

5 α 還元酵素はテストステロンをよりアンドロゲン受容体への結合性が強い DHT に変換する。DHT 感受性は精巣よりも前立腺で顕著とされている。また、肝臓においても 5 α 還元酵素が発現することが報告されている。今回の結果から、精巣における 5 α 還元酵素活性は、DEHP 曝露によって上昇することが明らかとなった。しかし、肝臓における 5 α 還元酵素活性は DEHP によって変動を受けなかった。

CYP19（アロマターゼ）は P450 分子種のひとつで、アンドロゲンをエストロゲンに変換する。CYP19 ノックアウトマウスは性行動に不可欠であり、また、精巣のエストロゲンは精子形成・維持に重要であることが最近の研究で報告されている。今回の結果では、DEHP 曝露は精巣の CYP19mRNA 発現レベルを減少させることが明らかとなった。

21. cytochrome P450 など異物代謝酵素遺伝子の多形解析と毒性評価 2

1) 母と子の薬物代謝の差

(1) ヒト CYP ファミリー

CYP は巨大なスーパーファミリーを形成しており、アミノ酸の相同性によって、分子種名が決められている。40%以上相同性を持つものをファミリー、55%以上相同性を持つものをさらにサブファミリーとしている。CYP の中でも、CYP1、CYP2、CYP3、CYP4 ファミリーは生理活性物質以外にも、様々な外来異物の代謝に関与することが知られており、ダイオキシン類や多環芳香族、PCB、農薬などを代謝する。外来異物代謝 CYP 分子種の調節因子として、AhR (aryl hydrocarbon receptor) や PXR (pregnane X receptor; NR1I2)、CAR (constitutive androstane receptor; NR1I3)、PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor) が知られているが、これらの受容体群は、ダイオキシン類や PCB、フタル酸エステルなどのリガンド受容体にもなっている。多くの環境汚染物質はこれら受容体群を活性化し、CYP 各分子種の発現量に影響を

与える。最近では、CYP2C9 が PXR で転写制御されていることも報告された。また、外来異物だけではなく、ステロイドホルモンである progesterone や androgens が CAR を抑制し、また反対に estrogens は CAR を活性化することが明らかとなった。

(2) 成人肝臓、胎盤、胎児肝臓に発現する CYP

これまでの報告で、ヒト肝臓および胎盤の CYP 分子種の発現パターンは異なることがわかっている。最近、Nishimura らによって、ヒト成人肝臓、胎児肝臓、胎盤に発現する 30 種の CYP 分子種 (CYP1A1、1A2、1B1、2A6、2A7、2B6、2C8、2C9、2C18、2C19、2D6、2E1、2J2、3A4、3A5、3A7、4A11、4F2、4F3、5A1、7B1、8A1、8B1、17、26A1、27、27B1、39A1、46、51) の発現パターンが報告された。成人ヒト肝臓では、CYP2A6 や CYP2E1mRNA の発現量が多い。一方、胎児では、CYP2E1 のほか、CYP4A11、CYP3A7、CYP8B1 や CYP51 の発現が比較的多い。

(3) 妊娠期における母体肝臓の薬物代謝酵素

これまでの知見から、妊娠時の外来異物のクリアランスに寄与するのは、主に母体肝臓であることが示唆された。しかし、妊娠時には、母体肝臓における CYP 分子種は通常の成人の CYP 発現とは異なるパターンを示すことも報告されている。CYP1 ファミリーのひとつ CYP1B1 は extra hepatic な CYP 分子種で、通常、肝臓よりも血液中の発現量のほうが 20%程度多い。女性の血液中での CYP1B1 発現量は男性に比べて有意に高いことも報告されているが、妊娠期間に血液中の CYP1B1mRNA 発現量は変動しないことが報告されている。

CYP による代謝の後、多くの薬物は phase II 酵素による抱合を受け、水溶性を増して排泄されやすくなる。しかし、妊娠中に曝露され、生体に取り込まれた環境化学物質は、通常とは異なる速度で代謝・排泄過程を経ることが考えられる。グルクロン酸抱合酵素分子種のひとつで、bisphenol A や nonylphenol、DES などの xenoestrogen

の代謝に関わる UGT2B1 の活性は、妊娠期には非妊娠児期の 10-20% 減少することがラットを用いた実験から報告された。UGT2B 以外にも、妊娠期には、UGT1 ファミリーの代謝活性も減少することが報告されている。

4-hydroxy-2(E)-nonenal (4HNE) は、リノール酸やアラキドン酸などの $\omega 6$ 系高度不飽和脂肪酸が酸化ストレスをうけることで non-enzymatic に生成されるアルデヒドであり、active で毒性が強い。4HNE は phase II のグルタチオン抱合酵素のひとつ GSTA4-4 によって抱合を受け、解毒されることが報告されている。従って、抱合酵素 GST は妊娠期における生体の酸化機構に重要な因子のひとつである。実際、MnSOD (manganese superoxide dismutase) の多型とともに、GST M1 が欠損する遺伝多型 null type では、子宮において oxidative stress の指標となる 8-OHdG の生成量が多いことが報告されている。

妊娠期において、多くの CYP 分子種や UGT 分子種の発現レベルが減少し、それらの酵素群の誘導能の低下することから、この時期の環境化学物質や薬物への曝露は、薬剤クリアランスの変化から、体外への排泄が遅れ、胎児に不可逆的な影響を与える可能性も考えられる。

2) 妊娠ラットの母体肝臓における薬物代謝能の変動

妊娠期におけるラットの母体肝臓の CYP 発現量は非妊娠期に比べて有意に減少した（対照群の約 70%）。しかし、CYP、特に CYP1 ファミリーに電子伝達を行う cytochrome b5 の発現量に変化は見られなかった。propranolol R 体について、妊娠前期（妊娠 15 日齢まで）に、5 位水酸化活性の上昇と、N 脱イソプロピル化活性の減少が認められた。CYP2C12、CYP2B1、CYP2B2、CYP2E1 に特異的な各抗体を用いて行った Western blotting の結果から、いずれの分子種も妊娠期では非妊娠期に比べて蛋白発現量が減少することが分かった。

22. cytochrome P450 など異物代謝酵素遺伝子の多形解析と毒性評価 3

Primer は PCR 産物が数 100bp 以内になるように設計し、multiplex PCR を 3 回に分けて行った。得られた PCR 産物は、混合してスライドガラス上のオリゴ DNA にハイブリダイズし、ペルオキシダーゼによって発色させ、アレルの判定を行った。変異検出には、ゲノム PCR 産物のハイブリ後の発色で、スキャナーなどの光学機器を必要とせず、目視判定が可能であった。

ヒト血液 20-50ul より各々 genome DNA を抽出し、SNPs を検出することができた。約 50 名の genome を用いて再現性や検出感度を確認したところ、CYP1B1*3、CYP2C19*3、GSTP1、AhR については、確実な多型の検出が可能であった。CYP1A2、NAT2 は非常に弱いシグナルが得られた。CYP2D6、PPAR、CYP2A6 については、安定した結果が得られなかった。

さらに、血液よりも非侵襲的なサンプルである毛髪や眉毛、爪からのゲノム抽出を行ったところ、それらの PCR 産物が chip を用いた遺伝多型の判定に利用できる可能性が考えられた。DNA の増幅は 1 本の毛髪あるいは眉毛でも十分可能であった。

23. 内分泌かく乱化学物質のヒト暴露評価 —新規高感度分析手法の構築—

環境省等における化学物質の環境汚染実態調査において、様々な残留状況を GC/MS 法を用いて測定・把握してきている。GC/MS 法は、多種類の化学物質を同時に高感度の測定ができ、微量の化学物質分析に優れている。しかしながら、GC/MS 法は難揮発性物質、熱不安定物質等の分析は困難とされ、誘導体化などの煩雑な操作が必要とされてきた。内分泌かく乱化学物質の代表されるフェノール性化学物質やイソフラボン類などもその代表的なものである。そこで、本研究では、そのように GC/MS 法では困難とされる化学物質を LC/MS 法により、迅速・簡便な測定を試みることにした。

本研究での化学物質暴露モニタリングに関しては、代謝を考慮しながら分析を実施する。具体的には、BPA,NP,OP では、グルクロン酸抱合体の存在を考慮する。また、可塑剤であるフタル酸エステル類のいずれもモノ体のみのモニタリングを実施することとする。

少量の生体試料を対象とした場合、オンラインで直接前処理を実施し、ダイレクトに測定できることが望まれる。そこで、本研究において、カラムスイッチング-LC/MS法を応用することとした。ヒト尿中の NP 及び OP の分析では、良好な結果を得ることができた。本方法を用いて、難揮発性の内分泌かく乱化学物質の一斉分析を実施する。本研究では、液-液分配の理論を応用した Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE)法を利用して、簡単な操作で、高感度、広範囲の化合物を分析することを目指し、基礎的検討を実施した。

