

厚生労働科学研究費補助金
化学物質リスク研究事業

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

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者

北海道大学環境健康科学研究教育センター

岸 玲子

研究分担者

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

水上 尚典

札幌医科大学医学部産科周産期科・生殖内分泌科

遠藤 俊明

旭川医科大学医学部産婦人科学講座

千石 一雄

北海道大学大学院医学研究科外科治療学講座腎泌尿器外科学分野

野々村克也

北海道大学大学院医学研究科生殖・発達医学講座小児科学分野

有賀 正

福岡県保健環境研究所保健科学部生活化学課

梶原 淳睦

いであ株式会社環境創造研究所

松村 徹

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

松浦 英幸

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

石塚真由美

北海道大学環境健康科学研究教育センター

池野多美子

北海道大学環境健康科学研究教育センター

荒木 敦子

北海道大学環境健康科学研究教育センター

安住 薫

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

佐々木成子

旭川医科大学医学部健康科学講座地域保健疫学分野

吉岡 英治

北海道大学環境健康科学研究教育センター

宮下ちひろ

平成 26 (2014) 年 3 月

目 次

. はじめに
. 総括研究報告書	
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 (岸 玲子ほか)
. 分担研究報告書	
1. 有機フッ素化合物の胎児期曝露が乳幼児期のアレルギー症状に及ぼす影響 (岸 玲子, 佐々木 成子, 池野 多美子, 宮下 ちひろ, 松浦 英幸, 松村 徹ほか)
2. 母体血中 PFCs 濃度と脂肪酸との関連 (岸 玲子, 佐々木 成子ほか)
3. 胎児期ビスフェノール A 曝露による臍帯血中性ホルモン濃度への影響 (佐々木 成子, 松村 徹, 荒木 敦子, 野々村 克也, 岸 玲子ほか)
4. 妊婦の受動喫煙と多環芳香族炭化水素 (PAHs) 代謝関連遺伝子多型が児の出生時体格に及 ぼす影響の検討 (岸 玲子, 水上 尚典, 遠藤 俊明, 千石 一雄, 吉岡 英治ほか)
5. 胎児期の環境化学物質曝露が児の IGF2/H19 メチル化に及ぼす影響 (安住 薫, 岸 玲子, 佐々木 成子, 石塚 真由美ほか)
6. フタル酸エステル類およびビスフェノール A (BPA) 曝露による先天異常への影響に関する 文献レビュー (岸 玲子, 荒木 敦子ほか)
. 研究成果の刊行に関する一覧表

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 特任教授

研究要旨

本研究は2つの前向きコホートで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リスク評価し、遺伝的感受性を含めて障害を予防する方策を明らかにすることを目的とする。地域ベースの37医療機関における北海道（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（PFCs）、ビスフェノールA（BPA）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の評価する。平成25年度に登録妊婦は20,929名に達し、これまで新生児個票が得られた18,333名の妊娠転帰は、生産18,083名（98.74%）、死産102名（0.56%）、自然流産92名（0.50%）、人口流産37名（0.20%）であった。先天異常総数は358件（1.95%）、そのうちマーカー奇形243件、その他137件であった。最も頻度が高かったのは心室中隔欠損症35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16人、水腎症16人などであった。また、514人の札幌（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。

PFCsの影響について、1歳時のアレルギー症状との関連では、食物アレルギー、アトピー性皮膚炎、気管支喘息について検討した結果、有意な関連は認められなかった。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歳児の湿疹発症リスクが量反的に低下した。引き続き母体血中PFCs濃度と4歳のアレルギー疾患および感染症との関連を検討し、胎児期PFCs曝露が出生後の免疫アレルギーへ及ぼす影響について明らかにする予定である。

母体血中PFOS濃度と母の脂肪酸など脂質系への影響を調べた。PFOS濃度が高くなるほど、トリグリセリド・パルミチン酸・パルミトオレイン酸・オレイン酸・リノール酸・リノレン酸・アラキドン酸・DHAの濃度が有意に低下する関係が見られた（ $p < 0.05$ ）。また、PFCs濃度を四分位にわけ重回帰分析を行った結果、濃度影響関係は有意であった（ $p \text{ for trend} < 0.01$ ）。PFOA曝露については、パルミチン酸との間にのみ有意の関連を認め、PFOSに比べて脂肪酸への影響は小さかった。

BPAの生殖系、内分泌系への健康リスクについて次世代影響を含めた疫学研究を行うために、微量血液試料中BPAを迅速処理、高精度で測定する生体試料分析法を同位体希釈LC/MS/MS法を採用して開発し、前処理方法と組合せて血中BPAの分析方法を確立した。ヒト血液試料101検体（母体血44検体、臍帯血57検体）における回収率は60～96%の範囲で良好な結果であった。母児血59検体で濃度の相関を検討すると、母体血中濃度は検出下限以下（ND）～0.419ng/mL（中央値0.058ng/mL）、臍帯血中濃度はND～0.217ng/mL（中央値0.061ng/mL）、相関係数 $r=0.11$ （ $p=0.414$ ）で有意な関連はなかったが、母と同程度であったことから胎児への移行が示唆された。臍帯血中のBPA濃度と性ホルモンとの関係を調べた。男児124名のBPA濃度は0.056ng/mL（中央値）、女児154

名の BPA 濃度は 0.048ng/mL（中央値）であった。エストラジオール（E2）、総テストステロン（T）、プロゲステロン（P4）、黄体形成ホルモン（LH）、卵胞刺激ホルモン（FSH）、性ホルモン結合グロブリン（SHGB）、プロラクチン（PRL）、インヒピン B、Insulin-like factor3（INSL3）の濃度との関連を重回帰分析で解析したところ、男児では、BPA 濃度が上昇すると総テストステロン濃度が有意に上昇した（ $p=0.042$ ）。一方女児では、関連がみられなかった。今後は性ホルモンが関与する生後の健康影響との関連を検討する。

妊婦の受動喫煙と多環芳香族炭化水素（PAHs）代謝関連遺伝子多型の組合せが、出生時体格に及ぼす影響を検討した結果、妊婦の受動喫煙は出生時体格に影響を及ぼし、男児で強い影響が認められた。PAHs 代謝に関わる遺伝子多型で関連が認められたのは、*CYP1A2*、*CYP1B1* および *XRCC1* 遺伝子多型の 3 つであり、男児でより強い影響があった。

胎児期の環境化学物質曝露の臍帯血 DNA メチル化への影響については、PFOA 曝露による IGF2 低メチル化、MEHP 曝露による H19 低メチル化、メチル水銀曝露による LINE1 高メチル化が示された。今後は本研究で観察されたメチル化の変化が児のアウトカムに与える影響を検討する予定である。

フタル酸エステル類、およびビスフェノール A（BPA）の胎児期曝露による児の先天異常などに関するこれまでの疫学研究文献をレビューした。肛門性器間距離（AGD）とフタル酸エステル類曝露の報告が 7 編（うち疫学研究 2 編）、BPA 曝露と先天異常の報告は総説 2 編（疫学研究は該当なし）であった。先行研究の限界として胎児期曝露評価やアウトカム評価の妥当性などに問題が見られた。今後、コーホート研究やコーホート内症例対照研究などの研究デザインで、更なる検討が必要である。

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
外科治療学講座泌尿器科外科学分野教授）

有賀 正

（北海道大学大学院医学研究科
生殖・発達医学講座小児科学分野教授）

梶原 淳睦

（福岡県保健環境研究所
保健科学部生活化学課長）

松村 徹

（いであ株式会社環境創造研究所
取締役・環境創造研究所副所長）

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）

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
特任講師）

安住 薫

（北海道大学環境健康科学研究教育センター
客員研究員）

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）

吉岡 英治

（旭川医科大学医学部健康科学講座
地域保健疫学分野准教授）

宮下 ちひろ

（北海道大学環境健康科学研究教育センター
特任助教）

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総括研究報告書

研究協力者

喜多 歳子、伊藤 佐智子、Houman Goudarzi、
多島 秀司、小林 祥子、田村 菜穂美、
金澤 文子、Yila Thamar、松島 愛子
（北海道大学環境健康科学研究教育センター）
岡田 恵美子、小林 澄貴、伊藤 久美子、
アイツバマイ ゆふ、馬場 俊明、
Brimoh Titilola、
（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）
櫻野 いく子
（東京大学大学院医学系研究科
公共健康医学専攻疫学保健学講座）
櫻木 範明
（北海道大学大学院医学研究科
生殖・発達医学講座生殖内分泌・腫瘍学分野）
長 和俊
（北海道大学病院周産母子センター）
山田 俊
（北海道社会保険病院周産期医療センター）
白石 秀明
（北海道大学病院小児科）
馬場 剛
（札幌医科大学医学部産婦人科学講座）
西條 泰明
（旭川医科大学医学部健康科学講座）
宮本 敏伸
（旭川医科大学医学部産婦人科学講座）
中島 そのみ
（札幌医科大学大学院保健医療学研究科）
三井 貴彦
（北海道大学病院腎泌尿器外科）
那須 民江
（中部大学生命健康科学部
スポーツ保健医療学科）
佐田 文宏
（国立保健医療科学院）
乃村 俊史
（北海道大学大学院医学研究科皮膚科学分野）
今野 哲、木村 孔一
（北海道大学大学院医学研究科
内科学講座呼吸器内科学分野）
伊藤 善也
（日本赤十字北海道看護大学臨床医学領域）
花岡 知之
（北海道療育園美幌療育病院）

平田 輝昭、千々和 勝己、黒川 陽一、
平川 博仙、堀 就英、中川 礼子、
芦塚 由紀、小野塚 大介、高橋 浩司、
高尾 佳子、飛石 和大、安武 大輔、
新谷 依子、岡元 冬樹、宮脇 崇
（福岡県保健環境研究所）
戸高 尊
（九州大学大学院医学研究科皮膚科学分野）
飯田 隆雄
（北九州生活科学センター）
山本 潤、小野田 優、苜木 洋一、水谷 太
（いであ株式会社 環境創造研究所）
中澤 裕之、岩崎 雄介
（星薬科大学薬品分析化学教室）
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）

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、五輪橋産科婦人科小児科病院、朋佑会札幌産科婦人科、函館中央病院、町立中標津病院、はしもとクリニック、王子総合病院、旭川医科大学病院、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、士別市立病院、日鋼記念病院（旧室蘭日鋼記念病院）、市立札幌病院、KKR 札幌医療センター（旧幌南病院）、市立函館病院、広域紋別病院（旧道立紋別総合病院）、天使病院、函館五稜郭病院、中村病院、北見レディースクリニック、帯広厚生病院、名寄市立総合病院、遠軽厚生病院、釧路赤十字病院、市立釧路総合病院、勤医協札幌病院、札幌東豊病院

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（PFCs）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）、免疫アレルギーや神経行動発達への影響について

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総括研究報告書

て日本の疫学データをもって応えるために、2002 年から北海道で 2 つの前向き出生コホートを立ち上げた。

札幌市の 1 産院で出産した児、514 人の前向きコホートでは主として詳細な神経行動発達を追跡している。

さらに北海道全域の 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、環境リスク評価を実施している。研究参加に同意した妊婦 20,929 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し、先天異常、死産、流産等と環境化学物質曝露の関係を明らかにする。

PCBs・ダイオキシン類についての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 PFCs 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。ヒト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、十分な研究が行なわれていない。わが国でも 2010 年に PFOS、PFOSF 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 PFCs 類について妊婦で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 PFCs 濃度を測定し曝露評価を行い、PFCs 濃度の経年変化を検討する。また PFCs 胎児期曝露による出生児の

体格や 2 歳までのアレルギー症状との関連を検討する。さらには母体血中トリグリセリド (TG)・脂肪酸への PFCs 曝露の影響を検討する。

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、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 NOAEL 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 の高精度測定法を開発して、母体血および臍帯血中の BPA 濃度を測定し、胎児期 BPA 曝露による性ホルモン濃度への影響を検討する。

われわれは、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に影響を与えると既に札幌（小規模）コホートで示したが（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。

近年、遺伝的感受性素因による健康影響の個体差が注目され、多環芳香族炭化水素 (PAHs) 代謝関連遺伝子多型が出生時体重の減少に関与することが示唆された。しかし、妊婦の受動喫煙と遺伝子相互作用が児の出生時体格に及ぼす影響については

報告がほとんどない。そこで本研究では、妊婦の受動喫煙と PAHs 代謝関連遺伝子多型が児の出生時体格に及ぼす影響を解明するために、遺伝-環境相互作用を検討する。

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時体重のほか、乳幼児期の肥満、また成人後の大腸がんリスクとの関連も報告されている。本研究では、胎児期の種々の環境化学物質曝露が臍帯血の IGF2/H19 領域、および LINE1 の DNA メチル化などのエピジェネティクスに及ぼす影響について検討する。

B．研究方法

1．前向きコホートの生死流産、妊娠中疾患および先天異常の発生状況

北海道内の産科 37 施設で妊娠初期から妊婦 20,929 名の協力を得て登録し、平成 25 年 1 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）18,333 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・人口）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、出生時体重を算出した。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。

2．有機フッ素化合物（PFCs）の胎児期曝露による 2 歳までのアレルギー症状との

関連

自記式調査票から妊婦とその配偶者の属性などを調査し、医療診療録から児の性別、出生時体重などを収集、1 歳時、2 歳時の調査票から児の健康状態、母乳状況などを親の回答により収集した。解析対象者は、先天異常、検体採取が 26 週未満であった者を除外した 2,063 名であった。独立変数を母体血中 PFCs 濃度、従属変数を児のアレルギー症状（1 歳時は食物アレルギー・アトピー性皮膚炎・気管支喘息、2 歳時は湿疹・喘鳴・アレルギー性鼻結膜炎）とし、母の年齢、出産経歴、母の教育歴、妊娠中のコチニン濃度、両親のアレルギー疾患既往歴、児の性別、母乳栄養期間、集団保育歴で調整後、多重ロジスティック回帰分析を行った。

3．母体血中 PFCs 濃度と脂肪酸との関連

札幌の 1 産科病院の妊婦 390 名を対象とした。母体血中トリグリセリドは TG-IE kits（Wako, Osaka, Japan）を用いて測定した。母体血中の 9 種類の脂肪酸（パルミチン酸・ステアリン酸・パルミトオレイン酸・オレイン酸・リノール酸・アラキドン酸・リノレン酸・EPA・DHA）はガスクロマトグラフ質量分析計（GC-MS）により測定した。

統計解析は重回帰分析を行い、PFOS/PFOA および脂肪酸は \log_{10} 変換した値を使用した。また、測定下限値以下の場合には半値を代入した。

4．血液中ビスフェノール A（BPA）分析法確立と BPA 曝露による臍帯血中性ホルモン濃度への影響

開発した同位体希釈-液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計（ID-LC-MS/MS）をヒト血液試料 70 検体に適用した。内標準物質として、BPA-d₁₆ をクリーンアップ

スパイク、BPA-2、2',6,6'-d₄ (BPA-d₄) をシリンジスパイクとして用いた。また、固相充填済み樹脂製カートリッジカラムとして ISOLUTE マルチモード (500mg/3mL、Biotage 社製; 904-0050-B) を用いた。血液試料 101 検体 (母体血 44 検体、臍帯血 57 検体) について BPA の測定を行った。

母児の BPA 濃度の関連を検討するため、出産時に母体血と臍帯血を採取して、同位体希釈 LC-MS/MS 法 (検出下限値 0.048 ng/mL) で血中 BPA 濃度を測定した。

札幌市内 1 産院コーホートに登録した母児 514 名について自記式質問票で母親と配偶者の妊娠中の喫煙・飲酒状況、食生活や教育歴、世帯収入などを調査し、医療診療録から産科既往歴や分娩時所見などの情報を入手した。臍帯血中の BPA 濃度と性ホルモンのうちエストラジオール (E₂)、総テストステロン (T)、プロゲステロン (P₄)、黄体形成ホルモン (LH)、卵胞刺激ホルモン (FSH)、性ホルモン結合グロブリン (SHGB)、プロラクチン (PRL)、インヒビン B、Insulin-like factor3 (INSL3) の濃度を測定した。すべての測定において検出下限値以下の場合には半値を代入し、BPA 濃度と性ホルモン濃度のデータがある 278 名を解析対象者とした。

5. 妊婦の受動喫煙と多環芳香族炭化水素 (PAHs) 代謝関連遺伝子多型が児の出生時体格に及ぼす影響

対象者の属性は妊娠初期に実施した自記式調査票、出生時所見は母子健康手帳の転記を母親に依頼し 4 か月調査票から得た。曝露評価のため、妊娠後期に採血を行い、母体血血漿中コチニン濃度は高感度酵素免疫吸着法 (ELISA 法) により (株) エスアールエルで測定した。多環芳香族炭化水素の代謝に関与する遺伝子として、芳香族炭化水素受容体 (AHR) (G>A, Arg554Lys)

遺伝子多型、シトクロム P450 (CYP) 1A2 (A>C、CYP1A2*1F)、1B1 (C>G、Leu432Val) 遺伝子多型、グルタチオン S-転移酵素 (GST) M1 (Present/deletion)、T1 (Present/deletion) 遺伝子多型および DNA 修復遺伝子の X-ray cross-complementing gene 1 (XRCC1) (C>T、Arg194Trp および G>A、Arg399Gln) 遺伝子多型はリアルタイム-PCR 法あるいはマルチプレックス PCR 法で解析した。出生時体格をアウトカム指標として、妊娠期の受動喫煙と遺伝子多型が児の出生時体格に及ぼす影響を検討した。

6. 胎児期の環境化学物質曝露が児の IGF2/H19 メチル化に及ぼす影響

札幌の 1 産科病院でリクルートした参加者 514 名のうち、臍帯血の得られた 267 名を対象とした。臍帯血 400 μL 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。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 log₁₀ 変換した値を用い、また濃度が検出下限値以下の場合には半値を代入した。

7. フタル酸エステル類およびビスフェノール A (BPA) 曝露による先天異常への影響に関する文献レビュー

フタル酸エステル類および、ビスフェノ

ール A (BPA) の胎児期曝露による児の先天異常などに関するこれまでの疫学研究をレビューすることを目的に、PubMed を用いて文献検索を行った。フタル酸エステル類、および BPA を曝露要因として、出生した児の先天異常をアウトカムとする疫学研究のうち、英文の原著論文をレビュー対象とした。

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および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」、「疫学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」に従った。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 . 前向きコーホートの生死流産、妊娠中疾患および先天異常の発生状況

母親の出産時年齢は平均 29.84 ± 4.83 歳であった。生産 18,083 名 (98.74%)、死産 102 名 (0.56%)、自然流産 92 名 (0.50%)、人口流産 37 名 (0.20%) であった。出産した児の男児は 9,194 名 (50.15%)、単胎は 17,998 名 (99.08%)、在胎週数は平均 38.78 ± 1.53 週、出生時体重は平均 $3,030.17 \pm 419.42$ g であった。

妊娠中の疾患では、切迫早産 1,005 名 (5.53%) が最も多く、次いで膣からの出

血 489 名 (2.69%)、妊娠中毒症 338 名 (1.87%) 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 358 名であり、そのうちマーカー奇形が 266 件、その他の異常が 143 件であり、先天異常を有する児の出産頻度は 1.95% であった。そのうちマーカー奇形 243 件 (1.33%)、その他の先天奇形 137 件 (0.75%) 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 316 件 (1.74%) 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 19.1 (35 名) であった。次いで停留精巣・非触知精巣 15.2 (14 名: 男児のみ 9,194 名で算出) Down 症候群 10.9 (20 名)、口唇口蓋裂 10.9 (16 名)、水腎症 8.7 (16 名) などであった。

2 . 有機フッ素化合物 (PFCs) の胎児期曝露による 2 歳までのアレルギー症状との関連

1 歳時のアレルギー症状の発症率は、食物アレルギー 12.0%、アトピー性皮膚炎 10.4%、気管支喘息 10.5% であった。2 歳時のアレルギー症状の発症率は、湿疹 17.8%、喘鳴 19.3%、アレルギー性結膜炎 4.4%、これらいずれかの症状があるアレルギーが 34.6% であった。母体血中 PFCs 濃度 (中央値) は、PFOS 5.04 ng/mL; PFOA 2.01 ng/mL; PFUnDA 1.40 ng/mL; PFNA 1.15 ng/mL の順であり、PFCs は 11.9 ng/mL であった。PFCs 濃度と 1 歳までのアレルギー症状との間に関連は認められなかった。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 歳児の湿疹の発症リスクが量反応的に低下した。

3. 母体血中 PFCs 濃度と脂肪酸との関連
重回帰分析で交絡因子を調整後、母体血中 PFOS 濃度 (\log_{10} 変換) とトリグリセリド・パルミチン酸・パルミトオレイン酸・オレイン酸・リノール酸・ γ -リノレン酸・アラキドン酸・DHA との間にそれぞれ有意な負の相関を認めた ($p < 0.05$)。また、PFCs 濃度を四分位にわけ重回帰分析を行った結果、連続値で解析した場合と同様の結果が得られ、PFOS 濃度の増加に伴い脂肪酸の有意な減少が認められた (p for trend < 0.01)。PFOA 曝露については、パルミチン酸との間にのみ正の相関を認めた。

4. BPA 曝露による臍帯血中性ホルモン濃度への影響

ヒト血液試料 70 検体を 3 ロットにわけて分析を実施した。分析においては、ロット毎のブランク試験と全操作ブランク試験を行い、BPA の汚染が問題ないことを確認した。血液中の BPA 濃度は、ND ~ 0.153ng/mL (平均値 0.058ng/mL、中央値 0.049ng/mL) であった。検体の測定における各試料の回収率は 71 ~ 113% の範囲であった。装置の変動について確認を行うため、濃度 1.0ng/mL の標準溶液を 3 ~ 5 検体毎に測定し、検量線における RRF と比較し $\pm 20\%$ の範囲であった。試料中の濃度は、全体で ND ~ 0.175ng/mL (中央値 0.059ng/mL)、母体血中の濃度は ND ~ 0.125ng/mL (中央値 0.053ng/mL)、臍帯血中の濃度は ND ~ 0.175ng/mL (中央値 0.064ng/mL) であった。分析した血液全試料における回収率は 60 ~ 96% の範囲であった。試料のうち 8 検体について二重測定を実施したが、試料濃度の差は 20% 以下であった。

母児の母体血中 BPA 濃度は 0.058 ng/mL (中央値)、また、臍帯血中 BPA 濃度は 0.061 ng/mL (中央値) で、母と同程

度であった。しかし、母・胎児の関連は認められなかった。

性ホルモンとの関連では、男児 124 名の BPA 濃度は 0.056 ng/mL (中央値)、女児 154 名の BPA 濃度は 0.048 ng/mL (中央値) であった。在胎週数、世帯収入、母の年齢、喫煙と飲酒量で調整した重回帰分析の結果、男児では、BPA 濃度が上昇すると総テストステロン濃度が有意に上昇した ($p = 0.042$)。一方、女児では、関連がみられなかった。

5. 妊婦の受動喫煙と多環芳香族炭化水素 (PAHs) 代謝関連遺伝子多型が児の出生時体格に及ぼす影響

血漿コチニン濃度のデータ、遺伝子多型のデータ、出生時体格のデータのすべてが得られた 1,633 名について解析した。妊婦の受動喫煙が出生時体格に及ぼす影響とその性差では、非喫煙妊婦の児と比較して、受動喫煙妊婦の児の出生時体格は減少した (出生時体重、35g 減少、 $p = 0.043$; 出生時身長、0.24cm 減少、 $p = 0.013$; 出生時頭囲、0.15cm 減少、 $p = 0.047$)。さらに児の性別で層別すると、受動喫煙妊婦の男児の出生時体格は減少したが (出生時体重、71g 減少、 $p = 0.007$; 出生時身長、0.48cm 減少、 $p < 0.001$; 出生時頭囲、0.26cm 減少、 $p = 0.031$)、女児では有意な差はなかった。妊婦の受動喫煙と PAHs 代謝関連遺伝子多型を組合せて出生時体格の低下を検討すると、非喫煙で CYP1A2 (A>C、CYP1A2*1F) 遺伝子多型の AA 型の妊婦と比較して、AC/CC 型の妊婦の児は出生時頭囲の 0.28 cm 減少した (95%CI: -0.49、-0.08)。また CYP1B1 (C>G、Leu432Val) 遺伝子多型では、非喫煙で CC 型の妊婦の児と比較して、受動喫煙で CG/GG 型の妊婦の児の出生時頭囲は 0.29 cm 減少し (95%CI: -0.51、-0.08)、層別すると男児では 0.50 cm とより多く減少した

(95%CI: -0.85、 -0.15)。さらに *XRCC1* (C>T、Arg194Trp) 遺伝子多型では、非喫煙で CC 型の妊婦の児と比較して、受動喫煙で CT/TT 型の妊婦の児の出生時身長は 0.44 cm 減少し (95%CI: -0.72、 -0.17)、層別すると男児では 0.66 cm とより多く減少した (95%CI: -1.03、 -0.28)。さらに遺伝子多型の組合せで、非喫煙で *CYP1A2* (A>C) 遺伝子多型が AA 型、*CYP1B1* (C>G) 遺伝子多型が CC 型をもつ妊婦の児と比較して、受動喫煙で *CYP1A2* 遺伝子多型が AC/CC 型、*CYP1B1* 遺伝子多型が CG/GG 型をもつ妊婦の児の出生時頭囲は 0.41cm 減少した (95%CI: -0.70、 -0.12)。

6. 胎児期の環境化学物質曝露が児の IGF2/H19 メチル化に及ぼす影響

本集団における臍帯血 DNA メチル化率の平均は、IGF2 が 48.7% (± 2.9)、H19 が 52.3% (± 2.0)、LINE1 が 75.8% (± 1.1) であった。

重回帰分析で交絡因子を調整後、母体血中 PFOA 濃度 (\log_{10} 変換) と臍帯血 IGF2 メチル化率との間に有意な負の相関が認められた ($\beta = -1.61$ 、95% CI: -3.00 to -0.22)。また、有意ではなかったが、PFOS でも同様の傾向が認められた ($\beta = -1.16$ 、95% CI: -2.97 to 0.66)。母体血中 MEHP 濃度 (\log_{10} 変換) と H19 メチル化率との間には有意な負の相関が認められた ($\beta = -0.86$ 、95% CI: -1.70 to -0.02)。母毛髪中メチル水銀量 (\log_{10} 変換) と LINE1 メチル化との間には有意な正の相関がみられた ($\beta = 0.75$ 、95% CI: 0.11 to 1.39)。その他、ダイオキシン (TEQ)、PCB の総量と 3 遺伝子領域のメチル化との間に有意な関連は認められなかった。

7. フタル酸エステル類およびビスフェノール A (BPA) 曝露による先天異常への

影響に関する文献レビュー

本研究のレビュー対象となった文献は、肛門性器間距離 (AGD) とフタル酸エステル類曝露の報告が 7 編 (うち疫学研究 2 編) であった。この 7 編は停留精巣に関する報告が 1 編、尿道下裂に関する報告が 2 編、児の AGD に関する報告が 4 編と、限られた先天異常あるいは AGD のみの検討であった。AGD と BPA 曝露の報告は総説 2 編 (疫学研究は該当なし) であった。

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)」と比較すると、先天異常の出産頻度は 1.74% と近似していた。しかし、形態異常ごとの頻度をみると、尿道下裂、口蓋裂などは JAOG よりも高い。一方で、消化管系閉鎖、脊髄髄膜瘤、水頭症などの胎児期に診断され、出生直後に集中的な対応が要求される重篤な形態異常については、JAOG 調査よりも低い傾向がみられた。倉橋ら (2005) は JAOG の尿道下裂の有病率を解釈するうえで、モニタリング対象数が限定されることによる選択バイアスの存在、モニタリング初期段階の軽症例の見落とし、診断基準の地域差を考慮する必要があることを指摘している。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、一般的な地域病院で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。

母体血中 PCBs・ダイオキシン類濃度と次世代影響との関連については、2012 年 2 月までに生産した 19,164 名 (先天性心疾患は 68 名) を対象に、引き続いて PCBs・ダイオキシン類一斉分析を実施し、最終的

にコーホート内症例対照研究において、先天性心疾患症例 68 名と対照例 68 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。さらに発達やアレルギーへの影響は引き続き 42 ヶ月、6 歳、8 歳、13 歳の思春期前まで追跡を継続して、ダイオキシン類の胎児期曝露の影響がどの年齢まで及ぶか、内分泌攪乱作用を含めた検証を行う予定である。

有機フッ素化合物 (PFCs) については、POPs 条約に含まれたため PFOS、PFOA の使用は抑制されているが、代替化合物の使用が増えていることが危惧される。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。特に男児に影響が強かった。アレルギーについては、女児のみにおいて母体血中 PFUnDA、PFTrDA 濃度が高いほど、2 歳児の湿疹の発症リスクが量反的に低下した。引き続き母体血中 PFCs 濃度と発育や 4 歳のアレルギー疾患および感染症との関連を検討し、胎児期 PFCs 曝露が出生後の免疫アレルギーへ及ぼす影響について明らかにする予定である。

PFCs 曝露の TG・脂肪酸へ及ぼす影響については、妊娠中の PFOS 曝露により母親の TG・脂肪酸（パルミチン酸・パルミトオレイン酸・リノール酸・アラキドン酸・リノレン酸・DHA）が減少することが示された。この結果は疫学研究において、妊婦の PFCs 曝露と脂肪酸との関連を調べた世界で初めての報告となる。妊娠中の PFCs 曝露の TG への影響は疫学研究で 2 報の報告があるが、今回の結果と一致しなかった。動物実験では、PFOS/PFOA 曝露による血清中の TG およびコレステロール

の減少が報告されており、本研究の結果と一致する。先行研究との不一致は、日本人と欧米人の遺伝的背景の違いも考えられ、今後、PPAR など核内受容体などの環境遺伝相互作用を含めた解析により PFCs 曝露の脂質組成への影響を検討する予定である。さらに脂肪酸は児の神経発達にも影響を及ぼす可能性があるため、PFOS、PFOA 濃度と児の発達の関連についても解析する必要がある。

血液中のビスフェノール A (BPA) は、開発した測定分析方法は完成したものと考える。血液中の BPA は、妊娠中の母親血液と臍帯血に相関は認められなかった。臍帯血中の BPA 濃度と性ホルモン（エストラジオール (E2)、総テストステロン (T)、プロゲステロン (P4)、黄体形成ホルモン (LH)、卵胞刺激ホルモン (FSH)、性ホルモン結合グロブリン (SHGB)、プロラクチン (PRL)、インヒビン B、Insulin-like factor3 (INSL3)) 濃度との関係を調べた結果、男児では、BPA 濃度が上昇すると総テストステロン濃度が上昇した ($p=0.042$)。今後は性ホルモンが関与する生後の健康影響との関連を検討する。

受動喫煙についても多環芳香族炭化水素 (PAHs) 代謝関連遺伝子多型を考慮して検討した結果、*CYP1A2*、*CYP1B1* および *XRCC1* 遺伝子多型が出生時体格に影響を及ぼし、一部性差も認められることが明らかとなった。本研究の結果から、たばこ煙の化学物質は特定できないが、妊婦の受動喫煙は胎児発育への影響にも性差があると考えられる。

胎児期の環境化学物質曝露による児の DNA メチル化への影響については、PFOA 曝露による IGF2 低メチル化、MEHP 曝露による H19 低メチル化、メチル水銀曝露による LINE1 高メチル化が示された。先行研究において、臍帯血中 PFOA 濃度とゲノ

ム全体のメチル化（ELISA法）との間に負の相関が報告されており、本研究のIGF2メチル化と同様の傾向を示した。

IGF2/H19領域のメチル化は胎児期の成長に重要であり、また、小児期の肥満との関連も報告されている。今後は本研究で観察されたメチル化の変化が、児のアウトカムをどれだけ説明できるか、検討する予定である。

わが国では欧米諸国と比較して、いまだ男性や若い女性の喫煙率が高いことが報告されている。本研究では、受動喫煙曝露の客観的指標として、血漿中コチニン濃度を測定し、妊娠期の能動喫煙のみならず、受動喫煙が出生時体格を低下させることを定量的に明らかにした。

フタル酸エステル類曝露の文献では、サンプルサイズが小さいこと、母集団に偏りがあること、胎児期曝露の指標となる生体試料の採取時期が適切でなく曝露評価の妥当性に問題があるなどの研究の限界が見られた。さらに、AGDの性差について検討された報告は1編のみであった。また、アウトカム評価の妥当性に問題が見られるなど、更なる検討が必要である。BPA曝露の文献については報告数も少なく、コーホート研究やコーホート内症例対照研究などの研究デザインで、更なる検討も必要である。

E．結論

本コーホート参加妊婦で平成25年1月末までに新生児個票が確認された18,333人のうち、先天異常の児総数は358人、先天異常を有する児の出産頻度は1.95%であった。今後は、地域病院ベースの先天異常の発生率をより正確に把握するとともに、PCBs・ダイオキシン類、PFOS等の有機フッ素化合物（PFCs）およびビスフェノールA曝露の影響について先天異常、SGA、免疫アレルギー等について出生コーホート

内症例対照研究の形で検討する。さらに、先天異常、発育など次世代影響の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、先天異常および胎児発育や乳幼児期の発達、免疫アレルギーなど環境化学物質による次世代影響について微量分析を確実にを行うことにより、世界的にも初めて実証データから科学的に解明することが可能となるであろう。

F．研究発表

1) 論文発表

原著論文、総説等

1. Okada E., Sasaki S., Kashino I., Matsuura H., Miyashita C., Kobayashi S., Itoh K., Ikeno T., Tamakoshi A., Kishi R.; Prenatal exposure to perfluoroalkyl acids and allergic diseases in early childhood. *Environ Int.* 65C:127-134, 2014.
2. Otake Y., Nakajima S., Uno A., Kato S., Sasaki S., Yoshioka E., Ikeno T., Kishi R.; Association between maternal antenatal depression and infant development: a hospital-based prospective cohort study. *Environ Health Prev Med.* 19 (1):30-45, 2014.
3. Okada E., Kashino I., Matsuura H., Sasaki S., Miyashita C., Yamamoto J., Ikeno T., Ito M. Y., Matsumura T., Tamakoshi A., Kishi R.; Temporal trends of perfluoroalkyl acids in plasma samples of pregnant women in Hokkaido, Japan, 2003-2011. *Environ Int.* 60:89-96, 2013.

