

遺伝子解析研究計画書

課題名	鉛及びヒ素などの食品汚染物質の実態調査とその健康影響に関する研究 Health risk assessment of dietary intake of lead and arsenic			
研究責任者 (申請者)	所属	環境予防医学講座	職名	教授
	氏名	香山 不二雄		

1 試料・情報提供者の選定方針

<ul style="list-style-type: none"> 低濃度の鉛及びヒ素曝露でも健康影響が危惧される胎児、小児を調査対象とする。母親（妊婦）血液中当該物質を測定することで、胎内曝露量を検討し、臍帯血で出生時の児の曝露量を評価する。また、小児血液中当該物質濃度で曝露量を評価する。 3歳児の血中鉛濃度が神奈川県に比べ旭川市で高いことを旭川医科大学吉田貴彦らは報告しており、日本国内は高濃度暴露群として旭川市近郊と対照群として研究責任者の所属がある下野市近郊を調査地域とした。 インダス川流域（パキスタン）では地下水中ヒ素濃度が高く、飲料水及び食品からのヒ素曝露が高いことが想定される。 パキスタンの女性は新生児期から硫化鉛を含むスルマ（化粧品）をアイシャドーの様に使用しており、スルマの使用による意図しない新生児の経口摂取の可能性がある。また、パキスタン・カラチ市内では、依然、一部の自動車で有鉛ガソリンが使用されているので、鉛曝露の高い環境である。 下野市近郊の被験者は、胎児の他に18～48月齢の小児がいる妊婦であり、かつ自治医科大学附属病院産科（下野市）、木村クリニック（下野市）、樹レディースクリニック（小山市）、和田マタニティクリニック（下野市）、やまなかレディースクリニック（小山市）、池羽レディースクリニック（結城市）、こいけレディースクリニック（宇都宮市）のいずれかを受診し出産する予定である妊婦とする。ただし、本人に同意がとれる20歳以上の妊娠女性に限る。 旭川市近郊では、旭川医科大学の共同研究者が、エコチル調査のリクルートが終わる平成26年3月までは小児科医院で、それ以降は小児科、産科医院、附属病院産科にて、同様の条件でリクルートを行う。 パキスタンでは、アガカーン大学医学部地域医療学の共同研究者により、カラチ市内およびシンド州 Khairpur 近郊の産科施設で、同様の条件の妊婦をリクルートする。

2 研究の意義、目的、方法、期間、予測される結果・危険・不利益、個人情報保護の方法

(1) 意義

<p>国際比較では、我が国の平均的な鉛及びヒ素の曝露量は低い。しかし、上水道に敷設された鉛管が残存することや、土壌中鉛濃度の高い地域の問題がある。また、日本はヒジキなどのホンダワラ科海藻中の高い無機ヒ素を摂取している状況や、井戸水及び米中の無機ヒ素の高い報告例がある。鉛及びヒ素は胎盤を通過するため、鉛の消化管吸収率が小児期に特に高いため、胎児及び小児が当該物質曝露による健康影響のハイリスク集団である。</p>
--

10 μ g/dL 以下の血中鉛濃度と小児のIQ低下との相関は、これまでの調査では明らかにされていない。しかし、出生前後の低濃度鉛曝露により将来、小児のIQが低下することが危惧され、FAO/WHO 合同食品添加物専門会議(JECFA)、European Food Safety Authority (EFSA) などで耐容摂取量の再評価が予定されている。我が国の内閣府食品安全委員会でも、鉛及びヒ素の耐容摂取量に関する審議が予定されており、再評価と新たな耐容摂取量の設定のために、評価に資する疫学調査が必要である。

胎児期及び幼児期における低濃度の鉛及び無機ヒ素曝露の影響評価の可能なバイオマーカーの検索が喫緊の課題である。さらに、食生活や当該物質の曝露経路及びヒ素の化学型分布が欧米とは大きく異なるため、我が国の曝露実態調査とその影響評価とが必要である。

当研究計画では、当該物質の曝露の高いパキスタンの生体試料を用いて、各組織における遺伝子やマイクロRNA(miRNA)の発現制御に関わるDNAメチル化などのエピジェネティック変異パターンの解析および発現解析を行い、鉛及びヒ素曝露がエピゲノムと遺伝子発現に与える影響について調べる。また、日本における低濃度曝露群でも同様のエピジェネティック変異が起こるか否かを確認することにより、鉛及びヒ素の耐容摂取量を低減させるべきかどうか、判断する知見となり得る。

(2) 目的

1. 母親(妊婦)、胎児及び小児の鉛及びヒ素曝露を把握する目的で、飲料水・陰膳を収集し、鉛及びヒ素濃度を測定し、経口曝露量を評価する。また、室内のハウスダスト中鉛濃度を測定し、経気道曝露量も算定する。
2. また、毛髪、爪、臍帯血、末梢血中、尿中の鉛及びヒ素濃度を測定することにより、当該物質への生体負荷量を求める。
3. 調査地域は、国内では、鉛及びヒ素曝露が高い可能性のある旭川市近郊、及び低いと想定される下野市近郊とする。パキスタンでは、鉛曝露の高いカラチ市、及びヒ素曝露が高いインダス川流域 Khairpur 近郊とする。
4. 鉛及びヒ素の異なる曝露レベルの集団の臍帯血、胎盤、及び小児末梢血の遺伝子発現及びエピジェネティック変異について解析し、当該物質曝露との相関を検討する。
5. ハウスダスト中のアレルゲン調査、母親の口腔衛生調査をあわせて実施する。

(3) 方法

【リクルート方式】栃木県下野市近郊に住む自治医科大学附属病院産科、木村クリニック、樹レディースクリニック、和田マタニティクリニック、やまなかレディースクリニック、池羽レディースクリニック、こいけレディースクリニックのいずれかを受診し、同施設で出産予定の妊婦であり、すでに18-48 月齢の小児をもつ母親を調査対象者とし、母親(妊婦)、出生児、小児(兄姉)の1名を被験者とする。共同で調査する旭川医科大学では、旭川市近郊の産科医院および小児科で、同様の条件の妊婦をリクルートする。パキスタンでは、アガカーン大学の共同研究者が、カラチ市内およびシンド州 Khairpur の産科施設でリクルートする。3年間の調査期間中に旭川市近郊、下野市近郊、カラチ市、Khairpur 近

