

μg/g (0.346 ~ 1.680 μg/g,  $n=63$ ), 1960-64年 0.350 μg/g (0.182 ~ 0.715 μg/g,  $n=88$ ), 1965-69年 0.250 μg/g (0.188 ~ 0.400 μg/g,  $n=91$ ), 1970-74年 0.170 μg/g (0.143 ~ 0.330 μg/g,  $n=21$ ), 1975-89年 0.100 μg/g (0.056 ~ 0.190 μg/g,  $n=13$ ) であった。このうち1955-59年のメチル水銀の臍帯組織濃度が最も高く、その後徐々に低下した。出生地が秋田、東京、鳥取、福岡、対馬(長崎)、宮崎の対照群の臍帯組織中メチル水銀濃度の中央値は0.054 ~ 0.131 μg/g (中央値の加重平均値は0.077 μg/g) であり、1955-59年に水俣市および隣接地域で生まれた人々は対照群の10倍くらい高い平均メチル水銀の曝露を受けていたことになる。ただ、この調査は無作為抽出ではないので、高値を危惧する人達が多く含まれていた可能性は否定できない(典型的胎児性水俣病患者は1名のみ)。地域別に臍帯組織メチル水銀濃度を検討すると、1 μg/g (≒毛髪換算水銀25 μg/g) を超える濃度は水俣市、出水地区(鹿児島県)および津奈木地区(熊本県)の出生児に見られたが、芦北やその他不知火海沿岸では認められなかった。さらに、1 μg/g を超える濃度は水俣市で1947-68年に、出水地区で1953-67年に、津奈木地区で1956-61年に観察された。これら時空間的な推移は水俣病の歴史に刻まれた事実(11)を裏付けるものと考えられる。

#### IV. 胎児期メチル水銀曝露の小児発達影響

イラクで発生したメチル水銀中毒禍(1971年)では、メチル水銀殺菌剤で処理した小麦から作られたパンを食した農家を中心に多くの犠牲者(入院患者約6,000人、死亡者約500人)が出た。米合衆国ロチェスター大学の研究グループはこの時ヒト健康影響調査を現地で行い、メチル水銀による神経障害に関する量-反応関係を世界に向けて発信した(32-34)。イラクのメチル水銀中毒禍や水俣病は通常の食事摂取量と乖離した高濃度曝露下で起こった。それゆえ、健康影響が現れ始めるメチル水銀濃度(臨界濃度)を決めるために、この量-反応データに外挿して推定することに一抹の不安が囁かれた。さらに、感受性が高いとされる胎児期のメチル水銀曝露に関心が高まった。この問題を解決するために、魚多食集団のいるデンマーク自治領フェロー諸島やセイシェル共和国などが出生コホート研究の対象地として選ばれたのである(前者は南デンマーク大学、後者はロチェスター大学の研究グループが調査)。そして、各々の研究成績がほぼ揃った1998年に“Scientific Issues Relevant to Assessment of Health Effects from Exposure to Methylmercury”のワークショップを米合衆国 White House が主催し、低濃度メチル水銀が小児神経発達に影響するのか否かの論争の火蓋が切られた(20)。

これら2グループの研究成果は既報の総説(24)に詳述されている。要約すると、フェロー諸島出生コホート研究(母子1,022組)では7歳児と14歳児で神経系検査が行われ、神経心理・行動学的検査では記憶、注意、言

語などの能力が母親毛髪メチル水銀(平均値4.3 μg/g、範囲0.2 ~ 39.1 μg/g)の増加に伴って低下することが示された(18, 25)。同様に、聴性脳幹誘発電位の潜時延長や自律神経の機能低下も出生時のメチル水銀の増加により観察された(22, 23)。一方のセイシェル小児発達研究(母子779組)も神経心理・行動学的検査を5.5歳と9歳児で行ったが、母親毛髪メチル水銀(平均6.8 μg/g、0.5 ~ 26.7 μg/g)と神経発達影響との間に一貫性のある関係は見られず(19, 21)、わずかに9歳児の毛髪メチル水銀濃度と注意欠陥多動性障害指標の間に有意な関連が認められるのみであった(39)。

両研究グループ間で齟齬をきたした理由は用いられたメチル水銀曝露の指標と影響指標に共通性が乏しかったことであった(24)。曝露指標に使用した生体試料は、セイシェルでは出産後数ヶ月の間に母親頭部から採取した毛根部より9 cmの毛髪であり、フェロー諸島では出産後の母親毛根部3 cmないし9 cm長の毛髪と臍帯血であった。その後、両者で似通った神経発達検査も幾つか実施されたが(21-25)、ひとつの結論に到達することはなかった(40, 41)。フェロー諸島の研究グループはセイシェル小児発達研究の不確実性と過小評価について数理モデルを駆使して執拗に攻めた(42-46)。これに対し、セイシエルの研究グループは、小児の神経発達に対しメチル水銀が、ある時は正の、ある時は負の関連を示し、結果に一貫性のないことを強調し、メチル水銀の影響と称するものは“偶然”以外の何物でもないと応戦した(39, 47-49)。

この論争に終止符を打ったのは、新たに行われたセイシェル小児発達栄養研究(30, 31)であった。母子ペア229組からなる第二段のセイシェルコホート研究では魚由来の母親血漿  $n-3$  多価不飽和脂肪酸(PUFA)が小児神経発達に有益な影響を及ぼすことを立証したが、母親の出産時毛髪メチル水銀濃度影響を調整すると、その有益影響は消失することを明かした。その上、 $n-3$  PUFA 値で数理統計学的に調整すると、毛髪メチル水銀濃度と神経発達との間に有意な負の関連が見られた。この論文が示唆的であったのは、魚摂取量の増加によりセイシエルの母親の血漿  $n-3$  PUFA および毛髪メチル水銀は並行して高くなり、有意な相関(ドコサヘキサエン酸、ドコサヘキサエン酸+エイコサペンタエン酸、 $n-3$  PUFA とメチル水銀との相関係数  $r$  は各々 +0.32, +0.31, +0.31 で、 $P < 0.001$ ) を読者に示したことである。

さらなる証拠は、2001年より開始した東北コホート調査の結果である(50)。母子約500組が調査に参加し、出産直後の毛根部3 cm長の母親毛髪水銀濃度(中央値1.96, 0.29 ~ 9.35 μg/g)の他、臍帯血全血ポリ塩化ビフェニル(PCB)量、妊娠期間中の魚摂取量なども測定され、Brazelton 新生児行動評価が生後3日目に行われた。新生児行動評価の中の運動機能はメチル水銀やPCBの増加に伴い低下し、また魚摂取量が増えるとともに良好になるように思えた。これらの曝露指標と交絡因子を説

明変数とし、新生児の運動機能を目的変数とする重回帰分析を行うと、メチル水銀は有害影響を、また魚摂取量は有益影響を示したが、PCBの有意な影響は見られなかった。この研究では、魚摂取量はn-3 PUFA量を反映したと推測される。同様に、フェロー諸島出生コホート研究グループは2002年以降の論文で共分散構造分析の中に曝露指標として出産時母親毛髪水銀と臍帯血水銀濃度を、また幾つかの交絡因子の中にクジラ(や魚類)摂食回数を加えて解析し(42, 46)、結果としてn-3 PUFA量を調整していた。フェロー諸島の研究では、臍帯組織中PCB濃度は神経心理・行動学的検査成績と負の相関があるようにみえたが(0.05 < P < 0.1)、メチル水銀の影響を考慮した重回帰分析を行うと、有意なPCB影響はないと判断された(51)。すなわち、PCBの健康影響を検討した報告は幾つか存在するものの、交絡する化学物質(例えば、メチル水銀濃度)の測定を怠ると異なる結論を導いてしまうことが示唆される。

これまでセイシェル小児発達研究で一貫性のない結果が示されたのは、メチル水銀の重要な交絡因子であるn-3 PUFAやPCB指標が個々の母子ペアで測定されておらず(19, 21, 47-49)、このため重回帰モデルの説明変数にこれらの交絡因子を含まない解析を続けてきたためと推測される。毛髪水銀濃度とn-3 PUFAは有意な正の相関を示したことから(31)、メチル水銀曝露量を表す褥婦の毛髪9 cm中の総水銀濃度は、妊娠期間中のメチル水銀曝露濃度とともに、妊娠中の魚摂取量ないしn-3 PUFAを反映したと考えられる。すなわち、セイシエルの母親毛髪メチル水銀濃度は、メチル水銀値とともに魚摂取量やn-3 PUFA値を反映するので、n-3 PUFAを代表する時には小児神経発達指標に良好な影響(≒正の関連)を示し、メチル水銀を代表する時には悪影響(≒負の関連)を及ぼしたと想像するに難くない。

## V. メチル水銀の心血管系疾患リスク

メチル水銀の冠動脈疾患リスクに関して、フェロー諸島出生コホート研究およびセイシェル小児発達研究の論

争と同様の構図が見られた(Table 2)。その発端は東部フィンランドに住む男性で「魚多食ないし高い毛髪水銀濃度の人は冠動脈疾患のリスクが高い」という論文(26)が循環器系学術誌に掲載されたことによる。そして、爪水銀濃度を用いた2つの症例対照研究が2002年のNew England Journal of Medicine誌の中で対立した。主たる対象が欧州人である研究は冠動脈疾患リスクと水銀曝露との関連を支持し(27)、米合衆国男性医療従事者を対象とした研究ではこの仮説を立証できなかった(28)。その後いくつかの追跡研究が発表されたが、冠動脈疾患の発症リスクを減ずるn-3 PUFAの効用を強調する多くの論文が学界を席卷し(53-56)、メチル水銀の冠動脈疾患発症リスクや血清セレンの心血管系疾患に対する保護的作用(57)などに研究者の関心が向けられなくなってしまった。

胎児性水俣病患者において副交感神経機能が低下していた(58, 59)。フェロー諸島出生コホート研究によると、低濃度メチル水銀曝露は血圧や自律神経機能に影響した(22, 60)。同様に、臍帯組織メチル水銀濃度を曝露指標とした後向きコホート研究でも、低濃度メチル水銀が7歳児の副交感神経機能の低下と関連していた(61)。このようなメチル水銀の心血管系影響は、胎児期曝露だけでなく、成人の曝露でも観察されている(62-64)。

2006~2010年末までに発表された疫学論文の中で、介入研究は1編しかない(65)。介入研究では、メチル水銀の体内動態がこれまで検討されていたが(66-69)、メチル水銀摂取によるヒト健康影響まで検討した報告は殆どない。日本の厚生省より出されていた暫定的耐容週間摂取量(PTWI, 3.4 µg/kg 体重/週のメチル水銀量)相当のメバチマグロおよびメカジキ(体重60 kgの人で約200 g/週)を14週間摂食してもらい、食べ続けた介入群で2.30 µg/gから8.76 µg/gまで平均毛髪水銀濃度が上昇し(Fig. 1)、しかも心臓性感神経機能が日常食群(平均毛髪水銀濃度は2.1 µg/g)と比べて優位状態となった。その後マグロの摂食を止めて15週後に再調査すると平均濃度は4.90 µg/gとなり、介入群の自律神経機能に有意差は観察されなかった。なお、この介入研究では、研究開

Table 2 Risk ratios and the 95% confidence intervals (CI) of mercury exposure to coronary events

Authors	Year	Specimen	Outcome	Odds ratio	95% CI
Salonen et al. (26)	1995	Hair	MI*1	2.0	1.2~3.1
			CHD*2	2.9	1.2~6.6
Gualler et al. (27)	2002	Toe nail	MI*1	2.16	1.09~4.29
Yoshizawa et al. (28)	2002	Toe nail	CHD*2	0.97	0.63~1.50
Virtanen et al. (55)	2005	Hair	ACE*3	1.66	1.20~2.29
Mozaffarian et al. (70)	2011	Toe nail	CHD*2	0.85	0.69~1.04
			Stroke	0.84	0.62~1.14
Wennberg et al. (71)	2011	Erythrocyte	MI*1	0.61	0.86~1.21

\*1 Myocardial infarction

\*2 Coronary heart disease

\*3 Acute coronary event

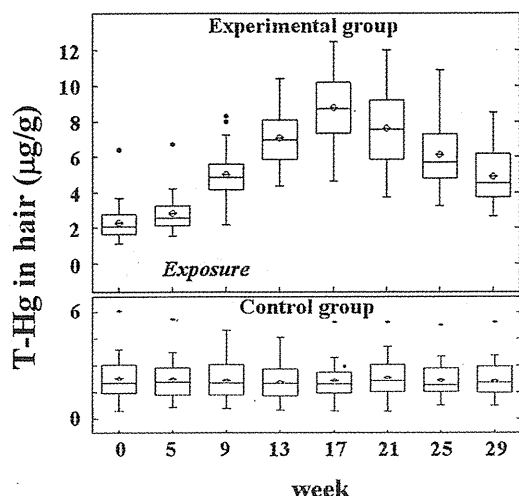


Fig. 1 Temporal changes of hair total mercury (T-Hg) concentrations (box plots) in experimental and control groups ( $n=27$  for each group) (65). Exposure indicates the period when determined amount of bigeye tuna or swordfish were consumed in the experimental group.