実試料の測定として、ヒト血液中の NP 及び OP の添加回収実験を実施し、いずれも良好な結果を得ることができた。また、本方法を利用して、採血用器具【ベノジェクトII採血針 S(21G)、ベノジェクトIIホルダーS、ベノジェクトII真空採血管(VP-P100)】について、血液検体保存を行い、汚染状況の確認を実施した。その結果、BHT の汚染が確認された。

24. ヒト生体試料からの内分泌かく乱化学物質の微量分析法の確立

15 名の妊婦についてペアで採血された母体血と臍帯血について分析した結果、PFOS との相関性を検討したところ、 $r^2=0.8759$ となった。その他、新生児の性別、体重、甲状腺機能などとの関連性は見出せなかった。

本分析法を母体血 207 検体の分析に応用した。有機フッ素系化合物 5 種類を測定した。母体血より、PFOS 及び PFOA が高頻度で検出された。それぞれの化合物の検出率は、100%(PFOS)、88%(PFOA)であり、検出された濃度範囲は 2.8～16.2ppb(PFOS)、N.D～4.8ppb(PFOA)であった。

25. 妊婦（200 人）の血中 PCDDs、PCDFs、ノンオルソ Co-PCBs およびモノオルソ Co-PCBs 濃度（2003-2004 年）

分析された 200 名の中 1 名で OCDF が 2854pg/g lipid という極端な高濃度を示した。異常値を除いた妊婦 199 名の内訳は初産婦 96 名、経産婦 103 名で両者はほぼ同数であった。平均年齢は、それぞれ、29.5 歳及び 32.3 歳で、経産婦の方が 2.8 歳高かった。血中脂質含量は、両者とも 0.36%であった。血中ダイオキシン類濃度を TEQ 値で見ると、初産婦の PCDDs、PCDFs、ノンオルソ-Co-PCBs モノオル Co-PCBs および Total TEQ 平均値は、それぞれ、8.37、4.53、7.31 および 20.2 pg-TEQ/g lipid であり、一方、経産婦では 7.24、3.82、4.46 および 17.5pg-TEQ/g lipid であった。

D. 考 察

平成 17 年 1 月までに、北海道の産科病院のうち 40 病院の協力が得られ、参加妊婦人数は、累計 6508 人である。新生児個票の戻った 1923 人中、先天性心疾患 11 人、水頭症、停留精巣、多指症各 3 人、口蓋裂、水腎症、多趾症、ダウン症候群、臍帯ヘルニア各 2 人、口唇口蓋裂、尿道下裂、合指症、合趾症、少頭症、小腸閉鎖各 1 名であった（延べ人数）。今度末までに約 7000 人の妊婦の参加が見込まれ、出産を終えた時点で、停留精巣は 49 人（日本のデータがないので韓国の発生率 0.7%で計算）、尿道下裂は 2.5 人（日本の尿道下裂発生率 3.5 人/1 万人出生で計算・日本産婦人科医会より）、の発生が予想される。

近年、各国の疫学調査において、葉酸の服用により、二分脊椎を始め、様々な奇形のリスクを低減させることが報告されている。日本でも、厚生労働省が、妊娠可能な女性における葉酸の十分量の摂取を勧めており、また、栄養補助剤（サプリメント）が、コンビニエンスストアで販売されるなどの入手のやすさが最近の特徴である。本研究では栄養補助剤を服用している妊婦が 2 割を占

めた。葉酸については、妊娠がわかってからの服用者が多いことから、厚生労働省が推奨する、葉酸摂取の時期は妊娠前 1 か月から妊娠 3 か月であることが、未だ、周知されていない可能性がうかがわれた。

今回対象となった妊婦の血清葉酸値は、 7.3 ± 2.6 ng/ml であった。欧米と比較して神経管欠損症の発症率が低い本邦では、今まで葉酸は十分に摂取されていたと考えられていたためか、妊婦はもとより、成人女性を対象とした血清葉酸値についての分析報告は少ない。近藤らが、愛知県の妊婦 222 人を対象とした血漿葉酸値を測定したが、平均値は 8.1 ng/ml であり、大きな差はみられなかった。基準値である 3.6～12.9 ng/ml の中にほとんどの妊婦が分布しているが、基準値の幅が広く、またこの下限値未満の葉酸値を示す妊婦は、約 2% ほどであった。出生時体重との関連を検討するために、葉酸値を 4 分位にわけて解析をおこなったところ、葉酸値が 5.7 ng/ml 以下である場合に、出生時体重との間に負の有意な関連がみられた。Alayne らは、葉酸値と出生時体重との関連について、有意な関連がなかったことを報告している。異なった結果となった理由は、解析対象者の血清葉酸値の計測時期が異なることにも関連していると考えられる。本研究では、妊娠初期の血清葉酸値を計測しているが、先行研究では、研究対象となる妊婦の妊娠する前の血清葉酸値を計測している。また Scholl らは、妊娠中の葉酸経口摂取量が、 $240 \mu\text{g}/\text{d}$ 未満であると低出生体重になるリスクが上昇すると報告している。

また葉酸経口摂取量と血清葉酸値は、有意な相関があることが報告されている。したがって今回の結果は、妊娠前よりも妊娠中の葉酸値が低値になると、出生時体重に影響を及ぼす可能性があり、妊娠中における葉酸摂取の必要性が示唆された。

初産婦と経産婦の血中ダイオキシン類濃度（TEQ-pg/g lipid 表示）を比較すると、初産婦の方が経産婦よりわずかに高値を示した。また、初産婦と経産婦血中ダイオキシン類濃度にしめる PCDDs、PCDFs、ノンオルソ Co-PCBs および

モノオルソ Co-PCBs の割合は、初産婦で 42%、22%、24% および 12%、経産婦で 41%、22%、24% および 13% と、両者はほとんど同じであった。このことから出産に伴い母体中に蓄積されていたダイオキシン類が排出または児へ移行したと考えられる。また、ダイオキシン類の排出または児へ移行は PCDDs、PCDFs、ノンオルソ Co-PCBs およびモノオルソ Co-PCBs のそれぞれで大きな差はないと考えられる。

過去に、福岡県内に居住する 50 名の未婚女性の血中ダイオキシン類濃度を測定した（平均年齢 20.2 歳：採取時期、1993 年 6 月から 1994 年 6 月：モノオルソ Co-PCB は測定せず）血中ダイオキシン類濃度（モノオルソ Co-PCBs を除く）は 24.1 pg-TEQ/g lipid であった。一方、北海道の初産婦のモノオルソ Co-PCB を除いた血中ダイオキシン類濃度は 17.7 pg-TEQ/g lipid である。初産婦（北海道）の方が青年女子（福岡）より平均年齢が 9.3 歳高いにもかかわらず、血中濃度は逆に青年女子の方が 1.4 倍高い結果であった。ダイオキシン類の環境への排出はこの間、1/10 以下に抑制されており、その効果が示唆される。両集団の血中 PCDDs、PCDFs およびノンオルソ Co-PCBs 濃度を比較すると、PCDDs 及び PCDFs 濃度は北海道の初産婦の方が低い、ノンオルソ Co-PCBs 濃度はほとんど同じであることが明らかになった。これは、削減努力を行った PCDDs 及び PCDFs の人体中濃度が相対的に減少し、削減対策が困難であった PCBs については変化しなかったと推測される。

E. 結 論

平成 15 年 2 月から平成 17 年 1 月までの本研究への参加妊婦数は、累計 6508 人であった。このうち平成 15 年 11 月までに本調査に同意のうえ参加され、出産を終えた妊婦 532 人を対象として、妊娠 13 週未満の血清を用いて葉酸値の測定を行ったところ、平均 7.3 ± 2.6 ng/ml であった。葉酸値が 5.7 ng/ml 以下であると出生時体重との間に負の関連がみられた。

北海道で採取された初産婦 96 名及び経産婦 103 名の血中ダイオキシン類濃度の平均は、それぞれ、20.21 pg-TEQ/g lipid 及び 17.52 pg-TEQ/g lipid であった。今後の継続的な調査が必要である。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1) 論文発表

