

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. 母体血中 PFOS・PFOA 濃度と母児の属性との関連 (n=390)

Characteristics	n=390	PFOS	P-value	PFOA	P-value
<b>Maternal characteristics</b>					
Age (years)	30.1±4.8	Spearman's $\rho$ = -0.154	<b>0.002</b>	Spearman's $\rho$ = -0.102	<b>0.042</b>
Height (cm)	158.3±5.2	Spearman's $\rho$ = 0.027	0.592	Spearman's $\rho$ = 0.023	0.639
Pre-pregnancy body weight (kg)	52.9±8.2	Spearman's $\rho$ = -0.031	0.536	Spearman's $\rho$ = -0.031	0.541
Pre-pregnancy BMI (kg/m <sup>2</sup> )	21.1±3	Spearman's $\rho$ = -0.059	0.24	Spearman's $\rho$ = -0.078	0.119
Parity (times)					
0	186 (47.7)	6.33 ( 5.95-6.71)	<b>&lt;.0001</b>	1.74 (1.63 to 1.85)	<b>&lt;.0001</b>
≥1	204 (52.3)	5.06 (4.7 to 5.42)		1.1 (0.99 to 1.21)	
Past conception (times)					
0	130 (33.3)	6.4 (5.95 to 6.86)	<b>0.0002</b>	1.78 (1.64 to 1.92)	<b>&lt;.0001</b>
1	128 (32.8)	5.7 (5.24 to 6.16)		1.31 (1.17 to 1.45)	
≥2	132 (33.8)	4.91 (4.46 to 5.37)		1.13 (0.99 to 1.26)	
Educational level (years)					
≤12	175 (44.9)	5.46 (5.05 to 5.86)	0.124	1.4 (1.27 to 1.53)	0.386
≥13	215 (55.1)	5.84 (5.48 to 6.2)		1.41 (1.3 to 1.52)	
Annual household income (million yen)					
less than 5	274 (70.2)	5.61 (5.29 to 5.94)	0.495	1.41 (1.31 to 1.51)	0.459
more than 5	116 (29.7)	5.79 (5.29 to 6.29)		1.4 (1.25 to 1.56)	
Smoking during pregnancy					
Yes	158 (40.5)	5.2 (4.78 to 5.62)	<b>0.004</b>	1.36 (1.23 to 1.49)	0.455
No	232 (59.5)	5.99 (5.64 to 6.33)		1.44 (1.33 to 1.54)	
Alcohol intake during pregnancy					
Yes	123 (31.5)	5.72 (5.24 to 6.2)	0.636	1.37 (1.22 to 1.52)	0.869
No	267 (68.5)	5.64 (5.31 to 5.97)		1.42 (1.32 to 1.52)	
Alcohol intake among drinkers during pregnancy (g/day)	5.2±16.8	Spearman's $\rho$ = 0.026	0.606	Spearman's $\rho$ = -0.011	0.814
Caffeine intake during pregnancy (mg/day)	148.1±119.7	Spearman's $\rho$ = -0.077	0.128	Spearman's $\rho$ = -0.137	<b>0.006</b>
Fish intake during pregnancy					
Inshore fish					
≤1-2 times/month	210 (53.8)	5.63 (5.26 to 6)	0.697	1.42 (1.3 to 1.53)	0.634
≥1-2 times/week	180 (46.1)	5.71 (5.31 to 6.1)		1.39 (1.26 to 1.51)	
Deep sea fish					
≤1-2 times/month	185 (47.4)	5.55 (5.16 to 5.95)	0.233	1.41 (1.29 to 1.54)	0.978
≥1-2 times/week	205 (52.5)	5.77 (5.4 to 6.14)		1.4 (1.28 to 1.51)	
Blood sampling period					
during pregnancy	285 (73.1)	6.11 (5.81 to 6.42)	<b>&lt;.0001</b>	1.51 (1.42 to 1.61)	<b>&lt;.0001</b>
after delivery	105 (26.9)	4.46 (3.96 to 4.97)		1.11 (0.95 to 1.27)	
Blood sampling period (gestational age)					
23-31 weeks during pregnancy	125	6.5 (6.05 to 6.95)	<b>&lt;.0001</b>	1.58 (1.43 to 1.72)	<b>0.0002</b>
32-34 weeks during pregnancy	76	6.64 (6.07 to 7.22)		1.5 (1.31 to 1.68)	
35-41 weeks during pregnancy	84	5.05 (4.5 to 5.59)		1.43 (1.25 to 1.61)	
during one week after delivery	105	4.46 (3.97 to 4.95)		1.11 (0.95 to 1.27)	
Type of delivery					
Vaginal	322 (82.6)	5.83 (5.53 to 6.12)	<b>0.01</b>	1.44 (1.35 to 1.54)	<b>0.043</b>
Cesarean section	68 (17.4)	4.91 (4.26 to 5.55)		1.23 (1.02 to 1.43)	
<b>Infant characteristics</b>					
Sex					
Male	179 (45.9)	5.85 (5.45 to 6.25)	0.229	1.47 (1.34 to 1.59)	0.065
Female	211 (54.1)	5.51 (5.14 to 5.88)		1.35 (1.24 to 1.47)	
Gestational age (days)	276.6±7.8	Spearman's $\rho$ = 0.113	<b>0.024</b>	Spearman's $\rho$ = 0.105	<b>0.036</b>

Statistical analysis is performed using Spearman's correlation test, and Mann-Whitney *U*-test and Kruskal-Wallis test.

