

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～ 22 年度 総合研究報告書

研究代表者

北海道大学環境健康科学研究教育センター

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

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

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

佐々木成子

平成 23 (2011) 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, 吉岡 英治ほか)	26
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)	39
3. 母体血中有機フッ素系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)	49
4. 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)	59
5. 胎児期の抗エストロゲン様 PCBs 曝露が出生時体格に与える影響 (岸 玲子, 梶原 淳睦, 佐々木 成子ほか)	65
6. 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)	71
7. 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)	78
8. 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)	84
9. 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- (岸 玲子, 吉岡 英治ほか)	91
10. 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)	103

1 1. 出生時体重に影響を及ぼす妊婦の喫煙と葉酸代謝酵素遺伝子多型との関連 (岸 玲子, 吉岡 英治ほか)	109
1 2. 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)	123
1 3. 妊婦血液中のダイオキシン, PCB 類及び水酸化 PCB(OH-PCB)濃度分析法の開発(1) (梶原 淳睦ほか)	132
1 4. 妊婦血液中のダイオキシン, PCB および水酸化 PCB(OH-PCB)類濃度分析法の開発(2) (梶原 淳睦ほか)	143
1 5. 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) 測定分析法の開発(1) (松村 徹ほか)	150
1 6. 血液中のビスフェノール A(BPA)および 4-ノニルフェノール(NP)測定分析法の開発(2) (松村 徹ほか)	159
1 7. 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)	169
1 8. 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)	178
1 9. 有機フッ素化合物(PFCs)曝露による小児の体格および疾患への影響に関する 疫学研究のレビュー (岸 玲子, 吉岡 英治ほか)	186
2 0. 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)	199
2 1. 注意欠陥/多動性障害(ADHD)の環境要因, 遺伝的発症要因および交互作用に 関する文献レビュー (岸 玲子, 吉岡 英治ほか)	207
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	214

I はじめに

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 14～16 年度および平成 17～19 年度さらに平成 20～22 年度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」として過去 9 年間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，わが国では，地域の一定集団を対象に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でした。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，未だ充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の母体血または臍帯血中の葉酸，ダイオキシン・PCB 類，水酸化 PCB 類，有機フッ素化合物（PFOS・PFOA），農薬，およびビスフェノール A の測定を行いました。今後は有機フッ素化合物（PFDA・PFNA・PFHxS・PFUnDA）などの環境汚染物質の測定分析を行い，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，生後数年間の追跡により詳細な研究を進めて，小児の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。

また，環境化学物質の個体への影響の強弱は，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ますので，ダイオキシンや喫煙の曝露では環境遺伝相互作用の検討を行いました。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こうした研究は重要であると思われまます。

本研究は北海道内の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。今回の調査で 2 万人の参加者を得て多くの出生児を把握することになります。本研究のように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，疫学）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ろうと思ひます。

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 23 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 北海道大学環境健康科学研究教育センター センター長・特任教授

研究要旨

本研究は妊娠初期の 12 週までに同意を得た妊婦からの採血と PCB・ダイオキシン類や有機フッ素化合物(PFCs)，ビスフェノール A(BPA)などの環境化学物質濃度測定から，先天異常の有無など出生時点での児への影響を確認して環境化学物質との直接的因果関係を前向きコホート研究で評価するものである。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の解明と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。平成 15 年 1 月から平成 22 年 10 月末までの参加妊婦 18,446 名のうち，既に出産し新生児個票が提出された新生児の先天異常有病率を種類別に把握した。対象とした 16,878 名のうち，先天異常の児総数は 318 名，マーカー異常 228 名，その他の異常 118 名，先天異常を有する児の出産頻度は 1.88%であった。また，在胎 22 週以降の出産 16,629 件では，先天異常のある児は 274 名，有病率は 1.65%であった。最も発生数の高い先天異常は心室中隔欠損 27 名で，次に Down 症候群 21 名，口唇口蓋裂 17 名，多指症 16 名，水腎症 14 名，停留精巣・非触知精巣 13 名などであった。

