

ジフェニルアルシン酸等の健康影響に関する調査研究について

I 分析研究班

- (1) ジフェニルアルシン酸等の体内動態に関する研究

II 毒性研究班

- (1) ジフェニルアルシン酸の代謝活性化と解毒に関する研究
- (2) モデル動物を用いたジフェニルアルシン酸の生体影響
- (3) ジフェニルアルシン酸の経胎盤ばく露による毒性の検討
- (4) ジフェニルアルシン酸による神経症状発症のメカニズムの解明に関する研究

III 臨床研究班

- (1) 成人におけるジフェニルアルシン酸等に係る健康影響に関する臨床研究
- (2) 小児におけるジフェニルアルシン酸等に係る健康影響に関する調査研究
- (3) ジフェニルアルシン酸等有機ヒ素化合物ばく露者における脳ポジトロンCT (PET) の解析

IV 疫学研究班

- (1) ジフェニルアルシン酸ばく露の慢性影響に関する前向き研究

I 分析研究班

(1) ジフェニルアルシニン酸等の体内動態に関する研究 (柴田先生)

① 目的

ジフェニルアルシニン酸 (DPAA) 及びその類縁化合物 (フェニルアルソン酸 (PAA)、フェニルメチルアルソン酸 (PMAA)) を含めた環境中、生体中における高感度な分析手法を確立するとともに、マイクロダイアリシス-LCMSMS 法による DPAA の脳内移行観察実験系を確立し、脳内に移行した DPAA 等による神経伝達系等への影響を明らかにする。

また、他班との協力体制を維持し、必要に応じてヒト生体試料等の分析・評価の方法を開発する。

② H26-28年度の研究内容と成果

H26 年度は、前年度までの検討に引き続き DPAA の脳血液関門通過と脳内出現に伴う神経伝達物質及び代謝物並びにその他の低分子化合物にどのような変化が出るかを、マイクロダイアリシス-LCMSMS 手法によって DPAA 投与マウスを使って解析し、人に現れる症状の原因を探る研究を行った。その結果、PAA、PMAA、を飲水投与したマウスでは、いずれも DPAA 同様にほぼ 15 分経ったところで脳内に現れ始め、同じように一定時間経過後にピークに達した後次第に濃度が減ることを認めた。その一方で、出現後の濃度変化の速度や脳内レベルについては物質により違いがあることも明らかとなった。また、一部の物質がさらにメチル化された代謝産物が生成して、脳内に検出されることも明らかとなった。

H27 年度は、マウスの脳 (線条体) と頸動脈にマイクロダイアリシスのプローブを固定して、DPAA の血中並びに脳内組織液中の濃度変化を同時に追跡できる手法を開発して実験した。その結果、DPAA 又は PAA の飲水投与後、血液中と脳組織液中にほぼ同時にこれらの物質が出現すること、血中レベルの方が脳内より一桁程度高いこと、メチル化代謝物は飲水後 3 時間近く遅れて血中、脳内に同時に現れることなどが明らかとなった。

H28 年度は、脳・血液同時透析-LCMSMS 法により、体内動態・脳内動態測定を進めるとともに、化学形態と代謝や脳移行性の関係を検討する。また、DPAA 投与による神経伝達物質変化測定を進め、単回急性効果についての用量-効果相関及び反復投与による影響の変化について検討する。また、臍帯については、へその緒試料に含まれる血液量と関連付けて、経胎盤移行性の推定手法の検討を継続する予定。

③ 今後の展望・計画について

DPAA 並びに関連物質の脳内移行並びに消失過程にかかわるキネティクスや関与する化学反応の解明、推定作業を通じて、化学物質の脳神経系への影響を考える上で欠かせない脳内移行評価方法の開発と、脳内移行しやすい物質の特徴の把握に貢献することが期待される。また、健康被害のメカニズムの理解と緩解法の開発にむけて、*in vitro*での毒性研究結果と臨床的知見をつなぐための基礎情報を提供できることが期待される。

II 毒性研究班

(1) モデル動物を用いたジフェニルアルシン酸の生体影響 (玉岡先生)

