

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

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）  
分担研究報告書

表 1. 母親の毛髪中における総水銀濃度(μg/g) (n=367)

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

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

表 2. 母親の属性と毛髪中の総水銀濃度 (μg/g) (n=367)

Maternal Characteristics	N (%)	Total Hg Mean±SD
Age at delivery (years)	30.76±4.76 <sup>a</sup>	0.094 <sup>b</sup>
Height (cm)	158.33±5.40 <sup>a</sup>	-0.055 <sup>b</sup>
Pre-pregnancy weight (kg)	52.50±7.94 <sup>a</sup>	-0.029 <sup>b</sup>
Parity	0	1.44±0.62
	≥1	1.58±0.87
History of hair perming	No	1.50±0.76
	Yes	1.52±0.75
Annual household income (million yen)	<5	1.44±0.74*
	≥5	1.65±0.78
Smoking consumption during pregnancy	Nonsmoker	1.51±0.74
	Smoker	1.51±0.84
Alcohol consumption during pregnancy	Nondrinker	1.47±0.76
	Drinker	1.60±0.76
Caffeine intake (mg/day)	120 (1.5-646.25) <sup>c</sup>	-0.005 <sup>b</sup>
Fish intake (g/day)	40.0 (0.83-400.0) <sup>c</sup>	0.215 <sup>b**</sup>
Frequency of food consumption during pregnancy		
Shoreline-fish	<once/week	1.44±0.68
	≥once/week	1.59±0.84
Pelagic-fish	<once/week	1.35±0.64**
	≥once/week	1.65±0.83
Beef	<once/week	1.45±0.74*
	≥once/week	1.66±0.75

<sup>a</sup> Mean±SD

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

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

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

表 3. 出生時体格と水銀濃度の回帰係数 (95% 信頼区間) (n = 367).

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

B: partial regression coefficient

CI: confidence interval

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

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

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

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

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

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

SGA: small for gestational age

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

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

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

\*p < 0.05

## 妊婦の葉酸値と先天性単発奇形との関連

研究代表者 岸 玲子 北海道大学環境健康科学研究教育センターセンター長・特任教授  
研究分担者 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 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

### 研究要旨

妊娠初期の母体血清葉酸値が先天性単発奇形発生リスクに関連があるかについて、平成15年5月から平成18年12月までに分娩終了した母親12,784名で検討した。妊婦と配偶者の学歴、世帯収入、既往歴、妊娠・出産歴、妊娠初期の内服薬、妊娠前後のサプリメント使用、喫煙・飲酒習慣、化学物質曝露状況などの情報は妊娠初期に実施した自記式調査票、また、分娩日、児の性別、出生時体重、先天性単発奇形有無などは診療録から得た。児の1歳時には健康調査票を送付して、母親の自記式で回答を得た。母体血清中葉酸値と先天性単発奇形発症リスクの関連は教育年数、世帯収入、妊娠時年齢、出産歴で調整後、ロジスティック回帰分析を行った。先天性単発奇形を有する児は272名(2.7%)であった。妊娠初期血清葉酸値の平均は、症例群で8.2ng/ml、対照群では8.0ng/mlで両群に有意な差なく、妊娠初期血清葉酸値と先天性単発奇形発症との関連はみられなかった。さらに、教育年数、世帯収入、葉酸サプリメント摂取、妊娠初期の喫煙習慣で層別して解析したが、いずれも妊娠初期血清葉酸値と先天性単発奇形発症との関連は認められなかった。

### 研究協力者

伊藤 久美子, 宮下 ちひろ, 馬場 俊明  
Brimoh Titilola, 檜野 いく子  
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)  
Yila Thamar  
(北海道大学環境健康科学研究教育センター)

### A. 研究目的

先天性単発奇形は染色体異常や多因子遺伝によるものが大部分を占める。多因子遺伝は環境要因と遺伝子要因との相互作用により発生するが、そのメカニズムはまだ解明されていないものが多い。先天性単発奇形の一つである神経管欠損症は、妊娠

前の葉酸サプリメント摂取や血中葉酸濃度低値と関連することが大規模コホート研究で示されたことから、アメリカやカナダ等では、食品への葉酸添加を義務付けたことで有病率低下したと報告された。

神経管欠損症の他にも妊娠前葉酸サプリメント摂取と口唇裂、先天性心疾患、ダウン症の発症リスクに関する報告があるが、結果は一致していない(Krapels et al. 2006; Czeizelet al. 2004; コクランデータベース・システムレビュー 2010)。このような結果不一致の要因としては、先行研究の多くがケースコントロール研究であるために、ケースとコントロールを選出する際の選択バイアス、リスク要因暴露程度の思い出しバイアスなどが結果に影響を与えている可能性がある。また、体内葉酸量

