

200941010A

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、停留精巢のリスク要因と  
環境化学物質に対する感受性の解明

平成 21 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保健科学部生活化学課

梶原 淳睦

いであ株式会社環境創造研究所環境リスク研究センター

松村 徹

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

吉岡 英治

平成 22 (2010) 年 3 月

# 目 次

I. はじめに .....	1
II. 総括研究報告	
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	
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，吉岡 英治ほか) .....	15
2. 母体血中ダイオキシン類濃度の出生時体重への影響 (岸 玲子，梶原 淳睦，吉岡 英治ほか) .....	24
3. 胎児期のダイオキシン類曝露が乳幼児期アレルギー症状および感染症へ与える影響 (岸 玲子，梶原 淳睦，吉岡 英治ほか) .....	30
4. 胎児期有機フッ素化合物曝露が胎児発育へ及ぼす影響 (岸 玲子，吉岡 英治ほか) .....	37
5. 有機フッ素化合物の胎児期曝露による免疫アレルギーへの影響 ー乳幼児期のアレルギー症状と感染症，および臍帯血 IgE との関連ー (岸 玲子，吉岡 英治ほか) .....	44
6. 難分解性有機塩素系農薬の妊婦の曝露状況に関する研究 (岸 玲子，松村 徹，吉岡 英治ほか) .....	56
7. 妊婦血液中のダイオキシン，PCB 類及び水酸化 PCB(OH-PCB)濃度 (梶原 淳睦ほか) .....	65
8. 血液中のビスフェノール A(BPA)及び 4-ノニルフェノール(NP)の分析法の開発 (松村 徹ほか) .....	76
9. 妊婦の妊娠初期葉酸値の経年変化および喫煙の影響 (岸 玲子，吉岡 英治ほか) .....	85
10. 妊婦の喫煙と血中ダイオキシン類濃度との関連 (岸 玲子，梶原 淳睦，吉岡 英治ほか) .....	93
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表 .....	102

## I はじめに

平成14年に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研究は、これまで平成14年度からの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年度からの厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）の支援により、「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」として進めて参りました。さらに、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が、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。また、世界的にも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、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・PCB類、水酸化PCB類、有機フッ素化合物（PFOS・PFOA）および農薬の測定を行いました。今後、母体血および臍帯血中のビスフェノールA、有機フッ素化合物（PFDA・PFNA・PFHxS・PFUnDA）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生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。さらに、生後数年間、児を追跡してより詳細な研究を進め、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）代謝酵素類の遺伝子多型にも修飾されることが考えられ、ダイオキシンや喫煙の曝露ではこの点についての検討もしてきました。こうした研究は、同じ曝露濃度でも遺伝的ハイリスク群である者には、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ます。

本研究は北海道内広範囲の産婦人科医療機関の御協力で進められております。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有病率の推移や地理的分布も分かります。本研究のような広域な地域をベースに胎児期から立ち上げ、次世代の子どもへの種々の影響を大きなサンプルサイズで追跡し、先天異常をモニタリングしながら環境測定を行っている研究は世界的にも初めてです。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、将来的には、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うと思ひます。

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22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，前向きコホート研究で妊娠中の母親への環境化学物質曝露が胎児および乳幼児への健康に及ぼす影響を解明して，健康障害を予防する方策を明らかにすることを目的としている。妊娠初期の12週までに同意を得た妊婦から採血し，PCB・ダイオキシン類や有機フッ素化合物，ビスフェノールAなどの環境化学物質濃度を測定して，先天異常の有無など出生時点での児への影響を確認することにより，環境化学物質との直接的因果関係を評価することが可能となる。平成14年1月から平成21年12月末までの参加妊婦18,466人のうち，既に出産が終わり新生児個票が提出された15,220人において，先天異常の児総数は290人，マーカー異常206件，その他の異常109件，先天異常を有する児の出産頻度は1.91%であった。最も頻度が高かった先天異常は，先天性心疾患で53人，うち頻度が高いのは心室中隔欠損症23人，心房中隔欠損症7人，動脈管開存症6人，ファロー四徴症4人，肺動脈閉鎖症4人であった。続いて頻度順にダウン症候群18人，口唇口蓋裂16人，水腎症14人，多指症13人，停留精巣12人，横隔膜ヘルニア8人，口蓋裂8人，合趾症7人であった。

ダイオキシン類曝露の次世代影響について，母体血中ダイオキシン・PCB類の胎児発育への影響では，10倍Total PCDFs濃度が上昇すると出生時体重が有意に減少し，TEQレベルでは，Total PCDDs TEQ，Total PCDFs TEQ，Total PCDDs/PCDFs TEQ，Total TEQにおいて出生時体重が有意に減少した。児の性別で層別して解析すると，男児においてのみ負の関連が認められ，女児では有意な関連がみられなかった。さらに，異性体レベルで検討すると，2,3,4,7,8-PeCDFで出生時体重に有意な減少が認められ，異性体レベルで及ぼす負の影響を初めて明らかにした。低レベルの母体血中ダイオキシン類の異性体別濃度と18ヵ月児の感染症（中耳炎）リスクとの関連を検討するため，妊娠中の母体血中ダイオキシン類濃度と生後18ヵ月までの感染症（中耳炎）の累積罹患率との関連を検討した。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名について解析を行ったところ，交絡因子を調整したロジスティック回帰分析の結果では，母体血中2,3,4,7,8-PeCDF濃度の第1四分位に対する第4四分位の中耳炎オッズ比の有意な上昇が認められた（全体OR:2.8,95%CI:1.2-6.6；男児のみOR:5.3,95%CI:1.5-19）。したがって，低レベルの胎児期ダイオキシン類曝露による児の感染症増加には，2,3,4,7,8-PeCDFの関与が特に男児で強いことが示唆された。

有機フッ素化合物については，母体血清中有機フッ素化合物(PFOS/PFOA)濃度と臍帯血中総IgEを測定した。胎児発育への影響は，PFOS濃度と出生体重に負の関連が認められ，特に女児においてその関連が顕著にみられた。児の18ヵ月までのアレルギー症状および感染症の累積罹患率をアウトカム指標として，有機フッ素化合物の胎児期曝露との関連を検討した。母体血中PFOS・PFOA濃度の測定結果

と 18 ヶ月調査票データの両方が得られた 343 名を解析すると、PFOS・PFOA 濃度と児の 18 ヶ月までの食物アレルギー、アトピー性皮膚炎、気管支喘息、中耳炎、その他感染症とは有意な関連は認められなかった。臍帯血中 IgE 濃度と母体血中 PFOS・PFOA 濃度との関連について検討したが、関連は認められなかった。

