

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 19 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23390158

研究課題名(和文)ポリ塩化ビフェニルの胎児期ばく露による健康影響に関するコホート内症例対照研究

研究課題名(英文)Nested case-control study on the effects of prenatal exposure to PCBs

研究代表者

仲井 邦彦(NAKAI, Kunihiko)

東北大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：00291336

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,600,000円、(間接経費) 4,380,000円

研究成果の概要(和文)：胎児期におけるポリ塩化ビフェニル(PCB)ばく露と、出生児の神経行動学的な発達と関連性を明らかにするため、東北地方沿岸部で実施した出生コホート調査を活用し、コホート内症例対照研究を実施した。目的変数は出生児の神経行動学的な発達であり、3歳半で実施した児の知的発達指標である認知処理尺度とした。曝露指標として、分析対象の化学物質は、塩素数7-10の主な異性体とDDEとした。重回帰分析の結果、現在のところPCBの負の影響は確認されておらず、再現性の検証ができなかった。引続き多変量解析を行うこととなった。

研究成果の概要(英文)：Environmental exposures to polychlorinated biphenyls (PCBs) have been suggested as a risk factor for neurobehavioral development in children. A nested case-control study was performed to investigate the association between the cognitive outcome at 42 months and the prenatal exposures to PCB and DDE. The Tohoku Study of Child Development cohort contains cord blood samples collected at the delivery of healthy pregnant women of the Tohoku district of east Japan. The cognitive score was assessed with the Kaufman Assessment Battery for Children (K-ABC). After adjusting with maternal IQ, maternal age, gestational days, maternal fish intake, plasma omega-3/omega-6 polyunsaturated fatty acids, and others, no statistically significant association with the cognitive and simultaneous processing scores was seen for any PCB and DDE.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会科学・衛生学

キーワード：コホート内症例対照研究 ポリ塩化ビフェニル 胎児期ばく露 神経行動学 出生コホート調査 知能検査

1. 研究開始当初の背景

(1) ポリ塩化ビフェニール (PCB) やダイオキシン類などの残留性有機汚染物質 (POPs) は、生態系において食物連鎖を通して生物濃縮されることが知られている。このためヒトは主に魚介類の摂取を介して PCB を取り込むと考えられる。

(2) 海外で実施された出生コホート調査の結果より、POPs、特に PCB による胎児期および新生児期における曝露の健康影響として、出生児の認知行動面の発達の遅れや偏りなどが懸念されている。PCB について、国内に疫学的な知見は少ない。母乳を用いた長期モニタリング事業の知見から、現在の日本人の曝露レベルは漸減していると考えられるものの、日本人は魚を多食する食習慣を有しており、POPs による曝露のレベルは比較的高いことが予想される。PCB の有害性の検証が必要と考えられた。

(3) この低用量域における PCB 曝露の影響を明らかにするため、我々は 2001 年より仙台市周辺にて出生コホート調査を進めてきた。その結果、生後 42 ヶ月で実施した知能検査 (K-ABC による認知処理尺度) では、臍帯血総 PCB 濃度との間に重回帰分析で負の有意な関連性が認められ、特に高度塩素化 PCB である 9 塩化物で負の影響が顕著に観察された ($\beta = -6.75$, $p < 0.05$, $n = 323$)。その知見の検証が早急に求められている。

(4) 我々は仙台地区の出生コホートに続いて、主にメチル水銀の曝露影響を検証するため、第 2 の出生コホート調査を気仙沼市などの南三陸沿岸部で実施してきた。調査地は、魚介類の摂取量が仙台などの都市部よりも高い地区を選択するため、事前に全国数カ所で毛髪総水銀値をモニタリングし選択した。この第 2 の出生コホートを活用することで、先行研究で得られた結果の客観性および妥当性を証明することができると考えられた。この第 2 のコホートでは PCB の曝露評価は行われていないが、臍帯血を保管しており PCB の曝露評価を実施することは可能と考えられた。仮に PCB の負の影響が再確認された場合、妊娠を予定する女性の PCB 曝露を回避または軽減することが急務となると考えられた。

