

魚介類等に含まれるメチル水銀について

(1) メチル水銀の主要な疫学研究

① フェロー諸島前向き研究（コホート調査）

(a) 結果概要

1986年3月1日～1987年12月末の間に出生した児と母親1,023組（この時期の出生総数の全体の75.1%）をコホートとして登録し、7歳及び14歳時に神経行動発達検査が行われた。胎児期のメチル水銀曝露といくつかの神経行動学、神経心理学上のエンドポイントの間に統計的に有意な関連が見られた。

(b) 背景

➤ （歴史・文化・人種）

フェロー諸島は、北大西洋のノルウェーとアイスランドのほぼ真中、デンマークとアイスランドを結ぶ線上の北緯62度に位置する18群島からなるデンマーク自治領であり、フェロー諸島の人口は約47,000人で、首府トーシャンには約19,000人が住んでいる。文化（言語）に関して、フェロー諸島は、中世以後20世紀初めにかけて大陸から孤立していた。このため、長年にわたって、独自の文化を築いてきた。とりわけ言語は、アイスランドと同じように古い北歐語の特徴を残している（フェロー語）。フェロー諸島の捕鯨は、国際捕鯨委員会から捕鯨を認められている共同体レベルでの非商業的行為である。長年にわたるゴンドウクジラ（Pilot Whale）の平均年間捕獲量は850頭である。ゴンドウクジラの肉や脂身は、冷蔵庫で保存されたり、伝統的な塩漬けにして野外で乾したり、調理される。1990年前半のフェロー諸島で採れたゴンドウクジラに含まれる平均水銀濃度は、 $3.3\mu\text{g/g}$ （このうち約半分がメチル水銀）、鱈で $0.07\mu\text{g/g}$ （大半がメチル水銀）であった。この調査より、成人の鯨肉の平均摂取量は 12g/日 、魚肉は 72g/日 であり、平均水銀摂取量は約 $36\mu\text{g/日}$ と推定された。また、鯨の脂身はPCBの主要な摂取源となっていた。

➤ （調査地区の選択理由）

①病院制度や社会保障制度等が北欧社会と同じである（研究集団の一般化が容易）、②フェロー諸島とデンマークとの物理的距離があり、人の出入りが比較的少ない（コホート集団の追跡が容易）、③鯨を食べない人とともに鯨摂食による高濃度メチル水銀曝露者が存在する（メチル水銀のレンジが広範）、④島民が共通の言語（フェロー語）を使用している（言語依存性の検査が実施可能）等による（村田ら、2004⁽¹⁾）。

➤ (調査実施に至る経緯)

1980年代半ばにフェロー諸島でメチル水銀に関する予備調査が行われた。小漁村に住む妊娠可能な女性(20~50歳)53名の血中水銀濃度の中央値は12.1(範囲2.6~50.1) $\mu\text{g/L}$ であり、デンマーク本土女性の中央値1.6 $\mu\text{g/L}$ の7.6倍であった(Grandjean et al., 1992⁽²⁾, 村田ら 2004⁽¹⁾)。このため、本格的なメチル水銀に関する調査が1986年3月1日から1987年12月末までOdense大学環境医学教室のGrandjean教授とフェロー諸島のWeihe病院部長を中心として行われた。

➤ (調査実施機関)

- ✓ オデンセ大学環境医学教室 (Department of Environmental Medicine, Institute of Community Health, Odense University, Odense Denmark; 後に、南デンマーク大学)
- ✓ フェロー病院機構職業・公衆衛生部 (Clinic of Occupational Health and Public Health, The Faroese Hospital System, Torshavn, Faroe Island)
- ✓ 国際共同研究: ボストン大学 (Boston University)、ハーバード公衆衛生大学院 (Harvard School of Public Health)、米国環境保護庁 (US Environmental Protection Agency)、エモリー大学 (Emory University)、コペンハーゲン大学 (University of Copenhagen)、東京大学、帝京大学、秋田大学、米国疾病管理予防センター (US Center For Disease Control and Prevention)
- ✓ スポンサー: デンマーク医学研究委員会 (Danish Medical Research Council)、デンマーク健康財団 (Danish Health Foundation)、Hojaard Foundation、Vestnorden Foundation、デンマーク環境保護庁 (Danish Agency for Environmental Protection)、米国環境健康科学研究所 (US National Institute of Environmental Health Science)、European Commission、国連大学 (1994)、日産科学振興財団 (2002-2003)

