

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 23 年度~25 年度 総合研究報告書

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
. 総合研究報告書	
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. 先天異常の発生状況 （岸 玲子，水上 尚典，遠藤 俊明，千石 一雄ほか）
2. 母体血液中のPCBs・ダイオキシン類，有機フッ素化合物および毛髪水銀濃度に関連する要因の基礎的検討 （岸 玲子，梶原 淳睦，佐々木 成子ほか）
3. 有機フッ素化合物（PFCs）の胎児期曝露評価と児への健康影響評価 （岸 玲子，松村 徹，佐々木 成子ほか）
4. 妊婦の有機フッ素化合物（PFCs）濃度の経年変化：2003-2011年 （岸 玲子，佐々木 成子，松浦 英幸，松村 徹，池野 多美子，宮下 ちひろほか）
5. 有機フッ素化合物（PFCs）の胎児期曝露による出生時体重への影響 （岸 玲子，佐々木 成子，松浦 英幸，松村 徹，宮下 ちひろほか）
6. 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）
7. 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）
8. 微量ダイオキシン類，水酸化PCB（OH-PCB）測定法の開発（1） （梶原 淳睦ほか）
9. 微量ダイオキシン類、水酸化（OH）PCBの測定法の開発（2） （梶原 淳睦ほか）
10. 水酸化PCB（OH-PCB）胎児期曝露による母児甲状腺機能への影響 （岸 玲子，梶原 淳睦ほか）

11. 血液中のビスフェノール A (BPA) の分析 (1)
(松村 徹ほか)
12. 血液中のビスフェノール A (BPA) の分析 (2)
(松村 徹ほか)
13. 母体血と臍帯血中のビスフェノール A (BPA) 濃度の相関
(佐々木 成子, 松村 徹, 宮下 ちひろ, 岸 玲子ほか)
14. 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)
15. メチル水銀の胎児期曝露による出生時体格への影響
(宮下 ちひろ, 佐々木 成子, 池野 多美子, 岸 玲子ほか)
16. 妊婦の葉酸値と先天性単発奇形との関連
(岸 玲子, 佐々木 成子, 吉岡 英治ほか)
17. 妊娠初期 (第 1 三半期) の母体血清葉酸濃度と流早産リスク等に関する研究
(水上 尚典ほか)
18. 出生時体格に影響を及ぼす妊婦の受動喫煙曝露
(岸 玲子, 佐々木 成子, 吉岡 英治ほか)
19. 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)
20. 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に関する研究
(安住 薫, 岸 玲子ほか)
21. 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)
22. 注意欠損・多動性障害 (ADHD) の発症に関わる脳内神経伝達物質と養育環境要因の関係
(岸 玲子, 佐々木 成子, 吉岡 英治ほか)
23. 注意欠損・多動性障害 (ADHD) の発症に関わる環境化学物質 (生活要因も含む) 曝露とその代謝に關与する遺伝子多型と交互作用
(岸 玲子, 佐々木 成子, 吉岡 英治ほか)

- 24. 胎児期環境化学物質曝露による注意欠損多動性障害 (ADHD) への影響
(池野 多美子, 岸 玲子ほか)
- 25. 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

はじめに

PCBs・ダイオキシン類や有機フッ素化合物、有機塩素系農薬などは、環境での蓄積性や残留性が強いことから、いわゆる POPs (Persistent Organic Chemicals) として、世界的に生産や使用が制限されていますが、半減期が長いため、私たちの体内から容易にはなりません。さらに最近使用が増えてきているプラスチック可塑剤などとして使われているフタル酸エステル類やビスフェノール A などは、半減期は短いのですが広範囲に使用されているため、多くの人々の血液から検出されます。このような化学物質の人への影響は、大人よりも小児、あるいは胎児期に大きいことが懸念されています。たとえば尿道下裂・停留精巣をはじめとする先天異常は、各国で増加が示唆されていますが、その原因が器官形成期のアンドロゲンの作用に依存しますので、いわゆる環境ホルモン作用を示すといわれる PCBs・ダイオキシン類などとの関係を調べる必要があります。しかし、世界的にも環境化学物質の次世代への直接的な影響と因果関係は、未だ解明されるには至っておりません。さらに、ADHD など小児の軽度発達障害、あるいはアレルギーは、最近各国で増加しているとの報告が発表されていますが、わが国では地域の一定集団を対象に環境リスク要因を評価することが全くなされていませんでした。

そこで、私たちは 2002 年から 2 つの前向き研究を立ち上げて研究を行っております。本報告書は、直近 3 年間分の研究成果報告になります。札幌市の 1 産院で説明し同意を得た妊婦様 514 人の母体血とお子様の臍帯血について、PCBs・ダイオキシン類、水酸化 PCB 類、有機フッ素化合物 (PFOS・PFOA)、農薬およびビスフェノール A の測定を行い、種々のアウトカムとの関係を調べています。また、北海道全域の北海道 (大規模) コーホートでは、母子ペアで参加者が 2 万組を超えました。妊娠初期に同意を得た妊婦様全員の葉酸、コチニン濃度を測定し、母体血の有機フッ素化合物もより詳しく PFDA・PFNA・PFHxS・PFUnDA など 11 種類の測定を行い、出生時体重やアレルギーへの影響を研究しています。今後は、先天異常や疾病との関係について解析を進めます。いずれのコーホートも、次世代影響を評価するために思春期まで追跡させていただくよう、参加者の皆様をお願いしています。

一方、最近のゲノムおよびエピゲノム研究の進歩から、化学物質の影響の強さは、曝露された個体の異物 (薬物) 代謝酵素類の遺伝子多型や疾病感受性遺伝子、あるいはメチル化等によっても修飾されることが考えられます。このような研究は、同じ曝露濃度でも遺伝的ハイリスク群である場合、より予防的な対応を進める必要があること、また環境の影響が遺伝子を介さず次世代に及ぶという意味で重要と思われれます。

本研究は、産婦人科医療機関など臨床家と環境疫学専門家の協力で進めております。このような地域をベースに胎児期から立ち上げ、環境リスク評価を行っている研究は、最近少しずつ増えていますが、本研究は、世界的にもその先駆けと申し上げられます。今後、数多くの成果が出ることを期待されますので、引き続き皆様のご協力をお願いいたします。

最後に多くの皆様のご尽力により研究を継続することができ、過去 3 年間の報告書をこのようにまとめることができましたことに対して、衷心より御礼申し上げます。

平成 26 年 3 月

研究代表者 岸 玲子

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

Cohort Profile of the Hokkaido Birth Cohort Studies updated 2013

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

「環境と子どもの健康に関する北海道スタディ」は前向き出生コホート；札幌（小規模）コホート（N=514）および北海道全域の37協力医療機関（図1）に協力を得た北海道（大規模）コホート（N=20,929）からなる。2002年と2003年に開始した2つの研究の主な目的は、（1）胎児期の環境化学物質曝露が先天異常や発育遅延など、児の出生に与える負の影響の解明、（2）児の発育およびアレルギーや発達障害などを追跡し、環境化学物質がこれらのアウトカムに及ぼす影響の解明、（3）環境化学物質曝露に対し遺伝的に脆弱なSNPsの特定、（4）受動喫煙や妊娠中の葉酸欠乏といった日常的な環境要因の複合影響についての解明と、（5）エピゲノム解析による次世代影響メカニズムの解明である。我々はこの10年間、妊婦のPCBs・ダイオキシン類、有機フッ素化合物（PFCs）、有機塩素系農薬、フタル酸エステル類、ビスフェノールA（BPA）、メチル水銀等の環境化学物質曝露濃度を測定し、その影響について児の追跡を行ってきた。表1に我々がこれまでに測定を行った環境化学物質と甲状腺ホルモン・性ホルモン等の生化学的測定結果についての一覧を示した。表2は我々がこれまでに調べた遺伝子多型の一覧、およびその児への影響について示した。

本稿では、これまでの北海道スタディでの研究成果について紹介する。

札幌（小規模）コホート（図2）は2002年7月から2005年10月までに札幌東豊病院（札幌市）でリクルートを行い、参加登録した妊娠23-35週の妊婦514名からなる。このコホートでは母体血中PCBs・ダイオキシン類、PFCs、有機塩素系農薬、BPA、フタル酸エステル類などの多数の環境化学物質曝露濃度について測定を行っており、また生後6・18ヶ月、3才半・7才時には神経発達検査も行っている。一方、北海道（大規模）コホート（図3）は、2003年2月から2012年5月までリクルートを行い、参加登録した妊娠初期（妊娠13週以前）の妊婦は20,929名になる。このコホートでは4ヶ月、1・2・4・7・8才時に追加質問表を配布しており、さらに7才時には児の尿およびハウスダストの採取、調査員の自宅訪問が行われている。8才時には面談での発達検査が行われている。

胎児期のPCBs・ダイオキシン類曝露に関しては、我々はこれまでに児の出生時体重・6ヶ月時の神経発達・アレルギーや感染症への影響について検討してきた。表3に母体血中PCBs・ダイオキシン類濃度が児の出生時体重に与える影響、およびその性差について重回帰分析で解析した結果を示した。ダイオキシン類総量はTEQ（毒性等量）で換算した値を使用した。男児において、PCDD総量（TEQ）、PCDD・PCDF総量（TEQ）、ダイオキシン類総量（TEQ）の増加とともに出生時体重は有意に減少した。異性体別で

