

厚生労働科学研究費補助金
化学物質リスク研究事業

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
環境化学物質に対する感受性の解明

平成20年度 総括・分担研究報告書

研究代表者

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

岸 玲子

研究分担者

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

水上 尚典

札幌医科大学医学部産科・周産期科／生殖内分泌科

遠藤 俊明

旭川医科大学医学部産婦人科学講座

千石 一雄

北海道大学大学院医学研究科生殖・発達医学講座生殖内分泌腫瘍学分野

櫻木 範明

北海道大学大学院医学研究科外科治療学講座腎泌尿器外科学分野

野々村克也

北海道大学大学院医学研究科生殖・発達医学講座小児科学分野

有賀 正

北海道大学大学院獣医学研究科環境獣医科学講座毒性学分野

石塚真由美

福岡県保健環境研究所

梶原 淳睦

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

湯浅 資之

平成 21 (2009) 年 3 月

目 次

I. はじめに	1
II. 総括研究報告書	
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 要因と環境化学物質に対する感受性の解明 (岸 玲子ほか)	2
III. 分担研究報告書	
1. 先天異常の発生状況 (岸 玲子、水上尚典、遠藤俊明、千石一雄、湯浅資之ほか)	20
2. 母体血中ダイオキシン類と甲状腺機能との関連について (岸 玲子、梶原淳睦、湯浅資之ほか)	28
3. 母体血中有機フッ素化合物と甲状腺機能との関連について (岸 玲子、湯浅資之ほか)	38
4. 母体血中PCB・ダイオキシン類濃度と臍帯血 IgE との関連の検討 (岸 玲子、梶原淳睦ほか)	45
5. Maternal Smoking, 5,10- <i>MTHFR</i> Gene Polymorphisms and Effect of Periconceptional Folic Acid Supplementation on Folate Status and Infant Birthweight 妊婦の喫煙、葉酸摂取および遺伝要因が血清葉酸値と出生体重に及ぼす影響 (岸 玲子ほか)	51
6. 胎児期のダイオキシン類曝露と乳幼児期アレルギー症状および感染症との関連の検討 (岸 玲子、梶原淳睦ほか)	59
7. 胎児期の有機フッ素化合物曝露と乳幼児期のアレルギー症状との関連 (岸 玲子ほか)	65
8. 母体血中のダイオキシン類 (PCDDs, PCDFs) 濃度と <i>CYP1B1</i> 遺伝子多型が出生体重におよ ぼす影響の検討 (岸 玲子、梶原淳睦ほか)	72
9. 妊婦の血液及び母乳中のダイオキシン類、PCB 類濃度 (梶原淳睦ほか)	78
10. 就学年齢前の子どもにおける ADHD 症状と妊娠期要因および育児環境要因との関連に関す る疫学研究のレビュー (岸 玲子ほか)	91

I はじめに

平成 14 年より開始した先天異常モニタリングに関する前向きコホートにおいて、これまで平成 14 年度から厚生労働科学研究費補助金（食品・化学物質安全総合研究事業）および平成 17 年度から厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）の支援を得て「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」を進めて参りました。更に、平成 20 年度からは厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）による「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環境化学物質に対する感受性の解明」として研究を継続してきました。

尿道下裂・停留精巣をはじめとする先天異常は、最近増加しているとの報告が発表されています。しかし、日本では、地域の一定集団で発生率やリスク要因を評価することがなされていませんし、環境化学物質の次世代への直接的な影響と因果関係は、未だ十分に解明されるには至っておりません。

そこで本研究では、北海道各地の産婦人科医療機関を受診し、妊娠初期に説明と同意を得た妊婦さんから採血し、葉酸、ダイオキシン類および有機フッ素化合物の測定を行いました。今後、母体血および臍帯血中の PCB 類、農薬、ビスフェノール A などの環境汚染物質を順次測定分析し、アウトカムである出産時の児の異常の有無や胎児発育への影響を研究して参ります。更に、生後数年間、児を追跡することにより更に詳細な研究を進め、アレルギー発症や神経発達への影響についても検討する予定です。

環境化学物質の個体への影響の強弱については、曝露された個体の異物（薬物）代謝酵素類の遺伝的多型にも影響を受けることが考えられ、この点についてもダイオキシンや喫煙などについて検討してきました。こうした研究は、同じ曝露濃度でもハイリスク感受性を有する者には、より予防的な対応を進めるという意味で重要であると思われます。

本研究は北海道内広範囲に分布する産婦人科医療機関の御協力で進められ、平成 20 年 12 月末までに約 16,700 名の妊婦さん方が本研究に参加しております。今回の調査により多くの出生児がカバーされれば、その地域集団での先天異常の有病率の推移や地理的分布も分かります。日本では宮城、山梨、富山などで類似の研究がありますが、本研究のような広域な地域をベースにサンプルサイズが大きい先天異常モニタリングシステムは他にはありません。北海道で、予防医学（公衆衛生学）と臨床医学（産科、泌尿器科、小児科など）が共同で進めるこのような協力体制を続けることができましたならば、将来は、生まれてくる児の早期医療など、予防医学的アプローチと QOL を一層高めるために有益になると思います。

最後に、多くの皆様の御協力により実施され、本年度報告書をこのようにまとめることができたことに対して、衷心より御礼申し上げます。

平成 21 年 3 月

研究代表者 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環境化学物質に対する感受性の解明

研究代表者 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

研究要旨

本研究は、妊婦を対象にした前向きコホート研究を行い、妊娠中の妊婦への環境化学物質の曝露による胎児および乳幼児への健康影響を解明し、負の影響を予防する方策を明らかにすることを目的としている。前向き研究の形で、妊娠初期の12週までに、同意を得た妊婦から採血し、PCB・ダイオキシン類、有機フッ素化合物など内分泌かく乱作用を有する環境化学物質の濃度を測定し、アウトカムである出産時点での児への影響（先天異常の有無など）を確認することにより、環境化学物質と尿道下裂・停留精巣をはじめとする先天異常との直接的な因果関係を評価することが可能になる。本研究を進めるに際し、（1）マーカー異常の選定と手引き書・新生児個票の作成、（2）妊婦への説明・同意書、医療機関に対する趣意書の作成、（3）調査票の作成、（4）採血スピッツの選定と汚染状況の確認、（5）妊婦からの採血・調査票の回収、（6）化学物質の新規高感度分析手法の開発等を行った。

平成14年1月から平成20年8月末までにコホートに参加し児の出産前後の情報を記載した新生児個票が提出された新生児を対象として、先天異常の有病率を種類別に把握した。新生児個票が提出された13105名のうち、先天異常のある児の総数は250名、形態異常の総数は303（マーカー異常200、その他の異常103）で、先天異常を有する児の出産頻度は1.90%であった。これは、日本において基幹病院が参加して全国規模で先天異常を唯一調査している「日本産婦人科医会先天異常モニタリング（JAOG）」の1.95%と同レベルであった。

ダイオキシン類（PCDDs、PCDFs、Coplanar-PCBs）の低用量曝露による甲状腺機能への影響を検討する目的で、母体血中ダイオキシン類濃度と妊婦及び新生児の甲状腺機能（甲状腺刺激ホルモン TSH、遊離型サイロキシン FT4）との関連を検討した。381名妊婦の母体血中の総ダイオキシン類濃度と母親の TSH・FT4 濃度との間に関連は認めなかったが、PCDD 異性体である 1,2,3,4,7,8-HxCDD 及び 1,2,3,6,7,8-HxCDD と TSH との間に負の、FT4 との間に正の有意な関連を認めた。他方、新生児の甲状腺ホルモンと母体血中ダイオキシン類との間には関連を認めなかった。また、有機フッ素化合物（PFOS・PFOA）の低用量曝露による甲状腺機能への影響を検討したところ、母体血清中 PFOS 濃度と妊婦の TSH において有意な負の関連が認められた（ $\beta = -0.315$, $p = 0.001$ ）。また、新生児では男児においてのみ、母体血清中 PFOS 濃度と児の TSH において有意な正の関連が認められた（ $\beta = 0.291$, $p = 0.015$ ）。