① 目的

DPAA の標的臓器は中枢神経系であり、中枢神経系に DPAA が残留することが指摘された。ヒトの急性毒性症状が主に小脳、脳幹症状であること、脳血流低下、脳糖代謝低下が同脳部位に認められることから、DPAA は小脳、脳幹に影響を及ぼし易いと考えられた。DPAA の中枢神経内蓄積に関する知見は、ラットにおける実験が殆どであったが、カニクイザルを用いた短期投与実験において、ラットより明らかに長期に亘り、DPAA が中枢神経系に蓄積していることが証明された。同時に脳血流や脳糖代謝の低下も観察されていることから、DPAA が脳内に長期間留まり脳機能に影響を与えていることが強く疑われた。以上の結果から、ラットを使った実験だけでヒトへの DPAA 蓄積性、生体影響や脳機能影響を推察し、議論することは極めて困難である。本研究はヒトに近い霊長類のカニクイザルを用いて、ヒト暴露と近似の 1mg/kg/day を投与し、中枢神経内 DPAA 残留性、DPAA の中枢神経系に対する長期影響を明らかにすることを目的とした。カニクイザルでの中枢神経系 DPAA 残留性の結果、PET 所見または脳病理所見は DPAA 暴露を受けたヒトにおける脳 PET、脳血流スペクトル所見の解釈や DPAA の長期健康影響を推察する場合に重要な知見を与えてくれる。

また、ヒ素化合物 monomethylarsonous acid はミトコンドリア呼吸鎖酵素複合体 II および IV を容量依存的に阻害するが、DPAA 暴露によるミトコンドリア呼吸鎖複合体機能異常は未だ明らかでない。さらに、妊娠期の DPAA 暴露により次世代の仔のミトコンドリア呼吸鎖酵素機能にどのような影響を及ぼすかも未だ明らかでない。ミトコンドリア呼吸鎖酵素機能異常が仔の臨床症状と関連する可能性があり、DPAA によるミトコンドリア呼吸鎖酵素機能への影響についてラットを用いて明らかにすることも目的として検討を行う。

② H26-28年度の研究内容と成果

H26年度は、平成25年度に実施したカニクイザル短期投与実験において対照群の病理標本作成時に嫌気性菌による人工物と考えられる病理所見を認めたため、対照群（非曝露群）のみの再実験を行い、脳血流、糖代謝の測定、各脳部位の画像データを取得してDPAA曝露群との有意差検定を実施した。25年度のDPAA曝露群、平成26年度の対照群の各凍結標本及び病理標本を用いて、病理組織検査を実施してDPAAによる影響を明らかにした。

また、主要臓器のミトコンドリア機能への影響を明らかにするため、DPAAを経口投与した妊娠ラットの胎仔、出生仔の標準測定用検体（横隔膜の筋肉）以外の他の臓器（血小板など）での測定法を確立するために、検体の調製法やポーラログラフィーを用いた機器分析法について検討を行った。

H27年度には、妊娠期にDPAAを経口投与したラットの胎仔及び乳仔（5日齢及び22日齢）について、ミトコンドリア機能への影響について検討を行った。横隔膜におけるミトコンドリア呼吸鎖酵素（OXPHOS）を測定して対照群と比較した結果、胎仔はOXPHOS複合体C Iが上昇、

CIIが低下、5日齢仔はCII、CIII、CIVが低下、22日齢仔はCIIが低下していたことから、妊娠期のDPAA曝露が次世代のOXPHOS活性に影響を与えることが示唆されているが更なる検討が必要である。

H28年度については、DPAAを経口投与したカニクイザルの脳における酸化ストレス関連タンパク質の発現解析を実施する。また、妊娠中にDPAAを経口投与したラットの胎仔、新生仔、20週齢仔について、ミトコンドリア機能への影響を検討する。

③ 今後の展望・計画について

環境中から生体に摂取され、健康被害を生じた化学物であり、今後、同様の事案が生じた時に同様な手法にて毒性、生体影響を調査できる貴重な前例となり得る。無機ヒ素の環境汚染や生体影響は広く知られており、体内で有機化された後の体内動態や毒性発現は類似すると思われる。有機ヒ素であるジフェニルアルシン酸の研究成果は無機ヒ素の生体影響にも意義ある知見を残すことができる。DPAAの生体影響を科学的データとして提供できる。特にヒトへの影響について、組織レベル、細胞レベル、細胞器レベルで解釈が可能になる。

