

妊婦の妊娠初期葉酸値の経年変化および喫煙の影響
(First trimester serum folate status of Japanese women in Hokkaido)

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

The first trimester serum folate status of Japanese women was evaluated with demographic and lifestyles factors that determine folate levels.

Results showed that one-third of the population had low folate status and that the highest mean folate levels were found among periconceptional folate supplements users. Major determinants of serum folate status identified were maternal age, use of periconceptional folate supplements, and active or passive cigarette smoking.

Two thirds of the study participants had adequate folate status and that folate supplement use is the single most important positive determinant of folate status while cigarette smoking is a negative predictor of folate status.

研究協力者

Yila Thamar, 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, Braimoh
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)

supplement use in the prevention of neural tube defects (NTDs) and other adverse pregnancy outcomes has been well documented.¹ Health policy regarding folate supplement use has been adopted by various countries including Japan.

However, a number of investigations relating to folate intake and status in pregnant Japanese women has yielded inconsistent findings partly due to inadequate study power^{2, 3, 4}

This study was aimed at determining the first trimester folate status and identifying the demographic and lifestyle determinants of folate status.

B. 研究方法

4487 mothers (529 folate supplement users and 3958 nonusers) from the ongoing prospective cohort of the Hokkaido Study on Environment and Children's Health

A. 研究目的

Folate, a cofactor in one carbon metabolism, is very essential in all cellular processes. Folate is widely available in regular diets but is highly heat labile and several other factors interfere with its absorption. Therefore, deficiency is very common, mainly due to inadequate dietary intake, defective absorption, abnormal metabolism or increased requirements as in pregnancy.

The proven efficacy of folate

were examined. Data 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 this was quantified using the chemiluminescence method (SRL Corporation). Briefly, serum obtained from non-EDTA containing whole blood was collected from respondents and assayed for folate levels. The assay method used was the Automated competitive protein binding (CPB) chemiluminescence assay technique. Specific technique was Advia Centaur which operates on the principle of acridinium ester-labelled folate and a biotin-labelled folate binding protein, with a calibration curve to determine the concentrations. The method specific reference range is between 3.6-12.9ng/ml. Cut-off points for this research were the cut-off points established by the manufacturers of folate immunoassay kits DPC, Los Angeles, CA, USA. Below 3.6 ng/ml is considered by the USA, Canada and Japan as critical for supplementation. Values <3.0ng/ml were defined as deficient levels, 3.0-6.0ng/ml as low levels and >6.0ng/ml as normal levels. Folate levels >30.0ng/ml were excluded due to possible hemolysis of initial specimens. Other cases excluded were those on medications or with medical conditions that independently interfere with folate levels.

Periconceptional folate supplement use was defined as “any report of the

use of folate (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 square tests for categorical variables, non parametric Kruskal- Wallis test and ANOVA to compare means. Multivariable linear regression analysis with adjustment for potential confounders such as maternal age, parity, maternal educational level, annual income, alcohol intake before pregnancy, other types of supplements and cigarette smoking was performed. Data analyses 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

In this population, overall mean serum folate was 7.69 ± 3.1 ng/ml. The median (min-max) folate level was 7.0 (2.7-30.0 ng/ml) (Figure 1). Folate deficiency (<3.0ng/ml) accounted for 0.4%, low folate status (3.0- 6.0ng/ml) was 30.4% while normal folate status (>6.0ng/ml) comprised 69.2% of the population. Maternal age,

educational level, annual income, alcohol intake, cigarette smoking and folate supplement use were strongly associated with folate status. (Table 1).

Univariate analysis further identified the above mentioned factors as strongly related to folate status. Post-hoc tests further revealed higher maternal age ($p = 0.002$), higher educational level ($p < 0.0005$), and higher income ($p < 0.001$) as favourable determinants of folate status. Folate supplement use and alcohol intake also favoured folate status. Only cigarette smoking ($p < 0.0005$) proved to be detrimental to folate status. (Table 2 a).

Further analyses using a multivariable regression model identified folate supplement use [Beta (95%CI) = [0.213 (1.53, 2.68)] and higher maternal age [Beta (95%CI) = [0.041 (0.07,-0.65)] as major positive predictors of folate status while active smoking in pregnancy [Beta (95%CI) = [- 0.066 (- 1.14,-0.35)] and exposure to environmental tobacco smoke at home [Beta (95%CI) = [- 0.072 (- 0.70, -0.26)] as negatively associated with folate status. (Table 2 b).

Overall prevalence of folate supplement use was 12.0% with an increase in the yearly incidences (6.7%, 10.3%, 15.0% and 16.5% in 2003, 2004, 2005 and 2006 respectively). (Figure 2). Among periconceptional folate supplement users (N = 529), mean serum folate was 11.3 ± 3.1 ng/ml with a median

(min-max) of 10.8 (3.5-30.0). Among non-users (N = 4441), mean serum folate was 7.1 ± 2.4 with a median (min-max) of 6.8 (2.7-27.0).

D. 考察

In this study, the majority of pregnant women in Hokkaido had normal folate status (69.2%), while about one-third had low folate status. In contrast, Matsuzaki et al (2008) reported a high prevalence of low folate status (79.3%) in pregnant women in Tokyo, in a cross-sectional study³. Various factors could explain this disparity, one of which is the research methods. To reduce systematic bias in this study, efforts were made to exclude those with concurrent medical conditions and on certain drugs known to interfere directly with folate status. Such conditions include inflammatory bowel diseases, epilepsy, diabetes, hypertension, systemic lupus erythematosus and drugs like anticonvulsants, antimicrobials and chemotherapeutics.