郊でそれぞれ50組の家族の被験者、200組600名を被験者とする。因みに、環境省エコチル調査の対象者は除外する。

【生活習慣調査】母親の既往歴、喫煙やアルコール摂取、食習慣、家庭環境や妊娠経過などに関する生活習慣および小児の生活習慣に関して、質問票および調査票を用いて調査する。

【曝露評価】鉛及びヒ素の曝露量評価は、研究者が妊婦の家庭訪問をして、飲料水、3日間の陰膳、掃除機によるハウスダストの収集などの実施方法を説明する。井戸水または上水道中の鉛及びヒ素濃度、ハウスダスト中の鉛、母親および小児の3日間陰膳食品中の鉛およびヒ素濃度を調べ、当該物質への経口曝露量を求め、国際基準との比較を行う。また、掃除機により収集されたハウスダスト中の鉛濃度を測定し、経口曝露の一部や経気道暴露として評価する。また、気中鉛濃度の高いパキスタンでは、地上50cmで、ローボリューム・エアサンプラーを用いて24時間室内大気中吸入性粉じんを収集して、小児の吸入曝露量として評価する。

【生体負荷量評価】とちぎ子ども医療センターにて、医師による母親、小児（兄姉）から5mlの採血及び20mlの採尿を実施する。母親および児の毛髪100本を頭皮に近いところで切断し採取し、母親および児の爪少量を採取する。また、出産時に臍帯血を採取する。妊婦と児との毛髪、爪、血液、尿、臍帯血中鉛及びヒ素濃度を測定して、生体負荷量を調べる。

遺伝子のエピジェネティック変異に影響を与える生体内葉酸レベルを、母親および児の血中葉酸濃度、臍帯血中葉酸濃度を測ることにより評価する。

【健康影響】鉛及びヒ素への曝露が発達中の胎児・小児に与える影響のバイオマーカーとして、これまでに発現変化の報告例がある遺伝子やマイクロRNA(miRNA)に加え、新生児期の神経発達、呼吸器発達に関わる遺伝子や発がんに関わる遺伝子などについて、その発現を制御するDNAメチル化などのエピジェネティック変異の解析を実施し、日本国内の低曝露群とパキスタンの高曝露群の比較を行う。特に臍帯血からは、CD34陽性細胞を磁気ビーズにより分離し、メチル化解析を行う。また、CD34陽性細胞の回収効率を確認するために、人CD34細胞を理化学研究所バイオリソースセンターより購入して確認作業を行う。さらに詳細なエピジェネティック変異の解析が必要な場合は、匿名化された代表的な試料を用いて、マイクロアレイや大規模シーケンズなどを利用したゲノムワイドなエピゲノム解析を外部分析機関にて行う。また、発がん関連遺伝子群の変異とヒ素及び鉛曝露との関連性を検討するために、臍帯血DNA、胎盤DNAおよび母体末梢血DNAを用いて、母子間での遺伝子多型やエピジェネティック変異を解析する。ヒ素、鉛への曝露によって発現制御領域に遺伝子多型やエピジェネティック変異が生じている遺伝子やmiRNAが発見された場合、代表的なサンプルを用いてRT-PCR、real time PCR、マイクロアレイなどによる遺伝子発現解析を行い、遺伝子多型の出現やエピジェネティック変異が遺伝子発現に与える影響について検討する。

小児の血清中特異的IgE（食物アレルゲン；卵白、牛乳、小麦、米など。室内アレルゲン；ハウスダスト、コナヒョウヒダニ、ヤケヒョウヒダニなど。屋外アレルゲン；スギ花粉（シラカバ花粉）、ブタクサなど）について調べて、鉛およびヒ素曝露等の環境要因と関連性を検討する。

【添付文書1】計画書

小児（兄姉）の精神身体発達の評価指標として、国内およびパキスタンでは、Bayley-III 発達検査を実施して、曝露レベルとの関連性を検討する。

母親の唾液を採取し、口腔内細菌を解析し、口腔衛生と鉛およびヒ素曝露等の環境要因と関連性を検討する。

【被験者への謝礼】調査協力への謝礼を渡す。母と小児の陰膳収集および小児の発達調査協力への謝礼として、2万円を支払う。調査結果の報告することを、研究に協力して頂くためのインセンティブとする。すなわち、陰膳中、生体試料中、ハウスダスト中の鉛及びヒ素濃度、臍帯血中葉酸濃度、小児の血清中特異的IgE抗体価を調べ、簡単な解説を付けて郵送で報告する。また、新版K式発達検査を受けた場合は、検査結果を報告し、発達に問題があった場合は、自治医大とちぎ子ども医療センター外来に紹介する。

（4）期間

許可を得てから平成29年3月31日まで（リクルートは目標人数に達すれば終了）
遺伝子解析、統計解析、論文作成は平成31年3月31日まで

（5）予測される結果・危険・不利益

国内での鉛及び無機ヒ素の低い曝露レベルでも、健康影響の可能性はあるか確認するが、影響のない可能性も高い。しかし、鉛及びヒ素のハイリスク集団である小児及び胎児リスク評価を行うことが出来る。また、パキスタン・カラチ市の鉛高曝露群とインダス川流域のヒ素高曝露群と、日本国内の下野市近郊の微量曝露群と旭川市近郊の低曝露群とを比較することで、当該物質の高濃度から微量曝露の生体影響を検証することができ、厚生行政におけるリスク管理に資することが出来る。

小児の5mlの採血は、本人に採血することを説明した上で、局麻剤を含むクリーム（エムラクリーム）を塗って、小児の採血になれた小児科医または看護師により、痛みやストレスが出来るだけ少なくなるように行う。髪、爪、尿の採取量は少量である。臍帯血および胎盤の採取は、出産後の胎児が分離された後に行うので、新生児に危険はない。母親の採血は医師または看護師が行い、臍帯血採取、小児の採血は、国内ではそれぞれ産科医、小児科医、小児科看護師が実施し、パキスタンでは助産師及びプライマリケア医が採取し、採取量も少量である。

（6）個人情報の保護の方法

試料等は、本学の個人情報管理者に依頼して連結可能匿名化したうえで、研究に使用する。データは、研究責任者が環境予防医学においてそれぞれパスワードを設定したファイルに記録し、CDに保存して、鍵の掛かるキャビネットに保管する。同意書も同様に鍵の掛かるキャビネットに保管する。匿名化されたDNA等の試料は、フリーザーに施錠して保管する。