(2) ジフェニルアルシン酸の経胎盤ばく露による毒性の検討（鰐淵先生）

① 目的

平成25年度までに実施した成熟ラット及びマウスを用いた1年間慢性毒性試験及び2年間発がん性試験の結果、DPAAは肝・胆道系に毒性を示すが、自身には発がん性はないことが明らかとなった。一方、ラット中期肝発がん性試験法及びラット多臓器発がん性試験では、他の発がん性物質が一定量以上共存する場合において、DPAAが雄ラット肝・胆道系に対して発がん促進作用を有することが示された。無機ヒ素では、成熟マウスへの投与では発がん性がみられないのに対して、経胎盤曝露の場合には児マウスの肝、下垂体、肺及び卵巣に発がん性が認められることから、同じヒ素化合物のDPAAについても、胎仔期曝露による発がんリスク評価が必要である。現在、胎仔期のDPAAの曝露による有害性に関する知見はほとんどないため、DPAAのリスク評価のための経胎盤曝露による毒性及び発がん性に関する基礎的なデータが必要である。

本研究を実施することにより、DPAAの胎仔期曝露による発がんリスク評価に必要な基礎データが得られると同時に、その毒性機序の解明に資することも期待される。

② H26-28年度の研究内容と成果

H26年度は、C3Hマウスに妊娠8日から妊娠18日まで0、12.5、25 ppmのDPAAを飲水投与し、出生仔を無処置で84週齢まで飼育・観察するとともに、25 ppm群は離乳後から84週齢まで飲水投与する群（一生涯曝露群）を設定して、発がん性試験を実施した。途中死亡動物については、全臓器について病理組織学的に検討し、先天性異常を視野に入れた毒性所見及び発がん性所見について検討を行った。途中死亡例及び切迫屠殺例については、経胎盤曝露による特異的な毒性発現パターンを検討した。

また、前年度までに実施した1年間マウス慢性毒性試験及びラット中期多臓器発がん性試験の肝臓組織を用いたプロテオーム解析の結果、25ppm DPAA投与群で発現量の変動を示した蛋白質264種類を同定した。その中で、肝毒性関連蛋白質が108種類認められた。

H27年度は、マウスの経胎盤曝露によるがん原性試験を終了し、全臓器の病理組織学的解析を開始し、途中死亡例と合わせて評価を行った。また、前年度に引き続きプロテオーム解析法を用いて、DPAAの毒性発現機序及び発がん促進機序を検討した。その結果、60週齢までの途中段階では、一般状態の異常及び肉眼的な先天性異常はみられなかった。一生涯曝露群(25 ppm)では体重増加の抑制が継続していた。また、肝傷害を認めた雌マウス 25 ppm群の肝臓組織を用いたプロテオーム解析の結果、対照群と比較してCYP2E1の有意な発現増加がみられたことから、DPAA投与による肝傷害にCYP2E1が関与していることが示唆された。

H28年度については、がん原性試験の病理組織学的解析を終了し、DPAAの胎仔期曝露による発がん性の有無を明らかにする計画である。また、標的臓器について、レーザーマイクロダイセクション法と組み合わせたプロテオーム解析による毒性発現機序解析を行う。

③ 今後の展望・計画について

現在、胎児期の DPAA のばく露による有害性に関する知見はほとんどないため、DPAA のリスク評価のための経胎盤ばく露による毒性及び発がん性に関する基礎的なデータが必要である。本研究を実施することにより、DPAA の胎児期ばく露による発がんリスク評価に必要な基礎データが得られると同時に、その毒性機序の解明に資することも期待される。

また、胎児期にばく露された子供の発がんリスク評価に必要な基礎データを提供し、その健康不安の解消等に資する。

(3) ジフェニルアルシン酸による神経症状発症のメカニズムの解明に関する研究 (根岸先生)

