

## 分担研究報告書

### 油症曝露による健世代健康影響に関する研究 油症患者における AhR 遺伝子多型と児への健康影響（流産、胎児死亡、性別） との関連-

研究分担者 月森 清巳 福岡市立こども病院 周産期センター長

**研究要旨** 油症患者におけるダイオキシン類受容体(AhR)遺伝子多型と児への健康影響（流産、胎児死亡、性別）との関連について検討した。油症発生後に妊娠した油症患者 59 例(142 妊娠)における AhR 遺伝子多型(130bp C/T 一塩基多型)の頻度は、C/C 型が 53 妊娠(37.3%)、C/T 型が 71 妊娠(50.0%)、T/T 型が 18 妊娠(12.7%)であった。油症発生前 10 年間に妊娠した油症患者 50 例(102 妊娠)における AhR 遺伝子多型の頻度(C/C 型 47.1%、C/T 型 46.1%、T/T 型 6.9%)と比較して有意な差はなかった。油症発生後に妊娠した油症患者における児への健康影響としては、人工流産が 15 例(10.6%)、自然流産が 19 例(15.0%)、胎児死亡（自然流産+死産）が 22 例(17.3%)に認められた。油症発生前の発症頻度と比較すると、人工流産は 1.89 倍、自然流産は 1.94 倍、胎児死亡は 1.47 倍増加したが、有意な差はなかった。油症発生後の児への健康影響(人工流産、自然流産、胎児死亡、男児出生)の有無と AhR 遺伝子多型(C/C 型、C/T 型、T/T 型の各遺伝子型の頻度)との関連について検討したが、いずれの健康影響においても明らかな傾向はなかった。

#### A . 研究目的

ダイオキシン類は主として細胞内受容体であるダイオキシン類受容体(AhR)との結合を介して毒性を発揮すると考えられている。最近、AhR のプロモータ領域(-130bp)には一塩基多型(SNP)が存在し、T/T 型では C/C 型と比較し 1.75 倍のプロモータ活性の亢進が認められることが明らかとなった<sup>1,2)</sup>。これらのことから AhR 遺伝子多型によりダイオキシン類に対する感受性が異なる可能性が考えられる。

これまでのカネミ油症患者より出生した児の健康影響の観察から、油症発生から 10 年以内の妊娠では流産、早産、胎児死亡の発症頻度が増加すること<sup>3)</sup>、母親が 20 歳未満で曝露した場合、女系の 2 世、3 世では男児の出生割合が有意に低いこと<sup>4)</sup>が明らかとなった。しかしながら、これら油症曝露による次世代への健康影響の

発現機序は明らかとなっていない。

そこで、本研究では、油症患者における AhR 遺伝子多型と児への健康影響（流産、胎児死亡、性別）との関連について検討した。

#### B . 研究方法

調査対象：カネミ油症発生後に妊娠・出産となった油症患者 59 例(142 妊娠)を対象とし、コントロール(対照)には油症発生前 10 年間に妊娠した油症患者 50 例(102 妊娠)を用いた。

調査方法：

アンケート調査：対象群 59 例と対照群 50 例の妊娠・分娩情報(経妊産回数、分娩時年齢、分娩日、分娩時妊娠週数、魚介類摂取回数)と児の健康情報(流産・早産・胎児死亡、出生児の性別)を得た。

ダイオキシン類受容体(AhR)遺伝子多型の解析:対象群 59 例と対照群 50 例より血液を採取し、リンパ球を分離した後、DNA を抽出し、AhR プロモータ領域(-130bp)の C/T 一塩基多型(SNP)を解析した。

解析方法:

、 の調査結果をもとにカネミ油症患者における児への健康影響(人工流産、自然流産、胎児死亡、男児出生割合)と母体 AhR 遺伝子多型との関連について解析した。統計学的解析には、<sup>2</sup>検定を用いた。(倫理面への配慮)

本研究については、福岡市立こども病院倫理委員会(承認番号 62)、九州大学医系地区部局臨床研究倫理審査委員会(承認番号 20-58)および九州大学医系地区部局ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会(許可番号 451-00)の承認を得た後、実施した。本研究を開始する前に対象者全員よりインフォームドコンセントを得た。

## C . 研究結果

カネミ油症発生後の油症患者における児への健康影響としては、人工流産が 15 例(10.6%)、自然流産が 19 例(15.0%)、胎児死亡(自然流産+死産)が 22 例(17.3%)に認められた(表 1)。油症発生前の発症頻度と比較すると、人工流産は 1.89 倍、自然流産は 1.94 倍、胎児死亡は 1.47 倍増加したが、有意な差はなかった。また、油症発生から 10 年間、発生から 10-20 年、発生から 20 年以降の 3 つの時期に分類し、児への健康影響について検討すると、各時期における人工流産、自然流産、胎児死亡の発症頻度は油症発生前の頻度と比べて有意な差はなかった。

