

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 26 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26293146

研究課題名(和文) 魚摂取によるメチル水銀ばく露と不飽和脂肪酸摂取のリスク・ベネフィット解析

研究課題名(英文) Risk-benefit analysis of methylmercury exposure and unsaturated fatty acids intake through fish intake

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) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：魚介類摂取は、メチル水銀などの化学物質曝露を伴う一方で、DHAなどn-3系不飽和脂肪酸など子どもの成長と発達に有用と考えられ、リスクとベネフィットの両面性を有する。魚介類摂取の総合的評価を意図し、生後7及び24ヶ月の発達指数をアウトカムとし、臍帯血DHAと母親毛髪総水銀の関連性を比較した。臍帯血プロゲステロンがDHAと関連したため共変量とした。重回帰分析より、DHAと7ヶ月の発達指標との間に正の関連性が示され、DHAの栄養学的ベネフィットが確認された。一方で、メチル水銀の影響については一貫性が確認できなかった。メチル水銀の曝露を回避しながら魚介類摂取量を維持することが有用と示唆された。

研究成果の概要(英文)：Fish intake has been shown to be the major exposure route to methylmercury, while n-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA) such as docosahexaenoic acid (DHA) is taken through fish intake, suggesting that fish intake includes the beneficial and risk sides. However, there is no epidemiological evidence of fish intake in Japanese pregnant women. Thus, beneficial effects of DHA had been examined in a cohort study. Cord blood progesterone was included as covariance in the analyses, since this sex hormone correlated with cord blood erythrocyte DHA, and DHA was influenced by the sex of infant. Multiple regression analyses showed positive effects of DHA on cognitive and attention regions of children at 7 months old, while the adverse effects of exposure to methylmercury was not consistent. There were no significant effects of DHA and methylmercury exposure in children of 24 months old. These results recommend the increase in fish intake in pregnant women with avoiding of methylmercury exposure.

研究分野：環境衛生学

キーワード：社会医学 環境 コホート 有害化学物質 不飽和脂肪酸 メチル水銀

### 1. 研究開始当初の背景

メチル水銀や PCB などの化学物質は主に魚介類摂取により人体に取り込まれる。その曝露低減には「魚介類摂取の制限」が有効であるが、魚介類には n-3 系不飽和脂肪酸 (n-3PUFA) など児の認知発達に有用とされる栄養素が多く、魚介類摂取の抑制は栄養素の不足というリスクトレードオフを招く懸念がある。このためリスク管理には、魚介類摂取のリスクとベネフィットの統合的評価が必須であるが、国内に周産期 n-3PUFA 摂取の栄養疫学的なエビデンスは皆無である。そこで、エコチル調査に追加して 1800 名規模のコホートを確立し、メチル水銀の曝露評価に加え、母体血・臍帯血 PUFA 分析を行っており、生後 7 および 24 ヶ月の成長と発達を指標として、魚介類摂取のリスク・ベネフィット解析を試みることにした。

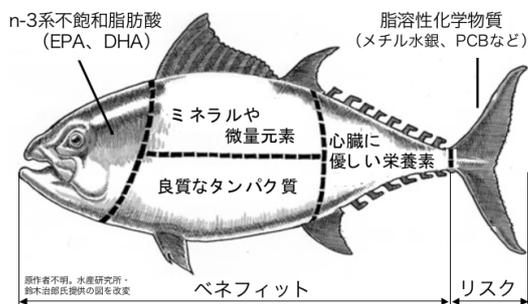


図1 魚介類にはリスクとし脂溶性化学物質が蓄積し、ベネフィットとして DHA などの栄養素が含まれる。魚介類摂取の過度の低減は栄養素欠乏のリスクトレードオフが懸念される。

### 2. 研究の目的

胎児期におけるメチル水銀曝露の健康影響を生後 7 および 24 ヶ月の成長と発達を指標とし検証した。我々はすでに国内でもメチル水銀が幼児の発達指標に負の影響を与えることを示しており<sup>1)</sup>、その再検証となる。同時に、臍帯血 n-3PUFA のマーカーとしてドコサヘキサエン酸 (DHA) の栄養学的な影響について検証した。なお、臍帯血 DHA は胎児が男児の場合に増加し<sup>2)</sup>、また発達指標の多くに子どもの性別が影響することから、妊娠中期母体血および臍帯血の性ホルモンの影響を考慮する解析を目指した。