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

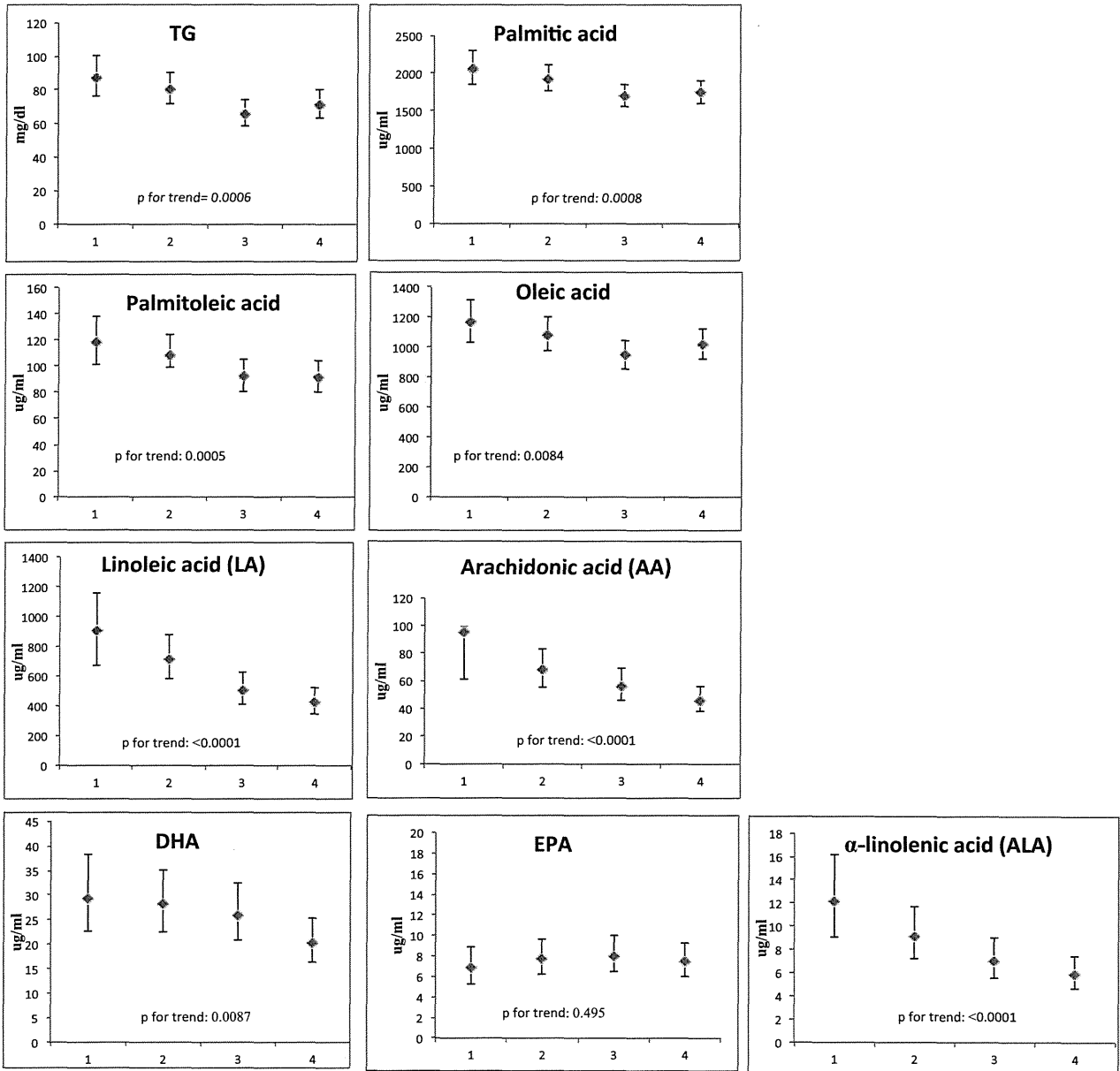
表 2. PFOS・PFOA 曝露による脂肪酸への影響 (n=390)

Dependent variable	PFOS (overall= 390)			PFOA (overall=390)		
	$\beta$ (95% CI)	P-value		$\beta$ (95% CI)	P-value	
TG (mg/dl)						
Crude	-0.246 (-0.333 to -0.145)	<.0001		-0.015 (-0.086 to 0.063)	0.761	
Model 1	-0.234 (-0.326 to -0.128)	<.0001		0.03 (-0.058 to 0.105)	0.579	
Model 2	-0.175 (-0.275 to -0.064)	<b>0.0016</b>		0.073 (-0.025 to 0.136)	0.181	
Palmitic acid (ug/ml)						
Crude	-0.196 (-0.215 to -0.072)	<.0001		0.061 (-0.021 to 0.091)	0.225	
Model 1	-0.181 (-0.209 to -0.057)	<b>0.0006</b>		0.111 (0.001 to 0.125)	<b>0.044</b>	
Model 2	0.176 (-0.211 to -0.047)	<b>0.002</b>		0.13 (0.011 to 0.136)	<b>0.02</b>	
Palmitoleic acid (ug/ml)						
Crude	-0.232 (-0.354 to -0.145)	<.0001		-0.031 (-0.109 to 0.056)	0.529	
Model 1	-0.214 (-0.34 to -0.119)	<.0001		0.024 (-0.070 to 0.111)	0.654	
Model 2	-0.175 (-0.305 to -0.069)	<b>0.0019</b>		0.056 (-0.044 to 0.138)	0.31	
Stearic acid (ug/ml)						
Crude	0.058 (-0.027 to 0.106)	0.246		0.038 (-0.032 to 0.071)	0.453	
Model 1	0.079 (-0.017 to 0.124)	0.138		0.058 (-0.027 to 0.087)	0.3	
Model 2	0.065 (-0.031 to 0.119)	0.256		0.056 (-0.028 to 0.087)	0.313	
Oleic acid (ug/ml)						
Crude	-0.194 (-0.241 to -0.079)	<b>0.0001</b>		0.02 (-0.050 to 0.076)	0.693	
Model 1	-0.172 (-0.228 to -0.057)	<b>0.0011</b>		0.07 (-0.024 to 0.115)	0.205	
Model 2	-0.139 (-0.207 to -0.023)	<b>0.0136</b>		0.099 (-0.006 to 0.134)	0.074	
Linoleic acid (ug/ml)						
Crude	-0.28 (-0.643 to -0.315)	<.0001		0.033 (-0.087 to 0.176)	0.506	
Model 1	-0.282 (-0.658 to -0.310)	<.0001		0.07 (-0.052 to 0.238)	0.209	
Model 2	-0.314 (-0.724 to -0.351)	<.0001		0.08 (-0.04 to 0.255)	0.155	
$\alpha$ -Linolenic acid (ug/ml)						
Crude	-0.259 (-0.705 to -0.322)	<.0001		-0.003 (-0.159 to 0.147)	0.938	
Model 1	-0.258 (-0.714 to -0.308)	<.0001		0.032 (-0.119 to 0.218)	0.564	
Model 2	-0.254 (-0.721 to -0.284)	<.0001		0.055 (-0.08 to 0.255)	0.324	
Arachidonic acid (ug/ml)						
Crude	-0.158 (-0.420 to -0.098)	<b>0.0017</b>		-0.001 (-0.128 to 0.124)	0.997	
Model 1	-0.158 (-0.430 to -0.089)	<b>0.003</b>		0.019 (-0.114 to 0.164)	0.723	
Model 2	-0.22 (-0.542 to -0.178)	<b>0.0001</b>		0.009 (-0.129 to 0.153)	0.862	
EPA (ug/ml)						
Crude	0.049 (-0.088 to 0.257)	0.338		0.005 (-0.126 to 0.142)	0.907	
Model 1 <sup>a</sup>	0.041 (-0.109 to 0.252)	0.435		0.008 (-0.134 to 0.157)	0.872	
Model 2 <sup>a</sup>	0.061 (-0.088 to 0.301)	0.285		0.015 (-0.127 to 0.169)	0.781	
DHA (ug/ml)						
Crude	-0.048 (-0.259 to 0.090)	0.341		0.001 (-0.134 to 0.136)	0.983	
Model 1 <sup>a</sup>	-0.05 (-0.274 to 0.097)	0.35		0.008 (-0.138 to 0.161)	0.878	
Model 2 <sup>a</sup>	-0.118 (-0.404 to -0.009)	<b>0.04</b>		-0.012 (-0.168 to 0.134)	0.827	
Essential fatty acids						
Crude	-0.272 (-1.3 to -0.62)	<.0001		0.016 (-0.228 to 0.317)	0.749	
Model 1	-0.272 (-1.32 to -0.601)	<.0001		0.056 (-0.148 to 0.454)	0.319	
Model 2	-0.282 (-1.38 to -0.609)	<.0001		0.074 (-0.101 to 0.507)	0.19	
Omega 6						
Crude	-0.271 (-0.619 to -0.295)	<.0001		0.032 (-0.088 to 0.171)	0.528	
Model 1	-0.274 (-0.634 to -0.290)	<.0001		0.067 (-0.055 to 0.231)	0.227	
Model 2	-0.306 (-0.702 to -0.331)	<.0001		0.076 (-0.046 to 0.246)	0.179	
Omega 3						
Crude	-0.056 (-0.209 to 0.058)	0.265		-0.008 (-0.112 to 0.095)	0.87	
Model 1 <sup>a</sup>	-0.059 (-0.221 to -0.062)	0.269		-0.006 (-0.121 to 0.108)	0.908	
Model 2 <sup>a</sup>	-0.088 (-0.270 to 0.033)	0.125		-0.007 (-0.124 to 0.107)	0.888	

Model 1: Adjusted for maternal age, smoking and alcohol intake during pregnancy, annual household income, and parity  
Model 2: Adjusted for maternal age, smoking and alcohol intake during pregnancy, annual household income, and parity,  
and blood sampling period

<sup>a</sup>DHA, EPA, and omega 3 values were adjusted for inshore fish and deep sea fish intake too.

