

## 前向きコホート研究に基づく先天異常，免疫アレルギーおよび小児発達 障害のリスク評価と環境化学物質に対する遺伝的感受性の解明

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 特別招へい教授

### <研究要旨>

本研究は妊娠中の環境化学物質曝露が胎児期および小児期に与える健康影響を環境-遺伝相互作用を含めてリスク評価し，障害を予防する方策を明らかにすることを目的とする。2つの前向きコホートのうち，地域ベースの37医療機関における大規模コホートでは，妊娠初期の12週までに同意を得た妊婦を対象に，母体血および臍帯血のPCBs・ダイオキシン類や有機フッ素化合物(PFAAs)，ビスフェノールA(BPA)，フタル酸エステル類などの環境化学物質濃度を測定し，曝露による先天異常，Small for Gestational Age(SGA)および低出生体重(LBW)，免疫アレルギーへの影響と児の神経発達への直接的因果関係を評価する。平成25年度に登録妊婦は20,926名に達し，これまで新生児個票が得られた19,280名(多胎児含む)の妊娠転帰は，生産18,938名(98.24%)，死産(妊娠22週以降)64名(0.33%)，自然流産209名(1.08%)，人工流産56名(0.29%)であった。先天異常総数は330件(1.7%)，そのうちマーカー奇形238件であった。最も頻度が高かったのは心室中隔欠損症33人，次いで停留精巣・非触知精巣14人，ダウン症候群20人，口唇・口蓋裂35人，水腎症18人などであった。また，514人の小規模コホートの児については，詳細な発達調査を実施している。

化学物質曝露評価と先天異常については，超微量血液からPCBs・ダイオキシン類・OH-PCB類の一斉分析ができる方法を開発し，分析精度の信頼性を確認した。ケースコントロール研究で先天性心疾患をアウトカムに，PCBs・ダイオキシン類について先天性疾患182名コントロール182名合計364名が測定済みである。あわせて有機フッ素化合物(PFAAs)は先天性心疾患145名コントロール290名合計435名が測定済みである。尿道下裂・停留精巣をアウトカムに，ケース74名コントロール148名合計222名で妊娠初期(器官形成期)のBPA・フタル酸エステル類および胎児期の性腺機能の指標となる臍帯血中の性ステロイドホルモン108名について測定した。今後，母親の年齢や出産年でマッチングしたコントロール群と比較解析し化学物質が内分泌かく乱作用を介して先天異常リスクに与える影響を明らかにする。生後の曝露評価は，7歳の1,467名から尿を回収して全件で尿中コチニン濃度を測定しており，今後，化学物質曝露評価を実施する。

コホート全体を追跡し，1歳，2歳，4歳，7歳時点のアレルギー・感染症罹患および体格(身長・体重)，1歳半，3歳，5歳，6歳，8歳でASD/ADHD等の神経行動発達を評価している。7歳6,600名のうち喘息(741例)，アトピー性皮膚炎(853例)，および8歳5,608名からADHD疑い(241例)と化学物質の関連を検討する。化学物質の胎児期曝露が脂質代謝に与える影響を検討するため，臍帯血中アディポネクチン(264名)，レプチン(257名)濃度を測定し，胎児のアディポサイトカイン濃度に影響するか，またアディポサイトカインの変化が出生時の体格，生後の発育にどのように関連するかを検討する。

有機フッ素化合物(PFAAs)11種類(PFHxA, PFHpA, PFOA, PFNA, PFDA, PFUnDA, PFDoA, PFTrDA, PFTeDA, PFHxS, PFOS)の一斉分析の測定系を確立して検討した結果，2003年から2011年で母体血中PFOS, PFOA濃度は有意に減少した一方で，PFNA, PFDA濃度は有意に上昇したことを既に報告した。炭素鎖が長い半減期が長く生体影響が持続すると考えられるPFAAsの代替物質の影響も含めて，胎児期PFAAs曝露が出生後の4歳のアレルギー症状および感染症発症リスクとの関連を2003年～2009年に登録した母児1,558名について検討した。母体血中PFDoDA, PFTrDA濃度は高いほど4歳児のアレルギー発症リスクが量反動的に低下することを示した。性別で層別化して解析したところ男児のみで有意な関連が認められた。さらに，母体血中PFOS, PFHxS濃度が高いほど4歳の感染症リスクが増加した。長鎖のPFAAsの胎児期曝露は児の免疫アレルギーに対して抑制的に作用し，性特異的な影響を及ぼす可能性が示唆された。しかし，炭素鎖の長いPFAAsが生体に及ぼす影響に関しては，世界的にデータが乏しく，性差のメカニズムは不明であることから，一般集団を対象に長鎖のPFAAs曝露の

影響を詳細に検討し、免疫毒性および性差について明らかにする必要がある。また、平成 26 年 12 月までに 7 歳の調査が終了した 2,807 名のうち 1,066 名については、近年アトピー性皮膚炎の要因として知られる皮膚のバリア機能に關与するフィラグリン遺伝子 (*FLG*) 変異についてシーケンスを行っている。2 歳、4 歳時のアトピー性皮膚炎は *FLG* 遺伝子変異があるとオッズ比がそれぞれ 1.55 (95%信頼区間(CI): 1.08 - 2.22), 1.47 (95%CI: 1.03 - 2.09) だったことから、アトピー性皮膚炎については今後 *FLG* 遺伝子変異の有無も考慮して曝露の影響を検討する必要がある。

胎児期の環境化学物質曝露により、胎内でのホルモン環境が変化する内分泌かく乱作用が懸念される。母への環境化学物質の濃度を曝露因子とし、化学物質濃度と胎内のホルモン環境との関連について検討を行った。胎児期の PFOS・ダイオキシン類曝露により男児の臍帯血中のコルチゾール・コルチゾンが低下し、エストラジオール (E2), DHEA が増加した。テストステロン (T) /E2 比は低下したことから、アロマターゼ活性亢進の可能性が示唆された。また、Inhibin B は低下し、動物実験同様にセルトリ細胞への負の影響が見られた。女児でもプロゲステロンとプロラクチン (PRL) が低下し、内分泌かく乱作用が見られた。DEHP 曝露は男児で Inhibin B および insulin like factor-3 (INSL3) が有意に低下したことから、生活レベルの曝露でも動物実験同様にフタル酸エステル類 (DEHP) 曝露は精巢のセルトリ細胞・ライディヒ細胞の増殖抑制や減少を促す可能性が示された。ビスフェノール A (BPA) はテストステロンやプロゲステロン等のステロイドホルモン値を上げる結果が得られていることから、PFC やフタル酸エステル類とは異なる作用機序で内分泌かく乱作用を引き起こしているといえる。

母体血中有機塩素系農薬 29 種類 (ジクロロジフェニルトリクロロエタン類 6 種、ドリノ類 3 種、クロルデン類 5 種、ヘプタクロル類 3 種、ヘキサクロロシクロヘキサン類 4 種、マイレックス、トキサフェン 6 種、ヘキサクロロベンゼン) を測定したところ、国内で使用実績のない農薬マイレックス、トキサフェン (Parlar-26, Parlar-50) が検出され、輸入工業製品や生活環境からの曝露が示唆された。男児では母体血中のクロルデン系農薬の濃度が高くなると T, PRL, Inhibin B 値が低下した。一方、女児では、DDE および DDT 濃度が高いと、E2 が低く、p-p'-DDE は T/E2 比が増加した。従って、これら胎生期の性腺機能への影響が、その後の性役割行動や第二次性徴発来のタイミングなどの性分化にも影響を与えるのか、ヒトの疫学研究で明らかにする必要がある。胎児期には甲状腺ホルモンが身体や脳の発育に重要な役割を有することが知られている。一方、高濃度の有機塩素系農薬への胎児期曝露は児の発達に悪影響を与えることが指摘されている。そこで本研究では、有機塩素系農薬の胎児期曝露が母児の甲状腺ホルモンの濃度に影響するか検討したところ、母体血中有機塩素系農薬が増加するほど、母の FT4 が有意に低下し (o,p'-DDE:  $=-.03, p<.05$ , o,p'-DDT:  $=-.06, p<.05$ , Dieldrin:  $=-.08, p<.05$ )、一方で新生児の FT4 は有意に増加した (cicNonachlor:  $=.04, p<.05$ , p,p'-DDT:  $=.04, p<.05$ , Parlar50:  $=.04, p<.05$ )。有機塩素系農薬の中で DDT, Dieldrin, cicNonachlor, および Parlar50 はより母児の甲状腺機能に影響する可能性が示唆された。

8 歳に達した 3,258 名について注意欠陥/多動性障害の評価スケール (ADHD-RS) を用い、胎児期の喫煙曝露 (妊娠初期・中期・後期の喫煙状況と妊娠後期母体血中コチニン値) と出生後の受動喫煙曝露 (1 歳から 7 歳までの両親の喫煙状況) による注意欠陥/多動性障害 (ADHD) 症状への影響を検討した。ADHD-RS のカットオフと診断を基に定義した ADHD 疑い群 (501 名) と対照群に分けて解析したところ、全ての妊娠期間で母親の喫煙は非喫煙に比べリスクが上昇した (初期= オッズ比 (OR) (95%CI): 1.8 (1.3-2.5); 中期= 1.6 (1.1-2.2); 後期= 1.6 (1.1-2.3))。母親の妊娠後期コチニン値で分類した非喫煙群は能動喫煙群に対してリスクが上昇した (1.4 (1.1-2.1))。また妊娠中に喫煙を継続していた母親に比べ、妊娠中に禁煙した場合の ADHD 発症への影響は、非喫煙および妊娠初期の禁煙でリスクを低下させた (非喫煙= 0.62 (0.41-0.94), 妊娠初期禁煙= 0.57 (0.35-0.90))。その一方で、妊娠中の父親の喫煙状況や出生後の受動喫煙の影響は認められなかった。

環境-遺伝交互作用について、Fluidigm 社 EP1 システムを用いて化学物質の代謝酵素 (CYP2A6, UGT1A1 等)、核内受容体 (PPAR, CAR 等)・疾患感受性関連 (DRD4, DAT1 等) の遺伝子領域の母児の遺伝子多型、および QIAGEN 社パイロシーケンサーを用いて、胎児期発育に必須であるインスリン様成長因子遺伝子 IGF2 等の臍帯血 DNA メチル化

