

CPTはMHS社のConner's CPTを用いた。アルファベットのX (Target 刺激)を除く他の文字 (Non-target 刺激)が画面に出た場合はボタンを押し、Target 刺激ではボタン押しをしないといけない、という作業課題である。原法では「ボタン押し」はキーボードのスペースバーを押す方法であるが、検査中に押すボタンを間違えるケースがあるため、後述のERPで用いるボタンと同じものを制御用コンピューターにUSB接続し用いた。CPTの全体は6ブロックから構成され、各ブロックはさらに3つのサブブロックからなる。サブブロックはそれぞれ20課題から構成され、それぞれ文字提示速度が異なり、1、2および4秒の3つの時間間隔で呈示されるものである。このため1ブロックは60課題、全体で360課題であり、所要時間は14分間となる。Non-target 刺激で押さなかった「押し忘れエラー」をOmission、Target 刺激で押ししてしまった「お手付きエラー」をCommissionと定義し、評価はそれぞれの発生頻度で行なわれる。このOmissionとCommissionの発生頻度をFig. 2に示した。CPTではこのほかにも反応時間、ブロックごとの推移、文字提示速度ごとの比較も見るができるが、今回はOmissionとCommissionについて検討した。

一方、ADHD 評価の質問票であるADHD Rating Scale-IVは、DSM-IV (アメリカ精神医学会、1994)の診断基準に準拠した行動質問票であり、日本語版がすでに出版されている (市川、田中、診断・対応のためのADHD 評価スケール、明石書店、2008)。質問項目は18項目からなり、最近6ヶ月の子どもの行動を4段階のスケールで記入するものであり、奇数項目が不注意、偶数項目が多動性と衝動性となっている。不注意、多動性-衝動性、および合計点が算出される。教師用と養育者用があり、今回は養育者用を用いた。素点について分布をFig. 3に示した。

CPTとADHD Rating Scale-IVとの関連性について予備的に検討した。OmissionおよびADHD Rating Scale-IVのスコアは正規分布を示していないことから、両スコアの関連性はスピアマン順位相関により解析した。OmissionはADHD Rating Scale-IVのいずれのスコアとも有意な関連性は認められなかったが、CommissionはADHD Rating Scale-IVの多動性-衝動性スコア (順位相関係数 $\rho=0.209$ 、

$p<0.05$) および合計スコア ($\rho=0.188$ 、 $p<0.05$) との間に有意な関連性が認められた。この結果からは、CPTのCommissionはADHDの不注意、多動性、衝動性のうち、多動性-衝動性の部分を主に反映するものと推測された。

今回のCPTについては、130名の子どもに実施し、120名で作業を最後までやり通すことができたが、10名はCPTを開始できないか、または途中で作業に集中できなくなり中止した事例であった。CPTのCommissionの結果に基づいて4分位に分割し4群とし、さらにこの10名のCPT中止群を第5群として、ADHD Rating Scale-IVの素点と比較した。その結果、第1~3群に対して第4群または5群でADHD Rating Scale-IVの素点が増加し (ANOVA)、CPTのCommissionの結果が高いか、CPTを完遂できなかった子では、ADHD Rating Scale-IVのスコアも高いことが示された。

3) BAEP および ERP

脳波電極に横川 GE メディカル社製 Ag-AgCl 電極を、脳波用生体アンプに日本電気三栄社製 6R12 を使用した。誘発電位記録ソフトウェアには、キッセイコムテック社製 EPLYZER と BIMUTAS を使い、視聴覚刺激の呈示制御にはメディカルトライシステム社製 Multitrigger System を用いた。

BAEP 測定では、Murata ら (Murata K, et al. Neurotoxicol Teratol 1999; 21: 343-48) の方法に準じて、70 dB のクリック音を用い、刺激頻度 20 Hz、2000 回の刺激呈示により測定を行った。反対側は 45 dB ホワイートノイズによりマスキングした。典型的な記録例を Fig. 4 に示した。ERP 測定では、注意制御の機能成熟の発達差を反映するとされる Go/Nogo 課題中の電位測定を実施した。Go/Nogo 課題は、Bunge ら (Bunge SA, et al. Neuron 2002; 33: 301-11) に準じて、各試行 5 つの矢印で構成される刺激を用いた (Fig. 5)。対象児には、左右それぞれの手に一つずつボタンを持ち、矢印の方向のボタンを親指を使って押すよう教示した。その際、刺激画面の左右の残り 2 つの矢印に惑わされないよう、できるだけ早く正確に反応するよう指示した (Go 刺激)。Nogo 刺激として、左右 2 つの矢印の代わりに×印を呈示し、

この場合はボタン押し反応を行わないよう教示した。各刺激の呈示時間 250 msec、刺激間隔は 1300 から 1700 msec の間をランダムに変動させ、平均 1500 msec とし、100 試行を行った。

BAEP は聴覚神経系を刺激することによって得られる脳幹部での電位変化を頭皮上から記録したものであり、蝸牛神経および聴覚神経系由来の脳幹部が刺激に対して自動応答したものと考えられる。音刺激から 10 msec の間に発生する電位により構成される。この BAEP は検査時の状態、意識または睡眠の影響は受けにくく、各波形の電位発生起源も明らかにされていることから診断的価値が高く、乳幼児の聴覚障害のスクリーニングや脳幹部の障害等の診断などに利用されている。今回、BAEP について 109 名の対象児で実施した結果をまとめると、103 名において明瞭なピーク (I 波、III 波、V 波) を検出したが、残りの 4 名は脳波測定室への入室を嫌がったケースであり、2 名は脳波電極装着

の不具合により片方のチャンネルの脳波測定が不可のケースであった。I 波、III 波、V 波を左右それぞれで平均した結果、I 波 (右: 1.97 ± 0.21 msec、左: 1.87 ± 0.19 msec)、III 波 (右: 4.16 ± 0.24 msec、左: 4.10 ± 0.22 msec)、V 波 (右: 5.91 ± 0.21 msec、左: 5.84 ± 0.20 msec) であった (Fig. 4)。BAEP の年齢による変動は、有髄神経線維の成熟が漸進的に起こる生後 2 ~ 3 年の間に大きく、3 歳までに潜時が短縮し、3 歳以降は成人まで大きな変化はみられないとされている (木村格, 聴覚誘発電位, 最新臨床脳波学 (普及版), 佐藤光源, 松岡洋夫 編, pp 176-195, 朝倉書店, 東京, 2006)。新生児における 70 dB クリック刺激に対する BAEP は、I 波は 1.81 ± 0.22 msec、III 波は 4.62 ± 0.29 msec、V 波は 6.72 ± 0.32 msec とされており、一般成人における 70 dB クリック刺激に対する BAEP は、I 波は 1.62 ± 0.22 msec、III 波は 3.75 ± 0.17 msec、V 波は 5.62 ± 0.23 msec とされている (Stockard JE, et al.

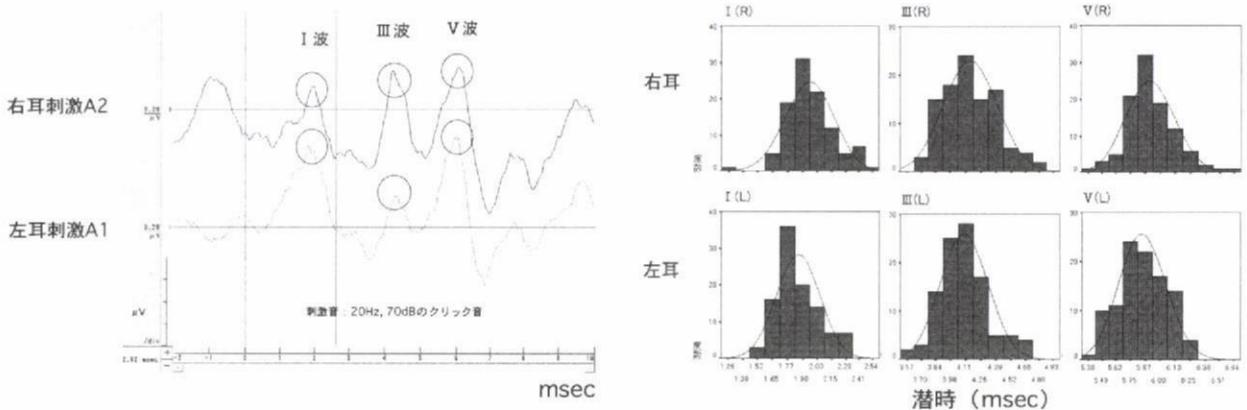


Fig. 4. BAEP。聴覚神経系を外部刺激 (刺激頻度 20Hz、70dB のクリック音) して得た脳幹部 (蝸牛神経および聴覚神経系) 由来の電位変化を記録した。これまでに 109 名で実施し、103 名から記録した I 波、III 波および V 波の潜時の分布を示す。

