

201524024A

厚生労働科学研究費補助金
化学物質リスク研究事業

妊娠期のPFAAs・OH-PCB曝露による次世代への甲状腺機能攪
乱作用と生後の神経発達へ与える影響の解明

平成 27 年度 総括研究報告書

研究代表者

北海道大学環境健康科学研究教育センター

伊藤 佐智子

平成 28 (2016) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告書 妊娠期のPFAAs・OH-PCB曝露による次世代への甲状腺機能攪乱作用と生後の神経発達へ 与える影響の解明	1
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	16
III. 研究成果の刊行物	18

妊娠期の PFAAs・OH-PCB 曝露による次世代への甲状腺機能攪乱作用と
生後の神経発達へ与える影響の解明

研究代表者 伊藤佐智子 北海道大学環境健康科学研究教育センター 特任講師

研究要旨

有機フッ素化合物 (PFAAs) や PCB は人体へ長期間蓄積し、胎児に移行する。これまで血中 PFAAs 濃度と注意欠陥・多動性障害 (ADHD) 等児の発達障害との関連や (Hoffman et al. 2010)、PCB 代謝物の水酸化 PCB (OH-PCB) 曝露と 5-6 歳の注意力低下との関連が報告された (Roze et al. 2009)。そのメカニズムとして脳神経の発生・発育時期の甲状腺機能異常は脳神経発達の障害を招く (Haddow et al. 1999) ことから、化学物質の胎児期曝露が胎児成長に必須である甲状腺ホルモン値を攪乱して神経行動障害を引き起こす可能性が示唆される。しかし、PFAAs の中でも特に長炭素鎖である PFNA、PFUnDA はわが国で生産量が多いが、胎児期の曝露が甲状腺ホルモン値攪乱および脳神経系発達へ与える影響について過去に全く検討されておらず、また PCB の中でも甲状腺ホルモンに似た構造を有する OH-PCB については、厳密な測定がこれまで難しかったため、先行研究は非常に少ない。したがってわが国における検討が急務の課題である。

そこで、申請者らは出生前向きコホート「環境と子どもの健康に関する北海道スタディ」大小 2 つのコホートで、母児 260 組および母児 1000 組を対象に、長炭素鎖有機フッ素化合物 (PFAAs) および水酸化 PCB (OH-PCB) の妊娠期曝露による母児甲状腺機能攪乱作用への影響と幼児期や学童期の発達障害との関連を明らかにし、化学物質胎児期曝露による次世代への健康リスク評価を行う。あわせて、代謝関連 SNPs の解析を行い、ハイリスク群と環境遺伝交互作用を検討する。

平成 27 年度は平成 26 年度に引き続き、札幌市内一産科医院で実施した小規模コホート内で妊娠期母体血中 OH-PCB 濃度と代謝関連 SNPs データおよび母児甲状腺ホルモン値データが揃う母児 260 組を対象に、妊娠期母体血中 OH-PCB 濃度が児の甲状腺ホルモン値へおよぼす影響の検討と、母体血中の異物代謝関連 SNPs 解析を行った。OH-PCB の母体血中濃度が出生時の児 TSH、FT4 値へ与える影響を重回帰分析にて検討したところ、妊娠期母体血中 Σ OH-PCB、4-OH-CB187 濃度が高いと、児の FT4 値が有意に高かった ($p = 0.044$, 0.016)。さらに PCB から OH-PCB への代謝に関連するとされる AhRR、CYP1A2 などの SNPs ごとに層別化し検討したところ、AhRR の CC 型では妊娠期母体血中 Σ OH-PCB が高いと児の TSH が有意に高く ($p = 0.014$)、4-OH-CB187 濃度が高いと児の TSH 値が有意に高く ($p = 0.011$)、児の FT4 値も有意に高かったが ($p = 0.020$)、CG 型、GG 型では有意な関連がみられなかった。CYP1A2 の AA 型では 4-OH-CB187 濃度が高いと児の FT4 値が有意に高かった ($p = 0.039$) が、AC 型、AA 型では有意な関連がみられなかった。GSTP の AA 型では Σ OH-PCB が高いと児の TSH が有意に高かった ($p = 0.028$)。また、4-OH-CB187 濃度が高いと児の TSH 値が有意に高く ($p = 0.016$)、児の FT4 値も有意に高かった ($p = 0.023$)。一方、AG 型、GG 型では有意な関連がみられなかった。CYP1B1 の各 SNPs についても同様の検討を行ったが、SNPs 間での差はみられなかった。これらの結果から、OH-PCB の胎児期曝露は児の TSH、FT4 へ影響をおよぼし、その影響は母の代謝関連 SNPs 型によって異なる可能性が示唆された。今後は体内代

謝第 1 相、第 2 相の関連 SNPs を組み合わせて効果を検討し、より影響を受けやすい群を特定する必要があると考える。北海道全体の産科医院を対象とした大規模コホートでは、H26、27 年度で 1,000 組の母児について母体血中および臍帯血中甲状腺ホルモン値、抗甲状腺抗体の測定を行った。加えて、すでに母体血中 PFAAs 11 種類の濃度が測定された 489 組を対象に、PFAAs 濃度と母児甲状腺ホルモン値の関連を検討した結果、母体血中 PFTrDA (C=13) 濃度が高いと母の TSH が有意に高かった ($p = 0.033$)。児については性別で層別化して解析したところ、男児では母体血中 PFHxS (C=6)、PFDA (C=10) 濃度が高いと臍帯血中 FT3 が有意に低く ($p = 0.025$ 、 $p = 0.008$)、女児では母体血中 PFHxS (C=6) 濃度が高いと臍帯血中 TSH が有意に高く ($p = 0.011$)、PFDA (C=10) が高いと児の FT3 が有意に高かった ($p = 0.022$)。母体血中 PFAAs 濃度と母児 FT4 の有意な関連はみとめられなかった。以上の結果から、本研究ではすでに規制が進み、北海道スタディで経年的に母体血中濃度が減少している PFOS (C=8)、PFOA (C=8) 曝露と母児甲状腺ホルモン値との影響はみられなかった。一方、代替物質である PFAA では短・長炭素鎖ともに母児の甲状腺ホルモン値に影響を与えること、児では影響に性差がみられる可能性が示唆された。また胎児期の曝露が、国内の妊婦・新生児スクリーニング検査で一般的に測定されている T4 値ではなく、検査では測定されないが体内で直接臓器へ作用する T3 濃度へ影響する可能性も示唆された。残り 511 組の対象者については、現在母体血中 PFAAs の測定を引き続き行っている。