と内分泌かく乱物質の曝露濃度との関連を網羅的に解析し環境遺伝相互作用を明らかにした。また、臍帯血 DNA(N=292)の Illumina 社 HumanMethylation450 BeadChip を用いた網羅的 DNA メチル化解析を行い、胎児期 PFAAs 曝露による児のエピゲノム変化の全容を明らかにした。化学物質の解毒代謝遺伝子多型の解析について、妊婦の遺伝子多型の違いによって、児の出生時体格との関連に有意な差は認められなかった。妊婦の喫煙状況において、非喫煙者の児と比較して、喫煙者の児では、出生体重が 71g 有意に小さかった(95%CI; -103, -40;  $P < 0.001$ )。さらに、妊婦の遺伝子多型と喫煙状況の組合せにおいて、AHR(G>A, Arg554Lys)-GA/AA 型, CYP1A1-(A>G, Ile462Val)-AA 型でかつ XRCC1(C>T, Arg194Trp)-CC 型をもつ非喫煙者の児と比較して、AHR-GG 型, CYP1A1-AG/GG 型でかつ XRCC1-CT/TT 型をもつ喫煙者の児では、出生体重が 145g 有意に小さかった(95%CI; -241, -50;  $P = 0.003$ )。AHR-GG 型, CYP1A1-AG/GG 型および XRCC1-CT/TT 型をもつ妊婦では、(BPDE)代謝物や BPDE-DNA 付加体が、それぞれの Reference 群よりも多く生成されると予想される。そして、これらの遺伝子多型と妊娠中の喫煙が組合わさると出生体重の平均が 145g 小さくなる可能性が示唆された。エピゲノム解析は母年齢・世帯年収・妊娠中喫煙・魚摂取量・パーマの有無・児性別で調整後、母毛髪水銀量と LINE1 メチル化との間に有意な正の関連がみられた( $r = 0.7$ ,  $p = 0.04$ )。MEHP 濃度については、母年齢・学歴・妊娠中喫煙・児性別・母体血採血時期で調整後、H19 メチル化との間に有意な負の関連がみられた( $r = -1.3$ ,  $p = 0.02$ )。

胎児期環境化学物質曝露が影響を与えるメチル化部位のさらなる特定のため、HumanMethylation450 を用いた網羅的 DNA メチル化解析を実施している。これまでに、G&G 社にて解析された札幌コーホート臍帯血 DNA での網羅的メチル化データ(N=292)の前処理・バッチ間の補正、および robust linear regression を用いて PFAAs 濃度との関連を解析した。今後は網羅的解析でスクリーニングされた PFAAs 濃度と関連の見られた遺伝子メチル化について、北海道コーホートで再現性を確認する。また、PCBs・ダイオキシン、水銀等の環境化学物質曝露が影響をおよぼすメチル化部位、その変化に伴う成長発育・アレルギー・神経発達等のアウトカムとの関連を明らかにする。

< 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

遠藤 俊明  
札幌医科大学医学部産科周産期科・生殖内分泌器科，准教授

千石 一雄  
旭川医科大学医学部産婦人科学講座，教授

野々村 克也  
北海道大学大学院医学研究科 腎泌尿器外科学分野，名誉教授

有賀 正  
北海道大学大学院医学研究科・小児科学分野，教授

梶原 淳睦  
福岡県保健環境研究所保健科学部，部長

松村 徹  
いであ株式会社環境創造研究所 取締役・環境創造研究副所長

松浦 英幸  
北海道大学大学院農学研究院応用生命科学部門生命有機化学分野，准教授

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

花岡 知之  
北海道大学環境健康科学研究教育センター，客員教授

佐田 文宏  
東京医科歯科大学，疫学，公衆衛生学非常勤講師

池野 多美子  
北海道大学環境健康科学研究教育センター，特任講師

荒木 敦子  
北海道大学環境健康科学研究教育センター，准教授

佐々木 成子  
北海道大学大学院医学研究科社会医学講座公衆衛生学分野，助教

宮下 ちひろ  
北海道大学環境健康科学研究教育センター，特任講師

**研究協力機関**

慶愛病院，えんどう桔梗マタニティクリニック，白石産科婦人科病院，公立芽室病院，青葉産婦人科クリニック，帯広協会病院，秋山記念病院，札幌医科大学附属病院，北海道大学病院，北見赤十字病院，朋佑会札幌産科婦人科，札幌東豊病院，五輪橋産科婦人科小児科病院，はしもとクリニック，旭川医科大学病院，函館中央病院，王子総合病院，町立中標津病院，札幌徳州会病院，旭川赤十字病院，市立稚内病院，釧路労災病院，札幌厚生病院，市立土別総合病院，日鋼記念病院，市立札幌病院，幌南病院，市立函館病院，道立紋別病院，天使病院，函館五稜郭病院，中村病院，勤医協札幌病院，北見レディースクリニック，遠軽厚生病院，釧路赤十字病院，名寄市立総合病院，帯広厚生病院。

A．研究目的：

ヒトでの科学的な根拠が乏しかった PCBs・ダイオキシン類や有機フッ素化合物（PFAAs）などの環境化学物質による先天異常や Small for Gestational Age（SGA）および低出生体重（LBW），免疫アレルギーや発達への影響について日本の疫学データをもって応えるために，北海道全域の 37 の地域病院の協力を得て，母体血および臍帯血の採取保存，化学物質曝露量の測定を行い，前向きコホート研究を実施する。本研究は，前向きコホート研究で，研究参加に同意した妊婦 20,926 名について，先天異常（マーカー奇形・異常 55 疾患）モニタリングを実施し，地域の病院ベースにおける先天異常発生率を把握する。

PCBs・ダイオキシン類を代表とする残留性有機汚染物質は人体への健康影響が懸念され，胎児期曝露による低出生体重，ホルモン値の変動，精神行動発達などの関連が示されてきた。先天異常については，動物実験においてダイオキシン類の胎児期曝露が心奇形を引き起こすことが報告された（Kopf et al. 2009）。日本の疫学研究においては，母親がゴミ焼却炉から 2km 以内に居住する場合，その母親から生まれた先天性疾患を伴う児の死亡リスクが増加した（Tango et al. 2004）。フランスでは，妊娠初期のダイオキシン濃度が高い群で停留精巣リスクが増加（Cordier et al. 2010），デンマーク・フィンランド研究でも尿道下裂・停留精巣発症群の曝露濃度が対照群より高い傾向を認めた。しかし，これまでの疫学研究

は、生体試料を用いた胎児期の曝露評価が不十分で、異性体レベルで測定した研究もなかった。特に、生体影響が PCBs より高いと懸念される OH-PCB に関する疫学報告は内外でほとんどない。

一方、PFOS、PFOA に代表される有機フッ素化合物 (PFAAs) は、絶縁性・撥水撥油性をはじめとする優れた特性を有することから、衣類・建材・界面活性剤など幅広い分野で使用されている。人は主に飲料水や赤肉、魚介類を通して曝露され、胎児への影響が懸念されているが、十分な研究が行われていない。わが国でも 2010 年に PFOS、PFOA が化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律の第一種特定化学物質(一部用途以外の製造・輸入禁止)に指定された。そこで、PFOS、PFOA 以外の代替品で長鎖の化合物を含めた PFAAs の妊婦の曝露評価を行う必要がある。本研究では、UPLC/MS/MS を用いた一斉分析法を確立して、11 種類の PFAAs 濃度を測定し曝露評価を行い、先天異常、成長発育、免疫、神経行動発達への影響を検討する。

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、フタル酸エステルはプラスチックの可塑剤として使用されている化学物質である。ヒトは主に経口摂取によって曝露されるが、その大部分が消化管から吸収されグルクロン酸抱合体となり速やかに尿中へ排泄されるが、様々な製品に汎用されているため、恒常的かつ長期的な曝露による健康影響が懸念されている。動物実験で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 NOEL 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、ヒトでのデータはまだ少ない。本研究では、微量試料中 BPA およびフタル酸エステル類の高精度測定法を開発して、母体血中の BPA・フタル酸エステル類濃度を測定し、胎児期 BPA・フタル酸エステル類曝露による先天異常、性腺機能、成長発育、免疫、神経行動発達への影響を検討する。

難分解性の有機塩素系農薬は内分泌かく乱作用を持つと懸念されている。胎児期には甲状腺ホルモンが身体や脳の発育を調整することが知られている。一方、高濃度の有機塩素系農薬への胎児期曝露は児の発達に悪影響を与えることが指摘されている。そこで本研究では、有機塩素系農薬の胎児期曝露が

母児の甲状腺ホルモンの濃度に影響を与えるかどうかについて検討する。

我々は、生活環境における低レベルの胎児期ダイオキシン類濃度が出生時体重を低下させることを既に小規模コーホートで示したが (Konishi et al., 2009), 遺伝的素因の関係は調べられていない。ダイオキシン類は芳香族炭化水素受容体 (AHR) に結合し、シトクロム P450 (CYP) 1A1・CYP1A2・CYP1B1 によって代謝され、また、転写抑制因子である AHR リプレッサー (AHRR) を刺激する。AHR・AHRR・CYP1 系遺伝子多型は、種々の疾患リスクに影響することが知られている。そこでダイオキシン類曝露とその代謝に関する妊婦の遺伝子多型を解析し、出生時体重に与える影響を検討する。細胞内に入ったダイオキシン類は、芳香族炭化水素受容体 (AHR) を介しシトクロム P450 (CYP) 1A1 および GSTM1 などのグルタチオン S-転移酵素によって代謝され、体外へ排泄される。非喫煙の妊婦と比較して、喫煙している妊婦は児の出生時体格に影響を及ぼし、AHR、CYP1A1、GSTM1 遺伝子多型による遺伝的感受性があったと報告されているものの、ダイオキシン類についての報告はまだない。そこで本研究では、胎児期のダイオキシン類曝露が児の出生時体格に及ぼす影響の AHR (G>A, Arg554Lys), CYP1A1 (T>C, MspI) および GSTM1 (Present/Absent) 遺伝子多型による遺伝的感受性について検討する。

