

201133007B

厚生労働科学研究費補助金  
化学物質リスク研究事業

出生コホートによる難分解性有機汚染物質 (POPs) ばく露の  
次世代影響の検証

(H21-化学-一般-007)

平成21年度～23年度 総合研究報告書

研究代表者 佐藤 洋 (東北大学大学院医学系研究科)

平成 24 (2012) 年 3 月

## 目次

I.	総合研究報告書-----	1
II.	研究成果の刊行に関する一覧表-----	13
III.	研究成果の刊行物・別添-----	15

## 出生コホートによる難分解性有機汚染物質（POPs）ばく露の 次世代影響の検証

主任研究者 佐藤 洋（東北大学大学院 医学系研究科 環境保健医学 名誉教授）

### 研究要旨

胎児期および新生児期は、中枢神経系が発達する時期である。この神経系は、環境由来化学物質ばく露に対して感受性が高く、特に発生・発達の過程にある中枢神経系が影響を受けやすい。そのため、低濃度のばく露であっても、胎児および新生児の化学物質ばく露による健康影響が懸念される。海外の先行研究により、ポリ塩化ビフェニール（PCB）などの難分解性有機汚染物質（POPs）やメチル水銀などの重金属による周産期ばく露が出生児の発達に影響をおよぼすことが報告されている。我々は、我が国における POPs およびメチル水銀ばく露に起因した健康影響を明らかにすることを目的として出生コホート調査を進めてきた。

臍帯血総PCBと生後7ヶ月時に実施した発達検査の得点および生後42ヶ月時に実施した知能検査の得点との間に負の関連性が確認された。毛髪総水銀については、生後3日目に実施した新生児行動評価の運動クラスターとの間に負の関連性が認められた。化学物質ばく露の影響は、出生児の成長とともに顕在化したり消失することが考えられるため、化学物質の健康影響がその後も観察されるかを調べるために、生後84ヶ月児を対象に調査を継続した。

生後84ヶ月調査では、知能検査、語彙検査、注意集中機能検査、家庭血圧検査、脳波検査等の検査バッテリーから子どもを総合的に評価した。まず、コホート調査の追跡率は8割を超え、コホートとしての機能を維持できたと考える。次に、生後84ヶ月調査で得られた結果とばく露指標との関連性を検討したところ、PCBのばく露レベルが高い場合に反応が遅くなることが示された。臍帯血総水銀については、脳波検査の聴性脳幹誘発電位の左耳の潜時や頂点潜時が延長した。交絡要因として、セレンや鉛等の化学物質についても測定してきたが、その中で、交絡要因調整後に臍帯血鉛ばく露が高い場合に知能指数（IQ）が低下することが分かった。さらに、鉛ばく露レベルが高い場合に注意制御に関する能力が未成熟である可能性が示された。これらの結果から、PCBや水銀、鉛等のばく露レベルが低濃度であっても出生児の発達に軽微ながら負の影響をおよぼすことが分かった。

周産期におけるメチル水銀のばく露影響を調べるために、現在の水銀へのばく露レベルを把握する必要がある。生後84ヶ月調査時に、対象児より毛髪を採取し、総水銀濃度を測定した。その中央値は $2.1 \mu\text{g/g}$  (5 and 95 percentiles,  $0.7 - 4.6 \mu\text{g/g}$ )であった。発達指標との関連性を検討したところ、水銀濃度が高い場合にBAEPの左耳の頂点潜時で延長が確認されたが、それ以外の指標においては関連性が確認されなかった。また、PCBは、経胎盤および母乳を介して子どもに移行する。母乳を介した授乳期のばく露影響を考える上で重要な母乳中POPsの分析を進めてきた。生後1ヶ月目に収集した母乳の総PCBの中央値は、 $45.8 \text{ ng/g-lipid}$  ( $18.4 - 112.2 \text{ ng/g-lipid}$ )であった。出生児の発達との関連性を検討したところ、生後84ヶ月時に測定した言語性IQおよび全検査IQとの間に正の関連が認められた。

これらの結果から、1) 周産期におけるPCBやメチル水銀のばく露影響は、出生児が児童期に達しても観察されることが示された。2) メチル水銀については、出生後よりも胎児期および新生児期ばく露に対して感受性が高いことが示された。3) 母乳中PCBと出生児の発達の関連を検討したが、移行するPCBによるリスクよりも母乳を与えることのベネフィットが子どもの発達に影響を与えると思われた。これらの結果は、海外で進められている研究結果と一致しており、貴重なデータを収集することができた。

#### 分担研究者

細川 徹 (東北大学教育学研究科・教授)  
村田勝敬 (秋田大学医学系研究科・教授)  
奈良隆寛 (宮城県立こども病院・部長)  
福土 審 (東北大学医学系研究科・教授)  
仲井邦彦 (東北大学医学系研究科・教授)  
黒川修行 (宮城教育大学教育学部・講師)  
浅山 敬 (東北大学薬学研究科・分野研究員)  
龍田 希 (東北大学医学系研究科・助手)

が報告されている。周産期における環境由来化学物質が出生児の発達におよぼす影響を調べることを目的とし、2000年より出生コホート調査を進めてきた。これまでに、臍帯血総PCBと生後7ヶ月の発達指数、および生後42ヶ月の知能指数との間に負の関連性が確認された。メチル水銀については、毛髪総水銀と生後3日目の行動指標との間に負の関連性が認められた。これらの健康影響が児童期でも観察されるかを調べるために、生後84ヶ月児を対象に検証することとした(図1)。

#### A. 研究目的

海外における先行研究により、ポリ塩化ビフェニール(PCB)などの難分解性有機汚染物質(POPs)やメチル水銀などの重金属による周産期ばく露が出生児の発達に影響をおよぼすこと

#### B. 研究方法

対象集団：

平成13年1月から平成15年9月の期間に、同意の得られた599組の母子を登録した。

出生児の発達評価：

これまでに、対象児が生後3日目に新生児行動評価 (Neonatal Behavior Assessment Scale, NBAS)、生後7ヶ月時に新版K式発達検査、Bayley Scales of Infant Development second edition、およびFagan Test of Infant Development、生後18ヶ月時に新版K式発達検査、およびBSID-II、生後30ヶ月時にChild Behavior Checklist age for

2-3 (CBCL)、生後42ヶ月時に Kaufman Assessment Battery for Children (K-ABC)、生後66ヶ月時に新版S-M社会生活能力検査および不適応行動尺度を実施してきた。

研究期間内に進めてきた生後84ヶ月調査では、知能検査であるWechsler Intelligence Scale for Children Third edition (WISC-III)、語彙検査であるBoston Naming Test (BNT)、注意集中機能検査であるConners' Continuous Performance Test (CPT)、脳波測定 (聴性脳幹誘発電位 (Brain-stem Auditory Evoked Potential,

