

環境疫学における小児の神経生理機能の評価法

Neurophysiological methods for children in environmental epidemiology

嶽石美和子 村田勝敬 (秋田大学医学部社会環境医学講座環境保健学分野)

Miwako DAKEISHI and Katsuyuki MURATA

小児を対象とした環境疫学研究を実施する場合、倫理的側面に配慮する必要がある、実際に使用できる神経生理学的検査法は限られる。小児で神経生理学的検査を行う際には非侵襲的で安全性が高いことが第一条件であり、かつ短時間に実施でき、客観的・定量的なデータが得られることが要求される。本稿は、小児を対象とした環境疫学研究で用いられてきた聴性脳幹誘発電位、視覚誘発電位、心電図 R-R 間隔変動の測定方法と、その解釈に当たっての注意事項を過去の研究成果に照らして概説する。

Kew words 聴性脳幹誘発電位 視覚誘発電位 心電図 R-R 間隔変動 小児 環境疫学

臨床医学や産業医学領域における中枢神経系の機能評価法として古くより脳波検査があり、後者の例としてメチルブロマイド中毒における「痙攣波」¹⁾のように大脳表層部の定性的な障害の同定に使われた。一方、情報処理技術の発達に伴い、中枢神経系の求心性機能を反映する各種誘発電位(短潜時体性感覚誘発電位、視覚誘発電位、聴性脳幹誘発電位)や認知・判断機能に関連する事象関連電位(P300)などの機能別、定量的な脳電位の測定技術が幅広い分野で応用されている²⁾。特に臨床医学においては、これらの神経機能検査は病態生理学的診断のためというお墨付きがあり、その利用は容易であろう。

上述の検査を環境疫学領域で利用する場合、対象者の大半がいわゆる健常人であり、同意を得ることがなかなか容易でない。例えば体性感覚誘発電位あるいは神経伝導速度を測定する場合、労働者や患者であれば、その測定意義を正しく理解してもらうことで本人の同意を得ることは可能であ

る。しかし、対象が小児であれば、電気刺激を用いるので親から同意を得ることが非常に難しくなる。したがって、小児に適用できる神経生理学的検査は聴性脳幹誘発電位、視覚誘発電位、P300、心電図 R-R 間隔変動などのごく一部に限られる。本稿は、既に測定技術が確立し、生理的意義も次第に明らかになっているこれらの測定法を環境保健領域で適用した研究成績(特に、メチル水銀や鉛曝露)を紹介するとともに、その解釈に当たっての注意事項について述べる。

■ 聴性脳幹誘発電位

1. 測定方法

聴性脳幹誘発電位は一定レベルのクリック音による聴覚刺激後 10 msec 以内に頭皮上で検出される電位変動であり、聴神経から脳幹に至る聴覚伝導路の機能が投影される²⁾。このうち聴神経、蝸牛神経核、上オリブ核および下丘に起源すると考えられている成分(各々 I, II, III, V)の頂点

潜時および頂点間潜時が聴覚伝導機能の指標となる。聴性脳幹誘発電位は、測定機器の諸特性により得られる潜時が多少異なり、また各々の検査室の電磁波の遮蔽対策で波形の歪み具合が異なる。このため、潜時の評価は各々の検査室で設定した値（平均値±標準偏差、あるいは95%信頼区間）を用いて行う。原則的に、病的状態で潜時が遅延する。なお、環境保健領域の疫学研究で多数の対象者を測定する場合、頭皮電極の貼り方や潜時の読み取り方が測定者で異なる可能性があり、測定バイアスが生じやすくなる。また、環境有害因子の曝露レベルを検査者が測定前に知らされていると情報バイアスが生じる可能性もある。このため、曝露情報を一切知らされていない同一の検査者が一連の研究対象者を測定することが望まれる³⁾。