曝露評価については，高分解能ガスクロマトグラフィー・高分解能マスマスペクトロメトリー(HRGC/HRMS 法)により福岡県保健環境研究所において母体血中ダイオキシン類(PCDDs/PCDFs/Coplanar-PCBs)の濃度測定を行い，初産婦の血液中ダイオキシン・PCB 類濃度と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水酸化 PCB(OH-PCB)類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の分析例での検出濃度を比較すると，良く一致しており，本分析法は OH-PCB の分析法として有効であった。今回開発した微量血液で測定できる一斉分析法により多種類の化学物質の測定が可能になり，汚染実態の解明が大きく進展することが期待できる。

アウトカムとの関係では，母体血中ダイオキシン・PCB 類の胎児発育への影響では男児において総 PCDFs 濃度，総 PCDDs TEQ，総 PCDFs TEQ，総 PCDDs/PCDFs TEQ，総 TEQ が上昇すると出生時体重が有意に減少した。異性体レベルでは，2,3,4,7,8-PeCDF で出生時体重に有意な減少が認められた。エストロゲン様 PCBs，その他の PCBs，非ダイオキシン様 PCBs(58 異性体)，および総 PCBs(70 異性体)と出生時体格との有意な関連は認められなかったが，初産女児群で，エストロゲン様作用 PCBs 濃度と出生時身長とに有意な正の関連が認められた。胎児期のダイオキシン曝露と免疫アレルギーとの関連は，男児のみで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。生後 18 ヶ月までのアレ

アレルギー症状および感染症との関連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た。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では、喫煙妊婦のダイオキシン類濃度が Low 群で CYP1B1 遺伝子が CC 型に比べて High 群で CG/GG 型で出生時体重が減少する傾向が認められたが、非喫煙妊婦ではこのような関連がみられなかった。

母体血清中 PFOS/PFOA 濃度を LC/MS/MS 法でまた星薬科大学薬品分析化学教室において測定した。胎児期の有機フッ素化合物(PFOS・PFOA)曝露と甲状腺機能との関連は母体血清中 PFOS 濃度と妊婦の TSH において有意の関連が認められ、濃度が高くなるほど TSH の値は低かった。また、新生児では母体血清中 PFOS 濃度が高いほど男児では TSH の値が高かった。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。母体血中 PFOS/PFOA 濃度と 18 ヶ月までのアレルギー症状および感染症との関連は認められなかった。

いであ(株)環境創造研究所において母体血中有機塩素系 27 種類の濃度を高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/HRMS)または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)で測定した。妊婦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, β-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 であり、次いで高値を示したものは β-HCH と HCB であった。

ヒトでの科学的な根拠がこれまでほとんどなかった BPA, 4-ノニルフェノール (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の開発と測定を行った。同位体希釈 LC/MS/MS 法を採用し, 前処理方法と組合せて検討した。血中 BPA および NP の分析方法を手法としては確立できたが, NP については試薬等由来のブランク値が非常に高く, 現状では血中における一般的な濃度レベルにおいて評価可能なデータを取得することは困難であると考えられた。一方, BPA のブランク値は, 用いる分析前処理部材の変更によって大きく低減できたが, 定量下限値近傍の血中濃度を評価するまでには至らなかった。

喫煙については, 妊婦の喫煙と葉酸代謝酵素遺伝子多型が出生時体重におよぼす影響では, 非喫煙妊婦で 5,10-MTHFR 遺伝子 AC/CC 型と比較して喫煙妊婦で AA 型 では出生時体重が有意に低下し, 男児の低下が女児より大きかった。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疫測定法 (ELISA)で測定し, 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。