情報は、妊娠前後の葉酸サプリメント摂取有無や食事摂取量調査などの主観的評価によるため、妊娠初期の葉酸値と先天性単発奇形との関連を評価しているものは少ないといえる。

さらに、先天性単発奇形の中でも単発奇形の発生には環境要因の関与が大きい。そこで本研究の目的では、妊娠初期の母体血清葉酸濃度と先天性単発奇形発生リスクとの関連を明らかにすることを目的とした。

## B. 研究方法

北海道内の約 40 産科医療施設で実施した出生前向きコホート研究で同意を得られた妊婦のうち、平成 15 年から平成 18 年 12 月までに分娩が終了した母親 12,784 名を対象とした。妊婦健診受診施設にて妊娠初期に採血し-80℃以下で冷凍保存後、母体血清葉酸濃度を化学発光免疫測定法 (CLIA 法)により(株)エスアールエルで測定した。妊婦と配偶者の学歴、世帯収入、既往歴、妊娠・出産歴、妊娠初期の内服薬、妊娠前後のサプリメント使用、喫煙・飲酒習慣、化学物質曝露状況などの情報は妊娠初期に実施した自記式調査票、また、分娩日、児の性別、出生時体重、先天性単発奇形有無などは新生児個票(診療録)から得た。児の 1 歳時には健康調査票を送付して、母親の自記式で回答を得た。

対象者のうち、妊娠初期血清葉酸値、妊娠初期調査票、新生児個票があるものを解析対象とした。双胎妊娠者、糖尿病既往者、葉酸代謝障害剤の使用者、妊娠時年齢不明者、児の性別、出生時体重が不明のものは解析から除外し、最終的な解析対象者は 10,185 名であった。

先天性単発奇形発生と妊娠初期血清葉

酸値との関連は、教育年数、世帯収入、妊娠時年齢、出産経験を交絡要因として多変量解析を行った。さらに、教育年数、世帯収入、葉酸サプリメント摂取、妊娠初期の喫煙習慣で層別して解析した。

(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

### (1) 妊婦の属性・生活習慣と先天性単発奇形

先天性単発奇形がある出生児(症例群)は、272 名(2.7%)であった。症例群と対照群の妊娠時年齢は、それぞれ 29.5±4.5 歳、29.4±4.7 歳で両群に有意な差はみられなかった。教育年数区分は両群に有意な差が認められたが(p=0.042)、世帯収入、出産歴、妊娠初期の喫煙・飲酒の有無に有意な差はみられなかった。また、妊娠前後の葉酸サプリメント使用者(マルチビタミン含む)は、症例群 45 名(18.4%)、対照群 1,542 名(17.5%)で有意な差はみられなかった。

出生時体重は症例群 2762±839g、対照群 3029±469g で症例群が有意に低かった(p<0.001)。また、児の性別区分にも有意な差が認められた(p<0.001)(表 1)。

### (2) 妊娠初期血清葉酸値と先天性単発奇形

## リスク

妊娠初期血清葉酸値の平均は  $8.0 \pm 7.3\text{ng/ml}$  で、99.4%が CLIA 法による基準値  $3.1\text{ng/ml}$  を超えていた。また、症例群の平均血清葉酸値は  $8.2 \pm 4.9\text{ng/ml}$ 、対照群群  $8.0 \pm 7.4\text{ng/ml}$  で両群に有意な差はみられなかった。

次に、妊娠初期血清葉酸値と先天性単発奇形発症との関連を教育年数、世帯収入、妊娠時年齢、妊娠・出産歴、妊娠前喫煙習慣、世帯収入、葉酸サプリメント摂取開始時期、妊娠初期の喫煙・飲酒習慣で層別化分析を行ったが、いずれも有意な差はみられなかった(表 2, 3)。

さらに、妊娠初期血清葉酸値三分位数、葉酸サプリメント摂取時期、妊娠初期までの喫煙と先天性単発奇形発症との関連を検討したが、いずれも関連性は認められなかった(表 4)。

## D. 考察

わが国における妊婦の血清葉酸値は、水戸ら(2007)は  $10.3\text{ng/ml}$ 、中島ら(2003)は  $11.16\text{ng/ml}$  と報告しており、本研究の全対象者の血清葉酸値  $8.0\text{ng/ml}$  よりも高い。しかし、本研究対象者の 99.4%が CLIA 法による血清葉酸基準値  $3.1\text{ng/ml}$  以上であることから、血清葉酸値は十分であったと考えられる。

