

胎児期ダイオキシン PCBs 曝露が児の臍帯血 DNA メチル化に及ぼす影響

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 特任教授
研究分担者 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
研究分担者 梶原 淳睦 福岡県保健環境研究所保健科学部 生活化学課長
研究分担者 佐々木 成子 北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 助教
研究分担者 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教室 教授

研究要旨

胎児期のダイオキシン PCBs 曝露は出生体重の減少などといった児の健康への有害な影響が報告されている。また、成人の疫学横断研究により、これらの曝露による DNA メチル化への影響が報告されているが、エピゲノムの面からも脆弱な胎児期の曝露影響を検討した研究はまだない。そこで本研究では、胎児期のダイオキシン PCBs 曝露が、児の臍帯血 *IGF2/H19*、および *LINE1* メチル化への影響の評価を行った。

札幌の一産科病院でリクルートし同意を得た妊婦のうち、初期調査票・出産時カルテ情報・臍帯血・ダイオキシン PCBs 濃度の得られた 238 名を対象とし、パイロシークエンス法を用いて *IGF2/H19* *LINE1* 遺伝子領域の臍帯血 DNA メチル化について定量を行った。胎児期の曝露要因として、母体血中ダイオキシン・PCBs 濃度との関連を重回帰分析で検討を行った。

交絡因子を調整後、NoCBs、特に 22'33'455'66'-NoCB (PCB-208) と *H19* メチル化との間に正の関連が認められた ($\beta=0.87$, 95%CI: 0.08 to 1.67)。また、男女で層別にして解析を行ったところ、男児において PCDFs と *IGF2* メチル化との間に有意な負の関連が ($\beta=-4.21$, 95%CI: -7.60 to -0.83)、女児において *H19* メチル化と NoCBs ($\beta=2.60$, 95%CI: 0.82 to 4.38)、DeCB ($\beta=2.77$, 95%CI: 0.76 to 4.78) と間に有意な正の関連が認められた。

研究協力者

小林 祥子, 安住 薫, 小林 澄貴
(北海道大学環境健康科学研究教育センター)
蜂谷 紀之
(環境省国立水俣病総合研究センター)
安武 章
(熊本大学大学院自然科学研究科)
戸高 尊
(九州大学医学部学術研究員)

娠中においてはこれらの物質は胎盤を透過するため、胎児期の曝露が懸念される。現在までに、日常生活レベルの曝露によっても、ダイオキシンの胎児期曝露による出生体重の減少(Konishi et al. 2009)といった、児の健康への有害な影響が報告されている。

さらに成人での疫学横断研究において、これらの曝露とゲノム全体の DNA メチル化との関連が報告されている(Rusiecki et al. 2008; Kim et al. 2010; Lind et al. 2013)。これらの研究では、PCBs を含む POPs 曝露によるレトロトランスポゾン

A . 研究目的

ダイオキシン, PCBs は難分解性, 高蓄積性の性質を持つ化学物質で, 主に生物濃縮により食物を介して曝露される。特に妊

型の *Alu* 配列の低メチル化，ゲノム全体のシトシン部位の高メチル化が報告されているが，対象集団が高濃度曝露のイヌイットのものや，70 才の集団のものなど，結果の一般化が難しいものが多い。さらに，胎児期はエピゲノムへの影響といった点からも外的刺激に脆弱な時期であるにも関わらず，胎児期のダイオキシン PCBs 曝露のエピゲノムへの影響について評価した疫学研究は未だない。DNA メチル化等のエピジェネティックな機構は，ゲノム配列の変化を伴わず遺伝子発現調節を行う機構で，エピゲノムの状態は細胞分裂後も引き継がれていく (Hackett and Surani 2013)。また，DNA メチル化は環境影響からの可塑性をもっており，胎児期の環境と生後の表現型を結ぶ因子だと考えられており (Baccarelli and Bollati 2009)，胎児期のダイオキシン PCBs 曝露が生後の児の健康にどのような影響を及ぼす可能性があるのかを探る，重要な手がかりとなる。

そこで本研究では，胎児期のダイオキシン PCBs 曝露が，児の臍帯血 *IGF2/H19*，および *LINE1* メチル化への影響の評価を行った。

B．研究方法

1．対象

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，同意を得た妊婦 514 名のうち，初期調査票・出産時カルテ情報がそろった母児から，臍帯血 DNA の得られた 238 名を対象とした。

2．方法

臍帯血 400 μ L から Maxwell® 16 DNA Purification Kit (Promega 社)を用いて DNA 抽出を行った。抽出した DNA を

Epitect Plus Bisulfite Kit (Qiagen 社)にてバイサルファイト処理を行い，*IGF2 DMR0* (chr11p15.5, site 1: 2,109,519; site 2: 2,109,516; NCBI Human Genome Build 37.1), *H19 DMR* (chr11p15.5, site 1: 1,964,261; site 2: 1,964,259; site 3: 1,964,257; site 4: 1,964,254), *LINE1* の 3 遺伝子領域について，Pyromark Q24 system (Qiagen 社)にて DNA メチル化の定量を行った。

