

論文内容の要旨

論文題目: 臍帯を用いた胎児期 PCBs 曝露と
発達障害及び新生児甲状腺機能の関連調査

氏名 大竹 貴光

第1章 研究背景と目的

近年、ADHD や自閉症などの発達障害に対する社会的な関心が高まっている。原因には、遺伝的、身体的要因等が複雑に関連しているとされるが、はっきりとした病因は不明である。従って、その解明が急務となっているが、最近原因の1つとして化学物質による関与が挙げられるようになった。そこで化学物質曝露と、発達障害発症の関連を調査することを目的として、研究を行なうこととした。本研究は2つのテーマから構成される。

保存臍帯を用いた後ろ向き調査法の確立の検討と発達障害への適用

疫学調査や動物実験により、PCBs などへの胎児期化学物質曝露が小児の知的発達に及ぼす悪影響が示されている⁽¹⁾。発達影響は胎児期に曝露し、一見正常に出生した後ある程度の期間が経ってから見出されると言われている。従って、こうした発達障害が化学物質の胎児期曝露によるものかどうかを検討するためには、健康影響が現れた時点で時間をさかのぼり、胎児期の曝露量を推定、評価することが必要である。そこで本研究では、日本で一般的に習慣として保存されている臍帯（保存臍帯）を、胎児期の曝

露量を表す指標媒体として使用することの妥当性と、それを使った後ろ向き調査法の確立の検討を行なうことを目的とする。また、この方法を発達障害の調査に適用することも目的とする。

新鮮臍帯を用いた胎児期 PCBs・水酸化体 PCBs 曝露による新生児甲状腺機能の関連調査
発生段階に起きる甲状腺ホルモンの欠乏や過剰と発達障害が関係している可能性があり、また PCBs、水酸化体 PCBs (OH-PCBs)曝露による甲状腺ホルモンへの影響が動物実験などによって示されている⁽²⁾。そこで、曝露指標媒体に新鮮臍帯を用いて、胎児期 PCBs、OH-PCBs 曝露レベルと新生児期の甲状腺ホルモンレベルとの関連を、ヒトを対象に調べ、PCBs、OH-PCBs による発達障害の影響メカニズム解明のための情報を得ることを目的とする。

第2章 保存臍帯を用いた後ろ向き調査法の確立の検討

2.1 目的

胎児期の曝露量を表す指標媒体として保存臍帯を使用することの妥当性と、それを使った後ろ向き調査法の確立の検討を行なうことを目的とする。

2.2 方法

PCBs 検出確認、保存臍帯中 PCBs 濃度傾向、保存臍帯と母乳・脂肪組織サンプル中 PCBs 濃度データ比較、汚染確認、により、PCBs 曝露指標媒体としての保存臍帯を評価した。

2.2.1 対象とサンプル

1920, 1930, 1960-80 年代生まれの大人 18 人、1998, 2001 年生まれの子供 2 人、合計 20 人（健常者）の保存臍帯を用いた。

2.2.2 保存臍帯中 PCBs の分析

PCBs 全異性体 (209 種) を対象とした。分析法のフローを Fig. 1 に示す。

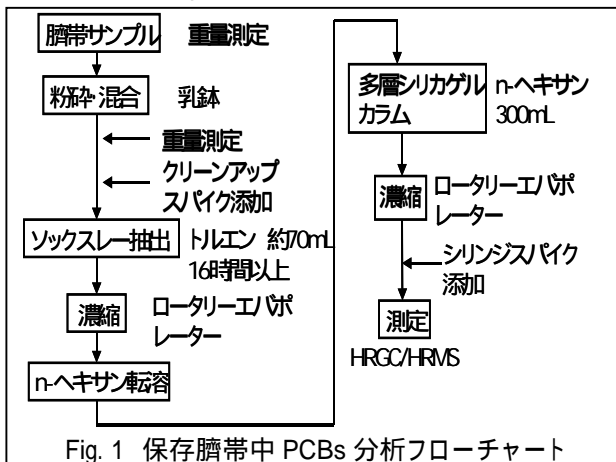


Fig. 1 保存臍帯中 PCBs 分析フローチャート

2.3 結果と考察

2.3.1 保存臍帯からの PCBs 検出⁽³⁾

Fig. 1 の分析法により、約 0.1g の保存臍帯サンプルから、PCBs が検出できることを確認した。

2.3.2 保存臍帯中 PCBs の濃度傾向⁽³⁾

出生年ごとの保存臍帯中 total PCBs 濃度の傾向を Fig. 2 に示す。PCBs が国内で多く使用されていた時に生まれた 1960, 1970 年代の対象者の保存臍帯中 PCBs 濃度が高く、出生年が最近になるにつれ減少傾向が見られた。これは一般環境中 PCBs 濃度の減少傾向と一致し、保存臍帯中 PCBs が、環境からの PCBs 曝露を反映し

