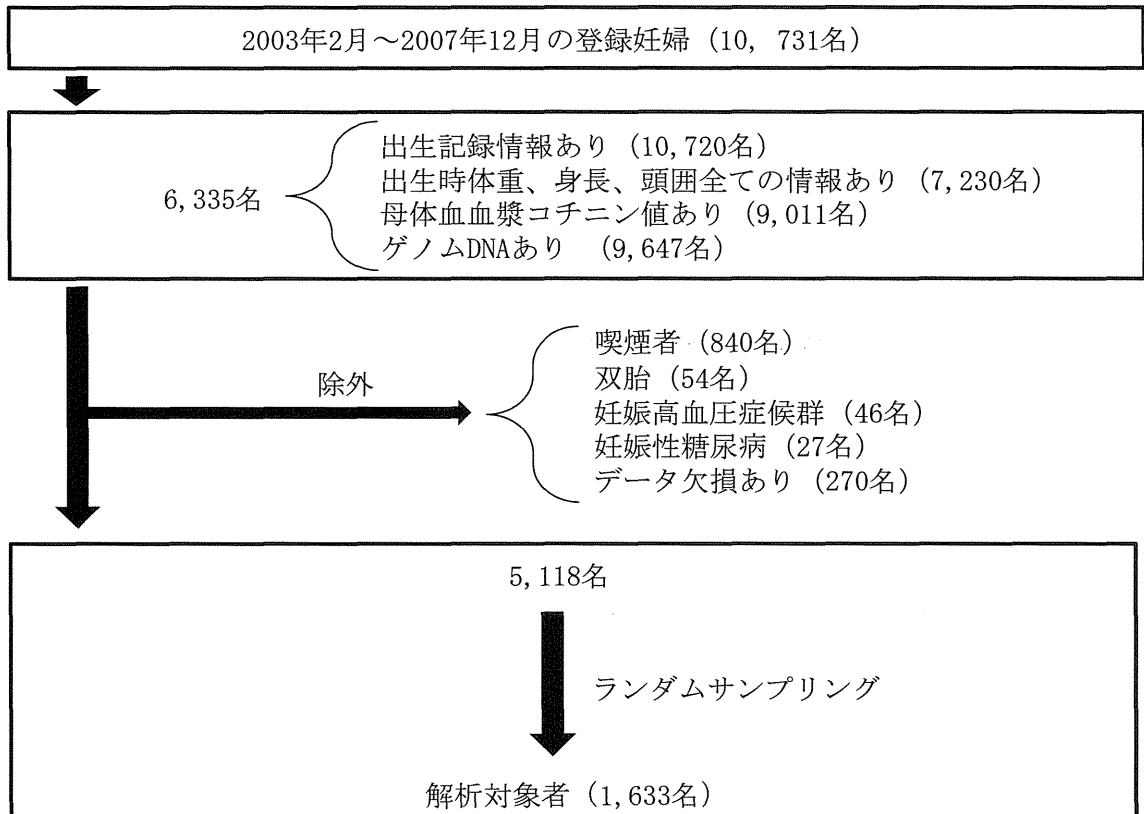


asthma symptoms in children.
Pediatr Allergy Immunol 20: 423-429
(2009).

32) Yila T.A., et al. Effects of maternal
5,10-methylenetetrahydrofolate
reductase C677T and A1298C
polymorphisms and tobacco smoking
on infant birth weight in a Japanese
population. *J Epidemiol* 22: 91-102
(2012).

33) Zalacain M., et al. Effects of
benzopyrene-7,8-diol-9,10-epoxide
(BPDE) in vitro and of maternal
smoking in vivo on micronuclei
frequencies in fetal cord blood.
Pediatr Res 60: 180-184 (2006).

図 1. 解析対象者の選出方法



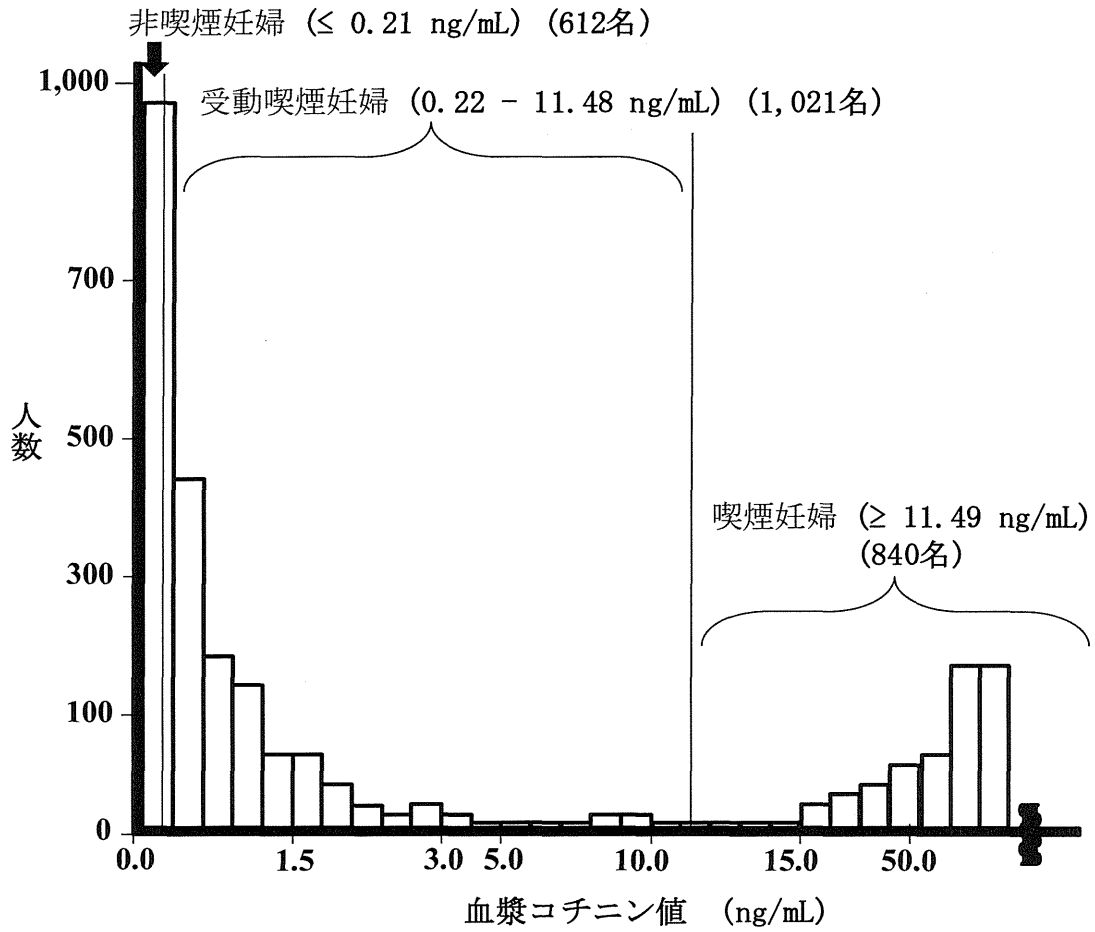


図 2. 母体血血漿コチニン値の分布図

非喫煙妊婦と受動喫煙妊婦のカットオフ値は 0.21 ng/mL.