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総括研究報告書

4. Kishi R., Kobayashi S., Ikeno T., Araki A., Miyashita C., Itoh S., Sasaki S., Okada E., Kobayashi S., Kashino I., Itoh K., Nakajima S.; The members of the Hokkaido Study on Environment and Children's Health.; Ten Years of Progress in the Hokkaido Birth Cohort Study on Environment and Children's Health: Cohort Profile - Updated 2013. *Environ Health Prev Med.* 18 (6):429-450, 2013.
 5. Kobayashi S., Sata F., Sasaki S., Ban S., Miyashita C., Okada E., Limpar M., Yoshioka E., Kajiwara J., Todaka T., Saijo Y., Kishi R.; Genetic association of aromatic hydrocarbon receptor (AHR) and cytochrome P450, family 1, subfamily A, polypeptide 1 (CYP1A1) polymorphisms with dioxin blood concentrations among pregnant Japanese women. *Toxicol Lett.* 219 (3):269-278, 2013.
 6. 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ピジェネティクス研究. 北海道公衆衛生学雑誌 . 26 (2):29-38, 2012.
- 著書
7. 岸玲子; 市民協力による環境疫学研究～わが国で初の本格的出生コーホート研究の経験から学ぶ～. 地球社会の環境ビジョン これからの環境学 (日学新書3) [新書]. 80-91, 2013.
- 解説、その他
8. 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. 88 (4-5):145, 2013.
- 2) 学会発表
1. Verner MA., Loccisano AE., Yoon M., Wu H., McDougall R., Maisonet M., Marcus M., Kishi R., Miyashita C., Chen MH., Hsieh W., Andersen M., Clewell III H., Longnecker MP.; The Association Between Prenatal Exposure to Perfluoroalkyl Substances (PFAS) and Reduced Birth Weight: Is Glomerular Filtration Rate the Underlying Cause? SOT's 53rd Annual Meeting. Phoenix, USA. (2014.03.23-27)
 2. Kishi R.; Prenatal Perfluorinated Compounds Exposure and Early childhood Health. DOHaD2013-8th World Congress on DOHaD. Singapore. (2013.11.17-20)
 3. Araki A.; Maternal exposure to dehp and sex hormone levels in cord blood. DOHaD2013-8th World Congress on DOHaD. Singapore. (2013.11.17-20)
 4. Itoh S., Kajiwara J., Miyashita C., Kobayashi S., Sasaki S., Ban S., Ikeno T., Araki A., Kishi R.; The effects of hydroxylated PCBs in maternal serum on infant thyroid hormones. Environment and Health – Bridging South, North, East and West Conference of ISEE, ISES and ISIAQ. Basel, Switzerland. (2013.08.19-23)

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総括研究報告書

5. Okada E., Kashino I., Sasaki S., Miyashita C., Ikeno T., Araki A., Yamamoto J., Matsuura H., Matsumura T., Tamakoshi A., Kishi R.; Relationship between prenatal exposure to perfluorinated compounds and allergic diseases in infants. Environment and Health – Bridging South, North, East and West Conference of ISEE, ISES and ISIAQ. Basel, Switzerland. (2013.08.19-23)
6. Kashino I., Okada E., Sasaki S., Miyashita C., Ikeno T., Araki A., Yamamoto J., Matsuura H., Matsumura T., Tamakoshi A., Kishi R.; Prenatal Exposure to 11 Perfluorinated Compounds (PFCs) and infant weight in the Hokkaido Study on Environmental and Children's Health. Environment and Health – Bridging South, North, East and West Conference of ISEE, ISES and ISIAQ. Basel, Switzerland. (2013.08.19-23)
7. Sata F., Eto A., Kanatani Y., Araki A., Mitsui T., Kishi R., Nonomura K.; Fetal genetic polymorphisms associated with estrogen levels and sex-hormone-binding globulin and fetal growth restriction. Environment and Health – Bridging South, North, East and West Conference of ISEE, ISES and ISIAQ. Basel, Switzerland. (2013.08.19-23)
8. Eto A., Sata F., Kanatani Y., Araki A., Mitsui T., Kishi R.; Fetal genetic polymorphisms associated with estrogen levels and sex-hormone-binding globulin and anthropometric parameters in newborns. Environment and Health – Bridging South, North, East and West Conference of ISEE, ISES and ISIAQ. Basel, Switzerland. (2013.08.19-23)
9. 田村菜穂美、伊藤久美子、小林澄貴、岡田恵美子、喜多歳子、Houman Goudarzi、宮下ちひろ、荒木敦子、池野多美子、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. 第84回日本衛生学会学術総会. 岡山. (2014.5.25-28) (採択済み)
10. 池野多美子、喜多歳子、小林澄貴、岸玲子；妊婦葉酸値と8歳時ADHD関連症状の関係：環境と子どもの健康に関する北海道スタディ. 第65回北海道公衆衛生学会. 札幌. (2013.11.14-15)
11. 荒木敦子；有機フッ素化合物曝露と子どもの健康 - 子どもの健康と環境に関する北海道研究 - (Perfluoroalkyl acid exposure and children ' s health: The Hokkaido Study on Environment and Child Health). SW2013国際シンポジウム サステナブルで安心な社会の構築へ向けて：予防原則という考え方 (Towards a Safe and Sustainable Society : Applicability of the Precautionary Perspective). 札幌. (2013.11.05)
12. 岸玲子；生活環境要因と子どもの健康・成長；出生コホート（北海道スタディ）の成果と提言. 第72回日本公衆衛生学会総会. 津. (2013.10.23-25)
13. 河合俊夫、坪井樹、荒木敦子、アイツパマイゆふ、岸玲子；GC / MSによるヒトの原中2・エチルヘキサノールの定量間

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総括研究報告書

- フタル酸ジエステル類評価としての無水フタル酸可塑剤・難燃剤曝露と小児の健康影響－. 第86回日本産業衛生学会. 松山. (2013.05.14-17)
14. 池野多美子, 小林澄貴, 喜多歳子, 中島そのみ, 岸玲子; 8歳の注意欠損多動性障害に関する要因--環境と子どもの健康に関する北海道スタディ-. 第72回日本公衆衛生学会総会. 津. (2013.10.23-25)
15. 喜多歳子, 池野多美子, 中島そのみ, 小林澄貴, 岸玲子; 親の世帯収入と48か月児の知的能力（K-ABC）との関連；環境と子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）の結果. 第72回日本公衆衛生学会総会. 津. (2013.10.23-25)
16. 岡田恵美子, 榎野いく子, 佐々木成子, 宮下ちひろ, 山本潤, 伊藤陽一, 松浦英幸, 松村徹, 玉腰暁子, 岸玲子; 有機フッ素化合物の胎児期曝露による1歳までのアレルギー症状との関連. 第83回日本衛生学会学術総会. 金沢. (2013.03.24-26)
17. 宮下ちひろ, 佐々木成子, 池野多美子, 岡田恵美子, 小林澄貴, 榎野いく子, 伊藤久美子, 梶原淳睦, 戸高尊, 岸玲子; 母体血PCB・dioxinと臍帯血IgEとの関連 - 環境と子どもの健康北海道スタディ-. 第83回日本衛生学会学術総会. 金沢. (2013.03.24-26)
18. 坪井樹, 河合俊夫, 荒木敦子, アイツバマイゆふ, 岸玲子; フタル酸エステル尿中代謝物の同時測定方法の開発：可塑剤、難燃剤の小児の健康影響 1. 第83回日本衛生学会学術総会. 金沢. (2013.03.24-26)
19. 河合俊夫, 坪井樹, 荒木敦子, アイツバマイゆふ, 岸玲子; フタル酸ジエステル類評価としての無水フタル酸：可塑剤、難燃剤の小児への健康影響 2. 第83回日本衛生学会学術総会. 金沢. (2013.03.24-26)
20. アイツバマイゆふ, 荒木敦子, 坪井樹, 河合俊夫, 多島秀司, 叢石, 吉岡英治, 玉腰暁子, 岸玲子; アレルギーとダスト中フタル酸エステル濃度：可塑剤、難燃剤の小児の健康影響 3. 第83回日本衛生学会学術総会. 金沢. (2013.03.24-26)
21. 荒木敦子, 坪井樹, 河合俊夫, アイツバマイゆふ, 多島秀司, 叢石, 鷓川重和, 吉岡英治, 岸玲子; 児童の尿中フタル酸代謝物濃度とアレルギー：可塑剤、難燃剤の小児への健康影響 4. 第83回日本衛生学会学術総会. 金沢. (2013.03.24-26)
22. 佐々木成子, 宮下ちひろ, 松村徹, 山本潤, 榎野いく子, 岡田恵美子, 小林澄貴, 伊藤久美子, 岸玲子; 妊娠期のビスフェノールA曝露による母体血、臍帯血中濃度の検討. 第83回日本衛生学会学術総会. 金沢. (2013.03.24-26)
23. 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; 環境化学物資の胎児期曝露が臍帯血IGF2DNA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)
24. 中島そのみ, 佐々木成子, 加藤静恵, 中村裕二, 仙石泰仁, 梶原淳睦, 池野多美子, 西條泰明, 岸玲子; 母体血中ダイオキシン類と6ヶ月・18ヶ月児の精神・運動発達への影響. 第83回日本衛生学会学術総会. 金沢. (2013.03.24-26)

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総括研究報告書

25. 榎野いく子, 佐々木成子, 岡田恵美子,
宮下ちひろ, 山本潤, 松浦英幸, 伊藤陽
一, 松村徹, 玉腰暁子, 岸玲子; 有機フ
ッ素化合物（11種類）の胎児期曝露に
よる出生児体格への影響. 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

有機フッ素化合物の胎児期曝露が乳幼児期のアレルギー症状に及ぼす影響

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 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 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
研究分担者 宮下 ちひろ 北海道大学環境健康科学研究教育センター 特任助教
研究分担者 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
生物有機化学研究室 教授
研究分担者 松村 徹 いであ株式会社環境創造研究所 取締役・環境創造研究所副所長

研究要旨

有機フッ素化合物（PFCs）は、難分解性、高残留性の環境化学物質である。妊娠中の曝露により、胎児へ移行することが報告されているが、児の免疫アレルギーへの影響は、臍帯血 IgE と正または負の関連を示した、あるいはアレルギー疾患・感染症との関連はなかったなど、まだ一致した見解が得られていない。また、PFOS、PFOA 以外の PFCs についてはほとんど報告がない。そこで本研究では、胎児期の PFCs 曝露と 2 歳までのアレルギー症状発症との関連を検討した。2003 年～2009 年に登録した母児 2,062 名について、独立変数を母体血中 PFCs 濃度、従属変数を児のアレルギー症状（湿疹・喘鳴）とし、交絡因子で調整後、多重ロジスティック回帰分析を行った。その結果、女児のみにおいて母体血中 PFUnDA、PFTrDA 濃度は高いほど 2 歳児の湿疹の発症リスクが量反的に低下することを示した。長鎖の PFCs 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 PFCs 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 PFCs 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。

研究協力者

岡田 恵美子、伊藤 久美子
（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）
榎野 いく子
（東京大学大学院医学系研究科
公共健康医学専攻疫学保健学分野）
山本 潤
（いであ株式会社環境創造研究所）

面特性を有する環境化学物質である。界面活性剤、難燃剤、接着剤、半導体など幅広い分野で汎用されている。末端にもつスルホン酸またはカルボン酸によって分類され、炭素鎖の長さにより物質が異なる。生物学的半減期は PFOS 5.4 年、PFOA 3.8 年と長く（Olsen et al. 2009）、難分解性・高残留性の物質であることから体内蓄積によるヒトへの健康影響が危惧される。

A. 研究目的

有機フッ素化合物（PFCs）は、絶縁性、撥水撥油性をはじめとする優れた表

動物実験では、PFOS、PFOA 曝露が免疫系に与える影響として免疫抑制、抗体産生抑制、胸腺重量の減少、リンパ重

量の減少が認められた（Peden-Adams et al. 2007; Dewitt et al. 2009）。ヒトでは PFOS、PFOA が血液胎盤関門を通過し胎児へ移行することが報告された（Inoue et al. 2004; Midasch et al. 2007; Monroy et al. 2008）。胎児期は成人と比較して環境化学物質に対する感受性が高く、免疫機能は胎児期および出生後初期の発達段階で決定されることが示唆されていることから（Luster et al. 2003）、環境要因の一つである PFCs の胎児期曝露影響を評価する必要がある。

児の免疫アレルギーへの影響は、PFOS、PFOA 濃度と臍帯血 IgE との間に正または負の関連を示した、アレルギー疾患・感染症との関連はなかったなど（Okada et al. 2012; Wang et al. 2011; Fei et al. 2010）、まだ一致した見解が得られていない。

これまで先行研究では主に PFOS、PFOA 曝露の影響について検討されてきたが、PFCs は PFOS、PFOA 以外にも炭素鎖が長い PFNA、PFDA、PFUnDA、PFTrDA など多く存在する。長鎖の PFCs は生物濃縮性が高く半減期が長いことが示唆されている（Martin et al. 2003; Ohmori et al. 2003）。さらに、近年、ヒト血液中 PFNA、PFDA 濃度は経年して上昇していることが報告され（Calafat et al. 2007; Glynn et al. 2012; Harada et al. 2011）、「環境と子どもの健康に関する北海道スタディ」においても、妊婦の PFOS、PFOA 濃度は経年して減少した一方で、PFNA、PFDA 濃度は上昇したことが明らかとなった（Okada et al. 2013）。したがって、PFOS、PFOA だけではなく、その他の PFCs、特に長鎖の PFCs が免疫アレルギーに及ぼす影響において疫学的に評価する必要があるが、これらの曝露による報告はほとんどない。

そこで本研究では、一般生活環境レベ

ルでの PFCs 11 物質の胎児期曝露が及ぼす 2 歳までのアレルギー症状発症への影響を検討することを目的とした。

B . 研究方法

2003 年から前向き出生コーホート研究「環境と子どもの健康に関する北海道スタディ」を実施中である。2003 年～2009 年に参加登録した母児 17,869 名のうちベースライン調査票、医療診療録、妊娠後期の血液検体があるもの 12,849 名から死産・流産、先天異常、多胎を除外した。さらに、児の 4 ヶ月・1 歳・2 歳時の調査票があるもの 6,335 名から各年 300 名をランダム抽出し（2009 年のみ 295 名）、2,095 名を PFCs 測定対象者とした。そのうち本研究では、先天異常、検体採取が妊娠 26 週未満であったものを除外した 2,063 名を解析対象者とした。

ベースライン時の自記式調査票から妊婦とその配偶者の既往歴、教育歴、世帯収入、喫煙状況などの属性を調査し、医療診療録から児の性別、出生時体重、出産経歴などを収集、2 歳時の調査票から児の健康状態、母乳栄養状況などを親の回答により収集した。

アウトカムは、2 歳時の調査票から国際的に疫学研究で用いられている ISACC を基準とし、湿疹、喘鳴、アレルギー性鼻結膜炎を評価した。本研究では、これら 3 つの症状のうちいずれか 1 つがある場合を「アレルギー症状あり」と定義した。

曝露評価は、母体血中の PFCs 11 物質（PFHxA、PFHpA、PFOA、PFNA、PFDA、PFUnDA、PFDoDA、PFTrDA、PFTeDA、PFHxS、PFOS）とした。妊娠 28～31 週の母体血血漿 0.5 mL の前処理操作を行い、超高速液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析装置（UPLC-MS/MS）を用いて一斉分析

を行った。

統計解析について、多変量解析の独立変数は、母体血中各 PFCs 濃度とし、四分位に分類した。なお、検出限界未満の場合は検出限界値の半値を用いた。従属変数は、児の 2 歳時のアレルギー症状・湿疹・喘鳴・アレルギー性鼻結膜炎発症の有無とし、母の年齢、教育歴、両親のアレルギー疾患既往歴、児の性別、母乳栄養期間、年上の兄弟の数、集団保育歴、2 歳時の受動喫煙曝露で調整後、多重ロジスティック回帰分析を行った。さらに、性別による影響の違いを検討するため、サブグループ解析および交互作用の検討を行った。統計解析には JMP 10 Statistical Discovery Software for Widows 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

対象者の属性を表 1 に示した。母親の年齢は 30.4 ± 4.5 歳、母親のアレルギー疾患既往歴があるものは 31.6% だった。男児は 1,044 名 (50.6%)、女児は 1,018 名 (49.4%) だった。また、2 歳時の受動喫煙曝露があるものは 45.9% だった。

PFCs の検出率は、PFOS、PFOA、PFNA、PFDA、PFUnDA、PFDoDA、PFTrDA が 90% 以上、PFHxS が 82% だった。PFHxA は 47%、PFHpA は 35%、

PFTeDA は 13% の検出率であり、50% 未満の検出率だったため、これらの物質はその後の解析から除外した。母体血中 PFCs 濃度は、中央値 PFOS 5.04 ng/mL; PFOA 2.01 ng/mL; PFUnDA 1.40 ng/mL; PFNA 1.15 ng/mL の順であり、PFCs は 11.9 ng/mL だった (表 2)。また、PFOS が外れ値 (312 ng/mL) であった 1 名を除外し、最終解析対象者を 2,062 名とした。

2 歳のアレルギー症状の発症割合は、湿疹 (17.8%)、喘鳴 (19.3%)、アレルギー性鼻結膜炎 (4.4%)、これらいずれかの症状があるアレルギー症状 (34.6%) だった (表 3)。アレルギー症状と湿疹は男児の割合が有意に高かった。アレルギー性鼻結膜炎は、ケースの数が少なく十分な検出力が得られないことから、症状別の解析は行わなかった。

母体血中 PFCs 濃度と 2 歳のアレルギー症状発症との関連についてロジスティック回帰を行った結果を表 4 に示した。男児と女児を合わせた解析において、Crude モデルの PFOS、PFOA、PFNA、PFDA、PFTrDA で濃度が高い群ほどアレルギー症状の発症 OR が低下し、有意な量反応関係を認めたが、交絡因子を調整すると、PFOS、PFDA では有意差は消失した。PFTrDA は、第 1 四分位に対する第 2 から第 4 四分位の調整 OR は 0.71 (95%CI: 0.55、0.92) から 0.73 (95%CI: 0.56、0.94) であり、量反应的に低下した (p for trend = 0.032)。児の性別でサブグループ解析をした結果、女児において PFOA、PFNA、PFDA、PFUnDA、PFDoDA、PFTrDA の濃度が高いほどアレルギー症状発症の調整 OR が低下する傾向を示した。第 1 四分位に対する第 2 から第 4 四分位の調整 OR は、PFNA: 0.59 (95%CI: 0.40、0.88) から 0.55 (95%CI: 0.36、0.82) (p for trend = 0.010)、PFUnDA: 0.65

（95%CI: 0.44、0.96）から 0.58（95%CI: 0.39、0.86）（ p for trend = 0.004）、PFDoDA: 0.45（95%CI: 0.30、0.67）から 0.58（95%CI: 0.39、0.85）（ p for trend = 0.030）、PFTrDA: 0.51（95%CI: 0.34、0.75）から 0.51（95%CI: 0.35、0.75）（ p for trend = 0.001）だった。男児では PFCs 8 物質の濃度とアレルギー症状発症との間に一定の傾向をもつ有意な関連は認めなかった。各 PFCs と性別の交互作用の検討の結果、PFNA は男児と比較して女児でアレルギー症状発症リスクが 0.92 倍（95%CI: 0.85、1.00）（ p = 0.050）低く、PFUnDA は 0.90 倍（95%CI: 0.83、0.98）（ p = 0.018）、PFTrDA は 0.90 倍（95%CI: 0.83、0.98）（ p = 0.014）低かった。

表 5 に、母体血中 PFCs 濃度と 2 歳の湿疹発症との関連についてロジスティック回帰を行った結果に示した。湿疹の発症 OR は、男児と女児を合わせた解析において、PFTrDA の第 1 四分位に対する第 2 から第 4 四分位の Crude OR は 0.71（95%CI: 0.52、0.97）から 0.64（95%CI: 0.47、0.88）であり、量反応的に低下した（ p for trend = 0.008）。調整 OR は 0.69（95%CI: 0.50、0.94）から 0.62（95%CI: 0.45、0.86）（ p for trend = 0.005）と有意な結果だった。児の性別でサブグループ解析をした結果、女児において PFTrDA の第 1 四分位に対する第 2 から第 4 四分位の調整 OR は、0.60（95%CI: 0.37、0.95）から 0.39（95%CI: 0.23、0.64）（ p for trend = <0.001）だった。また、女児の PFUnDA の調整 OR は、0.52（95%CI: 0.31、0.85）から 0.50（95%CI: 0.30、0.81）（ p for trend = 0.016）だった。一方、男児では PFCs 8 物質の濃度と湿疹発症との間に有意な関連は認められなかった。各 PFCs と性別の交互作用の検討の結果、PFUnDA は男児と比較して女児で湿疹

発症リスクが 0.89 倍（95%CI: 0.80、0.99）（ p = 0.033）低く、PFTrDA は 0.88（95%CI: 0.79、0.97）（ p = 0.014）低かった。

喘鳴に関しては、母体血中 PFCs 8 物質の濃度との関連は認められず、児の性別で層化しても結果に変化はなかった（表なし）。

D. 考察

本研究は、一般環境レベルの PFCs 胎児期曝露が 24 ヶ月齢児のアレルギー症状（湿疹、喘鳴、アレルギー性鼻結膜炎のいずれか一つ以上）の発症リスクを低下させる結果を示した。札幌（小規模）コホート研究では、女児のみで PFOA 濃度が高い母親で出生児の臍帯血 IgE 濃度が低いことを報告した（Okada et al. 2012）。高濃度の PFOA に曝露された地域住民を対象としたアメリカの横断研究 C8 Health Project では、女性の PFOA 濃度が高いほど IgE 濃度が低かった（Fletcher et al. 2009）。また、PFCs 曝露とワクチン抗体価との関連も報告されている。フェロー諸島の前向きコホート研究では、母親の PFOS 濃度と 5 歳児のジフテリア抗体価が負の相関を示し、5 歳児の PFCs 濃度と 5 歳・7 歳児の破傷風およびジフテリアワクチン抗体価が負の相関を示した（Grandjean et al. 2012）。ノルウェーの前向きコホート研究では、母体血中 PFOA、PFNA、PFHxS、PFOS 濃度が高いほど 3 歳児の麻疹ワクチン抗体価が減少した（Granum et al. 2013）。これらの先行研究は、PFOA、PFOS 曝露が液性免疫機能に及ぼす負の影響を認めた動物実験の証拠によって支持されている（Keil et al. 2008; Peden-Adams et al. 2007）。本研究の結果も同様に、PFCs 曝露による免疫抑制や IgM 抗体産生抑制の結果に基づく可能性があるが、免疫毒性作用

はPFCsの物質のタイプ、また評価されるエンドポイントに依存して変化することが示唆されている（Dewitt et al. 2012）。胎児期は成人と比較してPFCsなどの環境化学物質に対する感受性が高く、免疫機能は胎児期および出生後初期の発達段階で決定される（Luster et al. 2003）。胎児がPFCsに曝露されたことによる抗体価の減少は免疫抑制に繋がる可能性が示唆されたことから（Granum et al. 2013）、本研究では胎児期のPFCs曝露が出生後の児の免疫発達を抑制した結果として、アレルギー症状の発症リスクが低下した可能性が考えられる。このような機序に基づいてアレルギー症状発症が低下したと仮定すれば、免疫機能不全、抗原受容体の変化、免疫細胞動員の低下を引き起こす可能性が示唆された。

本研究において、胎児期のPFCs曝露による児のアレルギー症状発症リスクの低下は、女児で顕著な関連を認めた一方で男児では関連が認められず、性差を示した。同じ対象集団（「環境と子どもの健康に関する北海道スタディ」）において、女児のみで母体血中PFUnDA、PFTrDA濃度と出生時体重との間に負の関連が認められた（Kashino et al. 2013）。韓国の先行研究では、PFTrDA濃度が高いとT4、TSHレベルが低く、特に女性でその関連が顕著であったことが報告されている（Ji et al. 2012）。また中国の先行研究では、他のPFCsと比較して臍帯血中PFTrDA濃度が母体血中濃度よりも高いことが示された（Liu et al. 2011）。PFCsは胎盤関門を通過して母親から児へ移行するが、PFTrDAは特に女児において移行率が高い可能性がある。したがって、胎児期のPFUnDA、PFTrDA曝露は女児に特異的に作用しアレルギー症状の発症に対して感受性が高い可能性が考えられる。

PFUnDA（C11）、PFDoDA（C12）、

PFTrDA（C13）のような長鎖のPFCsの母体血中濃度は、日本の他地域よりは低い濃度だったものの諸外国よりも比較的高い濃度だった（Harada et al. 2011; Gützkow et al. 2012）。PFNA（C9）、PFUnDA（C11）、PFTrDA（C13）は、フッ素テロマーオレフィンの合成物として主に日本で製造されていることから、これらのPFCsの産業応用が東アジア特有に認められる血中への蓄積に起因したかもしれない（Prevedouros et al. 2006）。また、これらの長鎖のPFCsはPFOS（C8）、PFOA（C8）よりも低濃度であったにも関わらず、湿疹発症リスクを低下させた。PFCsの炭素鎖が長いほど生体内への蓄積性が高く（Martin et al. 2003）、半減期が長いことが示唆されている（Ohmori et al. 2003）。さらにPFCsの毒性は炭素鎖の長さや官能基の性質に関連することから（Wolf et al. 2008）、本研究において炭素鎖13の長さをもつPFTrDAの胎児期曝露が特異的に児の湿疹発症の低下に影響した可能性が考えられる。しかし、PFTrDAが生体に及ぼす影響に関しては、動物実験を含めて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。長鎖のPFCs、特にPFTrDAのようなPFDAよりも長い炭素鎖をもつPFCsの影響を報告した研究はほとんどないことから、日本を含めた諸外国の一般集団を対象に長鎖のPFCs曝露の影響を詳細に検討し、性差について明らかにする必要がある。

先行研究で主に報告されてきたPFOS、PFOAについて本研究でも検討したところ、出生から24ヶ月齢の湿疹および喘鳴発症との関連を認めなかった。これは、PFOS、PFOAの胎児期曝露と児のアトピー性皮膚炎、湿疹、喘鳴との関連を検討した先行研究と一致した結果であった（Wang et al. 2011; Okada et al. 2012; Granum et al. 2013）。

本研究の限界として、児の湿疹や喘鳴を自記式調査票に基づき評価したため、アウトカムに正確に反映できず、誤分類が生じた可能性が挙げられる。また、免疫毒性を示す IgE レベルなどのバイオマーカーを測定しなかったことから、客観的なアウトカム指標を得られていない。しかし、国際的に標準化された ISAAC の自記式調査票を用いてアレルギー症状の発症を定義したことから、本研究のアウトカムは妥当に評価されているものと考えられる。さらに、PFCs の主な曝露源は食品、飲料水、食品パッケージ、ハウスダストなどがあるが（Fromme et al. 2009）、児の出生後から 24 ヶ月齢までの PFCs の曝露を評価していない。母乳中にも PFCs が存在することが明らかにされており、乳幼児において母乳を介した PFCs 曝露が危惧されていることから（Fujii et al. 2012; 中田ら 2009）、本研究では統計解析において母乳栄養期間を調整することで交絡因子の影響を除外した。本研究では出生後の児の食生活や生活環境における PFCs の曝露は母乳栄養以外を調査していないことから予測困難であり、結果に影響を及ぼしている可能性も考えられる。本研究の強みは、北海道全域を網羅した大規模な一般集団を対象とし、一般環境レベルの PFCs 曝露の影響を前向きに評価したことである。

E . 結論

結論として、検討した PFCs 8 物質のうち、女児のみにおいて胎児期の PFUnDA、PFTrDA 曝露が乳幼児期の児の湿疹の発症リスクを低下させることを示した。PFCs の胎児期曝露は児のアレルギー症状に対して、性特異的な影響を及ぼす可能性がある。PFTrDA を含む長鎖の PFCs の免疫毒性および性差についてさらなる検討が必要である。

F . 研究発表

1. 論文発表
 - 1) Okada E, Sasaki S, Kashino I, Matsuura H, Miyashita C, Kobayashi S, Itoh K, Ikeno T, Tamakoshi A, Kishi R. Prenatal exposure to perfluoroalkyl acids and allergic diseases in early childhood. *Environment International*. 2014, 65C:127-134.
 - 2) Okada E, Kashino I, Matsuura H, Sasaki S, Miyashita C, Yamamoto J, Ikeno T, Ito M Y, Matsumura T, Tamakoshi A, Kishi R. Temporal trends of perfluoroalkyl acids in plasma samples of pregnant women in Hokkaido, Japan, 2003–2011. *Environment International*. 2013, 60:89-96.
2. 学会発表
 - 1) Okada E, Kashino I, Sasaki S, Miyashita C, Ikeno T, Araki A, Yamamoto J, Matsuura H, Matsumura T, Tamakoshi A, Kishi R. Relationship between prenatal exposure to perfluorinated compounds and allergic diseases in infants. *Environment and Health - Bridging South, North, East and West Conference of ISEE, ISES and ISIAQ*. August 2013. Basel, Switzerland.