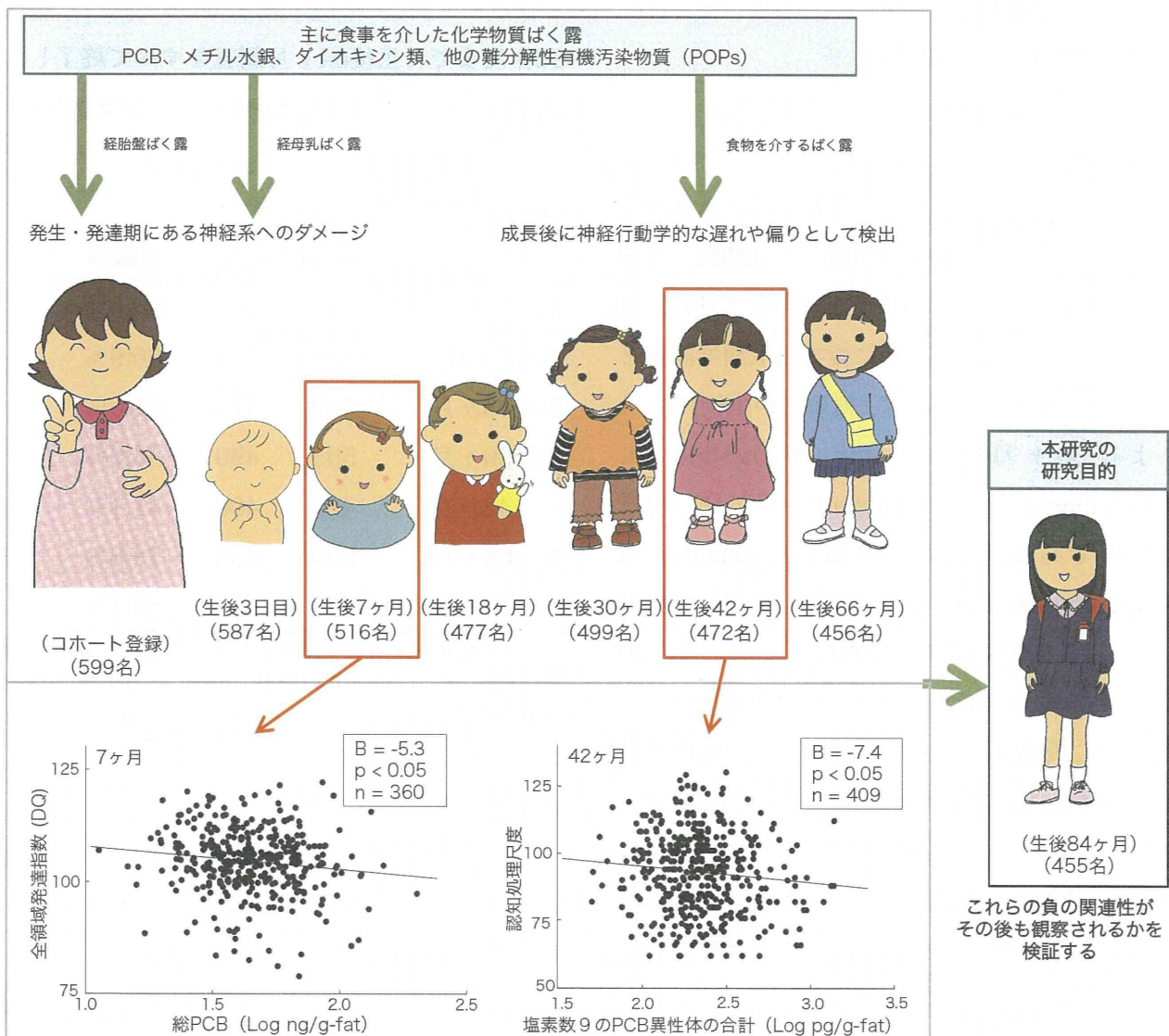


図1 追跡調査の概要と研究の目的

BAEP)、事象関連電位 (Event-Related Potential, ERP))、心拍変動測定および家庭血圧測定からなる調査を実施し、子どもを総合的に評価した。

化学物質のばく露評価：

冷凍保管していた生後1ヶ月時の母乳を用いて母乳中のPOPsを測定した。また、生後84ヶ月調査において、対象児の毛髪を採取し、総水銀分析を行った。

その他のばく露指標 (PCB指標：臍帯血PCB、メチル水銀指標：出産時の母親毛髪総水銀、臍帯血総水銀) 等はすでに分析済みであり、統計解析では説明変数として用いた。

交絡要因：

その他の交絡要因として、これまでに食事調査、育児環境調査、社会経済的環境、授乳期間、母親の知能指数 (IQ) などの情報を収集してきた。食事調査については、出産後に食物摂取頻度調査を実施した。育児環境調査は、対象児が生後18ヶ月および30ヶ月時に Home Observation for Measurements of Environments (HOME) の質問紙版である育児環境評価 (Evaluation of Environmental Stimulation, EES) を用いて採点した。授乳期間に関する情報は生後18ヶ月、30ヶ月、42ヶ月の調査時に自記式アンケートにより収集した。母親IQの検査は、対象児が生後18ヶ月時にRaven's Standard Matricesにより実施した。また、カルテから出生時体重、在胎週数、子どもの性別、出産時の母親年齢、出生順位、分娩様式を転載した。出産後4日目に妊娠中の喫煙の有無や飲酒の有無、父母の学歴を自記式アンケートにより調査した。

生後84ヶ月時にも、育児環境調査、社会経済的環境、ADHD Rating Scale-IV (ADHD-RS) に関するアンケート調査を実施した。

倫理面への配慮：

本研究は、東北大学大学院医学系研究科倫理委員会に研究計画を提出し、2014年12月までの承認を得ている (受付番号2008-14-9)。

### C. 研究結果

コホート調査の追跡率：

コホート調査の到達点を表1にまとめた。平成22年度までに生後84ヶ月調査をすべて終了した。いずれも高い追跡率を維持することができた。

表1 コホート調査の追跡率

	調査対象数	実施数	実施率
生後3日目	599	587	98.0%
生後7ヶ月	594	516	86.9%
生後18ヶ月	589	477	81.0%
生後30ヶ月	595	499	83.9%
生後42ヶ月	493	400	81.1%
生後66ヶ月	580	456	78.6%
生後84ヶ月	541	455	84.1%

実施率：調査対象者数 (案内を送付した数) に対する比率  
調査対象者数：調査からの脱退、疾病による除外、遠隔地転出に伴う脱落等を差し引いた調査対象者数

ばく露指標について：

母乳の化学分析を進めてきた。433名分の母乳より、1) 化学物質としてDDEの濃度が最も高かった (中央値5715.8, 5 and 95 percentiles, 1716.2~16365.0 pg/g-wet)。2) 国内では農業登録されていない有意塩素系農薬Mirex (29.0,

10.5 ~ 63.7 pg/g-wet) やトキサフェン (Parlar-50 (84.8, 26.4~213.8 pg/g-wet) 等) がすべての試料から検出された。これら化学物質間に高い相関が確認されており、複数の化学物質による複合ばく露が懸念された。

母乳中総PCBについても分析がすべて終了した (544名)。母乳中総PCBの中央値は93.1 ng/g-lipidであった。コホート調査には、二回登録している家族が存在し、一回目と二回目の登録児の母乳中総PCBのばく露レベルを比較した。一回目登録児の方が有意に高いことが示された ( $t=4.755, p<0.01$ ) (図2)。さらに、これまでに収集している臍帯血総PCBと母乳中総PCBの関連性をPearsonの積率相関係数から検討した結果、両者の間には高い関連性が認められた ( $r=0.79, p<0.01, N=469$ )。