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. 妊娠中の受動喫煙状況による妊婦の属性

属性	妊婦の受動喫煙状況		P
	非喫煙 ≤0.21 ng/mL ^a (N = 612)	受動喫煙 0.22-11.48 ng/mL ^a (N = 1,021)	
年齢(年)	31.5 (4.1)	30.0 (4.4)	<0.001
身長(cm)	158.1 (5.1)	158.2 (5.1)	0.588
妊娠前体重(kg)	53 (9)	53 (8)	0.748
妊娠前 BMI(kg/m ²)	21.2 (3.4)	21.0 (3.0)	0.643
妊娠中飲酒者	257 (42.0)	378 (37.0)	0.042
出産歴			
0	255 (41.7)	496 (48.5)	0.075
1	251 (41.0)	380 (37.2)	
2≤	106 (17.3)	145 (14.3)	
教育歴(年)			
≤9	4 (0.7)	29 (2.8)	0.003
10-12	239 (39.1)	437 (42.8)	
13-16	277 (45.3)	442 (43.2)	
17≤	92 (15.0)	113 (11.1)	
世帯収入(百万円)			
<3	93 (15.2)	231 (22.6)	0.002
3-<5	279 (45.6)	452 (44.3)	
5-<7	184 (30.1)	264 (25.8)	
7≤	56 (9.2)	74 (7.2)	

連続変数は平均(標準偏差)、カテゴリ変数はN(%)。

Kruskal-Wallis 検定あるいは χ^2 検定。

^a; 血漿コチニン値。

表 2. 妊娠中の受動喫煙状況による児の属性

属性	妊婦の受動喫煙状況		P
	非喫煙 ≤0.21 ng/mL ^a (N = 612)	受動喫煙 0.22-11.48 ng/mL ^a (N = 1,021)	
在胎週数(週)	38.9 (1.2)	39.1 (1.2)	<0.001
性別			
男児	307 (50.2)	467 (45.4)	0.067
女児	305 (49.8)	562 (54.6)	
出生時体重(g)			
全児	3,091 (392)	3,072 (377)	0.456
男児	3,163 (393)	3,127 (387)	0.469
女児	3,018 (379)	3,026 (364)	0.893
出生時身長(cm)			
全児	49.2 (2.1)	49.1 (2.0)	0.439
男児	49.6 (2.1)	49.4 (2.0)	0.378
女児	48.8 (2.1)	48.8 (2.1)	0.806
出生時頭囲(cm)			
全児	33.4 (1.7)	33.2 (1.4)	0.045
男児	33.7 (2.0)	33.4 (1.4)	0.137
女児	33.1 (1.3)	33.0 (1.3)	0.382
低出生体重児(<2,500 g)	25 (4.0)	52 (5.1)	0.399
SGA ^b	55 (8.9)	104 (10.1)	0.439

連続変数は平均(標準偏差)、カテゴリ変数はN(%).

Kruskal-Wallis 検定あるいは χ^2 検定で統計解析.

^a; 血漿コチニン値、^b; Small-for-gestational-age.

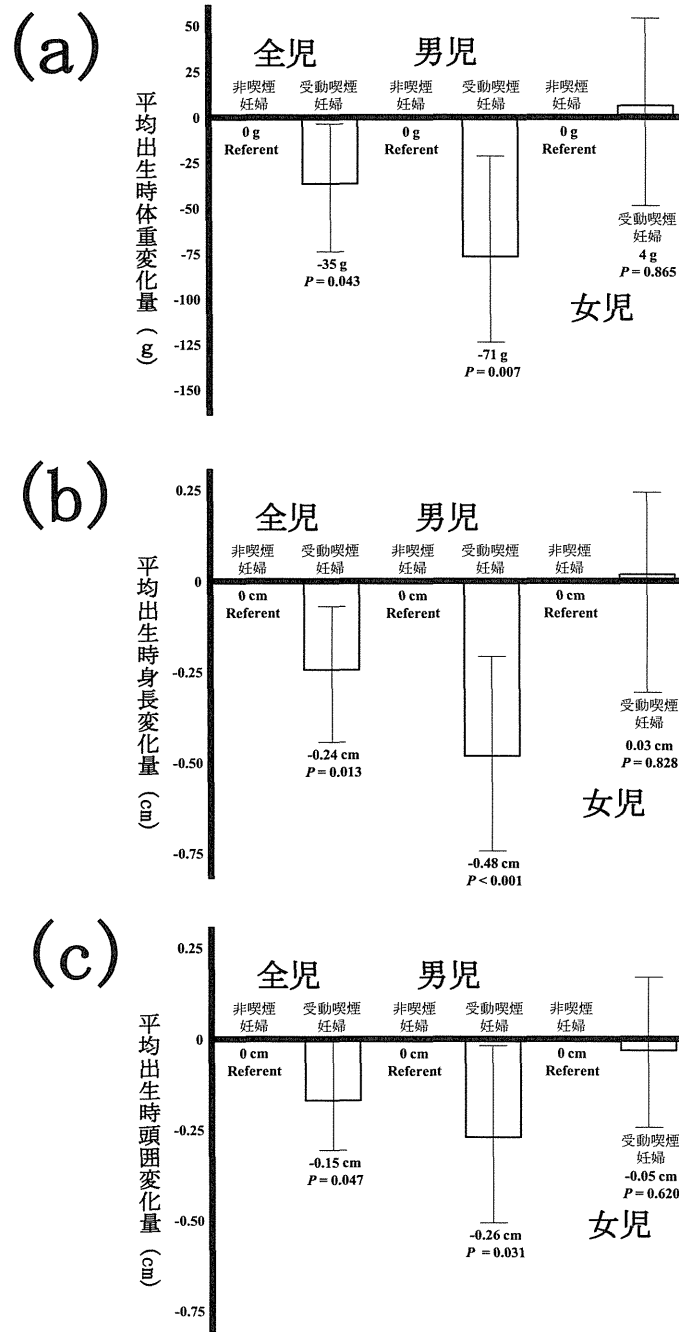


図 3. 非喫煙妊婦と受動喫煙妊婦の児の出生時体格の比較

(a) 出生時体重、(b) 出生時身長、(c) 出生時頭囲.

Bar は調整平均と 95%信頼区間.

妊婦の受動喫煙状況: 非喫煙妊婦 (血漿コチニン値; ≤ 0.21 ng/mL)、受動喫煙妊婦 (血漿コチニン値; 0.22-11.48 ng/mL).

重回帰分析は妊娠年齢、妊娠前 BMI、妊娠中飲酒、出産歴、教育歴、児の性別および在胎週数で調整.