カネミ油症発生後に油症患者から出生した児における男児出生割合は 0.55 で、general population の割合 0.514 と比較して有意な差はなかった。油症発生から 10 年間、発生から 10-20 年、発生から 20 年以

降の 3 つの時期における男児出生割合も、general population の割合と比較して有意な差はなかった。

カネミ油症発生後に妊娠した油症患者 142 妊娠における AhR 遺伝子多型の頻度は、C/C 型が 53 例(37.3%)、C/T 型が 71 例(50.0%)、T/T 型が 18 例(12.7%)に認められた(図 1)。油症発生前の頻度(C/C 型 47.1%、C/T 型 46.1%、T/T 型 6.9%)と比較して有意な差はなかった( $p=0.173$ )。

各 AhR 遺伝子型における児への健康影響の発生頻度を検討すると、各々の AhR 遺伝子型において人工流産、自然流産、胎児死亡の発症頻度や男児出生割合は油症発生前の頻度と比べて有意な差はなかった(表 2)。

油症発生後に妊娠した油症患者における人工流産、自然流産、胎児死亡の発症の有無と AhR 遺伝子多型との関連について検討すると、人工流産、自然流産、胎児死亡を発症した各々の群において各遺伝子型の頻度は発症しなかった群の頻度と比較して有意な差はなかった(図 2)。また、出生児が男児であった群における各遺伝子型の頻度は女児であった群の頻度と比較して有意な差はなかった。

## D . 考察

健常者の女性 130 人における AhR 遺伝子多型(130bp C/T 一塩基多型)の頻度は、C/C 型が 57 例(46.9%)、C/T 型が 61 例(46.9%)、T/T 型が 12 例(9.2%)であることが報告されている<sup>1)</sup>。T/T 型では C/C 型に比し、AhR mRNA、蛋白量もそれぞれ 1.75、2 倍発現亢進すること、さらに AhR 下流における IL1 及び IL24 発現も亢進することが報告されている<sup>2)</sup>。また、油症患者における AhR 遺伝子多型と IL24 血中濃度との関連に関する検討では、T/T 型における IL24 血中濃度は  $180.9 \pm 43.2$  pg/mL で C/C 型の  $59.1 \pm 15.8$  pg/mL と比して有意に高値であることが示されている<sup>2)</sup>。これらの成績から

AhR 遺伝子多型によりダイオキシン類に対する感受性が異なる可能性が考えられる。

今回の検討では、油症発生後に妊娠した油症患者 59 例(142 妊娠)においては、AhR 遺伝子多型の頻度は油症発生前の頻度と有意な差はないこと、児への健康影響(人工流産、自然流産、胎児死亡、男児出生)の有無と AhR 遺伝子多型との間に明らかな傾向はみられないことが示された。このように母体の AhR を介する遺伝的感受性と児の健康影響との関連は観察されなかった。しかしながら、今回の検討では、油症患者より出生した児の健康影響として、流産や胎児死亡の頻度の増加や男児出生割合の低下が観察できなかったため、今後さらに症例数を増やして AhR 遺伝子多型と流産、胎児死亡の頻度や男児出生割合との関連を検討していく必要があると考えられた。

## E . 結論

カネミ油症発生後に妊娠した油症患者 59 例(142 妊娠)における観察では、母体 AhR 遺伝子多型と人工流産、自然流産、胎児死亡の頻度や男児出生割合との間に明らかな傾向はみられなかった。

## 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

- 1 . 特許取得  
なし
- 2 . 実用新案登録  
なし
- 3 . その他  
なし

## H . 参考文献

- 1) Li D, et al. Inhibition of AHR transcription by NF1C is affected by a single-nucleotide polymorphism, and is involved in suppression of human uterine endometrial cancer. *Oncogene* 32(41):4950-4959, 2013.
- 2) Liu G, et al. Aryl hydrocarbon receptor SNP -130 C/T associates with dioxins susceptibility through regulating its receptor activity and downstream effectors including interleukin 24. *Toxicol Lett* 232(2):384-392, 2015.
- 3) Tsukimori K, et al. Long-term effects of polychlorinated biphenyls and dioxins on pregnancy outcomes in women affected by the Yusho incident. *Environ Health Perspect* 116(5):626-630, 2008.
- 4) Tsukimori K, et al. Sex ratio in two generations of the Yusho cohort. *Epidemiology* 23(2):349-350, 2012.