(c) 曝露源

フェロー諸島におけるメチル水銀の曝露源としては、ゴンドウクジラと魚が特定されている。しかしながら、それらの濃度に関する詳細なデータは報告されていない。また、歯の amalgam と職業曝露はフェロー諸島ではそれほど重要ではない(NIEHS, 1998⁽³⁾)。フェロー諸島のメチル水銀に関する報告に記載された曝露源に関する情報は、以下のとおりである。

フェロー諸島においては、聞き取り調査により、成人1日当たり平均72gの魚、12gの鯨肉(筋肉)、7gの脂肪を食していた。フェロー諸島の住民の夕食には、魚とゴンドウクジラの割合は、それぞれ44%、9.5%であった(Vestergaard and Zachariassen, 1987:未入手)。主に食される魚は鱈(平均の総水銀濃度0.07 $\mu\text{g/g}$)である。ゴンドウクジラは総水銀濃度3.3 $\mu\text{g/g}$ (その約半分がメチル水銀:表1-2)(Grandjean et al., 1993⁽⁴⁾, Julshamn et al., 1987⁽⁵⁾)。また、聞き取り調査及びゴンドウクジラ、鱈における水銀濃度の研究により、平均総水銀摂取量(14歳以上)は、約36 μg と計算されている(Weihe et al., 1994⁽⁶⁾)

フェロー諸島においては、ゴンドウクジラの筋肉、脂肪、肝臓、腎臓が食される (Julshamn et al., 1987⁽⁵⁾)。

表 1-1 ゴンドウクジラ (*Globicephalus Meleanus*) の筋肉中の総水銀、メチル水銀、セレン濃度 (1978年フェロー諸島で漁獲されたもの)。

(Julshamn et al., 1987⁽⁵⁾ を基に一部再計算。)

| サイズ区分 | 総水銀 (mg/kg) | メチル水銀 (mg/kg) | % (メチル水銀/総水銀) | セレン (mg/kg) | モル比 (総水銀/セレン) | モル比 (メチル水銀/セレン) |
|-------|----------------|------------------|---------------|----------------|---------------|-----------------|
| 胎児 | 0.24 | 0.12 | 50 | 0.05 | 1.9 | 1.0 |
| 胎児 | 0.48 | 0.36 | 75 | 0.03 | 6.3 | 4.7 |
| 1 | 0.21 | 0.15 | 71 | 1.5 | 0.06 | 0.04 |
| 2 | 0.10 | 0.06 | 60 | 0.56 | 0.07 | 0.04 |
| 3 | 0.90 | 0.30 | 33 | 0.11 | 3.2 | 1.1 |
| 4 | 1.2 | 0.65 | 53 | 0.42 | 1.1 | 0.60 |
| 5 | 1.5 | 0.75 | 49 | 0.37 | 1.6 | 0.79 |
| 5 | 1.6 | 0.85 | 54 | 0.22 | 2.8 | 1.5 |
| 6 | 1.6 | 0.38 | 24 | 0.33 | 0.5 | 0.45 |
| 7 | 2.3 | 1.3 | 57 | 0.22 | 4.1 | 2.3 |
| 7 | 1.4 | 0.78 | 58 | 0.31 | 1.7 | 0.99 |
| 7 | 1.2 | 0.65 | 55 | 0.32 | 1.5 | 0.80 |
| 8 | 1.4 | 0.85 | 61 | 0.39 | 1.4 | 0.86 |
| 8 | 1.2 | 0.74 | 63 | 0.50 | 0.92 | 0.58 |
| 8 | 2.8 | 1.31 | 47 | 0.64 | 1.7 | 0.81 |
| 9 | 2.7 | 0.91 | 33 | 0.28 | 3.9 | 1.3 |
| 10 | 2.2 | 0.78 | 36 | 0.16 | 5.3 | 1.9 |
| 14 | 1.8 | 0.65 | 37 | 0.40 | 1.7 | 0.64 |
| 16 | 2.00 | 1.72 | 86 | 0.19 | 4.1 | 3.6 |
| 平均*1 | 1.4 | 0.68 | 49 | 0.40 | - | - |
| (区分) | | | | | | |
| 平均*2 | 1.5 | 0.76 | 56 | 0.40 | 2.4 | 1.3 |