胎児期化学物質曝露などが児の DNA メチル化を始めとするエピジェネティクスに及ぼす影響が懸念されている。DNA メチル化は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体重のほか、乳幼児期の肥満、また成人後の生活習慣病、肥満、大腸がんリスクとの関連も報告されている。本研究では、胎児期の内分泌かく乱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する。また、胎児期環境化学物質曝露が影響を与えるメチル化部位のさらなる特定のため、Illumina 社 HumanMethylation450 BeadChip を用いた網羅的 DNA メチル化解析を実施した。このメチル化解析ツールはゲノム上の 99% の遺伝子をカバーしており、45 万メチル化部位について網羅的に解析を行える。この方法により、網羅的に探索を行い曝露によ

てより強く影響を受けるメチル化部位を特定するとともに、その変化に伴う成長発育・アレルギー・神経発達等のアウトカムとの関連を明らかにしていく。これまでの研究成果を発展させる形で、今後は出生コホート研究を学齢期から思春期まで追跡し、第二性徴、発育、発達障害、アレルギー・感染症に焦点をあてて、小児疾患予防のための研究を継続する。

## B. 研究方法

### 1. 先天異常の発生状況とケースコホート研究デザインによる曝露リスク評価に関する研究

北海道内の産科 37 施設で妊娠初期から妊婦 20,926 名の協力を得て登録し、平成 27 年 12 月末までに新生児個票の情報が得られた全分娩(流産・死産を含む) 19,280 名を対象とした。まず分娩後に医療機関で記載された新生児個票から、生死産、流産(自然・人工)を集計した。次いで生産児について、性比と単多胎数、在胎週数、出生体重を算出した。妊娠中の疾患について発生状況を調べた。先天異常については、心奇形・尿道下裂・停留精巣等の先天異常(マーカー奇形・異常 55 疾患)、流死産、妊娠中の疾患について発生率を算出した。環境化学物質の曝露評価をケースコホート研究デザインで実施するため、大規模出生コホートからサブコホートを抽出した。先天異常のケースは出生時の新生児個票と生後の質問票から抽出し、コントロールはケースを除いたサブコホート群から出産病院、出産年、母親の出産時年齢、児の在胎週数からマッチングして抽出した。

### 2. Predictors of folate status among pregnant Japanese women: the Hokkaido Study on Environment and Children's Health, 2002 -2012

#### Study location and population

Participants of this study were pregnant women recruited during their first trimester (<13 weeks of gestation) from thirty-seven health facilities across Hokkaido Prefecture. They are participants of the ongoing large-scale birth cohort of the Hokkaido Study on Environment and Children's Health. Data was

generated from these participants by means of baseline questionnaires, biochemical assays, hospital birth records, and four months post-partum health records. Totally, 15266 participants with available baseline questionnaires, folate and cotinine levels were included in this study.

#### Biochemical assays

Non-fasting whole maternal blood samples were collected from participants and sera were stored promptly at 4 °C until folate assay. Folate is quantified by direct chemiluminescent acridinium ester technology<sup>13</sup> adopted by World Health Organization's (WHO) classification guidelines<sup>15</sup>. In this study, we used plasma cotinine concentrations to quantitatively classify active and passive smoking status as previously reported<sup>16</sup>.

#### Definition of variables

The dependent variable was folate status. Serum folate status was classified as: folate deficiency, (<6.80nmol/L); suboptimal status (6.80 -13.59 nmol/L) and optimal folate status (≥13.60 nmol/L)<sup>15</sup>. We merged folate deficiency and suboptimal category in one group. Active and passive exposure to tobacco smoking statuses were classified based on plasma cotinine cut-off points established in a previous report<sup>16</sup>. A non-smoker was defined as having plasma cotinine concentration of less than 1.19 nmol/L. A person exposed to environmental tobacco smoke (ETS) as having 1.19 - 65.21 nmol/L; and active smoker as having greater than



65.21 nmol/L of plasma cotinine concentration. Self-reported active tobacco smoking was categorized based on the number of cigarette sticks smoked per day. Light smokers (<10 cigarette sticks per day); moderate smokers (10-19 cigarette sticks per day); and heavy smokers ( $\geq 20$  cigarette sticks per day). ETS exposure at home and work place was assessed.

### Statistical analyses

Skewed serum folate and plasma cotinine concentrations were log-transformed during the preliminary descriptive analyses, thereafter back-transformed. We used Bayesian logistic regression and fitted the model to the  $m = 10$  imputed data set, with dichotomized folate status as the outcome variable, and the followings as potential predictor variables: age, BMI, parity, educational level, income, occupation, region, year of enrollment, season of the year at enrollment, folic acid supplements use, other nutritional supplements use, alcohol intake, active cigarette smoking, and exposure to environmental tobacco smoke (ETS) both at home and work place. We used results of plasma cotinine concentration to quantitatively classify active smoking and passive exposure to tobacco products, and regressed against folate status, with adjustment for all other potential predictors. We reported pooled estimates for the main effects of the predictor variables in the

model. P-values for testing for the presence of a linear trend are also reported for predictor variables with more than two categories. Reported effects, confidence intervals and p-values are pooled over the  $m = 10$  imputed data sets.

Statistical analyses were performed using JMP 11 Pro Statistical Software Package and binary logistic regression model which required multiple imputation of missing data and was performed using R version 3.2.2. An alpha level of significance was set at <0.05.

### 3 . Effects of prenatal exposure to perfluoroalkyl acids on risk of allergic diseases at 4 years old children

Mother-infant pairs who enrolled in the Hokkaido large cohort Study on Environment and Children's Health in 2003-2009 were included in this study. 11 PFAAs including PFHxA, PFHpA, PFHxS, PFOS, PFOA, PFNA, PFDA, PFUnDA, PFDoDA, PFTrDA and PFTeDA were measured in maternal plasma taken at 28-32 weeks of gestation using ultra-performance liquid chromatography coupled to triple quadrupole tandem mass spectrometry. Information on characteristics of participants was obtained from medical birth records, and self-administered questionnaires obtained during pregnancy and after delivery. Allergic diseases including eczema, rhinoconjunctivitis and wheezing were defined using a modified part of the Japanese version of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Phase Three questionnaire at 4 years of age. Associations of PFAA quartiles with allergic outcomes were examined using logistic models (n=1558).

### 4 . Prenatal Exposure to Perfluoroalkyl Acids and Risk of

### Infectious Diseases in Early Life

Mother-infant pairs who enrolled in the Hokkaido large cohort Study on Environment and Children's Health in 2003-2009 were included in this study. We measured concentrations of 11 PFAAs: PFASs (perfluoroalkane sulfonates) including PFHxS, PFOS; and PFCAs (perfluorinated carboxylic acids) including perfluorohexanoic acid (PFHxA), perfluoroheptanoic acid (PFHpA), PFOA, PFNA, PFDA, PFUnDA, PFDoDA, PFTrDA, perfluorotetradecanoic acid (PFTeDA) in maternal plasma samples obtained at 3rd trimester of pregnancy using ultra-performance liquid chromatography coupled to triple quadrupole tandem mass spectrometry. The method detection limits (MDLs) were: PFNA and PFOS (0.3 ng/mL), PFOA and PFHxS (0.2 ng/mL), and the other PFAAs (0.1 ng/mL). Information on characteristics of participants was obtained from medical birth records, and self-administered questionnaires obtained during pregnancy and after delivery. Information on infectious diseases including otitis media, pneumonia, RSV, varicella, febrile seizure were extracted from report of mothers in questionnaire at 4 years of age. Totally 1,558 mother child pairs who had information on infectious diseases and prenatal PFAA measurements were used for analysis. Associations of PFAA quartiles with allergic outcomes were examined using logistic models.

### 5 . The Association of Prenatal Exposure to Perfluorinated Chemicals with Glucocorticoid and Androgenic Hormones in Cord Blood Samples: The Hokkaido Study

We conducted a hospital-based birth cohort study between July 2002 and October 2005 in Sapporo, Japan (n=514). In total, 251 mother-infant pairs were included in this study. The prenatal PFOS and PFOA levels were measured in maternal serum samples by liquid chromatography-tandem mass

spectrometry (LC-MS-MS). Cord blood levels of glucocorticoid (cortisol and cortisone) and androgenic hormones (dehydroepiandrosterone (DHEA) and androstenedione) were also measured by LC-MS-MS.

### 6 . 胎児期の有機塩素系農薬曝露による児の臍帯血中性ホルモンへの影響

札幌コーホートに登録した母児を対象とした。379名の母体血中 DDT 類 6 物質, Drin 類 3 物質, Chlordane 類 5 物質, Heptachlor 類 3 物質, Hexachlorocyclohexane(HCH)類 4 異性体, Toxaphene 6 物質, および Mirex, Hexachlorobenzene(HCB)の合計 29 化合物を, GC/NCI MS および GC/HRMS で分析した。臍帯血中エストラジオール, テストステロン(T), プロゲステロン, 黄体形成ホルモン(LH), 卵胞刺激ホルモン, 性ホルモン結合グロブリン, プロラクチン, インヒビン B, Insulin-like factor3 を測定した。検出率 80%以上の 14 化合物について, 性ホルモンとのデータがそろった男児 106 名, 女児 126 名を解析に用いた。

### 7 . 胎児期の有機塩素系農薬 (OCP) 曝露が母児の甲状腺ホルモンに及ぼす影響

2002年から2005年に札幌市の一産院で妊婦 514 名をリクルートし, 札幌市衛生研究所によるマススクリーニングデータより甲状腺ホルモンの濃度を得た。379名の母体血中有機塩素系農薬について, ガスクロマトグラフィー/陰イオン化学イオン化質量分析計および高分解能ガスクロマトグラフ質量分析法により一斉分析を行った(いであ(株)環境創造研究所)。有機塩素系農薬 29 種類のうち, 検出率が 80%以上であった 15 種類を自然対数に変換した後, 統計解析した。有機塩素系農薬および甲状腺ホルモンのデータがそろっており, 双胎および甲状腺関連疾患を治療中の場合を除いた母 340 名, 児 365 名について解析を行った。TSH および FT4 については自然対数に変換した後, 母については分娩時年齢, 妊娠前 BMI, 妊娠中の喫煙, 海藻摂取頻度, 甲状腺ホルモンおよび OCP 測定における血液採取時期で調整して重回帰分析を行った。同様に, 児については在胎週数, 性別, 出生時体重, 甲状腺ホルモン測定のための血液採取時期で調整を行った。

### 8 . Prenatal MEHP, BPA exposure and cord blood adipokine levels



Among 514 pregnant women between 23 and 35 weeks of gestation from one hospital in Sapporo, MEHP levels in maternal blood in late pregnancy (N=340) and bisphenol A (BPA) levels in cord blood were measured (N=285). Leptin and total and high molecular weight (HMW) adiponectin measured in cord blood samples as markers of metabolic function. Logistic regression models were used to estimate the association between MEHP and BPA and fetal leptin and adiponectin, adjusting for confounding factors. Total and high molecular weight (HMW) adiponectin and leptin levels in cord blood were measured in 264 and 257 neonates, respectively. Adiponectin analysis was done by ELISA using Human Adiponectin Assay kit from Sekisui Medical Co. Ltd (Tokyo, Japan). Leptin analysis was done by Radioimmunoassay (RIA) using Human Leptin RIA kit from Linco Research Inc. (St. Charles, MO, USA). Cord blood levels of leptin and total and HMW adiponectin were categorized into the top 90th percentile (high group) and bottom 10th percentile (low group).