3 試料・情報の種類、量、予定人数

地域	種類	量	予定人数	測定項目
下野市	母親末梢血	5 ml	80 名	DNA, RNA 解析, 葉酸, ヒ素, 鉛
	臍帯血	20 ml	80 名	DNA, RNA 解析, 葉酸, ヒ素, 鉛
	兄弟末梢血	5 ml	80 名	DNA, RNA 解析, 葉酸, ヒ素, 鉛, アレルギー検査
	胎盤	20 g	80 検体	DNA, RNA 解析
	母親頭髮	100 本	80 検体	ヒ素、鉛
	母親爪	少量	80 検体	ヒ素、鉛
	母親尿	20 ml	80 検体	ヒ素、鉛
	母親唾液	3 ml	80 検体	細菌解析
	兄弟頭髮	100 本	80 検体	ヒ素、鉛
	兄弟爪	少量	80 検体	ヒ素、鉛
	兄弟尿	20 ml	80 検体	ヒ素、鉛
	飲料水	20 ml	80 検体	ヒ素、鉛
	陰膳 (各自)	3 日間	160 検体	ヒ素、鉛
	ハウスダスト	7 日間	80 検体	鉛
旭川市	母親末梢血	5 ml	20 名	DNA, RNA 解析, 葉酸, ヒ素, 鉛
	臍帯血	20 ml	20 名	DNA, RNA 解析, 葉酸, ヒ素, 鉛
	兄弟末梢血	5 ml	20 名	DNA, RNA 解析, 葉酸, ヒ素, 鉛, アレルギー検査
	胎盤	20 g	20 検体	DNA, RNA 解析
	母親頭髮	100 本	20 検体	ヒ素、鉛
	母親爪	少量	20 検体	ヒ素、鉛
	母親尿	20 ml	20 検体	ヒ素、鉛
	母親唾液	3 ml	20 検体	細菌解析
	兄弟頭髮	100 本	20 検体	ヒ素、鉛
	兄弟爪	少量	20 検体	ヒ素、鉛
	兄弟尿	20 ml	20 検体	ヒ素、鉛
	飲料水	20 ml	20 検体	ヒ素、鉛
	陰膳 (各自)	3 日間	40 検体	ヒ素、鉛
	ハウスダスト	7 日間	20 検体	鉛
パキスタン カラチ市	母親末梢血	5 ml	50 名	DNA, RNA 解析, 葉酸, ヒ素, 鉛
	臍帯血	20 ml	50 名	DNA, RNA 解析, 葉酸, ヒ素, 鉛
	兄弟末梢血	5 ml	50 名	DNA, RNA 解析, 葉酸, ヒ素, 鉛, アレルギー検査
	胎盤	20 g	50 検体	DNA, RNA 解析
	母親頭髮	100 本	50 検体	ヒ素、鉛
	母親爪	少量	50 検体	ヒ素、鉛

【添付文書1】計画書

	母親尿	20 ml	50 検体	ヒ素、鉛
	母親唾液	3 ml	50 検体	細菌解析
	兄弟頭髮	100 本	50 検体	ヒ素、鉛
	兄弟爪	少量	50 検体	ヒ素、鉛
	兄弟尿	20 ml	50 検体	ヒ素、鉛
	飲料水	20 ml	50 検体	ヒ素、鉛
	陰膳（各自）	3 日間	100 検体	ヒ素、鉛
	ハウスダスト	7 日間	50 検体	鉛
パキスタン Khairpur 近郊	母親末梢血	5 ml	50 名	DNA, RNA 解析, 葉酸, ヒ素, 鉛
	臍帯血	20 ml	50 名	DNA, RNA 解析, 葉酸, ヒ素, 鉛
	兄弟末梢血	5 ml	50 名	DNA, RNA 解析, 葉酸, ヒ素, 鉛, アレルギー検査
	胎盤	20 g	50 検体	DNA, RNA 解析
	母親頭髮	100 本	50 検体	ヒ素、鉛
	母親爪	少量	50 検体	ヒ素、鉛
	母親尿	20 ml	50 検体	ヒ素、鉛
	母親唾液	3 ml	50 検体	細菌解析
	兄弟頭髮	100 本	50 検体	ヒ素、鉛
	兄弟爪	少量	50 検体	ヒ素、鉛
	兄弟尿	20 ml	50 検体	ヒ素、鉛
	飲料水	20 ml	50 検体	ヒ素、鉛
	陰膳（各自）	3 日間	100 検体	ヒ素、鉛
	ハウスダスト	7 日間	50 検体	鉛

4 共同研究機関の名称、共同研究者の職名、氏名、役割

旭川医科大学	健康科学講座	教授	吉田貴彦	疫学調査	
国立環境研究所	環境健康研究センター	分子毒性機構研究室	室長	野原恵子	遺伝子解析
パキスタン	アガ・カーン大学医学部地域保健学部	准教授	Zafar Fatmi	疫学調査	

5 研究者等の所属、職名、氏名、講習会受講年月日

(1) インフォームド・コンセントのための説明を行う研究者

所属	職名	氏名	講習会受講年月日	
産婦人科学	教授	松原 茂樹	平成 25 年 3 月 25 日	研究者
産婦人科学	講師	馬場 陽介	平成 25 年 3 月 25 日	研究者
環境予防医学	教授	香山不二雄	平成 25 年 11 月 13 日	研究者
環境予防医学	大学院生	大津 真弓	平成 25 年 03 月 15 日	研究者
保健センター	講師	小川 真規	平成 25 年 01 月 21 日	研究者
樹レディースクリニック	院長	佐山 雅昭		研究者

【添付文書1】計画書

木村クリニック	院長	木村 孔三		研究者
和田マタニティクリニック	院長	和田 智明		研究者
やまなかレディースクリニック	院長	山中 誠二		研究者
池羽レディースクリニック	副院長	池羽 一紀		研究者
池羽レディースクリニック	医長	高澤 環志		研究者
こいけレディースクリニック	院長	小池 俊光		研究者

(2) インフォームド・コンセントの説明を行わない研究者

所属	職名	氏名	講習会受講年月日	
小児科学	教授	山形 崇倫	平成 25 年 3 月 13 日	研究者
小児科学	講師	門田 行史	平成 25 年 3 月 13 日	研究者
環境予防医学	学内講師	三瀬 名丹	平成 25 年 11 月 13 日	研究者
分子薬理学	助教	水野 敦子	平成 25 年 11 月 13 日	研究者
環境予防医学	助教	池上 昭彦	平成 25 年 11 月 13 日	研究者
環境予防医学	リサーチ・コーディネーター	東本 明子	平成 25 年 11 月 13 日	調査担当者
環境予防医学	リサーチ・コーディネーター	米田 昌美	平成 25 年 11 月 13 日	調査担当者
環境予防医学	リサーチ・コーディネーター	館野由美子	平成 27 年 5 月 予定	調査担当者
環境予防医学	リサーチ・コーディネーター	細井 陽子	平成 27 年 5 月 予定	調査担当者