母体血中の有機塩素系農薬のうち、DDT 類 6 種類・ドリノ類 3 種類・クロルデン類 5 種類・ヘプタクロル類 3 種類・HCH 類 4 種類・ヘキサクロロベンゼン・マイレックス・トキサフェン 6 種類を測定した。妊婦 70 名の全検体からディルドリン、*cis*-クロルデン、オキシクロルデン、*cis*-ノナクロル、*trans*-ノナクロル、*o,p'*-DDT、*p,p'*-DDT、*p,p'*-DDE、*cis*-ヘプタクロルエポキシド、HCB、 $\beta$ -HCH が検出された。さらに、国内で使用実績のないマイレックスとトキサフェン 2 種 (Parlar-26, Parlar-50) が全検体から検出された。最も高濃度に検出された物質は *p,p'*-DDE (幾何平均 697 pg/g wet) であり、次いで高値を示したものは  $\beta$ -HCH (幾何平均 168 pg/g wet) と HCB (幾何平均 105 pg/g wet) であった。

初産婦の血液中ダイオキシン・PCB 類濃度と出産後の母乳中ダイオキシン・PCB 類濃度を比較した。ダイオキシン類の総 TEQ 濃度と総 PCB 濃度および総 PCB 濃度と PCB 類の中で最も濃度の高い HexaCB 153 濃度においてそれぞれ相関が認められた。ダイオキシン類に比べはるかに高濃度であり、測定の容易な HexaCB 153 濃度がダイオキシン類の毒性評価の指標として使える可能性が示唆された。

LC/MS/MS を用いた PCB 一斉分析法で同時に OH-PCB も分析できる新たな分析法を開発した。本分析で検出された異性体別濃度と他機関で分析した検出濃度を比較したところ、良く一致したことから、本分析法は OH-PCB の分析法として有効といえる。さらに、OH-PCB 類を誘導体化せずに測定することができるため簡便であり、かつ少量の血液からダイオキシン・PCB、OH-PCB 類の一斉分析ができることから、多種類の化学物質の測定が可能であり、汚染実態の解明が期待できる。

ヒトでの科学的な根拠がこれまでほとんどなかったビスフェノール A、ノニルフェノールの生殖系、内分泌系への健康リスクについて次世代影響を含めた疫学研究を行うために、微量試料中ビスフェノール A、ノニルフェノールを迅速処理、高精度で測定する生体試料分析法を開発した。ビスフェノール A、ノニルフェノールともに回収率は良好な結果を得たが、ノニルフェノールについては操作ブランクが高い値であった。検討血液試料を同位体希釈 LC/MS/MS 法で測定したところ、血中ビスフェノール A の分析方法は確立できたが、ノニルフェノールについては試薬等由来のブランク値が高く、今後の検討課題となった。

先天異常の原因となり最も大きな交絡因子である葉酸については全例で血中濃度の測定を行った。妊娠初期血清葉酸濃度の平均値は 7.69ng/ml で、うち 3.0ng/ml 未満の「葉酸欠乏群」は 0.4%、3.0~6.0ng/ml の「葉酸低値群」は 30.4% で、葉酸が低い妊婦の割合が高いことが指摘された。葉酸値はサプリメントの摂取や世帯収入、母の教育歴、母の年齢と正の関連を認めた。葉酸サプリメントの摂取状況を見ると 2003 年には 6.7% であったのが、2005 年には 15.0% と経年的に増加しており、妊娠中の葉酸摂取の必要性が認知されてきたことが示唆された。しかし妊娠中の母の喫煙は血清葉酸値を有意に減少させることがわかった。

喫煙とダイオキシン類の関係を調べる目的で、母体血清中コチニン濃度を酵素免

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）  
総括研究報告書

疫測定法(ELISA)で測定し、自記式調査票による喫煙状況とコチニン濃度が一致した者 263 名について 3 群(非喫煙, 禁煙, 喫煙)に分類した。妊婦の喫煙状況による血中ダイオキシン類異性体濃度について検討したところ、妊娠中の喫煙と血中ダイオキシン類濃度が異性体レベルで有意な負の関連を認めた。

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  
(札幌医科大学医学部  
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)  
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  
腎泌尿器科外科学分野教授)  
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  
環境獣医科学講座毒性学分野准教授)  
梶原 淳睦  
(福岡県保健環境研究所  
保健科学部生活化学課専門研究員)  
松村 徹  
(いであ株式会社  
環境創造研究所  
環境リスク研究センター長)  
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助教)

研究協力者

佐々木 成子、坂 晋、金澤 文子、  
鷺野 考揚、小西 香苗、馬場 俊明、  
宮下 ちひろ、Yila Thamar、Brimoh  
Titilola、榎野 いく子、岡田 恵美子、  
小林 澄貴、大竹 裕子、Mariko Limpar  
(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)

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)  
長 和俊、山田 俊  
(北海道大学病院周産母子センター)  
白石 秀明  
(北海道大学病院小児科)  
馬場 剛  
(札幌医科大学産婦人科学講座)  
西條 泰明  
(旭川医科大学健康科学講座)  
宮本 敏伸  
(旭川医科大学産婦人科学講座)  
伊藤 善也  
(日本赤十字北海道看護大学  
臨床医学領域)  
花岡 知之  
(北海道療育園美幌療育病院)  
吉村 健清、千々和 勝己、黒川 陽一  
平川 博仙、堀 就英、中川 礼子、  
芦塚 由紀、新谷 依子、小野塚 大介  
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)  
山本 潤、荳木 洋一、水谷 太  
(いであ株式会社 環境創造研究所)  
中澤 裕之、斉藤 貢一、伊藤 理恵、  
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)

A. 研究目的

ヒトでの科学的な根拠が乏しかったダイオキシン類・非ダイオキシン系 PCB 類や有機フッ素化合物などの環境化学物質による先天異常や Small for Gestational

Age(SGA)および低出生体重(LBW)などとの関連について日本の疫学データをもって応えるために、北海道全域の地域病院に基づく尿道下裂、停留精巣等の先天異常モニタリング体制を立ち上げ、母体血および臍帯血の採取保存、曝露量の直接的測定を行っている。本研究では、前向きコホート研究で先天異常(マーカー奇形・異常 55 疾患)をモニタリングし、地域の病院ベースにおける先天異常発生率を把握する。保存母体血中のダイオキシン・PCB 類、有機フッ素化合物(PFOS/PFOA)、有機塩素系農薬、葉酸、コチニン濃度等を測定して、出生時体格、アレルギー性症状との関連を質問票から得た住環境、喫煙状況、食生活等を考慮して検討する。また、胎児期曝露による児への影響評価を行うため、水酸化PCB(OH-PCB)、ビスフェノールA、ノニルフェノールの測定法を開発する。

さらに、環境化学物質の代謝に関与する酵素の遺伝子多型も検討し、環境要因による先天異常発生のリスク評価、生活習慣など交絡要因の影響評価と同時に遺伝的ハイリスク群を解明して環境と遺伝の複合的評価を行う予定である。