は、2,3,4,7,8-PeCDF により出生時体重の有意な減少が認められた（ -24.5 g, 95 % CI -387.4 to -61.5 ）。表 4 に胎児期の PCBs・ダイオキシン類曝露が児の 6 ヶ月時の神経発達検査（BSID-II: The Bayley Scales of Infant Development-Second edition）スコアへ与える影響、およびその性差について、重回帰分析で解析した結果を示した。PCBs・ダイオキシン類曝露が児の psychomotor developmental index（PDI）に与える影響は男児でより顕著であり、1,2,3,7,8,9-HxCDD・1,2,3,4,6,7,8-HpCDD・2,3,7,8-TCDF・1,2,3,7,8-PeCDF・1,2,3,6,7,8-HxCDF などダイオキシン類異性体の濃度の増加とともに PDI スコアは有意に低下した。この結果により、胎児期における低濃度の PCDDs・PCDFs 曝露が、特に男児において、生後 6 ヶ月の神経発達へ負の影響を与えることが示唆された。表 5 には、胎児期の PCBs・ダイオキシン類曝露が臍帯血 IgE レベルに与える影響について、重回帰分析で解析した結果について示した。PCBs・ダイオキシン類曝露による IgE レベルの低下は男児でのみ有意に認められた（ $\beta = -1.01$, 95% CI: -1.79 to -0.23 ）。表 6 は胎児期 PCBs・ダイオキシン類曝露と 18 ヶ月までの中耳炎発症について、多重ロジスティック回帰分析による結果を示した。発症への影響は男児でより顕著で、PCBs・ダイオキシン類曝露が高くなるほど中耳炎発症のオッズ比は増加傾向を示した。また、ダイオキシン類総量（TEQ）を四分位に分けて解析したところ、男児において第一四分位に比べ、第四四分位ではオッズ比は 4.4 倍（95% CI: 1.2 to 16）となった。男児に比べ、女児では PCBs・ダイオキシン類曝露の中耳炎発症への強い影響は見られなかった。

図 4・5 に母の妊娠中喫煙と母の解毒代謝酵素の遺伝子多型が出生時体重・出生サイズへ及ぼす影響について示した。AHR 遺伝子の GG 型および CYP1A1 遺伝子の TC/CC 型を持つ喫煙者から生まれた児では 315 g の出生時体重の減少、CYP1A1 遺伝子の TC/TT 型と GSTM1 遺伝子の null 型を持つ喫煙者から生まれた児では 237 g の出生時体重の減少が認められた（図 4）。また、NQO1 遺伝子の CC 型の喫煙者に生まれた児では、199 g の出生時体重の減少が認められた。

胎児期の有機フッ素化合物（PFCs）曝露に関しては、現在までに児の出生時体重、アレルギー・感染症について影響を検討してきた。また、2003 年から 2009 年まで、各年度 300 名をランダム抽出し、母体血中の 11 種類の PFCs 濃度について測定し、PFCs 濃度の経年変化について検討した。PFOS・PFOA の曝露濃度減少が観察されたが、対して PFNA・PFDA の濃度は年ごとにそれぞれ 4.7% および 2.4% 増加の増加が認められた。出生時体重への影響については、母体血中 PFOS 曝露 10 倍ごとに 148.8 g（95% CI: -297 to -0.5 ）の有意な減少が認められた。またその影響は女児でより顕著で、PFOS 曝露濃度 10 倍ごとに 269.4 g（95% CI: -465.7 to -73.0 ）の有意な減少が認められた。児の IgE レベルへの影響については、女児において PFOA 曝露の増加とともに臍帯血 IgE レベルは有意に減少した。しかしながら、PFOS・PFOA とともに、胎児期曝露と 18 ヶ月までの食物アレルギー・湿疹・喘鳴・中耳炎発症への有意な影響は見られなかった。

我々のこの 10 年の研究により、PCBs・ダイオキシン類、PFCs、喫煙等の胎児期曝露が、出生時体重・神経発達・アレルギーなど児の健康に及ぼす数々の負の影響が明らかになった。また、その影響の程度は母親の遺伝子多型により異なり、曝露に対し遺伝的に脆弱な集団の存在が明らかになった。さらに、PCBs・ダイオキシン類曝露の影響に

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

は性差が存在し、男児でより影響が顕著であること、ダイオキシン類の異性体により影響の程度が異なることが示された。胎児期 PFCs 曝露については、PFOA 曝露により出生時体重が女児でより顕著に低下した。妊娠中の PFOS 曝露は母の脂肪酸組成にも影響を及ぼしており、児の発育のみならず神経発達などへの影響についても解明が求められる。また、2003-2009 年の母体血中 PFCs の経年変化の観察により、POPs に含まれるようになった PFOS・PFOA 濃度については経年減少が認められるのに対し、規制のない PFNA・PFDA 等の炭素鎖の長い PFCs の濃度の経年的な増加が認められた。今後、これらの PFCs の健康影響についてさらに解明する必要があり、環境化学物質が及ぼす広範な児への健康影響について引き続き解明を進める。

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
外科治療学講座腎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)

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、

Braimoh 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)

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講座)

櫻木 範明

(北海道大学大学院医学研究科)

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

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、苅木 洋一、水谷 太
(いであ株式会社 環境創造研究所)
中澤 裕之、斉藤 貢一、伊藤 理恵、
岩崎 雄介、中田 彩子、手塚 浩子
(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

Introduction

In 1997, Theo Colborn et al. [1] warned of the dangers of environmental chemicals, which act as endocrine disruptors and can eventually led to impairments in reproductive capacity. Since that warning, a myriad of animal and epidemiological studies have been conducted to evaluate the adverse health effects of these endocrine-disrupting chemicals (EDCs) [2-4]. Currently, these chemicals are considered to contribute to numerous adverse health effects, including growth retardation of fetuses and

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

infants and disturbances in neurodevelopment, thyroid, immune and reproductive systems. Additionally, these chemicals may exert genetic or epigenetic effects when metabolized.

On the other hand, in 1986, Barker and Osmond [5] suggested the relationship between poor nutrition in early life and later risk for ischemic heart disease. This observation, which had linked the importance of the intrauterine and early childhood nutritional environment and later disease risk, as well as dozens of additional epidemiological studies suggested a relationship between low birth weight and future risk of certain diseases such as cardiovascular disease, type 2 diabetes, obesity, schizophrenia and asthma. Today, these concepts have been expanded from birth weight to the entire fetal and infantile development, which led to the establishment of the Developmental Origin of Health and Disease (DOHaD) hypothesis [6, 7].

In light of these two groundbreaking concepts, there is a great concern that the consequences of intrauterine growth restriction or intrauterine insults caused by prenatal exposure to the environmental chemicals might linger throughout one's life.

Among the environmental chemicals, two of the most studied substances in environmental epidemiology are polychlorinated biphenyls (PCBs) and dioxins. Thus far, various cohort studies have been conducted to estimate the effects of these substances on fetal and infantile health. These studies inferred that prenatal exposure to PCB/ dioxin could result in fetal growth restriction, cognitive and motor developmental retardation, disrupted sexual dimorphic behavior or reproductive health, and weakened immune systems [8–14].

Furthermore, as a result of recent growing concerns about the adverse health effects of

perfluorinated compounds (PFCs), several epidemiological studies were conducted to evaluate the health effects of intrauterine PFCs exposure. Three studies reported correlations between prenatal PFOS/PFOA exposure and reduced birth weight [15–17]. Moreover, in a Danish study, the authors suggested that prenatal PFOA exposure could also increase the risk for obesity and the levels of insulin and leptin in females at 20 years of age [18], which was in line with the Developmental Origin of Health and Disease hypothesis. In addition, recent studies indicated that prenatal exposure to PFCs could also affect fetal and infantile thyroid function [19] as well as the immune system [20, 21].

These adverse health effects were considered to result from the endocrine disrupting activities of the environmental chemicals [3]. However, at this moment, the adverse health effects of prenatal exposures to the environmental chemicals are controversial; despite evidence from animal models, there is insufficient epidemiological evidence to substantiate this assertion [9, 11]. In addition, this assertion is complicated by the fact that the effects of these chemicals in humans are still not fully understood. Many toxicological studies in animals suggest the dose-additive effects of chemicals acting on common endocrine pathways. However, it is challenging to estimate the effects of these compounds in humans that are constantly exposed to a wide variety of chemicals in their daily life [22].

Conversely, it is plausible that the adverse effects of the EDCs are attributed not only to their exposure dosage but also to the activities of the enzymes that metabolize these chemicals in the body and the binding affinity of these chemicals to their receptor, which may result in

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

inhibition or facilitation of the expression of genes essential for human development. The function and expression levels of proteins are influenced by genetic factors such as single nucleotide polymorphisms (SNPs) and copy number variations (CNVs). Therefore, it is important to uncover genetic risk factors to environmental chemical exposure because there are currently few studies that take these factors into account. Thus, to clarify the effect of prenatal exposure to environmental chemicals on children's health, it is important to study the effects of exposure to EDCs via both genetic and environmental approaches as well as evaluating gene-environment interactions.

One of the examples of the gene-environment interactions is the etiology of hypospadias. Hypospadias is a common congenital anomaly caused by an incomplete fusion of the urethral folds. In our previous studies, we had clarified the etiology of hypospadias with genetic factors that were related to fetal endocrine activity such as the estrogen receptors (ESR1 and 2) and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 3 (17 β HSD3) and maternal hormonal activity such as the cytochrome P450 1A1 (CYP1A1) in a retrospective case-control study [23-26]. Because development of the urethral and external genital system in the male fetus is androgen-dependent, abnormalities in the synthesis and metabolism of androgens resulting from EDCs exposure can result in abnormal genital development phenotypes.

However, there were some limitations in our previous studies. First, in the retrospective case-control study, there was not sufficient evidence to support a causal relationship between hypospadias and the environmental exposures because it was impossible to obtain relevant

information about EDCs exposure levels prior to the study baseline. Second, there was both information and selection bias, i.e., recall bias, etc. Thus, we established the first large-scale birth cohort study in Japan in 2002 because of the need for investigating the effects of environmental exposures prospectively combined with genetic predispositions to evaluate the development and health of individuals from the prenatal period to adolescence (up to 13 years old) [26].

This study was primarily concerned with (1) examining the possible negative effects of perinatal environmental chemical exposures on birth outcomes, including congenital anomalies and growth retardation, (2) following the development of allergies, infectious diseases and neurodevelopmental disorders and performing a longitudinal observation of child development, (3) identifying a highrisk group classified by genetic susceptibility to environmental chemicals and (4) identifying the additive effects of various chemicals encountered in the daily environment.

The purpose of this review is to summarize the results of our recent studies and to address the necessary issues to be solved in the future.

Methods

Study areas and subjects

The Hokkaido study on Environment and Children's Health is an ongoing cohort study that began in 2002. The study consists of two prospective birth cohorts: the Sapporo (Toho hospital) cohort with one obstetric hospital in Sapporo City and the Hokkaido (large-scale) cohort with 37 hospitals and clinics in the Hokkaido prefecture. Hokkaido is the northern most prefecture and the second largest island of Japan; it has an area of 83,457 km², equivalent

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

to that of Austria. The population of Hokkaido is about 5.4 million, which is similar to that of Finland (Fig. 1).