ている可能性があることを示唆している。

2.3.3 保存臍帯と母乳・脂肪組織サンプル中 PCBs 濃度データの比較

PCBs の曝露指標媒体としてすでに確立されている母乳、脂肪組織と、保存臍帯中 PCBs の各年代での濃度の時系列傾向を比較したところ、ほぼ一致し、保存臍帯が PCBs 曝露指標媒体として有用である可能性が示された。

2.3.4 汚染確認

Fig. 2 より、国内で PCBs が生産・使用される前の 1920, 1930 年代の保存臍帯サンプルから PCBs が検出された。これは、臍帯を一般家庭で保存している間に、主に大気中の PCBs が吸着したためと推測され、保存臍帯を曝露指標として使用する場合には制限が必要となる。

多くの場合、同胞では保存臍帯の保存状態や環境はほぼ同じであり、大気から吸着する PCBs 量もほぼ同じとみなせるため、同胞間で保存臍帯中 PCBs 濃度を比較することで保存中の汚染による影響を最小限にとどめることができると考えられる。従って、保存臍帯を用いた後ろ向き調査を行なうための条件としては、症例の健常兄弟を対照とする方法が適切であると考えられる。

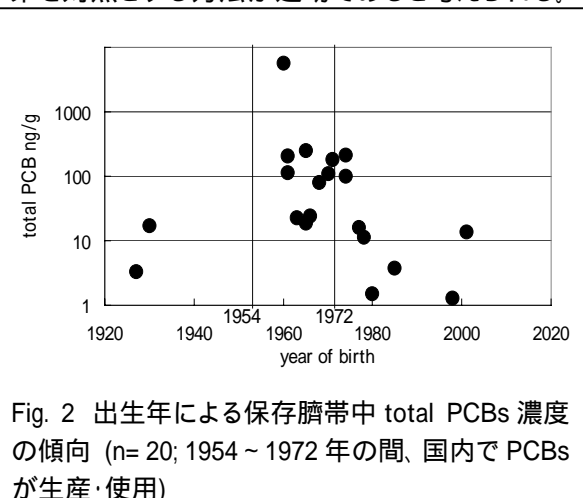


Fig. 2 出生年による保存臍帯中 total PCBs 濃度の傾向 (n= 20; 1954 ~ 1972 年の間、国内で PCBs が生産・使用)

2.4 まとめ

保存臍帯が PCBs 曝露指標媒体として使用できる可能性を示した。また、保存臍帯を PCBs の胎児期曝露評価指標に用いて後ろ向き調査を行なうには、同胞間比較が適していると考えられる。

第3章 発達障害に対する保存臍帯を用いた後ろ向き調査法の適用

3.1 目的

発達障害の有無と、保存臍帯中 PCBs 濃度の関連を調査するために、第2章の「保存臍帯を用いた後ろ向き調査法」を発達障害（自閉症）の調査に適用すること。

3.2 方法

3.2.1 対象と分析方法

1967-2000年生まれの、自閉症患者17人とその対照者（健常者）7人の保存臍帯を用いた（5組の同胞を含む）。保存臍帯中のPCBs分析はFig. 1により行なった。

3.2.2 データ解析

Wilcoxon の符号付き順位検定、重回帰分析（ステップワイズ法）により解析した。

3.3 結果と考察

Fig. 3 に同胞を含む自閉症患者と対照者の total PCBs 濃度の関係を示した。

3.3.1 全対象者での後ろ向き調査

同胞の有無に関係なく、全自閉症患者: 12人、対照者（1965年以降に出生）: 14人に対し、保存臍帯中 total PCBs 濃度に、自閉症の有無が影響しているか否かを解析した。解析には重回帰分析を用いた。その結果、保存臍帯中 total PCBs 濃度には自閉症の有無ではなく、年齢（出生年）が影響していることが分かった ($R^2=0.486, p<0.001$)。

