

201329003A (別冊有)

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基づく先天異常、免疫アレルギー
および小児発達障害のリスク評価と
環境化学物質に対する遺伝的感受性の解明

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

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

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

松村 徹

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

松浦 英幸

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

北海道大学環境健康科学研究教育センター

池野多美子

北海道大学環境健康科学研究教育センター

荒木 敦子

北海道大学環境健康科学研究教育センター

安住 薫

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

旭川医科大学医学部健康科学講座地域保健疫学分野

吉岡 英治

北海道大学環境健康科学研究教育センター

宮下ちひろ

平成 26 (2014) 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基づく先天異常、免疫アレルギーおよび小児発達障害のリスク 評価と環境化学物質に対する遺伝的感受性の解明 (岸 玲子ほか)	2
III. 分担研究報告書	
1. 有機フッ素化合物の胎児期曝露が乳幼児期のアレルギー症状に及ぼす影響 (岸 玲子, 佐々木 成子, 池野 多美子, 宮下 ちひろ, 松浦 英幸, 松村 徹ほか)	17
2. 母体血中 PFCs 濃度と脂肪酸との関連 (岸 玲子, 佐々木 成子ほか)	34
3. 胎児期ビスフェノール A 曝露による臍帯血中性ホルモン濃度への影響 (佐々木 成子, 松村 徹, 荒木 敦子, 野々村 克也, 岸 玲子ほか)	42
4. 妊婦の受動喫煙と多環芳香族炭化水素 (PAHs) 代謝関連遺伝子多型が児の出生時体格 に及ぼす影響の検討 (岸 玲子, 水上 尚典, 遠藤 俊明, 千石 一雄, 吉岡 英治ほか)	51
5. 胎児期の環境化学物質曝露が児の IGF2/H19 メチル化に及ぼす影響 (安住 薫, 岸 玲子, 佐々木 成子, 石塚 真由美ほか)	71
6. フタル酸エステル類およびビスフェノール A (BPA) 曝露による先天異常への影響に 関する文献レビュー (岸 玲子, 荒木 敦子ほか)	80
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	91

I はじめに

PCBs・ダイオキシン類や有機フッ素化合物、有機塩素系農薬などは、環境での蓄積性や残留性が強いことから、いわゆる POPs (Persistent Organic Chemicals) として、世界的に生産や使用が制限されていますが、半減期が長いこと、私たちの体内から容易にはなりません。さらに最近使用が増えているプラスチック可塑剤などとして使われているフタル酸エステル類やビスフェノール A などは、半減期は短いのですが広範囲に使用されているため、多くの人々の血液から検出されます。このような化学物質の人への影響は、大人よりも小児、あるいは胎児期に大きいことが懸念されています。たとえば尿道下裂・停留精巣をはじめとする先天異常は、各国で増加が示唆されていますが、その原因が器官形成期のアンドロゲンの作用に依存しますので、いわゆる環境ホルモン作用を示すといわれる PCBs・ダイオキシン類などとの関係を調べる必要があります。しかし、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、未だ解明されるには至っておりません。さらに、ADHD など小児の軽度発達障害、あるいはアレルギーは、最近各国で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環境リスク要因を評価することが全くなされていませんでした。

そこで、私たちは 2002 年から 2 つの前向き研究を立ち上げて研究を行っております。そのうち札幌市の 1 産院で説明し同意を得た妊婦様 514 人の母体血とお子様の臍帯血について、PCBs・ダイオキシン類、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、種々のアウトカムとの関係を調べています。北海道全域の北海道 (大規模) コーホートでは、母子ペアで参加者が 2 万組を超えました。妊娠初期に同意を得た妊婦様全員の葉酸、コチニン (ニコチンの代謝物) 濃度を測定し、母体血の有機フッ素化合物もより詳しく PFDA・PFNA・PFHxS・PFUnDA など 11 種類の測定を行い、出生時体重やアレルギーへの影響を研究し、今後は先天異常や疾病との関係について解析を進めます。いずれのコーホートも、次世代影響を評価するために思春期まで追跡させていただき、参加者の皆様をお願いしています。

一方、最近のゲノムおよびエピゲノム研究の進歩から、化学物質の影響の強さは、曝露された個体の異物 (薬物) 代謝酵素類の遺伝子多型や疾病感受性遺伝子等によっても修飾されることが考えられます。このような研究は、同じ曝露濃度でも遺伝的ハイリスク群である場合、より予防的な対応を進める必要があるという意味で重要と思われれます。

本研究は、北海道内の広範囲の産婦人科医療機関など臨床家と環境疫学専門家の協力で進めております。このような地域をベースに胎児期から立ち上げ、環境リスク評価を行っている研究は、最近増えてきていますが、本研究はその先駆的な位置づけになります。今後、数多くの成果が出ることを期待されますので、引き続き皆様のご協力をお願い申し上げます。

最後に多くの皆様のご尽力により研究を継続することができ、本年度報告書をこのようにまとめることができましたことに対して、衷心より御礼申し上げます。

平成 26 年 3 月

研究代表者 岸 玲子

前向きコホート研究に基づく先天異常、免疫アレルギーおよび
小児発達障害のリスク評価と環境化学物質に対する遺伝的感受性の解明

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 特任教授

研究要旨

本研究は2つの前向きコホートで妊娠中の環境化学物質曝露が胎児期および小児期に与える健康影響をリスク評価し、遺伝的感受性を含めて障害を予防する方策を明らかにすることを目的とする。地域ベースの37医療機関における北海道（大規模）コホートでは、妊娠初期の12週までに同意を得た妊婦を対象に、母体血および臍帯血のPCBs・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を測定し、曝露による先天異常、Small for Gestational Age（SGA）および低出生体重（LBW）、免疫アレルギーへの影響と児の神経発達への直接的因果関係を評価する。平成25年度に登録妊婦は20,929名に達し、これまで新生児個票が得られた18,333名の妊娠転帰は、生産18,083名（98.74%）、死産102名（0.56%）、自然流産92名（0.50%）、人口流産37名（0.20%）であった。先天異常総数は358件（1.95%）、そのうちマーカー奇形243件、その他137件であった。最も頻度が高かったのは心室中隔欠損症35人、次いで停留精巣・非触知精巣14人、ダウン症候群20人、口唇口蓋裂16人、水腎症16人などであった。また、514人の札幌（小規模）コホートの児については、詳細な発達調査を実施している。

PFCsの影響について、1歳時のアレルギー症状との関連では、食物アレルギー、アトピー性皮膚炎、気管支喘息について検討した結果、有意な関連は認められなかった。2歳時では、女兒のみにおいて母体血中PFUnDA、PFTrDA濃度が高いほど、2歳児の湿疹発症リスクが量反動的に低下した。引き続き母体血中PFCs濃度と4歳のアレルギー疾患および感染症との関連を検討し、胎児期PFCs曝露が出生後の免疫アレルギーへ及ぼす影響について明らかにする予定である。

母体血中PFOS濃度と母の脂肪酸など脂質系への影響を調べた。PFOS濃度が高くなるほど、トリグリセリド・パルミチン酸・パルミトオレイン酸・オレイン酸・リノール酸・ α -リノレン酸・アラキドン酸・DHAの濃度が有意に低下する関係が見られた（ $p < 0.05$ ）。また、PFCs濃度を四分位にわけ重回帰分析を行った結果、濃度影響関係は有意であった（ p for trend < 0.01 ）。PFOA曝露については、パルミチン酸との間にのみ有意の関連を認め、PFOSに比べて脂肪酸への影響は小さかった。