母体血中ダイオキシン・PCBs 濃度は HRGC/HRMS により測定された。曝露影響評価の統計解析には重回帰分析を用い，曝露濃度は \log_{10} 変換した値を用い，また濃度が検出下限値以下の場合はその半値を代入した。

ダイオキシン総量は毒性等量 (TEQ) に従い算出した (Van den Berg et al. 2005)。Dioxin-TEQ は PCDDs 7 異性体，PCDFs 10 異性体，Non-ortho PCBs 4 異性体，Mono-ortho PCBs 10 異性体の総量，PCBs は 58 種類の PCB 異性体の総量から計算した。

(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。本研究によって得られ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

本研究の対象者，238 組の母児の臍帯血 DNA メチル化レベル (\pm SD) は *IGF2*

DMR が **48.7% (±3.0)** , **H19 DMR** が **52.4% (±1.9%)** , **LINE1** が **75.9% (±1.1)** であった。また,母体血中ダイオキシン・**PCBs** 濃度の中央値(最小値,最大値)は,ダイオキシン総量(**TEQ**)が **14.2 pg/g lipid (3.2 to 42.9)** , **PCBs** 総量が **100.8 ng/g lipid (16.0 to 326.8)** であった(表1)。母児の属性と曝露との関連を表2に示した。ダイオキシン・**PCB** 総量と関連が見られたものは,母年齢,出産歴,世帯収入であった。

表3にダイオキシン・**PCBs** 曝露と **H19** メチル化との関連を重回帰分析で解析した結果を示した。**Crude** モデルでは **OcCBs, NoCBs, DeCB** と **H19** メチル化との間に有意な関連が見られたが,世帯収入,母妊娠中喫煙・飲酒,採血時期,児の性別,母年齢で調整をした結果, **total NoCBs** と **H19** メチル化との間に正の関連が認められた($\beta=1.37$, **95%CI: 0.11 to 2.62**)。そのほか,ダイオキシン **PCBs** 曝露と **IGF2**・**LINE1** メチル化との間に有意な関連は認められなかった。

表4に **PCBs** について異性体別で解析を行った結果を示した。**HpCBs, OcPBs, NoCBs, DeCB** の異性体のいくつかで **Crude** モデルで **H19** との間に有意な正の関連が認められたが,世帯収入,母妊娠中喫煙・飲酒,採血時期,児の性別,母年齢で調整をしたモデル2ではそれら異性体での有意な関連は認められなかった。唯一, **22'33'455'66'-NoCB(PCB208)** との間で調整後も有意な関連が認められた($\beta=0.87$, **95%CI: 0.08 to 1.67**)。異性体別の解析でも **IGF2**・**LINE1** メチル化への顕著な影響は認められなかった。

表5にダイオキシン **PCBs** 曝露と **IGF2/H19**・**LINE1** メチル化との関連を男女別に解析した結果を示した。男児におい

て **PCDF** 総量(**TEQ**)と **IGF2** メチル化との間に有意な負の関連が見られ,曝露濃度 **10** 倍ごとに **4.21%** の低下が観察された($\beta=-4.21$, **95%CI: -7.60 to -0.83**)。 **PCDD/PCDF** 総量(**TEQ**)においても **IGF2** メチル化との間に有意な負の関連が認められた($\beta=-3.47$, **-6.75 to -0.18**)。また **H19** メチル化は女児において **NoCB** 総量($\beta=2.60$, **95%CI: 0.82 to 4.38**) , **DeCB**($\beta=2.77$, **95%CI: 0.76 to 4.78**)と有意な正の関連が認められたが,男児ではその傾向は認められなかった。

D. 考察

本研究により,胎児期のダイオキシン **PCBs** 曝露の影響は児のエピゲノムレベルにまで及ぶ可能性が明らかになった。また,その影響には性差が見られ,ダイオキシンである **PCDF** 曝露の影響は男児でより強く, **PCBs** のうち **NoCBs**・**DeCB** の影響は女児でより顕著であった。ダイオキシンの曝露影響には性差があり,本研究と同じ集団で行った小西らの報告によると,ダイオキシン,特に **PCDDs**・**PCDFs** の出生体重への影響は男児でより顕著に見られ, **PCDDs/PCDFs** 総量 (**TEQ**)が **10** 倍ごとに **338.7 g** の出生体重の減少が観察された($p=0.022$) (**Konishi et al. 2009**)。本研究においても, **PCDFs** の影響は男児で顕著に見られ,曝露濃度が **10** 倍となるごとに **IGF2** メチル化の **4.21%** の減少が認められた。**IGF2** は胎児発育に重要なペプチドホルモンであり,この領域のメチル化は出生時の体重との関連が示されている (**St-Pierre et al. 2012**)。また,筆者らの研究でも, **IGF2** メチル化と出生時の体格指数との有意な正の相関が観察されており (**Kobayashi et al. submitted**) , **PCDFs** 曝