3.3.2 同胞間での後ろ向き調査

同胞間比較の結果、自閉症患者（5人）と対照者（7人）の保存臍帯中 total PCBs 濃度に、有意差はなかった（Wilcoxon の符号付き順位検定: $p>0.05$ ）。自閉症の有無と保存臍帯中 PCBs 濃度に、同胞間比較では関連が見られなかった。

3.4 まとめ

発達障害の一例としての自閉症に、保存臍帯を用いた後ろ向き調査法を適用した。解析の結果、自閉症の有無と保存臍帯中 PCBs 濃度には関連が見られなかった。

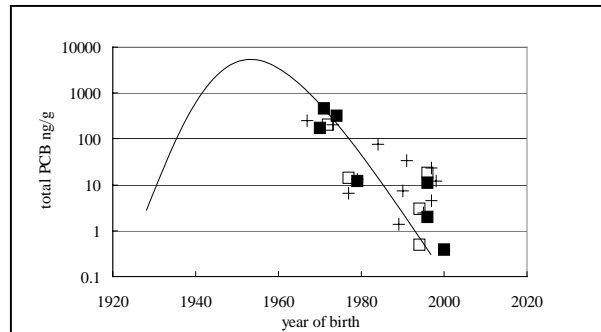


Fig. 3 自閉症患者と対照者の保存臍帯中 total PCBs 濃度（同胞間比較:自閉症患者（；n=5）-対照者（；n=7）、同胞なし:自閉症患者（+; n=12）、健常者（直線; Fig. 2と同じ, n=20）

第4章 新鮮臍帯を用いた胎児期PCBs・水酸化体PCBs曝露と新生児甲状腺機能の関連調査

4.1 目的

胎児期 PCBs、OH-PCBs 曝露レベルと新生児期の甲状腺ホルモンレベルの関連を、ヒトを対象に調べ、PCBs、OH-PCBs による発達障害への影響メカニズム解明の情報を得ること。

4.2 方法

4.2.1 対象

東京都内の産婦人科を受診した妊産婦を対象とし、臍帯の提供、新生児からの採血、アンケートの記入を依頼した。～が揃っている対象者は17名であった。

4.2.2 新鮮臍帯中のPCBs, OH-PCBs 分析方法

PCBs 全異性体（209種）、OH-PCBs の6種を対象とし、分析を行なった。分析法のフローをFig. 4に示す。

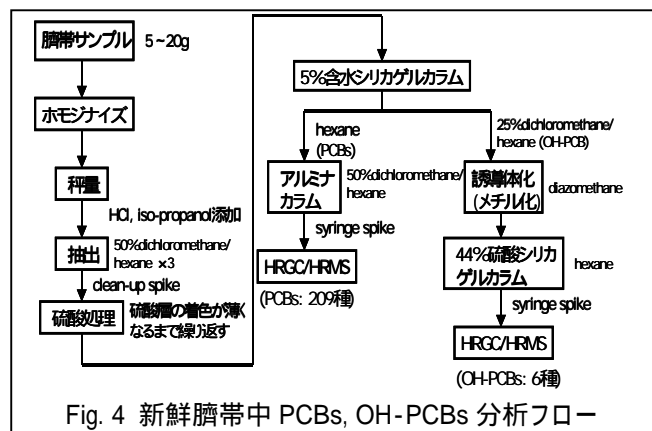


Fig. 4 新鮮臍帯中 PCBs, OH-PCBs 分析フロー

4.2.3 新生児甲状腺ホルモンレベルの測定

新生児スクリーニング検査時に、別途本研究用に採血したものをサンプルとした。測定は fT4, TSH を対象とし、ELISA 法により行なった。

4.2.4 データ解析

スピアマンの順位相関分析、ピアソンの積率相関分析、重回帰分析（ステップワイズ法）により解析した。

4.3 結果と考察

4.3.1 新鮮臍帯中 PCBs, OH-PCBs と fT4, TSH レベルの関係

新鮮臍帯中 PCBs, OH-PCBs 濃度と fT4, TSH レベルの関連の解析結果を、Table 1 に示した。

total PCBs と fT4, TSH レベルの関係

Table 1 より、有意ではなかったものの fat ベースの total PCBs 濃度が高い対象者で、TSH レベルが高い傾向が見られた (Fig. 5, $p=0.09$)。これは胎児期 total PCBs 曝露によって、TSH レベルが影響される可能性を示している。fT4 レベルとの関連は見られなかった。