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。

PubMed, Medline on Ovid などの検索エンジンを使用して、PFCs 曝露による小児の体格および疾患への影響および注意欠陥/多動性障害(ADHD)の環境要因、遺伝的発症要因および交互作用に関する検索を行った。PFOS・PFOA 曝露では、出生時体重や小児の体格には負の影響がみられたが、免疫系や神経行動発達系では関連が認められなかった。近年、産業界では PFOS・PFOA の使用が規制されてきているために、他の PFCs を代用していることから、PFNA・PFHxS・PFDA など PFOS・PFOA 以外の PFCs 曝露と体格や感染症、神経行動発達、ADHD、甲状腺疾患等との影響も検討する必要がある。ADHD の発症リスクに関する遺伝子多型と環境因子の交互作用は、喫煙、アルコール、強い心理的ストレスとの交互作用が観察されたが、これらのみでは ADHD の発症要因を十分に説明することはできず、さらなる遺伝環境要因の研究が必要である。

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)
 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)
 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 課長)
 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)
 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)
 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)
 佐々木 成子
 (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助教)

研究協力者

金澤 文子, 鷲野 考揚, 小西 香苗,
 坂 晋, 馬場 俊明, 宮下 ちひろ,
 Yila Thamar, Braimoh Titilola,
 檉野 いく子, 岡田 恵美子,
 小林 澄貴, 大竹 裕子, 伊藤 久美子,
 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)
 白石 秀明
 (北海道大学病院小児科)
 松浦 英幸
 (北海道大学大学院農学研究院
 応用生命科学部門生命有機化学分野)
 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 和太, 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, 苅木 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)

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, 札幌徳洲会病院, 白石産科婦人
 科病院, 町立中標津病院, 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

ヒトでの科学的な根拠が乏しかった低
 濃度のダイオキシン類・非ダイオキシン
 系PCB類や有機フッ素化合物(PFCs)な
 どの環境化学物質による先天異常や
Small for Gestational Age(SGA)などの
 次世代影響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や停留精
 巢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と
 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)モニタリン
 グを実施し、地域の病院ベースにおける
 先天異常発生率を把握する。

生体試料中のダイオキシン・PCB 類,
 PFCs, 有機塩素系農薬, 葉酸, コチニ
 ン濃度等を測定して、甲状腺機能, 出生
 時体格やアレルギー症状および感染症な
 ど免疫機能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) やビスフェノール
 A(BPA), 4-ノニルフェノール(NP)の分析
 法を開発し、測定する。近年、環境や食
 品中のダイオキシン, PCB 類濃度は低下
 しており、妊婦の血液中 OH-PCB を測
 定するため、より高感度に検出できる分
 析法が求められていることから、
 OH-PCB 類濃度を誘導体化せずに
 LC/MS/MS を用いて直接測定する簡便
 な一斉分析法を開発する。また、BPA お
 よび NP の体内負荷量の評価にはヒト血
 液中における濃度データが必要であるが、
 存在量は極低く測定分析が困難で、確か
 らしい結果を用いて議論されているとは
 言えない状況であることから、ヒト血液

中の BPA および NP を議論可能な濃度レベルで精確に測定する手法が必要である。

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た環境要因による先天異常発生のリスク評価や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。

B. 研究方法

1. 先天異常の発生状況

平成 15 年 1 月から北海道内の約 40 産科医療施設で同意を得られた妊婦と新生児を登録し、平成 22 年 10 月末までに新生児個票が提出された 16,878 名を対象とした。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と甲状腺機能との関連について

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、妊娠中～分娩・出生時の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・高分解能マスペクトロメトリー(HRGC/HRMS)により福岡県保健環境研究所で測定した。妊娠初期妊婦および新生児の甲状腺刺激ホルモン(TSH)と遊離型サイロキシン(FT4)は乾燥濾紙に吸着させた血液を酵素免疫測定法(ELISA)により札幌市衛生研究所で測定した。母児の TSH および FT4 濃度をアウトカム指標として、低レベルダイオ

キシン類の胎児期曝露との関連を検討した。

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、妊娠中～分娩・出生時の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ー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。妊娠初期妊婦および新生児の甲状腺刺激ホルモン(TSH)と遊離型サイロキシン(FT4)は乾燥濾紙に吸着させた血液を酵素免疫測定法(ELISA)により札幌市衛生研究所で測定した。母児の TSH および FT4 濃度をアウトカム指標として、低レベル PFOS/PFOA の胎児期曝露との関連を検討した。