平成 28 年度は 11 種類の PFAAs 妊娠期曝露と、母児の甲状腺ホルモンと抗甲状腺抗体の変化との関連を引き続き検討する予定である。また、両コホートにおいて、小規模コホートで 6、18 か月時に行う運動・精神発達調査と、大規模コホートで 8 歳時 ADHD 調査結果を用いて、甲状腺機能と幼児期・学童期神経発達との関連を検討し、PFAAs、OH-PCB に攪乱された出生時の甲状腺機能が生後の神経行動発達へ与える影響について解析する予定である。本研究では環境化学物質に対して最も脆弱な集団である妊婦、胎児への影響と、生後の神経行動発達アウトカムとの関連を明らかにすることができる。

研究協力者

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

梶原 淳睦

福岡県保健環境研究所保健科学部
生活化学課、生活化学課長

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

池野 多美子

北海道大学環境健康科学研究教育
センター、客員研究員

宮下 ちひろ

北海道大学環境健康科学研究教育
センター、特任准教授

湊屋 街子

北海道大学環境健康科学研究教育
センター、特任助教

ホウマヌ ゴウダルジ

北海道大学環境健康科学研究教育
センター、JSPS 外国人特別研究員

小林 澄貴

北海道大学環境健康科学研究教育
センター、特任助教

小林 祥子

北海道大学環境健康科学研究教育
センター、技術補助員

(Hoffman, Webster et al. 2010)、PCB 代謝物の OH-PCB 曝露と 5-6 歳の注意力低下との関連が報告された (Roze et al. 2009)。そのメカニズムとして脳神経の発生・発育時期の甲状腺機能異常が脳神経発達の障害を招く (Haddow et al. 1999) ことから、化学物質への胎児期曝露が胎児成長に必須である甲状腺ホルモン値を攪乱して神経行動障害を引き起こす可能性が考えられている。

PFOS、PFOA に代表される 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。しかし、最近、「環境と子どもの健康に関する北海道スタディ (以下、北海道スタディ)」に参加している約 2,000 名の妊婦の PFAAs11 種類の濃度を調べたところ、PFOS/PFOA 濃度は年々低下しているが、代わりに長炭素鎖 (C=10 以上) の PFNA、PFDA は血中濃度が増加していることがわかった (Okada et al. 2013)。

炭素鎖の長い (C=9 以上) の PFNA、PFDA は日本において諸外国と比較して国内生産量が多いため、次世代の胎児への影響検討が必要だが、胎児期の

A. 研究目的

有機フッ素化合物 PFAAs や PCB は人体へ長期間蓄積し、かつ胎児移行率が高い。これまで血中 PFAAs 濃度と ADHD 等児の発達障害との関連や

長炭素鎖 PFAAs 曝露が甲状腺ホルモン値変動へ影響を与える可能性および脳神経系発達への影響についてはこれまでほとんど検討されていない。Hoffman et al. (2010) は、PFAAs4 種と ADHD との関連を検討した米国の横断研究では、血中 PFAAs 濃度が高いほど ADHD 発症のリスクを上げると報告されているが、これまで PFNA、PFDA の胎児期曝露と生後の発達障害との検討を行った報告はなく、神経発達に重要な役割を示す甲状腺ホルモンへの影響も調べられていない。

PCB は毒性が発見されたのち国内で 1972 年に製造が中止され、2004 年にストックホルム条約でその使用と廃棄が禁止された。しかし PCB を含む製品は現在も使用され、安定性と長期にわたる蓄積性のため、環境中や生体から検出され続けている (Schecter 2001)。これまで PCB 胎児期曝露が生後の神経発達を妨げるという報告があり (Grandjean et al. 2001, Jacobson and Jacobson 1996)、成人よりも環境物質に脆弱とされる胎児への影響検討が注目されてきた。

PCB の一部は生体内で Cytochrome450 による酸化を受けた後、大部分が OH-PCB へ代謝され速やかに体外へ排出されるとされてきたが、近年 OH-PCB は PCB 同様生体内や環境中に蓄積することが報告されている (Letcher et al. 2000)。そのため OH-PCB のヒトへの健康影響が懸念されているが、生体内における PCB の代謝経路は明らかになっていない。ま

たこれまで PCB の健康影響とされてきたものが本来は OH-PCB の影響である可能性があり、早急に解明が必要である。OH-PCB は PCB よりも甲状腺ホルモンによく似た構造を有し、Transthyretin(TTR)と強い結合力を有することから (Brouwer et al. 1998)、PCB よりも体内の甲状腺機能維持へ強く影響を与えるとされている。これまで血清中の OH-PCB 濃度と甲状腺ホルモン FT4 との間に負の関連がみられたが、PCB 濃度と FT4 とは関連がみられなかった (Sandau et al. 2002) という報告や、PCB、OH-PCB 濃度ともに T3 との関連がみられたという報告 (Dallaire et al. 2009) があるが、一致した結果は得られていない。甲状腺ホルモンは胎児発育において重要な役割を示し、胎児は自らの甲状腺が分泌を開始するまでの妊娠初期は母親の甲状腺ホルモンに依存している (de Escobar et al. 2004; Calvo et al. 2002)。OH-PCB は胎盤通過性を有し、母体血中より臍帯血中の OH-PCB/PCB 濃度比が高い (Kawashiro et al. 2008) ことから、感受性が高い胎児への影響を直ちに明らかにする必要があるが、OH-PCB 胎児期曝露による児甲状腺機能への影響についての疫学報告はわずか 3 報である (Hisada et al. 2013, Dallaire et al. 2009, Otake et al. 2007)。これまでに Roze et al. (2009) による OH-PCB 胎児期曝露と 5-6 歳の注意力低下との関連の報告や、男児において臍帯中の OH-PCB 濃度と 2 歳、5 歳時の体重との関連がみとめられたとの