表 3. 妊娠中受動喫煙状況による妊婦の遺伝子多型頻度

妊婦の遺伝子多型	妊婦の受動喫煙状況		P
	非喫煙 ≤0.21 ng/mL ^a (N = 612)	受動喫煙 0.22-11.48 ng/mL ^a (N = 1,021)	
<i>AHR</i> (G>A, Arg554Lys)			
GG	178 (29.1)	304 (29.8)	0.789
GA	308 (50.3)	496 (48.6)	
AA	126 (20.6)	221 (21.6)	
<i>CYP1A2</i> (A>C, CYP1A2*1F)			
AA	273 (44.6)	400 (39.2)	0.023
AC	274 (44.8)	472 (46.2)	
CC	65 (10.6)	149 (14.6)	
<i>CYP1B1</i> (C>G, Leu432Val)			
CC	463 (75.7)	760 (74.4)	0.814
CG	135 (22.1)	239 (23.4)	
GG	14 (2.3)	22 (2.2)	
<i>GSTM1</i> (Present/Absent)			
Present	283 (46.2)	463 (45.3)	0.758
Absent	329 (53.8)	558 (54.7)	
<i>GSTT1</i> (Present/Absent)			
Present	340 (55.6)	564 (55.2)	0.918
Absent	272 (44.4)	457 (44.8)	
<i>XRCCI</i> (C>T, Arg194Trp)			
CC	276 (45.1)	491 (48.1)	0.349
CT	276 (45.1)	423 (41.4)	
TT	60 (9.8)	107 (10.5)	
<i>XRCCI</i> (G>A, Arg399Gln)			
GG	349 (57.0)	566 (55.4)	0.565
GA	216 (35.3)	385 (37.7)	
AA	47 (7.7)	70 (6.9)	

N(%). χ^2 検定で統計解析. ^a; 血漿コチニン値.

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 4. 妊婦の遺伝子多型による出生時体格

妊婦の遺伝子多型	出生時体重 (g)		出生時身長 (cm)		出生時頭囲 (cm)	
	β (95%CI)	<i>P</i>	β (95%CI)	<i>P</i>	β (95%CI)	<i>P</i>
<i>AHR</i> (G>A)						
GA/AA (N = 1, 151)	Referent		Referent		Referent	
GG (N = 482)	27 (-9, 62)	0.141	0.08 (-0.12, 0.28)	0.418	0.06 (-0.09, 0.21)	0.423
<i>CYP1A2</i> (A>C)						
AA (N = 673)	Referent		Referent		Referent	
AC/CC (N = 960)	-5 (-38, 28)	0.747	0.05 (-0.13, 0.23)	0.605	-0.13 (-0.27, 0.01)	0.066
<i>CYP1B1</i> (C>G)						
CC (N = 1, 223)	Referent		Referent		Referent	
CG/GG (N = 410)	-1 (-38, 36)	0.959	0.01 (-0.19, 0.22)	0.900	-0.13 (-0.29, 0.03)	0.119
<i>GSTM1</i> (Present/Absent)						
Present (N = 746)	Referent		Referent		Referent	
Absent (N = 887)	-25 (-58, 7)	0.126	-0.08 (-0.26, 0.10)	0.367	-0.01 (-0.15, 0.13)	0.891
<i>GSTT1</i> (Present/Absent)						
Present (N = 904)	Referent		Referent		Referent	
Absent (N = 729)	13 (-20, 46)	0.434	-0.02 (-0.20, 0.16)	0.828	0.05 (-0.09, 0.19)	0.471
<i>XRCC1</i> (C>T)						
CC (N = 767)	Referent		Referent		Referent	
CT/TT (N = 866)	-1 (-33, 31)	0.949	-0.11 (-0.29, 0.07)	0.220	0.03 (-0.10, 0.17)	0.622
<i>XRCC1</i> (G>A)						
GG (N = 915)	Referent		Referent		Referent	
GA/AA (N = 718)	15 (-17, 48)	0.358	0.02 (-0.16, 0.20)	0.848	0.03 (-0.11, 0.17)	0.699

妊婦の遺伝子多型：*AHR* (G>A), *AHR* (G>A, Arg554Lys); *CYP1A2* (A>C), *CYP1A2* (A>C, CYP1A2*1F); *CYP1B1* (C>G), *CYP1B1* (C>G, Leu432Val); *XRCC1* (C>T), *XRCC1* (C>T, Arg194Trp); *XRCC1* (G>A), *XRCC1* (G>A, Arg399Gln).

妊娠年齢、妊娠前BMI、妊娠中飲酒、出産歴、在胎週数、児の性別、および教育歴で調整した重回帰分析。

β は調整した後の Referent 群とそれぞれの群との平均出生時体重、身長、あるいは頭囲の違い。

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 5. 妊婦の受動喫煙と遺伝子多型による出生時体格

妊婦の受動喫煙状況	妊婦の遺伝子多型	出生時体重 (g)		出生時身長 (cm)		出生時頭囲 (cm)	
		β (95%CI)	<i>P</i>	β (95%CI)	<i>P</i>	β (95%CI)	<i>P</i>
<i>CYP1A2</i> (A>C)							
非喫煙	AA (N = 273)	Referent		Referent		Referent	
	AC/CC (N = 339)	30 (-23, 83)	0.267	0.32 (0.02, 0.61)	0.034	-0.18 (-0.41, 0.05)	0.118
受動喫煙	AA (N = 400)	-4 (-56, 48)	0.883	-0.02 (-0.31, 0.26)	0.889	-0.20 (-0.42, 0.02)	0.070
	AC/CC (N = 621)	-26 (-74, 22)	0.287	-0.11 (-0.37, 0.15)	0.417	-0.28 (-0.49, -0.08)	0.006*
Interaction							
Crude		32 (-46, 110)	0.422	0.32 (-0.10, 0.74)	0.138	-0.15 (-0.46, 0.16)	0.334
Adjusted		52 (-15, 119)	0.131	0.41 (0.03, 0.78)	0.033	-0.10 (-0.39, 0.19)	0.493
<i>CYP1B1</i> (C>G)							
非喫煙	CC (N = 463)	Referent		Referent		Referent	
	CG/GG (N = 149)	-2 (-64, 60)	0.951	-0.07 (-0.41, 0.27)	0.702	-0.02 (-0.29, 0.24)	0.860
受動喫煙	CC (N = 760)	-34 (-73, 5)	0.091	-0.28 (-0.49, -0.06)	0.033	-0.11 (-0.28, 0.06)	0.197
	CG/GG (N = 261)	-33 (-85, 18)	0.200	-0.21 (-0.50, 0.07)	0.136	-0.29 (-0.51, -0.08)	0.008*
Interaction							
Crude		8 (-81, 97)	0.853	0.20 (-0.28, 0.67)	0.424	-0.11 (-0.46, 0.24)	0.546
Adjusted		2 (-75, 80)	0.955	0.13 (-0.30, 0.56)	0.547	-0.16 (-0.49, 0.17)	0.345
<i>XRCC1</i> (C>T)							
非喫煙	CC (N = 276)	Referent		Referent		Referent	
	CT/TT (N = 336)	-24 (-47, 107)	0.386	-0.26 (-0.56, 0.03)	0.082	-0.15 (-0.37, 0.08)	0.214
受動喫煙	CC (N = 491)	-56 (-106, -5)	0.031	-0.40 (-0.68, -0.12)	0.005*	-0.32 (-0.53, -0.10)	0.004*
	CT/TT (N = 530)	-47 (-97, 2)	0.062	-0.44 (-0.72, -0.17)	0.002*	-0.19 (-0.40, 0.02)	0.078
Interaction							
Crude		30 (-47, 107)	0.443	0.22 (-0.20, 0.63)	0.299	0.26 (-0.04, 0.57)	0.086
Adjusted		32 (-36, 100)	0.354	0.22 (-0.16, 0.59)	0.260	0.27 (-0.02, 0.56)	0.068

妊婦の遺伝子多型：*CYP1A2* (A>C), *CYP1A2* (A>C, CYP1A2*1F); *CYP1B1* (C>G), *CYP1B1* (C>G, Leu432Val); *XRCC1* (C>T), *XRCC1* (C>T, Arg194Trp).