低濃度曝露での PCB・ダイオキシン類による免疫およびアレルギー疾患への影響を検討する目的で、母体血中 PCB・ダイオキシン類濃度と臍帯血 IgE との関連を検討した。その結果、男児においてのみ Total PCDFs、Total PCDDs TEQ、Total PCDFs TEQ、Total PCDDs/PCDFs

TEQ、Total TEQ 濃度と臍帯血 IgE との間に有意な負の関連が認められた。

妊婦の喫煙と葉酸含有サプリメント服用が出生体重に与える影響を、葉酸代謝遺伝子多型 *MTHFR* (C677T) を考慮して検討した。*MTHFR* (C677T) 遺伝子の T アレーを有する喫煙妊婦では血清葉酸値の低下が認められ、特に葉酸含有サプリメントを摂取していない妊婦で顕著に低下した。葉酸含有サプリメントを摂取していない妊婦では、摂取している妊婦に比べ、出生体重はより低下していた。このことから、喫煙をする妊婦は、葉酸含有サプリメントを摂取することが有益であることが示唆された。

低用量の胎児期ダイオキシン類曝露による児の免疫機能への影響を検討するため、妊婦中の母体血中ダイオキシン類濃度と 1 歳 6 ヶ月までの食物アレルギー、アトピー性皮膚炎、喘息および中耳炎の累積罹患率との関連を検討したところ、母体血中ダイオキシン類濃度と各アレルギー症状との関連はみられなかった。一方、中耳炎オッズ比は血中 PCDDs 濃度が 1SD 増加すると 1.3 倍 (95%CI, 1.0-1.8) に、また血中 PCDFs 濃度が 1SD 増加すると 1.6 倍 (95%CI, 1.2-2.1) に、PCDFs TEQ 値が 1 増加すると 1.5 倍 (95%CI, 1.1-1.9) と有意に増加した。このことから、低用量の胎児期ダイオキシン類曝露は出生後に児の感染症増加と関連する可能性が示唆された。また、有機フッ素化合物 (PFOS・PFOA) の胎児期曝露と乳幼児期のアレルギー症状との関連について検討した結果、母体血中 PFOS・PFOA 濃度と児の 1 歳半までのアレルギー症状の累積罹患率との間に有意な関連は認められなかった。

低用量曝露の妊婦を対象として母体血中ダイオキシン類濃度とその代謝に関与する遺伝子多型が出生時体重におよぼす影響を検討したところ、喫煙妊婦のダイオキシン類濃度が High 群で *CYP1B1* 遺伝子 (C>G, Leu 432 Val) が CG/GG 型では、ダイオキシン類濃度が Low 群で *CYP1B1* 遺伝子が CC 型に比べて、出生時体重が減少する傾向が認められた。非喫煙妊婦ではこのような関連がみられなかったことから、喫煙妊婦における出生体重の低下には母体血中ダイオキシン類濃度と *CYP1B1* 遺伝子多型が関与している可能性が示唆された。

少量の生体成分（血液 5g、母乳 2g）からダイオキシン類（PCDDs 7 種、PCDFs 10 種、ノンオルソ-PCBs 4 種、モノオルソ-PCBs 8 種、合計 29 種）及び非ダイオキシン様 PCB 類（58 異性体）濃度を正確に測定する微量高感度分析法を用いて妊婦の血液及び母乳中ダイオキシン類及び非ダイオキシン様 PCB 類濃度を測定した。①125 名分の母乳中ダイオキシン類及び非ダイオキシン様 PCB 濃度を測定したところ、Total TEQ の平均値は 9.4 pg TEQ/g lipid、Total PCB 類濃度の平均値は 80ng/g lipid であった。②蓄積された母体血及び母乳中ダイオキシン類及び PCB 類の異性体ごとの濃度データ中から 60 名の妊婦の血液中ダイオキシン類濃度と同一人の出産後の母乳中ダイオキシン類濃度を比較したところ、血液及び母乳中ダイオキシン類濃度は正の相関を示し、母乳のダイオキシン類濃度、異性体別の PCDDs、PCDFs、ノンオルソ-PCBs は血液に比べ低かったが、モノオルソ-PCBs はほぼ同程度のレベルであり、2 異性体は母乳の方が高かった。③195 名の妊婦の血液中非ダイオキシン様 PCB 類濃度に対する出産と年齢の影響を統計学的に解析し検証した結果、経産婦は初産婦より血液中非ダイオキシン様 PCB 類濃度が約 30% 低く、年齢が高いと PCB 類濃度も有意に高いことが明らかになった。

PubMed、医学中央雑誌データベース、Medical Online などの検索エンジンを使用して、

2003～2008 年度に発行された ADHD（注意欠損多動性障害）に関する報告を検索したところ、遺伝的要因、ヘキサクロロベンゼン、甲状腺刺激ホルモン、ニコチンへの曝露、母体の身体的および情緒的な健康、TV 番組の視聴が ADHD の症状と関連していた。緩和要因としては、母親の暖かさと授乳期間が指摘されていた。

研究分担者

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

遠藤 俊明

札幌医科大学産科・周産期科／生殖内分泌科准教授

千石 一雄

旭川医科大学医学部

産婦人科学講座教授

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

生殖内分泌・腫瘍学分野教授

野々村 克也

北海道大学大学院医学研究科

外科治療学講座腎泌尿器外科学分野教授

有賀 正

北海道大学大学院医学研究科

生殖・発達医学講座小児科学分野教授

石塚 真由美

北海道大学大学院獣医学研究科

毒性学教室准教授

梶原 淳睦

福岡県保健環境研究所

食品分析化学専門研究員

湯浅 資之

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

研究協力者

吉岡 英治、佐々木 成子、

金澤 文子、小西 香苗、鷲野 考揚、

イーラ・タマ・アヨ、宮下 ちひろ、

ブライモ・ローラ、岡田 恵美子、

小林 澄貴、大竹 裕子

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

兼元 敏隆

北海道産婦人科医会 会長

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

長 和俊、山田 俊、小西 祥平

北海道大学病院周産母子センター

馬場 剛

札幌医科大学産婦人科学講座

田熊 直之

旭川医科大学病院周産母子センター

宮本 敏伸

旭川医科大学産婦人科学講座

守屋 仁彦

北海道大学大学院医学研究科

外科治療学講座腎泌尿器外科学分野

斉藤 貢一、伊藤 里恵、岩崎 雄介、

中田 彩子、手塚 浩子

星薬科大学薬品分析化学教室

吉村 健清、中村 又善、中川 礼子、

平川 博仙、堀 就英、芦塚 由紀、

村田さつき、新谷 依子、小野塚大介

松枝 隆彦、飛石 和大、安武 大輔

福岡県保健環境研究所

戸高 尊

九州大学医学部

飯田 隆雄

北九州生活科学センター

研究協力機関

青葉産婦人科クリニック、秋山記念病院、旭川医科大学病院、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、釧路赤十字病院、慶愛病院、五輪橋産科婦人科小児科病院、市立札幌病院、札幌医科大学附属病院、札幌厚生病院、札幌東豊病院、札幌徳州会病院、白石産科婦人科病院、中標津町立病院、中村病院、名寄市立総合病院、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、北海道大学病院、公立芽室病院、市立稚内病院（平成 20 年 12 月まで）

