

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。統計解析にはSPSS for Windows Ver14.0を用いて行った。また、統計的有意水準を $p < 0.05$ とした。

（倫理面への配慮）

本研究は、北海道大学大学院医学研究科・医の倫理委員会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ヘルシンキ宣言に基づいて行った。個人データの漏洩が一切生じないように、研究者によりデータ保管を厳重に行った。採血の方法は日常の一般診療で行われている血液生化学検査の際の採血と全く同様であり、格段の危険性は伴わなかった。

C. 研究結果

母親および児の属性を表1に、母体血中の有機フッ素化合物PFOS・PFOA濃度を表2に、母親と児の甲状腺ホルモン濃度を表3に示した。PFOS・PFOA濃度と母親のTSH・FT4濃度との関連を調べるため、両者を常用対数変換し、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た重回帰分析の結果を表4に示した。その結果、交絡要因の未調整及び調整後でも、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濃度との関連を調べるため、両者を常用対数変換し、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た重回帰分析の結果を表5に示した。その結果、交絡要因の未調整及び調整後でも、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。

D. 考察

ラットやマウスにPFOSを投与すると、甲状腺ホルモン（TT4, FT4）は低下し、TSHは変わらなかったとする報告がある（12, 13）。他方、妊娠ラットやマウスに投与すると、児の生存リスクは低下し（11）、催奇形性も増加すると報告されている（13）。しかし、ヒトにおける有機フッ素化合物曝露による甲状腺機能への影響に関する報告は非常に限られている。さらに、妊娠中の有機フッ素化合物曝露による甲状腺機能低下は児の神経行動発達に負の影響を与える可能性が示唆されているものの、疫学研究は全くない。このため、本研究はPFOS・PFOAの胎児期曝露による妊婦と新生児の甲状腺機能への影響を検討した初めての研究である。

本研究における妊婦428名の母体血清中の有機フッ素化合物濃度の中央値はPFOSが5.2ng/ml、PFOAで1.3ng/mlであり（表2）、これは国内、諸外国と比べても低いレベルにあった。母親のTSHはPFOSと、母親のFT4は母の出産時年齢およびBMIとの間に有意な相関を認めたが、相関係数はそれぞれ-0.167、-0.105、-0.114と弱い相関であった（データは示していない）。一方、児のTSHとFT4と有意な関連を認めたのはTSHでは在胎週数、出産回数（第1子か否か）、FT4では出生体重であったが、相関係数は0.1以下で相関性は弱かった（データは示していない）。

対数変換したPFOSのみ母親のTSH濃度と有意な負の関連を認めた（表4）。しかし、この結果は、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ので、より大きなサンプルを使った疫学的検討が必要であろう。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た（表 5）。PFOA 濃度は男児において負の関連を認めたが、交絡要因で調整したところ有意性は消失した。PFOS と TSH との関係について、Chang らはラットに PFOS を投与しても TSH 濃度に影響を与えなかったとする報告や（14）、前述の研究（12, 13）においても、両者に関連はないとする報告が多い。ただ、ラットとヒトの PFOS 半減期は 100 日、5 年と異なることがあるにせよ、今後サンプルのより大きな集団で慎重に再検討する必要があると思われる。

本研究の限界としては、先に述べたサンプルサイズのほか、1 病院コホートでありかつ参加率が約 30% であったということによる選択バイアスの存在などが挙げられる。しかし、PFOS・PFOA の胎児期曝露による妊婦と新生児の甲状腺機能への影響を検討した最初の研究である点で本研究の意義は深いと思われる。

E. 結論

札幌市内の産婦人科病院でリクルートした 428 名妊婦の母体血清中有機フッ素化合物（PFOS・PFOA）濃度の中央値は PFOS が 5.2ng/ml、PFOA で 1.3ng/ml であった。常用対数変換した PFOS のみ母親の TSH 濃度と有意な負の関連を認めた。一方、母体血清中 PFOS は男子の TSH においてのみ正の関連を認めた。本研究は PFOS・PFOA の胎児期曝露による妊婦と新生児の甲状腺機能への影響を検討した最初の研究である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

I. 引用文献

1. Hekster FM, Laane RW, de Voogt P. Environmental and toxicity effects of perfluoroalkylated substances. *Rev Environ Contam Toxicol* 2003; 179: 99-121.
2. Ankley GT, Kuehl DW, Kahl MD, Jensen KM, Butterworth BC, Nichols JW. Partial life-cycle toxicity and bioconcentration modeling of perfluorooctanesulfonate in the northern leopard frog (*Rana pipiens*). *Environ Toxicol Chem* 2004; 23: 2745-2755.
3. Butenhoff JL, Olsen GW, Pfahles-Hutchens A. The applicability of biomonitoring data for perfluorooctanesulfonate to the environmental public health continuum. *Environ Health Perspect* 2006; 114: 1776-1782.
4. Olsen GW, Burlew MM, Marshall JC, Burris JM, Mandel JH. Analysis of episodes of care in a perfluorooctanesulfonyl fluoride production facility. *J Occup Environ Med* 2004; 46: 837-846.
5. Olsen GW, Burris JM, Burlew MM, Mandel JH. Epidemiologic assessment of worker serum perfluorooctanesulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) concentrations and medical surveillance examinations. *J Occup Environ Med* 2003; 45: 260-270.
6. Maestri L, Negri S, Ferrari M, Ghittori S, Fabris F, Danesino P, Imbriani M. Determination of

