

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. BPA 分析における LC/MS/MS 測定条件

測定装置	LC : Agilent-1100 MS : API-4000 Q Trap
分析カラム	Waters ACQUITY UPLC BEH C18 2.1×50mm,1.7μm
溶離液	A : 水 B : アセトニトリル
グラジエント(B)	20%(0min)→20%(1min)→60%(7min)→99%(7.1min)→99%(13min) →20%(13.1min)→20%(19min)
注入量	20μL
カラム温度	40℃
モード	ESI-Negative
m/z	227.0 > 132.9(BPA) 241.0 > 142.0(BPA-d <sub>16</sub> ) 231.0 > 134.9(BPA-d <sub>4</sub> )

表 2 分析ロット毎の全操作ブランク試験の結果及び MDL.

試料名	BPA濃度 (ng/mL)			
	分析ロット No.1	分析ロット No.2	分析ロット No.3	分析ロット No.4
Blank 1	0.036	0.030	0.066	0.049
Blank 2	0.037	0.031	0.056	0.043
Blank 3	0.053	0.025	0.042	0.032
Blank 4	0.037	0.031	0.040	0.021
Blank 5	0.037	0.034	0.042	0.034
平均値	0.040	0.030	0.049	0.036
標準偏差	0.00745	0.00329	0.0111	0.0105
t値(危険率5%, 片側)	2.132	2.132	2.132	2.132
MDL	0.032	0.015	0.048	0.045

【注釈】

$$\text{MDL} = (\text{標準偏差}) \times t \text{ 値} \times 2$$

分析ロット No.4 については、血球試料と血漿試料を全量混合して分析試料とした。

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 8 検体についての二重測定の結果.

北大ID	BPA濃度 (ng/mL)		差 (%)
	1回目	2回目	
232 (臍帯血)	0.057	0.069	20
224 (母体血)	0.024	0.027	11
369 (臍帯血)	0.066	0.054	20
511 (臍帯血)	0.094	0.077	19
230 (臍帯血)	0.042	0.044	5.5
302 (臍帯血)	0.057	0.051	11
76 (臍帯血)	0.082	0.086	5.3
129 (臍帯血)	0.027	0.023	17

【注釈】

差(%) = (2回の測定分析における BPA 濃度の差) / (2回の測定分析における BPA 濃度の平均) x 100  
表 4 における BPA 濃度は、1 回目の結果を表記。

表 5 母体血及び臍帯血中の BPA 濃度に関する統計量.

統計量	BPA濃度 (ng/mL)		
	母体血 (n=44)	臍帯血 (n=57)	全体 (n=101)
最大	0.12	0.18	0.18
最小	0.016	0.021	0.016
平均値	0.052	0.065	0.059
標準偏差	0.029	0.036	0.034
中央値	0.053	0.064	0.059

【注釈】

濃度 ND については、対応する分析ロットにおける MDL の半値を用いて統計量を算出。

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 4 母体血及び臍帯血中の BPA 濃度及び各検体における回収率.

北大ID	母体血				臍帯血			
	分析 ロット	BPA濃度	回収率	分析 ロット	BPA濃度	回収率		
	No.	(ng/mL)	(%)	No.	(ng/mL)	(%)		
224	1	ND	91	1	0.071	69		
232	1	0.092	82	1	0.057	66		
221	1	ND	87	1	0.089	68		
280	1	0.054	82	1	0.079	77		
293	1	0.037	68	1	0.070	70		
368	1	0.051	81	1	0.058	80		
355	1	0.047	82	1	0.045	72		
376	1	0.072	74	1	0.13	70		
370	1	0.085	60	2	0.061	73		
364	1	0.045	80	2	0.028	85		
365	1	0.059	84	2	0.021	79		
369	1	0.12	74	2	0.066	77		
483	1	0.034	75	2	0.12	67		
485	1	0.069	68	2	0.064	65		
506	1	0.067	72	2	0.052	75		
511	1	0.076	82	2	0.094	85		
497	1	0.082	76	2	0.13	80		
76	4	ND	73	4	0.082	80		
49	4	0.057	80	4	ND	82		
53	4	0.068	91	4	ND	83		
56	4	0.061	75	4	ND	83		
91	4	ND	80	4	ND	78		
129	4	ND	74	4	ND	74		
117	4	ND	87	4	ND	68		
123	4	ND	91	4	0.058	66		
139	4	ND	83	4	0.063	73		
179	4	0.047	89	4	0.056	75		
178	4	ND	82	4	0.068	69		
160	4	ND	82	4	0.064	66		
147	4	ND	79	4	ND	96		
167	4	0.10	87	4	ND	73		
438	3	ND	91	2	0.076	76		
437	3	0.062	85	2	0.18	75		
463	3	ND	89	2	0.078	73		
469	3	0.11	90	2	0.056	83		
458	3	ND	83	2	0.075	77		
465	3	0.059	92	2	0.041	83		
467	3	0.059	84	2	0.11	86		
479	3	0.079	85	2	0.075	74		
501	3	0.10	80	2	0.076	90		
481	3	0.058	80	2	0.16	80		
489	3	ND	82	2	0.084	89		
504	3	ND	80	2	0.11	78		
505	3	0.066	67	2	0.12	74		
210				2	0.091	86		
240				2	0.088	81		
234				2	0.077	68		
235				3	ND	85		
225				3	0.077	77		
249				3	ND	78		
230				3	ND	76		
284				3	ND	81		
269				3	ND	74		
277				3	0.070	78		
283				3	ND	73		
278				3	0.069	69		
302				3	0.057	89		

【注釈】

BPA 濃度は、対応するロットのブランク試験値を差し引いた値。  
ブランク試験結果から求めた MDL(分析ロット 1:0.032ng/mL、分析ロット 2:0.015ng/mL、分析ロット 3:0.048ng/mL、分析ロット 4:0.045ng/mL)未満の試料については、『ND』で表記。  
回収率は、クリーンアップスパイク内標準物質(BPA d-16)の応答/シリンジスパイク内標準物質(BPA d-4)の応答を用い、(試料液)/(標準液の平均)×100 で算出した値。

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 6 分析ロットにおける装置の応答変動の確認.

分析ロット No.1	RRF	相対比(%)
検量線作成時	0.98	98
Check(1 回目)	1.01	101
Check(2 回目)	0.99	98
Check(3 回目)	0.96	95
Check(4 回目)	0.95	95
Check(5 回目)	0.99	98
平均値	0.98	98
最大値	1.01	101
最小値	0.95	95

分析ロット No.2	RRF	相対比(%)
検量線作成時	1.01	100
Check(1 回目)	1.01	100
Check(2 回目)	0.95	94
Check(3 回目)	1.02	101
Check(4 回目)	0.97	96
平均値	0.99	98
最大値	1.02	101
最小値	0.95	94

分析ロット No.3	RRF	相対比(%)
検量線作成時	0.97	92
Check(1 回目)	0.94	89
Check(2 回目)	0.98	93
Check(3 回目)	0.98	93
Check(4 回目)	1.01	96
Check(5 回目)	1.00	95
平均値	0.98	93
最大値	1.01	96
最小値	0.94	89

分析ロット No.4	RRF	相対比(%)
検量線作成時	0.93	92
Check(1 回目)	0.96	96
Check(2 回目)	1.00	100
Check(3 回目)	0.99	99
Check(4 回目)	1.00	100
平均値	0.98	97
最大値	1.00	100
最小値	0.93	92

【注釈】

相対比(%) = RRF(Check で測定した標準液の値)/RRF(検量線の平均値).