始 15 週目に測定した交感神経活動レベルは介入群と日常食群を合わせた 54 名で毛髪水銀と有意な用量依存関係を示した。

2011 年になって、水銀曝露と冠動脈疾患に関する nested case-control study の 2 つの研究結果が報告された (Table 2)。ひとつは米合衆国 (70) からであり、足爪をコホート研究の開始時に採取し、その水銀濃度が測定された (爪/毛髪濃度比 0.37 を用いた毛髪換算水銀濃度の中央値は患者群で 0.62  $\mu\text{g/g}$ 、対照群で 0.68  $\mu\text{g/g}$ )。もうひとつはスウェーデン北部 (71) で行われた介入研究とコホート研究の際に得られた保存赤血球の水銀濃度が測定され (Wennberg らの記した大雑把な赤血球/毛髪濃度換算式によると、中央値は患者-対照群ともに 0.6  $\mu\text{g/g}$  近傍と推定)、冠動脈疾患群と対照群の間でオッズ比が算出された。いずれの結果も、水銀曝露による冠動脈疾患発症に対する交絡因子調整済リスク比は 1 以下であり、その 95% 信頼区間は 1 を挟んでいた。これらの研究は、前述の Yaginuma-Sakurai ら (65) の結果と比べ、かなり低レベルの曝露と考えられ、しかも臨床症状がアウトカムであったことから、メチル水銀の心血管系毒性作用を否定する証拠とはなり得ない。

要約すると、高濃度メチル水銀を含有する魚を長期間多量に摂食し続けると、自律神経機能に影響が現れる可能性が示唆される。一方で「副交感神経機能低下や交感神経優位状態が心筋梗塞や突然死のリスクとなり得る」という仮説に対する反証はこれまでない。今後、メチル水銀曝露による上述の自律神経機能の変化から心疾患発症に至る病態生理学的機序を説明する研究が必要となる。

## VI. 途上国の水銀汚染による健康被害

### 1. 小規模金鉱山における水銀による環境汚染と健康影響

アマゾン川流域には小規模金鉱山が多数あり、その中で働く鉱夫で水銀蒸気曝露による視覚機能障害が報告されている。金鉱山鉱夫に及ぼす影響を電気生理学的に調べると、網膜電位の低振幅と視覚誘発電位の潜時遅延が認められ、水銀蒸気曝露による視覚神経系影響が示唆された (72)。視覚への影響は職業的に水銀蒸気曝露した労働者でも認められている。また、この地域の小規模金鉱山からの水銀放出は流域住民に水銀蒸気のみならず魚介類からのメチル水銀の曝露リスクを増加させる (73)。アマゾン川流域のコミュニティでは平均毛髪水銀が 15  $\mu\text{g/g}$  を超え、広範囲に曝露を受けている。食事からの水銀摂取量も 1-2  $\mu\text{g/kg/day}$  であり、米合衆国環境保護庁のリファレンス・ドース (RfD) 0.1  $\mu\text{g/kg/day}$  (74) や FAO/WHO (JECFA) が勧告した 0.23  $\mu\text{g/kg/day}$  (75) よりかなり高い。この水銀曝露による健康影響に関しては、成人や小児の神経行動学的異常や臨床所見も報告されている (73)。魚介類は非常に栄養価の高い食物であることから、伝統的な食習慣を維持しながら、曝露や中毒リスクを低減する現実的かつ実行可能な解決策を見つけることが緊急的課題である。

タンザニアの小規模金鉱山地区の作業者を対象に国連工業開発機構 (UNIDO) の健康評価が行われた (13)。水銀曝露 Rwanmagasa 地区で水銀を取扱わない作業者 52 名、水銀を取扱うが水銀アマルガム燃焼作業を行わない作業者 34 名、アマルガム燃焼作業者 104 名、これに対照 Katoro 地区の住民 31 名 (対照群) を加えて、神経学的、神経心理学的検査が実施された。アマルガム燃焼作業者の血中水銀濃度は平均 4.62 (0.73 ~ 6.06)  $\mu\text{g/l}$ 、尿中水銀濃度 (クレアチニン補正値, Cr) は平均 3.55 (0.12 ~ 36.8)  $\mu\text{g/g Cr}$  であった。対照群の血中水銀濃度は平均 1.05 (0.22 ~ 2.29)  $\mu\text{g/l}$ 、尿中水銀濃度は平均 0.24 (0.04 ~ 0.92)  $\mu\text{g/g Cr}$  であり、アマルガム燃焼作業の方が高値であった。アマルガム燃焼作業者の 25 名 (約 24%) に慢性水銀中毒症状である振蕩、流唾過多、運動失調、歯肉の色素沈着、感覚障害が認められた。自覚症状として、食欲不振、記憶力減退、倦怠感等を有す割合が対照群に比べて高く、しかも鉛筆タッピングやマッチ箱検査成績も対照群に比べ悪かった ( $F < 0.05$ )。タンザニアの小規模金鉱山におけるアマルガム燃焼者の水銀蒸気による健康影響は深刻であり、さらなる悪化を防止するために水銀曝露の軽減が必要である。

インドネシアの中央 Kalimantan 地区と北 Sulawesi 地区の 2 小規模金鉱山で作業者の健康評価が行われた (14)。水銀曝露を受けている地域住民 84 名、水銀による金抽出を行う作業者 47 名、アマルガム燃焼作業者 129 名、これに対照群として Sulawesi 地区住民 21 名を加えて、神経学的、神経心理学的検査を行った。両地区のアマルガム燃焼作業者の血中および尿中水銀濃度の平均は

Kalimantan 地区で 38.9  $\mu\text{g/l}$  と 69.3  $\mu\text{g/g Cr}$ , Sulawesi 地区で 27.4  $\mu\text{g/l}$  と 31.9  $\mu\text{g/g Cr}$  であり, 対照群の平均値は 4.92 (範囲, 2.36 ~ 10.1)  $\mu\text{g/l}$  と 0.43 (0.09 ~ 1.35)  $\mu\text{g/g Cr}$  であり, アマルガム燃焼作業で高かった。これら作業員には運動失調, 振戦, 拮抗運動反復不全などの典型的な水銀中毒症状が見られ, Kalimantan 地区では 62%, Sulawesi 地区では 55% のアマルガム燃焼作業員が慢性水銀中毒に罹患していた。神経心理学的検査の記憶検査, Frostig 視知覚発達検査, マッチ箱検査, 鉛筆タッピング成績のいずれも対照群と比べ, アマルガム燃焼者で有意に劣っていた。アマルガム燃焼作業員以外にも鉱山周辺の一般住民にも高い割合 (Kalimantan 地区で 31.8%, Sulawesi 地区で 16.7%) で中毒症状があったことから, 一般住民の中毒予防にはアマルガム燃焼による水銀の大気中放出量を減少させることが重要と考えられた。

ガーナでは小規模金鉱山が全国に点在し, 約 200,000 人が従事している。Talensi-Nabdam 地区の金鉱山作業員を対象として健康評価が行われた (76)。作業員 120 名中の 1/5 以上に尿中水銀値 10  $\mu\text{g/l}$  以上が認められ, 5% の作業員が WHO ガイドラインである 50  $\mu\text{g/l}$  を上回っていた。特に, アマルガム燃焼作業員 5 名の尿中水銀値は中央値 43.8  $\mu\text{g/l}$ , 平均 171.1 ( $\pm 296.5$ )  $\mu\text{g/l}$  であり, 機械操作作業員 4 名 (中央値 11.6  $\mu\text{g/l}$ ) や管理者 11 名 (中央値 5.6  $\mu\text{g/l}$ ) と比べてかなり高値であった。

米合衆国 Nevada 州にある 2 つの露天掘り金鉱 (Cortez-Pipeline 鉱山と Twin Creeks 鉱山) には高濃度の水銀を含む鉱物があり, 金採掘活動に伴い水銀が放出される。Eckley ら (77) は 2 つの金鉱からの水銀放出量を算出した。捨石 (ズリ) 集積 (0.6 ~ 3.5  $\mu\text{g Hg/g}$ ) からの水銀流出量は <1,500  $\text{ng/m}^2/\text{day}$  であり, 尾鉱 (2.8 ~ 58  $\mu\text{g Hg/g}$ ) からは 684,000  $\text{ng/m}^2/\text{day}$  であり, しかも水銀流出量は鉱物中の水銀濃度, 表面の粒径, 含水量と関連していた。最も高い水銀放出は金抽出を行う際のシアン浸出中の鉱物や加工処理した高純度鉱物を含む尾鉱を貯めている水からであった。これらの結果から鉱山敷地の埋め立てや捨石の利用中止などは水銀の放出減少に繋がった。また, 2 つの金鉱山で表面から放出される水銀量は, 鉱物や環境条件を基に計算すると, 年間 19 kg と 190 kg と推定された (78)。これらは各々の鉱山から放出される水銀の 56% と 14% に相当し, 浸出する堆積や尾鉱を貯める水にある鉱物が主な放出源であり, 水銀放出を軽減するためには採掘操作を中断するしかないと考えられた。

## 2. 小規模水銀鉱山における水銀による環境汚染と健康影響

中国貴州省には幾つか小規模の水銀鉱山が偏在しており, 周辺の環境汚染と作業員の健康影響が危惧されている。Li ら (15) は, 手掘り水銀鉱山作業員の水銀曝露を調査するために, 貴州銅仁市の濫木廠および垢溪地区で尿および毛髪水銀を測定した。垢溪地区の住民 13 名の尿中水銀濃度の幾何平均が 30.6  $\mu\text{g/g Cr}$  であるのに対し, 作

業員 25 名では 216  $\mu\text{g/g Cr}$  であり, また濫木廠の住民 12 名は 39.2  $\mu\text{g/g Cr}$ , 作業員 2 名は 560  $\mu\text{g/g Cr}$  であった。いずれの地区でも作業員の尿中水銀は高値であり, 臨床症状の手指振戦が 3 名の作業員 (垢溪地区 2 名, 濫木廠地区 1 名) で認められた。次に, 水銀鉱山周辺では食物の水銀汚染が問題視されている (79)。濫木廠の水銀鉱山地区では土壌中の水銀汚染により穀物や野菜の水銀汚染が発生している。特に, 米の中にもメチル水銀が含まれており, この地区の住民は魚介類摂取ではなく米飯によりメチル水銀曝露を受けていた。垢溪と濫木廠の両地区住民の毛髪中メチル水銀濃度は垢溪地区で平均 4.26 (1.87 ~ 10.6)  $\mu\text{g/g}$ , 濫木廠地区で 4.55 (2.29 ~ 9.55)  $\mu\text{g/g}$  であり, しかも毛髪メチル水銀濃度は米のメチル水銀摂取量との間に有意な相関 ( $r=0.73$ ) も認められた。すなわち, 手掘り水銀採掘に伴う水銀汚染は, 作業員だけでなく, 住民にも水銀蒸気やメチル水銀の複合曝露により健康リスクの増加が示された。なお, 水銀鉱山周辺で収穫された米のメチル水銀の化学形態を高速液体クロマトグラフィー/誘導結合プラズマ質量分析 (ICP-MS) 装置で解析すると, 生米のメチル水銀の化学形態は血液脳関門や胎盤関門を通過する  $\text{CH}_3\text{Hg-L-cysteine}$  型として存在した (80)。しかし, 調理後の米では  $\text{CH}_3\text{Hg-L-cysteine}$  が検出されず, 他の化学形態に変化すると考えられた。

メキシコには多くの水銀鉱山があり, Guerrero 州の北部地帯には 4 つの水銀鉱山がある。de Lourdes Soto-Rios ら (81) は, これら水銀鉱山地域に住む 12 歳以上の女性 122 名を対象に尿中水銀レベルとその変動を調査し, 汚染された土壌からの健康影響の評価を行った。土壌中水銀濃度が 625 ppb 以上の汚染地域に住む 30 歳以上の女性の尿中水銀は汚染が少ない地域の女性より 212% も高く, 歯科アマルガム充填者よりも 120% 高かった。この地域の女性の尿中水銀は 50  $\mu\text{g/g Cr}$  以上が 5%, 35  $\mu\text{g/g Cr}$  以上が 7%, 5  $\mu\text{g/g Cr}$  以上が 54% であった。この汚染地区の女性の平均尿中クレアチニンは 0.7 (0.1 ~ 3.8)  $\text{g/l}$  であり, 汚染が少ない地域の女性の平均 0.4 (0.1 ~ 2.4)  $\text{g/l}$  より 41% も高値であった。汚染地区の女性の水銀曝露には歯科アマルガム充填材, 雨水, 井戸水で洗浄した食物も寄与することが明らかであり, 鉱山周辺住民の健康維持・保護のために採掘廃棄物の管理を考慮しなければならない。

500 年以上にわたり年間 1,200 万トンの水銀鉱石を産出した旧 Idrija 水銀鉱山のあるスロベニア Idrija 地方で, 大気中水銀の発生源, 空間分布そして堆積に関する環境モニタリング調査が行われた (82)。大気中の水銀濃度は大半が 10  $\text{ng/m}^3$  以下であったが, 旧鉱山の精錬所周辺では 5,000  $\text{ng/m}^3$  を超えていた。大気中の水銀蒸気, ガス状無機水銀, 粒子状水銀を形態別に分析すると, ガス状無機水銀と粒子状水銀の割合は 1% 以下であった。大気中の粒子状水銀は降水量により変動するが, 降水中の水銀の大半は粒子性水銀であった。走査型電子顕微鏡検査を行うと, 降水中や降下物中に辰砂が存在したので, 地表

面の辰砂が風の侵食作用によって飛散したと考えられた。

スペイン Asturias 地方には世界最大規模の Almaden 水銀鉱山など幾つかの水銀鉱山があった。この地方の Mieres と Poll de Lena 地区の水銀鉱山から廃棄された水銀鉱石の表層水のモニタリングが Caudal 川集水域で実施された (83)。水銀が鉱化された地域ではヒ素の豊富な黄鉄鉱、鶏冠石、少量の硫砒鉄鉱などを含有しており、捨石集積からの鉱山排水や浸出液には酸性条件下で高濃度のヒ素を含み、Caudal 川支流に流れ込んでいた。一方、水銀鉱山地区の川上や川下の表層水中の水銀濃度は常に  $0.5 \mu\text{g/l}$  以下であり、過去の水銀採掘や廃鉱石の風化にも拘わらず、河川は水銀によってあまり汚染されていなかった。

## VII. 考 察

重化学工業化政策期に排出された水銀、鉛、カドミウム、ヒ素などの重金属の環境汚染により、人類は様々な健康問題に遭遇した (20, 84-86)。今日、先進諸国ではこれらの化学物質に対して厳しい規制を行い、また 2009 年にナイロビで開催された第 25 回国連環境計画 (UNEP) 管理理事会では水銀によるリスク削減のための法的拘束力のある「水銀条約」制定に向けた議論が交わされ、2013 年にその条約の採択・署名を目指している。にもかかわらず、水銀は自然界からの地殻ガスや化石燃料の燃焼を通して発生するので、汚染が皆無になるということはない。その結果、先進諸国では魚介類摂取による低濃度メチル水銀曝露の小児発達影響が危惧されているのである。一方の途上国では、小規模金鉱山や水銀鉱山から放出される水銀問題 (13-16, 72, 73, 76-83) の他に、昭和 30 年代のわが国のように高度経済成長という国家が掲げる政策下で大規模な環境汚染が発生する可能性も否定できない (11)。中国の液晶ディスプレイ製造工場労働者で神経障害が発生したと NHK ニュースが 2011 年 2 月に報道し、これを聞いて液晶ディスプレイ背面に使用している水銀蒸気吸入による中毒ではないかと疑ったが、その続報は途絶えている。発展途上の国において胎児性水俣病のような惨禍を避けるために、かかる危険性を早期に認知するとともに、その予防対策を講じることに注意が向けられるべきである。

現在のメチル水銀の曝露レベルは、中毒が発生した当時の水俣地域と比べて、著しく低い (38)。その曝露レベルをさらに低減するためには魚介類摂取を止めるか低濃度魚のみ選択的に食べるしかなく、我々の食生活そのものを貧相にしてしまう。今回の研究を通してメチル水銀のヒトへの影響を概観すると、マグロや歯クジラなど高濃度のメチル水銀を含む魚介類を多食し続ける集団で様々な神経発達影響が見え隠れする (22, 23, 62, 65)。先進諸国でメチル水銀曝露による臨床症状が観察されたとする報告は近年見られないが (18, 19, 87)、メチル水銀以外の要因を考慮すると、軽微な無症候性影響は現れる

(25, 31, 50, 60)。そのような軽微な影響は臨床医にとって殆ど意味を持たないが、有害影響が現れ始める曝露濃度 (臨界濃度) の解析や当該物質の発症リスクに関する情報の収集・蓄積は予防医学にとって不可欠である。今後の研究はまさに低濃度曝露による健康影響であり、その検出は一層の困難を窮めることが予想されよう (すなわち、相関係数が統計的に有意であっても、一次回帰式の回帰係数値は極めて小さい)。にもかかわらず、有害性が疑われている化学物質においては、曝露評価とともに、ヒト生体に起こっている些細な影響評価を地道に実施していかなければならない。