G . 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし

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

3.その他
なし

参考文献

- 1) Olsen, G.W., Burris, J.M., Ehresman, D.J., Froehlich, J.W., Seacat, A.M., Butenhoff, J.L., et al., 2007. Half-life of serum elimination of perfluorooctanesulfonate, perfluorohexanesulfonate, and perfluorooctanoate in retired fluorochemical production workers. *Environ. Health Perspect.* 115, 1298–1305.
- 2) Peden-Adams, M.M., EuDaly, J.G., Dabra, S., EuDaly, A., Heesemann, L., Smythe, J., et al., 2007. Suppression of humoral immunity following exposure to the perfluorinated insecticide sulfluramid. *J. Toxicol. Environ. Health A.* 70, 1130–1141.
- 3) Dewitt, J.C., Shnyra, A., Badr, M.Z., Loveless, S.E., Hoban, D., Frame, S.R., et al., 2009. Immunotoxicity of perfluorooctanoic acid and perfluorooctane sulfonate and the role of peroxisome proliferator-activated receptor alpha. *Crit. Rev. Toxicol.* 39, 76–94.
- 4) Inoue, K., Okada, F., Ito, R., Kato, S., Sasaki, S., Nakajima, S., et al., 2004. Perfluorooctane sulfonate (PFOS) and related perfluorinated compounds in human maternal and cord blood samples: assessment of PFOS exposure in a susceptible population during pregnancy. *Environ. Health Perspect.* 112, 1204–1207.
- 5) Midasch, O., Drexler, H., Hart, N., Beckmann, M.W., Angerer, J., 2007. Transplacental exposure of neonates to perfluorooctanesulfonate and perfluorooctanoate: a pilot study. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 80, 643–648.
- 6) Monroy, R., Morrison, K., Teo, K., Atkinson, S., Kubwabo, C., Stewart, B., et al., 2008. Serum levels of perfluoroalkyl compounds in human maternal and umbilical cord blood samples. *Environ. Res.* 108, 56–62.
- 7) Luster, M.I., Dean, J.H., Germolec, D.R., 2003. Consensus workshop on methods to evaluate developmental immunotoxicity. *Environ. Health Perspect.* 111, 579–583.
- 8) Okada E, Sasaki S, Saijo Y, Washino N, Miyashita C, Kobayashi S, et al. Prenatal exposure to perfluorinated chemicals and relationship with allergies and infectious diseases in infants. *Environ Res* 2012;112:118–125.
- 9) Wang IJ, Hsieh WS, Chen CY, Fletcher T, Lien GW, Chiang HL. et al. The effect of prenatal perfluorinated chemicals exposures on pediatric atopy. *Environ Res.* 2011;111:785–791.
- 10) Fei, C., McLaughlin, J.K.,

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

- Lipworth, L., Olsen, J., 2010. Prenatal exposure to PFOA and PFOS and risk of hospitalization for infectious diseases in early childhood. *Environ. Res.* 110, 773–777.
- 11) Martin JW, Mabury SA, Solomon KR, Muir DCG. Bioconcentration and tissue distribution of perfluorinated acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environ Toxicol Chem* 2003;22:196–204.
- 12) Ohmori K, Kudo N, Katayama K, Kawashima Y. Comparison of the toxicokinetics between perfluorocarboxylic acids with different carbon chain length. *Toxicology* 2003;184:135–140.
- 13) Calafat AM, Wong LY, Kuklennyik Z, Reidy JA, Needham LL. Polyfluoroalkyl chemicals in the U.S. population: data from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2003–2004 and comparisons with NHANES 1999–2000. *Environ Health Perspect* 2007;115:1596–1602.
- 14) Glynn A, Berger U, Bignert A, Ullah S, Aune M, Lignell S, et al. Perfluorinated alkyl acids in blood serum from primiparous women in Sweden: serial sampling during pregnancy and nursing, and temporal trends 1996–2010. *Environ Sci Technol* 2012;46:9071–9079.
- 15) Harada KH, Hitomi T, Niisoe T, Takanaka K, Kamiyama S, Watanabe T, et al. Odd-numbered perfluorocarboxylates predominate over perfluorooctanoic acid in serum samples from Japan, Korea and Vietnam. *Environ Int* 2011;37:1183–1189.
- 16) Okada E, Kashino I, Matsuura H, Sasaki S, Miyashita C, Yamamoto J, et al. Temporal trends of perfluoroalkyl acids in plasma samples of pregnant women in Hokkaido, Japan, 2003–2011. *Environment International*. 2013;60:89–96.
- 17) Fletcher T, Steenland K, Savitz D, Status Report: PFOA and immune biomarkers in adults exposed to PFOA in drinking water in the mid Ohio valley 2009: http://www.c8sciencepanel.org/pdfs/Status_Report_C8_and_Immune_markers_March2009.pdf
- 18) Grandjean P, Andersen EW, Budtz-Jørgensen E, Nielsen F, Mølbak K, Weihe P, et al. Serum vaccine antibody concentrations in children exposed to perfluorinated compounds. *JAMA* 2012;307:391–7.
- 19) Granum B, Haug LS, Namork E, Stølevik SB, Thomsen C, Aaberge IS, et al. Pre-natal exposure to perfluoroalkyl substances may be associated with altered vaccine antibody levels and immune-related health outcomes in early childhood. *J Immunotoxicol* 2013; doi:10.3109/1547691X.2012.75558

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

- 0 [Online 25 January 2013].
- 20) Keil DE, Mehlmann T, Butterworth L, Peden-Adams MM. Gestational exposure to perfluorooctane sulfonate suppresses immune function in B6C3F1 mice. *Toxicol Sci* 2008;103:77–85.
- 21) DeWitt JC, Peden-Adams MM, Keller JM, Germolec DR. Immunotoxicity of perfluorinated compounds: recent developments. *Toxicol Pathol* 2012;40:300–11.
- 22) Kashino I, Okada E, Sasaki S, Miyashita C, Ikeno T, Araki A, et al. Prenatal Exposure to 11 Perfluorinated Compounds (PFCs) and infant weight in the Hokkaido Study on Environmental and Children's Health. *Environment and Health - Bridging South, North, East and West Conference of ISEE, ISES and ISIAQ*. 19–23 August 2013, Basel, Switzerland. 151.
<http://ehp.niehs.nih.gov/ehbasel13/wp-content/uploads/2013/09/EHB13-Abstracts.pdf>
- 23) Ji K, Kim S, Kho Y, Paek D, Sakong J, Ha J, et al. Serum concentrations of major perfluorinated compounds among the general population in Korea: dietary sources and potential impact on thyroid hormones. *Environ Int* 2012;45:78–85.
- 24) Liu J, Li J, Liu Y, Chan HM, Zhao Y, Cai Z, et al. Comparison on gestation and lactation exposure of perfluorinated compounds for newborns. *Environ Int* 2011;37:1206–12.
- 25) Gützkow KB, Haug LS, Thomsen C, Sabaredzovic A, Becher G, Brunborg G. Placental transfer of perfluorinated compounds is selective—a Norwegian Mother and Child sub-cohort study. *Int J Hyg Environ Health*. 2012;215:216-9.
- 26) Prevedouros K, Cousins IT, Buck RC, Korzeniowski SH. Sources, fate and transport of perfluorocarboxylates. *Environ Sci Technol* 2006;40:32–44.
- 27) Wolf CJ, Takacs ML, Schmid JE, Lau C, Abbott BD. Activation of mouse and human peroxisome proliferator-activated receptor alpha by perfluoroalkyl acids of different functional groups and chain lengths. *Toxicol Sci* 2008;106:162–171.
- 28) Fromme H, Tittlemier SA, Völkel W, Wilhelm M, Twardella D. Perfluorinated compounds—exposure assessment for the general population in Western countries. *Int J Hyg Environ Health* 2009; 212:239–70.
- 29) Fujii Y, Yan J, Harada KH, Hitomi T, Yang H, Wang P, et al. Levels and profiles of long-chain perfluorinated carboxylic acids in human breast milk and infant formulas in East Asia. *Chemosphere* 2012;86:315–21.
- 30) 中田彩子, 斉藤貢一, 岩崎雄介, 伊藤理恵, 岸玲子, 中澤祐之. 乳汁中

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

ペルフルオロ物質の定量および母体
血からの移行性．分析化学．
2009;58:653-9.

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

表 1 . 対象者の属性 (n=2,062)

		No.	(%)
Parental characteristics			
Maternal age (years) (mean ± SD)		30.4 ± 4.5	
Annual household income (million yen) ^a	<5	1,155	(61.8)
	≥5	640	(34.5)
Maternal educational level (years)	<13	911	(44.2)
	≥13	1,151	(55.8)
Parity (times)	0	944	(45.8)
	≥1	1,118	(54.2)
Maternal smoking status during pregnancy	Nonsmoker	1,912	(92.7)
	Smoker	150	(7.3)
Maternal allergic history	Yes	652	(31.6)
Paternal allergic history	Yes	385	(18.7)
Infant characteristics			
Gender	Male	1,044	(50.6)
	Female	1,018	(49.4)
Older siblings (number)	0	944	(45.8)
	≥1	1,118	(54.2)
Breast-feeding period (months) ^a	<6	420	(20.4)
	≥6	1,640	(79.6)
Day care attendance at 24 months	Yes	583	(28.3)
ETS exposure at 24 months ^b	Yes	947	(45.9)

^aMissing data: annual household income (267), breast-feeding period (2).

^bETS: environmental tobacco smoke.

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

表 2 . 母体血血漿中 PFCs 11 物質の濃度 (n=2,062)

Compound (carbon chain length)	MDL ^a	Detection		Concentration (ng/mL)						
		No.	(%)	Geometric mean	Mean	Minimum	25 th	50 th	75 th	Maximum
PFHxS (C6)	0.2	1,688	(81.9)	0.275	0.324	<0.2	0.222	0.296	0.395	3.39
PFHxA (C6)	0.1	970	(47.0)	<0.1	0.104	<0.1	<0.1	<0.1	0.146	0.694
PFHpA (C7)	0.1	719	(34.9)	<0.1	0.096	<0.1	<0.1	<0.1	0.125	1.02
PFOS (C8)	0.3	2,062	(100)	5.01	5.56	1.00	3.71	5.02	6.83	30.3
PFOA (C8)	0.2	2,061	(100.0)	2.08	2.67	<0.2	1.31	2.01	3.26	24.9
PFNA (C9)	0.3	2,059	(99.9)	1.19	1.36	<0.3	0.873	1.15	1.57	13.2
PFDA (C10)	0.1	2,049	(99.4)	0.501	0.563	<0.1	0.382	0.510	0.684	2.43
PFUnDA (C11)	0.1	2,055	(99.7)	1.34	1.50	<0.1	1.02	1.40	1.87	5.89
PFDoDA (C12)	0.1	1,857	(90.1)	0.168	0.188	<0.1	0.138	0.182	0.230	0.729
PFTTrDA (C13)	0.1	2,012	(97.6)	0.312	0.347	<0.1	0.244	0.329	0.424	1.33
PFTeDA (C14)	0.1	271	(13.1)	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.303

^aMDL: method detection limit.

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

表 3 . 2 歳のアレルギー症状の発症数と割合

Symptoms	Total		Male infants		Female infants		<i>p</i> ^a
	(n = 2,062)		(n = 1,044)		(n = 1,018)		
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	
Allergic diseases ^b	714	(34.6)	391	(37.5)	323	(31.7)	0.006
Eczema	367	(17.8)	212	(20.3)	155	(15.2)	0.003
Wheezing	397	(19.3)	212	(20.3)	185	(18.2)	0.241
Allergic rhinoconjunctivitis symptoms	91	(4.4)	51	(4.9)	40	(3.9)	0.335

^aFisher's exact test.

^bAllergic diseases” indicates cases with at least one of the listed symptoms.

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

PFDA (C10)															
Quartile 1	187	1.00		1.00		96	1.00		1.00		91	1.00		1.00	
Quartile 2	197	1.10	(0.85, 1.42)	1.12	(0.86, 1.44)	107	1.30	(0.91, 1.85)	1.31	(0.92, 1.89)	90	0.92	(0.64, 1.33)	0.94	(0.65, 1.37)
Quartile 3	166	0.84	(0.65, 1.09)	0.84	(0.64, 1.09)	92	1.01	(0.71, 1.44)	0.98	(0.68, 1.41)	74	0.69	(0.48, 1.01)	0.73	(0.50, 1.08)
Quartile 4	164	0.83	(0.64, 1.07)	0.89	(0.69, 1.17)	96	1.11	(0.78, 1.58)	1.13	(0.78, 1.64)	68	0.60	(0.41, 0.88)	0.70	(0.47, 1.04)
p for trend		0.044		0.149			0.915		0.894			0.003		0.039	
Interaction^a		0.91	(0.84, 0.99)	0.92	(0.85, 1.00)		-		-			-		-	
Interaction p-value		0.026		0.060											
PFUnDA (C11)															
Quartile 1	190	1.00		1.00		93	1.00		1.00		97	1.00		1.00	
Quartile 2	184	0.95	(0.74, 1.22)	0.92	(0.71, 1.19)	108	1.23	(0.87, 1.75)	1.22	(0.85, 1.74)	76	0.70	(0.48, 1.02)	0.65	(0.44, 0.96)
Quartile 3	169	0.83	(0.64, 1.08)	0.80	(0.62, 1.04)	90	1.11	(0.77, 1.59)	1.11	(0.76, 1.62)	79	0.63	(0.44, 0.91)	0.57	(0.39, 0.83)
Quartile 4	171	0.85	(0.66, 1.10)	0.82	(0.63, 1.07)	100	1.15	(0.81, 1.64)	1.13	(0.79, 1.63)	71	0.61	(0.42, 0.89)	0.58	(0.39, 0.86)
p for trend		0.136		0.092			0.594		0.642			0.008		0.004	
Interaction^a		0.91	(0.84, 0.99)	0.90	(0.83, 0.98)		-		-			-		-	
Interaction p-value		0.020		0.018											
PFDoDA (C12)															
Quartile 1	202	1.00		1.00		100	1.00		1.00		102	1.00		1.00	
Quartile 2	158	0.69	(0.53, 0.89)	0.66	(0.51, 0.86)	99	0.88	(0.62, 1.25)	0.89	(0.62, 1.27)	59	0.51	(0.34, 0.74)	0.45	(0.30, 0.67)
Quartile 3	191	0.91	(0.71, 1.17)	0.87	(0.67, 1.13)	100	1.08	(0.76, 1.54)	1.10	(0.76, 1.58)	91	0.77	(0.54, 1.10)	0.67	(0.46, 0.97)
Quartile 4	163	0.73	(0.56, 0.94)	0.74	(0.57, 0.96)	92	0.89	(0.62, 1.27)	0.93	(0.65, 1.34)	71	0.59	(0.41, 0.85)	0.58	(0.39, 0.85)
p for trend		0.101		0.132			0.818		0.996			0.038		0.030	
Interaction^a		0.95	(0.87, 1.03)	0.94	(0.86, 1.02)		-		-			-		-	
Interaction p-value		0.178		0.119											
PFTrDA (C13)															
Quartile 1	205	1.00		1.00		98	1.00		1.00		107	1.00		1.00	
Quartile 2	169	0.74	(0.57, 0.95)	0.71	(0.55, 0.92)	98	0.91	(0.64, 1.29)	0.93	(0.64, 1.33)	71	0.58	(0.40, 0.84)	0.51	(0.34, 0.75)
Quartile 3	174	0.77	(0.60, 0.99)	0.75	(0.58, 0.98)	100	0.95	(0.67, 1.35)	1.01	(0.70, 1.45)	74	0.61	(0.42, 0.88)	0.54	(0.37, 0.79)
Quartile 4	166	0.73	(0.56, 0.94)	0.73	(0.56, 0.94)	95	0.99	(0.69, 1.42)	1.01	(0.70, 1.46)	71	0.54	(0.37, 0.77)	0.51	(0.35, 0.75)
p for trend		0.026		0.032			0.989		0.834			0.002		0.001	
Interaction^a		0.91	(0.84, 0.99)	0.90	(0.83, 0.98)		-		-			-		-	
Interaction p-value		0.022		0.014											

^aInteraction terms that set the reference as male infants for each PFAA.

^bAdjusted for maternal age, maternal educational level, parental allergic history, breast-feeding period, number of siblings, day care attendance, and ETS exposure at 24 months in infancy.

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

表 5. 2 歳の湿疹発症における母体血中 PFCs 濃度の第 1 四分位に対する第 2 四分位から第 4 四分位のオッズ比

	Overall (n = 2,062)				Male infants (n = 1,044)				Female infants (n = 1,018)						
	n	Crude		Adjusted ^b		n	Crude		Adjusted ^b		n	Crude		Adjusted ^b	
		OR	(95% CI)	OR	(95% CI)		OR	(95% CI)	OR	(95% CI)		OR	(95% CI)	OR	(95% CI)
PFHxS (C6)															
Quartile 1	107	1.00		1.00		57	1.00		1.00		40	1.00		1.00	
Quartile 2	92	0.84	(0.61, 1.14)	0.82	(0.60, 1.13)	53	0.76	(0.50, 1.15)	0.75	(0.49, 1.13)	40	0.97	(0.60, 1.56)	0.90	(0.55, 1.47)
Quartile 3	80	0.70	(0.51, 0.97)	0.69	(0.50, 0.95)	50	0.55	(0.35, 0.84)	0.55	(0.35, 0.85)	40	0.96	(0.60, 1.55)	0.93	(0.57, 1.52)
Quartile 4	88	0.80	(0.58, 1.09)	0.79	(0.57, 1.08)	52	0.78	(0.52, 1.18)	0.78	(0.51, 1.19)	35	0.83	(0.50, 1.35)	0.82	(0.49, 1.36)
p for trend		0.085		0.080			0.107		0.118			0.473		0.497	
Interaction^a		1.03	(0.93, 1.14)	1.02	(0.92, 1.13)		-		-		-		-		
Interaction p-value		0.598		0.668											
PFOS (C8)															
Quartile 1	94	1.00		1.00		59	1.00		1.00		41	1.00		1.00	
Quartile 2	99	1.06	(0.77, 1.45)	1.06	(0.77, 1.46)	53	0.96	(0.62, 1.48)	1.00	(0.64, 1.55)	50	1.18	(0.75, 1.88)	1.13	(0.71, 1.81)
Quartile 3	90	0.94	(0.69, 1.30)	0.93	(0.67, 1.29)	56	1.32	(0.87, 1.99)	1.33	(0.87, 2.04)	27	0.58	(0.34, 0.97)	0.56	(0.32, 0.94)
Quartile 4	84	0.87	(0.63, 1.20)	0.89	(0.64, 1.24)	44	0.93	(0.60, 1.44)	0.98	(0.63, 1.53)	37	0.81	(0.50, 1.32)	0.84	(0.51, 1.38)
p for trend		0.311		0.372			0.833		0.706			0.093		0.124	
Interaction^a		0.93	(0.84, 1.03)	0.93	(0.83, 1.03)		-		-		-		-		
Interaction p-value		0.161		0.146											
PFOA (C8)															
Quartile 1	100	1.00		1.00		50	1.00		1.00		42	1.00		1.00	
Quartile 2	102	1.02	(0.75, 1.39)	1.03	(0.75, 1.41)	58	1.05	(0.70, 1.59)	1.11	(0.73, 1.69)	40	0.97	(0.60, 1.56)	0.98	(0.60, 1.58)
Quartile 3	90	0.88	(0.64, 1.20)	0.86	(0.62, 1.19)	50	0.76	(0.49, 1.17)	0.76	(0.49, 1.19)	43	1.03	(0.65, 1.65)	0.99	(0.61, 1.61)
Quartile 4	75	0.71	(0.51, 0.98)	0.72	(0.51, 1.00)	54	0.73	(0.47, 1.13)	0.75	(0.48, 1.18)	30	0.67	(0.40, 1.11)	0.65	(0.39, 1.09)
p for trend		0.025		0.032			0.071		0.092			0.184		0.144	
Interaction^a		1.01	(0.91, 1.12)	1.00	(0.90, 1.11)		-		-		-		-		
Interaction p-value		0.836		0.944											
PFNA (C9)															
Quartile 1	97	1.00		1.00		54	1.00		1.00		50	1.00		1.00	
Quartile 2	82	0.97	(0.70, 1.34)	0.97	(0.70, 1.35)	44	1.54	(1.00, 2.40)	1.56	(1.00, 2.44)	26	0.53	(0.31, 0.87)	0.55	(0.32, 0.91)
Quartile 3	107	0.97	(0.71, 1.31)	0.94	(0.69, 1.29)	56	1.20	(0.79, 1.83)	1.24	(0.81, 1.93)	46	0.77	(0.49, 1.19)	0.74	(0.47, 1.16)
Quartile 4	81	0.80	(0.58, 1.11)	0.77	(0.55, 1.08)	58	1.01	(0.65, 1.57)	0.96	(0.61, 1.52)	33	0.62	(0.38, 1.00)	0.63	(0.38, 1.02)
p for trend		0.224		0.145			0.756		0.643			0.127		0.122	
Interaction^a		0.95	(0.86, 1.05)	0.95	(0.86, 1.06)		-		-		-		-		
Interaction p-value		0.345		0.348											
PFDA (C10)															
Quartile 1	104	1.00		1.00		43	1.00		1.00		47	1.00		1.00	

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

Quartile 2	86	0.80	(0.58, 1.10)	0.80	(0.58, 1.10)	63	1.00	(0.66, 1.52)	1.03	(0.67, 1.59)	32	0.60	(0.37, 0.98)	0.60	(0.36, 0.97)	
Quartile 3	86	0.80	(0.58, 1.09)	0.78	(0.57, 1.08)	49	0.90	(0.59, 1.38)	0.92	(0.59, 1.43)	36	0.69	(0.43, 1.11)	0.68	(0.41, 1.09)	
Quartile 4	91	0.85	(0.62, 1.17)	0.85	(0.62, 1.17)	57	0.94	(0.62, 1.44)	0.93	(0.60, 1.44)	40	0.77	(0.48, 1.22)	0.78	(0.49, 1.25)	
p for trend		0.334		0.331			0.685		0.640			0.360		0.398		
Interaction^a		0.98	(0.88, 1.08)	0.99	(0.89, 1.09)		-		-			-		-		
Interaction p-value		0.674		0.793												
PFUnDA (C11)																
Quartile 1	100	1.00		1.00		47	1.00		1.00		51	1.00		1.00		
Quartile 2	88	0.85	(0.62, 1.17)	0.82	(0.60, 1.14)	57	1.21	(0.79, 1.85)	1.20	(0.78, 1.86)	30	0.54	(0.33, 0.88)	0.52	(0.31, 0.85)	
Quartile 3	93	0.91	(0.67, 1.25)	0.87	(0.63, 1.19)	51	1.16	(0.75, 1.80)	1.12	(0.71, 1.77)	43	0.72	(0.46, 1.12)	0.67	(0.42, 1.06)	
Quartile 4	86	0.83	(0.60, 1.14)	0.78	(0.56, 1.08)	57	1.18	(0.77, 1.81)	1.16	(0.75, 1.81)	31	0.54	(0.33, 0.88)	0.50	(0.30, 0.81)	
p for trend		0.341		0.185			0.526		0.607			0.036		0.016		
Interaction^a		0.90	(0.81, 1.00)	0.89	(0.80, 0.99)		-		-			-		-		
Interaction p-value		0.046		0.033												
PFDoDA (C12)																
Quartile 1	100	1.00		1.00		53	1.00		1.00		47	1.00		1.00		
Quartile 2	83	0.80	(0.58, 1.10)	0.77	(0.56, 1.07)	58	0.92	(0.60, 1.40)	0.91	(0.59, 1.41)	30	0.65	(0.39, 1.06)	0.62	(0.37, 1.02)	
Quartile 3	95	0.93	(0.68, 1.28)	0.90	(0.65, 1.23)	52	1.09	(0.71, 1.67)	1.07	(0.69, 1.66)	41	0.80	(0.50, 1.26)	0.71	(0.44, 1.14)	
Quartile 4	89	0.88	(0.64, 1.21)	0.87	(0.63, 1.19)	49	0.99	(0.64, 1.52)	1.00	(0.64, 1.55)	37	0.76	(0.47, 1.22)	0.73	(0.45, 1.18)	
p for trend		0.633		0.567			0.833		0.830			0.371		0.260		
Interaction^a		0.96	(0.87, 1.06)	0.96	(0.86, 1.06)		-		-			-		-		
Interaction p-value		0.418		0.401												
PFTrDA (C13)																
Quartile 1	114	1.00		1.00		44	1.00		1.00		56	1.00		1.00		
Quartile 2	87	0.71	(0.52, 0.97)	0.69	(0.50, 0.94)	57	0.77	(0.50, 1.17)	0.77	(0.49, 1.18)	37	0.65	(0.41, 1.02)	0.60	(0.37, 0.95)	
Quartile 3	87	0.71	(0.52, 0.97)	0.68	(0.50, 0.94)	60	0.83	(0.55, 1.27)	0.86	(0.56, 1.32)	34	0.58	(0.36, 0.92)	0.51	(0.32, 0.83)	
Quartile 4	79	0.64	(0.47, 0.88)	0.62	(0.45, 0.86)	51	0.87	(0.57, 1.34)	0.89	(0.58, 1.38)	28	0.44	(0.27, 0.71)	0.39	(0.23, 0.64)	
p for trend		0.008		0.005			0.627		0.744			0.001		< 0.001		
Interaction^a		0.89	(0.80, 0.99)	0.88	(0.79, 0.97)		-		-			-		-		
Interaction p-value		0.028		0.014												

^aInteraction terms that set the reference as male infants for each PFAA.

^bAdjusted for maternal age, maternal educational level, parental allergic history, infant gender, breast-feeding period, and ETS exposure at 24 months in infancy.

母体血中 PFCs 濃度と脂肪酸との関連

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 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

研究要旨

有機フッ素化合物（PFCs）は代謝されにくく生体内への蓄積が懸念されている化学物質で、現在までの疫学研究で胎児期曝露による出生時体重の減少などが報告されている。一方、脂肪酸は胎児の発育にとって重要であり、動物実験では妊娠中の PFOS・PFOA 曝露による血清中の TG およびコレステロールの減少が示され、PFCs 曝露による脂質量の減少、およびその胎児発育への負の影響が考えられる。そこで、本研究では、妊娠中の PFCs 曝露が母親の TG・脂肪酸組成に与える影響について検討した。2002 年～2005 年に登録した母児のうち、390 名について LC/MS/MS にて母体血中 PFOS・PFOA 濃度、GC-MS にて母体血中の 9 種類の脂肪酸濃度の測定を行った。独立変数を PFCs 濃度、従属変数を母体血中脂肪酸濃度とし、共変量で調整後、重回帰分析を行った。その結果、母体血中 PFOS 濃度（log10 変換）とトリグリセリド・パルミチン酸・パルミトオレイン酸・オレイン酸・リノール酸・ γ -リノレン酸・アラキドン酸・DHA との間にそれぞれ有意な負の相関が認められた（ $p < 0.05$ ）。PFOA 曝露については、パルミチン酸との間に弱い正の相関が認められたが、その他の脂肪酸との間には有意な関連は認められなかった。この結果から、妊娠中の PFOS 曝露による脂肪酸の減少が示唆され、またそれによる次世代への発育・発達への影響が懸念される。

研究分担者

宮下 ちひろ、池野 多美子、荒木 敦子
（北海道大学環境健康科学研究教育センター）

研究協力者

那須 民江（中部大学生命健康科学部
スポーツ保健医療学科）

Houman Goudarzi、伊藤 佐智子、小林 祥子
（北海道大学環境健康科学研究教育センター）

岡田 恵美子
（北海道大学大学院医学部研究科
予防医学講座公衆衛生学分野）

中澤 裕之、岩崎 雄介
（星薬科大学薬品分析化学教室）

にくく生体内への蓄積が懸念されている化学物質で、現在までの疫学研究で胎児期曝露による出生時体重の減少などが報告されており、本研究と同じ集団での研究でも、PFOS 曝露による女児の出生時体重の減少が報告された（Washino et al. 2009）。また、動物実験では、妊娠中のラットに PFOS を経口投与した結果、母体血清中のコレステロールに変化は見られなかったが、トリグリセリド（TG）の有意な減少が報告された（Thibodeaux et al. 2003）。胎児の発育には脂肪酸、特に必須脂肪酸と長鎖多価不飽和脂肪酸（LCPUFA）が重要であり、母の血中の TG と脂肪酸は胎児発育と相関を示すことが報告されている（Kitajima et al. 2001; Schaefer-Graf et al. 2008）。脂肪酸は母の血液中からリ

A．研究目的

有機フッ素化合物（PFCs）は代謝され

ポロタン受容体を介して胎児へと移行すると考えられており（Jones et al. 2007; Koletzko et al. 2007）母の脂肪酸の組成・量の変化は胎児発育へ影響を及ぼす。これらのことから、PFCs 曝露による脂質量の減少、およびその胎児発育への影響が懸念される。そこで、本研究では、出生コーホートの集団を用いて、妊娠中のPFCs 曝露が母親のTG・脂肪酸組成に与える影響について検討した。

B．研究方法

1．対象

札幌の1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・母体血中PFCs濃度・脂肪酸測定濃度がそろった母体から、妊娠高血圧症（n=11）糖尿病（n=1）胎児心疾患（n=1）双胎（n=7）早産（妊娠<37週）（n=43）を除外した390名を対象とした。

2．方法

母体血中トリグリセリドはTG-IE kits（Wako, Osaka, Japan）を用いて測定した。母体血中の9種類の脂肪酸（パルミチン酸・ステアリン酸・パルミトオレイン酸・オレイン酸・リノール酸・アラキドン酸・リノレン酸・EPA・DHA）はガスクロマトグラフ質量分析計（GC-MS）により測定した。母体血清中のPFOS・PFOA濃度はLC/MS/MS法で測定した。

統計解析は重回帰分析を行い、PFOS・PFOAおよび脂肪酸は \log_{10} 変換した値を使用した。また、測定下限値以下の場合は半値を代入した。

（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

妊婦390名からなる本集団における母体血中PFCs濃度は中央値でPFOS 5.3 ng/mL（1.4 to 16.2 ng/mL）、PFOA 1.3 ng/mL（0.25 to 5.3 ng/mL）であった。また、母体血でのTGの平均値は95.8 mg/dL（ \pm 48.9）、脂肪酸の平均値はパルミチン酸 2,064.7 μ g/mL（ \pm 819.7）、ステアリン酸 575.7 μ g/mL（ \pm 217.2）、パルミトオレイン酸 129.3 μ g/mL（ \pm 77.5）、オレイン酸 1,232.7 μ g/mL（ \pm 552.0）、リノール酸 743.6 μ g/mL（ \pm 421.2）、アラキドン酸 70.0 μ g/mL（ \pm 40.7）、 α -リノレン酸 12.1 μ g/mL（ \pm 9.8）、EPA 10.4 μ g/mL（ \pm 8.3）、DHA 29.4 μ g/mL（ \pm 21.0）であった。

表1にPFOS・PFOA濃度と母児の属性との関連について示した。PFOS濃度と母の年齢・出産歴・妊娠中喫煙・母体血採血時期・出産方法・在胎週数との間に有意な関連がみられた（ $p<0.05$ ）。PFOA濃度とは、母の年齢・出産歴・妊娠中カフェイン摂取・母体血採血時期・出産方法・在胎週数と有意な関連がみられた（ $p<0.05$ ）。

表2にPFOS・PFOA曝露によるTG・脂肪酸への影響を重回帰分析で検討した結果を示した。母の年齢、妊娠中の喫煙・飲酒、世帯収入、出産歴、母体血採血時期（EPA・DHAの場合はさらに近海魚・遠

海魚摂取)で調整後の Model 2 で、母体血中 PFOS 濃度 (\log_{10} 変換) とトリグリセリド・パルミチン酸・パルミトオレイン酸・オレイン酸・リノール酸・ ω -リノレン酸・アラキドン酸・DHA (\log_{10} 変換) との間にそれぞれ有意な負の相関が認められた ($p < 0.05$)。また、PFCs 濃度を四分位にわけ重回帰分析を行った結果、連続値で解析した場合と同様の結果が得られ、PFOS 濃度の増加に伴い脂肪酸濃度の有意な減少が認められた (p for trend < 0.01) (図 1)。PFOA については、パルミチン酸との間に正の相関が認められたが、その他の TG・脂肪酸との間には有意な関連は認められなかった (表 2)。

D. 考察

本研究により、妊娠中の PFOS 曝露により母親の TG・脂肪酸 (パルミチン酸・パルミトオレイン酸・リノール酸・アラキドン酸・ ω -リノレン酸・DHA) が減少することが示された。この結果は疫学研究において、妊婦の PFCs 曝露と脂肪酸との関連を調べた初めての報告となる。また、PFOS と異なり、PFOA 曝露と TG・脂肪酸との間には強い相関は見られず、濃度への影響は少なかった。

本研究での PFOS・PFOA の曝露レベルは、PFOS 5.67 ng/mL、PFOA 1.4 ng/mL と、アメリカやヨーロッパ諸国での報告や韓国の出生コホートでの報告に比べ低かった。また台湾のコホート研究での臍帯血 PFCs 濃度よりも低かった。現在までの疫学先行研究では、職業曝露など、非妊婦集団において PFCs と脂肪酸との関連を調べたものが主であった。妊娠中の PFCs 曝露の TG への影響は現在までに 2 報の報告があり、Baltimore THREE Study では、横断研究により PFOS・PFOA

の濃度と出生時体重、ボンデラル指数、頭囲との間に負の相関が示されたものの、PFCs 濃度と TG・コレステロールとの間に関連は見られず、また、PFCs 曝露による出生時体重への影響は臍帯血中脂質濃度とは関連がなかった (Apelberg et al. 2007)。また、ノルウェーで行われた横断研究においても、母親の PFOS・PFOA 濃度と妊娠中の TG との間には関連は見られなかった (Starling et al. 2014)。