本研究では妊娠初期血清葉酸値による先天性単発奇形発症への影響は認められなかった。また、葉酸サプリメント摂取開始時期、妊娠初期の喫煙有無を層別化して解析したが関連はなかった。コクランシステマティックレビューでは、妊娠前の葉酸サプリメント摂取による神経管欠損症発症リスク低下は認められたが、他の先天性奇形との関連は否定されている。しかし、

葉酸値と先天性単発奇形の関連には言及されていない。

葉酸代謝物は DNA 合成、メチル化に重要な役割を果たすことがわかっており、メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素(MTHFR)に代表される補酵素の活性変化が個体発生過程に生じた場合の奇形発生への関与が検討されている。体内で葉酸が十分に活用されるには、葉酸代謝関連遺伝子やその活性に関与する環境要因との交互作用を解明することが必要である。そこで、今後は葉酸代謝関連遺伝子多型を測定し、先天性単発奇形発症に関与する遺伝子多型と環境要因との交互作用を検討していく予定である。

## E. 結論

本研究全対象者の妊娠初期血清葉酸値は平均  $8.0\text{ng/ml}$  であり、CLIA 法による基準値  $3.1\text{ng/ml}$  を 99.4%が超えていた。また、妊娠初期の血清葉酸値と先天性単発奇形発症との関連は認められなかった。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

- (1) 伊藤久美子, 佐々木成子, Yila Thamar, Braimoh Titilola 馬場俊明, 宮下ちひろ, 檉野いく子, 岡田恵美子, 小林澄貴, 吉岡英治, 岸玲子. 妊婦の葉酸値と先天性単発奇形との関連-環境と子どもの健康に関する北海道スタディ(1). 第 81 回日本衛生学会学術総会. 東京都. Mar. 25-28, 2011.

## G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

参考文献

- (1) Krapels IP, Zielhuis GA, Vroom F, de Jong-vanden Berg LT, Kuijpers-Jagtman AM, van der Molen AB, Steegers-Theunissen RP; Eurocran Gene-Environment Interaction Group. Periconceptional health and lifestyle factors of both parents affect the risk of live-born children with orofacial clefts. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 76(8):613-20, 2006.
- (2) Czeizel AE, Dobó M, Vargha P. Hungarian cohort-controlled trial of periconceptional multivitamin supplementation shows a reduction in certain congenital abnormalities. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*; 70(11):853-61, 2004.
- (3) Cochrane Database Syst Rev. 6(10), 2010.
- (4) Little J, Gilmour M, Mossey PA, Fitzpatrick D, Cardy A, Clayton-Smith J, Hill A, Duthie SJ, Fryer AE, Molloy AM, Scott JM; ITS MAGIC Collaboration. Folate and clefts of the lip and palate--a U.K.-based case-control study: Part II: Biochemical and genetic analysis. *Cleft Palate Craniofac J*. 45(4):428-38, 2008.
- (5) Candito M, Rivet R, Herbeth B, Boisson C, Rudigoz RC, Luton D, Journel H, Oury JF, Roux F, Saura R, Vernhet I, Gaucherand P, Muller F, Guidicelli B, Heckenroth H, Poulain P, Blayau M, Francannet C, Roszyk L, Brustié C, Staccini P, Gérard P, Fillion-Emery N, Guéant-Rodriguez RM, Van Obberghen E, Guéant JL. Nutritional and genetic determinants of vitamin B and homocysteine metabolisms in neural tube defects: a multicenter case-control study. *Am J Med Genet A*; 146A(9):1128-33, 2008.
- (6) Zhang T, Xin R, Gu X, Wang F, Pei L, Lin L, Chen G, Wu J, Zheng X. Maternal serum vitamin B12, folate and homocysteine and the risk of neural tube defects in the offspring in a high-risk area of China. *Public Health Nutr*. 2(5):680-6, 2009.