2000 年前後より、わが国でも出生コホート研究が行われるようになり、その先鞭をつけたのは「東北コホート調査」(52) と「環境と子どもの健康に関する北海道スタディ」(88-90) であった。北海道スタディは主に環境化学物質による次世代影響として、泌尿生殖器系の先天異常、神経行動発達、甲状腺機能への影響、免疫・アレルギー性疾患等に焦点を当てて実施しており、化学物質曝露としては主にダイオキシン類、PCB、有機フッ素化合物、水銀、妊婦の喫煙などを測定し、研究成果を発表している (91-96)。ただ、我々が見落としただけかもしれないが、メチル水銀影響に関する報告はない。東北コホート調査も様々な化学物質の曝露を検討しているが、常にメチル水銀や PCB 曝露による小児発達影響を睨んでおり、神経発達指標の測定を行える適齢期に合わせて検査を継続している。今回紹介した研究成果 (50) は発達段階にある一時期に測定された神経発達影響の解析結果であり、今後も徐々に研究成果が出てくるであろう。さらに、2011 年 2 月に入ってから環境省「子どもの健康と環境に関する全国調査 (エコチル調査)」(97) の 15 地域ユニットセンターが出生コホートの対象者を本格的に募集し始めた。したがって、わが国でもエコチル調査で行われる環境曝露評価 (生体試料、食事調査、質問票調査、生活環境測定) と健康影響評価により、環境中の有害化学物質の小児に及ぼす影響の全レベルの実態が明らかにされよう。ただ、2011 年 3 月 11 日に発生した東日本大震災 (大津波) とそれに付随して発生した東京電力福島第一原子力発電所崩壊からの放射能汚染の影響が被災地を対象とする 2 ユニットセンターの活動に大きく波及しないことを祈るのみである。

出産時に採取した母体血は、原則的には母親の曝露指標用であり、出生児の曝露状況を反映するかどうかは別問題である (98)。母体血と臍帯血の胎盤経由の各種重金属の移行を調べた研究が最近報告された (99)。九州のある産婦人科医院に通院している出産前 1 週間の妊婦の血液と臍帯血 (81 ペア) が収集され、赤血球中の水銀、鉛、カドミウム、ヒ素、セレン濃度が測定された (Table 3)。これらの母子間の値はいずれも正の相関が見られ、母体赤血球濃度が高いほど臍帯血赤血球濃度も高くなることが示された。また、いずれの重金属も母子間で有意な濃度差が認められ、水銀とセレンは臍帯血赤血球濃度の

**Table 3 Concentrations (Mean ± SD, ng/g) in maternal and cord red blood cells (RBCs), the cord/maternal ratios, and the correlation coefficients of mercury, lead, arsenic, cadmium, and selenium in 81 pairs (99)**

	Mercury	Lead	Cadmium	Arsenic	Selenium
Concentration in maternal RBCs	9.41 ± 4.19	26.4 ± 9.74	1.97 ± 0.72	6.16 ± 3.40	192 ± 25.1
Concentration in cord RBCs	15.3 ± 7.43	13.2 ± 4.12	0.22 ± 0.20	3.76 ± 2.27	227 ± 33.9
Cord/maternal RBCs ratio	1.63 ± 0.28	0.52 ± 0.11	0.12 ± 0.08	0.62 ± 0.17	1.18 ± 0.11
Correlation coefficient (r)	0.91**	0.79**	0.31*	0.89**	0.76**

\*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ .

方が母体血赤血球濃度より高かった。このため、臍帯と母体の赤血球濃度比は水銀とセレンで1より大きくなり、これら2金属の胎児への胎盤移行度は高いと推定された。メチル水銀は必須アミノ酸と結合した形で胎児に選択的に移行するものの(100, 101)、母親から児へのメチル水銀の移行度は母子ペアで大きく異なっていた(29)。セレンはSakamotoらの報告(99)と同様の結果もあるが(102)、逆に臍帯血セレンが母体血セレンよりも低いとする結果(103, 104)もあり、人種や食習慣の相違によって異なるかもしれない。一方、カドミウムの胎盤経路の移行はこれら金属の中で最も低く、同様の報告は多数ある(103, 105-110)。胎盤でのカドミウム蓄積量が母体血や臍帯血よりも高いことはよく知られており(105, 109, 111)、これは胎盤で発現するメタロチオネンがカドミウムを捕捉することによる(112-114)。以上より、臍帯血の代りに母体血を採取し、その濃度を胎児期の曝露指標として使用することの可否は検討する有害化学物質と影響指標によって異なるようである。すなわち、胎盤血流に起因すると考えられる影響指標(出生体重など)に対しては母体血の曝露指標が有用であるが(88, 95)、発達段階にある神経系などの影響指標に対しては臍帯由来の曝露指標の方が推奨されよう(29)。実際、小児の心臓性自律神経機能に及ぼすメチル水銀影響は臍帯血水銀濃度や臍帯組織メチル水銀濃度で有意な関連を示したが、母親毛髪水銀濃度では有意とならなかった(22, 61)。

必須金属であるセレンは魚介類(115-117)のほか穀類や肉(118)からも摂取される。このため、魚を食べる習慣のある集団では血液中の水銀とセレンが正の相関を示す(115, 119, 120)。セレンはグルタチオンペルオキシダーゼやチオレドキシニンレダクターゼの抗酸化酵素の構成成分として重要な役割を果たすと考えられている(121)。加えて、多くの動物実験の結果から、水銀と共存する、あるいは同時に投与されたセレンは無機水銀やメチル水銀の毒性を減弱させることが認められており(122-126)、ヒトでもその効果が期待されている。しかし、フェロー諸島出生コホート研究ではセレンがメチル水銀の神経毒性に対する保護作用を示す証拠は示されなかった(127)、心血管系疾患に対してセレンの役割が不明瞭であった(70, 71)。魚介類は、メチル水銀のみならず、PCBなどの発達毒性を示す有機塩素化合物や、セ

レンと同様にメチル水銀毒性に拮抗する作用が期待されるn-3 PUFAも含む。また、セレンは無機セレンの他に、セレノシステイン、セレノメチオニン、セレノプロテインあるいはセレノネインなど多様な形態がある。どの形態がメチル水銀に対する防御的役割を担うのかを含め、魚介類摂取に伴うメチル水銀の評価を慎重に行う必要がある。

神経系に影響する有害化学物質として、メチル水銀のほかに、鉛、ヒ素、マンガンなどが知られている(59, 128-130)。1990年代には10 µg/dl以下の血中鉛であれば小児への影響はないと考えられ(131)、メチル水銀の神経発達影響に関する出生コホート研究で低濃度であった鉛は重回帰分析の説明変数から除外された(18, 19)。2000年代になって、Canfieldらは172名の子ども達の血中鉛を経時的に測定し(132)、5歳児の知能指数(IQ)が血中鉛濃度10 µg/dl以下で直線的かつ急激に低下し、それ以上の血中鉛濃度ではIQの低下が緩やかになると報じた。その後、血中鉛濃度5 µg/dl前後から小児の神経影響が現れ始めると考えられるようになり(128, 133, 134)、鉛とメチル水銀の同時曝露による神経影響について再検討することが必要となってきた。Yorifujiら(135)はフェロー諸島出生コホートの胎児期メチル水銀曝露を調整した後の鉛影響を解析し、臍帯血鉛(集団平均1.6 µg/dl、最大値11 µg/dl)が認知機能に有害影響を及ぼすことを報告した。しかし、鉛がメチル水銀の神経毒性に対し相補的あるいは単独で作用するのかどうかについては今後さらに検討する余地があろう。いずれにしても、低濃度曝露による神経影響を評価する際には、単にメチル水銀とその交絡因子を解析するのではなく、関連する有害化学物質も併せて分析する姿勢が望まれよう。

毒性研究を解釈するにあたり、過去に示された臨界濃度域を含まない集団を用いてリスク評価(特に、量-反応評価)した研究には注意が必要である。この種の論文はデータ信頼性の指標として大きな標本数を強調する。例えば、魚摂取に由来する水銀曝露が冠動脈疾患や心筋梗塞発作の発症に影響を及ぼす証拠はないと結論したMozaffarianらが解析に用いた米合衆国男性は51, 529名、女性121, 700名(実際のnested case-control studyでは3, 427名)であるが、最も高い5分位集団の毛髪換算水銀の中央値は2.70 µg/gであった(70)。National Academy of Scienceはメチル水銀の臨界濃度を毛髪水銀で11 µg/g



としている(20)。また、血中鉛濃度3.63~9.99 µg/dl群は1.94 µg/dl未満群に比べて心血管系死亡リスクが1.55倍(95%信頼区間1.08~2.24)であると報告したMenkeらの対象者数は13,946名であった(136,137)。これらの統計解析に問題があるとは思わないが、著名雑誌であるNew England Journal of Medicineに掲載された有料でないAbstractの結論(70)を読んだ一般人がメチル水銀を多く含む魚を多食するようになるかもしれない。すなわち、毒性物質の量-反応評価は過去に提示された臨界濃度を含む曝露データの中で検討されるべきであり、そうでない評価は一般人に「百害あって一利なし」となる恐れもある。

今後のメチル水銀の疫学研究として、耐容週間摂取量(TWI)を算出する際のone compartment pharmacokinetic modelに使われる生物学的半減期や毛髪/血液濃度比などの仮説を再検討することが挙げられるかもしれない。メチル水銀の生物学的半減期は、これまで2つの論文で算出された52±4(標準誤差)日(68)と50±1日(69)の値から50日とされ、上のモデルの排出定数として0.014(=ln2/50)が使われている。実際には、イラクで高濃度メチル水銀曝露を受けた患者で算出した生物学的半減期72日や(138)、魚摂取を介して高濃度メチル水銀に曝露したボランティアから算出された半減期80日も存在する(67)。また、メチル水銀の毛髪/血液濃度比は、過去に報告された値は140~370であり、250が一般に用いられている(74,75,139)。しかし、フェロー諸島出生コホートの7歳と14歳児の濃度比は中央値で370と264であった(140)。また、スウェーデン成人の中央値は373であり(141)、日本人妊婦の平均値は約350であった(142)。このように、最近報告された毛髪/血液濃度比は過去に算出された値と大きく乖離している可能性があるが、メチル水銀のPTWIやTWI算出に際して保守的な値が使われている(75)。したがって、どの値が薬物動態学的に最適であるのか吟味する研究は将来のリスク管理に不可欠であろう。

## VIII. 結 語

PubMedを用いて最近のメチル水銀に関する疫学研究を概観し、以下の結論を得た。①2008年以降、メチル水銀を扱った論文の中で疫学研究の割合は減少傾向にある。②魚摂取による胎児期メチル水銀影響は、例え低濃度であっても、PCBや妊娠中の母親魚摂取量を調整すると小児発達に軽微のマイナス影響を及ぼす。③メバチマグロやメカジキのような高濃度メチル水銀を含む魚を長期間多量に摂食し続けると交感副交感神経バランスの不均衡に由来する心疾患の潜在的リスクを高める可能性がある。④1945~89年に水俣地域で生まれた住民から収集した臍帯組織のメチル水銀レベルを測定すると、1 µg/g以上に高くなった濃度は主に1947~68年に生まれた住民で観察され、そのピークは水俣におけるアセトアルデ

ヒド生産量のピークと一致していた。⑤いくつかの途上国は日本の高度経済成長期の重化学工業生産の活動状況と酷似しており、そのような国々では、危険物質の早期認知とともに、それに対する予防対策に注意を払う必要がある。

## 謝 辞

本研究は環境省受託研究「重金属等の健康影響に関する総合研究(平成22年度,平成23年度)」の研究費補助(日本エヌ・ユー・エス株式会社)を受けた。

## 文 献

- (1) 原田正純. 水俣病. 東京:岩波書店, 1972.
- (2) 有馬澄雄(編). 水俣病—20年の研究と今日の課題. 東京:青林舎, 1979.
- (3) 水俣病に関する社会科学的研究会. 水俣病の悲劇を繰り返さないために—水俣病の経験から学ぶもの—. 水俣:国立水俣病総合研究センター, 1999.
- (4) Kurland LT, Faro SN, Siedler H. Minamata disease. World Neurology. 1960;1:370-395.
- (5) Nishigaki S, Harada M. Methylmercury and selenium in umbilical cords of inhabitants of the Minamata area. Nature. 1975;258:324-325.
- (6) Igata A. Epidemiological and clinical features of Minamata disease. Environ Res. 1993;63:157-169.
- (7) Watanabe C, Satoh H. Evolution of our understanding of methylmercury as a health threat. Environ Health Perspect. 1996;104(suppl 2):367-379.
- (8) Tsuda T, Yorifuji T, Takao S, Miyai M, Babazono A. Minamata disease: catastrophic poisoning due to a failed public health response. J Public Health Policy. 2009;30:54-67.
- (9) Grandjean P, Satoh H, Murata K, Eto K. Adverse effects of methylmercury: environmental health research implications. Environ Health Perspect. 2010;118:1137-1145.
- (10) Grandjean P, Choi AL, Weihe P, Murata K. Methylmercury neurotoxicology: from rare poisonings to silent pandemic. In: Wang C, Slikker W Jr, eds. Developmental Neurotoxicology Research: Principles, Models, Techniques, Strategies, and Mechanisms. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc., 2011:335-356.
- (11) Murata K, Sakamoto M. Minamata disease. In: Nriagu JO ed. Encyclopedia of Environmental Health, volume 3. Burlington: Elsevier, 2011:774-780.
- (12) Airaksinen R, Turunen AW, Rantakokko P, Mannisto S, Vartiainen T, Verkasalo PK. Blood concentration of methylmercury in relation to food consumption. Public Health Nutr. 2010;14:480-489.
- (13) Bose-O'Reilly S, Drasch G, Beinhoff C, Tesha A, Drasch K, Roeder G, Taylor H, Appleton D, Siebert U. Health assessment of artisanal gold miners in Tanzania. Sci Total Environ. 2010;408:796-805.
- (14) Bose-O'Reilly S, Drasch G, Beinhoff C, Rodrigues-Filho