6 インフォームド・コンセントのための手続及び方法

研究者から試料・情報提供者に対して説明文書を用いて説明し、同意を得られた場合は、同意書に署名又は記名・捺印をいただき受領する。

7 インフォームド・コンセントを受けるための説明文書及び同意文書

別紙のとおり

8 代諾者等を必要とする提供者の予定

鉛及びヒ素曝露のハイリスク集団である胎児及び小児の調査研究が必要である。母親（妊婦）に、胎児血として臍帯血の採取及びその兄姉の血液、尿、毛髪、爪の生体試料・情報の提供を受けなければ、当該物質の曝露評価及び影響評価の研究が成り立たないことを説明し、同意を得る。また、小児の提供者には、母親を代諾者として、母親から同意を得る。

9 遺伝情報の開示に関する考え方

遺伝情報の解析結果は、個人が特定されないように学術論文に開示する。個人の遺伝子解析結果は開示しない。しかし、鉛及びヒ素の異なる曝露レベル集団として、あるいは地域ごとの集団として、ヒ素および鉛の胎児期曝露と遺伝子のエピゲノム変異との関係を解析した結果を、提供者に分かり易く解説したニュースレターを郵送して報告する。また、遺伝子解析結果以外の個人の調査結果の報告することを、研究に協力して頂くため

【添付文書1】計画書

のインセンティブとする。すなわち、報告を希望する被験者に、それぞれの陰膳中、生体試料中、ハウスダスト中の鉛及びヒ素濃度、臍帯血中葉酸濃度、小児の血清中特異的 IgE 抗体価を調べ、簡単な解説を付けて郵送で報告する。また、Bayley-III 発達検査を受けた場合は、検査結果を報告し、発達に問題があった場合は、自治医大とちぎ子ども医療センター外来に紹介する。

10 既存試料・情報の使用

なし

11 外部の機関から試料・情報の提供を受ける場合

旭川医科大学 申請中書類を添付。
アガカーン大学 申請中書類を添付。
国立環境研究所 申請中書類を添付。
本学が上記共同研究期間から試料および情報を受ける場合は、各施設において試料提供者に同意を得て、匿名化を行った上で、本学に送付する。

12 試料・情報を外部の機関に提供する場合又は研究の一部を委託する場合の必要性、外部機関の名称等及び匿名化の方法

(1) 必要性

環境予防医学講座および共同研究機関の国立環境研究所（野原恵子博士）で、広い範囲の遺伝子のエピジェネティック変異の解析を、主にパイロシークエンサーを用いて行う。しかし、さらに詳細なエピジェネティック変異の解析が必要な場合は、両機関の現有の研究機器では無理であるので、匿名化された代表的な試料を用いて、マイクロアレイや大規模シーケンスなどを利用したゲノムワイドなエピゲノム解析を外部分析機関にて行う。それにより、より包括的にかつより迅速な解析を実施することが出来る。

(2) 外部機関

外注先の遺伝子解析業者は株式会社 医学生物学研究所 MBL
http://ruo.mbl.co.jp/jutaku/methylated_dna.html を予定している。
国立環境研究所 環境健康研究センター 分子毒性機構研究室 室長 野原恵子

(3) 本学で行う匿名化の方法

自治医科大学では、遺伝子情報を含むデータ・生体試料は、本学の個人情報管理者が連結可能匿名化した上で研究に使用する。共同研究調査実施機関のそれぞれにおいては、連結可能匿名化されたデータのみを用いて研究を行う。対象者の利益のために、対象者の同定や照会が必要となった場合は、委員会の承認を受けた後に、本学の個人情報管理者により連結を行う。

【添付文書1】計画書

13 試料・情報の保存

(1) 研究遂行中の試料・情報の保管

保管責任者の所属・職名・氏名	環境予防医学講座 教授 香山不二雄
保管場所	試料：環境予防医学講座フリーザー室 情報：環境予防医学サーバー室
保管方法	試料：ディープフリーザー内(-80℃)に施錠して保管 情報：常に部屋のドアおよびロッカーの施錠管理

(2) 研究期間の終了後の試料・情報の保存

- ・提供者から同意が得られた場合は試料・情報を研究期間終了後も、将来の解析のために、自治医科大学環境予防医学講座フリーザー室の施錠されたディープフリーザー内にて、保存する。
- ・DNA または cDNA は匿名化したまま、残存する血液及び胎盤試料は匿名化せずに保存する。
- ・保存の期間は10年とする。

14 遺伝情報の安全管理の方法

環境予防医学教室の常時施錠されている疫学資料保存室を兼ねるサーバー室内のサーバーに、遺伝情報は保存し、解析の折りには、本学の個人情報管理者が連結可能匿名化したファイルのみを各自のコンピュータに複写して使用する。学内ネットワークシステムへの接続は、ソフトウェア・アップグレードなどの時に限り、極力ネットワークに繋がずに運用する。遺伝情報の安全管理は、遺伝情報の安全管理措置を定める手順の策定、事故等への対処法、研究者への遺伝情報の取り扱いに関する教育・指導方法、入退室管理の実施、盗難等の防止策等は大学の規程に則って行う。

15 研究終了後に他の研究を行う機関への試料・情報の提供

共同研究者に比較解析および論文作成のために、匿名化した後に、情報を提供する。現時点では、試料の提供は含まれない。

16 試料・情報の廃棄方法及びその際の匿名化の方法

DNA 試料等を廃棄する場合には、プラスチック容器に密封して焼却処分する。質問票、調査票、遺伝子情報の記された紙媒体および電子媒体の資料は、シュレッダーなどにより物理的に破壊して廃棄する。

17 遺伝カウンセリングの必要性及びその体制

なし

【添付文書1】計画書

18 研究資金の調達方法、起こり得る利害の衝突及び研究者等の関連組織との関わり

(1) 研究資金の調達方法

- ・平成25～28年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
- ・平成27～29年度科研費（基盤研究C）
- ・環境予防医学講座研究費