図 1. PFOS・PFOA 曝露（四分位）による脂肪酸への影響(n=390)



## 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

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取締役・環境創造研究所副所長

研究分担者 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

研究分担者 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外科学分野教授

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) 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、ヒトは主に経口摂取によって曝露される。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が、ヒトでのデータはまだ少ないことから、微量試料中 BPA の高精度測定法を開発して、胎児期 BPA 曝露による性ホルモン濃度への影響を検討した。男児の BPA 濃度は 0.056 ng/mL (中央値)、女児は 0.048 ng/mL (中央値) であった。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が ( $p=0.042$ )、女児では関連がみられなかった。

### 研究協力者

山本 潤

(いであ株式会社環境創造研究所)

伊藤 佐智子

(北海道大学環境健康科学研究教育センター)

三井 貴彦

(北海道大学病院泌尿器科)

長 和俊

(北海道大学病院産科・周産母子センター)

は 0.05mg/kg 体重/日に設定されている。

BPA 曝露によりエストロゲン受容体が活性化され、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 (Dell Seta et al., 2006; Tan et al., 2003; Markey et al., 2003; Adrinani et al., 2003; Palanza et al., 2002)、ヒトでのデータはまだ少ない。

本研究では、開発した微量試料中 BPA 高精度測定法を用いて臍帯血中の 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。

### B. 研究方法

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に関する情報を入手した。

### A. 研究目的

ビスフェノール A (BPA) は食器や容器、おもちゃなどプラスチック製品となるポリカーボネートや食品缶詰の内面塗装となる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 BPA を原料とする樹脂で製造された容器等からの溶出により、主に経口的に曝露される。

動物実験による急性毒性、慢性毒性、生殖発生毒性、発達毒性、遺伝毒性、発がん性などの試験結果から、現在、欧米諸国およびわが国においては最小毒性量 (LOAEL) 50mg/kg 体重/日、最大無毒性量 (NOAEL) 5mg/kg 体重/日が用いられ、ヒトに対する耐容一日摂取量 (TDI)

臍帯血中の BPA 濃度は、同位体希釈 LC-MS/MS 法（検出下限値 0.048 ng/mL）で測定した。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）濃度は LC-MS/MS 法で、また黄体形成ホルモン（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）濃度は免疫放射定量（IRMA）法で、さらに Inhibin B 濃度は ELISA 法、Insulin-like factor3（INSL3）濃度は EIA 法を用いて（株）あすか製薬メディカルで測定した。

すべての測定において検出下限値（LOD）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（男児 124 名、女児 154 名）を解析対象者とした。INSL3 は、過去の報告から女児では低値であるとされているので、ランダム抽出した 20 名を測定したところ、有意に低値であったので（ $p < 0.0001$ ）、男児のみを測定した。

#### （倫理面への配慮）

本研究は、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・医の倫理委員会の承認を得た。個人名及び個人データの漏洩については、データの管理保管に適切な保管場所を確保するなどの方法により行うとともに、研究者の道義的責任に基づいて個人データをいかなる形でも本研究の研究者以外の外部の者に触れられないように厳重に保管し、取り扱った。

#### C. 研究結果

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。LOD（0.048 ng/mL）以下は、男児で 32 名（25.8%）、女児で 43 名（27.9%）であっ

た。母児の属性による濃度に差はみられなかった（表 1）。

性ホルモン濃度は、T（ $p < 0.001$ ）と Inhibin B（ $p < 0.001$ ）の濃度が男児で女児よりも有意に高かった。性腺刺激ホルモンである LH（ $p < 0.001$ ）および FSH（ $p < 0.001$ ）の濃度も男児で高かったが、検出率がそれぞれ 35.6%、47.2%と低かったことから、高感度測定法による再測定が必要である（表 2）。

胎児期 BPA 曝露による性ホルモン濃度への影響を Spearman's の相関係数（ $\rho$ ）でみると、男児では、臍帯血中 BPA 濃度の上昇により PRL 濃度が低下し（ $\rho = -0.180$ ;  $p = 0.046$ ）、E 濃度は上昇する傾向がみられた（ $\rho = 0.176$ ;  $p = 0.051$ ）。一方、女児では、Inhibin B 濃度が有意に上昇した（ $\rho = 0.175$ ;  $p = 0.030$ ）（表 3）。

さらに、それぞれの濃度を  $\log_{10}$  変換して、母の年齢、喫煙と飲酒量、世帯収入、在胎週数で調整した重回帰分析を行ったところ、男児では、BPA 濃度が上昇すると T 濃度が有意に上昇したが（ $p = 0.042$ ）、女児では、関連がみられなかった（表 4）。

#### D. 考察

疫学研究で男児を対象に BPA 曝露による性ホルモン濃度への影響を検討した先行研究は 1 編しかなく、停留精巣をアウトカムとした症例対照研究のみである。胎児期 BPA 曝露による先天異常への影響は認められなかったが、対照群の健常男児 106 名では、臍帯血中 BPA 濃度が上昇すると、T および Inhibin B の濃度が上昇した（Fenichel et al., 2012）。また、成人男性で検討した先行研究では、24 時間尿中 BPA 濃度が高くなると、血清中 T 濃度が上昇したことから、BPA 曝露によりアロマターゼ活性が低下して、T から E2 への変換が減少することが示唆された（Galloway et al.,

2010)。しかし、逆に T 濃度が減少したという報告もあり、精巣内ライディッヒ細胞が阻害されたことによるホルモン産生の減少が考えられるとしている (Mendiola et al., 2010)。

動物実験でも結果は一致しておらず、妊娠中～生後まで観察した実験では、BPA 曝露による雄仔ラットの T 濃度に変化はないという報告がある一方で (Gamez et al., in press [BPA 濃度 3µg/kg/day]; Nanjappa et al., 2012 [BPA 濃度 2.5, 25µg/kg/bw]; Thuillier et al., 2009 [BPA 濃度 1-200mg/kg/day])、減少したという報告もある (Cardoso et al., 2011 [BPA 濃度 2.5mg/kg/bw/day])。また、雄仔マウスでも、BPA 曝露による T 濃度の上昇 (Kendig et al., 2012 [BPA 濃度 0～300ppm]) と減少 (Xi et al., 2011 [BPA 濃度 12,25,50mg/kg/day]) の相反する報告がされている。さらに、生後の雄ラットに 8 週間、経口曝露 (BPA 濃度 0.0005-5mg/kg/bw) した実験では、T 合成に参与する酵素である StAR、CYP450<sub>scc</sub> の発現が増加し、アロマトラーゼ活性に参与する CYP450<sub>arom</sub> の発現が低下したことにより、精巣 T 濃度が上昇したと報告されており (Qiu et al., 2013)、遺伝的要因の検討も必要である。