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

- perfluorooctanoic acid and perfluorooctanesulfonate in human tissues by liquid chromatography/single quadrupole mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2006; 20: 2728-2734.
7. Karrman A, Ericson I, van Bavel B, Darnerud PO, Aune M, Glynn A, Lignell S, Lindstrom G. Exposure of perfluorinated chemicals through lactation: levels of matched human milk and serum and a temporal trend, 1996-2004, in Sweden. *Environ Health Perspect* 2007; 115: 226-230.
 8. 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: 1204-1207.
 9. Apelberg BJ, Witter FR, Herbstman JB, Calafat AM, Halden RU, Needham LL, Goldman LR. Cord serum concentrations of Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) and Perfluorooctanoate (PFOA) in relation to weight and size at birth. *Environ Health Perspect* 2007; 115: 1670-1676.
 10. Washino N, Saijo Y, Sasaki S, Kato S, Ban S, Konishi K, Ito R, Nakata A, Iwasaki Y, Saito K, Nakazawa H, Kishi R. Correlation between prenatal exposure to Perfluorinated chemicals and reduced fetal growth. *Environ Health Perspect* 2009 in press.
 11. Lau C, Thibodeaux JR, Hanson RG, Rogers JM, Grey BE, Stanton ME, Butenhoff JL, Stevenson LA. Exposure to perfluorooctane sulfonate during pregnancy in rat and mouse. II: Postnatal evaluation. *Toxicol Sci* 2003; 74: 382-392.
 12. Martin MT, Brennan RJ, Hu W, Ayanoglu E, Lau C, Ren H, Wood CR, Corton C, Kavlock RJ, Dix DJ. Toxicogenomic study of triazole fungicides and perfluoroalkyl acids in rat livers predicts toxicity and categorizes chemicals based on mechanisms of toxicity. *Toxicol Sci* 2007; 97: 595-613.
 13. Thibodeaux JR, Hanson RG, Rogers JM, Grey BE, Barbee BD, Richards JH, Butenhoff JL, Stevenson LA, Lau C. Exposure to perfluorooctane sulfonate during pregnancy in rat and mouse. I: Maternal and prenatal evaluations. *Toxicol Sci* 2003; 74: 369-381.
 14. Chang SC, Thibodeaux JR, Eastvold ML, Ehresman DJ, Bjork JA, Froehlich JW, Lau CS, Singh RJ, Wallace KB, Butenhoff JL. Negative bias from analog methods used in the analysis of free thyroxine in rat serum containing perfluorooctanesulfonate (PFOS). *Toxicology* 2007; 234: 21-33.

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

Tabel 1. Characteristics of mothers and infants

Characteristics	n (%)
Characteristics of mothers	
Age (years) at delivery	30.6 ± 4.9 ^a
BMI (kg/m ²) before pregnancy	21.1 ± 3.2 ^a
Parity (times)	
0	213 (47.8)
1 ≤	229 (51.3)
unknown	4 (0.9)
Educational duration (years)	
≤9	13 (2.9)
10-12	187 (41.9)
13-16	238 (53.4)
17 ≤	8 (1.8)
Annual income (millions yen)	
<3	84 (18.8)
3-5	223 (50.0)
5-7	88 (19.7)
7 ≤	48 (10.8)
unknown	3 (0.7)
Alcohol consumption	
Never	313 (70.2)
Drinking during pregnancy	133 (29.8)
Smoking	
Never	202 (45.3)
Quit smoking	169 (37.9)
Smoking during pregnancy	75 (16.8)
Characteristic of infants	
Sex	
Boy	211 (47.3)
Girl	234 (52.5)
unknown	1 (0.2)
Gestational age (weeks)	38.9 ± 1.5 ^a
Birth weight (g)	
Boy	3108.4 ± 392.5 ^a
Girl	3020.2 ± 357.5 ^a

^a; mean ± S.D.

Table 2. Concentration of PFOS and PFOA in maternal serum

	detection limit ^a	no detectable (%)	min ^b	P25 ^b	med ^b	P75 ^b	max ^b
PFOS (ng/ml)	0.5	0 (0)	1.3	3.5	5.2	7.2	16.2
PFOA (ng/ml)	0.5	27 (6.3)	ND	0.8	1.3	1.8	5.3

^a; For subjects with a level below the detection limit, we used a value equal to half the detection limit.