#### 9. 胎児期における喫煙曝露と学童期の注意欠陥/多動性障害(ADHD)傾向との関連

北海道スタディ大規模コーホートにおいて、調査票を回収できた 8 歳時 3,258 名について検討した。ADHD の評価は、ADHD-RS (ADHD-Rating Scale; 田中ら, 2008)と医師による ADHD 確定診断情報に基づき、ADHD-RS の得点から、DuPaul et al.(1998)の分類を用いて ADHD と判定される児、および 8 歳調査票において、ADHD の確定診断が明らかになっている児のいずれかに当てはまる合計 501 名(全体の 15.5%)を「ADHD 疑い群」として定義した。喫煙曝露評価は、胎児期の喫煙曝露を妊娠初期・中期・後期の喫煙状況と妊娠後期に採血した母体血のコチニン値、出生後の受動喫煙曝露は 1 歳 2 歳 4 歳、7 歳時の調査票による両親の喫煙状況により評価した。母体血中コチニン値は ELISA 法で分析した。解析は、調査票による喫煙状況を「非喫煙群」「喫煙群」の 2 群で、母体血中コチニン値は Sasaki et al.(2012)の定義に基づき、0.21ng/ml 未満を「非喫煙群」、

0.21ng/ml 以上 11.49ng/ml 未満「受動喫煙群」、11.49ng/ml 以上を「能動喫煙群」の 3 段階の曝露レベルでカテゴリー化してロジスティック回帰分析を行った。

#### 10. 妊婦の喫煙が母の遺伝子多型を介して児の出生時体格に及ぼす影響

2003 年~2007 年に、北海道内の 40 産科病院を受診した初期の妊婦で、インフォームドコンセントの得られた母児 1,0731 組のうち、ランダムサンプリングした 3,263 組が研究対象である。妊婦とその配偶者に対して、妊娠初期に既往歴、社会経済要因、生活環境などに関する質問紙調査を行った。妊娠後期に血液を採取し、母体血漿コチニン値を ELISA 法で解析し、Receiver Operating Characteristic (ROC) 曲線を用いて喫煙者と非喫煙者に分類した(カットオフ値=11.48 ng/mL)。出産時に母体血を採取し、DNA を抽出した後、芳香族炭化水素受容体(AHR)、シトクロム P450(CYP) 1A1 および DNA 修復遺伝子である X-ray repair cross-complementing gene 1 (XRCC1) の遺伝子多型をリアルタイム PCR 法で解析した。産後 4 か月時に母子健康手帳からの出生時体格情報の転記を依頼した。妊婦の喫煙、遺伝子多型と児の出生時体格との関連には重回帰分析を SPSS Ver. 22 を用いて行った。

#### 11. 胎児期有機フッ素化合物曝露影響の臍帯血網羅的エピゲノム解析

札幌の一産科病院で 2002 年 7 月から 2005 年 10 月までにリクルートした北海道スタディ札幌コーホート参加者のうち、初期調査票・出産時カルテ情報・母体血中 PFAAs 濃度・臍帯血がそろった母児を対象とし、臍帯血 DNA を用いて Infinium HumanMethylation450 BeadChip 網羅的メチル化解析を行い、163 名分の 45 万 CpGs のメチル化値を得た。母体血中 PFAAs 濃度は LC-MS/MS にて測定した。メチル化値は標準化・バッチ間補正後、robust linear regression を用いて log10 変換後の PFAAs 濃度との関連を解析した。False-discovery rate (FDR) で  $q < 0.05$ 、もしくは偏回帰係数の絶対値が PFOS で 0.075、PFOA で 0.05 以上であり p 値が 0.05 未満であった CpGs の抽出を行い、うち同一遺伝子上で 3CpGs 以上抽出されたものみに絞り込んだ。臍帯血中細胞組成は Houseman の手法にメチル化値から推定した。データ処理・統計解析は R(ver.3.1.3) を用いて行った。

Bioconductor(ver.3.0)の minfi, sva, limma package, JMP(ver.11)を用いて行った。

## 12. 胎児期のメチル水銀とフタル酸エステル類曝露が児の DNA メチル化に及ぼす影響

2002年から2005年に札幌市の一産院で妊婦をリクルートした北海道スタディ札幌コホート参加者 514 名のうち、出産時カルテ情報、臍帯血 DNA、母毛髪水銀(N=244)もしくは母体血中 MEHP 濃度(N=187)のそろった母子ペアを対象とした。臍帯血全血 400  $\mu$ L から Maxwell<sup>®</sup> 16 DNA Purification Kit (Promega 社)にて抽出を行った臍帯血 DNA を Epiect Plus Bisulfite Kit (Qiagen 社)にてバイサルファイト処理後、Pyromark Q24 system (Qiagen 社)を用いたパイロシークエンス法により IGF2, H19, LINE1 の 3 領域について DNA メチル化解析を行った。母毛髪水銀は酸化燃焼金アマルガム法(AAS法)、母体血中 MEHP 濃度は GC-MS で測定を行った。曝露濃度を  $\log_{10}$  変換し、重回帰分析により統計解析を行った。

### 倫理面への配慮

疫学調査は北海道大学環境健康科学研究教育センター、北海道大学大学院医学研究科医の倫理委員会および遺伝子解析審査小委員会および共同研究施設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「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」およびヘルシンキ宣言に基づいて行った。研究への参加は自由意志により、自発的に中止しても不利益を被らないよう配慮し、対象者のプライバシーの保持には細心の注意を払った。すべての実験・研究は、北海道大学大学院医学研究科で規定されている「ヒト組織及び動物を用いた実験指針」に従い、本研究は倫理面の十分な配慮のうえ行った。

### C. 研究結果

#### 1. 先天異常の発生状況とケースコホート研究デザインによる曝露リスク評価に関する研究

母親の出産時年齢は平均 29.84  $\pm$  4.83 歳であった。生産 18,938 名(98.2%)、死産 64 名(0.33%)、自然流産 209 名(1.1%)、人工流産 56 名(0.29%)であった。出産した児の男児は 9,552 名(49.5%)、単胎は 18,582 名(96.3%)、

在胎週数は平均 38.38  $\pm$  3.22 週、出生体重は平均 3,019.23  $\pm$  433.02g であった。妊娠中の疾患では、切迫早産で入院したものの 1,043 名(5.4%)が最も多く、次いで臍からの出血 499 名(2.6%)、妊娠中毒症あるいは妊娠高血圧症候群 359 名(1.9%)であった。生産、死産、流産を含む全分娩のうち、なんらかの先天異常を有する児の総数は 330 名であり、そのうちマーカー奇形 238 件(1.2%)、その他の先天奇形 109 件(0.5%)であった。また、在胎 22 週以降の分娩 18,142 件中では、先天異常のある児は 295 件(1.5%)であった。発生頻度(出産 1 万対)の最も高い先天異常は心室中隔欠損症 16.8(33 名)であった。次いで停留精巣・非触知精巣 14.6(14 名：男児のみ 9,552 名で算出)、Down 症候群 10.3(20 名)、口唇および口蓋裂 18.1(35 名)、水腎症 9.3(18 名)などであった。

2002 年から 2011 年までのリクルート年毎に無作為抽出された 500 名および、最終 2012 年の全員 369 名から構成される 4,869 名のサブコホート集団を抽出した。ケースコホート研究デザインで PCBs・ダイオキシン類は先天性疾患 182 名、コントロール 182 名、合計 364 名が測定済みである。PFAAs は先天性心疾患 145 名、コントロール 290 名、合計 435 名が測定済みである。尿道下裂・停留精巣のケースコントロール 210 件について、妊娠初期(器官形成期)の BPA およびフタル酸エステル類および、胎児期の性腺機能の指標となる臍帯血中の性ステロイドホルモン 108 件について測定した。母親の年齢や出産年でマッチングしたコントロールと解析し、化学物質が内分泌かく乱作用を介して先天異常リスクに与える影響を明らかにする。

#### 2. Predictors of folate status among pregnant Japanese women: the Hokkaido Study on Environment and Children's Health, 2002 -2012

Overall, geometric mean (standard deviation) of serum folate concentration was 17.77 (3.58) nmol/L. Prevalence of folate deficiency was 0.52%. Suboptimal folate status constituted 25.65%, while optimal folate status was reported in 73.83% of the population. Initial descriptive analyses using folate as a continuous variable revealed mean serum folate concentrations increased with

increasing maternal age, educational status, annual income, FA supplements use, and other nutritional supplements use. Mean serum folate concentrations decreased with increasing number of cigarette sticks smoked per day, ETS exposure at home, and increasing plasma cotinine concentrations. Exposure to ETS at both home and at work was associated with low folate status. Serum folate inversely correlated with plasma cotinine concentration. Significant differences were observed in mean plasma cotinine concentrations among nonusers of FA supplements and users, with geometric mean (SD) of 46.41 (23.23) nmol/L, and 25.27 (15.32) nmol/L respectively. 7.00% of folic acid users started intake more than 3 months before conception. Another 8.00% started 1 month before conception, while majority (more than 60.00%) started use following confirmation of pregnancy. The average frequency of use per week was 3 times. In the regression model, the value of the McFadden's pseudo-pooled over the imputed data sets was 8.69%. The demographic determinants of low folate status identified were lower maternal age (AOR: 1.48, 95% CI: 1.32, 1.66; lower educational level (AOR: 1.27, 95% CI: 1.17, 1.39; lower annual income (AOR: 1.11, 95% CI: 1.01, 1.22); residing in the south and eastern regions (AOR: 1.25, 95% CI: 1.14, 1.38), and (AOR: 1.15, 95% CI: 1.05, 1.25), respectively. Being enrolled into the study between 2005 and 2007 was associated with an increase in the risk of low folate status (AOR: 1.23, 95% CI: 1.12, 1.35); while recruitment between 2008 and 2010 reduced the likelihood of having low folate status (AOR: 0.81, 95% CI: 0.73, 0.90), respectively. Lower BMI (AOR: 0.84, 95% CI: 0.74, 0.94; and unemployment were associated with risk reduction (AOR: 0.87, 95% CI: 0.80, 0.94).