*1: サイズ区分毎に平均値を求めた後、全体平均を求めたもの。

*2: 単純平均したもの。

表 1-2 成熟ゴンドウクジラ (*Globicephalus Meleanus*) の脂肪、筋肉、肝臓、腎臓における平均総水銀、メチル水銀、セレン濃度等 (1977年フェロー諸島で漁獲されたもの)。
(Julshamn et al., 1987⁽⁵⁾)

| 組織 | N (サンプル数) | 総水銀 (mg/kg: 平均±標準 偏差) | メチル水銀 (mg/kg) | セレン (mg/kg) |
|----|--------------|-----------------------------|------------------|----------------|
| 脂肪 | 9 | 0.70±0.28 | 0.17±0.10(25%) | 0.12±0.08 |
| 筋肉 | 10 | 3.3±1.7 | 1.6±0.4(48%) | 0.25±0.11 |
| 肝臓 | 8 | 280±100 | 35±10(13%) | 172±10 |
| 腎臓 | 6 | 18±6 | | 1.3±0.8 |

表 1-3 ゴンドウクジラを摂食する集団におけるフェロー諸島における妊婦の魚の食事における摂食頻度に関するデータ (Grandjean et al., 1992⁽²⁾)

| 夕食時の魚の (摂食) 回数/週 | 人数 |
|------------------|-----|
| なし | 26 |
| 1回/週 | 139 |
| 2回/週 | 356 |
| 3回/週 | 285 |
| 4回/週 | 157 |
| 5回/週以上 | 33 |
| 合計 | 997 |

表 1-4 ゴンドウクジラを摂食する集団におけるフェロー諸島における妊婦のクジラ (ゴンドウクジラ) の食事における摂食頻度に関するデータ
(Grandjean et al., 1992⁽²⁾)

| 夕食時のゴンドウクジラの (摂食) 回数/週 | 人数 |
|---------------------------|-----|
| なし | 204 |
| 1回/週 | 277 |
| 2回/週 | 243 |
| 3回/週 | 86 |
| 4回/週以上 | 180 |
| 合計 | 989 |

表 1-5 ゴンドウクジラを食したことがない集団におけるフェロー諸島における妊婦の魚の食事における摂食頻度に関するデータ (Grandjean et al., 1992⁽²⁾)

| 夕食時の魚の（摂食）回数/週 | 人数 |
|----------------|-----|
| なし | 17 |
| 1回/週 | 49 |
| 2回/週 | 73 |
| 3回/週 | 49 |
| 4回/週以上 | 16 |
| 合計 | 204 |

(d) コホート

➤ (概要)

フェロー出生コホートとしては、以下の4つのコホートが設定されている。なお、コホート2~4は、難分解性化学物質 (POP_s) の解析が主要な研究課題であり、コホート1で実施された結果の再現性の確認を目的としたものではない。

| コホート名 | コホートの概要 |
|-------|---|
| コホート1 | <ul style="list-style-type: none"> ➤ 1986/1987年に出産した母子1,023組 (フェロー諸島全出産の約75%) ➤ 水銀の影響調査 |
| コホート2 | <ul style="list-style-type: none"> ➤ 1994年に出産した母子182組 ➤ PCB (POP_s), 水銀 |
| コホート3 | <ul style="list-style-type: none"> ➤ 1998/1999年に出産した母子650組 ➤ PCB (POP_s), 水銀 |
| コホート4 | <ul style="list-style-type: none"> ➤ 2000/2001年に出産した母子150組 |

➤ (追跡)