^b; min=minimum, P25=25th percentile, med=median, P75=75th percentile, max=maximum

Table 3. Concentration of TSH and FT4 in maternal and infant serum

	detection limit ^a	no detectable (%)	min ^b	P25 ^b	med ^b	P75 ^b	max ^b
In maternal serum							
TSH (mU/L)	<0.50	92 (22.5)	0.25	0.50	0.90	1.60	6.50
FT4 (ng/dl)	-	0	0.51	0.87	0.99	1.13	3.25
In infant serum							
TSH (mU/L)	<1.00	15 (3.4)	0.50	1.30	2.20	3.78	25.00
FT4 (ng/dl)	-	0	0.96	1.76	2.03	2.29	3.26

^a; For subjects with a level below the detection limit, we used a value equal to half the detection limit.

^b; min=minimum, P25=25th percentile, med=median, P75=75th percentile, max=maximum

Table 4. Results of multiple linear regression analyses in maternal serum TSH and FT4 by PFOS and PFOA levels

variables	log _e transformed TSH			log _e transformed FT4		
	Crude		Adjusted ^a	Crude		Adjusted ^a
	B	p value	B	p value	B	p value
log _e transformed PFOS (ng/ml)	-0.324	<0.001	-0.315	0.001	0.041	0.095
log _e transformed PFOA (ng/ml)	0.130	0.062	0.057	0.448	-0.001	0.969
					0.033	0.203
					0.011	0.600

^a; adjusted for age at delivery, BMI, parity, educational duration, alcohol consumption and smoking.

Table 5. Results of multiple linear regression analyses in infant serum TSH and FT4 by PFOS and PFOA levels

variables	log _e transformed TSH			log _e transformed FT4		
	Crude		Adjusted ^a	Crude		Adjusted ^a
	B	p value	B	p value	B	p value
Among all infants						
log _e transformed PFOS (ng/ml)	0.084	0.265	0.097	0.207	-0.011	0.560
log _e transformed PFOA (ng/ml)	-0.077	0.189	-0.016	0.796	0.012	0.426
						0.233
						0.188
Among boys						
log _e transformed PFOS (ng/ml)	0.243	0.037	0.291	0.015	-0.022	0.433
log _e transformed PFOA (ng/ml)	-0.194	0.032	-0.145	0.144	0.002	0.912
						0.366
						0.409
Among girls						
log _e transformed PFOS (ng/ml)	-0.072	0.459	-0.096	0.345	-0.004	0.898
log _e transformed PFOA (ng/ml)	0.044	0.571	0.077	0.355	0.022	0.304
						0.570
						0.256

^a; adjusted for gestational weeks, birth weight, maternal age at delivery, BMI, parity, educational duration, alcohol consumption and smoking.

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

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
研究分担者 梶原 淳睦 福岡県保健環境研究所専門研究員

研究要旨

低濃度曝露での PCB・ダイオキシン類による次世代影響（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。

【研究協力者】

鷲野 考揚、佐々木成子、湯浅 資之、
吉岡 英治、小西 香苗
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
吉村 健清、中川 礼子、平川 博仙、
堀 就英、芦塚 由紀、村田 さつき、
松枝 隆彦、飛石 和夫、安武 大輔
福岡県保健環境研究所

A. 研究目的

PCB・ダイオキシン類は難分解性で蓄積性があり、ヒトへの健康影響が懸念されている。動物実験においては免疫系への負の影響として、免疫グロブリン産生抑制などが報告されている。ヒトにおける免疫系への影響を見た疫学研究はまだ数が少なく限られており、特に化学物質に感受性の高いこどもにおける検討は急務である。ダイオキシン類の次世代影響（こどもの免疫およびアレルギー疾患への影響）を検討する目的で、低濃度曝露での母体血中ダイオキシン類濃度と臍帯血 IgE との関連を検討した。

B. 研究方法

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・高分解能マススペクトロメトリー（HRGC/HRMS）で測定した。ダイオキシン類の濃度は、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・ダイオキシン類、臍帯血 IgE 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結果を表 1 に、続いて性別にて層化した重回帰分析の結果を表 2、3 に示す。なお検出限界以下に関してはダイオキシン類濃度、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。

（倫理面への配慮）

本研究はすべての対象者のインフォームドコンセントを得て行われ、北海道大学医学部の疫学研究における倫理委員会の承認を得て行われた。

C. 研究結果

表 1 の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、表 2 の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。表 3 の女児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 との間に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。

D. 考察

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報告は数が少なく、オランダの 2 コホートでは、感染症の増加とアレルギー疾患の減少との関連を示し、感染症の増加が免疫を成熟させ、その結果アレルギー発症が抑制されると考察している¹⁾²⁾。一方で、我々の今回の解析結果は胎児期に既に IgE 産生が抑制されている可能性を示唆した。

また、臍帯血 IgE との関連を検討した報告は過去にスロバキアの横断研究 1 報告のみで³⁾、胎盤中 PCB118 濃度と臍帯血 IgE とに正の関連が見られたことを報告している。しかし、この研究報告は、横

断研究であること、また臍帯血 IgE に影響をおよぼす交絡要因の検討をしていない点が研究の限界である。今回の我々の報告は、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る。

また、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。ダイオキシン類濃度と出生体重減少との関連の検討の過去の報告では、男児において出生体重減少が強く見られたとの報告もある⁴⁾ことから、男児は女児に比べて PCB・ダイオキシン類に対して感受性が高い可能性が示唆された。