① 目的

DPAA 等のばく露による臨床所見として小脳症状を主徴とする神経症状があげられるが、DPAA による神経症状発症メカニズムの詳細は不明である。

平成 25 年度までに実施した培養細胞及びラットを用いた実験の結果、神経症状発症メカニズムの一要因として小脳における DPAA による酸化ストレスがアストロサイトの細胞機能を破綻させ、神経・血管作動性ペプチド等の脳内サイトカインの異常放出を引き起こすことにより神経機能の異常及び脳血流量の変化が生じ、それが神経症状を引き起こすという仮説を提示してきた。また、ラットにおいて発達期 DPAA 曝露は一過性の多動及び不可逆性の学習記憶障害を引き越すことを明らかにした。さらに、培養アストロサイトにおいては細胞の増殖・生存や種々の生理機能発現に重要である MAP キナーゼ経路の異常活性化とそれに関連する種々のタンパク質の発現異常、加えて細胞外へのグルタミンの異常放出が明らかとなった。しかしながら、DPAA の直接的分子標的及び脳内サイトカインの遺伝子発現または放出を促進する直上流のメカニズムは未だ不明であり、その解明と理解が DPAA により生じる神経症状に

対抗するために必要である。また、これにより、予防薬や治療薬を提案することを目指す。

② H26-28 年度の研究内容と成果

H25 年度までの一連の研究により、個体レベルではラットに出生直後から生後 6 週齢または生後 12 週齢まで DPAA ばく露 (20 mgDPAA/L、飲水) を行った結果、行動学的に多動および学習記憶障害を示すこと、生化学的に小脳においてグルタチオン減少、またグルタミン酸受容体の発現減少が生じることを確認した。興味深いことに、発達期 DPAA ばく露は多動と学習記憶障害を引き起こすがそれらのメカニズムは異なっていると考えられ、多動はその時脳内にある DPAA が直接的に関与する一方、学習記憶障害は DPAA が消失しても続くことから正常脳発達が器質的に歪められた結果であることが本研究で示唆された。また、細胞レベルではラット小脳由来アストロサイトにおいて DPAA は細胞増殖、酸化ストレス応答因子の発現誘導、MAP キナーゼの異常活性化、転写因子群の発現誘導と活性化、神経・血管作動性ペプチドである脳内サイトカインの異常放出、そしてグルタチオンの異常放出を引き起こすことを明らかにしてきた。そこで本研究では DPAA によるラット小脳由来アストロサイトの異常活性化の中でも特に MAP キナーゼである ERK1/2、p38MAPK、SAPK/JNK の異常活性化 (リン酸化) に注目し、各キナーゼの活性阻害剤を用いて薬理的評価を行った結果、3 種のキナーゼの中でも ERK1/2 がアストロサイトの活性化を促進的に、p38MAPK は抑制的に調節していることを明らかにした。さらに、現在はこの異常活性化についての種差及び細胞種特異性について検証している。また、DPAA ばく露による影響を抑制する薬剤を探索するための *in vitro* スクリーニング系の確立を行っている。

H26 年度には、以下の研究結果が得られた。

・ DPAA の影響特異性

アストロサイトに特徴的に出現する分子生物学的変化を指標として、DPAA 及びその類縁化合物 (PAA、PMAA、PDMAO、DPMAO) の構造活性相関解析を行った結果、DPAA と同濃度 (10 μ M) で同程度の影響を与える化合物はなく、DPAA は今回評価した一連の有機ヒ素化合物の中では特異な分子であり、量的にも質的にも今回の事故における健康影響についての主因分子であると考えられた。

・ DPAA による細胞機能異常とサイトカイン

本研究では DPAA にばく露したアストロサイトから放出される脳内サイトカインが影響のカギを握ると考えている。これまで MCP-1 等いくつかの脳内サイトカインの異常放出を明らかにしてきたが、ここではラットサイトカインアレイを用いて、34 種類のペプチドの検出・定量を試みた。その結果、DPAA はアストロサイトにおいて異常活性化を引き起こし、その結果としてこれまで明らかにしてきた MCP-1、Adrenomedullin、FGF2、CXCL1 に加えて、多種類のペプチド (IFN- γ 、IL-10、CNTF、IL-6、CINC-3、FasLigand、L-Selectin、IL-1 β 、IL-4、ICAM-1、Activin A、及び RAGE) の異常放出を促す可能性が示唆された。