Lifestyle factors that reduced the odds of low folate status were the use of FA supplements; other nutritional supplements; and weekly alcohol consumption. Lifestyle factors

that increased the odds of low folate status were active cigarette smoking and ETS exposure. Smoking <10 cigarette sticks per day was associated with increased odds; while smoking between 10 to 19 cigarette sticks per day was associated with an increased risk. However, smoking  $\geq$  20 cigarette sticks per day was not statistically significant, but p-trend <0.001. Exposure to ETS at home and work increased the odds of low folate status.

Participants with plasma cotinine levels between 1.19 - 65.21 nmol/L were 1.20 times more likely to have low folate status (AOR: 1.20, 95% CI: 1.10, 1.31); while those with levels > 65.21 nmol/L had a twofold increase in risk (AOR: 1.91, 95% CI: 1.70, 2.14).

### 3 . Effects of prenatal exposure to perfluoroalkyl acids on risk of allergic diseases at 4 years old children

Mother-child pairs who had information on allergy at 4 years and PFAA measurements were included in data analysis (n=1558). The number of children who developed allergic disorders at 4 years of age were as follows: wheezing, 291 (18.6%); rhinoconjunctivitis 84 (5.4%); eczema 296 (19.0%); and total allergic disease 536 (34.4%). Adjusted odds ratios (ORs) in the 4th quartile vs 1st quartile (Q4 vs Q1) for total allergic diseases (including at least one of allergic outcomes) were significantly decreased for PFDoDA (Q4 vs Q1 OR: 0.621; 95% CI: 0.454, 0.847) and PFTrDA (Q4 vs Q1 OR: 0.712; 95% CI: 0.524, 0.966) in all children. We found the same results between PFAAs and eczema. The adjusted OR (Q4 vs Q1) for wheezing in association with higher maternal PFHxS levels was 0.728 (95% CI: 0.497, 1.06) in all children. Although adjusted OR for allergic outcomes in 2nd to 4th of examined PFAA quartiles reduced compare to first quartile in both sexes, the associations were statistically significant only in boys after sex stratification.

#### 4 . Prenatal Exposure to Perfluoroalkyl Acids and Risk of Infectious Diseases in Early Life

The number of children who developed infectious disorders until 4 years of age were as follows: otitis media, 649 (41.4%); pneumonia, 287 (18.4%); RSV, 197 (12.6%); varicella 589 (37.8%), and febrile seizure, 121 (7.7%), and total infectious disease 1075 (69.0%). There was no significant difference between incidence of infectious diseases among boys and girls. PFOS levels in the highest quartile (Q) were associated with increased odds ratio of infectious diseases compare with the lowest quartile (Q4 vs Q1 OR: 1.56; 95% CI: 1.12, 2.17; p for trend= 0.022) in all children. In addition, PFHxS was associated with higher risk of total infectious diseases only among girls across quartiles (Q4 vs Q1 OR: 1.56, 95% CI: 0.963, 2.54; p for trend= 0.022). However, PFDA was associated with reduced risk of otitis media among girls (Q4 vs Q1 OR: 0.700; 95% CI: 0.452, 1.08, p for trend= 0.042).

#### 5 . The Association of Prenatal Exposure to Perfluorinated Chemicals with Glucocorticoid and Androgenic Hormones in Cord Blood Samples: The Hokkaido Study

We found a dose-response relationship of prenatal PFOS exposure, but not PFOA, with glucocorticoid levels after adjusting for potential confounders. Cortisol and cortisone concentrations were -28.70 (95% confidence interval (CI): -46.10, -11.30; p for trend < 0.001) and -77.93 ng/mL (95% CI: -130.97, -24.89; p for trend <0.001) lower, respectively, in infants with prenatal PFOS in the fourth quartile compared with those in the first quartile. The highest quartile of prenatal PFOS exposure was positively associated with a 0.99 ng/mL higher DHEA level compared with the lowest quartile (95% CI: 0.15, 1.83; p for trend=0.013), whereas

PFOA showed a negative association with DHEA levels (quartile 4 vs 1: -0.98 ng/mL, 95% CI: -1.72, -0.23; p for trend=0.011). We observed no significant association between PFCs and androstenedione levels.

#### 6 . 胎児期の有機塩素系農薬曝露による児の臍帯血中性ホルモンへの影響

最も高濃度検出されたのは p,p'-DDE(中央値 619.3 pg/g-wet), ついで -HCH(154.3), HCB(104.0)だった。交絡要因を調整した重回帰分析で, 男児では oxychlordan, trans-nonachlor, cis-heptachlorepoide, HCB, Mirex 濃度濃度が高くなるとテストステロン濃度が低下した。また, DDE および DDT, Dieldrin, HCH, Mirex, および Parlar-50 濃度が高くなると PRL が低下, c-Heptachlorepoide, および HCB 濃度が高くなると Inhibin B 濃度が低下した。LH, FSH, SHBG, INSL3 と濃度とに関連はなかった。一方女児では, DDE および DDT 濃度が高いと E2 が低く p-p'-DDE は T/E2 比が増加した。

#### 7 . 胎児期の有機塩素系農薬 (OCP) 曝露が母児の甲状腺ホルモンに及ぼす影響

交絡要因を調整した重回帰分析の結果, 母では OCP による TSH への影響は観察されなかったが, 一方で, 母体血中 o,p'-DDE, o,p'-DDT および Dieldrin が増加するほど FT4 が有意に低下した (o,p'-DDE: =-.03, p<.05, o,p'-DDT: =-.06, p<.05, Dieldrin: =-.08, p<.05)。児については TSH への影響は観察されなかったが, 一方, 母体血中 cicNonachlor, p,p'-DDT, および Parlar50 が増加するほど新生児の FT4 が有意に増加した (cicNonachlor: =.04, p<.05, p,p'-DDT: =.04, p<.05, Parlar50: =.04, p<.05)。

#### 8 . Prenatal MEHP, BPA exposure and cord blood adipokine levels

Median (IQR) MEHP and BPA levels (ng/ml) were 10.70 (6.30-17.05) and 0.051 (< LOD-0.075), respectively. Median total and HMW adiponectin and leptin levels were significantly higher in girls than boys. (P = 0.006 for total adiponectin, p = 0.005 for HMW adiponectin, p < 0.001 for leptin, respectively). The median leptin level was significantly correlated to both total and HMW adiponectin levels (data not shown). The median

leptin level was significantly higher in mothers with higher BMI ( $P = 0.006$ ) and the total and HMW adiponectin levels were suggestively higher in mothers with higher BMI ( $p < 0.1$ ). The geometric mean BPA level was higher in higher total adiponectin group with borderline significance. BPA level was also higher in high HMW adiponectin and high leptin groups with no statistical significance. After adjusting with covariates, MEHP level was positively associated with total and HMW adiponectin levels among boys ( $p = 0.008$  for both). MEHP level was negatively associated with leptin levels with borderline significance over all, and after stratification by child sex, the association was observed only among girls with statistical significance ( $p = 0.008$ ). BPA level was not associated with any of the adipokine levels.

#### 9. 胎児期における喫煙曝露と学童期の注意欠陥/多動性障害(ADHD)傾向との関連

母児の基本属性で「ADHD 疑い群」「対照群」に群間差が認められた「出産年齢」「世帯年収」「父親学歴」「出産回数」「在胎週数」「児の性別」「妊娠中葉酸摂取」で調整し、「ADHD 疑い群か否か」を従属変数としたロジスティック回帰分析を実施した。その結果、妊娠初期・中期・後期のいずれにおいても、妊娠中の母親の喫煙は非喫煙に比べオッズ比が上昇していた(初期 オッズ比(OR)=1.769, 95% 信頼区間(CI):1.250-2.502; 中期 OR=1.560, 95%CI:1.105-2.204; 後期 OR=1.557, 95%CI:1.099-2.265)。母親の妊娠後期コチニン値からカテゴリー分けした非喫煙群は能動喫煙群に対して OR=1.445, 95%CI:1.008-2.072 であった。また妊娠中に喫煙を継続していた母親に比べ、妊娠中に禁煙した場合の ADHD 発症への影響は、非喫煙と妊娠初期の禁煙でリスクを低下させた(非喫煙 OR=0.622, 95%CI:0.409-0.944, 妊娠初期禁煙 OR=0.565, 95%CI:0.354-0.902)。その一方で妊娠中の父親の喫煙状況や出生後の受動喫煙の影響は認められなかった。

#### 10. 妊婦の喫煙が母の遺伝子多型を介して児の出生時体格に及ぼす影響

妊婦の遺伝子多型の違いによって、児の出生時体格との関連に有意な差は認められなかった。妊婦の喫煙状況において、非喫煙者の児と比較して、喫煙者の児では出生体重が 71g 有意に小さかった(95%CI; -103, -40;  $P < 0.001$ )。さらに妊婦の遺伝子多型と喫煙状況の組合せにおいて、AHR(G>A, Arg554Lys)-GA/AA 型, CYP1A1-(A>G, Ile462Val)-AA 型でかつ XRCC1(C>T, Arg194Trp)-CC 型をもつ非喫煙者の児と比較して、AHR-GG 型, CYP1A1-AG/GG 型でかつ XRCC1-CT/TT 型をもつ喫煙者の児では、出生体重が 145g 有意に小さかった(95%CI; -241, -50;  $P = 0.003$ )。