## 母体血と臍帯血中のビスフェノール A（BPA）濃度の相関

研究分担者 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  
研究分担者 松村 徹 いであ株式会社環境創造研究所副所長  
研究分担者 宮下ちひろ 北海道大学環境健康科学研究教育センター学術研究員  
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特任教授

### 研究要旨

ビスフェノール A（BPA）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 を迅速処理、高精度で測定する生体試料分析法（同位体希釈 LC/MS/MS 法）を開発し、一部測定を行った。母児の濃度相関を検討したところ、臍帯血の BPA 濃度は 0.055 ng/mL（幾何平均） [0.024-0.217ng/mL] で、母と同程度であったことから胎児への移行が示唆された。しかし、母・胎児の相関係数は  $r=0.11$  ( $p=0.414$ ) で有意な関連は認められなかった。

### 研究協力者

山本 潤  
（いであ株式会社環境創造研究所）  
樫野 いく子、岡田 恵美子、小林 澄貴、  
伊藤 久美子  
（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）

血液試料に適用した。母児 BPA 濃度の関連を検討するため、出産時に母体血と臍帯血を採取して、同位体希釈 LC-MS/MS 法（検出下限値 0.048 ng/mL）で血中 BPA 濃度を測定した。自記式質問票で母親と配偶者の妊娠中の喫煙・飲酒状況、食生活や教育歴、世帯収入などを調査し、医療診療録から産科既往歴や分娩時所見などに関する情報を入手した。

### （倫理面への配慮）

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研究協力施設の研究倫理委員会に諮り、承認を得たうえで実施した。

### C. 研究結果

母児の母体血中 BPA 濃度は 0.047 ng/mL（幾何平均） [0.024-0.419ng/mL]、また、臍帯血中 BPA 濃度は 0.055 ng/mL（幾何平均） [0.024-0.217ng/mL] で、母と同程度であったことから胎児への移行が示唆された（表 1、図 1）。濃度に関係する要因を検討すると、世帯収入が年間 500 万円未満では、臍帯血中 BPA 濃度が有意に高かった ( $p=0.021$ )（表 2）。しかし、母・

### A. 研究目的

ビスフェノール A（BPA）はポリカーボネートやエポキシ樹脂などの原料として使用されている化学物質である。ヒトは主に経口摂取によって曝露されるが、エストロゲン受容体が活性化することにより、エストロゲン類似作用やアンドロゲン阻害作用を表すことが示唆されている。近年、実験的に思春期早発や神経発達への影響が示唆されたが、生体試料中の BPA 濃度は極めて低いため、リスク評価の際は精確さの高いデータを用いる必要がある。本研究では、開発した微量試料中 BPA の高精度測定法を用いて母体血および臍帯血中の BPA 濃度を測定し、次世代影響を検討する。

### B. 研究方法

同位体希釈-液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計（ID-LC-MS/MS）をヒト

胎児の相関係数は  $r=0.11$  ( $p=0.414$ ) で有意な関連は認められなかった（図 2）。

#### D. 考察

血液中の BPA は、妊娠中の母親血液と臍帯血の相関は認められなかったが、胎児も成人と同レベルの曝露であることから、今後は、発達などへの影響を検証する必要がある。

#### E. 結論

微量試料中 BPA を迅速処理、高精度で測定する生体試料分析法を開発し、母児の濃度相関を検討したところ、臍帯血の BPA 濃度は母と同程度であったことから胎児への移行が示唆された。

#### F. 研究発表

##### 1) 論文発表

なし

##### 2) 学会発表

1. 佐々木成子, 宮下ちひろ, 松村徹, 山本潤, 檜野いく子, 岡田恵美子, 小林澄貴, 伊藤久美子, 岸玲子. 「妊娠期のビスフェノール A 曝露による母体血、臍帯血中濃度の検討」第 83 回日本衛生学会学術総会.金沢市; 2013 3/ 24-26.

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

表 1. 母体血および臍帯血中 BPA 濃度 (n=59, ng/mL)

	Geometric Mean	Min	25th	50th	75th	Max
母体血	0.047	0.024	0.024	0.058	0.073	0.419
臍帯血	0.055	0.024	0.024	0.061	0.079	0.217

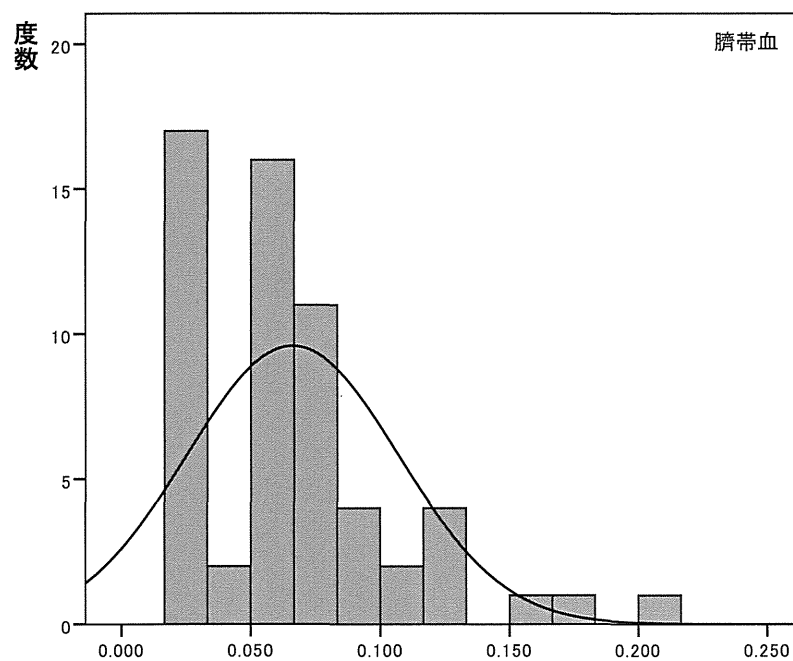
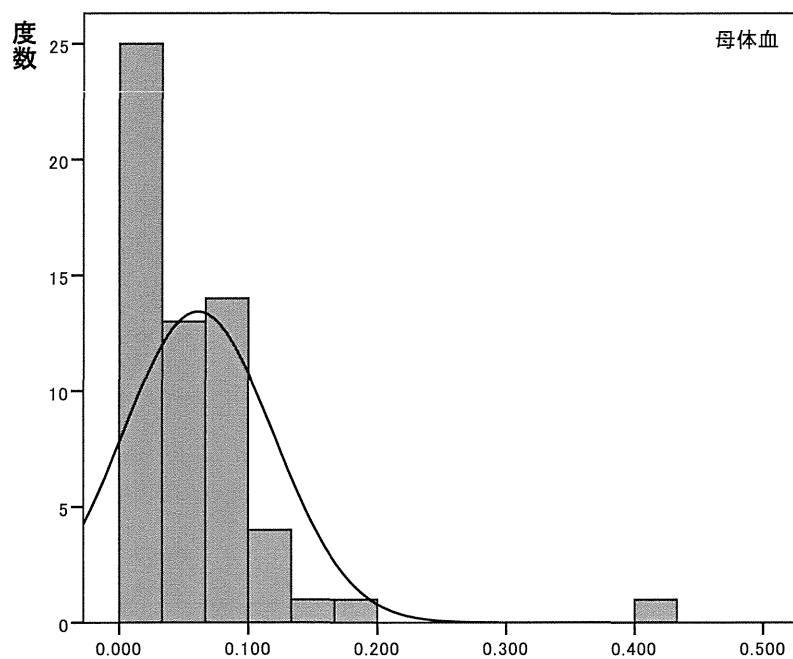