露による **IGF2** 低メチル化は出生時の体格指数の減少へつながることが示唆される。

また、**H19**領域は、*in vitro*での報告によると、メチル化されることによりクロマチン構造を大きく変化させ **IGF2** の発現を調節するといわれている(Gabory et al. 2010)。今回観察された **NoCBs**, **DeCB** 曝露による **H19** 高メチル化がどのような表現型につながるか、今後検討していく必要がある。

また、調整後のモデルではその影響はほとんどが有意ではなくなったが、高塩素化 **PCB** 異性体で、**H19** メチル化との間に正の関連が認められた。これら高塩素化 **PCBs** の健康影響についても今後検討を行う必要がある。

本研究の限界として、曝露評価を行った母体血の採血時期が妊娠 24 週目から産後と人によって幅があり、測定値への影響が考えられる点が挙げられる。重回帰分析の際、採血時期を共変量に投入して解析したもののその影響は調整しきれていない可能性は考えられる。また、本研究では臍帯血の **DNA** メチル化を測定しており **IGF2** が実際に発現している肝臓等の組織のメチル化とは異なる可能性も考えられる。さらに、サンプルサイズが小さく十分なパワーが得られていないため、今回の結果には偽陰性のもも含まれていることが考えられるため、今後十分なサンプルサイズでの検討が必要である。

E . 結論

本研究により、胎児期のダイオキシン **PCDFs** 曝露による男児での **IGF2** 低メチル化、および **PCBs** のうち **NoCBs**, **DeCB** 曝露による女児での **H19** 高メチル化が示

された。また、**IGF2** 低メチル化は **PCDFs** の胎児発育への影響を介在している可能性が示されたが、その他のダイオキシン曝露による健康影響についても **DNA** メチル化が介在している可能性が考えられる。今後はそれら他の遺伝子領域のメチル化への影響についても評価していく必要がある。

F . 研究発表

1 . 論文発表

- (1) Kobayashi S, Azumi K, Itoh S, Goudarzi H, Sasaki S, Ishizuka M et al. Effects of Prenatal Exposure to Perfluoroalkyl Acids on Cord Blood IGF2/H19 Methylation and Associations with Birth Size: The Hokkaido Study. Environ Int (submitted)
- (2) 安住薫, 小林祥子, 岸玲子; 環境化学物質曝露の次世代影響の解明におけるエビジェネティクス研究. 北海道公衆衛生学雑誌. 26(2):29-38, 2012.

2 . 学会発表

- (1) Kobayashi S., Azumi K., Sasaki S., Ishizuka M., Nakazawa H., Okada E., Kobayashi S., Goudarzi H., Itoh S., Miyashita C., Ikeno T., Araki A., Kishi R.; The effects of perfluoroalkyl acids (PFAAs) exposure in utero on IGF2/H19 DNA methylation in cord blood. 26th Annual International Society for Environmental Epidemiology Conference. Seattle, USA. (2014.08.24-28)
- (2) 小林祥子, 安住薫, 宮下ちひろ, 小林

澄貴, 佐々木成子, 石塚真由美, 岸玲子; 環境化学物質の胎児期曝露が臍帯血 IGF2 DNA メチル化に及ぼす影響. 第 83 回日本衛生学会学術総会. 金沢. (2013.03.24-26)

G . 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

参考文献

1. Baccarelli A, Bollati V. 2009. Epigenetics and environmental chemicals. *Curr Opin Pediatr* 21:243-251.
2. Gabory A, Jammes H, Dandolo L. 2010. The h19 locus: Role of an imprinted non-coding rna in growth and development. *Bioessays* 32:473-480.
3. Hackett JA, Surani MA. 2013. DNA methylation dynamics during the mammalian life cycle. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 368:20110328.
4. Kim KY, Kim DS, Lee SK, Lee IK, Kang JH, Chang YS, et al. 2010. Association of low-dose exposure to persistent organic pollutants with global DNA hypomethylation in healthy koreans. *Environ Health Perspect* 118:370-374.
5. Konishi K, Sasaki S, Kato S, Ban S, Washino N, Kajiwara J, et al. 2009. Prenatal exposure to pcdds/pcdfs and dioxin-like pcbs in relation to birth weight. *Environ Res* 109:906-913.
6. Lind L, Penell J, Luttrupp K, Nordfors L, Syvanen AC, Axelsson T, et al. 2013. Global DNA hypermethylation is associated with high serum levels of persistent organic pollutants in an elderly population. *Environ Int* 59:456-461.
7. Rusiecki JA, Baccarelli A, Bollati V, Tarantini L, Moore LE, Bonefeld-Jorgensen EC. 2008. Global DNA hypomethylation is associated with high serum-persistent organic pollutants in greenlandic inuit. *Environ Health Perspect* 116:1547-1552.
8. St-Pierre J, Hivert MF, Perron P, Poirier P, Guay SP, Brisson D, et al. 2012. Igf2 DNA methylation is a modulator of newborn's fetal growth and development. *Epigenetics* 7:1125-1132.
9. Van den Berg M, Birnbaum LS, Denison M, De Vito M, Farland W, Feeley M, et al. 2006. The 2005 world health organization reevaluation of human and mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Toxicol Sci* 93:223-241.