Major demographic and lifestyle factors that positively predicted folate status were higher maternal age and folate supplement usage, while cigarette smoking and passive exposure to cigarette smoke ranked the highest in predicting a negative effect on folate status. Other investigators have reported that older women are more likely to take supplements than younger women, and this may explain the link with higher folate status.^{5, 6} The inverse association between cigarette

smoking and folate status has been reported in several other studies^{7,8}.

In this study, serum folate status was most impaired among non-folate supplement users. This is biologically plausible since exogenous folate is known to increase serum folate levels.¹ The prevalence of periconceptional folate usage was 12.0%. This agrees with the findings reported by two other investigators, 12.0% and 11.8% respectively.³

One other major determining factor that was not considered is polymorphisms in the genes coding for folate metabolizing enzymes. This will be accounted for in future research plans.

E. 結論

Two thirds of the study participants had adequate folate status and folate supplement use was the single most important positive determinant of folate status. Health care providers should emphasize the importance of its use in pregnancy.

F. 研究発表

1. 論文発表

None

2. 学会発表

1. Thamar Ayo Yila, Seiko Sasaki, Toshiaki Baba, Chichiro Miyashita, Titilola Serifat Braimoh, Ikuko Kashino, Sumitaka Kobayashi, Emiko Okada, Yuko Otake, Mariko Limpar, Eiji Yoshioka, Reiko Kishi: Effects of maternal smoking and 5, 10-MTHFR C677T polymorphism on infant's birthweight – the impact of folate supplementation – (Proceedings of The 3rd Annual

Conference on Genomics of Common Diseases, 23rd – 26th Sept. 2009, Cambridge, UK.)

G. 知的財産権の出願・登録状況

None

参考文献

1. Charles DHM, Ness AR, Campbell D, Smith DG, Whitley E, Hall MH: Folate 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.
2. Mito N, Takimoto H, Umegaki K, Ishiwaki A, Kusama K, Fukuoka H, Ohta S, Abe S, Yamawaki M, Ishida H, Yoshiike N: Folate intakes and folate biomarker profiles of pregnant Japanese women in the first trimester. *European Journal of clinical nutrition* (2007) 61, 83 -90..
3. Matsuzaki M, Haruna M, Ota E, Satoshi S, Yasushi N, Murashima S: Dietary folate intake, use of folate supplements, lifestyle factors, and serum folate levels among pregnant women in Tokyo, Japan. *J.Obstet.Gynaecol. Res.* Vol. 34, No. 6: 971 -979, December 2008.
4. Ihara H, Watanabe T, Aoki Y, Nagamura Y, Totani M, Hashizume N: Dietary folate intake and serum folate status in Japanese women of childbearing age. *Journal of Analytical Bio-Science* Vol. 32, No. 2 (2009).
5. Rasmussen LB, Ovesen L, Bülow I, Knudsen N, Laurberg P, Perrild H: Folate intake, lifestyle factors, and

- homocysteine concentrations in younger and older women¹⁻³. *Am J Clin Nutr* 2000; 72:1156-63.
6. Kirk SFL, Cade JE, Barrett JH, Conner M: Diet and lifestyle characteristics associated with dietary supplement use in women. *Public Health Nutr* 1999; 2: 69-73.
7. 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.
8. 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.

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）
分担研究報告書

Table 1: Characteristics of participants by maternal serum folate status during pregnancy

Characteristics	Maternal serum folate			<i>p</i> value
	< 3.0(ng/ml) n = 16 (0.4%)	3.0 – 6.0(ng/ml) n = 1366 (30.4%)	>6.0(ng/ml) N = 3105 (69.2%)	
	Mean (SD)	Mean (SD)		
Maternal age (years)	27.0 (8.7)	27.8 (8.0)	28.4 (8.6)	0.001 [§]
Gestational age at booking (weeks)	10.1(3.8)	10.6 (8.0)	10.4 (4.8)	0.122 [§]
Maternal BMI (kg/m ²)	20.5 (7.0)	21.5 (8.0)	21.4 (7.8)	0.649 [§]
Infant head circumference (cm)	32.9 (1.4)	32.8 (3.8)	32.8 (3.8)	0.065 [§]
Infant chest circumference (cm)	31.4 (1.9)	31.5 (3.8)	31.5 (4.2)	0.028 [§]
Infant Birthlength (cm)	48.8 (2.5)	48.8 (4.0)	48.8 (4.3)	0.098
Birth weight (g)	2920.5 (414.3)	3038.9 (447.3)	3065.3 (430.5)	0.005 [§]
	N (%)	N (%)		
Infant gender				
Male	12 (75.0)	653 (47.8)	1532 (49.0)	0.162 [†]
Female	4 (25.0)	701 (51.0)	1535 (51.3)	
Parity				
0	7 (43.7)	648 (47.4)	1473 (47.4)	0.505 [†]
≥1	8 (50.0)	702(51.3)	1593 (51.3)	
Educational level (years)				
<10	2 (12.5)	60 (4.3)	100 (3.2)	0.001 [†]
10- < 13	10 (62.5)	680 (49.7)	1329 (42.8)	
13- < 17	4 (25.0)	495 (86.0)	1320(42.5)	
≥ 17	0 (0)	118 (8.6)	330 (10.6)	
Annual income (million yen)				
< 3	8 (50.0)	451 (33.0)	29 (23.0)	0.028 [†]
3- < 5	8 (50.0)	834 (61.0)	1894 (61.0)	
≥ 5	0(0)	70(5.1)	947 (30.5)	
Alcohol intake before pregnancy				
No	9 (56.3)	586 (42.8)	1106 (35.6)	0.0001 [†]
Yes	7 (43.7)	768 (56.2)	1971 (63.4)	
Periconceptual folate supplement use				
Non-user	16 (100.0)	1303 (95.3)	2593 (85.0)	0.0001 [†]
User	0 (0)	54 (3.9)	475 (15.0)	
Smoking during pregnancy				
Non smoker	7 (43.7)	894 (65.4)	2370 (76.3)	<0.0001 [†]
Quitter	2 (12.5)	236 (17.2)	403(12.9)	
Smoker	7(43.7)	236 (17.2)	332 (10.6)	