2. 研究の目的

(1) 胎児期および新生児期における PCB 曝露と、出生児の神経行動学的な指標、特に生後 3 歳半における知能との関連性をコホート内症例対照研究により明らかにすることを目的とした。

(2) 特に、我々はすでに仙台地区にて第 1 の出生コホート調査を実施し、臍帯血 PCB 濃度が 10 倍になると、3 歳半の知的発達の指標である認知処理尺度が約 6.7 点下ることを観察した。この影響は、IQ70 未満の知的障害児の発生頻度を 2.7 倍にする影響を持ち、PCB 曝露が低用量であっても有害であるこ

とが強く懸念された。この再現性の確認を目指した。

3. 研究の方法

(1) POPs およびメチル水銀による周産期ばく露の健康影響を明らかにするため、児の成長と発達を追跡する出生コホート調査をこれまで行ってきた。第 1 の出生コホートをまず仙台市で開始し、ついでメチル水銀の曝露影響の評価を目的 (環境省の委託事業として実施) として、2002 年 12 月より第 2 の出生コホートを、気仙沼市を中心とする三陸沿岸部で進めてきた (Tohoku Study of Child Development, TSCD)。本研究はその第 2 の出生コホートを対象としたコホート内症例対照研究を行うものであり、第 2 のコホートでは PCB のばく露評価は行われなかったため、曝露指標として新たに保存臍帯血を用いた PCB 分析を追加した。なお、この出生コホートは本研究期間の間も継続されており、2013 年度現在で 10 歳を対象とする追加調査が行われ、12 歳では再度知能検査が予定されている。

(2) 第 2 のコホートの対象者は、気仙沼市内の 2 つに産婦人科医療機関を受診した健康な妊娠女性であり、hospital-base での登録を行った。妊娠 22 週頃に調査目的を説明し、書面による同意を得て登録を行ったが、登録期間は 2002 年 12 月～2006 年 3 月までとした。登録基準と除外基準として、a) 妊娠 37 週以降の出産であること、b) 単胎であること、c) 母親が日本語を読み書きできること、さらに、疾患については、d) 重度の先天奇形を除外し、e) 主治医が調査に参加できると判断できること、などを条件とした。出産時に母親末梢血、臍帯血、および胎盤を収集し保管するとともに、後頭部より母親毛髪を採取した。母親末梢血および臍帯血は全血、血漿、赤血球に分けて -80°C にて分析まで冷凍保管した。

(3) 本研究の準備状況として、以下の指標についてはすでに分析済みであるが、本研究での統計解析に際して共変量として活用した。メチル水銀の曝露指標として、臍帯血赤血球および母親毛髪の総水銀を還元気化原子吸光度法により分析した。メチル水銀の毒性に拮抗すると考えられるセレンについては、臍帯血を用いて Watkinson 法により分析を行った。魚介類摂取の栄養学的なベネフィットを構成すると考えられる $\omega 3$ 系多価不飽和脂肪酸については、血漿中の脂肪酸分析をガスクロマトグラフィー法により行った。母親魚摂取量を推定するため、出産時に自記式質問票である実寸法師を用いて調査し、一回当たりの摂取量と摂取頻度から魚介類摂取量を推定した。

(4) 症例の選択は、生後 42 ヶ月で実施した知能検査 (K-ABC) のスコアから、全体を 4 分位に分割し低スコア群から順に選択した。対照群は、知能検査の中～高スコア群から、

母親年齢、出生体重、在胎週数、児の性、母親IQ、家族年収、学歴、授乳歴、育児環境スコア、保育園または幼稚園通園の有無、家族構成（特に兄弟姉妹の有無）、血漿中 ω 3/ ω 6比、魚摂取量などを調整して選択した。なお、知能検査であるK-ABCは個別式心理教育アセスメントバッテリーであり、小児を対象とした知能検査で、認知処理尺度および習得度尺度から構成される。今回の解析では先行研究で関連性が観察された認知処理尺度にて症例の選択を行った。

