

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 9 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23790662

研究課題名(和文) 発達期の粉乳によるヒ素曝露の臨床的慢性影響評価(パイロット研究)

研究課題名(英文) Long term clinical consequences of developmental arsenic exposure from contaminated milk powder &#8211; Pilot study

研究代表者

頼藤 貴志 (Yorifuji, Takashi)

岡山大学・その他の研究科・准教授

研究者番号：00452566

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：1955年夏、ヒ素を混入したミルクによる食中毒が西日本中心に発生した。しかしながら、疫学的検証は充分には行われていない。その為、ヒ素曝露を受けた集団を対象として、ミルク飲用と健診所見、神経学的所見やがん関連のマーカーとの関連を検討するパイロット研究を行った。50名(飲用群27名、非飲用群23名)を対象とし、2012年4月24日から2013年2月26日の間に調査を行った。結果、飲用群において非飲用群に比べ、いくつかの自覚症状が多く見られた。神経認知行動学的検査においては、フィンガータッピングは差が認められなかったが、その他の検査項目で差が認められた。また、健診所見において差を認めた項目があった。

研究成果の概要(英文)：During the summer of 1955, mass arsenic poisoning of bottle-fed infants occurred in the western part of Japan due to contaminated milk powder. However, few epidemiological and toxicological studies have focused on developmental or programming effects of arsenic exposure until now. We therefore conducted a pilot study to evaluate the associations of arsenic intake with a series of clinical tests that reflect neurological, neurophysiological, neurobehavioral functions and indicators of possible cancer development. We included 27 exposed subjects and 23 controls and conducted the study during the period from April 24, 2012, to February 26, 2013. After we compared the findings between the exposed and the controls, the exposed subjects tended to manifest some symptoms more frequently. The exposed subjects also tended to show some deficits in neurobehavioral tests except finger tapping. The exposed subjects had shorter height and had higher ALP compared to the controls.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・衛生学

キーワード：ヒ素 食中毒 健康影響 神経認知行動学的検査 神経生理学的検査 神経学的身体所見 疫学 環境保健

1. 研究開始当初の背景

1955年夏、ヒ素を混入したミルクによる食中毒が西日本中心に発生した (Dakeishi et al. 2006; Hamamoto 1957)。1956年の厚生省の報告では、12,000人以上が中毒を受け、130人以上が急性の中毒で死亡したとされている。現在、被害者は財団法人ひかり協会により補償を受けている。このヒ素ミルク中毒のような乳幼児期の一点曝露での食中毒は珍しく、乳幼児へのヒ素の影響を検討する際に、またヒ素による健康影響の重要期間 (Critical period) を検討する際に、1955年の食中毒は国際的にも貴重な教訓となり得る。しかしながら、被害者のその後のがん死亡に関する研究は一部報告されているが、ミルクを摂取した集団でどのような疾患が多発しているか、どのような症状が現れたかの疫学的検証は充分には行われていない。

まず、ヒ素は地下水汚染などの慢性曝露により、肺がん、皮膚がん、膀胱がんなどが多発することは認められている (Straif et al. 2009)。しかしながら、これらの知見は主に慢性影響からのみであり、発達段階である乳幼児期の一点曝露に関する知見はほとんどない。田中らのひかり協会に登録されている被害者を追跡した研究では、神経系疾患での死亡の増加を示しているが、発がんの増加は認めていない (Tanaka et al. 2010)。しかしながら、死亡のみに着目していること、サンプル数が少ないこと、また追跡期間が短いという問題点がある。それらを克服する為に、我々が行った岡山県を対象としたエコロジカル研究では、全がん・肝がん・すい臓がん・皮膚がん・白血病などの増加が認められたが (Yorifuji et al. 2010; Yorifuji et al. 2011)、エコロジカル研究という限界がある。これらの問題点を克服するには、がんの罹患やがんの生物学的マーカーを検討する必要がある。

更に、ヒ素は発がん性だけではなく、神経学的毒性も報告されている。ヒ素ミルク中毒被害者を対象にした研究でも、大平・青山らは被害者での発達の遅れやIQ低下を認めている (Ohhira and Aoyama 1973)。しかし、海外の研究では、発達時の曝露による神経学的毒性に関する知見は未だ一貫していない (Smith and Steinmaus 2009)。その為、詳細な神経認知行動学的検査・神経生理学的検査を用いることにより、乳幼児期の曝露により、神経機能の何処が影響を受けているのかを検討することが出来ると思われる。