図 1. 母体血および臍帯血中 BPA 濃度分布 (n=59, ng/mL)

表 2. 母体血および臍帯血中 BPA 濃度との母児属性との関連 (n=59)

	Mean(SD) /numbers(%)	母体血BPA		臍帯血BPA	
		Geometric mean (ng/mL) /correlation coefficient	<i>p</i> -value	Geometric mean (ng/mL) /correlation coefficient	<i>p</i> -value
<b>母属性</b>					
年齢(歳)	30.3 (5.0)	$r=-0.223$	0.089 <sup>a</sup>	$r=-0.195$	0.139 <sup>a</sup>
身長(cm)	157.7 (6.1)	$r=-0.219$	0.096 <sup>a</sup>	$r=-0.216$	0.101 <sup>a</sup>
体重(kg)	50.9 (6.8)	$r=-0.177$	0.179 <sup>a</sup>	$r=-0.179$	0.175 <sup>a</sup>
教育歴(年)					
≤12	28 (47.5)	0.049	0.844 <sup>b</sup>	0.054	0.806 <sup>b</sup>
>12	31 (52.5)	0.046		0.056	
世帯収入(百万円)					
<5	40 (67.8)	0.050	0.755 <sup>b</sup>	0.061	0.021 <sup>b</sup>
≥5	19 (32.2)	0.044		0.046	
出産歴(回)					
0	28 (47.5)	0.053	0.099 <sup>b</sup>	0.054	0.753 <sup>b</sup>
≥1	31 (52.5)	0.043		0.056	
妊娠中喫煙歴					
非喫煙	44 (74.5)	0.047	0.168 <sup>c</sup>	0.051	0.180 <sup>c</sup>
禁煙	6 (10.2)	0.068		0.068	
喫煙	9 (15.3)	0.041		0.071	
飲酒量(g/day)	0.86 (2.16)	$r=-0.068$	0.607 <sup>a</sup>	$r=-0.010$	0.942 <sup>a</sup>
<b>児属性</b>					
在胎週数(週)	39.0 (1.1)	$r=0.039$	0.771 <sup>a</sup>	$r=0.038$	0.777 <sup>a</sup>
出生時体重(g)	3086 (336)	$r=0.163$	0.216 <sup>a</sup>	$r=0.084$	0.525 <sup>a</sup>
性別					
男児	26 (44.1)	0.050	0.302 <sup>b</sup>	0.057	0.688 <sup>b</sup>
女児	33 (55.9)	0.046		0.054	

<sup>a</sup> Spearman's correlation test, <sup>b</sup> Mann-Whitney test, <sup>c</sup> Kruskal-Wallis test

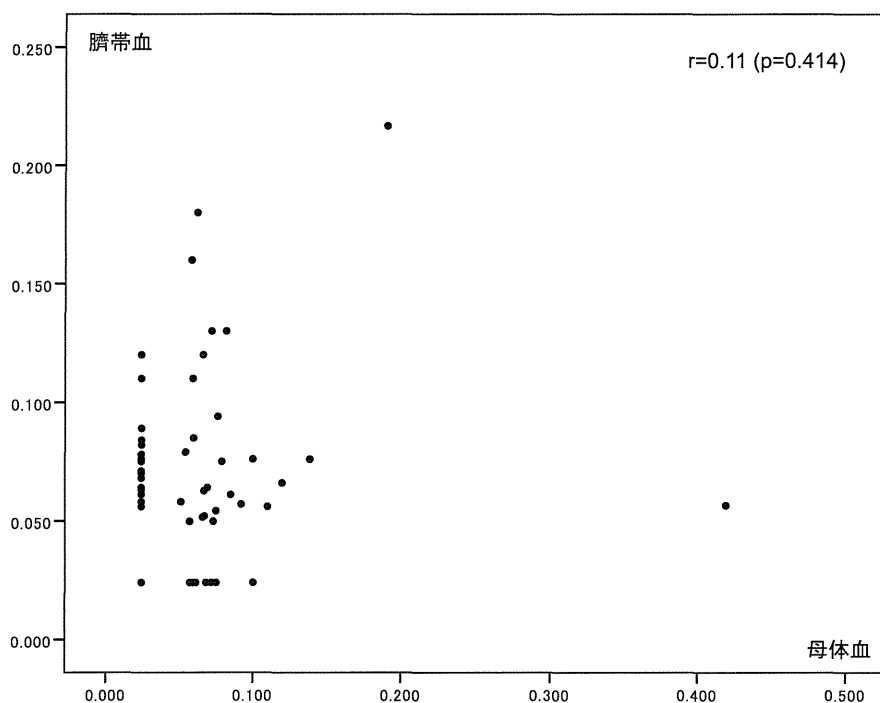


図 2. 母体血および臍帯血中 BPA 濃度の相関 (n=59, ng/mL)



## メチル水銀の胎児期曝露による出生時体格への影響

研究分担者 宮下ちひろ 北海道大学環境健康科学研究教育センター学術研究員  
研究分担者 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  
研究分担者 池野多美子 北海道大学環境健康科学研究教育センター特任講師  
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特任教授

### 研究要旨

妊婦の魚介類摂取は胎児発育を促進させると共に、環境化学物質であるメチル水銀の主な曝露源である。一般環境で生活する集団について、メチル水銀の胎児期曝露が出生時体格に与える影響は明確になっていない。本研究はメチル水銀の胎児期曝露による出生時体格への影響を、母親の魚摂取による影響を考慮した上で検討することを目的とした。本研究の対象者は2002年から2005年の間で「環境と子どもの健康に関する北海道スタディ」に参加登録した母児514組である。妊娠中の自記式調査票から両親の属性、既往歴、喫煙や飲酒状況を、また分娩出生時の医療診療記録から出生時体格や在胎週数などを得た。母親の出産後5日以内に得られた食事摂取頻度調査票から妊娠中の魚摂取量を算出した。母親の毛髪を出産後5日以内に採取し、メチル水銀の曝露指標として毛髪中の総水銀濃度を酸化燃焼金アマルガム法で測定した。毛髪中の総水銀濃度と出生時体格との関連について、魚摂取量を含めた交絡要因を調整した多変量解析で検討した。毛髪中の総水銀濃度と出生体重、身長、頭囲、胸囲との有意な関連は認められなかった。しかし、毛髪中の総水銀濃度が増加するほど、SGAリスクの有意な低下が認められた。本研究から、一般環境レベルでのメチル水銀の胎児期曝露は出生時体格に悪影響を及ぼさない可能性が示唆された。胎児発育を促進させるEPAやDHAなどの栄養素はFFQから推定された魚摂取量よりも、毛髪水銀濃度に正の相関を示した可能と考えられる。したがって本研究は1つの可能性として、母親の毛髪水銀の濃度増加に伴うSGAリスク低下は、胎児発育を促進させる栄養摂取のベネフィットな効果を反映することが推定された。