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、微量血液試料中BPAを迅速処理、高精度で測定する生体試料分析法を同位体希釈LC/MS/MS法を採用して開発し、前処理方法と組合せて血中BPAの分析方法を確立した。ヒト血液試料101検体（母体血44検体、臍帯血57検体）における回収率は60～96%の範囲で良好な結果であった。母児血59検体で濃度の相関を検討すると、母体血中濃度は検出下限以下（ND）～0.419ng/mL（中央値0.058ng/mL）、臍帯血中濃度はND～0.217ng/mL（中央値0.061ng/mL）、相関係数 $r=0.11$ （ $p=0.414$ ）で有意な関連はなかったが、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。臍帯血中のBPA濃度と性ホルモンとの関係を調べた。男児124名のBPA濃度は0.056ng/mL（中央値）、女児154

名の BPA 濃度は 0.048ng/mL（中央値）であった。エストラジオール（E2）、総テストステロン（T）、プロゲステロン（P4）、黄体形成ホルモン（LH）、卵胞刺激ホルモン（FSH）、性ホルモン結合グロブリン（SHGB）、プロラクチン（PRL）、インヒビン B、Insulin-like factor3（INSL3）の濃度との関連を重回帰分析で解析したところ、男児では、BPA 濃度が上昇すると総テストステロン濃度が有意に上昇した（ $p=0.042$ ）。一方女児では、関連がみられなかった。今後は性ホルモンが関与する生後の健康影響との関連を検討する。

妊婦の受動喫煙と多環芳香族炭化水素（PAHs）代謝関連遺伝子多型の組合せが、出生時体格に及ぼす影響を検討した結果、妊婦の受動喫煙は出生時体格に影響を及ぼし、男児で強い影響が認められた。PAHs 代謝に関わる遺伝子多型で関連が認められたのは、*CYP1A2*、*CYP1B1* および *XRCC1* 遺伝子多型の 3 つであり、男児でより強い影響があった。

胎児期の環境化学物質曝露の臍帯血 DNA メチル化への影響については、PFOA 曝露による IGF2 低メチル化、MEHP 曝露による H19 低メチル化、メチル水銀曝露による LINE1 高メチル化が示された。今後は本研究で観察されたメチル化の変化が児のアウトカムに与える影響を検討する予定である。

フタル酸エステル類、およびビスフェノール A（BPA）の胎児期曝露による児の先天異常などに関するこれまでの疫学研究文献をレビューした。肛門性器間距離（AGD）とフタル酸エステル類曝露の報告が 7 編（うち疫学研究 2 編）、BPA 曝露と先天異常の報告は総説 2 編（疫学研究は該当なし）であった。先行研究の限界として胎児期曝露評価やアウトカム評価の妥当性などに問題が見られた。今後、コーホート研究やコーホート内症例対照研究などの研究デザインで、更なる検討が必要である。

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）

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）

梶原 淳睦

（福岡県保健環境研究所
保健科学部生活化学課長）

松村 徹

（いであ株式会社環境創造研究所
取締役・環境創造研究所副所長）

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）

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）

荒木 敦子

（北海道大学環境健康科学研究教育センター
特任講師）

安住 薫

（北海道大学環境健康科学研究教育センター
客員研究員）

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）

吉岡 英治

（旭川医科大学医学部健康科学講座
地域保健疫学分野准教授）

宮下 ちひろ

（北海道大学環境健康科学研究教育センター
特任助教）

研究協力者

喜多 歳子、伊藤 佐智子、Houman Goudarzi、
多島 秀司、小林 祥子、田村 菜穂美、
金澤 文子、Yila Thamar、松島 愛子

（北海道大学環境健康科学研究教育センター）

岡田 恵美子、小林 澄貴、伊藤 久美子、
アイツバマイ ゆふ、馬場 俊明、

Braimoh Titilola、

（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）

檜野 いく子

（東京大学大学院医学系研究科

公共健康医学専攻疫学保健学講座）

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

（北海道大学病院周産母子センター）

山田 俊

（北海道社会保険病院周産期医療センター）

白石 秀明

（北海道大学病院小児科）

馬場 剛

（札幌医科大学医学部産婦人科学講座）

西條 泰明

（旭川医科大学医学部健康科学講座）

宮本 敏伸

（旭川医科大学医学部産婦人科学講座）

中島 そのみ

（札幌医科大学大学院保健医療学研究科）

三井 貴彦

（北海道大学病院腎泌尿器外科）

那須 民江

（中部大学生命健康科学部

スポーツ保健医療学科）

佐田 文宏

（国立保健医療科学院）

乃村 俊史

（北海道大学大学院医学研究科皮膚科学分野）

今野 哲、木村 孔一

（北海道大学大学院医学研究科

内科学講座呼吸器内科学分野）

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）

平田 輝昭、千々和 勝己、黒川 陽一、

平川 博仙、堀 就英、中川 礼子、

芦塚 由紀、小野塚 大介、高橋 浩司、

高尾 佳子、飛石 和太、安武 大輔、

新谷 依子、岡元 冬樹、宮脇 崇

（福岡県保健環境研究所）

戸高 尊

（九州大学大学院医学研究科皮膚科学分野）

飯田 隆雄

（北九州生活科学センター）

山本 潤、小野田 優、苜木 洋一、水谷 太

（いであ株式会社 環境創造研究所）

中澤 裕之、岩崎 雄介

（星薬科大学薬品分析化学教室）

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）

研究協力機関

慶愛病院、えんどう桔梗マタニティクリニック、白石産科婦人科病院、公立芽室病院、青葉産婦人科クリニック、帯広協会病院、秋山記念病院、札幌医科大学附属病院、北海道大学病院、北見赤十字病院、五輪橋産科婦人科小児科病院、朋佑会札幌産科婦人科、函館中央病院、町立中標津病院、はしもとクリニック、王子総合病院、旭川医科大学病院、札幌徳州会病院、旭川赤十字病院、市立稚内病院、釧路労災病院、札幌厚生病院、士別市立病院、日鋼記念病院（旧室蘭日鋼記念病院）、市立札幌病院、KKR 札幌医療センター（旧幌南病院）、市立函館病院、広域紋別病院（旧道立紋別総合病院）、天使病院、函館五稜郭病院、中村病院、北見レディースクリニック、帯広厚生病院、名寄市立総合病院、遠軽厚生病院、釧路赤十字病院、市立釧路総合病院、勤医協札幌病院、札幌東豊病院

A. 研究目的

ヒトでの科学的な根拠が乏しかった PCBs・ダイオキシン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）および低出生体重（LBW）、免疫アレルギーや神経行動発達への影響について

て日本の疫学データをもって応えるために、2002年から北海道で2つの前向き出生コホートを立ち上げた。

札幌市の1産院で出産した児、514人の前向きコホートでは主として詳細な神経行動発達を追跡している。

さらに北海道全域の37の地域病院の協力を得て母体血および臍帯血の採取保存、化学物質曝露量の測定を行い、環境リスク評価を実施している。研究参加に同意した妊婦20,929名について、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し、先天異常、死産、流産等と環境化学物質曝露の関係を明らかにする。