コホート1を対象に、以下のとおり、7歳時、14歳時にそれぞれ神経発達に関する調査を実施。

| | 調査人数 (脱落率) | 調査時期 | 関連文献 |
|---------|-----------------------|------------------------|-----------------------|
| コホート1設定 | 1,023人 (島全体の75.1%) | 1986年3月1日~1987年12月 (2) | 末までフェロー諸島で出産した母及び子の登録 |
| ➤ 7歳児神経 | 923人 | 1993年、1994年4月~6月に | |

| | | | |
|----------------------|---------------------|-----------------------------------|---------------------|
| 発達調査 | (脱落率 9.7%) | 調査実施 | (7), (8), (9), (10) |
| | | 1994年6月デンマーク本土に 移住している子供たちを調査 | |
| ➤ 14歳児 神経発達 調査 | 883人 (脱落率 13.7%) | 2000年、2001年4月～6月に 調査実施 | (11), (12) |
| | | 2000年11月デンマーク本土に 移住している子供たちを調査 | |

(e) 使用された曝露バイオマーカー

コホート1を対象に、調査に用いられたバイオマーカーは以下のとおり。

| 調査人数 | | 関連文献 |
|---------|--|---|
| コホート1設定 | 臍帯血水銀濃度 出産時母親毛髪水銀濃度 臍帯血セレン濃度 臍帯血鉛濃度 | 平均値 24.2 μg/L (n=997) 平均値 4.5 μg/g (n=1020) 平均値 1.4 μmol/L (n=1020) (110.5 μg/L) 平均値 82nmol/L (n=1015) (17.9 μg/L) |
| ➤ 1歳児 | 1歳児の毛髪水銀濃度 | 幾何平均 1.1 μg/g (n=583) (13) |
| ➤ 7歳児 | 7歳児の毛髪水銀濃度 (出産時母親毛髪水銀濃度) (臍帯血水銀濃度) | 幾何平均 2.99 μg/g (n=903) 4.27 μg/g (n=914) 22.9 μg/L (n=894) (7) |
| ➤ 14歳児 | 14歳児の毛髪水銀濃度 | 幾何平均 0.96 μg/g (n=839) (10), (11), (12) |

(f) エンドポイント (影響指標)

➤ (エンドポイント及び選択理由)

コホート1を対象に、神経発達検査に用いられたエンドポイントは以下のとおり。エンドポイントの選択に関して、「①メチル水銀曝露に敏感であり、②メチル水銀による障害部位を反映し、③概して特異度が高く、かつ④年齢や文化に適したものが選択された。加えて、コンピューター支援検査を可能な限り用いるとともに、十分に熟練した検査者が採用された(村田ら 2004⁽¹⁾)。

| エンドポイント | 概要説明 | 関連資料 |
|---|---|----------|
| > 7 歳児 | > 神経生理学的検査 | |
| ● 視覚誘発電位 (VEP) ; Patter reversal visual evoked potential | 障害等により伝導遅延を起こす。 | (1), (7) |
| ● 聴性脳幹誘発電位 (BAEP) ; Brainstem auditory evoked potential | 障害等により伝導遅延を起こす。 | |
| ● 平衡機能検査 ; Postural sway test | 身体の重心を固い床面に置いた板 (重心動揺計) に投影し、その前後方向と左右方向の移動距離を計測する。身体重心の移動距離および面積、Romberg 比 (開眼時と閉眼時の測定値の比) が得られるが、このほか偏位データをスペクトル解析すると、身体重心の揺れの周波数 0~1、1~2、2~4Hz の成分パワースペクトル密度を算出することが可能となる。 | |
| ● 心拍変動 ; Electrocardiographic R-R intervals variability | 心電図 R-R 間隔時間の変動係数は、心電図の R 波から次の R 波までの 1 心拍の時間を連続的に計測し、算定される標準偏差値をその平均値で割った値である。安静時仰臥位の R-R 間隔変動をスペクトル解析すると、副交感神経活動、交感神経活動、交感神経バランスなどを定量的に検討することができる。 | |
| > 神経心理学的検査 | | |
| ● 運動機能 ; Finger Tapping Test (Neurobehavioral Evaluation System, NES) | 微細運動機能に関する検査。限られた時間内にできるだけ早くボタンを押すように指示。 | |
| ● 手眼協調運動 ; Hand -Eye coordination Test (NES) | 微細運動機能に関する検査。ジョイスティックで上下に動く輝点があり、これは時間とともに画面の左から右に | |