#### 11. 胎児期有機フッ素化合物曝露影響の臍帯血網羅的エピゲノム解析

札幌の一産科病院で 2002 年 7 月から 2005 年 10 月までにリクルートした北海道スタディ札幌コホート参加者のうち、初期調査票・出産時カルテ情報・母体血中 PFAAs 濃度・臍帯血がそろった母児を対象とし、臍帯血 DNA を用いて Infinium HumanMethylation450 BeadChip 網羅的メチル化解析を行い、163 名分の 45 万 CpGs のメチル化値を得た。母体血中 PFAAs 濃度は LC-MS/MS にて測定した。メチル化値は標準化・バッチ間補正後、robust linear regression を用いて log10 変換後の PFAAs 濃度との関連を解析した。False-discovery rate (FDR) で  $q < 0.05$ 、もしくは偏回帰係数の絶対値が PFOS で 0.075、PFOA で 0.05 以上であり p 値が 0.05 未満であった CpGs の抽出を行い、うち同一遺伝子上で 3CpGs 以上抽出されたものみに絞り込んだ。臍帯血中細胞組成は Houseman の手法にメチル化値から推定した。データ処理・統計解析は R(ver.3.1.3)、Bioconductor(ver.3.0)の minfi, sva, limma package, JMP(ver.11)を用いて行った。

#### 12. 胎児期のメチル水銀とフタル酸エステル類曝露が児の DNA メチル化に及ぼす影響

母毛髪中水銀量の中央値は 1.42  $\mu$ g/g (最小値-最大値: 0.30-7.55)、出産前に採血を行った 187 名の母体血中 MEHP 濃度の中央値は 10.4 ng/ml (最小値-最大値: 3.4-64.0)であった。母毛髪水銀量との関連については、母年齢・世帯年収・妊娠中喫煙・魚摂取量・パームの有無・児性別で調整後、LINE1 メチル化との間に有意な正の関連がみられた( $\beta = 0.7$ ,  $p = 0.04$ )。フタル酸エス

テル代謝物 (MEHP) 濃度については、母年齢・学歴・妊娠中喫煙・児性別・母体血採血時期で調整後、H19 メチル化との間に有意な負の関連がみられた ( $r = -1.3$ ,  $p = 0.02$ )。性別での層別解析を行なったところ、母毛髪水銀量と LINE1 メチル化、MEHP 濃度と H19 メチル化、どちらも男児のみで有意な関連がみられた。また、それぞれの曝露濃度を 4 分位に分けて解析を行なった結果、MEHP 濃度と H19 メチル化との関連で有意な濃度依存性が見られた ( $p$  for trend = 0.02)。水銀と LINE1 メチル化との関連では有意ではないが濃度依存傾向がみられ、特に、男児でその傾向が強かった。

#### D. 考察

本研究で示した先天異常発生状況のデータは、わが国における初めての大規模な地域病院ベースの情報である。日本で唯一の全国規模調査である「日本産婦人科医会先天異常モニタリング (JAOG ICBDSR Annual report 2013)」の 2007-2011 年報告と北海道スタディ 2003-2014 年報告の形態異常頻度を比較すると、脊髄髄膜瘤、水頭症、口唇裂、横隔膜ヘルニア、小腸閉鎖、尿道下裂、ダウン症などのほとんどが JAOG よりも発生率が低かったが、多指・趾症は若干高かった。先天異常の発生率は殆どが JAOG 報告よりも下回っているが、これは調査対象施設の規模による違いが大きい。JAOG は地域の中心的な医療を担う病院が対象であるが、本研究では周産期医療の中心的な施設だけでなく産科クリニックからの報告も多く、地域ベースの前向きコホート研究という特徴を有している。本研究は一般的な地域の有病率を把握する上で、わが国で他に例のない非常に重要なデータと考えられる。

環境化学物質と先天異常の関係については、全出産児 19,267 名を対象に、引き続き PCBs・ダイオキシン類・OH-PCB、および PFAAs11 種類の分析を実施し、最終的にケースコホート研究デザインにおいて、先天性心疾患症例 182 名と対照例 182 名で、母の既往歴、妊娠中の薬剤、飲酒など生活習慣、職業歴、血清葉酸値、血中コチニン濃度を調整したうえで、胎児期の PCBs・ダイオキシン類および OH-PCB、および PFAAs が先天性心疾患リスクに与える影響を明らかにする予定である。今後も、引き続き PCBs・ダイオキシン類、PFAAs の曝露評価を継続すると共に、環

境化学物質の関与が示唆されるマーカ-奇形の尿道下裂・停留精巣 78 名をケースとして、妊娠初期 (器官形成期) の母体血血清を用いて BPA・フタル酸エステル類の曝露評価を行う。

これまでの研究で北海道 (大規模) コホートをを用いて 2003 年~2011 年の経年変化を PFAAs の一斉分析の測定系を確立し、曝露濃度の変化を検討した。PFAAs11 種類 (PFHxA, PFHpA, PFOA, PFNA, PFDA, PFUnDA, PFDoA, PFTrDA, PFTeDA, PFHxS, PFOS) を測定した結果、2003 年から 2011 年で母体血中 PFOS, PFOA 濃度は有意に減少した一方で、PFNA, PFDA 濃度は有意に上昇した。中央値は PFOS 3.83 ng/mL, PFOA 2.67 ng/mL, PFNA 1.36 ng/mL, PFDA 0.563 ng/mL, PFUnDA 1.50 ng/mL, PFDoA 0.188 ng/mL, PFTrDA 0.347 ng/mL, PFHxS 0.324 ng/mL であった。母体血中 PFOS, PFOA 濃度が出生時体重に与える影響を検討した結果、PFNA 曝露レベルが高いほど出生時体重と身長が有意に低かった ( $p = 0.02$ ,  $p = 0.003$ )。特に男児に影響が強かった。アレルギー症状との関連では、2 歳時では、女児のみにおいて母体血中 PFUnDA, PFTrDA 濃度が高いほど、2 歳児のアトピー性湿疹の発症リスクが量反応的に低下した。同じ集団を継続してフォローアップし 4 歳のアレルギーとの関連を検討したところ、母体血中 PFDoDA, PFTrDA 濃度は高いほど 4 歳児のアレルギー発症リスクが量反応的に低下することを示した。性別で層別化して解析したところ男児のみで有意な関連が認められた。さらに母体血中 PFOS, PFHxS 濃度が高いほど 4 歳の感染症リスクが増加した。長鎖の PFAAs の胎児期曝露は児の免疫アレルギーに対して抑制的に作用し、性特異的な影響を及ぼす可能性が示唆された。しかし、炭素鎖の長い PFAAs が生体に及ぼす影響に関しては、世界的にデータが乏しく、性差のメカニズムは不明であることから、一般集団を対象に長鎖の PFAAs 曝露の影響を詳細に検討し、免疫毒性および性差について明らかにする必要がある。さらに、平成 26 年 12 月までに調査が終了した 2,807 名のうち 1,066 名については、近年アトピー性皮膚炎の要因として知られる皮膚のバリア機能に關与するフィラグリン遺伝子 (*FLG*) 変異についてシークエンスを行っている。2 歳、4 歳時のアトピー性皮膚炎は *FLG* 遺伝子変異があるとオッズ比がそれぞれ 1.55 (95%CI: 1.08 - 2.22), 1.47 (95%CI: 1.03 - 2.09) だったことから、アトピー性皮膚炎については今



後 FLG 遺伝子変異の有無も考慮して曝露の影響を検討する必要がある。

胎児期の PFOS・PFOA 曝露による臍帯血中グルココルチコイドと性ホルモンとの関連を検討したところ、PFOS がコルチゾールとコルチゾンとを低下させ、DHEA を増加させた。これまでの研究で同じ集団で PFOS 曝露による性ステロイドホルモンへの抗アンドロゲン作用やエストロゲン作用、およびステロイドホルモン合成の基質となるトリグリセリドや脂肪酸(パルミチン酸等)の低下を報告した。本研究で認められた、グルココルチコイドや DEHA への影響は、性腺機能のみならず視床下部-脳下垂体-副腎皮質系(HPA)軸の制御をかく乱させ、妊娠維持および胎児発育に重要な体内電解質や血圧などの制御に影響する可能性を示した重要な報告である。

難分解性の有機塩素系農薬については、本研究の DDT 類、HCB の濃度は 2002-2003 年に調査が実施された千葉市・山梨市(Fukata et al., 2005)およびドイツ(Wittsiepe et al., 2008)の報告と近似し、スペイン(Jimenez Torre et al., 2006)、USA(Chevier et al., 2008)の農業地域より低値と推測された。日本では Mirex は未使用にもかかわらず、全母体血から検出された。これまでに、同じ集団で胎児期の環境化学物質曝露により、胎内でのホルモン環境が変化する内分泌かく乱作用がみられた。母への環境化学物質の濃度を曝露因子とし、化学物質濃度と胎内のホルモン環境との関連について検討を行った。胎児期の PFOS 曝露により臍帯血中のコルチゾール・コルチゾンが低下し、エストラジオール(E2)、DHEA が増加した。テストステロン(T)/E2 比は低下したことから、アロマターゼ活性亢進の可能性が示唆された。また、Inhibin B は低下し、動物実験同様にセルトリ細胞への負の影響が見られた。女兒でもプロゲステロンとプロラクチンが低下し、内分泌かく乱作用が見られた。DEHP の一次代謝物(MEHP)の濃度が高いほど男児で Inhibin B および insulin like factor-3(INSL3)が有意に低下したことから、生活レベルの曝露でも動物実験同様に DEHP 曝露は精巣のセルトリ細胞・ライデッヒ細胞の増殖抑制や減少を促す可能性が示された。BPA はテストステロンやプロゲステロン等のステロイドホルモン値を上げる結果が得られていることから、PFC やフタル酸とは異なる作用機序で内分泌かく乱作用を引き起こしているといえる。

加えて OCP の胎児期曝露による児の性ホルモンへの影響が示唆された。特に男児でテストステロン、女児でエストラジオール値の低下が見られた。男児でテストステロンを下げる結果は、成人男性の結果と一致した。胎児期曝露は E2 を低下させる結果を示し、アロマターゼ活性阻害による可能性を示唆した。思春期あるいは成人で報告されている DDT 曝露によるエストロゲン様作用が胎児期にも影響を及ぼすのか、さらなる検討が必要である。加えて、これら胎生期の性腺機能への影響が、その後の性役割行動や第二性徴発来などのタイミングなどの性分化にも影響を与えるのか、ヒトの疫学研究で明らかにする必要がある。

甲状腺ホルモンへの影響については、母体血中の有機塩素系農薬が増加するほどに母の FT4 が低下し、新生児の FT4 が増加した。有機塩素系農薬の中で DDT, Dieldrin, dicNonachlor, および Parlar50 はより母児の甲状腺機能に影響する可能性が示唆された。これらの影響が児の発達に与える影響については今後検討していく必要がある。