- S, Roider G, Lettmeier B, Maydl A, Maydl S, Siebert U. Health assessment of artisanal gold miners in Indonesia. *Sci Total Environ.* 2010;408:713-725.
- (15) Li P, Feng X, Shang L, Qiu G, Meng B, Zhang H, Guo Y, Liang P. Human co-exposure to mercury vapor and methylmercury in artisanal mercury mining areas, Guizhou, China. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2011;74:473-479.
- (16) Iwata T, Sakamoto M, Feng X, Yoshida M, Liu X-J, Dakeishi M, Li P, Qiu G, Jiang H, Nakamura M, Murata K. Effects of mercury vapor exposure on neuromotor function in Chinese miners and smelters. *Int Arch Occup Environ Health.* 2007;80:381-387.
- (17) Grandjean P, Wiehe P, Jørgensen PJ, Clarkson T, Cernichiari E, Viderø T. Impact of maternal seafood diet on fetal exposure to mercury, selenium, and lead. *Arch Environ Health.* 1992;47:185-195.
- (18) Grandjean P, Weihe P, White RF, Debes F, Araki S, Yokoyama K, Murata K, Sørensen N, Dahl R, Jørgensen PJ. Cognitive deficit in 7-year-old children with prenatal exposure to methylmercury. *Neurotoxicol Teratol.* 1997;19:417-428.
- (19) Davidson PW, Myers GJ, Cox C, Axtell C, Shamlaye C, Sloane-Reeves J, Cernichiari E, Needham L, Choi A, Wang Y, Berlin M, Clarkson TW. Effects of prenatal and postnatal methylmercury exposure from fish consumption on neurodevelopment: outcomes at 66 months of age in the Seychelles child development study. *JAMA.* 1998;280:701-707.
- (20) National Research Council. *Toxicological Effects of Methylmercury.* Washington, DC: National Academy Press, 2000.
- (21) Myers GJ, Davidson PW, Cox C, Shamlaye CF, Palumbo D, Cernichiari E, Slone-Reeves J, Wilding GE, Kost J, Huang LS, Clarkson TW. Prenatal methylmercury exposure from ocean fish consumption in the Seychelles child development study. *Lancet.* 2003;361:1686-1692.
- (22) Grandjean P, Murata K, Budtz-Jørgensen E, Weihe P. Cardiac autonomic activity in methylmercury neurotoxicity: 14-year follow-up of a Faroese birth cohort. *J Pediatr.* 2004;144:169-176.
- (23) Murata K, Wiehe P, Budtz-Jørgensen E, Jørgensen PJ, Grandjean P. Delayed brainstem auditory evoked potential latencies in 14-year-old children exposed to methylmercury. *J Pediatr.* 2004;144:177-183.
- (24) 村田勝敬, 巖石美和子. 胎児性メチル水銀曝露の小児発達影響と臨界濃度—セイシェルおよびフェロー諸島の研究を中心に—. *日衛誌* 2005;60:4-14.
- (25) Debes F, Budtz-Jørgensen E, Weihe P, White RF, Grandjean P. Impact of prenatal methylmercury exposure on neurobehavioral function at age 14 years. *Neurotoxicol Teratol.* 2006;28:536-547.
- (26) Salonen JT, Seppanen K, Nyyssonen K, Korpela H, Kauhanen J, Kantola M, Tuomilehto J, Esterbauer H, Tatzber F, Salonen R. Intake of mercury from fish, lipid peroxidation, and the risk of myocardial infarction and coronary, cardiovascular, and any death in eastern Finnish men. *Circulation.* 1995;91:645-655.
- (27) Guallar E, Sanz-Gallardo MI, van't Veer PV, Bode P, Aro A, Gomez-Aracena J, Kark JD, Riemersma RA, Martin-Moreno JM, Kok FJ. Mercury, fish oils, and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med.* 2002;347:1747-1754.
- (28) Yoshizawa K, Rimm EB, Morris JS, Spate VL, Hsieh CC, Spiegelman D, Stampfer MJ, Willett WC. Mercury and the risk of coronary heart disease in men. *N Engl J Med.* 2002;347:1755-1760.
- (29) 村田勝敬, 巖石美和子, 島田美幸, 佐藤 洋. メチル水銀の胎児期曝露の生体指標としての臍帯水銀濃度の有用性の検討. *日衛誌* 2007;62:949-959.
- (30) Davidson PW, Strain JJ, Myers GJ, Thurston SW, Bonham MP, Shamlaye CF, Stokes-Riner A, Wallace JM, Robson PJ, Duffy EM, Georger LA, Sloane-Reeves J, Cernichiari E, Canfield RL, Cox C, Huang LS, Janciusas J, Clarkson TW. Neurodevelopmental effects of maternal nutritional status and exposure to methylmercury from eating fish during pregnancy. *Neurotoxicology.* 2008;29:767-775.
- (31) Strain JJ, Davidson PW, Bonham MP, Duffy EM, Stokes-Riner A, Thurston SW, Wallace J, Robson PJ, Shamlaye CF, Georger LA, Sloane-Reeves J, Cernichiari E, Canfield RI, Cox C, Huan LS, Janciusas J, Myers GJ, Clarkson TW. Associations of maternal long-chain polyunsaturated fatty acids, methyl mercury, and infant development in the Seychelles child development nutrition study. *Neurotoxicology.* 2008;29:776-782.
- (32) Bakir F, Damluji SF, Amin-Zaki L, Murtadha M, Khalidi A, al-Rawi NY, Tikriti S, Dahahir HI, Clarkson TW, Smith JC, Doherty RA. Methylmercury poisoning in Iraq. *Science.* 1973;181:230-241.
- (33) Marsh DO, Clarkson TW, Cox C, Myers GJ, Amin-Zaki L, Al-Tikriti S. Fetal methylmercury poisoning. Relationship between concentration in single strands of maternal hair and child effects. *Arch Neurol.* 1987;44:1017-1022.
- (34) Cox C, Clarkson TW, Marsh DO, Amin-Zaki L, Tikriti S, Myers GG. Dose-response analysis of infants prenatally exposed to methyl mercury: an application of a single compartment model to single-strand hair analysis. *Environ Res.* 1989;49:318-332.
- (35) Akagi H, Grandjean P, Takizawa Y, Weihe P. Methylmercury dose estimation from umbilical cord concentrations in patients with Minamata disease. *Environ Res.* 1998;77:98-103.
- (36) Harada M, Akagi H, Tsuda T, Kizaki T, Ohno H. Methylmercury level in umbilical cords from patients with congenital Minamata disease. *Sci Total Environ.* 1999;234:59-62.
- (37) Yorifuji T, Kashima S, Tsuda T, Harada M. What has methylmercury in umbilical cords told us?—Minamata disease. *Sci Total Environ.* 2009;408:272-276.
- (38) Sakamoto M, Murata K, Tsuruta K, Miyamoto K, Akagi H. Retrospective study on temporal and regional variations of methylmercury concentrations in preserved umbilical cords collected from inhabitants of the Minamata area, Japan. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2010;73:1144-1149.
- (39) Myers GJ, Thurston SW, Pearson AT, Davidson PW, Cox



- C, Shamlaye CF, Cernichiari E, Clarkson TW. Postnatal exposure to methyl mercury from fish consumption: a review and new data from the Seychelles Child Development Study. *Neurotoxicology*. 2009;30:338-349.
- (40) Keiding N, Budtz-Jørgensen E, Grandjean P. Prenatal methylmercury exposure in the Seychelles. *Lancet*. 2003;362:664-665.
- (41) Myers G, Cox C, Davidson PW, Huang LS, Clarkson TW. Author's reply. *Lancet*. 2003;362:665.
- (42) Budtz-Jørgensen E, Keiding N, Grandjean P, Weihe P. Estimation of health effects of prenatal methylmercury exposure using structural equation models. *Environ Health*. 2002;1:2.
- (43) Budtz-Jørgensen E, Keiding N, Grandjean P, Weihe P, White RF. Consequences of exposure measurement error for confounder identification in environmental epidemiology. *Stat Med*. 2003;22:3089-3100.
- (44) Grandjean P, Budtz-Jørgensen E, Keiding N, Weihe P. Underestimation of risk due to exposure misclassification. *Eur J Oncol*. 2003;Suppl. 2:165-172.
- (45) Budtz-Jørgensen E, Keiding N, Grandjean P, Weihe P. Confounder selection in environmental epidemiology: assessment of health effects of prenatal mercury exposure. *Ann Epidemiol*. 2007;17:27-35.
- (46) Budtz-Jørgensen E, Grandjean P, Weihe P. Separation of risks and benefits of seafood intake. *Environ Health Perspect*. 2007;115:323-327.
- (47) Thurston SW, Bovet P, Myers GJ, Davidson PW, Georger LA, Shamlaye C, Clarkson TW. Does prenatal methylmercury exposure from fish consumption affect blood pressure in childhood? *Neurotoxicology*. 2007;28:924-930.
- (48) Davidson PW, Sloane-Reeves J, Myers GJ, Hansen ON, Huang LS, Georger LA, Cox C, Thurston SW, Shamlaye CF, Clarkson TW. Association between prenatal exposure to methylmercury and visuospatial ability at 10.7 years in the Seychelles child development study. *Neurotoxicology*. 2008;29:453-459.
- (49) van Wijngaarden E, Myers GJ, Thurston SW, Shamlaye CF, Davidson PW. Interpreting epidemiological evidence in the presence of multiple endpoints: an alternative analytic approach using the 9-year follow-up of the Seychelles child development study. *Int Arch Occup Environ Health*. 2009;82:1031-1041.
- (50) Suzuki K, Nakai K, Sugawara T, Nakamura T, Ohba T, Shimada M, Hosokawa T, Okamura K, Sakai T, Kurokawa N, Murata K, Satoh C, Satoh H. Neurobehavioral effects of prenatal exposure to methylmercury and PCBs and seafood intake: neonatal behavioral assessment scale results of Tohoku study of child development. *Environ Res*. 2010;110:699-704.
- (51) Grandjean P, Weihe P, Burse VW, Needham LL, Storr-Hansen E, Heinzow B, Debes F, Murata K, Simonsen H, Ellefsen P, Budtz-Jørgensen E, Keiding N, White RF. Neurobehavioral deficits associated with PCB in 7-year-old children prenatally exposed to seafood neurotoxicants. *Neurotoxicol Teratol*. 2001;23:305-317.
- (52) 仲井邦彦, 中村朋之, 村田勝敬, 佐藤 洋. 東北コホート調査と曝露評価. *日衛誌* 2009;64:749-758.
- (53) Rissanen T, Voutilainen S, Nyysönen K, Lakka TA, Salonen JT. Fish oil-derived fatty acids, docosahexaenoic acid and docosapentaenoic acid, and the risk of acute coronary events: the Kuopio ischaemic heart disease risk factor study. *Circulation*. 2000;102:2677-2679.
- (54) Hallgren CG, Hallmans G, Jansson JH, Marklund SL, Huhtasaari F, Schütz A, Strömberg U, Vessby B, Skerfving S. Markers of high fish intake are associated with decreased risk of a first myocardial infarction. *Br J Nutr*. 2001;86:397-404.
- (55) Virtanen JK, Voutilainen S, Rissanen TH, Mursu J, Tuomainen TP, Korhonen MJ, Valkonen VP, Seppänen K, Laukkanen JA, Salonen JT. Mercury, fish oils, and risk of acute coronary events and cardiovascular disease, coronary heart disease, and all-cause mortality in men in eastern Finland. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25:228-233.
- (56) Wang C, Harris WS, Chung M, Lichtenstein AH, Balk EM, Kupelnick B, Jordan HS, Lau J. *n-3* Fatty acids from fish or fish-oil supplements, but not  $\alpha$ -linolenic acid, benefit cardiovascular disease outcomes in primary- and secondary-prevention studies: a systematic review. *Am J Clin Nutr*. 2006;84:5-17.
- (57) Lubos E, Sinning CR, Schnabel RB, Wild PS, Zeller T, Rupprecht HJ, Bickel C, Lackner KJ, Peetz D, Loscalzo J, Münzel T, Blankenberg S. Serum selenium and prognosis in cardiovascular disease: results from the AtheroGene study. *Atherosclerosis*. 2010;209:271-277.
- (58) Oka T, Matsukura M, Okamoto M, Harada N, Kitano T, Miike T, Futatsuka M. Autonomic nervous functions in fetal type Minamata disease patients: assessment of heart rate variability. *Tohoku J Exp Med*. 2002;198:215-221.
- (59) Murata K, Grandjean P, Dakeishi M. Neurophysiological evidence of methylmercury neurotoxicity. *Am J Ind Med*. 2007;50:764-771.
- (60) Sørensen N, Murata K, Budtz-Jørgensen E, Weihe P, Grandjean P. Prenatal methylmercury exposure as a cardiovascular risk factor at seven years of age. *Epidemiology*. 1999;10:370-375.
- (61) Murata K, Sakamoto M, Nakai K, Dakeishi M, Iwata T, Liu XJ, Satoh H. Subclinical effects of prenatal methylmercury exposure on cardiac autonomic function in Japanese children. *Int Arch Occup Environ Health*. 2006;79:379-386.
- (62) Choi AL, Weihe P, Budtz-Jørgensen E, Jørgensen PJ, Salonen JT, Tuomainen TP, Murata K, Nielsen HP, Petersen MS, Askham J, Grandjean P. Methylmercury exposure and adverse cardiovascular effects in Faroese whalingmen. *Environ Health Perspect*. 2009;117:367-372.
- (63) Valera B, Dewailly E, Poirier P. Environmental mercury exposure and blood pressure among Nunavik inuit adults. *Hypertension*. 2009;54:981-986.
- (64) Lim S, Chung H-U, Paek D. Low dose mercury and heart rate variability among community residents nearby to an industrial complex in Korea. *Neurotoxicology*. 2010;31:10-16.