PCBs・ダイオキシン類についてのこれまでの疫学研究は生体試料を用いた胎児期の曝露評価が不十分で異性体レベルで測定した研究もなかった。特に生体影響がPCBsより高いと懸念されるOH-PCBに関する疫学報告は内外でほとんどない。

一方、PFOS、PFOAに代表されるPFCsは、絶縁性・撥水撥油性をはじめとする優れた特性を有することから、衣類・建材・界面活性剤など幅広い分野で使用されている。ヒトは主に飲料水や赤肉、魚介類を通して曝露され、胎児への影響が懸念されているが、十分な研究が行なわれていない。わが国でも2010年にPFOS、PFOSFが化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律の第一種特定化学物質（一部用途以外の製造・輸入禁止）に指定された。そこでPFOS、PFOA以外の代替品で長鎖の化合物を含めたPFCs類について妊婦での曝露評価を行う必要がある。本研究では、UPLC/MS/MSを用いた一斉分析法を確立して、11種類のPFCs濃度を測定し曝露評価を行い、PFCs濃度の経年変化を検討する。またPFCs胎児期曝露による出生児の

体格や2歳までのアレルギー症状との関連を検討する。さらには母体血中トリグリセリド(TG)・脂肪酸へのPFCs曝露の影響を検討する。

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、げっ歯類の動物実験で、従来の毒性試験でNOAELとされた用量より低い用量のBPA胎児期曝露で、仔の思春期早発や神経発達への影響などが報告されたが、ヒトでのデータはまだ少ない。本研究では、微量試料中BPAの高精度測定法を開発して、母体血および臍帯血中のBPA濃度を測定し、胎児期BPA曝露による性ホルモン濃度への影響を検討する。

われわれは、生活環境における低レベルの胎児期ダイオキシン類濃度が出生時体重に影響を与えると既に札幌(小規模)コホートで示したが(Konishi et al., 2009)、遺伝的素因の関係は調べられていない。ダイオキシン類は芳香族炭化水素受容体(AHR)に結合し、シトクロムP450(CYP)1A1・CYP1A2・CYP1B1によって代謝され、また転写抑制因子であるAHRリプレッサー(AHRR)を刺激する。AHR・AHRR・CYP1系遺伝子多型は種々の疾患リスクに影響することが知られている。そこでダイオキシン類曝露とその代謝に関する妊婦の遺伝子多型を解析し、出生時体重に与える影響を検討する。

近年、遺伝的的感受性素因による健康影響の個体差が注目され、多環芳香族炭化水素(PAHs)代謝関連遺伝子多型が出生時体重の減少に関与することが示唆された。しかし、妊婦の受動喫煙と遺伝子相互作用が児の出生時体格に及ぼす影響については

報告がほとんどない。そこで本研究では、妊婦の受動喫煙と PAHs 代謝関連遺伝子多型が児の出生時体格に及ぼす影響を解明するために、遺伝-環境相互作用を検討する。

胎児期化学物質曝露などが児の DNA メチル化を始めとするエピジェネティクスに及ぼす影響が懸念されている。DNA メチル化は胎児期の環境と後生の表現型を結ぶ重要な因子だと考えられている。なかでも Insulin-like growth factor 2 (IGF2) は胎児発育に重要な成長因子で、これまでにこの領域のメチル化異常と出生時体重のほか、乳幼児期の肥満、また成人後の大腸がんリスクとの関連も報告されている。本研究では、胎児期の種々の環境化学物質曝露が臍帯血の IGF2/H19 領域、および LINE1 の DNA メチル化などのエピジェネティクスに及ぼす影響について検討する。

B. 研究方法

1. 前向きコーホートの生死流産、妊娠中疾患および先天異常の発生状況

北海道内の産科 37 施設で妊娠初期から妊婦 20,929 名の協力を得て登録し、平成 25 年 1 月末までに新生児個票の情報が得られた全分娩（流産・死産を含む）18,333 名を対象とした。まず分娩後に医療機関で記載された新生児個票から、生死産、流産（自然・人口）を集計した。次いで生産児について、性比と単多胎数、在胎週数、出生時体重を算出した。妊娠中の疾患について発生状況を調べた。先天異常については、心奇形・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）、流死産、妊娠中の疾患について発生率を算出した。

2. 有機フッ素化合物（PFCs）の胎児期曝露による 2 歳までのアレルギー症状との

関連

自記式調査票から妊婦とその配偶者の属性などを調査し、医療診療録から児の性別、出生時体重などを収集、1 歳時、2 歳時の調査票から児の健康状態、母乳状況などを親の回答により収集した。解析対象者は、先天異常、検体採取が 26 週未満であった者を除外した 2,063 名であった。独立変数を母体血中 PFCs 濃度、従属変数を児のアレルギー症状（1 歳時は食物アレルギー・アトピー性皮膚炎・気管支喘息、2 歳時は湿疹・喘鳴・アレルギー性鼻結膜炎）とし、母の年齢、出産経歴、母の教育歴、妊娠中のコチニン濃度、両親のアレルギー疾患既往歴、児の性別、母乳栄養期間、集団保育歴で調整後、多重ロジスティック回帰分析を行った。

3. 母体血中 PFCs 濃度と脂肪酸との関連

札幌の 1 産科病院の妊婦 390 名を対象とした。母体血中トリグリセリドは TG-IE kits (Wako, Osaka, Japan) を用いて測定した。母体血中の 9 種類の脂肪酸（パルミチン酸・ステアリン酸・パルミトオレイン酸・オレイン酸・リノール酸・アラキドン酸・ α -リノレン酸・EPA・DHA）はガスクロマトグラフ質量分析計（GC-MS）により測定した。

統計解析は重回帰分析を行い、PFOS/PFOA および脂肪酸は \log_{10} 変換した値を使用した。また、測定下限値以下の場合には半値を代入した。

4. 血液中ビスフェノール A（BPA）分析法確立と BPA 曝露による臍帯血中性ホルモン濃度への影響

開発した同位体希釈-液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計（ID-LC-MS/MS）をヒト血液試料 70 検体に適用した。内標準物質として、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て用いた。また、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。血液試料 101 検体 (母体血 44 検体、臍帯血 57 検体) について BPA の測定を行った。

母児の 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。

札幌市内 1 産院コーホートに登録した母児 514 名について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の情報を入手した。臍帯血中の BPA 濃度と性ホルモンのうちエストラジオール (E2)、総テストステロン (T)、プロゲステロン (P4)、黄体形成ホルモン (LH)、卵胞刺激ホルモン (FSH)、性ホルモン結合グロブリン (SHBG)、プロラクチン (PRL)、インヒビン B、Insulin-like factor3 (INSL3) の濃度を測定した。すべての測定において検出下限値以下の場合は半値を代入し、BPA 濃度と性ホルモン濃度のデータがある 278 名を解析対象者とした。