最後に、最近の研究では、ヒ素によるエピジェネティックな (epigenetic) 影響が注目されている (Baccarelli and Bollati 2009)。ヒ素によるDNAメチレーションというエピジェネティックな影響によりその後の健康影響の発生に重要な役割を果たしていること

も指摘されており、被害者の方の遺伝学的検索も必要であると思われる。

2. 研究の目的

健診所見、神経学的 (認知・行動・生理) 所見やがん関連の生物学的マーカーといった臨床検査とヒ素曝露の関連を検討する。

3. 研究の方法

(1) 研究対象

対象者の選択に当たっては、財団法人ひかり協会の岡山県支部、また岡山県にてヒ素ミルク被害者の追跡を行っている岡山協立病院、水島協同病院、井村医院の協力を得た。ヒ素曝露群として、岡山協立病院 (井村医院を含む) から17名、水島協同病院から10名の合計27名を対象とした。非飲用群として、ヒ素曝露群と同じ年齢層のそれぞれの病院の従業員合計23名 (岡山協立病院10名、水島協同病院13名) を対象とした。

(2) 観察方法

研究期間は、2012年4月24日から2013年2月26日の間であり、全ての評価項目を、健康診査時に収集した。研究は、岡山大学大学院医歯薬学総合研究科と各病院が設置する倫理審査委員会にて承認の後に行った。また研究実施の際には、対象者より説明の上、同意書を取得した。

(3) 結果指標 (評価項目)

基本情報など
質問票にて、基本情報 (年齢・性など)、喫煙・飲酒歴、自覚症状、既往歴などを収集した。

身体所見 (体重、身長、血圧)、血液所見など
各病院にて健康診査時に測定した。

神経学的所見

所定の神経学的チャートを作成し、それに則り神経内科医又は脳神経外科医により取得した。

神経生理学的検査

神経伝導速度 (両手の正中神経)・視覚誘発電位 (Flash VEP)・聴覚脳幹誘発電位を行った。(岡山協立病院では視覚誘発電位は行わなかった。)

神経認知行動学的検査

以下のテストを実施した。フィンガータッピング (両手反復)、ペグボード、WAIS-III (ウェクスラー成人知能検査 III) の中の積木と単語、記憶評価の為のデザインメモリー

尿中ヒ素メチル化評価

健診時に追加で、尿中ヒ素メチル化を評価する為に尿を10ml取得し冷凍保存を行った。

その後、アメリカの National Institutes of Health にて測定する為に、空輸を行った。

エピジェネティックマーカー

同様に、検診時にエピジェネティックマーカー測定のための血液検体も採取し、冷凍保存後アメリカの National Institutes of Health にて測定する為に、空輸を行った。

4. 研究成果

基本情報などの比較

対象者の属性において飲酒、学歴、就労状況で異なる点があった。非飲用群の方が、飲酒をしている傾向にあり、学歴も高い傾向にあった。また対象者の選定の際に、非飲用群で病院の職員を用いたため、就労状況でも差が出たと思われる。

自覚症状では、飲用群において、「病気にかかりやすいですか」、「言葉は聞こえても理解できないことがありますか」、「鼻がつまったり、鼻汁がよくでますか」、「手や足がしびれたりすることがありますか」、「手や足などのふるえがありますか」といった項目で症状が多かった。