- (65) Yaginuma-Sakurai K, Murata K, Shimada M, Nakai K, Kurokawa N, Kameo S, Satoh H. Intervention study on cardiac autonomic nervous effects of methylmercury from seafood. *Neurotoxicol Teratol.* 2010;32:450-455.
- (66) Miettinen JK, Rahola T, Hattura T, Rissanen K, Tillander M. Elimination of <sup>203</sup>Hg-methylmercury in man. *Ann Clin Res.* 1971;3:116-122.
- (67) Birke G, Johnels AG, Plantin LO, Sjostrand B, Skerfving S, Westermark T. Studies on humans exposed to methylmercury through fish consumption. *Arch Environ Health.* 1972;25:77-91.
- (68) Kershaw TG, Clarkson TW, Dahir PH. The relationship between blood levels and dose of methylmercury in man. *Arch Environ Health.* 1980;35:28-36.
- (69) Sherlock J, Hislop J, Newton D, Topping G, Whittle K. Elevation of mercury in human blood from controlled chronic ingestion of methylmercury in fish. *Hum Toxicol.* 1984;3:117-131.
- (70) Mozaffarian D, Shi P, Morris JS, Spiegelman D, Grandjean P, Siscovick D, Willett WC, Rimm EB. Mercury exposure and risk of cardiovascular disease in two U.S. cohorts. *N Engl J Med.* 2011;364:1116-1125.
- (71) Wennberg M, Bergdahl IA, Hallmans G, Norberg M, Lundh T, Skerfving S, Strömberg U, Vessby B, Jansson J-H. Fish consumption and myocardial infarction: a second prospective biomarker study from northern Sweden. *Am J Clin Nutr.* 2011;93:27-36.
- (72) da Costa GM, dos Anjos LM, Souza GS, Gomes BD, Saito CA, Pinheiro Mda C, Ventura DF, da Silva Filho M, Silveira LC. Mercury toxicity in Amazon gold miners: visual dysfunction assessed by retinal and cortical electrophysiology. *Environ Res.* 2008;107:98-107.
- (73) Passos CJS, Mergler D. Human mercury exposure and adverse health effects in the Amazon: a review. *Cad Saude Publica.* 2008;24 suppl 4:s503-520.
- (74) US Environmental Protection Agency (EPA). Water Quality Criterion for the Protection of Human Health: Methylmercury, Final. EPA-823-R-01-001. Washington, DC: EPA, 2001.
- (75) Joint Food and Agriculture Organization/World Health Organization Expert Committee on Food Additives (JECFA). Summary Report of the Sixty-first JECFA Meeting. Geneva: WHO, 2003.
- (76) Paruchuri Y, Siuniak A, Johnson N, Levin E, Mitchell K, Goodrich JM, Renne EP, Basu N. Occupational and environmental mercury exposure among small-scale gold miners in the Talensi-Nabdam district of Ghana's upper east region. *Sci Total Environ.* 2010;408:6079-6085.
- (77) Eckley CS, Gustin M, Marsik F, Miller MB. Measurement of surface mercury fluxes at active industrial gold mines in Nevada (USA). *Sci Total Environ.* 2011;409:514-522.
- (78) Eckley CS, Gustin M, Miller MB, Marsik F. Scaling non-point-source mercury emissions from two active industrial gold mines: influential variable and annual emission estimates. *Environ Sci Technol.* 2011;45:392-399.
- (79) Li P, Feng X, Qiu G, Shang L, Li G. Human hair mercury levels in the Wanshan mercury mining area, Guizhou Province, China. *Environ Geochem Health.* 2009;31:683-691.
- (80) Li L, Wang F, Meng B, Lemes M, Feng X, Jiang G. Speciation of methylmercury in rice grown from a mercury mining area. *Environ Pollut.* 2010;158:3103-3107.
- (81) de Lourdes Soto-Ríos M, Rothenberg SJ, Juárez-Pérez CA, Aguilar-Madrid G. Variability of mercury in urine among Mexican women residing in a mining area. *J Occup Environ Med.* 2010;52:62-66.
- (82) Kocman D, Vreca P, Fajon V, Horvat M. Atmospheric distribution and deposition of mercury in the Idrija Hg mine region, Slovenia. *Environ Res.* 2011;111:1-9.
- (83) Loredó J, Petit-Domínguez MD, Ordóñez A, Galán MP, Fernández-Martínez R, Alvarez R, Rucandio MI. Surface water monitoring in the mercury mining district of Asturias (Spain). *J Hazard Mater.* 2010;176:323-332.
- (84) Tsuji JS, Benson R, Schoof RA, Hook GC. Health effect levels for risk assessment of childhood exposure to arsenic. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2004;39:99-110.
- (85) Akesson A, Bjellerup P, Lundh T, Lidfeldt J, Nerbrand C, Samsioe G, Skerfving S, Vahter M. Cadmium-induced effects on bone in a population-based study of women. *Environ Health Perspect.* 2006;114:830-834.
- (86) Chen A, Cai B, Dietrich KN, Radcliffe J, Rogan WJ. Lead exposure, IQ, and behavior in urban 5- to 7-year-olds: does lead affect behavior only by lowering IQ? *Pediatrics.* 2007;119:e650-658.
- (87) Murata K, Sakamoto M, Nakai K, Weihe P, Dakeishi M, Iwata T, Liu XJ, Ohno T, Kurosawa T, Kamiya K, Satoh H. Effects of methylmercury on neurodevelopment in Japanese children in relation to the Madeiran study. *Int Arch Occup Environ Health.* 2004;77:571-579.
- (88) 佐々木成子, 岸 玲子. 遺伝的感受性素因の重要性—母の喫煙が子どもの胎内発育に及ぼす影響—. *日衛誌* 2009;64:759-764.
- (89) 中島そのみ, 岸 玲子. 環境と子どもの健康に関するコホート研究について—子ども発達評価その課題—. *日衛誌* 2009;64:765-773.
- (90) 湯浅資之, 岸 玲子. 前向き出生コホート研究の現状と課題—「環境と子どもの健康に関する北海道スタディ」を基に—. *日衛誌* 2009;64:774-781.
- (91) Sasaki S, Kondo T, Sata F, Saijo Y, Katoh S, Nakajima S, Ishizuka M, Fujita S, Kishi R. Maternal smoking during pregnancy and genetic polymorphisms in the Ah receptor, CYP1A1 and GSTM1 affect infant birth size in Japanese subjects. *Mol Hum Reprod.* 2006;12:77-83.
- (92) Sata F, Yamada H, Suzuki K, Saijo Y, Yamada T, Minakami H, Kishi R. Functional maternal catechol-O-methyltransferase polymorphism and fetal growth restriction. *Pharmacogenet Genomics.* 2006;16:775-781.
- (93) Sasaki S, Sata F, Katoh S, Saijo Y, Nakajima S, Washino N, Konishi K, Ban S, Ishizuka M, Kishi R. Adverse birth outcomes associated with maternal smoking and polymorphisms in the N-nitrosamine-metabolizing enzyme genes NQO1 and CYP2E1. *Am J Epidemiol.* 2008;167:719-726.
- (94) Washino N, Saijo Y, Sasaki S, Kato S, Ban S, Konishi K,

- Ito R, Nakata A, Iwasaki Y, Saito K, Nakazawa H, Kishi R. Correlations between prenatal exposure to perfluorinated chemicals and reduced fetal growth. *Environ Health Perspect.* 2009;117:660-667.
- (95) Konishi K, Sasaki S, Kato S, Ban S, Washino N, Kajiwara J, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Yasutake D, Kishi R. Prenatal exposure to PCDDs/PCDFs and dioxin-like PCBs in relation to birth weight. *Environ Res.* 2009;109:906-913.
- (96) Miyashita C, Sasaki S, Saijo Y, Washino N, Okada E, Kobayashi S, Konishi K, Kajiwara J, Todaka T, Kishi R. Effects of prenatal exposure to dioxin-like compounds on allergies and infections during infancy. *Environ Res.* 2011;111:551-558.
- (97) 長谷川学, 塚本直也. 小児環境保健疫学調査への取組—子どもの発育に影響を与える環境リスクを明らかにするために—. *日衛誌* 2009;64:782-785.
- (98) Needham LL, Grandjean P, Heinzow B, Jørgensen PJ, Nielsen F, Patterson DG Jr, Sjödin A, Turner WE, Weihe P. Partition of environmental chemicals between maternal and fetal blood and tissues. *Environ Sci Technol.* 2011;45:1121-1126.
- (99) Sakamoto M, Murata K, Kubota M, Nakai K, Satoh H. Mercury and heavy metal profiles of maternal and umbilical cord RBCs in Japanese population. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2010;73:1-6.
- (100) Aschner M, Clarkson TW. Distribution of mercury 203 in pregnant rats and their fetuses following systemic infusions with thiol-containing amino acids and glutathione during late gestation. *Teratology.* 1988;38:145-155.
- (101) Kajiwara Y, Yasutake A, Adachi T, Hirayama K. Methylmercury transport across the placenta via neutral amino acid carrier. *Arch Toxicol.* 1996;70:310-314.
- (102) Kantola M, Purkunen R, Kroger P, Tooming A, Juravskaja J, Pasanen M, Seppanen K, Saarikoski S, Vartiainen T. Selenium in pregnancy: is selenium an active defective ion against environmental chemical stress? *Environ Res.* 2004;96:51-61.
- (103) Osman K, Akesson A, Berglund M, Bremme K, Schutz A, Ask K, Vahter M. Toxic and essential elements in placentas of Swedish women. *Clin Biochem.* 2000;33:131-138.
- (104) Al-Saleh E, Nandakumaran M, Al-Shammari M, Al-Harouny A. Assessment of maternal-fetal status of some essential trace elements in pregnant women in late gestation: relationship with birth weight and placental weight. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2004;16:9-14.
- (105) Tsuchiya H, Mitani K, Kodama K, Nakata T. Placental transfer of heavy metals in normal pregnant Japanese women. *Arch Environ Health.* 1984;39:11-17.
- (106) Korpela H, Loueniva R, Yrjanheikki E, Kauppila A. Lead and cadmium concentrations in maternal and umbilical cord blood, amniotic fluid, placenta, and amniotic membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1986;155:1086-1089.
- (107) Soong YK, Tseng R, Liu C, Lin PW. Lead, cadmium, arsenic, and mercury levels in maternal and fetal cord blood. *J Formos Med Assoc.* 1991;90:59-65.
- (108) Plockinger B, Dadak C, Meisinger V. Lead, mercury and cadmium in newborn infants and their mothers. *Z Geburtshilfe Perinatol.* 1993;197:104-107.
- (109) Baranowska I. Lead and cadmium in human placentas and maternal and neonatal blood (in a heavily polluted area) measured by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Occup Environ Med.* 1995;52:229-232.
- (110) Iyengar GV, Rapp A. Human placenta as a 'dual' biomarker for monitoring fetal and maternal environment with special reference to potentially toxic trace elements. Part 1: physiology, function and sampling of placenta for elemental characterization. *Sci Total Environ.* 2001;280:195-206.
- (111) Breen JG, Eisenmann C, Horowitz S, Miller RK. Cell-specific increases in metallothionein expression in the human placenta perfused with cadmium. *Reprod Toxicol.* 1944;8:297-306.
- (112) Itoh N, Fujita Y, Nakanishi H, Kawai Y, Mayumi T, Hwang GS, Min K, Onosaka S, Muto N, Tanaka K. Binding of Cd to metallothionein in the placenta of Cd-treated mouse. *J Toxicol Sci.* 1996;21:19-27.
- (113) Ronco AM, Arguello G, Suazo M, Llanos MN. Increased levels of metallothionein in placenta of smokers. *Toxicology.* 2005;208:133-139.
- (114) Kippler M, Hoque AMW, Raqib R, Öhrvik H, Ekström EC, Vahter M. Accumulation of cadmium in human placenta interacts with the transport of micronutrients to the fetus. *Toxicol Lett.* 2010;192:162-168.
- (115) Svensson BG, Schütz A, Nilsson A, Akesson I, Akesson B, Skerfving S. Fish as a source of exposure to mercury and selenium. *Sci Total Environ.* 1992;126:61-74.
- (116) Svensson BG, Nilsson A, Jonsson E, Schütz A, Akesson B, Hagmar L. Fish consumption and exposure to persistent organochlorine compounds, mercury, selenium and methylamines among Swedish fishermen. *Scand J Work Environ Health.* 1995;21:96-105.
- (117) Karita K, Suzuki T. Fish eating and variations in selenium and mercury levels in plasma and erythrocytes in free-living healthy Japanese men. *Biol Trace Elem Res.* 2002;90:71-81.
- (118) Gonzalez S, Huerta JM, Fernandez S, Patterson AM, Lasheras C. Food intake and serum selenium concentration in elderly people. *Ann Nutr Metab.* 2006;50:126-131.
- (119) Barany E, Bergdahl IA, Bratteby LE, Lundh T, Samuelson G, Skerfving S, Oskarsson A. Mercury and selenium in whole blood and serum in relation to fish consumption and amalgam fillings in adolescents. *J Trace Elem Med Biol.* 2003;17:165-170.
- (120) Bates CJ, Prentice A, Birch MC, Delves HT, Sinclair KA. Blood indices of selenium and mercury, and their correlations with fish intake, in young people living in Britain. *Br J Nutr.* 2006;96:523-531.
- (121) Tapiero H, Townsend DM, Tew KD. The antioxidant role of selenium and seleno-compounds. *Biomed Pharmacother.* 2003;57:134-144.
- (122) Ganther HE, Goudie C, Sunde ML, Kopecky MJ, Wagner P. Selenium: relation to decreased toxicity of methylmer-

- cury added to diets containing tuna. *Science*. 1972;175: 1122-1124.
- (123) El-Begearmi MM, Ganther HE, Sunde ML. Dietary interaction between methylmercury, selenium, arsenic, and sulfur amino acids in Japanese quail. *Poult Sci*. 1982;61: 272-279.
- (124) Satoh H, Yasuda N, Shimai S. Development of reflexes in neonatal mice prenatally exposed to methylmercury and selenite. *Toxicol Lett*. 1985;25:199-203.
- (125) Fredriksson A, Gårdlund AT, Bergman K, Oskarsson A, Ohlin B, Danielsson B, Archer T. Effects of maternal dietary supplementation with selenite on the postnatal development of rat offspring exposed to methyl mercury in utero. *Pharmacol Toxicol*. 1993;72:377-382.
- (126) Beyrouy P, Chan HM. Co-consumption of selenium and vitamin E altered the reproductive and developmental toxicity of methylmercury in rats. *Neurotoxicol Teratol*. 2006;28:49-58.
- (127) Choi AL, Budtz-Jørgensen E, Jørgensen PJ, Steuerwald U, Debes F, Weihe P, Grandjean P. Selenium as a potential protective factor against mercury developmental neurotoxicity. *Environ Res*. 2008;144:177-183.
- (128) Murata K, Iwata T, Dakeishi M, Karita K. Lead toxicity: does the critical level of lead resulting in adverse effects differ between adults and children? *J Occup Health*. 2009; 51:1-12.
- (129) Dakeishi M, Murata K, Grandjean P. Long-term consequences of arsenic poisoning during infancy due to contaminated milk powder. *Environ Health*. 2006;5:31.
- (130) Wasserman GA, Liu X, Parvez F, Ahsan H, Levy D, Factor-Litvak P, Kline J, van Geen A, Slavkovich V, Lolocono NJ, Cheng Z, Zheng Y, Graziano JH. Water manganese exposure and children's intellectual function in Araihazar, Bangladesh. *Environ Health Perspect*. 2006; 114:124-129.
- (131) World Health Organization (WHO). *Environmental Health Criteria 165: Inorganic Lead*. Geneva: WHO, 1995.
- (132) Canfield RL, Henderson CR Jr, Cory-Slechta DA, Cox C, Jusko TA, Lanphear BP. Intellectual impairment in children with blood lead concentrations below 10 µg per deciliter. *N Engl J Med*. 2003;348:1517-1526.
- (133) Surkan PJ, Zhang A, Tranchtenberg F, Daniel DB, McKinlay S, Bellinger DC. Neuropsychological function in children with blood lead levels <10 µg/dl. *Neurotoxicology*. 2007;28:1170-1177.
- (134) Jusko TA, Henderson CR, Lanphear BP, Cory-Slechta DA, Parsons PJ, Canfield RL. Blood lead concentrations <10 µg/dl and child intelligence at 6 years of age. *Environ Health Perspect*. 2008;116:243-248.
- (135) Yorifuji T, Debes F, Weihe P, Grandjean P. Prenatal exposure to lead and cognitive deficit in 7- and 14-year-old children in the presence of concomitant exposure to similar molar concentration of methylmercury. *Neurotoxicol Teratol*. 2011;33:205-211.
- (136) Menke A, Muntner P, Batuman V, Silbergeld EK, Guallar E. Blood lead below 0.48 micromol/L (10 microg/dL) and mortality among US adults. *Circulation*. 2006;114:1388-1394.
- (137) 村田勝敬, 荻田香苗, 堀口兵剛, 岩田豊人, 広瀬明彦. ベンチマークドーズ法の臨床的基準をもつ健康影響指標への適用. *産衛誌* 2011;53:67-77.
- (138) Al-Shahristani H, Shihab KM. Variation of biological half-life of methylmercury in man. *Arch Environ Health*. 1974;28:342-344.
- (139) World Health Organization (WHO). *Environmental Health Criteria 101: Methylmercury*. Geneva: WHO, 1990.
- (140) Budtz-Jørgensen E, Grandjean P, Jørgensen PJ, Weihe P, Keiding N. Association between mercury concentrations in blood and hair in methylmercury-exposed subjects at different ages. *Environ Res*. 2004;95:385-393.
- (141) Berglund M, Lind B, Björnberg KA, Palm B, Einarsson Ö, Vahter M. Inter-individual variations of human mercury exposure biomarkers: a cross-sectional assessment. *Environ Health*. 2005;4:20.
- (142) Sakamoto M, Kaneoka T, Murata K, Nakai K, Satoh H, Akagi H. Correlations between mercury concentrations in umbilical cord tissue and other biomarkers of fetal exposure to methylmercury in the Japanese population. *Environ Res*. 2007;103:106-111.