5. 妊婦の受動喫煙と多環芳香族炭化水素 (PAHs) 代謝関連遺伝子多型が児の出生時体格に及ぼす影響

対象者の属性は妊娠初期に実施した自記式調査票、出生時所見は母子健康手帳の転記を母親に依頼し 4 か月調査票から得た。曝露評価のため、妊娠後期に採血を行い、母体血血漿中コチニン濃度は高感度酵素免疫吸着法 (ELISA 法) により (株) エスアールエルで測定した。多環芳香族炭化水素の代謝に関与する遺伝子として、芳香族炭化水素受容体 (AHR) (G>A、Arg554Lys)

遺伝子多型、シトクロム P450 (CYP) 1A2 (A>C、CYP1A2*1F)、1B1 (C>G、Leu432Val) 遺伝子多型、グルタチオン S-転移酵素 (GST) M1 (Present/deletion)、T1 (Present/deletion) 遺伝子多型および DNA 修復遺伝子の X-ray cross-complementing gene 1 (XRCC1) (C>T、Arg194Trp および G>A、Arg399Gln) 遺伝子多型はリアルタイム-PCR 法あるいはマルチプレックス PCR 法で解析した。出生時体格をアウトカム指標として、妊娠期の受動喫煙と遺伝子多型が児の出生時体格に及ぼす影響を検討した。

6. 胎児期の環境化学物質曝露が児の IGF2/H19 メチル化に及ぼす影響

札幌の 1 産科病院でリクルートした参加者 514 名のうち、臍帯血の得られた 267 名を対象とした。臍帯血 400 μL から Maxwell® 16 DNA Purification Kit (Promega 社) を用いて DNA 抽出を行った。抽出した DNA を Epitect Plus Bisulfite Kit (Qiagen 社) にてバイサルファイト処理を行い、IGF2 DMR0 (chr11p15.5, site 1: 2,109,519; site 2: 2,109,516; NCBI Human Genome Build 37.1)、H19 DMR (chr11p15.5, site 1: 1,964,261; site 2: 1,964,259; site 3: 1,964,257; site 4: 1,964,254)、LINE1 の 3 遺伝子領域について、Pyromark Q24 system (Qiagen 社) にて DNA メチル化の定量を行った。曝露影響評価の統計解析には重回帰分析を用い、曝露濃度は log₁₀ 変換した値を用い、また濃度が検出下限値以下の場合は半値を代入した。

7. フタル酸エステル類およびビスフェノール A (BPA) 曝露による先天異常への影響に関する文献レビュー

フタル酸エステル類および、ビスフェノ

ール A (BPA) の胎児期曝露による児の先天異常などに関するこれまでの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。フタル酸エステル類、および BPA を曝露要因として、出生した児の先天異常をアウトカムとする疫学研究のうち、英文の原著論文をレビュー対象とした。

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。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. 前向きコーホートの生死流産、妊娠中疾患および先天異常の発生状況

母親の出産時年齢は平均 29.84 ± 4.83 歳であった。生産 18,083 名 (98.74%)、死産 102 名 (0.56%)、自然流産 92 名 (0.50%)、人口流産 37 名 (0.20%) であった。出産した児の男児は 9,194 名 (50.15%)、単胎は 17,998 名 (99.08%)、在胎週数は平均 38.78 ± 1.53 週、出生時体重は平均 $3,030.17 \pm 419.42$ g であった。

妊娠中の疾患では、切迫早産 1,005 名 (5.53%) が最も多く、次いで膣からの出

血 489 名 (2.69%)、妊娠中毒症 338 名 (1.87%) であった。

生産、死産、流産を含む全分娩のうち、なんらかの先天異常を有する児の総数は 358 名であり、そのうちマーカー奇形が 266 件、その他の異常が 143 件であり、先天異常を有する児の出産頻度は 1.95% であった。そのうちマーカー奇形 243 件 (1.33%)、その他の先天奇形 137 件 (0.75%) であった。また、在胎 22 週以降の分娩 18,142 件中では、先天異常のある児は 316 件 (1.74%) であった。発生頻度 (出産 1 万対) の最も高い先天異常は心室中隔欠損症 19.1 (35 名) であった。次いで停留精巣・非触知精巣 15.2 (14 名：男児のみ 9,194 名で算出)、Down 症候群 10.9 (20 名)、口唇口蓋裂 10.9 (16 名)、水腎症 8.7 (16 名) などであった。

2. 有機フッ素化合物 (PFCs) の胎児期曝露による 2 歳までのアレルギー症状との関連

1 歳時のアレルギー症状の発症率は、食物アレルギー 12.0%、アトピー性皮膚炎 10.4%、気管支喘息 10.5% であった。2 歳時のアレルギー症状の発症率は、湿疹 17.8%、喘鳴 19.3%、アレルギー性結膜炎 4.4%、これらいずれかの症状があるアレルギーが 34.6% であった。母体血中 PFCs 濃度 (中央値) は、PFOS 5.04 ng/mL; PFOA 2.01 ng/mL; PFUnDA 1.40 ng/mL; PFNA 1.15 ng/mL の順であり、 Σ PFCs は 11.9 ng/mL であった。PFCs 濃度と 1 歳までのアレルギー症状との間に関連は認められなかった。2 歳時では、女児のみにおいて母体血中 PFUnDA、PFTrDA 濃度が高いほど 2 歳児の湿疹の発症リスクが量反応的に低下した。

3. 母体血中 PFCs 濃度と脂肪酸との関連

重回帰分析で交絡因子を調整後、母体血中 PFOS 濃度 (\log_{10} 変換) とトリグリセリド・パルミチン酸・パルミトオレイン酸・オレイン酸・リノール酸・ α -リノレン酸・アラキドン酸・DHA との間にそれぞれ有意な負の相関を認めた ($p < 0.05$)。また、PFCs 濃度を四分位にわけ重回帰分析を行った結果、連続値で解析した場合と同様の結果が得られ、PFOS 濃度の増加に伴い脂肪酸の有意な減少が認められた (p for trend < 0.01)。PFOA 曝露については、パルミチン酸との間にのみ正の相関を認めた。

4. BPA 曝露による臍帯血中性ホルモン濃度への影響

ヒト血液試料 70 検体を 3 ロットにわけて分析を実施した。分析においては、ロット毎のブランク試験と全操作ブランク試験を行い、BPA の汚染が問題ないことを確認した。血液中の BPA 濃度は、ND ~ 0.153ng/mL (平均値 0.058ng/mL、中央値 0.049ng/mL) であった。検体の測定における各試料の回収率は 71~113% の範囲であった。装置の変動について確認を行うため、濃度 1.0ng/mL の標準溶液を 3~5 検体毎に測定し、検量線における RRF と比較し $\pm 20\%$ の範囲であった。試料中の濃度は、全体で ND ~ 0.175ng/mL (中央値 0.059ng/mL)、母体血中の濃度は ND ~ 0.125ng/mL (中央値 0.053ng/mL)、臍帯血中の濃度は ND ~ 0.175ng/mL (中央値 0.064ng/mL) であった。分析した血液全試料における回収率は 60~96% の範囲であった。試料のうち 8 検体について二重測定を実施したが、試料濃度の差は 20% 以下であった。