ただ、BPA はマウス、ラット、ヒトでは経口曝露後、その大部分が消化管から速やかに吸収されて肝臓で主に BPA-グルクロニド (BPAG) に代謝されるが、生物活性を有するのは、代謝前の非抱合型 (遊離型) BPA のみで、ヒトでは BPAG は肝臓から全身循環されて速やかに尿中に排泄されるのに対し、げっ歯類では胆汁中に排泄されて腸管に存在するグルクロニダーゼにより BPA とグルクロン酸に解離され、遊離型 BPA は再び血液中に吸収されるため、BPA の排泄を遅滞させるとされている。

また、げっ歯類はエストロゲン様活性をもつ遊離型 BPA がヒトに比べて多いため、遊離型 BPA による曝露を長く受けるとされている。さらに、マウスはヒトよりもエストロゲン感受性が高く、弱いエストロゲン様物質にも感応し得るという報告もあり、ヒトとげっ歯類における BPA の体内動態の相違によって感受性が違うことが考えられることから (Tominaga et al., 2006; Witorsch et al., 2002; Snyder et al., 2000)、BPA 曝露によるヒトへの影響を解明するには、ヒトでのデータをさらに蓄積する必要がある。

本研究では、臍帯血中 BPA 濃度が高くなると男児の T 濃度は上昇したが、E2/T 比の減少は有意ではなく、さらに、アロマトラーゼ活性に参与する酵素の遺伝子発現を測定していないため、BPA によりアロマトラーゼ活性が阻害されて T 濃度上昇したのかについては明らかにできなかった。

一方、女児では、胎児期 BPA 曝露により Inhibin B 濃度が上昇する傾向がみられたが、性ホルモン濃度の検出率が低いため (27.3%)、結果の解釈には注意が必要である。

## E. 結論

微量試料中 BPA の高精度測定法を開発して胎児期 BPA 曝露による性ホルモン濃度への影響を検討したところ、男児では、BPA 濃度が上昇すると T 濃度が有意に上昇したが、女児では関連がみられなかった。

今後は性ホルモンが参与する生後の健康影響との関連を検討する。

## 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) Adriani W, Seta DD, Dessi-Fulgheri F, Farabollini F, Laviola G. Altered profiles of spontaneous novelty seeking, impulsive behavior, and response to D-amphetamine in rats perinatally exposed to bisphenol A. *Environ Health Perspect.* 2003;111:395-401.
- 2) Cardoso N, Pandolfi M, Lavalle J, Carbone S, Ponzio O, Scacchi P et al. Probable gamma-aminobutyric acid and involvement in bisphenol A effect at the hypothalamic level in adult male rats. *J Physiol Biochem.* 2011;67(4):559-567.
- 3) Dell Seta D, Minder I, Belloni V, Aloisi AM, Dessi-Fulgheri F, Farabollini F. Pubertal exposure to estrogenic chemicals affects behavior in juvenile and adult male rats. *Horn Behav.* 2006;50:301-307.
- 4) Dell Seta D, Minder I, Belloni V, Aloisi AM, Dessi-Fulgheri F, Farabollini F. Pubertal exposure to estrogenic chemicals affects behavior in juvenile and adult male rats. *Horn Behav.* 2006;50:301-307.
- 5) Dell Seta D, Minder I, Belloni V, Aloisi AM, Dessi-Fulgheri F, Farabollini F. Pubertal exposure to estrogenic chemicals affects behavior in juvenile and adult male rats. *Horn Behav.* 2006;50:301-307.
- 6) Galloway T, Cipelli R, Guralnik J, Ferrucci L, Bandinelli S, Corsi AM et al. Daily bisphenol A excretion and associations with sex hormone concentrations: results from the InCHIANTI adult population study. *Environ Health Perspect.* 2010;118(11):1603-1608.
- 7) Gamez JM, Penalba R, Cardoso N, Ponzio O, Carbone S, Pandolfi M et al. Low dose of bisphenol A impairs the reproductive axis of prepubertal male rats. *J Physiol Biochem.* In press.
- 8) Kendig EL, Buesing DR, Christie SM, Cookman CJ, Gear RB, Hugo ER et al. *Int J Toxicol.* 2012;31(6):537-550.
- 9) Markey CM, Coombs MA, Sonnenschein C, Sato AM. Mammalian development in a changing environment: exposure to endocrine disruptors reveals the developmental plasticity of steroid-hormone target organs. *Evol Dev.* 2003;5:67-75.
- 10) Mendiola J, Jorgensen N, Andersson AM, Calafat AM, Ye X, Redmon JB et al. Are environmental levels of bisphenol a associated with reproductive function in fertile men? *Environ Health Perspect.* 2010;118(9):1286-1291.
- 11) Nanjappa MK, Simon L, Akingbemi BT. The industrial chemical bisphenol A (BPA) interferes with proliferative activity and development of

- steroidogenic capacity in rat Leydig cells. *Biol Reprod.* 2012;86(5):135, 1-12.
- 12) Palanza PL, Howdeshell KL, Parmigiani S, vom Saal FS. Exposure to a low dose of bisphenol A during fetal life or in adulthood alters maternal behavior in mice. *Environ Health Perspect.* 2002;110 Suppl3:415-422.
- 13) Qiu LL, Wang X, Zhang XH, Zhang Z, Gu J, Liu L et al. Decreased androgen receptor expression may contribute to spermatogenesis failure in rats exposed to low concentration of bisphenol A. *Toxicol Lett.* 2013;219(2):116-124.
- 14) Snyder RW, Maness SC, Gaido KW, Wellsch F, Summer SC, Fennell TR. Metabolism and disposition of bisphenol A in female rats. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2000;168:225-234.
- 15) Tan BL, Kassim NM, Mohd MA. Assessment of pubertal development in juvenile male rats after sub-acute exposure to bisphenol A and nonylphenol. *Toxicol Lett.* 2003;143:261-270.
- 16) Tominaga T, Negishi T, Hirooka H, Miyachi A, Inoue A, Hayasaka I et al. Toxicokinetics of bisphenol A in rats, monkeys and chimpanzees by the LC-MS/MS method. *Toxicology.* 2006;226:208-217.
- 17) Witorsch RJ. Low-dose in utero effects of xenoestrogens in mice and their relevance to humans: an analytical review of the literature. *Food Chem. Toxicol.* 2002;40:905-912.
- 18) Xi W, Lee CK, Yeung WS, Giesy JP, Wong MH, Zhang X et al. Effect of perinatal and postnatal bisphenol A exposure to the regulatory circuits at the hypothalamus-pituitary-gonadal axis of CD-1 mice. *Reprod Toxicol.* 2011;31(4):409-417.