## 東日本大震災特集

### 被災地公務員の心的負担

村田勝敬

秋田大学大学院医学系研究科環境保健学講座

#### ■ プロローグ

2009年頃の日本学術会議の子どもの健康分科会で環境リスクについて触れ、その中で「子どもの放射線被曝からの予防は、まさに原子力発電所の安全基準および安全対策に取り組む国家の威信に関わる問題である。すなわち、地震などの自然災害時、あるいは原子力発電所で働く人々のヒューマンエラーが発生した時にどれ程の安全性が保証されるのかが問われる。チェルノブイリ原発事故の経験を共有している世界に向けて、万一いまままでに経験したことのない強い地震であったので、放射性物質が大気中に放出したという弁解が発せられるとするならば、恥の上塗り以外の何物でもない」と警告した。これが現実味を帯びたのは2011年3月11日であった。

その日は東京出張の予定であったが、翌日に行われる秋田大学後期入学試験の準備を理由に、結果として、2分以上続く震度5強の横揺れに学内で遭遇した。建物が揺れ始め、10秒も経たないうちにコンピュータ画面は真黒になった。秋田県内はその後30時間以上停電が続いたが、緊急時や停電時には解錠されると大学当局が説明していた非常用ドアは余震の続くあいだ開かずのままであった。また、帰宅難民にならずに済んだが、秋田県内のJR線、遠距離バス、飛行機は全て止まり、陸の孤島と化した。乾電池式ラジオから流れるNHK第一放送の地震情報と言え、一度聞けば理解できる県内の些細な震災状況をエンドレステープの如く繰り返していた。

#### ■ 東日本大震災

東日本大震災の全体像—東北地方沿岸部の大津波や福島第一原発崩壊など—の情報を知ったのは震災翌日の午後7時のテレビニュースが観られるようになってからであった。停電中に行われた後期入学試験に来た受験生には八戸、仙台、千葉、大阪の出身者がおり、彼等が無事帰宅できるだろうか、そればかりを面接試験終了の夕方まで心配した。ひとりの面接者は「君は春休みに復旧ボランティア活動に参加するつもりはあるか?」と、未だ震災被害の把握もできていない状況で質問していた。

東北大学医学系研究科は、人的被害こそなかったそうだが、8階に位置する環境保健医学教室は書庫の本、測定機器、コンピュータなどが足の踏み場もないくらいに床に落下したと聞いた。また、同教室は昨年夏より東北コホート調査で東北沿岸部に住む7歳児の神経発達影響の評価を行っており<sup>1)</sup>、現地事務所で働いている検査者の安否が気になった。被災直後に携帯メールをすると、検査者たちは津波を避けるために市立病院に避難したとの返事であったが、連絡はその後途絶えた。東京出張中に帰宅困難者になられた東北大学の佐藤 洋教授から「山形県米沢市から仙台市に移動する」とのメールが震災後3日目に

届き、安否を気遣っておられた人々にこの旨をお伝えした。さらに2日ほどして、現地事務所は大津波で1.5m程度浸水した旨の連絡が届いた。現地は大津波警報が発令されていたため、検査者は個人情報や一部データの入った外部記憶装置を持参して避難したという。しかし、震災前に測定していた子ども達の脳波検査データは脳波計・コンピュータの水没(写真1)とともに消えてしまった!

大津波後に放映されるニュース画像は惨憺たるものであった(写真2)。日毎に増える死者数の合間に、震災後10日近く経て生存が確認された若者の画像は、あたかも戦後復興期の逞しさすら感じさせた。しかしながら、連日のテレビ報道の中で日増しに気掛かりになってきたのは、岩手、宮城、福島の沿岸部市町村職員の健康状態であった。津波により家屋を失った避難住民の世話を24時間行っているものの、職員自身の家族や家屋も震災・津波・放射線被曝の犠牲になっている人もいるであろう。支援物資が十分に届かない中で、公僕ということで自らの生命を縮めても良いと言うのであろうか。一方、「私にできることはないのか?」と自問が続いた。

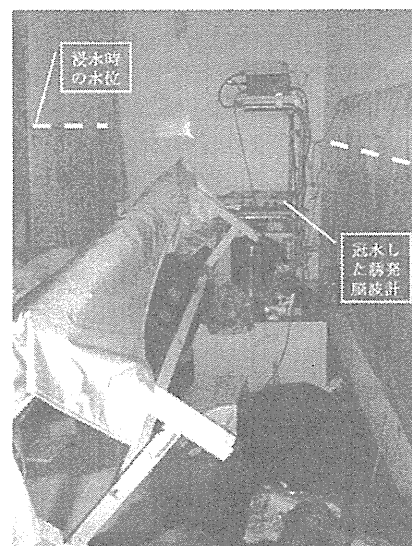


写真1



写真2

### ■ 過重労働の健康影響

Sokejima & Kagamimori は、急性心筋梗塞患者 195 名と年齢、職業を一致させた心疾患を有さない対照群 331 名の患者対照研究を行った<sup>2)</sup>。心筋梗塞患者群では高血圧、血清コレステロール高値、耐糖能異常、肥満、喫煙の割合が高く、一方、精神的ストレスには差が認められなかった。発症前 1 ヶ月の就労時間でも患者群と対照群で有意差は認められなかった。就労が 1 日平均 7-9 時間の労働者群の発症リスクを 1 とした時、平均 11 時間以上の労働者群の急性心筋梗塞の発症リスク比は 2.44 (95%信頼区間, 1.26-4.73) であり、また 7 時間未満の労働者群の発症リスク比も 3.07 (同, 1.77-5.32) であった。すなわち、平均就労時間と急性心筋梗塞の発症リスクの関係は U 字曲線であるものの、残業時間の延長に伴って発症リスクは増加する。

2006 年 3 月 17 日の基発第 0317008 号の「過重労働による健康障害防止のための総合対策」が発せられ、その中で「過重労働による業務上の疾病を発生させた事業場であって労働基準関係法令違反が認められるものについては、司法処分を含めて厳正に対処する」と記されている。このためか、厚生労働省は「長時間労働者に対する医師による面接指導制度の認知別事業所割合」を発表している。もっとも、2010 年 7 月 29 日の朝日新聞によると、前年度の中央省庁における月平均残業時間は旧労働省系が 73.4 時間、旧厚生省系が 71.1 時間、経済産業省が 45.9 時間であった。これら過重労働の職員に対して制度下の面接指導を実施したのか、また過労死が発生した場合、誰（所轄大臣？）を処分するのか国民に明示して頂きたいと思う。もし「省庁は本制度下でない」と放言するならば、それは正に“お役所仕事”の典型例となる。

いずれの被災地でも市町村職員の多くは過重労働者と言える状況にあるだろう。私が被災地で調べたいと思ったのは職員の睡眠時間と心的負荷についてであった。これは以下の根拠による。7 時間睡眠群の対照群と比較して、平均睡眠時間が 5 時間以下の成人の冠動脈性心疾患死亡リスクは 1.57 倍 (95%信頼区間, 1.32-1.88) 高くなり、また 9 時間以上の睡眠群で 1.79 倍 (同, 1.48-2.17) 高くなると報じられている<sup>3)</sup>。同様に、閉経後の米国女性を対象にした睡眠研究でも似通った数値が報告されている<sup>4)</sup>。すなわち、睡眠不足も寝過ぎも冠動脈性心疾患発症のリスクを高めるということにある<sup>5)</sup>。また、Jouven らはフランス・パリ市在住の健康障害症状を持たない男性労働者 5,713 名で、かつ臨床的に検出可能な心血管疾患のなかった人達を約 23 年間にわたり追跡調査した結果を、世界的に有名な米国医学雑誌に発表した<sup>6)</sup>。主たる結果は、75 以上の安静時心拍数を持ったヒトは心筋梗塞による突然死の発症リスクが、心拍数 60 未満のヒトと比べて、3.92 倍 (95%信頼区間, 1.91-8.00) 高くなるというものであった。すなわち、安静時心拍数が 75 より高いかどうかは、将来の突然死を左右する可能性があるかもしれないのである。フランスの労働者が我が国の労働条件や日常生活に合致するかどうかについて吟味する必要があるものの、安静時心拍数の意義を考える上で重要なエビデンス（証拠）である。

### ■ ボランティア活動

ガソリン事情も多少良くなった 4 月初旬、東北大学の仲井邦彦教授から沿岸部自治体に家庭用血圧計を届けに行きませんかとお誘いのメールがあった。前述の東北コホート調査で子どもの家庭血圧を測定しているが、震災に際して血圧計の提供を受けていたオムロンヘルスケア社より支援の申し出があり、沿岸部自治体に届けることになったのである。医師として診療活動に携わることは能力的に無理であるが、自治体職員の健康状態を把握することはできるかもしれないと考え、手持ちの血圧測定装置と自律神経機能測定用心電計を準備し、ボランティア特別休暇（4 月 8-10 日）を大学に提出した。申請した翌日の 7 日夜半、第二波と思われる大余震（仙台で震度 6 強）が東北地方を襲い、東北電力管内は一斉停電に陥った。秋田の停電は 8 日の正午前に復旧したが、東北自動車道の水沢-平泉間はしばらくのあいだ通行止めとなった。このため、8 日は秋田に留まり、9 日朝秋田自動車道～東北自動車道を走って水沢インターまで移動し、そこから震災で壊れた橋を回避しながら一般道を通ってボランティアセンターのある市民健康管理センターに入った。しかし、関東地方から東京都衛生局、聖マリアンナ医科大学ほか、多くの医療チームが同センター近くに既に居を構え（写真 3）、私が自治体職員の健康を把握するための店開きをする余地はなかった。震災直後はカップ麺などが職員の唯一の食料であり、その後全国から送られてきた缶詰製品、菓子類、ペットボトル飲料を食しておられたが、震災前の食事とは程遠いものであろう。

役場の健康増進課と打合わせの後、オムロンヘルスケア社から預かった自動血圧計を陸前階上駅近くの避難所に届けた。この辺りは海岸線に沿って電車が走っているが、線路が根こそぎ津波に攫われている箇所も散見された。被災者が 400 名近くいるこの避難所には体育館の片隅に診療室が設けられ、3 名の看護師が交替で大半の医療業務を支えていた。また、市医師会に所属する 2 名の医師も時折回診されていると聞いた。高血圧症をもつ高齢者の多くは家庭用血圧計で自己管理していたが、被災時に家財道具とともに血圧計も流失してしまい、（避難所の診療室入口付近に自動血圧計は設置されていたが）自らの血圧管理を実行しづらい状況にあった。血圧計はそのような血圧計を失った被災者に配布されたが、この程度の規模の避難所でも 62 名の希望者がいた。血圧計の取扱い操作を説明する際に一

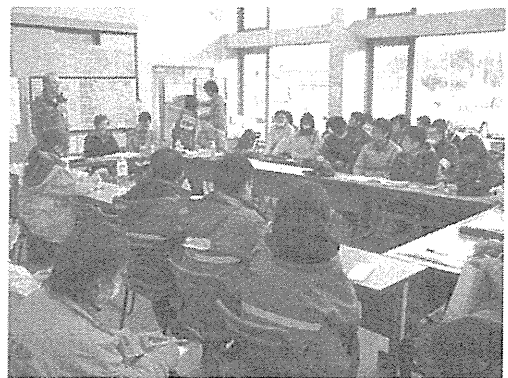


写真 3





写真 4

人の被災者を測ると、収縮期血圧 195 mmHg, 拡張期血圧 110 mmHg, 心拍数 96 とかなり高かった。大勢の被災者がプライバシーのない広い体育館に 4 週間近くも寝泊まりし、止まぬ余震、寒さ、低栄養からくるストレス下で生活していると、自ずと血圧も脈拍数も上がってくるに違いない。看護師の話では、まもなく間仕切り用段ボールが届く予定とのことだった。

津波後の光景を自分の目で直接確認すると想像を絶するものがある。南三陸町や仙台市若林区などでは多くの住宅が平地にあり、隣接する住居の大半が壊滅状態となった。一方、私が見た市街地には起伏があり、例えば港と小高い所にある役場までの道路約 500 m を車で通過すると、港付近の木造家屋は全壊、その途中は床上浸水や半壊、役場近くでは無傷のままであった。緩やかな坂道の上下関係は津波の被災状況にも差をもたらし、日々挨拶を交わしていた隣人同士の感情にも影響を及ぼしかねない。また、JR 大船渡線に沿って陸前高田方向に移動すると、鹿折唐桑駅がある。この地域は湾の奥座敷に相当し、最大級の津波被害とともに、港湾にあった船舶用燃料タンクの火災も重なり、あたかも焦土と化していた。その中に目を凝らすと、背景色と同じ色の服を着た自衛官や警察官が被災者の捜索にあたっていた (写真 4)。

#### ■ エピローグ

災害関連死は、被災後の数こそ減少しつつあるものの、5 月 13 日現在で 500 名を超えたと言う。死因の多くは循環器疾患であり、また 7 割強は 60 歳以上の高齢者であった。これらの人々の健康管理を担うのは、正に地域医療そのものである。一方、東京電力福島第一、第二原子力発電所の非常勤産業医でもある愛媛大学の谷川 武教授は、現地で日夜働いている東京電力社員の健康管理に尽力されている。しかしながら、被災地元で働いている地方公務員の過重労働の実態は把握されているのであろうか。国・地方行政の被災地復興に向けた計画立案が

終わり、その描かれた図面に従って邁進し始める頃が彼等の心労の極限になるかもしれない。この場合、虚血性心疾患や脳卒中に対して特別の注意を払わねばならないが、彼等の保健指導を誰が行うのか。今、被災地の医療施設が徐々に復旧し、全国各地から集まっていた医療チームが被災地を離れている。“過労死”というのは日本人の心を震撼する言葉のひとつであるが、もし被災地の地方公務員ばかりがその犠牲になることがあるならば、それはあまりに哀しい話となろう。

#### ■ 文 献

- 1) Nakai K, Suzuki K, Oka T, et al. The Tohoku Study of Child Development: a cohort study of effects of perinatal exposure to methylmercury and environmental persistent organic pollutants on neurobehavioral development in Japanese children. *Tohoku J Exp Med* 2004; 202: 31-9.
- 2) Sokejima S, Kagamimori S. Working hours as a risk factor for acute myocardial infarction in Japan: case-control study. *BMJ* 1998; 317: 775-80.
- 3) Shankar A, Koh WP, Yuan JM, Lee HP, Yu MC. Sleep duration and coronary heart disease mortality among Chinese adults in Singapore: a population-based cohort study. *Am J Epidemiol* 2008; 168: 1367-73.
- 4) Chen JC, Brunner RL, Ren H, et al. Sleep duration and risk of ischemic stroke in postmenopausal women. *Stroke* 2008; 39: 3185-92.
- 5) Cappuccio FP, D'Elia L, Strazzullo P, Miller MA. Sleep duration and all-cause mortality: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Sleep* 2010; 33: 585-92.
- 6) Jouven X, Empana J-P, Schwartz PJ, et al. Heart-rate profile during exercise as a predictor of sudden death. *N Engl J Med* 2005; 352: 1951-8.