母児の母体血中 BPA 濃度は 0.058 ng/mL (中央値)、また、臍帯血中 BPA 濃度は 0.061 ng/mL (中央値) で、母と同程

度であった。しかし、母・胎児の関連は認められなかった。

性ホルモンとの関連では、男児 124 名の BPA 濃度は 0.056 ng/mL (中央値)、女児 154 名の BPA 濃度は 0.048 ng/mL (中央値) であった。在胎週数、世帯収入、母の年齢、喫煙と飲酒量で調整した重回帰分析の結果、男児では、BPA 濃度が上昇すると総テストステロン濃度が有意に上昇した ($p = 0.042$)。一方、女児では、関連がみられなかった。

5. 妊婦の受動喫煙と多環芳香族炭化水素 (PAHs) 代謝関連遺伝子多型が児の出生時体格に及ぼす影響

血漿コチニン濃度のデータ、遺伝子多型のデータ、出生時体格のデータのすべてが得られた 1,633 名について解析した。妊婦の受動喫煙が出生時体格に及ぼす影響とその性差では、非喫煙妊婦の児と比較して、受動喫煙妊婦の児の出生時体格は減少した (出生時体重、35g 減少、 $p = 0.043$; 出生時身長、0.24cm 減少、 $p = 0.013$; 出生時頭囲、0.15cm 減少、 $p = 0.047$)。さらに児の性別で層別すると、受動喫煙妊婦の男児の出生時体格は減少したが (出生時体重、71g 減少、 $p = 0.007$; 出生時身長、0.48cm 減少、 $p < 0.001$; 出生時頭囲、0.26cm 減少、 $p = 0.031$)、女児では有意な差はなかった。妊婦の受動喫煙と PAHs 代謝関連遺伝子多型を組合せて出生時体格の低下を検討すると、非喫煙で *CYP1A2* (A>C、*CYP1A2*1F*) 遺伝子多型の AA 型の妊婦と比較して、AC/CC 型の妊婦の児は出生時頭囲の 0.28 cm 減少した (95%CI; -0.49、-0.08)。また *CYP1B1* (C>G、Leu432Val) 遺伝子多型では、非喫煙で CC 型の妊婦の児と比較して、受動喫煙で CG/GG 型の妊婦の児の出生時頭囲は 0.29 cm 減少し (95%CI; -0.51、-0.08)、層別すると男児では 0.50 cm とより多く減少した

(95%CI: -0.85、 -0.15)。さらに *XRCCI* (C>T、Arg194Trp) 遺伝子多型では、非喫煙で CC 型の妊婦の児と比較して、受動喫煙で CT/TT 型の妊婦の児の出生時身長は 0.44 cm 減少し (95%CI: -0.72、 -0.17)、層別すると男児では 0.66 cm とより多く減少した (95%CI: -1.03、 -0.28)。さらに遺伝子多型の組合せで、非喫煙で *CYP1A2* (A>C) 遺伝子多型が AA 型、*CYP1B1* (C>G) 遺伝子多型が CC 型をもつ妊婦の児と比較して、受動喫煙で *CYP1A2* 遺伝子多型が AC/CC 型、*CYP1B1* 遺伝子多型が CG/GG 型をもつ妊婦の児の出生時頭囲は 0.41cm 減少した (95%CI: -0.70、 -0.12)。

6. 胎児期の環境化学物質曝露が児の IGF2/H19 メチル化に及ぼす影響

本集団における臍帯血 DNA メチル化率の平均は、IGF2 が 48.7% (± 2.9)、H19 が 52.3% (± 2.0)、LINE1 が 75.8% (± 1.1) であった。

重回帰分析で交絡因子を調整後、母体血中 PFOA 濃度 (\log_{10} 変換) と臍帯血 IGF2 メチル化率との間に有意な負の相関が認められた ($\beta = -1.61$ 、95% CI: -3.00 to -0.22)。また、有意ではなかったが、PFOS でも同様の傾向が認められた ($\beta = -1.16$ 、95% CI: -2.97 to 0.66)。母体血中 MEHP 濃度 (\log_{10} 変換) と H19 メチル化率との間には有意な負の相関が認められた ($\beta = -0.86$ 、95% CI: -1.70 to -0.02)。母毛髪中メチル水銀量 (\log_{10} 変換) と LINE1 メチル化との間には有意な正の相関がみられた ($\beta = 0.75$ 、95% CI: 0.11 to 1.39)。その他、ダイオキシン (TEQ)、PCB の総量と 3 遺伝子領域のメチル化との間に有意な関連は認められなかった。

7. フタル酸エステル類およびビスフェノール A (BPA) 曝露による先天異常への

影響に関する文献レビュー

本研究のレビュー対象となった文献は、肛門性器間距離 (AGD) とフタル酸エステル類曝露の報告が 7 編 (うち疫学研究 2 編) であった。この 7 編は停留精巣に関する報告が 1 編、尿道下裂に関する報告が 2 編、児の AGD に関する報告が 4 編と、限られた先天異常あるいは AGD のみの検討であった。AGD と BPA 曝露の報告は総説 2 編 (疫学研究は該当なし) であった。

D. 考察

本研究で示した先天異常発生状況のデータは、わが国における初めての大規模な地域病院ベース情報である。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)」と比較すると、先天異常の出産頻度は 1.74% と近似していた。しかし、形態異常ごとの頻度をみると、尿道下裂、口蓋裂などは JAOG よりも高い。一方で、消化管系閉鎖、脊髄髄膜瘤、水頭症などの胎児期に診断され、出生直後に集中的な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。倉橋ら (2005) は JAOG の尿道下裂の有病率を解釈するうえで、①モニタリング対象数が限定されることによる選択バイアスの存在、②モニタリング初期段階の軽症例の見落とし、③診断基準の地域差を考慮する必要があることを指摘している。地域ベースの前向きコホート研究という特徴を有している本研究は、一般的な地域病院での有病率を把握する上で、わが国で他に例のない非常に重要なデータと考えられる。

母体血中 PCBs・ダイオキシン類濃度と次世代影響との関連については、2012 年 2 月までに生産した 19,164 名 (先天性心疾患は 68 名) を対象に、引き続いて PCBs・ダイオキシン類一斉分析を実施し、最終的

にコーホート内症例対照研究において、先天性心疾患症例 68 名と対照例 68 名で、母の既往歴、妊娠中の薬剤、飲酒など生活習慣、職業歴、血清葉酸値、血中コチニン濃度を調整したうえで、胎児期の PCBs・ダイオキシン類が先天性心疾患リスクに与える影響を明らかにする予定である。さらに発達やアレルギーへの影響は引き続き 42 ヶ月、6 歳、8 歳、13 歳の思春期前まで追跡を継続して、ダイオキシン類の胎児期曝露の影響がどの年齢まで及ぶか、内分泌攪乱作用を含めた検証を行う予定である。

有機フッ素化合物 (PFCs) については、POPs 条約に含まれたため PFOS、PFOA の使用は抑制されているが、代替化合物の使用が増えていることが危惧される。母体血中 PFOS、PFOA 濃度が出生時体重に与える影響を検討した結果、PFNA 曝露レベルが高いほど出生時体重と身長が有意に低かった。特に男児に影響が強かった。アレルギーについては、女児のみにおいて母体血中 PFUnDA、PFTrDA 濃度が高いほど、2 歳児の湿疹の発症リスクが量反応的に低下した。引き続き母体血中 PFCs 濃度と発育や 4 歳のアレルギー疾患および感染症との関連を検討し、胎児期 PFCs 曝露が出生後の免疫アレルギーへ及ぼす影響について明らかにする予定である。