報告があるが (Yonemoto et al. 2011, Yonemoto et al. 2012)、これらの結果は OH-PCB 曝露による甲状腺ホルモン値変動を介している可能性がある。しかし、胎児期 OH-PCB 曝露による生後の行動情緒や体格成長へ影響を与える可能性については研究が不足しており十分な結果が得られていないため、わが国における曝露レベルの把握とリスク評価が必要である。

そこで本研究では、一般生活環境レベルでの長炭素鎖 PFAAs および OH-PCB の妊娠期曝露が及ぼす母児甲状腺ホルモン値への影響を検討することを目的とした。

B. 研究方法

2002 年から開始された前向き出生コホート研究「環境と子どもの健康に関する北海道研究」を用いた。2002 年～2005 年に札幌市内同一産科医院にて参加登録を行った妊婦 514 名の小規模コホート参加者のうち、妊娠中母体血中 OH-PCB 濃度と妊娠中の母親および出生時の児甲状腺ホルモン値データが揃う 260 組の母児と、2003 年～2012 年に北海道内の産科 37 施設で参加登録を行った妊婦 20,926 名の大規模コホート参加者のうち、2013 年 (平成 25 年) までに児が 8 歳を迎え、妊娠中の母体血液と出産時の臍帯血の両検体と PFAAs 濃度のデータが揃い、8 歳時の ADHD 症状の評価を行うために作成した日本語版 Conners3P 調査票返送がある母児 1000 組を対象とした。

1. 代謝関連 SNPs の違いによる胎児期 OH-PCB 曝露と児の甲状腺ホルモン値との関連検討：

妊婦とその配偶者の既往歴、教育歴、世帯収入、喫煙状況などの対象者の属性は妊娠中期から後期に実施した自記式調査票、児の性別、出生時体重、出産経歴などの出生時所見は医療診療録から得た。小規模コホート参加者の母体血中 OH-PCB 濃度は福岡県保健環境研究所にて、LC/MS/MS を用いて母体血中 OH-PCB 濃度、OH-CB107、OH-CB146+153、OH-CB172、OH-CB187 の各異性体について分析した。母児甲状腺ホルモン値 (TSH、FT4) は、札幌市が実施しているマスキリーニングの結果を用いた。SNPs 解析についてはフリーダムの EP1 システムを用いて、母体血より H26 年度にすでに解析を終了した AhR、CYP1A1、GSTM、GSTT を除く、AhRR、CYP1A2、CYP1B1、GSTP の解析を行った。

母体血中 Σ OH-PCB 濃度と母児甲状腺ホルモン値の関連については重回帰分析を行った。4-OH-CB107、4-OH-CB172 濃度は全対象者の 50%未満の検出率であったため、重回帰分析は行わなかった。なお、 Σ OH-PCB 濃度、児 TSH、FT4 値は Log10 変換して解析に用いた。交絡要因として、母親の出産時年齢、非妊娠時 BMI、出産回数、魚摂取量、世帯年収、OH-PCB 測定用採血時期に加え、在胎週数、出生

時体重、生下時採血日数を用いて各 SNPs の多型ごとに層別化し、重回帰分析を行った。統計解析には SAS 社 JMP12 を用い、 $p < 0.05$ を統計学的有意とした。

2. 大規模コホート内の母児血中甲状腺ホルモン値 (TSH、FT3、FT4) および抗甲状腺抗体の測定 (TgAb、TPOAb) と胎児期 PFAAs 曝露と母児の甲状腺ホルモン値との関連検討:

大規模コホートでは妊娠期母体血、臍帯血を採取・保存済で、かつ 8 歳の調査票 (ADHD 調査) の返送があった参加者のうち、無作為に選んだ 1000 組の母児を対象者とした。500 組の母児において、冷凍保存している妊婦の採血(妊娠 13 週未満)と 出産時の妊婦の臍帯血から妊娠期の母児の甲状腺ホルモン値および抗甲状腺抗体の測定を行った。測定は株式会社エスアールエルに委託して行った。母の抗甲状腺抗体は、Fiora et al. 2013 の基準に従い、TPOAb は 35U/mL 以上を、TgAb は 40U/mL 以上を陽性者とした。

H26 年、27 年に甲状腺ホルモンと抗甲状腺抗体値を測定した 1000 組の母児のうち、すでに母体血中 PFAAs11 種類の濃度が測定された 489 組を対象に、PFAAs 濃度と母児甲状腺ホルモン値の関連を重回帰分析にて検討した。PFAAs 濃度、甲状腺ホルモン濃度は Log10 変換した値を用いた。交絡要因として、母解析には出産時年齢、出産歴、妊娠前 body mass index (BMI)、甲

状腺ホルモン採血時の妊娠週数、世帯年収、喫煙習慣を、児解析には母の要因として出産時年齢、出産歴を、児の要因として出生体重、在胎週数の影響を調整した。統計解析には SAS 社 JMP12 を用い、 $p < 0.05$ を統計学的有意とした。

(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。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. 代謝関連 SNPs の違いによる胎児期 OH-PCB 曝露と児の甲状腺ホルモン値との関連検討

H27 年度は H26 年度に引き続き「北海道スタディ」小規模コホートにおいて、妊娠期母体血中 OH-PCB 濃度および母児甲状腺ホルモン値 (TSH、FT4) データの揃っている母児 260 組を対象に、妊娠期母体血中 OH-PCB 濃度が母児甲状腺ホルモン値へ及ぼす影響の検討と、母体血中の異物代謝関連 SNPs 解析を行った。