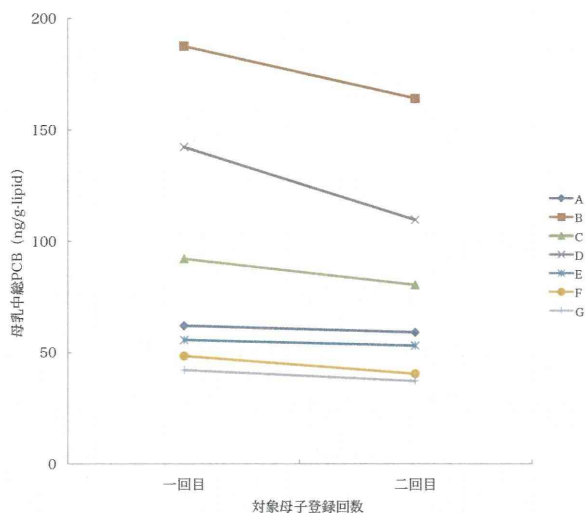


図2 一回目と二回目登録児の母乳中総PCB

対象児の現在の毛髪総水銀を測定した (442名)。その中央値は2.1  $\mu\text{g/g}$ であった。我々は、周産期におけるメチル水銀ばく露の指標とするために出産直後の母親毛髪総水銀を測定してい

る。生後84ヶ月児の毛髪総水銀と出産直後の母親の毛髪総水銀との間に有意な相関関係が認められた ( $r=0.279, p<0.01$ ) (図3)。

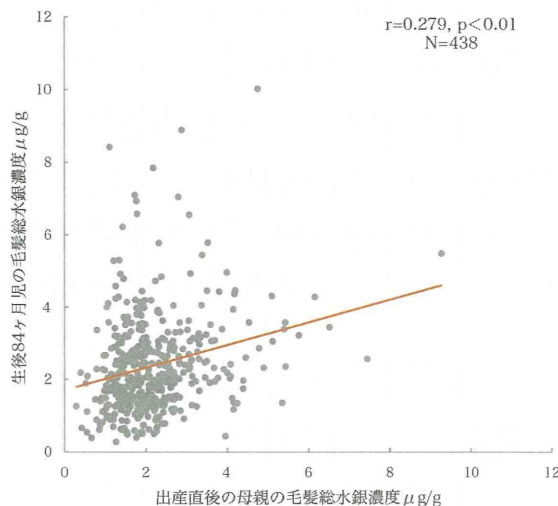


図3 出産直後の母親と生後84ヶ月児の毛髪総水銀の関連性

ばく露指標と発達指標の関連性：

まず、臍帯血総PCBと生後84ヶ月調査の結果を報告する。臍帯血総PCBと注意集中機能検査のHit RTとの間に関連が認められたことから、PCBのばく露レベルが高い場合に反応時間が遅くなることが示された ( $r=0.113, p<0.05$ )。それ以外の知能検査や語彙検査の結果との関連性は認められなかった。

次に、臍帯血総水銀については、語彙検査の得点と関連がみられ、ばく露レベルが高い場合に語彙検査の得点が低くなることが分かった。しかしながら、交絡要因で調整すると統計学的な有意性は消失した ( $r=-0.064, n.s.$ )。また、脳波検査の聴性脳幹誘発電位の左耳の潜時 ( $r=0.123, p<0.05$ ) や頂点潜時 ( $r=0.130, p<0.05$ ) とも関

連がみられており、水銀ばく露レベルが高くなると潜時が延長することが分かった。

本コホートでは、PCBや水銀以外の化学物質も交絡要因として測定した物質がある（ヒ素や鉛、セレン等）。その中に臍帯血より測定した鉛があるが、興味深い結果が得られたので報告する。交絡要因調整後に臍帯血鉛とIQとの間に関連が認められた ( $r=-0.119, p<0.05$ )。これは、臍帯血鉛ばく露が高い場合にIQが低下すると解釈する(図4)。臍帯血鉛は、脳波検査のERPの結果との関連も示されており、鉛ばく露レベルが高い場合に注意制御に関する能力が未成熟である可能性が示された。

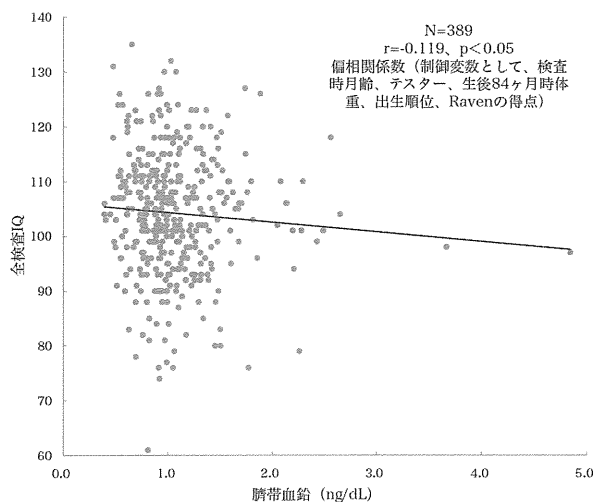


図4 臍帯血鉛と知能指数の関連性

母乳中PCBと出生児の発達：

母乳中PCBとこれまでに収集してきた生後3日、7ヶ月、18ヶ月、30ヶ月、42ヶ月、66ヶ月、および84ヶ月調査で収集した発達指標との関連性を検討した。その結果、生後84ヶ月時に測定した言語性IQおよび全検査IQとの間に正の関連が認められた。これは、母乳中総PCBの濃度が高い場

合にIQが高くなると解釈する。それ以外の月齢および発達指標との関連性は確認されなかった。

我々のコホート調査では、母乳育児が小児期の血圧上昇に対する防御的作用の一因である可能性を報告している。これらの結果から、母乳育児の重要性が示された。

生後84ヶ月時の毛髪総水銀と子どもの発達：

生後84ヶ月時の毛髪総水銀と生後84ヶ月調査で得られた発達指標との関連性を検討した。その結果、水銀濃度が高い場合にBAEPの左耳の頂点潜時で延長が確認されたが、それ以外の指標においては関連性が確認されなかった。メチル水銀については、胎児期および周産期ばく露に対して感受性が高いことが示された。

その他の研究結果：

データの精査や再解析を行う中で、生後42ヶ月時に実施した知能検査の一種であるK-ABCとばく露指標の関連性を検討した。交絡要因調整後に、臍帯血総PCBとK-ABCで得られる得点との間に負の関連があることを報告してきた。しかしながら、PCBの同族体毎の検討については未解析であった。そこで、PCBの同族体毎にK-ABCで得られる得点との関連性を検討した。その結果、総PCBとK-ABCとの間に単相関では関連がみられないものの、K-ABCの得点（継次処理尺度の得点および認知処理過程尺度の得点）と9CBsとの間に負の関連性がみられた。検査時の月齢、検査のテスト、出生順位等を調整変数とした重回帰分析（強制投入法）においても同様の結果が得られた(図5)。