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

Table 1. Dioxins and PCBs concentrations (N=238)

	N	Mean	(±SD)	GM	Min	25th	Median	75th	Max
Dioxins (pg/g lipid)									
total PCDD	238	512.1	(±206.2)	477.8	202.4	374.7	455.5	630.9	1499.9
total PCDF	238	32.2	(±185.3)	19.6	9.5	15.1	19.5	23.0	2877.3
total PCDD/PCDF	238	544.4	(±294.4)	500.9	215.5	390.8	474.7	655.2	3726.3
total Non-ortho PCB	238	84.7	(±49.2)	75.5	20.0	54.0	77.6	102.3	553.6
total Mono-ortho PCB	238	12730.1	(±6461.9)	11242.9	1777.9	8020.2	11563.6	15636.3	36382.2
total Coplanar PCB	238	12814.9	(±6494.6)	11321.9	1797.9	8083.7	11659.3	15716.2	36569.8
total Dioxin	238	13359.2	(±6586)	11897.3	2105.0	8507.5	12097.9	16385.7	37694.5
total PCDD-TEQ(05)	238	7.4	(±2.9)	6.8	1.7	5.2	7.1	9.4	17.3
total PCDF-TEQ(05)	238	2.7	(±1.2)	2.5	0.6	1.9	2.5	3.2	12.1
total PCDD/PCDF-TEQ(05)	238	10.1	(±3.9)	9.4	2.5	7.2	9.7	12.5	25.1
total Non-ortho PCB-TEQ(05)	238	4.7	(±2.8)	4.0	0.7	2.9	4.2	6.1	23.2
total Mono-ortho PCB-TEQ(05)	238	0.4	(±0.2)	0.3	0.1	0.2	0.3	0.5	1.1
total Coplanar PCB-TEQ(05)	238	5.1	(±3.0)	4.4	0.7	3.1	4.6	6.6	23.9
total Dioxin-TEQ(05)	238	15.2	(±6.3)	14.0	3.2	10.5	14.2	18.8	42.9
PCBs (pg/g lipid)									
total TrCBs	238	1552.1	(±1516.1)	1252.2	238.9	874.1	1199.4	1729.1	17655.2
total TeCBs	238	6712.1	(±3130.3)	6121.3	1692.9	4620.6	6238.0	8065.4	24037.5
total PeCBs	238	7341.4	(±3674.9)	6539.8	1424.4	4846.1	6738.6	8835.6	25548.0
total HxCBs	238	49294.0	(±25761.9)	43313.8	6120.2	31105.8	45253.3	60351.0	159214.0
total HpCBs	238	34750.1	(±22071.3)	29393.4	3658.7	19463.9	29663.7	43030.6	167252.0
total OcPBs	238	7194.5	(±3987.3)	6235.1	1108.1	4320.0	6445.8	9202.8	22737.6
total NoCBs	238	1001.7	(±564.6)	868.2	123.8	625.4	892.2	1265.9	3463.2
total DeCBs	238	514.1	(±297.4)	455.8	46.9	335.2	462.0	612.2	3300.5
total PCBs	238	108359.9	(±55810.8)	95836.4	16016.9	67772.8	100822.0	131467.0	326821.0

単位：pg/g lipid

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

Table 2. Relationships between Maternal/infant characteristics and dioxins/PCBs levels (N=238)