[§]Kruskal- Wallis test, [†]χ²-test In some variables, values may not add up to 100% due to non- response.

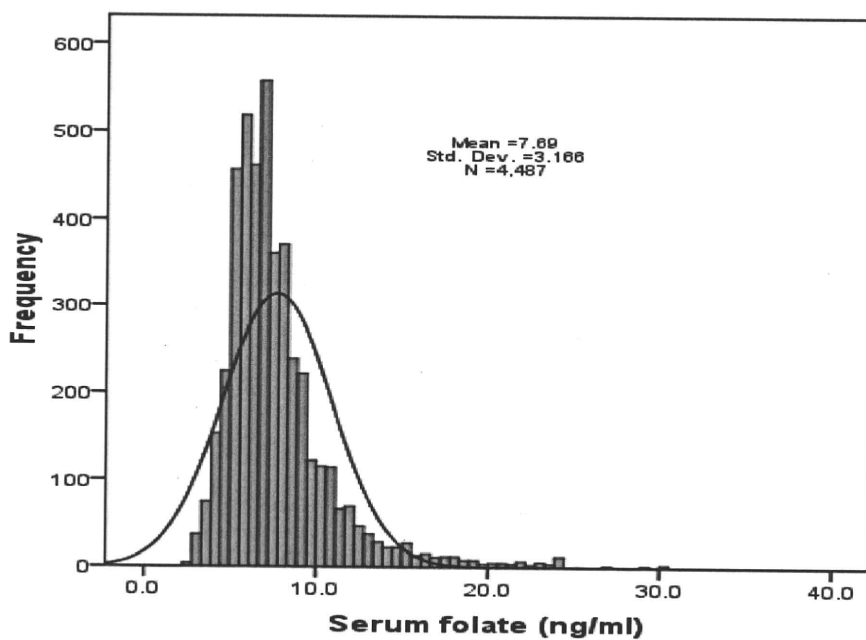


Figure 1: Distribution of first trimester serum folate levels.

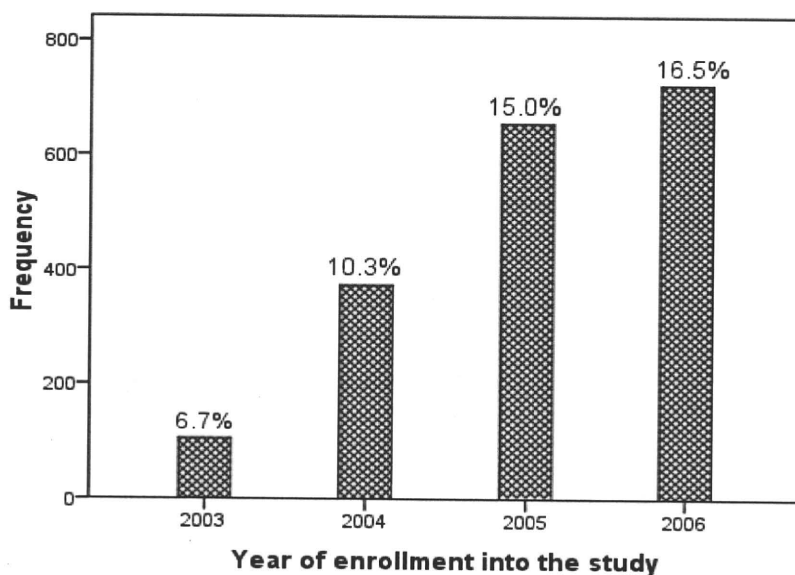


Figure 2: Annual incidence rates of periconceptional folate supplements use.

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)
分担研究報告書

Table 2a: Variances in serum folate levels according to known demographic determinants.

Factor	N (%)	Serum folate status Mean ±SD	F	Post Hoc Test ^a	Eta Squared
Periconceptual Folate supplement ^b use					
No	3912 (88.0)	7.2 (2.4)	973.087***	-	0.18 [#]
Yes	529 (12.0)	11.3 (5.1)			
Alcohol intake before pregnancy ^b					
No	1701 (38.3)	7.5 (3.1)	4.157**	-	0.0009
Yes	2746 (61.7)	7.7 (3.1)			
Cigarette smoking during pregnancy ^b					
No	3912 (87.2)	7.8 (3.2)	49.501***	-	0.01
Yes	575 (12.8)	6.7 (2.6)			
Maternal age (yrs) ^c					
≤19	25 (0.6)	5.9 (1.3)	9.244***	0.002	0.004
20-35	3707 (88.1)	7.6 (3.1)		0.003	
>35	477 (11.3)	8.1 (3.5)			
Educational attainment (yrs) ^c					
<10	162 (3.6)	6.9 (2.6)	20.298***	0.0005	0.00001
10 - <13	2064 (46.4)	7.4 (3.0)		0.0005	
13 - <17	1819 (40.9)	7.8 (3.1)		0.0005	
>17	403 (9.1)	8.5 (3.9)			
Annual income (million yen) ^e					
<3	488 (11.5)	7.2 (2.8)	13.334***	0.001	0.007
3 - <5	2736(64.5)	7.6 (3.2)		0.010	
≥ 5	1017 (24.0)	8.0 (3.3)			

^bt-test, ^cANOVA ^dTukey HSD [#]large effect size ***P < 0.0005 **P < 0.05

Table 2b: Demographic and lifestyle factors that predict serum folate levels.