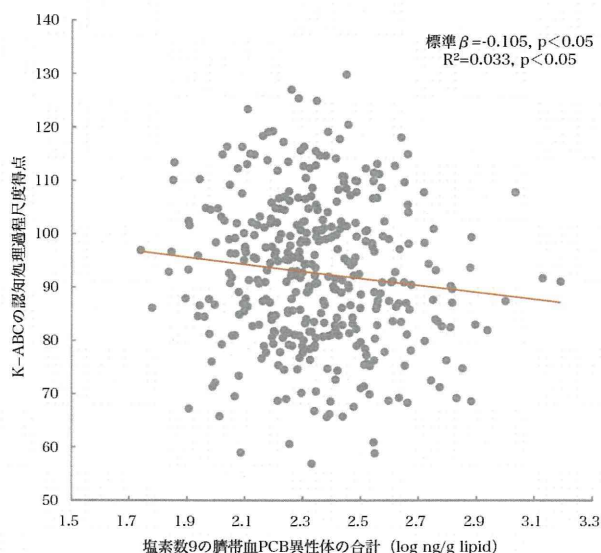


図5 生後42ヶ月時のK-ABCと臍帯血PCBの9CBsの関連性の検討

K-ABCの得点には子どもの性別が影響する（男児よりも女児で高い得点が得られる）ため、男女別に解析を行った。その結果、女児ではK-ABCの得点とばく露指標間に関連がみられなかったものの、男児において9CBsとK-ABCの得点（認知処置過程尺度の得点）との間に負の関連が認められた。海外の先行研究により、メチル水銀のばく露影響は、男児に顕著に現れることが示されており、発達に遅れや偏りが危惧されている。PCBば

く露の影響においては、これまでに報告されていないが、本研究の結果から、PCBについても性別による差異が示された。

#### D. 考察

周産期における環境由来化学物質ばく露の健康影響が学齢期でも観察されるかを調べるために、先行研究の知見を参考にしつつ、生後84ヶ月児を対象に調査を継続するとともに、母乳中POPs分析や生後84ヶ月時の毛髪総水銀分析を進めた。

生後84ヶ月調査で得られた発達指標とばく露指標の関連性を検討し、大きく以下の4点が示された。1) 周産期におけるPCBやメチル水銀ばく露による健康影響は、出生児が児童期に達しても観察されることが示された。2) メチル水銀については、出生後よりも周産期および胎児期ばく露に対して感受性が高いことが示された。3) 母乳育児については、母乳に含まれるリスクよりも母乳を与えることのベネフィットが子どもの発達に影響を与えると推察された。4) 化学物質ばく露の影響は、低濃度のばく露レベルであっても健

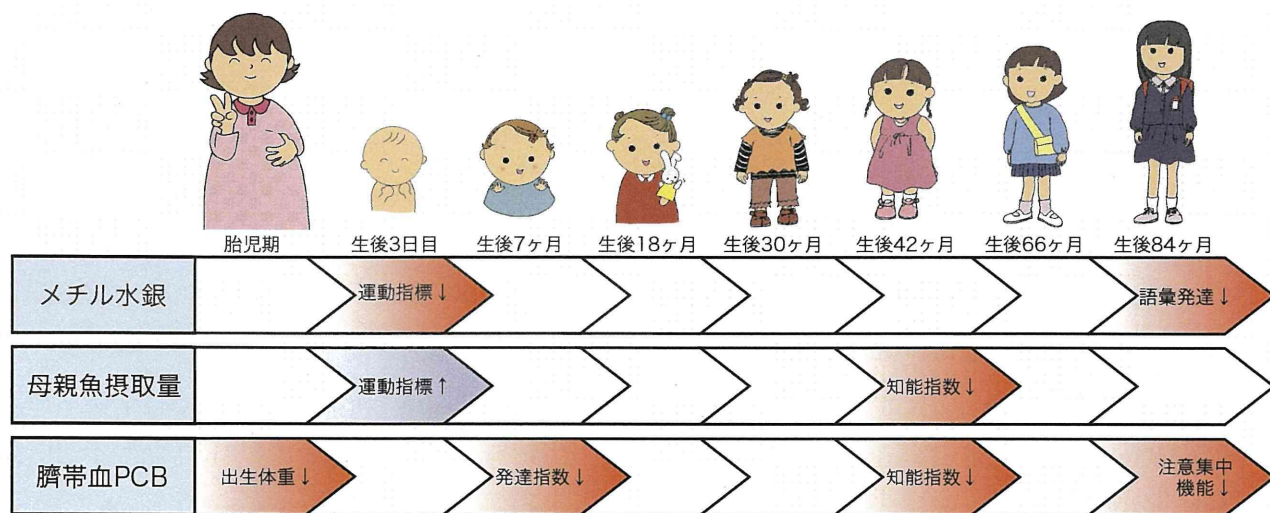


図6 コホート調査で得られた結果の概要

健康影響が懸念され、また、子どもの成長とともに顕在化したり消失したりすることが示唆された(図6)。

本研究で得られた結果は、海外で進められているコホート調査で得られた結果と概ね一致しており、再現性が確認された。このことから、信頼性の高いデータを収集することができたと考えられる。

## E. 結論

我が国における POPs およびメチル水銀ばく露に起因した健康影響を明らかにすることを目的として出生コホート調査を進めてきた。その中で、化学物質ばく露の影響が児童期にも観察されるかを調べるために、生後 84 ヶ月児を対象に調査を継続した。ばく露指標と出生児の発達に関連性を検討した結果、ばく露レベルが低濃度であっても健康への影響が懸念された。また、出生児が児童期になってもその影響が確認されることが分かった。化学物質へのばく露については、児童期のばく露よりも胎児期や新生児期のばく露影響が強いことが示された。研究期間は本年度が最終年度になるが、今後とも発達と化学物質ばく露の健康リスクを明らかにして行きたい。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Yaginuma-Sakurai K, Shimada M, Ohba T, Nakai K, Suzuki K, Kurokawa N, Kameo S, Satoh H. Assessment of exposure to methylmercury in pregnant Japanese women by FFQ. *Public Health Nutrition* 12: 2352-2358, 2009.

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. *日本衛生学雑誌*, 64:749-758, 2009.

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* 228 : 769-775, 2009.

村田勝敬, 佐藤洋. 小児環境保健に関する疫学調査の取り組みと課題. *化学物質と環境*96:6-10, 2009.

村田勝敬, 那須民江, 岸玲子. 特集「環境と子どもの健康に関するコホート研究の現状と課題」. *日本衛生学雑誌*64 : 747-748, 2009.

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. *Environmental Research*110 : 699-704, 2010.

Tatsuta N., Nakai K., Shimada M., Sakurai K., Kurokawa N., Murata K., Hosokawa T. and Satoh H. The Association of perinatal exposure to persistent environmental pollutants with child development: Tohoku Study of Child Development. *Organohalogen Compounds* 72, 224-227, 2010.