PFCs 曝露の TG・脂肪酸へ及ぼす影響については、妊娠中の PFOS 曝露により母親の TG・脂肪酸（パルミチン酸・パルミトオレイン酸・リノール酸・アラキドン酸・ α -リノレン酸・DHA）が減少することが示された。この結果は疫学研究において、妊婦の PFCs 曝露と脂肪酸との関連を調べた世界で初めての報告となる。妊娠中の PFCs 曝露の TG への影響は疫学研究で 2 報の報告があるが、今回の結果と一致しなかった。動物実験では、PFOS/PFOA 曝露による血清中の TG およびコレステロール

の減少が報告されており、本研究の結果と一致する。先行研究との不一致は、日本人と欧米人の遺伝的背景の違いも考えられ、今後、PPAR など核内受容体などの環境遺伝相互作用を含めた解析により PFCs 曝露の脂質組成への影響を検討する予定である。さらに脂肪酸は児の神経発達にも影響を及ぼす可能性があるため、PFOS、PFOA 濃度と児の発達の関連についても解析する必要がある。

血液中のビスフェノール A (BPA) は、開発した測定分析方法は完成したものと考える。血液中の BPA は、妊娠中の母親血液と臍帯血に相関は認められなかった。臍帯血中の BPA 濃度と性ホルモン（エストラジオール (E2)、総テストステロン (T)、プロゲステロン (P4)、黄体形成ホルモン (LH)、卵胞刺激ホルモン (FSH)、性ホルモン結合グロブリン (SHBG)、プロラクチン (PRL)、インヒビン B、Insulin-like factor3 (INSL3)) 濃度との関係を調べた結果、男児では、BPA 濃度が上昇すると総テストステロン濃度が上昇した

($p=0.042$)。今後は性ホルモンが関与する生後の健康影響との関連を検討する。

受動喫煙についても多環芳香族炭化水素 (PAHs) 代謝関連遺伝子多型を考慮して検討した結果、*CYP1A2*、*CYP1B1* および *XRCC1* 遺伝子多型が出生時体格に影響を及ぼし、一部性差も認められることが明らかとなった。本研究の結果から、たばこ煙の化学物質は特定できないが、妊婦の受動喫煙は胎児発育への影響にも性差があると考えられる。

胎児期の環境化学物質曝露による児の DNA メチル化への影響については、PFOA 曝露による IGF2 低メチル化、MEHP 曝露による H19 低メチル化、メチル水銀曝露による LINE1 高メチル化が示された。先行研究において、臍帯血中 PFOA 濃度とゲノ

ム全体のメチル化（ELISA 法）との間に負の相関が報告されており、本研究の IGF2 メチル化と同様の傾向を示した。

IGF2/H19 領域のメチル化は胎児期の成長に重要であり、また、小児期の肥満との関連も報告されている。今後は本研究で観察されたメチル化の変化が、児のアウトカムをどれだけ説明できるか、検討する予定である。

わが国では欧米諸国と比較して、いまだ男性や若い女性の喫煙率が高いことが報告されている。本研究では、受動喫煙曝露の客観的指標として、血漿中コチニン濃度を測定し、妊娠期の能動喫煙のみならず、受動喫煙が出生時体格を低下させることを定量的に明らかにした。

フタル酸エステル類曝露の文献では、サンプルサイズが小さいこと、母集団に偏りがあること、胎児期曝露の指標となる生体試料の採取時期が適切でなく曝露評価の妥当性に問題があるなどの研究の限界が見られた。さらに、AGD の性差について検討された報告は 1 編のみであった。また、アウトカム評価の妥当性に問題が見られるなど、更なる検討が必要である。BPA 曝露の文献については報告数も少なく、コホート研究やコホート内症例対照研究などの研究デザインで、更なる検討も必要である。

E. 結論

本コホート参加妊婦で平成 25 年 1 月末までに新生児個票が確認された 18,333 人のうち、先天異常の児総数は 358 人、先天異常を有する児の出産頻度は 1.95% であった。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、PCBs・ダイオキシン類、PFOS 等の有機フッ素化合物（PFCs）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環境化学物質による次世代影響について微量分析を確実にを行うことにより、世界的にも初めて実証データから科学的に解明することが可能となるであろう。

F. 研究発表

1) 論文発表

○原著論文、総説等

1. Okada E., Sasaki S., Kashino I., Matsuura H., Miyashita C., Kobayashi S., Itoh K., Ikeno T., Tamakoshi A., Kishi R; Prenatal exposure to perfluoroalkyl acids and allergic diseases in early childhood. *Environ Int.* 65C:127-134, 2014.
2. Otake Y., Nakajima S., Uno A., Kato S., Sasaki S., Yoshioka E., Ikeno T., Kishi R.; Association between maternal antenatal depression and infant development: a hospital-based prospective cohort study. *Environ Health Prev Med.* 19 (1):30-45, 2014.
3. Okada E., Kashino I., Matsuura H., Sasaki S., Miyashita C., Yamamoto J., Ikeno T., Ito M. Y., Matsumura T., Tamakoshi A., Kishi R.; Temporal trends of perfluoroalkyl acids in plasma samples of pregnant women in Hokkaido, Japan, 2003-2011. *Environ Int.* 60:89-96, 2013.

4. Kishi R., Kobayashi S., Ikeno T., Araki A., Miyashita C., Itoh S., Sasaki S., Okada E., Kobayashi S., Kashino I., Itoh K., Nakajima S.; The members of the Hokkaido Study on Environment and Children's Health.; Ten Years of Progress in the Hokkaido Birth Cohort Study on Environment and Children's Health: Cohort Profile - Updated 2013. *Environ Health Prev Med.* 18 (6):429-450, 2013.
 5. Kobayashi S., Sata F., Sasaki S., Ban S., Miyashita C., Okada E., Limpar M., Yoshioka E., Kajiwara J., Todaka T., Saijo Y., Kishi R.; Genetic association of aromatic hydrocarbon receptor (AHR) and cytochrome P450, family 1, subfamily A, polypeptide 1 (CYP1A1) polymorphisms with dioxin blood concentrations among pregnant Japanese women. *Toxicol Lett.* 219 (3):269-278, 2013.
 6. 安住薫, 小林祥子, 岸玲子; 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研究. *北海道公衆衛生学雑誌* . 26 (2):29-38, 2012.
- 著書
7. 岸玲子; 市民協力による環境疫学研究～わが国で初の本格的出生コーホート研究の経験から学ぶ～. *地球社会の環境ビジョン —これからの環境学—* (日学新書3) [新書]. 80-91, 2013.
- 解説、その他
8. 小林澄貴, 佐田文宏, 佐々木成子, 坂晋, 宮下ちひろ, 岡田恵美子, Limpar Mariko, 吉岡英治, 梶原淳睦, 戸高尊, 西條泰明, 岸玲子; 妊婦のダイオキシン類代謝酵素遺伝子多型と母体血中ダイオキシン類濃度との関連. *北海道医学雑誌.* 88 (4-5):145, 2013.
- 2) 学会発表
1. Verner MA., Loccisano AE., Yoon M., Wu H., McDougall R., Maisonet M., Marcus M., Kishi R., Miyashita C., Chen MH., Hsieh W., Andersen M., Clewell III H., Longnecker MP.; The Association Between Prenatal Exposure to Perfluoroalkyl Substances (PFAS) and Reduced Birth Weight: Is Glomerular Filtration Rate the Underlying Cause? SOT's 53rd Annual Meeting. Phoenix, USA. (2014.03.23-27)
 2. Kishi R.; Prenatal Perfluorinated Compounds Exposure and Early childhood Health. DOHaD2013-8th World Congress on DOHaD. Singapore. (2013.11.17-20)
 3. Araki A.; Maternal exposure to dehp and sex hormone levels in cord blood. DOHaD2013-8th World Congress on DOHaD. Singapore. (2013.11.17-20)
 4. Itoh S., Kajiwara J., Miyashita C., Kobayashi S., Sasaki S., Ban S., Ikeno T., Araki A., Kishi R.; The effects of hydroxylated PCBs in maternal serum on infant thyroid hormones. Environment and Health – Bridging South, North, East and West Conference of ISEE, ISES and ISIAQ. Basel, Switzerland. (2013.08.19-23)