(5) 本研究では、新たに臍帯血全血のPCB異性体11種類とジクロロジフェニルジクロロエチレン(DDE)の同時分析を、高分解能ガスクロマトグラフィー質量分析計(HRGC-HRMS)により実施した。PCB異性体は、国連環境計画(UNEP)が指標異性体として採用している7異性体(IUPAC No. #28、#52、#101、#118、#138、#153および#180)に追加し、ヒトへの有害性が高いと考えられる#206、#207、#208および#209の4異性体の分析を行うこととした。検体は凍結保存していた臍帯血全血を用いた。化学物質の分析結果は、脂肪重量あたりの濃度として表現し解析に用いた。

(6) 今回の解析に際して、出生コホート調査開始の当初から東北大学医学系研究科倫理委員会に申請し承認を得るとともに、調査協力者にも登録時にPOPs分析を含めて説明して同意を取得してきた調査である。このため本研究の実施に際しての新たな倫理申請や同意取得は行わなかった。

(7) 統計解析に際して、PCB濃度、総水銀濃度、および母親の魚介類摂取量は正規分布を示さなかったため、対数変換して解析に用いた。 ω 3系多価不飽和脂肪酸については、デキサヘキサエン酸(DHA)を解析に用いた。知能検査の各指標との関連性を検討するため、説明変数として、在胎週数、出生時体重、児の性別、母親の出産時年齢、出産順位、分娩様式、妊娠中の喫煙および飲酒習慣、知能検査のテスターに加え、総水銀、臍帯血セレン、母体血DHAを用いて重回帰分析による解析を実施した。統計解析はJMP v10.0.2によった。

4. 研究成果

(1) 臍帯血PCBおよびDDEについて、研究予算の関係で234検体の臍帯血の分析を実施した。なお、PCB濃度は出生順位で差があり、第1子で高くなることがわかっている。このため参考までに出生順位でPCB濃度の比較を行ったが(表1)、生体内半減期が長い中等度~高度塩素化PCBで第2子以降の群で濃度が低下する傾向が観察されたものの、統計学的には有意な差を観察することはできなかった。

(2) 臍帯血PCBとK-ABCの各指標との関連性を単変量解析(表2)により検討した。同時にメチル水銀曝露(臍帯血および母親毛髪総

水銀)、臍帯血セレン、母親血漿中DHA、ならびに母親魚摂取量についても解析を行ったが、いずれの指標も単変量解析では知能指数の指標との間に有意な関連性は認められなかった。

表1 PCB異性体と出産順位との関連

	t 値	自由度	p
SumPCB	1.034	234	0.302
#28	1.059	234	0.290
#52	0.003	234	0.998
#101	-0.303	234	0.762
#118	1.489	234	0.137
#153	1.154	234	0.249
#138	1.474	234	0.141
#180	0.073	234	0.941
#208	-1.773	234	0.077
#207	-1.785	234	0.075
#206	-1.304	234	0.193
#209	-1.361	234	0.174
9CBs	-1.830	234	0.068

表2 PCBを含む曝露指標とK-ABCの各指標との関連性(単変量解析)