本研究での母体血中 MEHP 濃度は、妊婦での先行研究と比較すると高く、臍帯血中 BPA 濃度は先行研究と比較すると低かった。本研究のレプチン、アディポネクチン濃度は、日本や台湾の先行研究と同レベルであったが、欧米諸国の報告値よりは低い値であった。本研究では、レプチン、高分子量・総アディポネクチンは女児で男児よりも高かった。本研究では、男女ともに BPA 濃度とレプチン、アディポネクチン濃度の関連はみられなかったが、MEHP 濃度とアディポネクチン濃度で正の関連がみられた。女児では、MEHP 濃度とレプチン濃度と負の相関がみられた。これまでに臍帯血中 BPA 濃度とアディポサイトカインを検討した研究は 2 報で、Chou らは、特に男児で胎児期 BPA 曝露は新生児のアディポネクチンの低下、レプチンの増加のリスクを上げるとし、Ashley-Martin らは男児で BPA 濃度とアディポネクチン濃度に逆相関があると報告している。胎児期フタル酸エステル類曝露とアディポサイトカインの先行研究は Ashley-Martin らの 1 報のみで、妊婦の尿中 MCPP 濃度の上昇で男児のレプチン濃度が増加することを示唆した。本研究は、胎児期 MEHP 曝露が児のアディポネクチン、レプチン濃度に影響を与えること、そして影響には性差があることを示し、先行研究に科学的な根拠を追加した。

胎児期から学童期までの喫煙曝露による 8 歳児の ADHD 傾向の関連では、妊娠初期・中期・後期のすべての時点で妊娠中の母親の喫煙が出生後の ADHD 傾向に影響を与える可能性が示唆された。さらに、禁煙行動の時期別に影響を検討したところ、非喫煙および妊娠初期の禁煙行動のみが ADHD 傾向のリスクを低下させることが確認された。妊娠後期の母体血中コチニン濃度による曝露評価においては、非喫煙レベルに比べ能動喫煙レベルで ADHD 傾向が有意に上昇する量反応関係が確認された。妊娠中の母親の喫煙が児の ADHD 傾向に影響を及ぼす可能性はこれまで複数報告がある(Han et al., 2015; Obel et al., 2009)が、妊娠中の曝露時期による影響を厳密に検討した研究は見当たらない。本研究では妊娠時期別の喫煙状況に加え、妊娠後期の喫煙曝露をコチニンで直接的に評価した点で先行研究に例をみないものである。児の健全な発達のため、妊娠の可能性のある年齢層への禁煙教育の重要性を裏付ける点で貴重な結果である。

妊婦の喫煙が遺伝子多型を介して児の出生時体格に及ぼす影響については、AHR-GG 型、CYP1A1-AG/GG 型およびXRCC1-CT/TT 型をもつ妊婦では、(BPDE)代謝物や BPDE-DNA 付加体が、それぞれの Reference 群よりも多く生成されると予想される。そして、これらの遺伝子多型と妊娠中の喫煙が組合わさると出生体重の平均が 145g 小さくなる可能性が考えられた。しかし、本研究の結果から胎児期の母の喫煙と児の出生時体格との量反応関係およびこれらの関係における母の遺伝的な影響の関与についてはまだわからない。引き続き、母の遺伝的な影響の関与について検討する予定である。

胎児期の内分泌かく乱物質曝露による児の DNA メチル化への影響については、胎児期の水銀曝露による LINE1 高メチル化、MEHP 曝露による H19 低メチル化が示唆された。LINE1 はゲノムのおよそ 17%を占める反復配列で、レトロトランスポゾンコードしており、ゲノム全体のメチル化の指標として用いられる。出産後の母の爪の水銀レベルとの関連では、CpG アイランド上流に位置する CpG サイトの高メチル化が報告されており(Cardenas et al., 2015)、我々の結果と同様の傾向を示した。一方、H19 はノンコーディング RNA をコードしており、IGF2 の発現を抑制する。今回の結果では H19 メチル化と出生時体格との間に有意な関連は認められなかつ

た。IGF2 は脳内でも発現しており、胎児の発育のみならず、脳の発達にも重要なホルモンである。今後は神経行動発達への影響等についても調べる必要がある。また、我々はこれまでに水銀、MEHP 曝露のほか、PFAAs、ダイオキシン・PCBs 等の環境化学物質の胎児期曝露による IGF2/H19、LINE1 メチル化への影響を示した。これは、曝露が時間・組織特異的 DNA メチル化機構を攪乱し、胎児の発達に影響を与えることを示唆している。さらに、環境化学物質曝露が影響を与えるメチル化部位を特定するため、現在 Illumina 社 HumanMethylation450 BeadChip を用いた網羅解析を進行中である。今後は、さらにメチル化とその変化に伴う成長発育・アレルギー・神経発達等のアウトカムとの関連を明らかにしていく必要がある。

#### E. 結論

本コーホート参加妊婦で平成 27 年 12 月末までに新生児個票が確認された 19,280 人のうち、先天異常の児総数は 330 人、先天異常を有する児の出産頻度は 1.7%であった。今後は、PCBs・ダイオキシン類、PFOS 等の有機フッ素化合物(PFAAs)、ビスフェノール A およびフタル酸エステル類曝露の影響について先天異常、SGA、免疫アレルギー、神経行動発達等についてケースコホート研究デザインでリスク評価を継続する。さらに、重要な交絡要因となる母体血中葉酸濃度や葉酸サプリメント摂取、母の能動および受動喫煙の有無、代謝酵素遺伝子多型を考慮して、思春期前期の成長発育、免疫アレルギー、神経行動発達など環境化学物質による次世代影響について微量分析と環境-遺伝相互作用を含めた解析を確実に行うことにより、世界的にも初めての実証的なデータを示すことが可能となる。

#### F. 研究発表

##### 1) 論文発表 (原著・総説 査読有)

1. H. Goudarzi, S. Nakajima, T. Ikeno, S. Sasaki, S. Kobayashi, C. Miyashita, S. Ito, A. Araki, H. Nakazawa and R. Kishi, Prenatal exposure to perfluorinated chemicals and neurodevelopment in early infancy: The Hokkaido Study, *Sci Total Environ*, 2016, 541:

- 1002-10.
2. M. A. Verner, A. E. Luccisano, N. H. Morken, M. Yoon, H. Wu, R. McDougall, M. Maisonet, M. Marcus, R. Kishi, C. Miyashita, M. H. Chen, W. S. Hsieh, M. E. Andersen, H. J. Clewell, 3rd and M. P. Longnecker, Associations of Perfluoroalkyl Substances (PFASs) with Lower Birth Weight: An Evaluation of Potential Confounding by Glomerular Filtration Rate Using a Physiologically Based Pharmacokinetic Model (PBPK), *Environ Health Perspect*, 2015.
  3. C. Miyashita, S. Sasaki, Y. Saijo, E. Okada, S. Kobayashi, T. Baba, J. Kajiwara, T. Todaka, Y. Iwasaki, H. Nakazawa, N. Hachiya, A. Yasutake, K. Murata and R. Kishi, Demographic, behavioral, dietary, and socioeconomic characteristics related to persistent organic pollutants and mercury levels in pregnant women in Japan, *Chemosphere*, 2015, 133: 13-21.
  4. C. Miyashita, S. Sasaki, T. Ikeno, A. Araki, S. Ito, J. Kajiwara, T. Todaka, N. Hachiya, A. Yasutake, K. Murata, T. Nakajima and R. Kishi, Effects of in utero exposure to polychlorinated biphenyls, methylmercury, and polyunsaturated fatty acids on birth size, *Sci Total Environ*, 2015, 533: 256-265.
  5. T. Mitsui, A. Araki, A. Imai, S. Sato, C. Miyashita, S. Ito, S. Sasaki, T. Kitta, K. Moriya, K. Cho, K. Morioka, R. Kishi and K. Nonomura, Effects of prenatal leydig cell function on the ratio of the second to fourth digit lengths in school-aged children, *PLoS One*, 2015, 10: e0120636.
  6. R. Kishi, T. Nakajima, H. Goudarzi, S. Kobayashi, S. Sasaki, E. Okada, C. Miyashita, S. Itoh, A. Araki, T. Ikeno, Y. Iwasaki and H. Nakazawa, The Association of Prenatal Exposure to Perfluorinated Chemicals with Maternal Essential and Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids during Pregnancy and the Birth Weight of Their Offspring: The Hokkaido Study, *Environ Health Perspect*, 2015, 123: 1038-45.
  7. R. Kishi, T. Nakajima, H. Goudarzi, S. Kobayashi, S. Sasaki, E. Okada, C. Miyashita, S. Itoh, A. Araki, T. Ikeno, Y. Iwasaki and H. Nakazawa, The Association of Prenatal Exposure to Perfluorinated Chemicals with Maternal Essential and Long Chain Polyunsaturated Fatty Acids during Pregnancy and the Birth Weight of their Offspring: The Hokkaido Study, *Environ Health Perspect*, 2015, 124.
  8. S. J. Hanley, E. Yoshioka, Y. Ito and R. Kishi, HPV vaccination crisis in Japan, *Lancet*, 2015, 385: 2571.
  9. Y. Ait Bamai, A. Araki, T. Kawai, T. Tsuboi, E. Yoshioka, A. Kanazawa, S. Cong and R. Kishi, Comparisons of urinary phthalate metabolites and daily phthalate intakes among Japanese families, *Int J Hyg Environ Health*, 2015, 218: 461-70.
  10. 小林澄貴, 荒木敦子, 佐々木成子, 池野多美子, 宮下ちひろ, 伊藤佐智子,