## B. 研究方法

### 1. 先天異常発生状況

平成 14 年 1 月から北海道内の産科 40 病院で同意を得られた妊婦と新生児を登録し、平成 21 年 12 月末までに新生児個票が提出された 15,220 人を対象とした。分娩後に医療機関で記載された新生児個票から尿道下裂・停留精巣等の先天異常(マーカー奇形・異常 55 疾患)の発生率を算出した。

### 2. 母体血中ダイオキシン類濃度の出生時体重への影響

札幌市内一産科病院を受診し同意を得

た妊婦とその児を対象に、出生前向きコホート研究を実施した。対象者の属性は妊娠中期から後期に実施した自記式調査票、出生時所見は医療診療録から得た。曝露評価のため、妊娠中期から後期に採血を行い、貧血のために妊娠中に採血ができなかったものは分娩後に実施した。母体血中ダイオキシン類および PCB 類濃度は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メトリー(HRGC/HRMS)により福岡県保健環境研究所で測定した。母体血中ダイオキシン・PCB 類濃度と胎児期の発育の指標として出生体重との関連を検討した。

### 3. 胎児期のダイオキシン類曝露が乳幼児期アレルギー症状および感染症へ与える影響

札幌市内一産科病院を受診し同意を得た妊婦とその児を対象に、出生前向きコホート研究を実施した。対象者の属性は妊娠中期から後期に実施した自記式調査票、出生時所見は医療診療録から得た。また、児の 18 ヶ月時には健康調査票を送付して、母親の自記式で回答を得た(回収率 79.4%)。曝露評価のため、妊娠中期から後期に採血を行い、貧血のために妊娠中に採血ができなかったものは分娩後に実施した。母体血中ダイオキシン類異性体濃度は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メトリー(HRGC/HRMS)により福岡県保健環境研究所で測定した。低レベルの母体血中ダイオキシン類の異性体別濃度と 18 ヶ月児の感染症(中耳炎)リスクとの関連を検討するため、妊娠中の母体血中ダイオキシン類濃度と生後 18 ヶ月までの感染症(中耳炎)の累積罹患率との関連を検討した。

#### 4. 胎児期有機フッ素化合物曝露が胎児発育へ及ぼす影響

札幌市内一産科病院を受診し同意を得た妊婦とその児を対象に、出生前向きコホート研究を実施した。対象者の属性は妊娠中期から後期に実施した自記式調査票、出生時所見は医療診療録から得た。曝露評価のため、妊娠中期から後期に採血を行い、貧血のために妊娠中に採血ができなかったものは分娩後に実施した。母体血清中有機フッ素化合物(PFOS/PFOA)濃度はオンライン固相抽出-高速液体クロマトグラフィタンデム質量分析法(LC/MS/MS)により星薬科大学薬品分析化学教室で測定した。母体血中有機フッ素化合物(PFOS・PFOA)濃度と胎児期の発育の指標として出生体重との関連を検討した。

#### 5. 有機フッ素化合物の胎児期曝露による免疫アレルギーへの影響-乳幼児期のアレルギー症状と感染症、および臍帯血IgEとの関連-

札幌市内一産科病院を受診し同意を得た妊婦とその児を対象に、出生前向きコホート研究を実施した。対象者の属性は妊娠中期から後期に実施した自記式調査票、出生時所見は医療診療録から得た。また、児の18ヵ月時には健康調査票を送付して、母親の自記式で回答を得た(回収率79.4%)。曝露評価のため、妊娠中期から後期に採血を行い、貧血のために妊娠中に採血ができなかったものは分娩後に実施した。母体血清中有機フッ素化合物(PFOS/PFOA)濃度はオンライン固相抽出-高速液体クロマトグラフィタンデム質量分析法(LC/MS/MS)により星薬科大学薬品分析化学教室で測定した。出生時に臍帯血を採取し、酵素免疫測定法(ELISA)により(株)エスアールエルで総IgEを高感度に測定した。児の18ヵ月

までのアレルギー症状および感染症の累積罹患率をアウトカム指標として、有機フッ素化合物の胎児期曝露との関連を検討した。

#### 6. 難分解性有機塩素系農薬の妊婦の曝露状況に関する研究

札幌市内一産科病院を受診し同意を得た妊婦を対象に、出生前向きコホート研究を実施した。対象者の属性は妊娠中期から後期に実施した自記式調査票から得た。曝露評価のため、妊娠中期から後期に採血を行い、貧血のために妊娠中に採血ができなかったものは分娩後に実施した。母体血中の有機塩素系農薬のうち、DDT類6種類・ドリノ類3種類・クロルデン類5種類・ヘプタクロル類3種類・HCH類4種類・ヘキサクロロベンゼン・マイレックスの濃度を高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/HRMS)により、また、トキサフェン6種類をガスクロマトグラフィー/負イオン化学イオン化質量分析計(GC/NCIMS)により、いであ(株)環境創造研究所で測定した。

#### 7. 妊婦血液中のダイオキシン、PCB類及び水酸化PCB(OH-PCB)濃度

札幌市内一産科病院を受診し同意を得た妊婦を対象として、ダイオキシン類及び非ダイオキシン様PCB類の異性体ごとに濃度を測定した母体血426件、母乳250件のデータベースから119名の初産婦を抽出した。血液中ダイオキシン、PCB類濃度と出産後の母乳中ダイオキシン、PCB類濃度を比較して、母体から母乳へのダイオキシン類の移行および濃度の相関について解析した。

さらに、血液および母乳中ダイオキシン及びPCB類一斉分析方法の精製工程を精査しOH-PCBの精製法を開発した。市販のOH-PCB標準物質を用いて、精

製工程での分画を精査し、また、LC/MS/MSでOH-PCBを測定するための分離用カラムと泳動バッファーについても検討した。

#### 8. 血液中のビスフェノールA(BPA)及び4-ノニルフェノール(NP)の分析法の開発

ヒトでの科学的な根拠がこれまでほとんどなかったBPA、NPの生殖系、内分泌系への健康リスクについて次世代影響を含めた疫学研究を行うために、微量試料中BPA、NPを迅速処理、高精度で測定する生体試料分析法を開発した。正確かつ低濃度に対応可能な感度を得られる手法として内標準物質を用いた同位体希釈LC/MS/MS法を採用し、各種基礎試験を行った。対象物質のピーク形状、保持時間等を考慮し、BPAとNPは別々の条件で測定を行った。

#### 9. 妊婦の妊娠初期葉酸値の経年変化および喫煙の影響

北海道内の産科40病院で同意を得られた妊婦を対象に、出生前向きコホート研究を実施した。対象者の属性は妊娠初期に実施した自記式調査票、出生時所見は新生児個票から得た。曝露評価のため、妊娠初期に採血を行い、母体血中葉酸濃度はCompetitive protein binding (CPB) chemiluminescence assayにより(株)エスアールエルで測定した。