龍田希, 仲井邦彦, 鈴木恵太, 島田美幸, 柳沼梢, 黒川修行, 佐藤洋, 細川徹: 日本語版不応行

- 動尺度の作成の試み. 日本衛生学雑誌 65 : 516-523, 2010.
- 龍田希, 仲井邦彦, 鈴木恵太, 島田美幸, 柳沼梢, 黒川修行, 佐藤洋, 細川徹: 日本語版不適応行動尺度の信頼性と妥当性の検討. 医学のあゆみ 234 : 1137-1138, 2010.
- 村田勝敬, 坂本峰至, 佐藤洋. メチル水銀曝露の多様性と健康リスク. 公衆衛生74 : 279-283, 2010.
- 村田勝敬, 間正理恵. 世界における先行出生コホート研究の教訓. 医学のあゆみ 235 : 1127-1132, 2010.
- Sakamoto M, Murata K, Kubota M, Nakai K, Satoh H. Mercury and heavy metal profiles of maternal and umbilical cord RBCs in Japanese population. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73 : 1-6, 2010.
- 村田勝敬, 吉田稔, 坂本峰至, 岩井美幸, 柳沼梢, 龍田希, 岩田豊人, 菊田香苗, 仲井邦彦. メチル水銀毒性に関する疫学的研究の動向. 日本衛生学雑誌66 : 682-695, 2011.
- 村田勝敬. 被災地公務員の心的負担. 産業衛生学雑誌 53 : A41-43, 2011.
- Asayama K., Staessen J.A., Hayashi, K., Hosaka M, Tatatsuta N., Kurokawa N., Satoh M., Hashimoto T., Hirose T., Obara T., Metoki H., Inoue R., Kikuya M., Ohkubo T, Nakai K., Imai Y., Satoh H. Mother-offspring aggregation in home *versus* conventional blood pressure in the Tohoku Study of Child Development (TSCD). *Acta Cardiologica*. In press.
- Tatsuta N., Nakai K., Murata K., Suzuki K., Iwai-Shimada M., Yaginuma-Sakurai K., Kurokawa N., Nakamura T., Hosokawa T., Satoh H. Prenatal exposures to environmental chemicals and birth order as risk factors for child behavior problems. *Environmental Research*. In press.
- Seino S., Watanabe S., Ito N., Sasaki K., Shoji K., Miura S., Kozawa K., Nakai K., Sato H., Kanazawa M., Fukudo S. Enhanced auditory brainstem response and parental bonding style in children with gastrointestinal symptoms. *PLoS ONE*. In press.
- ## 2. 学会発表
- 佐藤洋. 食品による重金属ばく露と健康被害. 第36回日本トキシコロジー学会学術年会, 盛岡, 平成21年7月(講演).
- 龍田希, 柳沼梢, 島田美幸, 鈴木恵太, 黒川修行, 村田勝敬, 細川徹, 仲井邦彦, 佐藤洋. 乳幼児期の子どもの発達と環境要因の関連性. 第58回東北公衆衛生学会, 秋田, 平成21年7月(口演).
- 黒川修行, 浅山敬, 仲井邦彦, 鈴木恵太, 龍田希, 福島直美, 今井潤, 佐藤洋. 働く母親の家庭血圧について. 第68回日本産業衛生学会東北地方会, 秋田, 平成21年7月(口演).
- 龍田希, 鈴木恵太, 細川徹, 佐藤洋. 生後7ヶ月、18ヶ月時と生後66ヶ月時の発達検査結果の関連について. 第47回日本特殊教育学会, 宇都宮, 平成21年9月(示説).

- 清野静, 渡辺諭史, 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, 平成21年9月(口演)
- 林克剛, 浅山敬, 大久保孝義, 保坂実樹, 今井潤, 佐藤洋. 小児期における家庭血圧と出生体重との関連: 出生コホート調査から. 第32回日本高血圧学会総会, 大津, 平成21年10月(口演).
- 佐藤洋, 仲井邦彦, 黒川修行. 環境由来化学物質の周産期ばく露と子どもの発達—プロトコルと途中経過について. 第68回日本公衆衛生学会総会, 奈良, 平成21年10月(示説).
- 仲井邦彦, 黒川修行, 佐藤洋. 環境由来化学物質の周産期ばく露と子どもの発達—母親の喫煙と新生児行動評価について. 第68回日本公衆衛生学会総会, 奈良, 平成21年10月(示説).
- 島田美幸, 仲井邦彦, 中村朋之, 柳沼梢, 龍田希, 黒川修行, 佐藤洋. メチル水銀とPCBの一般環境ばく露下における蓄積 -出生コホート調査(TSCD)から-. フォーラム2009: 衛生薬学・環境トキシコロジー, 沖縄, 平成21年11月(口演).
- 福島直美, 黒川修行, 浅山敬, 仲井邦彦, 鈴木恵太, 龍田希, 今井潤, 佐藤洋. 働く母親の晩の血圧、脈拍について. 第19回日本産業衛生学会産業医産業看護全国協議会, 秋田, 平成21年11月(示説).
- 仲井邦彦, 龍田希, 黒川修行, 佐藤洋, 鈴木恵太, 坂本峰至, 村田勝敬. 周産期におけるメチル水銀ばく露と子どもの発達: 出生コホート調査の結果から. 北陸大学学術フロンティア・サテライトミーティング, 水俣, 平成22年2月(口演).
- 保坂実樹, 浅山敬, 龍田希, 目時弘仁, 鈴木恵太, 黒川修行, 大久保孝義, 仲井邦彦, 今井潤, 佐藤洋. 胎児期の水銀ばく露量と家庭血圧の関連について - Tohoku Study of Child Development より -. 第80回日本衛生学会, 仙台, 平成22年5月(口演).
- 黒川修行, 仲井邦彦, 鈴木恵太, 龍田希, 柳沼梢, 島田美幸, 村田勝敬, 佐藤洋. 幼児期から学齢期にかけての肥満のトラッキング現象. 第80回日本衛生学会, 仙台, 平成22年5月(口演).
- 島田美幸, 仲井邦彦, 中村朋之, 柳沼梢, 龍田希, 黒川修行, 佐藤洋. メチル水銀とPCB各異性体の一般環境ばく露下における蓄積 -コホート調査(TSCD)から-. 第80回日本衛生学会学術総会, 仙台, 平成22年5月(口演).
- 龍田希, 仲井邦彦, 鈴木恵太, 柳沼梢, 島田美幸, 黒川修行, 細川徹, 村田勝敬, 佐藤洋. 環境由来化学物質の周産期ばく露と子どもの行動上の問題: CBCLによる解析から. 第80回日本衛生学会, 仙台, 平成22年5月(口演).
- 仲井邦彦, 龍田希, 黒川修行, 奈良隆寛, 細川徹, 村田勝敬, 福土審, 佐藤洋. 環境由来化学物質の周産期ばく露と子どもの発達: プロトコルと途中経過について. 第80回日本衛生学会, 仙台, 平成22年5月(示説).
- 龍田希, 仲井邦彦, 柳沼梢, 島田美幸, 黒川修行, 櫻井香澄, 細川徹, 村田勝敬, 佐藤洋. 環境由来化学物質の周産期ばく露と子どもの情緒および行動の問題. 第59回東北公衆衛生学会, 山形, 平成22年7月(口演).
- Asayama K., Hayashi K., Ohkubo T., Kanno A., Hara A., Hirose T., Obara T., Metoki H., Inoue R., Kikuya M., Nakai K., Imai Y.,

Satoh H. Birth weight predicts the home blood pressure in children 7 years of age: from the Tohoku Study of Child Development (TSCD). The 20<sup>th</sup> European Meeting on Hypertension, Oslo, June 2010 (poster).

仲井邦彦. 食品を介した環境化学物質のばく露-子どもの成長と発達に与える影響-. 第57回日本栄養改善学会学術総会教育講演, 坂戸, 平成22年9月 (口演) .

Tatsuta N., Nakai K., Shimada M, Yaginuma K., Suzuki K., Kurokawa N., Murata K., Hosokawa T., Satoh H. The association of perinatal exposure to persistent environmental pollutants with child development: Tohoku Study of Child Development. Dioxin 2010, San Antonio, September 2010 (poster) .