(2) 起こり得る利害の衝突

- ・なし

(3) 研究者等の関連組織との関わり

- ・なし

遺伝子解析研究（研究題目 鉛及びヒ素などの食品汚染物質の実態調査とその健康影響に関する研究；Health risk assessment of dietary intake of lead and arsenic）への協力のお願いと説明文書

これから、あなた及びあなたのお子様はこの遺伝子解析研究への協力をお願いするため、研究の内容や研究協力に同意していただくための手続などについて説明します。

この説明を十分に理解し、研究に協力しても良いと考えられた場合には、「遺伝子解析研究への協力についての同意書」に署名又は記名・押印し、同意したということをはっきり示して下さるようお願いいたします。

1 遺伝子と病気

「遺伝」とは、「親の体質が子に伝わること」です。「体質」には、顔かたち、体つきのほか、病気にかかりやすいことなどが含まれます。人の体の状態は、遺伝とともに、生まれ育った環境によって決まりますが、遺伝は基本的な部分で人の体や性格の形成に重要な役割を果たしています。「遺伝」に「子」という字が付き「遺伝子」となると、「遺伝を決定する小単位」という科学的な言葉になります。遺伝子の本体は「DNA」という物質です。



「DNA」はA(アデニン)、T(チミン)、G(グアニン)、C(シトシン)という四つの構成成分(塩基)の連続した鎖です。この構成成分(塩基)がいくつもつながって遺伝子になります。

1つの細胞の中には数万種類の遺伝子が散らばって存在しています。全ての遺伝情報を総称して「ゲノム」といいます。人体は約60兆個の細胞から成り立っていて、細胞の一つ一つに全ての遺伝子が含まれています。

遺伝子には二つの重要な働きがあります。一つは、精密な「体の設計図」です。受精した一つの細胞は分裂を繰り返して増え、一個一個の細胞が「これは目の細胞」、「これは腸の細胞」と決まりながら、最終的には約60兆個まで増えて人体を形作ります。二つ目は、「種の保存」です。先祖から現在まで「人間」という種が保存されてきたのも、遺伝子の働きによります。

ほとんど全ての病気は、その人の生れながらの体質（遺伝素因）と病原体、生活習慣などの影響（環境因子）の両者が合わさって起こります。遺伝素因と環境因子のいずれか一方が病気の発症に強く影響しているものもあれば、がんや糖尿病などのように両者が複雑に絡み合っているものもあります。遺伝素因は遺伝子の違いに基づくものですが、遺伝子の違いがあればいつも病気になるわけではなく、環境因子との組合せも重要です。

胎児から小児の時期は体の細胞が急速に増え、それぞれの臓器を造るために、それぞれの特徴をもった細胞に変わって行きます。その時期が最も環境因子による感受性の高い時期で、体の中に有害な鉛やヒ素があると、遺伝子の働きを調節している遺伝子の変化を邪魔してしまい、その変化は大人になるまで続く可能性が、近年の研究結果から分かってきました。

2 研究に協力するかどうかを考えるために

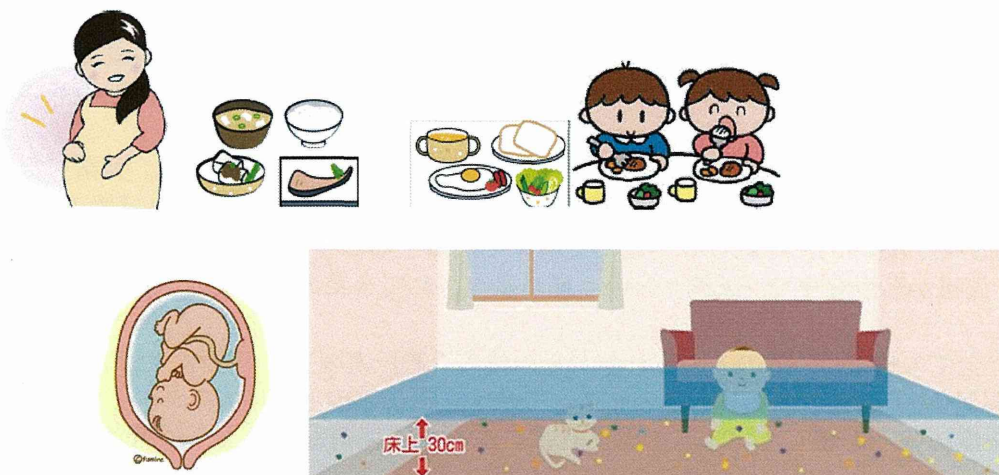
お子様の発育・発達と環境の要因との関係を調べるために、環境省では「子ども健康と環境に関する全国調査（エコチル調査）」を開始しました。全国15カ所で10万人のお子様を13歳になるまで追跡する調査です。自治医科大学でもこの調査に協力しています。しかし、エコチル調査では遺伝子への影響を調査する予定はまだありません。この調査は、今回の短期間のご協力を頂くだけで終わりますが、エコチル調査では行われていない遺伝子への影

響を調査します。

この研究で比較検討するパキスタンの食品やハウスダストに含まれるヒ素や鉛が高いことが知られており、健康への影響が危惧されています。一方、我が国の食品やハウスダストの中に含まれる鉛及びヒ素は微量であります。しかし、分析機器および技術の進歩でほとんどの食品に自然界からや過去の使用に由来する微量のヒ素や鉛が存在していますが、健康影響を与えるレベルではありません。しかし、子宮の中の胎児や小児は感受性が高い時期なので、微量のヒ素や鉛が発育発達に悪影響があるのかどうかまだよく分かっていません。そのためこの調査を行います。つまり、鉛やヒ素の影響する可能性のある脳や神経の発達、呼吸器や泌尿器系臓器の発育や発がんに関係があるかもしれない遺伝子について、その構造や機能を解析し、実際に関係があるかどうかを調べることを目的としています。

①妊娠中期～後期に、生活習慣調査票にご記入頂き、あなたとお子様の1人とが食べる3日間の食事それぞれ一食分、飲料水とおやつと、ご自宅のハウスダストを提出して頂き、それらの鉛及びヒ素濃度を測定するために使用させて頂きたいのです。②妊娠後期にあなた自身の血液及び尿、爪と、産まれて来るお子様の兄姉のうち1名の血液と尿、爪を提供して頂き、その中の鉛及びヒ素濃度を測定するためにも使わせて頂きたいのです。③出産時に新生児の臍帯血と胎盤とを頂き、あなたおよびお子様の血液と共に、遺伝子の変化を調べる研究に使用させていただきたいのです。④あなたの唾液を頂き、口腔衛生を調べる研究に使用させていただきたいのです。