### 3. 研究の方法

本研究の対象者は、エコチル調査に参加し、さらに先行研究として実施された環境研究総合推進費(平成 23~25 年度「母親と新生児を対象とする化学物質ばく露のリスク評価と魚介類摂取のベネフィットの比較」(C-1153))の調査協力者 1823 名であり、その後の追跡の一部を本研究で実施した。調査地の選定は、魚を多食する食習慣があり、広い魚摂取量の分布が得られる地域とし、三陸沿岸部とした。調査期間における母子健康手帳発行数を分母としたカバー率は約 60%であり、population-

based な解析が期待された。

調査の実施に先立ち、東北大学医学系研究科倫理委員会に研究計画書を提出し、研究計画の承認を受けるとともに、書面での同意を得て調査を行った。

子どもの発達検査は、7 ヶ月および 24 ヶ月で新版 K 式発達検査 2001 を用いて実施した。この発達検査より、認知・適応 (CA)、言語・社会 (LS)、姿勢・運動 (PM) の 3 領域に加え、総合的な全領域発達指数 (DQ) が得られる。テスターはあらかじめ基礎的な訓練を受け、検査精度の確認を行なって検査を担当した。

曝露指標について、出産時の母親毛髪総水銀を加熱気化法により測定し、メチル水銀の曝露指標とした。母体血(妊娠 22~28 週)および臍帯血の赤血球画分より脂質を抽出し、ガスクロマトグラフィーにより分析し、総脂肪酸に占める各脂肪酸の割合を解析に用いた。性ホルモンは、母体血および臍帯血血漿を用いて、エストラジオール (E2)、プロゲステロン (P)、テストステロン (T) を化学発光免疫測定法によりエスアールエルに委託して分析した。

基本属性はエコチル調査より提供を受けた。その他に、育児環境スコア (Evaluation of Environmental Stimulation からなる自記式調査票)、母親 Raven 得点 (IQ 指標) の測定を行なった。

統計解析では、毛髪水銀は対数変換を行なって解析に用いた。重回帰分析では、単変量解析で関連性が観察された指標や先行研究から有用性が指摘されている指標を説明変数とした。統計解析は JMP Pro 13 を用いた。

表 1 母体血および臍帯血赤血球脂肪酸と性ホルモンの関連性 (Pearson's r)

	n	母体血		
		DHA	EPA	ARA
<b>母体血</b>				
E2	443	-0.01	-0.08	0.01
P	443	-0.06	0.01	0.05
T	443	-0.08	-0.04	0.04
<b>臍帯血</b>				
E2	395	-0.06	-0.01	-0.08
P	381	-0.02	0.01	0.01
T	389	-0.01	-0.01	-0.08
	n	臍帯血		
		DHA	EPA	ARA
<b>母体血</b>				
E2	443	0.02	-0.04	-0.02
P	443	-0.01	-0.08	0.01
T	443	-0.03	-0.02	0.05
<b>臍帯血</b>				
E2	396	-0.03	-0.02	-0.06
P	382	<b>-0.11</b>	-0.02	-0.07
T	390	0.10	0.03	-0.04

統計学的に有意差が認められる場合にゴチック体で記載した。

### 4. 研究成果

出生コホートに登録された 1823 組の母児のうち、448 件の母体血および 387~401 件

の臍帯血で性ホルモンの分析を実施した。各性ホルモンと母体血および臍帯血 PUFA との関連性を表 1 に示す。臍帯血 DHA は胎児の性別が関与したことから E2 および T と DHA との関連性が推測されたが、実際には臍帯血 P と臍帯血 DHA との間のみ負の関連性が示唆された。DHA はそのまま食事として摂取される場合もあるが、前駆体  $\alpha$  リノレン酸より体内合成される経路があり、そこに性差があり、E2 や P と DHA は正相関することが報告<sup>3)</sup>されているが、本研究では P のみが負に相関した。P と DHA の関連性のメカニズムや意義については今後の課題と考えられた。