5. Okada E., Kashino I., Sasaki S., Miyashita C., Ikeno T., Araki A., Yamamoto J., Matsuura H., Matsumura T., Tamakoshi A., Kishi R.; Relationship between prenatal exposure to perfluorinated compounds and allergic diseases in infants. Environment and Health – Bridging South, North, East and West Conference of ISEE, ISES and ISIAQ. Basel, Switzerland. (2013.08.19-23)
6. Kashino I., Okada E., Sasaki S., Miyashita C., Ikeno T., Araki A., Yamamoto J., Matsuura H., Matsumura T., Tamakoshi A., Kishi R.; Prenatal Exposure to 11 Perfluorinated Compounds (PFCs) and infant weight in the Hokkaido Study on Environmental and Children's Health. Environment and Health – Bridging South, North, East and West Conference of ISEE, ISES and ISIAQ. Basel, Switzerland. (2013.08.19-23)
7. Sata F., Eto A., Kanatani Y., Araki A., Mitsui T., Kishi R., Nonomura K.; Fetal genetic polymorphisms associated with estrogen levels and sex-hormone-binding globulin and fetal growth restriction. Environment and Health – Bridging South, North, East and West Conference of ISEE, ISES and ISIAQ. Basel, Switzerland. (2013.08.19-23)
8. Eto A., Sata F., Kanatani Y., Araki A., Mitsui T., Kishi R.; Fetal genetic polymorphisms associated with estrogen levels and sex-hormone-binding globulin and anthropometric parameters in newborns. Environment and Health – Bridging South, North, East and West Conference of ISEE, ISES and ISIAQ. Basel, Switzerland. (2013.08.19-23)
9. 田村菜穂美、伊藤久美子、小林澄貴、岡田恵美子、喜多歳子、Houman Goudarzi、宮下ちひろ、荒木敦子、池野多美子、岸玲子；児の出生体重と母親の社会経済要因との関連についての疫学研究. 第84回日本衛生学会学術総会. 岡山. (2014.5.25-28) (採択済み)
10. 池野多美子、喜多歳子、小林澄貴、岸玲子；妊婦葉酸値と8歳時ADHD関連症状の関係：環境と子どもの健康に関する北海道スタディ. 第65回北海道公衆衛生学会. 札幌. (2013.11.14-15)
11. 荒木敦子；有機フッ素化合物曝露と子どもの健康 ー子どもの健康と環境に関する北海道研究ー(Perfluoroalkyl acid exposure and children's health: The Hokkaido Study on Environment and Child Health). SW2013国際シンポジウム サステナブルで安心な社会の構築へ向けて：予防原則という考え方 (Towards a Safe and Sustainable Society : Applicability of the Precautionary Perspective). 札幌. (2013.11.05)
12. 岸玲子；生活環境要因と子どもの健康・成長；出生コホート（北海道スタディ）の成果と提言. 第72回日本公衆衛生学会総会. 津. (2013.10.23-25)
13. 河合俊夫、坪井樹、荒木敦子、アイツパマイゆふ、岸玲子；GC/MSによるヒトの原中2・エチルヘキサノールの定量間

- フタル酸ジエステル類評価としての無水フタル酸可塑剤・難燃剤曝露と小児の健康影響一。第86回日本産業衛生学会。松山。(2013.05.14-17)
14. 池野多美子, 小林澄貴, 喜多歳子, 中島そのみ, 岸玲子; 8歳の注意欠損多動性障害に関する要因-環境と子どもの健康に関する北海道スタディ-。第72回日本公衆衛生学会総会。津。(2013.10.23-25)
15. 喜多歳子, 池野多美子, 中島そのみ, 小林澄貴, 岸玲子; 親の世帯収入と48か月児の知的能力(K-ABC)との関連; 環境と子どもの健康に関する前向きコホート研究(北海道スタディ)の結果。第72回日本公衆衛生学会総会。津。(2013.10.23-25)
16. 岡田恵美子, 榎野いく子, 佐々木成子, 宮下ちひろ, 山本潤, 伊藤陽一, 松浦英幸, 松村徹, 玉腰暁子, 岸玲子; 有機フッ素化合物の胎児期曝露による1歳までのアレルギー症状との関連。第83回日本衛生学会学術総会。金沢。(2013.03.24-26)
17. 宮下ちひろ, 佐々木成子, 池野多美子, 岡田恵美子, 小林澄貴, 榎野いく子, 伊藤久美子, 梶原淳睦, 戸高尊, 岸玲子; 母体血PCB・dioxinと臍帯血IgEとの関連-環境と子どもの健康北海道スタディ-。第83回日本衛生学会学術総会。金沢。(2013.03.24-26)
18. 坪井樹, 河合俊夫, 荒木敦子, アイツバマイゆふ, 岸玲子; フタル酸エステル尿中代謝物の同時測定方法の開発: 可塑剤、難燃剤の小児の健康影響1。第83回日本衛生学会学術総会。金沢。(2013.03.24-26)
19. 河合俊夫, 坪井樹, 荒木敦子, アイツバマイゆふ, 岸玲子; フタル酸ジエステル類評価としての無水フタル酸: 可塑剤、難燃剤の小児への健康影響2。第83回日本衛生学会学術総会。金沢。(2013.03.24-26)
20. アイツバマイゆふ, 荒木敦子, 坪井樹, 河合俊夫, 多島秀司, 叢石, 吉岡英治, 玉腰暁子, 岸玲子; アレルギーとダスト中フタル酸エステル濃度: 可塑剤、難燃剤の小児の健康影響3。第83回日本衛生学会学術総会。金沢。(2013.03.24-26)
21. 荒木敦子, 坪井樹, 河合俊夫, アイツバマイゆふ, 多島秀司, 叢石, 鶴川重和, 吉岡英治, 岸玲子; 児童の尿中フタル酸代謝物濃度とアレルギー: 可塑剤、難燃剤の小児への健康影響4。第83回日本衛生学会学術総会。金沢。(2013.03.24-26)
22. 佐々木成子, 宮下ちひろ, 松村徹, 山本潤, 榎野いく子, 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。(2013.03.24-26)
23. 小林祥子, 安住薫, 宮下ちひろ, 小林澄貴, 佐々木成子, 石塚真由美, 岸玲子; 環境化学物質の胎児期曝露が臍帯血IGF2DNAメチル化に及ぼす影響。第83回日本衛生学会学術総会。金沢。(2013.03.24-26)
24. 中島そのみ, 佐々木成子, 加藤静恵, 中村裕二, 仙石泰仁, 梶原淳睦, 池野多美子, 西條泰明, 岸玲子; 母体血中ダイオキシン類と6ヶ月・18ヶ月児の精神・運動発達への影響。第83回日本衛生学会学術総会。金沢。(2013.03.24-26)