聴性脳幹誘発電位に影響を及ぼす可能性のある交絡バイアスとして、性、年齢、体温、喫煙歴、飲酒歴がある。このほか脱髄疾患（多発性硬化症ほか）、糖尿病、後頭蓋窩腫瘍、脳卒中、聴力損失等による変化が観察されている。特に、聴力損失があると一定レベルの聴覚刺激が行われなくなるので、環境疫学研究においても可能な限り聴力測定を併用することが望まれる。

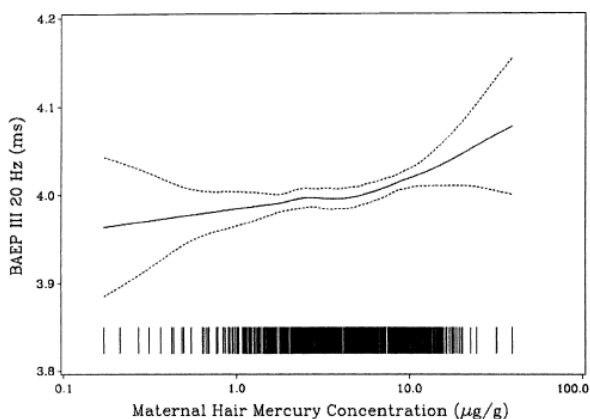


図1 フェロー諸島における出生時母親毛髪水銀濃度と14歳児聴性脳幹誘発電位第Ⅲ潜時の関係⁷⁾

2. 研究報告

メチル水銀中毒では難聴が起こることから、古くより聴性脳幹誘発電位が測定され、胎児性水俣

病患者でⅠ-ⅢおよびⅠ-Ⅴ頂点間潜時が有意に延長していた⁴⁾。環境疫学では、フェロー諸島出生コホート研究（7歳および14歳児1022名⁵⁻⁷⁾とマデイラ諸島の横断研究（7歳児149名⁸⁾において、Ⅲ頂点潜時（およびⅠ-Ⅲ頂点間潜時）が出生時臍帯血水銀濃度（あるいは出生時曝露を反映するとされる母親の毛髪水銀濃度）と有意な正の関連性を示した（図1）。一方、日本でも同様の横断研究（7歳児327名）が行われたが、メチル水銀と聴性脳幹誘発電位潜時との有意な関連は認められなかった⁹⁾。これは、出生時曝露を反映するとされる母親の毛髪水銀濃度が0.11~6.86 µg/g（中央値1.63 µg/g）と前2者の対象集団と比べかなり低かったことが理由と考えられた。

メチル水銀に汚染された食物の他に、金抽出に使う水銀の蒸気に曝露されているエクアドルの金坑夫の子供31名（4~14歳、平均10歳）の聴性脳幹誘発電位を調べたCounterは、血中水銀濃度が20~89 µg/lの子供のⅢ-VおよびⅠ-V頂点間潜時が20 µg/l未満の子供と比べて有意に延長していることを報告した¹⁰⁾。フェロー諸島の14歳児でも、Ⅲ-V頂点間潜時は14歳児の毛髪水銀濃度と有意な関係があったことから⁷⁾、聴神経の末梢側は胎児性曝露による不可逆的障害部位であり、脳幹側は後天性曝露による可逆的障害部位でないかと推量される^{7,9)}。

高濃度の鉛曝露により末梢神経障害や鉛脳症が起こることが知られており、子供では成人よりも低い鉛曝露濃度で影響が現れる。Ottoらはバッテリー工場で働く労働者の衣服に付着して持ち込まれる鉛や家の鉛塗料から曝露を受けた子供を5年間追跡した¹¹⁾。これらの子供49名（6~12歳）の聴性脳幹誘発電位のⅢおよびⅤ頂点潜時は血中鉛濃度（研究開始時濃度6~59 µg/dl）と有意な量依存関係を示した。