今回我々は、免疫・アレルギーの指標として臍帯血 IgE を使用したが、胎児期はまだ IgE 産生能が低く、IgE 産生減少が将来のアレルギー減少になるか否かはっきりとした結論が得られていないため、今後前向きにアレルギー疾患・感染症の有病率との関連に関して調査を継続し評価していく必要がある。

本研究の限界としては、サンプルサイズが小さいことが挙げられる。

参考文献

1. Weisglas-Kuperus N, Patandin S, Berbers GA, Sas TC, Mulder PG, Sauer PJ, Hooijkaas H. Immunologic effects of background exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins in Dutch preschool children. *Environmental Health Perspectives*. 2000;108:1203-1207
2. ten Tusscher GW, Steerenberg PA, van Loveren H, Vos JG, von dem Borne AE, Westra M, van der Slikke JW, Olie K, Pluim HJ, Koppe JG. Persistent hematologic and

immunologic disturbances in 8-year-old Dutch children associated with perinatal dioxin exposure.

Environ Health Perspect. 2003;111:1519-1523.

3. Reichrtova E, Ciznar P, Prachar V, Palkovicova L, Veningerova M. Cord serum immunoglobulin E related to the environmental contamination of human placentas with organochlorine compounds. Environmental Health Perspectives. 1999;107:895-899
4. Hertz-Picciotto I, Charles MJ, James RA, Keller JA, Willman E, Teplin S. 2005. In-utero polychlorinated biphenyl exposures in relation to fetal and early childhood growth. Epidemiology 16:648-656.

E. 結論

男児において胎児期の低濃度 PCB・ダイオキシン曝露と臍帯血 IgE 濃度とに負の関連が見られた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

①鷺野考揚、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

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

表 1、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、n=235）

	Cord serum IgE	
	β [95%CI]	p-Value
PCDDs		
2,3,7,8-TCDD	-0.295[-0.657,0.067]	0.110
1,2,3,7,8-PeCDD	-0.079[-0.515,0.358]	0.722
1,2,3,4,7,8-HxCDD	-0.308[-0.721,0.105]	0.143
1,2,3,6,7,8-HxCDD	-0.190[-0.655,0.275]	0.421
1,2,3,7,8,9-HxCDD	-0.080[-0.403,0.242]	0.624
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-0.055[-0.578,0.468]	0.836
OCDD	0.342[-0.166,0.849]	0.186
PCDFs		
2,3,7,8-TCDF	0.229[-0.212,0.669]	0.307
1,2,3,7,8-PeCDF	0.098[-0.496,0.691]	0.745
2,3,4,7,8-PeCDF	0.040[-0.413,0.494]	0.861
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.043[-0.318,0.404]	0.813
1,2,3,6,7,8-HxCDF	-0.196[-0.550,0.157]	0.275
2,3,4,6,7,8-HxCDF	-0.029[-1.142,1.085]	0.960
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND	ND
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.020[-0.261,0.301]	0.888
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND	ND
OCDF	0.162[-1.447,1.770]	0.843
Non-ortho PCBs		
3,3',4',4'-TCB(77)	0.331[-0.018,0.679]	0.063
3,4,4',5-TCB(81)	ND	ND
3,3',4,4',5-PeCB(126)	-0.066[-0.374,0.242]	0.673
3,3',4,4',5,5'-HxCB(169)	0.184[-0.200,0.568]	0.346
Mono-ortho PCBs		
2,3,3',4,4'-PeCB(105)	-0.086[-0.439,0.267]	0.632
2,3,4,4',5-PeCB(114)	-0.165[-0.510,0.181]	0.348
2,3',4,4',5-PeCB(118)	-0.055[-0.421,0.311]	0.768
2',3,4,4',5-PeCB(123)	-0.137[-0.431,0.158]	0.361
2,3,3',4,4',5-HxCB(156)	0.072[-0.377,0.522]	0.751
2,3,3',4,4',5'-HxCB(157)	-0.048[-0.464,0.368]	0.820
2,3',4,4',5,5'-HxCB(167)	-0.023[-0.430,0.383]	0.910
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(189)	0.058[-0.359,0.475]	0.786
Total		
Total PCDDs	0.311[-0.211,0.834]	0.242
Total PCDFs	-0.072[-0.718,0.573]	0.826
Total PCDDs/PCDFs	0.307[-0.225,0.839]	0.257
Total non-ortho PCBs	0.096[-0.347,0.539]	0.669
Total mono-ortho PCBs	-0.031[-0.441,0.378]	0.880
Total coplanar PCBs	-0.031[-0.441,0.379]	0.882
Total	0.075[-0.374,0.523]	0.743
WHO-2005		
Total PCDDs TEQ	-0.184[-0.698,0.329]	0.480
Total PCDFs TEQ	-0.017[-0.556,0.521]	0.950
Total PCDDs/PCDFs TEQ	-0.155[-0.691,0.381]	0.569
Total non-ortho PCBs TEQ	-0.048[-0.385,0.289]	0.778
Total mono-ortho PCBs TEQ	-0.003[-0.412,0.407]	0.989
Total coplanar PCBs TEQ	-0.022[-0.367,0.323]	0.900
Total TEQ	-0.131[-0.623,0.362]	0.602

