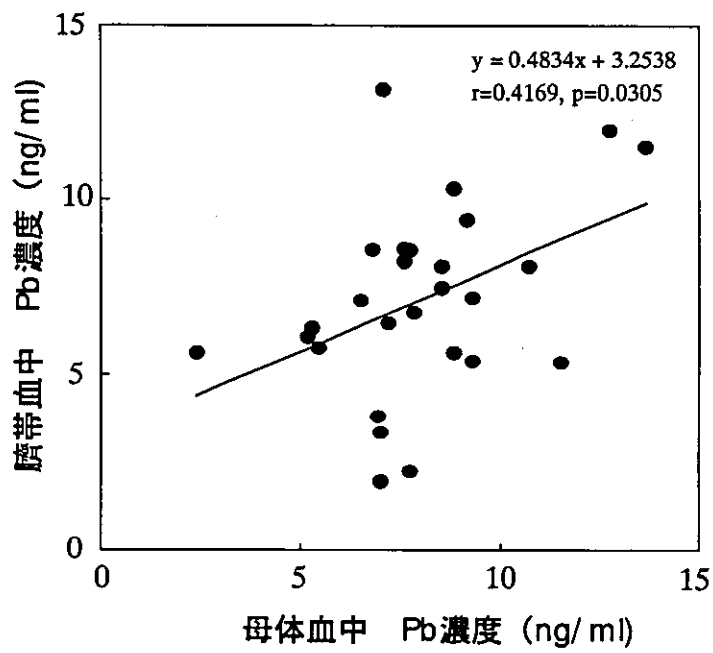


図2 母体血と臍帯血中の鉛濃度の関係 (n=27).

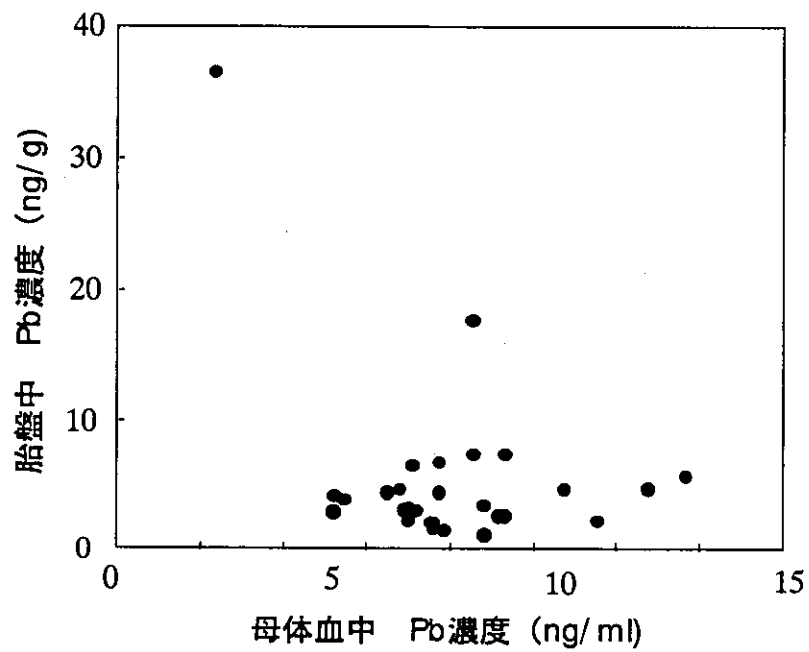


図3 母体血と胎盤中の鉛濃度の関係 (n=27).

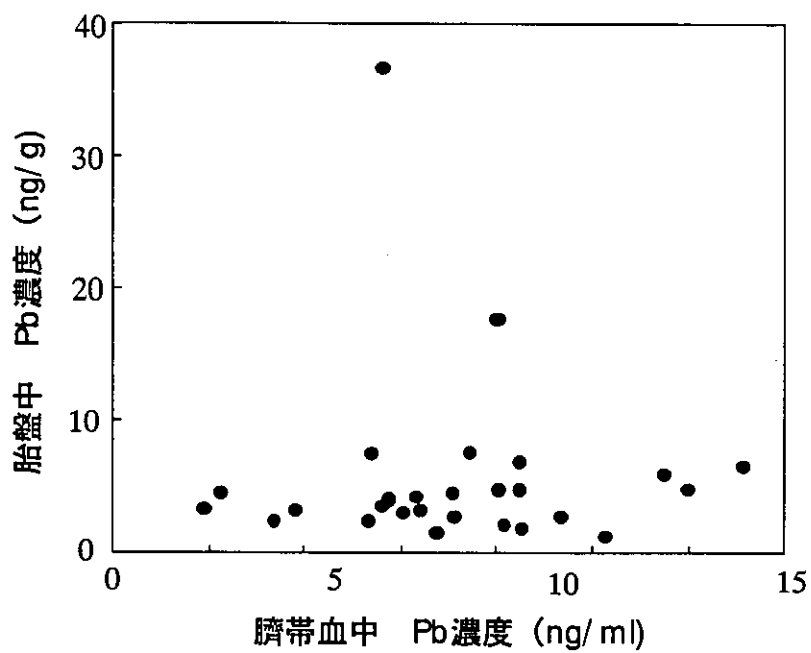


図4 臍帯血と胎盤中の鉛濃度の関係 (n=27).