■ 視覚誘発電位

1. 測定方法

視覚誘発電位は目に光刺激を加えた後、大脳皮質視覚野（後頭葉）に生じる電位変動（N75, P100, N145 成分）である。これらの成分は網膜から後頭葉皮質までの視覚求心路を経て、視覚中枢へ至る伝導系の機能を反映すると考えられている²⁾。刺激には白黒の市松模様の反転刺激と閃光刺激の2種類あるが、前者の方が視神経病変の検出率が高いとされている。しかし、乳幼児や動物は光刺激装置を固視することができないので閃光刺激法に限られる。近年、閃光刺激の一法として、ゴーグルに固定した発光ダイオード（LED）刺激が考案され、その実用化に向けて研究が積み重ねられつつある（図2）。このLED刺激は、①暗室を必要としない、②被験者が目を閉じていても十分な光刺激が可能であり、かつ③比較的安定した波形が得られることが特徴であるが、長時間刺激を続けていると被験者が吐気等を訴えることがあるので短時間の測定とし、かつ細心の注意を必要とする。

測定バイアス、情報バイアスに関する注意事項は聴性脳幹誘発電位の測定方法で既に述べた通りであり、同一の熟練の検査者が一連の検査を行うことが望まれる。聴性脳幹誘発電位と異なり視覚誘発電位の場合には、波形が読みづらいことが度々ありうるので、ピーク判定の基準ないしルールを事前に定めておくことも重要である。視覚誘発電位潜時に影響する要因として、性、年齢、刺激条件（照度、刺激パターン、視野の大きさ）、脱髄疾患、脳病変の既往等が報告されている。

2. 研究報告

フェロー諸島出生コホート研究（7歳および14歳児）で視覚誘発電位が測定されたが、メチル水

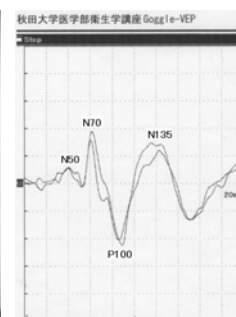
銀曝露との有意な関連性は観察されなかった^{3,5)}。この理由として、フェロー諸島住民が食べているゴンドウクジラの脂身の摂食回数が多い母親ほどドコサヘキサエン酸のような高度不飽和脂肪酸が高く、この不飽和脂肪酸は胎児や母乳栄養児の知能や視神経発達に必須の成分であることから、その予防効果によりメチル水銀曝露の視覚誘発電位潜時への影響が打ち消されたのではないかと著者等は推測した。一方、マデエイラ諸島漁村で行われた横断研究（7歳児調査）では視覚誘発電位のN145潜時が母親毛髪水銀濃度と有意な正の関係を示した⁸⁾。マデエイラでは“エスパーダ”というメチル水銀を多く含む深海魚を多食しているが、この魚が不飽和脂肪酸を多く含有しているかどうか明らかでない。

■ 心電図 R-R 間隔変動

1. 測定方法

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100回以上連続して計測し、算出される標準偏差値をその平均値で割った値（CV_{RR}）である¹²⁾。この値はアトロピン（副交感神経遮断剤）の投与により著しく小さくなるが、プロプラノロール（β交感神経遮断剤）の投与では不変であることから、特に副交感神経機能を反映すると考えられている。また、安静時仰臥位の R-R 間隔変動は主に呼吸性、血圧性および体温性の成分から構成されており、得られた R-R 間隔時間のデータを周波数分析（高速フーリエ変換、自己回帰モデルなど）後の各々の周波数帯のパワースペクトル密度を算出することに

図2 ゴーグルに固定した発光ダイオード（LED）刺激による視覚誘発電位の測定光景



より、副交感神経活動 (HF パワー)、交感神経活動 (LF パワー)、交感神経バランスなどを定量的に検討できる。なお、CV_{RR}には性差は見られないが、心拍数には性差がある。