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. 妊婦の基本的属性, 生活習慣と先天性単発奇形

		全体 n=10,185 n(%)	対照群 n=9,735 n(%)	症例群 n=272 n(%)	p値
母親					
年齢(歳)		29.4±4.7 <sup>a</sup>	29.4±4.7 <sup>a</sup>	29.5±4.5 <sup>a</sup>	0.550
	<20	149(1.5)	146(1.5)	3(1.1)	0.558
	20-29	4976(49.7)	4847(49.8)	129(47.4)	
	30-39	4744(47.4)	4606(47.3)	138(50.7)	
	≥40	138(1.4)	136(1.4)	2(0.7)	
教育年数(年)	<10	482(4.9)	471(4.9)	11(4.1)	0.042
	10-12	4511(45.5)	4407(45.7)	104(38.4)	
	13-15	4009(40.4)	3877(40.2)	132(48.7)	
	≥16	912(9.2)	888(9.2)	24(8.9)	
世帯収入(万円)	<300	1888(22.3)	1844(22.4)	44(18.8)	0.501
	300-499	3781(44.7)	3677(44.7)	104(44.4)	
	500-799	2167(25.6)	2100(25.5)	67(28.6)	
	≥800	626(7.4)	607(7.4)	19(8.1)	
出産歴	初産	4512(45.8)	4392(45.8)	120(44.6)	0.710
	経産	5346(54.2)	5197(54.2)	149(55.4)	
妊娠前BMI	<18.5	1703(17.5)	1651(17.4)	52(19.5)	0.679
	18.5-24.9	7004(71.9)	6816(71.9)	188(70.4)	
	≥25.0	1034(10.6)	1007(10.6)	27(10.1)	
葉酸サプリメント使用	なし	7479(82.5)	7280(82.5)	199(81.6)	0.67
	あり	1587(17.5)	1542(17.5)	45(18.4)	
葉酸サプリメント開始時期	使用なし	8418(84.5)	8191(84.5)	227(83.5)	0.544
	妊娠前3ヶ月から	130(1.3)	128(1.3)	2(0.7)	
	妊娠前3ヶ月未満	1418(14.2)	1375(14.2)	43(15.8)	
妊娠12週までの飲酒	なし	5940(89.8)	5780(89.8)	160(88.9)	0.674
	あり	673(10.2)	653(10.2)	20(11.1)	
妊娠14週までの喫煙	なし	8307(84.9)	8077(84.9)	230(86.1)	0.604
	あり	1478(15.1)	1441(15.1)	37(13.9)	
児					
性別	男児	5101(51.0)	4956(51.0)	145(53.5)	<0.001
	女児	4877(48.8)	4755(48.9)	122(45.0)	
	不分明	15(0.2)	11(0.1)	4(1.5)	
出生時体重(g)		3020±487 <sup>a</sup>	3029±469 <sup>a</sup>	2762±839 <sup>a</sup>	<0.001

a: 平均値±標準偏差

表 2. 妊娠初期血清葉酸値と先天性単発奇形

	全体 n=10,185 平均値±SD (range)	対照群 n=9,735 平均値±SD (range)	症例群 n=272 平均値±SD (range)	p値
血清葉酸値(ng/ml)	8.0±7.3 (2.0-505.0)	8.0±7.4 (2.0-505)	8.2±4.9 (3.0-41.0)	0.366
	n(%)	n(%)	n(%)	
第1三分位 ≤6.1	3305(33.0)	3208(33.0)	97(35.7)	0.568
第2三分位 6.2-8.1	3395(33.0)	3303(33.9)	92(33.8)	
第3三分位 ≥8.2	3307(33.0)	3224(33.1)	83(30.5)	

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. 妊婦属性, 環境要因別の妊娠初期血清葉酸値と先天性単発奇形との関連

		全体 n=10,185 平均値±SD	対照群 n=9,735 平均値±SD	症例群 n=272 平均値±SD	p値
<b>母親</b>					
年齢(歳)	<20	6.0±1.7	6.0±1.7	6.7±0.5	0.674
	20-29	7.6±6.1	7.6±6.1	7.5±3.7	
	30-39	8.4±8.6	8.4±8.7	8.8±5.7	
	≥40	8.6±4.4	8.5±4.4	12.7±8.5	
教育年数(年)	<10	7.0±3.2	7.0±3.1	9.9±5.0	0.673
	10-12	7.5±3.4	7.5±3.3	7.4±3.9	
	13-15	8.4±10.7	8.4±10.8	8.6±5.5	
	≥16	9.0±5.2	9.1±5.2	8.3±5.0	
世帯収入(万円)	<300	7.4±3.7	7.4±3.7	7.6±4.9	0.543
	300-499	8.0±6.8	8.0±6.8	8.1±4.1	
	500-799	8.5±11.4	8.5±11.5	8.4±3.7	
	≥800	9.1±7.3	9.0±7.9	11.5±11.3	
出産歴	初産	8.2±7.1	8.2±7.1	8.9±6.3	0.647
	経産	7.8±7.7	7.8±7.8	7.7±3.4	
妊娠前BMI	<18.5	8.1±5.6	8.0±5.6	8.7±6.6	0.673
	18.5-24.9	8.0±8.2	8.0±8.3	8.0±4.1	
	≥25.0	7.7±3.7	7.7±3.6	8.7±6.6	
葉酸サプリメント使用	なし	7.1±4.7	7.1±4.8	6.9±3.1	0.714
	あり	12.0±13.9	11.9±14.0	13.4±7.8	
葉酸サプリメント開始時期	使用なし	7.3±5.0	7.3±5.0	7.2±3.3	0.643
	妊娠前3ヶ月から	16.2±9.2	16.1±9.2	21.5±10.7	
	妊娠前3ヶ月未満	11.5±14.3	11.5±14.4	13.0±7.6	
妊娠12週までの飲酒	なし	8.1±6.4	8.1±6.4	8.4±5.1	0.861
	あり	8.6±19.4	8.7±19.7	6.9±2.3	
妊娠14週までの喫煙	なし	8.2±7.9	8.2±8.0	8.4±5.2	0.689
	あり	7.0±2.9	7.0±2.9	6.6±2.1	
<b>児</b>					
性別	男児	8.1±9.6	8.1±9.7	8.0±5.0	0.662
	女児	7.9±4.0	7.8±3.9	8.4±4.9	
	不分明	7.4±2.3	6.7±1.8	9.4±2.6	