1. 岸玲子, 佐田文宏: 内分泌かく乱物質による先天異常と不妊・不育症に関する疫学的研究. 食品衛生研究 2002; 62: 44-54.
2. Yamada H, Furuta I, Kato EH, Kataoka S, Usuki Y, Kobashi G, Sata F, Kishi R, and Fujimoto S: Maternal serum and amniotic fluid Bisphenol A concentrations in the early second trimester, *Reprod Toxicol* 2002; 16(6): 735-739.
3. 森川 守, 山田秀人, 平山恵美, 小林範子, 渡利道子, 片岡宙門, 長 和俊, 奥山和彦, 水上尚典, 藤本征一郎: 胎児消化管閉塞 29 例の臨床的特徴. *周産期医学* 32: 825-830, 2002
4. 山田秀人, 藤本征一郎: 性分化異常総論 A. 早期診断と取り扱い, 121 頁-130 頁 (武谷雄二ら編: 新女性医学大系 第17巻 性の分化とその異常, 中山書店, 東京) 2002
5. Sakamoto KQ, Kunisue T, Watanabe M, Masuda Y, Iwata H, Tanabe S, Akahori F, Ishizuka M, Kazusaka A, Fujita S. Accumulation patterns of polychlorinated biphenyl congeners and organochlorine pesticides in Steller's sea eagles and white-tailed sea eagles, threatened species, in Hokkaido, Japan. *Environ Toxicol Chem* 2002; 21(4):842-847.
6. Chiba I, Sakakibara A, Iwata TH, Ishizuka M, Tanabe S, Akahori F, Kazusaka A, Fujita S. Hepatic microsomal cytochrome p450s and chlorinated hydrocarbons in largha and ribbon seals from Hokkaido, Japan: differential response of seal species to Ah receptor agonist exposure. *Environ Toxicol Chem* 21:794-806, 2002.
7. 岸 玲子 「前向きコホート研究による先天異常モニタリング、特に尿道下裂、停留精巣のリスク要因と内分泌かく乱物質に対する感受性の解明」を開始して 北産婦医学会報 2003;112: 76-78
8. Sata F, Yamada H, Kondo T, Gong Y, Tozaki S, Kobashi G, Kato EH, Fujimoto S, Kishi R: Glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms and the risk of recurrent pregnancy loss. *Mol Hum Reprod* 2003; 9(3): 165-169.
9. Sata F, Yamada H, Yamada A, Kato EH, Kataoka S, Saijo Y, Kondo T, Tamaki J, Minakami H, Kishi R. A polymorphism in the CYP17 gene relates to the risk of recurrent pregnancy loss. *Mol Hum Reprod* 2003; 9(11):725-728.
10. Yamada H, Kato EH, Morikawa M, Shimada S, Saito H, Watari M, Minakami H, Nishihira J: Decreased serum levels of macrophage migration inhibitory factor in spontaneous abortions with normal chromosome karyotype. *Hum Reprod* 2003; 18(3): 616-620.
11. Yamada H, Morikawa M, Furuta I, Kato EH, Shimada S, Iwabuchi K, Minakami H. Intravenous immunoglobulin treatment in women with recurrent abortions: Increased cytokine levels and reduced Th1/Th2 lymphocyte

- ratio in peripheral blood. *Am J Reprod Immunol* 2003; 49(2):84-89.
12. Yamada H, Morikawa M, Kato EH, Shimada S, Kobashi G, Minakami H: Preconceptional natural-killer-cell activity and percentage as predictors of biochemical pregnancy and spontaneous abortion with normal chromosome karyotype. *Am J Reprod Immunol* 2003; 50(4): 351-354.
 13. Yamada H, Atsumi T, Kato EH, Shimada S, Morikawa M, Minakami H: Prevalence of diverse anti-phospholipid antibodies in women with recurrent abortion. *Fertil Steril* 2003; 80(5): 1276-1278.
 14. Yamada H, Kato EH, Morikawa M, Shimada S, Ebina Y, Sakuragi N, Suzuki S, Minakami H: Anti-cardiolipin β 2-glycoprotein I antibody: Is a high titer related to pregnancy complication? *Semin Thromb Hemost* 2003; 29(6): 639-644.
 15. Morikawa M, Yamada H, Okuyama K, Kato EH, Watari M, Kataoka S, Cho K, Minakami H. Prenatal diagnosis and fetal therapy of congenital cystic adenomatoid malformation of the lung: a report of five cases. *Congenital Anomalies*. 2003; 43(1):72-78.
 16. Morikawa M, Yamada H, Kato EH, Shimada S, Sakuragi N, Fujimoto S, Minakami H. Live birth rate varies with gestational history and etiology in women experiencing recurrent spontaneous abortion. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2003; 109(1):21-26.
 17. Shimada S, Iwabuchi K, Watano K, Shimizu H, Yamada H, Minakami H, Onoe K: Expression of allograft inflammatory factor-1 in mouse uterus and poly (I:C)-induced fetal resorption. *Am J Reprod Immunol* 2003; 50(1): 104-112.
 18. Shimada S, Iwabuchi K, Kato EH, Morikawa M, Sakuragi N, Onoe K, Minakami H, Yamada H. No difference in natural-killer-T cell population, but Th2/Tc2 predominance in peripheral blood of recurrent aborters. *Am J Reprod Immunol* 2003; 50(4):334-339.
 19. Ohta K, Kobashi G, Hata A, Yamada H, Minakami H, Fujimoto S, Kondo K, Tamashiro H: Association between a variant of the glutathion S-transferase P1 (GSTP1) gene and hypertension in pregnancy in Japanese: Interaction with parity, age and genetic factors. *Semin Thromb Hemost* 2003; 29(6): 653-660.
 20. Miyamoto T, Hasuike S, Yogev L, Maduro MR, Ishikawa M, Westphal H, Lamb DJ. Azoospermia in patients heterozygous for a mutation in SYCP3. *Lancet* 2003; 362(9397): 1714-1719.
 21. Ishizuka M, Yonemoto J, Zaha H, Tohyama C, Sone H. Perinatal exposure to low doses of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin alters sex-dependent expression of hepatic CYP2C11. *J Biochem Mol Toxicol* 2003; 17(5): 278-285.
 22. Kim HS, Saito K, Ishizuka M, Kazusaka A, Fujita S. Short period exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate regulates testosterone metabolism in testis of prepubertal rats. *Arch Toxicol*. 2003; 77(8): 446-451.
 23. Sakamoto QK, Naki K, Aoto T,

- Yokoyama A, Ushikoshi R, Hirose H, Ishizuka M, Kazusaka A, Fujita S. Cytochrome P450 induction and gonadal status alteration in common carp (*Cyprinus carpio*) associated with the discharge of dioxin contaminated effluent to the Hikiji River, Kanagawa Prefecture, Japan. *Chemosphere* 2003; 51(6): 491-500.
24. Hoshino H, Fujita S, Goto Y, Isono T, Ishinazaka T, Sakurai Y. Organochlorine compound accumulation in Steller sea lion *Eumetopias jubatus* migrating along the coast of Hokkaido in northern Japan. *Jpn J Toxicol* 2003; 6(1): 1-10.
25. Kurahashi N, Murakumo M, Kakizaki H, Nonomura K, Koyanagi T, Kasai S, Sata F, Kishi R. The estimated incidence of hypospadias in Hokkaido, Japan. *J Epidemiol* 2004; 14(3): 73-77.
26. Saijo Y, Sata F, Yamada H, Kondo T, Kato EH, Kataoka S, Furuta I, Minakami H, Kishi R: Single nucleotide polymorphisms in the promoter region of the interleukin-6 gene and the risk of recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 2004; 81(2):374-378.
27. Saijo Y, Sata F, Yamada H, Kondo T, Kato EH, Kataoka S, Shimada S, Morikawa M, Minakami H, Kishi R. Interleukin-4 gene polymorphism is not involved in the risk of recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol* 2004; 52(2): 143-146.
28. Saijo Y, Sata F, Yamada H, Suzuki K, Sasaki S, Kondo T, Gong YY, Kato EH, Shimada S, Morikawa M, Minakami H, Kishi R. Ah receptor, CYP1A1, CYP1A2 and CYP1B1 gene polymorphisms are not involved in the risk of recurrent pregnancy loss. *Mol Hum Reprod* 2004; 10(10): 729-733.
29. Yamada H, Sata F, Kato EH, Saijo Y, Kataoka S, Morikawa M, Shimada S, Yamada T, Kishi R, Minakami H. A polymorphism in the CYP17 gene and intrauterine fetal growth restriction. *Mol Hum Reprod* 2004; 10(1):49-53.
30. Yamada H, Morikawa M, Furuta I, Kato EH, Shimada S, Sata F, Kishi R, Minakami H: Circulating cytokines during early pregnancy in women with recurrent spontaneous abortion. *Hokkaido Igaku Zasshi* 2004; 79(3):237-241.
31. Yamada H, Shimada S, Kato EH, Morikawa M, Iwabuchi K, Kishi R, Onoe K, Minakami H: Decrease in a specific killer cell immunoglobulin-like receptor on peripheral natural killer cells in women with recurrent spontaneous abortion of unexplained etiology. *Am J Reprod Immunol* 2004; 51(3):241-247.
32. Morikawa M, Yamada H, Kato EH, Shimada S, Yamada T, Minakami H. Embryo loss pattern is predominant in miscarriages with normal chromosome karyotype among women with repeated miscarriage. *Hum Reprod* 2004; 19(11): 2644-2647.
33. Shimada S, Kato EH, Morikawa M, Iwabuchi K, Nishida R, Kishi R, Onoe K, Minakami H, Yamada H: No difference in natural-killer or natural-killer-T cell population, but aberrant T helper population in the endometrium of women with repeated miscarriage. *Hum Reprod* 2004; 19(4): 1018-1024.