メチル水銀の曝露レベルを毛髪水銀より解析した。臍帯血 P の測定値が得られている集団の毛髪水銀は 1.80  $\mu$ g/g (中央値、最小～最大は 0.31～20.3) であった。この数値は、国内の先行研究 (中央値で 2.6)<sup>1)</sup> より低い値であった。

子どもの発達と曝露指標との関連性を明らかにするため、生後 7 および 24 ヶ月の発達指数との関連性を重回帰分析により解析した。生後 7 ヶ月は臍帯血 P を含むデータが揃った 185 例で解析を行った。共変量に P を含む Model 1 と P を含まない Model 2 の CA の結果を表 2 に示す (B: 回帰係数、 $\beta$ : 標準偏回帰係数)。臍帯血 DHA はいずれのモデルでも認知発達指標である CA と正に関連し、臍帯血 DHA が高いほど認知・適応の発達指標が良くなった。一方で、メチル水銀の負の影響は、共変量として P を投入した場合 (Model 1) のみ統計学的に有意となった。

P を含む DHA と毛髪水銀の偏回帰プロットを図 2 および 3 に示す。

表 2 生後 7 ヶ月の発達指標 CA と曝露指標との関連性 (重回帰分析)

	Model 1			Model 2		
	B	$\beta$	p	B	$\beta$	p
Hair Hg	-2.4	-0.06	0.46	-2.4	-0.06	0.47
Cord DHA	1.6	0.15	<b>0.050</b>	1.5	0.14	0.062
出生体重	4.9	0.21	<b>0.005</b>	5.0	0.22	<b>0.004</b>
性別 (男)	-0.5	-0.04	0.53	-0.4	-0.04	0.59
P	0.0	0.060	0.43	-	-	-

説明変数として、この他に出産順位、喫煙習慣 (4 件法)、受動喫煙の有無、母学歴、家庭の総収入 (5 件法)、母親 IQ、授乳歴 (4 件法)、育児環境スコア、出産の季節 (4 件法)、検査テスターを投入した。

表 3 生後 7 ヶ月の発達指標 LS と曝露指標との関連性 (重回帰分析)

	Model 1			Model 2		
	B	$\beta$	p	B	$\beta$	p
Hair Hg	-9.3	-0.18	<b>0.034</b>	-9.3	-0.18	<b>0.033</b>
Cord DHA	2.2	0.16	<b>0.046</b>	2.2	0.16	<b>0.043</b>
出生体重	5.2	0.18	<b>0.025</b>	5.2	0.18	<b>0.024</b>
性別 (男)	-1.1	-0.09	0.27	-1.1	-0.09	0.27
P	0.0	0.00	0.99	-	-	-