Characteristic	N (%)	Standardized coefficients (Beta)	95% CI
Periconceptual folate supplement use			
No	3912 (88.0)	reference	-
Yes	529 (12.0)	0.213	1.53, 2.68***
Alcohol intake before pregnancy			
No	1701 (38.3)	reference	-
Yes	2746 (61.7)	0.030	- 0.02, 0.43*
Cigarette smoking during pregnancy			
Non Smoker	3271 (73.0)	reference	-
Quitter	641 (14.2)	- 0.047	- 0.58, - 0.08***
Smoker	575 (12.8)	- 0.066	-1.14, - 0.35***
ETS exposure at home ^a			
No	1510 (34.0)	reference	-
Yes	2977 (66.0)	-0.072	- 0.70, - 0.26***
Maternal age (yrs)			
≤19	25 (0.6)	- 0.018	- 2.14, 0.63
20-35	3707 (88.1)	reference	-
>35	477 (11.3)	0.041	0.07, - 0.65**
Annual income (million yen)			
<3	488 (11.5)	-1.453	-0.30, 0.02*
3 - <5	2736 (64.5)	reference	-
≥ 5	1017 (24.0)	1.457	-0.02, 0.20*

Multivariable linear regression model. ***P < 0.0005 **P < 0.05 *P < 0.1 . R square = 0.22.

Adjusted for folate supplement use, Other types of supplements use, alcohol intake, cigarette smoking, ETS exposure, maternal age, educational level and annual income.

ETS^a = Environmental tobacco smoke.

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

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

有機フッ素化合物(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ことを目的に、PubMed を用いて文献検索を行った。一般環境レベルにおける PFCs を曝露要因として、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。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 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への影響を検討した 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ており、いずれも正の関連が認められた。今後さらに、一般環境レベルでの PFC 曝露による免疫アレルギー疾患や神経行動発達、甲状腺疾患などへの影響についての研究が期待される。

研究協力者

岡田 恵美子，檜野 いく子，坂 晋，
金澤 文子，鷺野 考揚，小西 香苗，
馬場 俊明，Yila Thamar，
宮下 ちひろ，Brimoh Titilola，
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)
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)

建材、フッ素系の表面コーティング剤、界面活性剤などに広く使用されている。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¹⁾。

動物実験では、肝肥大、内分泌障害(甲状腺ホルモン減少、血清コレステロール値減少)、運動機能の低下、発達障害、免疫抑制、仔の出生体重減少などが示されている。

ヒトにおいては母体の曝露による胎盤透過性が報告され²⁻⁴⁾、胎児への移行が示唆されるとともに出生時体格、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。しかし、これまで多くの先行研究で

A. 研究目的

PFOS・PFOA・PFNA・PFHxS・PFDA のような有機フッ素化合物(PFCs)は、撥水の性質を利用して衣類、

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。

本研究の目的は、ヒト一般環境レベルの PFC 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ことである。

B. 研究方法

レビューの対象となる英文文献は PubMed により検索した。検索の keyword 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、小児の体格や感染症、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。

C. 研究結果

検索された英文文献は 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。

1. PFCs 曝露と出生時体格との関連

PFCs 曝露とヒト胎児発育との関連についての疫学研究は、近年急速に注目を浴びている。2007 年以降、国内外での報告が相次いでおり、現在までの報告として 6 編が検索された(表 1)。そのうち、曝露要因として母体血もしくは臍帯血を用いている研究が 5 編であった。PFOA 濃度が高いほど出生時体重が低下するとした報告が 2 編⁵⁾⁶⁾、PFOS 濃度が高いほど出生時体重が低いと示した報告が 3 編^{5),7)8)}、関連がなかったものが 2 編^{4),9)}であった。Fei ら(2007) は、PFOS・PFOA 曝露と Low birth weight (LBW), Small for gestational age (SGA) との関連も検討したが、有意な関連は認められなかった⁸⁾

国内では、札幌市 1 産科病院を対象とした 428 名の研究から、女兒において PFOS 濃度と出生体重に負の関連が認められた⁸⁾。これは、出生前向きコホート研究における PFCs 曝露と出生時体格との関連を検討したわが国で初めての研究である。しかし、サンプルサイズが小さいことが研究の限界として挙げられた。

2. PFOS・PFOA 曝露と出生後アウトカムとの関連 (Danish National Birth Cohort)

Danish National Birth Cohort(DNBC)は、デンマークにおいて 1996 年 3 月～2002 年 11 月に登録された 91,827 名の妊婦を対象とした前向きコホート研究である。曝露要因となる検体は妊娠初期の母体血血漿を用い、high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry(高速液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法)を用いて測定した。

胎児期の PFOS・PFOA 曝露による出生後アウトカムへの影響については、不妊¹⁰⁾、出生時体重と 5 ヶ月・12 ヶ月時の身体測定値¹¹⁾、6 ヶ月・18 ヶ月時の神経行動発達¹²⁾、幼児期の感染症による入院リスク¹³⁾、および 7 歳時の行動・発達協調性運動障害¹⁴⁾ との関連を検討した計 5 編が検索された(表 2)。