34. Kataoka S, Sawai H, Yamada H, Kanazawa N, Koyama K, Nishimura G, Morikawa M, Sakuragi N, Minakami H: Radiographic and genetic diagnosis of sporadic hypochondroplasia early in the neonatal period. *Prenatal Diag* 2004; 24(1): 45-49.
35. Kobashi G, Hata A, Ohta K, Yamada H, Kato EH, Minakami H, Fujimoto S, Kondo K: A1166C variant of angiotensin II type 1 receptor gene is associated with severe hypertension in pregnancy independently of T235 variant of angiotensinogen gene. *J Hum Genet* 2004; 49(4): 182-186.
36. 山田秀人, 森川 守, 島田茂樹: 免疫グロブリン大量療法, 今日の生殖医療, 産婦人科治療, 増刊号 2004; 88(3): 101-104.
37. Sasaki Y, Miyamoto T, Sengoku K, Hayashi H, Takuma N, Ishikawa M. The human transcript induced in spermatogenesis 50. *Reprod Med Biol* 2004; 3(4): 237-243.
38. 野々村克也, 柿崎秀宏, 柴田 隆, 守屋仁彦. 混合型生殖腺形成異常症. *日本臨床* 2004; 62(2): 313.
39. Saito K, Kim HS, Sakai N, Ishizuka M, Kazusaka A, Fujita S. Polymorphism in diazepam metabolism in Wistar rats. *J Pharm Sci.* 2004; 93(5): 1271-1278.
40. Saito K, Sakai N, Kim HS, Ishizuka M, Kazusaka A, Fujita S. Strain differences in diazepam metabolism at its three metabolic sites in sprague-dawley, brown norway, dark agouti, and wistar strain rats. *Drug Metab Dispos* 2004; 32(9):959-965.
41. Sakamoto KQ, Ishizuka M, Kazusaka A, Fujita S. Iodine intake as a possible cause of discontinuous decline in sperm counts: a re-evaluation of historical and geographic variation in semen quality. *Jpn J Vet Res.* 2004; 52(2): 85-94.
42. Shaban Z, El-Shazly S, Abdelhady S, Fattouh I, Muzandu K, Ishizuka M, Kimura K, Kazusaka A, Fujita S. Down regulation of hepatic PPARalpha function by AhR ligand. *J Vet Med Sci* 2004; 66(11):1377-1386.
43. Shaban Z, El-Shazly S, Ishizuka M, Kimura K, Kazusaka A, Fujita S. PPARalpha-dependent modulation of hepatic CYP1A by clofibric acid in rats. *Arch Toxicol* 2004; 78(9): 496-507.
44. Kim HS, Ishizuka M, Kazusaka A, Fujita S. Alterations of activities of cytosolic phospholipase A2 and arachidonic acid-metabolizing enzymes in di-(2-ethylhexyl)phthalate-induced testicular atrophy. *J Vet Med Sci* 2004; 66(9): 1119-1124.
45. Inoue K, Okada F, Ito R, Kawaguchi M, Okanouchi N, Nakazawa H. Determination of perfluorooctane sulfonate, perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonylamide in human plasma by column-switching liquid chromatography - electrospray mass spectrometry coupled with solid phase extraction. *J Chromatogr B,* 2004; 810(1): 49-56.
46. Inoue K, Okada F, Ito R, Kato S, Sasaki S, Nakajima S, Uno A, Saijo Y, Sata F, Yoshimura Y, Kishi R, Nakazawa H. Perfluorooctane sulfonate (PFOS) and related perfluorinated compounds in human maternal and cord blood samples: assessment of PFOS exposure in a susceptible population during pregnancy. *Environ Health Perspect*

- 2004; 112(11): 1204-1207.
47. Kurahashi N, Sata F, Kasai S, Shibata T, Moriya K, Yamada H, Kakizaki H, Minakami H, Nonomura K, Kishi R. Maternal genetic polymorphisms in CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 and the risk of hypospadias. *Mol Hum Reprod* 2005; 11(2): 93-98.
48. Shaban Z, Soliman M, El-shazly S, El-bohi K, Abdelazeez A, Kehelo K, Kim H, Muzandu K, Ishizuka M, Kazusaka A, Fujita S. AhR and PPAR α Antagonistic effects on CYP2B and CYP3A and additive inhibitory effects on CYP2C11. *Xenobiotica* 2005;35(1):51-68.
49. Nikaidou S, Ishizuka M, Maeda Y, Hara T, Kazusaka A, Fujita S. Effect of components of green tea extracts, caffeine and catechins on hepatic drug metabolizing enzyme activities and mutagenic transformation of carcinogens. *J Vet Med Sci* 2005;67(1):137-138.
50. 岸 玲子, 佐田文宏, 西條泰明. 内分泌かく乱物質によるヒトへの影響—疫学研究の現状と課題. 保健医療科学, 印刷中.
51. Kurahashi N, Kasai S, Shibata T, Kakizaki H, Nonomura K, Sata F, Kishi R. Parental and neonatal risk factors for cryptorchidism. *Med Sci Monit*, in press.
52. Sata F, Yamada H, Suzuki K, Saijo Y, Kato EH, Morikawa M, Minakami H, Kishi R. Caffeine intake, CYP1A2 polymorphism and the risk of recurrent pregnancy loss. *Mol Hum Reprod*, in press.
53. Yamada H, Sata F, Saijo Y, Kishi R, Minakami H: Genetic factors of fetal growth restriction and miscarriage. *Semin Thromb Hemost*, in press.
54. Muzandu K, Shaban Z, Ishizuka M, Kazusaka A, Fujita S. Possible involvement of peroxynitrite in estrogen-induced oxidative stress. *Free Radic Res*, in press.
55. 森川 守, 山田秀人, 平山恵美, 片岡宙門, 島田茂樹, 渡利道子, 山田 俊, 長 和俊, 森本裕二, 水上尚典. 脊髄損傷合併妊娠の 1 例. 周産期医学, 印刷中.
56. 森川 守, 山田秀人, 山田 俊, 平山恵美, 島田茂樹, 片岡宙門, 長 和俊, 水上尚典. 胎児尿膜管遺残の 1 例. 周産期医学, 印刷中.
- 2) 学会発表
1. Sata F, Yamada H, Kondo T, Gong YY, Kobashi G, Kato EH, Fujimoto S, Kishi R. Polymorphisms in xenobiotic-metabolizing enzymes and risk of recurrent spontaneous abortion. XVI IEA World Congress of Epidemiology, Montreal, August 18-22, 2002.
2. Sata F, Kondo T, Gong YY, Saijo Y, Sasaki S, Yamagishi H, Tsuge M, Nagase S, Kato EH, Mikuni M, Yamada H, Fujimoto S, Kishi R. Genetic Polymorphisms and human female reproductive toxicity. 14th International Symposium on Microsomes and Drug Oxidations, Sapporo, July 22-26, 2002.
3. 笠井世津子, 倉橋典絵, 佐田文宏, 村雲雅志, 柿崎秀宏, 野々村克也, 小柳知彦. 尿道下裂の症例対照研究. 第 11 回日本臨床環境医学会総会, 札幌, 2002 年 7 月 5 日.
4. 山田秀人. クリニカル Update—不育症をどう扱う—. ガンマグロブリン大量療法と NK 細胞. 第 54 回日本産科婦人科学会, 生涯研