母年齢、母親のアレルギーの既往、父親のアレルギーの既往、妊娠中喫煙状況、出産順位、性別、在胎週数、遠洋魚の摂取頻度、住居の幹線道路からの距離、採血時期で調整

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

表2、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、男児のみ、n=112）

	Cord serum IgE	
	β [95%CI]	p-Value
PCDDs		
2,3,7,8-TCDD	-0.995[-1.535,-0.456]	<0.001**
1,2,3,7,8-PeCDD	-0.676[-1.375,0.023]	0.058
1,2,3,4,7,8-HxCDD	-0.660[-1.268,-0.051]	0.034*
1,2,3,6,7,8-HxCDD	-0.684[-1.499,0.082]	0.080
1,2,3,7,8,9-HxCDD	-0.080[-0.403,0.242]	0.334
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-0.176[-0.954,0.602]	0.654
OCDD	-0.020[-0.757,0.717]	0.957
PCDFs		
2,3,7,8-TCDF	0.276[-0.376,0.928]	0.403
1,2,3,7,8-PeCDF	-0.897[-1.841,0.047]	0.062
2,3,4,7,8-PeCDF	-1.217[-2.001,-0.433]	0.003**
1,2,3,4,7,8-HxCDF	-0.263[-0.859,0.334]	0.384
1,2,3,6,7,8-HxCDF	-0.542[-1.088,0.003]	0.051
2,3,4,6,7,8-HxCDF	-1.280[-2.872,0.311]	0.114
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND	ND
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	-0.142[-0.578,0.295]	0.521
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND	ND
OCDF	0.192[-1.533,1.917]	0.825
Non-ortho PCBs		
3,3',4',4'-TCB(77)	0.216[-0.371,0.804]	0.467
3,4,4',5'-TCB(81)	ND	ND
3,3',4,4',5'-PeCB(126)	-0.433[-0.900,0.034]	0.069
3,3',4,4',5,5'-HxCB(169)	-0.496[-1.163,0.171]	0.143
Mono-ortho PCBs		
2,3,3',4,4'-PeCB(105)	-0.402[-0.936,0.132]	0.138
2,3,4,4',5'-PeCB(114)	-0.472[-1.153,0.209]	0.172
2,3',4,4',5'-PeCB(118)	-0.418[-0.993,0.157]	0.157
2',3,4,4',5'-PeCB(123)	-0.369[-0.800,0.062]	0.093
2,3,3',4,4',5'-HxCB(156)	-0.566[-1.348,0.216]	0.154
2,3,3',4,4',5'-HxCB(157)	-0.610[-1.283,0.063]	0.075
2,3',4,4',5,5'-HxCB(167)	-0.476[-1.136,0.184]	0.156
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(189)	-0.463[-1.163,0.238]	0.193
Total		
Total PCDDs	-0.061[-0.821,0.700]	0.875
Total PCDFs	-1.097[-2.127,-0.067]	0.037*
Total PCDDs/PCDFs	-0.088[-0.866,0.689]	0.822
Total non-ortho PCBs	-0.587[-1.305,0.132]	0.108
Total mono-ortho PCBs	-0.482[-1.137,0.172]	0.147
Total coplanar PCBs	-0.484[-1.140,0.171]	0.146
Total	-0.521[-1.275,0.234]	0.174
WHO-2005		
Total PCDDs TEQ	-1.008[-1.822,-0.194]	0.016*
Total PCDFs TEQ	-1.229[-2.113,-0.344]	0.007**
Total PCDDs/PCDFs TEQ	-1.144[-2.006,-0.282]	0.010*
Total non-ortho PCBs TEQ	-0.498[-1.017,0.021]	0.060
Total mono-ortho PCBs TEQ	-0.482[-1.137,0.172]	0.147
Total coplanar PCBs TEQ	-0.514[-1.047,0.019]	0.058
Total TEQ	-1.011[-1.794,-0.229]	0.012*

母年齢、母親のアレルギーの既往、父親のアレルギーの既往、妊娠中喫煙状況、出産順位、在胎週数、遠洋魚の摂取頻度、住居の幹線道路からの距離、採血時期で調整。*p<0.05, **p<0.01.