仲井邦彦, 黒川修行, 村田勝敬, 佐藤洋. 環境由来化学物質の周産期ばく露と子どもの発達-KSPDとBSID-IIの関連性-. 第69回日本公衆衛生学会, 東京, 平成22年10月 (示説).

保坂実樹, 浅山敬, 佐藤倫広, 橋本貴尚, 目時弘仁, 菊谷昌浩, 大久保孝義, 今井潤, 佐藤洋. 母乳栄養と7歳児の家庭血圧の関連: 東北スタディ. 第33回日本高血圧学会総会, 福岡, 平成22年10月 (口演) .

黒川修行, 龍田希, 鈴木恵太, 柳沼梢, 島田美幸, 村田勝敬, 仲井邦彦, 佐藤洋. 親の収入と児の体格や知能指数との関連性について. 第81回日本衛生学会, 東京, 平成23年3月 (口演) .  
龍田希, 仲井邦彦, 鈴木恵太, 柳沼梢, 島田美幸, 黒川修行, 村田勝敬, 佐藤洋. 環境由来化学物

質の胎児期ばく露と新生児の行動発達の関連性: NBASによる解析から. 第81回日本衛生学会, 東京, 平成23年3月 (口演) .

龍田希, 仲井邦彦, 村田勝敬, 島田美幸, 柳沼梢, 黒川修行, 佐藤洋. 周産期における環境由来化学物質ばく露と新生児の行動発達. メチル水銀ミーティング, 東京, 平成23年3月.

島田美幸, 龍田希, 黒川修行, 柳沼梢, 仲井邦彦, 佐藤洋. メチル水銀とPCBsの複合曝露に関する研究-動物実験と子どもの発達に関する東北スタディから-. 第131年会シンポジウム, 静岡, 平成23年3月 (口演) .

Kurokawa N. The association of body physique and intelligence quotient in children with family income in Tohoku Study of Child Development, Symposium 5: Early life experience and the life course approach. The international conference on social stratification and health. Tokyo, August 2011 (oral).

Tatsuta N., Nakai K., Murata K., Iwai-Shimada M., Yaginuma-Sakurai K., Suzuki K., Kurokawa N., Hosokawa T., Satoh H. The association of prenatal exposure to methylmercury with infant development in Tohoku Study of Child Development. The 10<sup>th</sup> International Conference on Mercury as a Global Pollutant, Halifax, July 2011 (oral).

保坂実樹, 浅山敬, 龍田希, 佐藤倫広, 橋本貴尚, 小原拓, 目時弘仁, 黒川修行, 菊谷昌浩, 大久保孝義, 仲井邦彦, Jan A. Staessen, 今井潤, 佐藤洋. 母の家庭血圧が7歳児の家庭血圧値および家庭心拍数に与える影響について:

Tohoku Study of Child Development. 第 34 回日本高血圧学会総会. 宇都宮, 平成 23 年 10 月 (ポスター).

Asayama K., Staessen J.A., Hayashi K., Hosaka M., Tatsuta N., Nakai K., Imai Y., Satoh H. Mother-offspring aggregation in home versus conventional blood pressure in the Tohoku Study of Child Development (TSCD). 2011 Scientific Meeting of the Belgian Hypertension Committee, Liège, October 2011 (oral).

龍田希、保坂実樹、浅山敬、仲井邦彦、黒川修行、佐藤洋. 小学 1 年生の家庭血圧と授乳期間の関連について. 第 47 回宮城県公衆衛生学会学術総会. 仙台, 平成 23 年 12 月 (口演).

龍田希、仲井邦彦、岩井美幸、黒川修行、柳沼梢、阿部和眞、奈良隆寛、村田勝敬、細川徹、佐藤洋. 環境由来化学物質の胎児期ばく露と出生児の発達との関連性：生後 42 ヶ月時の発達. 第 82 回日本衛生学会学術総会. 京都, 平成 24 年 3 月 (口演).

阿部和眞、仲井邦彦、龍田希、岩井美幸、黒川修行、柳沼梢、村田勝敬、佐藤洋. 臍帯血中のポリ塩化ビフェニル濃度に影響する要因. 第 82 回日本衛生学会総会. 京都, 平成 24 年 3 月 (口演).

G. 知的所有権の取得状況

該当なし

## II. 研究成果の刊行に関する一覧表

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
Yaginuma-Sakurai K, et al.	Assessment of exposure to methylmercury in pregnant Japanese women by FFQ.	Public Health Nutrition	12	2352-2358	2009
仲井邦彦, 他	東北コホート調査と曝露評価	日本衛生学雑誌	64	749-758	2009
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
村田勝敬, 他	小児環境保健に関する疫学調査の取り組みと課題	化学物質と環境	96	6-10	2009
村田勝敬, 他	特集「環境と子どもの健康に関するコホート研究の現状と課題」	日本衛生学雑誌	64	747-748	2009
Suzuki K, et al.	Neurobehavioral effects of prenatal exposure to methylmercury and PCBs, and seafood intake: neonatal behavioral assessment scale results of Tohoku study of child development.	Environmental Research	110	699-704	2010
Tatsuta N, et al.	The Association of perinatal exposure to persistent environmental pollutants with child development: Tohoku Study of Child Development.	Organohalogen Compounds	72	224-227	2010
龍田 希, 他	日本語版不適応行動尺度の作成の試み	日本衛生学雑誌	65	516-523	2010
龍田 希, 他	日本語版不適応行動尺度の信頼性と妥当性の検討	医学のあゆみ	234	1137-1138	2010
村田勝敬, 他	メチル水銀曝露の多様性と健康リスク	公衆衛生	74	279-283	2010
佐藤 洋	エコチル調査前史	医学のあゆみ	235	1083-1086	2010
仲井邦彦, 他	わが国における研究事例：東北スタディ	医学のあゆみ	235	1123-1126	2010
村田勝敬, 他	世界における先行出生コホート研究の教訓	医学のあゆみ	235	1127-1132	2010
Sakamoto M, et al.	Mercury and heavy metal profiles of maternal and umbilical cord RBCs in Japanese population.	Ecotoxicology and Environmental Safety	73	1-6	2010
村田勝敬, 他	メチル水銀毒性に関する疫学的研究の動向	日本衛生学雑誌	66	682-695	2011
村田勝敬, 他	被災地公務員の心的負担	産業衛生学雑誌	53	A41-43	2011
Asayama K, et al.	Mother-offspring aggregation in home versus conventional blood pressure in the Tohoku Study of Child Development (TSCD)	Acta Cardiologica		In press	2012
Tatsuta N, et al.	Prenatal exposures to environmental chemicals and birth order as risk factors for child behavior problems.	Environmental Research		In press	2012
Seino S, et al.	Enhanced auditory brainstem response and parental bonding style in children with gastrointestinal symptoms	PLoS ONE		in press	2012



### III. 研究成果の刊行物・別刷

## Assessment of exposure to methylmercury in pregnant Japanese women by FFQ

Kozue Yaginuma-Sakurai<sup>1,\*</sup>, Miyuki Shimada<sup>1</sup>, Takashi Ohba<sup>1</sup>, Kunihiko Nakai<sup>1</sup>, Keita Suzuki<sup>2</sup>, Naoyuki Kurokawa<sup>1</sup>, Satomi Kameo<sup>1</sup> and Hiroshi Satoh<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Environmental Health Sciences, Tohoku University Graduate School of Medicine, 2-1 Seiryomachi, Aoba-ku, Sendai 980-8575, Japan; <sup>2</sup>Department of Human Development, Tohoku University Graduate School of Education, Sendai, Japan

Submitted 21 April 2008; Accepted 18 December 2008; First published online 6 April 2009

### Abstract

**Objective:** To examine whether an FFQ can be used for assessing exposure to methylmercury (MeHg) by estimating MeHg intake from seafood consumption using the FFQ and confirming the accuracy of the estimated value.