- 修プログラム, 東京, 2002 年 4 月 6-9 日.
5. 山田秀人. 不育症—その病態解明と治療へのアプローチ. 第 50 回北日本連合地方部会, 特別講演, 富山, 2002 年 9 月 20-21 日.
 6. 第 133 回日本獣医学会: ① 妊馬ホルモン・Equilenin による異物代謝酵素の誘導, ② マウス海馬におけるビスフェノール A 投与の影響 (2002 年春)
 7. 北海道薬物作用談話会: 雌性ホルモンが Ah レセプター介在性・非介在性 CYP1A サブファミリー発現機構に及ぼす影響
 8. 環境ホルモン学会第 5 回研究発表会 Short Period Exposure of Di-(2-ethylhexyl) Phthalate Regulates Testosterone Metabolism in Testis of Prepubertal Rats
 9. 野生動物と交通:ウグイを用いた小樽, 石狩, 美国港周辺の環境汚染の評価
 10. 14th International symposium on microsomes and drug oxidations, Di-(2-ethylhexyl) Phthalate (DEHP) Regulates levels of P450 and their metabolic activities in rat testis microsomes
 11. 第 135 回日本獣医学会 : ①マウス肝における CYP1A2 誘導に伴うウロポルフィリン生成の制御機構—鉄による効果—, ②ウグイを用いた小樽, 石狩, 美国港周辺の環境汚染の評価, ③ Down-regulations of expressions of PPAR-alpha and AhR target genes by AhR and PPAR-alpha ligands, respectively
 12. 笠井世津子, 倉橋典絵, 佐田文宏, 岸 玲子, 村雲雅志, 柿崎秀宏, 野々村克也, 小柳 知彦. 尿道下裂のリスク要因に関する症例対照研究. 第 13 回日本疫学会, 福岡. 2003 年 1 月 24-25 日.
 13. 西條泰明, 佐田文宏, 山田秀人, 近藤朋子, 平山恵美, 古田伊都子, 片岡宙門, 水上尚典, 岸 玲子. インターロイキン - 6 遺伝子多型と不育症. 第 13 回日本疫学会, 福岡, 2003 年 1 月 24-25 日.
 14. 佐田文宏, 山田秀人, 山田彩子, 平山恵美, 片岡宙門, 西條泰明, 近藤朋子, 玉置淳子, 水上尚典, 岸 玲子. CYP17 遺伝子多型と不育症リスク. 第 73 回日本衛生学会, 大分, 2003 年 3 月 26-29 日.
 15. 笠井世津子, 倉橋典絵, 佐田文宏, 岸玲子, 山田彩子, 村雲雅志, 柿崎秀宏, 野々村克也, 小柳知彦. 尿道下裂患者の CYP17 遺伝子多型. 第 73 回日本衛生学会, 大分, 2003 年 3 月 26-29 日.
 16. Sata F, Yamada H, Yamada A, Kato EH, Kataoka S, Saijo Y, Kondo T, Minakami H, and Kishi R. A polymorphism in the CYP17 gene relates to the risk of recurrent pregnancy loss. 15th Conference of the International Society for Environmental Epidemiology, Perth, September 23-26, 2003.
 17. 山田秀人. 自己免疫疾患合併妊娠の管理. 北海道産婦人科医学会学術研修会, 学術研修講演, 札幌, 2003 年 6 月 14 日.
 18. 山田秀人, 佐田文宏, 西條泰明, 平山恵美, 島田茂樹, 森川 守, 岸玲子, 水上尚典. 習慣流産と遺伝子多型: GSTM1, IL-6, CYP17. 第 18 回日本生殖免疫学会, 山口, 2003 年 11 月 28 日.
 19. Yamada H, Sata F, Kato EH, Saijo Y, Kataoka S, Morikawa M, Shimada S, Kishi R, Minakami H. A polymorphism in the CYP17 gene and fetal growth restriction. 6th World Congress of Perinatal Medicine, Osaka, September 13-16, 2003.
 20. Hayashi T, Endo T, Yamazaki K, Kitajima T, Hayashi T, Kudo R. The expression of *klotho* gene and protein in the placenta of preeclampsia.

- Placenta 2003, 24: A. 42.
21. 林 卓宏、北島義盛、山崎清大、遠藤俊明、工藤隆一:妊娠中毒症胎盤における老化抑制遺伝子(klotho gene)の発現について、第 55 回日本産婦人科学会、福岡、2003 年 4 月 12～15 日。
 22. 石川睦男他. ヒト SYCP3 遺伝子の単離およびその機能解析. 第 55 回日本産婦人科学会、福岡、2003 年 4 月 12-15 日。
 23. Nakano et al. マウス肝における CYP1A2 誘導に伴うウロポルフィリン生成の制御機構—鉄による効果—, 第 135 回日本獣医学会 (2003 年春)
 24. Saji et al. ウグイを用いた小樽、石狩、美国港周辺の環境汚染の評価, 第 135 回日本獣医学会 (2003 年春)
 25. Ibrahim et al. Down-regulations of expressions of PPAR-alpha and AhR target genes by AhR and PPAR-alpha ligands, respectively, 第 135 回日本獣医学会 (2003 年春)
 26. Nakano et al. マウス肝における CYP1A2 誘導に伴うウロポルフィリン生成の制御機構—鉄による効果—. 第 30 回日本トキシコロジー学会
 27. Sasaki et al. 抗菌剤フラゾリドンとその代謝物が肝薬物代謝酵素系に与える影響. 第 30 回日本トキシコロジー学会
 28. Tsunada J, Ishizuka M, Kazusaka A, Fujita S. Transient neonatal exposure of brain to testosterone surge initiates amplification of testosterone production in astrocytes. 環境ホルモン学会第 6 回研究発表会
 29. Saji N, Ishizuka M, Kazusaka A, Fujita S. Biomonitoring of the Harbor Seawater Environment in Hokkaido Coast with Induced Hepatic Cytochrome P450 of Minnow. 環境ホルモン学会第 6 回研究発表会
 30. Hoshino H, Fujita S, Goto Y, Isono T, Ishinazaka T, Burkanov VN, Sakurai Y. Organochlorine pollutions in Steller SeaLions Eumetopias Jubatus living in the far eastern waters. Annual Meeting of Society of Environmental Toxicology and Chemistry in New Zealand
 31. Kim HS, Ishizuka M, Kazusaka A, Fujita S. Short period exposure of di-(2-ethylhexyl) phthalate regulates testosterone and arachidonic acid metabolisms in testis of prepubertal rats. Annual Meeting of Society of Environmental Toxicology and Chemistry in New Zealand
 32. 佐治尚介, 石塚真由美, 数坂昭夫, 藤田正一. ウグイを用いた小樽、石狩、美国港周辺の環境汚染の評価. バイオアッセイ研究会・環境毒性学会
 33. 星野広志, 藤田正一, 後藤陽子, 磯野岳臣, 石名坂豪, Vladimir N. Burkanov, 桜井泰憲. Organochlorine pollutions in Steller SeaLions Eumetopias Jubatus living in the far eastern waters (極東海域に棲息するトドにおける有機塩素系化合物汚染). バイオアッセイ研究会・環境毒性学会
 34. Kim HS, Ishizuka M, Kazusaka A, Fujita S. Short period exposure of di-(2-ethylhexyl) phthalate regulates testosterone and arachidonic acid metabolisms in testis of prepubertal rats. バイオアッセイ研究会・環境毒性学会
 35. 岡田文雄, 伊藤里恵, 井之上浩一, 吉村吉博, 中澤裕之. カラムスイッチング-LC/MS を用いたヒト血液中有機フッ素系化合物の分析. フォーラム 2003: 衛生薬学・環境トキシコロジー, 仙台, 2003 年 10 月 23, 24 日。

36. 岡田文雄, 伊藤里恵, 井之上浩一, 中澤裕之. 有機フッ素系化合物のヒトへの暴露状況—オンライン前処理-LC/MS法を用いた血液試料の分析法開発. 第6回環境ホルモン学会, 仙台, 2003年12月2, 3日.
37. 井之上浩一, 花岡知之, 岡田文雄, 伊藤里恵, 小林実夏, 月野浩昌, 津金昌一郎, 中澤裕之. 有機フッ素系化合物のヒトへの暴露状況—日本人の地域・食事摂取と血液濃度の分析. 第6回環境ホルモン学会, 仙台, 2003年12月2, 3日.
38. 伊藤里恵, 井之上浩一, 野澤資亜利, 岡田文雄, 吉池美紀, 岩本晃明, 中澤裕之. 有機フッ素系化合物のヒトへの曝露状況—健康男性における血液及び精漿中濃度. 第6回環境ホルモン学会, 仙台, 2003年12月2, 3日.
39. 倉橋典絵, 笠井世津子, 柴田隆, 柿崎秀宏, 野々村克也, 佐田文宏, 岸玲子. 停留精巣のリスク要因に関する症例対照研究. 第14回日本疫学会, 山形, 2004年1月22-23日.
40. 倉橋典絵, 西條泰明, 佐田文宏. 内分泌かく乱物質と尿道下裂・停留精巣など泌尿生殖系先天異常に関する疫学研究. 第74回日本衛生学会総会(ミニシンポジウムI:「内分泌かく乱物質の人への影響…我が国における疫学研究の成果と今後の課題」), 東京, 2004年3月24-27日.
41. 森岡三果, 倉橋典絵, 頁英彦, 西條泰明, 佐田文宏, 水上尚典, 櫻木範明, 工藤隆一, 石川睦男, 岸玲子. 妊婦の葉酸値と先天異常及び出生時体重との関連. 第74回日本衛生学会総会, 東京, 2004年3月24-27日.
42. 倉橋典絵, 笠井世津子, 柴田隆, 柿崎秀宏, 野々村克也, 小柳知彦, 辻克和, 黒川泰史, 佐田文宏, 岸玲子. 停留精巣と異物代謝酵素の遺伝子多型. 第74回日本衛生学会総会, 東京, 2004年3月24-27日.
43. 佐田文宏, 鈴木佳奈, 近藤朋子, 西條泰明, 平山恵美, 山田秀人, 水上尚典, 岸玲子. フェイン摂取, CYP1A2 遺伝子多型と不育症リスク. 第74回日本衛生学会総会, 東京, 2004年3月24-27日.
44. 笠井世津子, 佐田文宏, 倉橋典絵, 川口真未, 村雲雅志, 柴田隆, 柿崎秀宏, 野々村克也, 小柳知彦, 岸玲子. ステロイド代謝酵素遺伝子多型と尿道下裂リスク. 第74回日本衛生学会総会, 東京, 2004年3月24-27日.
45. 佐田文宏, 森岡三果, 倉橋典絵, 鈴木佳奈, 西條泰明, 山田秀人, 水上尚典, 櫻木範明, 遠藤俊明, 石川睦男, 兼元敏隆, 岸玲子. 妊婦の葉酸値と喫煙等の関連〜「環境と子供の健康に関するモニタリング調査」報告(1). 第52回日本産科婦人科学会北日本連合地方部会総会・第82回北海道産科婦人科学会総会, 札幌, 2004年9月10-11日.
46. Yamada H, Shimada S, Morikawa M, Kato EH, Nishida R, Minakami H. Decrease in a specific killer cell immunoglobulin-like receptor on natural killer cells in the decidua of spontaneous abortion with normal chromosome karyotype. 9th International Congress of Reproductive Immunology, Hakone, October 12-15, 2004.
47. 山田秀人. 不育症における免疫学的異常と遺伝学的素因. 第7回阪神不妊治療懇話会(特別講演), 尼崎, 2004年9月16日.
48. 山田秀人, 敦賀律子, 平山恵美, 古田伊都子, 小橋元, 渥美達也, 小池隆夫, 松浦栄治, 水上尚典. 抗リン脂質抗体と妊娠中毒症との関連. 第25回日本妊娠中毒症学会(ワークショップ), 東京, 2004年9月24-25日.
49. 山田秀人, 平山恵美, 島田茂樹, 森川守, 櫻木範明, 佐田文宏, 岸玲子, 水上尚典. 習慣流産の遺伝学的素因: GSTM1, CYP17, IL-6. 第56回日本産科婦人科学会, 東京, 2004年4月10-13日.
50. Yamada H, Kato EH, Morikawa M,