The enrollment of the Sapporo cohort (Toho hospital) was conducted from July 2002 to October 2005. The subjects were women that were enrolled at 23–35 weeks of gestation and delivered at the Toho hospital. All of the subjects were residents of Sapporo City or surrounding areas.

From February 2003 through March 2012, the Hokkaido (large-scale) cohort had conducted the enrollment of women during early pregnancy (¥13 weeks of gestational age) that visited one of the associated hospitals or clinics in the study area for prenatal health care in the maternity unit. This cohort consists of 20,940 pregnant women. In total, 37 hospitals and clinics in the Hokkaido prefecture participated in the study (the names of the hospitals are listed at the end of the paper). The study was conducted with the informed consent of all subjects in written form. The Institutional Ethical Board for Human Gene and Genome studies at Hokkaido University Center for Environmental and Health Sciences (CEHS) and Hokkaido University Graduate School of Medicine approved the study protocol.

Study design

The protocol for the study that is currently being conducted (subjects, outcomes and exposure measurement items) was partly described in the previous review [27]. In the current paper, the complete study design (up to 8 years), including the continued observation of subjects, has been described in Fig. 2 (the Sapporo cohort) and Fig. 3 (the Hokkaido large-scale cohort).

When examining subjects in the Sapporo cohort (Fig. 2), observations were focused on the

association between child growth, neurodevelopment, allergy and infectious diseases, and low-level exposure to environmental chemicals during pregnancy and infancy. In this cohort, a self-administered questionnaire was completed at the time of enrolment to obtain baseline information including parental demographic characteristics, dietary habits including the amount and species of fish consumed, exposure to chemical compounds in their daily life, smoking history, alcohol consumption, caffeine intake and household income. Information on pregnancy complications, gestational age at birth, infant gender and birth size was obtained from maternal and infant medical records.

Follow-up questionnaires were also used at 18 months, 3.5 and 7 years of age to obtain relevant information including allergies, dietary habits and the smoking history of mother and her partner. Additionally, in the follow-up questionnaires, we also obtained information pertaining to the medical history of the children such as atopic dermatitis, asthma, allergies, otitis media, pneumonia or bronchitis and chickenpox. At 18 months and 3.5 years of age, infants were defined as having allergies or an infection if there was a diagnosis from a doctor, the infant was hospitalized or the infant received medical treatment. At 7 years of age, the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) criteria was used to determine if the children had allergies or an infection [28]. In addition, we followed the neurodevelopment of the children using several behavioral examinations at 6–7, 18 months, 3.5 and 7 years of age to assess the effect of low-level intrauterine exposure to toxic chemicals on childhood neurodevelopment. More detailed protocols and information regarding

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

neurodevelopmental examinations are described in the “Outcome Measurement” section below.

The Hokkaido cohort (Fig. 3) was established to assess the prevalence of congenital anomalies including cleft lip and palate, congenital heart defects, hypospadias and cryptorchidism. In addition, this cohort was used to explore the possible causes of these malformations, as well as the prevalence of childhood allergies and neurodevelopmental disorders including Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD). In this cohort, a baseline questionnaire survey was conducted at the time of enrollment during the first trimester to obtain parental information such as demographic characteristics, medical and obstetric history, dietary supplement intake during pregnancy, smoking history, alcohol and coffee consumption and chemical exposures at work. Perinatal data such as birth weight, infant gender, mode of delivery, multiple conception and the diagnosis of congenital anomalies were obtained from birth records completed by an obstetrician. We classified 55 congenital anomalies as “representative congenital anomalies” according to the classification by Konishi [29] with some additional anomalies by our study group such as congenital heart diseases, hypospadias, cryptorchidism etc., to study the effect of mutagens and teratogens among EDCs. The first follow-up questionnaire was used on infants at 4 months of age to obtain relevant data including birth size, gestational age at birth and parental smoking history during the second and third trimester. The successive follow-up questionnaires were administered at 1, 2, 4, 7 and 8 years of age to obtain relevant information such as child height and weight measurements obtained at regular health checkups, vaccination history, dietary habits and parental smoking

history. In these follow-up questionnaires, we also asked about the medical history of the children. Specifically, we determined if the children developed atopic dermatitis, asthma, allergies, otitis media, pneumonia or bronchitis, chickenpox, heart disease, hypospadias or cryptorchidism, thyroid gland malfunction, epilepsy or developmental disorders. At 1, 2, 4 and 7 years old, allergy and infection information was obtained by using the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) [28] and the American Thoracic Society-Division of Lung Disease (ATS-DLD) [30]. At 1 and 2 years of age, infants were defined as having allergies or an infection if there was a diagnosis by a doctor, the infant was hospitalized or the infant received medical treatment. At 8 years old, several examinations for neurodevelopmental disorders were conducted to investigate the effects of perinatal and postnatal chemical exposure on children’s health, specifically neurodevelopment.

Specimen collection and biochemical measurements

In the Sapporo cohort, maternal blood samples were collected during late pregnancy, usually after the 30th week of gestation. Cord blood and placenta were taken immediately after birth. Maternal hair samples were also collected within 5 days following delivery, and breast milk from nursing mothers was collected within 4 weeks following birth. In the Hokkaido cohort, maternal blood was collected 3 times: between 6 and 14 weeks of gestational age to represent the organogenetic period, during the third trimester and at delivery. Cord blood was taken immediately after birth in the same manner as done in the Sapporo cohort study.

The items that were measured biochemically

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

from the specimens are described in Table 1. In the Sapporo cohort, the levels of cord serum immunoglobulin E (IgE) and immunoglobulin A (IgA) were also determined [31]. Thyroid stimulating hormone (TSH) and free thyroxine (FT4) levels of the mother and newborn were measured as part of a mass-screening program conducted in Sapporo City. The levels of 9 key sex hormones in the cord blood (e.g., Estradiol, Testosterone, Progesterone, etc.) and the levels of 11 fatty acids in the maternal plasma were also measured by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), respectively. In the Hokkaido cohort, maternal serum was used to measure folic acid levels [32].

Exposure measurements

PCBs, OH-PCBs and Dioxins

In the Sapporo cohort, the levels of 29 congeners of dioxins and dioxin-like polychlorinated biphenyls (DL-PCBs) [7 polychlorinated dibenzodioxins (PCDDs), 10 polychlorinated dibenzofurans (PCDFs), 4 Non-ortho PCBs and 8 Mono-ortho PCBs], 58 congeners of the other PCBs and 5 congeners of hydroxylated polychlorinated biphenyls (OH-PCBs) in maternal blood and breast milk were measured using a high-resolution gas chromatography/high-resolution mass spectrometer (HRGC/HRMS) at the Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences [33–37]. The Toxicity Equivalency Quantity (TEQ) levels were calculated by multiplying the levels of individual congeners by its toxic equivalency factor (TEF) values of WHO 2005 [38].

PFCs

In the Sapporo cohort, PFOS and PFOA levels in maternal blood, cord blood and breast milk were analyzed by LC-MS/MS at Hoshi University [39, 40]. For the Hokkaido cohort study, among PFCs, 11 perfluoroalkyl acids (PFAAs) [perfluorohexanoic acid (PFHxA), perfluoroheptanoic acid (PFHpA), perfluorooctanoic acid (PFOA), perfluorononanoic acid (PFNA), perfluorodecanoic acid (PFDA), perfluoroundecanoic acid (PFUnDA), perfluorododecanoic acid (PFDoDA), perfluorotridecanoic acid (PFTrDA), perfluorotetradecanoic acid (PFTeDA), perfluorohexane acid (PFHxS) and perfluorooctane sulfonate (PFOS)] were measured in maternal plasma using simultaneous analysis with ultraperformance liquid chromatography in combination with triple quadrupole mass spectrometry (UPLC-MS/MS) at the Research Faculty of Agriculture, Hokkaido University [41].

Organochlorine pesticides

In the Sapporo cohort, the levels of persistent organochlorine pesticides in maternal blood were analyzed by a gas chromatography/negative-ion chemical-ionization mass spectrometry (GC/NCIMS) and a gas chromatography/high-resolution mass spectrometry (GC/HRMS) at IDEA Consultants, Inc. [42].

Metals

In the Sapporo cohort, total mercury levels in maternal hair samples were measured by an oxygen combustion-gold amalgamation method using an atomic absorption detector at the National Institute for Minamata Disease [43, 44].

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

Phthalate esters and organophosphate flame retardants

In the Sapporo cohort, to determine maternal phthalate exposure levels, MEHP (a metabolite of DEHP) levels in maternal blood were analyzed by GC-MS at Nagoya University [45]. In the Hokkaido cohort, 7 phthalates and 11 organophosphate flame-retardants were measured from dust samples using GC-MS (SIM) analysis. House dust mites were also measured using the ELISA method. The method to analyze 7 phthalate metabolites in urine samples by GC-MS was established, and urine samples from the children were measured to examine the correlation between these metabolites and asthma and allergies [46, 47]. Home visits were also conducted for the children that lived in Sapporo City. During the home visit, house dust and urine samples from the child were collected. In addition, trained researchers evaluated the home interior and dampness.

Bisphenol A

In the Sapporo cohort, Bisphenol A concentrations in maternal and cord blood were analyzed by isotope dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry (IDLC-MS/MS) at IDEA Consultants, Inc. [48].

Cotinine

In the Sapporo and the Hokkaido cohorts, cotinine concentrations in maternal serum were measured using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit to evaluate smoking exposure levels [49].

Outcomemeasurements

The Sapporo cohort

In the Sapporo cohort, with the purpose of

assessing the neurodevelopment of the children, several behavioral examinations were conducted during each study period. The Bayley Scales of Infant Development second edition (BSID-II) was used at 6–7 and 18 months of age. The Fagan Test of Infant Intelligence (FTII) was performed to measure visual recognition memory and cognitive ability in infants aged 6–7 months. To examine developmental progress, the Japanese version of the Denver Developmental Screening Tests (DDST) was used at 18 months of age. At 3.5 years of age, child and maternal intelligence was measured using the Japanese version of the Kaufman Assessment Battery for Children (K-ABC) and the Wechsler Adult Intelligence Scale-Revised (WAIS-R), respectively. At 7 years of age, the Wechsler Intelligence Scale for Children third edition (WISC-III) and the Wisconsin Card Sorting Test (WCST-KFS version) were used to assess the intellectual development and executive function of the children [50, 51]. The Evaluation of Environmental Stimulation (EES) was used to investigate the environmental conditions of children at 6, 18 months and 3.5 years of age. The Japanese version of the Child Behavior Checklist (CBCL) was used to collect information on child behavior at age 3.5 and 7 years of age. The check list of play behavior, Pre-School Activity Inventory Japanese version (PSAI-J), which was translated from the original version of PSAI, was used to assess the play behavior of the children at 7 years of age [52]. In addition, we also obtained the children's medical history from the follow-up questionnaires performed at each study period. The children's medical history contained information pertaining to the development of atopic dermatitis, asthma, allergies, otitis media, pneumonia or bronchitis and chickenpox.