移動する。対象者は、この輝点をモニター画面上にあるサインカーブに限りなく近づくように操作することが求められる。

●触覚 ; Tactual Performance Test

●注意 ; Continuous Performance Test (NES)

注意力に関する能力をみる検査。モニター画面に幾つかの動物の絵が連続的に提示され、対象者は猫の絵が現れた時に素早く手元のボタンを押す。

●認知機能 ; Digit Spans (Wechsler Intelligence Scale for Children, WISC-R)

認知機能に関する検査。対象者は、幾つかの数字を聴覚的に呈示され、それを復唱するように求められる。

●視覚類推 ; Similarities (WISC-R)

視覚類推力を見る検査。検査者は1箇所だけ欠けている絵を呈示し、対象者にその欠けた部分を指摘させる。

●空間認知 ; Block Designs (WISC-R)

空間認知に関する検査。赤白の三角あるいは四角形模様のある積み木を幾つか用いて、検査者が呈示した形をつくらせる。

●視覚空間 ; Bender Gestalt Test

視覚運動の能力をみる検査。対象者はいくつかの幾何学的図形を呈示され、それを正確に描写する。全試行が終了した時点で呈示された図形を思い出して描かせる。

●言語記憶 ; California Verbal Learning Test (Children)

記憶と学習能力に関する検査。12個の単語からなるリストを読み上げられ、それを復唱（短期記憶）。この試行を5回繰り返す。その20分後にもう一度そのリストを復唱させる（長期記憶）。

●言語 ; Boston Naming Test

言語能力に関する検査。様々な絵が描かれたカードが呈示され、その名前を答える。

-
- 非言語識別 ; Nonverbal Analogue of Mood States

➤ 14 歳児

➤ 神経生理学的検査

- 視覚誘発電位 (VEP) ; Patter reversal visual evoked potential (14), (15)
- 聴性脳幹誘発電位 (BAEP) ; Brainstem auditory evoked potential
- 事象関連電位 ; Event-related potential (P300)
- 心拍変動 ; electrocardiographic R-R intervals variability

➤ 神経心理学的検査¹

- 運動機能 ; Finger Tapping Test (Neurobehavioral Evaluation System, NES)
- 手眼協調運動 ; Hand-Eye coordination Test (NES)
- 注意 ; Continuous Performance Test (NES)
- 認知機能 ; Digit Spans (Wechsler Intelligence Scale for Children, WISC-R)
- 視覚類推 ; Similarities (WISC-R)
- 空間認知 ; Block Designs (WISC-R)
- 視覚空間 ; Bender Gestalt Test

¹ 14 歳時の神経心理学検査項目に関しては、第 6 回汚染物質専門調査会の村田参考人の講演資料から作成。

-
- 言語記憶；California
Verbal Learning Test
(Children)
 - 言語；Boston Naming Test
 - 非言語識別；Nonverbal
Analogue of Mood States
 - Santa Ana Test
-

(g) データの解析方法

交絡因子を配慮し、重回帰分析を実施。また、あわせて共分散構造分析 (Structural equation model) を実施。

ベンチマークドース方式で臨界濃度 (ベンチマークドース) を計算。

(h) 結果まとめ

➤ (7 歳児調査)

①神経心理学的検査の結果

重回帰分析 (Multiple Regression) により、臍帯血水銀濃度が増加するに伴い、悪いスコアとして統計的に有意な関連性が認められたエンドポイントは、Finger Tapping (preferred hand, $p=0.05$)、Continuous Performance Test (First year only false negatives, $p=0.02$, mean reaction time, $p=0.007$)、Digit Spans ($p=0.05$)、Boston Naming Test (No cure, $p=0.00003$; With cure, $p=0.00007$)、California Verbal Learning Test-Children (Short term reproduction, $p=0.02$; Long-term reproduction, $p=0.05$) である。

また、WISC-R Block Designs 及び Bender Gestalt Test errors においては、交絡変数 (confounder) 調整 (Peters-Belson method) した結果、臍帯血水銀濃度と統計的に有意な関連性 (それぞれ $p=0.02$, $p=0.03$) が示された。