次に、あなた及びあなたのお子様、この研究に協力するかどうかを決めるために理解していただきたい事項について、順次説明します。



(1) 研究協力の任意性と撤回の自由

研究協力に同意するかどうかは任意です。あなたの自由意思で決めてください。協力に同意されてもされなくても、当院では同じように最善の医療を提供いたします。

いったん同意された場合でも、不利益を受けることなく、いつでも文書により同意を撤回することができます。その場合は提供いただいた血液、臍帯血、胎盤、尿、爪、唾液や遺伝子解析の結果は廃棄され、調査記録もそれ以降は本研究のために用いられることはありません。ただし、同意を撤回したとき既に試料・情報が誰のものか完全に分からないようにする連結が不可能な匿名化されていた場合など、血液、臍帯血、胎盤のDNAやRNA及びその他の試料や遺伝子解析の結果を廃棄できないことがあります。

(2) あなたが選ばれた理由

【添付文書2】説明文書

この研究では、発育発達している子宮内の胎児や小さいお子様を研究対象にしています。調査協力医療機関の自治医科大学附属病院産科、木村クリニック、樹レディースクリニック、和田マタニティクリニック、やまなかレディースクリニック、池羽レディースクリニック、こいけレディースクリニックのいずれかに受診され、あなたの産まれてくるお子様に18～48月齢のお兄ちゃんまたはお姉ちゃんがいるので、研究への協力をお願いすることにしました。

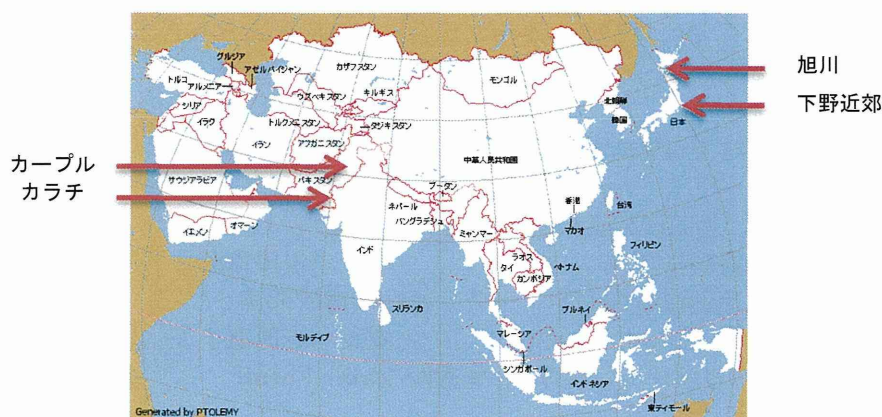
(3) 研究責任者の氏名、職名及び所属名

氏名：香山不二雄、職名：教授、所属：自治医科大学医学部環境予防医学講座

(4) 研究の意義、目的、方法、期間

【研究の意義】我が国の鉛及び無機ヒ素の摂取量は世界各国と比較すると極めて低いほうです。しかし、感受性の高い胎児期や小児期に低レベルの鉛及びヒ素を取り込むことは、子どもの発育・発達に悪い影響があるかもしれません。そのため、国際保健機関(WHO)などでは、鉛及びヒ素の摂取量の上限(耐容摂取量)を下げる必要性について検討しています。その基準を改正するために必要な科学的調査結果を必要としているので、この調査研究を計画し実施します。

【目的】①あなたと小児のお子様の1名の鉛及びヒ素の食事からの摂取量をしらべます。②あなたとあなたのお子様の鉛やヒ素が溜まっている爪、及び静脈血、並びに産まれてくるお子様の臍帯血の中の鉛やヒ素濃度を測定します。③3名の血液と胎盤の遺伝子の変化が鉛やヒ素により変化があるかどうか調べます。④鉛やヒ素の摂取量の多いパキスタンの試料の遺伝子の変化と比較します。⑤小児のお子様の食品アレルギー、室内アレルギー、室外アレルギーに対する抗体検査を行います。⑥小児のお子様の発達検査を行います。⑦あなたの口腔衛生調査を行います。



【方法】栃木県下野市近郊の母親(妊婦)と出生児及びその兄姉(18-48月齢)の1名を調査対象者とします。妊娠中期～後期に3日間(連続しない日でも可)食べたものの提出をお願いします。具体的には、あなたおよび調査対象となるお子さん1名が摂取された、上水道や井戸水を含む3日間の食事と、おやつと飲料品と同じものをもう一人分揃えていただき、ピーバス調査事務局まで宅急便(ヤマト運輸)で送って下さい。食品の混合物中の鉛及びヒ素濃度を調べます。新生児や小児はより多くのハウスダストを吸入したり、手に付いたホコリをしゃぶったりして体に取り込みますので、ハウスダスト中の鉛濃度も測定し、食事中濃度と加算して、経口摂取量を評価します。また、あなたと

小児のお子様の爪少量を採取します。自治医科大学とちぎ子ども医療センターに来院時に、あなたの血液及びあなたのお子様の血液 5 ml を採血し、尿 20 ml を採取します。爪、血液及び尿中の鉛及びヒ素濃度を測定して、生体に存在している量を推定します。また、出産時に出生児の臍帯血及び胎盤を採取し、鉛及びヒ素濃度を測定して、胎児がさらされていた鉛及びヒ素の負荷量を調べます。あなたの唾液を採取し、口腔衛生を調べます。また、生活習慣について調査票に記入していただき調べます。

新生児期の神経発達に関連する遺伝子、発がんに関連する遺伝子、呼吸器発達に関連する遺伝子などと推定される遺伝子の働きを調節している DNA 塩基のメチル化（エピジェネティック変異）及び遺伝子発現について調べます。また、調査目的のためにより詳しい解析が必要な場合は、参加者の中の一部の方の試料の全ての遺伝子のエピジェネティック変異を調べることがあります。また、あなたと赤ちゃんとお児のお子様との遺伝子多型についても調べます。

研究計画の全体像としては、下野市近郊 80 組、旭川市近郊 20 組、パキスタン・カラチ市、インダス川流域地帯でそれぞれ 50 組の家族（母親（妊婦）、新生児、兄姉）を募ります。