本研究では、妊婦の母体血中 PFOS 濃度と TG との間に強い負の相関がみられた。動物実験では、妊娠中のラットへの PFOS 経口投与による母体血清中 TG の低下、雄ラットへの PFCs 経口投与による血清中コレステロールおよび TG の低下が報告されており (Thibodeaux et al. 2003; Haugom and Spydevold. 1992)、本研究の結果と一致する。

今回の結果と疫学先行研究結果の不一致は、日本人と欧米人の PPAR α (peroxisome proliferator-activated receptor α) の多型などの遺伝的背景の違いも考えられる。環境遺伝相互作用を含めたさらなる疫学研究により、PFCs 曝露の脂質プロファイルへの影響が解明されることが期待される。

本研究の限界として、妊娠中の採血時期により脂肪酸濃度の変動があることが言われているなか、妊婦の血清中の脂質濃度を一時期でしか測定していない点が挙げられる。さらに、 $n=105$ では出産後の母体血を PFCs、脂肪酸の測定に用いた。重回帰分析の際、採血時期による調整は行ったものの、その影響が結果に影響を及ぼした可能性も考えられる。また、本研究集団は札幌市の 1 産科病院でリクルートを行ったため、それによる選択バイアスが生じる可能性もあるが、全道の 37 医療機関で

リクルートを行った 20,929 名からなる北海道（大規模）コーホートの母児属性との間で大きな違いは見られなかったため、その影響は少ないと考えられる。

デンマークでの出生コーホート研究により、胎児期の PFOA 曝露が高い女兒において 20 才時の肥満リスクの増加が認められた（Halldorsson et al. 2012）。本研究では、妊娠中の PFCs 曝露による脂肪酸の低下が示されたが、この曝露による低栄養状態が引き金となり、胎児の「節約型」体質への移行、またそれに起因する将来の肥満リスクへとつながる可能性も十分考えられる。妊娠中の PFCs 曝露とそれによる脂肪酸の低下が、児の発育や肥満にどのような影響を及ぼすか、長期にわたる追跡が不可欠である。

また、脂肪酸、特に ω -3、 ω -6 脂肪酸は胎児発育だけでなく、神経発達にも重要である。これらは脳内でミエリン化、細胞接着、シナプス小胞輸送、シグナル伝達に関わる遺伝子発現を活性化し、学習や記憶、神経発達障害への影響も報告されている（Kitajka et al. 2004; Sorgi et al. 2007; Birch et al. 2000）。今後、胎児期の PFCs 曝露が神経発達に与える影響についても解析する必要がある。

E . 結論

本研究により、妊娠中の PFOS 曝露による脂質への影響が検討され、妊娠中の PFOS 曝露により母親の TG・脂肪酸（パルミチン酸・パルミトオレイン酸・リノール酸・アラキドン酸・ ω -リノレン酸・DHA）が減少することが示された。この結果は疫学研究において、妊婦の PFCs 曝露と脂肪酸との関連を調べた初めての報告となる。この結果から、妊娠中の PFOS 曝露による脂肪酸の減少が示唆され、またそれによ

る次世代への発育・発達への影響が懸念される。

F . 研究発表

該当なし

G . 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

参考文献

- 1) Kitajima M, Oka S, Yasuhi I, Fukuda M, Rii Y, Ishimaru T. 2001. Maternal serum triglyceride at 24-32 weeks' gestation and newborn weight in nondiabetic women with positive diabetic screens. *Obstet Gynecol* 97:776-80.
- 2) Schaefer-Graf UM, Graf K, Kulbacka I, Kjos SL, Dudenhausen J, Vetter K, et al. 2008. Maternal lipids as strong determinants of fetal environment and growth in pregnancies with gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care* 31:1858-1863.
- 3) Jones HN, Powell TL, Jansson T. 2007. Regulation of placental nutrient transport – a review. *Placenta* 28:763-774.
- 4) Koletzko B, Larque E, Demmelmair H. 2007. Placental transfer of long-chain polyunsaturated fatty acids (lc-pufa). *Journal of Perinatal Medicine* 35 Suppl 1:S5-11.
- 5) Washino N, Saijo Y, Sasaki S, Kato S, Ban S, Konishi K, et al. 2009. Correlations between prenatal

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

- exposure to perfluorinated chemicals and reduced fetal growth. *Environmental Health Perspectives* 117:660-667.
- 6) Thibodeaux JR, Hanson RG, Rogers JM, Grey BE, Barbee BD, Richards JH, et al. 2003. Exposure to perfluorooctane sulfonate during pregnancy in rat and mouse. I: Maternal and prenatal evaluations. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology* 74:369-381.
- 7) Apelberg BJ, Witter FR, Herbstman JB, Calafat AM, Halden RU, Needham LL, et al. 2007. Cord serum concentrations of perfluorooctane sulfonate (pfos) and perfluorooctanoate (pfoa) in relation to weight and size at birth. *Environmental Health Perspectives* 115:1670-1676.
- 8) Starling AP, Engel SM, Whitworth KW, Richardson DB, Stuebe AM, Daniels JL, et al. 2014. Perfluoroalkyl substances and lipid concentrations in plasma during pregnancy among women in the Norwegian Mother and Child Cohort Study. *Environ Int.* 62:104-12.
- 9) Haugom and Spydevold. 1992. The mechanism underlying the hypolipemic effect of perfluorooctanoic acid (PFOA), perfluorooctane sulphonic acid (PFOSA) and clofibrilic acid. *Biochim Biophys Acta.* 1128(1):65-72.
- 10) Halldorsson TI, Rytter D, Haug LS, Bech BH, Danielsen I, Becher G, et al. 2012. Prenatal exposure to perfluorooctanoate and risk of overweight at 20 years of age: a prospective cohort study. *Environ Health Perspect.* 120(5):668-73.
- 11) Kitajka K, Sinclair AJ, Weisinger RS, Weisinger HS, Mathai M, Jayasooriya AP, et al. 2004. Effects of dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids on brain gene expression. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 101(30):10931-6.
- 12) Sorgi PJ, Hallowell EM, Hutchins HL, Sears B. 2007. Effects of an open-label pilot study with high-dose EPA/DHA concentrates on plasma phospholipids and behavior in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Nutr J.* 6:16.
- 13) Birch EE, Garfield S, Hoffman DR, Uauy R, Birch DG. 2000. A randomized controlled trial of early dietary supply of long-chain polyunsaturated fatty acids and mental development in term infants. *Dev Med Child Neurol.* 42(3):174-81.

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

表 1. 母体血中 PFOS・PFOA 濃度と母児の属性との関連 (n=390)

Characteristics	n=390	PFOS	P-value	PFOA	P-value
Maternal characteristics					
Age (years)	30.1±4.8	Spearman's ρ = -0.154	0.002	Spearman's ρ = -0.102	0.042
Height (cm)	158.3±5.2	Spearman's ρ = 0.027	0.592	Spearman's ρ = 0.023	0.639
Pre-pregnancy body weight (kg)	52.9±8.2	Spearman's ρ = -0.031	0.536	Spearman's ρ = -0.031	0.541
Pre-pregnancy BMI (kg/m ²)	21.1±3	Spearman's ρ = -0.059	0.24	Spearman's ρ = -0.078	0.119
Parity (times)					
0	186 (47.7)	6.33 (5.95-6.71)	<.0001	1.74 (1.63 to 1.85)	<.0001
≥1	204 (52.3)	5.06 (4.7 to 5.42)		1.1 (0.99 to 1.21)	
Past conception (times)					
0	130 (33.3)	6.4 (5.95 to 6.86)	0.0002	1.78 (1.64 to 1.92)	<.0001
1	128 (32.8)	5.7 (5.24 to 6.16)		1.31 (1.17 to 1.45)	
≥2	132 (33.8)	4.91 (4.46 to 5.37)		1.13 (0.99 to 1.26)	
Educational level (years)					
≤12	175 (44.9)	5.46 (5.05 to 5.86)	0.124	1.4 (1.27 to 1.53)	0.386
≥13	215 (55.1)	5.84 (5.48 to 6.2)		1.41 (1.3 to 1.52)	
Annual household income (million yen)					
less than 5	274 (70.2)	5.61 (5.29 to 5.94)	0.495	1.41 (1.31 to 1.51)	0.459
more than 5	116 (29.7)	5.79 (5.29 to 6.29)		1.4 (1.25 to 1.56)	
Smoking during pregnancy					
Yes	158 (40.5)	5.2 (4.78 to 5.62)	0.004	1.36 (1.23 to 1.49)	0.455
No	232 (59.5)	5.99 (5.64 to 6.33)		1.44 (1.33 to 1.54)	
Alcohol intake during pregnancy					
Yes	123 (31.5)	5.72 (5.24 to 6.2)	0.636	1.37 (1.22 to 1.52)	0.869
No	267 (68.5)	5.64 (5.31 to 5.97)		1.42 (1.32 to 1.52)	
Alcohol intake among drinkers during pregnancy (g/day)	5.2±16.8	Spearman's ρ = 0.026	0.606	Spearman's ρ = -0.011	0.814
Caffeine intake during pregnancy (mg/day)	148.1±119.7	Spearman's ρ = -0.077	0.128	Spearman's ρ = -0.137	0.006
Fish intake during pregnancy					
Inshore fish					
≤1-2 times/month	210 (53.8)	5.63 (5.26 to 6)	0.697	1.42 (1.3 to 1.53)	0.634
≥1-2 times/week	180 (46.1)	5.71 (5.31 to 6.1)		1.39 (1.26 to 1.51)	
Deep sea fish					
≤1-2 times/month	185 (47.4)	5.55 (5.16 to 5.95)	0.233	1.41 (1.29 to 1.54)	0.978
≥1-2 times/week	205 (52.5)	5.77 (5.4 to 6.14)		1.4 (1.28 to 1.51)	
Blood sampling period					
during pregnancy	285 (73.1)	6.11 (5.81 to 6.42)	<.0001	1.51 (1.42 to 1.61)	<.0001
after delivery	105 (26.9)	4.46 (3.96 to 4.97)		1.11 (0.95 to 1.27)	
Blood sampling period (gestational age)					
23-31 weeks during pregnancy	125	6.5 (6.05 to 6.95)	<.0001	1.58 (1.43 to 1.72)	0.0002
32-34 weeks during pregnancy	76	6.64 (6.07 to 7.22)		1.5 (1.31 to 1.68)	
35-41 weeks during pregnancy	84	5.05 (4.5 to 5.59)		1.43 (1.25 to 1.61)	
during one week after delivery	105	4.46 (3.97 to 4.95)		1.11 (0.95 to 1.27)	
Type of delivery					
Vaginal	322 (82.6)	5.83 (5.53 to 6.12)	0.01	1.44 (1.35 to 1.54)	0.043
Cesarean section	68 (17.4)	4.91 (4.26 to 5.55)		1.23 (1.02 to 1.43)	
Infant characteristics					
Sex					
Male	179 (45.9)	5.85 (5.45 to 6.25)	0.229	1.47 (1.34 to 1.59)	0.065
Female	211 (54.1)	5.51 (5.14 to 5.88)		1.35 (1.24 to 1.47)	
Gestational age (days)	276.6±7.8	Spearman's ρ = 0.113	0.024	Spearman's ρ = 0.105	0.036

Statistical analysis is performed using Spearman's correlation test, and Mann-Whitney *U*-test and Kruskal-Wallis test.

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

表 2. PFOS・PFOA 曝露による脂肪酸への影響(n=390)

Dependent variable	PFOS (overall= 390)			PFOA (overall=390)		
	β (95% CI)		P-value	β (95% CI)		P-value
TG (mg/dl)						
Crude	-0.246 (-0.333 to -0.145)		<.0001	-0.015 (-0.086 to 0.063)		0.761
Model 1	-0.234 (-0.326 to -0.128)		<.0001	0.03 (-0.058 to 0.105)		0.579
Model 2	-0.175 (-0.275 to -0.064)		0.0016	0.073 (-0.025 to 0.136)		0.181
Palmitic acid (ug/ml)						
Crude	-0.196 (-0.215 to -0.072)		<.0001	0.061 (-0.021 to 0.091)		0.225
Model 1	-0.181 (-0.209 to -0.057)		0.0006	0.111 (0.001 to 0.125)		0.044
Model 2	0.176 (-0.211 to -0.047)		0.002	0.13 (0.011 to 0.136)		0.02
Palmitoleic acid (ug/ml)						
Crude	-0.232 (-0.354 to -0.145)		<.0001	-0.031 (-0.109 to 0.056)		0.529
Model 1	-0.214 (-0.34 to -0.119)		<.0001	0.024 (-0.070 to 0.111)		0.654
Model 2	-0.175 (-0.305 to -0.069)		0.0019	0.056 (-0.044 to 0.138)		0.31
Stearic acid (ug/ml)						
Crude	0.058 (-0.027 to 0.106)		0.246	0.038 (-0.032 to 0.071)		0.453
Model 1	0.079 (-0.017 to 0.124)		0.138	0.058 (-0.027 to 0.087)		0.3
Model 2	0.065 (-0.031 to 0.119)		0.256	0.056 (-0.028 to 0.087)		0.313
Oleic acid (ug/ml)						
Crude	-0.194 (-0.241 to -0.079)		0.0001	0.02 (-0.050 to 0.076)		0.693
Model 1	-0.172 (-0.228 to -0.057)		0.0011	0.07 (-0.024 to 0.115)		0.205
Model 2	-0.139 (-0.207 to -0.023)		0.0136	0.099 (-0.006 to 0.134)		0.074
Linoleic acid (ug/ml)						
Crude	-0.28 (-0.643 to -0.315)		<.0001	0.033 (-0.087 to 0.176)		0.506
Model 1	-0.282 (-0.658 to -0.310)		<.0001	0.07 (-0.052 to 0.238)		0.209
Model 2	-0.314 (-0.724 to -0.351)		<.0001	0.08 (-0.04 to 0.255)		0.155
α -Linolenic acid (ug/ml)						
Crude	-0.259 (-0.705 to -0.322)		<.0001	-0.003 (-0.159 to 0.147)		0.938
Model 1	-0.258 (-0.714 to -0.308)		<.0001	0.032 (-0.119 to 0.218)		0.564
Model 2	-0.254 (-0.721 to -0.284)		<.0001	0.055 (-0.08 to 0.255)		0.324
Arachidonic acid (ug/ml)						
Crude	-0.158 (-0.420 to -0.098)		0.0017	-0.001 (-0.128 to 0.124)		0.997
Model 1	-0.158 (-0.430 to -0.089)		0.003	0.019 (-0.114 to 0.164)		0.723
Model 2	-0.22 (-0.542 to -0.178)		0.0001	0.009 (-0.129 to 0.153)		0.862
EPA (ug/ml)						
Crude	0.049 (-0.088 to 0.257)		0.338	0.005 (-0.126 to 0.142)		0.907
Model 1 ^a	0.041 (-0.109 to 0.252)		0.435	0.008 (-0.134 to 0.157)		0.872
Model 2 ^a	0.061 (-0.088 to 0.301)		0.285	0.015 (-0.127 to 0.169)		0.781
DHA (ug/ml)						
Crude	-0.048 (-0.259 to 0.090)		0.341	0.001 (-0.134 to 0.136)		0.983
Model 1 ^a	-0.05 (-0.274 to 0.097)		0.35	0.008 (-0.138 to 0.161)		0.878
Model 2 ^a	-0.118 (-0.404 to -0.009)		0.04	-0.012 (-0.168 to 0.134)		0.827
Essential fatty acids						
Crude	-0.272 (-1.3 to -0.62)		< 0.0001	0.016 (-0.228 to 0.317)		0.749
Model 1	-0.272 (-1.32 to -0.601)		< 0.0001	0.056 (-0.148 to 0.454)		0.319
Model 2	-0.282 (-1.38 to -0.609)		< 0.0001	0.074 (-0.101 to 0.507)		0.19
Omega 6						
Crude	-0.271 (-0.619 to -0.295)		< 0.0001	0.032 (-0.088 to 0.171)		0.528
Model 1	-0.274 (-0.634 to -0.290)		< 0.0001	0.067 (-0.055 to 0.231)		0.227
Model 2	-0.306 (-0.702 to -0.331)		< 0.0001	0.076 (-0.046 to 0.246)		0.179
Omega 3						
Crude	-0.056 (-0.209 to 0.058)		0.265	-0.008 (-0.112 to 0.095)		0.87
Model 1 ^a	-0.059 (-0.221 to -0.062)		0.269	-0.006 (-0.121 to 0.108)		0.908
Model 2 ^a	-0.088 (-0.270 to 0.033)		0.125	-0.007 (-0.124 to 0.107)		0.888

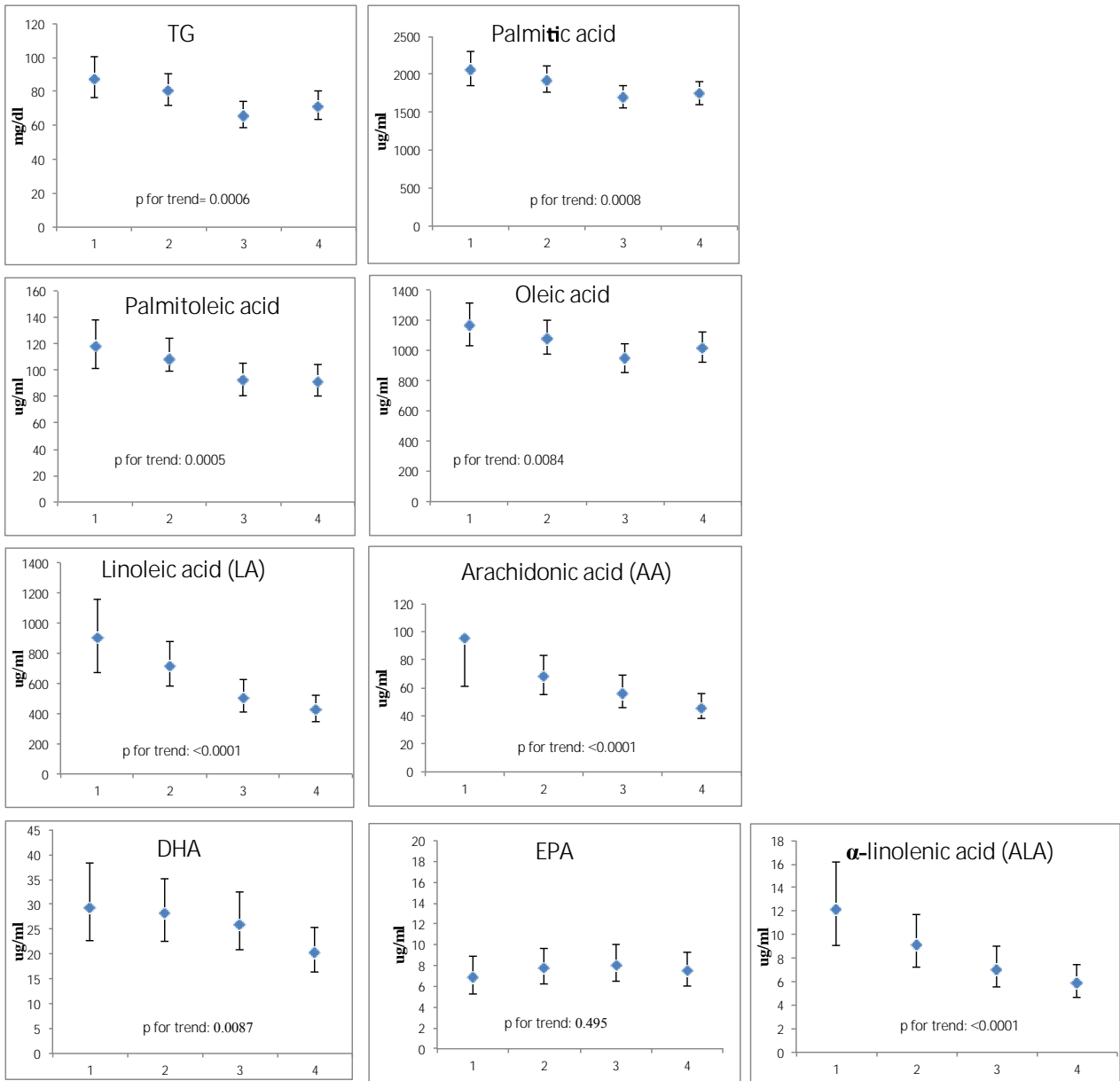
Model 1: Adjusted for maternal age, smoking and alcohol intake during pregnancy, annual household income, and parity

Model 2: Adjusted for maternal age, smoking and alcohol intake during pregnancy, annual household income, and parity, and blood sampling period

^aDHA, EPA, and omega 3 values were adjusted for inshore fish and deep sea fish intake too.

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

図 1. PFOS・PFOA 曝露（四分位）による脂肪酸への影響(n=390)



胎児期ビスフェノール A 曝露による臍帯血中性ホルモン濃度への影響

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 松村 徹 いであ株式会社環境創造研究所取締役・環境創造研究所副所長

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特任講師

研究分担者 野々村 克也 北海道大学大学院医学研究科外科治療学講座腎泌尿器外科学分野教授

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

研究要旨

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使用されている化学物質で、ヒトは主に経口摂取によって曝露される。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が、ヒトでのデータはまだ少ないことから、微量試料中 BPA の高精度測定法を開発して、胎児期 BPA 曝露による性ホルモン濃度への影響を検討した。男児の BPA 濃度は 0.056 ng/mL (中央値)、女児は 0.048 ng/mL (中央値) であった。男児では、BPA 濃度が上昇すると総テストステロン濃度が有意に上昇したが ($p=0.042$)、女児では関連がみられなかった。

研究協力者

山本 潤

(いであ株式会社環境創造研究所)

伊藤 佐智子

(北海道大学環境健康科学研究教育センター)

三井 貴彦

(北海道大学病院泌尿器科)

長 和俊

(北海道大学病院産科・周産母子センター)

A . 研究目的

ビスフェノール A (BPA) は食器や容器、おもちゃなどプラスチック製品となるポリカーボネートや食品缶詰の内面塗装となるエポキシ樹脂などの原料として使用されている化学物質である。ヒトは BPA を原料とする樹脂で製造された容器等からの溶出により、主に経口的に曝露される。

動物実験による急性毒性、慢性毒性、生殖発生毒性、発達毒性、遺伝毒性、発がん性などの試験結果から、現在、欧米諸国およびわが国においては最小毒性量 (LOAEL) 50mg/kg 体重/日、最大無毒性量 (NOAEL) 5mg/kg 体重/日が用いられ、ヒトに対する耐容一日摂取量 (TDI)

は 0.05mg/kg 体重/日に設定されている。

BPA 曝露によりエストロゲン受容体が活性化され、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 NOAEL 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 (Dell Seta et al., 2006; Tan et al., 2003; Markey et al., 2003; Adrinani et al., 2003; Palanza et al., 2002)、ヒトでのデータはまだ少ない。

本研究では、開発した微量試料中 BPA 高精度測定法を用いて臍帯血中の BPA 濃度を測定し、胎児期 BPA 曝露による性ホルモン濃度への影響を検討する。

B . 研究方法

札幌市内 1 産院コーホートに登録した母児 514 名について、自記式質問票で母親と配偶者の妊娠中の喫煙・飲酒状況、食生活や教育歴、世帯収入などを調査し、医療診療録から産科既往歴や分娩時所見などに関する情報を入手した。

臍帯血中の BPA 濃度は、同位体希釈 LC-MS/MS 法（検出下限値 0.048 ng/mL）で測定した。性ホルモンのうち、エストラジオール（E2）、総テストステロン（T）、プロゲステロン（P4）濃度は LC-MS/MS 法で、また黄体形成ホルモン（LH）、卵胞刺激ホルモン（FSH）、性ホルモン結合グロブリン（SHGB）プロラクチン（PRL）濃度は免疫放射定量（IRMA）法で、さらに Inhibin B 濃度は ELISA 法、Insulin-like factor3（INSL3）濃度は EIA 法を用いて（株）あすか製薬メディカルで測定した。

すべての測定において検出下限値（LOD）以下の場合には半値を代入し、BPA 濃度と性ホルモン濃度のデータがある 278 名（男児 124 名、女児 154 名）を解析対象者とした。INSL3 は、過去の報告から女児では低値であるとされているので、ランダム抽出した 20 名を測定したところ、有意に低値であったので（ $p < 0.0001$ ）、男児のみを測定した。

（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

男児 124 名の BPA 濃度は 0.056 ng/mL（中央値）、女児 154 名の BPA 濃度は 0.048 ng/mL（中央値）であった。LOD（0.048 ng/mL）以下は、男児で 32 名（25.8%）、女児で 43 名（27.9%）であっ

た。母児の属性による濃度に差はみられなかった（表 1）。

性ホルモン濃度は、T（ $p < 0.001$ ）と Inhibin B（ $p < 0.001$ ）の濃度が男児で女児よりも有意に高かった。性腺刺激ホルモンである LH（ $p < 0.001$ ）および FSH（ $p < 0.001$ ）の濃度も男児で高かったが、検出率がそれぞれ 35.6%、47.2%と低かったことから、高感度測定法による再測定が必要である（表 2）。

胎児期 BPA 曝露による性ホルモン濃度への影響を Spearman's の相関係数（ ρ ）でみると、男児では、臍帯血中 BPA 濃度の上昇により PRL 濃度が低下し（ $\rho = -0.180$; $p = 0.046$ ）、E 濃度は上昇する傾向がみられた（ $\rho = 0.176$; $p = 0.051$ ）。一方、女児では、Inhibin B 濃度が有意に上昇した（ $\rho = 0.175$; $p = 0.030$ ）（表 3）。

さらに、それぞれの濃度を \log_{10} 変換して、母の年齢、喫煙と飲酒量、世帯収入、在胎週数で調整した重回帰分析を行ったところ、男児では、BPA 濃度が上昇すると T 濃度が有意に上昇したが（ $p = 0.042$ ）、女児では、関連がみられなかった（表 4）。

D . 考察

疫学研究で男児を対象に BPA 曝露による性ホルモン濃度への影響を検討した先行研究は 1 編しかなく、停留精巣をアウトカムとした症例対照研究のみである。胎児期 BPA 曝露による先天異常への影響は認められなかったが、対照群の健常男児 106 名では、臍帯血中 BPA 濃度が上昇すると、T および Inhibin B の濃度が上昇した（Fenichel et al., 2012）。また、成人男性で検討した先行研究では、24 時間尿中 BPA 濃度が高くなると、血清中 T 濃度が上昇したことから、BPA 曝露によりアロマターゼ活性が低下して、T から E2 への変換が減少することが示唆された（Galloway et al.,

2010)。しかし、逆に T 濃度が減少したという報告もあり、精巣内ライディッヒ細胞が阻害されたことによるホルモン産生の減少が考えられるとしている (Mendiola et al., 2010)。

動物実験でも結果は一致しておらず、妊娠中～生後まで観察した実験では、BPA 曝露による雄仔ラットの T 濃度に変化はないという報告がある一方で (Gamez et al., in press [BPA 濃度 3µg/kg/day]; Nanjappa et al., 2012 [BPA 濃度 2.5, 25µg/kg/bw]; Thuillier et al., 2009 [BPA 濃度 1-200mg/kg/day]) 減少したという報告もある (Cardoso et al., 2011 [BPA 濃度 2.5mg/kg/bw/day])。また、雄仔マウスでも、BPA 曝露による T 濃度の上昇 (Kendig et al., 2012 [BPA 濃度 0~300ppm]) と減少 (Xi et al., 2011 [BPA 濃度 12,25,50mg/kg/day]) の相反する報告がされている。さらに、生後の雄ラットに 8 週間、経口曝露 (BPA 濃度 0.0005-5mg/kg/bw) した実験では、T 生合成に關与する酵素である StAR、CYP450scc の発現が増加し、アロマターゼ活性に關与する CYP450arom の発現が低下したことにより、精巣 T 濃度が上昇したと報告されており (Qiu et al., 2013) 遺伝的要因の検討も必要である。

ただ、BPA はマウス、ラット、ヒトでは経口曝露後、その大部分が消化管から速やかに吸収されて肝臓で主に BPA-グルクロニド (BPAG) に代謝されるが、生物活性を有するのは、代謝前の非抱合型 (遊離型) BPA のみで、ヒトでは BPAG は肝臓から全身循環されて速やかに尿中に排泄されるのに対し、げっ歯類では胆汁中に排泄されて腸管に存在するグルクロニダーゼにより BPA とグルクロン酸に解離され、遊離型 BPA は再び血液中に吸収されるため、BPA の排泄を遅滞させるとされている。

また、げっ歯類はエストロゲン様活性をもつ遊離型 BPA がヒトに比べて多いため、遊離型 BPA による曝露を長く受けるとされている。さらに、マウスはヒトよりもエストロゲン感受性が高く、弱いエストロゲン様物質にも感応し得るという報告もあり、ヒトとげっ歯類における BPA の体内動態の相違によって感受性が違うことが考えられることから (Tominaga et al., 2006; Witorsch et al., 2002; Snyder et al., 2000) BPA 曝露によるヒトへの影響を解明するには、ヒトでのデータをさらに蓄積する必要がある。

本研究では、臍帯血中 BPA 濃度が高くなると男児の T 濃度は上昇したが、E2/T 比の減少は有意ではなく、さらに、アロマターゼ活性に關与する酵素の遺伝子発現を測定していないため、BPA によりアロマターゼ活性が阻害されて T 濃度上昇したのかについては明らかにできなかった。

一方、女児では、胎児期 BPA 曝露により Inhibin B 濃度が上昇する傾向がみられたが、性ホルモン濃度の検出率が低い (27.3%) 結果の解釈には注意が必要である。

E . 結論

微量試料中 BPA の高精度測定法を開発して胎児期 BPA 曝露による性ホルモン濃度への影響を検討したところ、男児では、BPA 濃度が上昇すると T 濃度が有意に上昇したが、女児では関連がみられなかった。

今後は性ホルモンが關与する生後の健康影響との関連を検討する。

F . 研究発表

- 1) 論文発表
なし

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

2) 学会発表
なし

G . 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

参考文献

- 1) Adriani W, Seta DD, Dessi-Fulgheri F, Farabollini F, Laviola G. Altered profiles of spontaneous novelty seeking, impulsive behavior, and response to D-amphetamine in rats perinatally exposed to bisphenol A. *Environ Health Perspect.* 2003;111:395-401.
- 2) Cardoso N, Pandolfi M, Lavalle J, Carbone S, Ponzio O, Scacchi P et al. Probable gamma-aminobutyric acid and involvement in bisphenol A effect at the hypothalamic level in adult male rats. *J Physiol Biochem.* 2011;67(4):559-567.
- 3) Dell Seta D, Minder I, Belloni V, Aloisi AM, Dessi-Fulgheri F, Farabollini F. Pubertal exposure to estrogenic chemicals affects behavior in juvenile and adult male rats. *Horn Behav.* 2006;50:301-307.
- 4) Dell Seta D, Minder I, Belloni V, Aloisi AM, Dessi-Fulgheri F, Farabollini F. Pubertal exposure to estrogenic chemicals affects behavior in juvenile and adult male rats. *Horn Behav.* 2006;50:301-307.
- 5) Dell Seta D, Minder I, Belloni V, Aloisi AM, Dessi-Fulgheri F, Farabollini F. Pubertal exposure to estrogenic chemicals affects behavior in juvenile and adult male rats. *Horn Behav.* 2006;50:301-307.
- 6) Galloway T, Cipelli R, Guralnik J, Ferrucci L, Bandinelli S, Corsi AM et al. Daily bisphenol A excretion and associations with sex hormone concentrations: results from the InCHIANTI adult population study. *Environ Health Perspect.* 2010;118(11):1603-1608.
- 7) Gamez JM, Penalba R, Cardoso N, Ponzio O, Carbone S, Pandolfi M et al. Low dose of bisphenol A impairs the reproductive axis of prepubertal male rats. *J Physiol Biochem.* In press.
- 8) Kendig EL, Buesing DR, Christie SM, Cookman CJ, Gear RB, Hugo ER et al. *Int J Toxicol.* 2012;31(6):537-550.
- 9) Markey CM, Coombs MA, Sonnenschein C, Sato AM. Mammalian development in a changing environment: exposure to endocrine disruptors reveals the developmental plasticity of steroid-hormone target organs. *Evol Dev.* 2003;5:67-75.
- 10) Mendiola J, Jorgensen N, Andersson AM, Calafat AM, Ye X, Redmon JB et al. Are environmental levels of bisphenol a associated with reproductive function in fertile men? *Environ Health Perspect.* 2010;118(9):1286-1291.
- 11) Nanjappa MK, Simon L, Akingbemi BT. The industrial chemical bisphenol A (BPA) interferes with proliferative activity and development of

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

- steroidogenic capacity in rat Leydig cells. *Biol Reprod.* 2012;86(5):135, 1-12.
- 12) Palanza PL, Howdeshell KL, Parmigiani S, vom Saal FS. Exposure to a low dose of bisphenol A during fetal life or in adulthood alters maternal behavior in mice. *Environ Health Perspect.* 2002;110 Suppl3:415-422.
- 13) Qiu LL, Wang X, Zhang XH, Zhang Z, Gu J, Liu L et al. Decreased androgen receptor expression may contribute to spermatogenesis failure in rats exposed to low concentration of bisphenol A. *Toxicol Lett.* 2013;219(2):116-124.
- 14) Snyder RW, Maness SC, Gaido KW, Wellsch F, Summer SC, Fennell TR. Metabolism and disposition of bisphenol A in female rats. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2000;168:225-234.
- 15) Tan BL, Kassim NM, Mohd MA. Assessment of pubertal development in juvenile male rats after sub-acute exposure to bisphenol A and nonylphenol. *Toxicol Lett.* 2003;143:261-270.
- 16) Tominaga T, Negishi T, Hirooka H, Miyachi A, Inoue A, Hayasaka I et al. Toxicokinetics of bisphenol A in rats, monkeys and chimpanzees by the LC-MS/MS method. *Toxicology.* 2006;226:208-217.
- 17) Witorsch RJ. Low-dose in utero effects of xenoestrogens in mice and their relevance to humans: an analytical review of the literature. *Food Chem. Toxicol.* 2002;40:905-912.
- 18) Xi W, Lee CK, Yeung WS, Giesy JP, Wong MH, Zhang X et al. Effect of perinatal and postnatal bisphenol A exposure to the regulatory circuits at the hypothalamus-pituitary-gonadal axis of CD-1 mice. *Reprod Toxicol.* 2011;31(4):409-417.