	N	Mean (\pm SD) (%)	total Dioxin-TEQ (pg/g lipid)		total PCBs (pg/g lipid)	
			ρ Median (25th, 75th)	p	ρ Median (25th, 75th)	p
Maternal characteristics						
Maternal age (year) ^a	238	30.4 (\pm 4.8)	0.299	<.0001	0.451	<.0001
Pre-pregnancy BMI (kg/m ²) ^a	238	21.0 (\pm 2.9)	0.016	0.812	-0.055	0.401
Parity ^b						
Primiparous	126	(52.9)	15.3 (12.7, 19.7)	0.001	102556.3 (71263.2, 134010.8)	0.063
Multiparous	112	(47.1)	13.3 (9.5, 17.6)		94990.7 (60727.6, 125009.8)	
Annual household income ^c						
< 3	36	(15.1)	12.8 (9.4, 17.9)	0.008	71540.4 (60405.2, 104274.3)	0.002
3-5	124	(52.1)	13.8 (10.1, 17.2)		96317.5 (68847.1, 122004.1)	
5-7	57	(24.0)	15 (11.2, 22.3)		115799.8 (70807.1, 172030)	
> 7	21	(8.8)	17.9 (15.4, 20.7)		115844.6 (83421.5, 175473.3)	
Smoking during pregnancy ^b						
No	207	(87.0)	14.6 (10.6, 19.1)	0.143	101613.2 (68284.5, 130337.4)	0.468
Yes	31	(13.0)	12.7 (9.3, 18)		90673.4 (63458.5, 139706.3)	
Alcohol consumption during pregnancy ^b						
No	158	(66.4)	14.3 (10.3, 18.8)	0.754	96317.5 (64599.7, 123644.4)	0.073
Yes	80	(33.6)	14.2 (11.1, 18.8)		104321.8 (71453.9, 145758.4)	
Blood sampling period ^c						
< 28 weeks	17	(7.1)	14.9 (11, 27.1)	0.41	105574.3 (67391.8, 197835.7)	0.789
28-36 weeks	98	(41.2)	14.6 (11.5, 18.6)		101258.1 (68690.5, 127536.8)	
\geq 36 weeks	55	(23.1)	15.1 (10.1, 18)		101505.4 (67666.9, 139706.3)	
After delivery	68	(28.6)	13.9 (9.8, 18.6)		95401 (64564.7, 127866.8)	
Infant characteristics						
Gestational age (week) ^a	238	39.8 (\pm 1.0)	0.061	0.351	0.089	0.17
Sex ^b						
Male	111	(46.6)	14.1 (10.3, 18.5)	0.712	103157.2 (67808.1, 130251.8)	0.896
Female	127	(53.4)	14.4 (11, 18.9)		100029.6 (67666.9, 133161.1)	
Birth weight (g)	238	3145 (\pm 333)	-0.057	0.38	-0.019	0.771
Birth length (cm)	238	48.5 (\pm 1.9)	0.036	0.577	0.06	0.354
Ponderal Index	238	27.8 (\pm 4.5)	-0.158	0.015	-0.128	0.05

^a Spearman's correlation, ^b Mann-Whitney U-test, ^c Kruskal-Wallis

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

Table 3. Relationships between Dioxins/PCBs and *H19* methylation by multiple linear regression model.

(log ₁₀ -transformed)	Crude (N=238)			Model 1 (N=238)			Model 2 (N=238)		
	β	(95% CI)	p	β	(95% CI)	p	β	(95% CI)	p
Dioxins									
total PCDD	-0.53	(-2.1, 1.04)	0.509	-0.27	(-1.91, 1.36)	0.743	-0.42	(-2.06, 1.21)	0.612
total PCDF	-0.18	(-1.45, 1.08)	0.775	-0.28	(-1.57, 1.02)	0.673	-0.28	(-1.57, 1)	0.664
total PCDD/PCDF	-0.6	(-2.11, 0.9)	0.432	-0.43	(-1.99, 1.13)	0.585	-0.52	(-2.07, 1.03)	0.511
total Non-ortho PCB	0.74	(-0.48, 1.96)	0.233	1.09	(-0.16, 2.34)	0.088	0.87	(-0.41, 2.15)	0.184
total Mono-ortho PCB	0.7	(-0.42, 1.82)	0.217	0.85	(-0.29, 1.99)	0.143	0.56	(-0.64, 1.77)	0.357
total Coplanar PCB	0.71	(-0.41, 1.83)	0.216	0.85	(-0.29, 2)	0.142	0.57	(-0.64, 1.78)	0.354
total Dioxin	0.7	(-0.47, 1.86)	0.242	0.85	(-0.34, 2.04)	0.159	0.56	(-0.7, 1.81)	0.382
Dioxins (TEQ 2005)									
total PCDD-TEQ	-0.1	(-1.47, 1.27)	0.89	0.07	(-1.33, 1.46)	0.927	-0.37	(-1.84, 1.09)	0.615
total PCDF-TEQ	-0.09	(-1.5, 1.31)	0.894	-0.05	(-1.49, 1.38)	0.94	-0.36	(-1.83, 1.1)	0.626
total PCDD/PCDF-TEQ	-0.16	(-1.58, 1.26)	0.828	-0.04	(-1.48, 1.41)	0.96	-0.45	(-1.95, 1.05)	0.553
total Non-ortho PCB-TEQ	0.5	(-0.48, 1.47)	0.318	0.77	(-0.23, 1.76)	0.131	0.56	(-0.47, 1.59)	0.282
total Mono-ortho PCB-TEQ	0.7	(-0.42, 1.82)	0.217	0.85	(-0.29, 1.99)	0.143	0.56	(-0.64, 1.77)	0.357
total Coplanar PCB-TEQ	0.52	(-0.48, 1.51)	0.305	0.78	(-0.23, 1.8)	0.129	0.58	(-0.47, 1.63)	0.281
total Dioxin-TEQ	0.21	(-1.13, 1.55)	0.758	0.44	(-0.92, 1.81)	0.525	0.08	(-1.34, 1.5)	0.912
PCBs									
total TrCBs	0.02	(-0.93, 0.98)	0.961	-0.09	(-1.08, 0.89)	0.85	-0.06	(-1.04, 0.92)	0.897
total TeCBs	0.47	(-0.87, 1.82)	0.49	0.57	(-0.81, 1.95)	0.417	0.33	(-1.07, 1.74)	0.642
total PeCBs	0.98	(-0.19, 2.14)	0.1	1.07	(-0.12, 2.26)	0.077	0.94	(-0.26, 2.13)	0.125
total HxCBs	0.88	(-0.21, 1.98)	0.114	0.97	(-0.15, 2.1)	0.089	0.69	(-0.5, 1.89)	0.254
total HpCBs	0.97	(-0.01, 1.96)	0.052	1.04	(0.02, 2.06)	0.046*	0.76	(-0.4, 1.92)	0.195
total OcPBs	1.09	(0.04, 2.13)	0.041*	1.23	(0.14, 2.31)	0.027*	0.96	(-0.34, 2.26)	0.147
total NoCBs	1.36	(0.32, 2.4)	0.011*	1.53	(0.45, 2.61)	0.006**	1.37	(0.11, 2.62)	0.033*
total DeCBs	1.37	(0.22, 2.53)	0.020*	1.57	(0.38, 2.77)	0.01*	1.35	(-0.02, 2.72)	0.054
total PCBs	1.05	(-0.09, 2.18)	0.07	1.13	(-0.04, 2.31)	0.058	0.83	(-0.45, 2.11)	0.202