#### 10. 妊婦の喫煙と血中ダイオキシン類濃度との関連

札幌市内一産科病院を受診し同意を得た妊婦を対象に、出生前向きコホート研究を実施した。対象者の属性は妊娠中期から後期に実施した自記式調査票から得た。曝露評価のため、妊娠中期から後期に採血を行い、貧血のために妊娠中に採

血ができなかったものは分娩後に実施した。母体血中ダイオキシン類異性体濃度は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メトリー(HRGC/HRMS)により福岡県保健環境研究所で測定した。母体血清中コチニン濃度を酵素免疫測定法(ELISA)により測定し、自記式調査票による喫煙状況とコチニン濃度が一致した者を3群(非喫煙、禁煙、喫煙)に分類した。妊婦の喫煙状況による血中ダイオキシン類異性体濃度について検討した。

#### (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、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行った。

### C. 研究結果

#### 1. 先天異常発生状況

平成21年12月末までの参加妊婦は18,466人であり、新生児個票が提出された15,220人のうち、先天異常の児総数は290人、マーカー異常206件、その他の異常109件、先天異常を有する児の出産頻度は1.91%であった。最も頻度が高かった先天異常は、先天性心疾患で53人、うち頻度が高いのは心室中隔欠損症

23人、心房中隔欠損症7人、動脈管開存症6人、ファロー四徴症4人、肺動脈閉鎖症4人であった。続いて頻度順にダウン症候群18人、口唇口蓋裂16人、水腎症14人、多指症13人、停留精巣12人、横隔膜ヘルニア8人、口蓋裂8人、合趾症7人であった。その他の先天異常は中枢神経系疾患、マーカー奇形以外の染色体異常、下肢の形成不良などの重篤な大奇形から、副耳、臀部母斑などの小奇形まで76種の先天奇形が報告され、発生数が高かったものは、副耳10人、胎児水腫8人、頸部リンパ管腫、四肢短縮がそれぞれ4人であった。

## 2. 母体血中ダイオキシン類濃度の出生時体重への影響

母体血中ダイオキシン・PCB類濃度が得られた398名について、母親の出産歴、出産時年齢、身長、非妊娠時体重、妊娠中の喫煙習慣、近海魚摂取、採血時期、および妊娠週数、新生児性別で調整して解析した。10倍 Total PCDFs 濃度が上昇すると出生時体重が有意に減少し ( $\beta = -273\text{g}$ , 95%CI:  $-506 - -40$ ), TEQ レベルでは、Total PCDDs TEQ ( $\beta = -232\text{g}$ , 95%CI:  $-417 - -46$ ), Total PCDFs TEQ ( $\beta = -259\text{g}$ , 95%CI:  $-446 - -72$ ), Total PCDDs/PCDFs TEQ ( $\beta = -256\text{g}$ , 95%CI:  $-449 - -64$ ), Total TEQ ( $\beta = -221\text{g}$ , 95%CI:  $-399 - -42$ )において出生時体重が有意に減少した。児の性別で層別して解析すると、男児においてのみ負の関連が認められたが、女児では有意な関連がみられなかった。次に、異性体レベルで検討すると、2,3,4,7,8-PeCDF ( $\beta = -225\text{g}$ , 95%CI:  $-387 - -62$ )において出生時体重に有意な減少が認められた。

## 3. 胎児期のダイオキシン類曝露が乳幼児期アレルギー症状および感染症へ与える影響

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名について、母の教育歴、年長同胞の有無、採血時期、児の性別、母乳栄養期間、家庭内受動喫煙、集団保育歴で調整して解析を行った。交絡因子を調整したロジスティック回帰分析の結果では、母体血中2,3,4,7,8-PeCDF 濃度の第1四分位に対する第4四分位の中耳炎オッズ比の有意な上昇が認められた（全体OR:2.8,95%CI:1.2-6.6; 男児のみOR:5.3,95%CI:1.5-19）。したがって、低レベルの胎児期ダイオキシン類曝露による児の感染症増加には、2,3,4,7,8-PeCDF の関与が特に男児で強いことが示唆された。

## 4. 胎児期有機フッ素化合物曝露が胎児発育へ及ぼす影響

母体血中PFOS・PFOA濃度が得られた428名について、母年齢、教育歴、妊娠中喫煙状況、妊娠前BMI、出生順位、児の性別、在胎週数、分娩様式(経膈分娩か帝王切開か、頭囲のみ)、採血時期で調整して解析した。母体血中有機PFOS濃度と出生体重との間に有意な負の関連が認められ(per log<sub>10</sub>-unit:  $\beta = -148.8\text{g}$ , 95% confidence interval (CI):  $-297.0$  to  $-0.5$ ), 児の性別で層別して解析すると、女児においてのみ負の関連がみられたが(per log<sub>10</sub>-unit:  $\beta = -269.4\text{g}$ , 95% confidence interval (CI):  $-465.7$  to  $-73.0$ ), 男児では有意な関連がみられなかった。一方、母体血中PFOA濃度と出生体重との間には関連は認められなかった。

### 5. 有機フッ素化合物の胎児期曝露による免疫アレルギーへの影響-乳幼児期のアレルギー症状と感染症、および臍帯血IgEとの関連-

母体血中 PFOS・PFOA 濃度の測定結果と 18 ヶ月調査票データの両方が得られたもの 343 名を解析対象とした。PFOS は全検体から検出できたが、PFOA は 22 名(6.4%)が検出感度限界(0.5 ng/mL)以下だった。母の年齢が高いほど PFOS・PFOA 濃度が有意に低かった。出産経歴がある群は、出産経歴がない群と比較して有意に低く、分娩後採血の群は妊娠中採血の群と比較し有意に低かった。臍帯血中 IgE 濃度は母のアレルギー疾患既往歴がある群、妊娠中の遠洋魚摂取が週 1 回以上の群、児の性別が男児で有意に高かった。PFOS・PFOA 濃度と IgE 濃度において有意な関連は認められなかった。また PFOS・PFOA 濃度と 18 ヶ月までの食物アレルギー、アトピー性皮膚炎、気管支喘息、中耳炎との関連についても有意な関連は認められなかった。男女別および採血時期別に層化して解析を行ったが結果は変わらなかった。その他の交絡因子と考えられる妊娠中の食品摂取頻度やダイオキシン・PCB 類で調整しても変化はみられなかった。

### 6. 難分解性有機塩素系農薬の妊婦の曝露状況に関する研究

妊婦 70 名(平均年齢 30.7 歳, BMI 21.8)について測定した結果, ディルドリン, *cis*-クロルデン, オキシクロルデン, *cis*-ノナクロル, *trans*-ノナクロル, *o, p'*-DDT, *p, p'*-DDT, *p, p'*-DDE, *cis*-ヘプタクロルエポキシド, HCB,  $\beta$ -HCH が全検体から検出された。さらに, 国内で使用実績のないマイレックスとトキサフェン 2 種(Parlar-26, Parlar-50)が全検体から検出された。最も高濃度に検出さ