4. 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・高分解能マスペクトロメトリー(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。

5. 胎児期の抗エストロゲン様 PCBs 曝露が出生時体格に与える影響

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。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 PCBs 類濃度(合計 70 異性体)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。70 異性体 PCBs 濃度はエストロゲン様作用、抗エストロゲン様作用、およびその他、の 3 群に分類した。対数変換した各エストロゲン様作用別 PCBs 濃度、非ダイオキシン様 PCBs 濃度(58 異性体)と総 PCBs 濃度(70 異性体)の 5 群を曝露とし、出生時体格(体重・身長・胸囲・頭囲)との関連を検討した。さらに、母親の出産歴(初産か経産)と児の性別によって全体を 4 群に分類して解析を行った。妊娠高血圧症候群の妊婦・双胎は対象から除外した。

6. 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。

7. 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、妊娠中～分娩・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。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。臍帯血 IgE 濃度をアウトカム指標として、低レベルの環境化学物質の胎児期曝露との関連を検討した。

8. 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。

9. 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 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 ヶ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。

10. 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、妊娠中～分娩・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。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,MspI)を PCR-RFLP 法で解析した。出生時体重をアウトカム指標として、胎児期のダイオキシン類曝露と遺伝要因との関連を検討した。

11. 出生時体重に影響を及ぼす妊婦の喫煙と葉酸代謝酵素遺伝子多型との関連

北海道内の約 40 産科医療施設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。葉酸の代謝に関与する遺伝子として、5,10-MTHFR 遺伝子(C677T および A1298C)の多型をリアルタイム-PCR 法で解析した。出生時体重をアウトカム指標として、胎児期の喫煙曝露と遺伝要因との関連を検討した。

12. 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-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。

1.3. 妊婦血液中のダイオキシン、PCB類及び水酸化PCB(OH-PCB)濃度分析法の開発(1)

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。

1.4. 妊婦血液中のダイオキシン、PCBおよび水酸化PCB(OH-PCB)類濃度分析法の開発(2)

昨年度までに開発した血液および母乳中ダイオキシンおよび PCB 類一斉分析方法の精製工程を検討し、市販の OH-PCB 標準物質が分析工程のどの画分に分画されるか精査した。また、妊婦血液中の OH-PCB 濃度を高感度に検出するために、固相カラムによる精製を加えた。さらに、LC/MS/MS で OH-PCB を測定するために分離用カラムと泳動バッファーについても検討した。

1.5. 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)測定分析法の開発(1)

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。

1.6. 血液中のビスフェノール A(BPA)および 4-ノニルフェノール(NP)測定分析法の開発(2)

BPA のみを測定分析対象化合物とし(NP の同時前処理操作を行わない)、ブランク試験として、全操作ブランク、前処理用カートリッジカラム(コンディショニング方法および構成部材)の検討を行った。測定方法は、昨年度開発した ID-LC/MS/MS 法を採用し、同位体希釈法の内標準スパイクとして、BPA-d₁₆ をクリーンアップスパイク、BPA-2,2',6,6'-d₄(BPA-d₄)をシリンジスパイクとした。試験には、固相充填済み

樹脂製カートリッジカラムとして ISOLUTE マルチモード(500mg/3mL, Biotage 社製; 904-0050-B)を用いた。

17. 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・高分解能マスマスペクトロメトリー(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。

18. 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。

19. 有機フッ素化合物(PFCs)曝露による小児の体格および疾患への影響に関する疫学研究のレビュー

PFOS・PFOA・PFNA・PFHxS・PFDAのような有機フッ素化合物 PFCs

は、環境中に放出され自然界および生体内で分解を受けずに蓄積されることから、ヒトへ健康影響が懸念されている。特に、母体曝露から胎児への移行による出生時体格、出生後の神経行動発達、免疫・アレルギー疾患、甲状腺疾患などへの影響が懸念されているが、多くの先行研究では主に PFOS・PFOA に焦点が当てられており、他の PFCs 曝露がヒトに及ぼす影響については未だ明らかにされていない。