H27 年度においては、以下の研究結果が得られた。

・ DPAA による細胞機能異常と MAP キナーゼ

DPAA により細胞内の主要な 3 種類の MAP キナーゼが全て異常活性化することが明らかとなったが、この 3 種の MAP キナーゼの相互関係を明らかにするために各キナーゼの活性阻害剤を用いて薬理的評価を行った。その結果、3 種のキナーゼの中でも ERK1/2 がアストロサイトの異常活性化を促進的に制御していることを明らかにした。また、p38MAPK は逆に DPAA による異常活性化については抑制的に関与し、SAPK/JNK は少なくとも DPAA の影響に関しては中立的であることも明らかにした。

・ DPAA による細胞機能異常における種差の評価

これまではラット由来の小脳アストロサイトを主に材料としてきたが、ヒトにおけるリスク評価を考えるとヒト由来のアストロサイトにおける検証が望まれるため培養法の確立を行った。

・ DPAA による細胞機能異常における細胞種特異性（ヒト由来株化細胞パネルでの比較）

これまでに脳内においては DPAA ばく露による影響は神経細胞よりもアストロサイトに強く出るという結果を踏まえて、アストロサイトに注目して研究を行ってきたが、脳以外の細胞は検証していない。そこでヒト由来の多種類の株化細胞を用意し、そこで DPAA による影響の細胞種特異性を評価する系の確立を行い、いくつかの細胞では DPAA の評価を検証した。その結果、アストロサイト由来の細胞においてのみ、DPAA により細胞増殖活性化が生じる傾向がみられた。

H28 年度については、以下の三つのテーマで研究を行っているところである。

・ DPAA によるアストロサイト異常活性化のメカニズム解明

・ DPAA によるアストロサイト異常活性化における特異性・高感受性の原因探索

・ DPAA によるアストロサイト異常活性化を抑制するまたは回復促進を助ける薬剤の探索 (*in vitro*)

③ 今後の展望・計画について

本研究で得られる知見は単に有機ヒ素化合物に対する細胞生物学的応答の記述や毒性学的悪影響の評価（細胞毒性等）にとどまらず、DPAA に特徴的である「小脳症状の発症メカニズム」を説明するに足る情報となり得るものであり、さらには DPAA ばく露による「小脳症状の発症予防・治療」への病態学的・薬理的検証研究へ進むための重要な知見となる。

また、これまでの研究成果と平成 28 年度の研究より予定される成果をもって、神経症状発症に関して細胞内で起きる影響（アストロサイトの活性化）とそれが周囲におよぼす一次影響（グルタミン酸や脳内サイトカインの異常放出）とそのメカニズムは概ね明らかとなる。ここから、神経症状の発症予防および症状の緩和・治療の提案をするためには、ここで得られた知見の生体での同等性を DPAA ばく露動物で検証し、同時にこれまでで得られた細胞レベルでの DPAA による影響を阻害・抑制し得る薬物について DPAA ばく露神経症状発症モデル動物を用いて評価することで、これまでの基礎的研究から臨床研究への重要な橋渡しとなる研究を提案し、予防薬・治療薬等の療法を提示することを目指す。

III 臨床研究班

(1) 成人におけるジフェニルアルシン酸等に係る健康影響に関する臨床研究（石井一弘先生）

① 目的

成人における DPAA について、中枢神経影響を中心にデータを収集、集積し、横断的かつ縦断的に解析し、健康影響を客観的に解明すること、これらのデータから DPAA 曝露の生物指標や臨床指標（臨床マーカー）を確立していくことが目的である。

脳血流が症候関連脳部位で低下することが強く示唆されたので、脳血流 SPECT 検査を今後も施行していくが、再度、20 歳台、30 歳台、40 歳台、50 歳台の正常対照群の脳血流シンチグラフィデータベースを作成し、これを用いて DPAA 曝露者における客観的、定量的脳血流変化を明らかにする。同時に頭部 MRI のデータベースも作成する予定であり、DPAA 曝露者における関心部位での血流低下の正常範囲を設定する。さらに DPAA 曝露による脳容積変化（萎縮）の有無を明らかにするため、頭部 MRI の 3D 画像を用いて、対照群との比較を試みる。

② H26-28 年度の研究内容と成果

平成 25 年度までに、脳血流 SPECT を施行した結果を比較し、SPM による統計画像解析した結果、A 地区の DPAA 曝露者における脳血流低下が年単位で改善し、4～5 年で回復することを明らかにしてきた。