れた物質は *p, p'*-DDE(幾何平均 697 pg/g wet)であり, 次いで高値を示したものは  $\beta$ -HCH(幾何平均 168 pg/g wet)と HCB(幾何平均 105 pg/g wet)であった。DDE, オキシクロルデン(幾何平均 41.5 pg/g wet)の場合, 前駆物質である DDT, クロルデンより高い濃度で検出された。また, ヘプタクロルの検出率はゼロであったが, その代謝物の *cis*-ヘプタクロルエポキシドは幾何平均で 29.2 pg/g wet という濃度で検出された。マイレックス, Parlar-26, Parlar-50 の濃度は, それぞれ幾何平均値で 6.3 pg/g wet, 6.1 pg/g wet, 9.2 pg/g wet であった。

### 7. 妊婦血液中のダイオキシン, PCB 類及び水酸化 PCB(OH-PCB)濃度

血液と母乳中のダイオキシン類の総 TEQ 濃度, 非ダイオキシン様 PCB の総濃度は血液の方が高かった。出産年齢と血液及び母乳中のダイオキシン類の総 TEQ 濃度, 総 PCB 濃度との関連を検討すると正の相関が認められた。血液中と母乳中のダイオキシン類の総 TEQ 濃度と総 PCB 濃度にも正の相関が認められた。さらに, PCB 異性体の中で最も濃度の高い HexaCB 153 濃度と総 PCB 濃度にも相関があった。

今回開発した血液中ダイオキシン・PCB 及び OH-PCB 一斉分析法では, 5~7 塩化 OH-PCB の LC/MS/MS のクロマトグラムにおいて, 5 塩化から 7 塩化 OH-PCB の標準物質のクロマトグラムで 10 種の異性体が 7 つのピークに別れて検出された。ピークの重なりは 5 塩化 OH-PCB では 4H107 と 3H118, 6 塩化 OH-PCB は 4H130 と 3H138, 7 塩化 OH-PCB は 4H172 と 3H180 で認められた。各 OH-PCB の検出下限値は 0.1~2 ng/ml であった。ヒト血液中に検出される OH-PCB は主に 6 異性体(4H107, 3H138, 4H146, 4H153, 4H172, 4H187)

で各異性体のピークを検出できた。

#### 8. 血液中のビスフェノール A(BPA)及び4-ノニルフェノール(NP)の分析法の開発

血液中のBPA, NP前処理および測定を行った。BPA 分析では、ビスフェノール A-d<sub>16</sub>(BPA-d<sub>16</sub>)をクリーンアップスパイク内標準物質、ビスフェノール A-2,2',6,6'-d<sub>4</sub>(BPA-d<sub>4</sub>)をシリンジスパイク内標準物質として使用し、NP 分析では、シリンジスパイク内標準物質として4-(1-メチル)オクチルフェノール-d<sub>5</sub>(Me-OP-d<sub>5</sub>)を用いた。添加回収試験には血液試料(全血)を用い、標準物質の添加量をBPA 0.5ng, NP 30ng で検討した。BPA, NPともに回収率は良好な結果を得たが、NP については操作ブランクが高い値であった。検討用血液試料を同位体希釈LC/MS/MS法で測定したところ、BPAについては分析方法が確立できたが、NPについては試薬等由来のブランク値が高く、今後の検討課題となった。

#### 9. 妊婦の妊娠初期葉酸値の経年変化および喫煙の影響

妊婦 4,487 名の妊娠初期血清葉酸濃度の平均値は 7.69ng/ml で、うち 3.0ng/ml 未満の「葉酸欠乏群」は 0.4%、3.0~6.0ng/ml の「葉酸低値群」は 30.4% で、葉酸が低い妊婦の割合が高いことが指摘された。葉酸値はサプリメントの摂取や世帯収入、母の教育歴、母の年齢と正の関連を認めた。葉酸サプリメントの摂取状況をみると 2003 年には 6.7%であったのが、2005 年には 15.0%と経年的に増加し、妊娠中の葉酸摂取の必要性が認知されてきたことが示唆された。しかし妊娠中の母の喫煙は血清葉酸値を有意に減少させることがわかった。

#### 10. 妊婦の喫煙と血中ダイオキシン類濃度との関連

自記式調査票による喫煙状況と血清コチニン濃度が一致した 263 名について解析を行った。妊娠中の喫煙による血中ダイオキシン類濃度は 1,2,3,4,7,8-HxCDD, 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD, 2,3,7,8-TCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF, 1,2,3,6,7,8-HxCDF, 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF, 33' 44' -TCB(#77), 33' 44' 5-PeCB(#126), 2' 344' 5-PeCB(#123), 23' 44' 5-PeCB(#118) および 233' 44' -PeCB(#105)の 11 異性体濃度が有意に低かった。また、妊娠 13 週以前の喫煙では血中 2,3,7,8-TCDD, 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD, 2,3,7,8-TCDF および 33' 44' 5-PeCB(#126)の 4 異性体濃度が有意に低下した。

#### D. 考察

本研究で示した先天異常発生状況のデータは、わが国における大規模な地域病院ベースの貴重な情報である。先天異常データについては、これまでの報告では調査形態や対象者の選択基準が一定ではない等のために単純な比較は困難である。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調査)と比較すると、本研究の先天異常の出産頻度は JAOG の 1.80%(2006 年)と近似していた。しかし、形態異常ごとの頻度をみると、水頭症、消化管閉鎖、二分脊椎症、心奇形等、胎児期に診断され、出生直後の集中的対応が要求される重篤な形態異常については、JAOG 調査よりも低い傾向がみられた。その理由として、JAOG 調査の協力施設は主に大学病院や地域の大規模病院であ

り、胎児期から出生直後に集中的治療を行う必要がある重篤疾患が集積する傾向があるのに対して、本研究の協力医療機関は、北海道全域の大規模病院、専門病院から開業産科クリニックまでさまざまな規模の施設であることから、一般的な地域の傾向を JAOG よりよく反映しているためと考えられる。

母体血中ダイオキシン・PCB 類濃度と出生時体重との関連については、異性体レベルで及ぼす負の影響を初めて明らかにした。胎児期のダイオキシン曝露と免疫アレルギーとの関連についての検討では、男児のみにおいて母体血中ダイオキシン類濃度が高いほど臍帯血中 IgE 濃度が低かったと報告した。18 ヶ月までのアレルギー症状および感染症との関連については、ダイオキシン類濃度が高いほど中耳炎のリスクが上がる可能性が示され、男児でより顕著な結果がみられ、この結果はダイオキシン類曝露とアレルギーおよび感染症との関連を検討した先行研究と一致した。