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

The Hokkaido cohort

In the Hokkaido cohort, the development of allergies at 1, 2, 4 and 7 years of age and neurodevelopmental disorders at 8 years of age were examined in detail. For allergy assessment, follow-up questionnaires were distributed to children aged 1, 2, 4 and 7 years old, which included questions pertaining to asthma and allergies from the ISAAC and ATS-DLD questionnaires [28, 30]. We also obtained the medical history of the children from the follow-up questionnaires during each study period. The medical histories contained information pertaining to the development of atopic dermatitis, asthma, allergies, otitis media, pneumonia or bronchitis, chickenpox, heart disease, hypospadias or cryptorchidism, thyroid gland malfunction, epilepsy and developmental disorders. In addition to the questionnaire survey, mothers were asked to collect house dust and a sample of the child's urine when the child reached 7 years old.

At 8 years of age, a specific follow-up questionnaire was used to assess the development of neurodevelopmental disorders, specifically ADHD. The questionnaire contained questions pertaining to health status including the treatment the subject received for ADHD, the hours of rising and bedtime as a daily rhythm, and the number of hours the subject enjoys audio-visual tools. To assess ADHD, the Conners third Edition-Parent Japanese version (Conners3P) and the ADHD Rating Scale-IV (ADHD-RS-IV) were used. We also used the Pre-School Activities Inventory Japanese version (PSAI-J) to assess the play behavior of the children. The Evaluation of Environmental Stimulation (EES) was used as a questionnaire to assess the subject's home environment [53].

We also assessed any stressful life events of the children by using the Life Event Questionnaire for Parents (Life Event) [54].

After receiving responses from the 8-year questionnaire, additional questionnaires were distributed to collect more information about the family. The additional questionnaire assessed the working status and health of the parents, the mental condition of the mother, and the use or lack of use of supportive education. To assess a child-rearing environment, we asked about the parent's social networks and supports during child rearing. To assess developmental disorders such as Autism and Asperger syndrome, we used the Japanese version of the Autism screening Questionnaire (ASQ). Additional assessments of the children we obtained using the Japanese version of the Child Behavior Checklist (CBCL) and The Wechsler Intelligence Scale for Children fourth edition (WISC-IV). We also used the Parenting Stress Index (PSI) in Japanese.

Genetic analyses

Genes that were already analyzed using the SNP assay are described in Table 2. Genetic polymorphisms were determined by means of the Taq Man (Applied Biosystems, Inc., Foster City, CA, USA) polymerase chain reaction (PCR) method using minor groove binder (MGB) probes. The polymorphisms analyzed thus far are rs4646903 (T [C, MspI] and rs1048963 (A [G, Ile462Val] of CYP1A1 (cytochrome P450, family 1, subfamily A polypeptide 1), rs762551 (A [C] of CYP1A2 (CYP1 subfamily A polypeptide 2), rs1056836 (C [G, Leu432Val] of CYP1B1 (CYP1 subfamily B polypeptide 1), rs2066853 (G [A, Arg554Lys] of AHR (aryl hydrocarbon receptor), rs2292596 (C [G, Pro185Ala] of AHRR (AHR repressor), rs1800566 (C609T) of NQO1 (NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1),

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

rs3813864 (-1294G/C) of CYP2E1 (CYP2 subfamily E polypeptide 1), rs1801133 (C677T) and rs1801131 (A1298C) of MTHFR (methylenetetrahydrofolate reductase). In addition, copy number variations (CNVs) in GSTM1 (glutathione S-transferase mu-1) and GSTT1 (glutathione S-transferase theta-1) were also evaluated [55–58].

Results

The characteristics of the participants of the Hokkaido study

A total of 514 mothers were registered in the Sapporo cohort, and another 20,940 mothers were registered in the Hokkaido cohort as of the end of April 2012. The profile of the Sapporo cohort and the partial profile (n = 2,777) of the Hokkaido cohort had been described previously [27]. We also estimated the prevalence of congenital anomalies in the Hokkaido prefecture. Among the 19,680 mothers included in the Hokkaido cohort between 2003 and 2012, there were 378 subjects with congenital anomalies. The most frequent congenital anomaly was congenital heart defects (35.6 per 10,000 persons), followed by cryptorchidism (15.2), down syndrome (12.2), polydactyly (9.7), hypospadias (9.1) and hydronephrosis (7.6). The total prevalence of congenital anomalies was similar to nationwide data reported by the Japan Association of Obstetricians and Gynecologists (JAOG). However, the number of serious cases was less than that of the JAOG since the members of the JAOG are medical universities and tertiary hospitals and they tend to treat pregnant women with severe complications including fetal congenital anomalies, whereas those of our cohort study are general hospitals and clinics.

The effects of PCDD/PCDF and dioxin-like PCB exposure

Birth weight

In the Sapporo cohort, we observed significant negative correlations between the birth weight of all infants and total PCDF levels, total PCDD TEQ, total PCDF TEQ, total PCDD/PCDF TEQ and total TEQ levels in maternal blood during pregnancy after adjustment for potential covariates. Among male infants, significant adverse associations between birth weight and total PCDD TEQ levels, total PCDD/PCDF TEQ levels and total TEQ levels were found. Moreover, we found significant negative association between birth weight and the levels of 2,3,4,7,8-PeCDF (-24.5 g, 95 % CI -387.4 to -61.5) [59] (Table 3).

Neurodevelopment

In the Sapporo cohort, after adjusting for potential confounding variables, total PCDD, total PCDDs/PCDF and 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD levels in maternal blood during pregnancy were significantly negatively associated with the mental developmental index (MDI) of BSID-II at 6 months of age. Total 1,2,3,7,8,9-HxCDD, 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD, 2,3,7,8-TCDF, 1,2,3,7,8-PeCDF and 1,2,3,6,7,8-HxCDF were significantly negatively associated with the psychomotor developmental index (PDI) of BSID-II at 6 months of age. Our results suggest that a low-level of exposure to several congeners of PCDDs or PCDFs during pregnancy can affect the neurodevelopment of 6-month-old infants [60]. In addition, when we stratified the data by infant sex, the effects of intrauterine exposure to select PCDD, PCDF and PCB congeners on the PDI score in male infants were more significant

(Table 4).

Allergy and infectious diseases

In the Sapporo cohort, our results show that dioxins concentrations in maternal blood during pregnancy are only negatively correlated with cord serum IgE levels in male infants [61] (Table 5). Relatively higher levels of PCDFs were associated with a significantly increased risk of otitis media at 18 months of age, among all infants (odds ratio = 2.5, 95 % confidence interval = 1.1–5.9). Relatively higher levels of 2,3,4,7,8-PeCDF were also associated with a significantly increased risk of otitis media (odds ratio = 5.3, 95 % confidence interval = 1.5–19) among male infants (Table 6). However, we observed a weak association between dioxin-like compound levels and allergy symptoms during infancy. At environmental levels, prenatal exposure to dioxin-like compounds may alter immune function and increase the risk of infections in infancy, especially among males. The compound 2,3,4,7,8-PeCDF may be responsible for this [62].

The effects of PFCs exposure

Temporal trends of PFC levels in maternal plasma

In the Sapporo cohort, the concentrations of PFOS and PFOA ranged from 1.3 to 16.2 ng/ml for PFOS and from below the detection limit to 5.3 ng/ml for PFOA (both detection limits were 0.5 ng/ml) in the blood of pregnant women recruited between 2002 and 2005 [63].

In the Hokkaido cohort, between February 2003 and December 2009, 300 women were randomly selected every year, and the concentrations of 11 PFCs were measured in 2,095 maternal plasma samples. A temporal

trend in PFC levels from 2003 to 2011 was also examined. The PFOS and PFOA concentrations in the Hokkaido cohort were lower than those of pregnant women in the Sapporo cohort. Additionally, PFUnDA, PFDoDA and PFTrDA levels were higher in the Hokkaido cohort than individuals of foreign countries. Although the values were lower than the values obtained from individuals in other areas of Japan, there was no significant temporal trend [64].

Birth weight

We examined a correlation between maternal serum PFOS and PFOA concentrations and infant birth weight in the Sapporo cohort. A log₁₀-unit increase in PFOS levels correlated with a decrease in birth weight of 148.8 g (95 % CI 297.0–0.5) after adjusting for confounders; however, no correlation was observed between PFOA levels and birth weight. Our results indicate that in utero exposure to relatively low levels of PFOS is negatively correlated with birth weight [63].

In the Hokkaido cohort, the effects of 11 PFCs including PFHxA, PFHpA, PFHxS, PFOS, PFOA, PFNA, PFDA, PFUnDA, PFDoDA, PFTrDA and PFTeDA in maternal blood obtained during pregnancy were evaluated. After adjusting for possible confounding factors, PFNA levels negatively correlated with birth weight (per ln-unit: partial regression coefficient $b = -41.7$ g, 95 % CI, -77.9 to -5.6 g). After gender stratification, PFNA levels negatively correlated with male birth weight (per ln-unit: $b = -59.3$ g, 95 % CI, -110.2 to -8.3 g). Additionally, PFUnDA and PFTrDA levels negatively correlated with female birth weight (per ln-unit: $b = -42.0$ g, 95 % CI, -84.6 to 0.6 g and $b = -44.9$ g, 95 % CI, -90.1 to 0.3 g, respectively).