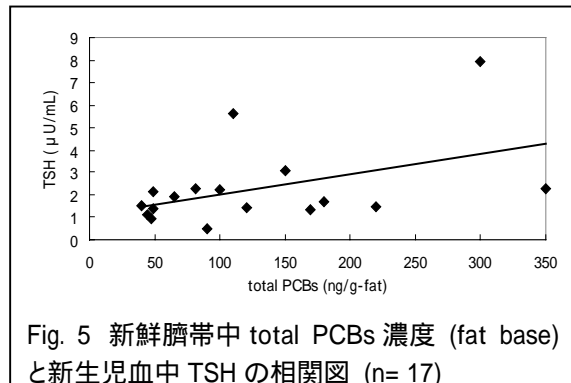


Fig. 5 新鮮臍帯中 total PCBs 濃度 (fat base) と新生児血中 TSH の相関図 (n=17)

total OH-PCBs と fT4, TSH レベルの関係

Table 1 より、相関分析では OH-PCBs 濃度と fT4 レベルに有意な関連が見られたが ($p<0.05$; Fig. 6)、重回帰分析では有意な結果ではなかった ($p=0.18$)。TSH レベルとの関連は見られなかった。

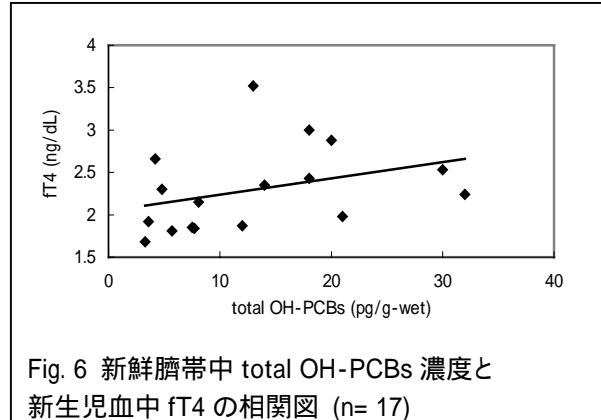


Fig. 6 新鮮臍帯中 total OH-PCBs 濃度と新生児血中 fT4 の相関図 (n=17)

各異性体と fT4, TSH レベルの関係

PCBs, OH-PCBs の異性体濃度と fT4, TSH レベルの関連を解析した結果、OH-CB187 濃度が高い対象者で fT4 レベルが高い傾向にある可能性を示した ($p<0.05$)。

4.4. まとめ

新鮮臍帯中 total PCBs 濃度と TSH レベル、OH-CB187 濃度と fT4 レベルに関連がある可能性を示した。PCBs, OH-PCBs は、fT4, TSH に対し、複雑な影響の与え方をすることがある。

第5章 結言

臍帯を曝露指標媒体に用いて、胎児期 PCBs 曝露と発達障害の関連について研究を行ない、PCBs, OH-PCBs による甲状腺機能への影響を通じた発達障害発症のメカニズムを考察するための、有用な情報を得ることができた。今後、第2章の方法などにより、様々な胎児期化学物質曝露と症状発症の関連についても調査されることが望まれる。

参考文献

- (1) Jacobson et al., *J Pediatr*, 1990
- (2) Meerts et al., *Toxicol Sci*, 2002
- (3) Otake et al., *J Environ Monit*, 2004

Table 1 PCBs, OH-PCBs 濃度と fT4, TSH レベルの関連 (相関係数と標準回帰係数)

	相関係数		相関係数		標準回帰係数	
	(log) fT4 (ng/dL)	スピアマン (log) TSH (μ U/mL)	(log) fT4 (ng/dL)	ピアソン (log) TSH (μ U/mL)	(log) fT4 (ng/dL)	(log) TSH (μ U/mL)
(log) PCBs (pg/g-wet)	0.37 (0.15)	0.43 (0.08)	0.46 (0.06)	0.38 (0.13)	0.33 (0.22)	0.28 (0.26)
(log) PCBs (ng/g-fat)	-0.05 (0.84)	0.42 (0.09)	-0.06 (0.82)	0.42 (0.09)	-0.11 (0.67)	0.40 (0.10)
(log) OH-PCBs (pg/g-wet)	0.49 (0.05*)	0.11 (0.69)	0.45 (0.07)	0.12 (0.64)	0.34 (0.18)	0.07 (0.77)

(カッコ内の数値は p 値, * $p<0.05$)