妊娠年齢、妊娠前BMI、妊娠中飲酒、出産歴、在胎週数、児の性別、および教育歴で調整した重回帰分析。

β は調整した後の Referent 群とそれぞれの群との間の平均出生時体重、身長、あるいは頭囲の違い。

Interaction は妊婦の受動喫煙状況と遺伝子の組合せで作られたダミーの独立変数に対する積項。

Interaction の β は最もハイリスクと関連すると予想される妊婦の遺伝子型×受動喫煙曝露で作られる積項。

*; Bornferroni 補正後有意。

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. 妊婦の受動喫煙と遺伝子多型による出生時体格の性差

妊婦の受動喫煙状況	妊婦の遺伝子多型	出生時体重 (g)		出生時身長 (cm)		出生時頭囲 (cm)	
		β (95%CI)	<i>P</i>	β (95%CI)	<i>P</i>	β (95%CI)	<i>P</i>
男児							
	<i>CYP1A2</i> (A>C)						
非喫煙	AA (N = 135)	Referent		Referent		Referent	
	AC/CC (N = 172)	-45 (-123, 33)	0.256	-0.21 (-0.62, 0.20)	0.307	-0.46 (-0.82, -0.10)	0.012
受動喫煙	AA (N = 173)	38 (-39, 116)	0.331	0.36 (-0.04, 0.77)	0.080	-0.28 (-0.64, 0.08)	0.125
	AC/CC (N = 289)	-52 (-123, 18)	0.147	-0.32 (-0.69, 0.05)	0.090	-0.39 (-0.72, -0.06)	0.021
Interaction							
Crude		43 (-71, 158)	0.458	0.45 (-0.14, 1.05)	0.137	-0.33 (-0.82, 0.16)	0.183
Adjusted		46 (-55, 146)	0.373	0.47 (-0.06, 1.00)	0.081	-0.35 (-0.82, 0.11)	0.138
女児							
	<i>CYP1A2</i> (A>C)						
非喫煙	AA (N = 138)	Referent		Referent		Referent	
	AC/CC (N = 167)	33 (-37, 102)	0.356	0.13 (-0.27, 0.53)	0.519	0.02 (-0.25, 0.29)	0.905
受動喫煙	AA (N = 227)	18 (-56, 91)	0.641	0.24 (-0.18, 0.67)	0.261	-0.09 (-0.38, 0.19)	0.527
	AC/CC (N = 332)	1 (-65, 66)	0.985	0.08 (-0.29, 0.46)	0.658	-0.17 (-0.42, 0.08)	0.183
Interaction							
Crude		23 (-81, 127)	0.663	0.22 (-0.36, 0.79)	0.461	0.03 (-0.34, 0.39)	0.882
Adjusted		50 (-42, 142)	0.289	0.29 (-0.24, 0.82)	0.283	0.10 (-0.26, 0.45)	0.598
男児							
	<i>CYP1B1</i> (C>G)						
非喫煙	CC (N = 239)	Referent		Referent		Referent	
	CG/GG (N = 68)	32 (-60, 125)	0.490	-0.12 (-0.61, 0.37)	0.629	-0.08 (-0.50, 0.35)	0.727
受動喫煙	CC (N = 340)	-52 (-109, 6)	0.081	-0.48 (-0.78, -0.17)	0.002*	-0.20 (-0.47, 0.07)	0.145
	CG/GG (N = 122)	-98 (-174, -22)	0.012	-0.59 (-0.99, -0.19)	0.004*	-0.50 (-0.85, -0.15)	0.005*
Interaction							
Crude		-53 (-185, 80)	0.433	0.14 (-0.55, 0.83)	0.685	-0.13 (-0.70, 0.43)	0.648
Adjusted		-79 (-195, 37)	0.181	0.01 (-0.60, 0.62)	0.979	-0.23 (-0.76, 0.31)	0.407

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. 続き

妊婦の受動喫煙状況	妊婦の遺伝子多型	出生時体重 (g)		出生時身長 (cm)		出生時頭囲 (cm)	
		β (95%CI)	<i>P</i>	β (95%CI)	<i>P</i>	β (95%CI)	<i>P</i>
女兒							
	<i>CYP1B1</i> (C>G)						
非喫煙	CC (N = 224)	Referent		Referent		Referent	
	CG/GG (N = 81)	-14 (-67, 39)	0.608	-0.08 (-0.39, 0.23)	0.604	-0.01 (-0.22, 0.19)	0.899
受動喫煙	CC (N = 420)	-32 (-115, 51)	0.450	-0.00 (-0.48, 0.47)	0.995	0.04 (-0.28, 0.37)	0.783
	CG/GG (N = 139)	25 (-44, 95)	0.477	0.13 (-0.27, 0.53)	0.533	-0.10 (-0.36, 0.17)	0.487
Interaction							
Crude		42 (-76, 160)	0.485	0.12 (-0.53, 0.77)	0.720	-0.17 (-0.59, 0.25)	0.421
Adjusted		71 (-33, 175)	0.181	0.21 (-0.39, 0.81)	0.493	-0.13 (-0.53, 0.28)	0.536
男児							
	<i>XRCC1</i> (C>T)						
非喫煙	CC (N = 148)	Referent		Referent		Referent	
	CT/TT (N = 159)	8 (-69, 85)	0.841	-0.16 (-0.57, 0.24)	0.425	-0.06 (-0.41, 0.30)	0.753
受動喫煙	CC (N = 217)	-54 (-127, 18)	0.142	-0.46 (-0.84, -0.28)	0.017	-0.38 (-0.71, 0.11)	0.028
	CT/TT (N = 245)	-78 (-149, 7)	0.031	-0.66 (-1.03, -0.28)	0.001*	-0.21 (-0.54, 0.11)	0.200
Interaction							
Crude		-48 (-126, 30)	0.226	-0.22 (-0.63, 0.18)	0.281	-0.15 (-0.48, 0.19)	0.383
Adjusted		-86 (-155, -16)	0.016	-0.49 (-0.86, -0.13)	0.009*	-0.16 (-0.48, 0.17)	0.339
女兒							
	<i>XRCC1</i> (C>T)						
非喫煙	CC (N = 128)	Referent		Referent		Referent	
	CT/TT (N = 177)	-35 (-104, 34)	0.322	-0.20 (-0.60, 0.19)	0.316	-0.18 (-0.45, 0.08)	0.175
受動喫煙	CC (N = 274)	-39 (-113, 35)	0.298	-0.26 (-0.68, 0.17)	0.237	-0.18 (-0.47, 0.10)	0.208
	CT/TT (N = 285)	-4 (-72, 65)	0.918	-0.15 (-0.55, 0.24)	0.440	-0.12 (-0.38, 0.14)	0.371
Interaction							
Crude		36 (-34, 105)	0.313	0.14 (-0.25, 0.52)	0.482	0.02 (-0.23, 0.26)	0.876
Adjusted		36 (-26, 97)	0.256	0.10 (-0.25, 0.46)	0.573	0.06 (-0.18, 0.30)	0.604

妊婦の遺伝子多型： *CYP1A2* (A>C), *CYP1A2* (A>C, CYP1A2*1F); *CYP1B1* (C>G), *CYP1B1* (C>G, Leu432Val); *XRCC1* (C>T), *XRCC1* (C>T, Arg194Trp).