Allergy and infectious diseases

In the Sapporo cohort, we investigated the relationship between prenatal exposure to PFOS and PFOA and the development of infant allergies and infectious diseases during the first 18 months of life. Additionally, the effects of PFOS and PFOA on cord blood IgE levels were also evaluated. We found a curvilinear relationship between maternal PFOA levels and cord blood IgE levels. Cord blood IgE levels decreased significantly with high maternal PFOA concentrations among female infants. When log₁₀-transformed maternal PFOA levels changed from 0.3 to 0.7 ng/mL, log₁₀-transformed cord blood IgE levels greatly decreased by -0.863 IU/mL. However, there were no significant associations among maternal PFOS and PFOA levels and food allergies, eczema, wheezing or otitis media in the 18-month-old infants after adjustment for potential confounding variables [31].

In the Hokkaido cohort, we investigated the relationship between prenatal exposure to 11 PFCs and infant allergies during the first 12 months of life. The characteristics of the participants and information pertaining to infant allergies were obtained from a baseline questionnaire administered to the mother during pregnancy, medical records from the time of delivery and a followup questionnaire when the child was 12 months of age. The risk of eczema, wheezing and food allergies during the first 12 months of life was not associated with maternal levels of 11 PFCs, including longer-chain compounds. Odds ratios for eczema and wheezing ranged from 0.66 to 0.73 and from 0.60 to 0.81 for the three higher quartiles of maternal PFTrDA levels, compared with the lowest in the adjusted models, but no dose–response pattern was found [65].

Gene–environment interaction

The effects of maternal genetic polymorphisms on dioxin concentration

Dioxins are metabolized by cytochrome P450, family 1 (CYP1) via AHR. We determined whether different blood dioxin concentrations are associated with polymorphisms in the AHR (dbSNP ID: rs2066853), the AHRR (rs2292596), the CYP1A1 (rs4646903 and rs1048963), the CYP1A2 (rs762551) and the CYP1B1 (rs1056836) in pregnant Japanese women. Comparisons between the GG, GA and AA genotypes of the AHR showed a significant difference for both the mono-ortho PCBs concentrations (genotype model: GG:GA:AA = 11,266.3:13,146.5:12,948.9 (pg/g lipid), p = 0.016) and that of toxicity equivalence quantities [TEQs] (GG:GA:AA = 0.338:0.394:0.388 (TEQ pg/g lipid), p = 0.016). Second, we found a significant association with the dominant genotype model for the PCDDs TEQs ([TT ? TC]:CC = 7.408:6.480 (TEQ pg/g lipid), p = 0.048) and for PCDFs TEQs ([TT ? TC]:CC = 2.596:2.267 (TEQ pg/g lipid), p = 0.035) of CYP1A1 (rs4646903). No significant differences were found among blood dioxin concentrations and polymorphisms in AHRR, CYP1A1 (rs1048963), CYP1A2 and CYP1B1. Thus, polymorphisms in AHR and CYP1A1 (rs4646903) were associated with maternal dioxin concentrations [55].

Genetic polymorphisms and maternal smoking

The effects of maternal smoking and genetic polymorphisms on infant birth size were examined in the Sapporo cohort. Birth weight and length were significantly lower among infants born to smokers with the AHR GG genotype, the CYP1A1 TC/CC genotype or the

GSTM1 null genotype. When combinations of these genotypes were considered, birth weight and length were significantly lower for infants of continuously smoking women with the AHR GG genotype and CYP1A1 TC/CC genotype (-315 g and -1.7 cm, respectively) and with the CYP1A1 TC/CC genotype and GSTM1 null genotype (-237 g and -1.3 cm, respectively) [56] (Fig. 4). For polymorphisms in the gene-encoding N-nitrosamine-metabolizing enzymes, NQO1, birth weight, birth length and birth head circumference were significantly reduced (-199 g, -0.8 cm and -0.7 cm, respectively) among infants born to smokers with the NQO1 CC genotype (Fig. 5). This genotype did not confer adverse effects among women who had never smoked or who quit smoking during the first trimester. Our results suggest an important modifying role of polymorphisms in metabolizing enzyme genes in concert with the adverse effects of maternal smoking on infant birth size [57].

Folate, maternal smoking and genetic polymorphisms

Folate is essential for fetal growth and development, and smoking has been associated with nutritional deficiencies in vitamins including folate. The birth weight of infants born to moderate smokers (≥ 10 cigarettes per day) with low folate status (< 6.0 ng/ml) was lower by 107 g compared with non-smokers having a normal folate status (≥ 6.0 ng/ml). Maternal 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 1298AA was associated with low folate status. The 5,10-MTHFR AA genotype was associated with a decrease in birth weight by 107 g in infants born to smokers. After stratification by infant gender, the effect was more pronounced in male infants with a reduction in birth weight of 117 g. Female infants never demonstrated any

statistically significant changes in birth weight [58].

Discussion

What are the primary strengths and weaknesses of the study?

The design of our study is a prospective cohort study intended to collect data on environmental exposures during fetal development and to control for potential confounders. The detailed measurements in exposures and outcomes are adequate to detect the various effects of perinatal environmental and genetic determinants on childhood outcomes. In the Sapporo cohort study, face-to-face examinations for neurodevelopment assessment were conducted. The Hokkaido cohort had been the largest birth cohort in Japan until 2011 when the nation-wide cohort study, the Japan Environment and Children's Study (JECS), was launched based upon our study design. A potential problem of our study is that both the Sapporo and Hokkaido cohorts may have been biased in participant selection because they are both hospital-based studies, although the latter cohort consists of the hospitals and clinics over the Hokkaido areas to mitigate that bias (Fig. 1). In addition, despite our efforts to keep track of participants' residence with periodical newsletters, some levels of attrition were caused by individuals moving outside of the study area.

The main findings of the study

Over the last decade, we have been intensely investigating the effects of intrauterine chemical exposures on children's health. The main findings of our study are as follows.

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

1. The effects of dioxins—with emphasis on gender differences

We discovered that there are gender differences in the effects of dioxins and DL-PCBs on birth weight, infants' neurodevelopment and immune functions; our results suggest that the male infants are more susceptible to those chemicals than female infants. Our observations on birth weight were in concordance with other studies, which indicated a stronger negative effect of these compounds on the birth weight of male infants [66–70]. In our study, we found that the adjusted regression coefficients of total PCDDs TEQ and PCDDs/PCDFs TEQ levels among male and female infants were -331.4 and -126.3 g and -338.7 and -173.9 g, respectively. It is possible that male infants had lower birth weights at higher PCDDs and PCDDs/PCDFs TEQ levels in the maternal blood than female infants. In addition to birth weight, we also found that dioxin-like compounds had negative effects on neurodevelopment at 6 months of age in addition to the negative effects on infants' immune function such as cord blood IgE levels and otitis media at 18 months of age. Although there are few epidemiological studies examining the effects of intrauterine exposure to dioxin-like compounds that specifically examined gender differences other than birth weight, it appears that male infants are more susceptible to exposure to these chemicals, which might be due to gender-specific endocrine activities. However, examining gender difference in the effects of PCBs and PCDDs/PCDFs are part of a larger discussion on endocrine disruption; therefore, we need more evidence from larger studies with exposure measurements. Recently, we analyzed sex hormone concentrations in cord blood and its correlation with intrauterine EDCs exposure. In

the near future, we will be able to examine gender-specific responses to EDCs and their effect on sex hormone levels. In addition to further epidemiological studies, molecular biological studies using animal models and human cell lines are also necessary to elucidate the molecular mechanisms of gender-dependent susceptibility to the exposures.

2. The different effects of dioxin congeners

We discovered that the different dioxin congeners had different effects on children exposed in utero. Identification of the potent biological properties of PCDDs, PCDFs and DL-PCBs, and which individual congeners of PCDDs, PCDFs and DL-PCBs affect birth outcomes has been an important goal in investigating the mechanism of effect to prevent harmful effects on fetuses. We found negative associations between maternal PCDF and PCDD exposure levels and birth weight and motor development at 6 months of age, and an increased risk of developing otitis media at 18 months of age correlated with maternal PCDF exposure.

In the study of Yu-Cheng children, it was indicated that the PCDFs group, including the penta-CDF and hexa-CDF congeners, were primarily responsible for the observed health effects compared to other groups of PCBs/PCDFs congeners [71]. Moreover, 70 % of the toxicity of TEQ was contributed by 2,3,4,7,8-PeCDF in Yusho patients [72]. These observations were in concordance with our results, which indicated a significant negative association between 2,3,4,7,8-PeCDF and birth weight. In addition, we found that maternal 2,3,4,7,8-PeCDF exposure increased the risk of developing otitis media at 18 months of age. These data suggest that 2,3,4,7,8-PeCDF is one of the most

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

dangerous congeners.

Due to its high affinity for the AHR, it was suggested that there is a specific accumulation of PCDDs and PCDFs congeners including 2,3,4,7,8-PeCDF in the placenta [73, 74], which plays an important role in transporting nutrients and oxygen through cord blood in the developing fetus. Taking the above considerations into account, we suggest that PCDDs and PCDFs congeners, especially 2,3,4,7,8-PeCDF, may accumulate in the placenta and retard important placental functions, which may result in lower birth weight.

We also found significant negative associations between motor development and maternal exposure to isomers of PCDDs and PCDFs and mental development and exposure to levels of total PCDDs and PCDFs. Currently, there were few human or animal experimental studies that have investigated the association between individual isomer levels of PCBs and dioxins and neurodevelopment. These studies are required to elucidate the mechanisms of action of individual congeners on neurodevelopment.

3. The diverse effects of PFCs exposure

Our results suggest that intrauterine PFCs exposure affects not only fetal growth but also the immune system. In the current study, cord blood IgE levels decreased significantly with high maternal PFOA concentrations in female infants. However, no association was observed between maternal serum PFOS and PFOA concentrations and the occurrence of food allergies, eczema, wheezing and otitis media in their infants during the first 18 months of life. The results of the C8 Health Project showed a significant trend in decreasing IgE levels with increasing PFOA levels in maternal blood

samples among females [75]. Our results are consistent with those of that study, even though the concentration of maternal PFOA was lower than that measured in other studies, including the C8 Health Project [75–78]. However, we note that the PFOA levels were not associated with the development of allergies and infectious diseases in infants before 18 months of age. In addition, our result contradicted the results of the Taiwan study, which showed that PFOA levels were positively correlated with cord blood IgE levels only in males [21]. It may be necessary to perform follow-up studies to investigate whether prenatal exposure to PFCs affects immune system development (and address potential gender-specific differences) from infancy to school age because it is difficult to obtain definitive diagnoses for infants.