平成 26 年度は、引き続き非 A 地区の脳血流 SPECT を SPM にて対照群と比較解析し、経時的脳血流低下部位の確認を行う。さらに DPAA 曝露者の頭部 MRI の DICOM データを用いて構造 MRI 解析 (Voxel Based Morphometry; VBM) を行い、DPAA 曝露による脳容積の変化の解明を試みた。年齢を共変量として A 井戸曝露群及び非 A 井戸曝露群の脳血流 SPECT 統計画像を解析した結果、曝露中止直後から 3 年後に A 井戸曝露群でのみ、小脳虫部と両側後頭葉の血流低下がみられ、DPAA による直接的な影響と考えられた。一方、3 年後以降の統計画像では、前頭葉弁蓋部、眼窩面、下前頭回付近の血流低下が両群でみられたが、A 井戸曝露群では経年で低下部位は拡大しており、DPAA による加齢促進現象の可能性が考えられた。

H27 年度は、DPAA 曝露者の平均年齢が 40 歳代、50 歳代にシフトしたことから、脳血流 SPECT データを正確に解析し、脳容積の変化を解明できるよう、対照群として 40 歳代、50 歳代の非曝露者各 20 名に脳血流 SPECT、頭部 MRI を施行してデータベースを作成した。

これまでに得られた脳血流 SPECT データを 1000 件収集・画像処理し、共変量を考慮しながら DPAA 曝露者の約 10 年間の脳血流経時的変化の解析を行った結果、曝露中止 1 年以内では症候関連部位に有意な脳血流低下がみられたが、3～4 年後には血流低下範囲が縮小し、5 年後には対照群との差がなくなった。しかし、加齢によって血流が低下する部位で 7～8 年後に血流低下が新たに出現し、約 10 年後には同部位での血流低下に有意差がみられた。これらの結果から、DPAA 曝露により正常加齢を促進することが明らかになった。

H28年度については、DPAA曝露者300件の脳MRIデータを収集し、引き続き統計画像解析を行う。また、DPAA曝露者のDICOMデータを用いて構造MRI解析(Voxel Based Morphometry:VBM)を行い、経時的なDPAA曝露による脳容積の変化を解明する。

③ 今後の展望・計画について

脳血流SPECT、脳MRI、高次機能検査、神経学的所見などの検診結果をまとめ、分析することにより、健康被害の現況を明らかにし、健診受診者の結果報告書の作成に有用な情報を提供し、適切な指導を行うことが期待できる。さらに本研究で得られた実績、成果を参考にして、DPAA健康被害に対する適切で十分な施策が行われた実績があることから、同一のまたは類似の環境汚染物質による健康被害に対して、同様の臨床調査手法(曝露指標の設定、臨床指標の設定、臨床検査法の確立など)を提供できる。

また、得られた脳血流SPECT、脳MRIならびに神経学的所見の総合的な結果や、曝露者個人の経時変化を精査、分析することで、現行の健診事業全体の方向性や、個別対応の必要性についての情報を提供できる。

(2) 小児におけるジフェニルアルシン酸等に係る健康影響に関する調査研究 (岩崎先生)

① 目的

有機ヒ素化合物(ジフェニルアルシン酸 Diphenyl arsenic acid (DPAA) 等化合物)にばく露した小児への健康影響を明らかにすることを目的に、飲水ばく露のうち飲水井戸中のDPAAが確認された時点で12歳以下の小児に対して、長期的観察を行う。また、神経学的症状、発達・知能検査、脳血流SPECT、頭部MRI、脳波検査などとともに、胎児移行などについても検討を加える。

② H26-28年度の研究内容と成果

H26年度は、前年度までに引き続き、必要に応じて神経学的所見を含む身体所見、一般血液尿検査、脳波、頭部MRI、脳血流SPECTを行った。また、知能検査としては、WISC-III知能検査を施行し、発達遅滞が顕著な場合には、新版K式発達検査法を施行した。