妊娠年齢、妊娠前 BMI、妊娠中飲酒、出産歴、在胎週数、および教育歴で調整した重回帰分析。

β は調整した後の Referent 群とそれぞれの群との間の平均出生時体重、身長、あるいは頭囲の違い。

Interaction は妊婦の受動喫煙状況と遺伝子の組合せで作られたダミーの独立変数に対する積項。

Interaction の β は最もハイリスクと関連すると予想される妊婦の遺伝子型×受動喫煙曝露で作られる積項。

*; Bornferroni 補正後有意。

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 7. 妊婦の受動喫煙と遺伝子多型との組合せによる出生時体格

妊婦の受動喫煙状況	妊婦の遺伝子多型		出生時体重 (g)		出生時身長 (cm)		出生時頭囲 (cm)		
			β (95%CI)	<i>P</i>	β (95%CI)	<i>P</i>	β (95%CI)	<i>P</i>	
非喫煙	CYP1A2 (A>C)	CYP1B1 (C>G)	Referent		Referent		Referent		
		CC (N = 206)							
	AC/CC	CG/GG (N = 67)	-17 (-109, 75)	0.718	-0.06 (-0.56, 0.45)	0.829	-0.20 (-0.60, 0.19)	0.306	
		CC (N = 257)	23 (-38, 84)	0.465	0.32 (-0.02, 0.66)	0.064	-0.26 (-0.52, -0.00)	0.049	
受動喫煙	AA	CG/GG (N = 82)	34 (-52, 119)	0.441	0.25 (-0.22, 0.72)	0.304	-0.14 (-0.50, 0.22)	0.453	
		CC (N = 307)	-11 (-70, 49)	0.724	-0.06 (-0.38, 0.27)	0.728	-0.18 (-0.43, 0.08)	0.169	
	AC/CC	CG/GG (N = 93)	7 (-75, 89)	0.863	0.07 (-0.39, 0.52)	0.775	-0.49 (-0.54, -0.14)	0.006*	
		CC (N = 453)	-28 (-84, 27)	0.316	-0.13 (-0.44, 0.17)	0.390	-0.31 (-0.54, -0.07)	0.010	
Interaction			CG/GG (N = 168)	-37 (-105, 32)	0.294	-0.10 (-0.47, 0.28)	0.615	-0.41 (-0.70, -0.12)	0.006*
			Crude	-26 (-115, 63)	0.566	-0.13 (-0.60, 0.35)	0.606	-0.11 (-0.46, 0.23)	0.518
			Adjusted	-61 (-139, 17)	0.127	-0.35 (-0.77, 0.08)	0.111	-0.16 (-0.49, 0.17)	0.350
非喫煙	CYP1A2 (A>C)	XRCC1 (C>T)	Referent		Referent		Referent		
		CC (N = 125)							
	AC/CC	CT/TT (N = 148)	-12 (-92, 67)	0.762	-0.05 (-0.48, 0.39)	0.836	-0.20 (-0.54, 0.14)	0.251	
		CC (N = 151)	33 (-46, 112)	0.406	0.49 (0.06, 0.92)	0.027	-0.27 (-0.60, 0.07)	0.119	
受動喫煙	AA	CT/TT (N = 188)	14 (-61, 90)	0.707	0.13 (-0.28, 0.55)	0.538	-0.31 (-0.63, 0.02)	0.061	
		CC (N = 198)	-23 (-98, 52)	0.550	-0.01 (-0.42, 0.41)	0.981	-0.41 (-0.73, -0.09)	0.012	
	AC/CC	CT/TT (N = 202)	5 (-70, 79)	0.900	-0.08 (-0.49, 0.33)	0.715	-0.20 (-0.52, 0.12)	0.213	
		CC (N = 293)	-30 (-100, 40)	0.407	-0.11 (-0.50, 0.28)	0.578	-0.42 (-0.72, -0.13)	0.005*	
Interaction			CT/TT (N = 328)	-36 (-105, 33)	0.306	-0.16 (-0.54, 0.22)	0.413	-0.36 (-0.66, -0.07)	0.015
			Crude	-24 (-89, 40)	0.459	-0.17 (-0.51, 0.18)	0.346	-0.02 (-0.28, 0.23)	0.848
			Adjusted	-52 (-108, 5)	0.072	-0.35 (-0.66, -0.04)	0.027	-0.02 (-0.26, 0.22)	0.843

妊婦の遺伝子多型：CYP1A2 (A>C), CYP1A2 (A>C, CYP1A2*1F); CYP1B1 (C>G), CYP1B1 (C>G, Leu432Val); XRCC1 (C>T), XRCC1 (C>T, Arg194Trp).

妊娠年齢、妊娠前BMI、妊娠中飲酒、出産歴、在胎週数、児の性別、および教育歴で調整した重回帰分析。

β は調整した後のReferent群とそれぞれの群との間の平均出生時体重、身長、あるいは頭囲の違い。

Interactionは妊婦の受動喫煙状況と遺伝子の組合せで作られたダミーの独立変数に対する積項と定義。

Interactionの β は最もハイリスクと関連すると予想される妊婦の遺伝子型×受動喫煙曝露で作られる積項。

*; Bonferroni補正後有意。

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

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 客員研究員

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 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

研究要旨

DNA メチル化はエピジェネティック制御機構のひとつで、胎児期の環境と後生の表現型を結ぶ重要な要素だと考えられている。動物実験により環境化学物質曝露のメチル化への影響が示唆されているが、現在のところ疫学研究での報告、特に胎児期曝露の影響を評価した報告は少ない。そこで、本研究では、胎児期の環境化学物質曝露が臍帯血の IGF2/H19 領域、および LINE1 の DNA メチル化に及ぼす影響について検討した。

札幌の 1 産科病院でリクルートし同意を得た妊婦のうち、初期調査票・出産時カルテ情報・臍帯血の得られた 267 名を対象とし、パイロシーケンス法を用いて IGF2/H19、LINE1 遺伝子領域の臍帯血 DNA メチル化について定量を行った。胎児期の曝露要因として PFOS・PFOA、MEHP、PCBs・ダイオキシン類、メチル水銀の影響について重回帰分析で検討を行った。

重回帰分析で交絡因子を調整した結果、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 ($\beta = -1.61$, 95% CI: -3.00 to -0.22)、MEHP 曝露による H19 低メチル化 ($\beta = -0.86$, 95% CI: -1.70 to -0.02)、メチル水銀曝露による LINE1 高メチル化 ($\beta = 0.75$, 95% CI: 0.11 to 1.39) が認められ、PFOS・PFOA、MEHP の胎児期曝露による IGF2/H19 領域メチル化への影響、メチル水銀曝露によるゲノム全体のメチル化の亢進が示唆された。

研究分担者

梶原 淳睦

(福岡県保健環境研究所保健科学部生活化学課)