### 研究協力者

檜野 いく子、岡田 恵美子、小林 澄貴、  
伊藤 久美子  
（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）  
蜂谷 紀之  
（環境省国立水俣病総合研究センター）  
安武 章  
（熊本大学大学院自然科学研究科）

### A. 研究目的

出生時体格（体重、身長、頭囲および胸囲）は、子宮内の胎児成長を反映し、出生

後早期の発育成長、生存率、疾病罹患などに関連する重要な指標である（Bassler et al. 2009; Koo et al. 2010）。妊娠中の魚介類摂取は多価不飽和脂肪酸（PUFA）のような重要な栄養源であるため、出生体重の増加（Grandjean et al. 2001; Olsen et al. 1990）、および子宮内発育遅延のリスク低下（Olsen and Secher 2002）に関連することが報告されている。しかし一方で、魚介類摂取は、メチル水銀の主要な曝露源であると報告された（Xue et al. 2007）。メチル水銀は主に魚類の筋肉中に存在し生物

濃縮されて大型の捕魚類に蓄積する（Albert et al. 2010）。動物実験や中毒事故のような高レベル曝露を受けた集団を対象にした研究では、メチル水銀は胎盤関門と脳-血液関門を通過し、胎児の脳発達および成長を抑制することが実証されている（National Research Council 2000; Wigle et al. 2008）。一般環境で生活する集団は、比較的レベルのメチル水銀曝露を受ける。この一般環境レベルにおけるメチル水銀の胎児期曝露が出生時体格に与える影響に関して明確になっていない（Zahir et al. 2005）。この理由の一つとして、一般環境におけるメチル水銀の主な曝露源は魚介類であり、妊娠中の魚介類摂取による胎児発育促進が交絡として影響する可能性が報告されている（Grandjean et al. 2001）。本研究は、一般環境レベルにおけるメチル水銀の胎児期曝露が出生時体格に与える影響を、魚介類の摂取量を考慮した上で評価することを目的とした。

## B. 研究方法

対象者は2002年7月から2005年10月の期間に札幌市の一産科医療機関を受診した妊娠23週～35週の妊婦で、インフォームドコンセントが得られ、前向き出生コホート研究「環境と子どもの健康に関する北海道スタディ」に参加登録した母児514組である。自記式調査票により妊婦とその配偶者から、既往歴、教育歴、世帯収入、ライフスタイルなどを、医療診療録から母児の分娩情報、児の出生時所見、出生時体格（体重、身長、頭囲、胸囲）や在胎週数などを得た。分娩後5日以内に、母親430名から各魚類の1回摂取量と摂取頻度を食事摂取頻度調査票（FFQ）から得て、妊娠中の1日魚摂取量を算出した。また同時に母親のパーマ歴の情報を得た。分娩後5日以内に母親430名から頭皮に近接する1cm

の毛髪（総重量0.7-1.2mg）を得た。毛髪中の総水銀濃度を国立水俣病総合研究センターで原子吸光検知器 MD-1（Nippon Institute Co. Ltd. Osaka）を用いて、酸化燃焼金アマルガム法（AAS法）で測定した（Yasutake et al. 2003）。

対象者20名（母親の妊娠高血圧症（n=11）、糖尿病（n=1）、胎児の心不全（n=1）および多胎（n=7））を解析から除外した。このうち調査票と水銀の両方のデータが得られた母児367名について、毛髪中の総水銀濃度と出生時体格の関連を検討した。Small-for-gestational-age（SGA）は、日本で2002年から2005年の間に出生した新生児143,370名の各妊娠週数別の体重と身長10%未満として定義した（Kato et al. 2012）。毛髪中の総水銀濃度と魚摂取量はLog10変換し重回帰分析で使用した。毛髪中の総水銀濃度と出生体重、身長、頭囲、胸囲との関連性は、交絡因子で調整された重回帰解析によって評価した。毛髪中の総水銀濃度とSGAとの関連性は、交絡因子で調整したロジスティックス回帰分析によって評価した。出生体格に影響すると報告された魚摂取量とPCBs・ダイオキシン類の影響を検討するため、多変量解析モデル1、2、3で検討した。モデル1の交絡変数は母親の年齢、母親の身長、前妊娠体重、妊娠中の母親の喫煙、妊娠中の母親の飲酒、世帯収入、出産歴（SGAは除く）、児の性別（SGAは除く）、および在胎週数（SGAは除く）である。モデル2はモデル1に加えて妊娠中の魚摂取で調整した。モデル3はモデル2に加えて採血時期およびPCBs・ダイオキシン類で調整した。

（倫理面への配慮）

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

倫理委員会および研究協力施設の研究倫理委員会に諮り、承認を得たうえで実施した。

### C. 研究結果

毛髪中の総水銀濃度は中央値 1.41ug/g であった（表 1）。毛髪中の総水銀濃度は、妊娠の魚摂取量と共に有意に増加した。所得が高い、遠洋魚および牛肉の摂取が多い（週に 1 回以上摂取する）対象者は、低所得、遠洋魚、牛肉の摂取が少ない対象者と比較しそれぞれ毛髪中の水銀濃度は有意に高かった（表 2）。出生体格の平均値±SD はそれぞれ体重 3077±372 (g)、身長 48.1±1.93 (cm)、胸囲 31.5±1.55 (cm) および頭囲 33.3±1.33 (cm) であった。出生時体格は、母親の非妊娠時体重、身長および在胎週数と共に増加し、普通分娩での出生、および男児で増加した。解析モデル 1、2、3 の交絡要因を調整した重回帰分析において、毛髪中の総水銀濃度と出生時体格（体重、身長、頭囲、胸囲）では有意な関連が認められなかった（model3: 出生体重:  $\beta = 154$ 、95%CI=-11.5、320）（表 3）。魚摂取量および PCBs・dioxins で調整した model 3 でも有意な関連は認められなかった。

SGA の発生率は 4.9%（18 名）で、母親の非妊娠中体重の増加と共に SGA リスクは低下した（オッズ比（OR）=0.89、95%信頼区間（CI）=0.81、0.97）。解析モデル 1、2、3 の交絡要因を調整したロジスティック回帰分析において、毛髪中の総水銀濃度の増加と共に SGA リスクは有意に低下した（model3: OR=0.32、95%CI=0.11、0.88）（表 4）。魚摂取量および PCBs・dioxins で調整した model 3 でも SGA リスクが低下した。