遺伝子変化への鉛による影響については、ハウスダストからの曝露の高いパキスタン・カラチ市で集めた試料と比較検討します。ヒ素については、井戸水からのヒ素の摂取量の高いパキスタン・インダス川流域地帯で収集する生体試料との差を、精密に調べます。また、精神身体発達調査に協力に承諾していただければ、小児のお子様の精神身体発達を評価するために、Bayley-III 発達検査を自治医大とちぎ子ども医療センターにて行います。

【結果報告事項】陰膳中の鉛及びヒ素摂取量、血中、爪中、臍帯血中の鉛及びヒ素濃度、小児のお子様のアレルギー検査結果（食物アレルギー、室内アレルギー、屋外花粉アレルギーに対する抗体など）、Bayley-III 発達検査結果を、解説を添えて報告書として郵送します。ヒ素や鉛などの検査結果に関する質問には、専門家の香山不二雄が対応します。また、発達検査で異常所見が見つかった場合は、自治医大とちぎ子ども医療センター外来を紹介します。

【調査期間】平成 26 年 1 月 17 日から平成 29 年 3 月 31 日まで

- (5) 共同研究機関の名称、共同研究者の職名、氏名、役割
- | | | |
|-----------------------------|-----------------|-------|
| ・旭川医科大学 健康科学講座 | 教授 吉田貴彦 | 疫学調査 |
| ・国立環境研究所環境健康研究センター分子毒性機構研究室 | 室長 野原恵子 | 遺伝子解析 |
| ・パキスタン アガ・カーン大学医学部 | 准教授 Zafar Fatmi | 疫学調査 |

(6) 予想される研究結果

国内での鉛及び無機ヒ素の低い摂取量で、遺伝子への影響の可能性があるかどうか確認しますが、微量であるため影響のない可能性が高いです。すなわち、本研究では、鉛及びヒ素の感受性の高い胎児及び小児へのリスク評価を行うことができます。また、パキスタン・カラチ市の鉛を多く取り込んでいるお子様と、インダス川流域及びガンジス川流域のヒ素を多く摂っているお子様と、日本国内のこれらの物質を微量に摂取しているお子様とを比較することができます。高濃度から微量までのこれらの物質による生体への影響を調べることで、食品の安全性を確保する上で大きな寄与をすることが出来ます。

【添付文書2】説明文書

(7) 試料・情報を提供した人にとって予想される危険及び不利益

提供いただく試料：あなたの血液 5 ml の採取は、とちぎ子ども医療センターに来院して頂いて、医師または看護師が通常の方法で行ないますので、この研究のために加わる危険性はほとんどありません。小児のお子様の 5 ml の採血は、本人に採血することを説明した上で、痛みを感じなくするクリーム(エムラクリーム)を塗って、小児の採血になれた小児科医または看護師により、痛みやストレスが出来るだけ少なくなるように行います。爪、尿の採取量は少量です。臍帯血及び胎盤の採取は、出産後の胎児が離れた後に行いますので、赤ちゃんに危険はありません。

この研究では、研究実施者が誰の遺伝子を解析しているか分からないように、(9)で述べる匿名化などを行なって、個人情報を厳重に管理します。

(8) 研究計画などを見たいとき

希望があれば、個人情報の保護や研究の独創性の確保に支障を来さない範囲内で、この研究計画の内容を見ることができます。また、遺伝子を調べる方法等に関する資料が必要な場合も用意いたします。

(9) 個人情報の保護

遺伝子解析の結果は、いろいろな問題を引き起こす可能性があるために、他人に漏れないように取扱いを慎重にしています。解析を開始する前に、あなた及びあなたのお子様の血液などの生体試料や生活習慣調査票からは住所、名前等が削られ、代わりに新しい符号がつけられます。これを匿名化といいます。

あなた及びあなたのお子様とこの符号とを結びつける対応表は、本学の個人情報管理者が厳重に管理します。これを連結可能匿名化といいます。こうすることによって、あなた及びあなたのお子様の遺伝子の解析を行なう者には符合しか分からず、誰の遺伝子を解析しているのか分かりません。ただし、結果を本人に説明する場合には、個人情報管理者を通じてこの符号を元に戻します。

(10) 試料・情報を外部の機関へ提供する可能性又は研究の一部を委託する可能性

調査中に、広い範囲で遺伝子の変化を調査する必要があった場合、外部の遺伝子解析機関に依頼する場合があります。また、共同研究者の国立環境研究所 野原恵子室長の下で遺伝子解析をします。その場合は、本学の個人情報管理者が匿名化して外部に委託します。自治医科大学倫理委員会等により個人情報の取り扱い、提供先機関名、提供先における利用目的が妥当であることについて審査されて、承諾された範囲内で実施します。

(11) 遺伝子解析結果の伝え方

この研究では、多くの方々の協力を得て、低レベルの鉛及びヒ素の摂取によるお子様の発育・発達にかかわる遺伝子の変化を調べるものです。この調査から、なんらかの結果が見出されたとしても、その意義を明らかにし、実際に医療に応用するには、更に多くの研究が必要です。したがって、あなた及びあなたのお子様個人の病気の治療などに有益な結果が出る可能性は極めて低いので、あなたを含め、だれにも解析結果を開示したり報告したりすることはありません。ただし、まれに重大な病気との関係が見つかり、あなたやあなたの家族又は血縁者がその結果を知ることが有益であると研究責任者等が判断し、自治医科大学生命倫理委員会等も同様に考えた場合に限り、担当医師から、あなたやあなたの家族又は血縁者に、その結果の説明を受けるかどうかについて問い合わせることがあります。

【添付文書2】説明文書

遺伝情報の解析結果や研究成果は、試料提供者個人が特定されないように学術論文に発表します。あなたやあなたのお子様個人の遺伝子解析結果はあなたに報告しません。しかし、鉛及びヒ素の異なる曝露レベル集団として、あるいは地域ごとの集団としての遺伝子解析結果は、あなたに分かり易く解説したニュースレターをお送りして、報告させていただきます。

(12) 知的財産権が生じたとき

遺伝子解析の結果として特許権などが生じる可能性があります、その権利は、大学や研究者等に属し、あなた及びあなたのお子様には属しません。また、その特許権などにより経済的利益が生じる可能性があります、あなた及びあなたのお子様はこれについても権利がありません。