コホートのうち母親毛髪水銀濃度が 10ppm 以下を対象とした場合でも、Peters-Boston Adjustment と同様の結果が得られた。

また、注意力 (Reaction time, $p=0.003$)、言語 (Boston naming test, $p=0.02$)、記憶 (California verbal learning test, $p=0.004$) を代表するものとして選択されたテストに関して、交絡因子の影響を調整したテストの成績が 25 パーセント以下の子供の割合 (%) が、臍帯血水銀濃度の増加に伴い、統計的に有意に増加した (Grandjean et al., 1997⁽⁷⁾、NRC 2000⁽¹⁶⁾)。

また、共分散構造分析を使用し、交絡因子や PCB_s の曝露影響を除外しても、メチル水銀曝露による運動機能や言語能力への影響が統計的に有意であるとしている (Budtz-Jørgensen et al., 2000⁽¹⁷⁾)。

②神経生理学的検査の結果

また、臍帯血水銀濃度と聴性脳幹誘発電位潜時（40Hz）のみが統計的有意な関連性があったが、それ以外のバイオマーカーとは関連性が求められなかった（Grandjean et al., 1997⁽⁷⁾の表3）。なお、神経生理学的検査に関して、1994年の測定時に脳波計の調子が十分でないと考えられ、1993年に測定された7歳時の聴性脳幹誘発電位潜時で再解析を試みた結果、Ⅲ（20Hz, 40Hz）頂点潜時及びⅠ－Ⅲ（40Hz）頂点潜時は臍帯血水銀濃度及び出生時母親血中水銀濃度と統計的有意な関連性を示したが、7歳時の児の毛髪水銀濃度とは、いずれも有意な関連性を示さなかった（Murata et al., 1999⁽¹⁸⁾）。

③PCBの影響

7歳児調査における交絡因子の影響は、統計解析に考慮された。基本的な交絡因子として、性・年齢と母親の知能が、経験的な交絡因子として産科・内科的疾患の有無、両親の教育レベル、父親の職業があげられた。また、その他の交絡因子として、居住地やPCB（Polychlorinated biphenyls）曝露が考慮された。PCBの分析には臍帯組織中濃度が用いられ、7歳児調査に参加した子供のうち438名で測定された。なお、この中の50名については更に臍帯血PCB濃度も測定され、これは臍帯組織中PCB濃度と非常に高い相関（相関係数 $r=0.90$ ）を示した。反応時間、Boston Naming Test, California Verbal Learning Test-long delayの3つの検査データが臍帯組織中PCB濃度と有意な関連を示した（片側5%の有意水準）。しかしながら、臍帯血水銀濃度とPCB濃度の両者を説明変数とし、曝露影響指標（エンドポイント）を目的変数とする重回帰分析を行うと、臍帯血水銀濃度は反応時間及びBoston Naming Test成績と有意に関連したが、PCBはいずれの曝露影響指標（エンドポイント）に対しても有意な関連性を認めなかった（Grandjean et al., 2001⁽⁹⁾、村田ほか 2002⁽¹⁹⁾）。

④血圧への影響

低濃度のメチル水銀曝露が血圧上昇と関連するかもしれないとの報告がある（Sorensen et al., 1999⁽¹⁰⁾）。

➤（14歳児調査）

①神経心理学的検査

多くの検査結果は報告されていない。持続型反応時間に関して、臍帯血水銀濃度と14歳児の反応時間は統計的有意な関連性があるとしている（Grandjean et al., 2002⁽¹⁵⁾）

②神経生理学検査

重回帰分析で、聴性脳幹誘発電位潜時へのメチル水銀曝露の影響を検討すると臍帯血水銀濃度と20Hz及び40HzのⅢ、Ⅴで統計的有意な関連性が、母親毛髪水銀濃度と20HzのⅢ及び

I－Ⅲで統計的有意な関連性が、14歳児毛髪水銀濃度と40HzのⅢ－Vで統計的有意な関連性があるとされた (Murata et al., 2004⁽¹²⁾)。