- Shimada S, Nishihira J, Minakami H: Decreased serum levels of macrophage migration inhibitory factor in miscarriages with normal chromosome karyotype. 第 19 回日本生殖免疫学会, 箱根, 2004 年 10 月 11-12 日.
51. 宮本敏伸, 田熊直之, 佐々木禎仁, 石川睦男. ヒト精子特異的遺伝子である TISP50, TISP15, TISP43 についての解析. 第 52 回北日本産科婦人科学会, 札幌, 2004 年 9 月 10-11 日.
52. 守屋仁彦, 古野剛史, 柿崎秀宏, 野々村克也: 尿道下裂症例の生殖予後. 第 49 回日本不妊学会および第 22 回日本受精着床学会, 旭川, 2004 年 9 月 2-4 日.
53. Shaban Z, El-Shazly S, 石塚真由美, 数坂昭夫, 藤田正一. Ah 受容体リガンドによる PPAR α 機能の抑制. 内分泌攪乱化学物質学会第 7 回研究発表会, 名古屋, 2004 年 12 月 14 日.
54. 石塚真由美, 高菅卓三, 谷川力, 数坂昭夫, 藤田正一. 野生ドブネズミに蓄積する環境汚染物質と生体影響の genomics 解析. 内分泌攪乱化学物質学会第 7 回研究発表会, 名古屋, 2004 年 12 月 14 日.
55. 藤田正一, 石塚真由美, 高菅卓三, 谷川力, 千葉一成, 佐治尚介, 坂本健太郎, 数坂昭夫. 日本の野生生物における内分泌攪乱と環境汚染. 内分泌攪乱化学物質学会第 7 回研究発表会, 名古屋市, 2004 年 12 月 14 日.
56. Muzandu KM, Ishizuka M, Kazusaka A, Fujita S. Possible involvement of peroxynitrite in estrogen-induced oxidative stress and protective role of carotenoids. 10th International Congress of Toxicology, Tampere, Finland, July 11-15, 2004.
57. Kim HS, Ishizuka M, Kazusaka A, Fujita S. Di-(2-ethylhexyl) phthalate suppresses tamoxifen-induced apoptosis in pituitary GH3 cells. 10th International Congress of Toxicology, Tampere, Finland, July 11-15, 2004.
58. Ishizuka M, Takasuga T, Tanikwa T, Fujita S. Suppression of testosterone syntheses in testes of wild Norway rats in Japan: accumulation of persistent organochlorine pollutions and polybrominated diphenyl ether and their effect. 10th International Congress of Toxicology, Tampere, Finland, July 11-15, 2004.
59. 岡田文雄, 井之上浩一, 伊藤里恵, 加藤静恵, 佐々木成子, 中島そのみ, 鶴野安希子, 西條泰明, 佐田文宏, 岸 玲子, 中澤裕之: ヒト母体血及び臍帯血における有機フッ素系化合物の胎児移行性評価. 日本薬学会第 124 年会, 大阪, 2004 年 3 月 29-31 日.
60. Hirakawa H, Todaka T, Hori T, Tobiishi K, Iida T, Kishi R, Sata F, Saijo Y, Kato S, Nakajima S, Sasaki S, Uno A, Kondo T, Mori Y: The levels of PCDDs, PCDFs, Non-ortho PCBs and Mono-ortho PCBs in the blood of pregnant women. 内分泌攪乱化学物質学会第 7 回研究発表会, 名古屋, 2004 年 12 月 14 日.
61. 倉橋典絵, 佐田文宏, 森岡三果, 鈴木佳奈, 近藤朋子, 森ゆうこ, 笠井世津子, 西條泰明, 守屋仁彦, 柿崎秀宏, 山田秀人, 遠藤俊明, 野々村克也, 石川睦男, 水上尚典, 岸玲子. 尿道下裂リスクと葉酸代謝酵素 Methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) 遺伝子多型との関連. 第 15 回日本疫学会, 大津, 2005 年 1 月 21-22 日.
62. 森岡三果, 倉橋典絵, 鈴木佳奈, 近藤朋子, 森ゆうこ, 西條泰明, 佐田文宏, 岸玲子. 妊婦の葉酸値と出生時体重との関連. 第 75 回日本衛生学会総会, 新潟, 2005 年 3 月 27-30 日.

63. 近藤朋子, 佐々木成子, 加藤静恵, 中島そのみ, 鶴野安希子, 金上宣夫, 飯田隆雄, 西條泰明, 佐田文宏, 岸玲子. 胎児期の化学物質暴露による次世代影響に関する前向きコホート研究—(3) 血液中ダイオキシン類濃度とマイクロアレイを用いた遺伝子多型の関連. 第 75 回日本衛生学会総会, 新潟, 2005 年 3 月 27-30 日.
64. 鈴木佳奈, 佐田文宏, 西條泰明, 敦賀律子, 山田秀人, 水上尚典, 岸玲子. 習慣流産リスクと妊娠関連血漿蛋白A遺伝子多型. 第 75 回日本衛生学会総会, 新潟, 2005 年 3 月 27-30 日.
65. 岡田文雄, 中田彩子, 井之上浩一, 伊藤里恵, 斉藤貢一, 花岡知之, 小林実夏, 月野浩昌, 津金昌一郎, 中澤裕之. 日本人における有機フッ素系化合物の暴露状況. 日本薬学会第 125 年会, 東京, 2005 年 3 月 29-31 日.
66. 中澤裕之: 生体試料中の有機フッ素系化合物の分析と残留. 第 14 回環境ホルモン学会講演会, 東京, 2005 年 1 月 28 日.

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

妊婦の血清葉酸値が児の出生時体重に及ぼす影響について

主任研究者 岸 玲子 北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 教授
分担研究者 水上 尚典 北海道大学大学院医学研究科生殖・発達医学講座産科・生殖医学分野 教授
櫻木 範明 北海道大学大学院医学研究科生殖・発達医学講座婦人科学分野 教授
遠藤 俊明 札幌医科大学産婦人科学講座 助教授
石川 睦男 旭川医科大学産婦人科学講座 教授
佐田 文宏 北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 助教授

研究要旨

葉酸は、ホモシステインをメチオニンに転換する過程で不可欠であり、欠乏すると、ホモシステインが高値となり、胎児発育遅延や低出生体重のリスクが高まることが報告されている。しかし、葉酸値と出生時体重の関連を報告したものは、少ない。周産期疾患の予防の観点からも、葉酸は重要な栄養素であると考えられる。そこで本研究では、妊婦の血清葉酸値と出生時体重との関連を検討した。妊婦を対象にした前向きコホート研究の一環で、平成15年1月から11月までに本調査に同意された全妊婦605人を対象として、妊娠13週未満の血清を用いてCLIA法で葉酸値の測定を行った。さらに葉酸代謝酵素であるMTHFRのC677T及びA1298C多型の遺伝子型を、リアルタイムPCR法で解析した。母親の出産時年齢、妊娠前BMI、教育歴、新生児性別、在胎週数、出産経歴、喫煙および遺伝子型で調整した場合、葉酸値が5.7ng/ml以下であると出生時体重との間に負の関連が見られた。またC677T及びA1298C多型のそれぞれの遺伝子型と出生時体重との有意な関連はみられなかった。葉酸値が低値になると、出生時体重に影響を及ぼす可能性があり、周産期における葉酸摂取の必要性が示唆された。