(13) 試料・情報の保存及び使用方法、並びに試料・情報の廃棄の方法

提供いただいた試料・情報は、研究遂行中は自治医科大学医学部環境予防医学講座において厳重に保管し、(4)で説明したような方法で本研究に使用させていただきます。研究終了後、あなたの同意が得られない場合は、匿名のまま密封容器に入れて焼却処分します。質問票、調査票、遺伝子情報の記された紙媒体及び電子媒体の資料は、シュレッダーなどにより物理的に破壊して廃棄します。しかし、あなたが同意してくだされば、将来の研究のための貴重な資源として、研究終了後も自治医科大学環境予防医学講座において10年間厳重に保管させていただきます。将来、試料を医学研究に用いる場合には、改めて研究計画書を提出し、自治医科大学生命倫理委員会等の承認を受けたうえで使用させていただきます。

(14) 試料・情報の提供を受ける時点では特定されない将来のヒトゲノム・遺伝子解析研究に試料・情報が利用される可能性

なし。

(15) 研究資金の調達方法、起こり得る利害の衝突及び研究者等の関連組織との関わり

この研究は、「平成25～28年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）」及び環境予防医学講座研究費を用いて実施します。起こりうる利害の衝突はありません。

(16) 試料・情報の提供に対する謝礼

遺伝子解析は研究費によって行なわれますので、あなたが費用を負担することはありません。また、この研究への協力に対して、あなたと小児のお子様の1名の3日間の食事と同じ品目を集める費用等を補償するために、謝金2万円をお渡しします。

(17) 問い合わせ、苦情の受付

この遺伝子解析研究についてのお問い合わせは、下記の研究責任者までご連絡下さい。

研究責任者：自治医科大学医学部環境予防医学講座 教授 香山不二雄

〒329-0498 栃木県下野市薬師寺 3311-1 電話 0285-58-7336

苦情がある場合は、自治医科大学大学事務部研究支援課（電話 0285-58-7550）で受け付けます。

遺伝子解析研究への協力についての同意書

自治医科大学学長 殿

私は、遺伝子解析研究：研究題目 鉛及びヒ素などの食品汚染物質の実態調査とその健康影響に関する研究：Health risk assessment of dietary intake of lead and arsenic に関して、下記の研究者から説明文書を用いて説明を受けました。

(説明を受け理解した項目の□の中にご自分でチェックの印を付けてください。)

- 遺伝子と病気について
- 研究協力の任意性と同意後の撤回の自由について
 - ・研究の協力に同意するかしないかは任意で、協力しなくても不利益を受けないこと。
 - ・いったん協力に同意した場合でも、不利益を受けることなく、いつでも文書により同意を撤回することができること。
- 個人情報保護の方法について
 - ・提供された試料や診療情報を解析する前に、試料や診療情報から住所、名前等の個人情報を削除し、代わりに新しい符号等を付けて連結可能匿名化してから研究を実施すること。
 - ・個人情報と符号を結びつける対応表は、本学の個人情報管理者が厳重に管理すること。
- この研究に関して
 - ・研究責任者の氏名、職名及び所属名
 - ・研究の意義、目的、方法、期間
 - ・共同研究機関について
 - ・予想される研究結果、試料・情報提供者にとって予想される危険及び不利益
 - ・希望すれば研究計画を見られること。
 - ・試料・情報を外部の機関へ提供する可能性又は研究の一部を委託する可能性
 - ・遺伝子解析結果の伝え方
 - ・知的財産権は試料・情報提供者に無いこと。
 - ・試料・情報の保存及び使用方法、並びに試料・情報の廃棄の方法
 - ・将来のヒトゲノム・遺伝子解析研究に試料・情報が利用される可能性
 - ・研究資金の調達方法、起こり得る利害の衝突及び研究者等の関連組織との関わり
 - ・試料・情報の提供は無償で無報酬、問合せと苦情の受付の窓口

私は以上の説明を理解したので、研究に協力することに同意します。また、胎児の臍帯血試料等の採取および胎児の兄姉が研究に協力することについて、私は代諾者として同意します。また、私が本研究のために提供する試料・情報の研究終了後の取扱いについては、

- 1 本研究終了時に速やかに廃棄してください。
- 2 長期間保存され、将来新たに計画・実施される遺伝子の解析を含む医学研究に使用されることに同意します。

(1又は2のどちらかを丸で囲んでください。どちらなのか不明確な場合は、1を選択したものとします。)

平成 年 月 日

本人の住所 _____

氏名 _____ (署名又は記名・捺印)

胎児の兄姉の氏名 _____

説明者の署名 _____

【添付文書4】同意撤回書

遺伝子解析研究への協力の同意撤回文書

自治医科大学学長 殿

私は、先般、遺伝子解析研究（課題名 鉛及びヒ素などの食品汚染物質の実態調査とその健康影響に関する研究：Health risk assessment of dietary intake of lead and arsenic ）への協力に同意いたしました。この度、本同意を撤回しますので、速やかに対処してください。

平成 年 月 日

本人住所 _____
氏名 _____（署名又は記名・捺印）
電話 _____

（お願い）

同意を撤回される場合は、本文書を研究責任者（香山不二雄）又は、同意書を提出した担当医にお渡しくださるか、あるいは次の住所にご郵送ください。

〒 329-0498

栃木県下野市薬師寺3311-1

自治医科大学 医学部 環境予防医学講座

香山不二雄

質問票ご記入のお願い

このたびは、厚生労働科学研究費による調査「鉛及びヒ素などの食品汚染物質の実態調査とその健康影響に関する研究」(ピーばす調査 [PbAs Research])にご参加をいただきありがとうございます。

信頼できるデータを得るためには、お子さまの健康状態や成長環境、お母さまの健康状態や生活状況について正確に教えていただき、その結果を科学的に分析する必要があります。

お寄せいただくご回答や個人情報は、調査の目的にのみ利用し、それぞれの方が、どのようなご回答をされたかは、直接顔を合わせる医師や看護師には分からないようになっていきます。なお、ご回答が届かない、ご記入いただいた内容が読み取れないなどの場合には、調査の担当者から確認の連絡を入れさせていただくことがありますのでご了承ください。

記入上のご注意

1. 質問票の説明にしたがってご回答をご記入ください。
2. ご回答に要する時間は30分くらいですが、制限時間などはありません。
ご自分のペースでお進めください。
3. 記入の終わった質問票は、封筒に入れ、封をしてください。

※この調査についてのお問い合わせ先
自治医科大学 医学部 環境予防医学講座
ピーばす調査 事務局
電話番号 0285-58-7336

調査のためにお時間をお割きいただきますことに心より御礼申し上げます。