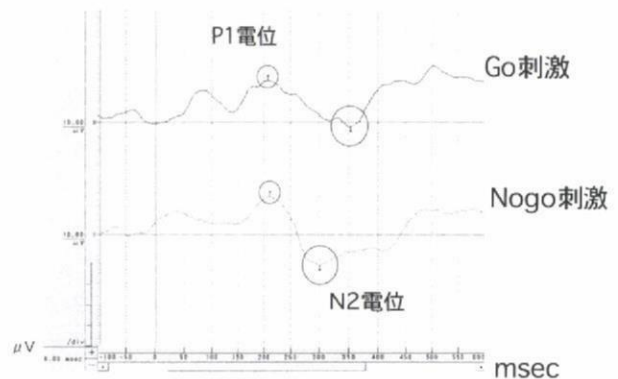
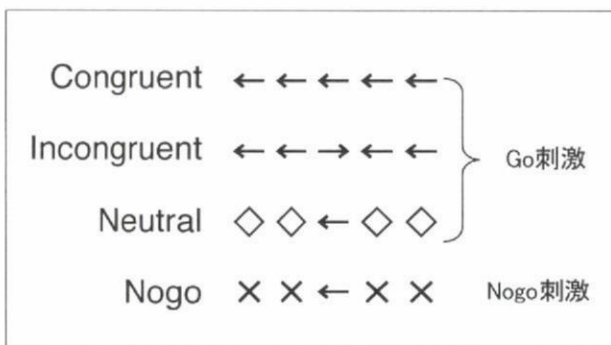


Fig. 5. ERP で用いた呈示課題 (左) と記録例 (右)。課題として、5 つの記号の中央の「→」に従ってボタン押し課題を課した (Go 課題)。ただし、左右に「××」がある場合は Nogo 課題であり、ボタン押しを行わないよう教示した。3 種類の Go 課題に対し、Nogo 課題では N2 電位に異なる潜時が観察されており、脳内における認知的な働きの差異を反映するものと考えられた。

Arch Neurol 1983; 40: 360-5)。本調査の7歳児のI波は新生児に近い潜時であったのに対し、V波は成人に近い潜時であった。7歳児のIII波は、新生児に比べて0.5 msec程度早く、成人に比べて0.4 msec程度遅いという結果であった。なお、BAEPの潜時は年齢の他に、音響設備や刺激装置などによって変化することも知られている。

次に、ERPは刺激に対する認知的評価に伴って生じる電位反応を指し、ある特定の事象に関して何らかの判断や意味づけを行う際に生じることから、認知的な働きや脳の情報処理過程を反映するものと考えられる。各成分と脳の働きとの対応が明らかにされていることから、刺激の予期、刺激の物理特性の処理、知覚・注意・判断といった認知活動、運動反応の出力まで、脳の情報処理過程を時系列に沿って分析できる利点をもつと考えられる。本調査では、注意制御の機能成熟の発達差を反映するとされるGo/Nogo課題中の事象関連電位の測定を実施したが、Go/Nogo課題とは、継時的に呈示される刺激に対してボタン押し反応を求める状況下で、少数の不適切な刺激に対してボタン押しの抑制を求める課題のことである。この課題中に現れる事象関連N2電位の大きさは、反応抑制を反映するとされており、7歳から15歳の間にかけて漸進的に機能が成熟する注意制御の発達差と有意に相関することが示されている。ERPについて、同じく109名の結果では96名が課題を最後まで遂行できたが、4名は脳波測定室への入室を嫌がり、確認9名はGo/Nogo課題の続行が不可能なケースであった。課題成績について、Nogo刺激に対して誤ってボタン押しをしてしまうFalse Alarm出現率、Go刺激に対するボタン押しの正確性を表すAccuracy得点とそれぞれのボタン押しの平均反応時間を算出した。その結果、False Alarm出現率は平均 $34.0 \pm 21.2\%$ で、Accuracy得点は平均 $65.6 \pm 19.3\%$ であった。Go刺激の正答時のボタン押し反応時間は平均 610.1 ± 117.3 msecであり、Nogo刺激に対する誤答ボタン押し反応時間は平均 532.5 ± 149.8 msecであった。Go刺激およびNogo刺激をトリガーとした事象関連電位を加算平均法により算出したところ、Fig. 5に示すような波形が得られ、P1波とN1波が検出された。学齢期の児童におけるGo/Nogo課題の行動成績の年

齢による変動を検討した先行研究に関して、まず8-15歳の児童を対象とし、刺激呈示時間を500 msec、刺激間隔を0 msecに設定した研究(Lewis MD, et al. J Cogn Neurosci 2006; 18: 430-43)では、7-8歳児のAccuracy得点の平均は68%で、Go刺激に対する平均反応時間が450 msec、Nogo刺激に対する平均反応時間が400 msecであり、この成績は9歳以降、漸進的に向上し、13-14歳児でAccuracy得点の平均が75%、go刺激に対する平均反応時間が330 msec、Nogo刺激に対する平均反応時間が280 msecに向上し、その後は変動が一定になる傾向が報告されている。また、8-12歳の児童と19-33歳の成人を対象とし、刺激呈示時間を800 msec、刺激間隔を3000 msecに設定した研究(Bunge SA et al, 2002)では、Accuracy得点が児童の平均は94.45%で、成人の平均が97.7%であった。Go刺激に対する正答時の平均反応時間は693 msecであり、成人の560 msecに比べて有意に延長していたと報告されている。さらに、7-19歳を対象とし、刺激呈示時間を250 msec、刺激間隔を1500 msecに設定した研究(Davies PL, et al. Dev Neuropsychol 2004; 25: 355-76)では、Go刺激に対する正答時の平均反応時間は、7歳児で720 msecで、13歳まで漸進的に短縮し、13歳児の420 msec付近でその後一定になる傾向が報告されている。この研究では、Accuracy得点は報告されていない。本調査の結果では、7歳児のAccuracy得点の平均が65.6%であり、250~500 msecの刺激呈示時間を用いた先行研究の結果に近いものであった。また、Go刺激に対する反応時間は、本調査では平均 610.1 ± 117.3 msecであり、先行研究で刺激間隔を1500 msecに設定した結果と類似の水準であった。以上から、本研究で用いた条件設定は、7歳児におけるERP測定で用いるGo/Nogo課題として適切な設定であったと考えられた。

D. 考察

WISC-III、BNT、CPT、ADHD Rating Scal-IV、BAEPおよびERPについて、まだ中間報告であるが、これまでに得られた結果をまとめた。WISC-III、BNTおよびBAEP潜時などは正規分布を示し適切な結果と考えられた。一方で、一部の指標では正規分布ではなく統計学的な解析を行う上で工夫が必要と考えられた。

CPT や脳波検査などで一部で検査が実施できないケースも見られたが、調査としては全体として概ね順調に実施されているものと考えられた。

CPT では一部の児で CPT 作業ができなかったり、脳波検査では防音室構造の脳波検査室への入室を嫌がったケースが見られた。そのようなケースでは母親から ADHD Rating Scale-IV など高いスコアが回答されていたり、学校などで発達相談などを受けているケースが多いように思われた。母親が同意しても児本人が嫌がる場合は検査は行わないこととしているが、児がなるべく自然に検査に参加できるよう、検査室やスタッフの対応などをさらに改善する必要があるものと考えられた。

E. 結論

生後 84 ヶ月で実施している検査項目のうち、WISC-III、BNT、CPT、ADHD Rating

Scale-IV、BAEP および ERP について中間結果をまとめた。調査は概ね順調に実施されているものと考えられ、今後とも児の成長と発達を追跡するコホート調査を進めていくことができる結果と考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

該当なし

2. 学会発表

清野静、渡辺論史、伊藤菜見子、三浦祥子、小澤鹿子、金澤素、仲井邦彦、佐藤洋、福土審、小児機能性腸障害と脳幹刺激反応性ならびに両親養育態度の関連、第 68 回日本心身医学会東北地方会、仙台、2009 年 2 月 28 日、(口頭)

G. 知的所有権の取得状況

該当なし

難分解性有機汚染物質の健康リスクに関する最近の疫学的知見

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 准教授）
齋藤善則（宮城県保健環境センター 副所長）
村田勝敬（秋田大学医学部 環境保健学 教授）

研究要旨

難分解性有機汚染物質（POPs）は、環境中において難分解性と長距離移動性を有し、野生生物やヒトで蓄積性および毒性が問題となる有機汚染物質の総称である。ダイオキシン類、Polychlorinated biphenyls (PCB)、有機塩素系農薬（OCs）に加え、最近新たに有機フッ素系化学物質（PFC）として、Perfluorooctane sulfonate (PFOS) および perfluorooctanoic acid (PFOA) による曝露が注目されている。いずれも生体内蓄積性があり、低レベルの曝露でも健康リスクがあるのではないかと懸念されているためである。本研究では主に POPs およびメチル水銀の周産期曝露の影響を検証するため出生コホート調査を進めているが、先行研究に関する最近の疫学的知見について整理し、特に作業仮説上の課題を明らかにすることを目的として、文献的な検討を行った。その結果、影響の有無については必ずしも一貫した結果にはなっていないものの、PCB および OCs について検討されたいくつかの研究では、低用量曝露に起因するリスクが示唆されており、また PFC については、出生児の体重減少が示されていた。この PFC の曝露レベルはわが国のものとほぼ一致するものであった。これらの先行研究の知見を参考にしてわが国でも健康リスクの疫学的な検証が必要と考えられた。