A. 研究目的

Polychlorinated biphenyl (PCB)、ダイオキシン類、有機フッ素化合物等の環境化学物質は内分泌かく乱作用を持っていると考えられ、これら化学物質は低用量曝露でも次世代に対して負の健康影響があるのではないかと考えられている。本研究は、尿道下裂、停留精巣等の先天異常の疫学研究を population-based で行っている前向きコホート研究である。出産前健診で産科医療機関を訪れた妊婦を対象に、妊娠時の母体血、出産時の母体血、臍帯血を保存し、環境化学物質濃度の直接的な曝露量の測定を行い、これらの物質と先天異常、出生児体格、アレルギー様症状との直接的な関連を検討した。これらの環境要因の検討と同時に、環境化学物質の代謝に関係の深い薬物代謝酵素等の遺伝子多型についても検討した。このような遺伝子多型による個体の感受性の検討は予防上重要である。

近年、環境要因やライフスタイルの変化が妊娠女性の健康や胎児の発育に及ぼす影響が懸念されているが、これらについての解明は十分とはいえない。また、日本における先天異常の有病率はほとんどが病院ベースの調査に基づいており、地域の正確な情報が不足している。そこで、本前向きコホート研究において種々の先天異常の有病率を明らかにし、加えて形態異常に対する妊婦の基本的属性や妊娠前後の要因のリスクを検討する予定である。

また、高感度微量測定法で測定した有機フッ素化合物、PCB・ダイオキシン類、水銀などの曝露指標と異物代謝酵素遺伝子の発現、児の成長への影響の検討を行うとともに、喫煙が PCB・ダイオキシン類などの曝露に与える影響を調べた。

B. 研究方法

1. 先天異常の発生状況

1. 対象

平成 14 年 1 月から道内の約 40 の産科医療施設に出産前健診に訪れ本調査への参加に同意した妊婦から生まれた新生児のうち、平成 14 年 1 月から平成 20 年 8 月末までに新生児個票（こどもを出産（生産または死産、流産）した場合に病院担当者がこどもの属性や周産期情報などを記載した用紙）のある者 13105 名を対象とした。

2. 方法

出産後に医療機関で記載された新生児個票を用いて、各先天異常の発生状況を算出した。本研究では特定の先天異常を対象とはせず、環境要因が原因であるかどうかを検討するうえで重要と思われる先天性心疾

患、口唇口蓋裂、停留精巣などのマーカー奇形 55 種およびその他の奇形に分類された先天異常の有無を観察した。

2. 母体血中ダイオキシン類と甲状腺機能との関連について

札幌市内の産科病院を受診した妊娠 23～35 週の妊婦で、インフォームドコンセントの後参加に同意を得られた母子 514 組を対象とした。妊婦およびパートナーに対して既往歴、学歴、経済状況、生活環境、食品摂取状況などに関する自記式質問紙調査を行った。

リクルート時に妊婦の採血を行い、福岡県保健環境研究所において高分解能ガスクロマトグラフィー・高分解能マスマススペクトロメトリー（HRGC/HRMS 法）による母体血中 PCDDs、PCDFs、Coplanar-PCBs の濃度測定を行い解析に用いた。魚の推定摂取量は、魚摂取状況調査より 1 日あたりの推定摂取量（g）を算出して、解析に用いた。

妊娠中に重症の妊娠中毒症、高血圧症、糖尿病および甲状腺疾患、甲状腺自己抗体保有者（ATG または AMC）であった対象者および新生児心不全の対象者 70 名を除く 444 名を解析対象者とした。母体血中ダイオキシン類測定データは 381 人（うち 1 人は異常値を示したため除外）のデータを用いた。また、母親および児の TSH と FT4 は札幌市衛生研究所において乾燥濾紙に吸着させた血液を酵素免疫測定法（ELISA 法）により測定した。

3. 母体血中有機フッ素化合物と甲状腺機能との関連について

札幌市内において調査協力が得られた

産婦人科病院で、妊婦と新生児を対象に前向きコホート研究を実施した。曝露評価には妊娠中期から後期に採取した母体血を用いた。貧血などの理由で妊娠中に採血できなかった場合には、出産後の入院中に採血した。母体血清中の PFOS・PFOA 濃度は、LC/MS/MS 法で測定され、これらの測定は全て星薬科大学薬品分析化学教室で実施された。母親および児の甲状腺刺激ホルモン（TSH）と遊離型サイロキシン（FT4）は札幌市衛生研究所において乾燥濾紙に吸着させた血液を酵素免疫測定法（ELISA 法）により測定した。

447 名の母体血中 PFOS・PFOA 濃度を測定した。このうち双胎、妊娠高血圧症候群、糖尿病、胎児心不全および甲状腺疾患、甲状腺自己抗体保有者（ATG または AMC）を除外した 387 例にて検討した。母体血中 PFOS・PFOA 濃度を対数変換し、交絡要因を調整し、重回帰分析を行った。なお、PFOA 濃度の検出限界値以下の検体には、検出限界値の半値 0.25ng/ml を用いて解析を行った。

4. 母体血中 PCB・ダイオキシン類濃度と臍帯血 IgE との関連の検討

札幌市内において調査協力が得られた産婦人科医院で、妊婦と小児を対象に前向きコホート研究を実施した。曝露評価は、妊娠中期から後期に採取した母体血とした。貧血で妊娠中採血できなかった場合、出産後の入院中に血液を採取した。

母体血中の PCB・ダイオキシン類の濃度は、溶媒除去大量試料注入装置（SCLV-system）を装着した高分解能ガスクロマトグラフィー・高分解能マスマススペクトロメトリー（HRGC/HRMS）で測定した。ダイ

オキシシン類の濃度は、それぞれ異性体毎に測定し（PCDDs 7 種類、PCDFs 10 種類、ノンオルソ PCBs 4 種類、モノオルソ PCBs 8 種類）、Total 値、TEQ 値（WHO-2005）も算出した。これらの測定は全て福岡県保健環境研究所にて実施され、PCB・ダイオキシシン類と、臍帯血 IgE がともに揃いかつ臍帯血 IgA 値が異常高値を示した 2 例を母体血の臍帯血への混入検体として解析対象から除外し、最終的に 235 例にて検討した。

PCB・ダイオキシシン類、臍帯血 IgE とともに対数変換し、交絡要因を調整し、重回帰分析を行った。続いて性別にて層化した重回帰分析を行なった。なお検出限界以下に関してはダイオキシシン類濃度、臍帯血 IgE 濃度ともに検出感度限界の半値を用い解析を行った。

5. 妊婦の喫煙、葉酸摂取および遺伝要因が血清葉酸値と出生体重に及ぼす影響

1016 mothers (126 active smokers during pregnancy and 890 nonsmokers) from the ongoing prospective cohort of the Hokkaido study on environment and children's health were examined. Data were collected by means of self-reported questionnaires and hospital records. Maternal blood samples were collected during the first trimester for serum folate concentration measurements, and then quantified using chemiluminescence method (SRL Corporation). Genomic DNA extraction from whole blood was performed using standard methods (Maxwell 16, Promega Corporation). The presence of MTHFR polymorphisms was determined by means of Real-time PCR

(Applied Biosystems 7300/7500 Real Time PCR).

Outcomes of interest were infant birthweight and maternal serum folate status.

Periconceptional folic acid supplement use was defined as “any report of the use of folic acid (vitamin B9) supplement or other B-vitamins before or after conception”, and maternal smoking status during pregnancy was defined as “those who continue to smoke after conception”.