説明変数は表 2 と同様。

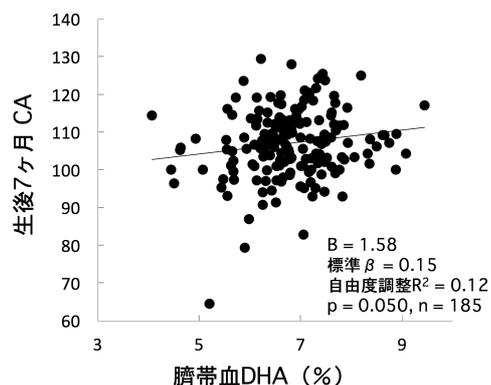


図 2 生後 7 ヶ月の CA と臍帯血 DHA の関連性。共変量として臍帯血 P を投入した。

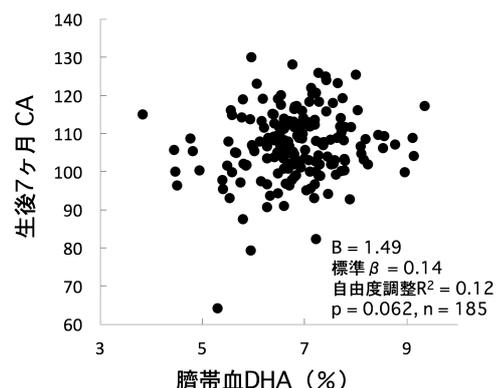


図 3 生後 7 ヶ月の CA と臍帯血 DHA の関連性。共変量として臍帯血 P を投入しない場合。

臍帯血 P の影響は図 2 と 3 から観察されるように、極めて軽微な影響ながら、子どもの発達に関与する可能性が示唆された。

同様に、生後 7 ヶ月の LS についても Model 1 および Model 2 の結果を表 3 に示す。LS は共変量として P を加えても加えなくても、ほぼ同様な結果となった。共変量として P を加えた Model 1 について、臍帯血 DHA および毛髪水銀と LS との関連性を偏回帰プロットとして示す (図 4 および 5)。

生後 7 ヶ月の PM や DQ では以上の関連性は観察されなかった。

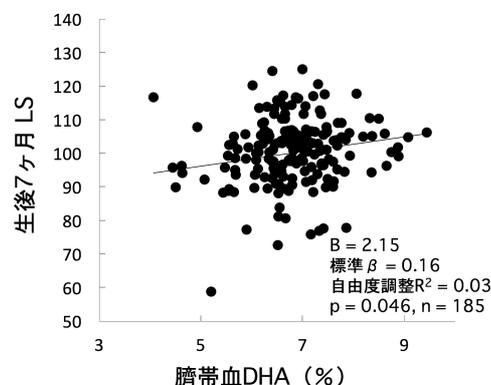


図 4 生後 7 ヶ月の LS と臍帯血 DHA の関連性。共変量として臍帯血 P を投入した場合。

次に、生後 24 ヶ月についても解析を行ったが、DHA および毛髪水銀との関連性はいずれ

もモデルでも観察されなかった。一部の子どもたちは生後 42 ヶ月にて知能検査 (K-ABC II) による調査を実施しているが、今のところ曝露指標との関連性は観察されていない。

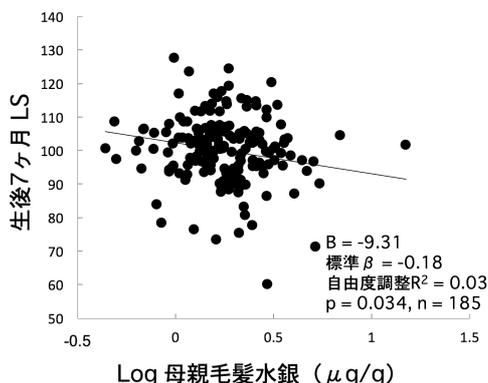


図 5 生後 7 ヶ月の LS と母親毛髪水銀の関連性。共変量として臍帯血 P を投入した場合。

以上より、生後 7 ヶ月の時点までは、臍帯血 DHA の栄養学的なベネフィットが示唆された。その効果量は、CA では DHA が 1% 増加すると 1.6 ポイント高くなり、LS では 2.2 ポイント高くなった。臍帯血の DHA 濃度を 2~3% 上げることは不可能ではなく、その時の子どもの発達指標の改善も決して小さくはないと推定された。ただし、このベネフィットは、LS では重回帰分析の共変量への P の投入に影響を受けなかったものの、CA では共変量として P の関与が示された。P と発達、あるいは P と DHA 代謝との関与については不明であり、妊娠期における P の変動要因も詳細な情報はなく、P 関与のメカニズムなどについては今後の課題と考えられた。

一方、メチル水銀の負の影響は、LS では共変量としての P に関係なく観察されたものの、CA や PM、DQ では観察されなかった。今回の解析対象者のメチル水銀の曝露レベルが低いことや、サンプル数が少ないことを考慮すると、メチル水銀のリスクについてはさらに分析が必要と考えられた。

臍帯血 DHA の栄養学的なベネフィットが確認されたことから、メチル水銀の曝露を回避する上で、魚介類の摂取量を単純に減らす方法では、DHA の栄養学的なベネフィットも失うことが示唆された。実際、臍帯血 DHA の最大の決定要因は母体血 DHA レベルであり、さらにその主要な決定要因は母親の魚摂取量である<sup>2)</sup>。メチル水銀の汚染度が高い魚を避け、汚染度が低い魚を食生活の中に取り入れる工夫が期待された。