**Design:** Seafood consumption of pregnant women was assessed using the FFQ. Total mercury (T-Hg) concentrations of maternal red blood cells (RBC) and hair were measured as exposure indices of MeHg.

**Setting:** A prospective birth cohort study, the Tohoku Study of Child Development (TSCD), which has been ongoing since 2001.

**Subjects:** The subjects were 609 pregnant Japanese women who were enrolled in the TSCD.

**Results:** MeHg intake was estimated from seafood consumption determined using the FFQ and the MeHg concentrations in each type of seafood. The accuracy of the estimated value was confirmed by comparison with T-Hg in RBC and hair. Estimated MeHg intake was 42.3 µg/week, and 43.0% of that was from large predatory fish. Compared with the Japanese tolerable weekly intake, in total 12.5% of the subjects exceeded it. T-Hg concentrations in RBC and hair were significantly correlated with estimated MeHg intake:  $r = 0.325$  ( $P < 0.0001$ ) for RBC and  $r = 0.305$  ( $P < 0.0001$ ) for hair.

**Conclusions:** Estimated MeHg intake based on the FFQ was significantly associated with T-Hg concentrations in RBC and hair. Although the estimated value involves uncertainties, the FFQ appears to be a useful tool for assessment of exposure to MeHg.

**Keywords**  
Methylmercury intake  
Pregnant women  
Food-frequency questionnaire  
Seafood

Methylmercury (MeHg) is a well-known environmental neurotoxicant. Since MeHg readily crosses the placenta, fetuses are a high-risk group for MeHg exposure. A delay of development of cognitive function in children caused by prenatal MeHg exposure was shown in some epidemiological studies<sup>(1–3)</sup>. Therefore, there has been concern about MeHg exposure during pregnancy. To minimize the risks of adverse effects of MeHg, several thresholds of safety have been proposed; e.g. a provisional tolerable weekly intake (PTWI)<sup>(4)</sup>, a reference dose (RfD)<sup>(5)</sup> and a minimal risk level<sup>(6)</sup>. In Japan, the tolerable weekly intake (TWI) for MeHg of 2.0 µg/kg body weight per week for pregnant and potentially pregnant women was proposed by the Japan Food Safety Commission<sup>(7)</sup>.

Assessment of exposure to MeHg usually has been conducted using biomarkers such as blood and hair<sup>(8)</sup>. As the source of MeHg exposure is mostly seafood because of food chain transfer, it might be possible to conduct

exposure assessment by estimating MeHg intake from seafood consumption. If we can conduct such assessment using a dietary survey, it will have the following merits. There will be no need to collect biological samples. Rapid assessment on the spot will be possible, because there is no need for chemical analysis. It will also be possible to conduct dietary guidance during pregnancy at the same time.

It is known that the biological half-life of MeHg in man is 70 d<sup>(8)</sup>. Therefore, long-term dietary intake data are needed to assess the chronic dietary exposure to MeHg from seafood. There are highly accurate dietary survey methods available such as duplicate meals and dietary records, but it is difficult to continue a survey for a long time by these methods. In this respect, the FFQ is one reasonable survey method for assessing MeHg exposure because it can obtain information about eating patterns over a longer period with a simple questionnaire<sup>(9,10)</sup>.

\*Corresponding author. Email sakurai@ehs.med.tohoku.ac.jp

The FFQ is commonly used in epidemiological studies in different contexts, groups and populations<sup>(11,12)</sup>.

We have been performing a prospective birth cohort study, the Tohoku Study of Child Development (TSCD), since 2001 to examine the effects of perinatal exposure to MeHg and persistent organic pollutants on child development, in which an FFQ was used to assess the food intake for pregnant women and maternal blood and hair were collected to determine the level of exposure to MeHg<sup>(13)</sup>. In the present study, we estimated the MeHg intake from seafood consumption based on the FFQ and confirmed the accuracy of the estimated value by comparison with biomarkers to examine whether the FFQ can be used for assessment of exposure to MeHg.

## Methods

### Study design

From January 2001 until September 2003, a total of 687 pregnant women who were in the 22nd to 28th week of pregnancy were enrolled in the TSCD and eligible for inclusion (i.e. no severe diseases such as thyroid dysfunction, hepatitis, immune deficiency, malignant tumours and mental diseases; no *in vitro* fertilization; and Japanese as their native language). The study was carried out with their informed consent and approval of the Ethics Committee of Tohoku University Graduate School of Medicine.

Information on characteristics of the subjects including age, body weight and height before pregnancy, smoking and alcohol consumption during pregnancy, and education was collected by self-administered questionnaires at enrolment or 4 d after delivery. Blood samples were collected at the 28th week of pregnancy using a vacuum-system heparin tube. Collected peripheral blood (30 ml) was centrifuged within 4 h for 20 min at 3000 rpm, and then red blood cells (RBC), plasma and whole blood were stored at  $-80^{\circ}\text{C}$ . Hair samples were collected at 4 d after delivery. The hair was cut next to the scalp, in the occipital area, with stainless steel scissors. The hair samples were placed in a plastic bag and kept in a desiccator. The FFQ was conducted 4 d after delivery.

### Estimation of methylmercury intake based on the FFQ

The FFQ was conducted by trained interviewers who showed the subjects full-scale pictures of seafood dishes<sup>(14)</sup>. The subjects gave the frequency and portions of consumption over the past year according to each picture. The amounts of consumption were calculated from the frequencies and the portions given by the subjects individually. We selected several kinds of seafood that were often found at the fish market in the study area and classified them into thirteen items: i.e. large predatory fish (such as tuna, swordfish and marlin), bonito, whale, salmon, eel, yellowtail, silvery blue fish, white-meat fish,

other fish, squid, shellfish, salmon roe and canned tuna, considering MeHg level and type of seafood. It is thought that these thirteen items cover almost all fish/shellfish consumed in this area. Because shark is rarely consumed in this area, we did not include shark in the thirteen items.

To estimate the MeHg intake, a calculation was performed, multiplying the amount of each of the thirteen items of seafood consumption (g/week) obtained from the FFQ by the total mercury (T-Hg) concentration in that item ( $\mu\text{g/g}$ ). The T-Hg concentrations in the items were obtained from a database maintained by the Japan Ministry of Health, Labor and Welfare<sup>(15)</sup>. This database was constructed based on the data of T-Hg and MeHg concentrations in 385 kinds and 9712 samples of seafood surveyed in Japan. It contains the MeHg concentrations in some, but not all kinds of seafood. The number of samples for MeHg listed is not sufficient compared with the number of samples for T-Hg. Therefore we did not use the data for MeHg but used the data for T-Hg instead. It has been suggested that MeHg comprises >90 % of the T-Hg in seafood<sup>(16,17)</sup>; thus we assumed that the amount of MeHg was 100 % of the T-Hg concentration in the items in order to prevent underestimation.