Statistical tests used included Chi squared tests for categorical variables, t-tests for continuous variables and ANOVA to compare means. Multivariable linear regression analysis with adjustments for potential confounders such as maternal age, maternal height, maternal BMI, parity, maternal educational level, annual income, alcohol intake during pregnancy, infant gender and gestational age were performed. Periconceptional folic acid supplement intake was also used as a confounder in one of the regression models due to minimal sample size among smokers.

6. 胎児期のダイオキシシン類曝露と乳幼児期アレルギー症状および感染症との関連の検討

札幌市内 1 産科病院外来を受診し同意を得た妊娠 23～35 週の妊婦 514 名を対象者として、前向きコホート研究を実施した。双胎は対象から除外した。妊婦とその配偶者

に対して、既往歴、学歴、経済状況、生活環境、食品摂取状況などに関する自記式調査票調査を行った。医療診療録より、児の出生体重など出生時情報、母親の妊娠・出産に関する情報を収集した。1歳半の対象児390名の属性（既往歴、受動喫煙、母乳期間など）は母親の自記式による健康調査表から得た。妊娠中期・後期に母親の採血を行い、貧血のため採血ができなかった場合は出産後に行った。福岡県保健環境研究所で426名の母体血中ダイオキシン類濃度（PCDDs 7種、PCDFs 10種、non-ortho PCBs 4種、mono-ortho PCBs 8種の合計29種）を異性体別に高分解能ガスクロマトグラフ・高分解能マスマスペクトロメーター（HRGC/HRMS）で測定し、うち異常高値の1名を除外した。ダイオキシン類測定データと調査票データの両方が得られた367名において解析を行った。曝露要因を血中ダイオキシン類濃度、アウトカム指標を1歳半になるまでの各症状（食物アレルギー・アトピー性皮膚炎・喘息・中耳炎）の累積罹患率として、母の年齢、教育歴、非妊娠時BMI、両親のアレルギー疾患既往歴、年長同胞の有無、採血時期、児の性別、母乳栄養期間、1歳半までの家庭内受動喫煙、集団保育歴で調整し、ロジスティック回帰分析を行った。統計解析にはSPSS Ver15.0を用いた。

7. 胎児期の有機フッ素化合物曝露と乳幼児期のアレルギー症状との関連

札幌市内1産科病院において同意を得た妊婦を対象に、前向きコホート研究を実施した。対象者の属性は自記式調査票、出生時所見は診療記録にて、また1歳半の対象児における健康状態は母親の自記式による

健康調査票から得た。曝露評価のために妊娠中期から後期に採血を行い、貧血により採血ができなかった場合は、出産後に採血を行った。母体血中有機フッ素化合物（PFOS・PFOA）濃度は、オンライン固相抽出-LC/MS/MS法により星薬科大学薬品分析化学教室で測定した。1歳半の対象児における属性および健康状態は、母親の自記式による健康調査票から得た。PFOS・PFOA測定結果と1歳半調査票データの両方が得られた344名について解析を行った。曝露要因を母体血中PFOS・PFOA濃度、アウトカム指標を児の1歳半までのアレルギー症状（食物アレルギー・アトピー性皮膚炎・気管支喘息）の累積罹患率とし、母の年齢、教育歴、非妊娠時BMI、両親のアレルギー疾患既往歴、年長の同胞の有無、採血時期、児の性別、母乳栄養期間、1歳半時の家庭内受動喫煙、集団保育歴で調整後、多重ロジスティック回帰分析を行った。有機フッ素化合物濃度の検出感度以下については、検出感度限界の半値を用いた。統計解析にはSPSS Ver15.0を用いた。

8. 母体血中のダイオキシン類（PCDDs、PCDFs）濃度と CYP1B1 遺伝子多型が出生体重におよぼす影響の検討

札幌市内1産科病院外来を受診し同意を得た妊娠23～35週の妊婦を対象に、前向きコホート研究を実施した。対象者の基本的属性は自記式調査票、出生時所見は病院記録から得た。双胎、妊娠高血圧症候群、糖尿病および胎児心不全は除外して421名を解析した。福岡県保健環境研究所で母体血中ダイオキシン類濃度（PCDDs 7種、PCDFs 10種、non-ortho PCBs 4種、mono-ortho PCBs 8種の合計29種）を異性体別に高分解能ガ

スクロマトグラフ・高分解能マスペクトロメーター(HRGC/HRMS)で測定した。ダイオキシン類の代謝に関与する遺伝子として、*CYP1A1* 遺伝子(A>G, Ile462Val) および *CYP1B1* 遺伝子(C>G, Leu432Val)の多型をリアルタイム-PCR 法で、*CYP1A1* 遺伝子(T>C, Msp I)を PCR-RFLP 法で解析した。出生時体重をアウトカムとして、ダイオキシン類濃度は 3 分位にし、中・高の分位群(High)と低分位群(Low)の 2 群と遺伝子多型を組み合わせで検討した。児の性別、在胎週数、世帯収入、出産経歴、母の喫煙の有無、母の非妊娠時 BMI、採血時期、近海魚摂取、遠洋魚摂取、妊娠中カフェイン摂取量で調整後、重回帰分析を行った。統計解析には SPSS 15.0J を使用した。

9. 妊婦の血液及び母乳中のダイオキシン類、PCB 類濃度

2008 年度は母乳 125 名分を分析対象とし、ダイオキシン類及び非ダイオキシン様 PCB 類を、超高感度精密分析法で測定した。分析方法は母乳 2g を秤取後凍結乾燥し、ダイオキシン類及び PCB 類の内標準を添加し、高速溶媒抽出器で脂質を抽出した。溶液を乾固した後、抽出された脂肪重量を測定した。これをヘキサンに再溶解後、硫酸処理し、硝酸銀シリカゲルカラムおよび活性炭カラムを直結して精製し、ダイオキシン類と PCB 等に分離した。ダイオキシン画分は濃縮して溶媒除去大量試料注入装置を装着した高分解能ガスクロマトグラフ・高分解能マスペクトロメーター (HRGC/HRMS) で PCDDs 7 種、PCDFs 10 種、ノンオルソ-PCBs 4 種の合計 21 種を測定した。PCB 画分は GPC で精製した後、高分解能ガスクロマトグラフ・高分解能マスペクトロメーター

(HRGC/HRMS) でモノオルソ-PCBs 8 種を含む PCB 類 (66 異性体) を測定した。血液及び母乳中のダイオキシン及び PCB 類濃度は抽出された脂肪重量当たりの濃度で解析した。また、ダイオキシン類の毒性等価量 (TEQ) の計算には 2005 年に WHO が発表した毒性等価係数 (TEF:WHO-05) を用いて計算した。

2003 年から 2008 年に測定した母体血 426 件、母乳 250 件のダイオキシン類及び PCB 類の異性体ごとの濃度データベースから、2002 年から 2004 年までに出産した 60 名の妊婦の血液及び母乳中ダイオキシン類濃度、2002 年から 2004 年までに採血した 195 名の妊婦の血液中 PCB 類濃度を抽出し解析した。統計学的解析には SAS 社の統計解析ソフトを用い Mann-Whitney's *U* test と Spearman の順位相関係数を計算した。

10. 就学年齢前の子どもにおける ADHD 症状と妊娠期要因および育児環境要因との関連に関する疫学研究のレビュー

国内および国外での周産期要因および育児環境要因に関する、就学時前の子どもにおける ADHD の疫学研究をレビューすることを目的に、英文文献は、PubMed により検索した。検索の際の key word は、"Attention Deficit Hyperactivity Disorders [MeSH]" と "epidemiology" とし、対象年齢は 6 歳未満、発行年は 2003-2008 とした。妊娠期および育児環境要因と就学前の子どもにおける ADHD または ADHD 症状をアウトカムとするすべての人間の研究で、英文の原著論文をレビューの対象とした。