## Prenatal exposures to environmental chemicals and birth order as risk factors for child behavior problems <sup>☆</sup>

Nozomi Tatsuta <sup>a</sup>, Kunihiro Nakai <sup>a</sup>, Katsuyuki Murata <sup>b</sup>, Keita Suzuki <sup>a</sup>, Miyuki Iwai-Shimada <sup>a</sup>, Kozue Yaginuma-Sakurai <sup>a</sup>, Naoyuki Kurokawa <sup>a</sup>, Tomoyuki Nakamura <sup>a</sup>, Toru Hosokawa <sup>c</sup>, Hiroshi Satoh <sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Environmental Health Sciences, Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai 980-8575, Japan

<sup>b</sup> Environmental Health Sciences, Akita University Graduate School of Medicine, Akita 010-8543, Japan

<sup>c</sup> Human Development and Disabilities, Tohoku University Graduate School of Education, Sendai 980-8576, Japan

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 6 July 2011

Received in revised form

13 January 2012

Accepted 6 February 2012

#### Keywords:

Child behavior problems

Birth order

Polychlorinated biphenyls

Methylmercury

Lead

### ABSTRACT

**Objectives:** To assess whether polychlorinated biphenyls (PCBs), methylmercury, lead, or parental child-rearing attitudes was most crucial for maladaptive behavior problems, we examined Japanese 30-month-old children followed up from pregnancy.

**Methods:** The Child Behavior Checklist (CBCL) was used to assess the behavior problems in 306 children. The associations of cord-blood total PCBs ( $\Sigma$ PCB), total mercury (THg), and lead with each CBCL subscale were examined by multivariate analyses.

**Results:** The median values in cord blood of the 306 children were 48.3 (5 and 95 percentiles, 18.6–116.3) ng/g-lipid for  $\Sigma$ PCB, 10.2 (4.1–24.5) ng/g for THg, and 1.0 (0.5–1.7)  $\mu$ g/dl for lead. The internalizing score of the CBCL was significantly correlated with  $\Sigma$ PCB ( $r=0.113$ ) in the children, though no significant correlation was seen between any CBCL score and either THg or lead. The significant correlation disappeared when conducting multiple regression analysis with possible confounders; at that time, the birth order, home environment, and maternal intelligence quotient were significantly related to the internalizing score. Three CBCL scores and  $\Sigma$ PCB levels were significantly higher in the first-born children than in the second-born or following children, and the partial correlation coefficient with the adjustment for all confounders except birth order was significant between the internalizing score and  $\Sigma$ PCB in the latter children ( $r=0.175$ ).

**Conclusions:** Internalizing behavior appears to be affected by prenatal exposure to PCBs at low levels. Under lower-level exposures, however, behavior problems may be more strongly associated with parental child-rearing attitudes involved in birth order, than with such hazardous chemicals.

© 2012 Elsevier Inc. All rights reserved.

### 1. Introduction

Polychlorinated biphenyls (PCBs), methylmercury (MeHg), lead, and parental child-rearing attitudes have been suggested as the causes inducing behavioral problems such as attention deficit/hyperactivity disorder (ADHD) of children in the literature, but which of them has the most crucial effect is unclear. For

instance, the impact of perinatal exposure to PCBs on neurobehavioral and neuropsychological functions remains controversial. The adverse effects of PCBs on child neurodevelopment were demonstrated by cohort studies in Michigan (Jacobson and Jacobson, 1996), Oswego (Stewart et al., 2008), the Netherlands (Patandin et al., 1999), and Germany (Walkowiak et al., 2001). In the North Carolina cohort, the effects of perinatal exposure to PCBs changed with time (Rogan et al., 1986; Rogan and Gladen, 1992); i.e., significant associations observed in neonates and 2-year-old children disappeared when the subjects became three to five years old. In contrast, some cohort studies failed to find a significant link between perinatal exposure to PCBs and neurobehavioral endpoints (Grandjean et al., 2001; Daniels et al., 2003; Suzuki et al., 2010). There are several possible reasons for these inconsistent results. In some studies, the other toxic chemicals, e.g. MeHg and lead, were not simultaneously assessed. The neurodevelopmental outcomes used may have been reversible

<sup>☆</sup> **Funding source:** This research was funded by the Japan Ministry of Health, Labor and Welfare and the Ministry of the Environment. The funding sources had no role in the study protocol, in the collection, analysis, and interpretation of data, in the writing of the report, or in the decision to submit the paper for publication. For this reason, the findings and conclusions of this article are solely the responsibility of the authors and do not represent the official views of the above government agencies. All procedures of this study were approved by the Medical Ethics Committee of the Tohoku University Graduate School of Medicine.

\* Corresponding author. Fax: +81 22 717 8106.

E-mail address: [h.satoh@ehs.med.tohoku.ac.jp](mailto:h.satoh@ehs.med.tohoku.ac.jp) (H. Satoh).

in childhood. In addition, nutrients such as polyunsaturated fatty acids (PUFAs) and selenium might affect the outcomes.

Perinatal exposures to MeHg and lead are known to restrain child neurodevelopment. Although the conclusions on the effect of prenatal MeHg exposure at hair levels of less than 40  $\mu\text{g/g}$  differed between the Faroes birth cohort study and the Seychelles child development study (Grandjean et al., 1997; Davidson et al., 1998), the addition of maternal fish intake or *n*-3 PUFA at parturition as confounders elicited the developmental toxicity of MeHg (Budtz-Jørgensen et al., 2002; Strain et al., 2008). Blood lead has been reported to induce lower intelligence quotient (IQ) and ADHD scores in children (Lanphear et al., 2005; Roy et al., 2009). Thus, all crucial chemicals must be considered at the stage of the study design because developmental effects of environmental exposures to such chemicals at low levels are very delicate. Namely, a research model with concomitant exposures is necessary for assessing subtle effects on child development.

Of the various kinds of behavioral tests, the Child Behavior Checklist (CBCL) can evaluate maladaptive behavioral and emotional functioning of children (Visser et al., 2006), and has been used to assess the effects of each of PCBs, MeHg, and lead on behavior problems (Davidson et al., 1998; Wasserman et al., 1998; Burns et al., 1999; Myers et al., 2000, 2009). Apart from behavioral effects of hazardous chemicals, one study using the CBCL reported that more behavior problems in school-aged children were associated with first-born children (Wasserman et al., 1998). Thus, our attention was directed to possible confounders affecting child behavior, along with toxic substances. We have conducted the Tohoku Study of Child Development (TSCD), focusing on both the potential risks and benefits of fish intake during pregnancy (Nakai et al., 2004). In the present study, the CBCL was employed to clarify whether prenatal low-level exposures to PCBs, MeHg, and lead affected behavior in 30-month-old children. Whether the links between such concomitant exposures and behavior problems were distorted by a certain confounder such as birth order or home environment was also investigated.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Study design and subjects

The study protocol of the TSCD has been described elsewhere (Nakai et al., 2004). The medical ethics committee of the Tohoku University Graduate School of Medicine approved this protocol. The research field was comprised of two areas, an urban area and a coastal area in the Tohoku district of Japan (Suzuki et al., 2010), but the subjects in the urban area were employed in this study because their  $\Sigma\text{PCB}$  concentrations in cord blood had already been determined. To establish an optimal study population, the eligibility criteria included a singleton pregnancy, Japanese as the mother tongue, and neonates born at term (36–42 weeks of gestation) with birth weight of more than 2400 g and no congenital anomalies or diseases. Information about pregnancy, delivery and the characteristics of infants at birth was obtained from medical records.

We enrolled 687 pregnant women with their written informed consent to participate in this study, and 599 mother–child pairs were registered according to the eligibility criteria. The CBCL was sent to the mothers when their children became 30 months old. Of the 506 CBCL sheets sent back, 455 had complete data. Finally, 306 complete data sets on  $\Sigma\text{PCB}$ , total mercury (THg), and lead concentrations in cord blood, maternal seafood intake, and possible confounders such as the home environment and maternal IQ, in addition to the CBCL, were available for the present study population.

### 2.2. Exposure markers

Umbilical cord blood was obtained immediately after birth, and stored at  $-80^\circ\text{C}$  until analysis. All 209 PCB congeners were analyzed by high-resolution gas chromatography and high-resolution mass spectrometry using the isotope dilution method. Laboratory analytical methods and quality control procedures were described elsewhere (Suzuki et al., 2010). All sample analyses were performed by IDEA Consultants, Inc. (Tokyo, Japan) and Shimadzu Techno-Research, Inc. (Kyoto,

Japan). The quality of PCB analyses in these laboratories was validated using an external quality assurance program (Nakamura et al., 2008). The calculated limit of detection (LOD) was 0.03  $\mu\text{g/g-wet}$ , which was identified by the signal-to-noise ratio. The amounts of congeners below the LOD were set at zero. The  $\Sigma\text{PCB}$  concentration represents the sum of the all measured congeners, expressed as  $\text{ng/g-lipid}$ .

THg and lead concentrations in whole cord blood collected after delivery were analyzed by IDEA Consultants, Inc., using cold vapor atomic absorption spectrometry and inductively coupled plasma mass spectrometry, respectively (Suzuki et al., 2010). The data quality was validated by external quality assurance programs.

Maternal fish intake was estimated from a food frequency questionnaire (FFQ) consisting of 122 individual foods, recipes, and 13 additional items regarding fish and shellfish. Detailed information on eating frequency and the amounts of 13 specific seafood types has already been reported (Suzuki et al., 2010). The FFQ was administered four days after delivery. Trained examiners showed a real-size photograph of each food to the mothers, and they answered about the frequency and the amount of intake per meal. Total seafood intake ( $\text{kg/year}$ ) was calculated as the sum of the intake of the 13 seafood types.

### 2.3. Outcome variables

The CBCL/2–3, designed to obtain parental ratings of problem behaviors in 2- to 3-year-old children (Achenbach, 1992), was applied to our 30-month-old children. We used the Japanese-version of the CBCL/2–3 (Nakata et al., 1999). Ninety-nine items of the CBCL/2–3 describing different behavior problems were classified under seven major problems. Of them, three scores were used, i.e., the externalizing score (oppositional, aggressive, and overactive problem) and internalizing score (withdrawn and anxious problems), as well as the total CBCL score. These were converted to age-standardized scores (*T* scores having a mean=50 and  $\text{SD}=10$ ). *T*-scores of 60–63 and of more than 63 on the total CBCL score were regarded as the borderline range and the clinical range, respectively.

### 2.4. Possible confounders

Major potential confounders included child age in the month at examination, birth weight, child gender, maternal age at parturition, delivery type, birth order (first-born or not), drinking and smoking habits during pregnancy, and the duration of breastfeeding. The maternal IQ was evaluated using the Raven standard progressive matrices (Raven, 1958). We employed the raw score because it has not been standardized in Japan. The home environment was assessed using the Evaluation of Environmental Stimulation (EES) (Anme et al., 1986), i.e., a modified version of the Home Observation for Measurement of the Environment (HOME) (Caldwell et al., 1984). The mother was asked to fill in the EES when her child was 18 months old. The correlation coefficient between the EES and HOME scores was 0.80, and the reliability and validity of the Japanese version of the EES have already been confirmed (Anme et al., 1990).

### 2.5. Data analysis

The Mann–Whitney *U* test and  $\chi^2$  test were used to compare the 306 mother–child pairs with complete data and the remaining pairs of the whole cohort and for comparison of the 155 first-born and 151 other pairs with complete data.  $\Sigma\text{PCB}$ , THg, and lead in cord blood and maternal seafood intake were logarithmically transformed because of skewed distributions. Pearson product-moment correlation coefficients (*r*) were calculated to determine the association between the CBCL scores and exposure markers. Multiple regression analysis was used to adjust for possible confounders, i.e. birth weight, child gender, maternal age at parturition, birth order, delivery type, drinking and smoking habits during pregnancy, the Raven and EES scores, and the duration of breastfeeding. All analyses, with two-sided *p* values, were performed using SPSS Ver. 17.0 (SPSS Japan, Tokyo) and the significance level was set at  $p < 0.05$ .

## 3. Results

Table 1 provides descriptive information for all mother–child pairs who were eligible to participate in this study. No parameters, except the Raven score and breastfeeding, differed significantly between the children with complete data and the remaining children (maximally, 209) who had incomplete information on exposure biomarkers, CBCL/2–3 scores, and confounder measures. The mean age of children of the mothers who answered the questionnaire was  $31.6 \pm 1.7$  (SD) months. The cord-blood PCB-153 was significantly higher in the 306 children with

**Table 1**

Exposure biomarkers, endpoints, and confounders in 306 mother–child pairs of this study population and remaining mother–child pairs that were excluded because of incomplete data.

	The present study population Mean ± Standard deviation (or median and 5–95 percentiles or number and % in parenthesis)	Remaining mother–child pairs Mean ± Standard deviation (or, median and 5–95 percentiles or number and % in parenthesis)	<i>p</i> -value <sup>a</sup>
Exposure biomarkers			
Cord-blood ΣPCB (ng/g-lipid) <sup>b</sup>	48.3, 18.6–116.3	42.9, 19.4–101.2	0.057
Cord-blood THg (ng/g) <sup>b</sup>	10.2, 4.1–24.5	9.7, 4.5–21.9	0.306
Cord-blood lead (μg/dl)	1.0, 0.5–1.7	1.1, 0.6–1.7	0.366
Scores of the CBCL/2–3 ( <i>T</i> score) <sup>b</sup>			
Internalizing score	47.5 ± 9.2	48.1 ± 9.7	0.846
Externalizing score	48.2 ± 9.8	47.8 ± 9.1	0.835
Total score	48.1 ± 9.8	48.5 ± 9.5	0.963
Confounders			
Birth weight (g)	3062 ± 322	3083 ± 357	0.450
Child gender (boys, %)	157 (51.3)	158 (53.9)	0.521
Maternal age at parturition (years)	31.7 ± 4.0	31.0 ± 4.7	0.038
Birth order (first child, %)	155 (50.7)	153 (52.2)	0.702
Delivery type (spontaneous, %)	220 (72.2)	210 (71.7)	0.952
Drinking habit during pregnancy (drinkers, %)	100 (32.7)	90 (30.7)	0.606
Smoking habit during pregnancy (smokers, %)	19 (6.2)	28 (9.6)	0.128
Seafood intake during pregnancy (kg/year)	20.7, 5.4–50.8	19.0, 3.2–53.3	0.393
Raven score	52.0 ± 5.7	50.7 ± 7.0	0.019
Score of EES at 18 months <sup>b</sup>	28.1 ± 3.4	28.4 ± 3.2	0.408
Breastfeeding (months)	8.4 ± 4.1	7.6 ± 3.8	0.026

<sup>a</sup> Mann–Whitney *U* test or  $\chi^2$  test.

<sup>b</sup> PCB: polychlorinated biphenyls; THg: total mercury; CBCL: Child Behavior Checklist; EES: Evaluation of Environmental Stimulation.

**Table 2**

Pearson product-moment correlation coefficients between exposure markers and CBCL scores in 306 pairs with complete data.

	CBCL/2–3		
	Internalizing score	Externalizing score	Total score
log <sub>10</sub> [Cord-blood ΣPCB]	0.113*	0.046	0.068
log <sub>10</sub> [Cord-blood THg]	0.001	–0.036	–0.039
log <sub>10</sub> [Cord-blood lead]	–0.083	–0.036	–0.077
log <sub>10</sub> [Maternal seafood intake]	–0.067	–0.108	–0.102

\*\**p* < 0.01.