本研究の母体血中 PFOS/PFOA 濃度は、合衆国やヨーロッパ諸国などの国外や国内の他地域で報告されている濃度と比較して低かった。PFOS 濃度が出生体重に及ぼす影響を検討した結果は負の関連が認められ、特に女兒においてその関連が顕著にみられたので、アレルギー症状および感染症でも男女別に層別化して解析を行ったが、関連は認められなかった。しかし、動物実験で免疫アレルギーへの影響がでているのは高濃度であることから、一般人が曝露する程度の濃度では児の免疫アレルギーに影響するまでに達しなかったことが考えられる。アウトカム評価については、気管支喘息などの 18 ヶ月までのアレルギー症状の確定診断が難しく、累積罹患率として正確に結果に反映できなかつた可能性が考えられる。今後は、アレルギー疾患の確定的な

情報を得て PFOS/PFOA の影響を検討するために、学童期まで追跡し前向きに検討していく必要がある。また、PFOS/PFOA だけでなく、より毒性が高いと報告されている PFDA, PFNA およびヒト血漿中濃度が高いとされる PFHxS, PFUnDA の測定も行う予定である。

本研究の測定値のうち DDT 類, HCB,  $\beta$ -HCH の検出濃度は、ほぼ同時期に調査が実施された千葉市・山梨やドイツの場合と近似していた。低濃度ながらも多くの有機塩素系農薬が妊婦血液から検出されたこと、および日本での使用実績のない農薬が検出されたことから、食品など曝露源についてもサーベイランスを継続して、胎児や小児への影響評価を行う疫学的な検討が必要である。

初産婦の血液中ダイオキシン・PCB 類濃度と出産後の母乳中ダイオキシン・PCB 類濃度を比較した結果、ダイオキシン類の総 TEQ 濃度と総 PCB 濃度および総 PCB 濃度と PCB 類の中で最も濃度の高い HexaCB 153 濃度においてそれぞれ相関が認められたことは、ダイオキシン類に比べはるかに高濃度であり、測定の容易な HexaCB 153 濃度がダイオキシン類の毒性評価の指標として使える可能性が示唆された。

PCB の代謝物である OH-PCB の一部は甲状腺ホルモンと類似した構造を持つため、生体内に残留しやすく PCB よりも毒性が強いことから、母体内で胎児に及ぼす影響が危惧されている。本研究では、LC/MS/MS を用いた PCB 一斉分析法で同時に OH-PCB も分析できる新たな分析法開発を目指した。本分析で検出された異性体別濃度と他機関で分析した検出濃度を比較したところ、良く一致したことから、本分析法は OH-PCB の分析法として有効であり、さらに OH-PCB 類を誘導体化せずに測定することができ

るため簡便であると考えられる。本分析法では少量の血液からダイオキシン・PCB, OH-PCB 類の一斉分析ができることから、多種類の化学物質の測定が可能になり、汚染実態の解明が期待できる。

同位体希釈LC/MS/MS法でヒト血液中のBPA, NP分析を検討した。血中BPAの分析方法は確立できたが、NPは試薬等由来のブランク値が高かったことから、試薬類の蒸留精製によってNPのブランク値を減じる方法を今後検討する。

本研究における北海道の妊婦の葉酸サプリメント摂取状況をみると、2003年には6.7%であったのが、2005年には15.0%と経年的に増加していたことから、妊娠中の葉酸摂取の必要性が認知されてきたことが示唆された。

妊婦の喫煙と血中ダイオキシン類濃度の検討では、妊娠期の喫煙によって母体血中のダイオキシン類濃度が異性体レベルで低下することが示唆された。喫煙による代謝酵素活性上昇などにより排泄が促進されていることも考えられるので、今後は妊娠中の喫煙によるダイオキシン類濃度の違いが母児体内に及ぼす影響についてもさらに調べる必要がある。

## E. 結論

本コホート参加妊婦において、平成21年12月末までに新生児個票が提出された15,220人のうち、先天異常の児総数は290人、マーカー異常206件、その他の異常109件、先天異常を有する児の出産頻度は1.91%であった。次年度には、北海道全域の地域病院ベースに基づく登録が2万人規模に達することが予測されるので、最終的には先天異常を有する児は300人以上、形態異常の総数は400以上が登録される計算になる。それを踏まえて今後は、地域病院ベースの先天異常の発生率をより正確に把握するとともに、ダイオキシン類・PCB, PFOS等の有機

フッ素系化学物質およびビスフェノールA曝露の影響について先天異常、SGA、免疫アレルギー等について出生コホート内症例対照研究の形で検討する。さらに、先天異常、発育など次世代影響の重要な交絡要因となる母体血中葉酸濃度や葉酸サプリメント摂取、母の能動および受動喫煙の有無、代謝酵素遺伝子多型を考慮して、先天異常および胎児発育や乳幼児期の発達、免疫アレルギーなど次世代影響を世界的にも初めて実証的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) Konishi K, Sasaki S, Kato S, Ban S, Washino N, Kajiwara J, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Yasutake D, Kishi R. Prenatal exposure to PCDDs/PCDFs and dioxin-like PCBs in relation to birth weight. *Environ Res.* 2009;109(7):906-913.
- 2) Handa Y, Fujita H, Honma S, Minakami H, Kishi R. Estrogen concentrations in beef and human hormone-dependent cancers. *Ann Oncol.* 2009;20(9):1610-1611.
- 3) Kajiwara J, Todaka T, Hori T, et al. Concentrations of polychlorinated biphenyls (PCBs) in blood and breast milk collected from 125 mothers in Hokkaido, Japan. *Organohal Comp.* 2009;71: 957-960.
- 4) Tobiishi K, Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, et al. Measurement method for hydroxylated polychlorinated biphenyls (OH-PCBs) in blood by LC/MS/MS. *Organohal Comp.*