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

表3、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、女児のみ、n=123）

	Cord serum IgE	
	β [95%CI]	p-Value
PCDDs		
2,3,7,8-TCDD	0.204[-0.307,0.715]	0.431
1,2,3,7,8-PeCDD	0.300[-0.302,0.902]	0.325
1,2,3,4,7,8-HxCDD	-0.073[-0.677,0.532]	0.811
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.139[-0.480,0.759]	0.657
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.083[-0.390,0.555]	0.730
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	-0.164[-0.954,0.625]	0.681
OCDD	0.625[-0.146,1.396]	0.111
PCDFs		
2,3,7,8-TCDF	0.137[-0.503,0.776]	0.673
1,2,3,7,8-PeCDF	0.704[-0.111,1.519]	0.090
2,3,4,7,8-PeCDF	0.595[0.027,1.162]	0.040*
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.282[-0.219,0.784]	0.267
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.050[-0.454,0.554]	0.844
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.164[-0.575,2.904]	0.187
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND	ND
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.143[-0.254,0.540]	0.477
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND	ND
OCDF	ND	ND
Non-ortho PCBs		
3,3',4',4'-TCB(77)	0.370[-0.097,0.838]	0.119
3,4,4',5'-TCB(81)	ND	ND
3,3',4,4',5'-PeCB(126)	0.191[-0.242,0.624]	0.384
3,3',4,4',5,5'-HxCB(169)	0.482[-0.005,0.970]	0.052
Mono-ortho PCBs		
2,3,3',4,4'-PeCB(105)	0.134[-0.370,0.639]	0.599
2,3,4,4',5'-PeCB(114)	-0.144[-0.572,0.284]	0.506
2,3',4,4',5'-PeCB(118)	0.160[-0.347,0.668]	0.533
2',3,4,4',5'-PeCB(123)	0.094[-0.328,0.516]	0.659
2,3,3',4,4',5'-HxCB(156)	0.392[-0.195,0.979]	0.188
2,3,3',4,4',5'-HxCB(157)	0.283[-0.294,0.861]	0.333
2,3',4,4',5,5'-HxCB(167)	0.251[-0.292,0.794]	0.362
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(189)	0.296[-0.260,0.852]	0.294
Total		
Total PCDDs	0.594[-0.198,1.386]	0.140
Total PCDFs	0.590[-0.313,1.493]	0.198
Total PCDDs/PCDFs	0.607[-0.195,1.410]	0.136
Total non-ortho PCBs	0.479[-0.110,1.067]	0.110
Total mono-ortho PCBs	0.230[-0.330,0.790]	0.418
Total coplanar PCBs	0.232[-0.329,0.792]	0.415
Total	0.375[-0.219,0.970]	0.214
WHO-2005		
Total PCDDs TEQ	0.332[-0.376,1.039]	0.355
Total PCDFs TEQ	0.643[-0.065,1.352]	0.075
Total PCDDs/PCDFs TEQ	0.427[-0.299,1.153]	0.246
Total non-ortho PCBs TEQ	0.251[-0.217,0.719]	0.290
Total mono-ortho PCBs TEQ	0.230[-0.330,0.790]	0.418
Total coplanar PCBs TEQ	0.254[-0.224,0.732]	0.295
Total TEQ	0.406[-0.265,1.076]	0.233

母年齢、母親のアレルギーの既往、父親のアレルギーの既往、妊娠中喫煙状況、出産順位、在胎週数、遠洋魚の摂取頻度、住居の幹線道路からの距離、採血時期で調整。*p<0.05, **p<0.01.

MATERNAL SMOKING, 5, 10-MTHFR 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

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

We evaluated the link between maternal, smoking status, *MTHFR* (C677T) polymorphism and the role of periconceptional folic acid supplementation in modulating maternal folate status and infant birthweight.

Results showed that smokers with the T alleles of *MTHFR* (C677T) genotype had reduced serum folate levels especially among non-supplement users and this improved with supplement usage. Smokers who never used supplements had more reductions in their infants' birthweights than supplement users.

Therefore, the use of periconceptional folic acid supplements could be beneficial among pregnant women who smoke.

研究協力者

Thamar Ayo Yila、佐々木成子、
湯浅 資之、吉岡 英治、
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

A. 研究目的

Cigarette smoking during pregnancy is a well established risk factor for adverse birth outcomes via diverse mechanisms.^{1, 2} Smokers tend to be nutritionally deficient in vitamins including folate and antioxidants.²

Folate is central for cell viability and survival, and because pregnancy is characterized by widespread cell divisions and replications for fetal growth and development, demand for folate increases during pregnancy. Folate deficiency leads to accumulation of homocysteine, a metabolite which has been documented to be linked with adverse birth outcomes including low birthweight. Folate deficiency can arise

from poor dietary intake.

It has been recognized also, that genetic factors such as folate-related gene polymorphism is associated with metabolic folate deficiency.

The proven efficacy of folic acid supplement use in the prevention of Neural Tube Defects (NTDs) and other adverse pregnancy outcomes has been well documented.³ However, studies of interactions between folate-related genetic factors and cigarette smoking in relation to pregnancy outcomes are scarce. So also are studies related to the interactions between supplement use and smoking status on birth outcomes and those available give conflicting results.^{7, 9}

This study was aimed at determining whether maternal cigarette smoking would interact with *MTHFR* (C677T) mutations to modulate maternal folate levels and infants' birthweights, as well as evaluating possible interaction

between smoking status and use of periconceptional folic acid supplements.

B. 研究方法

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. Data analysis was performed using SPSS version 16.0 for Windows. *p* value <0.05 was considered statistically significant.