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. 妊娠初期血清葉酸値, 葉酸サプリメント摂取開始時期, 妊娠初期の喫煙と先天性単  
発奇形との関連

		単発奇形			
		p値	Crude OR(95%CI)	p値	Ajusted OR(95%CI)
第1三分位	≤6.1 (ng/ml)		1.18(0.87-1.58)	0.184	1.25(0.90-1.72)
第2三分位	6.2-8.1	0.289	1.08(0.80-1.46)	0.541	1.10(0.80-1.54)
第3三分位	≥8.2	0.608	refrence		refrence
葉酸サプリメント摂取時期	使用なし		refrence		refrence
	妊娠前3ヶ月未満	0.423	0.56(0.14-2.29)	0.497	0.61(0.15-2.51)
	妊娠前3ヶ月未満	0.474	1.13(0.81-1.57)	0.57	1.11(0.78-1.59)
妊娠14週までの喫煙	なし		refrence		refrence
	あり	0.604	0.90(0.63-1.28)	0.786	0.95(0.64-1.40)

教育年数, 世帯収入, 妊娠時年齢, 出産歴で調整

## 妊娠初期(第1三半期)の母体血清葉酸濃度と流早産リスク等に関する研究

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

### 研究要旨

妊娠初期(第1三半期)の母体血清葉酸濃度と後期流産・早産，在胎週数，胎児発育に関連があるかについて，前向きコホート研究へ参加した5,075名の単胎妊婦で検討した。その結果，我が国の妊娠女性においては，妊娠初期の血清葉酸濃度は，これらの妊娠転帰と関連しないことが示唆された。

### 研究協力者

山田 俊  
(北海道大学病院周産母子センター)

### A. 研究目的

葉酸摂取が胎児二分脊椎の罹患率や再発率を低下させるとの報告があり(MRC Vitamin Study Group 1991, Czeizel 1992), 妊婦の葉酸摂取が多く国・地域で推奨されるようになってきている。葉酸は核酸の代謝に関わる補酵素であり，妊娠期には胎児成長・胎盤形成に伴い需要が増すと考えられる。栄養状態の悪い妊婦では，葉酸摂取により出生体重が増加することが観察されている(EK 1981)。葉酸は核酸の代謝に関わる補酵素であり，妊娠期には胎児成長・胎盤形成に伴い需要が増すと考えられる。栄養状態の悪い妊婦では，葉酸摂取により出生体重が増加することが観察されている(EK 1981)。葉酸はホモシステイン代謝にも関与しており，血清葉酸濃度と血清ホモシステイン値は負の相関を示す。高ホモシステイン血症は，流産や胎盤早期剥離，重症妊娠高血圧腎症と関連がある。第2三半期に葉酸が低いこと(16.3ng/ml)は早産リスクである(Sieggar-Ritz 2004)。

母体の妊娠初期の血清葉酸濃度と流早産・妊娠持続期間，出生体重に関連があることが推測されるが，明確なエビデンスは

得られてない。全般的な栄養状態や国・地域の生活習慣にも影響されると考えられることから，我が国の妊娠女性においてこれらについての関連の有無を明らかにすることは，適切な妊娠管理方法を行う上で有用である。

本研究では，我が国の妊娠女性において，妊娠初期(第1三半期)の血清葉酸濃度と後期流産・早産や在胎週数，胎児発育不全に関連があるかを検討することを目的とした。

### B. 研究方法

#### 1. 対象

北海道内の約40産科医療施設で実施した出生前向きコホート研究で同意を得られた妊婦のうち，2003年2月から2006年3月までに妊娠初期(第1三半期)の血清葉酸濃度を測定した5,075名を対象とした。

#### 2. 方法

母体血清葉酸濃度は化学発光免疫測定法(CLIA法)により(株)エスアールエルで測定した。対象者の属性(母年齢，妊娠前BMI，初経産，不妊治療，葉酸サプリメント摂取，喫煙，飲酒，年収など)は妊娠初期に実施した自記式調査票，出生時所見は新生児個票から得た。