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. 臍帯血中BPA濃度と母児属性との関連 (n=278)

		n (%)	Mean (SD)	BPA (ng/mL)		p-value
				GM	Med (25th-75th)	
<b>母属性</b>						
年齢 (歳)			30.4 (5.0)		Spearman's $\rho = -0.076$	0.207
出産前BMI (kg/m <sup>2</sup> )			20.9 (3.0)		Spearman's $\rho = -0.015$	0.803
妊娠中喫煙歴	非喫煙者	223 (80.2)		0.048	0.052 (<LOD-0.076)	0.827 <sup>b</sup>
	喫煙者	55 (19.8)		0.049	0.051 (0.029-0.072)	
妊娠中飲酒歴	非飲酒者	181 (65.1)		0.049	0.052 (<LOD-0.075)	0.924 <sup>b</sup>
	飲酒者	97 (34.9)		0.048	0.050 (<LOD-0.077)	
飲酒者飲酒量 (g/day)			1.52 (0.36-152.0) <sup>a</sup>		Spearman's $\rho = -0.007$	0.948
世帯収入 (百万円)	<5	199 (71.6)		0.049	0.055 (<LOD-0.076)	0.328 <sup>b</sup>
	≥5	79 (28.4)		0.046	0.048 (<LOD-0.075)	
<b>児属性</b>						
性別	男児	124 (44.6)		0.049	0.056 (<LOD-0.075)	0.532 <sup>b</sup>
	女児	154 (55.4)		0.048	0.048 (<LOD-0.076)	
在胎週数 (週)			39.3 (1.1)		Spearman's $\rho = -0.042$	0.486
出生時体重 (g)			3129 (333)		Spearman's $\rho = 0.031$	0.605

<sup>a</sup> Median (min-max)

<sup>b</sup> Mann-Whitney test

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 2. 臍帯血中性ホルモン濃度分布 (n=278)

	男児 (n=124)					女児 (n=154)					p-value <sup>a</sup>
	n	GM	Med	(25th-75th)	>LOD (%)	n	GM	Med	(25th-75th)	>LOD (%)	
E2 (ng/mL)	124	5.38	4.90	(3.41-7.60)	100	154	4.68	4.66	(3.11-6.52)	100	0.128
T (pg/mL)	124	98.2	98.3	(77.7-122.5)	100	154	71.0	69.0	(51.8-94.9)	100	<0.001
P4 (ng/mL)	124	213.9	228.8	(185.6-298.7)	100	154	178.8	209.0	(165.1-276.1)	100	0.086
LH (mIU/mL)	123	0.43	<LOD	(<LOD-0.85)	36.6	150	<LOD	<LOD	(<LOD-<LOD)	0.7	<0.001
FSH (mIU/mL)	123	0.41	<LOD	(<LOD-0.67)	47.2	149	<LOD	<LOD	(<LOD-<LOD)	0.0	<0.001
SHBG (nmol/mL)	124	16.5	16.6	(13.9-19.3)	100	154	15.7	15.5	(12.8-18.4)	99.4	0.060
PRL (ng/mL)	123	86.2	85.8	(65.1-117.0)	100	152	82.6	86.0	(60.9-118.5)	99.3	0.773
Inhibin B (pg/mL)	124	43.6	44.4	(35.0-58.5)	99.2	154	8.40	<LOD	(<LOD-12.7)	27.3	<0.001
INSL3 (ng/mL)	123	0.29	0.29	(0.25-0.34)	100			n.d.			
E2/T	124	0.05	0.05	(0.04-0.07)	n.d.	154	0.07	0.06	(0.05-0.08)	n.d.	0.003

<sup>a</sup> Mann-Whitney test

n.d.: not determined

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. 臍帯血中 BPA 濃度と性ホルモン濃度との相関 (n=278)

	男児 (n=124)		女児 (n=154)	
	$\rho$	p-value <sup>a</sup>	$\rho$	p-value <sup>a</sup>
E2 (ng/mL)	0.176	0.051	0.114	0.158
T (pg/mL)	0.112	0.214	0.059	0.468
P4 (ng/mL)	0.139	0.124	0.152	0.061
LH (mIU/mL)	0.011	0.903	n.d.	
FSH (mIU/mL)	0.047	0.603	n.d.	
SHBG (nmol/mL)	0.062	0.492	0.061	0.450
PRL (ng/mL)	-0.180	0.046	0.124	0.129
Inhibin B (pg/mL)	0.006	0.949	0.175	0.030
INSL3 (ng/mL)	0.036	0.689	n.d.	
E2/T	0.097	0.282	0.094	0.244

<sup>a</sup> Spearman's correlation

n.d.: not determined

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. 臍帯血中 BPA 濃度と性ホルモン濃度との関連 (n=278)

	男児 (n=124)				女児 (n=154)			
	$\beta$	95%CI	p-value <sup>a</sup>	$\beta$	95%CI	p-value <sup>a</sup>		
E2 (ng/mL)	0.185	-0.021 0.392	0.078	0.071	-0.080 0.223	0.354		
T (pg/mL)	0.201	0.007 0.395	0.042	0.051	-0.141 0.243	0.598		
P4 (ng/mL)	0.176	-0.011 0.363	0.065	0.144	-0.084 0.373	0.214		
LH (mIU/mL)	0.054	-0.205 0.313	0.681		n.d.			
FSH (mIU/mL)	0.031	-0.155 0.218	0.741		n.d.			
SHBG (nmol/mL)	0.024	-0.053 0.101	0.541	0.059	-0.074 0.192	0.380		
PRL (ng/mL)	-0.106	-0.251 0.040	0.153	0.104	-0.059 0.266	0.210		
Inhibin B (pg/mL)	0.077	-0.068 0.222	0.294	0.191	-0.009 0.392	0.061		
INSL3 (ng/mL)	0.054	-0.045 0.154	0.283		n.d.			
E2/T	-0.016	-0.181 0.149	0.850	0.020	-0.141 0.181	0.807		

<sup>a</sup>重回帰分析: Log10変換後, 母年齢, 喫煙歴, 飲酒量, 世帯収入, 在胎週数で調整

n.d.: not determined

## 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

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 水上 尚典 北海道大学大学院医学研究科生殖・発達医学講座産科・生殖医学分野 教授  
研究分担者 遠藤 俊明 札幌医科大学医学部産科周産期科・生殖内分泌科 准教授  
研究分担者 千石 一雄 旭川医科大学医学部産婦人科学講座 教授  
研究分担者 吉岡 英治 旭川医科大学医学部健康科学講座 准教授

### 研究要旨

妊娠中の受動喫煙曝露は児の出生時体格に負の影響を及ぼした、あるいは及ぼさなかったなど、まだ一致した見解が得られていない。一致しない結果の一つに遺伝的感受性素因が示唆される。近年、遺伝的感受性素因による健康影響の個体差が注目され、妊婦の喫煙については、遺伝要因との交互作用が出生時体格に及ぼす影響についても報告されており、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、受動喫煙と遺伝-環境交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を検討した。2003～2007年に登録した母児 10,731 名から 1,633 名を抽出し、高感度酵素結合免疫吸着法（ELISA 法）で妊娠後期の母体血漿コチニン濃度を測定し、リアルタイム-PCR 法あるいはマルチプレックス PCR 法で遺伝子解析を行った。1,633 名について、従属変数を出生時体格、独立変数を妊婦の受動喫煙状況と遺伝子多型とし、共変量で調整後、重回帰分析を行った結果、妊婦の受動喫煙は児の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、シトクロム P450 (CYP) 1A2、CYP1B1 および DNA 修復遺伝子の 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。今後、PAHs の他に受動喫煙の副流煙に多く含まれる N-ニトロソアミン類やカルボニル化合物類の代謝や解毒に関わる酵素の遺伝子多型についても検討していく必要がある。