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

本疫学研究である Tohoku Study of Child Development (TSCD) は、POPs による周産期曝露の健康影響の有無を把握するために計画された前向き出生コホート調査であり、曝露指標として PCB、ダイオキシン類、OCs に加え、メチル水銀、鉛、カドミウムといった重金属の測定を行うとともに、出生児の成長と発達を、主に神経行動学および心理行動学的方法により追跡を行っている。この調査を実施するに際して、環境由来の化学物質の健康リスクに関する文献レビューを行い、厚生科学研究費補助金・生活安全総合研究事業・平成 12 年度分担研究書などに報告するとともに、論文として発表

してきた (1-4)。その後、PCB および OCs について新しい文献が報告されており、さらに PFC が新たに POPs の 1 つとして着目されるにいたった。これら POPs に関する最近の報告のレビューを行い、問題点の整理を試みた。

B. 研究方法

文献検索は、POPs、PCB、Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT)、Dichlorodiphenyldichloroethylene (DDE)、Hexachlorobenzene (HCB)、Hexachlorocyclohexane (HCH)、PFC、PFOS および PFOA をキーワードとして扱った疫学研究を検索し、その上で最近の報告から着目されるものを選択した。

C. 結果と考察

有機塩素系化学物質

1) 仲井邦彦, 佐藤洋. 内分泌攪乱物質の健康影響に関する疫学研究から一週産期曝露の影響を中心として一. 最新医学 57(2): 229-235, 2002.; 2) Nakai K, Satoh H. Developmental neurotoxicity following prenatal exposures to methylmercury and PCBs in humans from epidemiological studies. Tohoku J Exp Med 196: 89-98, 2002.; 3) 村田勝敬, 仲井邦彦, 佐藤洋. メチル水銀と健康問題～未来～. 環境科学会誌. 17:191-198, 2004.; 4) 仲井邦彦, 堺武男, 岡村州博, 細川徹, 村田勝敬, 佐藤洋. 環境由来化学物質による周産期曝露が出生児に及ぼす影響. 周産期学シンポジウム 23, 東京: メジカルビュー社, pp19-25, 2005.

1980年代以降、海外で多くの出生コホート調査があり、児の認知行動面の発達の遅れや偏りが示されている。ただし、ヒトの曝露レベルは漸減しており、現在のレベルで健康リスクがあるかが重要なポイントとなると考えられる。この有機塩素系化合物の分野では報告数が多く網羅的なレビューにはならないが、最近の話題を Table 1 ならびに以下に整理した。

The Danish National Birth Cohort (DNBC) は 10 万名規模の国家プロジェクトによる出生コホートである。その中で様々な化学物質が扱われており、その中に POPs も含まれている。PCB については、妊娠前 BMI 18.5-25 などの条件を満たす集団から、食物摂取頻度調査に基づき fatty fish とされるサケ、ニシン、サバ、マスおよびオヒョウの摂取量の違いで三群（各群 33-34、合計 100）を無作為に抽出し母体血 PCB を分析した。その結果、PCB は出生体重および胎盤重量と負に関連したことが示されている 5)。なお、出生体重については、他にも先行研究があるとともに、我々も臍帯血総 PCB との間に負の関連性を見いだしている 6)。

ノースカロライナ州で進められている PIN Babies Study では、母乳中総 PCB、p,p'-DDT および p,p'-DDE 濃度ならびに授乳期間から算出した経母乳曝露量と、生後 12 ヶ月の児の発達との関連性が解析された 7)。POPs 濃度はわが国の現在の曝露レベルと同等と考えられる。母乳中 n-3 系不飽和脂肪酸を共変量として用いた点が特徴的である。男児の粗大運動指標が DDE と負に関連したものの、POPs の曝露影響は基本的にはないものと結論した。

化学物質曝露と ADHD について、スペインから 4 歳児の ADHD スコア (ADHD DSM-IV チェックリスト教師版により保育園で測定) と臍帯血ヘキサクロロベンゼン (HCB) の関連性を報告した調査がある。POPs のうち、DDE や PCB でなかう HCB が ADHD スコアと正に関

連したと報告された 8)。同様な調査として、横断的調査である全米健康栄養調査 1999-2000 にて、12-15 歳児の血中ダイオキシン類が高いと学習障害や注意欠陥障害（問診による聞き取り）といった発達障害の調整オッズ比が 2-3 倍程度となることも示されている 9)。

オランダの出生コホート調査（登録 1990-1992 年、n=158）では、身体的な性別ではなく服装、ものの考え方、行動に表れる社会的、文化的な性別への影響を調べるため、7.5 歳で児のジェンダー役割行動質問票 (Pre-School Activities Inventory、回答者は母親) を実施し、PCB 曝露との関連性を解析している。PCB 曝露に関連して、男児の男性的スコアの減少、女児の男性的スコア増加が見られることを報告した 10)。母体血血漿総 PCB は 2.06 ng/ml (中央値) とやや高いが、性関連行動への影響を問題提起した報告と考えられる。

有機フッ素系化学物質 (PFC)

主な PFC である PFOS および PFOA は、表面処理剤や界面活性剤などに多用され、調理器具、衣類、建材など幅広く使用されてきた。PFOS とその類縁化合物は、POPs の排出の削減、低減を目指す「難分解性有機汚染物質に関するストックホルム条約」(POPs 条約) の候補物質であり、経済産業省によれば、「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」(化審法) に基づき早ければ平成 21 年 11 月に製造・輸入・使用が禁止等される。一方、PFOA は米国環境保護庁の指示で製造企業による自主規制などが始まっているものの、POPs 条約の対象とはなっていない。

PFC の生体内半減期は短いと想定され、実際にカニクイザルで 14-40 日、ラットでは数時間であった。このため、本研究でも研究計画を検討する際に PFC は曝露評価の対象外とした経緯がある。しかしながら、その後、ヒトでは腎

5) Halldorsson, T. I., et al.: Linking exposure to polychlorinated biphenyls with fatty fish consumption and reduced fetal growth among Danish pregnant women: a cause for concern? *Am J Epidemiol*, 168: 958-65, 2008.; 6) Kurokawa, N., et al.: Relationship between child birth weight and concentration of polychlorinated biphenyls (PCBs) of the mother in Japan. -Tohoku Study of Child Development (TSCD)-. *Organohalogen Compounds*, 70: 2256-2259, 2008.; 7) Pan, I. J., et al.: Lactational Exposure to Polychlorinated Biphenyls, Dichlorodiphenyltrichloroethane, and Dichlorodiphenyldichloroethylene and Infant Neurodevelopment: An Analysis of the Pregnancy, Infections, and Nutrition Babies Study. *Environ Health Perspect*, Online 10 November 2008: 2009.; 8) Ribas-Fito, N., et al.: Exposure to Hexachlorobenzene during Pregnancy and Children's Social Behavior at 4 Years of Age. *Environ Health Perspect*, 115: 447-150, 2007.; 9) Lee, D. H., et al.: Association of serum concentrations of persistent organic pollutants with the prevalence of learning disability and attention deficit disorder. *J Epidemiol Community Health*, 61: 591-6, 2007.; 10) Vreugdenhil, H. J., et al.: Effects of perinatal exposure to PCBs and dioxins on play behavior in Dutch children at school age. *Environ Health Perspect*, 110: A593-8, 2002.