Fei ら(2009) は、母体血中 PFOS・PFOA 濃度と不妊との関連について報告した(n=1,240)。不妊は、妊娠までの期間が 12 ヶ月以上、不妊治療の有無で評価した。妊娠までの期間が 12 ヶ月以上の妊婦では、PFOS・PFOA 濃度が高く、PFOS・PFOA 濃度が高いほど不妊のリスクが有意に上昇した。

Andersen ら(2010) は、母体血中 PFOS・PFOA 濃度と出生時体重、5 ヶ月・12 ヶ月時の体重・身長・Body Mass

Index (BMI) との関連について報告した(5 ヶ月時 n=1,154; 12 ヶ月時 n=1,076)。出生後の体格は、Child's book からのデータを用いて評価した。PFOS 濃度が高いほど 12 ヶ月時での体重・BMI が有意に低く、PFOA 濃度が高いほど出生時体重が有意に低かった。男女別に層化した結果、男児においては、PFOS 濃度が高いと 12 ヶ月時の体重・BMI が有意に低く、PFOA 濃度が高いと 5 ヶ月時・12 ヶ月時の体重・BMI が有意に低かった。また女児では、PFOS 濃度のみで出生時体重に有意な負の関連が認められた。

Fei ら(2008) は、母体血中 PFOS・PFOA 濃度とアプガースコアおよび 6 ヶ月・18 ヶ月時の神経行動発達との関連について報告した (n=1,399)。アプガースコアは、National Hospital Discharge Register (Copenhagen, Denmark)からのデータを用い、6 ヶ月・18 ヶ月時の神経行動発達は母による自記式調査票から評価した。調査票は、専門家(Child neuropsychologist)によって開発され、Motor functioning, Attention and Cognitive functions, Language development, Social-personal development を評価する項目で構成されたものである。アプガースコアおよび 6 ヶ月・18 ヶ月時の神経行動発達ともに、PFOS・PFOA 濃度との有意な関連は認められなかった。

Fei ら(2010a) は、母体血中 PFOS・PFOA 濃度と 5.8 歳～10.7 歳の感染症による入院のリスクとの関連を報告した (n=1,400)。感染症は、National Hospital Discharge Register からのデータを用い、International Classification of Diseases (ICD)-10 に従って診断を分類した。感染症による入院の罹患率はデンマークの先行研究と同様であったが (25.9%)、PFOS・PFOA 濃度との有意な関連は認められず、量反応関係もみられ

なかった。

さらに、Fei ら(2010b) は、母体血中 PFOS・PFOA 濃度と 7 歳時の行動・発達協調性運動障害との関連についても報告した (SDQ n=787; DCDQ n=526)。行動障害は、親の自記式による Strengths and Difficulties Questionnaire (SDQ) から評価した。SDQ は、Emotional, Conduct, Hyperactivity, Peer and Social disorders の 5 項目で構成され、小児の多動性と注意力をスクリーニングするツールである。妥当性・信頼性が得られており、標準化されて疫学研究で用いられている。90 パーセント以上をケースと定義した。発達協調性障害は、Developmental Coordination Disorder Questionnaire (DCD)を用い、10 パーセント以下をケースと定義した。デンマークの先行研究において SDQ による行動障害の有病率は 10%であったが、この研究では 5%～6%であった。PFOS・PFOA 濃度と 7 歳時の行動・発達協調性運動障害との有意な関連は認められなかった。

3. PFCs 曝露と疾患との関連 (National Health and Nutrition Examination Survey)

National Health and Nutrition Examination Survey(NHANES)は、アメリカ合衆国において Centers for Disease Control (CDC)が 1960 年代前半から実施している全国調査である。成人および小児の健康・栄養状態を評価するプログラムであり、1999 年に新たな必要性から健康と栄養の計測値に焦点を当てた調査になった。

NHANES において、PFCs を曝露要因とし疾患等への影響を検討した報告は 3 編検索された(表 3)。全て横断研究であった。血清中 PFCs 濃度は、automated solid-phase extraction coupled to

reversed-phase high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry（自動固相抽出/同位体希釈高速液体クロマトグラフィータンデム質量分析法）を用いて測定した。

Nelson ら（2010）は、成人男女 860 名の血清中 PFOS・PFOA・PFNA・PFHxS 濃度と血中 Total cholesterol(TC)・High-density lipoprotein(HDL)・Non high-density lipoprotein(Non-HDL)・Low-density lipoprotein(LDL)との関連を報告した。PFOS 濃度が高いほど TC・Non-HDL が有意に高く、PFOA 濃度が高いと Non-HDL が有意に高く、また、PFNA 濃度が高いほど TC・Non-HDL が有意に高いという結果であった。PFHxS 濃度は反対の傾向がみられ PFHxS 濃度が高いほど TC・Non-HDL が有意に低いという結果であった。

Melzer ら（2010）は、成人男女 3,966 名の血清中 PFOS・PFOA 濃度と甲状腺疾患との関連について報告した。甲状腺疾患は、甲状腺疾患の診断の有無（既往歴・現病歴）と治療薬使用の有無で評価した。男性において、PFOS 濃度が高いほど甲状腺疾患の現病歴のリスクが有意に高く、女性では、PFOA 濃度が高いほど甲状腺疾患の既往歴および現病歴のリスクが有意に高かった。