レビューの対象となる日本語文献は、PubMed、医学中央雑誌データベース、

Medical Online という 3 つの検索エンジンで検索された（2003-2008 年に発行された文献とした）。における日本語の文献は一連の、いくつかのシリーズは、日本語の文献が少ないために使用された。PubMed では、キーワードを “Attention Deficit Hyperactivity Disorders [MeSH]” とした。医学中央雑誌データベースは、“Attention Deficit Hyperactivity Disorders” をキーワードとして、対象は 6 歳以下に限定、で検索された。メディカルオンラインは、“Attention Deficit Hyperactivity Disorders, early intervention, screening, infant, preschool” をキーワードとして検索された。

倫理面への配慮

疫学調査は北海道大学大学院医学研究科医の倫理委員会および遺伝子解析審査小委員会および共同研究施設の倫理規定に従って実施し、インフォームドコンセントは「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「疫学研究に関する倫理指針」およびヘルシンキ宣言に基づいて行った。研究への参加は自由意志により、自発的に中止しても不利益を被らないよう配慮した。対象者のプライバシーの保持には細心の注意を払った。すべての実験・研究は、北海道大学大学院医学研究科及び獣医学研究科で規定されている「ヒト組織及び動物を用いた実験指針」に従った。

以上のように、本研究は、倫理面の十分な配慮のうえに行った。

C. 研究結果

1. 先天異常の発生状況

平成 20 年 8 月末までに出産（生産、死産、流産）した新生児（すなわち、新生児個票が提出されたケース）13105 名のうち、先天異常のある児の総数は 250 名、形態異常の総数は 303（うちマーカー奇形 200、その他 103）で、先天異常を有する児の出産頻度は 1.90%であった。最も頻度の高かった先天異常は先天性心疾患で計 44 名であった。うち頻度の高いのは、心室中隔欠損症 19 人、心房中隔欠損症 6 人、動脈管開存症 6 人、ファロー四徴症 4 名、肺動脈閉鎖症 3 人、単心室 3 人であった。続いて頻度順に、口唇口蓋裂 15 人、ダウン症候群 14 人、水腎症 14 人、停留精巣 10 人、多指症 9 人、横隔膜ヘルニア 8 人、口蓋裂 7 人、尿道下裂 6 人、副耳 6 人、胎児水腫 6 人であった。

日本で唯一の全国規模調査である「日本産婦人科医会先天異常モニタリング（JAOG）」（全国 331 病院が参加し、全国の出生児の約 1 割をカバーしている大規模な病院ベースの調査）と比較すると、本研究における先天異常の出産頻度は JAOG の 1.95%（2005 年）とほぼ同レベルにあった。しかし、形態異常ごとの頻度をみると、本研究では水頭症、消化管閉鎖、二分脊椎症、複雑な心奇形など、胎児期に診断され出生直後の集中的な対応が必要とされる重篤な形態異常の頻度が JAOG 調査よりも低い傾向がみられた。その理由は、JAOG の協力施設が主に大学病院や地域の中核病院など大規模病院であり、胎児期から出生直後の集中的な治療が必要な重篤疾患が集積する傾向があるのに対し、本研究では北海道全域の大規模病院や専門病院から開業産科クリニックまで様々な規模の施設が参加しており（平成 16 年には北海道全出生数のうち 8.9%の出生が本コホートの対象であった）、

地域の一般的傾向を JAOG よりよく反映しているためと考えられる。本研究と JAOG の形態異常頻度の違いはこれら研究デザインの違いに起因していると考えられた。

2. 母体血中ダイオキシン類と甲状腺機能との関連について

Total PCDDs TEQ (WHO-2005; Toxicity Equivalency Quantity)、Total PCDFs TEQ、Total coplanar PCBs TEQ、Total dioxins TEQ の平均濃度（最低値-最高値）は、それぞれ 7.3(1.7-29.3)、2.6(0.6-7.8)、5.0(0.7-23.9)、14.9(3.2-43.4) TEQ pg/g lipid であった。

母体血中総ダイオキシン類濃度と母親の TSH・FT4 濃度を常用対数変換し、母の出産時年齢、BMI、出産回数（第1子か否か）、母体血採取時期、教育歴、魚類推定摂取量、喫煙習慣にて調整した重回帰分析では、母体血中総ダイオキシン類濃度と母の TSH・FT4 濃度との間に有意な関連を認めなかった。次に、母体血中総ダイオキシン類濃度と児の TSH・FT4 濃度を常用対数変換し、在胎週数、分娩時のストレスの有無（帝王切開または分娩誘発剤の使用のいずれかあり）、母の出産時年齢、BMI、出産回数（第1子か否か）、母体血採取時期、教育歴、魚類推定摂取量、喫煙習慣にて調整して重回帰分析を行なったところ、母体血中総ダイオキシン類濃度と児の TSH・FT4 濃度との間に有意な関連を認めなかった。

次に、母体血中の PCDD 異性体 7 種と PCDF 異性体 10 種別濃度と母親および児の TSH・FT4 濃度を常用対数変換し、在胎週数、分娩時のストレスの有無（帝王切開または分娩誘発剤の使用のいずれかあり）、母の出産時年齢、BMI、出産回数（第1子か否か）、

母体血採取時期、教育歴、魚類推定摂取量、喫煙習慣にて調整した重回帰分析では、PCDD 異性体である 1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDD 及び 1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDD と TSH との間に負の、FT4 との間に正の有意な関連を認めた。一方、児の甲状腺ホルモンとの間には関連を認めなかった。

3. 母体血中有機フッ素化合物と甲状腺機能との関連について

PFOS・PFOA 濃度と母親の TSH・FT4 濃度を常用対数変換し、母の出産時年齢、BMI、出産回数（第1子か否か）、教育歴、アルコール飲料習慣、喫煙習慣にて調整し重回帰分析を行なったところ、PFOS 濃度と母の TSH 濃度との間に有意な負の関連を認めたが ($p<0.001$)、FT4 との間に関連は認めなかった。一方、PFOS・PFOA 濃度と児の TSH・FT4 濃度を常用対数変換し、在胎週数、出生体重、母の出産時年齢、BMI、出産回数（第1子か否か）、教育歴、アルコール飲料習慣、喫煙習慣にて調整し重回帰分析を行なったところ、PFOS 濃度と男児の TSH 濃度との間に有意な正の関連を認めたが、女児では認めなかった。また、FT4 との間に有意な関連は認めなかった。

4. 母体血中 PCB・ダイオキシン類濃度と臍帯血 IgE との関連の検討

重回帰分析の結果よりダイオキシン類濃度と臍帯血 IgE との間に関連は認められなかった。しかし、男児のみの解析結果では Total PCDFs、Total PCDDs TEQ、Total PCDFs TEQ、Total PCDDs/PCDFs TEQ、Total TEQ 濃度と臍帯血 IgE との間に有意な負の関連が見られ、さらに異性体別に見

ると 2,3,7,8-TCDD、1,2,3,4,7,8-HxCDD、2,3,4,7,8-PeCDF 濃度と臍帯血 IgE との間に有意な負の関連が見られた。女兒のみの解析結果では、異性体別に検討した結果で 2,3,4,7,8-PeCDF と臍帯血 IgE との間のみ有意な正の関連が認められたが、他では有意な関連は認められず男児に比べて影響はあるとしても限定的である可能性が示唆された。

5. 妊婦の喫煙、葉酸摂取および遺伝要因が血清葉酸値と出生体重に及ぼす影響

The population consisted of 126 (12.4%) of active smokers during pregnancy and T allele carriers accounted for about 615 (60%) of the population. Only 9 (7%) of smokers were periconceptional folic acid supplement users. Overall, maternal serum folate level ($p = 0.007$) and infant's birthweight ($p = 0.011$) were lower in smokers. Maternal serum folate level was lowest among smokers with CT/TT genotype ($p = 0.003$) but higher among periconceptional folic acid supplement users of the same group ($p = 0.001$).