- 2009;71:2920-2923.
- 5) 佐々木成子, 岸玲子. 遺伝的感受性素因の重要性—母の喫煙が子どもの胎内発育に及ぼす影響. 日本衛生学雑誌. 2009;64(4):759-764.
  - 6) 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—. 日本衛生学雑誌. 2009;64(4):774-781.
  - 7) Washino N, Saijo Y, Sasaki S, Kato S, Ban S, Konishi K, Ito R, Nakata A, Iwasaki Y, Saito K, Nakazawa H, Kishi R. Correlations between prenatal exposure to perfluorinated chemicals and reduced fetal growth. *Environ Health Perspect.* 2009;117(4):660-667.
2. 学会発表
- 1) 平川博仙, 堀就英, 梶原淳睦, 吉村健清, 戸高尊, 古江増隆, 飯田隆雄. 油症患者の血液中ダイオキシン類濃度追跡調査(2001-2008). 環境ホルモン学会第12回研究発表会. 東京都. Dec.7-8,2009.
  - 2) 飛石和大, 戸高尊, 平川博仙, 堀就英, 梶原淳睦. 血液中 OH-PCB 濃度分析の基礎検討. 第46回全国衛生化学技術協議会. 盛岡市. Nov.12-13,2009.
  - 3) 金澤文子, 佐々木成子, 加藤静恵, 鷺野考揚, 宮下ちひろ, 岡田恵美子, 小林澄貴, 吉岡英治, 岸玲子, 水谷太, 菅木洋一. 北海道における有機塩素系農薬の妊婦への曝露状況. 第61回北海道公衆衛生学会. 札幌市. Nov.12-13,2009.
  - 4) 半田康, 藤田博正, 本間誠次郎, 岸玲子. 牛肉中エストロゲン濃度とホルモン依存性癌発生増加の関連. 第47回日本癌治療学会. 横浜市. Oct.22-24,2009.
  - 5) 梶原淳睦, 戸高尊, 平川博仙, 堀就英, 安武大輔, 宮下ちひろ, 佐々木成子, 吉岡英治, 岸玲子, 吉村健清, 古江増隆. 血液及び母乳中の PCB 濃度の比較, 日本食品衛生学会. 第98回学術講演会. 函館市. Oct. 8-9,2009.
  - 6) 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 PCB 類濃度測定のカロスチェック. 第18回環境化学討論会. つくば市. Jun.9-10,2009.
  - 7) Yila T, Sasaki S, Braimoh T, Kobayashi S, Limpar M, Yoshioka E, Kishi R. Effects of maternal smoking and 5, 10-MTHFR C677T Polymorphism on infant's birthweight -The impact of folic acid supplementation-3rd Annual Conference on Genomics of Common Diseases. Cambridge, UK. Sep. 23-26,2009.
  - 8) Hori T, Yasutake D, Ashizuka Y, Kajiwara J, Nakagawa R, Yoshimura T, Tsutsumi T. Simultaneous determination of dioxins and all PCB isomers in food samples using accelerated solvent extraction and gel permeation chromatography. 29th International Symposium Halogenated Persistent Organic Pollutants. Beijing, China. Aug.23-28, 2009.

- 9) Kajiwara J, Todaka T, Hori T, Yoshitomi H, Hirakawa H, Yasutake D, Onozuka D, Miyashita C, Sasaki S, Yoshioka E, Yuasa M, Kishi R, Iida T, Yoshimura T, Furue M. Concentrations of polychlorinated biphenyls (PCBs) in blood and breast milk collected from 125 mothers in Hokkaido, Japan. 29th International Symposium Halogenated Persistent Organic Pollutants. Beijing, China. Aug.23-28. 2009.
- 10) Nagayama J, Hirakawa H, Kajiwara J, Todaka T, Shibata S, Tsuji H, Iwasaki T. Promotive excretion of polychlorinated dibenzofurans and polychlorinated dibenzo-p-dioxins by FBRA in patients with Yusho. 29th International Symposium Halogenated Persistent Organic Pollutants. Beijing, China. Aug.23-28, 2009.
- 11) Nagayama J, Waki S, Kibe Y, Ishida M, Hirakawa H, Kajiwara J, Nakagawa R. Studies on lipid extraction by three different methods in the serum and whole blood. 29th International Symposium Halogenated Persistent Organic Pollutants. Beijing, China. Aug.23-28, 2009.
- 12) Yoshioka E, Yuasa M, Katoh S, Sasaki S, Washino N, Kanazawa A, Konishi K, Kishi R, Nakata A, Iwasaki Y, Ito R, Saito K, Nakazawa H. Effect of Maternal Serum Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) and Perfluorooctanoate (PFOA) on Maternal and Newborn's Thyroid Hormone—Hokkaido Study on Environment and Children's Health—. The 3rd WHO International Conference on CEH. Bexco, Busan, Korea. Jun.7-10, 2009.
- 13) Kishi R, Washino N, Miyashita C, Sasaki S, Yuasa M, Yoshioka E, Konishi K, Kajiwara J, Todaka T, Hirakawa H, Hori T. Prenatal Exposure to Dioxins in Relation to IgE level of Newborn and Allergic and Infectious Diseases of Infants-Hokkaido Study on Environment and Children's Health-. The 3rd WHO International Conference on CEH. Bexco, Busan, Korea. Jun.7-10, 2009.
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
該当なし

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

先天異常の発生状況

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 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  
研究分担者 遠藤 俊明 札幌医科大学医学部産科周産期科・生殖内分泌科 准教授  
研究分担者 千石 一雄 旭川医科大学医学部産婦人科学講座 教授  
研究分担者 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 助教

研究要旨

目的：環境化学物質を含む環境要因が胎児の発育・発達に影響を及ぼすことが懸念されており、特に先天異常の発生に対する環境要因の関与に関する報告はあるが、その関連については未だ解明されていない。日本における先天異常の有病率は、全国規模に基幹病院が参加する「日本産婦人科医会先天異常モニタリング（JAOG）」があるだけで、地域ベースの正確な情報が不足している。そこで本研究では、北海道地域において前向きコホート研究を立ち上げ、種々の先天異常の有病率を把握する。対象および方法：平成14年1月から平成21年12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。結果および考察：本コホートの参加者のうち平成21年12月末までに出産（生産、死産、流産）した新生児（新生児個票が提出されたケース）15,220名において、先天異常のある児の総数は290名、マーカー異常206件、その他の異常109件で、先天異常を有する児の出産頻度は1.91%であり、JAOG2005年度報告1.95%、2006年度報告1.80%と近似していた。

### 研究協力者

鷲野 考揚、佐々木 成子、坂 晋、  
金澤 文子、小西 香苗、馬場 俊明、  
Yila Thamar、宮下 ちひろ、Braumoh  
Titilola、檜野 いく子、岡田 恵美子、  
小林 澄貴、大竹 裕子、Mariko Limpar  
(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)  
長 和俊、山田 俊  
(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)  
宮本 敏伸  
(旭川医科大学産婦人科学講座)

### 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、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、  
勤医協札幌病院、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、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

## A. 研究目的

先天奇形の成因は、単一遺伝子疾患、多因子遺伝子疾患、染色体異常、催奇形因子（食品、薬剤、化学物質など）、母体感染症、母体疾患など多様であり、成因が解明されていないものが多い。中でも、内分泌攪乱作用を持つ環境化学物質の胎児期曝露として、停留精巢児の脂肪中へプタクロロエポキシド、ヘキサクロロベンゼンは健常児と比べて有意に高いとする Hosie らの報告(Hosie *et*

*al.* 2000)、DES (diethylstilbestrol) 服用 (Klip *et al.* 2002) や環境ホルモン様物質を多く含む食事をとる菜食主義者の妊婦から出生した男児に尿道下裂のリスクが増加する (North *et al.* 2000) との報告もある。他にも妊娠初期の妊婦の呼吸器感染症罹患と先天異常との関連 (Nandor *et al.* 2006) や、妊娠中のビタミンE摂取と先天性心疾患との関連 (HPM Smedts *et al.* 2009) についての報告もある。しかし、環境要因がどのように先天異常の発生に関与しているかについては未だ解明されていない。また、これらの環境化学物質が先天異常のみならず、妊娠中の女性の健康や出生後の児の発育・発達に及ぼす影響についても十分に解明されてはいない。