宮下 ちひろ、池野 多美子、荒木 敦子

(北海道大学環境健康科学研究教育センター)

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)

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)

中澤 裕之 (星薬科大学薬品分析化学教室)

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)

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

近年、胎児期の化学物質曝露等の外的環境が、児の DNA メチル化を始めとするエピジェネティック制御機構に及ぼす影響が懸念されている。DNA メチル化は遺伝子発現・細胞分化に関わっており、細胞独自のメチル化パターンは細胞分裂後も維持されることから、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などの発症リスクとの関連も報告されており早期の曝露影響を測る「バイオセンサー」としての役割も提唱されている (Cui et al. 2002; Hoyo et al. 2012)。これまでに DNA メチル化は妊娠中の葉酸摂取や胎児期の飢餓曝露のほか (Dominguez-Salas et al. 2012; Heijmans et al. 2008)、喫煙曝露 (Knopik et al. 2012) などの外的要因の影響を受けることが報告されている。また、動物実験等の報告によると環境化学物質曝露の影響も示唆されているが (Baccarelli and Bollati. 2009)、現在のところ疫学研究での報告、特に胎児期曝露の影響を評価した報告は少ない(表 1)。そこで本研究では、胎児期の環境化学物質曝露が臍帯血の IGF2/H19 領域、および LINE1 の DNA メチル化に及ぼす影響について出生コホートのサンプルを用いて検討した。

B. 研究方法

1. 対象

札幌の 1 産科病院で 2002 年 7 月から 2005 年 10 月までにリクルートし、同意を得た妊婦 514 名のうち、初期調査票・出産時カルテ情報がそろった母児から、臍帯血の得られた 267 名を対象とした。

2. 方法

臍帯血 400 μ L 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。

母体血中 PFOS・PFOA 濃度は LC-MS/MS、MEHP 濃度は GC-MS、PCBs・ダイオキシン類濃度は HRGC/HRMS により測定された。母毛髪中の総水銀濃度は酸化燃焼金アマルガム法 (AAS 法) により測定された。

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 \log_{10} 変換した値を用い、また濃度が検出下限値以下の場合はその半値を代入した。

ダイオキシン総量は毒性等量 (TEQ) に従い算出した (Van den Berg et al. 2005)。 Σ Dioxin-TEQ は PCDDs 7 異性体、PCDFs 10 異性体、Non-ortho PCBs 4 異性体、Mono-ortho PCBs 10 異性体の総量、 Σ PCBs は 58 種類の PCB 異性体の総量から計算した。

(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。本研究によって得られ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

表 2 に本集団における母児の属性について

て示した。母の年齢の平均は 30.0 才 (± 4.9)、出生時体重の平均は 3,133 g (± 334) であった。また、臍帯血 DNA メチル化率の平均値 (\pm SD) は、IGF2 が 48.7% (± 2.9)、H19 が 52.3% (± 2.0)、LINE1 が 75.8% (± 1.1) であった。また、母体血中化学物質濃度の中央値 (最小値、最大値) は、PFOS 5.00 ng/mL (1.40 to 16.20)、PFOA 1.40 ng/mL (0.25 to 5.30)、MEHP 0.033 nmol/mL (0.012 to 0.365)、 Σ Dioxins-TEQ 14.2 pg/g lipid (3.2 to 42.9)、 Σ PCBs 100.4 ng/g lipid (16.0 to 326.8)、22'44'55'-HxCB (#153) 22.7 ng/g lipid (2.9 to 77.2)、母毛髪中のメチル水銀は 1.43 ppm (0.30 to 7.55) であった。

表 3 に母体血中化学物質濃度および母毛髪中メチル水銀濃度と、母児の属性との関連について示した。 Σ Dioxin-TEQ と Σ PCBs で母の年齢との間に有意な関連が見られた。また有意ではなかったが、PFOS・PFOA では母の年齢との間に負の関連が認められた。母の学歴・世帯収入といった社会経済要因と、PFOA (母の学歴)、 Σ Dioxin-TEQ・ Σ PCBs (世帯収入) との間に有意な関連が認められた。魚摂取量は Σ Dioxin-TEQ・ Σ PCBs・メチル水銀との間にそれぞれ有意な関連がみられた。母体血の採血時期は PFOS・PFOA、MEHP、 Σ Dioxin-TEQ、 Σ PCBs との間に有意な関連が認められた。

表 4 にそれぞれの曝露による DNA メチル化への影響を重回帰分析で検討した結果を示した。母年齢、妊娠前 BMI、世帯収入、児の性別、妊娠中喫煙、魚摂取量 (Σ Dioxin-TEQ・ Σ PCBs・メチル水銀)、母のパーマ歴 (メチル水銀) で調整した結果、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)、PCBs 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。

D. 考察

本研究により、胎児期の環境化学物質曝露の児の 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 ($\beta = -1.61$, 95% CI: -3.00 to -0.22)、MEHP 曝露による H19 低メチル化 ($\beta = -0.86$, 95% CI: -1.70 to -0.02)、またメチル水銀曝露による LINE1 高メチル化 ($\beta = 0.75$, 95% CI: 0.11 to 1.39) が示された。

先行研究では、横断研究により臍帯血中 PFOA 濃度とゲノム全体のメチル化 (ELISA 法) との間負の相関が報告されており (Guerrero-Preston et al. 2010)、本研究の IGF2 メチル化と同様の傾向を示した。

MEHP 曝露の影響については、現在のところ疫学研究での報告はない。動物実験ではマウスへの DEHP 曝露により精巢のゲノム全体のメチル化の亢進、およびメチル基転移酵素の発現の増加が報告されている (Wu et al. 2010)。本研究では、ゲノム全体のメチル化の指標として用いた LINE1 には有意な影響は見られず、また遺伝子特異的に H19 の低メチル化が観察された。

DNA メチル化には種間・組織間の差異も考えられるので、さらなる検討が必要である。

メチル水銀曝露による影響については、現在のところ疫学研究での報告はない。動物実験では、胎児期曝露により、マウス海馬の脳由来神経栄養因子 (*BDNF*) のメチル化の減少 (Onishchenko et al. 2008)、ラット肝臓のメチル基転移酵素の発現低下が報告されており (Desaulniers et al. 2009)、曝露によりメチル化が亢進するとの報告はなく、本研究の結果とは一致しない。種間・組織間の差異もあり得るが、メチル水銀曝露と交絡している要因の影響も考えられるため、今後さらなる検討が必要である。

その他、ダイオキシン (TEQ)、PCBs の総量と今回調べた 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。疫学先行研究では、PCB 等の POPs 曝露によりゲノム全体のメチル化レベルの低下が報告されている。曝露濃度の違いのほか、本研究ではサンプルサイズが小さくパワーが足りず、有意な影響が観察できなかった可能性も考えられる。

本研究の限界として、曝露評価を行った母体血の採血時期が妊娠 24 週目から産後と人によって幅があり、測定値への影響が考えられる点が挙げられる。重回帰分析の際、採血時期を共変量に投入して解析したもののその影響は調整しきれていない可能性は考えられる。また、本研究では侵襲性の問題から、臍帯血の DNA メチル化を測定しており、IGF2 が実際に発現している肝臓等の組織のメチル化とは異なる可能性も考えられる。さらに、サンプルサイズが小さく十分なパワーが得られていないため、今回の結果には偽陰性のものも含まれていることが考えられるため、今後十分なサンプルサイズでの検討が必要だと考えられる。

最後に、IGF2/H19 領域のメチル化により調節されている IGF2 タンパク質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 (Perkins et al. 2012)。今後は本研究で観察された化学物質曝露によるメチル化の変化が、具体的な児のアウトカムをどれだけ説明できるか、検討していく予定である。

E. 結論

本研究により、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 ($\beta = -1.61$, 95% CI: -3.00 to -0.22)、MEHP 曝露による H19 低メチル化 ($\beta = -0.86$, 95% CI: -1.70 to -0.02)、メチル水銀曝露による LINE1 高メチル化 ($\beta = 0.75$, 95% CI: 0.11 to 1.39) が認められ、PFOS・PFOA、MEHP の胎児期曝露による IGF2/H19 領域メチル化への影響、メチル水銀曝露によるゲノム全体のメチル化の亢進が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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.