### 研究協力者

伊藤 久美子、岡田 恵美子、小林 澄貴  
（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（北海道大学病院周産母子センター）  
山田 俊（北海道社会保険中央病院  
周産期医療センター）  
馬場 剛  
（札幌医科大学医学部産婦人科学講座）  
宮本 敏伸  
（旭川医科大学医学部産婦人科学講座）

### A. 研究目的

たばこ煙の中には約 4,000 種類の化学物質が含まれ（Brunnemann and Hoffman, 1991）、このうち 60 種類は発がん物質であり、多環芳香族炭化水素（PAHs）やニトロソアミン類などが含まれている（US Department of Health and Human Service, 1998）。たばこ煙は主流煙と、たばこの先端から立ち上がる副流煙に分けられ、含まれる化学物質は変わらないものの、PAHs やニトロソアミン類など主流煙より

も副流煙に多く含まれる化学物質がある（US Department of Health and Human Service, 1998; Adams et al., 1987; Borgerding and Klus, 2005）。

受動喫煙による健康影響として、成人では、非喫煙男性の配偶者と比較して、受動喫煙の配偶者の肺腺がんの発症リスクは2.03倍高いことが報告されている（Kurahashi et al., 2008）。胎児期の受動喫煙曝露では、非喫煙妊婦と比較して、受動喫煙妊婦の早産のリスクは1.56倍（Fantuzzi et al., 2007）、自然流産のリスクは1.67倍高いと報告されている（George et al., 2006）。疫学研究においては、さらに神経管欠損（Suarez et al., 2011）、口蓋裂（Li et al., 2010）、低出生時体重（Windham et al., 2000）、喘鳴（Xepapadaki et al., 2009）、中耳炎のリスク（Jacoby et al., 2008）が認められている。これらのように妊婦の受動喫煙は出生時だけでなく生後でも健康影響に及ぼすことが示唆されるため、健康影響の追跡研究が必要である。

近年、遺伝的感受性素因による健康影響の個体差が注目され、妊婦の喫煙については、遺伝要因との相互作用が出生時体格に及ぼす影響についても報告されており、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（Wang et al., 2002; Sasaki et al., 2006; Danileviciute et al., 2012）。代謝のメカニズムとしては、細胞内に入ったPAHsは、まず芳香族炭化水素受容体（AHR）に結合して核内へと移行し、PAHsとAHRとの複合体が異物代謝酵素のチトクロムP450（CYP）1A1、CYP1A2、およびCYP1B1遺伝子に結合することで遺伝子の発現を誘導し、酵素が産生される。その後、PAHs

はCYP1A1、CYP1A2、CYP1B1によってこれらの酵素が産生される。その後、PAHsはこれらによって代謝中間物質である7 $\beta$ ,8 $\alpha$ -ジヒドロキシ-9 $\alpha$ ,10 $\alpha$ -エポキシ-7,8,9,10-テトラヒドロ-ベンゾ(a)ピレン（BPDE）になる（Nebert and Dalton, 2006）。このPAHsは主流煙よりも副流煙に多く含まれるが、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。

また、化学物質による健康影響の性差も注目されていて、妊婦の化学物質曝露については、児の発育や神経発達に及ぼす影響とその性差が報告されている（Konishi et al., 2009; Washino et al., 2009; Jedrychowski et al., 2009; Miyashita et al., 2011）。しかし、妊婦の受動喫煙が児の出生時体格に及ぼす影響の性差についてはまだ報告されていない。

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、まず最初に性差を検討し、その上で遺伝-環境相互作用を検討した。

## B. 研究方法

北海道内37産科病院を受診した妊婦とその児を対象に前向きコーホート研究を実施した。2003年～2007年に参加登録した母児10,731名のうち、出生時体重、出生時身長、出生時頭囲の全ての情報、母体血漿コチニン値、ゲノムDNAがあるもの6,335名から、喫煙者、双胎、妊娠高血圧症候群、妊娠性糖尿病、およびデータ欠損ありの者を除外し5,118名となった。さらに、ここからランダム抽出し1,633名を最終解析対象者とした（図1）。

妊娠初期の研究参加登録時に妊婦はベ-

スライン調査票に回答した。この自記式調査票から妊婦と配偶者について、既往歴、教育歴、世帯収入、喫煙歴、飲酒歴などの基本情報を収集した。在胎週数、児の性別、出生時体重、形態異常、流産・死産、多胎、妊娠高血圧症候群、妊娠糖尿病などの妊娠経過および出産記録を分娩時に病院から回収した。出生時体格については、生後4か月児に自記式調査票に母子健康手帳からの転記を依頼した。

妊娠後期の母体血漿中のコチニン濃度は高感度酵素結合免疫吸着法（ELISA法）で測定され、コスミック・コーポレーション（東京）で実施された。検出限界は0.12ng/mLで、この限界以下の検体は半値の0.06ng/mLを代入した。ROC曲線解析を用いて、非喫煙妊婦から喫煙妊婦に分ける最適なカットオフ値を決定した（11.48ng/mL; 特異度 97%; 感度 81%;  $\kappa = 0.79$ ）。さらに、非喫煙妊婦から受動喫煙妊婦に分けるカットオフ値を決定した（0.21ng/mL; 特異度 63%; 感度 68%;  $\kappa = 0.31$ ）（Sasaki et al., 2011）（図2）。

ゲノムDNAは出産時の母体血から抽出した。そして、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法で行った。

受動喫煙状況による妊婦と児の属性およ

び遺伝子多型頻度との関連はKruskal-Wallis検定および $\chi^2$ 検定を用いた。また、妊婦の受動喫煙と児の出生時体格との関連および妊婦の受動喫煙と遺伝子多型による出生時体格との関連は、妊娠年齢、妊娠前BMI、妊娠中飲酒、教育歴、出産歴、児の性別および在胎週数で調整後、重回帰分析で検討した。統計学的有意水準は $P < 0.05$ とした。ただし、多重比較の場合は、 $\alpha$ エラー（第一種の過誤）の確率を高めてしまう問題があるため、解析ごとの $\alpha$ 値は小さくして全体の $\alpha$ が0.05になるように調整する必要がある、この方法の一つとしてBonferroniの補正がある（Hulley et al., 2001）。この補正は検定回数をNとすると全体の $\alpha$ （=0.05）をNで割ったもの（ $\alpha/N$ ）を、各解析の有意水準とする方法である（Hulley et al., 2001）。妊婦の受動喫煙と1遺伝子多型の場合（4回の検定あり）は $P < 0.0125$ （=0.05/4）、妊婦の受動喫煙と2遺伝子多型との組合せの場合（8回の検定あり）は $P < 0.00625$ （=0.05/8）、妊婦の受動喫煙と3遺伝子多型との組合せの場合（16回の検定あり）は $P < 0.003125$ （=0.05/16）で有意差を認めるとした。統計解析にはSPSS ver.15およびJMP ver.10を用いた。