ヒト一般環境レベルの PFCs 曝露による、小児の体格や疾患のアウトカムへの影響を検討した疫学研究をレビューするため、英文文献を PubMed により検索した。検索の key word は PFOS PFOA [MeSH]'とした。一般環境レベルにおける PFCs を曝露要因とし、体格や感染症、神経行動発達、ADHD、甲状腺疾患などをアウトカムとするヒトの疫学研究で、英文の原著論文をレビューの対象とした。

20. 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。

2.1. 注意欠陥/多動性障害(ADHD)の環境要因、遺伝的発症要因および交互作用に関する文献レビュー

ADHDは小児期に発症する精神科疾患の中で最も有病率が高く、かつ遺伝しやすいものの一つである。メタアナリシスによれば、有病率は、アジア、アフリカを含めた全世界で推定5.3%とされる。ADHDの遺伝性は双生児研究において発症要因の76%を説明すると報告されているが、多くの遺伝子多型で結果が一致しない。ADHD発症に影響する環境要因曝露に個体差があることが一因とされており、遺伝環境交互作用の検討が必要である。

ADHD発症リスクに関する遺伝子多型と環境因子の交互作用を検討した疫学研究をレビューするため、英文文献をMedline on Ovidにより検索した。検索のkeywordはAttention Deficit Disorder with Hyperactivity/ AND environment/ AND genotype/とした。

倫理面への配慮

疫学調査は北海道大学環境健康科学

研究教育センターおよび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「ヒト組織およ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. 先天異常の発生状況

平成22年11月末までの参加妊婦は18,446名であり、新生児個票が提出された全出産(生産、死産、流産含む)16,878件のうち、先天異常のある児の総数は318名であった。その中で、マーカー奇形228名、その他の先天奇形118名で、先天異常有病率は1.88%であった。また、在胎22週以降の出産16,629件では、先天異常のある児は274名、有病率は1.65%であった。

全出産において、最も発生数の高い先天異常は心室中隔欠損27名で、次にDown症候群21名、口唇口蓋裂17名、多指症16名、水腎症14名、停留精巣・非触知精巣13名などであった。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。在胎22週以降の出産に関して先天異常有病率を平成14-18年度のJAOG報告(ICBDSR Annual Report.

2008)と比較すると、尿道下裂の有病率が JAOG よりも 1.75、口蓋裂が 0.96、ダウン症が 0.55 高かった(いずれも出生 1 万対)。一方、心室中隔欠損症、ファロー四徴症、大血管転位症などの先天性心疾患、水頭症、脊髄髄膜瘤、臍帯ヘルニア、食道閉鎖、小腸閉鎖、異形成腎、18 トリソミー などは JAOG よりも 5 割以下の有病率であった。

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

母 350 名と児 377 名について解析した。総 PCDDs TEQ (WHO-2005; Toxicity Equivalency Quantity), 総 PCDFs TEQ, 総 coplanar PCBs TEQ, 総 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。ダイオキシン・PCB 類曝露による甲状腺機能への影響では、母体血中総ダイオキシン類濃度と母の TSH・FT4 濃度との間には有意な関連を認めず、また、児の TSH・FT4 濃度との間にも有意な関連は認められなかった。

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

有機フッ素化合物(PFOS・PFOA)曝露による甲状腺機能への影響では、母体血清中 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($\beta=-0.216$, $p=0.016$), FT4 との間に関連は認めなかった。また、母体血清中 PFOS 濃度と男児の TSH 濃度との間に有意な正の関連が認められたが($\beta=0.428$, $p=0.008$), 女児では認められず、FT4 との間にも有意な関連は認めなかった。