Moreover, a recent result from a prospective cohort study suggested that intrauterine exposure to PFCs could also modulate infants' thyroid hormone levels [19]. They reported that there were significant negative correlations between maternal PFOS and fetal T3, and maternal PFTrDA and fetal T4 and T3 after adjusting for major covariates. However, this was the only epidemiological report regarding prenatal PFCs exposure and infants' thyroid function, and their sample size was insufficient. Thus, we need additional epidemiological studies to validate the effects of intrauterine PFCs exposure on thyroid functions.

In addition, the temporal trends of PFCs levels indicates that PFOS and PFOA concentrations were decreasing every year from 2003 to 2011 due to the restriction of PFOS by the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants in 2009. Instead, PFNA and PFDA, which have a longer carbon chain than PFOA and are harder to be metabolized in the body,

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

were increasing. Further studies must be conducted to estimate the effects of intrauterine exposure to long-chained PFCs on children's health and development.

4. Genetic susceptibility to the exposures

In our study, we found that the maternal genetic polymorphisms in AHR or CYP1A1 independently modified dioxin concentrations in maternal blood, suggesting different dioxin accumulation in the body of individuals with these genotypes, which would lead to different dioxin exposure levels [55]. CYP1A1 activation mediated by AHR is an important mechanism for metabolizing dioxins. Dioxins such as 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) are sensitive to AHR, and TCDD mediates transcriptional regulation of AHR via its binding with AHR nuclear translocator. Activated AHR facilitates the expression of CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1 and AHRR, which are important for metabolizing dioxins [79]. Moreover, the expression of CYP1A1 and CYP1B1 are important for endocrine signaling pathways. Those proteins mediate the transformation of 17 β -estradiol (E2)/estrone (E1) to the biologically active metabolites 2-hydroxyestradiol (2-OH-E2) and 4-hydroxyestradiol (4-OH-E2) [80].

In addition to the dioxin concentrations, among the polymorphism groups of CYP1A1, AHR, GSTM1 and NQO1, we observed different susceptibilities with respect to the effect of maternal smoking exposure on birth size [56, 57]. The AHR, CYP1A1 and GSTM1 metabolize the polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) in tobacco smoke. The GSTM1 detoxifies specific biologically active metabolites of PAHs, and carriers of the GSTM1 null genotype have a reduced ability to detoxify these metabolites. Our study shows that infants born to mothers

that have the AHR wild genotype and continuously smoke had a significantly lower birth weight and length compared with infants born to non-smokers; moreover, smokers who had the AHR wild type and CYP1A1 variant genotype had the greatest reduction in both birth weight and length. Because there have only been a few epidemiological studies, further studies are required to clarify the role of the Arg554Lys polymorphism in fetal development.

The NQO1 is an important enzyme that functions in both phase I (activation) and phase II (detoxification) metabolism of xenobiotics depending on the substrate. As a detoxification enzyme, it catalyzes the two-electron reduction of quinoid compounds to the readily excreted hydroquinones to prevent the generation of reactive oxygen species and, thereby, protect cells against oxidative damage. It also catalyzes the activation of some pro-carcinogens such as nitrosamines and heterocyclic amines, which are present in tobacco smoke [81]. Our study suggests an important role for polymorphisms in the N-nitrosaminemetabolizing enzyme gene NQO1 in mitigating the adverse effects of maternal smoking on infant birth size. These findings could have significant public health implications regarding the need for smoking prevention and cessation programs aimed specifically at susceptible women of childbearing age.

In addition, our current results suggest that the adverse health effects of prenatal tobacco smoke exposure resulted not only from active smoking but also from secondhand smoke (SHS) exposure during pregnancy. Birth weight and infant length among SHS-exposed women with the CYP1A1*2C AG/GG genotypes (-88 g and -0.9 cm, respectively) and the epoxide hydrolase 1 (EPHX1) His/His genotypes (-154 g and -1.1 cm,

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

respectively) were significantly lower. The N-acetyl transferase 2 (NAT2*7) slow acetylators group was also adversely affected (-51 g). A combination of EPHX1 His/His?NAT2*7 slow alleles not only resulted in a remarkable decrease in birth weight and length (-145 g and -1.1 cm, respectively) but also demonstrated significant interaction with SHS exposure [82].

The future challenges of the study

1. Inferences from previous studies in hypospadias–gene–environment interactions

As described in our previous review, both genetic and environmental factors contribute to the etiology of congenital malformations such as hypospadias and cryptorchidism [26]. The etiology of hypospadias was unclear in a majority of cases, but it was regarded as a complex disorder caused by both genetic and environmental factors (Fig. 6). Because the development of the urethral and external genital system in the male fetus is androgen-dependent, abnormalities in the synthesis and metabolism of androgens caused by exposure to EDCs can result in abnormal genital developmental phenotypes.

In previous studies, we had clarified the etiology of hypospadias with genetic factors that were related to fetal endocrine activity such as the ESR1 and ESR2 and 17bHSD3 and maternal hormonal activity such as the CYP1A1 in a retrospective case–control study [23, 24, 26]. Hypospadias is a common congenital anomaly caused by an incomplete fusion of the urethral folds. The urethral opening is on the ventral surface of the penis, on the scrotum or the perineum. Thus far, an increase in the prevalence of hypospadias has been reported in various countries, and these trends are

speculated to be related to EDC exposure [83]. Several studies have shown the association between hypospadias and fetal gene polymorphisms in genes involved in androgen metabolism [84–86].

These results suggest that environmental factors, including EDCs exposure in utero, as well as genetic factors are responsible for the etiologies of congenital malformations, diseases and birth outcomes such as birth size. Moreover, considering that environmental exposures in utero might affect the children's birth outcomes, the mother's EDCs exposure level and genetic factors that may affect the intrauterine environment are also important factors to consider in evaluating the cause of adverse birth outcomes. Thus, to elucidate the etiology of the disease, two different study approaches must be conducted; one is the screening for genetic risk factors in children and mothers, and the other is to estimate the effect of the environmental risk factors including EDC exposures. In addition, by integrating those two approaches to study gene–environment interaction, it becomes possible to identify more susceptible individuals in the population.

2. Gene–environment interactions involved in the etiology of ADHD

In recent years, the increased prevalence of developmental disorders such as Autism Spectrum Disorder (ASD) and ADHD are of increasing concern to the public. Although it is estimated that genetic effects account for 80 % of ASD cases and 79 % of ADHD cases, respectively [87], environmental factors such as the nursing environment and exposure to tobacco smoke also appear to be important factors because the prevalence of these diseases continues to increase while the genetic background of the

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

population remains relatively stable. To date, postnatal environmental exposures, such as passive smoke exposure, iron deficiency, thyroid dysfunction, otitis media and psychosocial stress, are reported as risk factors for ADHD. In addition, prenatal risk factors such as maternal smoking, maternal alcohol intake, lead, PCBs and food additive exposure are also reported to be risk factors for ADHD [88]. Additionally, several studies have indicated that children who were born prematurely or with low birth weight had an increased risk of developing ADHD [89–92], which suggests that the intrauterine environment may play some role. However, the detailed mechanisms of the etiology of those neurodevelopmental disorders have yet to be identified. In the future, by taking genetic and environmental study approaches and studying gene-environment interactions, it is anticipated that all possible risk factors will be elucidated, and eventually, the etiologies of developmental disorders such as Autism and ADHD will be known.

In the present cohort studies, we discovered the maternal genetic factors that affect a child's birth outcome along with the risks associated with maternal smoking and intrauterine dioxin exposure. However, there are few genetic risk factors that have been found thus far considering the large, intricate gene networks involved in a child's health and development. Further studies including genome wide analysis are needed to elucidate the effects of gene-environment interactions.

3. The role of epigenetics

Recently, there has been a growing interest in understanding the role of epigenetics in linking a child's intrauterine environment to future health and disease. Epigenetic

modifications, such as DNA methylation, are programmed in utero and are likely to be maintained through cell division and throughout cell lineages [93]. Therefore, it is postulated that epigenetic regulation is the “missing link” in the DOHaD hypothesis, which would connect the intrauterine environment to postnatal phenotypes. To date, dozens of animal studies and several epidemiological studies have been conducted to estimate the effect of maternal smoking, environmental chemical exposure and metal exposure in utero on a child's epigenome [94–96]. For instance, maternal smoking exposure increases the methylation of the regulatory region of Insulin-like Growth Factor 2 (IGF2) in cord blood DNA, which negatively correlates with IGF2 protein levels in the cord blood [97, 98]. However, at this moment, the epigenetic effects of intrauterine exposure to environmental chemicals are controversial. Further studies exploring the environmental and genetic risk factors for epigenetic vulnerability is necessary. Currently, we are conducting epigenetic research to investigate the effect of intrauterine exposures to environmental chemicals on a child's epigenome and the resulting risk for future health and disease complications.

As Barker first suggested, the consequences of a disrupted intrauterine environment might be expressed as adverse health outcomes a decade more or later. To thoroughly estimate the effects of intrauterine EDCs exposures in humans, it is necessary to follow individuals in a prospective birth cohort study with a sufficient sample size for a long period.

Working toward international collaboration

In recent years, there has been an avid movement toward collaborating and integrating

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

existing birth cohort studies across borders. The primary purpose of these birth cohort consortiums are to obtain evidence based results by using data from larger sample sizes (meta-analysis), as well as obtaining more applicable and generalizable results by integrating data beyond regions, countries and ethnicities. For instance, in Europe, the Environmental Health Risks in European Birth Cohorts (ENRIECO) was established in 2009 [99]. In Asia, the Birth Cohort Consortium of Asia (BiCCA) is now calling for participation to all existing Asian birth cohorts [<http://www.bicca.org>]. Although there are many challenges regarding coordination of different cohort studies, we do believe that it is a worthy endeavor.

Additional information concerning the Hokkaido study is available at the study website: <http://www.cehs.hokudai.ac.jp/>. All of the source data that have been collected are maintained and stored at Hokkaido University Center for Environmental and Health Sciences. Initial approaches or enquiries regarding the study can be made to the principal investigator (rkishi@med.hokudai.ac.jp).