### D. 考察

本研究より、一般環境レベルにおけるメ

チル水銀の胎児期曝露は出生時体格に悪影響を及ぼさない可能性が示唆された。しかし、総水銀濃度の増加は SGA リスクを低下させる可能性が示された。毛髪中の総水銀の 90%以上がシステイン基とタンパク結合したメチル水銀であり、総水銀濃度はメチル水銀曝露の生体指標として最も頻繁に用いられる（National Research Council 2000）。本研究の毛髪総水銀濃度（中央値 1.4ug/g）は臍帯血中の 9.3ug/L に換算することができる（Zahir et al. 2005）。本研究より曝露レベルが低いと推定されるオーストリアの研究（臍帯血中央値 1.1ug/L）（Gundacker et al. 2010）、フランスの研究（毛髪中中央値 0.52ug/g）（Drouillet-Pinard et al. 2010）などの結果と本研究の結果と一致した。しかし、本研究より曝露レベルが高いと推定されるグリーンランド（臍帯血平均値 21ug/L）（Foldspang and Hansen 1990）の結果とは一致しなかった。よって、我々のメチル水銀曝露レベルは出生時体格へ負の影響を与えるに十分なレベルにない可能性が示された。

一方で、本研究と曝露レベルが匹敵するスペインの研究（臍帯血中の幾何平均 9.4ug/L）において、総水銀濃度の第 4 四分位は第 1 四分位に比較し、出生体重が 143.7g 減少し、SGA リスクが 5.3 倍に増加した（Ramon et al. 2009）。しかし、この研究では量-反応関係は認められず、結果が不十分であったため、Ramon らは結果の妥当性を検証するための追加研究が必要であると記述した。本研究は上記の結果とは異なり、母親の毛髪水銀濃度が増加するほど SGA リスクが低下した。また、本研究で、ほとんどの対象者（93.5%）の毛髪水銀濃度は、次世代影響が認められる可能性がある下限値：2.75ug/g 未満であった。この下限値は日本の妊婦に対する暫定的耐

容量（PTWI: 1.6ug/kg）を元に推定された（厚生労働省 2005）。したがって、本研究のような一般環境における曝露レベルにおいては、メチル水銀の胎児期曝露は出生体格に対して明確な悪影響与えるには十分なレベルにない可能性が示唆された。

本研究では、母親の毛髪水銀の濃度増加に伴う SGA リスク低下が認められたが、先行研究で水銀曝露が胎児発育を直接促進させるという報告はなく、また作用機序としても裏付けが困難である。FFQ から推定された魚摂取量は実際の摂取量を 40%としか反映しないとの報告がある（Wakai 2009）。さらに EPA や DHA などの栄養素の摂取量が FFQ による魚摂取量推定より、毛髪水銀濃度に正の相関を示した可能性が考えられる。したがって本研究は 1 つの可能性として、母親の毛髪水銀の濃度増加に伴う SGA リスク低下は、胎児発育を促進させる栄養摂取のベネフィットな効果を反映することが推定された。

## E. 結論

本研究は、一般環境におけるメチル水銀の胎児期曝露は出生体格への悪影響を引き起こすには不十分な曝露レベルである可能性を示した。本研究は 1 つの可能性として、母親の毛髪水銀の濃度増加に伴う SGA リスク低下は、胎児発育を測定させる栄養摂取のベネフィットな効果を反映することが推定された。

## F. 研究発表

- 1) 論文発表  
作成中
- 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. Albert I, Villeret G, Paris A, Verger P. 2010. Integrating variability in half-lives and dietary intakes to predict mercury concentration in hair. *Regulatory toxicology and pharmacology* : RTP 58:482-489.
2. Bassler D, Stoll BJ, Schmidt B, Asztalos EV, Roberts RS, Robertson CMT, et al. 2009. Using a count of neonatal morbidities to predict poor outcome in extremely low birth weight infants: Added role of neonatal infection. *Pediatrics* 123:313-318.
3. Drouillet-Pinard P, Huel G, Slama R, Forhan A, Sahuquillo J, Goua V, et al. 2010. Prenatal mercury contamination: Relationship with maternal seafood consumption during pregnancy and fetal growth in the 'eden mother-child' cohort. *Br J Nutr* 104:1096-1100.
4. Foldspang A, Hansen JC. 1990. Dietary-intake of methylmercury as a correlate of gestational length and birth-weight among newborns in greenland. *American Journal of Epidemiology* 132:310-317.
5. Grandjean P, Bjerve KS, Weihe P, Steuerwald U. 2001. Birthweight in a fishing community: Significance of essential fatty acids and marine food contaminants. *Int J Epidemiol* 30:1272-1278.
6. Gundacker C, Frohlich S, Graf-Rohrmeister K, Eibenberger B, Jessenig V, Gicic D, et al. 2010. Perinatal lead and mercury exposure in austria. *The Science of the total*

- environment 408:5744-5749.
7. Harper V, Macinnes R, Campbell D, Hall M. 1991. Increased birth-weight in northerly islands - is fish consumption a red herring. *Brit Med J* 303:166-166.
  8. Kato O, Kawasaki N, Bodri D, Kuroda T, Kawachiya S, Kato K, et al. 2012. Neonatal outcome and birth defects in 6623 singletons born following minimal ovarian stimulation and vitrified versus fresh single embryo transfer. *Eur J Obstet Gyn R B* 161:46-50.
  9. Knobeloch L, Anderson HA, Imma P, Peters D, Smith A. 2005. Fish consumption, advisory awareness, and hair mercury levels among women of childbearing age. *Environmental Research* 97:220-227.
  10. Koo KY, Kim JE, Lee SM, Namgung R, Park MS, Park KI, et al. 2010. Effect of severe neonatal morbidities on long term outcome in extremely low birthweight infants. *Korean J Pediatr* 53:694-700.
  11. National Research Council. 2000. Toxicologic effects of methylmercury. Washington, DC:National Academy Press.
  12. Olsen SF, Olsen J, Frische G. 1990. Does fish consumption during pregnancy increase fetal growth? A study of the size of the newborn, placental weight and gestational age in relation to fish consumption during pregnancy. *International journal of epidemiology* 19:971-977.
  13. Olsen SF, Secher NJ. 2002. Low consumption of seafood in early pregnancy as a risk factor for preterm delivery: Prospective cohort study. *Brit Med J* 324:447-450.
  14. Ramon R, Ballester F, Aguinagalde X, Amurrio A, Vioque J, Lacasana M, et al. 2009. Fish consumption during pregnancy, prenatal mercury exposure, and anthropometric measures at birth in a prospective mother-infant cohort study in Spain. *Am J Clin Nutr* 90:1047-1055.
  15. Wakai K. 2009. A review of food frequency questionnaires developed and validated in Japan. *J Epidemiol* 19:1-11.
  16. Wigle DT, Arbuckle TE, Turner MC, Berube A, Yang QY, Liu SL, et al. 2008. Epidemiologic evidence of relationships between reproductive and child health outcomes and environmental chemical contaminants. *J Toxicol Env Heal B* 11:373-517.
  17. Xue F, Holzman C, Rahbar MH, Trosko K, Fischer L. 2007. Maternal fish consumption, mercury levels, and risk of preterm delivery. *Environ Health Persp* 115:42-47.
  18. Yasutake A, Matsumoto M, Yamaguchi M, Hachiya N. 2003. Current hair mercury levels in Japanese: Survey in five districts. *Tohoku J Exp Med* 199:161-169.
  19. Zahir F, Rizwi SJ, Haq SK, Khan RH. 2005. Low dose mercury toxicity and human health. *Environ Toxicol Pharmacol* 20:351-360.
  20. 厚生労働省 2005. <http://www.mhlw.o.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/suigin/dl/050812-1-05.pdf>