【研究協力者】

山田 秀人
(北海道大学大学院医学研究科生殖・発達医学
講座産科・生殖医学分野)

林 卓宏、斉藤 豪
(札幌医科大学産婦人科学講座)

田熊 直之
(旭川医科大学附属病院周産母子センター)

宮本 敏伸、佐々木禎仁
(旭川医科大学産婦人科学講座)

西條 泰明、近藤 朋子、森 ゆうこ、
倉橋 典絵、森岡 三果、鈴木 佳奈、
小池 晶、田中 亜美、宮崎美代乃
(北海道大学大学院医学研究科予防医学講座
公衆衛生学分野)

【研究協力機関】

青葉産婦人科クリニック、秋山記念病院、旭川医

科大学附属病院、旭川赤十字病院、岩見沢こども・
産婦人科クリニック、遠軽厚生病院、えんどう桔
梗マタニティクリニック、王子総合病院、帯広協
会病院、帯広厚生病院、北見赤十字病院、北見レ
ディースクリニック、勤医協札幌病院、釧路赤十
字病院、釧路労災病院、慶愛病院、幌南病院、公
立芽室病院、五輪橋産科婦人科小児科病院、札幌
医科大学附属病院、札幌厚生病院、札幌徳州会病
院、市立札幌病院、市立士別総合病院、市立函館
病院、市立稚内病院、白石産科婦人科病院、新日
鐵室蘭総合病院、手稲溪仁会病院、天使病院、道
立紋別病院、中標津町立病院、中村病院、名寄市
立総合病院、日鋼記念病院、函館五稜郭病院、函
館中央病院、はしもとクリニック、朋佑会札幌産
科婦人科、北海道大学附属病院

(平成17年3月現在)

A. 研究目的

葉酸は生体内ではDNA合成の際の補酵として重要であり、またアミノ酸であるホモシステインをメチオニンに転換する過程で重要である。葉酸が欠乏すると高ホモシステイン血症になり、高ホモシステイン血症は流産や胎児発育遅延、胎児奇形の発生との関連も報告されており、周産期疾患予防の観点からも、葉酸は重要であると考えられる。近年、欧米を中心とした疫学調査によって妊娠前から妊娠初期の葉酸の十分な摂取が神経管欠損症（NTD）やその他の先天異常（先天性心疾患）に対する予防効果が報告されたことや、葉酸欠乏状態は早産や低出生体重になるリスクが上昇することが報告されている。また妊婦を対象とした調査によると喫煙によって葉酸値が低下することや葉酸代謝酵素であるMTHFRが変異型ホモ677TTをもつ妊婦では、葉酸値がより低くなることを報告している。一方、日本では欧米諸国と比較して二分脊椎の発症率が低いことなどの理由から、これまで関連する疫学調査は行われていなかったが、ICBDMS（国際先天異常監視機構）によると、わが国の二分脊椎の発症率が増加傾向にあることが報告されたことや、今後、わが国の食生活の多様化により、食物摂取の個人格差が大きくなり、葉酸摂取量が減少していく可能性があることから、日本においても妊娠可能な女性に対する葉酸摂取は、検討すべき課題であると考えられる。そこで本研究では、妊娠初期の葉酸値、喫煙、その他の環境要因、遺伝子多型（MTHFR）の感受性素因と児への影響（出生時体重）の関連の検討を行った。

B. 研究方法

1. 対象

前向きコホート研究を設定し、平成15年1月から11月までに北海道の3産科施設に通院中で、本調査に同意を得た妊婦605人のうち除外基準として、内分泌障害、凝固障害、葉酸サプリメントの服用者、てんかん、乾癬の既往を持つ人、腎不全患者および先天異常をもつ児を出産した母

16人である妊婦73人を除いた、532人を解析対象とした。

2. 方法

- ① 妊婦の血清葉酸値の測定は、妊娠初期（13週未満）の血清800 μ lを用いてCLIA法で測定した。
- ② 自記式質問紙票を用いて、母親の属性（母親の出産時年齢、妊娠前身長、体重、教育歴、既往歴、妊娠初期の喫煙、葉酸サプリメントの摂取）を調べた。さらにまた児の属性については、出産後に医療機関で記載された新生児個票から（新生児性別、在胎週数、出生時体重、奇形の有無）の情報を得た。
- ③ 出産後の母体血を採取し、DNA抽出を行い、MTHFR遺伝子のC677TとA1298Cの多型について、リアルタイムPCR法によるallelic discrimination assayで解析を行った。

3. 解析方法

統計解析は、SPSS ver.11.0を用い、出生時体重に関連する因子である、母親の出産時年齢、妊娠前BMI、出産経歴、新生児性別、在胎週数、喫煙、教育歴および妊婦の血清葉酸値（四分位）、C677TとA1298Cの遺伝子型で調整して重回帰分析を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は、参加病院または代表研究機関の倫理委員会にて、全て承認されている。本研究のデータ保管は、個人情報管理者を置き、厳格な管理が行われ、調査結果の公表に際しては、個人名を公表したり、個人を特定できる形にはせず、妊婦のプライバシーは厳重に保護されている。

C. 研究結果

1. 基本的属性（表1）

初産、経産婦の割合は、ほぼ同じであった。また喫煙群は、14.8%を占めていた。

35歳以上の妊婦の割合は、80人（15.3%）であった。また低出生体重児（出生時体重が2500g未満）532人中34人（6.4%）であり、早産（在胎週数37週未満の出産）の児は、30人（5.6%）であった。

2. 血清葉酸値と出生時体重との関連について (表2)

出生児体重を従属変数とし、4分位に分けた葉酸値と、母親の出産時年齢、妊娠前BMI、教育歴、新生児性別、在胎週数、出産経歴、喫煙およびC677TとA1298Cの遺伝子多型を独立変数として、強制投入法で重回帰分析を行った。その結果、喫煙や出産時年齢、新生児性別、在胎週数、出産経歴、妊娠前BMIにおいても出生時体重との関連が見られたが、それらの変数を調整しても、葉酸値が5.7ng/ml以下である群と出生時体重との間に負の関連が見られた。

また、教育歴と、C677TとA1298C遺伝子多型と出生時体重との関連は見られなかった。

D. 考 察

今回対象となった妊婦の血清葉酸値は、7.3±2.6ng/mlであった。欧米と比較して神経管欠損症の発症率が低い本邦では、今まで葉酸は十分に摂取されていたと考えられていたためか、妊婦はもとより、成人女性を対象とした血清葉酸値についての分析報告は少ない。近藤らが、愛知県の妊婦222人を対象とした血漿葉酸値を測定したが、平均値は8.1ng/mlであり、大きな差はみられなかった(1)。基準値である3.6~12.9ng/mlの中にほとんどの妊婦が分布しているが、基準値の幅が広く、またこの下限値未満の葉酸値を示す妊婦は、約2%ほどであった。

そこで、出生時体重との関連を検討するために、葉酸値を4分位にわけて解析をおこなったところ、葉酸値が5.7ng/ml以下である場合に、出生時体重との間に負の有意な関連が見られた。Alayneらは、葉酸値と出生時体重との関連について、有意な関連がなかったことを報告している(2)。異

なった結果となった理由は、解析対象者の血清葉酸値の計測時期が異なることにも関連していると考えられる。本研究では、妊娠初期の血清葉酸値を計測しているが、先行研究では、研究対象となる妊婦の妊娠する前の血清葉酸値を計測している。またSchollらは、妊娠中の葉酸経口摂取量が、240μg/d未満であると低出生体重になるリスクが上昇すると報告している(3)。

また葉酸経口摂取量と血清葉酸値は、有意な相関があることが報告されている。したがって今回の結果は、妊娠前よりも妊娠中の葉酸値が低値になると、出生時体重に影響を及ぼす可能性があり、妊娠中における葉酸摂取の必要性が示唆された。

E. 参考文献

- (1) 近藤 他 二分脊椎症と葉酸:葉酸経口摂取量と葉酸血清濃度 日本泌尿器科学会雑誌 2003 Jul;94(5):551-9.
- (2) Alayne, et al. Preconception homocysteine and B vitamin status and birth outcomes in Chinese women. Am J Clin Nutr 2002;76:1385-91
- (3) Scholl, et al. Dietary and serum folate: their influence on the outcome of pregnancy. Am J Clin Nutr 1996;63:520-5