Acknowledgments We would like to express our appreciation to all of the study participants of The Hokkaido Study on Environment and Children's Health. We express our profound gratitude to all personnel in the hospitals and clinics that collaborated with the study: Sapporo Toho Hospital, Keiai Hospital, Endo Kikyō Maternity Clinic, Shiroishi Hospital, Memuro Municipal Hospital, Aoba Ladies Clinic, Obihiro-Kyokai Hospital, Akiyama Memorial Hospital, Sapporo Medical University Hospital, Hokkaido University Hospital, Kitami Red Cross

Hospital, Hoyukai Sapporo Hospital, Gorinbashi Hospital, Hashimoto Clinic, Asahikawa Medical College Hospital, Hakodate Central General Hospital, Ohji General Hospital, Nakashibetsu Municipal Hospital, Sapporo Tokushukai Hospital, Asahikawa Red Cross Hospital, Wakkanai City Hospital, Kushiro Rosai Hospital, Sapporo-Kosei General Hospital, Shibetsu City General Hospital, Nikko Memorial Hospital, Sapporo City General Hospital, Kohnan Hospital, Hakodate City Hospital, Hokkaido Monbetsu Hospital, Tenshi Hospital, Hakodate Goryoukaku Hospital, Nakamura Hospital, Kin-ikyo Sapporo Hospital, Kitami Lady's Clinic, Engaru-Kosei General Hospital, Kushiro Red Cross Hospital, Nayoro City General Hospital and Obihiro-Kosei General Hospital. We also deeply express our gratitude to all of the staff of The Hokkaido Study on Environment and Children's Health for their considerable efforts to support our study: Y. Tanabe, M. Kato, Y. Okada, K. Tanaka, M. Hoshiya, N. Takeshima and M. Kihara. This study was funded by a Grant-in-Aid for Scientific Research from the Japanese Ministry of Health, Labor and Welfare; the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology; the Japan Society for the Promotion of Science; and the Ministry of Environment.

Conflict of interest None declared.

Appendix: Members of The Hokkaido Study on Environment and Children's Health

S. Tajima, H. Goudarzi, K. Azumi, A. Kanazawa, Y. Otake, T. A. Yila (Hokkaido University Center for Environmental and Health Sciences, Sapporo, Japan), Y. Ait Bamai, S. Cong, Tos. Baba, T. S. Braimoh, S. Ban, N. Washino, K. Konishi, S. Kato, A. Uno, M. Limpar

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

(Department of Public Health Sciences, Hokkaido University Graduate School of Medicine, Sapporo), H. Minakami (Department of Obstetrics and Gynecology, Hokkaido University Graduate School of Medicine, Sapporo), K. Nonomura (Department of Renal and Genitourinary Surgery, Hokkaido University Graduate School of Medicine, Sapporo), T. Mitsui (Department of Urology, Hokkaido University Graduate School of Medicine, Sapporo), T. Endo, Tsu. Baba (Sapporo Medical University, Sapporo), K. Sengoku, Y. Saijo, E. Yoshioka, T. Miyamoto (Asahikawa Medical University, Asahikawa), M. Yuasa (Juntendo University, Tokyo), F. Sata (Department of Epidemiology, National Institute of Public Health, Wako), N. Kurahashi (Epidemiology and Prevention Division, Research Center for Cancer Prevention and Screening, National Cancer Center, Tokyo), J. Tamaki (School of Medicine, Kinki University), J. Kajiwara, T. Todaka (Fukuoka Prefectural Institute of Health and Environmental Sciences, Fukuoka), H. Murohashi (Graduate School of Education, Hokkaido University, Sapporo), H. Matsuura (Laboratory of Bioorganic Chemistry, Division of Applied Bioscience, Research Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo), T. Matsumura (IDEA Consultants, Inc., Shizuoka), M. Ishizuka (Laboratory of Toxicology, Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University, Sapporo).

Collaborating Institutions

Hokkaido University Center for Environmental and Health Sciences; Hokkaido University Graduate School of Medicine: Departments of Public Health Sciences, Obstetrics and Gynecology, Pediatrics, Renal and Genitourinary Surgery, Respiratory Medicine and Dermatology; Hokkaido University

Graduate School of Veterinary Medicine: Department of Environmental Veterinary Sciences; Hokkaido University Graduate School of Agriculture; Sapporo Medical University: Obstetrics and Gynecology; Asahikawa Medical College: Department of Health Sciences, Obstetrics and Gynecology; Sapporo City Institute of Public Health; Hokkaido Association of Obstetricians and Gynecologists; Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences; Hoshi University School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Department of Analytical Chemistry; IDEA Consultants, Inc., Sizuoka; Chubu University, Nagoya.

References

1. Colborn T, Dumanoski D, Myers JP. Our stolen future: are we threatening our fertility, intelligence, and survival? A scientific detective story. New York: Plume; 1997.
2. Wigle DT, Arbuckle TE, Turner MC, Berube A, Yang Q, Liu S, et al. Epidemiologic evidence of relationships between reproductive and child health outcomes and environmental chemical contaminants. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 2008; 11(5-6):373-517.
3. Schug TT, Janesick A, Blumberg B, Heindel JJ. Endocrine disrupting chemicals and disease susceptibility. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2011;127(3-5):204-15.
4. Meeker JD. Exposure to environmental endocrine disruptors and child development. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2012;166(6):E1-7.
5. Barker DJ, Osmond C. Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. *Lancet.* 1986;1(8489):1077-81.
6. Gluckman P, Hanson M. Developmental origins of health and disease. New York: Cambridge University Press; 2006.

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

7. Newman J, Ross M. Early life origins of human health and disease. Basel: Karger; 2009.
8. Dietert RR. Developmental immunotoxicology: focus on health risks. *Chem Res Toxicol*. 2009;22(1):17–23.
9. El Majidi N, Bouchard M, Gosselin NH, Carrier G. Relationship between prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and birth weight: a systematic analysis of published epidemiological studies through a standardization of biomonitoring data. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2012;64(1):161–76.
10. Boucher O, Muckle G, Bastien CH. Prenatal exposure to polychlorinated biphenyls: a neuropsychologic analysis. *Environ Health Perspect*. 2009;117(1):7–16.
11. Goodman JE, Kerper LE, Boyce CP, Prueitt RL, Rhomberg LR. Weight-of-evidence analysis of human exposures to dioxins and dioxin-like compounds and associations with thyroid hormone levels during early development. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2010;58(1):79–99.
12. Vreugdenhil HJ, Slijper FM, Mulder PG, Weisglas-Kuperus N. Effects of perinatal exposure to PCBs and dioxins on play behavior in Dutch children at school age. *Environ Health Perspect*. 2002;110(10):A593–8.
13. Su PH, Huang PC, Lin CY, Ying TH, Chen JY, Wang SL. The effect of in utero exposure to dioxins and polychlorinated biphenyls on reproductive development in eight year-old children. *Environ Int*. 2012;39(1):181–7.
14. Winans B, Humble MC, Lawrence BP. Environmental toxicants and the developing immune system: a missing link in the global battle against infectious disease? *Reprod Toxicol*. 2011;31(3): 327–36.
15. Apelberg BJ, Witter FR, Herbstman JB, Calafat AM, Halden RU, Needham LL, et al. Cord serum concentrations of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) in relation to weight and size at birth. *Environ Health Perspect*. 2007;115(11): 1670–6.
16. Fei C, McLaughlin JK, Tarone RE, Olsen J. Perfluorinated chemicals and fetal growth: a study within the Danish National Birth Cohort. *Environ Health Perspect*. 2007;115(11):1677–82.
17. Olsen GW, Butenhoff JL, Zobel LR. Perfluoroalkyl chemicals and human fetal development: an epidemiologic review with clinical and toxicological perspectives. *Reprod Toxicol*. 2009; 27(3–4):212–30.
18. Halldorsson TI, Rytter D, Haug LS, Bech BH, Danielsen I, Becher G, et al. Prenatal exposure to perfluorooctanoate and risk of overweight at 20 years of age: a prospective cohort study. *Environ Health Perspect*. 2012;120(5):668–73.
19. Kim S, Choi K, Ji K, Seo J, Kho Y, Park J, et al. Trans-placental transfer of thirteen perfluorinated compounds and relations with fetal thyroid hormones. *Environ Sci Technol*. 2011;45(17): 7465–72.
20. Grandjean P, Andersen EW, Budtz-Jorgensen E, Nielsen F, Molbak K, Weihe P, et al. Serum vaccine antibody concentrations in children exposed to perfluorinated compounds. *JAMA*. 2012;307(4):391–7.
21. 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(6):785–91.
22. World Health Organization. Possible developmental early effects of endocrine

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

- disrupters on child health. Geneva: WHO Press; 2012.
23. Ban S, Sata F, Kurahashi N, Kasai S, Moriya K, Kakizaki H, et al. Genetic polymorphisms of ESR1 and ESR2 that may influence estrogen activity and the risk of hypospadias. *Hum Reprod.* 2008;23(6):1466–71.
24. Sata F, Kurahashi N, Ban S, Moriya K, Tanaka KD, Ishizuka M, et al. Genetic polymorphisms of 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase 3 and the risk of hypospadias. *J Sex Med.* 2010;7(8): 2729–38.
25. Kurahashi N, Sata F, Kasai S, Shibata T, Moriya K, Yamada H, et al. Maternal genetic polymorphisms in CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 and the risk of hypospadias. *Mol Hum Reprod.* 2005; 11(2):93–8.
26. Kishi R, Sata F, Yoshioka E, Ban S, Sasaki S, Konishi K, et al. Exploiting gene-environment interaction to detect adverse health effects of environmental chemicals on the next generation. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2008;102(2):191–203.
27. Kishi R, Sasaki S, Yoshioka E, Yuasa M, Sata F, Saijo Y, et al. Cohort profile: the Hokkaido study on environment and children's health in Japan. *Int J Epidemiol.* 2011;40(3):611–8.
28. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. *Lancet* 1998;351(9111):1225–32.
29. Konishi H. A manual for the diagnoses of congenital anomalies (Gaihyou kikei sindan-no tebiki). Kanagawa, Japan: the study group on congenital anomalies in Kanagawa; 1981 (in Japanese).
30. Nishima S, Chisaka H, Fujiwara T, Furusho K, Hayashi S, Hiraba K, et al. Surveys on the prevalence of pediatric bronchial asthma in Japan: a comparison between the 1982, 1992, and 2002 surveys conducted in the same region using the same methodology. *Allergol Int.* 2009;58(1):37–53.
31. 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;112:118–25.
32. Yamada T, Morikawa M, Yamada T, Kishi R, Sengoku K, Endo T, et al. First-trimester serum folate levels and subsequent risk of abortion and preterm birth among Japanese women with singleton pregnancies. *Arch Gynecol Obstet.* 2013;287(1):9–14.
33. Iida T, Todaka T. Measurement of dioxins in human blood: improvement of analytical method. *Ind Health.* 2003;41(3): 197–204.
34. Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Hori T, Tobiishi K, Onozuka D, et al. Concentrations of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and dioxin-like polychlorinated biphenyls in blood collected from 195 pregnant women in Sapporo City, Japan. *Chemosphere.* 2007;69(8):1228–37.
35. Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Onozuka D, Sasaki S, Miyashita C, et al. Concentrations of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and polychlorinated biphenyls in blood and breast milk collected from pregnant women in Sapporo City, Japan. *Chemosphere.* 2011;85(11): 1694–700.
36. Todaka T, Hirakawa H, Tobiishi K, Iida T. New protocol of dioxins analysis in human blood. *Fukuoka Igaku Zasshi.* 2003;94(5):148–57.
37. Todaka T, Hori T, Hirakawa H, Kajiwara J,