母体血清葉酸濃度と以下の転帰との関連について解析した。

【転帰】①在胎週数②出生体重③後期流産・早産の有無④胎児発育不全の有無

後期流産は「妊娠 12 週以降 22 週未満の死産」、早産は「妊娠 22 週以降の生産」、胎児発育不全は「妊娠 22 週以降に分娩となった症例の中で、我が国の在胎週数別・性別・初経産別の出生時体格基準表(板橋ら 2010)において 10%タイル未満のもの(SGA)」とした。

ANOVA および  $\chi^2$  検定, Tukey HSD 検定, t-検定を用い,  $p < 0.05$  を有意水準とした。

(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

(1) 母の基本的属性と母体血清葉酸濃度・流早産

母年齢が高いほど血清葉酸濃度が高い傾向が認められた(Table 1-1)。葉酸サプリメント摂取群では、血清葉酸濃度が有意に高値であった(Table 1-2)。喫煙群では、血清葉酸濃度は有意に低かった。また、年収が高いほど血清葉酸濃度は高い傾向がみられた(Table 1-3)。

(2) 母体血清葉酸濃度四分位別の転帰

後期流産率と早産率、在胎週数、出生体重、SGA の割合は、血清葉酸濃度で分けた 4 群間でいずれも有意差を認めなかった(Table 2)。

(3) 在胎週数と母体血清葉酸濃度

在胎週数で分けた 4 群間で、在胎週数 37 週以上の群が、在胎週数 28-36 週の群よりも血清葉酸濃度が低かった(Table 3)。葉酸欠乏症に相当する血清葉酸濃度を示した 20 例(0.39%)のうち、19 例は満期産であり、出生体重は  $3132 \pm 321\text{g}$ (平均 $\pm$ 標準偏差)であった。

## D. 考察

海外からの報告には、妊娠初期の血清葉酸濃度が低いことと早産や胎児発育不全の関連を示唆したものが幾つかあるが、本研究の結果は両者の関連を示さなかった。我が国の早産率が低い水準であることや、妊婦の栄養摂取の特徴、妊娠管理が充実していることなどが、低い血清葉酸濃度が早産や胎児発育不全の危険因子とならないことの要因かもしれない。

本研究では、血清葉酸値は妊婦の担当医に報告しているが、介入すべき血清葉酸値の基準は統一されていないため、妊婦への対応は医師に任せられている。結果を知らせた後に、葉酸摂取が行われたかについて調査されていないが、葉酸値の低いことを指摘された妊婦が、葉酸を摂取したことが影響した可能性は否定できない。

## E. 結論

妊娠初期(第 1 三半期)の母体血清葉酸濃度と後期流産・早産、在胎週数、胎児発育に関連があるかについて、前向きコホート研究へ参加した 5,075 名の単胎妊婦で検討した。その結果、我が国の妊娠女性においては、妊娠初期の血清葉酸濃度は、これらの妊娠転帰と関連しないことが示唆された。

## 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

Table 1-1. Relationships between demographic characteristics, serum folate levels, late abortion, and preterm birth

		Serum folate level (nmol/L)	Late abortion	Preterm delivery
Overall	(n=5075)	18.4 ± 21.6	48 (1.0%)	220 (4.3%)
Maternal age (years)				
≤19	(n=46)	13.2 ± 4.0	0 (0.0%)	2 (4.4%)
20–29	(n=2370)	17.2 ± 8.1 †	18 (0.8%)	90 (3.8%)
30–39	(n=2565)	19.6 ± 29.2	27 (1.1%)	124 (4.8%)
≥40	(n=94)	19.5 ± 10.7	3 (3.2%)	4 (4.3%)
p-value		0.0004 <sup>b</sup>	0.0825 <sup>a</sup>	0.3626 <sup>a</sup>
prepregnancy BMI (kg/m <sup>2</sup> )				
<18.5	(n=899)	17.8 ± 11.0	9 (1.0%)	42 (4.7%)
18.5–24.9	(n=3528)	18.8 ± 25.0	31 (0.9%)	140 (4.0%)
≥25.0	(n=550)	17.3 ± 8.2	7 (1.3%)	37 (5.6%)
p-value		0.2082 <sup>b</sup>	0.6611 <sup>a</sup>	0.1617 <sup>a</sup>
Parity				
0	(n=1075)	18.2 ± 9.4	8 (0.7%)	46 (4.3%)
≥1	(n=2570)	18.3 ± 24.2	33 (1.3%)	107 (4.2%)
p-value		0.8855 <sup>b</sup>	0.1587 <sup>a</sup>	0.8739 <sup>a</sup>

a:  $\chi^2$ -test, b: ANOVA

BMI: Body mass index

†: p=0.0005 vs. age 30–39 years

Table 1-2. Relationships between demographic characteristics, serum folate levels, late abortion, and preterm birth