精神遅滞以外の臨床的影響のうち、自律神経障害については起立性調節障害テスト、体位変換負荷サーモテスト等を実施した。A井戸飲水群では、知的障害が2名、境界域が4名、正常域が2名であり、A井戸非飲水群では知的障害が0名、境界域が4名、正常域が18名であり、知的障害は残存した。小脳の血流低下については、定性的な評価ではあるが、両群で改善がみられたが、自律神経障害については検査異常が残存していた。A井戸飲水群8名中4名、A井戸非飲水群22名中7名にみられていた頭痛は継続していた。

また、平成25年度に実施した妊娠ラットに対するDPAA経口投与実験のデータが得られ、解析したところ、DPAAの血中濃度に対する脳中濃度は母体よりも胎仔で低く、血中から脳へ

の移行は胎仔では母体に比較して少ないと思われた。

H28年度は、H26年度までに引き続き、以下の研究を行う予定である、

- 1) 長期にわたる経過観察
- 2) 脳血流 SPECT 検査所見の定量化と年齢変化に伴う標準化
- 3) 自律神経機能などの発達遅滞以外の臨床的影響異常に関する臨床評価
- 4) DPAA をばく露した妊娠ラットを用いた胎仔移行

なお、H27年度は、諸般の理由により研究を実施していない。

③ 今後の展望・計画について

知能検査については、青年期、成人期に達した場合には検査方法についてウェクスラー成人知能検査へ変更し評価をおこなっていく。脳血流 SPECT については、成人期のばく露例と同様に改善がみられてきている。小児の多くが成人期に近づいていることから、成人期に近づいたケースについては成人における分析法を用いて定量的に解析をおこなっていく。

また、本研究では臍帯から検出されている DPAA に関して、測定精度を改善することを計画している。このことによって、緊急措置事業に対しては、飲水ばく露による生体へのばく露時期やばく露量の推定精度が改善することによって、過去に起こった DPAA のばく露状態をより正確に把握することが可能となる。また、本方法を確立していくことによって臍帯を通じて、過去に起こった生体への環境ばく露の状態を推察することの道が開け、当該地域の環境施策の基礎データを作成していく上で貢献できる可能性がある。

(3) ジフェニルアルシン酸等有機ヒ素化合物ばく露者における脳ポジトロン CT (PET) の解析 (石井賢二先生)

① 目的

DPAA 曝露者では、特定部位の脳血流低下が指摘されているが、この血流低下が、血管性因子によるものか、神経細胞機能障害によりカップルして同部位の血流低下が生じているのかが分かっていない。

このため、DPAA 曝露者に 18F-FDG を用いてポジトロン CT (PET) を施行し、糖代謝低下パターンを明らかにすることにより、DPAA 曝露による脳内の糖代謝 (=神経細胞活動) への影響を調べる。これにより、DPAA 曝露の中枢神経系への影響とそのメカニズムについて検討する。平成 25 年度までの検討では、PET を撮影した DPAA 曝露者のうち 70%以上で何らかの脳代謝低下が検出されており、PET は DPAA の中枢神経系への影響を評価する上できわめて感度の高い検査方法であることが明らかとなった。また、経時的調査で曝露中止から 5 年以上経過した追跡検査でもなお脳代謝への影響が遷延することが示唆されており、DPAA の中枢神経系への影響を明らかにするためには長期にわたる観察が必要である。

② H26-28 年度の研究内容と成果

H25 年度までに 71 名の DPAA 曝露者に対して ^{18}F -FDG と PET による局所脳ブドウ糖代謝測定を実施しており、小児・未成年被検者（20 歳未満）の全例（20 例）と成人被検者 51 例中 36 例で軽微なものも含め、何らかの脳代謝低下を疑う所見がみられた。

そこで、H26 年度は、有所見者のうち再検査を希望する曝露者について引き続き経時的変化を調べたところ、特に初回検査から 8 年以上経過した有所見者 4 人の検査に加え、長期追跡例を新たに追加して経時変化を比較した結果、13 例中 7 例で改善、3 例で一部改善がみられた。

また、正常加齢変化と病態に関連した変化を区別する必要があることから、一般対照群において 5 年以上の経過観察を行った例を用いて加齢変化を加味することのできるデータベースを作成し、病態評価の精度向上に取り組んだ。