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

表 1 . 臍帯血中 BPA 濃度と母児属性との関連 (n=278)

	n (%)	Mean (SD)	BPA (ng/mL)		
			GM	Med (25 th-75 th)	p-value
母属性					
年齢 (歳)		30.4 (5.0)		Spearman's ρ = -0.076	0.207
出産前BMI (kg/m ²)		20.9 (3.0)		Spearman's ρ = -0.015	0.803
妊娠中喫煙歴	非喫煙者	223 (80.2)	0.048	0.052 (<LOD-0.076)	0.827 ^b
	喫煙者	55 (19.8)	0.049	0.051 (0.029-0.072)	
妊娠中飲酒歴	非飲酒者	181 (65.1)	0.049	0.052 (<LOD-0.075)	0.924 ^b
	飲酒者	97 (34.9)	0.048	0.050 (<LOD-0.077)	
飲酒者飲酒量 (g/day)		1.52 (0.36-152.0) ^a		Spearman's ρ = -0.007	0.948
世帯収入 (百万円)	<5	199 (71.6)	0.049	0.055 (<LOD-0.076)	0.328 ^b
	≥5	79 (28.4)	0.046	0.048 (<LOD-0.075)	
児属性					
性別	男児	124 (44.6)	0.049	0.056 (<LOD-0.075)	0.532 ^b
	女児	154 (55.4)	0.048	0.048 (<LOD-0.076)	
在胎週数 (週)		39.3 (1.1)		Spearman's ρ = -0.042	0.486
出生時体重 (g)		3129 (333)		Spearman's ρ = 0.031	0.605

^a Median (min-max)

^b Mann-Whitney test

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

表 2 . 臍帯血中性ホルモン濃度分布 (n=278)

	男児 (n=124)					女児 (n=154)					p-value ^a
	n	GM	Med	(25th-75th)	>LOD (%)	n	GM	Med	(25th-75th)	>LOD (%)	
E2 (ng/mL)	124	5.38	4.90	(3.41-7.60)	100	154	4.68	4.66	(3.11-6.52)	100	0.128
T (pg/mL)	124	98.2	98.3	(77.7-122.5)	100	154	71.0	69.0	(51.8-94.9)	100	<0.001
P4 (ng/mL)	124	213.9	228.8	(185.6-298.7)	100	154	178.8	209.0	(165.1-276.1)	100	0.086
LH (mIU/mL)	123	0.43	<LOD	(<LOD-0.85)	36.6	150	<LOD	<LOD	(<LOD-<LOD)	0.7	<0.001
FSH (mIU/mL)	123	0.41	<LOD	(<LOD-0.67)	47.2	149	<LOD	<LOD	(<LOD-<LOD)	0.0	<0.001
SHBG (nmol/mL)	124	16.5	16.6	(13.9-19.3)	100	154	15.7	15.5	(12.8-18.4)	99.4	0.060
PRL (ng/mL)	123	86.2	85.8	(65.1-117.0)	100	152	82.6	86.0	(60.9-118.5)	99.3	0.773
Inhibin B (pg/mL)	124	43.6	44.4	(35.0-58.5)	99.2	154	8.40	<LOD	(<LOD-12.7)	27.3	<0.001
INSL3 (ng/mL)	123	0.29	0.29	(0.25-0.34)	100			n.d.			
E2/T	124	0.05	0.05	(0.04-0.07)	n.d.	154	0.07	0.06	(0.05-0.08)	n.d.	0.003

^a Mann-Whitney test

n.d.: not determined

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

表3 . 臍帯血中 BPA 濃度と性ホルモン濃度との相関 (n=278)

	男児 (n=124)		女児 (n=154)	
	ρ	p-value ^a	ρ	p-value ^a
E2 (ng/mL)	0.176	0.051	0.114	0.158
T (pg/mL)	0.112	0.214	0.059	0.468
P4 (ng/mL)	0.139	0.124	0.152	0.061
LH (mIU/mL)	0.011	0.903	n.d.	
FSH (mIU/mL)	0.047	0.603	n.d.	
SHBG (nmol/mL)	0.062	0.492	0.061	0.450
PRL (ng/mL)	-0.180	0.046	0.124	0.129
Inhibin B (pg/mL)	0.006	0.949	0.175	0.030
INSL3 (ng/mL)	0.036	0.689	n.d.	
E2/T	0.097	0.282	0.094	0.244

^aSpeaman's correlation

n.d.: not determined

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

表4 . 臍帯血中 BPA 濃度と性ホルモン濃度との関連 (n=278)

	男児 (n=124)				女児 (n=154)			
	β	95%CI		p-value ^a	β	95%CI		p-value ^a
E2 (ng/mL)	0.185	-0.021	0.392	0.078	0.071	-0.080	0.223	0.354
T (pg/mL)	0.201	0.007	0.395	0.042	0.051	-0.141	0.243	0.598
P4 (ng/mL)	0.176	-0.011	0.363	0.065	0.144	-0.084	0.373	0.214
LH (mIU/mL)	0.054	-0.205	0.313	0.681		n.d.		
FSH (mIU/mL)	0.031	-0.155	0.218	0.741		n.d.		
SHBG (nmol/mL)	0.024	-0.053	0.101	0.541	0.059	-0.074	0.192	0.380
PRL (ng/mL)	-0.106	-0.251	0.040	0.153	0.104	-0.059	0.266	0.210
Inhibin B (pg/mL)	0.077	-0.068	0.222	0.294	0.191	-0.009	0.392	0.061
INSL3 (ng/mL)	0.054	-0.045	0.154	0.283		n.d.		
E2/T	-0.016	-0.181	0.149	0.850	0.020	-0.141	0.181	0.807

^a重回帰分析: Log10変換後, 母年齢, 喫煙歴, 飲酒量, 世帯収入, 在胎週数で調整

n.d.: not determined

妊婦の受動喫煙と多環芳香族炭化水素（PAHs）代謝関連遺伝子多型が 児の出生時体格に及ぼす影響の検討

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 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
研究分担者 遠藤 俊明 札幌医科大学医学部産科周産期科・生殖内分泌科 准教授
研究分担者 千石 一雄 旭川医科大学医学部産婦人科学講座 教授
研究分担者 吉岡 英治 旭川医科大学医学部健康科学講座 准教授

研究要旨

妊娠中の受動喫煙曝露は児の出生時体格に負の影響を及ぼした、あるいは及ぼさなかったなど、まだ一致した見解が得られていない。一致しない結果の一つに遺伝的感受性素因が示唆される。近年、遺伝的感受性素因による健康影響の個体差が注目され、妊婦の喫煙については、遺伝要因との交互作用が出生時体格に及ぼす影響についても報告されており、PAHs 代謝関連遺伝子多型が出生時体重の減少に関与することが示唆された。しかし、受動喫煙と遺伝-環境交互作用が児の出生時体格に及ぼす影響については報告がほとんどない。そこで本研究では、妊婦の受動喫煙と多環芳香族炭化水素（PAHs）代謝関連遺伝子多型が児の出生時体格に及ぼす影響を検討した。2003～2007年に登録した母児10,731名から1,633名を抽出し、高感度酵素結合免疫吸着法（ELISA法）で妊娠後期の母体血漿コチニン濃度を測定し、リアルタイム-PCR法あるいはマルチプレックスPCR法で遺伝子解析を行った。1,633名について、従属変数を出生時体格、独立変数を妊婦の受動喫煙状況と遺伝子多型とし、共変量で調整後、重回帰分析を行った結果、妊婦の受動喫煙は児の出生時体格に影響を及ぼし、男児で強い影響が認められた。PAHs代謝に関わる遺伝子多型で関連が認められたのは、シトクロムP450（CYP）1A2、CYP1B1およびDNA修復遺伝子のXRCC1遺伝子多型の3つであり、男児でより強い影響があった。今後、PAHsの他に受動喫煙の副流煙に多く含まれるN-ニトロソアミン類やカルボニル化合物類の代謝や解毒に関わる酵素の遺伝子多型についても検討していく必要がある。

研究協力者

伊藤 久美子、岡田 恵美子、小林 澄貴
（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）
長 和俊（北海道大学病院周産母子センター）
山田 俊（北海道社会保険中央病院
周産期医療センター）
馬場 剛
（札幌医科大学医学部産婦人科学講座）
宮本 敏伸
（旭川医科大学医学部産婦人科学講座）

A. 研究目的

たばこ煙の中には約4,000種類の化学物質が含まれ（Brunnemann and Hoffman, 1991）、このうち60種類は発がん物質であり、多環芳香族炭化水素（PAHs）やニトロソアミン類などが含まれている（US Department of Health and Human Service, 1998）。たばこ煙は主流煙と、たばこの先端から立ち上がる副流煙に分けられ、含まれる化学物質は変わらないものの、PAHs やニトロソアミン類など主流煙より

も副流煙に多く含まれる化学物質がある（US Department of Health and Human Service, 1998; Adams et al., 1987; Borgerding and Klus, 2005）。

受動喫煙による健康影響として、成人では、非喫煙男性の配偶者と比較して、受動喫煙の配偶者の肺腺がんの発症リスクは2.03倍高いことが報告されている（Kurahashi et al., 2008）。胎児期の受動喫煙曝露では、非喫煙妊婦と比較して、受動喫煙妊婦の早産のリスクは1.56倍（Fantuzzi et al., 2007）、自然流産のリスクは1.67倍高いと報告されている（George et al., 2006）。疫学研究においては、さらに神経管欠損（Suarez et al., 2011）、口蓋裂（Li et al., 2010）、低出生時体重（Windham et al., 2000）、喘鳴（Xepapadaki et al., 2009）、中耳炎のリスク（Jacoby et al., 2008）が認められている。これらのように妊婦の受動喫煙は出生時だけでなく生後でも健康影響に及ぼすことが示唆されるため、健康影響の追跡研究が必要である。

近年、遺伝的感受性素因による健康影響の個体差が注目され、妊婦の喫煙については、遺伝要因との相互作用が出生時体格に及ぼす影響についても報告されており、PAHs代謝関連遺伝子多型が出生時体重の減少に関与することが示唆された（Wang et al., 2002; Sasaki et al., 2006; Danileviciute et al., 2012）。代謝のメカニズムとしては、細胞内に入ったPAHsは、まず芳香族炭化水素受容体（AHR）に結合して核内へと移行し、PAHsとAHRとの複合体が異物代謝酵素のチトクロムP450（CYP）1A1、CYP1A2、およびCYP1B1遺伝子に結合することで遺伝子の発現を誘導し、酵素が産生される。その後、PAHs

はCYP1A1、CYP1A2、CYP1B1によってこれらの酵素が産生される。その後、PAHsはこれらによって代謝中間物質である7,8-ジヒドロキシ-9,10-エポキシ-7,8,9,10-テトラヒドロ-ベンゾ(a)ピレン（BPDE）になる（Nebert and Dalton, 2006）。このPAHsは主流煙よりも副流煙に多く含まれるが、妊婦の受動喫煙と遺伝子相互作用が児の出生時体格に及ぼす影響については報告がほとんどない。

また、化学物質による健康影響の性差も注目されていて、妊婦の化学物質曝露については、児の発育や神経発達に及ぼす影響とその性差が報告されている（Konishi et al., 2009; Washino et al., 2009; Jedrychowski et al., 2009; Miyashita et al., 2011）。しかし、妊婦の受動喫煙が児の出生時体格に及ぼす影響の性差についてはまだ報告されていない。

そこで本研究では、妊婦の受動喫煙とPAHs代謝関連遺伝子多型が児の出生時体格に及ぼす影響を解明するために、まず初めに性差を検討し、その上で遺伝-環境相互作用を検討した。

B. 研究方法

北海道内37産科病院を受診した妊婦とその児を対象に前向きコホート研究を実施した。2003年～2007年に参加登録した母児10,731名のうち、出生時体重、出生時身長、出生時頭囲の全ての情報、母体血漿コチニン値、ゲノムDNAがあるもの6,335名から、喫煙者、双胎、妊娠高血圧症候群、妊娠性糖尿病、およびデータ欠損ありの者を除外し5,118名となった。さらに、ここからランダム抽出し1,633名を最終解析対象者とした（図1）。

妊娠初期の研究参加登録時に妊婦はペー

スライン調査票に回答した。この自記式調査票から妊婦と配偶者について、既往歴、教育歴、世帯収入、喫煙歴、飲酒歴などの基本情報を収集した。在胎週数、児の性別、出生時体重、形態異常、流産・死産、多胎、妊娠高血圧症候群、妊娠糖尿病などの妊娠経過および出産記録を分娩時に病院から回収した。出生時体格については、生後4か月児に自記式調査票に母子健康手帳からの転記を依頼した。

妊娠後期の母体血漿中のコチニン濃度は高感度酵素結合免疫吸着法（ELISA法）で測定され、コスミック・コーポレーション（東京）で実施された。検出限界は0.12ng/mLで、この限界以下の検体は半値の0.06ng/mLを代入した。ROC曲線解析を用いて、非喫煙妊婦から喫煙妊婦に分ける最適なカットオフ値を決定した（11.48ng/mL; 特異度 97%; 感度 81%; $\text{AUC} = 0.79$ ）。さらに、非喫煙妊婦から受動喫煙妊婦に分けるカットオフ値を決定した（0.21ng/mL; 特異度 63%; 感度 68%; $\text{AUC} = 0.31$ ）（Sasaki et al., 2011）（図2）。

ゲノムDNAは出産時の母体血から抽出した。そして、多環芳香族炭化水素の代謝に關与する遺伝子として、芳香族炭化水素受容体（AHR）（G>A, Arg554Lys）遺伝子多型、シトクロムP450（CYP）1A2（A>C, CYP1A2*1F）1B1（C>G, Leu432Val）遺伝子多型、グルタチオンS-転移酵素（GST）M1（Present/deletion）、T1（Present/deletion）遺伝子多型およびDNA修復遺伝子のX-ray cross-complementing gene 1（XRCC1）（C>T, Arg194Trp および G>A, Arg399Gln）遺伝子多型はリアルタイム-PCR法あるいはマルチプレックスPCR法で行った。

受動喫煙状況による妊婦と児の属性およ

び遺伝子多型頻度との関連はKruskal-Wallis検定および²検定を用いた。また、妊婦の受動喫煙と児の出生時体格との関連および妊婦の受動喫煙と遺伝子多型による出生時体格との関連は、妊娠年齢、妊娠前BMI、妊娠中飲酒、教育歴、出産歴、児の性別および在胎週数で調整後、重回帰分析で検討した。統計学的有意水準は $P < 0.05$ とした。ただし、多重比較の場合は、エラー（第一種の過誤）の確率を高めてしまう問題があるため、解析ごとの値は小さくして全体の α が0.05になるように調整する必要があり、この方法の1つとしてBonferroniの補正がある（Hulley et al., 2001）。この補正は検定回数をNとすると全体の α （=0.05）をNで割ったもの（ α/N ）を、各解析の有意水準とする方法である（Hulley et al., 2001）。妊婦の受動喫煙と1遺伝子多型の場合（4回の検定あり）は $P < 0.0125$ （=0.05/4）、妊婦の受動喫煙と2遺伝子多型との組合せの場合（8回の検定あり）は $P < 0.00625$ （=0.05/8）、妊婦の受動喫煙と3遺伝子多型との組合せの場合（16回の検定あり）は $P < 0.003125$ （=0.05/16）で有意差を認めるとした。統計解析にはSPSS ver.15およびJMP ver.10を用いた。

（倫理面への配慮）

本研究は、北海道大学大学院医学研究科・医の倫理委員会の倫理規定に従って実施し、インフォームド・コンセントはヘルシンキ宣言に基づいて行った。本研究によって得られた個人名及び個人データの漏洩が一切生じないよう、研究者によりデータ保管を厳重に行った。採血の方法は日常の一般診療で行われている血液生化学検査の際の採血と全く同様であり、格段の危険性

は伴わなかった。

C . 研究結果

母の属性では、非喫煙妊婦と比較して、受動喫煙妊婦は年齢が若く（ $P < 0.001$ ）、妊娠時飲酒が少なく（ $P = 0.042$ ）、低学歴の割合が高く（ $P = 0.003$ ）、低所得の割合が高かった（ $P = 0.002$ ）。しかし、妊婦の身長、妊娠前体重、BMI および出産歴では有意な差はなかった（表 1）。

また児の属性では、非喫煙妊婦の児と比較して、受動喫煙妊婦の児は在胎週数が長かった（ $P < 0.001$ ）。しかし、児の性別、出生時体重、出生時身長、出生時頭囲、低出生時体重児、および Small-for-gestational-age（SGA）では有意な差はなかった（表 2）。

妊婦の受動喫煙が出生時体格に及ぼす影響とその性差では、非喫煙妊婦の児と比較して、受動喫煙妊婦の児の出生時体格は減少した（出生時体重, 35g 減少, $P = 0.043$; 出生時身長, 0.24cm 減少, $P = 0.013$; 出生時頭囲, 0.15cm 減少, $P = 0.047$ ）。さらに児の性別で層別すると、受動喫煙妊婦の男児の出生時体格は減少したが（出生時体重, 71g 減少, $P = 0.007$; 出生時身長, 0.48cm 減少, $P < 0.001$; 出生時頭囲, 0.26cm 減少, $P = 0.031$ ）、女児では有意な差はなかった（図 3）。

妊婦の遺伝子多型による出生時体格では、*CYP1A2*（A>C）遺伝子多型の頻度で非喫煙妊婦と受動喫煙妊婦との間に有意差が認められた（ $P = 0.023$ ）。しかし、*AHR*（G>A）、*CYP1B1*（C>G）、*GSTM1*（Present/Absent）、*GSTT1*（Present/Absent）、*XRCC1*（C>T）および *XRCC1*（G>A）遺伝子多型は有意差が認められなかった（表 3）。

妊婦の遺伝子多型による出生時体格では、妊婦の遺伝子多型による出生時体格に有意な差はなかった（表 4）。

妊婦の受動喫煙と遺伝子多型による出生時体格とその性差では、非喫煙で *CYP1A2*（A>C）遺伝子多型の AA 型をもつ妊婦の児と比較して、受動喫煙で AC/CC 型をもつ妊婦の児の出生時頭囲は 0.28cm 減少した（95%CI; -0.49, -0.08）。次に、非喫煙で *CYP1B1*（C>G）遺伝子多型の CC 型をもつ妊婦の児と比較して、受動喫煙で CG/GG 型をもつ妊婦の児の出生時頭囲は 0.29cm 減少した（95%CI; -0.51, -0.08）。さらに、非喫煙で *XRCC1*（C>T）遺伝子多型の CC 型をもつ妊婦の児と比較して、受動喫煙で CT/TT 型をもつ妊婦の児の出生時身長は 0.44cm 減少した（95%CI; -0.72, -0.17）。いずれの遺伝子多型についても、遺伝-環境交互作用は有意な差が認められなかった（表 5）。

次に児の性別で層別すると、男児は、非喫煙で *CYP1B1*（C>G）遺伝子多型の CC 型をもつ妊婦の児と比較して、受動喫煙で CG/GG 型をもつ妊婦の児の出生時身長は 0.59 cm 減少（95%CI; -0.99, -0.19）、出生時頭囲は 0.50 cm 減少した（95%CI; -0.85, -0.15）。また、非喫煙で *XRCC1*（C>T）遺伝子多型の CC 型を持つ妊婦の児と比較して、受動喫煙で CT/TT 型をもつ妊婦の児の出生時身長は 0.66 cm 減少し（95%CI; -1.03, -0.28）、さらに遺伝-環境交互作用が認められた（ $P = 0.009$ ）。しかし、これらの遺伝子多型は女児では有意な差がなく、男児のみへの影響であることが示された（表 6）。

さらに遺伝子多型の組合せで、非喫煙で *CYP1A2*（A>C）遺伝子多型が AA 型、*CYP1B1*（C>G）遺伝子多型が CC 型をもつ妊婦の児と比較して、受動喫煙で

CYP1A2 遺伝子多型が AC/CC 型、*CYP1B1* 遺伝子多型が CG/GG 型をもつ妊婦の児の出生時頭囲は 0.41cm 減少したが（95%CI; -0.70, -0.12）他の組合せでは関連がなく、性差も関連が認められなかった（表 7）。

最後に *CYP1A2*（A>C）、*CYP1B1*（C>G）および *XRCC1*（C>T）の 3 つの遺伝子多型を組合せても児の出生時体格との関連は有意な差が認められなかった（表なし）。

D．考察

本研究は、受動喫煙と *CYP1A2*、*CYP1B1* および *XRCC1* 遺伝子多型が出生時体格に影響を及ぼす、一部性差も認められた初めての報告である。

非喫煙妊婦の児と比較して、受動喫煙妊婦の児は出生時体格の減少を認めた。特に男児で出生時体格の減少が大きいことを認めた。本研究の結果から、受動喫煙の少ない化学物質の曝露量が出生時体格に影響を及ぼしている可能性が考えられる。妊婦の化学物質曝露が児の発育に及ぼす影響の性差で、ダイオキシン類、粒子状物質の PM2.5 および鉛は男児のみ出生時体格の減少を認めた（Konishi et al., 2009; Kishi et al., 2011; Bellinger et al., 1987; Jedrychowski et al., 2010）。この結果だけでたばこ煙の化学物質は特定できないが、妊婦の受動喫煙は胎児発育への影響にも性差があると考えられる。

CYP1A2（A>C, *CYP1A2*1F*）遺伝子多型では、非喫煙で AA 型の妊婦の児と比較して、受動喫煙で AC/CC 型の妊婦の児の出生時頭囲の減少を認めた。また *CYP1B1*（C>G, Leu432Val）遺伝子多型では、非喫煙で CC 型の妊婦の児と比較して、受動喫

煙で CG/GG 型の妊婦の児の出生時頭囲の減少を認めた。*CYP1A2* 遺伝子多型の AC/CC 型および *CYP1B1* 遺伝子多型の CG/GG 型では酵素の代謝活性が高いことが報告されていることから（Wang et al., 2013; Schoket et al., 2001）*CYP1A2* 遺伝子多型の AA 型と比較して AC/CC 型の妊婦、*CYP1B1* 遺伝子多型の CC 型と比較して CG/GG 型の妊婦は受動喫煙によってたばこ煙を体外から取り込むことで、BPDE がより生成されて、DNA 付加体が形成されやすいことにより、さらに胎盤組織の DNA が損傷し、児の出生時体格に影響を及ぼしたと考えられる。

XRCC1（C>T, Arg194Trp）遺伝子多型では、非喫煙で CC 型の妊婦の児と比較して、受動喫煙で CT/TT 型の妊婦の児の出生時身長減少を認めた。*XRCC1* 遺伝子多型の CC 型の妊婦と比較して、CT/TT 型の妊婦は DNA 修復能が低いために、BPDE-DNA 付加体がより多くなると考えられる。また、受動喫煙妊婦の胎盤には PAH-DNA 付加体が存在し（Zalacain et al., 2006; Sanyal et al., 2007）ヒトの細胞実験で PAHs はヒトの細胞死を高めたとの報告から（Rorke et al., 1998）CT/TT 型の妊婦は胎盤組織内で BPDE による DNA 損傷が多いことで胎盤機能の低下が起こり、出生時体格により強い影響が認められたと考えられる。

AHR（G>A, Arg554Lys）、*GSTM1*（Present/deletion）、*GSTT1*（Present/deletion）および *XRCC1*（G>A, Arg399Gln）遺伝子多型は非喫煙妊婦の児と比較して、受動喫煙妊婦の児は出生時体格に有意な差を認めなかった。妊婦の喫煙は児の出生時体重を 135g 減少させたものの（Sasaki et al., 2006）妊婦の受動喫煙は児の出生時体

重を 35g 減少させ、出生時体重の減少量が 75%小さかった。また、特定の遺伝子型の妊婦は少なかった。これらのことが影響して出生時体格に有意な差が認められなかったと考えられる。

妊婦の受動喫煙曝露状況は妊娠後期のコチニン濃度に基づいて判定したため、ある一時点のみの評価である。コチニンの半減期は 17.9 時間であり（Dempsey et al., 2013）、長い妊娠期間の受動喫煙曝露状況が正確に反映されていないと考えられる。しかし、先行研究では同時期に得られた質問票とコチニン濃度との正の相関が報告されている（Pichini et al., 2000）。また、同時期の自記式調査票による受動喫煙曝露状況と同じ時期に時間が異なった数回のコチニン濃度との両方が受動喫煙曝露評価分類の正確性を高められると報告されていることから、本研究においても受動喫煙状況を十分把握できていると考える。

低体重で生まれた児は小児期の肥満、成人期の生活習慣病との関連が示唆されており、生後の身体発育に及ぼす影響も追跡していく必要がある。わが国における妊婦の受動喫煙率は 53.0%と報告されていて（Yila et al., 2012）妊婦だけでなく、配偶者や職場の同僚に禁煙教育をし、受動喫煙防止を周知していくことが重要である。

E . 結論

妊婦の受動喫煙は児の出生時体格に影響を及ぼし、男児で強い影響が認められた。PAHs 代謝に関わる遺伝子多型で関連が認められたのは、*CYP1A2*、*CYP1B1* および *XRCC1* 遺伝子多型の 3 つであり、男児でより強い影響があった。副流煙に多く含まれる PAHs に注目し、その代謝に関連する遺伝子多型について検討したが、他に副流

煙に多く含まれる N-ニトロソアミン類やカルボニル化合物類の代謝や解毒に関わる酵素の遺伝子多型についても検討していく必要がある。また、低体重で生まれた児は小児期の肥満、成人期の生活習慣病との関連が示唆されており、生後の身体発育に及ぼす影響も追跡していく必要がある。

F . 研究発表

1 . 論文発表

1) Kobayashi SU., Sasaki S., Sata F., Miyashita C., Yila T. A., Braimoh T. S., Itoh K., Kobayashi SA., Ikeno T., Araki A., Tamakoshi A., Kishi R. Adverse effects on birth sizes among male infants associated with maternal passive smoking during pregnancy and polycyclic aromatic hydrocarbon metabolizing-enzyme polymorphisms in Japanese pregnant women. *Molecular Human Reproduction* (Submitted).

2 . 学会発表

なし

G . 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

参考文献

- 1) Adams J.D., et al. Toxic and carcinogenic agents in undiluted mainstream smoke and sidestream smoke of different types of cigarettes. *Carcinogenesis* 8: 729-731 (1987).
- 2) Bellinger D., et al. Longitudinal analyses of prenatal and postnatal lead exposure and early cognitive

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

- development. *N Engl J Med* 316: 1037-1043 (1987).
- 3) Borgerding M., Klus H. Analysis of complex mixture cigarette smoke. *Exp Toxicol Pathol* 57: 43-73 (2005).
 - 4) Brunnemann K.D., Hoffmann D. Analytical studies on tobacco-specific N-nitrosamines in tobacco and tobacco smoke. *Crit Rev Toxicol* 21: 235-240 (1991).
 - 5) Danileviciute A., et al. Low level maternal smoking and infant birthweight reduction: genetic contributions of GSTT1 and GSTM1 polymorphisms. *BMC Pregnancy Childbirth* 12: 161 (2012).
 - 6) Dempsey D.A., et al. CYP2A6 genotype but not age determines cotinine half-life in infants and children. *Clin Pharmacol Ther* 94: 400-406 (2013).
 - 7) Fantuzzi G., et al. Preterm delivery and exposure to active and passive smoking during pregnancy: a case-control study from Italy. *Paediatr Perinat Epidemiol* 21: 194-200 (2007).
 - 8) George L., et al. Environmental tobacco smoke and risk of spontaneous abortion. *Epidemiology* 17: 500-505 (2006).
 - 9) Hully S.B., et al. Designing clinical research: an epidemiological approach, second edition. Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, USA (2001).
 - 10) Jacoby P.A., et al. The effect of passive smoking on the risk of otitis media in Aboriginal and non-Aboriginal children in the Kalgoorlie-Boulder region of Western Australia. *Med J Aust* 188: 599-603.
 - 11) Jedrychowski W., et al. Gender specific differences in neurodevelopmental effects of prenatal exposure to very low-lead levels: the prospective cohort study in three-year olds. *Early Hum Dev* 85: 503-510 (2009).
 - 12) Jedrychowski W., et al. Gender differences in fetal growth of newborns exposed prenatally to airborne fine particle matter. *Environ Res* 109: 447-456 (2010).
 - 13) Kishi R., et al. Cohort profile: The Hokkaido Study on Environment and Children's Health in Japan. *Int J Epidemiol* 40: 611-618 (2011).
 - 14) Konishi K., et al. Prenatal exposure to PCDDs/PCDFs and dioxin-like PCBs in relation to birth weight. *Environ Res* 109: 906-913 (2009)
 - 15) Kurahashi N., et al. Passive smoking and lung cancer in Japanese non-smoking women: a prospective study. *Int J Cancer* 122: 653-657 (2008).
 - 16) Li Z., et al. Maternal passive smoking and risk of cleft lip with or without cleft palate. *Epidemiology* 21: 240-242 (2010).