- 岸玲子, 胎児期の母の受動喫煙と児の出生体重に関する最近の研究動向, 北海道公衆衛生学雑誌, 28, 37-48. 2015
11. X. Jia, T. Tagawa, H. Yatsuya, H. Naito, Y. Hayashi, Y. Husna, S. Sasaki, A. Araki, C. Miyashita, T. Ikeno, R. Kishi and T. Nakajima, Association of maternal whole blood fatty acid status during the prenatal period with term birth dimensions: a cross-sectional study, *J Perinat Med*, 2015, 43(5) : 565-575.
12. X. Jia, Y. Harada, M. Tagawa, H. Naito, Y. Hayashi, H. Yetti, M. Kato, S. Sasaki, A. Araki, C. Miyashita, T. Ikeno, R. Kishi and T. Nakajima, Prenatal maternal blood triglyceride and fatty acid levels in relation to exposure to di(2-ethylhexyl)phthalate: a cross-sectional study, *Environ Health Prev Med*, 2015, 20(3) : 168-178, DOI : 10.1007/s12199-014-0440-4.
13. 小林澄貴, 佐田文宏, 佐々木成子, 坂晋, 宮下ちひろ, 岡田恵美子, Limpar Mariko, 吉岡英治, 梶原淳睦, 戸高尊, 西條泰明, 岸玲子, 妊婦のダイオキシン類代謝酵素遺伝子多型と母体血中ダイオキシン類濃度との関連, *北海道医学雑誌* 2013 88 (4-5):145.
- 2) 論文発表 (解説 査読無)
1. 岸玲子, 【講座 子供を取り巻く環境と健康】第1回「奪われし未来」にしない, *公衆衛生*, vol. 79, pp.193-199. 2015.
2. 梶原淳睦, 【講座 子供を取り巻く環境と健康】第3回 POPs(ダイオキシン・PCB類)の曝露実態, *公衆衛生*, vol. 79, pp.347-352. 2015.
3. 荒木敦子, アイツバマイゆふ, 岸玲子, 【講座 子供を取り巻く環境と健康】第5回 短半減期化学物質の曝露実態, *公衆衛生*, vol. 79, 485-490. 2015.
4. 佐々木成子, 小林澄貴, 岸玲子, 【講座 子供を取り巻く環境と健康】第7回 喫煙, 受動喫煙による児への影響, *公衆衛生*, vol. 79, pp.637-643. 2015.
5. 湊屋街子, 岸玲子, 【講座 子供を取り巻く環境と健康】第8回 胎児期の環境化学物質曝露が出生体重と生後発育へ与える影響, *公衆衛生*, vol. 79, pp.719-724. 2015.
6. 宮下ちひろ, 岸玲子, 【講座 子供を取り巻く環境と健康】第9回 乳幼児のアレルギー・感染症へのダイオキシン類, 有機フッ素系化学物質曝露による影響, *公衆衛生*, vol. 79, pp.805-810., 2015.
7. 荒木敦子, アイツバマイゆふ, 岸玲子, 【講座 子どもを取り巻く環境と健康】第10回 乳幼児のアレルギーと胎児期・小児期の可塑剤・難燃剤曝露, *公衆衛生*, vol. 79, pp.876-881. 2015.
8. 岸玲子, 世界における出生コホート研究の現状, *Endocrine Disrupter News Letter* vol.18.p.1.2015
9. 宮下ちひろ, 岸玲子, 胎児期のPCBsダイオキシン類による出生体重とアレルギー感染症に与える影響, *Endocrine Disrupter News Letter* vol.18.p.3.2015.
10. 荒木敦子, 宮下ちひろ, 岸玲子, 胎児期の有機フッ素化合物曝露による児の健康への影響, *Endocrine Disrupter News Letter* vol.18.p.5. 2015.

11. 三井貴彦, 武田正之, 篠原信雄, 野々村克也, 荒木敦子, 岸玲子, 環境化学物質がホルモン環境および身体的変化に与える影響について, *Endocrine Disrupter News Letter* vol.18.p.6. 2015.
  12. 伊藤佐智子, 岸玲子; 【講座 子どもを取り巻く環境と健康】第 12 回 環境化学物質曝露による内分泌系への影響(1) 甲状腺機能. *公衆衛生*. 80 (2):137-144, 2016.
  13. 荒木敦子, 伊藤佐智子, 岸玲子; 【講座 子どもを取り巻く環境と健康】第 13 回 環境化学物質曝露による内分泌系への影響(2) 性ホルモン. *公衆衛生*. 80 (3):221-227, 2016.
- 3) 学会発表
1. S. Kobayashi, C. Miyashita, S. Sasaki, A. Araki, F. Sata, S. Ban, J. Kajiwara, T. Todaka and R. Kishi, Effects of maternal AHR, CYP1A1 and GSTM1 polymorphisms and dioxins on infant birth weight: The Hokkaido Study, ISEE 2015, San Paulo, 2015.8.30.-9.3.
  2. M. Minatoya, S. Sasaki, A. Araki, C. Miyashita, J. Yamamoto, T. Matsumura and R. Kishi, Prenatal BPA exposure and cord blood adipokines, birth weight and child growth: the Hokkaido Study of Environment and Children's health, ISEE 2015, San Paulo, 2015.8.30.-9.3.
  3. A. Araki, Y. Ait Bamai and R. Kishi, Allergic disease in relation to phthalates in house dust and urine, ISEE 2015, San Paulo, 2015.8.30.-9.3.
  4. H. Goudarzi, The Association of Prenatal Exposure to Perfluorinated Chemicals with Maternal Fatty Acids during Pregnancy and the Birth Weight of their Offspring: The Hokkaido Study, ISEE 2015, São Paulo, 2015.8.30-9.3.
  5. H. Goudarzi, S. Kobayashi, C. Chen, A. Araki, C. Miyashita, S. Ito and R. Kishi, Effects of prenatal exposure to perfluoroalkyl acids on risk of allergic diseases at 4 years old children: The Hokkaido Study, 第67回北海道公衆衛生学会, 旭川, 2015.11.21.
  6. 湊屋街子, 佐々木成子, 荒木敦子, 宮下ちひろ, 山本潤, 松村徹, 岸玲子. 胎児期ビスフェノール A 曝露による臍帯血中のアディポカイン, 出生体重, 子どもの体重への影響: 北海道スタディ. 第 67 回北海道公衆衛生学会. 旭川市. 2015.11.21.
  7. 宮下ちひろ, 荒木敦子, 三井貴彦, 伊藤佐知子, 佐々木成子, 戸高尊, 梶原淳睦, 長和俊, 野々村克也, 岸玲子. 胎児期ダイオキシン類曝露による臍帯血中性ホルモンへの影響: 環境と子供の健康北海道スタディ. 第 67 回北海道公衆衛生学会. 旭川市. 2015.11.21.
  8. 喜多歳子, 池野多美子, 岸玲子. 親の社会経済状態と 18 か月児の自閉症スペクトラム疑いリスクとの関連 環境とこどもの健康に関する前向きコホート研究(北海道スタディ). 第 74 回日本公衆衛生学会大会. 長崎. 2015.11.4-6.
  9. 西原進吉, 池野多美子, 小林澄貴, 佐々木成子, 岸玲子. 胎児期の母と学童期の児の喫煙曝露と ADHD-RS

- との関連 北海道スタディ . 第 74 回日本公衆衛生学会大会. 長崎. 2015.11.4-6.
10. 小林澄貴, 宮下ちひろ, 荒木敦子, 池野多美子, 伊藤佐智子, H. Goudarzi, 花岡知之, 岸玲子, 妊娠初期における北海道内女性労働者の記述疫学的考察, 第95回北海道医学大会(平成27年度日本産業衛生学会北海道地方会), 旭川市, 2015.10.17.
  11. 小林祥子, 三浦りゅう, 川口章夫, 宮下ちひろ, 三宅邦夫, 松村徹, 山本潤, 石塚真由美, 荒木敦子, 久保田健夫, 岸玲子, 胎児期ビスフェノールA曝露影響に関する臍帯血DNA網羅的メチル化解析-北海道スタディ, 第4回日本DOHaD研究学術集会, 東京, 2015.8.1-2.
  12. 田村菜穂美, 伊藤久美子, 花岡知之, 喜多歳子, 西原進吉, 宮下ちひろ, 荒木敦子, 小笠原克彦, 岸玲子, 児の出生体重と母親の社会経済要因との関連についての疫学研究 北海道スタディ, 第85回日本衛生学会学術総会, 和歌山, 2015.3.26.-28.
  13. 山崎圭子, 宮下ちひろ, 中島そのみ, 池野多美子, 荒木敦子, 伊藤佐智子, 小林祥子, 水谷太, 菅木洋一, 岸玲子, 胎児期の有機塩素系農薬曝露が6か月・18か月児の精神運動発達に及ぼす影響-北海道スタディ, 第85回日本衛生学会学術総会, 和歌山, 2015.3.26.-28.
  14. 小林澄貴, 宮下ちひろ, 佐々木成子, 荒木敦子, 佐田文宏, 板晋, 梶原淳睦, 戸高尊, 岸玲子, ダイオキシン類曝露と胎児発育との関連: 遺伝的なリスクについて 北海道スタディ, 第85回日本衛生学会学術総会, 和歌山, 2015.3.26.-28.
  15. 湊屋街子, 佐々木成子, 中島そのみ, 那須民江, 後藤裕子, 宮下ちひろ, 荒木敦子, 小林澄貴, 池野多美子, 岸玲子, 胎児期MEHP曝露による神経行動発達への影響-北海道スタディ, 第85回日本衛生学会学術総会, 和歌山, 2015.3.26-28.
  16. 荒木敦子, 宮下ちひろ, 金澤文子, 伊藤佐智子, 三井貴彦, 佐々木成子, 水谷太, 菅木洋一, 野々村克也, 岸玲子, 有機塩素系農薬への胎児期曝露による児の性ホルモン濃度への影響-北海道スタディ-, 第85回日本衛生学会学術総会, 和歌山, 2015.3.26-28.
  17. 岸玲子, 環境とこどもの健康に関する出生コホート研究の現状: 北海道スタディ13年の経験から, 第85回日本衛生学会学術総会, 和歌山, 2015.3.26-28.
  18. 宮下ちひろ, 金澤文子, 佐々木成子, 池野多美子, 荒木敦子, 伊藤佐智子, 小林祥子, 水谷太, 菅木洋一, 岸玲子, 有機塩素系農薬が乳幼児の免疫に与える影響 環境とこどもの健康北海道スタディ-, 第85回日本衛生学会学術総会, 和歌山, 2015.3.26-2.
  19. 小林祥子, 安住薫, 佐々木成子, 松村徹, 山本潤, 石塚真由美, 宮下ちひろ, 池野多美子, 荒木敦子, 岸玲子, 臍帯血ビスフェノールA 濃度と児のIGF2 DNA メチル化との関連-北海道スタディ, 第85回日本衛生学会学術総会, 和歌山, 2015.3.26-28.
- G. 知的財産権の出願・登録状況  
該当なし