（倫理面への配慮）

This study was conducted with the informed consent of all subjects. The study protocol was approved by the institutional ethical board for human gene and genome studies of the Hokkaido University Graduate School of Medicine.

C. 研究結果

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 (Table1). 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 ($p = 0.001$) (Data not shown).

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, $p = 0.001$) (Table 2).

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 ($p = 0.152$) (Table 3).

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 ($p = 0.001$) (Table 4).

Infant birthweight was also reduced with a marginal significance ($p = 0.075$) (Table 5).

D. 考察

This study further confirmed previous findings about associations between maternal smoking and

MTHFR (C677T) gene polymorphisms in relation to folate status.^{4, 5} Serum folate status is especially most depleted among non-supplement users. This is biologically plausible since exogenous folate is known to increase serum folate levels^{3, 8}. Reduction in folate levels despite supplement use as observed among smokers, could infer that higher doses of supplements may be required by this group to correct such folate deficit.

This study also showed that smokers who never used periconceptional folic acid supplements tended towards more reductions in their infants' birthweights. Previous studies examined the effects of interactions between supplement use and smoking status on birth outcomes. The odds ratios for fetal death associated with smoking were modified by supplement use.^{7, 9}

The findings in this study, however, must be interpreted with caution since the composition and dose of the supplements was unknown and information on maternal smoking and supplement use was self-reported. The possible effects of other forms of supplements used by the subjects could have affected the result too.

Although smoking has been identified as an independent risk factor for low birth weight, it is expected that its interaction with *MTHFR* (C677T) polymorphism should have more deleterious effect on infant's birthweight, but seemed to have little effect in this study. This vague nature of the result could be due to selection bias. Increasing the sample size and

repeating this analysis may clearly spell out the effect.

Future study should consider a nested case-control study design with adequate sample size to also demonstrate the possibility of producing clearer results after controlling for major setbacks observed in this study.

E. 結論

The use of periconceptional folate or folate containing B-vitamin supplements could be beneficial to pregnant women who smoke.

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

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).

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

H. 参考文献

1. I. Lambers, D. S. Clarke, K. E. The maternal and fetal physiologic effects of nicotine. *Semin. Perinatol* 1996; 20: 115-126.
2. Cogswell ME, Weisberg P and Spong C: Cigarette Smoking, Alcohol Use and Adverse Pregnancy Outcomes: Implications for Micronutrient Supplementation. *J. Nutr* 2003; 133: 1722S-1731S.
3. Charles DHM, Ness AR, Campbell D, Smith DG, Whitley E, Hall MH: Folic acid supplements in pregnancy and birth outcome: re-analysis of a large randomised controlled trial and update of Cochrane Review. *Paediatric and Perinatal Epidemiology* 2005; 19: 112-124.
4. Brown KS, Kluijtmans LAJ, Young IS, Murray L, McMaster D, Woodside JV, Yarnell JWG, Boreham CA, McNulty H, Strain JJ, McPartlin J, Scott JM, Laura E. Mitchell LE, Whitehead AS: The 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism interacts with smoking to increase homocysteine, *Atherosclerosis* 2004; 174: 315-322.
5. McDonald SD, Perkins SL, Jodouin CA, MLT, Walker MC: Folate levels in pregnant women who smoke: An important gene/environment interaction. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187: 620-625.
6. Hobbs CA, James JS, Jernigan S, BS, Stepan Melnyk, Lu Y, MS, Malik S, Cleves MA: Congenital heart defects, maternal homocysteine, smoking, and the 677C>T polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: Evaluating gene-environment interactions. *Am J Obstet Gynecol* 2006; 194: 218-224.
7. Wu T, Buck G, and Mendola P: Maternal Cigarette Smoking, Regular Use of Multivitamin/Mineral Supplements, and Risk of Fetal Death. The 1988 National Maternal

- and Infant Health Survey: *Am J Epidemiol* 1998; 148:215-21.
8. KN Kim, YJ Kim, and N Chang: Effects of the interaction between the C677T 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and serum B vitamins on homocysteine levels in pregnant women. *European Journal of Clinical Nutrition* 2004; 58: 10-16.
 9. Wu, T., Buck, G. & Mendola, P. Can regular multivitamin/mineral supplementation modify the relation between maternal smoking and select adverse birth outcomes? *Ann. Epidemiol* 1998; 8: 175-183.