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. 母親の毛髪中における総水銀濃度(μg/g) (n=367)

	Geometric mean	Minimum	Percentile			Maximum
			25th	50th	75th	
Total Hg <sup>a</sup>	1.34	0.24	0.96	1.41	1.89	4.73

<sup>a</sup>>90% methylmercury in maternal hair

表 2. 母親の属性と毛髪中の総水銀濃度 (μg/g) (n=367)

Maternal Characteristics	N (%)	Total Hg Mean±SD
Age at delivery (years)	30.76±4.76 <sup>a</sup>	0.094 <sup>b</sup>
Height (cm)	158.33±5.40 <sup>a</sup>	-0.055 <sup>b</sup>
Pre-pregnancy weight (kg)	52.50±7.94 <sup>a</sup>	-0.029 <sup>b</sup>
Parity		
0	180 (49.0)	1.44±0.62
≥1	187 (51.0)	1.58±0.87
History of hair perming		
No	260 (70.8)	1.50±0.76
Yes	107 (29.2)	1.52±0.75
Annual household income (million yen)		
<5	244 (66.5)	1.44±0.74*
≥5	123 (33.5)	1.65±0.78
Smoking consumption during pregnancy		
Nonsmoker	305 (83.1)	1.51±0.74
Smoker	62 (16.9)	1.51±0.84
Alcohol consumption during pregnancy		
Nondrinker	255 (69.5)	1.47±0.76
Drinker	112 (30.5)	1.60±0.76
Caffeine intake (mg/day)	120 (1.5-646.25) <sup>c</sup>	-0.005 <sup>b</sup>
Fish intake (g/day)	40.0 (0.83-400.0) <sup>c</sup>	0.215 <sup>b**</sup>
Frequency of food consumption during pregnancy		
Shoreline-fish		
<once/week	198 (54.0)	1.44±0.68
≥once/week	169 (46.0)	1.59±0.84
Pelagic-fish		
<once/week	171 (46.6)	1.35±0.64**
≥once/week	196 (53.4)	1.65±0.83
Beef		
<once/week	274 (75.3)	1.45±0.74*
≥once/week	90 (24.7)	1.66±0.75

<sup>a</sup> Mean±SD

<sup>b</sup> r: spearman correlation coefficient

<sup>c</sup> Median (minimum-maximum)

\*p < 0.05, \*\*p < 0.01 by the t-test, Spearman correlation test and one-way ANOVA

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. 出生時体格と水銀濃度の回帰係数 (95% 信頼区間) (n = 367).

		Birth weight (g)	Length (cm)	Chest circumference (cm)	Head circumference (cm)
		B (95%CI)	B (95%CI)	B (95%CI)	B (95%CI)
Model 1	Hair Hg	111 (-40.3, 262)	0.28 (-0.55, 1.11)	0.36 (-0.30, 1.02)	-0.30 (-0.89, 0.29)
Model 2	Hair Hg	110 (-42.9, 263)	0.25 (-0.59, 1.08)	0.34 (-0.33, 1.01)	-0.26 (-0.85, 0.34)
Model 3	Hair Hg	154 (-11.5, 320)	0.22 (-0.69, 1.14)	0.29 (-0.44, 1.02)	-0.16 (-0.81, 0.49)

B: partial regression coefficient

CI: confidence interval

Model 1: adjusted for maternal age, maternal height, pre-pregnancy maternal weight, parity, gestational age, infant sex, tobacco smoking during pregnancy, alcohol-drinking during pregnancy, household income, and, hair permed.

Model 2: adjusted for log10-transformed fish intake in addition to adjusted factors of model 1.

Model 3: adjusted for timing of blood sampling, and log10-transformed total PCBs and dioxins in addition to adjusted factors of model 2.

Because Hg levels were log10-transformed, standardized partial regression coefficients represent the expected change in dependent variables as a result of a 10-fold change in Hg levels.

表 4. SGA と水銀濃度の調整オッズ比 (95%信頼区間) (n = 376).

		SGA for weight
		OR (95%CI)
Model 1	Hair Hg	0.36 (0.15, 0.91)*
Model 2	Hair Hg	0.38 (0.15, 0.94)*
Model 3	Hair Hg	0.32 (0.11, 0.88)*

SGA: small for gestational age

Model 1: adjusted for maternal age, maternal height, pre-pregnancy maternal weight, tobacco smoking during pregnancy, alcohol-drinking during pregnancy, household income, and, hair permed.

Model 2: adjusted for fish intake in addition to adjusted factors of model 1.

Model 3: adjusted for timing of blood sampling, and total PCBs and dioxins in addition to adjusted factors of model 2.

\*p < 0.05



## 環境化学物質曝露の次世代影響の解明におけるエピジェネティクスに関する研究

研究分担者 安住 薫 北海道大学環境健康科学研究教育センター特任講師  
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特任教授

### 研究要旨

環境化学物質の胎児期曝露が、児の発育・発達、疾病に影響を及ぼすことが明らかになりつつある。その作用機序の解明に、最近、エピジェネティクスが注目されている。本研究では、胎児期環境化学物質曝露が児ゲノム DNA のメチル化に与える影響について、研究の現状と課題を把握することを目的とし、PubMed を用いて 2012 年までの先行研究を検索して報告内容を精査した。その結果、タバコ由来化学物質や多環芳香族炭化水素などの環境化学物質の胎児期曝露により、児ゲノム DNA のメチル化パターンが変動することが確認された。曝露要因の中では、喫煙曝露による影響を調べた報告が最も多かった。DNA メチル化の変化は蓄積することによって遺伝子発現を変化させるため、胎児期の化学物質曝露によって生じる児ゲノム DNA メチル化の変化は、胎児の発育・発達への影響のみならず、出生後の児の健康リスクに影響を及ぼすことが示唆された。

### 研究協力者

小林 祥子  
(北海道大学環境健康科学研究教育センター)