既往歴では有意な差はなかったが、飲用群において、精神・神経の病気、弱視、骨粗しょう症が多い傾向にあった。

身体所見・血液検査の比較

身体所見・血液検査の結果を以下に示す。飲用群は、非飲用群に比べ、身長が低い傾向にあった。また ALP (アルカリフォスファターゼ) の値が飲用群で高かった。

	飲用群 人数 = 27人	非飲用群 人数 = 23人	P値
身体所見			
身長	155.2 (10.6)	161.7 (8.8)	0.02
体重	57.8 (14.2)	60.4 (12.1)	0.49
BMI	23.8 (4.3)	23.2 (4)	0.58
最高血圧	125.7 (15)	122.4 (21)	0.51
最低血圧	74.6 (11.2)	70.9 (12.3)	0.27
血算			
白血球	5538.9 (1695.5)	4864.8 (1666.9)	0.16
赤血球	442.7 (43.4)	451.6 (38.4)	0.45
Hb	13.9 (1.3)	14.4 (1.1)	0.11
Ht	40.7 (3.5)	41.6 (2.8)	0.32
血小板	23.3 (7.3)	22.3 (4.6)	0.57
生化学検査			
総ビリルビン	0.7 (0.3)	0.8 (0.5)	0.29
GOT	22.7 (10.1)	22.1 (4.7)	0.80
GPT	26.5 (12.7)	22.3 (9.3)	0.20
-GTP	50.3 (37)	43.5 (28.9)	0.48
ALP	232.7 (63.1)	191 (44)	0.01
LDH	193.5 (36.6)	191 (24.9)	0.79
ZTT	6.3 (3.8)	6.4 (1.9)	0.94
総コレステロール	202.9 (41)	206.7 (23.6)	0.71
HDLコレステロール	65.4 (17)	63.6 (18.2)	0.73
LDLコレステロール	121.4 (37.2)	123.3 (26)	0.83
中性脂肪	111.1 (75.8)	108.1 (46.1)	0.87
血糖	112.9 (36.3)	109.9 (49.1)	0.80
HbA1c JDS	5.6 (1.1)	5.4 (0.8)	0.61
尿素窒素	15.9 (5.4)	測定なし	
Cr	0.7 (0.2)	0.7 (0.2)	0.74
e-GFR	84.6 (30.5)	75.9 (15)	0.38
尿酸	5.7 (1.1)	5.6 (1.5)	0.94

神経学的所見の比較

神経学的診察では、既往歴の差によるのか、精神機能でやや問題があると判定された対象者が飲用群に多かった。

神経生理学的検査の比較

検討した神経生理学的検査では、右の視覚誘発電位の N75 で若干飲用群の潜時がやや長かったが、有意な差は認められなかった。

神経認知行動学的検査の比較

神経認知行動学的検査の結果を以下に示す。フィンガータッピングは差が認められなかったが、その他の検査項目で有意な差が認められた。これらは先に述べた過去の国内の知見とも一致する。但し、神経学的所見と同じく、基礎疾患によるのか飲用による差なのかは、詳細な検討が必要と思われた。

	飲用群 人数 = 27人	非飲用群 人数 = 23人	P値
WAIS-III			
単語	23.1 (13.5)	36.1 (9.6)	0.00
積み木	32.9 (16.9)	46.2 (8.9)	0.00
デザインメモリー			
	7.8 (3.3)	10.1 (2)	0.01
ペグボード			
右	105.2 (53.5)	70.1 (9.3)	0.00
左	124 (77.5)	75.3 (10.1)	0.00
フィンガータッピング			
右	33.6 (10.4)	37 (8.9)	0.22
左	33.6 (9.3)	33.7 (7.8)	0.99

尿中ヒ素メチル化評価

エピジェネティックマーカー

尿中ヒ素メチル化の評価とエピジェネティックマーカーに関しては、空輸後現在アメリカの National Institutes of Health にて測定中であり、結果は出てはいない。平成 26 年中に結果をまとめる予定である。

最後に、感度分析として既往歴において、「うつ病やその他のこころの病気」、「てんかん」、「その他の精神・神経の病気」がある対象者を除いた、飲用群 20 名、非飲用群 22 名で同じ検証を行ってみた。結果として、身体所見・血液検査の比較で見られた身長と ALP の差は変わらず有意に異なっていた。神経学的所見において、精神機能での差は認められないようになった。神経生理学的検査では、左正中神経の神経伝導速度が、飲用群で有意に遅かった。神経認知行動学的検査は上述した結果と変わらなかった。

今後、更に詳細な検討と学会・論文での発表を行う予定である。

5 . 研究組織

(1)研究代表者

頼藤 貴志 (YORIFUJI TAKASHI)

岡山大学・大学院環境生命科学研究科・准教授

研究者番号：00452566

(2)連携研究者

津田 敏秀 (TSUDA TOSHIHIDE)

岡山大学・大学院環境生命科学研究科・教授

研究者番号：20231433