25. 榎野いく子, 佐々木成子, 岡田恵美子,
宮下ちひろ, 山本潤, 松浦英幸, 伊藤陽
一, 松村徹, 玉腰暁子, 岸玲子; 有機フ
ッ素化合物（11種類）の胎児期曝露に
よる出生児体格への影響. 第83回日本
衛生学会学術総会. 金沢.
(2013.03.24-26)

G. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

有機フッ素化合物の胎児期曝露が乳幼児期のアレルギー症状に及ぼす影響

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 特任助教
研究分担者 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
生物有機化学研究室 教授
研究分担者 松村 徹 いであ株式会社環境創造研究所 取締役・環境創造研究所副所長

研究要旨

有機フッ素化合物（PFCs）は、難分解性、高残留性の環境化学物質である。妊娠中の曝露により、胎児へ移行することが報告されているが、児の免疫アレルギーへの影響は、臍帯血 IgE と正または負の関連を示した、あるいはアレルギー疾患・感染症との関連はなかったなど、まだ一致した見解が得られていない。また、PFOS、PFOA 以外の PFCs についてはほとんど報告がない。そこで本研究では、胎児期の PFCs 曝露と 2 歳までのアレルギー症状発症との関連を検討した。2003 年～2009 年に登録した母児 2,062 名について、独立変数を母体血中 PFCs 濃度、従属変数を児のアレルギー症状（湿疹・喘鳴）とし、交絡因子で調整後、多重ロジスティック回帰分析を行った。その結果、女兒のみにおいて母体血中 PFUnDA、PFTrDA 濃度は高いほど 2 歳児の湿疹の発症リスクが量反動的に低下することを示した。長鎖の PFCs の胎児期曝露は児の免疫アレルギーに対して抑制的に作用し、性特異的な影響を及ぼす可能性が示唆された。しかし、炭素鎖の長い PFCs が生体に及ぼす影響に関しては、世界的にデータが乏しく、性差のメカニズムは不明であることから、一般集団を対象に長鎖の PFCs 曝露の影響を詳細に検討し、免疫毒性および性差について明らかにする必要がある。

研究協力者

岡田 恵美子、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）
檜野 いく子
（東京大学大学院医学系研究科
公共健康医学専攻疫学保健学講座
社会予防疫学分野）
山本 潤
（いであ株式会社環境創造研究所）

面特性を有する環境化学物質である。界面活性剤、難燃剤、接着剤、半導体など幅広い分野で汎用されている。末端にもつスルホン酸またはカルボン酸によって分類され、炭素鎖の長さにより物質が異なる。生物学的半減期は PFOS 5.4 年、PFOA 3.8 年と長く（Olsen et al. 2009）、難分解性・高残留性の物質であることから体内蓄積によるヒトへの健康影響が危惧される。

A. 研究目的

有機フッ素化合物（PFCs）は、絶縁性、撥水撥油性をはじめとする優れた表

動物実験では、PFOS、PFOA 曝露が免疫系に与える影響として免疫抑制、抗体産生抑制、胸腺重量の減少、リンパ重

量の減少が認められた（Peden-Adams et al. 2007; Dewitt et al. 2009）。ヒトでは PFOS、PFOA が血液胎盤関門を通過し胎児へ移行することが報告された（Inoue et al. 2004; Midasch et al. 2007; Monroy et al. 2008）。胎児期は成人と比較して環境化学物質に対する感受性が高く、免疫機能は胎児期および出生後初期の発達段階で決定されることが示唆されていることから（Luster et al. 2003）、環境要因の一つである PFCs の胎児期曝露影響を評価する必要がある。

児の免疫アレルギーへの影響は、PFOS、PFOA 濃度と臍帯血 IgE との間に正または負の関連を示した、アレルギー疾患・感染症との関連はなかったなど（Okada et al. 2012; Wang et al. 2011; Fei et al. 2010）、まだ一致した見解が得られていない。

これまで先行研究では主に PFOS、PFOA 曝露の影響について検討されてきたが、PFCs は PFOS、PFOA 以外にも炭素鎖が長い PFNA、PFDA、PFUnDA、PFTrDA など多く存在する。長鎖の PFCs は生物濃縮性が高く半減期が長いことが示唆されている（Martin et al. 2003; Ohmori et al. 2003）。さらに、近年、ヒト血液中 PFNA、PFDA 濃度は経年して上昇していることが報告され（Calafat et al. 2007; Glynn et al. 2012; Harada et al. 2011）、「環境と子どもの健康に関する北海道スタディ」においても、妊婦の PFOS、PFOA 濃度は経年して減少した一方で、PFNA、PFDA 濃度は上昇したことが明らかとなった（Okada et al. 2013）。したがって、PFOS、PFOA だけではなく、その他の PFCs、特に長鎖の PFCs が免疫アレルギーに及ぼす影響において疫学的に評価する必要があるが、これらの曝露による報告はほとんどない。

そこで本研究では、一般生活環境レベ

ルでの PFCs 11 物質の胎児期曝露が及ぼす 2 歳までのアレルギー症状発症への影響を検討することを目的とした。

B. 研究方法

2003 年から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」を実施中である。2003 年～2009 年に参加登録した母児 17,869 名のうちベースライン調査票、医療診療録、妊娠後期の血液検体があるもの 12,849 名から死産・流産、先天異常、多胎を除外した。さらに、児の 4 ヶ月・1 歳・2 歳時の調査票があるもの 6,335 名から各年 300 名をランダム抽出し（2009 年のみ 295 名）、2,095 名を PFCs 測定対象者とした。そのうち本研究では、先天異常、検体採取が妊娠 26 週未満であったものを除外した 2,063 名を解析対象者とした。

ベースライン時の自記式調査票から妊婦とその配偶者の既往歴、教育歴、世帯収入、喫煙状況などの属性を調査し、医療診療録から児の性別、出生時体重、出産経歴などを収集、2 歳時の調査票から児の健康状態、母乳栄養状況などを親の回答により収集した。

アウトカムは、2 歳時の調査票から国際的に疫学研究で用いられている ISACC を基準とし、湿疹、喘鳴、アレルギー性鼻結膜炎を評価した。本研究では、これら 3 つの症状のうちいずれか 1 つがある場合を「アレルギー症状あり」と定義した。

曝露評価は、母体血中の PFCs 11 物質（PFHxA、PFHpA、PFOA、PFNA、PFDA、PFUnDA、PFDoDA、PFTrDA、PFTeDA、PFHxS、PFOS）とした。妊娠 28～31 週の母体血血漿 0.5 mL の前処理操作を行い、超高速液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析装置（UPLC-MS/MS）を用いて一斉分析