\* *p* < 0.05.

complete data (median, 28.0 ng/g-lipid; 5 and 95 percentiles, 10.4–82.5 ng/g-lipid) than in the remaining children (median 24.7 ng/g-lipid; 9.5–66.6 ng/g-lipid), but the ranges and distributions of ΣPCB and PCB-153 were similar between the two groups (the correlation coefficient between ΣPCB and PCB-153,  $r=0.901$ ). The median THg levels in 3 cm of maternal hair from the occipital area at parturition were 1.98 μg/g in the 306 pairs with complete data and 1.99 μg/g in the remaining pairs. Judging from the total score of the CBCL/2–3, 263 children of the 306 pairs with complete data (85.9%) had normal scores, 26 children (8.5%) were thought to be in the borderline range, and 17 children (5.6%) were within the clinical range.

Table 2 shows simple correlation coefficients between the CBCL/2–3 scores and exposure markers. Only the internalizing score was significantly correlated with cord-blood ΣPCB. As illustrated in Fig. 1, cord-blood PCB-153 was also significantly correlated with the internalizing score ( $r=0.127$ ). There was no significant correlation between any CBCL score and either cord-blood THg or maternal hair THg at parturition, inasmuch as the correlation coefficient between THg levels in maternal hair and cord blood was 0.839 in the 306 mother–child pairs. As shown in

model 1 of Table 3, however, the significant association of ΣPCB (and PCB-153) with the internalizing score disappeared after adjusting for all possible confounders. The Raven and EES scores and birth order had a significant relation to that score. However, the significant association of ΣPCB (and PCB-153) with the internalizing score reappeared after removing the “birth order” variable from model 1, as shown in model 2. In both models, the EES score and maternal age at parturition were significantly related to the internalizing, externalizing, and total scores of the CBCL/2–3.

Table 4 presents results of the comparison between the first- and second-born or following children in the 306 pairs. The ΣPCB (and PCB-153) concentrations, along with three CBCL scores, were significantly higher in the former (median, 31.6 ng/g-lipid) than in the latter (22.1 ng/g-lipid). In examining the two groups separately, the partial correlation coefficient, with adjustment for all variables employed in model 2 of Table 3, between the internalizing score and ΣPCB was statistically significant ( $r=0.175$ ,  $p=0.039$ ) for the second-born or following children.

#### 4. Discussion

In the environment, there are various hazardous chemicals such as PCBs, MeHg, and lead, affecting the nervous system, but the effects of concomitant exposures to such chemicals have not always been assessed. Another issue is that little comparable information is available concerning the levels of biomarkers. As an example of specimens for THg, maternal hair and cord blood were used for evaluating child neurodevelopment (Davidson et al., 1998; Grandjean et al., 1997) and toenails were employed for the risk assessment of coronary heart disease (Guallar et al., 2002; Yoshizawa et al., 2002). These issues make the interpretation of neurotoxicity complicated. The median PCB-153 level in cord blood of this study was near that of the Massachusetts study (30 ng/g-lipid in maternal serum), the lowest among 10 studies of the U.S.A, the Netherlands, Germany, Denmark, and northern

Please cite this article as: Tatsuta, N., et al., Prenatal exposures to environmental chemicals and birth order as risk factors for child behavior problems. Environ. Res. (2012), doi:10.1016/j.envres.2012.02.001

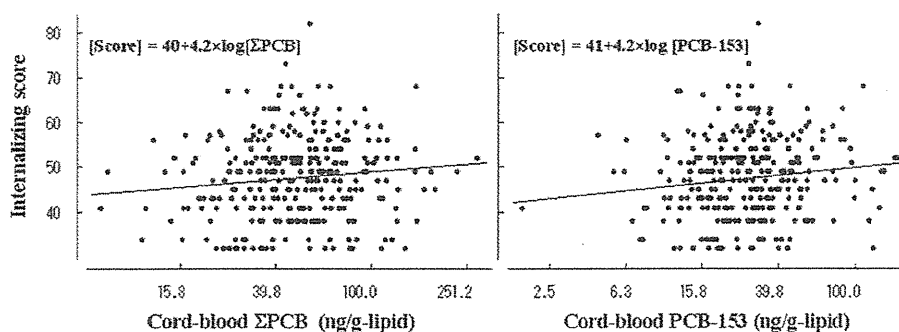


Fig. 1. Relations of cord-blood  $\Sigma$ PCB and PCB-153 to internalizing score of the CBCL/2–3 in 306 children.

Table 3

Relations of CBCL subscale scores to exposure markers<sup>a</sup> and confounders<sup>a</sup> in 306 pairs: results of multiple regression analysis (multiple regression and standardized regression coefficients).

	Internalizing score		Externalizing score		Total score	
	Model 1	Model 2	Model 1	Model 2	Model 1	Model 2
Multiple correlation coefficient ( <i>R</i> )	0.418**	0.319**	0.320**	0.315**	0.376**	0.327**
$\log_{10}$ [Cord-blood $\Sigma$ PCB]	0.063	0.158*	0.067	0.085	0.048	0.114
$\log_{10}$ [Cord-blood THg]	-0.005	-0.004	-0.033	-0.033	-0.038	-0.037
$\log_{10}$ [Cord-blood lead]	-0.107	-0.070	-0.038	-0.032	-0.092	-0.066
Birth weight	0.025	0.048	0.014	0.019	0.016	0.031
Child gender	-0.001	-0.010	0.027	0.026	0.019	0.013
Maternal age at parturition	-0.077	-0.216**	-0.143*	-0.170**	-0.105	-0.200**
Birth order	-0.313**		-0.059		-0.216**	
Delivery type	-0.024	0.010	-0.067	-0.061	-0.052	-0.028
Drinking habit during pregnancy	0.016	0.027	0.035	0.037	0.023	0.031
Smoking habit during pregnancy	0.018	-0.004	0.057	0.055	0.057	0.047
$\log_{10}$ [Maternal seafood intake]	-0.060	-0.076	-0.077	-0.080	-0.066	-0.077
Raven score	-0.116*	-0.074	-0.052	-0.044	-0.059	-0.030
Score of the EES at 18 months	-0.128*	-0.139*	-0.144*	-0.146*	-0.156**	-0.164**
Breastfeeding	-0.032	-0.038	-0.127*	-0.128	-0.089	-0.093

\*  $p < 0.05$ .

\*\*  $p < 0.01$ .

<sup>a</sup> See units in Table 1.

Quebec (Longnecker et al., 2003). The level in our study was extremely low compared to studies in the Faroe Islands (Grandjean et al., 2001) and northern Quebec (Muckle et al., 2001). The maternal hair THg levels at parturition (median, 1.98  $\mu\text{g/g}$ ) of our participants were about a half of those in the Faroese, Seychellois, and Nunavik Inuit infants (Muckle et al., 2001). The median cord-blood lead level was lower in the present study than in seven cohort studies of environmental lead exposure and IQ (Lanphear et al., 2005). Therefore, this study addressed the behavior effects of concomitant exposures at lower levels.

In the children of our study, an association of elevated PCBs at birth with internalizing behavior was suggested by correlation analyses, though the significant effect of PCBs disappeared when considering possible confounders such as birth order. Still, a significant relation was again found in the second-born or following children using the partial correlation coefficient. Many previous reports demonstrated the developmental effects of perinatal exposure to PCBs (Rogan et al., 1986; Rogan and Gladen, 1992; Jacobson and Jacobson, 1996; Patandin et al., 1999; Walkowiak et al., 2001; Stewart et al., 2008). Recently, Plusquellec et al. (2010) also observed a significant association between prenatal exposure to PCB-153 at relatively higher levels and behavioral outcomes relating unhappiness and anxiety. Taken together, the implication of this study is that prenatal exposure to

PCBs at low levels may affect the internalizing behavior. Additional study using cord-blood/serum PCBs is needed to confirm the effects of prenatal exposure to PCBs at low levels on behavior problems, because maternal PCB levels may not exactly reflect cord-blood/serum ones in the assessment of child neurodevelopment, different from birth weight (Konishi et al., 2009).

In contrast to some studies showing MeHg-related neurotoxicity (Grandjean et al., 1997; Strain et al., 2008; Suzuki et al., 2010), our study could not find such an effect. This corresponds to the Seychelles child development study presenting no association between maladaptive behaviors assessed by the CBCL and either prenatal or postnatal MeHg exposure (Myers et al., 2000). In addition, Myers et al. (2009) reported that postnatal THg was adversely associated with Connor's Teacher Rating Scale ADHD index in Seychellois children aged 107 months, but they were suspicious of their result because "there was no clear evidence that behavioral changes could be expected with MeHg." In any case, prenatal exposure at maximal maternal hair THg levels of less than 9.4  $\mu\text{g/g}$  may not lead to such behavior problems.

Our study failed to find a significant correlation between cord-blood lead (range, 0.4–4.8  $\mu\text{g/dl}$ ) and any CBCL score. However, Lanphear et al. (2005) concluded that environmental lead exposure in children who have maximal blood lead levels of less than 7.5  $\mu\text{g/dl}$  was associated with intellectual deficits. Yorifuji et al. (2010) also demonstrated the adverse effect on cognitive

Please cite this article as: Tatsuta, N., et al., Prenatal exposures to environmental chemicals and birth order as risk factors for child behavior problems. Environ. Res. (2012), doi:10.1016/j.envres.2012.02.001

**Table 4**

Birth order-specific exposure biomarkers, CBCL scores, and basal characteristics in 306 pairs of this study population.

	<b>155 first-born children</b> Mean ± Standard deviation (or, median and 5–95 percentiles or number and % in parenthesis)	<b>151 other children</b> Mean ± Standard deviation (or median and 5–95 percentiles or number and % in parenthesis)	<b>p-value<sup>a</sup></b>
<b>Exposure biomarkers</b>			
Cord-blood ΣPCB (ng/g-lipid) <sup>b</sup>	54.7, 25.0–117.7	42.5, 15.4–115.5	< 0.001
Cord-blood THg (ng/g) <sup>b</sup>	10.4, 4.4–22.1	10.2, 3.7–25.4	0.632
Cord-blood lead (µg/dl)	1.0, 0.5–2.2	0.9, 0.6–1.6	0.104
<b>Scores of the CBCL/2–3 (T score)<sup>b</sup></b>			
Internalizing score	50.6 ± 8.9	44.4 ± 8.4	< 0.001
Externalizing score	49.4 ± 8.6	47.1 ± 10.9	0.043
Total score	50.5 ± 8.6	45.6 ± 10.4	< 0.001
<b>Confounders</b>			
Birth weight (g)	3054 ± 310	3070 ± 336	0.656
Child gender (boys, %)	79 (51.0)	78 (51.7)	0.852
Maternal age at parturition (years)	30.3 ± 3.6	33.1 ± 3.9	< 0.001
Delivery type (spontaneous, %)	108 (69.7)	113 (74.8)	0.379
Drinking habit during pregnancy (drinkers, %)	54 (34.8)	46 (30.5)	0.488
Smoking habit during pregnancy (smokers, %)	8 (5.2)	11 (7.3)	0.594
Seafood intake during pregnancy (kg/year)	19.0, 5.2–46.1	22.8, 5.9–54.8	0.942
Raven score	52.7 ± 5.4	51.3 ± 5.9	0.033
Score of EES at 18 months <sup>b</sup>	27.9 ± 3.0	28.4 ± 3.8	0.238
Breastfeeding (months)	8.5 ± 4.2	8.3 ± 4.1	0.806

<sup>a</sup> Mann–Whitney *U* test or  $\chi^2$  test.<sup>b</sup> See Table 1.

functions of prenatal lead exposures corresponding to an average cord-blood concentration of 1.6 µg/dl (range, 0.1–11 µg/dl). Since such intellectual deficits may be independent of maladaptive behavior in view of the neurotoxic outcome, blood lead needs to be considered as one of concomitant exposure biomarkers affecting child neurodevelopment even though the maximum value for blood lead levels of a study population is less than 5 µg/dl.

As confounders for the CBCL/2–3, birth order, maternal age at parturition, and home environment were chosen in multiple regression analysis (Table 3). Parental child-rearing attitudes involved in birth order have been reported to affect behavior problems (Wasserman et al., 1998), whereas the authors did not examine environmental toxins other than lead. Of course, first-born children are more vulnerable to maternal persistent organic pollutants (POPs), including PCBs and pesticides, than second-born or following children (Kostyniak et al., 1999), as shown in Table 4. Likewise, higher scores of the CBCL/2–3 were associated with younger mothers, implying that most of them were primiparous rather than multiparous and that maternal age at parturition and birth order may have colinearity. Home environment, assessed by the EES score originating from the HOME, was also suggested to be associated with maladaptive behavior. This is accordant with a report by Davidson et al. (1998) that the quality of the home environment had a substantial impact on child performance, significantly affecting the results of all tests, including the CBCL scores. For that reason, these crucial confounders should be noted in future research, inasmuch as most of the reports supporting developmental effects of perinatal exposure to POPs, excluding one study (Jacobson and Jacobson, 1996), did not consider birth order.

Apart from an interrelation of the above confounders, the cord-blood ΣPCB levels were considerably higher in the first-born children than in the other children of the present study, along with our previous one (Nakamura et al., 2008), while seafood intake during pregnancy did not differ between mothers of the two groups. This implies that parity is an important factor affecting the exposure levels of POPs. In other words, such an association between birth order and prenatal exposure to POPs would complicate an interpretation of the developmental effect; as the result,

the effect of prenatal PCB exposure on the internalizing behavior reappeared after removing birth order from independent variables (Table 3). Therefore, it is desirable that first-born children and the other children should be examined separately to avoid the effect of parity.

There may have been some potential limitations in the current study. We did not measure *n*-3 PUFA beneficial to child neurodevelopment, but maternal seafood intake was employed instead. Though dioxin-like PCBs were not analyzed in this study, a strong correlation between the dioxin-like PCB-TEQ and ΣPCB ( $r=0.91$ ) was observed from 49 samples of our participants (Nakamura et al., 2008); and, a similar finding might have been obtained if we had used them. Judging from the fact that the contribution rates ( $R^2$ ) of multiple regression analysis were small in Table 3, breast milk PCBs and other neurotoxicants (e.g., pesticides and manganese) should have been examined. Other possible confounders were considered in the data analysis. Owing to our eligibility criteria, the number of mother–child pairs in this study was smaller than that of the original TSCD, but the representativeness of the TSCD would have been preserved as demonstrated by the finding that there were no significant differences in basal characteristics between the 306 pairs with complete data and the remaining pairs (Table 1), so, uncertainty and ambiguity of the used data would have been avoided. Since the CBCL/2–3 uses a parent report form to measure behavior, it may have resulted in measurement bias. However, the CBCL data have been suggested to be a valid measure of behavior (Raven, 1958; Myers et al., 2000). Thus, it is suggested that our data were not heavily influenced by confounders, or sampling or measurement bias.

In conclusion, prenatal exposure to PCBs at low levels appears to affect maladaptive behavior. However, if the exposure levels are lessened by environmental regulation, children may be more susceptible to parental child-rearing attitudes involved in birth order, than to such chemicals. The results from the US National Children's Study (Downs et al., 2010) and the Japan Environment and Children's Study (Hasegawa and Tsukamoto, 2009), following 100,000 children in each country hopefully, will be able to answer these questions in the near future. In any case, if the range of an exposure biomarker in the study population is extremely narrow

Please cite this article as: Tatsuta, N., et al., Prenatal exposures to environmental chemicals and birth order as risk factors for child behavior problems. *Environ. Res.* (2012), doi:10.1016/j.envres.2012.02.001