Linear regression analysis was performed to compare the outcomes in an interaction between maternal smoking status and periconceptional supplement usage. There was a tremendous depletion in maternal serum folate levels among nonusers of supplements whether they smoked or not, but the reduction was worst in smokers who never used supplements (-3.3ng/ml , $p = 0.001$). Also, infant birthweight was most reduced

among smokers who never used supplements (-248g , $p = 0.001$).

Compared to those with CC genotype, nonuse of periconceptional folic acid supplements by subjects with CT/TT genotype showed the worst reduction in serum folate levels (-3.2ng/ml , $p = 0.001$). Supplement users of the same group exhibited minimal or no consequence. For all groups, in comparison to the reference group, this interaction could not be demonstrated in relation to infant birthweight ($p = 0.152$).

Due to the small number of periconceptional folic acid supplement use among smokers, a model was performed using it as an additional confounder in order to elicit interaction between genetic and smoking factors and their combined effect on the outcomes of interest. The results revealed worst depletion in serum folate levels in smokers with CT/TT genotype ($p = 0.001$).

Infant birthweight was also reduced with a marginal significance ($p = 0.075$).

6. 胎児期のダイオキシン類曝露と乳幼児期アレルギー症状および感染症との関連の検討

ダイオキシン類の平均毒性等量 (TEQ 値) の平均値は総ダイオキシン 15.0 TEQ pg/g lipid、PCDDs 7.4 TEQ pg/g lipid、PCDFs 2.6 TEQ pg/g lipid、non-ortho PCBs 4.7 TEQ pg/g lipid、mono-ortho PCBs 0.38 TEQ pg/g lipid であった。各症状の 1 歳半までの累

積罹患率（人数）は食物アレルギー16.9%（62人）、アトピー性皮膚炎11.2%（41人）、喘息8.7%（32人）、中耳炎18.5%（68人）であった。多重ロジスティック回帰分析の結果では、中耳炎オッズ比は血中PCDDs濃度が1SD増加すると1.3倍（95%CI, 1.0-1.8）に、また血中PCDFs濃度が1SD増加すると1.6倍（95%CI, 1.2-2.1）と有意に増加した。血中ダイオキシン類濃度とアレルギー症状の有意な関連はみられなかった。TEQ値ではPCDFsが1増加すると中耳炎オッズ比が1.5倍（95%CI, 1.1-1.9）と有意に増加した。TEQ値とアレルギー症状に有意な関連はみられなかった。

7. 胎児期の有機フッ素化合物曝露と乳幼児期のアレルギー症状との関連

母体血中PFOS・PFOA濃度の中央値はPFOS 5.2ng/ml；PFOA 1.3ng/mlであった。母の年齢が高いほど母体血中PFOS・PFOA濃度が有意に低く（PFOS $p=0.012$ ；PFOA $p=0.049$ ）、採血時期が出産前の母親（PFOS $p<0.001$ ；PFOA $p=0.002$ ）、出産経歴がある母親においても有意に低かった（PFOS $p<0.001$ ；PFOA $p<0.001$ ）。児の1歳半までのアレルギー症状の累積罹患率は、食物アレルギー16.6%、アトピー性皮膚炎10.8%、気管支喘息9.9%であった。児の気管支喘息は母親の非妊娠時BMIが高いほど有意に高かった（ $p=0.004$ ）。父親のアレルギー疾患既往歴がある群において、アトピー性皮膚炎（ $p=0.001$ ）および気管支喘息（ $p=0.01$ ）が有意に高かった。母体血中PFOS・PFOA濃度と児の1歳半までのアレルギー症状との関連では、PFOS・PFOAともに児のアレルギー症状との間に有意な関連はみられなかった。

8. 母体血中のダイオキシン類（PCDDs、PCDFs）濃度と CYP1B1 遺伝子多型が出生体重におよぼす影響の検討

在胎週数（ $p<0.001$ ）、母の身長（ $p=0.013$ ）、母の妊娠前体重（ $p=0.020$ ）、児の性別（ $p=0.007$ ）で出生体重との関連がみられた。母体血中のダイオキシン類濃度の total TEQ 値（98）が先行研究で報告されている濃度と比較して低かった。

喫煙妊婦は非喫煙妊婦と比べるとダイオキシン類濃度が低い傾向が認められた。また、CYP1B1 遺伝子 CG/GG 型は CC 型と比較してダイオキシン類濃度が低い傾向があったが、CYP1A1 遺伝子多型では差はみられなかった。妊娠中の喫煙状況と CYP1B1 遺伝子多型を組み合わせで検討した。妊娠中の喫煙状況を考慮しない場合、ダイオキシン類濃度や CYP1B1 遺伝子多型の違いによる出生体重低下には有意な差は認められなかった。しかし、非喫煙妊婦と喫煙妊婦で比較すると喫煙妊婦ではダイオキシン類濃度（PCDDs, PCDFs および PCDDs/Fs）が High 群で CYP1B1 遺伝子が CG/GG 型では、ダイオキシン類濃度が Low 群で CYP1B1 遺伝子が CC 型に比べて、出生時体重の大きな減少が認められた。非喫煙妊婦ではこのような関連はみられなかった。

9. 妊婦の血液及び母乳中のダイオキシン類、PCB 類濃度

母乳中ダイオキシン類の初産婦および経産婦のダイオキシン類の Total TEQ の平均値はそれぞれ 11 及び 8.1 pg TEQ/g lipid であった。母乳中 PCB 類の初産婦および経産婦の Total PCB 類濃度の平均値はそれぞれ 95 及び 69 ng/g lipid であった。母乳中

のダイオキシン類及び PCB 類濃度の平均値はいずれも初産婦の方が経産婦より高かった。また、年齢が高いとダイオキシン及び PCB 類濃度も高い傾向にあった。

60 名の妊婦の母乳のダイオキシン類濃度は血液のそれに比べ Total TEQ の平均値及び、異性体のうち PCDDs、PCDFs、ノンオルソ-PCBs は低下しているが、モノオルソ-PCBs はほぼ同程度であった。特にモノオルソ-PCBs のうちの PentaCB(#105) 及び PentaCB(#118) は母乳の方が高い濃度を示した。母体中の PCB 類濃度の出産および年齢による影響を解析するため、血液中ダイオキシン類濃度を測定した 269 名の妊婦のうち出産前に採血された 195 名の妊婦の血液中非ダイオキシン様 PCB 類濃度を比較した。195 名の妊婦の内訳は初産婦 101 名、経産婦 94 名であり、平均年齢はそれぞれ 28.8 歳と 32.3 歳であった。初産婦と経産婦の血液中 Total 非ダイオキシン様 PCB 類濃度の平均値はそれぞれ 11 及び 10 ng /g lipid であった。

10. 就学年齢前の子どもにおける ADHD 症状と妊娠期要因および育児環境要因との関連に関する疫学研究のレビュー

英文文献として 31 のレビューを含む 300 の研究が PubMed から検索された。8 編の原著論文が、就学前の子どもの ADHD 症状へ影響を及ぼす妊娠期および育児環境要因を調査していた。

ADHD のアセスメントに関しては、アウトカムの評価として、妥当性が確認された診断法および、親または教師に対する妥当性が確認された質問表を使用していた。精神科医による診断をアウトカムとした調査はなかった。妥当性の確認された診断法とし