Model 1: adjusted for household income, maternal smoking, alcohol intake, blood sampling period, infant sex

Model 2: adjusted for model 1 + maternal age

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

Table 4. Relationships between selected PCB congeners and *H19* methylation by multiple linear regression model.

(log ₁₀ -transformed)	≤ND (%)	Crude (N=238)			Model 1 (N=238)			Model 2 (N=238)		
		β	(95% CI)	p	β	(95% CI)	p	β	(95% CI)	p
[PCBs]										
HpCBs										
22'33'566'-HpCB(#179)	27 (11.3)	0.54	(0.04, 1.05)	0.036*	0.5	(-0.01, 1.01)	0.052	0.47	(-0.04, 0.98)	0.072
22'33'55'6'-HpCB(#178)	0 (0.0)	0.97	(0.04, 1.9)	0.041*	1.01	(0.05, 1.97)	0.039*	0.77	(-0.31, 1.84)	0.162
22'344'56'-HpCB(#182)	0 (0.0)	1.08	(0.14, 2.01)	0.024*	1.11	(0.14, 2.07)	0.025*	0.88	(-0.18, 1.95)	0.103
22'344'5'6'-HpCB(#183)	0 (0.0)	1.03	(0.06, 2)	0.038*	1.06	(0.07, 2.05)	0.036*	0.84	(-0.22, 1.9)	0.122
22'344'56'-HpCB(#181)	64 (26.9)	0.03	(-0.51, 0.58)	0.906	-0.01	(-0.57, 0.54)	0.96	-0.13	(-0.69, 0.44)	0.652
22'33'4'56'-HpCB(#177)	0 (0.0)	0.96	(0.02, 1.91)	0.046*	1	(0.02, 1.97)	0.045*	0.78	(-0.26, 1.81)	0.142
22'33'455'-HpCB(#172)	1 (0.4)	0.47	(-0.38, 1.31)	0.277	0.48	(-0.39, 1.35)	0.278	0.18	(-0.77, 1.14)	0.705
22'344'55'-HpCB(#180)	0 (0.0)	0.86	(-0.11, 1.82)	0.081	0.95	(-0.07, 1.96)	0.067	0.64	(-0.54, 1.81)	0.286
233'44'5'6'-HpCB(#191)	9 (3.8)	0.41	(-0.24, 1.06)	0.214	0.49	(-0.17, 1.15)	0.145	0.33	(-0.37, 1.03)	0.355
22'33'44'5'-HpCB(#170)	0 (0.0)	0.84	(-0.15, 1.83)	0.098	0.9	(-0.14, 1.93)	0.089	0.57	(-0.61, 1.75)	0.342
OcCBs										
22'33'55'66'-OcCB(#202)	0 (0.0)	0.92	(-0.01, 1.85)	0.051	1.03	(0.07, 1.99)	0.036*	0.78	(-0.31, 1.88)	0.16
22'33'45'66'-OcCB(#200)	15 (6.3)	0.38	(-0.22, 0.97)	0.216	0.42	(-0.18, 1.02)	0.173	0.33	(-0.28, 0.94)	0.286
22'33'45**'-OcCB(#201/198)	0 (0.0)	0.93	(-0.05, 1.91)	0.064	1.04	(0.02, 2.06)	0.045*	0.75	(-0.44, 1.95)	0.216
22'344'55'6'-OcCB(#203)	0 (0.0)	1.13	(0.13, 2.12)	0.026*	1.19	(0.16, 2.23)	0.024*	0.95	(-0.26, 2.17)	0.124
22'33'44'56'-OcCB(#195)	0 (0.0)	1.08	(0.04, 2.12)	0.041*	1.26	(0.19, 2.32)	0.021*	1.02	(-0.19, 2.22)	0.098
22'33'44'55'-OcCB(#194)	0 (0.0)	1.07	(0.01, 2.13)	0.047*	1.28	(0.16, 2.4)	0.025*	1.03	(-0.36, 2.42)	0.146
233'44'55'6'-OcCB(#205)	27 (11.3)	-0.02	(-0.59, 0.55)	0.943	-0.02	(-0.59, 0.55)	0.951	-0.2	(-0.79, 0.4)	0.515
NoCBs										
22'33'455'66'-NoCB(#208)	4 (1.7)	0.93	(0.22, 1.63)	0.010*	1	(0.28, 1.73)	0.007**	0.87	(0.08, 1.67)	0.031*
22'33'44'566'-NoCB(#207)	8 (3.4)	0.71	(0, 1.42)	0.049*	0.7	(-0.02, 1.43)	0.058	0.55	(-0.21, 1.31)	0.156
22'33'44'55'6'-NoCB(#206)	1 (0.4)	0.74	(-0.21, 1.68)	0.125	0.86	(-0.11, 1.83)	0.083	0.58	(-0.5, 1.66)	0.294
DeCB										
22'33'44'55'66'-DeCB(#209)	0 (0.0)	1.37	(0.22, 2.53)	0.020*	1.57	(0.38, 2.77)	0.010*	1.35	(-0.02, 2.72)	0.054