Hoffman ら（2010）は、12 歳～15 歳の男児と女児 586 名を対象とし、血清中 PFOS・PFOA・PFNA・PFHxS 濃度と Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) との関連について報告した。ADHD は、親からの回答による ADHD 診断の有無、ADHD 治療薬使用の有無で評価した。女児よりも男児で ADHD が有意に多かった (OR=4.50; 95%CI 2.17-9.37)。PFOS・PFOA・PFNA・PFHxS 濃度が高いほど ADHD のリスクが有意に高かった。

D. 考察

出生時体重をアウトカムにした研究では、横断研究のデザインであったり⁵⁾、曝露評価の検体が血液ではなく水道水であるなど⁹⁾因果関係が明らかにできない報告があった。また、各研究により解析で調整されている交絡因子が異なっていた¹⁸⁾。Washino ら（2009）の報告ではサンプルサイズが 428 名と小さく、他 2 編も、293 名⁵⁾、101 名⁴⁾と対象者数が少ないことから、より大きなサンプルサイズで検討する必要がある。

また、Washino ら（2009）の報告では、女児において出生時体重との負の関連が認められ、胎児期の環境化学物質の感受性に性差がある可能性が示唆された。しかし、同コホートにおいて、ダイオキシン曝露の評価では男児にのみ出生時体重に有意な負の関連がみられたことから¹⁹⁾、性差についても解明する必要がある。

DNBC において PFOS・PFOA 曝露では、出生時体重や小児の体格で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。Fei ら（2008）の報告では、6 ヶ月・18 ヶ月時の神経行動発達のアウトカム評価として専門家によって開発された調査票を用いているが、妥当性・信頼性が得られている標準化された手法を用いていない。さらに、Fei ら（2010a）の報告において、感染症のアウトカム評価は Hospital Register からのデータのみを用いており、血液中の IgE などは検討していない。アウトカムには、より感度が高い指標や、バイオマーカーを用いて評価する必要がある。PFOS・PFOA が小児の体格や免疫系や神経行動発達系に及ぼす影響には、曝露経路や代謝経路が異なる可能性が考えられるが、未だ明らかになっていないことが多く、さらなる研究が必要である。動物実験では高濃度曝露で影響が認められていることから、ヒトにおいても疫学

的に評価していく必要がある。また、Fei ら (2010b) の報告では、7 歳時の行動・発達協調性運動障害をアウトカムとしているが、子どもの PFCs 曝露量は成人と異なることから、子どもの PFCs 曝露のより包括的な評価が必要である。

NHANES は横断研究であることが限界であるが、アメリカの一般住民を対象としていることが強みである。Hoffman ら(2010) の報告は、PFCs 曝露による子どもの ADHD との関連を検討した初めての研究であり、有意な正の関連が認められたことから、今後、他の研究での成果が期待される。また、これまで研究の対象とされてきた PFOS・PFOA 以外の PFNA・PFHxS の影響を検討した点で重要である。近年では、産業界で 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。アメリカの一般環境レベルの血中 PFNA 濃度は経年して上昇していることが報告されている¹⁵⁾。PFOS・PFOA 以外の PFCs とヒト胎児発育との関連について検討した研究は 1 編のみであることから⁴⁾、PFNA・PFHxS・PFDA などのその他の PFCs 曝露の影響も検討する必要がある。今後さらに、一般環境レベルでの PFCs 曝露による免疫アレルギー疾患や神経行動発達、甲状腺疾患などへの影響についての研究が期待される。

E. 結論

有機フッ素化合物(PFCs)曝露による、小児の体格や感染症、神経行動発達、ADHD、甲状腺疾患などへの影響については、未だ明らかになっていないことが多く、さらなる研究が必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

参考文献

1. Olsen GW, Burris JM, Ehresman DJ, Froehlich JW, Seacat AM, Butenhoff JL, et al. 2007. Half-life of serum elimination of perfluorooctanesulfonate, perfluorohexanesulfonate, and perfluorooctanoate in retired fluorochemical production workers. *Environ Health Perspect.* 115, 1298–1305.
2. Inoue K, Okada F, Ito R, Kawaguchi M, Okanouchi N, Nakazawa H. 2004. Determination of perfluorooctane sulfonate, perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonylamide in human plasma by column-switching liquid chromatography-electrospray mass spectrometry coupled with solid-phase extraction. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 810, 49–56.
3. Midasch O, Drexler H, Hart N, Beckmann MW, Angerer J. 2007. Transplacental exposure of neonates to perfluorooctanesulfonate and perfluorooctanoate: a pilot study. *Int Arch Occup Environ Health.* 80, 643–648.
4. Monroy R, Morrison K, Teo K, Atkinson S, Kubwabo C, Stewart B, et al. 2008. Serum levels of perfluoroalkyl compounds in