ては、ADHD-DSM-IV、the ADHD-Rating Scale、the NIMH-Diagnostic Interview Schedule for Children- IV (NIMH-DISC-IV)、the Disruptive Behavior Rating Scale (DBRS) が使用されていた。妥当性が確認された質問表としては、The Behavior Assessment System for Children、the Child Behavior Checklist、the Teacher Report Form が使用されていた。

就学前の ADHD のリスク要因に関しては、妊娠期および育児環境に関する危険因子を調査した 6 編の研究があった。母親の暖かさ、授乳期間といった保護的因子を調査した研究は 2 編のみであった。

妊娠期の要因としては、遺伝的要因や、ヘキサクロロベンゼン、甲状腺刺激ホルモン、ニコチンへの曝露、母体の身体的および情緒的な健康は、ADHD の症状に重要な影響を及ぼすことが指摘されていた。育児環境要因としては、TV 番組の視聴は ADHD 症状と関係しており、暴力への曝露（地域または家庭内）は有意な影響は指摘されていない。母親の暖かさや授乳期間は、就学前の子どもにおける ADHD 症状を緩和する効果があることが示されていた。

日本における疫学研究として 175 編の論文が検索された。この中で、1 編のみが妊娠期及び育児環境に関して就学前の子どもにおける ADHD の危険因子を調査していた。佐藤ら（2004）は NICU に滞在した 136 名の子どもにおける妊娠期の危険因子を調べた。この調査では、Minimum Neurological sign Test (MNT) と ADHD 診断が ADHD 評価のために、4～6 歳で実施された。さらに出生時体重と妊娠時リスクの相互的な効果が調査された。非低出生体重（1500g≤）の子どもたちにおいて、Apgar スコアは MNT スコアと関連していた。低出生体重（＜

1500g) の子どもたちにおいて、妊娠高血圧と IUGR は MNT スコアと関連していた。

D. 考察

今回示した先天異常の有病率データは、日本における大規模な地域ベースの点で、これまでにない非常に貴重な情報である。先天異常の有病率は、これまでの報告が調査形態、対象者の選択などが一定ではないため、単純な比較は困難である。日本で唯一の全国規模の調査である「日本産婦人科医会先天奇形モニタリング (JAOG)」(日本産婦人科医会 (日母)、横浜市立大学医学部先天奇形モニタリングセンター) と比較すると、先天異常の出産頻度は、本研究では 1.90% であり、JAOG の 1.95% とほぼ同じレベルであった。また、形態異常の疾患ごとの頻度をみると、本研究では水頭症、脊髄髄膜瘤、食道閉鎖や小腸・十二指腸閉鎖などの消化管閉鎖、大動脈縮窄症、大動脈転位症などの複雑心異常など、胎児期に診断され出生直後の集中的な対応が必要とされる重篤な形態異常の頻度は JAOG 調査よりも低い傾向がみられた。JAOG は全国の大規模な病院ベースの調査であり、その性格から有病率の低い異常を集積し解析する上で大きな意義があると考えられる。いっぽう、本研究は参加規模では JAOG に及ばないが、大規模な地域ベース前向きコホート研究であるという特徴を有しており、このことは一般的な地域の有病率を把握する上で非常に重要である。また、JAOG の協力施設が主に大学病院や地域の中核病院など大規模病院であり、胎児期から出生直後の集中的な対応が必要な疾患が集積する傾向があるのに対し、本研究では北海道全域の大規模病院や専門病院から開業産科医院までさまざ

まな規模の施設が参加しており、地域の一般的傾向をよく反映していると考えられる。

母体血中の総ダイオキシン類濃度と母親の TSH・FT4 濃度との間に関連は認めなかった。他の先行研究でも、両者の関連は統一していない。不一致は、異性体をまとめて総ダイオキシン類として解析することにより、研究結果間で相違が生じるものと考えられる。一方、新生児においては甲状腺ホルモンと母体血中ダイオキシン類との間に統計的有意な関連を認めなかった。これは、最近のドイツの前向きコホート研究での結果と一致するが、1990 年代の先行研究とは一致していない。これは、以前に比べダイオキシン類の環境濃度が相対的に低下してきており、最近では甲状腺ホルモンを攪乱するレベルに至っていないことが考えられる。

本研究における妊婦の母体血清有機フッ素化合物濃度は国内、諸外国と比べても低いレベルにあった。母体血清 PFOS のみ母親の TSH 濃度と有意な負の関連を認めたが、これは母体血清中で PFOA に比べて PFOS 濃度が高いこと、検出限界以下の PFOA 濃度を持つサンプルが多かったこと、十分なサンプルサイズが得られなかったことが影響しているかもしれない。一方、母体血清中の PFOS は男児の TSH においてのみ正の関連を認め、PFOS の次世代影響が示唆される結果であった。

今回、我々は低濃度 PCB・ダイオキシン類の胎児期曝露による児のアレルギー・免疫への影響を見たが、今回のようにダイオキシン類を 29 異性体別に詳細に測定し、かつ前向きコホート研究で、必要な交絡要因を調整した解析結果を示した世界で初めての報告であった。更に、PCB・ダイオキシン類の免疫への影響に関して性差をはじめ

て示したが、性差が生じるメカニズムは不明である。

喫煙の妊婦から生まれた新生児の出生体重が低下することは既に知られていた。しかし、葉酸含有サプリメントの摂取と葉酸代謝遺伝子多型を考慮してより詳細な検討を行った我々の研究により、*MTHFR* (C677T) 遺伝子多型と喫煙の相互作用が出生体重に有害な影響を与えることが明らかになった。また、喫煙妊婦の低出生体重も葉酸含有サプリメントを摂取することである程度低減できる可能性も示唆された。

本研究では、血中ダイオキシン類濃度とアレルギー症状との関連はみられなかった。この理由として、1歳6ヶ月までのアレルギー症状は診断が難しく、実際の罹患状況を調査結果に反映できなかった、もしくは、胎児期のダイオキシン類曝露濃度が出生後のアレルギー症状に影響するレベルに達していなかった、などの可能性が考えられた。一方、血中PCDDs、PCDFs濃度、およびPCDFs TEQ値と中耳炎オッズ比の増加との関連がみられた。胎児期は成人と比較し化学物質による感受性が高く、胎児期のダイオキシン類曝露は免疫機能発達に負の影響を与え、出生後の感染症増加と関連する可能性が示唆された。

本研究では、胎児期のPFOS・PFOA曝露と乳幼児期のアレルギー症状との関連について初めて検討したが、母体血中PFOS・PFOA濃度と児の1歳半までのアレルギー症状との間に有意な関連はみられなかった。この要因として、母体血中PFOS・PFOA濃度が低レベルであったためか、気管支喘息などのアレルギー症状の診断が1歳半まででは難しいこと、更に対象者数が少ないことが考えられた。

本研究からダイオキシン類代謝について

は*CYP1B1*遺伝子多型のCG/GG型が関与していることが考えられる。母乳中ダイオキシン類濃度は非喫煙者よりも喫煙者で低いという報告があり、本研究の結果と一致した。喫煙者では化学物質の代謝能が亢進している可能性があるため、喫煙妊婦のダイオキシン類曝露量は今回の測定値よりも高いことが考えられる。ダイオキシン類やその代謝物が胎盤へ移行することにより、胎盤機能に障害を与えて胎児発育を阻害し、出生体重が低下すること考えられるが、喫煙妊婦においては、母親の遺伝子多型がその影響を修飾することが示唆された。