Table 1 有機塩素系化学物質の周産期曝露の影響に関する最近の報告から

研究名 (調査地、登録年) [文献番号]	研究デザイン (サンプル数 ¹⁾)	分析試料 ¹ POPs 濃度 ≠ (中央値 (最小 - 最大) または平均 +SD)	主な結果
The Danish National Birth Cohort (DNBC、デンマーク、1996-2002) [5]	Population-base, birth-cohort study (100)	母体血漿 (妊娠初期) 総PCB 1.15 ng/ml p,p' -DDE 0.42 ng/ml HCB 0.14 ng/ml (以上、中央値)	PCB は出生体重 (per ln-unit $\beta = -334$ g, 95%CI - 628 to - 40, $p=0.03$) および胎盤重量 (per ln-unit $\beta = -174$ g, - 291 to - 57, $p=0.004$) の減少と関連。(本文参照)
(米国マチューセッツ州、1993-1998) [11]	Hospital-base, birth-cohort study (542)	臍帯血清 総PCB 0.25 ± 0.28 ng/ml (0.01-4.41) p,p' -DDE 0.48 ± 0.85 ng/ml (0-10.27)	PCB 濃度が増加すると、新生児行動評価スコアの下位項目、例えば「敏感な反応の質」スコアは、PCB 濃度第1分位に対し第4分位で0.51点 (95% CI 0.99 to 0.03、採点は9点満点) 低下。出生体重も減少との報告有り。
The Pregnancy, Infection and Nutrition Babies Study (PIN Babies Study、米国ノースカロライナ州、2001-2005) [7]	Hospital-base, birth-cohort study (304)	母乳 (生後3ヶ月) 総PCB 77 ng/g-fat (9-708) p,p' -DDT 5 ng/g-fat (<LOD-80) p,p' -DDE 121 ng/g-fat (1-2140)	PCB、DDT および DDE と生後12ヶ月の the Mullen Scales of Early Learning スコアは、男児のみ DDE と粗大運動指標 (スコアが平均より1SD 下回る調整オッズ比が DDE で1.9、95%CI 1.1-3.3) が関連したことを除き関連性がなく、発達に影響しないと結論。(本文参照)
The Duisburg birth cohort study (ドイツ、2000-2002) [12]	Hospital-base, birth-cohort study (104)	母体血全血 (妊娠後期) 総PCB 149 ng/g-fat (8-512) PCDD/F 15.3 pg-TEQ/g-fat (2.7-36.7) (参考: 母乳値) 総PCB 177 ng/g-fat (10-430) PCDD/F 13.1 pg-TEQ/g-fat (1.8-34.7)	母体血のダイオキシン類および PCB は、臍帯血 Testosterone および Estoradiol と負に関連。特に、Testosterone 減少は女児で、Estoradiol 減少は男児で顕著。
(カリフォルニア州、1999-2000) [13]	Hospital-base, birth-cohort study (334)	母体血清 (妊娠中期) p,p' -DDE 1,302 ng/g-fat (50-159,000) 総PCB 65.3 ng/g-fat (18.8-324) HCB 65.8 ng/g-fat (7.5-841) (幾何平均値、最小-最大)	母親血清遊離 T4 は PCB (per log10-unit $\beta = -0.12$ ng/dl, 95%CI - 0.24 to - 0.01) および HCB (per log10-unit $\beta = -0.08$ ng/dl, 95%CI - 0.15 to - 0.01) と負に関連。総 T4 も同様。TSH は関連性なし。
The Ribera d'Ebre cohort and the Menorca cohort (スペイン、1997-1999) [8]	Hospital-base, birth-cohort study (475)	臍帯血清 HCB 0.73 ng/ml (0.14-9.82) (参考: 母体血値, n=72、幾何平均値、最小-最大) 総PCB 1.64 ng/ml (0.23-7.74) p,p' -DDE 2.24 ng/ml (0.36-24.3) HCB 3.19 ng/ml (0.36-20.78)	臍帯血 HCB は4歳の ADHD DSM-IV スコアと正相関した (per ln-unit $\beta = 1.88$, 95%CI 1.13-3.14)。PCB は関連せず (本文参照)。

¹ サンプル数は解析で用いられた数であり、各疫学調査の全体のサンプル数ではない。

曝露レベルの比較に、日本人の数値の参考値を、幾何平均値 (最小-最大) として、以下に示す。なお、全血 ng/g-wet 表示を血清値に換算する際は、赤血球層に含まれる化学物質は無視できること、ヘマトクリットは50と仮定した。

総PCB: 脂肪換算 120 ng/g-fat (34-310)、47 (13-140)、85 (23-180)。血漿湿重量換算 9.4 ng/g-wet (2.2-48)、0.28 (0.08-1.3)、1.12 (0.34-2.6)。p,p'-DDE: 脂肪換算 130 ng/g-fat (32-330)、62 (12-390)、82 (17-270)。血漿湿重量換算 10.4 ng/g-wet (2.2-36)、0.36 (0.08-3.2)、1.12 (0.24-3.6)。HCB: 脂肪換算 16 ng/g-fat (5.8-37)、17 (6.4-40)、14 (5.6-40)、血漿湿重量換算 1.28 ng/g-wet (0.34-4.6)、0.10 (0.04-0.24)、0.20 (0.08-0.52)。

11) Sagiv, S. K., et al.: Prenatal organochlorine exposure and measures of behavior in infancy using the Neonatal Behavioral Assessment Scale (NBAS). Environ Health Perspect, 116: 666-73, 2008.; 12) Cao, Y., et al.: Environmental exposure to dioxins and polychlorinated biphenyls reduce levels of gonadal hormones in newborns: results from the Duisburg cohort study. Int J Hyg Environ Health, 211: 30-9, 2007.; 13) Chevrier, J., et al.: Effects of exposure to polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides on thyroid function during pregnancy. Am J Epidemiol, 168: 298-310, 2008.

臓尿細管における再吸収機構が関与し、半減期も PFOS で 5.4 年、PFOA で 3.8 年と長いことが示された。半減期に種差があることから、当然ながら動物実験に基づいた有害性評価を行う際は慎重に行われるべきと考えられる。参考までに、欧州食品安全機関が提案している耐容一日摂取量 (TDI) は (2008 年 7 月)、PFOS 150 ng/kg/day (カニクイザル亜慢性曝露実験の NOAEL 0.03 mg/kg/day と、不確実係数 200 とした)、PFOA 1500 ng/kg/day (マウス毒性試験 BMDL10 0.3 mg/kg/day (10% 増加ベンチマーク用量の 95% 下方信頼限界値)) が出されている (14)。不確実係数の内訳は、種差と個体差で 100、さらに試験期間が比較的に短いこと、体内濃度速度論に関する不確実性で 2 を追加したことが説明されている。主な曝露源は魚と考えられるものの、魚多食群でも TDI を越えないと述べられている。

母親血中濃度は、出産と授乳で低下し、妊娠前 BMI が小さいほど濃度も低い (15)。男性に比べ女性で低く、月経による出血が関連し (16)、年齢は正に相関する。PFOS に比較して PFOA は胎盤を通過しやすい (17)。母乳中にも見いだされ (18)、その濃度 (PFOS 131 pg/ml, PFOA 43.8 pg/ml) から、乳児の PFC 平均総摂取量は 23.5 ng/kg/day と算出され、無視できるレベルではないとされる。

幼児の PFC 摂取量は成人よりも高く (PFOS で幼児摂取量 5.7-219 ng/kg/day、成人女性 3.2-54.8)、幼児は食品や飲料水の他に、カーペットなどから手に付着し取り込む経路があるとされている (19)。一方、フッ素加工された調理器具による曝露はわずかとされる。

日本国内では地域差があり、近畿地方の曝

露レベルが高い (16)。経年変化では、PFOS は 1980 年代後期から概ね変化がないか、漸増傾向だが、PFOA は一貫して増加しているという。

ヒトへの影響について、周産期曝露と出生体重に関する報告が集まりつつあり、体重が減少するとする報告 (15, 17, 20-22) に対し、変化はないとする報告もある (23, 24)。(Table 2)

前述の DNBA では PFC に関する解析も行われており、無作為に 1400 名を選び解析が行われている。PFOS は体重と関連性なかったものの、PFOA は出生児体重と負に関連し、PFOA 濃度を 4 分位に分けて比較した場合、第 1 分位に対して第 4 分位の体重差は 105 g であったと報告されている (20)。出生時身長および腹囲の減少、胎盤重量、頭囲および体重指標の一つボンデラル指数も同様に減少した (24)。PFC については動物実験で多くの知見があり、仔の体重減に加え、認知行動面の影響も報告されている (25)。ヒトで出生体重の減少があるとするならば、精神発達面への影響も懸念される。DNBA では電話による母親への構造化インタビューにより子どもの発達スコアを出しているが、発達指標と PFOA 曝露との間には関連性は見られなかったという (17)。なお、DNBA では PFC 曝露と受胎待ち時間の関連性についても解析が行われているが、曝露に関連して受胎待ち時間の延長が示されている (26)。

オハイオ州ワシントン郡では、飲料水の水源近くに大手化学メーカー Dupont の工場があり、水源の PFOA 汚染により住民が曝露を受けた。実際に、血中 PFOA は成人女性で 320 ng/ml (中央値) と極めて高い (27)。健康影響に関して横断的調査が行われ、水道供給事業者の違いから PFOA 曝露レベルを 3 段階に区分し、医療統

14) Authority, T. E. F. S.: Perfluorooctane sulfonate (PFOS), perfluorooctanoic acid (PFOA) and their salts Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain. http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1211902012410.htm. ; 15) Fei, C., et al.: Prenatal exposure to perfluorooctanoate (PFOA) and perfluorooctanesulfonate (PFOS) and maternally reported developmental milestones in infancy. *Env Health Perspect*, 116: 1391-5, 2008.; 16) Harada, K., et al.: Historical and geographical aspects of the increasing perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate contamination in human serum in Japan. *Chemosphere*, 66: 293-301, 2007.; 17) Fei, C., et al.: Perfluorinated chemicals and fetal growth: a study within the Danish National Birth Cohort. *Env Health Perspect*, 115: 1677-82, 2007.; 18) Tao, L., et al.: Perfluorinated compounds in human milk from Massachusetts, U.S.A. *Environ Sci Technol*, 42: 3096-101, 2008.; 19) Trudel, D., et al.: Estimating consumer exposure to PFOS and PFOA. *Risk Analysis*, 28: 251-69, 2008.; 20) Apelberg, B. J., et al.: Cord serum concentrations of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) in relation to weight and size at birth. *Env Health Perspect*, 115: 1670-6, 2007.; 21) Fei, C., et al.: Fetal growth indicators and perfluorinated chemicals: a study in the Danish National Birth Cohort. *American Journal of Epidemiology*, 168: 66-72, 2008.; 22) Washino, N., et al.: Correlations Between Prenatal Exposure to Perfluorinated Chemicals and Reduced Fetal Growth. *Environ Health Perspect*, doi:10.1289/ehp.11681: 2009.; 23) Monroy, R., et al.: Serum levels of perfluoroalkyl compounds in human maternal and umbilical cord blood samples. *Environ Res*, 108: 56-62, 2008.; 24) Nolan, L. A., et al.: the relationship between birth weight, gestational age and perfluorooctanoic acid (PFOA)-contaminated public drinking water. *Reprod Toxicol*, Nov 13. [Epub ahead of print: 2009.; 25) Lau, C., et al.: Perfluoroalkyl acids: a review of monitoring and toxicological findings. *Toxicol Sci*, 99: 366-94, 2007.; 26) Fei, C., et al.: Maternal levels of perfluorinated chemicals and subfecundity. *Hum Reprod*, 2009 (doi:10.1093/humrep/den490).