表 1 油症患者における児への健康影響の発生頻度

健康影響	油症発生前 10年間	油症発生後			
		総数	発生から10年間	発生から10-20年	発生から20年以降
人工流産	5.9%(6/102)	10.6%(15/142)	13.6%(11/81)	10.0%(4/40)	0%(0/21)
	Ref	1.89(0.71-5.05)	2.51(0.89-7.12)	1.78(0.47-6.67)	NA
		p=0.250	p=0.122	p=0.468	p=1.000
自然流産	8.3%(8/96)	15.0%(19/127)	12.9%(9/70)	13.9%(5/36)	23.8%(5/21)
	Ref	1.94(0.81-4.63)	1.62(0.59-4.44)	1.77(0.54-5.83)	3.44(0.99-11.85)
		p=0.151	p=0.438	p=0.340	p=0.056
胎児死亡	12.5%(12/96)	17.3%(22/127)	15.7%(11/70)	13.9%(5/36)	28.6%(6/21)
	Ref	1.47(0.69-3.14)	1.31(0.54-3.16)	1.13(0.37-3.47)	2.80(0.91-8.61)
		p=0.352	p=0.651	p=0.779	p=0.091
男児出生割合*	0.50(40/80)	0.55(55/100)	0.60(35/58)	0.45(13/29)	0.54(7/13)
	0.95(0.51-1.76)	1.16(0.66-2.01)	1.44(0.69-3.00)	0.77(0.27-2.16)	1.10(0.24-5.15)
	p=1.000	p=0.671	p=0.455	p=0.793	p=1.000

Data are shown as %(n/N) and OR (95%CI) .

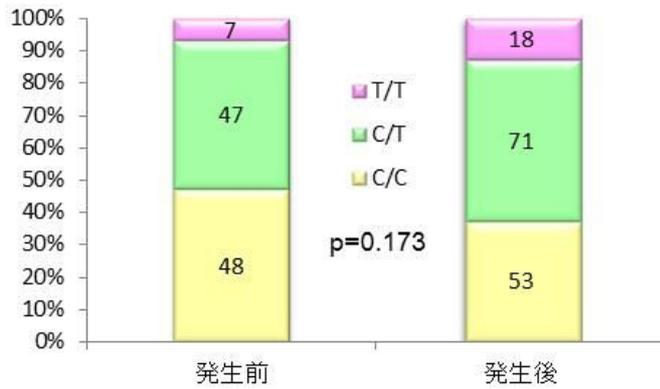
\*Data are shown as sex ratio (proportion of male births) (n/N) and OR (95%CI) against an expected sex ratio of 0.514.

表 2 各遺伝子型における児への健康影響の発生頻度

健康影響	AhR SNP	油症発生前 10年間	油症発症後			
			総数	発症から10年間	発症から10-20年	発症から20年以降
人工流産	C/C	8.3%(4/48)	11.3%(6/53)	20.0%(6/30)	0%(0/16)	0%(0/7)
		Ref	1.40(0.37-5.31)	2.75(0.71-10.71)	NA	NA
			p=0.744	p=0.171	p=0.565	p=1.000
	C/T	4.3%(2/47)	12.7%(9/71)	11.1%(5/45)	19.0%(4/21)	0%(0/5)
		Ref	3.27(0.67-15.85)	2.81(0.52-15.31)	5.29(0.89-31.61)	NA
			p=0.196	p=0.262	p=0.068	p=1.000
	T/T	0%(0/7)	0%(0/18)	0%(0/6)	0%(0/3)	0%(0/9)
		Ref	NA	NA	NA	NA
			p=1.000	p=1.000	p=1.000	p=1.000
自然流産	C/C	6.8%(3/44)	10.6%(5/47)	4.2%(1/24)	12.5%(2/16)	28.6%(2/7)
		Ref	1.63(0.37-7.25)	0.59(0.06-6.05)	1.95(0.30-12.91)	5.47(0.73-41.03)
			p=0.715	p=1.000	p=0.602	p=0.133
	C/T	11.1%(5/45)	19.4%(12/62)	20.0%(8/40)	17.6%(3/17)	20.0%(1/5)
		Ref	1.92(0.62-5.90)	2.00(0.60-6.71)	1.71(0.36-8.12)	2.00(0.19-21.62)
			p=0.294	p=0.367	p=0.673	p=0.487
	T/T	0%(0/7)	11.1%(2/18)	0%(0/6)	0%(0/3)	22.2%(2/9)
		Ref	NA	NA	NA	NA
			p=1.000	p=1.000	p=1.000	p=0.475
胎児死亡	C/C	13.6%(6/44)	14.9%(7/47)	12.5%(3/24)	12.5%(2/16)	28.6%(2/7)
		Ref	1.11(0.34-3.60)	0.90(0.21-3.99)	0.90(0.16-5.02)	2.53(0.40-16.15)
			p=1.000	p=1.000	p=1.000	p=0.300
	C/T	13.3%(6/45)	19.4%(12/62)	20.0%(8/40)	17.6%(3/17)	20.0%(1/5)
		Ref	1.56(0.537-4.53)	1.63(0.51-5.17)	1.39(0.31-6.33)	1.63(0.15-17.10)
			p=0.447	p=0.560	p=0.696	p=0.546
	T/T	0%(0/7)	16.7%(3/18)	0%(0/6)	0%(0/3)	33.3%(3/9)
		Ref	NA	NA	NA	NA
			p=0.534	p=1.000	p=1.000	p=0.213
男児出生割合	C/C	0.53(18/34)	0.51(20/39)	0.52(11/21)	0.46(6/13)	0.60(3/5)
		1.06(0.41-2.76)	0.99(0.41-2.42)	1.04(0.31-3.49)	0.81(0.17-3.78)	1.42(0.12-17.37)
		p=1.000	p=1.000	p=1.000	p=1.000	p=1.000
	C/T	0.49(19/39)	0.57(27/47)	0.65(20/31)	0.46(6/13)	0.33(1/3)
		0.90(0.37-2.18)	1.28(0.57-2.88)	1.72(0.62-4.76)	0.81(0.17-3.78)	0.47(0.02-12.81)
		p=1.000	p=0.679	p=0.440	p=1.000	p=0.950
	T/T	0.43(3/7)	0.57(8/14)	0.67(4/6)	0.33(1/3)	0.60(3/5)
		0.71(0.09-5.83)	1.26(0.28-5.59)	1.89(0.18-19.50)	0.47(0.02-12.81)	1.42(0.12-17.37)
		p=0.999	p=1.000	p=0.992	p=0.950	p=1.000