今回、妊婦の血液中ダイオキシン類濃度と同一人の出産後の母乳中ダイオキシン類濃度を異性体別に詳細に比較した結果、Total TEQ及びほとんどの異性体は血液から母乳に移行する際に脂肪重量当たりの濃度は低下するが、PentaCB(#105)及びPentaCB(#118)は母乳の方が高い濃度を示した。また、妊婦の血液中非ダイオキシン様PCB類濃度の解析により、初産婦、経産婦の血中非ダイオキシン様PCB類濃度を解析した結果、ダイオキシン類と同様に非ダイオキシン様PCB類の血中濃度が経産婦は初産婦より約30%低いことが明らかになった。また、初産婦、経産婦とも年齢が高いと非ダイオキシン様PCB類濃度も有意に高い（初産婦； $p=0.547$, $p<0.001$ 、経産婦； $p=0.467$, $p<0.001$ ）ことを統計学的に明らかにした。また、非ダイオキシン様PCBの異性体のうち最も濃度の高いHexaCB(#153)濃度と総非ダイオキシン様PCB濃度はよく相関しており、HexaCB(#153)が総非ダイオキシン様PCB濃度の指標となる可能性が考えられた。今回の解析結果は今後の母体の血中ダイオキシン類濃度の研究において基礎的なデータとして利用されることが期待される。

E. 結論

本コホートの参加者のうち、平成 20 年 8 月末までに出産（生産、死産、流産）した妊婦（＝新生児個票が提出された妊婦）13105 名のうち、先天異常のある児の総数は 250 名、形態異常の総数は 303（うちマーカー奇形 200、その他 103）で、先天異常を有する児の出産頻度は 1.90%であった。

今後、本研究は 2 万人まで妊婦をリクルートする予定であるので、最終的には先天異常を有する児は 350 人以上、形態異常の総数は 450 以上が登録される計算になる。今後は本研究により地域ベースの先天異常の有病率をより正確に解明することが可能となるであろう。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1) 論文発表

1. 湯浅資之、岸玲子. 前向き出生コホート研究の現状と課題－「環境と子どもの健康に関する北海道スタディ」を基に－、日本衛生学会誌 in press.
2. Todaka T., Hirakawa H., Kajiwara J., Hori T., Tobiishi K., Onozuka D., Katou S., Sasaki S., Nakajima S., Saijo Y., Sata F., Kishi R., Iida T., Yoshimura T., and Furue M.: Concentrations of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and dioxin-like polychlorinated biphenyls in blood and breast milk collected from 60

mothers in Sapporo City, Japan. *Chemosphere*, 72: 1152-1158, 2008.

3. Todaka T., Hori T., Hirakawa H., Kajiwara J., Yasutake D., Onozuka D., Washino N., Konishi K., Sasaki S., Yoshioka E., Yuasa M., Kishi R., Iida T., Yoshimura T., and Furue M.: Congener-specific analysis of non-dioxin-like polychlorinated biphenyls in blood collected from 195 pregnant women in Sapporo City, Japan. *Chemosphere*, 73: 923-931, 2008.
4. Kajiwara J., Todaka T., Hirakawa H., Hori T., Yasutake D., Onozuka D., Washino N., Konishi K., Sasaki S., Yoshioka E., Yuasa M., Kishi R., Iida T., Yoshimura T., and Furue M.: Dioxin and related chemicals concentrations in blood and breast milk collected from 125 mothers in Hokkaido, Japan. *Organohalogen Compounds*. 70: 1594-1596, 2008.
5. Todaka T., Hori T., Hirakawa H., Kajiwara J., Yasutake D., Onozuka D., Washino N., Konishi K., Sasaki S., Yoshioka E., Yuasa M., Kishi R., Iida T., Yoshimura T., and Furue M.: Concentration and congener profile of non-dioxin-like polychlorinated biphenyls in blood collected from 195 pregnant women in Sapporo City, Japan. *Organohalogen Compounds*. 70: 1597-1600, 2008.

2) 学会発表

1. 鷲野考揚、小西香苗、加藤静恵、佐々木成子、中島そのみ、西條泰明、佐田

- 文宏、飯田隆雄、前田信彦、岸玲子：
PCB・ダイオキシン類と臍帯血 IgE の検
討、第 76 回日本衛生学会、山口、平成
18 年 3 月 25-28 日
2. 鷺野考揚、西條泰明、岸玲子：生殖次
世代影響研究会、内分泌攪乱物質と小
児アレルギー、第 76 回日本衛生学会、
山口、平成 18 年 3 月 25-28 日
 3. Thamar Ayo Yila, Susumu Ban, Motoyuki
Yuasa, Ami Watanabe, Ayako Kanazawa,
Eiji Yoshioka, Reiko Kishi:
Association between folic acid
supplementation, serum folate status,
5, 10-*MTHFR* gene polymorphisms and
birth weight. (The 78th Annual
Congress of the Japanese Society for
Hygiene. 2008 March 28-31,
Kumamoto).
 4. 宮下ちひろ、佐々木成子、鷺野考揚、
小西香苗、岡田恵美子、吉岡英治、湯
浅資之、梶原淳睦、戸高尊、岸玲子「胎
児期のダイオキシン類曝露と乳幼児期
アレルギー症状および感染症との関連
の検討—『環境と子どもの健康 北海
道スタディ』—」(第 79 回日本衛生学
会学術総会、東京、2009. 3. 29-4. 1)
 5. 岡田恵美子、鷺野考揚、佐々木成子、
小西香苗、宮下ちひろ、吉岡英治、湯
浅資之、伊藤里恵、中澤裕之、岸玲子。
胎児期の有機フッ素化合物曝露と乳幼
児期のアレルギー症状との関連の検討
—環境と子どもの健康に関する北海道
スタディ (3) —。第 79 回日本衛生学
会学術総会、東京、平成 21 年 3 月
 6. 小林澄貴、佐々木成子、坂晋、近藤朋
子、湯浅資之、吉岡英治、金澤文子、
鷺野考揚、小西香苗、梶原淳睦、戸高
尊、平川博仙、堀就英、安武大輔、岸
玲子「胎児発育に影響を与えるダイオ
キシン類の曝露と遺伝要因との関連—
『環境と子どもの健康 北海道スタデ
ィ』—」(第 19 回日本疫学会学術総会、
金沢、2009. 1. 23-24)
 7. Kajiwara J., Todaka T., Hirakawa H.,
Hori T., Yasutake D., Onozuka D.,
Washino N., Konishi K., Sasaki S.,
Yoshioka E., Yuasa M., Kishi R., Iida
T., Yoshimura T., and Furue M.:
Dioxin and related chemicals
concentrations in blood and breast
milk collected from 125 mothers in
Hokkaido, Japan. 28th International
Symposium on Halogenated Persistent
Organic Pollutants, Birmingham,
England, (2007, August)
 8. Todaka T., Hori T., Hirakawa H.,
Kajiwara J., Yasutake D., Onozuka D.,
Washino N., Konishi K., Sasaki S.,
Yoshioka E., Yuasa M., Kishi R., Iida
T., Yoshimura T., and Furue M.:
Concentration and congener profile
of non-dioxin-like polychlorinated
biphenyls in blood collected from 195
pregnant women in Sapporo City, Japan.
28th International Symposium on
Halogenated Persistent Organic
Pollutants, Birmingham, England,
(2007, August)
 9. 梶原淳睦、戸高尊、平川博仙、堀就英、
飛石和大、安武大輔、小野塚大介、片
岡恭一郎、中川礼子、吉村健清：「血液
中ダイオキシン類濃度測定のカロスチ
ェック」、環境化学討論会、神戸市、2008
年 6 月 11-13 日
 10. 梶原淳睦、平川博仙、堀就英、安武
大輔、小野塚大介、戸高尊、古江増