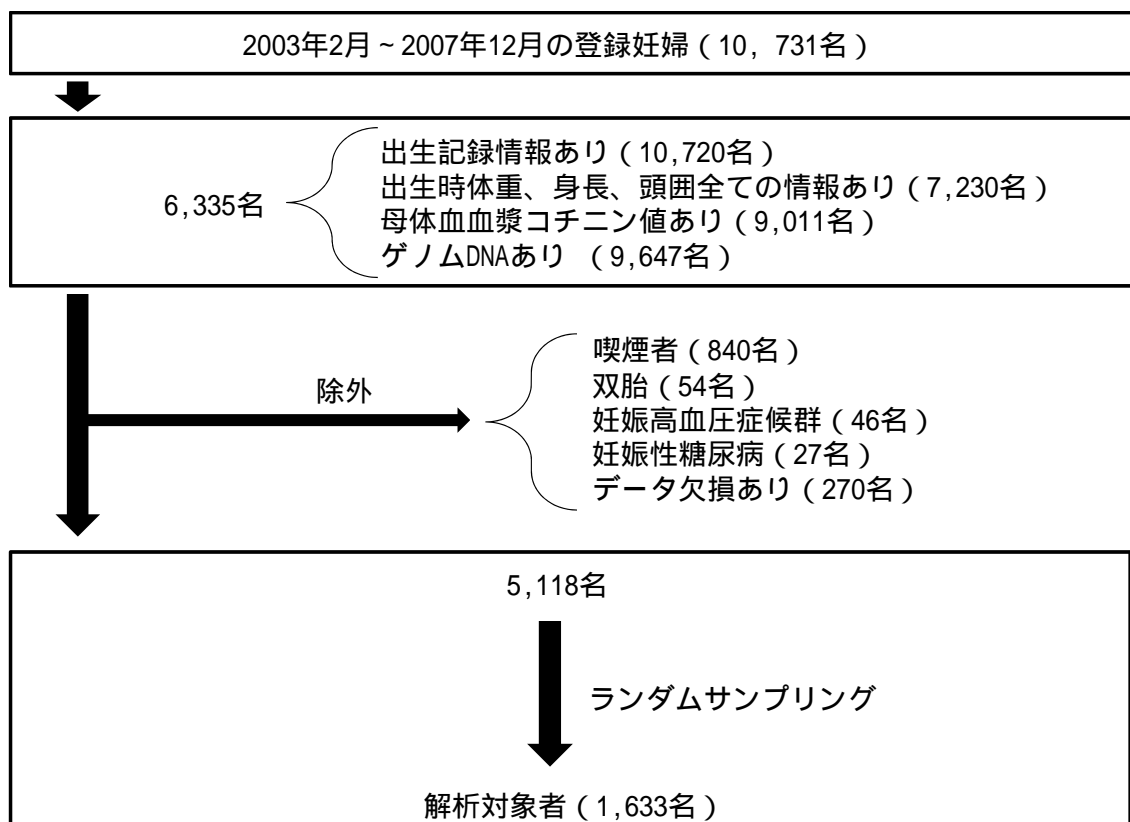
- 17) Miyashita C., et al. Effects of prenatal exposure to dioxin-like compounds on allergies and infections during infancy. *Environ Res* 111: 551-558 (2011).
- 18) Nebert D.W., Dalton D.P. The role of cytochrome P450 enzymes in endogenous signaling pathways and environmental carcinogenesis. *Nat Rev Cancer* 6: 947-960 (2006).
- 19) Pichini S., et al. Cord serum cotinine as a biomarker of fetal exposure to cigarette smoke at the end of pregnancy. *Environ Health Perspect* 108: 1079-1083 (2000).
- 20) Rorke E.A., et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons enhance terminal cell death of human ectocervical cells. *Int J Oncol* 13: 557-563 (1998).
- 21) Sanyal M.K., et al. DNA adducts in human placenta exposed to ambient environment and passive cigarette smoke during pregnancy. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 79: 289-294 (2007)
- 22) Sasaki S., et al. Maternal smoking during pregnancy and genetic polymorphisms in the Ah receptor, CYP1A1 and GSTM1 affect infant birth size in Japanese subjects. *Mol Hum Reprod* 12: 77-83 (2006).
- 23) Sasaki S., et al. Self-reported tobacco smoke exposure and plasma cotinine levels during pregnancy A validation study in Northern Japan. *Sci Total Environ* 412-413: 114-118.
- 24) Schoket B., et al. Impact of metabolic genotypes on levels of biomarkers of genotoxic exposure. *Mutat Res* 482: 57-69.
- 25) Suarez L., et al. Maternal smoking, passive tobacco smoke, and neural tube defect. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 91: 29-33 (2011).
- 26) US Department of Health and Human Service. *Cigar* (1998).
- 27) Wang L., et al. Association between common CYP1A2 polymorphisms and theophylline metabolism in non-smoking healthy volunteers. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 112: 257-263 (2013).
- 28) Wang X., et al. Maternal cigarette smoking, metabolic gene polymorphism, and infant birth weight. *JAMA* 287: 195-202 (2002).
- 29) Washino N., et al. Correlation between prenatal exposure to perfluorinated chemicals and reduced fetal growth. *Environ Health Perspect* 117: 660-667 (2009).
- 30) Windham G.C., et al. Prenatal active or passive tobacco smoke exposure and the risk of preterm delivery or low birth weight. *Epidemiology* 11: 427-433 (2000).
- 31) Xepapadaki P., et al. Association of passive exposure of pregnant women to environmental tobacco smoke with

asthma symptoms in children.
Pediatr Allergy Immunol 20: 423-429
(2009).

32) Yila T.A., et al. Effects of maternal
5,10-methylenetetrahydrofolate
reductase C677T and A1298C
polymorphisms and tobacco smoking
on infant birth weight in a Japanese
population. J Epidemiol 22: 91-102
(2012).

33) Zalacain M., et al. Effects of
benzopyrene-7,8-diol-9,10-epoxide
(BPDE) in vitro and of maternal
smoking in vivo on micronuclei
frequencies in fetal cord blood.
Pediatr Res 60: 180-184 (2006).

図1. 解析対象者の選出方法



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

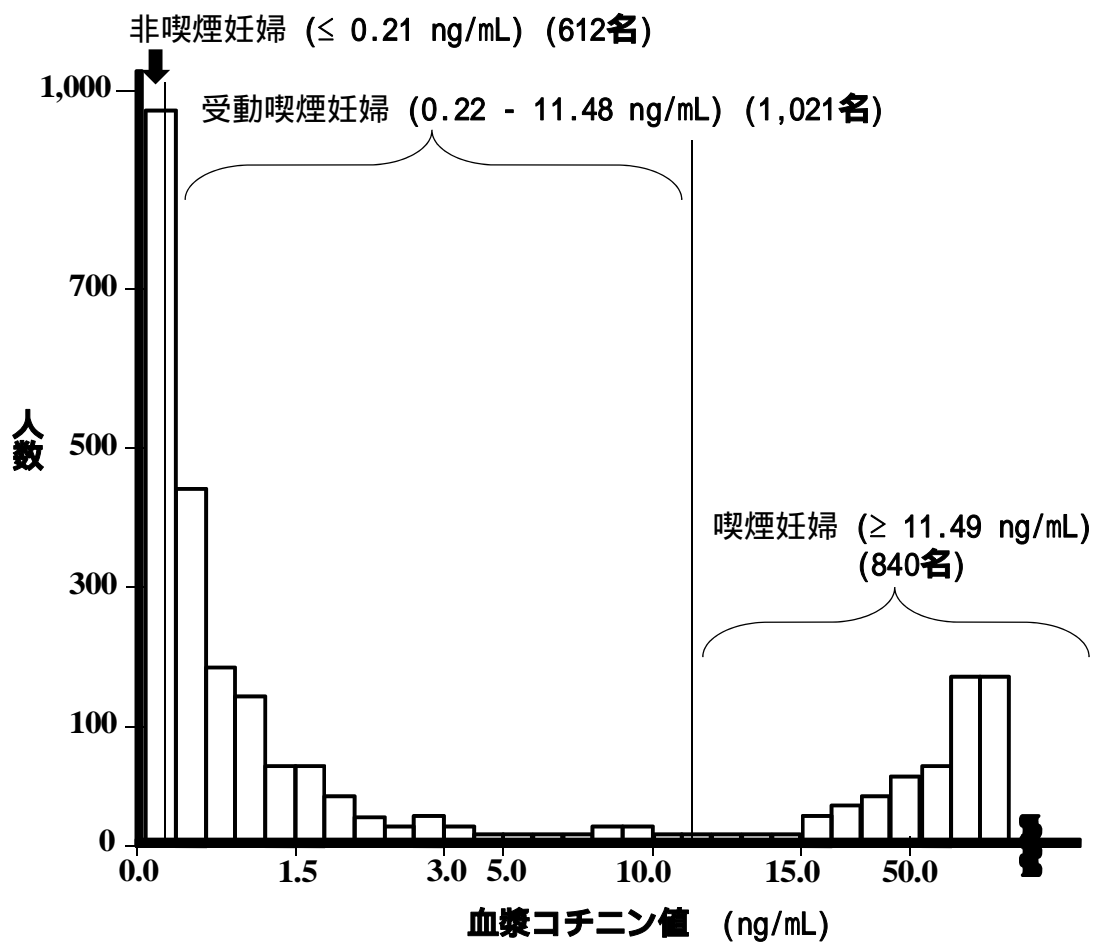


図2. 母体血漿コチニン値の分布図

非喫煙妊婦と受動喫煙妊婦のカットオフ値は 0.21 ng/mL.

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

表 1. 妊娠中の受動喫煙状況による妊婦の属性

属性	妊婦の受動喫煙状況		P
	非喫煙 ≤0.21 ng/mL ^a (N = 612)	受動喫煙 0.22-11.48 ng/mL ^a (N = 1,021)	
年齢(年)	31.5 (4.1)	30.0 (4.4)	<0.001
身長(cm)	158.1 (5.1)	158.2 (5.1)	0.588
妊娠前体重(kg)	53 (9)	53 (8)	0.748
妊娠前 BMI (kg/m ²)	21.2 (3.4)	21.0 (3.0)	0.643
妊娠中飲酒者	257 (42.0)	378 (37.0)	0.042
出産歴			
0	255 (41.7)	496 (48.5)	0.075
1	251 (41.0)	380 (37.2)	
2≤	106 (17.3)	145 (14.3)	
教育歴(年)			
≤9	4 (0.7)	29 (2.8)	0.003
10-12	239 (39.1)	437 (42.8)	
13-16	277 (45.3)	442 (43.2)	
17≤	92 (15.0)	113 (11.1)	
世帯収入(百万円)			
<3	93 (15.2)	231 (22.6)	0.002
3-<5	279 (45.6)	452 (44.3)	
5-<7	184 (30.1)	264 (25.8)	
7≤	56 (9.2)	74 (7.2)	

連続変数は平均(標準偏差)、カテゴリー変数は N(%).

Kruskal-Wallis 検定あるいは ² 検定.

^a; 血漿コチニン値.

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

表 2. 妊娠中の受動喫煙状況による児の属性

属性	妊婦の受動喫煙状況		P
	非喫煙 ≤0.21 ng/mL ^a (N = 612)	受動喫煙 0.22-11.48 ng/mL ^a (N = 1,021)	
在胎週数(週)	38.9 (1.2)	39.1 (1.2)	<0.001
性別			
男児	307 (50.2)	467 (45.4)	0.067
女児	305 (49.8)	562 (54.6)	
出生時体重(g)			
全児	3,091 (392)	3,072 (377)	0.456
男児	3,163 (393)	3,127 (387)	0.469
女児	3,018 (379)	3,026 (364)	0.893
出生時身長(cm)			
全児	49.2 (2.1)	49.1 (2.0)	0.439
男児	49.6 (2.1)	49.4 (2.0)	0.378
女児	48.8 (2.1)	48.8 (2.1)	0.806
出生時頭囲(cm)			
全児	33.4 (1.7)	33.2 (1.4)	0.045
男児	33.7 (2.0)	33.4 (1.4)	0.137
女児	33.1 (1.3)	33.0 (1.3)	0.382
低出生体重児(<2,500 g)	25 (4.0)	52 (5.1)	0.399
SGA ^b	55 (8.9)	104 (10.1)	0.439

連続変数は平均(標準偏差)、カテゴリー変数はN(%)。

Kruskal-Wallis 検定あるいは²検定で統計解析。

^a; 血漿コチニン値、^b; Small-for-gestational-age.

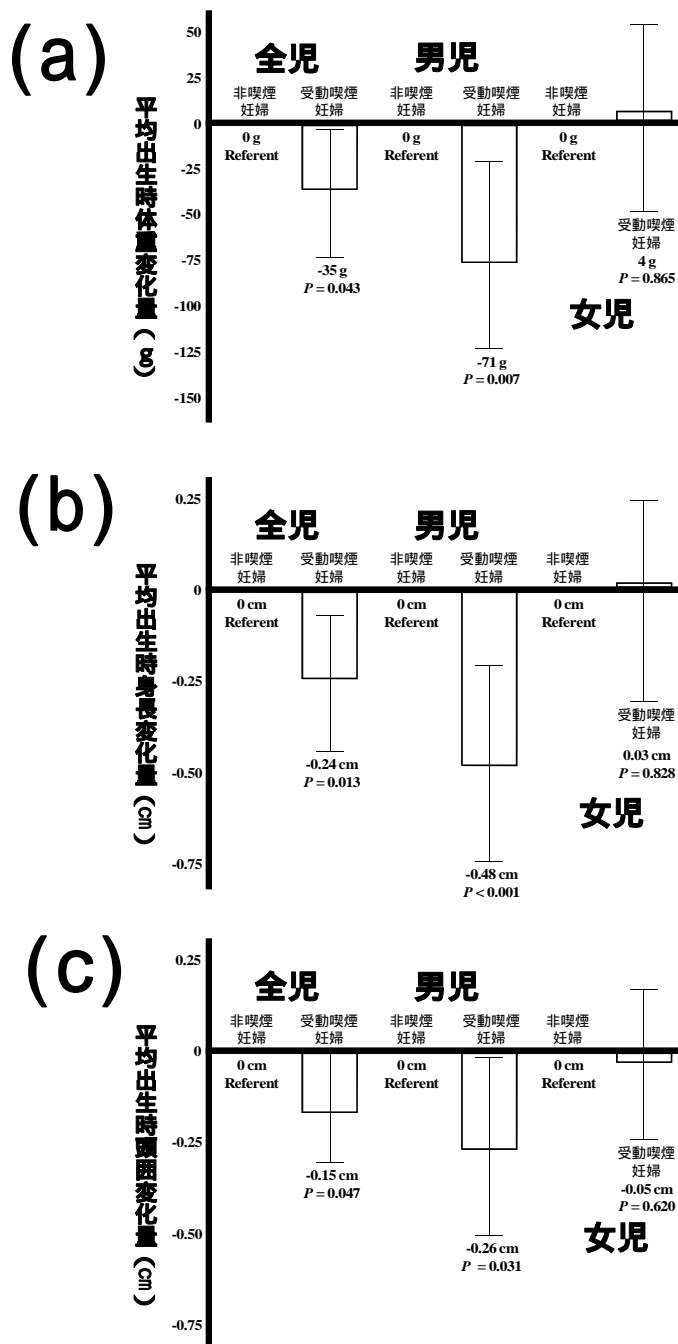


図3. 非喫煙妊婦と受動喫煙妊婦の児の出生時体格の比較

(a) 出生時体重、(b) 出生時身長、(c) 出生時頭囲。

Bar は調整平均と 95%信頼区間。

妊婦の受動喫煙状況: 非喫煙妊婦(血漿コチニン値; ≤ 0.21 ng/mL)、受動喫煙妊婦(血漿コチニン値; 0.22-11.48 ng/mL)。

重回帰分析は妊娠年齢、妊娠前 BMI、妊娠中飲酒、出産歴、教育歴、児の性別および在胎週数で調整。

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

表 3. 妊娠中受動喫煙状況による妊婦の遺伝子多型頻度

	妊婦の受動喫煙状況		P
	非喫煙 ≤0.21 ng/mL ^a (N = 612)	受動喫煙 0.22-11.48 ng/mL ^a (N = 1,021)	
妊婦の遺伝子多型			
<i>AHR</i> (G>A, Arg554Lys)			
GG	178 (29.1)	304 (29.8)	0.789
GA	308 (50.3)	496 (48.6)	
AA	126 (20.6)	221 (21.6)	
<i>CYP1A2</i> (A>C, CYP1A2*1F)			
AA	273 (44.6)	400 (39.2)	0.023
AC	274 (44.8)	472 (46.2)	
CC	65 (10.6)	149 (14.6)	
<i>CYP1B1</i> (C>G, Leu432Val)			
CC	463 (75.7)	760 (74.4)	0.814
CG	135 (22.1)	239 (23.4)	
GG	14 (2.3)	22 (2.2)	
<i>GSTM1</i> (Present/Absent)			
Present	283 (46.2)	463 (45.3)	0.758
Absent	329 (53.8)	558 (54.7)	
<i>GSTT1</i> (Present/Absent)			
Present	340 (55.6)	564 (55.2)	0.918
Absent	272 (44.4)	457 (44.8)	
<i>XRCC1</i> (C>T, Arg194Trp)			
CC	276 (45.1)	491 (48.1)	0.349
CT	276 (45.1)	423 (41.4)	
TT	60 (9.8)	107 (10.5)	
<i>XRCC1</i> (G>A, Arg399Gln)			
GG	349 (57.0)	566 (55.4)	0.565
GA	216 (35.3)	385 (37.7)	
AA	47 (7.7)	70 (6.9)	

N(%). ²検定で統計解析. ^a; 血漿コチニン値.

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

表 4. 妊婦の遺伝子多型による出生時体格

妊婦の遺伝子多型	出生時体重 (g)		出生時身長 (cm)		出生時頭囲 (cm)	
	(95%CI)	P	(95%CI)	P	(95%CI)	P
<i>AHR</i> (G>A)						
GA/AA (N = 1,151)	Referent		Referent		Referent	
GG (N = 482)	27 (-9, 62)	0.141	0.08 (-0.12, 0.28)	0.418	0.06 (-0.09, 0.21)	0.423
<i>CYP1A2</i> (A>C)						
AA (N = 673)	Referent		Referent		Referent	
AC/CC (N = 960)	-5 (-38, 28)	0.747	0.05 (-0.13, 0.23)	0.605	-0.13 (-0.27, 0.01)	0.066
<i>CYP1B1</i> (C>G)						
CC (N = 1,223)	Referent		Referent		Referent	
CG/GG (N = 410)	-1 (-38, 36)	0.959	0.01 (-0.19, 0.22)	0.900	-0.13 (-0.29, 0.03)	0.119
<i>GSTM1</i> (Present/Absent)						
Present (N = 746)	Referent		Referent		Referent	
Absent (N = 887)	-25 (-58, 7)	0.126	-0.08 (-0.26, 0.10)	0.367	-0.01 (-0.15, 0.13)	0.891
<i>GSTT1</i> (Present/Absent)						
Present (N = 904)	Referent		Referent		Referent	
Absent (N = 729)	13 (-20, 46)	0.434	-0.02 (-0.20, 0.16)	0.828	0.05 (-0.09, 0.19)	0.471
<i>XRCC1</i> (C>T)						
CC (N = 767)	Referent		Referent		Referent	
CT/TT (N = 866)	-1 (-33, 31)	0.949	-0.11 (-0.29, 0.07)	0.220	0.03 (-0.10, 0.17)	0.622
<i>XRCC1</i> (G>A)						
GG (N = 915)	Referent		Referent		Referent	
GA/AA (N = 718)	15 (-17, 48)	0.358	0.02 (-0.16, 0.20)	0.848	0.03 (-0.11, 0.17)	0.699

妊婦の遺伝子多型：*AHR* (G>A), *AHR* (G>A, Arg554Lys); *CYP1A2* (A>C), *CYP1A2* (A>C, CYP1A2*1F); *CYP1B1* (C>G), *CYP1B1* (C>G, Leu432Val); *XRCC1* (C>T), *XRCC1* (C>T, Arg194Trp); *XRCC1* (G>A), *XRCC1* (G>A, Arg399Gln).

妊娠年齢、妊娠前 BMI、妊娠中飲酒、出産歴、在胎週数、児の性別、および教育歴で調整した重回帰分析。

は調整した後の Referent 群とそれぞれの群との平均出生時体重、身長、あるいは頭囲の違い。

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

表 5. 妊婦の受動喫煙と遺伝子多型による出生時体格

妊婦の受動喫煙状況	妊婦の遺伝子多型	出生時体重 (g)		出生時身長 (cm)		出生時頭囲 (cm)	
		(95%CI)	P	(95%CI)	P	(95%CI)	P
	<i>CYP1A2</i> (A>C)						
非喫煙	AA (N = 273)	Referent		Referent		Referent	
	AC/CC (N = 339)	30 (-23, 83)	0.267	0.32 (0.02, 0.61)	0.034	-0.18 (-0.41, 0.05)	0.118
受動喫煙	AA (N = 400)	-4 (-56, 48)	0.883	-0.02 (-0.31, 0.26)	0.889	-0.20 (-0.42, 0.02)	0.070
	AC/CC (N = 621)	-26 (-74, 22)	0.287	-0.11 (-0.37, 0.15)	0.417	-0.28 (-0.49, -0.08)	0.006*
Interaction							
Crude		32 (-46, 110)	0.422	0.32 (-0.10, 0.74)	0.138	-0.15 (-0.46, 0.16)	0.334
Adjusted		52 (-15, 119)	0.131	0.41 (0.03, 0.78)	0.033	-0.10 (-0.39, 0.19)	0.493
	<i>CYP1B1</i> (C>G)						
非喫煙	CC (N = 463)	Referent		Referent		Referent	
	CG/GG (N = 149)	-2 (-64, 60)	0.951	-0.07 (-0.41, 0.27)	0.702	-0.02 (-0.29, 0.24)	0.860
受動喫煙	CC (N = 760)	-34 (-73, 5)	0.091	-0.28 (-0.49, -0.06)	0.033	-0.11 (-0.28, 0.06)	0.197
	CG/GG (N = 261)	-33 (-85, 18)	0.200	-0.21 (-0.50, 0.07)	0.136	-0.29 (-0.51, -0.08)	0.008*
Interaction							
Crude		8 (-81, 97)	0.853	0.20 (-0.28, 0.67)	0.424	-0.11 (-0.46, 0.24)	0.546
Adjusted		2 (-75, 80)	0.955	0.13 (-0.30, 0.56)	0.547	-0.16 (-0.49, 0.17)	0.345
	<i>XRCC1</i> (C>T)						
非喫煙	CC (N = 276)	Referent		Referent		Referent	
	CT/TT (N = 336)	-24 (-47, 107)	0.386	-0.26 (-0.56, 0.03)	0.082	-0.15 (-0.37, 0.08)	0.214
受動喫煙	CC (N = 491)	-56 (-106, -5)	0.031	-0.40 (-0.68, -0.12)	0.005*	-0.32 (-0.53, -0.10)	0.004*
	CT/TT (N = 530)	-47 (-97, 2)	0.062	-0.44 (-0.72, -0.17)	0.002*	-0.19 (-0.40, 0.02)	0.078
Interaction							
Crude		30 (-47, 107)	0.443	0.22 (-0.20, 0.63)	0.299	0.26 (-0.04, 0.57)	0.086
Adjusted		32 (-36, 100)	0.354	0.22 (-0.16, 0.59)	0.260	0.27 (-0.02, 0.56)	0.068

妊婦の遺伝子多型: *CYP1A2* (A>C), *CYP1A2* (A>C, *CYP1A2**1F); *CYP1B1* (C>G), *CYP1B1* (C>G, Leu432Val); *XRCC1* (C>T), *XRCC1* (C>T, Arg194Trp).

妊娠年齢、妊娠前 BMI、妊娠中飲酒、出産歴、在胎週数、児の性別、および教育歴で調整した重回帰分析。

は調整した後の Referent 群とそれぞれの群との間の平均出生時体重、身長、あるいは頭囲の違い。

Interaction は妊婦の受動喫煙状況と遺伝子の組合せで作られたダミーの独立変数に対する積項。

Interaction の は最もハイリスクと関連すると予想される妊婦の遺伝子型 × 受動喫煙曝露で作られる積項。

*; Bonferroni 補正後有意。

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

表 6. 妊婦の受動喫煙と遺伝子多型による出生時体格の性差

妊婦の受動喫煙状況	妊婦の遺伝子多型	出生時体重 (g)		出生時身長 (cm)		出生時頭圍 (cm)	
		(95%CI)	P	(95%CI)	P	(95%CI)	P
男児							
	<i>CYP1A2</i> (A>C)						
非喫煙	AA (N = 135)	Referent		Referent		Referent	
	AC/CC (N = 172)	-45 (-123, 33)	0.256	-0.21 (-0.62, 0.20)	0.307	-0.46 (-0.82, -0.10)	0.012
受動喫煙	AA (N = 173)	38 (-39, 116)	0.331	0.36 (-0.04, 0.77)	0.080	-0.28 (-0.64, 0.08)	0.125
	AC/CC (N = 289)	-52 (-123, 18)	0.147	-0.32 (-0.69, 0.05)	0.090	-0.39 (-0.72, -0.06)	0.021
Interaction							
Crude		43 (-71, 158)	0.458	0.45 (-0.14, 1.05)	0.137	-0.33 (-0.82, 0.16)	0.183
Adjusted		46 (-55, 146)	0.373	0.47 (-0.06, 1.00)	0.081	-0.35 (-0.82, 0.11)	0.138
女児							
	<i>CYP1A2</i> (A>C)						
非喫煙	AA (N = 138)	Referent		Referent		Referent	
	AC/CC (N = 167)	33 (-37, 102)	0.356	0.13 (-0.27, 0.53)	0.519	0.02 (-0.25, 0.29)	0.905
受動喫煙	AA (N = 227)	18 (-56, 91)	0.641	0.24 (-0.18, 0.67)	0.261	-0.09 (-0.38, 0.19)	0.527
	AC/CC (N = 332)	1 (-65, 66)	0.985	0.08 (-0.29, 0.46)	0.658	-0.17 (-0.42, 0.08)	0.183
Interaction							
Crude		23 (-81, 127)	0.663	0.22 (-0.36, 0.79)	0.461	0.03 (-0.34, 0.39)	0.882
Adjusted		50 (-42, 142)	0.289	0.29 (-0.24, 0.82)	0.283	0.10 (-0.26, 0.45)	0.598
男児							
	<i>CYP1B1</i> (C>G)						
非喫煙	CC (N = 239)	Referent		Referent		Referent	
	CG/GG (N = 68)	32 (-60, 125)	0.490	-0.12 (-0.61, 0.37)	0.629	-0.08 (-0.50, 0.35)	0.727
受動喫煙	CC (N = 340)	-52 (-109, 6)	0.081	-0.48 (-0.78, -0.17)	0.002*	-0.20 (-0.47, 0.07)	0.145
	CG/GG (N = 122)	-98 (-174, -22)	0.012	-0.59 (-0.99, -0.19)	0.004*	-0.50 (-0.85, -0.15)	0.005*
Interaction							
Crude		-53 (-185, 80)	0.433	0.14 (-0.55, 0.83)	0.685	-0.13 (-0.70, 0.43)	0.648
Adjusted		-79 (-195, 37)	0.181	0.01 (-0.60, 0.62)	0.979	-0.23 (-0.76, 0.31)	0.407

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

表 6. 続き

妊婦の受動喫煙状況	妊婦の遺伝子多型	出生時体重 (g)		出生時身長 (cm)		出生時頭囲 (cm)	
		(95%CI)	P	(95%CI)	P	(95%CI)	P
女兒							
	<i>CYP1B1</i> (C>G)						
非喫煙	CC (N = 224)	Referent		Referent		Referent	
	CG/GG (N = 81)	-14 (-67, 39)	0.608	-0.08 (-0.39, 0.23)	0.604	-0.01 (-0.22, 0.19)	0.899
受動喫煙	CC (N = 420)	-32 (-115, 51)	0.450	-0.00 (-0.48, 0.47)	0.995	0.04 (-0.28, 0.37)	0.783
	CG/GG (N = 139)	25 (-44, 95)	0.477	0.13 (-0.27, 0.53)	0.533	-0.10 (-0.36, 0.17)	0.487
Interaction							
Crude		42 (-76, 160)	0.485	0.12 (-0.53, 0.77)	0.720	-0.17 (-0.59, 0.25)	0.421
Adjusted		71 (-33, 175)	0.181	0.21 (-0.39, 0.81)	0.493	-0.13 (-0.53, 0.28)	0.536
男児							
	<i>XRCC1</i> (C>T)						
非喫煙	CC (N = 148)	Referent		Referent		Referent	
	CT/TT (N = 159)	8 (-69, 85)	0.841	-0.16 (-0.57, 0.24)	0.425	-0.06 (-0.41, 0.30)	0.753
受動喫煙	CC (N = 217)	-54 (-127, 18)	0.142	-0.46 (-0.84, -0.28)	0.017	-0.38 (-0.71, 0.11)	0.028
	CT/TT (N = 245)	-78 (-149, 7)	0.031	-0.66 (-1.03, -0.28)	0.001*	-0.21 (-0.54, 0.11)	0.200
Interaction							
Crude		-48 (-126, 30)	0.226	-0.22 (-0.63, 0.18)	0.281	-0.15 (-0.48, 0.19)	0.383
Adjusted		-86 (-155, -16)	0.016	-0.49 (-0.86, -0.13)	0.009*	-0.16 (-0.48, 0.17)	0.339
女兒							
	<i>XRCC1</i> (C>T)						
非喫煙	CC (N = 128)	Referent		Referent		Referent	
	CT/TT (N = 177)	-35 (-104, 34)	0.322	-0.20 (-0.60, 0.19)	0.316	-0.18 (-0.45, 0.08)	0.175
受動喫煙	CC (N = 274)	-39 (-113, 35)	0.298	-0.26 (-0.68, 0.17)	0.237	-0.18 (-0.47, 0.10)	0.208
	CT/TT (N = 285)	-4 (-72, 65)	0.918	-0.15 (-0.55, 0.24)	0.440	-0.12 (-0.38, 0.14)	0.371
Interaction							
Crude		36 (-34, 105)	0.313	0.14 (-0.25, 0.52)	0.482	0.02 (-0.23, 0.26)	0.876
Adjusted		36 (-26, 97)	0.256	0.10 (-0.25, 0.46)	0.573	0.06 (-0.18, 0.30)	0.604

妊婦の遺伝子多型: *CYP1A2* (A>C), *CYP1A2* (A>C, *CYP1A2*1F*); *CYP1B1* (C>G), *CYP1B1* (C>G, Leu432Val); *XRCC1* (C>T), *XRCC1* (C>T, Arg194Trp).

妊娠年齢、妊娠前 BMI、妊娠中飲酒、出産歴、在胎週数、および教育歴で調整した重回帰分析。

は調整した後の Referent 群とそれぞれの群との間の平均出生時体重、身長、あるいは頭囲の違い。

Interaction は妊婦の受動喫煙状況と遺伝子の組合せで作られたダミーの独立変数に対する積項。

Interaction の は最もハイリスクと関連すると予想される妊婦の遺伝子型 × 受動喫煙曝露で作られる積項。

*; Bornferroni 補正後有意。

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

表 7. 妊婦の受動喫煙と遺伝子多型との組合せによる出生時体格

妊婦の受動喫煙状況	妊婦の遺伝子多型	出生時体重 (g)		出生時身長 (cm)		出生時頭囲 (cm)			
		(95%CI)	P	(95%CI)	P	(95%CI)	P		
非喫煙	CYP1A2 (A>C) AA	CYP1B1 (C>G) CC (N = 206) Referent		Referent		Referent			
		CG/GG (N = 67)	-17 (-109, 75)	0.718	-0.06 (-0.56, 0.45)	0.829	-0.20 (-0.60, 0.19)	0.306	
	AC/CC	CC (N = 257)	23 (-38, 84)	0.465	0.32 (-0.02, 0.66)	0.064	-0.26 (-0.52, -0.00)	0.049	
		CG/GG (N = 82)	34 (-52, 119)	0.441	0.25 (-0.22, 0.72)	0.304	-0.14 (-0.50, 0.22)	0.453	
	受動喫煙	AA	CC (N = 307)	-11 (-70, 49)	0.724	-0.06 (-0.38, 0.27)	0.728	-0.18 (-0.43, 0.08)	0.169
			CG/GG (N = 93)	7 (-75, 89)	0.863	0.07 (-0.39, 0.52)	0.775	-0.49 (-0.54, -0.14)	0.006*
AC/CC		CC (N = 453)	-28 (-84, 27)	0.316	-0.13 (-0.44, 0.17)	0.390	-0.31 (-0.54, -0.07)	0.010	
Interaction		CG/GG (N = 168)	-37 (-105, 32)	0.294	-0.10 (-0.47, 0.28)	0.615	-0.41 (-0.70, -0.12)	0.006*	
Crude			-26 (-115, 63)	0.566	-0.13 (-0.60, 0.35)	0.606	-0.11 (-0.46, 0.23)	0.518	
Adjusted			-61 (-139, 17)	0.127	-0.35 (-0.77, 0.08)	0.111	-0.16 (-0.49, 0.17)	0.350	
非喫煙	CYP1A2 (A>C) AA	XRCC1 (C>T) CC (N = 125) Referent		Referent		Referent			
		CT/TT (N = 148)	-12 (-92, 67)	0.762	-0.05 (-0.48, 0.39)	0.836	-0.20 (-0.54, 0.14)	0.251	
	AC/CC	CC (N = 151)	33 (-46, 112)	0.406	0.49 (0.06, 0.92)	0.027	-0.27 (-0.60, 0.07)	0.119	
		CT/TT (N = 188)	14 (-61, 90)	0.707	0.13 (-0.28, 0.55)	0.538	-0.31 (-0.63, 0.02)	0.061	
	受動喫煙	AA	CC (N = 198)	-23 (-98, 52)	0.550	-0.01 (-0.42, 0.41)	0.981	-0.41 (-0.73, -0.09)	0.012
			CT/TT (N = 202)	5 (-70, 79)	0.900	-0.08 (-0.49, 0.33)	0.715	-0.20 (-0.52, 0.12)	0.213
AC/CC		CC (N = 293)	-30 (-100, 40)	0.407	-0.11 (-0.50, 0.28)	0.578	-0.42 (-0.72, -0.13)	0.005*	
Interaction		CT/TT (N = 328)	-36 (-105, 33)	0.306	-0.16 (-0.54, 0.22)	0.413	-0.36 (-0.66, -0.07)	0.015	
Crude			-24 (-89, 40)	0.459	-0.17 (-0.51, 0.18)	0.346	-0.02 (-0.28, 0.23)	0.848	
Adjusted			-52 (-108, 5)	0.072	-0.35 (-0.66, -0.04)	0.027	-0.02 (-0.26, 0.22)	0.843	

妊婦の遺伝子多型：CYP1A2 (A>C), CYP1A2 (A>C, CYP1A2*1F); CYP1B1 (C>G), CYP1B1 (C>G, Leu432Val); XRCC1 (C>T), XRCC1 (C>T, Arg194Trp).