4. 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。

5. 胎児期の抗エストロゲン様 PCBs 曝露が出生時体格に与える影響

母体血中 PCBs 濃度および出生時体格の両方が得られた母児 414 名を解析に用いた。各 5 群の PCBs 濃度は幾何平均値で、エストロゲン様作用 PCBs 27616 pg/g lipid, 抗エストロゲン様作用 PCBs 3949 pg/g lipid, その他の PCBs 72640 pg/g lipid, 非ダイオキシン様 PCBs (58 異性体) 93123 pg/g lipid, および総 PCBs(70 異性体) 104142 pg/g lipid であった。全体で解析した結果では、母体血中抗エストロゲン様作用 PCBs 濃度 (\log_{10})と出生時体格との関連は認められなかった。さらに男女別および出産歴別で解析を行ったが、有意な関連は認められなかった。全体の解析では、エストロゲン様 PCBs, その他の PCBs, 非ダイオキシン様 PCBs(58 異性体), および総 PCBs(70 異性体)と出生時体格との有意な関連は認められなかった。一方、初

産女児群では、エストロゲン様作用

PCBs 濃度と出生時身長とに有意な正の
関連が認められた($\beta=0.202$, $p=0.004$)。

6. 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_{10} -unit: $\beta = -148.8g$, 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_{10} -unit: $\beta = -269.4g$, 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。

7. 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

母体血中ダイオキシン・PCB 類濃度と臍帯血中 IgE 濃度が得られた 235 名について解析した。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、男児で有意に高かった。児全体では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が、層別化すると男児で 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、さらに異性体別では 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。

8. 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。

9. 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。

1 0. 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

ダイオキシン類測定データと遺伝子データの両方が得られた 421 名について解析した。ダイオキシン類濃度は非喫煙妊婦と比べ喫煙妊婦で、また、CYP1B1 遺伝子 CC 型と比較して CG/GG 型では低い傾向があった。妊婦の喫煙状況と CYP1B1 遺伝子多型を組み合わせると、出生時体重低下を検討すると、喫煙状況を考慮しない場合は有意な差は認められなかったが、喫煙妊婦ではダイオキシン類濃度 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。しかし、非喫煙妊婦ではこのような関連はみられなかった。

1 1. 出生時体重に影響を及ぼす妊婦の喫煙と葉酸代謝酵素遺伝子多型との関連

血清葉酸値データと遺伝子データの両方が得られた 1784 名について解析した。5,10-*MTHFR* 遺伝子 AC/CC 型と比較して AA 型では血清葉酸値が低かった。妊婦の喫煙状況と 5,10-*MTHFR* 遺伝子多型を組み合わせると、出生時体重を検討すると、非喫煙妊婦で 5,10-*MTHFR* 遺伝子 AC/CC 型と比較して喫煙妊婦で AA 型では出生時体重が 107g (95%CI, -180 to -34, $p = 0.004$) 低下し、特に、男児では -117g (95%CI, -218 to -15, $p =$

0.025) とより低下した。

1 2. 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, β -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 β -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。

1 3. 妊婦血液中のダイオキシン, PCB 類及び水酸化 PCB(OH-PCB)濃度分析法の開発(1)

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/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 0.1～2ng/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。

1 4. 妊婦血液中のダイオキシン, PCB および水酸化 PCB(OH-PCB)類濃度分析法の開発(2)

今回開発した血液中ダイオキシン, PCB および OH-PCB 一斉分析法の 5～7 塩化 OH-PCB/LC/MS/MS のクロマトグラムのうち、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 つのピークに別れ検出された。ピークの重なりは 5 塩化 OH-PCB では 4H と 3H118, 6 塩化 OH-PCB は 4H130 と 3H138, 7 塩化 OH-PCB は 4H172 と 3H180 で見られた。各 OH-PCB の検出下限値は 0.05～1ng/ml であった。血液中 OH-PCB の LC/MS/MS のクロマトグラムでは、ヒト血液中に検出される OH-PCB は主に 6 異性体(4H109, 3H138, 4H146, 4H153, 4H172, 4H187)で各異性体のピークを検出できた。

1 5. 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)測定分析法の開発(1)

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-d₁₆(BPA-d₁₆)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'-d₄(BPA-d₄)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-d₅(Me-OP-d₅)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。