Data are shown as %(n/N) and OR (95%CI) .

\*Data are shown as sex ratio (proportion of male births) (n/N) and OR (95%CI) against an expected sex ratio of 0.514.



AhR SNP	発生前	発生後	計
T/T	7(6.9%)	18(12.7%)	25(10.2%)
C/T	47(46.1%)	71(50.0%)	118(48.4%)
C/C	48(47.1%)	53(37.3%)	101(41.4%)
計	102(100%)	142(100%)	244(100%)

図 1 油症患者における AhR 遺伝子多型の頻度 (妊娠あたり)

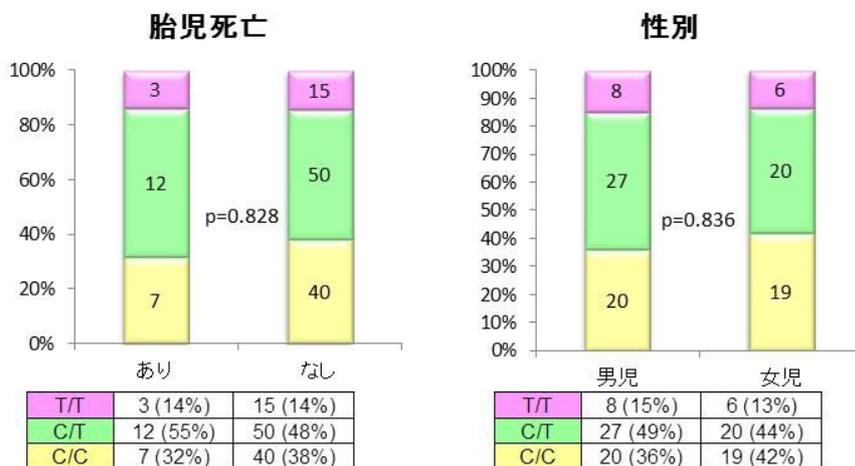
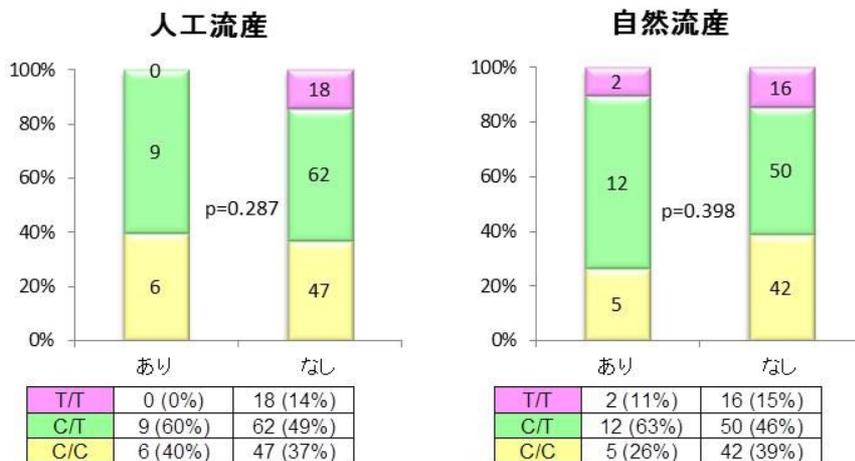


図 2 油症患者における児への健康影響と AhR 遺伝子多型の頻度