	n	継次処理		同時処理		認知処理		習得度	
		r	p	r	p	r	p	r	p
SumPCB	234	0.018	0.721	-0.015	0.775	0.005	0.923	0.078	0.127
#28	234	-0.002	0.971	-0.020	0.699	-0.015	0.766	0.087	0.088
#52	234	-0.033	0.522	-0.089	0.084	-0.075	0.144	-0.032	0.535
#101	234	-0.028	0.585	-0.071	0.167	-0.062	0.226	0.015	0.776
#118	234	0.006	0.905	-0.013	0.793	-0.003	0.957	0.078	0.126
#153	234	0.027	0.600	-0.009	0.855	0.013	0.807	0.084	0.100
#138	234	0.013	0.795	-0.021	0.687	-0.001	0.988	0.079	0.124
#180	234	0.019	0.709	-0.009	0.861	0.010	0.839	0.062	0.229
#208	234	-0.032	0.532	0.010	0.853	-0.007	0.899	0.025	0.623
#207	234	0.004	0.933	0.004	0.938	0.007	0.890	0.065	0.287
#206	234	0.009	0.863	0.008	0.878	0.013	0.797	0.030	0.557
#209	234	-0.004	0.932	0.006	0.906	0.008	0.870	-0.005	0.915
9CBs	234	0.010	0.844	0.013	0.801	0.017	0.739	0.052	0.311
DDE	234	0.024	0.638	0.019	0.717	0.033	0.526	0.095	0.064
CordTHg	229	0.027	0.597	-0.018	0.727	-0.005	0.919	0.032	0.541
HairTHg	234	-0.004	0.942	-0.054	0.295	-0.041	0.424	0.007	0.895
Cord Se	224	0.027	0.603	0.084	0.106	0.067	0.201	-0.008	0.883
DHA	230	0.023	0.661	-0.008	0.870	0.004	0.941	-0.004	0.941
Fish intake	234	0.061	0.231	0.085	0.096	0.082	0.110	0.040	0.432

Pearsonの積率相関係数

(3) 臍帯血PCBとK-ABCの各指標との関連性を重回帰分析により検討した。共変量であるメチル水銀の曝露指標としては、臍帯血総水銀を用いた。PCBの指標として総PCB、11種の各PCB異性体、および高度塩素化PCBである9塩化物について解析をそれぞれ行ったが、いずれの指標でも知能指数の各指標との間に有意な関連性は認められなかった。総PCBの解析結果を表3に示した。DDEについても同様に検討を行ったが、有意な関連性は認められなかった。我々の先行研究では、K-ABCのうちの認知処理尺度と総PCBの間で負の関連性が見いだされ、特に9塩化物で強い負の関連性が観察されている。その再現性を試みたが、今回の解析結果では再現性は検証できなかった。

この解釈として、先行研究の結果が間違っている可能性、または本研究の結果が間違っている可能性、のいずれかが考えられた。今後の検討課題としては、第2の出生コホートで保存している臍帯血を用いてさらにPCB分

析数を増やして再検討することが考えられた。また、今回のPCB分析は入札で分析機関を決めて実施し、精度管理では内部精度管理および外部精度管理を行ったものの、出生順位との間で関連性が観察されないなど、疑問点も残されているので、分析結果の再検証を含めてさらに検討することが必要と考えられた。

なお、出生コホートでのPCBの有害性の検証という意味では、環境省が2011年から開始した「子どもの健康と環境に関する全国調査」(エコチル調査)でも、PCBの有害性の検証が中心仮説の一つとして取り上げられ、波多津指数や知能指数との関連性が検証される計画である。エコチル調査でもいずれ検証が行われることを期待したい。

表3 PCBを含む曝露指標とK-ABCの各指標との関連性(重回帰分析の結果)