1 6. 血液中のビスフェノール A(BPA) および 4-ノニルフェノール(NP)測定分析法の開発(2)

全操作ブランク試験における BPA のブランク値は一定しなかった。カートリッジカラムのコンディショニングから前処理操作における個々の操作のブランク試験では、コンディショニングに用いた溶媒中の濃度が、他に比較して高く、コンディショニングの有効性が確認されたが、コンディショニング以降の分析操作段階でもブランク値が観測された。

本分析で用いる溶媒試薬中の BPA 濃度が十分低濃度であることは確認しているので、前処理用カートリッジカラムを起源とする BPA をコンディショニングによって低減することを検討した。コンディショニングの方法によってブランク値は異なるが、同一の操作でもブランク値には日間変動が観測された。ブランク値に決定的に寄与している要因が特定できず、また、同一操作におけるブランク値の再現性が低いことから、分析に使用し、試料に接する部材からの BPA の溶

出と雰囲気汚染が要因と考えた。部材からの BPA の溶出を評価するために、カートリッジを分解し、構成される部品単位(充填剤, フリットおよびチューブ)で浸出試験を行った。カートリッジを構成するチューブからの BPA の溶出が確認されたが、この現症は定常的に出現しないことから、チューブを変更した。

作製したカートリッジカラムのブランク試験では、2 種類のカートリッジカラムのブランク値が ISOLUTE マルチモードに比較して低かったことから、前処理用カートリッジカラムの樹脂製チューブがブランク値に大きく影響する可能性が判明した。しかし、通常の使用において、その影響は定常的ではなく、また、濃度レベルは一定しないため、前処理用カートリッジカラムの樹脂を抜き取り、ガラス製のカラムに充填して全操作ブランク試験を行い、また、比較のため、樹脂製カートリッジカラムを用いたブランク試験を行ったところ、ガラス製のカラムを用いることによってブランク値は減少し、ブランク値の再現性も改善された。

17. 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。

18. 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。

19. 有機フッ素化合物(PFCs)曝露による小児の体格および疾患への影響に関する疫学研究のレビュー

検索された文献は 17 編のレビュー文献を含む 361 編だった。そのうち 14 編が本研究のレビューの対象となる条件に該当した。PFOS・PFOA 曝露による出生時体重への影響は 6 編検索され、そのうち 4 編で PFOS もしくは PFOA と出生時体重との負の関連が示された。

Danish National Birth Cohort(DNBC) では、前向きコホート研究において胎児期の PFOS・PFOA 曝露と不妊、5 ヶ月・12 ヶ月時の身体測定値、6 ヶ月・18 ヶ月時の神経行動発達、幼児期の感染症による入院リスク、7 歳時の行動・発達協調性運動障害との関連の 5 編が検索されたが、免疫系や神経行動発達系との関連は認められなかった。National Health and Nutrition Examination Survey では、3 編が PFOS・PFOA・PFNA・PFHxS

曝露と成人のコレステロール値，甲状腺疾患，12 歳～15 歳の ADHD との関連を横断研究で検討し，いずれも正の関連が認められた。

2 0. 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。母親の暖かさと授乳期間は，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 編のみが妊娠期およ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。

2 1. 注意欠陥/多動性障害(ADHD)の環境要因，遺伝的発症要因および交互作用に関する文献レビュー

ADHD 発症における環境遺伝交互作用を検討した疫学研究は 8 編であった。

喫煙と DAT1 10-repeat allele では，ADHD の頻度が喫煙単独および遺伝子多型単独より高いことが 4 編のうち 3 編で示され，交互作用が観察された。DRD4 7-repeat allele についても 1 編で同様な交互作用が観察された。

アルコールと DAT1 intron 8 多型が 1 編で，強い心理社会的ストレスと DAT1 intron 3 多型が 1 編で，また，両親の不仲に関する自責と 5HTTLPR 多型が 1 編で有意な交互作用が見られた。生まれた季節と DRD4 7-repeat とは，2 編中 1 編で交互作用の存在が示唆されたが，症