Table 2 PFC による周産期曝露と出生児の体重に関する報告から

研究名 (調査地、登録年) [文献番号]	研究デザイン (サンプル数)	分析試料 PFC 濃度 (ng/ml) (中央値 (最小 - 最大) または平均 +SD)	主な結果
The Danish National Birth Cohort (DNBC、デンマーク、1996-2002) [15,17,21]	Population-base、 birth-cohort (1400)	妊娠初期母体血漿 PFOS 35.3(6.4-106.7) PFOA 5.6(<0.5-41.5) (平均値、最小 - 最大)	PFOS は関連せず。PFOA で出生体重が減少 ($\beta = -10.63$ g (95% CI -20.79 to -0.47、対数変換せず)、4 分位の比較では出生体重は Q1>Q2, Q3, Q4。身長、頭囲、胎盤重量、在胎週数は減少傾向。(本文参照)
The Baltimore THREE Study (米国 the Johns Hopkins Hospital、2004-2005) [20]	Hospital-base、 cross-sectional study (293)	臍帯血血清 PFOS 5.0 (<0.2-34.8) PFOA 1.6 (0.3-7.1) 両者 Spearman' s r=0.58	PFOS (体重 per ln-unit $\beta = -69$ g, 95% CI -149 to 10; ponderal index (PI) per ln-unit $\beta = -0.074$ g/cm ³ x 100, 95% CI -0.123 to -0.025) および PFOA (体重 per ln-unit $\beta = -104$ g, 95% CI -213 to 5; PI per ln-unit $\beta = -0.070$ g/cm ³ x 100, 95% CI -0.138 to -0.001) とともに負の影響。身長および在胎週数に変化なし。
Hokkaido Study on Environment and Children' s Health (北海道、2002-2005) [22]	Hospital-base, birth cohort study (428)	母体血血清 (妊娠中期) PFOS 5.2 (1.3-16.2) PFOA 1.3 (<0.5-5.3)	PFOS のみ出生体重と負に関連 (per log10-unit $\beta = -148.8$ g (95% CI -297.0 to -0.5)。男女別の解析では女兒でのみ有意な関連。
Family Study (カナダ、2004-2005) [23]	Hospital-base, cohort study (89)	母体血血清 (妊娠中期) PFOS 16.6 (10.8-22.9) PFOA 2.13 (1.46-3.14)	重回帰分析で出生体重との関連性なし。 Family Study (n=1058) から臍帯血などが得られた 89 組で解析。 (参考：臍帯血値) PFOS 6.08 (3.92-9.11) PFOA 1.58 (1.09-2.37)。
(米国オハイオ州、2003-2005) [24]	Cross-sectional study (1555)	上水道供給事業体別で推定 化学分析は実施せず 参考) 汚染地区内の 成人女性の血中 PFOA 中央値は 320 ng/ml。	PFOA 曝露 (上水道供給事業体別に曝露レベルを 3 段階に分類) と、出生体重、在胎週数、低体重、早期産などの指標との間に関連性なし。(本文参照)

日本人の数値として、我々も女性血清値 (中央値、最小 - 最大、n=14) で PFOS 4.87 ng/ml (1.65-11.1)、PFOA 2.93 ng/ml (0.77-12.4) という数値を確認している。

計情報との比較が行われたが、出生体重、在胎週数などに影響は観察されなかったという 24)。一般集団に比較して曝露レベルは極めて高い事例であり、症例対照研究などによる検証が強く期待される。

ミネソタ州 3M 社の化学工場に 1 年以上就業していた労働者を対象とした質問票調査がある。職歴に基づく曝露評価と子の出生体重との

間に関連性はなかったという 28)。この研究では膀胱ガンリスクについても解析した報告があるが、高曝露群でやや高い傾向が見られるものの、症例数が少ないこともあり、統計学的には有意ではない。

D. 結論

POPs 曝露影響に関する最近の先行研究につ

27) Emmett, E. A., et al.: Community Exposure to Perfluorooctanoate: Relationships Between Serum Concentrations and Exposure Sources. J Occup Environ Med, 48: 759-70, 2006.; 28) Grice, M. M., et al.: Self-reported medical conditions in perfluorooctanesulfonyl fluoride manufacturing workers. J Occup Environ Med, 49: 722-9, 2007.

いて整理した。現在の曝露レベルでも何らかの影響があることを示唆しているように思われるが、一貫した結果が得られている訳ではなく、また影響が見られたとしても、その化学物質の種類やその影響についても一致したものではない。さらに、統計学的には有意であるものの影響の大きさが小さい場合もあり実質的な影響があるのかも議論のありと考えられる。さらに、PFCを含め POPs 曝露には魚摂取が関連するが、魚には不飽和脂肪酸など児の発達に必須の栄養素も含まれており、魚摂取量の抑制は栄養素の欠乏という新たなリスクを惹起することとなる。リスクとベネフィットの両面からのリスク研究を考慮した疫学的なアプローチによる検証が必要と考えられる。

E. 研究発表

1. 論文発表

Nakai K, Nakamura T, Shibata Y, et al.
The biological monitoring program of persistent organic pollutants in Japan: concentrations of dioxins, polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides

in maternal blood, breast milk and cord blood. In: Morita M, ed. POPs Research in Asia. Tokyo: Isebu, pp405-408, 2008.

仲井邦彦, 佐藤洋. 難分解性有機汚染物質 (POPs) の健康リスクと疫学的知見. 医学のあゆみ. 288:769-75, 2009.

仲井邦彦, 中村朋之, 村田勝敬, 他. 東北コホート調査と曝露評価. 日本衛生学雑誌. (in press)

2. 学会発表

仲井邦彦, 坂本峰至, 村田勝敬, 他. 胎児期メチル水銀ばく露の生後の発達への影響. 第19回日本微量元素学会学術集会, 東京, 2008年7月3-4日.

仲井邦彦, 中村朋之, 鈴木恵太, 他. 曝露指標としての臍帯血 PCB - 東北地方における出生コホート調査結果から. 第17回環境化学討論会, 神戸, 2008年6月11-13日.

F. 知的所有権の取得状況

なし

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版値	出版年	ページ
Nakai K, et al.	The biological monitoring program of persistent organic pollutants in Japan: concentrations of dioxins, polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in maternal blood, breast milk and cord blood.	Morita M, ed.	POPs Research in Asia.	Isebu	Tokyo	2008	405-410
Suzuki K, et al.	Maternal smoking, quality of home environment and offspring development.	Tolson K, Veksler E, eds.	Research focus on smoking and women's health.	Nova Science Publishers	New York	2008	183-198

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表雑誌	巻名	ページ	出版年
Kurokawa N, et al.	Relationship between child birth weight and concentration of polychlorinated biphenyls (PCBs) of the mother in Japan. -Tohoku Study of Child Development (TSCD)-.	Organohalogen Compounds	70	2256-2259	2008
Nakamura T, et al.	Determination of dioxins and polychlorinated biphenyls in breast milk, maternal blood and cord blood from residents of Tohoku, Japan.	Sci Total Environ	394	39-51	2008
佐藤洋	人間—環境系の視点からの保健医学に関する研究	環境科学会誌環境科学会誌	21	93-95	2008
佐藤洋	魚介類等に含まれるメチル水銀の健康リスク評価	Biomedical Research on Trace Elements	19	227-229	2008
仲井邦彦, 他	難分解性有機汚染物質 (POPs) の健康リスクと疫学的知見	医学のあゆみ	228	769-775	2009

V. 研究成果の刊行物・別刷

THE BIOLOGICAL MONITORING PROGRAM OF PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS IN JAPAN: CONCENTRATIONS OF DIOXINS, POLYCHLORINATED BIPHENYLS AND ORGANOCHLORINE PESTICIDES IN MATERNAL BLOOD, BREAST MILK AND CORD BLOOD

Nakai K¹, Nakamura T^{1,2}, Shibata Y³, Suzuki K^{1,4}, Kameo S¹, Saito Y², Hosokawa T⁴, Okamura K⁵, Murata K⁶, Satoh H¹

¹Department of Environmental Health Sciences, Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai, 980-8575 Japan; ²Miyagi Prefectural Institute of Public Health and Environment, Sendai, 983-8666 Japan; ³National Institute for Environmental Studies, Tsukuba, 305-8506 Japan; ⁴Department of Human Development and Disabilities, Tohoku University Graduate School of Education, Sendai, 980-8576; ⁵Department of Obstetrics, Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai, 980-8575 Japan; ⁶Department of Environmental Health Sciences, Akita University School of Medicine, Akita, 010-8543 Japan.