Model 1: adjusted for household income, maternal smoking, alcohol intake, blood sampling period, infant sex

Model 2: adjusted for model 1 + maternal age

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

Table 5. Relationships between Dioxins/PCBs and DNA methylation by sex-stratified multiple linear regression model.

(log ₁₀ -transformed)	IGF2 methylation (%)			H19 methylation (%)			LINE1 methylation (%)											
	Male (N=111)			Female (N=127)			Male (N=111)			Female (N=127)								
	β	(95% CI)	p-value	β	(95% CI)	p-value	β	(95% CI)	p-value	β	(95% CI)	p-value	β	(95% CI)	p-value			
Dioxins																		
total PCDD	-1.34	(-4.85, 2.17)	0.45	1.23	(-2.47, 4.93)	0.512	-1.53	(-3.87, 0.8)	0.196	0.82	(-1.54, 3.18)	0.495	-0.32	(-1.48, 0.85)	0.589	0.54	(-0.78, 1.85)	0.419
total PCDF	-4.07	(-8.15, 0)	0.05	1.3	(-1.02, 3.61)	0.27	0.69	(-2.09, 3.47)	0.622	-0.67	(-2.15, 0.81)	0.372	-1.13	(-2.49, 0.23)	0.101	0.51	(-0.31, 1.34)	0.217
total PCDD/PCDF	-1.45	(-5.03, 2.12)	0.422	1.79	(-1.46, 5.04)	0.278	-1.49	(-3.87, 0.89)	0.217	0.19	(-1.89, 2.27)	0.856	-0.35	(-1.53, 0.84)	0.563	0.62	(-0.53, 1.78)	0.286
total Non-ortho PCB	-1.3	(-4.23, 1.63)	0.381	0.12	(-2.65, 2.9)	0.931	0.53	(-1.43, 2.5)	0.593	1.29	(-0.46, 3.05)	0.147	-0.24	(-1.22, 0.73)	0.62	0.43	(-0.55, 1.42)	0.384
total Mono-ortho PCB	-1.38	(-4.13, 1.37)	0.322	0.52	(-2.12, 3.16)	0.698	0.1	(-1.75, 1.95)	0.913	1.23	(-0.44, 2.9)	0.147	-0.5	(-1.41, 0.41)	0.283	0.21	(-0.73, 1.14)	0.666
total Coplanar PCB	-1.38	(-4.14, 1.37)	0.321	0.52	(-2.13, 3.16)	0.699	0.11	(-1.75, 1.96)	0.909	1.24	(-0.44, 2.91)	0.146	-0.49	(-1.41, 0.42)	0.284	0.21	(-0.73, 1.15)	0.665
total Dioxin	-1.45	(-4.32, 1.41)	0.317	0.74	(-1.98, 3.47)	0.59	0.09	(-1.84, 2.01)	0.928	1.19	(-0.54, 2.92)	0.175	-0.49	(-1.44, 0.46)	0.304	0.27	(-0.7, 1.24)	0.582
Dioxins (TEQ)																		
total PCDD-TEQ(05)	-3.04	(-6.17, 0.1)	0.057	0.47	(-2.76, 3.69)	0.775	-0.32	(-2.46, 1.82)	0.767	-0.01	(-2.07, 2.04)	0.99	-0.48	(-1.53, 0.57)	0.369	0.1	(-1.05, 1.24)	0.867
total PCDF-TEQ(05)	-4.21	(-7.6, -0.83)	0.015*	1.16	(-1.86, 4.18)	0.449	0.35	(-1.98, 2.69)	0.764	-0.65	(-2.57, 1.28)	0.508	-0.9	(-2.04, 0.25)	0.124	0.66	(-0.41, 1.72)	0.227
total PCDD/PCDF-TEQ(05)	-3.47	(-6.75, -0.18)	0.039*	1	(-2.23, 4.23)	0.542	-0.17	(-2.42, 2.08)	0.879	-0.36	(-2.43, 1.7)	0.728	-0.61	(-1.72, 0.5)	0.277	0.35	(-0.8, 1.5)	0.55