2. 学会発表

- 1) 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)

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

参考文献

- 1) Cui H, Onyango P, Brandenburg S, Wu Y, Hsieh CL, Feinberg AP. 2002. Loss of imprinting in colorectal cancer linked to hypomethylation of H19 and IGF2. *Cancer Res.* 15:62(22):6442-6.
- 2) Hoyo C, Fortner K, Murtha AP, Schildkraut JM, Soubry A, Demark-Wahnefried W et al. 2012. Association of cord blood methylation fractions at imprinted insulin-like growth factor 2 (IGF2), plasma IGF2, and birth weight. *Cancer Causes Control.* 23(4):635-45.
- 3) Dominguez-Salas P, Cox SE, Prentice AM, Hennig BJ, Moore SE. 2012. Maternal nutritional status, C(1) metabolism and offspring DNA methylation: a review of current evidence in human subjects. *Proc Nutr Soc.* 71(1):154-65.
- 4) Heijmans BT, Tobi EW, Stein AD, Putter H, Blauw GJ, Susser ES et al. 2008. Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 4:105(44):17046-9.
- 5) Knopik VS, Maccani MA, Francazio S, McGeary JE. 2012. The epigenetics of maternal cigarette smoking during pregnancy and effects on child development. *Dev Psychopathol.* 24(4):1377-90.
- 6) Baccarelli A, Bollati V. 2009. Epigenetics and environmental chemicals. *Curr Opin Pediatr.* 21(2):243-51.
- 7) Van den Berg M, Birnbaum LS, Denison M, De Vito M, Farland W, Feeley M, et al. 2006. The 2005 World Health Organization reevaluation of human and Mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Toxicol Sci.* 93(2): 223-41.
- 8) Guerrero-Preston R, Goldman LR, Brebi-Mieville P, Ili-Gangas C, Lebron C, Witter FR et al. 2010. Global DNA hypomethylation is associated with in utero exposure to cotinine and perfluorinated alkyl compounds. *Epigenetics.* 16:5(6):539-46.
- 9) Wu S, Zhu J, Li Y, Lin T, Gan L, Yuan X et al. 2010. Dynamic effect of di-2-(ethylhexyl) phthalate on testicular toxicity: epigenetic changes and their impact on gene expression. *Int J Toxicol.* 29(2):193-200.
- 10) Onishchenko N, Karpova N, Sabri F, Castrén E, Ceccatelli S. 2008. Long-lasting depression-like behavior and epigenetic changes of BDNF gene expression induced by perinatal exposure to methylmercury.

J Neurochem. 106(3):1378-87.

- 11) Desaulniers D, Xiao GH, Lian H, Feng YL, Zhu J, Nakai J et al. 2009. Effects of mixtures of polychlorinated biphenyls, methylmercury, and organochlorine pesticides on hepatic DNA methylation in prepubertal female Sprague-Dawley rats. Int J Toxicol. 28(4):294-307.

- 12) Perkins E, Murphy SK, Murtha AP, Schildkraut J, Jirtle RL, Demark-Wahnefried W et al. 2012. Insulin-like growth factor 2/H19

methylation at birth and risk of overweight and obesity in children. J Pediatr. 161(1):31-9

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. 環境化学物質曝露の DNA メチル化への影響を調べた疫学研究

【Perinatal】				
Author	Study Design	Exposure	Outcome	Results
Guerrero-Preston, 2010	N = 30 cross sectional	PFOS, <i>PFOA</i> (in cord blood)	Global methylation (ELISA)	Decreased ▼
Morales, 2012	N = 122 cross sectional	<i>DDE</i> (in cord blood)	<i>ALOX12</i> promotor	Decreased ▼
Huen, 2013	N = 358 (at birth, 9 yr) birth cohort	POPs (2 <i>OCPs</i> , 10 <i>BDEs</i>)	Global methylation (Alu, LINE1)	Decreased ▼
【Adult】				
Author	Study Design	Exposure	Outcome	Results
Rusiecki, 2008	N = 70 (19-67 yr) cross sectional	POPs (14 <i>PCBs</i> , 10 <i>OCPs</i>)	Global methylation (Alu, LINE1)	Decreased ▼
Kim, 2010	N = 86 (56.2±7 yr) cross sectional	POPs (17 <i>PCBs</i> , 9 <i>OCPs</i> , 2 <i>BDEs</i>)	Global methylation (Alu, LINE1)	Decreased ▼
Lind, 2013	N = 524 (70 yr) cross sectional	POPs (16 <i>PCBs</i> , 5 <i>OCPs</i> , <i>OCDD</i> , <i>BDE</i>)	Global methylation (LUMA)	Increased △

Abbreviation: *POPs* persistent organic pollutants, *OCPs* organochlorine pesticides, *BDEs* brominated diphenyl ether

表 2. 対象母児の属性 (N = 267)

	N (%)	Mean (±SD)		N (%)	Mean (±SD)
Maternal characteristics			Maternal characteristics (continued)		
Maternal age (year)	267	30.0 (±4.9)	Fish consumption	247	47.0 (±32.1)
Pre-pregnancy BMI (kg/m ²)	267	20.9 (±2.9)	Blood sampling period		
Maternal weight gain (kg)	254	10.6 (±3.9)	Before delivery	193 (72.6)	
Parity (times)			After delivery	73 (27.4)	
0	94 (35.2)		missing	1	
≥ 1	173 (64.8)		Blood sampling (days)		
Educational level (year)			All	266	246.7 (±29.5)
≤ 12	120 (44.9)		Before delivery	193	234.5 (±25.3)
> 12	147 (55.1)		After delivery	73	278.9 (±6.7)
Annual household income			Hair permanent		
< 3	48 (18.1)		No	174 (70.4)	
3-5	136 (51.3)		Yes	73 (29.6)	
5-7	60 (22.6)		missing	20	
> 7	21 (7.9)		Infant characteristics		
missing	2		Gestational age (week)	267	39.4 (±1.0)
Smoking during pregnancy			Sex		
No	220 (82.4)		Male	125 (46.8)	
Yes	47 (17.6)		Female	142 (53.2)	
Alcohol consumption			Birth weight (g)	267	3133 (±334)
No	176 (65.9)				
Yes	91 (34.1)				

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. 母体血中化学物質・母毛髪水銀濃度と母児の属性との関連