2. 研究報告

胎児性水俣病患者 9 名で CV_{RR} が測定され、HF パワー成分が対照群と比べ有意に低下していた¹³⁾。フェロー諸島出生コホートの 7 歳児の自律神経機能は、LF パワーが臍帯水銀濃度と有意な負の相関を示した⁶⁾。しかし、7 歳児の毛髪水銀濃度とも同様の関係を示したことから、胎児期曝露による影響か現時点の曝露による自律神経機能影響なのか判断できなかった。このコホートが 14 歳になった時に行われた同じ検査で、14 歳児の HF パワーおよび LF パワーが臍帯水銀濃度とのみ有意な負の相関を示し、7 歳児毛髪水銀濃度や 14 歳児毛髪水銀濃度とは有意な関係を認めなかった⁶⁾。これらの結果は、出生時のメチル水銀曝露が自律神経機能の不可逆的低下を招いていることの証左であり、また 7 歳では自律神経機能が発達過程にあり、十分成熟していなかったことを示唆していたのかもしれない。なお、日本の横断研究 (7 歳児) でも CV_{RR} が測定されたが、有意な量-影響関係は見られなかった⁹⁾。

■ おわりに

環境疫学研究では、聴性脳幹誘発電位は 4 歳以上の子供が、視覚誘発電位は 5 歳以上の子供が、また心電図 R-R 間隔変動は 7 歳以上の子供が対象となって測定されている。しかしながら、発育の著しい低年齢で測定する際には、誘発電位波形が未分化であったり、未成熟な自律神経機能のため心的動揺などで心拍数が大いに変動する可能性も高く、また性・年齢以外の頭囲など身体要因に影響されやすいので¹⁴⁾、これらの交絡バイアスを除外して評価する必要がある。いずれにせよ、今回紹介した神経生理学的検査は子供に非侵襲的で安全性が高く、客観的かつ定量的な方法であり、

今後の環境疫学研究で利用する価値がありそうである。

■ 文献

- 1) 荒記俊一・他: メチルブロマイド中毒症の臨床的研究. 日災医誌 18: 447, 1970.
- 2) Araki, S. *et al.*: Neurophysiological methods in occupational and environmental health: methodology and recent findings. *Environ. Res.* **73**: 42-51, 1997.
- 3) 村田勝敬・嶽石美和子: 胎児性メチル水銀曝露による小児神経発達影響—Faroe 研究を中心に—. 日衛誌 **57**: 546-570, 2002.
- 4) 浜田陸三・他: 胎児性有機水銀中毒症における聴性脳幹反応の検討. 神経内科 **16**: 283-285, 1982
- 5) Grandjean, P. *et al.*: Cognitive deficit in 7-year-old children with prenatal exposure to methylmercury. *Neurotoxicol. Teratol.* **19**: 417-428, 1997.
- 6) Grandjean, P. *et al.*: Cardiac autonomic activity in methylmercury neurotoxicity: 14-year follow-up of a Faroese Birth Cohort. *J. Pediatr.* **144**: 169-176, 2004.
- 7) Murata, K. *et al.*: Delayed brainstem auditory evoked potential latencies in 14-year-old children exposed to methylmercury. *J. Pediatr.* **144**: 177-183, 2004.
- 8) Murata, K. *et al.*: Delayed evoked potentials in children exposed to methylmercury from seafood. *Neurotoxicol. Teratol.* **21**: 343-348, 1999.
- 9) Murata, K. *et al.*: Effects of methylmercury on neurodevelopment in Japanese children in relation to Madeiran study. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* (in press).
- 10) Counter, S.A.: Neurophysiological anomalies in brainstem responses of mercury-exposed children of Andean gold miners. *J. Occup. Environ. Med.* **45**: 87-95, 2003.
- 11) Otto, D. *et al.*: 5-year follow-up study of children with low to moderate lead absorption: electrophysiological evaluation. *Environ. Res.* **38**: 168-186, 1985.
- 12) Murata, K. and Araki, S.: Assessment of autonomic neurotoxicity in occupational and environmental health as determined by ECG R-R interval variability: a review. *Am. J. Ind. Med.* **30**: 155-163, 1996.
- 13) Oka, T. *et al.*: Autonomic nervous functions in fetal type Minamata disease patients: assessment of heart rate variability. *Tohoku J. Exp. Med.* **198**: 215-221, 2003.
- 14) Rothenberg, S.J. *et al.*: Brainstem auditory evoked response at five years and prenatal and postnatal blood lead. *Neurotoxicol. Teratol.* **22**: 503-510, 2000.