### A. 研究目的

現代の先進国では、多種多様な化学物質を原材料とした化学製品が、私たちに便利で快適な生活を提供してくれている。一方で、私たちは環境中の化学物質に常に曝露されており、これらの化学物質の人体への影響が懸念されている。特に胎児期においては、母体経由の化学物質への曝露が胎児の発育、あるいは出生後の児の健康に影響を及ぼすことが Colborn らにより指摘された<sup>1)</sup>。また、Barker らは、胎児期の低栄養などの環境が、成人後の循環器疾患や 2 型糖尿病などの生活習慣病罹患率に影響を及ぼす「胎児プログラミング仮説」を提唱した<sup>2)</sup>。この仮説は、Gluckman と Hanson らによって、胎児期に加えて乳幼児期の環境もその後の健康に影響する「Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD)」の概念となり<sup>3)</sup>、こ

れらの仮説を検証する研究が精力的になされている。さらに最近では、胎児期のプログラミングのメカニズムを明らかにするために、遺伝要因と環境要因の交互作用の解析への関心も高まっている。

欧州<sup>4)</sup>、米国<sup>5)</sup>、台湾<sup>6)</sup>ではすでに複数の出生コーホートが立ち上がり、両親のライフスタイルや環境化学物質曝露の児の健康に与える影響を解明する研究がなされているが、日本においては、我々のグループが初めて 2001 年に「環境と子どもの健康に関する北海道スタディ」を立ち上げ、これまでに、札幌市内 514 人の小規模コーホートおよび北海道全域 20,000 人の大規模コーホートの二つの追跡型疫学研究を実施してきた<sup>7)</sup>。この研究により、母親血液中のダイオキシン類濃度が高いほど、児の出生体重が有意に低く、また、生後の中耳炎罹患率が有意に高いこと、この影響は男児で顕著であることが明らかになった。さらに、母親の妊娠中の喫煙によって児の出生体重が有意に低下し、化学物質の解毒に関与する母親 AhR 遺伝子と CYP1A1 遺伝子、

CYP1A1 遺伝子と GSTM1 遺伝子の特定の塩基配列の組み合わせで児の出生体重への影響が大きいことなどが明らかになった。これらの成果からも、遺伝要因と環境要因の相互作用が児の発育に影響を及ぼすことが示唆されている。

このように、生活環境中の化学物質に胎児期に曝露することにより、胎児、あるいは出生後の児の健康に負の影響が生じることが明らかになりつつあるが、その分子メカニズムについては、まだ詳細は明らかではない。しかしながら、その作用機序の解明の一つのアプローチとして、エピジェネティクスが注目を集めている。エピジェネティックな遺伝子発現制御のしくみを模式的に図 1、2 に示した。エピジェネティックな修飾機構は、1) DNA のメチル化（ゲノム DNA 中の CpG 配列中のシトシンをメチル化して、転写因子などの結合を阻害することによって遺伝子の転写や発現を調節）、2) ヒストンの翻訳後修飾（ヒストンをアセチル化またはメチル化することにより、クロマチン構造を変化させ、遺伝子の転写や発現を調節）、3) クロマチンリモデリング（クロマチン構造を凝縮、あるいは弛緩させることにより、転写因子などの結合を調節して遺伝子の転写や発現を制御）、で成り立っている。

本研究では、最近、報告が急増している、胎児期の環境化学物質曝露と「DNA メチル化」に関する疫学研究を整理し、今後の研究課題について考察を試みた。

## B. 研究方法

英語の原著論文については、PubMed を用いて「DNA methylation exposure cord blood」および「methylation exposure (pregnancy OR birth)」(2000 年以降 2012 年まで) で検索した。多数の論文がヒットしたので、その中から、胎児期化学物質曝露の DNA メチル化への影響を調べた疫学研究の論文を絞り込んだ。レビュー等は除

いた。日本語論文については、医中誌データベースを用い、「メチル化 曝露 化学物質」のキーワードで同一期間の検索を行った。

## C. 研究結果

### (1) 先行研究の動向

胎児期化学物質曝露の DNA メチル化への影響を調べた疫学研究の英語原著論文は 19 報あった。日本語の原著論文および、国内外の疫学研究を網羅した総説はなかった。英語原著論文の中で、曝露要因としては、妊娠中の喫煙が 10 報<sup>8-17)</sup>と最も多く(表 1)、喫煙以外の曝露では、多環芳香族炭化水素 (PAHs) が 3 報<sup>18-20)</sup>、有機フッ素化合物 (PFCs)<sup>12)</sup>、有機塩素系化合物 (DDE)<sup>21)</sup>が各 1 報、天然由来のヒ素 (3 報)<sup>22-24)</sup>および鉛<sup>25)</sup>があった(表 2)。

DNA メチル化を調べた 19 報の疫学研究のうち、ゲノム全体のメチル化状態を調べたものが 11 報と一番多く、メチル化シトシンに対する抗体を用いた ELISA 法でゲノム全体のメチル化率を調べる方法や、LINE-1、Alu などの反復配列(ゲノムの半分以上を占める、遺伝子をコードしていない領域)のメチル化率をゲノム全体のメチル化率の指標として測定する方法が用いられている。また、ヒトゲノム上のメチル化されうるほぼすべての CpG アイランド(45 万カ所)を 1 枚の基盤上に搭載した DNA チップが開発されており、化学物質曝露によってメチル化が変化する遺伝子の網羅的探索を行った研究もすでに 4 報あった。胎児期の環境化学物質曝露で DNA メチル化が変化する遺伝子の詳細は表 3 にまとめた。

DNA メチル化解析の対象とした組織については、19 報の内 10 報で、臍帯血の DNA メチル化を測定し、胎児期曝露の影響を評価していた。5 報では、出生後(小児期、思春期、成人後)の末梢血や口腔細胞から DNA を抽出してメチル化を測定し、胎児期曝露による影響を評価していた。ま

た、3報では、胎児の発育との関連から、胎盤の DNA メチル化の変化に着目していた。

## （2）喫煙曝露

胎児期喫煙曝露による低出生体重に関わるメカニズムのひとつとして、IGF2 など胎児の発育に関与し、ゲノムインプリンティング制御を受ける遺伝子のメチル化が考えられている。Murphy らは 2012 年、臍帯血 DNA (418 名) を用いて、胎児期喫煙曝露により男児で IGF2 遺伝子が高メチル化されることを報告した<sup>8)</sup>。この曝露により、2,500g 未満の低体重児が生まれるリスクが 4 倍以上になることが示された。また、同じコーホートでの研究で、IGF2 遺伝子メチル化率と臍帯血血清 IGF2 蛋白質濃度との間に負の相関があること、IGF2 蛋白質濃度と出生体重との間に正の相関があることが報告されている<sup>26)</sup>。これらの結果から、男児においては、胎児期喫煙曝露により胎児ゲノム DNA の IGF2 遺伝子が高メチル化され、胎児血液中の IGF2 蛋白質濃度が低下し、子宮内での胎児発育抑制につながる可能性が示唆された。また、IGF2 遺伝子の高メチル化状態は出生後も維持されるため、出生後の健康へのリスクも懸念される。