F. 研究発表

1. 学会発表

森岡三果、倉橋典絵、鈴木佳奈、近藤朋子、森ゆうこ、西條泰明、佐田文宏、岸玲子:「妊婦の葉酸値と出生時体重との関連」、第75回日本衛生学会総会、新潟(2005.3.27-30)

表1 基本的属性

		N (%)
出産経歴	初産	249 (46.8)
	経産	283 (53.2)
教育歴 (年)	9	33 (6.2)
	12	251 (47.2)
	14~15	201 (37.8)
	16	45 (8.5)
喫煙習慣	非喫煙群	453 (85.2)
	喫煙群	79 (14.8)
新生児性別	男児	254 (47.7)
	女児	278 (52.3)
出産時年齢	35歳以上	80 (15.3)
	35歳未満	452 (84.7)
妊娠前BMI(kg/m ²)	BMI25以上	80 (15.0)
	BMI25未満	438 (82.3)
新生児体重(g)	2500g以上	498 (93.6)
	2500g未満	34 (6.4)
在胎週数 (週)	37週以上	502 (94.4)
	37週未満	30 (5.6)

表2. 児の出生時体重に影響を及ぼす要因

	B(標準誤差)	β	P
血清葉酸値 (ng/ml)			
2.8~5.7	-84 (41)	-.103	.042
5.8~7.0(Ref.)			
7.1~8.3	-35 (40)	-.042	.379
8.4~29	-53 (44)	-.059	.222
出産歴	155 (32)	.212	.000
出産時年齢 (才)	-9 (4)	-.116	.009
妊娠前BMI(kg/m ²)	10 (5)	.095	.024
喫煙	-140 (43)	-.135	.001
教育歴 (年)			
9(Ref.)			
12	-71 (67)	-.097	.286
14~15	-97 (69)	-.128	.163
16	-23 (84)	-.018	.778
在胎週数 (週)	112 (11)	.415	.000
児性別	-97 (29)	-.133	.001
遺伝子多型			
677CC(Ref.)			
677CT	43 (33)	.059	.195
677TT	65 (55)	.055	.241
1298AA(Ref.)			
1298AC	-9 (34)	.012	.772
1298CC	90 (64)	.059	.171

(B:偏回帰係数, β :標準偏回帰係数)

妊娠中の母親の喫煙が乳児の身体的成長に及ぼす影響に関する研究

主任研究者 岸 玲子 北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 教授
分担研究者 水上 尚典 北海道大学大学院医学研究科生殖・発達医学講座産科・生殖医学分野 教授
櫻木 範明 北海道大学大学院医学研究科生殖・発達医学講座婦人科学分野 教授
遠藤 俊明 札幌医科大学産婦人科学講座 助教授
石川 睦男 旭川医科大学産婦人科学講座 教授
佐田 文宏 北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 助教授

研究要旨

妊娠中の母親の喫煙は、児の出生時の身長、体重等に影響を与えることが知られているが、そうした児は成人期、思春期に肥満、過体重となりやすいことが報告されている。母親の妊娠中の喫煙が、その後、児の身体的成長に影響を及ぼすかどうかを調査しているが、その途中経過として、母親の妊娠中の喫煙が児の出生時の身体的特徴（身長、体重、頭囲、胸囲）に及ぼす影響について調べた。対症妊婦550名中、喫煙群は68名、禁煙群は92名、非喫煙群は390名であった。非喫煙群の児と比べて、喫煙群の児は、身長、体重、頭囲、胸囲すべてにおいて、出産年齢、在胎週数、出産回数、児性別、母親BMI、母親学歴で調整してもなお、有意に小さかった。一方、禁煙群の児と非喫煙群の児を比較したところ、有意な差はみられなかった。今後、10ヶ月時、18ヶ月時、それ以降も継続的に調査を続けていく予定である。

【研究協力者】

山田 秀人
(北海道大学大学院医学研究科生殖・
発達医学講座産科・生殖医学分野)
林 卓宏、斉藤 豪
(札幌医科大学産婦人科学講座)
田熊 直之
(旭川医科大学附属病院周産母子センター)
宮本 敏伸、佐々木 禎仁
(旭川医科大学産婦人科学講座)
西條 泰明、近藤 朋子、森 ゆうこ、
倉橋 典絵、森岡 三果、鈴木 佳奈、
小池 晶、田中 亜美、宮崎美代乃、
山岡 ゆう
(北海道大学大学院医学研究科予防医学講座
公衆衛生学分野)

【研究協力機関】

青葉産婦人科クリニック、秋山記念病院、旭川医

科大学附属病院、旭川赤十字病院、岩見沢こども・
産婦人科クリニック、遠軽厚生病院、えんどう桔
梗マタニティクリニック、王子総合病院、帯広協
会病院、帯広厚生病院、北見赤十字病院、北見レ
ディースクリニック、勤医協札幌病院、釧路赤十
字病院、釧路労災病院、慶愛病院、幌南病院、公
立芽室病院、五輪橋産科婦人科小児科病院、札幌
医科大学附属病院、札幌厚生病院、札幌徳州会病
院、市立札幌病院、市立士別総合病院、市立函館
病院、市立稚内病院、白石産科婦人科病院、新日
鐵室蘭総合病院、手稲溪仁会病院、天使病院、道
立紋別病院、中標津町立病院、中村病院、名寄市
立総合病院、日鋼記念病院、函館五稜郭病院、函
館中央病院、はしもとクリニック、朋佑会札幌産
科婦人科、北海道大学附属病院

(平成17年3月現在)

A. 研究目的

文部科学省「学校保健統計調査」、厚生労働省「国民栄養調査」等によると、成人同様、この20年間で、肥満傾向にある子供は増加している。

妊娠中の母親の喫煙は、早産や低出生体重児、子宮内発育遅延等を引き起こしやすいことが知られているが、そうした児は、その後、成人、思春期に肥満、過体重となりやすいことが報告されている(1,2)。Ong らによれば、0-2歳までに catch-up した子供は、しなかった子供に比べて、幼児期に肥満傾向にある(3)。

しかし、妊娠初期から継続的に児の身体的成長を追跡している調査は少ない。また、北海道は女性の喫煙率が全国平均 13.6%と比較して 27.5%と高い。そこで本調査では、妊娠中の母親の喫煙が児の身体的成長にどのような影響を及ぼすかを調べ、その途中経過として妊娠中の母親の喫煙状況と、児の出生児の身体的特徴（身長、体重、頭囲、胸囲）について検討を行ったので、ここに報告する。

B. 研究方法

北海道の38産科施設に通院中で、本調査に同意を得た全妊婦を対象とした。平成16年8月までに調査協力が得られた妊婦613名のうち、除外基準として、双生児、先天異常のある児、調査票の記入が不完全な者、63名を除き、550名を対象とした。

喫煙に関しては、非喫煙群（一度も喫煙をしたことがない人）、禁煙群（妊娠初期にやめた人）、喫煙群（妊娠中も喫煙をしていた人）に分けて解析を行った。

解析はSPSS ver.11.0を用いて一元配置分散分析を行い、その後多重比較をおこなった。

（倫理面への配慮）

本研究は、産科病院または代表研究機関の倫理委員会にて、すべて承認されている。本研究のデータ保管は、個人情報管理者を置き、厳格な管理が行われ、調査結果の公表に際しては、個人名を

公表したり、個人を特定できる形にはせず、妊婦のプライバシーは厳重に保護されている。

C. 研究結果

対象の内訳は、喫煙群 68 名、禁煙群 92 名、非喫煙群 390 名であった。

非喫煙群の児と比べて、喫煙群の児は、身長、体重、頭囲、胸囲すべてにおいて、出産年齢、在胎週数、出産回数、児性別、母親 BMI、母親学歴で調整してもなお、有意に小さかった。一方、禁煙群の児と非喫煙群の児を比較したところ、有意な差はみられなかった。

	喫煙群	非喫煙群	P 値
身長	48.4(2.0)	48.8(1.9)	0.02
体重	3050.2(359.2)	2946.9(364.9)	0.009
頭囲	32.8(1.4)	33.2(1.8)	0.03
胸囲	31.7(1.7)	31.3(1.6)	0.03

D. 考 察

非喫煙群と喫煙群では、喫煙群の児は有意に、身長、体重、頭囲、胸囲が小さかった。これは多くの先行研究と一致する(4,5)。

非喫煙群と禁煙群の児の間には、有意な差がみられなかった。禁煙群の母親の多くは、妊娠初期に禁煙しているため、児の成長に影響を与えなかったためだと考えられる(6)。

E. 結 論

非喫煙群の児と比べて、喫煙群の児は、身長、体重、頭囲、胸囲において、有意に小さかった。今後、児の成長に違いがあるかを調査していく予定である。

F. 参考文献

- (1) Toschke AM, et al. Childhood obesity is associated with maternal smoking in pregnancy. *Eur J Pediatr* 2002; 161: 445-8
- (2) Ken KL, et al. Size at Birth and Early Childhood Growth in Relation to Maternal