OH-PCB の母体血中濃度が出生時の

児 TSH、FT4 値へ与える影響を重回帰分析にて検討したところ、妊娠期母体血中 Σ OH-PCB、4-OH-CB187 濃度が高いと、児の FT4 値が有意に高かった ($\beta = 0.031$; 95% confidence interval [CI]: 0.001, 0.062; $p = 0.044$ 、 $\beta = 0.030$; 95% CI: 0.006, 0.054; $p = 0.016$)。次いで PCB から OH-PCB への代謝と体外への排泄に関連するとされる AhRR、CYP1A2、GSTP の SNPs ごとに層別化して検討したところ、AhRR の CC 型では妊娠期母体血中 Σ OH-PCB が高いと児の TSH が有意に高かった ($\beta = 0.260$; 95% CI: 0.055, 0.465; $p = 0.014$)。また、4-OH-CB187 濃度が高いと児の TSH 値が有意に高く ($\beta = 0.219$; 95% CI: 0.051, 0.386; $p = 0.011$)、児の FT4 値も有意に高かった ($\beta = 0.050$; 95% CI: 0.008, 0.098; $p = 0.020$)。一方、CG 型、GG 型では有意な関連がみられなかった。CYP 1 A2 の AA 型では 4-OH-CB187 濃度が高いと児の FT4 値が有意に高かった ($\beta = 0.040$; 95% CI: 0.002, 0.078; $p = 0.039$) が、AC 型、AA 型では有意な関連がみられなかった。GSTP の AA 型では Σ OH-PCB が高いと児の TSH が有意に高かった ($\beta = 0.155$; 95% CI: 0.017, 0.294; $p = 0.028$)。また、4-OH-CB187 濃度が高いと児の TSH 値が有意に高く ($\beta = 0.139$; 95% CI: 0.027, 0.252; $p = 0.016$)、児の FT4 値も有意に高かった ($\beta = 0.035$; 95% CI: 0.005, 0.065; $p = 0.023$)。一方、AG 型、GG 型では有意な関連がみられなかった。CYP1B1 の各 SNPs でも同様の検討を行ったが、SNPs 間での差は

みられなかった。

2. 大規模コホート内の母児血中甲状腺ホルモン値 (TSH、FT3、FT4) および抗甲状腺抗体の測定 (TgAb、TPOAb) と胎児期 PFAAs 曝露と母児の甲状腺ホルモン値との関連検討:

母体血の甲状腺機能測定では、値が得られた 913 名について、中央値は TSH が $0.83\mu\text{U/mL}$ 、FT3 が 3.04 ng/mL 、FT4 が 1.35 ng/mL であった。また、母体血中 TPOAb、TgAb の値が得られた 716 名の母について、TPOAb 陽性者は 32 名 (4.5%)、TgAb 陽性者は 96 名 (13.4%) であった。臍帯血の測定では、値が得られた 963 名について、中央値は TSH が $7.96\mu\text{U/mL}$ 、FT3 が 1.29 ng/mL 、FT4 が 1.30 ng/mL であった。

甲状腺ホルモンと抗甲状腺抗体値を測定した 1000 組の母児のうち、すでに母体血中 PFAAs 11 種類の濃度が測定された 489 組を対象に、PFAAs 濃度と甲状腺ホルモン値の関連を重回帰分析で検討した結果、母体血中 PFTrDA (C=13) 濃度が高いと母の TSH が有意に高かった ($\beta = 0.360$; 95% CI: 0.030, 0.690; $p = 0.033$)。児の解析では性別で層別化して行い、男児において母体血中 PFHxS (C=6)、PFDA (C=10) 濃度が高いと臍帯血中 FT3 が有意に低く ($\beta = -0.139$; 95% CI: -0.261 , -0.018 ; $p = 0.025$ 、 $\beta = -0.138$; 95% CI: -0.240 , -0.036 ; $p = 0.008$)、女児において母体血中 PFHxS (C=6) 濃度が高いと臍帯血中 TSH が有意に高く ($\beta = 0.215$;

95% CI: 0.049, 0.380; $p = 0.011$)、PFDA (C=10) が高いと児の FT3 が有意に高かった($\beta = 0.165$; 95% CI: 0.024, 0.305; $p = 0.022$)。男児では PFNA (C=9) が高いと FT3 が低い傾向がみられたが、有意ではなかった($\beta = -0.044$; 95% CI: -0.236, 0.005; $p = 0.059$)。母体血中 PFAAs 濃度と母児 FT4 の有意な関連はみとめられなかった。

D. 考察

本研究では、一般生活環境レベルでの妊娠中 OH-PCB 曝露による母児甲状腺ホルモン値への影響について検討をした。 Σ OH-PCB、4-OH-CB187 濃度が高いと、児の FT4 値が有意に高かったが、さらに異物代謝関連 SNPs 型で層別化して検討を行ったところ、一部の SNPs 型を有する母児では母の OH-PCB 曝露濃度が高いと、児の TSH、FT4 値が有意に高く、SNPs 型によって児の TSH、FT4 値への影響が異なることを見出した。

母の OH-PCB 曝露と出生時の児甲状腺ホルモンについての研究はこれまで 3 報ある。日本で行われた 2 報について、Otake ら (Otake et al. 2007) は OH-CB187 と FT4 値に正の関連をみとめ、Hisada ら (Hisada et al. 2013) は数種類の OH-PCB 異性体が高いと児の TSH が高いことを報告した一方、Dallaire ら (Dallaire et al. 2008) によるカナダでの報告では有意な関連はみられなかった。これらの報告はいずれもサンプルサイズが 100 未満であり、より大きな集団での検討が必要であ

った。本研究では 244 名の母児において検討を行い、 Σ OH-PCB、4-OH-CB187 濃度が高いと、児の FT4 値が有意に高いという結果であった。体内では血中 T4 値が高いと TSH の分泌が抑制され、T4 値が低いと TSH 分泌が促進されるネガティブフィードバックシステムによって、甲状腺ホルモン値が一定に保たれる。本研究では児の TSH、FT4 ともに高くなっているため、OH-PCB はこのネガティブフィードバックシステムに関わる視床下部-下垂体-甲状腺軸 (HPT 軸) の制御機構を攪乱している可能性が考えられる。また、血中の T4 は各細胞へ取り込まれた後、脱ヨード酵素 (deiodinase) により T3 へと転換されるが、OH-PCB はこの酵素の働きを阻害するとされる (Schuur et al. 1998)。そのため、本研究では T4 から T3 への変換が少なくなり、T4 値が見かけ上高くなった可能性も示唆された。

さらに本研究の母体血中 Σ OH-PCB 濃度 35.1pg/g-wet は、異性体を測定して Σ OH-PCB を算出している先行研究の妊婦と比較して低い濃度であった (Hisada et al. 2013、Kawashiro et al. 2008; Park JS et al. 2007)。「北海道スタディ」の妊婦 256 名 (甲状腺データがない妊婦も含む) の体内 OH-PCB 濃度を異性体ごとに測定したところ、血中 Σ OH-PCB/ Σ PCB 濃度比は先行研究の妊婦血中比(ドイツ 0.19 : Soechitram et al. 2004、日本(千葉) 0.18 : Kawashiro et al. 2008)と比較して低い値(0.08)を示した。これは申請者らのコホート内

妊婦では他のコホート対象者と比較して、もともと環境中からの曝露量が低いことに加え、体内の PCB から OH-PCB への代謝能力が低い、または OH-PCB 体外排泄能力が高いため、体内 OH-PCB 濃度が低くなっている可能性も否定できない。その理由として妊娠期は体内の異物動態が変化する時期であるため PCB の代謝環境の変化や個々の代謝能力の違いによることが考えられるが、これまでヒトにおける PCB、OH-PCB の代謝経路は明らかになっておらず、個々の生体内代謝環境による血中濃度差についての疫学研究はない。

本研究では個々の代謝関連 SNPs に注目し、H26 年度に行った AhR、CYP1A1、GSTM、GSTT 解析に加え、H27 年度は引き続き AhRR、CYP1A2、CYP1B1、GSTP1 を解析して検討を行った。その結果、主に異物代謝第 1 相、第 2 相とされる部分の母の SNPs の違いが、母の OH-PCB 曝露が児の甲状腺ホルモン値へ与える影響の違いに繋がる可能性が示唆された。これは、低濃度の曝露でも影響を受けやすいハイリスク群が存在することを示している。今後はさらに複数の SNPs 組み合わせによる層別化を行い、遺伝的なハイリスク群についてさらに検討する必要がある。

また、本研究では H26、27 年度で「北海道スタディ」大規模コホート内の母児 1,000 組において、-80 度で冷凍保存している妊婦の採血(妊娠 13 週未満)と 出産時の妊婦の臍帯血から妊

娠期の母児の甲状腺ホルモン値および抗甲状腺抗体の測定を行った。特に、甲状腺ホルモン値は小規模コホートで測定していた FT4 に加え FT3 を測定することで、FT4、FT3 値がほぼ同様の変動をする臨床的な甲状腺疾患と区別する形で環境化学物質曝露による甲状腺機能攪乱の影響を比較して明らかにできると考えられる。

母体血中 PFAAs 濃度と母児の甲状腺ホルモン値との関連検討では、すでに母体血中 PFAAs 濃度のデータがある一部の対象者での解析 (n=489) ではあるが、母の PFAAs 濃度と母児の甲状腺ホルモンの間に有意な相関がみられた。これまで我々は北海道スタディで母の妊娠中 PFOS、PFOA 曝露が母児の TSH、FT4 へ与える影響について検討し、母体血中 PFOS 濃度が高いと母の TSH が有意に低く、児の TSH が優位に高いことを報告している (Kato et al. 2016)。しかし、北海道スタディで妊婦血中の PFAAs 濃度を経年的に調べたところ、製造が規制された PFOS、PFOA 濃度が年々低くなる代わりに、PFNA、PFDA などの代替物質濃度が高くなっていることがわかった(Okada et al. 2012)。本研究では PFOS (C=8)、PFOA (C=8) 曝露と母児甲状腺ホルモン値との影響はみられなかった一方、長炭素鎖の PFDA (C=10)、PFTTrDA (C=13) に加えて、短炭素鎖の PFHxS (C=6) が甲状腺ホルモンへ影響を与えることが示唆された。これまで代替物質を含めた PFAAs と母児の甲状腺ホルモン値と

の関連を検討した疫学論文は韓国の 1 報のみであり (Kim et al. 2011)、母体血中・臍帯血中の PFAAs 濃度、臍帯血中の T3、T4 および TSH を測定し、臍帯血中の PFOS 濃度 (中央値: 1.26ng/mL) が高いと T3 値が低く、PFTrDA 濃度 (中央値: 0.47ng/mL) が高いと T3、T4 が低かった。本研究では母体血中 PFHxS 濃度が高いと児の TSH が高く、PFDA 濃度が高いと児の T4 が低く、他の PFAAs と甲状腺ホルモンとの関連はみられないという結果であり、韓国の研究とは異なる結果であった。しかし、Kim らの報告はサンプルサイズが 43 名と非常に小さく、児のみの甲状腺ホルモン値を測定しており、母親の甲状腺ホルモンへの影響検討は行っていない。本研究の対象者については、胎児が甲状腺ホルモンを分泌する前の妊娠 13 週前後の母体血から甲状腺ホルモンを測定することで、母親のホルモンに依存している時期の影響をより明確に解析することができる。さらに本研究では国内で一般的に行われる妊婦・新生児甲状腺スクリーニング検査で測定され、Pre Hormone の役割をもつ T4 値ではなく、検査では測定されないが実際に体内で直接臓器へ作用する T3 濃度へ影響する可能性も示唆された。これまで PFAAs は OH-PCB 同様、T4 と競合して TTR に結合することで甲状腺ホルモン攪乱作用を有するとされてきたが、本研究では児の T3 値を低くする結果であったことから、T4 から T3 へ変換する酵素への影響も考えられる。

しかし、炭素鎖の長さや構造も異なる各物質それぞれについて、詳細なメカニズムはまだ明らかではない。北海道スタディでは母体血中 PFAAs 濃度の測定が現在進行中であり、今後は 1,000 組の母児において、妊娠期 PFAAs 曝露が母児甲状腺機能に与える影響について解析予定である。

母の TSH は胎盤を通過しないが、FT4、TPOAb、TgAb は通過するとされる。特に、新生児の TPOAb、TgAb は母親由来であるといわれており (Delahunty et al. 2010)、胎児へ移行した抗体が出生後に一過性の甲状腺機能低下症などを引き起こすことがあるため、甲状腺ホルモンとともに非常に重要である。しかし、これまで PFAAs の胎児期曝露が抗甲状腺抗体へおよぼす影響について検討した研究はない。そのため、本研究では母児の TPOAb、TgAb についても測定しており、今後母体血中 PFAAs との関連検討を行っていく。

甲状腺ホルモンは胎児期および生後の成長に必須な神経細胞の分化に関わる遺伝子を制御し、児の脳分化・神経行動発達に対して重要な役割を果たしている。胎児では、5 週~20 週頃は神経細胞の増殖期で、また胎児期後半から生後 1 ヶ月にかけては神経シナプス・髄鞘形成など発達が大きく進む時期である。胎児の甲状腺は胎生 11-12 週に成熟し、胎生 16 週頃に甲状腺ホルモンの分泌を開始するが、12 週頃にはすでに胎児の大脳皮質中で甲状腺ホルモンが検出される。これは

胎盤を通じて母親からの甲状腺ホルモンが胎児へ供給されていることを示し、その後も出生まで胎児は主に母親の甲状腺ホルモン供給に依存している。母親の妊娠初期における甲状腺機能低下症と児の IQ 低下や神経心理学発達悪化との関連を示す報告があることから (Haddow et al. 1999)、胎児初期における母親の甲状腺ホルモン値が非常に重要であることが知られている。したがって、平成 28 年度は両コホートで胎児期の PFAAs、OH-PCB 曝露が母児の甲状腺機能に与える影響についての解析に加え、生後の神経行動発達へ与える影響について解析する予定である。

E. 結論

妊娠期母体血中 OH-PCB 曝露が出生時の児甲状腺ホルモン値へ与える影響を検討したところ、妊娠期母体血中 Σ OH-PCB、4-OH-CB187 濃度が高いと、児の FT4 値が有意に高かった。次いで母親の SNPs で層別化し解析を行ったところ、AhRR の CC 型、CYP1A2 の AA 型、GSTP の AA 型では妊娠期母体血中 OH-PCB 濃度が高いと児の甲状腺ホルモン値が有意に高かった。しかし、他の SNPs 型では有意な関連がみられず、遺伝子多型の違いによって OH-PCB 曝露が甲状腺ホルモン値へ及ぼす影響が異なること、SNPs 型による OH-PCB 曝露のハイリスク群が存在する可能性が示唆された。また、母体血中 PFAAs 濃度と母児甲状腺ホルモン値との相関を検討したところ、

PFTTrDA と母の TSH、PFHxS、PFDA と児の FT3 に有意な関連がみとめられ、PFAAs の妊娠期曝露は母児の甲状腺ホルモン値へ影響をおよぼす可能性が示唆された。

今後は PFAAs、OH-PCB 曝露濃度が及ぼす神経行動発達への影響を検討・評価を行い、胎児期曝露による母児の甲状腺機能攪乱作用と幼児期・学童期の発達障害との関連を明らかにする。

F. 健康危険情報 特になし

G. 研究発表

1) 論文発表

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*, 541 pp.1002-10, 2016.
2. 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* 533 : pp.256-265, 2015.

3. 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. **123** : pp.1038-45, 2015.
4. 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 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, vol. 80, pp.137-144. 2016
5. 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.
- 2) 学会発表
6. 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, 北海道公衆衛生学会, 旭川, 2015.11.21.
7. 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.,
8. 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.,
9. H. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

Table 1. Linear regression models of maternal PFAA levels and thyroid hormone levels among mothers (n=489)

	TSH				T3				T4			
	Crude		Adjust		Crude		Adjust		Crude		Adjust	
	B (95% CI)	p-value	B (95% CI)	p-value	B (95% CI)	p-value	B (95% CI)	p-value	B (95% CI)	p-value	B (95% CI)	p-value
PFHxS (C6)	-0.015 -0.316, 0.286	0.923	-0.079 -0.415, 0.258	0.646	0.007 -0.035, 0.049	0.744	0.021 -0.024, 0.066	0.364	0.012 -0.034, 0.057	0.605	0.029 -0.021, 0.079	0.250
PFOS (C8)	-0.112 -0.457, 0.233	0.524	-0.090 -0.473, 0.294	0.646	0.033 -0.014, 0.080	0.171	0.028 -0.022, 0.079	0.272	0.046 -0.004, 0.096	0.073	0.037 -0.018, 0.091	0.186
PFOA (C8)	0.079 -0.178, 0.337	0.545	-0.063 -0.360, 0.232	0.674	0.009 -0.027, 0.044	0.624	0.024 -0.015, 0.063	0.235	0.004 -0.033, 0.042	0.821	0.030 -0.011, 0.073	0.155
PFNA (C9)	-0.080 -0.385, 0.224	0.605	-0.079 -0.419, 0.261	0.649	0.024 -0.018, 0.066	0.263	0.022 -0.023, 0.067	0.334	0.024 -0.020, 0.069	0.288	0.024 -0.025, 0.072	0.339
PFDA (C10)	0.068 -0.209, 0.344	0.630	0.085 -0.223, 0.393	0.590	-0.003 -0.041, 0.035	0.884	-0.004 -0.044, 0.036	0.840	0.010 -0.031, 0.050	0.639	0.005 -0.038, 0.049	0.813
PFUnDA (C11)	0.044 -0.148, 0.235	0.655	0.098 -0.109, 0.306	0.353	-0.007 -0.033, 0.020	0.627	-0.003 -0.030, 0.025	0.854	0.014 -0.014, 0.042	0.336	0.009 -0.021, 0.038	0.556
PFDoDA (C12)	0.062 -0.282, 0.406	0.724	0.208 -0.169, 0.587	0.278	-0.004 -0.050, 0.041	0.851	0.004 -0.044, 0.053	0.855	0.021 -0.029, 0.070	0.420	0.018 -0.035, 0.072	0.502
PFTriDA (C13)	0.319 0.016, 0.622	0.039	0.360 0.030, 0.690	0.033	-0.028 -0.070, 0.014	0.194	-0.017 -0.061, 0.027	0.455	-0.007 -0.052, 0.038	0.757	-0.003 -0.050, 0.044	0.893

Adjusted for maternal factors; age, pre-pregnancy BMI, gestational weeks of PFAA measurement, parity, annual income, and smoking habit during pregnancy.

PFOS: perfluorooctane sulfonate, PFOA: perfluorooctanoate.

Table 2. Linear regression models of maternal PFAA levels and thyroid hormone levels among infants (n=261)

	TSH				T3				T4			
	Crude		Adjust		Crude		Adjust		Crude		Adjust	
	B (95% CI)	p-value	B (95% CI)	p-value	B (95% CI)	p-value	B (95% CI)	p-value	B (95% CI)	p-value	B (95% CI)	p-value
PFHxS (C6)	-0.008 -0.158, 0.141	0.911	-0.031 -0.182, 0.121	0.689	-0.147 -0.266, -0.028	0.016	-0.139 -0.261, -0.018	0.025	-0.053 -0.097, -0.009	0.019	-0.040 -0.084, 0.004	0.075
PFOS (C8)	0.181 0.004, 0.357	0.045	0.142 -0.041, 0.324	0.128	-0.062 -0.200, 0.075	0.373	-0.034 -0.178, 0.109	0.638	-0.011 -0.062, 0.040	0.671	0.006 -0.046, 0.058	0.811
PFOA (C8)	0.063 -0.072, 0.198	0.362	0.008 -0.137, 0.153	0.916	-0.069 -0.173, 0.035	0.194	-0.046 -0.160, 0.067	0.423	-0.010 -0.050, 0.029	0.599	0.015 -0.026, 0.056	0.465
PFNA (C9)	0.033 -0.118, 0.184	0.669	-0.008 -0.163, 0.146	0.918	-0.130 -0.245, -0.014	0.028	-0.044 -0.236, 0.005	0.059	-0.014 -0.057, 0.030	0.533	0.004 -0.039, 0.048	0.848
PFDA (C10)	0.021 -0.109, 0.151	0.752	0.013 -0.118, 0.144	0.841	-0.139 -0.240, -0.038	0.007	-0.138 -0.240, -0.036	0.008	-0.043 -0.081, -0.005	0.025	-0.036 -0.073, 0.001	0.058
PFUnDA (C11)	0.005 -0.088, 0.099	0.911	0.015 -0.079, 0.108	0.758	-0.016 -0.088, 0.057	0.670	-0.019 -0.092, 0.054	0.609	-0.011 -0.038, 0.016	0.417	-0.013 -0.040, 0.013	0.320
PFDoDA (C12)	0.004 -0.196, 0.205	0.964	0.018 -0.182, 0.219	0.858	-0.068 -0.215, 0.078	0.359	-0.073 -0.221, 0.075	0.335	0.030 -0.024, 0.084	0.269	0.022 -0.031, 0.075	0.412
PFTTrDA (C13)	0.093 -0.069, 0.254	0.260	0.086 -0.076, 0.249	0.296	0.008 -0.118, 0.134	0.903	0.016 -0.111, 0.144	0.803	0.029 -0.017, 0.076	0.217	0.030 -0.016, 0.076	0.200

Adjusted for maternal factors (age, parity) and infant factors (birthweight and gestational age at birth). PFOS: perfluorooctane sulfonate, PFOA: perfluorooctanoate.

Table 3. Linear regression models of maternal PFAA levels and thyroid hormone levels among infants (n=228)

	TSH				T3				T4			
	Crude		Adjust		Crude		Adjust		Crude		Adjust	
	B (95% CI)	p-value	B (95% CI)	p-value	B (95% CI)	p-value	B (95% CI)	p-value	B (95% CI)	p-value	B (95% CI)	p-value
PFHxS (C6)	0.220 -0.059, 0.381	0.008	0.215 0.049, 0.380	0.011	0.036 -0.122, 0.193	0.656	0.051 -0.112, 0.213	0.541	0.018 -0.033, 0.068	0.789	0.017 -0.036, 0.069	0.533
PFOS (C8)	0.045 -0.127, 0.217	0.607	0.012 -0.160, 0.185	0.888	0.039 -0.126, 0.205	0.641	0.064 -0.105, 0.233	0.454	0.010 -0.047, 0.067	0.726	0.007 -0.051, 0.066	0.810
PFOA (C8)	-0.014 -0.140, 0.111	0.822	-0.062 -0.191, 0.067	0.346	-0.010 -0.131, 0.111	0.871	0.012 -0.115, 0.138	0.856	0.022 -0.019, 0.064	0.294	0.023 -0.020, 0.067	0.291
PFNA (C9)	0.007 -0.147, 0.160	0.932	0.002 -0.152, 0.156	0.981	0.117 -0.030, 0.264	0.119	0.118 -0.032, 0.268	0.123	-0.004 -0.055, 0.047	0.885	-0.003 -0.055, 0.049	0.922
PFDA (C10)	-0.048 -0.194, 0.097	0.515	-0.016 -0.162, 0.129	0.824	0.170 0.032, 0.309	0.016	0.165 0.024, 0.305	0.022	-0.014 -0.062, 0.035	0.580	-0.011 -0.060, 0.038	0.660
PFUnDA (C11)	0.013 -0.086, 0.112	0.793	0.034 -0.064, 0.133	0.490	0.011 -0.084, 0.105	0.825	0.003 -0.093, 0.099	0.956	-0.003 -0.036, 0.030	0.848	-0.001 -0.034, 0.032	0.943
PFDoDA (C12)	-0.014 -0.173, 0.144	0.858	0.017 -0.140, 0.174	0.832	0.190 -0.126, 0.166	0.800	0.011 -0.138, 0.161	0.883	0.029 -0.024, 0.081	0.286	0.033 -0.020, 0.086	0.226
PFTrDA (C13)	0.011 -0.133, 0.155	0.876	0.046 -0.097, 0.190	0.523	0.018 -0.115, 0.151	0.790	0.010 -0.126, 0.145	0.889	0.028 -0.020, 0.076	0.249	0.031 -0.018, 0.079	0.215

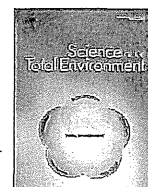
Adjusted for maternal factors (age, parity) and infant factors (birthweight and gestational age at birth). PFOS: perfluorooctane sulfonate, PFOA: perfluorooctanoate.

II 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
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	541	1002-10	2016
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	533	256-265	2015
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	123	1038-45	2015

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 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	vol. 80	137-144	2016
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



Prenatal exposure to perfluorinated chemicals and neurodevelopment in early infancy: The Hokkaido Study

Houman Goudarzi^a, Sonomi Nakajima^b, Tamiko Ikeno^a, Seiko Sasaki^c, Sachiko Kobayashi^a, Chihiro Miyashita^a, Sachiko Ito^a, Atsuko Araki^a, Hiroyuki Nakazawa^d, Reiko Kishi^{a,*}

^a Center for Environmental and Health Sciences, Hokkaido University, Sapporo, Japan

^b Department of Occupational Therapy, School of Sciences, Sapporo Medical University, Sapporo, Japan

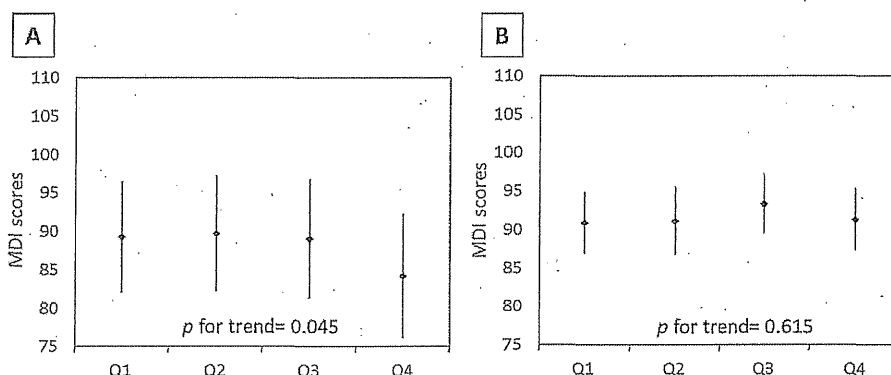
^c Department of Public Health, Hokkaido University Graduate School of Medicine, Sapporo, Japan

^d Department of Analytical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hoshi University, Tokyo, Japan

HIGHLIGHTS

- The association of prenatal exposure to PFCs with neurodevelopment were assessed.
- Neurodevelopment was evaluated at 6 and 18 months of age using the Bayley Scales of Infant Development.
- PFOA was negatively associated with mental developmental indices among 6-month female infants.

GRAPHICAL ABSTRACT



The dose–response relationship between the quartiles of PFOA and reduced MDI scores among female (A) and male (B) infants at 6 months of age.

ARTICLE INFO

Article history:

Received 2 June 2015

Received in revised form 4 October 2015

Accepted 5 October 2015

Available online 11 November 2015

Editor: Adrian Covaci

Keywords:

Perfluorinated chemicals

Neurodevelopment

Infants

Birth cohort

ABSTRACT

Perfluorinated chemicals (PFCs) are ubiquitous and persistent pollutants widely detected in blood samples of animals and humans across the globe. Although animal studies have shown the potential neurotoxicity of PFCs, there are few epidemiological studies regarding neurological effects of PFCs in humans, and those studies have had inconclusive results. In this study, we conducted a hospital-based prospective birth cohort study between 2002 and 2005 ($n = 514$) to examine the associations between prenatal perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) exposures and the neurodevelopment of infants at 6 ($n = 173$) and 18 ($n = 133$) months of age. Using the second edition of the Bayley Scales of Infant Development (BSID II), the Mental and Psychomotor Developmental Indices (MDI and PDI, respectively) were assessed. PFOS and PFOA were measured in maternal serum samples by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. After controlling for confounders, prenatal PFOA concentrations were associated with the MDI of female (but not male) infants at 6 months of age ($\beta = -0.296$; 95% confidence interval (CI): $-11.96, -0.682$). Furthermore, females born to mothers with prenatal concentrations of PFOA in the fourth quartile had MDI scores -5.05 (95% CI: -10.66 to 0.55) lower than females born to mothers with concentrations of PFOA in the first quartile (p for trend = 0.045). However, PFOA concentrations were not significantly associated with neurodevelopmental indices at

* Corresponding author at: Center for Environmental and Health Sciences, Hokkaido University, North 12 West 7, Kita-ku, Sapporo 060-0812, Japan.

E-mail address: rkishi@med.hokudai.ac.jp (R. Kishi).