妊娠年齢、妊娠前BMI、妊娠中飲酒、出産歴、在胎週数、児の性別、および教育歴で調整した重回帰分析。

は調整した後のReferent群とそれぞれの群との間の平均出生時体重、身長、あるいは頭囲の違い。

Interactionは妊婦の受動喫煙状況と遺伝子の組合せで作られたダミーの独立変数に対する積項と定義。

Interactionの は最もハイリスクと関連すると予想される妊婦の遺伝子型×受動喫煙曝露で作られる積項。

*; Bornferroni 補正後有意。

胎児期の環境化学物質曝露が児の IGF2/H19 メチル化に及ぼす影響

研究分担者 安住 薫 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 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分野 教授

研究要旨

DNA メチル化はエピジェネティック制御機構のひとつで、胎児期の環境と後生の表現型を結ぶ重要な要素だと考えられている。動物実験により環境化学物質曝露のメチル化への影響が示唆されているが、現在のところ疫学研究での報告、特に胎児期曝露の影響を評価した報告は少ない。そこで、本研究では、胎児期の環境化学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した。

札幌の 1 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・臍帯血の得られた 267 名を対象とし、パイロシーケンス法を用いて 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 PFOS・PFOA、MEHP、PCBs・ダイオキシン類、メチル水銀の影響について重回帰分析で検討を行った。

重回帰分析で交絡因子を調整した結果、胎児期の環境化学物質曝露の臍帯血 DNA メチル化への影響については、PFOA 曝露による IGF2 低メチル化（ $\beta = -1.61$, 95% CI: -3.00 to -0.22）、MEHP 曝露による H19 低メチル化（ $\beta = -0.86$, 95% CI: -1.70 to -0.02）、メチル水銀曝露による LINE1 高メチル化（ $\beta = 0.75$, 95% CI: 0.11 to 1.39）が認められ、PFOS・PFOA、MEHP の胎児期曝露による IGF2/H19 領域メチル化への影響、メチル水銀曝露によるゲノム全体のメチル化の亢進が示唆された。

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）

宮下 ちひろ、池野 多美子、荒木 敦子

（北海道大学環境健康科学研究教育センター）

研究協力者

小林 祥子

（北海道大学環境健康科学研究教育センター）

小林 澄貴

（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）

中澤 裕之（星薬科大学薬品分析化学教室）

那須 民江（中部大学生命健康科学部
スポーツ保健医療学科）

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）

A. 研究目的

近年、胎児期の化学物質曝露等の外的環境が、児の DNA メチル化を始めとするエピジェネティック制御機構に及ぼす影響が懸念されている。DNA メチル化は遺伝子発現・細胞分化に関わっており、細胞独自のメチル化パターンは細胞分裂後も維持されることから、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時体重のほか、乳幼児期の肥満、また成人後の大腸がんなどの発症リスクとの関連も報告されており早期の曝露影響を測る「バイオセンサー」としての役割も提唱されている (Cui et al. 2002; Hoyo et al. 2012)。これまでに DNA メチル化は妊娠中の葉酸摂取や胎児期の飢餓曝露のほか (Dominguez-Salas et al. 2012; Heijmans et al. 2008)、喫煙曝露 (Knopik et al. 2012) などの外的要因の影響を受けることが報告されている。また、動物実験等の報告によると環境化学物質曝露の影響も示唆されているが (Baccarelli and Bollati. 2009)、現在のところ疫学研究での報告、特に胎児期曝露の影響を評価した報告は少ない (表 1)。そこで本研究では、胎児期の環境化学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出生コーホートのサンプルを用いて検討した。

B . 研究方法

1 . 対象

札幌の 1 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、臍帯血の得られた 267 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 PFOS・PFOA 濃度は LC-MS/MS、MEHP 濃度は GC-MS、PCBs・ダイオキシン類濃度は HRGC/HRMS により測定された。母毛髪中の総水銀濃度は酸化燃焼金アマルガム法 (AAS 法) 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

表 2 に本集団における母児の属性について

て示した。母の年齢の平均は 30.0 才 (± 4.9)、出生時体重の平均は 3,133 g (± 334) であった。また、臍帯血 DNA メチル化率の平均値 (± SD) は、IGF2 が 48.7% (± 2.9)、H19 が 52.3% (± 2.0)、LINE1 が 75.8% (± 1.1) であった。また、母体血中化学物質濃度の中央値 (最小値、最大値) は、PFOS 5.00 ng/mL (1.40 to 16.20)、PFOA 1.40 ng/mL (0.25 to 5.30)、MEHP 0.033 nmol/mL (0.012 to 0.365)、Dioxins-TEQ 14.2 pg/g lipid (3.2 to 42.9)、PCBs 100.4 ng/g lipid (16.0 to 326.8)、22'44'55'-HxCB (#153) 22.7 ng/g lipid (2.9 to 77.2)、母毛髪中のメチル水銀は 1.43 ppm (0.30 to 7.55) であった。

表 3 に母体血中化学物質濃度および母毛髪中メチル水銀濃度と、母児の属性との関連について示した。Dioxin-TEQ と PCBs で母の年齢との間に有意な関連が見られた。また有意ではなかったが、PFOS・PFOA では母の年齢との間に負の関連が認められた。母の学歴・世帯収入といった社会経済要因と、PFOA (母の学歴)、Dioxin-TEQ・PCBs (世帯収入) との間に有意な関連が認められた。魚摂取量は Dioxin-TEQ・PCBs・メチル水銀との間にそれぞれ有意な関連がみられた。母体血の採血時期は PFOS・PFOA、MEHP、Dioxin-TEQ、PCBs との間に有意な関連が認められた。

表 4 にそれぞれの曝露による DNA メチル化への影響を重回帰分析で検討した結果を示した。母年齢、妊娠前 BMI、世帯収入、児の性別、妊娠中喫煙、魚摂取量 (Dioxin-TEQ・PCBs・メチル水銀)、母のパーマ歴 (メチル水銀) で調整した結果、母体血中 PFOA 濃度 (log₁₀ 変換) と臍帯血 IGF2 メチル化率との間に有意な負の相関

が認められた ($\beta = -1.61$, 95% CI: -3.00 to -0.22)。また、有意ではなかったが、PFOS でも同様の傾向が認められた ($\beta = -1.16$, 95% CI: -2.97 to 0.66)。母体血中 MEHP 濃度 (log₁₀ 変換) と H19 メチル化率との間には有意な負の相関が認められた ($\beta = -0.86$, 95% CI: -1.70 to -0.02)。母毛髪中メチル水銀量 (log₁₀ 変換) と LINE1 メチル化との間には有意な正の相関がみられた ($\beta = 0.75$, 95% CI: 0.11 to 1.39)。その他、ダイオキシン (TEQ)、PCBs の総量と 3 遺伝子領域のメチル化との間に有意な関連は認められなかった。

D . 考察

本研究により、胎児期の環境化学物質曝露の児の DNA メチル化への影響については、PFOA 曝露による IGF2 低メチル化 ($\beta = -1.61$, 95% CI: -3.00 to -0.22)、MEHP 曝露による H19 低メチル化 ($\beta = -0.86$, 95% CI: -1.70 to -0.02)、またメチル水銀曝露による LINE1 高メチル化 ($\beta = 0.75$, 95% CI: 0.11 to 1.39) が示された。

先行研究では、横断研究により臍帯血中 PFOA 濃度とゲノム全体のメチル化 (ELISA 法) との間には有意な負の相関が報告されており (Guerrero-Preston et al. 2010)、本研究の IGF2 メチル化と同様の傾向を示した。

MEHP 曝露の影響については、現在のところ疫学研究での報告はない。動物実験ではマウスへの DEHP 曝露により精巢のゲノム全体のメチル化の亢進、およびメチル基転移酵素の発現の増加が報告されている (Wu et al. 2010)。本研究では、ゲノム全体のメチル化の指標として用いた LINE1 には有意な影響は見られず、また遺伝子特異的に H19 の低メチル化が観察された。

DNA メチル化には種間・組織間の差異も考えられるので、さらなる検討が必要である。

メチル水銀曝露による影響については、現在のところ疫学研究での報告はない。動物実験では、胎児期曝露により、マウス海馬の脳由来神経栄養因子（*BDNF*）のメチル化の減少（Onishchenko et al. 2008）、ラット肝臓のメチル基転移酵素の発現低下が報告されており（Desaulniers et al. 2009）、曝露によりメチル化が亢進するとの報告はなく、本研究の結果とは一致しない。種間・組織間の差異もあり得るが、メチル水銀曝露と交絡している要因の影響も考えられるため、今後さらなる検討が必要である。

その他、ダイオキシン（TEQ）、PCBsの総量と今回調べた3遺伝子領域のメチル化との間に有意な関連は認められなかった。疫学先行研究では、PCB等のPOPs曝露によりゲノム全体のメチル化レベルの低下が報告されている。曝露濃度の違いのほか、本研究ではサンプルサイズが小さくパワーが足りず、有意な影響が観察できなかった可能性も考えられる。

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ない可能性は考えられる。また、本研究では侵襲性の問題から、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の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だと考えられる。

最後に、IGF2/H19領域のメチル化により調節されているIGF2タンパク質は胎児期の成長に重要であり、また、小児期の肥満との関連も報告されている（Perkins et al. 2012）。今後は本研究で観察された化学物質曝露によるメチル化の変化が、具体的な児のアウトカムをどれだけ説明できるか、検討していく予定である。

E．結論

本研究により、胎児期の環境化学物質曝露の臍帯血DNAメチル化への影響については、PFOA曝露によるIGF2低メチル化（ $\beta = -1.61$, 95% CI: -3.00 to -0.22）、MEHP曝露によるH19低メチル化（ $\beta = -0.86$, 95% CI: -1.70 to -0.02）、メチル水銀曝露によるLINE1高メチル化（ $\beta = 0.75$, 95% CI: 0.11 to 1.39）が認められ、PFOS・PFOA、MEHPの胎児期曝露によるIGF2/H19領域メチル化への影響、メチル水銀曝露によるゲノム全体のメチル化の亢進が示唆された。

F．研究発表

1．論文発表

- 1) 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ピ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) 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IGF2DNA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) Cui H, Onyango P, Brandenburg S, Wu Y, Hsieh CL, Feinberg AP. 2002. Loss of imprinting in colorectal cancer linked to hypomethylation of H19 and IGF2. *Cancer Res.* 15;62(22):6442-6.
- 2) Hoyo C, Fortner K, Murtha AP, Schildkraut JM, Soubry A, Demark-Wahnefried W et al. 2012. Association of cord blood methylation fractions at imprinted insulin-like growth factor 2 (IGF2), plasma IGF2, and birth weight. *Cancer Causes Control.* 23(4):635-45.
- 3) Dominguez-Salas P, Cox SE, Prentice AM, Hennig BJ, Moore SE. 2012. Maternal nutritional status, C(1) metabolism and offspring DNA methylation: a review of current evidence in human subjects. *Proc Nutr Soc.* 71(1):154-65.
- 4) Heijmans BT, Tobi EW, Stein AD, Putter H, Blauw GJ, Susser ES et al. 2008. Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 4;105(44):17046-9.
- 5) Knopik VS, Maccani MA, Francazio S, McGeary JE. 2012. The epigenetics of maternal cigarette smoking during pregnancy and effects on child development. *Dev Psychopathol.* 24(4):1377-90.
- 6) Baccarelli A, Bollati V. 2009. Epigenetics and environmental chemicals. *Curr Opin Pediatr.* 21(2):243-51.
- 7) 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(2): 223–41.
- 8) Guerrero-Preston R, Goldman LR, Brebi-Mieville P, Ili-Gangas C, Lebron C, Witter FR et al. 2010. Global DNA hypomethylation is associated with in utero exposure to cotinine and perfluorinated alkyl compounds. *Epigenetics.* 16;5(6):539-46.
- 9) Wu S, Zhu J, Li Y, Lin T, Gan L, Yuan X et al. 2010. Dynamic effect of di-2-(ethylhexyl) phthalate on testicular toxicity: epigenetic changes and their impact on gene expression. *Int J Toxicol.* 29(2):193-200.
- 10) Onishchenko N, Karpova N, Sabri F, Castrén E, Ceccatelli S. 2008. Long-lasting depression-like behavior and epigenetic changes of BDNF gene expression induced by perinatal exposure to methylmercury.

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

J Neurochem. 106(3):1378-87.

methylation at birth and risk of
overweight and obesity in children. J
Pediatr. 161(1):31-9

11) Desaulniers D, Xiao GH, Lian H, Feng YL, Zhu J, Nakai J et al. 2009. Effects of mixtures of polychlorinated biphenyls, methylmercury, and organochlorine pesticides on hepatic DNA methylation in prepubertal female Sprague-Dawley rats. Int J Toxicol. 28(4):294-307.

12) Perkins E, Murphy SK, Murtha AP, Schildkraut J, Jirtle RL, Demark-Wahnefried W et al. 2012. Insulin-like growth factor 2/H19

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

表 1. 環境化学物質曝露の DNA メチル化への影響を調べた疫学研究

[Perinatal]				
Author	Study Design	Exposure	Outcome	Results
Guerrero-Preston, 2010	N = 30 cross sectional	PFOS, <i>PFOA</i> (in cord blood)	Global methylation (ELISA)	Decreased
Morales, 2012	N = 122 cross sectional	<i>DDE</i> (in cord blood)	<i>ALOX12</i> promoter	Decreased
Huen, 2013	N = 358 (at birth, 9 yr) birth cohort	POPs (2 <i>OCPs</i> , 10 <i>BDEs</i>)	Global methylation (Alu, LINE1)	Decreased
[Adult]				
Author	Study Design	Exposure	Outcome	Results
Rusiecki, 2008	N = 70 (19-67 yr) cross sectional	POPs (14 <i>PCBs</i> , 10 <i>OCPs</i>)	Global methylation (Alu, LINE1)	Decreased
Kim, 2010	N = 86 (56.2±7 yr) cross sectional	POPs (17 <i>PCBs</i> , 9 <i>OCPs</i> , 2 <i>BDEs</i>)	Global methylation (Alu, LINE1)	Decreased
Lind, 2013	N = 524 (70 yr) cross sectional	POPs (16 <i>PCBs</i> , 5 <i>OCPs</i> , <i>OCDD</i> , <i>BDE</i>)	Global methylation (LUMA)	Increased

Abbreviation: *POPs* persistent organic pollutants, *OCPs* organochlorine pesticides, *BDEs* brominated diphenyl ether

表 2. 対象母児の属性 (N = 267)

	N (%)	Mean (±SD)		N (%)	Mean (±SD)
Maternal characteristics			Maternal characteristics (continued)		
Maternal age (year)	267	30.0 (±4.9)	Fish consumption	247	47.0 (±32.1)
Pre-pregnancy BMI (kg/m ²)	267	20.9 (±2.9)	Blood sampling period		
Maternal weight gain (kg)	254	10.6 (±3.9)	Before delivery	193 (72.6)	
Parity (times)			After delivery	73 (27.4)	
0	94 (35.2)		missing	1	
≥ 1	173 (64.8)		Blood sampling (days)		
Educational level (year)			All	266	246.7 (±29.5)
≤ 12	120 (44.9)		Before delivery	193	234.5 (±25.3)
> 12	147 (55.1)		After delivery	73	278.9 (±6.7)
Annual household income			Hair permanent		
< 3	48 (18.1)		No	174 (70.4)	
3-5	136 (51.3)		Yes	73 (29.6)	
5-7	60 (22.6)		missing	20	
> 7	21 (7.9)		Infant characteristics		
missing	2		Gestational age (week)	267	39.4 (±1.0)
Smoking during pregnancy			Sex		
No	220 (82.4)		Male	125 (46.8)	
Yes	47 (17.6)		Female	142 (53.2)	
Alcohol consumption			Birth weight (g)	267	3133 (±334)
No	176 (65.9)				
Yes	91 (34.1)				

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

表 3. 母体血中化学物質・母毛髪水銀濃度と母児の属性との関連

	PFOS (ng/ml)			PFOA (ng/ml)			MEHP (nmol/ml)			Σ Dioxin-TEQ (pg/g lipid)			Σ PCBs (ng/g lipid)			Hg (μg/g)		
	N	r Mean (95% CI)	p	N	r Mean (95% CI)	p	N	r Mean (95% CI)	p	N	r Mean (95% CI)	p	N	r Mean (95% CI)	p	N	r Mean (95% CI)	p
Maternal characteristics																		
Maternal age (year) ^a	234	r = -0.123 0.061	0.367	234	r = -0.059 0.370	0.108	257	r = 0.047 0.456	0.614	238	r = 0.293 <0.001**	0.731	239	r = 0.455 <0.001**	0.447	246	r = 0.044 0.494	0.514
Pre-pregnancy BMI (kg/m ²) ^a	234	r = -0.059 0.367	0.367	234	r = -0.105 0.108	0.108	257	r = 0.032 0.614	0.614	238	r = 0.022 0.731	0.731	239	r = -0.049 0.447	0.447	246	r = -0.042 0.514	0.514
Maternal weight gain (kg) ^a	223	r = -0.009 0.894	0.894	223	r = 0.085 0.207	0.207	244	r = -0.025 0.697	0.697	229	r = -0.204 0.002**	0.002**	230	r = -0.187 0.004**	0.004**	240	r = 0.041 0.527	0.527
Parity (times) ^b																		
0	83	6.26 (5.68, 6.85)	0.001**	83	1.89 (1.71, 2.07)	<0.001**	90	0.045 (0.036, 0.053)	0.954	85	16.5 (15.1, 17.8)	0.048*	86	111.1 (99.2, 122.9)	0.618	87	1.49 (1.35, 1.64)	0.737
≥ 1	151	5.02 (4.59, 5.45)		151	1.29 (1.15, 1.42)		167	0.045 (0.038, 0.051)		153	14.6 (13.6, 15.6)		153	106.6 (97.7, 115.5)		159	1.50 (1.40, 1.61)	
Educational level (year) ^b																		
≤ 12	108	5.40 (4.88, 5.92)	0.875	108	1.41 (1.25, 1.58)	0.041*	115	0.042 (0.035, 0.050)	0.521	101	14.4 (13.2, 15.6)	0.115	102	104.3 (93.4, 115.2)	0.13	108	1.48 (1.36, 1.61)	0.764
> 12	126	5.51 (5.03, 6.00)		126	1.57 (1.42, 1.73)		142	0.046 (0.040, 0.053)		137	15.9 (14.8, 16.9)		137	111.1 (101.7, 120.5)		138	1.51 (1.40, 1.63)	
Annual household income ^c																		
< 3	45	5.96 (5.15, 6.76)	0.775	45	1.63 (1.38, 1.89)	0.135	47	0.040 (0.029, 0.052)	0.677	37	13.8 (11.8, 15.8)	0.009**	37	87.9 (70.3, 105.5)	0.002**	46	1.45 (1.25, 1.64)	0.754
3-5	119	5.27 (4.78, 5.77)		119	1.41 (1.26, 1.57)		133	0.046 (0.039, 0.053)		123	14.6 (13.5, 15.7)		124	102.8 (93.2, 112.4)		123	1.48 (1.36, 1.60)	
5-7	50	5.21 (4.45, 5.97)		50	1.47 (1.23, 1.72)		56	0.050 (0.039, 0.060)		57	16.8 (15.2, 18.4)		57	125.9 (111.7, 140.1)		56	1.55 (1.38, 1.73)	
> 7	18	5.92 (4.65, 7.19)		18	1.88 (1.47, 2.28)		19	0.032 (0.013, 0.050)		21	17.4 (14.7, 20.1)		21	127.9 (104.5, 151.2)		20	1.59 (1.30, 1.89)	
Smoking during pregnancy ^b																		
No	196	5.54 (5.15, 5.93)	0.421	196	1.54 (1.42, 1.66)	0.106	212	0.045 (0.039, 0.050)	0.645	203	15.4 (14.6, 16.3)	0.178	203	107.9 (100.2, 115.6)	0.401	203	1.53 (1.43, 1.62)	0.186
Yes	38	5.06 (4.18, 5.94)		38	1.29 (1.01, 1.57)		45	0.044 (0.032, 0.056)		35	14.2 (12.1, 16.2)		36	109.7 (91.4, 128.0)		43	1.38 (1.18, 1.58)	
Alcohol consumption during pregnancy ^b																		
No	159	5.54 (5.11, 5.97)	0.776	159	1.50 (1.36, 1.64)	0.798	171	0.046 (0.039, 0.053)	0.801	158	15.0 (14.0, 16.0)	0.757	158	104.7 (96.0, 113.4)	0.088	168	1.54 (1.43, 1.66)	0.723
Yes	76	5.32 (4.70, 5.94)		76	1.50 (1.30, 1.69)		87	0.045 (0.036, 0.055)		81	15.7 (14.3, 17.1)		81	115.0 (102.8, 127.1)		79	1.48 (1.31, 1.66)	
Fish consumption	220	r = -0.079 0.251	0.251	220	r = -0.079 0.243	0.243	237	r = -0.113 0.083	0.083	221	r = -0.148 0.028*	0.028*	222	r = 0.217 0.001**	0.001**	246	r = 0.230 0.000**	0.000**
Blood sampling period ^b																		
Before delivery	176	5.74 (5.34, 6.15)	0.000**	176	1.55 (1.42, 1.68)	0.278	184	0.046 (0.040, 0.051)	0.009**	169	15.6 (14.6, 16.6)	0.205	170	109.9 (101.5, 118.4)	0.418	176	1.49 (1.39, 1.59)	0.648
After delivery	58	4.61 (3.91, 5.31)		58	1.33 (1.11, 1.56)		73	0.043 (0.033, 0.052)		68	14.4 (12.9, 15.9)		68	104.4 (91.1, 117.8)		69	1.54 (1.38, 1.70)	
Blood sampling (days) ^a																		
All	234	r = -0.361 <0.001**	<0.001**	234	r = -0.190 0.004**	0.004**	257	r = -0.254 <0.001**	<0.001**	237	r = -0.087 0.183	0.183	238	r = -0.064 0.325	0.325		-	
Before delivery	176	r = -0.311 <0.001**	<0.001**	176	r = -0.224 0.003**	0.003**	184	r = -0.224 0.002**	0.002**	169	r = -0.057 0.459	0.459	170	r = -0.061 0.430	0.430		-	
After delivery	58	r = -0.078 0.562	0.562	58	r = -0.072 0.590	0.590	73	r = -0.031 0.794	0.794	68	r = 0.027 0.830	0.830	68	r = 0.019 0.881	0.881		-	
Hair permanent ^b																		
No		-			-			-			-			-		173	1.53 (1.43, 1.63)	0.668
Yes		-			-			-			-			-		73	1.44 (1.28, 1.59)	
Infant characteristics																		
Gestational age (week) ^a	234	r = 0.031 0.636	0.636	234	r = 0.048 0.470	0.470	257	r = -0.011 0.858	0.858	238	r = 0.061 0.346	0.346	239	r = 0.091 0.162	0.162	246	r = 0.006 0.922	0.922
Sex ^b																		
Male	105	5.62 (5.09, 6.15)	0.395	105	1.58 (1.42, 1.75)	0.101	120	0.042 (0.035, 0.050)	0.979	111	15.2 (14.0, 16.4)	0.761	112	106.1 (95.7, 116.5)	0.848	115	1.44 (1.32, 1.56)	0.307
Female	129	5.34 (4.86, 5.81)		129	1.43 (1.28, 1.58)		137	0.047 (0.040, 0.053)		127	15.3 (14.2, 16.4)		127	110.0 (100.3, 119.8)		131	1.55 (1.44, 1.67)	

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

*p < 0.05, **p < 0.01

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

表 4. 環境化学物質曝露による DNA メチル化への影響（重回帰分析）

	N	IGF2 DMR methylation (%)			H19 CTCF1 methylation (%)			LINE1 methylation (%)		
		β	(95% CI)	p	β	(95% CI)	p	β	(95% CI)	p
Smoking										
Crude	267	0.34	(-0.13, 0.80)	0.155	-0.28	(-0.60, 0.03)	0.079	0.04	(-0.13, 0.22)	0.610
Adjusted ^a	265	0.26	(-0.21, 0.73)	0.272	-0.30	(-0.62, 0.02)	0.062	-0.02	(-0.19, 0.14)	0.771
PFOS (log₁₀)										
Crude	235	-1.69	(-3.45, 0.07)	0.059	0.01	(-1.19, 1.21)	0.984	-0.09	(-0.74, 0.56)	0.786
Adjusted ^b	233	-1.16	(-2.97, 0.66)	0.210	-0.12	(-1.36, 1.13)	0.852	0.04	(-0.58, 0.66)	0.897
PFOA (log₁₀)										
Crude	235	-1.78	(-3.16, -0.40)	0.012*	-0.58	(-1.52, 0.36)	0.227	-0.03	(-0.54, 0.48)	0.904
Adjusted ^b	233	-1.61	(-3.00, -0.22)	0.023*	-0.59	(-1.55, 0.37)	0.226	-0.16	(-0.64, 0.32)	0.511
MEHP (log₁₀)										
Crude	258	-0.08	(-1.32, 1.17)	0.903	-0.81	(-1.65, 0.03)	0.058	-0.19	(-0.65, 0.27)	0.412
Adjusted ^b	256	0.02	(-1.23, 1.26)	0.978	-0.86	(-1.70, -0.02)	0.045*	-0.16	(-0.58, 0.27)	0.477
Dioxin-TEQ (log₁₀)										
Crude	239	0.20	(-1.84, 2.24)	0.848	0.25	(-1.09, 1.60)	0.713	0.39	(-0.36, 1.14)	0.304
Adjusted ^c	221	-0.08	(-2.33, 2.17)	0.947	-0.18	(-1.67, 1.32)	0.815	0.17	(-0.64, 0.97)	0.683
ΣPCBs (log₁₀)										
Crude	239	0.82	(-0.92, 2.56)	0.353	1.09	(-0.05, 2.23)	0.060	0.67	(0.03, 1.30)	0.039*
Adjusted ^c	221	0.48	(-1.54, 2.51)	0.638	0.51	(-0.83, 1.86)	0.451	0.35	(-0.38, 1.07)	0.346
Me-Hg (log₁₀)										
Crude	247	0.16	(-1.64, 1.96)	0.864	0.77	(-0.46, 2.00)	0.219	0.64	(-0.02, 1.31)	0.059
Adjusted ^d	246	0.17	(-1.68, 2.02)	0.857	0.38	(-0.86, 1.62)	0.545	0.75	(0.11, 1.39)	0.023*

^a Adjusted for maternal age, pre-pregnancy BMI, Annual household income, infant's sex

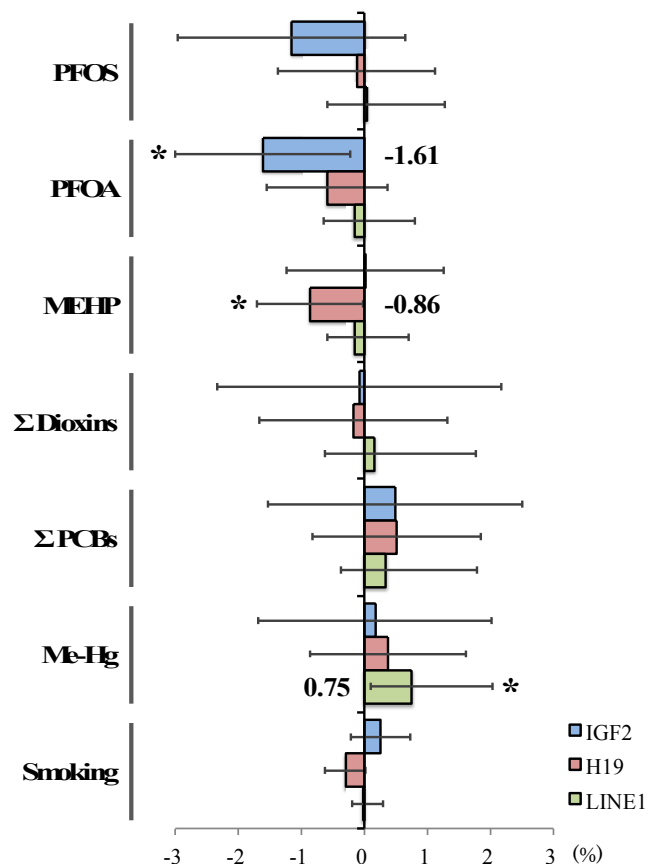
^b Adjusted for maternal age, pre-pregnancy BMI, Annual household income, infant's sex, smoking during pregnancy, blood sampling period

^c Adjusted for maternal age, pre-pregnancy BMI, Annual household income, infant's sex, smoking during pregnancy, blood sampling period, **fish consumption**

^d Adjusted for maternal age, pre-pregnancy BMI, Annual household income, infant's sex, smoking during pregnancy, **fish consumption, hair permanent**

図 1. 環境化学物質のメチル化への影響

（表 4）の重回帰分析の β の値（曝露濃度 10 倍ごとのメチル化率の変化）を棒グラフで示した。
エラーバーは 95%信頼区間を表す。
アスタリスク（*）がついているものが本研究で有意であった結果を表す。



フタル酸エステル類およびビスフェノール A (BPA) 曝露による 先天異常への影響に関する文献レビュー

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 特任講師

研究要旨

フタル酸エステル類、およびビスフェノール A (BPA) の胎児期曝露による児の先天異常などに関するこれまでの疫学研究をレビューすることを目的に、PubMed を用いて文献検索を行った。フタル酸エステル類、および BPA を曝露要因として、出生した児の先天異常をアウトカムとする疫学研究のうち、英文の原著論文をレビュー対象とした。検索された文献は、フタル酸エステル類 136 編。そのうち、疫学研究は 10 編の総説を含む 29 編で、3 編がレビュー対象となる条件に該当した。BPA 曝露に関する文献は 30 編。そのうち、疫学研究は 8 編の総説を含む 28 編で、2 編が本研究のレビュー対象となる条件に該当した。肛門性器間距離 (AGD) については、フタル酸エステル類曝露に関する文献が 87 編。そのうち、疫学研究は 2 編の総説を含む 7 編で、新たに 4 編がレビュー対象となる条件に該当した。また、BPA については、AGD に関する文献は 2 編の総説を含む 23 編で疫学研究はなかった。最終的に本研究のレビュー対象となった文献は、フタル酸エステル類 7 編、BPA 2 編であった。フタル酸エステル類曝露による児の先天奇形との関連についての疫学研究は、停留精巣に関する報告が 1 編、尿道下裂に関する報告が 2 編、児の AGD に関する報告が 4 編と、限られた先天異常あるいは AGD のみの検討であった。また、サンプルサイズが小さいこと、母集団に偏りがあること、胎児期のフタル酸エステル曝露の指標となる生体試料の採取時期が適切でなく曝露評価の妥当性に問題があるなどの研究の限界が見られた。さらに、AGD については性差についての検討がされていた報告は 1 編のみであった。また、アウトカム評価の妥当性に問題が見られるなど、更なる検討が必要である。BPA については報告数も少なく、コーホートやコーホート内症例対照の研究デザインでの検討も必要である。

研究協力者

アイツバマイ ゆふ
(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)

A . 研究目的

フタル酸エステル類は食品容器やおもちゃなどのプラスチック製品となるポリ塩化ビニルなどに柔軟性を与えるために添加される可塑剤やパーソナルケア製品に使用されている化学物質である。ビスフェノール A (BPA) はプラスチック製品となるポリカーボネートや食品缶詰の内面塗装となるエポキシ樹脂などの原料として使用されている化学物質である。これらの物質は経