H27 年度は、引き続き、有所見者のうち再検査を希望する曝露者について ^{18}F -FDG と PET による検査を実施し、経時的変化を調べた。また、7 年以上の経時変化を観察した対照群の加齢変化を加味したデータベースを作成し、SPM を用いた統計画像解析に加え、PET 画像解析ソフト（PMOD）による脳部位ごとの定量計測（Brain Parcellation）を用い、検討した。

H28 年度については、引き続き、有所見者のうち再検査を希望する曝露者について ^{18}F -FDG と PET による検査を実施し、経時的変化を調べる。解析方法として、新たに MIMneuro ソフトによる解析を追加し、検討する。

③ 今後の展望・計画について

DPAA の中枢神経系への影響のメカニズムおよび曝露者の予後の推定に参考となる情報が得られた。DPAA 曝露者の中枢神経障害は数年にわたり遷延するが、8-10 年を超える長期的には緩やかに改善が見られることがわかった。ただし、DPAA による障害と加齢や老化関連の脳疾患とが相互作用を有するかどうかは更に長期の観察によらなければ結論は出せないと考えられ、長期に亘る観察が必要である。

IV 疫学研究班

(1) ジフェニルアルシン酸ばく露の慢性影響に関する前向き研究（大久保先生）

① 目的

DPAA ばく露に係る健康被害は世界的にも稀な事象であり、ほとんど報告がないことから、DPAA ばく露者を前向きに追跡し、DPAA ばく露に係る中長期的な健康影響の有無を明らかにすることを目的とする。

② H26-28年度の研究内容と成果

研究対象者に対して、ベースライン調査（平成 18 年度）と同じ内容のフォローアップ調査を自記式留置調査により実施し、現時点の健康状態や生活習慣・疾病の状況の結果を集計・分析した。

H26 年度も引き続き、フォローアップ調査を実施した。この際、頭痛の有訴率が高い状況が継続しているため、持病としての頭痛の状況について、成人の質問票に追加して調査を実施した。医療手帳交付者 149 名のうち、122 名から同意が得られ、成人 112 名、小児 10 名からデータの提供があった。

がんにより 1 名（40 歳代）が死亡しており、調査開始時からの死亡は総計 7 名となった。また、新たに 1 名ががんに罹患したと回答しており、がんの罹患者は総計 9 名となった。

成人では男女とも「頭痛」の有訴率が最も高く、次いで男性は「物忘れ」女性は「物忘れ」、「腹痛」の項目で有訴率が高かった。小児でも「頭痛」の有訴率が高かった。頭痛に関する追加質問では、回答の得られた男性 43 名中 10 名、女性 43 名中 21 名が現在も片頭痛が起これると回答した。

H27 年度も引き続き、フォローアップ調査を実施した結果、死亡やがんの新たな罹患はなかった。有訴率の改善傾向はみられるものの、成人では依然として「頭痛」の有訴率が高く、特に女性では男性の約 2 倍高かった。小児でも「頭痛」の有訴率が高かったが、人数が少ないため、調査結果等の比較は困難であった。頭痛に関する追加質問では、平成 26・27 年度に回答の得られた男性 55 名中 12 名、女性 48 名中 23 名が現在もドクンドクン、ズキンズキンと脈打つような痛み（片頭痛の可能性あり）が起これると回答した。なお、頭痛に関する追加質問は、平成 26 年に回答が得られなかった人に対してのみ実施した。

H28 年度についても、引き続きフォローアップ調査を実施する。頭痛に関する追加質問は、前年度までに答が得られなかった人に対してのみ実施する予定である。また、同意率（調査票回収率）改善のため、住民対応窓口の一本化など、配布・回収の方法の見直しを進める。

③ 今後の展望・計画について

疫学調査の最も重要なことは正確な情報を継続的に把握することである。現在、がん等の

健康に重大な影響を及ぼす疾患の罹患や死亡が出現してきている。このような疾患の罹患率や死亡率が他地域と比較して有意に高いのか、または同程度であるかを、しっかり統計学的に検証するには、これからの発生状況を継続して把握することが不可欠である。

今後とも研究班としては、DPAA ばく露に係る中長期的な健康影響について、医療手帳交付者の加齢に伴う影響や、幼児、児童の心身の発達に伴う影響などについて解明する。