- human maternal and umbilical cord blood samples. *Environ Res.* 108, 56–62.
5. Apelberg BJ, Witter FR, Herbstman JB, Calafat AM, Halden RU, Needham LL, et al. 2007. Cord serum concentrations of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) in relation to weight and size at birth. *Environ Health Perspect.* 115, 1670–1676.
 6. Fei C, McLaughlin JK, Tarone RE, Olsen J. 2007. Perfluorinated chemicals and fetal growth: a study within the Danish National Birth Cohort. *Environ Health Perspect.* 115, 1677–1682.
 7. Stein CR, Savitz DA, Dougan M. 2009. Serum levels of perfluorooctanoic acid and perfluorooctane sulfonate and pregnancy outcome. *Am J Epidemiol.* 170, 837–846.
 8. Washino N, Saijo Y, Sasaki S, Kato S, Ban S, Konishi K, et al. 2009. Correlations between prenatal exposure to perfluorinated chemicals and reduced fetal growth. *Environ Health Perspect.* 117, 660–667.
 9. Nolan LA, Nolan HM, Schofer FS, Rodway NV, Emmett EA. 2009. The relationship between birth weight, gestational age and perfluorooctanoic acid (PFOA)-contaminated public drinking water. *Reprod Toxicol.* 27, 231–238.
 10. Fei C, McLaughlin JK, Lipworth L, Olsen J. 2009. Maternal levels of perfluorinated chemicals and subfecundity. *Hum Reprod.* 24, 1200–1205.
 11. Andersen CS, Fei C, Gamborg M, Nohr EA, Sørensen TI, Olsen J. 2010. Prenatal exposures to perfluorinated chemicals and anthropometric measures in infancy. *Am J Epidemiol.* 172, 1230–1237.
 12. Fei C, McLaughlin JK, Lipworth L, Olsen J. 2008. Prenatal exposure to perfluorooctanoate (PFOA) and perfluorooctanesulfonate (PFOS) and maternally reported developmental milestones in infancy. *Environ Health Perspect.* 116, 1391–1395.
 13. Fei C, McLaughlin JK, Lipworth L, Olsen J. 2010a. Prenatal exposure to PFOA and PFOS and risk of hospitalization for infectious diseases in early childhood. *Environ Res.* 110, 773–777.
 14. Fei C, Olsen J. 2010b. Prenatal Exposure to Perfluorinated Chemicals and Behavioral or Coordination Problems at Age 7. *Environ Health Perspect.* in press.
 15. Nelson JW, Hatch EE, Webster TF. 2010. Exposure to polyfluoroalkyl chemicals and cholesterol, body weight, and insulin resistance in the general U.S. population. *Environ Health Perspect.* 118, 197–202.
 16. Melzer D, Rice N, Depledge MH, Henley WE, Galloway TS. 2010. Association between serum perfluorooctanoic acid (PFOA) and thyroid disease in the U.S.

- National Health and Nutrition Examination Survey. Environ Health Perspect. 118, 686–692.
17. Hoffman K, Webster TF, Weisskopf MG, Weinberg J, Vieira VM. 2010. Exposure to polyfluoroalkyl chemicals and attention deficit/hyperactivity disorder in u.s. Children 12-15 years of age. Environ Health Perspect. 118, 1762–1767.
 18. Olsen GW, Butenhoff JL, Zobel LR. 2009. Perfluoroalkyl chemicals and human fetal development: an epidemiologic review with clinical and toxicological perspectives. Reprod Toxicol. 27, 212–230.
 19. Konishi K, Sasaki S, Kato S, Ban S, Washino N, Kajiwara J, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Yasutake D, Kishi R. 2009. Prenatal exposure to PCDDs/PCDFs and dioxin-like PCBs in relation to birth weight. Environ Res. 109, 906–913.

表 1. PFCs 曝露と出生時体格との関連

著者, 国, 年	研究 デザイン	サンプル サイズ	検体 採取年	曝露要因 (検体)	PFOS (ng/ml)	PFOA (ng/ml)	結果	文献 No.
Apelberg et al. アメリカ (2007)	横断研究	293	2004- 2005	臍帯血血清	4.9	1.6	PFOS・PFOA ともに出生時体重・ ponderal index・頭囲と負の関連がみられ た[出生時体重(per ln-unit: $\beta = -69$ g, 95% CI, -149 to 10 for PFOS; $\beta = -104$ g, 95% CI, -213 to 5 for PFOA), ponderal index (per ln-unit: $\beta = -0.074$ g/cm ³ × 100, 95% CI, -0.123 to -0.025 for PFOS; $\beta = -0.070$ g/cm ³ × 100, 95% CI, -0.138 to -0.001 for PFOA), 頭囲 (per ln-unit: $\beta = -0.32$ cm, 95% CI, -0.56 to -0.07 for PFOS; $\beta = -0.41$ cm, 95% CI, -0.76 to -0.07 for PFOA)].	5
Fei et al. デンマーク (2007)	前向きコホ ート研究	1,399	1996- 2002	母体血血漿 (妊娠初期)	35.3	5.6	PFOA のみにおいて出生時体重と負の関 連がみられた (adjusted $\beta = -10.63$ g; 95% CI, -20.79 to -0.47 g). LBW・SGA との関連は認められなかった。	6
Monroy et al. カナダ (2008)	前向きコホ ート研究	101	2004- 2005	母体血血漿(出産時) 臍帯血血漿	16.2 7.2	2.2 1.9	有意な関連は認められなかった。	4
Washino et al. 日本 (2009)	前向きコホ ート研究	428	2002- 2005	母体血血清 (妊娠中期)	5.2 5.6	1.3 1.4	PFOS のみで出生時体重と負の関連がみ られた(per log10 unit: $\beta = -148.8$ g; 95% CI, -297.0 to -0.5 g). 特に女兒において PFOS と有意な関連が認められた(per log10 unit: $\beta = -269.4$ g; 95% CI, -465.7 to -73.0 g)。	8
Nolan et al. アメリカ (2009)	横断研究	1,360	2003- 2005	低濃度曝露水道水 高濃度曝露水道水	-	0.007 6.78	有意な関連は認められなかった。	9