口摂取後、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。

動物実験では、フタル酸エステルで仔の発育率低下、体重減少、臓器重量の増加、停留精巣、尿道下裂、肛門性器間距離 (AGD) の短縮 (雄)、精巣毒性、性腺機能への影響、ステロイドホルモンレベルの変化、肝細胞がん、無排卵などが報告されている。BPA では、生存仔率の減少、仔の思春期早発、神経発達への影響などが示されている。

先天異常発生への影響検討した動物実験

は、1970年代から報告がある。妊娠ラットに高濃度(1,000 mg/kg/day 以上)の DnBP, DiBP, BBzP, DEHP などのフタル酸エステル類を曝露させた動物実験では、仔の神経管欠損¹、口蓋裂²⁻⁴、肋骨や肋骨分節^{2,4}、頸椎⁴などの骨奇形、腎盂肥大^{4,5}、停留精巣⁶、AGD 減少⁶の泌尿・生殖器奇形が報告されている。また、中濃度(500~1,000 mg/kg/day)の BBzP, DEHP, DiNP やその代謝物の曝露で、口蓋裂^{7,8}、骨奇形^{7,8}、乳頭・乳輪奇形⁹、腎盂肥大^{7,8}、睪丸萎縮、停留精巣¹⁰、尿道下裂¹⁰、前立腺發育不全¹⁰、AGD 減少^{9,11}など泌尿・生殖器奇形が報告されている。さらにこれらの物質の低濃度(500 mg/kg/day 未満)の曝露では、骨化遅延¹²、停滞乳頭¹³、AGD 減少^{14,15}が報告されている。

一方、これまで多くの疫学研究では、フタル酸エステル類と BPA はともに、精子の質の低下、性ホルモン異常、不妊、早産、乳がんなどの生殖機能についての報告や、出生児の低体重、精神行動発達、喘息やアレルギー、思春期早発などの発達機能、肥満や糖尿病などの代謝異常などとの関連が示されている。しかし、児の先天異常についてはほとんど焦点が当てられておらず、これらの環境化学物質曝露によるヒトでの先天異常への影響については未だ明らかにされていない。

本研究の目的は、妊娠期のフタル酸エステル類および BPA の曝露による児の先天異常への影響を検討した疫学研究をレビューすることである。

B . 研究方法

レビューの対象となる英文文献は PubMed により検索した。先天奇形とマーカー奇形を先天異常のアウトカムとするため、検索 Key word を“(malformation [MeSH Terms]) AND phthalate ”、および“(malformation [MeSH Terms]) AND

bisphenol A ”とした。Limits は “English ” と “Humans ”。妊娠中のフタル酸エステル類、およびビスフェノール A (BPA) 曝露を曝露要因とし、出生時の先天異常をアウトカムとする疫学研究で原著論文をレビューの対象とした。さらに、これらの検索結果に漏れがないことを確認するため、北海道スタディで症例数の多かったマーカー奇形の停留精巣、水腎症、Down 症候群、尿道下裂、多指症、口蓋裂をフタル酸エステル類と BPA について “hypospadias ”, “hydronephrosis ”, “down syndrome ”, “cryptorchidism ”, “polydactylism ”, “cleft palate ” を [MeSH Terms] で検索し、確認した。

AGD は日本産婦人科医会 (JAOG) の定める先天異常に分類されていない。しかし、新生児の AGD の短縮には胎児期の環境化学物質曝露による抗アンドロゲン作用が寄与していることから、近年、胎児期の環境化学物質曝露による AGD 減少が注目されている。このため、本研究でも“(anogenital distance) AND phthalate ” および“(anogenital distance) AND bisphenol A ” について追加検索を行った。

C . 研究結果

検索されたフタル酸エステル類曝露に関する文献は 136 編。そのうち、疫学研究は 10 編の総説を含む 29 編で、3 編がレビュー対象となる条件に該当した。BPA 曝露に関する文献は 30 編。そのうち、疫学研究は 8 編の総説を含む 28 編で、2 編が本研究のレビュー対象となる条件に該当した。AGD についての追加検索では、フタル酸エステル類曝露に関する文献は 87 編。そのうち、疫学研究は、2 編の総説を含む 7 編で、新たに 4 編がレビュー対象となる条件に該当した。また、BPA については、AGD に関する文献は 2 編の総説を含む 23 編だったが、疫学研究はなかった。

さらに、マーカー奇形の停留精巢、水腎症、Down 症候群、尿道下裂、多指症、口蓋裂について検索を行ったが、新たにフタル酸エステル類および BPA との関連に該当する文献はなかった。最終的にフタル酸エステル類については 7 編、BPA については 2 編を本研究のレビュー対象とした。

1. フタル酸エステル類曝露による先天異常への影響との関連

フタル酸エステル類曝露による児の先天奇形との関連についての疫学研究は、検索の結果 AGD との関連を含めて 7 編¹⁶⁻²² が該当した。停留精巢に関する報告が 1 編¹⁹、尿道下裂に関する報告が 2 編^{17, 20}、児の AGD に関する報告が 4 編^{16, 18, 21, 22} であった。

a. 停留精巢との関連

Main ら (2006)¹⁹ は、妊婦の産後 1-3 ヶ月時の母乳中フタル酸代謝物濃度と児の停留精巢との関連をコーホート内症例対照のデザインで検討した (Danish-Finnish cohort study)。Danish-Finnish cohort study は、デンマークおよびフィンランドのそれぞれ 1 大学病院でリクルートされた妊婦と出生後の児の停留精巢の地域性や生殖器奇形に影響するリスクファクター (ライフスタイルや環境化学物質曝露) を明らかにすることを目的に行われた 2 国共同コーホートである。児の停留精巢は出生時および生後 3 ヶ月で診断された。デンマークでは、症例の停留精巢児は 29 名、対照児は出生コーホートからランダムに抽出された 36 名。フィンランドでは停留精巢児 33 名に対し、母の出産回数、喫煙、糖尿病、在胎週数、出生日でマッチングされた児 32 名を対照児とし、2 国合わせて症例 62 名と対象児 68 名のコーホート内症例対照研究とした。母乳中 MMP, MEP, MBP, MBzP, MEHP, MiNP が測定されたが、どの代謝物

濃度においても症例児と対照児間で有意な差は見られなかった [症例 vs. 対照: 0.094 vs. 0.103 $\mu\text{g/L}$ MMP; 0.898 vs. 0.976 $\mu\text{g/L}$ MEP; 10.25 vs. 9.09 $\mu\text{g/L}$ MBP; 1.25 vs. 1.20 $\mu\text{g/L}$ MBzP; 10.55 vs. 10.51 $\mu\text{g/L}$ MEHP; 98.52 vs. 91.75 $\mu\text{g/L}$ MiNP; $p = 0.440-0.823$]。

b. 尿道下裂との関連

Ormond ら (2009)²⁰ は、イギリス南東部の主要外科センターでリクルートされた尿道下裂のある児 471 名と、対照のランダムに抽出された健康な 490 名の児からなる症例対照研究である。妊娠 3 ヶ月時点での就業形態 (職位、所属、主業務、職業曝露の可能性) を job exposure matrix (Van Tongeren et al. 2002) で分類してフタル酸エステル類、整髪料、印刷インク、洗浄剤などへの職業曝露を評価し、児の尿道下裂との関連を検討した。妊娠中の整髪料 [曝露 vs. 非曝露, odds ratio (OR) = 2.39; 95% confidence interval (CI), 1.40-4.17]、およびフタル酸エステル類 (OR = 3.12; 95% CI, 1.04-11.46) の職業曝露が児の尿道下裂のリスクを上げた。

Choi ら (2012)¹⁷ は、韓国の症例対照研究で尿中フタル酸エステル類およびその代謝物濃度と児の尿道下裂との関連を報告した。採尿時期は不明。母の尿中 DEHP は児の尿道下裂と有意な関連があった ($P = 0.006$)。

c. AGD 短縮との関連

Swan ら (2005)²² は、アメリカ 4 都市の 4 大学病院産科で 18 歳以上の妊婦をリクルートし、妊婦とそのパートナーの精子の質などの生殖機能が調査された Study for Future Families I (SFFI) の追跡調査 (SFF) を行い出生コーホートデザインで妊娠中の尿中フタル酸代謝物濃度と児の AGI [anogenital index (mm/kg): AGD/

weight] との関連を検討した。SFFI のうち、追跡調査 (SFF) が可能であった母児 134 名から、児の AGD と妊娠中の尿中フタル酸代謝物が揃う 85 名を対象とした。尿の採取時期は不明である。測定されたフタル酸代謝物は、MMP, MEP, MiBP, MBP, MBzP, MCP, MEHP, MEHHP, MEOHP である。尿中 MBP と MiBP は、低濃度群に対し中濃度群、高濃度群がともに予測 AGI よりも実測 AGI が小さくなるリスクの上昇がみられた[低濃度群に対するオッズ (95% 信頼区間) MBP : 中濃度群: 3.8 (1.2-12.3); 高濃度群: 10.2 (2.5-42.2); MiBP : 中濃度群: 3.4 (1.1-10.5); 高濃度群: 9.1 (2.3-35.7)]。MEP は低濃度群に対して高濃度群のみで予測 AGI よりも実測 AGI が小さくなるリスクが上昇した[4.7 (1.2-17.4)]。MBzP は低濃度群に対して中濃度群、高濃度群ともにそれぞれ予測 AGI よりも実測 AGI が小さくなるリスクが上昇した[MBzP : 中濃度群: 3.1 (1.002-9.8); 高濃度群: 3.8 (1.03-13.9)]。

Huang ら (2009) ¹⁸ は、台湾の出生前向きコーホートで羊水、および妊娠時の尿中フタル酸代謝物濃度と出生した児の AGD, AGI-W (AGD / birth weight), AGI-L (AGD / birth length) との関連を検討した。対象者は、35 歳以上もしくは血液検査 (alpha fetal protein と free β -hCG) に異常のあった者のどちらかのうち羊水穿刺を受け、正常と診断を受けた妊婦と、その新生児 65 名である。羊水穿刺は不明 (一般的には妊娠 15-20 週で行われる)。採尿は羊水穿刺の 15-20 分前に行われた。妊娠時の羊水、および尿中 MBP, MEHP, MEP, MBzP, MMP が測定され、女児でのみ羊水 MBP 濃度と AGI-W, AGI-L との間に有意な負の関連があった ($R^2 = -0.143$, $p = 0.043$; $R^2 = -0.159$, $p = 0.032$)。また、重回帰分析において在胎週数で調整後は、AGI-W での

み有意な負の関連があった ($\beta = -2.73$, $P = 0.041$)。尿中 MBP は AGI-W, AGI-L との間に負の傾向が見られた ($R^2 = -0.099$, $p = 0.09$; $R^2 = -0.073$, $p = 0.15$) が統計学的に有意な関連ではなかった。

Suzuki ら (2012) ²¹ は、都内 1 病院でリクルートされ出産した母児 111 組を対象とした横断研究で、妊娠時の尿中フタル酸代謝物濃度と児の AGD および AGI との関連を検討した。採尿時期は妊娠 9-40 週 (平均 29 週)。母の尿中 MEHP と児の AGI との間に有意な負の相関が見られ ($\beta = -0.226$, $p = 0.017$)、非喫煙妊婦 ($n = 107$) では、この関連は強くみられた ($\beta = -0.246$, $p = 0.011$)。

Bustamente-Montes ら (2013) ¹⁶ はメキシコの 1 産科クリニックでリクルートされた 18 歳以上、非喫煙者、中級階層の妊婦とその新生児 73 名を対象とした出生コーホートで、妊娠後期の尿中フタル酸代謝物濃度と児の AGD、および陰茎計測値 (全長、幅、周囲) との関連を検討した。測定されたフタル酸代謝物は MEP, MBP, MBzP, MEHP の 4 化合物および、4 代謝物の総和 (total Phthalate) を総フタル酸エステル曝露の指標としている。母の尿中 MEHP と児の陰茎長との間に負の関連が見られた ($\beta = -0.26$ mm per 1 $\mu\text{g/L}$, $P = 0.050$)。total Phthalate は児の AGD ($\beta = -0.191$, $P = 0.037$)、陰茎幅 ($\beta = -0.04$, $P = 0.050$)、陰茎長 ($\beta = -0.21$, $P = 0.034$) との間に負の関連が見られた。

2. BPA 曝露による先天奇形への影響との関連

BPA 曝露による児の先天奇形との関連についての検索の結果、疫学研究は 2 編 ¹⁷, ²³ が該当した。いずれも症例対照研究で、停留精巣との関連を検討したものが 1 編 ²³、尿道下裂との関連が 1 編 ¹⁷ であった。

d. 停留精巣との関連

Fenichel ら (2012)²³ はフランス南西部の男児出生コーホートを対象とした症例対照研究である。症例の停留精巣のある児 46 名に対し、在胎週数、出生時体重、可能な限り両親の出身地をマッチングさせた児 106 名を対照とし、臍帯血中 BPA 濃度と停留精巣との関連を報告した。症例群と対照群とで BPA 濃度には有意な差は見られなかった (症例: 1.26 ± 1.13 ng/ml v.s. 対照: 1.12 ± 0.86 ; $P=0.38$)。

e. 尿道下裂との関連

Choi ら (2012)¹⁷ は韓国の症例対照研究で、母体血中 BPA 濃度と児の尿道下裂との関連について報告した。BPA は児の尿道下裂と有意な関連があった ($P<0.001$)。

D. 考察

これまでにフタル酸エステル曝露による先天異常への影響に関して報告されている疫学研究論文は、停留精巣が 1 編、尿道下裂が 2 編であった。また、AGD に関するものは 4 編であった。限られたアウトカムへの検討しかなされておらず、動物実験では報告されている神経管欠損症や口蓋裂などのその他の先天異常へのヒトへの影響については未だ明らかにされていない。

フタル酸エステル曝露による児の先天奇形への影響を検討した研究は、動物実験では 1970 年代から報告があるが、疫学研究では、Main ら (2006)¹⁹ によって母乳中のフタル酸代謝物濃度と児の停留精巣との関連が報告されたのが初めてである。母乳中フタル酸代謝物濃度は、いずれも症例児と対照児間で有意な差は見られなかった。しかし、生後 3 ヶ月で採取された母乳中のフタル酸代謝物濃度は出生後の曝露評価となるため、停留精巣のような先天異常のアウトカムとの検討は適切ではなく、より適

切な曝露評価での検討が必要である。

尿道下裂との関連については、Ormond ら (2009)²⁰ によって報告されているが、妊娠 3 ヶ月時点での就業形態 (job matrix) をサロゲートとしてフタル酸エステルの曝露を評価しているため、実際の曝露量との因果関係は未だ明らかにされていない。Choi ら (2012) は妊娠中の尿中フタル酸代謝物と児の尿道下裂との関連を症例対照研究で検討し、関連があったとしているが詳細は不明である (論文取り寄せ確認後に詳細記述)。

AGD をヒトへ適用しフタル酸エステルの胎児期曝露との関連を検討した Swan ら (2005)²²、Huang ら (2009)¹⁸、Bustamante-Montes ら (2013)¹⁶ はいずれもサンプルサイズが 65-85 名と少なく、より大きなサンプルサイズでの検討が必要である。また、AGD 測定が行われた児の月齢が一律でない²² [(2-36 ヶ月 (mean \pm SD: 12.6 ± 6.9 months)]、AGD 測定者間の誤差の問題²¹ など、妥当性・信頼性が確立された、より厳密なプロトコルのもとの検討も課題となっている。Huang ら (2009)¹⁸ の報告では、女児のみで羊水 MBP 濃度と児の AGI-W、および WGI-L との負の関連が認められ、胎児期のフタル酸エステル類曝露の感受性に性差があることが示唆された。しかし、女児の AGD について検討した研究は Huang ら (2009)¹⁸ のみで、やはり負の関連が見られた男児の研究^{16, 21, 22} と併せて、性差についても解明する必要がある。また、Bustamante-Montes ら (2013)¹⁶ の報告では、総フタル酸エステル曝露として 4 代謝物濃度 (MEP, MBP, MBzP, MEHP) の和である total Phthalate と新生男児の AGD との間に負の関連を報告しているが、測定された代謝物濃度の検出率が全て 50% 以下であったことや、代謝物濃度が対数変換されていないなど、統計解析の点においての問題

が考えられる。

その他、フタル酸エステル類曝露の指標に用いる生体試料の採取時期が記述されていない報告^{17, 18, 22}や、記述はされているが、先天異常の有無が決定する器官形成期(妊娠 4-7 週)で生体試料採取が行われていない研究^{19, 16, 21}もあり、曝露評価の妥当性に問題が見られた。また、妊婦が大学病院の産科でリクルートされていることや^{19, 22}、35 歳以上もしくは血液検査に異常が認められた妊婦(後の羊水穿刺では正常と診断された)が対象となっている¹⁸など、研究対象者の偏りが生じている可能性があるため、より一般に近い集団での検討も必要である。

BPA 曝露による先天異常のアウトカムを検討した疫学研究は 2 編^{17, 19}で、いずれも症例対照研究であった。アウトカムは尿道下裂と停留精巣の各 1 編ずつで限られていたことから、今後も BPA の胎児期曝露による先天異常への影響についての検討が必要である。

E . 結論

フタル酸エステル類の胎児期曝露による児の先天異常との関連についての疫学研究は、2000 年以降報告され始め、ごく限られた先天異常のアウトカムでのみの検討であった。また、サンプルサイズが小さいこと、母集団に偏りがあること、アウトカムや曝露評価の妥当性に問題があるなど、研究の限界が見られた。さらに、AGD については性差についての検討がされていた報告は 1 編のみであり、今後は性差についての更なる検討が必要である。BPA については報告数も少なく、コーホートやコーホート内症例対照の研究デザインでの検討も必要である。

F . 研究発表

- 1) 論文発表
なし
- 2) 学会発表
なし

G . 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

参考文献

- 1) Shiota K, Mima S. Assessment of the teratogenicity of di(2-ethylhexyl) phthalate and mono(2-ethylhexyl) phthalate in mice. *Archives of Toxicology* 1985;56(4):263-6.
- 2) Ema M, Itami T, Kawasaki H. Effect of period of exposure on the developmental toxicity of butyl benzyl phthalate in rats. *Journal of Applied Toxicology* 1992;12(1):57-61.
- 3) Ema M, Itami T, Kawasaki H. Teratogenic phase specificity of butyl benzyl phthalate in rats. *Toxicology* 1993;79(1):11-9.
- 4) Ema M, Harazono A, Miyawaki E, Ogawa Y. Developmental effects of di-n-butyl phthalate after a single administration in rats. *Journal of Applied Toxicology* 1997;17(4):223-9.
- 5) Ema M, Itami T, Kawasaki H. Teratogenic evaluation of butyl benzyl phthalate in rats by gastric intubation. *Toxicology Letters* 1992; 61(1):1-7.
- 6) Ema M, Miyawaki E, Kawashima K. Critical period for adverse effects on development of reproductive system in male offspring of rats given

- di-n-butyl phthalate during late pregnancy. *Toxicology Letters* 2000; 111(3):271-8.
- 7) Ema M, Harazono A, Miyawaki E, Ogawa Y. Characterization of developmental toxicity of mono-n-benzyl phthalate in rats. *Reproductive Toxicology* 1996;10(5): 365-72.
- 8) Ema M, Kurosaka R, Harazono A, Amano H, Ogawa Y. Phase specificity of developmental toxicity after oral administration of mono-n-butyl phthalate in rats. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 1996;31(2):170-6.
- 9) Gray LE, Jr., Ostby J, Furr J, Price M, Veeramachaneni DN, Parks L. Perinatal exposure to the phthalates DEHP, BBP, and DINP, but not DEP, DMP, or DOTP, alters sexual differentiation of the male rat. *Toxicological Sciences* 2000;58(2): 350-65.
- 10) Mylchreest E, Sar M, Cattley RC, Foster PM. Disruption of androgen-regulated male reproductive development by di(n-butyl) phthalate during late gestation in rats is different from flutamide. *Toxicology and Applied Pharmacology* 1999; 156(2):81-95.
- 11) Parks LG, Ostby JS, Lambright CR, et al. The plasticizer diethylhexyl phthalate induces malformations by decreasing fetal testosterone synthesis during sexual differentiation in the male rat. *Toxicological Sciences* 2000;58(2): 339-49.
- 12) Saillenfait AM, Sabate JP, Gallissot F. Developmental toxic effects of diisobutyl phthalate, the methyl-branched analogue of di-n-butyl phthalate, administered by gavage to rats. *Toxicology Letters* 2006; 165(1):39-46.
- 13) Tyl RW, Myers CB, Marr MC, et al. Reproductive toxicity evaluation of dietary butyl benzyl phthalate (BBP) in rats. *Reproductive Toxicology* 2004;18(2):241-64.
- 14) Ema M, Miyawaki E, Hirose A, Kamata E. Decreased anogenital distance and increased incidence of undescended testes in fetuses of rats given monobenzyl phthalate, a major metabolite of butyl benzyl phthalate. *Reproductive Toxicology* 2003; 17(4):407-12.
- 15) Gray LE, Jr., Barlow NJ, Howdeshell KL, Ostby JS, Furr JR, Gray CL. Transgenerational effects of Di (2-ethylhexyl) phthalate in the male CRL:CD(SD) rat: added value of assessing multiple offspring per litter. *Toxicological Sciences* 2009; 110(2):411-25.
- 16) Bustamante-Montes LP, Hernandez-Valero MA, Flores-Pimentel D, et al. Prenatal exposure to phthalates is associated with decreased anogenital distance and penile size in male newborns. *J Dev Orig Health Dis* 2013;4(4).
- 17) Choi H, Kim J, Im Y, Lee S, Kim Y. The association between some

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

endocrine disruptors and hypospadias in biological samples. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng* 2012;47(13):2173-9.

al. Unconjugated bisphenol A cord blood levels in boys with descended or undescended testes. *Human Reproduction* 2012;27(4):983-90.

- 18) Huang PC, Kuo PL, Chou YY, Lin SJ, Lee CC. Association between prenatal exposure to phthalates and the health of newborns. *Environ Int* 2009;35(1):14-20.
- 19) Main KM, Mortensen GK, Kaleva MM, et al. Human breast milk contamination with phthalates and alterations of endogenous reproductive hormones in infants three months of age. *Environmental Health Perspectives* 2006;114(2):270-6.
- 20) Ormond G, Nieuwenhuijsen MJ, Nelson P, et al. Endocrine disruptors in the workplace, hair spray, folate supplementation, and risk of hypospadias: case-control study. *Environmental Health Perspectives* 2009;117(2):303-7.
- 21) Suzuki Y, Yoshinaga J, Mizumoto Y, Serizawa S, Shiraishi H. Foetal exposure to phthalate esters and anogenital distance in male newborns. *International Journal of Andrology* 2012;35(3):236-44.
- 22) Swan SH, Main KM, Liu F, et al. Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure. *Environmental Health Perspectives* 2005;113(8):1056-61.
- 23) Fenichel P, Dechaux H, Harthe C, et

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

フタル酸エステル類曝露による先天異常への影響に関する文献レビュー

Ref. No.	著者, 国, 年	研究デザイン	対象者 サンプルサイズ	アウトカム	検体 (採取時期)	測定化合物 (曝露要因)	結果
a. 停留精巣との関連							
19	Main et al. デンマーク 2006	コホート内 症例対照 (Danish-Fin ish cohort)	フィンランド, デンマーク の各 1 大学病院 でリクルートされ た妊婦 症例: 停留精巣 児 62 名 対象: 68 名 (ランダム抽出 or 母の属性, 在 胎週数などとマッ チング)	停留精巣 (出生時と生後 3 ヶ月に診断) (他, 児の血中 FSH, インビリン B, LH, テストステロン, free-テストステロン, SHBG)	母乳 (産後 1-3 ヶ月)	MMP, MEP, MBP, MBzP, MEHP, MiNP	症例群と対照群で代謝物濃度に有意差なし (p = 0.440–0.823) (症例 vs. 対照: 0.094 vs. 0.103 µg/L MMP; 0.898 vs. 0.976 µg/L MEP; 10.25 vs. 9.09 µg/L MBP; 1.25 vs. 1.20 µg/L MBzP; 10.55 vs. 10.51 µg/L MEHP; 98.52 vs. 91.75 µg/L MiNP)
b. 尿道下裂との関連							
20	Ormond et al. イギリス 2009	症例対照	症例: 尿道下裂 の児 471 名 対照: ランダム 抽出された健康 な児 490 名	尿道下裂	妊娠 3 ヶ月時点での就業形態(職位、 所属、主業務、) から job exposure matrix (Van Tongeren et al. 2002) をもちいて職業曝露の可能性を分 類し、整髪料、印刷インク、洗浄剤、 フタル酸エステル類などの曝露を 評価		妊娠中の整髪料 [曝露 vs. 非曝露, odds ratio (OR) = 2.39; 95% confidence interval (CI), 1.40– 4.17]、およびフタル酸エステル類 (OR = 3.12; 95% CI, 1.04–11.46) の職業曝露が児の尿道下裂 のリスクを上げた
17	Choi et al. 韓国 2012	症例対照	尿道下裂児 対照児 (要旨しか入手 できず詳細不 明)	尿道下裂	母の尿 母体血 (時期不明)	フタル酸エステ ル: DEHP, DBP, MEHP, MBP, フェノール類: BPA, PA, n-NP, t-OP	尿中 DEHP (P = 0.006)、n-NP (P = 7.26e-6)、 および血中 PA (P = 0.009)、BPA (P = 7.22e-10) は有意に児の尿道下裂と関連があった。

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

c. AGD との関連							
22	Swan et al. アメリカ 2005	前向き出生 コホート (SFF: Study for Future Families)	4 大学病院産科 でリクルートさ れた 18 歳以上の 妊婦 生後 2-36 ヶ月の 男児 85 名	AGI (anogenital index: AGD/body weight)	妊娠時の尿 (時期不明)	MMP, MEP, MiBP, MBP, MBzP, MCP, MEHP, MEHHP, MEOHP	母の尿中 MBP, MBzP, MiBP の低濃度群に対し て、中濃度と高濃度群はそれぞれ予測 AGI よりも 実測 AGI が小さくなるリスクが上昇した[OR (95% CI): MBP: 中 3.8 (1.2-12.3), 高 10.2 (2.5-42.2); MBzP: 中 3.1 (1.002-9.8), 高 3.8 (1.03-13.9); MiBP: 中 3.4 (1.1-10.5), 高 9.1 (2.3-35.7)]. MEP は低濃度群に対して高濃度群で予測 AGI よりも 実測 AGI が小さくなるリスクが上昇した[4.7 (1.2-17.4)].
18	Huang et al. 台湾 2009	前向き出生 コホート	羊水穿刺で正常 と診断を受けた 妊婦から出生し た児 65 名 (男児:33 名, 女児: 32 名)	AGD, AGI-W (AGD/birth weight), AGI-L (AGD/birth length)	羊水 妊娠時の尿 (羊水: 時期不明/ 一般的には 15-20 週で行わ れる 尿: 羊水と同日)	MBP, MEHP, MEP, MBzP, MMP	女児でのみ羊水 MBP 濃度と AGI-W, AGI-L との 間に有意な負の関連があった ($R^2 = -0.143$, $p=0.043$; $R^2 = -0.159$, $p=0.032$). 在胎週数で調整後は AGI-W でのみ有意な負の関 連 ($=-2.73$, $p=0.041$). 尿中 MBP とは AGI-W, AGI-L との間に負の傾向 が見られた ($R^2 = -0.099$, $p=0.09$; $R^2 = -0.073$, $p=0.15$).
21	Suzuki et al. 日本 2012	横断	病院 1 施設から リクルートされ た妊婦とその新 生男児 111 名	AGD (肛門-性器間距 離) AGI	妊娠時の尿 (妊娠 9-40 週: 平 均 29 週)	MMP, MEP, MnBP, MBzP, MEHP, MEHHP, MEOHP	MEHP と AGI との間に有意な負の相関が見られた ($=-0.226$, $p=0.017$). non-smoker では同様の関連は強くみられた ($=-0.246$, $p=0.011$).
16	Bustamente- Montes et al. メキシコ 2013	前向き出生 コホート	産科クリニック でリクルートさ れた 18 歳以上、 非喫煙、中級階 層の妊婦と 新生男児 73 名	AGD, 陰茎計測値 (全長, 幅, 周囲)	妊娠時の尿 (妊娠後期)	MEP, MBP, MBzP, MEHP (検出率 50% 以 下) total Phthalate (総フタル酸曝露 として代謝物の 総和)	MEHP と児の陰茎長との間に負の関連が見られ た ($\beta = -0.26$ mm per 1 $\mu\text{g/L}$, $P = 0.050$). total Phthalate は児の AGD ($\beta = -0.191$, $P =$ 0.037)、陰茎幅 ($\beta = -0.04$, $P = 0.050$)、陰茎長 (β $= -0.21$, $P = 0.034$) との間に負の関連が見られた。 *代謝物濃度が対数変換されていない

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

ビスフェノーA (BPA) 曝露による先天奇形への影響に関する文献レビュー

Ref. No.	著者, 国, 年	研究デザイン	サンプルサイズ	アウトカム	検体	測定化合物	結果
a. 停留精巣との関連							
19	Fenichel et al. フランス 2012	症例対照	症例：停留精巣 児 <u>46</u> 名 対照： <u>106</u> 名	停留精巣	臍帯血 (出生時)	BPA, Estradiol, Estriol, Estrone, Testosterone, delta 4 andr, DHAS DHEAS, FSH, LH, AMH, Inhibin B	症例と対照群とで BPA 濃度に有意差なし (症例: 1.26 ± 1.13 ng/ml vs. 対照: 1.12 ± 0.86 ; $P=0.38$) 対照群では, 臍帯血中 BPA 濃度とインヒピン B($p<0.01$), 総テストステロン($p<0.05$), 母乳中 PCB138($p<0.03$)と相関あり。
b. 尿道下裂との関連							
17	Choi et al. 韓国 2012	症例対照	尿道下裂児 対照児 (要旨しか入手 できず詳細不 明)	尿道下裂	母体血 母の尿 (時期不 明)	フェノール類: BPA, n-NP, t-OP, PA フタル酸エステル: DEHP, DBP, MEHP, MBP,	血中 BPA ($P = 7.22e-10$)、PA ($P = 0.009$)、 および尿中 DEHP ($P = 0.006$)、n-NP ($P = 7.26e-6$) は有意に児の尿道下裂と関連があ った。

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
岸玲子	市民協力による環境疫学研究～わが国で初の本格的出生コホート研究の経験から学ぶ～	責任編集 毛利 衛 進士 五十八	地球社会の環境ビジョン これからの環境学（日学新書3）	公益財団法人 日本学術協力財団	東京都港区	2013	80-91

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
Okada E., Sasaki S., Kashino I., Matsuura H., Miyashita C., Kobayashi S., Itoh K., Ikeno T., Tamakoshi A., Kishi R.	Prenatal exposure to perfluoroalkyl acids and allergic diseases in early childhood.	Environ Int.	65C	127-134	2014
Otake Y., Nakajima S., Uno A., Kato S., Sasaki S., Yoshioka E., Ikeno T., Kishi R.	Association between maternal antenatal depression and infant development: a hospital-based prospective cohort study.	Environ Health Prev Med.	19 (1)	30-45	2014

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Okada E., Kashino I., Matsuura H., Sasaki S., Miyashita C., Yamamoto J., Ikeno T., Ito M. Y., Matsumura T., Tamakoshi A., Kishi R.	Temporal trends of perfluoroalkyl acids in plasma samples of pregnant women in Hokkaido, Japan, 2003-2011.	Environ Int.	60	89-96	2013
Kishi R., Kobayashi S., Ikeno T., Araki A., Miyashita C., Itoh S., Sasaki S., Okada E., Kobayashi S., Kashino I., Itoh K., Nakajima S., The members of the Hokkaido Study on Environment and Children's	Ten Years of Progress in the Hokkaido Birth Cohort Study on Environment and Children's Health: Cohort Profile - Updated 2013.	Environ Health Prev Med.	18 (6)	429-450	2013
Kobayashi S., Sata F., Sasaki S., Ban S., Miyashita C., Okada E., Limpar M., Yoshioka E., Kajiwara J., Todaka T., Saijo Y., Kishi R.	Genetic association of aromatic hydrocarbon receptor (AHR) and cytochrome P450, family 1, subfamily A, polypeptide 1 (CYP1A1) polymorphisms with dioxin blood concentrations among pregnant Japanese women.	Toxicol Lett.	219 (3)	269-278	2013
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ピジェネティクス研究.	北海道公衆衛生学雑誌	26 (2)	29-38	2012
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	88 (4-5)	145	2013