Abstract

Persistent organic pollutants (POPs) such as dioxins, polychlorinated biphenyls (PCBs) and organochlorine pesticides are ubiquitous environmental contaminants that accumulate in lipid-rich body tissues. Although POPs are thought to be hazardous to health, the overall epidemiological data are as yet insufficient to draw any conclusions for populations with low exposure levels. Thus, exposure monitoring and epidemiological examination of the Japanese population are of importance to determine the health risks due to POP exposure. The Ministry of the Environment of Japan (MOE) has been conducting systematic monitoring of POPs according to the Stockholm Convention. We provided some biological samples for the POP biological monitoring project, and reanalyzed the report of the MOE. In the present study, we summarize the data of POPs in human pair samples of maternal blood, breast milk and cord blood. Concentrations of dioxins, PCBs and organochlorine pesticides in each biological sample were at the same levels as in previous reports on Japanese. There were high correlations among the three biological samples, indicating the exposure consistency in biological samples. Furthermore, single regression analysis showed a statistically significant correlation among chemicals, suggesting the presence of combined exposure to multiple chemicals.

Introduction

Persistent organic pollutants (POPs) are ubiquitous environmental contaminants that accumulate in lipid-rich body tissues. Their lipophilicity and intrinsic resistance to biological degradation processes are responsible for bioaccumulation and biomagnification in the food chain, and consequently they can be found in humans at considerable concentrations. Although these concentrations usually decrease, longer-term exposure may cause potential risks to human health.¹

In humans, several adverse effects have been discussed in relation to exposure to POPs. Some POPs have been claimed to possess endocrine-disrupting potency. DDE exposure is related to TSH and estradiol levels among middle-aged and elderly men.² There is a significant negative association between the serum HCB concentration and total T4 in cord blood.³ These findings suggest that exposure to POPs may affect the hypothalamus-pituitary-thyroid and the hypothalamus-pituitary-gonadal axes. Reproductive defects may be associated in part with exposure to hormonally active environmental chemicals during fetal and childhood development.⁴ A growing number of reports have demonstrated the association between adverse effects in children and exposure to POPs at low doses over a longer period. In particular, human perinatal exposure to PCBs has been shown to be associated with immunological changes,⁵ neural and developmental changes,^{6,7} lower psychomotor development,^{8,9} defects of short-term memory and spatial learning ability¹⁰ and lower cognitive development.¹¹ However, little information is available regarding the delayed neurobehavioral development in infants following exposure to DDE.^{12,13} Perinatal exposure to HCB was also shown to be associated with poor social competence in children.¹⁴ Since the overall epidemiological data are not yet sufficient to allow us to draw firm conclusions, exposure monitoring and epidemiological examination of the Japanese population are important for risk assessment.

In Japan, the Ministry of the Environment (MOE) has been conducting systematic monitoring of chemicals over a 30-year period. The MOE initiated refined environmental monitoring including POPs in FY2002 according to the Stockholm Convention.^{15,16} Recently, the MOE also added biological monitoring of human samples. Since information on blood levels of POPs in Japan is very limited, this monitoring of all the POPs covered by the convention will contribute to effective evaluation in the future. We have been collaborating with the MOE's POP monitoring project by providing biological samples from our prospective birth cohort study, Tohoku Study of Child Development (TSCD).¹⁷ In the present study, we reanalyze the results from the MOE's monitoring project,¹⁸ and summarize the data on POPs in human pair samples of maternal blood, breast milk and cord blood.

Materials and Methods

The biological samples analyzed were randomly selected from the participants in TSCD, and provided anonymously to the MOE. The details of the study protocol were reported previously.¹⁷ Briefly, healthy pregnant women were recruited with their informed consent at obstetrics wards of two urban hospitals in the Tohoku region of Japan from January 2001 through September 2003. This cohort study was conducted in a large city with a population of more than one million in order to assess the average exposure level in pregnant Japanese women. Finally, 599 mother–infant pairs were obtained. Maternal peripheral blood was collected using heparin as an anticoagulant agent in the morning when the pregnancy was at around 28 weeks. The cord blood was collected immediately after delivery. These whole blood samples were frozen at -80°C until the chemical analysis. Breast milk was collected one month after delivery, and then frozen similarly. All containers used for sample collection and preparation were washed with purified water and acetone, and further heated at 450°C for background reduction of the target compounds.

Table 1 Concentrations of POPs in maternal blood, breast milk and cord blood.

Chemical	Maternal blood Median (Min-Max)	Breast milk Median (Min-Max)	Cord blood Median (Min-Max)
Dioxins			
PCDD/Fs-TEQ	8.6 (2.8-26)	9.9 (2.0-25)	5.4 (0.28-16)
DL-PCBs-TEQ	4.8 (1.4-11)	6.8 (2.1-21)	2.9 (0.74-7.3)
Total TEQ	13 (4.8-33)	17 (4.2-45)	8.3 (1.1-22)
Total PCBs	76000 (20000-163000)	102000 (31000-274000)	40000 (12000-128000)
Aldrin	nd (nd)	nd (nd)	nd (nd)
<i>cis</i> -Chlordane	620 (220-2060)	460 (200-3100)	440 (210-1460)
<i>trans</i> -Chlordane	190 (130-490)	180 (80-1400)	330 (120-770)
Oxychlordane	5520 (1540-17270)	11700 (2700-46800)	4940 (1280-17530)
<i>cis</i> -Nonachlor	1680 (470-4860)	3400 (860-10570)	960 (280-2780)
<i>trans</i> -Nonachlor	12830 (3620-52370)	22480 (6620-100950)	6690 (1690-26260)
<i>o,p'</i> -DDD	nd (nd-100)	nd (nd-510)	nd (nd-100)
<i>p,p'</i> -DDD	240 (60-430)	300 (100-14510)	120 (nd-590)
<i>o,p</i> -DDE	340 (170-730)	380 (180-950)	250 (90-600)
<i>p,p'</i> -DDE	93270 (17280-271390)	143300 (31700-331500)	68180 (12330-385690)
<i>o,p</i> -DDT	700 (200-2130)	1220 (550-4170)	450 (190-1420)
<i>p,p'</i> -DDT	3950 (1080-10070)	7620 (2310-19390)	2450 (560-7330)
Dieldrin	3280 (1440-9810)	4290 (2100-17480)	3140 (1370-13580)
Endrin	nd (nd)	nd (nd-490)	nd (nd)
Heptachlor	nd (nd)	nd (nd-370)	nd (nd-170)
<i>trans</i> -Heptachlorepoide	nd (nd)	nd (nd)	nd (nd)
<i>cis</i> -Heptachlorepoide	2680 (730-12520)	4480 (1800-24140)	2490 (670-12720)
HCB	13810 (5560-39580)	16380 (6870-37260)	16700 (6440-39980)
α -HCH	220 (120-580)	290 (150-1570)	310 (130-1910)
β -HCH	29350 (4750-196100)	49010 (11500-213990)	29030 (4860-90490)
γ -HCH	220 (100-2180)	220 (50-2340)	340 (150-5080)
δ -HCH	nd (nd)	nd (nd-310)	nd (nd-140)
Mirex	1110 (280-2890)	740 (170-1880)	410 (120-1380)
Parlar-26	960 (300-2550)	1880 (760-7040)	660 (230-3020)
Parlar-40	nd (nd-70)	20 (nd-100)	nd (nd-180)
Parlar-41	110 (nd-220)	230 (nd-560)	nd (nd-240)
Parlar-44	70 (nd-200)	230 (60-640)	nd (nd-380)
Parlar-50	1440 (480-4220)	3150 (1280-12490)	850 (280-4140)
Parlar-62	40 (nd-360)	230 (nd-820)	nd (nd-510)

pg/g-fat.

n=68 for breast milk and cord blood, n=49 for maternal blood.