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

Table 1: Characteristics of 1016 mothers by maternal smoking status during pregnancy

Characteristic	Maternal smoking status during pregnancy		p value
	Nonsmoker	Smoker	
	N = 890	N = 126	
	Mean (SD)	Mean (SD)	
Maternal age (years)	30.2 (4.4)	29.8 (4.1)	0.435 [§]
Maternal height (cm)	150 (10)	150 (10)	0.082 [§]
Maternal BMI (kg/m ²)	21.2 (3.3)	21.1 (3.4)	0.620 [§]
Maternal serum folate (ng/ml)	7.6 (3.0)	6.9 (2.2)	0.007 [§]
Gestational age (wks)	38.8 (1.4)	38.6 (1.3)	0.400 [§]
Birth weight (g)	3087 (408)	2988 (419)	0.011 [§]
	N (%)	N (%)	
Infant gender			
Male	449 (50.4)	58 (46.0)	
Female	441 (49.6)	68 (54.0)	0.353 [†]
Parity			
0	638 (71.7)	102 (81.0)	
≥1	252 (28.3)	24 (19.0)	0.029 [†]
Educational level (years)			
<9	463 (52.1)	61 (48.4)	
9- < 18	366 (41.1)	55 (43.6)	
≥ 18	61 (6.8)	10 (8.0)	0.728 [†]
Annual income (million yen)			
< 3	199 (22.4)	29 (23.0)	
3- < 5	392 (44.0)	50 (40.0)	
5- < 8	234 (26.3)	39 (31.0)	
≥ 8	65 (7.3)	8 (6.0)	0.674 [†]
Alcohol intake during pregnancy			
No	521 (58.5)	78 (61.9)	
Yes	369 (41.5)	48 (38.1)	0.472 [†]
Periconceptional supplement use			
Non-user	810 (91.0)	117 (92.9)	
User	80 (9.0)	9 (7.1)	0.493 [†]
Genotype <i>MTHFR</i> (C677T)			
CC	333 (37.4)	43 (34.0)	
CT	412 (46.3)	58 (46.0)	
TT	145 (16.3)	25 (20.0)	
CT/TT	557 (62.6)	83 (66.0)	0.561 [†]

[§]t-test, [†]χ²-test

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

Table 2: Multiple linear regression analysis of maternal serum folate status and infant birthweight by maternal smoking status and periconceptional folic acid supplement use.

Smoking status	Supplement Use	N	Maternal serum folate (ng/ml)		Infant birthweight (g)	
			β (SE)	<i>p</i> value	β (SE)	<i>p</i> value
Nonsmoker	User	80	Referent		Referent	
Nonsmoker	Nonuser	810	-2.7 (0.3)	0.001	-115(45)	0.061
Smoker	User	9	-2.6 (1.0)	0.008	-186 (57)	0.012
Smoker	Nonuser	117	-3.3 (0.4)	0.001	-248 (132)	0.001

Adjusted for Maternal age, maternal height, BMI, parity, educational level, annual income, alcohol intake, infant sex and gestational age.

Table 3: Multiple linear regression analysis of maternal serum folate status and infant birthweight by maternal *MTHFR* (C677T) genotype and periconceptional folic acid supplement use.

Supplement Use	<i>MTHFR</i> (C677T) genotype	N	Maternal serum folate (ng/ml)		Infant birthweight (g)	
			β (SE)	<i>p</i> value	β (SE)	<i>p</i> value
User	CC	33	Referent		Referent	
Nonuser	CC	343	-2.8 (0.5)	0.001	-82(69)	0.234
User	CT/TT	56	-0.8 (0.6)	0.205	-10(82)	0.903
Nonuser	CT/TT	584	-3.2 (0.5)	0.001	-100(70)	0.152

Adjusted for Maternal age, maternal height, BMI, parity, educational level, annual income, alcohol intake, infant sex and gestational age.

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

Table 4: Association between maternal smoking status and *MTHFR* C677T genotype in relation to maternal serum folate status.

Smoking Status	<i>MTHFR</i> (C677T) genotype	N	Model I		Model II	
			Maternal serum folate (ng/ml) β (SE)	<i>p</i> value	Maternal serum folate (ng/ml) β (SE)	<i>p</i> value
Nonsmoker	CC	333	Referent		Referent	
Nonsmoker	CT/TT	557	-0.3 (0.2)	0.056	-0.4 (0.5)	0.045
Smoker	CC	43	-0.3 (0.5)	0.461	-0.3 (0.5)	0.407
Smoker	CT/TT	83	-1.2 (0.4)	0.001	-1.2 (0.3)	0.001

Model I: Adjusted for Maternal age, maternal height, BMI, parity, maternal educational level, annual income, alcohol intake during pregnancy, infant sex and gestational age.

Model II: Additional adjustment for periconceptional folic acid supplement intake.

Table 5: Association between maternal smoking status and *MTHFR* C677T genotype in relation to infant birthweight.

Smoking status	<i>MTHFR</i> (C677T) genotype	N	Model I		Model II	
			Infant birthweight (g) β (SE)	<i>p</i> value	Infant birthweight (g) β (SE)	<i>p</i> value
Nonsmoker	CC	333	Referent			
Nonsmoker	CT/TT	557	11 (28)	0.693	11(28)	0.697
Smoker	CC	43	-95 (66)	0.151	-97 (66)	0.145
Smoker	CT/TT	83	-92 (51)	0.068	-89 (50)	0.075

Model I: Adjusted for Maternal age, maternal height, BMI, parity, maternal educational level, annual income, alcohol intake during pregnancy, infant sex, and gestational age.

Model II: Additional adjustment for periconceptional folic acid supplement intake.