その他の遺伝子では、胎児期喫煙曝露により、小児 (4~6 歳) 口腔細胞で AXL 遺伝子および PTPRO 遺伝子の高メチル化<sup>9)</sup>の報告があった。また、思春期男女末梢血の BDNF-6 遺伝子が高メチル化するとの報告もあり<sup>10)</sup>、胎児期喫煙曝露により BDNF-6 遺伝子の発現量が低下し、眼窩前頭皮質の薄化 (思春期の薬物使用行動と関連) が進行する可能性も指摘されている<sup>27)</sup>。また、母体胎盤組織で解毒酵素である CYP1A1 遺伝子の低メチル化と、それによる遺伝子発現の亢進の報告もあった<sup>11)</sup>。

ゲノム全体の DNA メチル化を調べた報告は 5 報あり、うち 1 報は臍帯血、3 報は出生以後の末梢血・口腔細胞、1 報は胎盤

を使用していた。臍帯血血清を使用して ELISA 法でメチル化シトシンを定量した研究では、血清コチニン濃度とゲノム全体のメチル化レベルとの間に負の相関が見られた ( $p < 0.001$ )<sup>12)</sup>。また、成人女性の末梢血を用いた解析では、胎児期喫煙曝露の有無とセントロメア近傍配列 Sat2 メチル化との間に負の相関が確認されたが、反復配列である LINE-1 や Alu メチル化との間には有意な相関は見られなかった<sup>13)</sup>。また、同じコーホートで、三重水素標識メチル基を用いる手法で、胎児期喫煙曝露によりゲノム全体が高メチル化されるとの結果も出されたが、解析手法が一般的でないため、結果の信頼性に疑問もある<sup>9, 14)</sup>。小児の口腔細胞を用いた解析では、胎児期喫煙曝露の有無と反復配列 Alu のメチル化との間に負の相関がみられた<sup>9)</sup>。反対に胎盤では、胎児期喫煙曝露により Alu は高メチル化されるが、LINE-1 のメチル化は変化しないとの報告もあり<sup>15)</sup>、組織によって化学物質に対する感受性やエピジェネティックな制御が異なる可能性も考えられる。

さらに、DNA チップを用いた網羅的な解析では、臍帯血 DNA で、CYP1A1 遺伝子の高メチル化および、AHRR 遺伝子や GFI1 遺伝子の低メチル化<sup>16)</sup>が新たに検出された。胎盤では、喫煙曝露によって、623 個の遺伝子の発現と、1,024 カ所の CpG サイトのメチル化が有意に変化していた。この内、メチル化率が 10 % 以上変動した CpG は 38 カ所あり、低体重に関連する 6 カ所の CpG サイトが含まれていた。また、PURA、GTF2H2、GCA、GPR135 遺伝子の高メチル化および、HKR1 遺伝子の低メチル化などが新たに見出された<sup>17)</sup>。

## （3）喫煙以外の環境化学物質曝露

Perera ら<sup>18)</sup>は、米国ニューヨーク市の児の喘息罹患率が高い (25%) 原因の一つとして、交通車両から排気される多環芳香族炭化水素 (PAH) への胎児期曝露を考え、700 人の出生コーホートを用い、PAH 曝露

レベルの高い妊婦グループと低いグループの各 10 児の臍帯血 DNA のメチル化部位を網羅的に解析して比較した。その結果、PAH 曝露レベルが高い児の臍帯血では、脂質代謝に関与する ACSL3 遺伝子のプロモーター領域が著しく高メチル化されており、胎盤での ACSL3 蛋白質の発現量も有意に減少していることを見出した。さらに同一コーホートの 56 児で、臍帯血 ACSL3 遺伝子のメチル化と曝露 PAH レベル、5 歳時の喘息発症に、いずれも正の関連があることを明らかにした。これらの結果から、ACSL3 遺伝子の DNA メチル化が PAH 曝露のエピジェネティックマーカーとなりうると考察している。その他にも、妊婦の多環芳香族炭化水素（PAHs）曝露と臍帯血 DNA メチル化を調べた報告は 2 報あり、PAHs 曝露レベルと、臍帯血ゲノム全体のメチル化レベルとの間には弱い負の相関（ $p=0.05$ ）<sup>19)</sup>が、IFN $\gamma$  遺伝子のメチル化との間には正の相関<sup>20)</sup>が示されているが、アウトカムとの関連については調べていなかった。

有機フッ素化合物（PFOS, PFOA）曝露による DNA メチル化への影響を調べた報告は 1 報のみで、臍帯血血清 PFOA 濃度とゲノム全体のメチル化レベルの間に負の相関が示唆された（ $p=0.06$ ）<sup>12)</sup>。ただし、この報告のサンプルサイズは  $N=30$  と小さいため、規模の大きいコーホートで再確認する必要がある。

かつて殺虫剤として大量に使用され、環境中に残留している有機塩素系化合物の一種 DDE については、臍帯血血清中の DDE 濃度と 4 歳児末梢血 DNA の ALOX12 遺伝子のメチル化との間に負の相関が見られた<sup>21)</sup>。ALOX12 遺伝子は、喘息症状のある 4 歳児とない児の血液 DNA を用いてメチル化部位の網羅的な解析の結果、見出された遺伝子で、喘息症状を持つ児で有意に低メチル化されていた（ $p=0.003$ ）。

東南アジアには、土壌や飲料水から高濃

度のヒ素に曝露される地域が存在する。ヒ素には発がん性があるが、肝臓がんを発症しやすい系統のマウスで、妊娠中の母親マウスに無機ヒ素を含む水を摂取させると、生まれたオスの仔の肝臓の発症率が増加することが報告された<sup>30)</sup>。これらの仔マウスでは、細胞増殖や癌化を促進する ER $\alpha$  遺伝子のプロモーター領域が低メチル化されており、かつ、ER $\alpha$  遺伝子の発現も亢進されていることから、無機ヒ素がエピジェネティックな作用を介して発癌に関与すると考えられている。飲料水からの胎児期ヒ素曝露による臍帯血 DNA のメチル化の変化を調べた 3 報の疫学研究では、母体のヒ素曝露濃度の高さと、臍帯血 DNA の反復配列 LINE-1、Alu、がん抑制遺伝子 p16 および p53 プロモーターのいずれもの高メチル化が相関することが報告されている<sup>22)~24)</sup>。鉛曝露については、母体骨の鉛レベルと臍帯血の反復配列 Alu および LINE-1 に負の相関が見られている<sup>25)</sup>。

#### D. 考察

本研究では、胎児期の化学物質曝露が児ゲノム DNA メチル化へ与える影響を調べた疫学研究のレビューを行った。この分野の報告はまだ多くはないが、2008 年から 2011 年まで年に 1~4 報だった報告が、2012 年には 8 報と急に増えており、今後、各国でさらに精力的に研究が行われていくことが予想される。また、現時点では、日本で行われた研究の報告はまだなく、遺伝的背景の違いによりエピジェネティックな制御に差がみられる<sup>29, 30)</sup>ことを鑑みても、日本人で同様の研究を進めることが必要である。

児ゲノム DNA メチル化へ与える影響を調べた疫学研究の多くは臍帯血 DNA を用いて解析を行っていたが、出生後の年数を経た児の血液を用いたメチル化解析の報告も複数見られた。このような場合は、出生後の環境曝露について質問票等で把握し、