日本における先天異常の有病率は、日本産婦人科医会先天異常モニタリング (JAOG) が実施を始め、そのデータを横浜市立大学国際モニタリングセンターが分析を行っている。これは全国規模のサーベイランスシステムであるが、地域の基幹病院ベースで集計された調査結果を基にした統計であり、地域ベースを代表した結果とは言い難い。

そこで本研究の目的は、北海道における地域ベースの前向きコホート調査により、先天異常の発生状況を把握し、その発生要因を検討することである。

## B. 研究方法

### 1. 対象

平成 14 年 1 月から平成 21 年 12 月末までに、道内の約 40 産科医療施設に妊婦健診に訪れ、本調査への参加に同意した妊婦は 18,446 名である。参加協力妊婦が出産した場合、出産施設に「新生児個票」への記載・返送を依頼している。今回は、平成 21 年 12 月末までに受け付けた新生児個票のうち 15,220 件について先天異常発生状

況を集計した。

## 2. 方法

本研究調査協力妊婦が出産した場合に、出産施設に新生児の健康状態を7日間観察し、独自作成した「新生児個票」に記入後、郵送による返送を依頼した。回収された全新生児個票（流産、死産含む）を用いて先天異常の発生状況を算出した。環境要因が先天異常発生へ関連していると思われる先天性心疾患、口唇口蓋裂、停留精巣などの奇形 55 種をマーカー奇形として設定した中から選択し、その他の先天奇形は記述を依頼した。

### （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。本研究によって得られた個人名及び個人データの漏洩については、データの管理保管に適切な保管場所を確保するなどの方法により行うとともに、研究者の道義的責任に基づいて個人データをいかなる形でも本研究の研究者以外の外部の者に触れられないように厳重に保管し、取り扱った。個人識別情報は、記号・数字により匿名化を行い、解析等の際には、研究者においても個人を特定できないようにした。個人識別情報には、研究者とは別に個人識別情報管理者を置き、厳格な管理を行った。

## C. 研究結果

### 1. 母親と出産児の属性

出産した母親の出産時年齢は  $30.6 \pm 4.8$  歳（16～48 歳）であった（表 1）。

出産児の在胎週数は  $38.4 \pm 3.3$  週（6～

42 週）、出生体重は  $2996.5 \pm 508.4$  g、性別は女児 7,431 名（48.8%）、男児 7,600 名（49.9%）であった。性別判定不能 117 名のうち在胎週数 16 週以降は 28 名で、死産 22 名、生産 6 名であった。生産のうち 1 名は、マーカー奇形「性別不分明」にも記載があったものである（表 1）。

出生児の単胎・多胎件数、出産時期と生・死産件数は表 2 に示した。

### 2. 先天異常の発生状況

平成 21 年 12 月末までに受け付けた新生児個票の全出産（生産、死産、流産）15,220 名のうち、先天異常のある児の総数は 290 名であった。その中で、マーカー奇形 206 件、その他の先天奇形 109 件で、先天異常を有する児の出生頻度は 1.91%であった。最も頻度の高い先天異常は先天性心疾患 53 名であった。先天性心疾患の内訳は発生数の高い順に、心室中隔欠損症 23 名、心房中隔欠損症 7 名、動脈管開存症 6 名、ファロー四徴症 4 名、肺動脈閉鎖症 4 名であった（表 3）。次に発生数の高いマーカー奇形は、Down 症候群 18 名、口唇口蓋裂 16 名、水腎症 14 名、多指症 13 名、停留精巣 12 名、横隔膜ヘルニア 8 名、口蓋裂 8 名、合趾症 7 名であった（表 4）。その他の先天異常は、中枢神経系疾患、マーカー奇形以外の染色体異常、下肢の形成不良などの重篤な大奇形から、副耳、臀部母斑などの小奇形まで 76 種の先天奇形が報告された（表 5）。その中で、発生数が高かったものは、副耳 10 名、胎児水腫 8 名、頸部リンパ管腫、四肢短縮がそれぞれ 4 名であった。

## D. 考察

1. 「日本産婦人科医会先天異常モニタリング（JAOG）」との先天異常発生比較

日本で唯一の先天異常の全国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調査）と本研究の先天異常発生数を比較すると、JAOG2005 年度、2006 年度報告（横浜市立大学先天奇形モニタリングセンター）の 1.80–1.95% とほぼ近似値を呈した。各疾患別では、水頭症、耳介低位、臍帯ヘルニア、消化管閉鎖（小腸閉鎖、十二指腸閉鎖）などが JAOG2006 年度報告よりも低く、多指症、尿道下裂、Down 症は高い傾向にあった。

JAOG 報告と比較して発生率の高い疾患に関しては、その発生要因を北海道の地域環境との関連の検討が必要である。尿道下裂の発生要因には遺伝的要因と環境要因に大別される。岸らは遺伝子 *ESR1* の haplotype (*Xba* I) と *ESR2* 2681-4A>G 多型や葉酸代謝酵素と尿道下裂との関連を報告している（岸ら. 2008）。本研究は妊娠初期の妊婦を対象とした前向きコホート「環境と子どもの健康に関する北海道コホート研究」の一環であり、妊婦の生活・健康状態に関する自記式質問紙調査を妊娠初期に行い、さらに妊娠初期、中期後半、出産後に血液採取および臍帯血採取を行っている。それにより、北海道の発生率の高い先天異常や予後不良な先天異常の発生要因を遺伝子レベルで解析し、先天異常発生の要因を解明していくことが可能である。

## 2. 地域ベースの先天異常発生動向把握の重要性

JAOG 報告は、大学病院や地域中核病院などの大規模病院を対象としており、胎児期から出生直後の集中的医療処置を必要とする症例が集積する傾向があると思われ

る。それに対し、本研究の参加医療機関は、北海道全域の専門的周産期医療施設から、地域の中核病院、産科病院そして産科クリニックまで、多様な医療規模の施設の協力を受けている。そのため、北海道における先天異常発生動向を把握する上では、非常に有用な基礎資料が得られると考える。しかし、その協力施設の特徴ゆえ、新生児個票記載期日の生後 7 日までには確定診断がつかない症例もあり、今後は生後 4 ヶ月、1 歳時調査や、出産施設から紹介を受けた医療施設への問い合わせなどによる先天異常情報の確認が必要と考える。

## E. 結論

平成 21 年 12 月末までに新生児個票が提出された 15,220 名に関して先天異常の集計を行った。先天異常のある児の総数は 290 名、そのうちマーカー奇形発生数は 206 件、その他の先天異常発生数は 109 件であった。先天異常を有する児の出産頻度は 1.91% であり、JAOG2005 年度 - 2006 年度報告の 1.80–1.95% と近似していた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

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—. 日本衛生学雑誌. 2009;64(4):774-781.

### 2. 学会発表

なし

## G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし