

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。出生時から2016年9月までに回収された1歳から7歳までの調査票を集計したところ，先天異常総数は623件(3.2%)で出生時の約2倍であった。頻度の高い順に先天性心疾患186人(うち先天性心室中隔欠損101人)，停留精巣・触知精巣75人，および口唇・口蓋裂41人，染色体異常42人(うちダウン症26人)などであった。

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10,408名のうち喘息(984例)，アトピー性皮膚炎(1439例)，および8歳7,042名からADHD疑い(579例)と化学物質の関連を検討する。12-13歳の児2156名を対象に，身長・体重，および女児では初潮の有無の調査票を郵送した。2016年10月までに644件を回収した(回収率30%)。今後，化学物質の胎児期曝露による第二次性徴発来のタイミングへの影響を検討する。

胎児期のダイオキシン類曝露による児の免疫の影響について3.5歳の323名では母体血中ダイオキシン類濃度とアトピー性皮膚炎・喘息リスクとは関連はなかった。7歳の252名では，母体血中ダイオキシン類濃度が増加するほど喘息リスクが有意に増加した。7歳の小児期は免疫機能が発達しアレルギー症状の診断が明確になる時期であり，3.5歳の幼児期には明確でなかったダイオキシン類による影響が観察されやすくなった可能性が考えられた。

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(代謝関連バイオマーカー)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した。母体血中PFOS，PFOA濃度と，臍帯血中のアディポネクチン，レプチン濃度，出生体格の関連を曝露とアウトカムのそろそろ168名で検討した。PFOS濃度の増加は総アディポネクチン濃度の増加と関連し，逆に体格指数(ボンデラル指数)の低下と関連し，その傾向は男児で特に強く認められた。PFOA濃度の増加は，出生体重の低下と関連し，体格指数の低下傾向もみられたが，アディポネクチン，レプチン濃度とは関連しなかった。胎児期の有機フッ素化合物曝露による，代謝関連バイオマーカーへの影響が示唆された。

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。ケースコホート研究で，尿道下裂・停留精巣をアウトカムに，PCBs・ダイオキシン類はケース61名コントロール122名合計183名で測定した。今後，尿道下裂・停留精巣のケース10名コントロール20名合計30名の測定を計画している。尿道下裂・停留精巣をアウトカムに，有機フッ素化合物(PFAAs)はケース72名コントロール144名合計216名で測定中である。尿道下裂・停留精巣をアウトカムに，妊娠初期(器官形成期)のBPA・フタル酸エステル類はケース79名コントロール158名合計237名で測定した。

さらに、化学物質を測定した尿道下裂・停留精巣のケースコホートの集団において、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を 227 名で測定した。停留精巣のケース 57 名とコントロール 114 名で胎児期フタル酸エステル類曝露と停留精巣との関連を検討したが有意な関連は認められなかった。今後、引き続き曝露評価を継続しサンプルサイズを拡大する予定である。生後の曝露評価は、7 歳の 1,780 名から尿を回収して全件で尿中コチニンを測定しており、フタル酸エステル類の曝露評価を実施中である。

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ることを既に報告した。母体血中の有機塩素農薬 (OCP) 29 種類と出生時体重との間に有意な関連は見られなかったが、男女で層別化して解析を行ったところ、女兒でのみ Parlar26 との間に負の関連が認められ、性別による影響の違いが示唆された。先行研究において、OCP による出生体重への影響についての結果が一貫していないことの原因のひとつである可能性がある。

フタル酸エステル類の DEHP の胎児期曝露と、新生児の甲状腺ホルモン濃度 (FT4, TSH), 6, 18 か月における精神運動発達との関係を 328 名で検討した。甲状腺濃度、精神運動発達ともに胎児期の DEHP 曝露との関連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 社パイロシークエンサーを用いて、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交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。

多環芳香族炭化水素 (PAHs) の代謝に関わる芳香族炭化水素受容体 (AHR) やシトクロム P450 (CYP) 1A1 遺伝子多型、および DNA 修復に関わる X-ray cross-complementing gene 1 (XRCC1) 遺伝子多型について、これらの遺伝子型の違いによる妊娠中コチニン値と出生時体格との関連について検討した。母児 3,263 名を対象に、妊娠後期の母体血漿コチニン値を低濃度側から Level 1 から Level 5 に分けた。重回帰分析を使って、母の遺伝子型で層別し、胎児期の母体血漿コチニン値と出生時体格との関連を検討した。その結果、出生体重の減少は妊娠中の母体血漿コチニン値と用量反応関係を示した (P for trend < 0.001)。本研究の結果は、化学物質の代謝や DNA 修復遺伝子がたばこ煙の化合物との反応で、胎児発育の際に大きな役割を果たすことを示唆すると考えられた。

エピゲノム解析は PFAAs の胎児期曝露による児の発達への影響に DNA メチル化変化が関与しているかを検討した。札幌の一産科病院でリクルートし、同意を得た妊婦 514 名のうち、初期調査票・出産時カルテ情報、臍帯血 DNA、母体血中 PFAAs 濃度のそろった母児ペア (N=177) を対象とした。Insulin-like growth factor 2 (IGF2), H19, および long interspersed element 1 (LINE1) 遺伝子領域の臍帯血メチル化をパイロシークエンス法を用いて定量し、得られた DNA メチル化率と PFAAs の血中濃度との関連を重回帰分析で解析後、媒介分析により、PFAAs 曝露と出生時体格との関連にメチル化が介在しているかを検討した。交絡因子調整後、PFOA 濃度と IGF2 メチル化との間に有意な負の関連が見られた。次に、IGF2 メチル化と出生時体格との関連を検討した結果、IGF2 メチル化とボンデラル指数との間に有意な正の相関が認められ、さらに媒介分析の結果、IGF2 メチル化が PFOA 曝露によるボンデラル指数の減少を仲介しており、その影響の 20%を説明できることが示された。以上の結果は、PFAAs 曝露は、DNA メチル化への影響を介して、胎児の成長に影響を与えていることを示唆すると考えられた。

< 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，特任教授

馬場 剛
札幌医科大学医学部産科周産期科・生殖内分泌器科，講師

千石 一雄
旭川医科大学医学部産婦人科学講座，教授

有賀 正
北海道大学大学院医学研究科・小児科学分野，特任教授

篠原 信雄
北海道大学大学院医学研究科・腎泌尿器外科学，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，常務取締役

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
中央大学保健センター市ヶ谷分室，医療管理者

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

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

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

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。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，前向きコーホート研究を実施する。本研究に参加同意した妊婦 20,926 名について追跡する。

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。

高濃度の有機塩素系農薬 (OCP) への胎児期曝露は出生時の体重を低下させることが指摘されているが (Roberts, Karr, & Council On Environmental, 2012), 低濃度での曝露の影響については十分に明らかになっていない。本研究では、北海道における低濃度の OCP 胎児期曝露が出生時の体重に及ぼす影響について検討する。

たばこ煙中には約 4,000 種類の化学物質が含まれ、多環芳香族炭化水素 (Polycyclic aromatic hydrocarbons:

PAHs) はその一種である。PAHs の代謝に芳香族炭化水素受容体 (Aromatic hydrocarbon receptor: AHR), シトクロム P450 (Cytochrome P450: CYP) 1A1, CYP1A2, CYP1B1, グルタチオン S-転移酵素 (GSTs), DNA を修復する遺伝子 X-ray cross-complementing gene 1 (XRCC1) が関与する。AHR, CYP1A1, および XRCC1 遺伝子型の組合せによって妊婦の喫煙と出生体重との関連に影響を及ぼす報告はあるものの (Kobayashi et al., 2016), それぞれの遺伝子型の違いが、量反応関係に影響を及ぼすかはまだ検討されていない。そこで本研究では、AHR (G>A, Arg554Lys, rs2066853), CYP1A1 (A>G, Ile462Val, rs1048943), CYP1A2 (A>C, CYP1A2*1F, rs762551), CYP1B1 (C>G, Leu432Val, rs1056836), GSTM1 (Non-null/null), GSTT1 (Non-null/null) および XRCC1 (C>T, Arg194Trp, rs1799782; G>A, Arg399Gln, rs25487) 遺伝子多型の違いによって、妊娠中の母体血漿コチニン値と出生時体格との用量反応関係に影響を及ぼすかを検討とした。

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っ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、今後はコホート研究を学齢期から思春期まで追跡し、第二次性徴、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. Prevalence and Risk of Birth Defects Observed in a Prospective Cohort Study; the Hokkaido Study on Environment and Children's Health

Subjects in this study comprised 19,244 pregnant women who visited one of 37 associated hospitals in the Hokkaido Prefecture from 2003 to 2012, and completed follow-up. All birth defects after 12 weeks of gestation, including 55 marker anomalies associated with environmental chemical exposures, were recorded. We examined parental risk factors for birth defects, and the association between birth defects and risk of growth retardation.

2. 先天異常の出生時から 7 歳までの発生状況に関する研究

本調査への参加同意が得られた妊婦 20,926 名(2016 年 6 月末現在)【方法】出生時情報は、出産施設の産科医師より出生後 7 日以内の先天異常の有無を含めた birth outcome 情報を得た。また、1 歳、2 歳、4 歳、7 歳の母親への調査票から先天性心疾患、尿道下裂、停留精巣、その他の先天異常情報を得た。先天異常として報告があったもののうち、胎児病、未熟性によるもの、先天異常の有無が不明確なもの、先天性心疾患では、染色体異常や症候群の合併症、不整脈・心雑音のみなどの場合は除外した。先天異常の選択は周産期母子専門医師の助言を受けて行った。先天異常は発生器官別に the International Classification of Disease 10th revision (ICD 10th) コードに基づき分類した。

3. 妊娠初期の血清葉酸値と Birth defects リスクとの関連

北海道スタディ大規模コホートに 2002~2012 年に参加登録した 20,926 人の妊娠初期血清葉酸値を chemiluminescent enzyme immunoassay を使用して測定した。解析対象者は 22 週以降に出産した単胎児のうち、適格基準を満たした母子 14,763 組である。血清葉酸濃度と birth defects リスクとの評価は multivariate logistic regression analysis によって解析した。

4. 胎児期フタル酸エステル類、ビス

フェノール A 曝露による尿道下裂、停留精巣への影響

北海道大規模コホートに参加する児 20,791 名のうち、妊娠初期の母体血があり、尿道下裂および停留精巣の児 69 名と出産病院、出産年±1 年でマッチングしたコントロール 138 名、計 207 名の母児ペアを対象とした。尿道下裂および停留精巣のケースは新生児個票およびその後の質問紙調査により評価した。ケースのうち、停留精巣の自然下降の児および尿道下裂は解析から除外した。妊娠初期の母体血中フタル酸エステル類代謝物濃度 7 化合物 (MnBP, MiBP, MBzP, MEHP, MEHHP, MECPP, MiNP) および BPA 濃度はいで環境総合研究所にて、UPLC-MSMS および ID-LCMSMS を用いて測定した。検出限界値以下の濃度は検出限界値の半値を代入し、検出率 50%以上の化合物を解析対象とした。胎児期のフタル酸エステル代謝物濃度および BPA 濃度と児の尿道下裂、停留精巣との関連は、曝露濃度を自然対数に変換後、出産時の母の年齢、出産回数、在胎週数、母の学歴、母の教育歴、妊娠初期喫煙の有無、妊娠初期飲酒の有無、妊娠前 BMI、児の出生時体重を共変量として Cox 回帰分析にて解析した。有意水準 $P < 0.05$ とし、すべての統計解析は SPSS ver. 22 を用いて行った。本研究は北海道大学環境健康科学研究教育センターの倫理審査委員会の承認を得て実施した。

5. ダイオキシン類の胎児期曝露による児のアレルギーへの影響

2002-5 年に札幌市の一産院で妊婦 514 名をリクルートし、426 名の母体血中のダイオキシン類 (HRGC/HRMS) を測定し (福岡県保健環境研究所)、喘鳴およびアトピー性皮膚炎は ISAAC 調査票で評価した。母体血中ダイオキシン類濃度と生後 3.5 歳、7 歳のアレルギー有訴との関連を、母のアレルギー歴、教育レベル、出産歴、児の性別、児の母乳栄養期間、児の受動喫煙、集団保育、

および採血時期で調整したロジスティック回帰分析で検討した。

6 . Association of prenatal exposure to perfluoroalkyl substances with cord blood adipokines: The Hokkaido Study on Environment and Children 's Health

In this study, 168 mother-child pairs were included. Perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) in maternal blood were determined by LC-MS/MS. Cord blood adiponectin and leptin levels were measured by ELISA and RIA, respectively. Birth weight and ponderal index (PI) were obtained from birth record.

7 .有機塩素系農薬(OCP)への胎児期曝露が出生時体重に与える影響

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, 379 名の母体血中 OCP を測定した。OCP29 種類について, 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)。OCP29 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。死産および双胎, 妊娠高血圧症候群, 妊娠性糖尿病, 胎児心疾患を除く 490 名のうち, OCP データがある 374 名を解析の対象とした。出産時年齢, 妊娠日数, 母の BMI, 教育歴, 妊娠中の喫煙, 妊娠中アルコール, 血液採取時期, 児の性別, 出生順で調整した重回帰分析を行った後, 男女で層別化して同様の解析を行った。

8 . Effects of prenatal phthalate exposure on thyroid hormone levels, mental and psychomotor development of infants: The Hokkaido Study on Environment and Children's Health.

Maternal blood samples collected between 23 and 41 weeks of gestation was analyzed for mono (2-ethylhexyl) phthalate (MEHP), metabolite of di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) levels. Neonatal FT4 and TSH were obtained from mass screening data. Infant neurodevelopment was assessed by Bayley Scale of Infant Development

second edition at 6 and 18 month of age. For the final analysis, 328 participants were included.

9 . 妊娠中の母体血漿コチニン値が児の出生時体格に影響を及ぼす用量依存的な関係は AHR・XRCC1 遺伝子多型によって異なる

北海道内 40 産科病院外来を受診し同意を得た妊娠初期の妊婦を対象に, 出生前向きコーホート研究を実施した結果を用いた。2003~2007 年に研究参加協力が得られ, 出生記録, 血漿コチニン値, およびゲノム DNA が全てあったもののうち, 双胎, 妊娠高血圧, 妊娠性糖尿病を除外した 8015 名について検討した。先行研究(Sasaki et al., 2011)で得られた妊娠後期の血漿コチニン値のカットオフ値で二分すると 11.48 ng/mL 以下が 6,730 名, 11.49 ng/mL 以上が 1,285 名であった。11.48 ng/mL 以下の 6,730 名からランダムサンプリングで 2,010 名に絞り, このうち出生体重, 出生身長, および出生頭囲のデータが全てあったのは 1,998 名だった。このうち先行研究で得られたカットオフ値(Sasaki et al., 2011)を使うと, ≤ 0.21 ng/mL は 733 名(Low cotinine level), 0.22-11.48 ng/mL は 1,265 名(Moderate cotinine level)だった。このうち Moderate cotinine level は, 中央値である 0.55 ng/mL でカットオフし, 2 群に分けた。11.49 ng/mL 以上(High cotinine level)である 1,285 名のうち, 出生体重, 出生身長, および出生頭囲のデータがそろったのは, 1,265 名だった。High cotinine level は, 中央値である 101.66 ng/mL でカットオフし, さらに 2 群に分けた。最終的に, 低濃度側から Level 1 (n = 733), Level 2 (n = 630), Level 3 (n = 635), Level 4 (n = 632), Level 5 (n = 633)とした。妊娠後期の喫煙状況と出生時体格との関連は, AHR (G>A, rs2066853), CYP1A1

(A>G, rs1048943), CYP1A2 (A>C, CYP1A2*1F, rs762551), CYP1B1 (C>G, Leu432Val, rs1056836), および XRCC1 (C>T, rs1799782), GSTM1 (Non-null/null) および GSTT1 (Non-null/null) 遺伝子型で層別し, 母の年齢, 身長, 妊娠前体重, 出産歴, 妊娠中アルコール摂取, 妊娠中喫煙状況, 教育歴, 世帯収入, 児の性別および在胎週数で調整し重回帰分析で検討した。

10. DNA メチル化を介する有機フッ素化合物胎児期曝露の児への影響

対象は, 札幌の一産科病院でリクルートし, 同意を得た妊婦 514 名のうち, 初期調査票・出産時カルテ情報, 臍帯血 DNA, 母体血中 PFAAs 濃度のそろった母児ペア (N=177) とした。Insulin-like growth factor 2 (*IGF2*), *H19*, および long interspersed element 1 (*LINE1*) 遺伝子領域の臍帯血メチル化をパイロシークエンス法を用いて定量し, 得られた DNA メチル化率と PFAAs の血中濃度との関連を重回帰分析で解析し, 媒介分析により, PFAAs 曝露と出生時体格との関連にメチル化が介在しているかを検討した。

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. Prevalence and Risk of Birth Defects Observed in a Prospective Cohort Study; the Hokkaido Study on

Environment and Children's Health
Prevalence of all birth defects was 18.9/1000 births. The proportion of birth defects identified between 12 and 22 weeks gestation was approximately 10% of all birth defects. Among congenital malformation of the nerve system, 39% were observed before 22 weeks of gestation. All anencephaly and encephalocele were identified before 22 weeks of gestation. We observed different patterns of parental risk factors between birth defect cases included in ISBDSR and cases not included. Cases included in ISBDSR were associated with an increased risk of preterm birth. Cases not increased in ISBDSR were associated with an increased risk of being small-for-gestational age at term.

2. 先天異常の出生時から 7 歳までの発生状況に関する研究

先天性異常を持つ児は 7 歳までは 623 名 (3.2%; 分母は新生児個票のある 19,282 名) で出生時の 325 名 1.7% (在胎週数 22 週以降の児では 292 名 1.5%) の約 1.9 倍であった。7 歳までで染色体異常の児は 42 名 (うちダウン症 26 名) であった。ICD 10th コードによる先天異常発生器官別で最も多かったのは循環器系 192 名, 次いで筋骨格系 91 名, 生殖器系 89 名であった (重複有り)。出産時集計で最も多い先天異常は心室中隔欠損症 33 名であったが, 7 歳までには 101 名と 3 倍以上に増加していた。外表奇形の口唇口蓋裂は 7 歳まで 41 名で出生時と同数であった。

3. 妊娠初期の血清葉酸値と Birth defects リスクとの関連

妊娠初期血清葉酸値の中央値 (四分位範囲) は 16.5 (13.4-21.5) nmol/L, deficiency (<10.0 nmol/L), possible deficiency (10.0-13.4 nmol/L), optimal levels (≥ 13.5 nmol/L) はそれぞれ 6.6%, 19.7%, 73.7% であった。optimal levels に対する deficiency levels の any birth defects リスクは, 交絡要因調整後 1.23 (95% confidence interval [CI]: 0.81, 1.87), circulatory system 1.23 (95% CI: 0.81, 1.87), genital organs 1.31 (95% CI: 0.68, 2.55), urinary system 2.36 (95% CI: 0.77, 7.24), そして musculoskeletal system 1.39 (95% CI: 0.49, 3.99), all CHDs 1.39 (95% CI:

0.72, 2.71), septal heart defects 1.30 (95% CI: 0.55, 3.06), ventricular septal defects 1.72 (95% CI: 0.72, 4.11)であったでリスク上昇傾向がみられた。口唇裂の調整後 OR は 0.26 (95% CI: 0.03, 2.03)でリスク低下があった(口唇裂 cases は少数であった)。しかし、いずれも有意な差はみられなかった。

4 . 胎児期フタル酸エステル類, ビスフェノール A 曝露による尿道下裂, 停留精巣への影響

フタル酸エステル類の各代謝物の検出率は MnBP100%, MiBP99.0%, MBzP2.9%, MEHP 98.5%, MEHHP 5.3%, MECPP 86.4%, MiNP 1.0%, BPA 78.6%であった。フタル酸エステル類代謝物の中で最も高濃度に検出されたのは MnBP (中央値 41.0ng/mL)で次いで MiBP(5.3 ng/mL), MEHP (1.2 ng/mL), MECPP (0.26 ng/mL)であった。BPA の中央値濃度は 1.1 ng/mL であった。尿道下裂, 停留精巣の児とコントロールの児で, 出産時の母の年齢, 母の学歴, 妊娠前 BMI, 出産回数, 在胎週数, 妊娠中喫煙, 妊娠初期飲酒, 出生時体重には有意な差はなかった。停留精巣の児とコントロールの児のフタル酸エステル類および BPA 濃度は, コントロールの児で MECPP 濃度が有意に高かった (case vs. control: 0.21 ng/mL vs. 0.28 ng/mL; p=0.011)。交絡要因で調整後, 胎児期の MECPP 濃度が高いことが停留精巣のオッズを 0.60 倍下げる傾向がみられた [OR(95% CI): 0.60 (0.35-1.03); p=0.065]。その他のフタル酸エステル類代謝物および BPA をの間には有意な関連は認められなかった。

5 . ダイオキシン類の胎児期曝露による児のアレルギーへの影響

3.5歳の323名では母体血中ダイオキシン類濃度とアトピー性皮膚炎・喘息リスクとは関連はなかった。7歳の252名では, 母体血中ダイオキシン類濃度が増加するほど喘息リスクが有意に増加した(OR(95&CI)=5.87 (1.18-29.3))。

6 . Association of prenatal exposure to perfluoroalkyl substances with cord blood adipokines: The Hokkaido Study on Environment and Children 's Health

The median maternal PFOS and PFOA were 5.1 and 1.4 ng/mL, respectively. The median total adiponectin and leptin levels were 19.4 μ g/mL and 6.2 ng/mL, respectively. Adjusted linear regression analyses found that PFOS level was positively associated with total adiponectin levels (β =0.12, 95% CI:0.01, 0.22), contrary was negatively associated with PI (β =-2.25, 95% CI: -4.01, -0.50). The association was more significant in boys. PFOA level was negatively associated with birth weight (β =-197, 95% CI: -391, -3).

7 .有機塩素系農薬(OCP)への胎児期曝露が出生時体重に与える影響

出生時体重は妊娠日数($r = 0.50, p < 0.01$), 出生時身長($r = 0.70, p < .01$), 胸囲($r = 0.81, p < 0.01$), 頭囲($r = 0.59, p < 0.01$)と有意に関連した。また, 男児で女児よりも重かった($t = 2.8, p < 0.05$)。重回帰分析の結果, 全体では OCP と出生時体重との間に有意な関連は見られなかったが, 男女で層別化して解析を行ったところ, 女児でのみ Parlar26 との間に負の関連が認められた($\beta = -169, CI: -319 -19, p < 0.05$)。

8 . Effects of prenatal phthalate exposure on thyroid hormone levels, mental and psychomotor development of infants: The Hokkaido Study on Environment and Children's Health.

The median levels of maternal MEHP was 10.6ng/ml, neonatal TSH and FT4 was 2.20 μ U/ml and 2.03ng/ml, respectively. We did not find any associations between prenatal DEHP exposure and neonatal thyroid levels or infant mental and psychomotor development at 6 and 18month. In this study, prenatal DEHP exposure did not show adverse effects on infant TH levels or mental and psychomotor development in early life stage.

9. 妊娠中の母体血漿コチニン値が児の出生時体格に影響を及ぼす用量依存的な関係は AHR・XRCC1 遺伝子多型によって異なる

対象者全体では、Level 1 と比較して、Level 5 の妊婦から生まれた児の出生体重は 171 g (95% CI: -226, -117) 有意に小さかった (P for trend < 0.001)。

AHR (G>A, Arg554Lys) 遺伝子の GG 型では、Level 1 と比較して、Level 5 の出生体重は 217 g (95% CI: -332, -102) 有意に小さく (P for trend < 0.001) 有意に小さかった (P for trend < 0.01)。XRCC1 (C>T, Arg194Trp) 遺伝子の TT 型では、Level 1 と比較して、Level 5 の出生体重は 387 g (95% CI: -558, -217) 有意に小さかった (P for trend < 0.05)。XRCC1 (G>A, Arg399Gln) 遺伝子の AA 型では、Level 1 と比較して、Level 5 の出生体重は 366 g (95% CI: -554, -177) 有意に小さかった (P for trend < 0.001)。しかし、CYP1A1 (A>G, Ile462Val), CYP1A2 (A>C, CYP1A2*1F), CYP1B1 (C>G, Leu432Val), および GSTM1 (Non-null/null), GSTT1 (Non-null/null) 遺伝子型の違いによる妊娠後期母体血漿コチニン値と出生時体格との関連に違いはなかった。

10. DNA メチル化を介する有機フッ素化合物胎児期曝露の児への影響

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 177 名を対象とし、交絡因子調整後、PFOA 濃度と IGF2 メチル化との間に有意な負の関連が見られた ($r = -0.73$, $p = 0.04$)。次に、IGF2 メチル化と出生時体格との関連を検討した結果、IGF2 メチル化とポンドラル指数との間に有意な正の相関が認められた ($r = 0.17$, $p = 0.002$)。さらに媒介分析の結果、IGF2 メチル化が PFOA 曝露によるポンドラル指数の減少を仲介しており、その影響の 20% を説明できることが示された。

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。出生時点の調査として日本でこれま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ーホート研究という特徴を有している。妊娠 12 週以降の全ての先天異常を集計することにより ICBDSR で報告されている以外の先天異常について補完することができた。本研究では出生時から 7 歳までの調査票で先天異常を集計して生後に診断される先天異常の件数を加えることでより実際の発生頻度に即したデータとなると考えられる。本研究は一般的な地域集団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。

環境化学物質の関与が示唆されるマーカーク奇形の尿道下裂・停留精巣 79 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った。本研究では胎児期の MECPP 濃度が高いことが停留精巣のリスクを下げる傾向が認められたが、デンマークのコホート内症例対照研究では、270 名の停留精巣および 75 名の尿道下裂と 300 名のコントロールで、羊水中の DEHP, DiNP 代謝物との関連を検討し、DiNP 濃度が高いことが尿道下裂 [1.69 (0.78-3.67)] および停留精巣 [1.28 (0.80-2.01)] のリスクを上げる傾向、また、DEHP 代謝物との間には関連が認められなかったことが報告されている。また、同じコホート内で尿道下裂の児 62 名と健常児 68 名で生後の母乳中 MMP, MEP, MBP, MBzP, MEHP, MiNP 濃度が比較され、母乳中フタル酸濃度と停留精巣との間には関連が認められていない。フランスにおいても停留精巣の児 58 名と健常児 128 名で生後の母乳中 MBP 濃度、臍帯血中 BPA 濃度が比較され、停留精巣の児で母乳中 MBP 濃度および臍帯血中 BPA 濃度が

高い傾向が報告されているが有意な関連は認められていない(MBP: $p=0.09$; BPA: $p=0.1$)。一方で、胎児期のフタル酸エステル類曝露により、胎児の性ホルモン濃度のかく乱や性器-肛門距離の減少が報告されているが、フタル酸エステル類、BPAの曝露レベルが低濃度である一般集団では、本研究で検討した尿道下裂、停留精巣の先天異常アウトカムを引き起こすまでの曝露レベルに達していない可能性が考えられる。本研究も含めいずれの先行研究もサンプルサイズが少なく、統計学的パワーが不十分である可能性もあるため、より大規模な集団での検討が望まれる。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、引き続いて PCBs・ダイオキシン類・OH-PCB、および PFAAs 11 種類の分析を実施し、ケースコホート研究デザインで、環境化学物質の関与が示唆されるマーカー奇形の尿道下裂・停留精巣 79 名および先天性心疾患症例 186 名をアウトカムに、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。

胎児期のダイオキシン類曝露による児の免疫の影響について母体血中ダイオキシン類濃度が増加するほど 7 歳の喘息リスクが有意に増加した。7 歳の小児期は免疫機能が発達しアレルギー症状の診断が明確になる時期であり、3.5 歳の幼児期には明確でなかったダイオキシン類による影響が観察されやすくなった可能性が考えられた。今後、3.5 歳、7 歳の感染症についても検討して免疫機能への影響を明らかにする。

有機フッ素化合物について、母体血中 PFOS 濃度の増加は総アディポネクチン濃度の増加と関連し、逆に体格指数(ボンデラル指数)の低下と関連し、その傾向は男児で特に強く認められた。PFOA 濃度の増加は、出生体重の低下と関連し、体格指数の低下傾向もみられたが、アディポネクチン、レプチン濃度とは関連しなかった。胎児期の有機フッ素化合物曝露による、代謝関連バイオマーカーへの影響が示唆された。

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。PFAAs 11 種類(PFHxA, PFHpA, PFOA, PFNA, PFDA, PFUnDA, PFDoA, PFTTrDA, 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, PFTTrDA 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。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。

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かった。国内で最も使用量が多いとされるフタル酸エステル類の DEHP 代謝物である MEHP の胎児期曝露と、新生児の甲状腺ホルモン濃度(FT4, TSH), 6, 18 か月における精神運動発達の関係を 328 名で検討した。甲状腺濃度、精神運動発達ともに胎児期の DEHP 曝露との関連は認められなかった。

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。低濃度 OCP への胎児期曝露による出生体重への影響は参加者全体を対象とした解析では見られなかった。本研究と比較して高濃度の曝露量を示した先行研究では、体重の減少がみられた研究もあることから(Lenters et al., 2016; Ribas-Fito et al., 2002), この結果は濃度の違いによるものである可能性がある。ただし女児では Parlar26 との負の関連性が認められており、性別による影響の違いが示唆された。今後は出生時のみならず、出生後の発育への影響についても男女で層別化して検討していく必要があると考

えられる

AHR (G>A, Arg554Lys) G アレルでは、A アレルよりも、*CYP1A1* が誘導されやすいと報告されており (Wong et al., 2001), より多くの PAH 代謝物 (ベンゾ[a]ピレン ジオールエポキシド; BPDE) や BPDE-DNA 付加体が胎盤内でより多く形成される (Wong et al., 2001; Hodek et al., 2013; Karttunen et al., 2010)。このため、出生時体格の減少を引き起こしているかもしれない。

XRCC1 (C>T, Arg194Trp) T アレルは、C アレルと比較して、染色分体の交換頻度が多く (Au et al., 2003), また、*XRCC1* (G>A, Arg399Gln) A アレルは、G アレルと比較して、非放射線特異的 DNA の修復レベルが低く (Vodicka et al., 2007), DNA 付加体レベルが高いと報告されている (Matullo et al., 2001)。このため、*XRCC1* (C>T, Arg194Trp) T アレルや *XRCC1* (G>A, Arg399Gln) A アレルでは、出生時体格との量依存的な関係が見られたと考えられる。

CYP1A1 (A>G, Ile462Val), *CYP1A2* (A>C, *CYP1A2*1F*), *CYP1B1* (C>G, Leu432Val), および *GSTM1* (Non-null/null), *GSTT1* (Non-null/null) 遺伝子多型では、DNA 発現の違い、代謝活性、そして代謝物と DNA との付加体形成量の違いが既に報告されている (Lodovici et al., 2004; Hanaoka et al., 2002; Wang et al., 2013; Daly, 1995)。しかし、コチニン値と出生時体格との間の用量反応関係は、これらの遺伝子型ではほとんど同じだったので、代謝に関わる遺伝子型による出生時体格への影響は小さいと考えられる。*AHR* (G>A, Arg554Lys) GG 型, *XRCC1* (C>T, Arg194Trp) TT 型, および *XRCC1* (G>A, Arg399Gln) AA 型では、妊娠中コチニン

値と出生体重との量依存的な関係が、より顕著に示すことを明らかにした。

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 PFOA 曝露による *IGF2* の低メチル化が認められた。さらに *IGF2* メチル化とボンデラル指数は正相関し、媒介分析の結果、*IGF2* メチル化が PFOA 曝露によるボンデラル指数の減少を仲介しており、その影響の 20% を説明できることが示された。したがって PFAAs 曝露は、DNA メチル化への影響を介して、胎児の成長に影響を与えていることを示唆している。*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、胎児期曝露が児の 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、出生から 7 歳まで集計した先天異常の児総数は 623 人、先天異常を有する児の出産頻度は 3.2% 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-遺伝子相互作用を含めた解析を確実にを行うことにより、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. Sasaki S., Limpar M., Sata F., Kobayashi S., Kishi R.; Interaction of maternal caffeine intake during pregnancy and CYP1A2 C164A polymorphism affects infant birth size in the Hokkaido Study. *Pediatric Research*, in press.
2. Minatoya M., Sasaki S., Araki A., Miyashita C., Itoh S., Yamamoto J., Matsumura T., Mitsui T., Moriya K., Cho K., Morioka K., Minakam H., Shinohara N., Kishi R.; Cord blood bisphenol A levels and reproductive and thyroid hormone levels of neonates: The Hokkaido Study on Environment and Children's Health., *Epidemiology*. 2017, in press.
3. Araki A., Mitsui T., Goudarzi H., Nakajima T., Miyashita C., Itoh S., Sasaki S., Cho K., Moriya K., Shinohara N., Nonomura K., Kishi R.; Prenatal di(2-ethylhexyl) phthalate exposure and disruption of adrenal androgens and glucocorticoids levels in cord blood: The Hokkaido Study. *Science of the Total Environment*. 2017, 581-582 : 297-304.
4. Kishi R., Zhang J. J. , Ha E. H., Chen P. C., Tian Y., Xia Y., Tsuchiya K. J., Nakai K., Kim S., Hong S. J., Hong Y. C., Lee J. R., Mohamed H. J. B. J., Parajuli R. P., Adair L. S., Chong Y. S., Guo Y. L., Wang S. L., Nishijo M., Kido T., Tai P. T., Nandasena S.; Birth Cohort Consortium of Asia (BiCCA) - Current and Future Perspectives. *Epidemiology*. In press.
5. Goudarzi H., Miyashita C, Okada E., Kashino I., Chen C.-J., Ito S., Araki A., Kobayashi S., Matsuura H., Kishi R.; Prenatal Exposure to Perfluoroalkyl Acids and Prevalence of Infectious Diseases up to 4 Years of Age. *Environment International*, in press.
6. Kobayashi S., Azumi K., Goudarzi H., Araki A., Miyashita C., Kobayashi S., Itoh S., Sasaki S., Ishizuka M., Nakazawa H., Ikeno T., Kishi R.; Effects of prenatal perfluoroalkyl acid exposure on cord blood IGF2/H19 methylation and ponderal index: the Hokkaido study. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, in press.
7. Minatoya M., Itoh S., Araki A., Tamura N., Yamazaki K., Nishihara S., Miyashita C., Kishi R.; Associated factors of behavioural problems in children at preschool age: the Hokkaido study on environment and children's health. *Child Care Health Dev.*, in press.
8. Minatoya M., Araki A., Miyashita C., Sasaki S., Goto Y., Nakajima T., Kishi R.; Prenatal di-2-ethylhexyl phthalate exposure and cord blood adipokine levels and birth size: The Hokkaido study on environment and children's health. *Sci Total Environ*. 579 606-611, 2017.
9. Kobayashi S., Sata F., Miyashita

- C., Sasaki S., Ban S., Araki A., Goudarzi H., Kajiwara J., Todaka T., Kishi R.; Dioxin-metabolizing genes in relation to effects of prenatal dioxin levels and reduced birth size: The Hokkaido Study. *Reprod Toxicol.* 67 111-116, 2017.
10. Goudarzi H., Araki A., Itoh S., Sasaki S., Miyashita C., Mitsui T., Nakazawa H., Nonomura K., Kishi R.; The Association of Prenatal Exposure to Perfluorinated Chemicals with Glucocorticoid and Androgenic Hormones in Cord Blood Samples: The Hokkaido Study. *Environ Health Perspect.* 125 (1):111-118, 2017.
11. Yila T. A., Araki A., Sasaki S., Miyashita C., Itoh K., Ikeno T., Yoshioka E., Kobayashi S., Goudarzi H., Baba T., Braimoh T., Minakami H., Endo T., Sengoku K., Kishi R.; Predictors of folate status among pregnant Japanese women: the Hokkaido Study on Environment and Children's Health, 2002-2012. *Br J Nutr.* 115 (12):2227-35, 2016.
12. Yamamoto J., Minatoya M., Sasaki S., Araki A., Miyashita C., Matsumura T., Kishi R.; Quantifying bisphenol A in maternal and cord whole blood using isotope dilution liquid chromatography/tandem mass spectrometry and maternal characteristics associated with bisphenol A. *Chemosphere.* 164, 25-31, 2016.
13. Mitsui T., Araki A., Miyashita C., Ito S., Ikeno T., Sasaki S., Kitta T., Moriya K., Cho K., Morioka K., Kishi R., Shinohara N., Takeda M., Nonomura K.; The Relationship between the Second-to-Fourth Digit Ratio and Behavioral Sexual Dimorphism in School-Aged Children. *PLoS One.* 11 (1):e0146849, 2016.
14. Mitsui T., Araki A., Goudarzi H., Miyashita C., Ito S., Sasaki S., Kitta T., Moriya K., Cho K., Morioka K., Kishi R., Shinohara N., Takeda M., Nonomura K.; Effects of adrenal androgens during the prenatal period on the second to fourth digit ratio in school-aged children. *Steroids.* 113 46-51, 2016.
15. Minatoya M., Nakajima S., Sasaki S., Araki A., Miyashita C., Ikeno T., Nakajima T., Goto Y., Kishi R.; Effects of prenatal phthalate exposure on thyroid hormone levels, mental and psychomotor development of infants: The Hokkaido Study on Environment and Children's Health. *Sci Total Environ.* 565 1037-43, 2016.
16. Kobayashi S., Sata F., Sasaki S., Braimoh T. S., Araki A., Miyashita C., Goudarzi H., Kobayashi S., Kishi R.; Combined effects of AHR, CYP1A1, and XRCC1 genotypes and prenatal maternal smoking on infant birth size: Biomarker assessment in the Hokkaido Study. *Reprod Toxicol.* 65 295-306, 2016.
17. Kawanishi Y., Saijo Y., Yoshioka E., Nakagi Y., Yoshida T., Miyamoto T., Sengoku K., Ito Y.,

- Miyashita C., Araki A., Kishi R.; The Association between Prenatal Yoga and the Administration of Ritodrine Hydrochloride during Pregnancy: An Adjunct Study of the Japan Environment and Children's Study. PLoS One. 11 (6):e0158155, 2016.
18. Kato S., Itoh S., Yuasa M., Baba T., Miyashita C., Sasaki S., Nakajima S., Uno A., Nakazawa H., Iwasaki Y., Okada E., Kishi R.; Association of perfluorinated chemical exposure in utero with maternal and infant thyroid hormone levels in the Sapporo cohort of Hokkaido Study on the Environment and Children's Health. Environ Health Prev Med. 21, 334-344, 2016.
19. Itoh S., Araki A., Mitsui T., Miyashita C., Goudarzi H., Sasaki S., Cho K., Nakazawa H., Iwasaki Y., Shinohara N., Nonomura K., Kishi R.; Association of perfluoroalkyl substances exposure in utero with reproductive hormone levels in cord blood in the Hokkaido Study on Environment and Children's Health. Environ Int. 94 51-59, 2016.
20. Goudarzi H., Nakajima S., Ikeno T., Sasaki S., Kobayashi S., Miyashita C., Ito S., Araki A., Nakazawa H., Kishi R.; Prenatal exposure to perfluorinated chemicals and neurodevelopment in early infancy: The Hokkaido Study. Sci Total Environ. 541 1002-10, 2016.
21. Goudarzi H., Miyashita C., Okada E., Kashino I., Kobayashi S., Chen C. J., Ito S., Araki A., Matsuura H., Ito Y. M., Kishi R.; Effects of prenatal exposure to perfluoroalkyl acids on prevalence of allergic diseases among 4-year-old children. Environ Int. 94 124-132, 2016.
22. 小林澄貴, 池野多美子, 荒木敦子, 山崎圭子, 西原進吉, 岸玲子, 環境化学物質の胎児期暴露による児の神経発達への影響に関する疫学文献レビュー: 注意欠如・多動性障害 (AD/HD)・自閉症スペクトラム (ASD)を含めて, 北海道公衆衛生学雑誌, 29(2), 31-40, 2016.
- 2) 論文発表 (解説 査読無)
1. 岸玲子, 湊屋街子, 荒木敦子, 宮下ちひろ, 【講座 子どもを取り巻く環境と健康】第24回 誰もが健康な人生のスタートを-世界で進むコーホート研究, 公衆衛生, 81(2), 175-183, 2017.
2. 喜多歳子, 岸玲子, 【講座 子どもを取り巻く環境と健康】第23回 社会経済要因の影響(2) 認知/行動発達, 公衆衛生, 81(1), 79-84, 2017.
3. 花岡知之, 田村菜穂美, 岸玲子, 【講座 子どもを取り巻く環境と健康】第22回 社会経済要因の影響(1) 死産, 早産, 出生体重, 公衆衛生, 80(12), 943-948, 2016.
4. 宮下ちひろ, ホウマヌグウダルジ, 岸玲子, 【講座 子どもを取り巻く環境と健康】第21回 環境化学物質曝露による先天異常への影響(2) 先天性疾患、口唇口蓋裂, 公衆衛生, 80(11), 863-867, 2016.
5. 佐田文宏, 佐々木成子, 岸玲子, 【講座 子どもを取り巻く環境と健康】第19回 妊娠中のカフェイン摂