	PFOS (ng/ml)			PFOA (ng/ml)			MEHP (nmol/ml)			Σ Dioxin-TEQ (pg/g lipid)			Σ PCBs (ng/g lipid)			Hg (µg/g)		
	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p	N	r	p
Maternal characteristics																		
Maternal age (year) ^a	234	r=-0.123	0.061	234	r=-0.059	0.370	257	r=0.047	0.456	238	r=0.293	<.0001**	239	r=0.455	<.0001**	246	r=0.044	0.494
Pre-pregnancy BMI (kg/m ²) ^a	234	r=-0.059	0.367	234	r=-0.105	0.108	257	r=0.032	0.614	238	r=0.022	0.731	239	r=-0.049	0.447	246	r=-0.042	0.514
Maternal weight gain (kg) ^a	223	r=-0.009	0.894	223	r=0.085	0.207	244	r=-0.025	0.697	229	r=-0.204	0.002**	230	r=-0.187	0.004**	240	r=0.041	0.527
Parity (times) ^b																		
0	83	6.26 (5.68, 6.85)	0.001**	83	1.89 (1.71, 2.07)	<.0001**	90	0.045 (0.036, 0.053)	0.954	85	16.5 (15.1, 17.8)	0.048*	86	111.1 (99.2, 122.9)	0.618	87	1.49 (1.35, 1.64)	0.737
≥ 1	151	5.02 (4.59, 5.45)		151	1.29 (1.15, 1.42)		167	0.045 (0.038, 0.051)		153	14.6 (13.6, 15.6)		153	106.6 (97.7, 115.5)		159	1.50 (1.40, 1.61)	
Educational level (year) ^b																		
≤ 12	108	5.40 (4.88, 5.92)	0.875	108	1.41 (1.25, 1.58)	0.041*	115	0.042 (0.035, 0.050)	0.521	101	14.4 (13.2, 15.6)	0.115	102	104.3 (93.4, 115.2)	0.13	108	1.48 (1.36, 1.61)	0.764
> 12	126	5.51 (5.03, 6.00)		126	1.57 (1.42, 1.73)		142	0.046 (0.040, 0.053)		137	15.9 (14.8, 16.9)		137	111.1 (101.7, 120.5)		138	1.51 (1.40, 1.63)	
Annual household income ^c																		
< 3	45	5.96 (5.15, 6.76)	0.775	45	1.63 (1.38, 1.89)	0.135	47	0.040 (0.029, 0.052)	0.677	37	13.8 (11.8, 15.8)	0.009**	37	87.9 (70.3, 105.5)	0.002**	46	1.45 (1.25, 1.64)	0.754
3-5	119	5.27 (4.78, 5.77)		119	1.41 (1.26, 1.57)		133	0.046 (0.039, 0.053)		123	14.6 (13.5, 15.7)		124	102.8 (93.2, 112.4)		123	1.48 (1.36, 1.60)	
5-7	50	5.21 (4.45, 5.97)		50	1.47 (1.23, 1.72)		56	0.050 (0.039, 0.060)		57	16.8 (15.2, 18.4)		57	125.9 (111.7, 140.1)		56	1.55 (1.38, 1.73)	
> 7	18	5.92 (4.65, 7.19)		18	1.88 (1.47, 2.28)		19	0.032 (0.013, 0.050)		21	17.4 (14.7, 20.1)		21	127.9 (104.5, 151.2)		20	1.59 (1.30, 1.89)	
Smoking during pregnancy ^b																		
No	196	5.54 (5.15, 5.93)	0.421	196	1.54 (1.42, 1.66)	0.106	212	0.045 (0.039, 0.050)	0.645	203	15.4 (14.6, 16.3)	0.178	203	107.9 (100.2, 115.6)	0.401	203	1.53 (1.43, 1.62)	0.186
Yes	38	5.06 (4.18, 5.94)		38	1.29 (1.01, 1.57)		45	0.044 (0.032, 0.056)		35	14.2 (12.1, 16.2)		36	109.7 (91.4, 128.0)		43	1.38 (1.18, 1.58)	
Alcohol consumption during pregnancy ^b																		
No	159	5.54 (5.11, 5.97)	0.776	159	1.50 (1.36, 1.64)	0.798	171	0.046 (0.039, 0.053)	0.801	158	15.0 (14.0, 16.0)	0.757	158	104.7 (96.0, 113.4)	0.088	168	1.54 (1.43, 1.66)	0.723
Yes	76	5.32 (4.70, 5.94)		76	1.50 (1.30, 1.69)		87	0.045 (0.036, 0.055)		81	15.7 (14.3, 17.1)		81	115.0 (102.8, 127.1)		79	1.48 (1.31, 1.66)	
Fish consumption	220	r=-0.079	0.251	220	r=-0.079	0.243	237	r=-0.113	0.083	221	r=0.148	0.028*	222	r=0.217	0.001**	246	r=0.230	0.000**
Blood sampling period ^b																		
Before delivery	176	5.74 (5.34, 6.15)	0.000**	176	1.55 (1.42, 1.68)	0.278	184	0.046 (0.040, 0.051)	0.009**	169	15.6 (14.6, 16.6)	0.205	170	109.9 (101.5, 118.4)	0.418	176	1.49 (1.39, 1.59)	0.648
After delivery	58	4.61 (3.91, 5.31)		58	1.33 (1.11, 1.56)		73	0.043 (0.033, 0.052)		68	14.4 (12.9, 15.9)		68	104.4 (91.1, 117.8)		69	1.54 (1.38, 1.70)	
Blood sampling (days) ^a																		
All	234	r=-0.361	<.0001**	234	r=-0.190	0.004**	257	r=-0.254	<.0001**	237	r=-0.087	0.183	238	r=-0.064	0.325			
Before delivery	176	r=-0.311	<.0001**	176	r=-0.224	0.003**	184	r=-0.224	0.002**	169	r=-0.057	0.459	170	r=-0.061	0.430			
After delivery	58	r=-0.078	0.562	58	r=-0.072	0.590	73	r=-0.031	0.794	68	r=0.027	0.830	68	r=0.019	0.881			
Hair permanent ^b																		
No		-			-			-			-			-		173	1.53 (1.43, 1.63)	0.668
Yes		-			-			-			-			-		73	1.44 (1.28, 1.59)	
Infant characteristics																		
Gestational age (week) ^a	234	r=0.031	0.636	234	r=0.048	0.470	257	r=-0.011	0.858	238	r=0.061	0.346	239	r=0.091	0.162	246	r=0.006	0.922
Sex ^b																		
Male	105	5.62 (5.09, 6.15)	0.395	105	1.58 (1.42, 1.75)	0.101	120	0.042 (0.035, 0.050)	0.979	111	15.2 (14.0, 16.4)	0.761	112	106.1 (95.7, 116.5)	0.848	115	1.44 (1.32, 1.56)	0.307
Female	129	5.34 (4.86, 5.81)		129	1.43 (1.28, 1.58)		137	0.047 (0.040, 0.053)		127	15.3 (14.2, 16.4)		127	110.0 (100.3, 119.8)		131	1.55 (1.44, 1.67)	

^a Spearman's correlation, ^b Mann-Whitney U-test, ^c Kruskal-Wallis

*p < 0.05, **p < 0.01