total Non-ortho PCB-TEQ(05)	-1.08	(-3.25, 1.09)	0.328	0.21	(-2.19, 2.6)	0.863	0.46	(-1, 1.91)	0.537	0.92	(-0.6, 2.43)	0.234	-0.19	(-0.91, 0.53)	0.599	0.39	(-0.46, 1.23)	0.369
total Mono-ortho PCB-TEQ(05)	-1.38	(-4.13, 1.37)	0.322	0.52	(-2.12, 3.16)	0.698	0.1	(-1.75, 1.95)	0.913	1.23	(-0.44, 2.9)	0.147	-0.5	(-1.41, 0.41)	0.283	0.21	(-0.73, 1.14)	0.666
total Coplanar PCB-TEQ(05)	-1.13	(-3.36, 1.09)	0.315	0.23	(-2.2, 2.66)	0.85	0.46	(-1.04, 1.95)	0.545	0.95	(-0.59, 2.49)	0.226	-0.21	(-0.95, 0.53)	0.571	0.38	(-0.48, 1.24)	0.381
total Dioxin-TEQ(05)	-2.86	(-5.91, 0.2)	0.067	0.96	(-2.2, 4.12)	0.548	0.3	(-1.77, 2.38)	0.772	0.2	(-1.81, 2.22)	0.842	-0.49	(-1.51, 0.54)	0.35	0.49	(-0.63, 1.61)	0.386
PCBs																		
total TrCBs	0.44	(-1.9, 2.78)	0.709	-0.3	(-2.29, 1.69)	0.767	-0.54	(-2.11, 1.02)	0.492	0.48	(-0.78, 1.75)	0.45	0.02	(-0.75, 0.8)	0.953	0.29	(-0.42, 0.99)	0.424
total TeCBs	-0.59	(-3.6, 2.42)	0.698	-1.44	(-4.59, 1.72)	0.369	0.24	(-1.78, 2.25)	0.817	1.02	(-1, 3.03)	0.319	-0.2	(-1.2, 0.8)	0.693	0.2	(-0.93, 1.32)	0.728
total PeCBs	-0.17	(-2.8, 2.46)	0.899	-0.39	(-3.05, 2.27)	0.771	1.13	(-0.61, 2.88)	0.201	1.23	(-0.46, 2.91)	0.152	-0.28	(-1.15, 0.59)	0.522	0.34	(-0.6, 1.28)	0.477
total HxCBs	-1.67	(-4.47, 1.12)	0.238	1.11	(-1.47, 3.68)	0.396	0.33	(-1.55, 2.22)	0.726	1.21	(-0.42, 2.84)	0.144	-0.5	(-1.43, 0.42)	0.284	0.3	(-0.62, 1.21)	0.521
total HpCBs	-1.68	(-4.55, 1.19)	0.249	1.18	(-1.18, 3.53)	0.324	0.8	(-1.13, 2.73)	0.411	0.92	(-0.58, 2.42)	0.227	-0.48	(-1.43, 0.48)	0.325	0.74	(-0.09, 1.57)	0.081
total OcPBs	-1.92	(-4.87, 1.03)	0.199	1.88	(-0.94, 4.7)	0.19	0.15	(-1.84, 2.14)	0.881	1.63	(-0.16, 3.41)	0.074	-0.65	(-1.63, 0.32)	0.188	0.6	(-0.4, 1.61)	0.235
total NoCBs	-1.37	(-4.08, 1.33)	0.317	0.36	(-2.53, 3.24)	0.806	0.35	(-1.47, 2.17)	0.703	2.6	(0.82, 4.38)	0.004**	-0.7	(-1.59, 0.19)	0.122	0.29	(-0.73, 1.31)	0.576
total DeCBs	-1.82	(-4.69, 1.05)	0.211	1.01	(-2.23, 4.26)	0.538	0.19	(-1.75, 2.13)	0.847	2.77	(0.76, 4.78)	0.007**	-0.67	(-1.62, 0.28)	0.165	0.56	(-0.6, 1.71)	0.341
total PCBs	-1.69	(-4.71, 1.33)	0.269	1.01	(-1.7, 3.72)	0.461	0.57	(-1.46, 2.6)	0.579	1.27	(-0.45, 2.99)	0.146	-0.52	(-1.52, 0.48)	0.306	0.58	(-0.38, 1.54)	0.232

Adjusted for maternal age, annual household income, maternal smoking, alcohol intake, blood sampling period