### Determination of total mercury in biological samples

We used RBC and hair as the exposure indices of MeHg based on evidence that more than 90 % of T-Hg in RBC and hair is MeHg<sup>(18)</sup>. It has been reported that permanent waving decreases the mercury concentration in hair<sup>(19,20)</sup>, but Ohba *et al.*<sup>(21)</sup> reported that the average mercury concentration of 3-cm segments of hair from the proximal end showed no significant decrease by permanent waving. In our cohort, 21.2 % of the subjects had permanent waving or straightening. Therefore we used 3-cm segments from the proximal end, which provided an accurate exposure level.

T-Hg in RBCs and hair were determined by cold vapour atomic absorption spectrophotometry according to the method of Akagi and Nishimura<sup>(22)</sup>. Each sample was acid digested with  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{HClO}_4$  and  $\text{H}_2\text{SO}_4$  at  $200^{\circ}\text{C}$  for 30 min. The resultant inorganic mercury was then reduced to mercury vapour by adding 10 %  $\text{SnCl}_2$  to a flameless atomic absorption monitor (HG-201; Sanso Co., Ltd, Tokyo, Japan). To ensure the accuracy of the determination, whole-blood reference material Seronorm 201605 (SERO, Billingstad, Norway) and human hair reference material NIES CRM No. 13 (National Institute of Environmental Studies, Tukuba, Japan) were used.

### Statistical analysis

The estimated MeHg intake and the T-Hg concentrations in RBC and hair were not normally distributed. The associations of estimated MeHg intake with T-Hg concentrations in RBC and hair were analysed using Pearson's correlation

coefficient ( $r$ ) after logarithmic transformation. One-way ANOVA was conducted for evaluation of the differences among T-Hg concentrations in RBC and hair by quartile of estimated MeHg intake. This analysis was also performed after logarithmic transformation of T-Hg concentrations in RBC and hair. All statistical analyses were carried out using the JMP software package version 7.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

## Results

### Characteristics of the subjects

Six hundred and nine pregnant women enrolled in the TSCD who donated blood and hair and completed the FFQ were included in the present analysis. The characteristics of these 609 women are shown in Table 1. Mean (SD) age was 31.5 (4.4) years. The mean (SD) weight, height and BMI before pregnancy were 52.6 (7.6) kg, 158.6 (4.9) cm and 20.9 (2.7) kg/m<sup>2</sup>, respectively. During pregnancy, 7.2% of the subjects smoked and 32.3% consumed alcohol. Seventy-five per cent of the subjects had >12 years of education.

The distributions of T-Hg concentrations in RBC and hair are shown in Fig. 1. The median (5th, 95th percentile) T-Hg concentration was 13.1 (5.8, 27.6) ng/g for RBC and 2.0 (0.9, 4.4) µg/g for hair. There was a significant correlation between T-Hg concentrations in RBC and hair (Pearson's correlation coefficient after log-transformation:  $r = 0.916$ ,  $P < 0.0001$ ; data not shown).

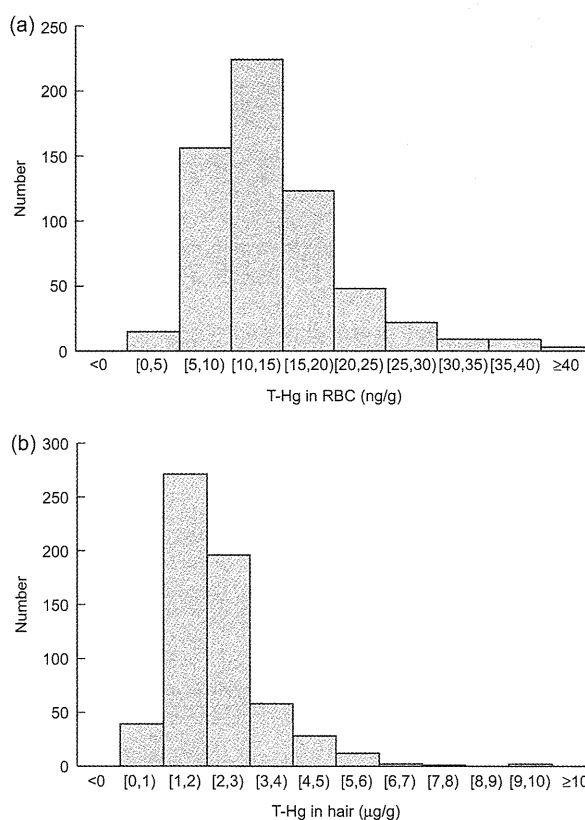
### Estimated methylmercury intake based on the FFQ

The frequencies and amounts of consumption and estimated MeHg intake for the thirteen items are shown in Table 2. In total, the median (5th, 95th percentile) frequency of consumption was 5.4 (1.9, 12.6) times/week and amount was 309.7 (93.1, 742.5) g/week. The most frequently consumed item was salmon (mean of the ratio to total consumption for all subjects: 17.6%), followed by silvery blue fish (14.7%), canned tuna (11.3%) and white-meat fish (10.7%). Silvery blue fish was the most consumed item in terms of amount (17.7%), followed by white-meat fish (15.6%), large predatory fish (13.5%) and salmon (11.8%). Whale was rarely consumed. Median (5th, 95th percentile) total MeHg intake was estimated to be 42.3 (8.8, 134.0) µg/week. Large predatory fish were the principal source of MeHg (43.0%), followed by white-meat fish (12.7%) and silvery blue fish (11.3%). Every other item had a contribution of less than 10.0%. Dividing the total MeHg intakes (µg/week) by the body weights of individuals measured before pregnancy, the median (5th, 95th percentile) MeHg intake was calculated to be 0.8 (0.2, 2.6) µg/kg body weight per week. The distribution of MeHg intake per kilogram of body weight per week is shown in Fig. 2. It was found that 12.5% of the subjects exceeded the TWI.

**Table 1** Characteristics of the study subjects: 609 pregnant Japanese women enrolled in the Tohoku Study of Child Development

	Mean	SD	%
Age (years)	31.5	4.4	
Weight (kg)	52.6	7.6	
Height (cm)	158.6	4.9	
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	20.9	2.7	
Smoking during pregnancy			7.2
Alcohol consumption during pregnancy			32.3
Education (>12 years)*			75.0

\*Data were missing for two subjects.



**Fig. 1** Distributions of total mercury (T-Hg) concentrations in red blood cells (RBC) (a) and hair (b) in 609 pregnant Japanese women enrolled in the Tohoku Study of Child Development. The median (5th, 95th percentile) of T-Hg concentration is 13.1 (5.8, 27.6) ng/g for RBC and 2.0 (0.9, 4.4) µg/g for hair

### Association of methylmercury intake with total mercury in red blood cells and hair

The T-Hg concentrations in RBC and hair were significantly correlated with the estimated MeHg intake:  $r = 0.325$  ( $P < 0.0001$ ) for RBC,  $r = 0.305$  ( $P < 0.0001$ ) for hair (Fig. 3). The T-Hg concentrations in RBC and hair by quartile of MeHg intake are shown in Table 3. As the MeHg intake increased, the T-Hg concentrations in RBC and hair increased significantly ( $P < 0.0001$  for RBC,  $P < 0.0001$  for hair).