（倫理面への配慮）

本研究は、北海道大学大学院医学研究科・医の倫理委員会の倫理規定に従って実施し、インフォームド・コンセントはヘルシンキ宣言に基づいて行った。本研究によって得られた個人名及び個人データの漏洩が一切生じないよう、研究者によりデータ保管を厳重に行った。採血の方法は日常の一般診療で行われている血液生化学検査の際の採血と全く同様であり、格段の危険性

は伴わなかった。

### C. 研究結果

母の属性では、非喫煙妊婦と比較して、受動喫煙妊婦は年齢が若く ( $P < 0.001$ )、妊娠時飲酒が少なく ( $P = 0.042$ )、低学歴の割合が高く ( $P = 0.003$ )、低所得の割合が高かった ( $P = 0.002$ )。しかし、妊婦の身長、妊娠前体重、BMI および出産歴では有意な差はなかった (表 1)。

また児の属性では、非喫煙妊婦の児と比較して、受動喫煙妊婦の児は在胎週数が長かった ( $P < 0.001$ )。しかし、児の性別、出生時体重、出生時身長、出生時頭囲、低出生時体重児、および Small-for-gestational-age (SGA) では有意な差はなかった (表 2)。

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 (図 3)。

妊婦の遺伝子多型による出生時体格では、*CYP1A2* (A>C) 遺伝子多型の頻度で非喫煙妊婦と受動喫煙妊婦との間に有意差が認められた ( $P = 0.023$ )。しかし、*AHR* (G>A)、*CYP1B1* (C>G)、*GSTM1* (Present/Absent)、*GSTT1* (Present/Absent)、*XRCC1* (C>T) および *XRCC1* (G>A) 遺伝子多型は有意差が認められなかった (表 3)。

妊婦の遺伝子多型による出生時体格では、妊婦の遺伝子多型による出生時体格に有意な差はなかった (表 4)。

妊婦の受動喫煙と遺伝子多型による出生時体格とその性差では、非喫煙で *CYP1A2* (A>C) 遺伝子多型の AA 型をもつ妊婦の児と比較して、受動喫煙で AC/CC 型をもつ妊婦の児の出生時頭囲は 0.28cm 減少した (95%CI; -0.49, -0.08)。次に、非喫煙で *CYP1B1* (C>G) 遺伝子多型の CC 型をもつ妊婦の児と比較して、受動喫煙で CG/GG 型をもつ妊婦の児の出生時頭囲は 0.29cm 減少した (95%CI; -0.51, -0.08)。さらに、非喫煙で *XRCC1* (C>T) 遺伝子多型の CC 型をもつ妊婦の児と比較して、受動喫煙で CT/TT 型をもつ妊婦の児の出生時身長は 0.44cm 減少した (95%CI; -0.72, -0.17)。いずれの遺伝子多型についても、遺伝-環境交互作用は有意な差が認められなかった (表 5)。

次に児の性別で層別すると、男児は、非喫煙で *CYP1B1* (C>G) 遺伝子多型の CC 型をもつ妊婦の児と比較して、受動喫煙で CG/GG 型をもつ妊婦の児の出生時身長は 0.59 cm 減少 (95%CI; -0.99, -0.19)、出生時頭囲は 0.50 cm 減少した (95%CI; -0.85, -0.15)。また、非喫煙で *XRCC1* (C>T) 遺伝子多型の CC 型を持つ妊婦の児と比較して、受動喫煙で CT/TT 型をもつ妊婦の児の出生時身長は 0.66 cm 減少し (95%CI; -1.03, -0.28)、さらに遺伝-環境交互作用が認められた ( $P = 0.009$ )。しかし、これらの遺伝子多型は女児では有意な差がなく、男児のみへの影響であることが示された (表 6)。

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 減少したが（95%CI; -0.70, -0.12）、他の組合せでは関連がなく、性差も関連が認められなかった（表 7）。

最後に *CYP1A2*（A>C）、*CYP1B1*（C>G）、および *XRCC1*（C>T）の 3 つの遺伝子多型を組合せても児の出生時体格との関連は有意な差が認められなかった（表なし）。

#### D. 考察

本研究は、受動喫煙と *CYP1A2*、*CYP1B1* および *XRCC1* 遺伝子多型が出生時体格に影響を及ぼす、一部性差も認められた初めての報告である。

非喫煙妊婦の児と比較して、受動喫煙妊婦の児は出生時体格の減少を認めた。特に男児で出生時体格の減少が大きいことを認めた。本研究の結果から、受動喫煙の少ない化学物質の曝露量が出生時体格に影響を及ぼしている可能性が考えられる。妊婦の化学物質曝露が児の発育に及ぼす影響の性差で、ダイオキシン類、粒子状物質の PM2.5 および鉛は男児のみ出生時体格の減少を認めた（Konishi et al., 2009; Kishi et al., 2011; Bellinger et al., 1987; Jedrychowski et al., 2010）。この結果だけで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。

*CYP1A2*（A>C, *CYP1A2*\*1F）遺伝子多型では、非喫煙で AA 型の妊婦の児と比較して、受動喫煙で AC/CC 型の妊婦の児の出生時頭囲の減少を認めた。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の減少を認めた。*CYP1A2* 遺伝子多型の AC/CC 型および *CYP1B1* 遺伝子多型の CG/GG 型では酵素の代謝活性が高いことが報告されていることから（Wang et al., 2013; Schoket et al., 2001）、*CYP1A2* 遺伝子多型の AA 型と比較して AC/CC 型の妊婦、*CYP1B1* 遺伝子多型の CC 型と比較して CG/GG 型の妊婦は受動喫煙によってたばこ煙を体外から取り込むことで、BPDE がより生成されて、DNA 付加体が形成されやすいことにより、さらに胎盤組織の DNA が損傷し、児の出生時体格に影響を及ぼしたと考えられる。

*XRCC1*（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減少を認めた。*XRCC1* 遺伝子多型の CC 型の妊婦と比較して、CT/TT 型の妊婦は DNA 修復能が低いために、BPDE-DNA 付加体がより多くなると考えられる。また、受動喫煙妊婦の胎盤には PAH-DNA 付加体が存在し（Zalacain et al., 2006; Sanyal et al., 2007）、ヒトの細胞実験で PAHs はヒトの細胞死を高めたとの報告から（Rorke et al., 1998）、CT/TT 型の妊婦は胎盤組織内で BPDE による DNA 損傷が多いことで胎盤機能の低下が起こり、出生時体格により強い影響が認められたと考えられる。

*AHR*（G>A, Arg554Lys）、*GSTM1*（Present/deletion）、*GSTT1*（Present/deletion）および *XRCC1*（G>A, Arg399Gln）遺伝子多型は非喫煙妊婦の児と比較して、受動喫煙妊婦の児は出生時体格に有意な差を認めなかった。妊婦の喫煙は児の出生時体重を 135g 減少させたものの（Sasaki et al., 2006）、妊婦の受動喫煙は児の出生時体

重を 35g 減少させ、出生時体重の減少量が 75% 小さかった。また、特定の遺伝子型の妊婦は少なかった。これらのことが影響して出生時体格に有意な差が認められなかったと考えられる。