	継次処理		同時処理		認知処理		習得度	
	調整R ²	p	調整R ²	p	調整R ²	p	調整R ²	p
	0.055	0.005	0.076	0.000	0.095	0.000	0.064	0.002
	標準化β	p	標準化β	p	標準化β	p	標準化β	p
在胎週数	0.116	0.054	0.070	0.240	0.098	0.096	-0.030	0.616
出生時体重	0.056	0.348	0.094	0.109	0.089	0.126	0.107	0.071
子どもの性別	-0.170	0.001	-0.257	0.000	-0.249	0.000	-0.152	0.004
出産時母親年齢	0.118	0.065	0.118	0.063	0.145	0.021	0.042	0.511
出生順位	-0.089	0.137	-0.117	0.048	-0.124	0.034	-0.226	0.000
分娩様式	0.015	0.790	0.031	0.565	0.029	0.592	0.044	0.422
妊娠中飲酒	-0.047	0.380	-0.017	0.740	-0.031	0.554	-0.050	0.342
妊娠中喫煙	0.008	0.876	-0.029	0.573	-0.014	0.781	0.013	0.801
母学歴	0.046	0.380	0.051	0.331	0.058	0.265	0.127	0.016
Cord THg	0.015	0.790	-0.014	0.814	-0.008	0.890	0.040	0.488
Cord Se	0.005	0.931	0.044	0.407	0.030	0.573	-0.030	0.575
DHA	0.008	0.895	-0.013	0.819	-0.004	0.937	-0.044	0.440
9CBs	-0.030	0.621	-0.017	0.777	-0.025	0.674	0.038	0.520

共変量：検査時月齢、テスター

(4) 共変量として解析に用いた児の性別、母親年齢、および出産順位が知能指数の各指標と密接であることが示された。全体として、女兒でいずれの指標でもスコアが高く、第1子の場合もスコアが高くなった。また、出産時の母親年齢が高いほど、児のスコアが高くなる傾向が示された。以上の結果については、第1の出生コホートの結果とほぼ同じ傾向が示された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計4件)

- ① 仲井 邦彦、魚介類摂取と化学物質曝露のリスク、脂質栄養学、査読有、22巻、2013、7-15
- ② Tatsuta N、Suzuki K、Nakai K、Hosokawa T、Sato H、Comparison of Kyoto Scale of Psychological Development and Bayley Scales of Infant Development second edition among Japanese infants、Journal of Special Education Research、査読有、2巻、2013、17-24
- ③ Iwai-Shimada M、Nakamura T、Sugawara N、Kurokawa N、Nakai K、Sato H、Increase in accumulation of polychlorinated biphenyls in offspring mouse brain via maternal coexposure to methylmercury

and polychlorinated biphenyls、Journal of Toxicological Science、査読有、38巻、2013、689-696

http://dx. doi. org/10. 2131/ jts. 38. 689

- ④ Tatsuta N、Nakai K、Murata K、Suzuki K、Iwai-Shimada M、Yaginuma-Sakurai K、Kurokawa N、Nakamura T、Hosokawa T、Sato H、Prenatal exposures to environmental chemicals and birth order as risk factors for child behavior problems、Environmental Research、査読有、114巻、2012、47-52
http://dx. doi. org/10. 1016/ j. envres. 2012. 02. 001

[学会発表] (計4件)

- ① 仲井 邦彦、龍田 希、岩井 美幸、阿部 和真、村田 勝敬、細川 徹、佐藤 洋、周産期PCBばく露による出生児の発達への影響、第21回環境化学討論会、2012年7月11日~13日、松山市
- ② 阿部 和真、仲井 邦彦、龍田 希、中村 朋之、岩井 美幸、黒川 修行、柳 沼 梢、村田 勝敬、坂本 峰至、佐藤 洋、臍帯血PCB濃度を決定する要因の検討、第21回環境化学討論会、2012年7月11日~13日、松山市
- ③ 仲井 邦彦、食物由来の環境化学物質とその曝露による子どもの健康影響、第66回日本栄養・食糧学会大会、2012年5月18日~20日、仙台市
- ④ 仲井 邦彦、東北沿岸部における小児出生コホート調査の到達点と東日本大震災被災地としての課題、第82回日本衛生学会総会、2012年3月24日~26日、京都市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

仲井 邦彦 (NAKAI, Kunihiko)
東北大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号： 00291336

(2) 研究分担者

龍田 希 (TATSUTA, Nozomi)
東北大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号： 40547709

(3) 研究分担者

黒川 修行 (KUROKAWA, Naoyuki)
宮城教育大学・教育学部・講師
研究者番号： 30431505