なお、前述のように、子どもの成長と発達をフォローするため、生後 42 ヶ月にて知能検査を進めている。対象の子どもたち全員が知能検査を行う生後 42 ヶ月に到達するにはまだ 1 年必要となる。引き続き観察調査を継続し、曝露指標との関連性を検討する計画である。

#### <引用文献>

- ① Tatsuta N, et al. Psychomotor ability in children prenatally exposed to methylmercury: the 18-month follow-up of Tohoku Study of Child Development. *Tohoku J Exp Med*, 242: 1-8 (2017).
- ② Saito S, et al. Determinants of polyunsaturated fatty acid concentrations in erythrocytes of pregnant Japanese women from a birth cohort study: study protocol and baseline findings of an adjunct study of the Japan environment & Children's study. *Environ Health Prev Med*, 22: 22 (2017).
- ③ Childs CE, et al. Gender differences in the n-3 fatty acid content of tissues. *Proc Nutr Soc*, 67: 19-27 (2008).

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① Saito S, Kawabata T, Tatsuta N, Kimura E, Miyazawa T, Mizuno S, Nishigori H, Arima T, Kagawa Y, Yoshimasu K, Tsuno K, Ito Y, Kamijima M, Nakai K, Yagegashi N, Miyagi Study Group of Japan Environment & Children's Study. Determinants of polyunsaturated fatty acid concentrations in erythrocytes of pregnant Japanese women from a birth cohort study: study protocol and baseline findings of an adjunct study of the Japan Environment & Children's Study. *Environ Health Preventive Med*, 22, 22 (2017) (査読あり)  
DOI 10.1186/s12199-017-0636-5

[学会発表] (計 5 件)

- ① 仲井邦彦. 環境曝露とアウトカムの測定時間: 先行する出生コホート調査の経験から. 第 87 回日本衛生学会学術総会 (2017 年 3 月 26 日~28 日、宮崎市 (フェニックス・シーガイア・リゾート))
- ② 仲井邦彦, 龍田希, 川端輝江, 津野香奈美, 吉益光一, 伊藤由起, 上島通浩, 有馬隆博, 齋藤彰治, 八重樫伸生. 母体血および臍帯血赤血球中の多価不飽和脂肪酸レベルを決定する要因: エコチル調査の追加調査より. 第 87 回日本衛生学会学術総会 (2017 年 3 月 26 日~28 日、宮崎市 (フェニックス・シーガイア・リゾート))
- ③ 仲井邦彦, 龍田希, 鈴木朋恵, 津野香奈美, 吉益光一, 伊藤由起, 上島通浩, 川端輝江, 木村ふみ子, 柳沼梢. エコチル調査の追加調査を活用した出生コホート調査の実施: 調査プロトコル. 第 86 回日本衛生学会学術総会 (2016 年 5 月 11 日~13 日、旭川市 (旭川市民文化会館))
- ④ Nakai K, Saitoh S, Kawabata T, Kimura

F, Tatsuta N, Nakagawa K, Miyazawa T, Arima T, Kagawa Y, Mizuno S, Nishigori H, Yaegashi N, Miyagi Study Group of Japan Environment & Children's Study. Polyunsaturated fatty acids profile of maternal erythrocytes and its determinants in Japanese pregnant women from an adjunct JECS cohort. the 12th Asian Congress of Nutrition (2015年5月14日～18日、横浜市 (パシフィコ横浜))

- ⑤ Kimura F, Yamazaki I, Nakagawa K, Nakai K, Kawabata T, Kagawa Y, Saito S, Mizuno S, Yaegashi N, Arima T, Miyazawa T. The relation of the fatty acid composition between the placenta and maternal and fetal erythrocyte in Japanese pregnant. the 12th Asian Congress of Nutrition (2015年5月14日～18日、横浜市 (パシフィコ横浜))

## 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)

秋田大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：40547709

木村 ふみ子 (KIMURA, Fumiko)

尚絅学院大学・総合人間科学部・准教授

研究者番号：50321980

上野 大介 (UENO, Daisuke)

佐賀大学・農学部・准教授

研究者番号：60423604