- 取の母児への影響, 公衆衛生, 80(9), 701-707, 2016.
6. 宮下ちひろ, 伊藤久美子, 荒木敦子, 岸玲子, 【講座 子どもを取り巻く環境と健康】第18回 葉酸摂取の胎児発育や先天異常、生後アレルギーへの影響, 公衆衛生, 80(8), 615-621, 2016.
 7. 宮下ちひろ, 小林祥子, 岸玲子, 【講座 子どもを取り巻く環境と健康】第17回 胎児期の化学物質曝露による後天的な遺伝子発現制御への影響, 公衆衛生, 80(7), 531-537, 2016.
 8. 池野多美子, 小林澄貴, 山崎圭子, 西原進吉, 岸玲子, 【講座 子どもを取り巻く環境と健康】第16回 ADHD(注意欠如・多動性障害)と ASD(自閉スペクトラム症), 公衆衛生, 80(6), 445-450, 2016.
 9. 中島そのみ, 岸玲子, 【講座 子どもを取り巻く環境と健康】第15回 ダイオキシン類曝露と児の神経発達, 公衆衛生, 80(5), 371-378, 2016.
 10. 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.
 11. 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.
 12. 岸玲子, 宮下ちひろ, 荒木敦子, 環境化学物質の次世代影響に関する出生コホート研究: 環境と子どもの健康に関する北海道スタディの成果と課題, アンチ・エイジング医学, 12(2), 067-076, 2016.
1. Araki, A., Miyashita, C., Mitui, T., Goudarzi, H., Itoh, S., Mizutani, F., Chisaki, Y., Sasaki, S., Moriya, K., Cho, K., Shinohara, N., Nonomura, K., Kishi, R., Prenatal exposure to organochlorine pesticides and steroid hormones profiles in fetal blood: The Hokkaido Study, PPTOX V Kitakyushu International Conference Center, Kitakyushu, Japan, (2016.11.13-16)
 2. Kishi, R., Environmental endocrine-disrupting chemicals and their effects to children: 13 years progress of the Hokkaido Birth Cohort Study, PPTOX V, Kitakyushu International Conference Center, Kitakyushu, Japan, (2016.11.13-16)
 3. Minatoya, M., Araki, A., Miyashita, C., Yamamoto, J., Onoda, Y., Matsumura, T., Kishi, R., Association between prenatal phthalates and BPA exposures and fetal adipokines and birth size: the Hokkaido Study on Environment and Children's Health, PPTOX V, Kitakyushu International Conference Center, Kitakyushu, Japan, (2016.11.13-16)
 4. Ait Bamai, Y., A. Araki, S. Sasaki, T. Nakajima, C. Miyashita, R. Kishi, Prenatal exposure to DEHP and childhood wheeze and atopic dermatitis: The Hokkaido Study on the Environment and Children's Health, ISEE2016: 28th Annual Conference International Society for Environmental Epidemiology, Roma, Italy, (2016.9.1-4)
 5. Kishi, R., Birth cohorts in Asia:
- 3) 学会発表

- why are new big cohorts functioning in Asia?, ISEE2016: 28th Annual Conference International Society for Environmental Epidemiology, Roma, Italy, (2016.9.1-4)
6. Kobayashi, S., R. Miura, C. Miyashita, A. Araki, M. Ishizuka, H. Nakazawa, Y. Ito, T. Kubota, R. Kishi, Epigenome-wide analyses of prenatal perfluoroalkyl acids exposure on cord blood DNA methylation: the Hokkaido study, ISEE2016: 28th Annual Conference International Society for Environmental Epidemiology, (2016.9.1-4)
 7. Minatoya, M., N. Tamura, S. Ito, C. Miyashita, A. Araki, R. Kishi, Associated prenatal factors of behavioral and emotional problems in 5 year-old children: The Hokkaido Study, ISEE2016: 28th Annual Conference International Society for Environmental Epidemiology, Roma, Italy, (2016.9.1-4)
 8. Goudarzi, H., C. Miyashita, E. Okada, I. Kashino, S. Kobayashi, C.-J. Chen, S. Ito, A. Araki, H. Matsuura, R. Kishi, Effects of prenatal exposure to perfluoroalkyl acids on risk of allergic and infections diseases in early life, ISEE2016: 28th Annual Conference International Society for Environmental Epidemiology, Roma, Italy, (2016.9.1-4)
 9. Araki, A., C. Miyashita, S. Itoh, T. Mitsui, F. Mizutani, Y. Chisaki, S. Sasaki, K. Cho, K. Nonomura, R. Kishi, Prenatal exposure to organochlorine pesticides and reproductive hormones in fetal blood: The Hokkaido Study, ISEE2016: 28th Annual Conference International Society for Environmental Epidemiology, Roma, Italy, (2016.9.1-4)
 10. Ait Bamai, Y., A. Araki, R. Kishi, Allergic Disease in Relation to Phthalates and Phosphorus Flame Retardants in House Dust and Urine, ISEE-ISES AC2016, Sapporo, Hokkaido, Japan, (2016.6.26-29)
 11. Araki, A., R. Kishi, Prenatal Di(2-ethylhexyl)phthalate Exposure and Reproductive Hormone in Cord Blood - The Hokkaido Study, ISEE-ISES AC2016, Sapporo, Hokkaido, Japan, (2016.6.26-29)
 12. Itoh, S., A. Araki, C. Miyashita, H. Goudarzi, S. Kato, Y. Iwasaki, H. Nakazawa, N. Shinohara, R. Kishi, Hokkaido Study on Environment and Children's Health: Endocrine Disruption Effect of Perfluoroalkyl Substances Exposure in Utero, ISEE-ISES AC2016, Sapporo, Hokkaido, Japan, (2016.6.26-29)
 13. Kobayashi, S., R. Miura, C. Miyashita, A. Araki, M. Ishizuka, H. Nakazawa, Y. M. Ito, T. Kubota, R. Kishi, Epigenome-wide Pathway Analyses of Prenatal Perfluoroalkyl Acids Exposure on Cord Blood DNA Methylation: The Hokkaido Study, ISEE-ISES AC2016, Sapporo, Hokkaido, Japan, (2016.6.26-29)
 14. Kobayashi, S., F. Sata, S. Sasaki, T. S. Braimoh, A. Araki, C. Miyashita, H. Goudarzi, S.