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）
分担研究報告書

Stein et al. アメリカ (2009)	前向きコホ ート研究	4,561 (PFOS) 1,589 (PFOA)	2005- 2006	母体血血漿	15.0 13.6	48.8 21.2	50パーセントイル以上のPFOSレベルに おいて、出生時体重の低下のリスク増加が みられた(adjusted OR = 1.5; 95% CI, 1.1 to 1.9)。奇形では、90パーセントイル以上 のPFOAレベルのみにおいて、弱い関連が みられた(adjusted OR = 1.7; 95% CI, 0.8 to 3.6)。	7
--------------------------------	---------------	--	---------------	-------	--------------	--------------	---	---

表2. PFOS・PFOA曝露と出生後アウトカムとの関連 (Danish National Birth Cohort)

著者, 国, 年	研究デザイン	サンプルサイズ	検体採取年	曝露要因(検体)	PFOS (ng/ml)	PFOA (ng/ml)	アウトカム	結果	文献No.
Fei et al. デンマーク (2009)	前向きコホート研究	1,240	1996-2002	母体血漿 (妊娠初期)	35.5	5.6	妊娠までの期間が12ヵ月以上, 不妊治療の有無	妊娠までの期間が長いほどPFOS・PFOA濃度が高かった(P<0.001)。PFOS・PFOAの第1四分位と比較し, 第2・3・4四分位で不妊のリスクは増加した (adjusted OR = 1.70, 2.34 and 1.77 for PFOS, OR = 2.06, 1.60 and 2.54 for PFOA)。	10
Fei et al. デンマーク (2008)	前向きコホート研究	1,399	1996-2002	母体血漿 (妊娠初期)	35.3	5.6	アプガースコア, 6ヵ月・18ヵ月時の 神経行動発達(母の 自記式調査票)	有意な関連は認められなかった。	12
Andersen et al. デンマーク (2010)	前向きコホート研究	1,154 (5ヵ月) 1,076 (12ヵ月)	1996-2002	母体血漿 (妊娠初期)	33.4	5.2	出生時体重, 5ヵ月・12ヵ月時の 身体計測値(体重, 身長, BMI), (child's book から のデータ)	PFOS・PFOAともに児の5ヵ月時・12ヵ月時の体重と負の関連がみられた [adjusted regression coefficients: -1.1 g (95% CI: -4.6, 2.3) at 5 months and -5.8 g (95% CI: -10.4, -1.2) at 12 months for PFOS; -10.6 g (95% CI: -30.2, 8.9) at 5 months and -19.7 g (95% CI: -45.9, 6.5) at 12 months for PFOA]。BMIにおいても類似の傾向がみられた。	11
Fei et al. デンマーク (2010a)	前向きコホート研究	1,400 (5.8- 10.7歳)	1996-2002	母体血漿 (妊娠初期)	35.3	5.6	感染症による入院 リスク [Danish National Hospital Register からのデ ータ (ICD-10 に従 って診断を分類)]	有意な関連は認められなかった。	13

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）
 分担研究報告書

Fei et al. デンマーク (2010b)	前向きコホ ート研究	787 [SDQ] 526 [DCDQ] (7 歳)	1996- 2002	母体血血漿 (妊娠初期)	34.4	5.4	行動・発達協調性運 動障害[行動障害; SDQ, 発達協調性 障害; DCDQ (親の 自記式調査票)]	有意な関連は認められなかった。	14
--------------------------------	---------------	--	---------------	-----------------	------	-----	--	-----------------	----

表 3. PFCs 曝露と疾患との関連 (National Health and Nutrition Examination Survey)

著者, 国, 年	研究デザイン	サンプルサイズ	検体採取年	曝露要因 (検体)	PFOS (ng/ml)	PFOA (ng/ml)	PFNA (ng/ml)	PFHxS (ng/ml)	アウトカム	結果	文献 No.
Nelson et al. アメリカ (2010)	横断研究	860 [451;男性 409;女性] (20-80 歳)	2003- 2004	血清	21.0	3.9	1.0	1.8	TC, HDL, Non-HDL, LDL	PFOS・PFOA・PFNA は TC との正の関連がみられたが, 反対に PFHxS は Non-HDL と負の関連がみられた。PFOS の第 1 四分位と比較し, 第 4 四分位では TC レベルが高かった [effect estimates = 13.4 mg/dL (95% CI, 3.8-23.0) for PFOS, 9.8 (95% CI, -0.2 to 19.7) for PFOA, 13.9 (95% CI, 1.9-25.9) for PFNA, -7.0 (95% CI, -13.2 to -0.8) for PFHxS]。	15
Melzer et al. アメリカ (2010)	横断研究	3,966 [1,900; 男性 2,066; 女性] (20-80 歳)	1999- 2000, 2003- 2004, 2005- 2006	血清	男性; 25.1 女性; 19.1	男性; 4.9 女性; 3.8	-	-	甲状腺疾患の診断 (既往歴・現病歴, 甲状腺疾患治療薬使用の有無)	PFOA の第 4 四分位 (≥ 5.7 ng/mL) の女性は, 第 1・2 四分位 (≤ 4.0 ng/mL) と比較し, 甲状腺疾患リスクが増加した (OR for thyroid disease current with medication = 2.24; 95% CI, 1.38-3.65; $p = 0.002$)。男性においても類似の傾向がみられた (OR = 2.12; 95% CI, 0.93-4.82; $p = 0.073$)。PFOS では, 第 4 四分位 (≥ 36.8 ng/mL) の男性は, 第 1・2 四分位 (≤ 25.5 ng/mL) と比較し, 甲状腺疾患リスクが増加したが (OR for thyroid disease current with medication = 2.68; 95% CI, 1.03-6.98; $p = 0.043$), 女性では関連がみられなかった。	16