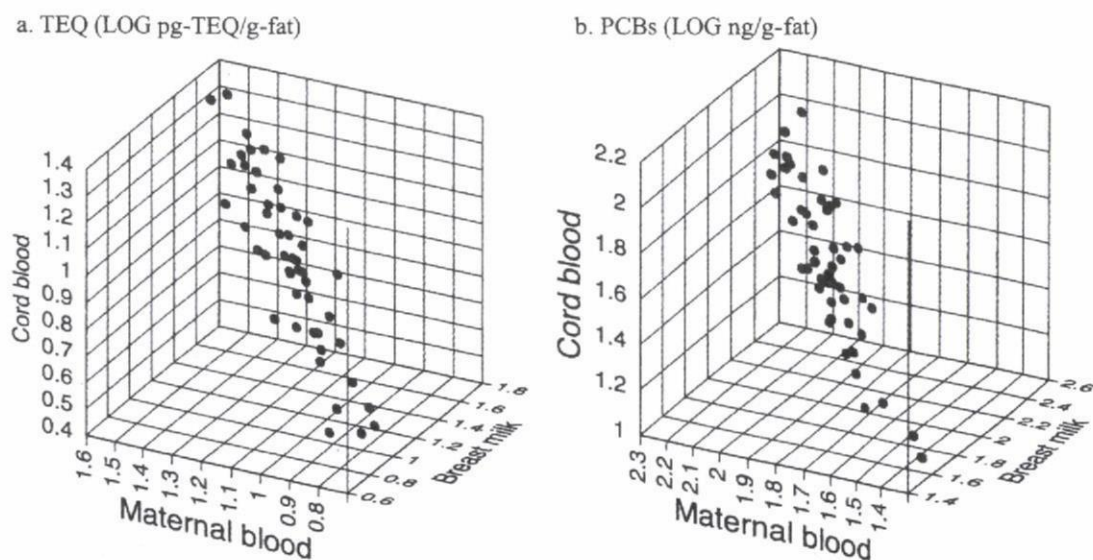


Fig. 1. Relationship of (a) TEQ (LOG pg-TEQ/g-fat) and (b) PCBs (LOG ng/g-fat) among pair samples of breast milk, cord blood and maternal blood.

Table 2. Correlations of major concentrations of POPs in breast milk with maternal blood and cord blood.

	Breast milk							
	TEQ	PCB	<i>c</i> -CHL	<i>t</i> -CHL	OxyCHL	<i>c</i> -Nonachlor	<i>t</i> -Nonachlor	<i>p,p'</i> -DDE
Cord blood	0.805**	0.782**	0.543**	0.191	0.831**	0.836**	0.871**	0.837**
Maternal blood	0.935**	0.904**	0.729**	0.291	0.943**	0.954**	0.959**	0.920**

	Breast milk							
	<i>p,p'</i> -DDT	Dieldrin	<i>c</i> -HCE	HCB	β -HCH	Mirex	Parlar-26	Parlar-50
Cord blood	0.796**	0.821**	0.800**	0.879**	0.800**	0.673**	0.789**	0.778**
Maternal blood	0.878**	0.819**	0.928**	0.921**	0.844**	0.894**	0.904**	0.917**

Pearson's r after log-transformation. $n=68$ for the correlation between breast milk and cord blood, and $n=49$ for the correlation between breast milk and maternal blood. ** $p<0.001$.

Table 3. Simple correlation coefficients among major POP compounds in breast milk

	TEQ	PCBs	<i>t</i> -Nonachlor	<i>p,p'</i> -DDE	<i>p,p'</i> -DDT	Dieldrin	<i>c</i> -HCE	HCB	β -HCH	Mirex	Parlar-50
Breast milk ($n=68$)											
TEQ	1.000										
PCB	0.870**	1.000									
<i>t</i> -Nonachlor	0.795**	0.789**	1.000								
<i>p,p'</i> -DDE	0.734**	0.778**	0.605**	1.000							
<i>p,p'</i> -DDT	0.615**	0.688**	0.618**	0.654**	1.000						
Dieldrin	0.303*	0.391**	0.387**	0.208	0.312*	1.000					
<i>c</i> -HCE	0.492**	0.511**	0.522**	0.381**	0.420**	0.492**	1.000				
HCB	0.897**	0.797**	0.756**	0.707**	0.684**	0.296*	0.551**	1.000			
β -HCH	0.687**	0.633**	0.525**	0.710**	0.525**	0.128	0.447**	0.692**	1.000		
Mirex	0.622**	0.769**	0.585**	0.433**	0.422**	0.385**	0.360**	0.510**	0.328**	1.000	
Parlar-50	0.633**	0.782**	0.711**	0.539**	0.722**	0.533**	0.638**	0.662**	0.456**	0.640**	1.000

Pearson's r . Log-transformed. $N=68$. * $p<0.05$, ** $p<0.01$.

Chemical determination was performed with high resolution gas chromatography-high resolution mass spectrometry (HRGC-HRMS) by IDEA Consultants, Inc. (Tokyo, Japan) as part of the MOE project.¹⁹ Briefly, the biological samples were spiked with ¹³C-labeled POPs as internal standards before extraction. Liquid-liquid extraction was performed for the samples and then extracts were purified by multilayer silica gel column chromatography. Active carbon dispersed

silica gel column chromatography was further used for purification of PCDD/Fs and dioxin-like PCBs (DL-PCBs). For the other POPs, extracts were purified by florisil column chromatography except for silica gel column chromatography for toxaphene. Congener-specific determination of the compounds was performed by HRGC-HRMS or negative ion chemical ionization mass spectrometry (GC-NICIMS) for toxaphene by isotope dilution quantification. TEQ was calculated by the WHO (1998) toxicity equivalency factor (TEF) assuming that the amounts of congeners below the determination limit were zero. In the present study, 49 complete sets of breast milk, maternal blood and cord blood samples, and 19 sets of breast milk and cord blood samples were selected in consideration of parity and used for chemical analyses.

Statistical analyses were performed using JMP ver. 5.1.2. When the levels of data were not normally distributed, the data were log-transformed for statistical analysis. This study was approved by the Medical Ethics Committee of the Tohoku University Graduate School of Medicine, and all mothers provided signed informed consent.

Table 4. Concentrations of POPs and their relationship with maternal age and fish intake in primiparae and multiparae

	Concentration (median)		Correlationship (Pearson's r ^a)			
	(ng/g-fat)		with Maternal age		with Fish intake	
	Primipara	Multipara ^b	Primipara	Multipara	Primipara	Multipara
Breast milk (n=34 for primiparae and multiparae, respectively)						
TEQ	21.5	13.4**	0.241	0.186	-0.130	0.210
PCBs	112	91.3**	0.404*	0.345*	-0.111	0.085
<i>trans</i> -Nonachlor	26.9	16.3**	0.057	0.170	-0.017	0.227
<i>p,p'</i> -DDE	154	120**	0.479**	0.173	-0.113	0.213
<i>p,p'</i> -DDT	8.12	7.01	0.118	0.121	-0.112	0.141
Dieldrin	4.29	4.29	0.263	0.233	-0.121	0.015
<i>cis</i> -Heptachlorepoide	5.16	4.08**	0.196	0.398*	-0.164	-0.130
HCB	20.6	14.6**	0.248	0.087	-0.276	0.201
β -HCH	63.3	32.8**	0.566**	0.242	0.061	0.092
Mirex	0.769	0.709	0.377*	0.547**	0.091	-0.112
Parlar-50	3.55	2.77*	0.205	0.215	-0.033	0.211
Maternal blood (n=25 for primiparae, and n=24 for multiparae)						
TEQ	17.4	9.73**	0.316	0.289	-0.131	0.170
PCB	88.6	62.3**	0.401*	0.561**	-0.137	-0.011
<i>trans</i> -Nonachlor	17.0	8.03*	0.156	0.274	0.209	0.153
<i>p,p'</i> -DDE	108	59.3*	0.521**	0.282	0.022	0.100
<i>p,p'</i> -DDT	4.40	3.46*	0.368	0.200	0.030	-0.007
Dieldrin	3.39	3.27	0.441*	0.392	-0.125	-0.072
<i>cis</i> -Heptachlorepoide	3.15	2.32*	0.270	0.480*	-0.052	-0.265
HCB	17.3	11.3**	0.431*	0.276	-0.175	0.072
β -HCH	39.5	17.2*	0.683**	0.324	-0.181	-0.051
Mirex	1.18	0.875	0.323	0.658**	-0.003	-0.079
Parlar-50	1.80	1.25**	0.323	0.515*	0.034	-0.015
Cord blood (n=34 for primiparae and multiparae, respectively)						
TEQ	10.9	8.05**	0.056	0.206	-0.320	0.128
PCB	45.8	34.2	0.229	0.279	-0.267	0.116
<i>trans</i> -Nonachlor	8.23	5.05*	-0.139	0.178	*0.175	0.233
<i>p,p'</i> -DDE	83.2	62.1	0.281	0.150	-0.351*	0.180
<i>p,p'</i> -DDT	2.63	2.25	-0.027	0.101	-0.280	0.104
Dieldrin	3.45	3.00	0.161	0.325	-0.247	-0.114
<i>cis</i> -Heptachlorepoide	2.77	2.23**	0.031	0.384*	-0.296	-0.189
HCB	20.9	14.8**	0.157	0.147	-0.426*	0.106
β -HCH	38.4	21.5*	0.531**	0.277	-0.386	0.028
Mirex	0.442	0.401	0.179	0.417*	-0.140	-0.038
Parlar-50	0.985	0.765*	0.105	0.280	-0.267	0.120

^aPearson's r was calculated after log-transformation.

^bt-test was performed between primiparae and multiparae after log-transformation.