		Serum folate level (nmol/L)	Late abortion	Preterm delivery
Infertility treatment				
no	(n=4871)	18.3 ± 21.9	45 (0.9%)	208 (4.3%)
yes	(n=185)	20.8 ± 11.1	3 (1.6%)	10 (5.4%)
p-value		0.1246 <sup>b</sup>	0.3367 <sup>a</sup>	0.4556 <sup>a</sup>
Folate supplementation				
no	(n=4499)	16.9 ± 13.8	43 (1.0%)	194 (4.3%)
after conception	(n=389)	29.2 ± 59.2 ‡	4 (1.0%)	19 (4.9%)
before conception	(n=129)	36.0 ± 19.0 ¶	1 (0.8%)	5 (3.9%)
p-value		<0.0001 <sup>b</sup>	0.9888 <sup>a</sup>	0.4694 <sup>a</sup>

a:  $\chi^2$ -test, b: ANOVA

‡: p= 0.0089 vs. no folate supplementaion, ¶ : p<0.0001 vs. no folate supplementaion and folate supplementaion after conception



Table 1-3. Relationships between demographic characteristics, serum folate levels, late abortion, and preterm birth

		Serum folate level (nmol/L)	Late abortion	Preterm delivery
Smoking				
no	(n=2207)	19.5 ± 26.3	18 (0.8%)	99 (4.5%)
yes	(n=2820)	17.7 ± 17.2	30 (1.1%)	119 (4.2%)
p-value		0.0038 <sup>b</sup>	0.3691 <sup>a</sup>	0.646 <sup>a</sup>
Alcohol				
no	(n=1866)	17.8 ± 16.9	18 (1.0%)	92 (5.0%)
yes	(n=3167)	18.8 ± 18.0	30 (1.0%)	125 (4.0%)
p-value		0.1339 <sup>b</sup>	0.9512 <sup>a</sup>	0.0971 <sup>a</sup>
Annual income (USD)				
<36,585	(n=889)	17.2 ± 9.7	11 (1.2%)	33 (3.7%)
36,586–60,974	(n=1927)	18.4 ± 20.1	11 (0.6%)	87 (4.5%)
60,975–97,560	(n=1092)	19.7 ± 35.5	16 (1.5%)	47 (4.3%)
>97,561	(n=323)	20.2 ± 9.7	4 (1.2%)	13 (4.0%)
p-value		0.066 <sup>b</sup>	0.0817 <sup>a</sup>	0.7985 <sup>a</sup>

a:  $\chi^2$ -test, b: ANOVA

USD: United States Dollar, Exchange rate: 1 USD/ 82.00 Japanese Yen

Table 2. Preterm birth, gestational week at delivery, and fetal growth according to serum folate levels

Serum folate level (nmol/L)		Late abortion Preterm delivery	Gestational age at delivery (wk)	Birthweight (g)	SGA (<10%tile)
Overall	(n=5075)	268 (5.3%)	38.5 ± 2.9	3020 ± 485	7.1%
≤13.1	(n=1244)	71 (5.7%)	38.5 ± 3.0	3007 ± 474	5.5%
13.2–16.1	(n=1303)	72 (5.5%)	38.5 ± 3.1	3008 ± 528	7.6%
16.2–20.0	(n=1273)	60 (4.7%)	38.7 ± 2.4	3042 ± 447	6.8%
≥20.1	(n=1255)	65 (5.2%)	38.5 ± 2.8	3021 ± 487	8.4%
p-value		0.6928 <sup>†</sup>	0.2531 <sup>‡</sup>	0.2372 <sup>‡</sup>	0.1135 <sup>†</sup>

†:  $\chi^2$ -test, ‡: ANOVA

SGA: small for gestational age

Table 3. Serum folate levels according to gestational week at delivery

Gestational week at delivery (week)		Serum folate level (nmol/L)
Overall	(n=5075)	18.4 ± 21.6
14–21	(n=48)	17.3 ± 12.0
22–27	(n=12)	20.4 ± 10.9
28–36	(n=208)	22.3 ± 55.8
≥37	(n=4807)	18.2 ± 18.8 †

†: p<0.05 vs. 28–36 weeks

出生時体格に影響を及ぼす妊婦の受動喫煙曝露  
(Prenatal secondhand smoke exposure is associated with infant birth size)