妊婦の受動喫煙曝露状況は妊娠後期のコチニン濃度に基づいて判定したため、ある一時点のみの評価である。コチニンの半減期は 17.9 時間であり (Dempsey et al., 2013)、長い妊娠期間の受動喫煙曝露状況が正確に反映されていないと考えられる。しかし、先行研究では同時期に得られた質問票とコチニン濃度との正の相関が報告されている (Pichini et al., 2000)。また、同時期の自記式調査票による受動喫煙曝露状況と同じ時期に時間が異なった数回のコチニン濃度との両方が受動喫煙曝露評価分類の正確性を高められると報告されていることから、本研究においても受動喫煙状況を十分把握できていると考える。

低体重で産まれた児は小児期の肥満、成人期の生活習慣病との関連が示唆されており、生後の身体発育に及ぼす影響も追跡していく必要がある。わが国における妊婦の受動喫煙率は 53.0% と報告されていて (Yila et al., 2012)、妊婦だけでなく、配偶者や職場の同僚に禁煙教育をし、受動喫煙防止を周知していくことが重要である。

## E. 結論

妊婦の受動喫煙は児の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。副流煙に多く含まれる PAHs に注目し、その代謝に関連する遺伝子多型について検討したが、他に副流

煙に多く含まれる N-ニトロソアミン類やカルボニル化合物類の代謝や解毒に関わる酵素の遺伝子多型についても検討していく必要がある。また、低体重で産まれた児は小児期の肥満、成人期の生活習慣病との関連が示唆されており、生後の身体発育に及ぼす影響も追跡していく必要がある。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Kobayashi SU., Sasaki S., Sata F., Miyashita C., Yila T. A., Braimoh T. S., Itoh K., Kobayashi SA., Ikeno T., Araki A., Tamakoshi A., Kishi R. Adverse effects on birth sizes among male infants associated with maternal passive smoking during pregnancy and polycyclic aromatic hydrocarbon metabolizing-enzyme polymorphisms in Japanese pregnant women. *Molecular Human Reproduction* (Submitted).

### 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) Adams J.D., et al. Toxic and carcinogenic agents in undiluted mainstream smoke and sidestream smoke of different types of cigarettes. *Carcinogenesis* 8: 729-731 (1987).
- 2) Bellinger D., et al. Longitudinal analyses of prenatal and postnatal lead exposure and early cognitive

- development. *N Engl J Med* 316: 1037-1043 (1987).
- 3) Borgerding M., Klus H. Analysis of complex mixture—cigarette smoke. *Exp Toxicol Pathol* 57: 43-73 (2005).
  - 4) Brunnemann K.D., Hoffmann D. Analytical studies on tobacco-specific N-nitrosamines in tobacco and tobacco smoke. *Crit Rev Toxicol* 21: 235-240 (1991).
  - 5) Danileviciute A., et al. Low level maternal smoking and infant birthweight reduction: genetic contributions of GSTT1 and GSTM1 polymorphisms. *BMC Pregnancy Childbirth* 12: 161 (2012).
  - 6) Dempsey D.A., et al. CYP2A6 genotype but not age determines cotinine half-life in infants and children. *Clin Pharmacol Ther* 94: 400-406 (2013).
  - 7) Fantuzzi G., et al. Preterm delivery and exposure to active and passive smoking during pregnancy: a case-control study from Italy. *Paediatr Perinat Epidemiol* 21: 194-200 (2007).
  - 8) George L., et al. Environmental tobacco smoke and risk of spontaneous abortion. *Epidemiology* 17: 500-505 (2006).
  - 9) Hully S.B., et al. Designing clinical research: an epidemiological approach, second edition. Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, USA (2001).
  - 10) Jacoby P.A., et al. The effect of passive smoking on the risk of otitis media in Aboriginal and non-Aboriginal children in the Kalgoorlie-Boulder region of Western Australia. *Med J Aust* 188: 599-603.
  - 11) Jedrychowski W., et al. Gender specific differences in neurodevelopmental effects of prenatal exposure to very low-lead levels: the prospective cohort study in three-year olds. *Early Hum Dev* 85: 503-510 (2009).
  - 12) Jedrychowski W., et al. Gender differences in fetal growth of newborns exposed prenatally to airborne fine particle matter. *Environ Res* 109: 447-456 (2010).
  - 13) Kishi R., et al. Cohort profile: The Hokkaido Study on Environment and Children's Health in Japan. *Int J Epidemiol* 40: 611-618 (2011).
  - 14) Konishi K., et al. Prenatal exposure to PCDDs/PCDFs and dioxin-like PCBs in relation to birth weight. *Environ Res* 109: 906-913 (2009)
  - 15) Kurahashi N., et al. Passive smoking and lung cancer in Japanese non-smoking women: a prospective study. *Int J Cancer* 122: 653-657 (2008).
  - 16) Li Z., et al. Maternal passive smoking and risk of cleft lip with or without cleft palate. *Epidemiology* 21: 240-242 (2010).

- 17) Miyashita C., et al. Effects of prenatal exposure to dioxin-like compounds on allergies and infections during infancy. *Environ Res* 111: 551-558 (2011).
- 18) Nebert D.W., Dalton D.P. The role of cytochrome P450 enzymes in endogenous signaling pathways and environmental carcinogenesis. *Nat Rev Cancer* 6: 947-960 (2006).
- 19) Pichini S., et al. Cord serum cotinine as a biomarker of fetal exposure to cigarette smoke at the end of pregnancy. *Environ Health Perspect* 108: 1079-1083 (2000).
- 20) Rorke E.A., et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons enhance terminal cell death of human ectocervical cells. *Int J Oncol* 13: 557-563 (1998).
- 21) Sanyal M.K., et al. DNA adducts in human placenta exposed to ambient environment and passive cigarette smoke during pregnancy. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 79: 289-294 (2007)
- 22) Sasaki S., et al. Maternal smoking during pregnancy and genetic polymorphisms in the Ah receptor, CYP1A1 and GSTM1 affect infant birth size in Japanese subjects. *Mol Hum Reprod* 12: 77-83 (2006).
- 23) Sasaki S., et al. Self-reported tobacco smoke exposure and plasma cotinine levels during pregnancy — A validation study in Northern Japan. *Sci Total Environ* 412-413: 114-118.
- 24) Schoket B., et al. Impact of metabolic genotypes on levels of biomarkers of genotoxic exposure. *Mutat Res* 482: 57-69.
- 25) Suarez L., et al. Maternal smoking, passive tobacco smoke, and neural tube defect. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 91: 29-33 (2011).
- 26) US Department of Health and Human Service. *Cigar* (1998).
- 27) Wang L., et al. Association between common CYP1A2 polymorphisms and theophylline metabolism in non-smoking healthy volunteers. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 112: 257-263 (2013).
- 28) Wang X., et al. Maternal cigarette smoking, metabolic gene polymorphism, and infant birth weight. *JAMA* 287: 195-202 (2002).
- 29) Washino N., et al. Correlation between prenatal exposure to perfluorinated chemicals and reduced fetal growth. *Environ Health Perspect* 117: 660-667 (2009).
- 30) Windham G.C., et al. Prenatal active or passive tobacco smoke exposure and the risk of preterm delivery or low birth weight. *Epidemiology* 11: 427-433 (2000).
- 31) Xepapadaki P., et al. Association of passive exposure of pregnant women to environmental tobacco smoke with