*p<0.05, **p<0.01

Results and Discussion

Concentrations of POPs in maternal blood, breast milk and cord blood are shown in Table 1. These data were roughly in agreement with those from previous studies²⁰⁻²⁵. The highest values were observed for *p,p'*-DDE in all three materials. Since the use of DDT was prohibited in 1971 in Japan, this finding indicates the intrinsic resistance to biological degradation of DDT/DDE. Total PCBs and β -HCH were the other major constituents. It was found that the contribution ratio of DL-PCBs to total TEQ was about 40% and the percentage of the concentration of DL-PCBs to total PCBs was 10% by congener-specific analysis of PCBs in these biological samples. The predominant homologues of PCBs were HxCBs, followed by HpCBs, PeCBs and TeCBs in most samples (data not shown). Mirex and toxaphenes were measurable in most samples. Since neither chemical has ever been used in Japan, the routes and the sources of contamination by Mirex and toxaphenes are not fully understood.

High correlations of most chemicals among the three materials were observed as shown in Table 2. For example, the correlations of TEQ and PCBs among maternal blood, breast milk and cord blood were very high as illustrated in Fig. 1. In addition, levels of POPs in breast milk were higher than in cord blood and maternal blood. These findings indicated a high degree of consistency of chemicals in the body. They also suggested the usefulness of breast milk as a monitoring material for human exposure. Breast milk is rich in fat and therefore lipophilic chemicals such as POPs are accumulated, and it can be easily obtained from lactating women.

Simple correlation analyses also showed high correlations among chemicals in maternal blood, breast milk and cord blood. The results for the breast milk are shown in Table 3. These findings suggest the presence of coexposure to multiple POPs in humans. Because of the high correlations among chemicals, we may be able to simplify the monitoring method by eliminating a number of chemicals from the analytical procedures.

Parity and maternal age were shown to affect the concentrations of POPs (Table 4). Although maternal fish intake has also been reported to be correlated with levels of POPs,^{25,26} it did not correlate with the concentrations of any of the chemicals in the present study. POPs exhibit bioaccumulation and biomagnification in the food chain, and therefore human exposure is thought to be mainly through the consumption of fish. At present, the reason for the small correlation between the level of POPs and maternal fish intake is unknown. More information on maternal fish intake and the concentrations of POPs in fishes are essential to understand the human exposure to POPs.

Acknowledgments

We thank all the families who participated in the study. This presentation was based on the environmental monitoring report on POPs from the MOE, with support in part from the Japan Ministry of Health, Labour and Welfare (Research on Risk of Chemical Substances) and Japan Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology (Grant-in-Aid for Scientific Research (B)).

References

- Nakai K, Satoh H. *Tohoku J. Exp. Med.* 2002; 196:89.
- Rylander L, Wallin E, Jonsson BA, Stridsberg M, Erfurth EM, Hagmar L. *Chemosphere* 2006; 65:375.
- Sala M, Sunyer J, Herrero C, To-Figueras J, Grimalt J. *Occup. Environ. Med.* 2001; 58:172.
- Toppari J, Larsen JC, Christiansen P, Giwercman A, Grandjean P, Guillelte LJJ, Jegou B, Jensen TK, Jouannet P, Keiding N, Leffers H, McLachlan JA, Meyer O, Muller J, Rajpert-De Meyts E, Scheike T, Sharpe R, Sumpter J, Skakkebaek NE. *Env. Health Perspect. Suppl* 1996; 104:741.
- Weisglas-Kuperus N, Patandin S, Berbers GA, Sas TC, Mulder PG, Sauer PJ, Hooijkaas H. *Environ. Health Perspect.* 2000; 108:1203.
- Jacobson JL, Jacobson SW. *Neurotoxicology* 1997; 18:415.
- Stewart P, Reihman J, Lonky E, Darvill T, Pagano J. *Neurotoxicol. Teratol.* 2000; 22:21.
- Weisglas-Kuperus N. *Chemosphere* 1998; 37:1845.
- Walkowiak J, Wiener JA, Fastabend A, Heinzow B, Kramer U, Schmidt E, Steingruber HJ, Wundram S, Winneke G. *Lancet* 2001; 358:1602.
- Jacobson JL, Jacobson SW, Humphrey HE. *J. Pediatr.* 1990; 116:38.
- Stewart PW, Reihman J, Lonky EI, Darvill TJ, Pagano J. *Neurotoxicol. Teratol.* 2003; 25:11.
- Ribas-Fito N, Cardo E, Sala M, Eulalia de Muga M, Mazon C, Verdu A, Kogevinas M, Grimalt JO, Sunyer J. *Pediatr.* 2003; 111:e580.
- Torres-Sanchez L, Rothenberg SJ, Schnaas L, Cebrian ME, Osorio E, del Carmen Hernandez M, Garcia-Hernandez RM, del Rio-Garcia C, Wolff MS, Lopez-Carrillo L. *Env. Health Perspect.* 2007; 115:435.
- Ribas-Fito N, Torrent M, Carrizo D, Julvez J, Grimalt JO, Sunyer J. *Env. Health Perspect.* 2007; 115:447.
- Yoshida Y, Enomoto Y, Kamiya K. *Organohalogen Compounds* 66 (2004) 3504.
- Ministry of the Environment, Japan. Environmental Monitoring Report on Persistent Organic Pollutants (POPs) in Japan 2002-2004, www.env.go.jp/en/chemi/pops/rep2002-2004.pdf 2006.
- Nakai K, Suzuki K, Oka T, Murata K, Sakamoto M, Okamura K, Hosokawa T, Sakai T, Nakamura T, Saito Y,

- Kurokawa N, Kameo S, Satoh H. *Tohoku J. Exp. Med.* 2004; 202:227.
18. Ministry of the Environment, Japan. <http://www.env.go.jp/press/press.php?serial=7896>
 19. Nakamura T, Nakai K, Matsumura T, Suzuki S, Saito Y, Satoh H. *Sci. Total Environ.* 2008; 394:39.
 20. Kunisue T, Muraoka M, Ohtake M, Sudaryanto A, Minh NH, Ueno D, Higaki Y, Ochi M, Tsydenova O, Kamikawa S, Tonegi T, Nakamura Y, Shimomura H, Nagayama J, Tanabe S. *Chemosphere* 2006; 64:1601.
 21. Uehara R, Peng G, Nakamura Y, Matsuura N, Kondo N, Tada H. *Chemosphere* 2006; 62:1135.
 22. Suzuki G, Nakano M, Nakano S. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2005; 69:1836
 23. Fukata H, Omori M, Osada H, Todaka E, Mori C. *Environ. Health Perspect.* 2005; 113:297.
 24. Iida T, Hirakawa H, Matsueda T, Takenaka S, Nagayama J. *Chemosphere* 1999; 38:3497.
 25. Tsukino H, Hanaoka T, Sasaki H, Motoyama H, Hiroshima M, Tanaka T, Kabuto M, Turner W, Patterson DG Jr, Needham L, Tsugane S. *Sci. Total Environ.* 2006; 359, 90.
 26. Arisawa K, Matsumura T, Tohyama C, Saito H, Satoh H, Nagai M, Morita M, Suzuki T. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 2003; 76:205.

Chapter VI

Maternal Smoking, Quality of Home Environment and Offspring Development

*Keita Suzuki^{1,a}, Kunihiro Nakai², Nozomi Tatsuta¹, Tomoko Oka²,
Kunihiro Okamura³, Takeo Sakai⁴, Naoyuki Kurokawa², Hiroshi
Satoh², and Toru Hosokawa¹*

1. Human Development and Disabilities, Tohoku University
Graduate School of Education, Sendai, Japan

2. Department of Environmental Health Sciences, Tohoku University
Graduate School of Medicine, Sendai, Japan

3. Department of Obstetrics, Tohoku University
Graduate School of Medicine, Sendai, Japan

4. Miyagi Children's Hospital, Sendai, Japan

Abstract

The effects of maternal smoking during pregnancy on neurobehavioral development of offspring were examined through a prospective cohort study. Maternal smoking status was assessed with a self-administered questionnaire 4 days after delivery, and the mothers were classified into 3 groups, nonsmokers, ex-smokers, and smokers. Neurobehavioral development of offspring was assessed with the Neonatal Behavioral Assessment Scale (NBAS) at 3 days of age, the Fagan Test of Infant Intelligence (FTII) at 7 months of age, and the Bayley Scales of Infant Development 2nd edition (BSID-II) at 7 and 18 months of age. On the NBAS, the children of smokers had lower scores than those of ex-smokers and nonsmokers on 2 behavioral items, 'pull to sit' and 'defensive movements', suggesting that maternal smoking during pregnancy adversely affects neurobehavioral development of offspring. In the results of the FTII and the BSID-II, the quality of the home environment was associated positively with the results of the BSID-II, whereas maternal smoking was not associated with those of the FTII and the BSID-II.

^a Correspondence to: Keita Suzuki, 27-1, Kawauchi, Aoba, Sendai, Miyagi, 980-8576, Japan, E-mail: keita@m.tains.tohoku.ac.jp Tel and Fax: +81-22-795-6148.