研究代表者 岸 玲子 北海道大学環境健康科学研究教育センター センター長・特任教授  
研究分担者 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地域保健疫学分野 准教授

研究要旨

The hazardous effect of tobacco smoke exposure during pregnancy is a major public health concern. Maternal smoking has been associated with adverse birth outcomes. We investigated the association between secondhand smoke (SHS) exposure and infant birth size. A prospective cohort of 2,792 non-smoking Japanese pregnant women who delivered singleton babies at hospitals within Hokkaido Prefecture from 2003 to 2007 was conducted. Information on maternal and infants' characteristics, and lifestyle behaviors were gathered through self-administered questionnaires as well as hospital and birth records. Biochemical analysis of plasma cotinine was carried out using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) technique. Overall, an average increase in prenatal SHS exposure by about 0.66ng/mL, i.e. from 25<sup>th</sup> percentile (0.15ng/mL) to 75<sup>th</sup> percentile (0.81ng/mL) resulted in a mean reduction in birth weight of 61.4g (95% CI:-100.5, -22.3;  $p=0.002$ ), birth length of 0.6cm (95%CI:-0.9, -0.2;  $p=0.002$ ) and birth head circumference of 0.6cm (95%CI:-1.0, -0.1;  $p=0.007$ ). The corresponding exposure brought about a mean birth weight deficit of 70g (95%CI:-124.9, -15.2;  $p=0.012$ ) and head circumference deficit of 0.5cm (95%CI: -1.0, -0.03;  $p=0.037$ ) in male infants and a birth length decrease of 0.8cm (95%CI:-1.3, -0.2;  $p=0.011$ ) in female infants. This study concluded that maternal tobacco smoke exposure during pregnancy through passive route has negative effects on infant birth size especially the males.

研究協力者

Braimoh Titilola, 宮下 ちひろ  
馬場 俊明, 樫野 いく子  
岡田 恵美子, 小林 澄貴  
伊藤 久美子  
(北海道大学大学院医学研究科  
予防医学講座公衆衛生学分野)  
Yila Thamar  
(北海道大学環境健康科学研究教育センター)

A. 研究目的

Maternal active smoking is associated with adverse pregnancy and birth outcomes such as placenta previa, abruptio placentae, ectopic pregnancy, spontaneous abortion, preterm delivery, low birth weight and perinatal mortality. Results of few studies on the negative effects of secondhand smoke (SHS) exposure on

birth outcomes are not clearly defined. Lack of clarity is probably due to the evaluation of SHS exposure using only self-administered questionnaires, measurement of cotinine levels in body fluids during the early gestation or failure to control for gestational age, a major determinant of birth weight.

In order to improve the reliability and validity of assessments by self-reported questionnaires, the use of biomarkers have been recently introduced. Cotinine, a widely studied biomarker, is a main metabolite of nicotine which can be found in blood, saliva, hair or urine analysis of SHS-exposed nonsmoker. Given the high prevalence of smoking among the Japanese men and the reluctance of most husbands to quit smoking during their wives' pregnancy, nonsmoking pregnant women in Japan are at a risk of exposure to SHS especially at home. The impact of SHS exposure on the unborn fetus remains a significant public health concern as birth size of a newborn greatly determines its survival, perinatal morbidity and adulthood health conditions.

Gender-specific difference in the effect of environmental pollutants on birth outcomes has been recently reported but with inconsistent results. Birth weight of male infants was more negatively affected by prenatal toxic exposure such as smoking, lead and airborne fine particles than the females. Contrariwise, maternal smoking during pregnancy has higher

significantly negative influence on the mean birth weight and risk of small for gestational age (SGA) in newborn girls than in boys. In this study, we investigated the effects of maternal exposure to SHS during pregnancy on birth size using plasma cotinine concentrations as a biomarker for nicotine exposure. Gender-specific difference in fetal growth reduction was also assessed.

## B. 研究方法

A total of 2972 Japanese pregnant women were recruited from 2003 to 2007 from the ongoing "Hokkaido study on Environment and Children's Health". Vital information were gathered from baseline self-administered questionnaires, infants' hospital birth records and post-partum self-administered questionnaires. Biochemical analysis of maternal blood specimens collected during the third trimester was carried out through enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) technique (Cosmic Corporation, Japan) with a limit of detection of 0.12ng/mL.

Briefly, the ELISA 96-well plates coated with a rabbit anti-cotinine-4-bovine- $\gamma$ -globulin polyclonal antibody were first incubated with 1% bovine serum albumin (BSA) after which 25 $\mu$ l of blood plasma samples and 100 $\mu$ l horseradish peroxidase-labeled (HRP) cotinine were added. The mixture was left to incubate at 20-25°C for 1 hour. Subsequent to three