- kobayashi, R. Kishi, Combined Effects on AHR, CYP1A1 and XRCC1 Genetic Polymorphisms and Prenatal Maternal Smoking on Infant Birth Size: The Hokkaido Study on Environment and Children's Health, ISEE-ISES AC2016, Sapporo, Hokkaido, Japan, (2016.6.26-29)
15. Minatoya, M., N. Tamura, S. Itoh, S. Suyama, C. Miyashita, A. Araki, T. Saito, A. Nakai, R. Kishi, Prenatal environment and child behavioral and coordination development at preschool age in the Hokkaido Study, ISEE-ISES AC2016, Sapporo, Hokkaido, Japan, (2016.6.26-29)
16. Miyashita, C., R. Kishi, A. Araki, Hokkaido Study on Environment and Children's Health: Overview, and Findings of PCBs/dioxins Exposure and Birth Size, & Allergies and Infections, ISEE-ISES AC2016, Sapporo, Hokkaido, Japan, (2016.6.26-29) Ait Bamai, Y., A. Araki, R. Kishi, Allergic Disease in Relation to Phthalates and Phosphorus Flame Retardants in House Dust and Urine, ISEE-ISES AC2016, Sapporo, Hokkaido, Japan, (2016.6.26-29)
17. 湊屋街子, 小林澄貴, 西原進吉, 池野多美子, 岸玲子, 母の妊娠中喫煙が児の出生体重、生後の発育に与える影響: 北海道スタディ, 第75回日本公衆衛生学会総会, 大阪(グランフロント大阪), (2016.10.26-28)
18. 池野多美子, 母親の精神健康と児の自閉傾向との関連-子供の健康と環境に関する北海道スタディ-, 第75回日本公衆衛生学会総会, 大阪(グ
ランフロント大阪),
(2016.10.26-28)
19. 西原進吉, 小林澄貴, 池野多美子, 湊屋街子, 岸玲子, 家庭内での分煙行動と子どもの尿中コチニン値の関係-北海道スタディ-, 第75回日本公衆衛生学会総会, 大阪(グランフロント大阪), (2016.10.26-28)
20. 小野田優, 梅原美加, 西岡宗一郎, 水谷太, 佐藤修乃, 苅木洋一, 湊屋街子, 宮下ちひろ, 荒木敦子, 岸玲子, ヒト血清中フタル酸エステル代謝物の分析, 第25回環境化学討論会, 新潟(新潟コンベンションセンター), (2016.6.8-10)
21. 荒木敦子, 西條泰明, ア. ゆふ, 湊屋街子, 吉野博, 東賢一, 河合俊夫, 大和浩, 大澤元毅, 柴田英治, 田中正敏, 増地あゆみ, 岸玲子, 産業衛生の現場で役立つ「シックハウス症候群に関する相談マニュアル改訂新版」の作成, 第96回北海道医学大会産業衛生分科会, 札幌市医師会館(札幌市), (2016.10.22)
22. Ketema, R. M., Y. Ait Bamai, A. Araki, T. Kawai, T. Tuboi, E. Yoshioka, T. Saito, R. Kishi, Association of phthalates in house dust in relation to Sick House Syndrome (SHS) among Sapporo residents, 68th Hokkaido Public Health Society, Sapporo City University School of Nursing, Sapporo, (2016.10.1)
23. 荒木敦子, アイツバマイゆふ, 西條泰明, 湊屋街子, 吉野博, 東賢一, 河合俊夫, 大和浩, 大澤元毅, 柴田英治, 田中正敏, 増地あゆみ, 岸玲子, 「シックハウス症候群に関する相談マニュアル改訂新版」の作成

- 公衆衛生分野での活用に向けて ,
第68回北海道公衆衛生学会, 札幌市
立大学看護学部, 札幌市,
(2016.10.1)
24. 小林澄貴, 佐田文宏, 佐々木成子, T. S. Braimoh, 荒木敦子, 宮下ちひろ, H. Goudarzi, 小林祥子, 岸玲子, 母の喫煙曝露と胎児発育との関連: 遺伝的なハイリスクについて-北海道スタディ, 第86回日本衛生学会学術総会, 北海道、旭川市, (2016.5.11-13)
25. アイツバマイゆふ, 荒木敦子, 乃村俊史, 河合俊夫, 坪井樹, 叢石, 宮下ちひろ, 池野多美子, 清水宏, 岸玲子, FLG変異とフタル酸エステル曝露による児のアトピー性皮膚炎への影響: 北海道スタディ, 第86回日本衛生学会学術総会, 北海道、旭川, (2016.5.11-13.)
26. 宮下ちひろ, 荒木敦子, 三井貴彦, 伊藤佐智子, 佐々木成子, 戸高尊, 梶原淳睦, 長和俊, 野々村克也, 岸玲子, ダイオキシン類異性体の曝露が胎生期の性ホルモンに与える影響-北海道スタディ (The Hokkaido Study on Environment and Children's Health), 第86回日本衛生学会, 北海道、旭川, (2016.5.13.)
27. 荒木敦子, ホウマヌグウダルジ, 三井貴彦, 那須民江, 宮下ちひろ, 伊藤佐智子, 佐々木成子, 長和俊, 野々村克也, 岸玲子, DEHP曝露による胎生期ステロイドホルモンプロファイルへの影響-北海道スタディ, 第86回日本衛生学会学術総会, 北海道、旭川, (2016.5.11-13.)
28. 山崎圭子, 宮下ちひろ, 伊藤佐智子, 荒木敦子, 小林祥子, 水谷太, 苜木洋一, 岸玲子, 胎児期の有機塩素系
- 農薬曝露が母児の甲状腺ホルモンに及ぼす影響-北海道スタディ, 第86回日本衛生学会, 北海道、旭川市, (2016.5.11-13.)
29. 湊屋街子, 佐々木成子, 中島そのみ, 山本潤, 松村徹, 宮下ちひろ, 荒木敦子, 岸玲子, 臍帯血中ビスフェノールA濃度と子どもの行動発達: 北海道スタディ, 第86回日本衛生学会, 北海道、旭川, (2016.5.11-13.)

G . 知的財産権の出願・登録状況

該当なし