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

- Yasutake D, Onozuka D, et al. Congener-specific analysis of non-dioxin-like polychlorinated biphenyls in blood collected from 195 pregnant women in Sapporo City, Japan. *Chemosphere*. 2008;73(6):923–31.
38. Van den Berg M, Birnbaum LS, Denison M, De Vito M, Farland W, Feeley M, et al. The 2005 World Health Organization reevaluation of human and Mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Toxicol Sci*. 2006;93(2): 223–41.
39. Inoue K, Okada F, Ito R, Kato S, Sasaki S, Nakajima S, et al. 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*. 2004;112(11):1204–7.
40. Inoue K, Okada F, Ito R, Kawaguchi M, Okanouchi N, Nakazawa H. Determination of perfluorooctane sulfonate, perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonamide in human plasma by column-switching liquid chromatography-electrospray mass spectrometry coupled with solid-phase extraction. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci*. 2004;810(1):49–56.
41. Kashino I, Okada E, Matsuura H. Development of UPLC-MS/MS for the determination of eleven PFC in human plasma. In: Proceedings of Japan Society for Environmental Chemistry, Ehime, Japan, 11–13 July, 2012.
42. Kanazawa A, Miyasita C, Okada E, Kobayashi S, Washino N, Sasaki S, et al. Blood persistent organochlorine pesticides in pregnant women in relation to physical and environmental variables in The Hokkaido Study on Environment and Children's Health. *Sci Total Environ*. 2012;426:73–82.
43. Konishi K, Sasaki S, Kato S. Effect of prenatal exposure to dioxins on birth weight. In: Proceedings of Persistent Organic Pollutants (POPs) Research in Asia, 2008, pp 362–67.
44. Konishi K, Sasaki S, Kato S, Ban S, Washino N, Kajiwara J, et al. Effects of prenatal exposure to dioxins and methyl mercury on birth weight. *Organohalogen Compd*. 2007;69:2109–11.
45. Ito Y, Yokota H, Wang R, Yamanoshita O, Ichihara G, Wang H, et al. Species differences in the metabolism of di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in several organs of mice, rats, and marmosets. *Arch Toxicol*. 2005;79(3):147–54.
46. Tsuboi T, Kawai T, Araki A, Kishi R. Determination of human urinary metabolites of five phthalate by GC/MS—study of elementally school children in Sapporo, Japan. In: Proceedings of International Society of Exposure Science, Seattle, USA, 2012, p. 40.
47. Araki A, Kawai T, Tsuboi T, Ait Bamai Y, Takeda T, Yoshioka E, et al. Determination of phthalate metabolites in urine of children and their family—exposure assessment to plasticizer and flame retardants and their risk on children. In: Proceedings of International Society of Exposure Science, Seattle, USA, 2012, p. 72.
48. Yamamoto J, Hayama S, Sato N, Matsumura T, Kishi R, Sasaki S, et al. Analysis of bisphenol A in biological sample. In: Proceedings of 20th Symposium on Environmental Chemistry, Kumamoto, Japan, 2011, pp 610–11.
49. Sasaki S, Braimoh TS, Yila TA, Yoshioka E, Kishi R. Self-reported tobacco smoke exposure and plasma cotinine levels during

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

- pregnancy—a validation study in Northern Japan. *Sci Total Environ*. 2011;412–413:114–8.
50. Kashima H, Kato M, Handa T. Neuropsychological investigation of the frontal function in chronic schizophrenia: results of a modified Wisconsin card sorting test. *Jpn J Clin Psychiatry*. 1985;14:1479–89 (in Japanese).
51. Kashima H, Kato M. Wisconsin card sorting test (Keio Version) (KWCST). *Brain Sci Ment Disord*. 1995;6:209–16 (in Japanese).
52. Sasaki S. Nihongoban yoshokisei yakuwari kodo shakudo (J-PSAI) no sakusei: pre-School Activities Inventory no hoyaku. *Stud Sociol Psychol Educ Inq Hum Soc*. 2006;62:174–6.
53. Anme T, Shimada C, Katayama H. Evaluation of environmental stimulation for 18 months and the related factors. *Nihon Kosshu. Eisei Zasshi*. 1997;44(5):346–52.
54. Shiokawa H. Development of the life event questionnaire for parents: its use and reliability data. *Jichi Med Univ J*. 2007;30:165–72.
55. Kobayashi S, Sata F, Sasaki S, Ban S, Miyashita C, Okada E, et al. 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*. 2013;219(3): 269–78.
56. Sasaki S, Kondo T, Sata F, Saijo Y, Katoh S, Nakajima 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*. 2006;12(2):77–83.
57. Sasaki S, Sata F, Katoh S, Saijo Y, Nakajima S, Washino N, et al. Adverse birth outcomes associated with maternal smoking and polymorphisms in the N-Nitrosamine-metabolizing enzyme genes NQO1 and CYP2E1. *Am J Epidemiol*. 2008;167(6): 719–26.
58. Yila TA, Sasaki S, Miyashita C, Braimoh TS, Kashino I, Kobayashi S, 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*. 2012;22(2):91–102.
59. Konishi K, Sasaki S, Kato S, Ban S, Washino N, Kajiwara J, et al. Prenatal exposure to PCDDs/PCDFs and dioxin-like PCBs in relation to birth weight. *Environ Res*. 2009;109(7):906–13.
60. Nakajima S, Saijo Y, Kato S, Sasaki S, Uno A, Kanagami N, et al. Effects of prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins on mental and motor development in Japanese children at 6 months of age. *Environ Health Perspect*. 2006;114(5): 773–8.
61. Washino N, Saijo Y, Konishi K. The effect of prenatal exposure to dioxins on cord serum IGE. In: *Proceedings of the 27th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants*, Tokyo, Japan, 2–7 September, 2007
62. Miyashita C, Sasaki S, Saijo Y, Washino N, Okada E, Kobayashi S, et al. Effects of prenatal exposure to dioxin-like compounds on allergies and infections during infancy. *Environ Res*. 2011;111(4):551–8.
63. Washino N, Saijo Y, Sasaki S, Kato S, Ban S, Konishi K, et al. Correlations between prenatal exposure to perfluorinated chemicals and reduced fetal growth. *Environ Health Perspect*. 2009;117(4):660–7.
64. Okada E, Kashino I, Matsuura H, Sasaki S,

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

- Miyashita C, Yamamoto J, et al. Temporal trends of perfluoroalkyl acids in plasma samples of pregnant women in Hokkaido, Japan, 2003–2011. *Environ Int.* 2013 (in press).
65. Okada E, Kashino I, Sasaki S, Miyashita C, Ikeno T, Araki A, et al. Relationship between prenatal exposure to perfluorinated compounds and allergic diseases in infants. In: *Proceedings of International Society for Environmental Epidemiology*, Basel, Switzerland, August, 2013
66. Rylander L, Stromberg U, Hagmar L. Dietary intake of fish contaminated with persistent organochlorine compounds in relation to low birthweight. *Scand J Work Environ Health.* 1996;22(4):260–6.
67. Baibergenova A, Kudyakov R, Zdeb M, Carpenter DO. Low birth weight and residential proximity to PCB-contaminated waste sites. *Environ Health Perspect.* 2003;111(10):1352–7.
68. Sonneborn D, Park HY, Petrik J, Kocan A, Palkovicova L, Trnovec T, et al. Prenatal polychlorinated biphenyl exposures in eastern Slovakia modify effects of social factors on birthweight. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2008;22(3):202–13.
69. Hertz-Picciotto I, Charles MJ, James RA, Keller JA, Willman E, Teplin S. In utero polychlorinated biphenyl exposures in relation to fetal and early childhood growth. *Epidemiology.* 2005;16(5): 648–56.
70. Vartiainen T, Jaakkola JJ, Saarikoski S, Tuomisto J. Birth weight and sex of children and the correlation to the body burden of PCDDs/PCDFs and PCBs of the mother. *Environ Health Perspect.* 1998;106(2):61–6.
71. Guo YL, Lambert GH, Hsu CC, Hsu MM. Yucheng: health effects of prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and dibenzofurans. *Int Arch Occup Environ Health.* 2004;77(3):153–8.
72. Masuda Y. Fate of PCDF/PCB congeners and change of clinical symptoms in patients with Yusho PCB poisoning for 30 years. *Chemosphere.* 2001;43(4–7):925–30.
73. Wang SL, Lin CY, Guo YLL, Lin LY, Chou WL, Chang LW. Infant exposure to polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and biphenyls (PCDD/Fs, PCBs)—correlation between prenatal and postnatal exposure. *Chemosphere.* 2004;54(10):1459–73.
74. Suzuki G, Nakano M, Nakano S. Distribution of PCDDs/PCDFs and Co-PCBs in human maternal blood, cord blood, placenta, milk, and adipose tissue: dioxins showing high toxic equivalency factor accumulate in the placenta. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2005;69(10):1836–47.
75. Fletcher T, Steenland K, Savitz D. 2009. Status Report: PFOA and Immune Biomarkers in Adults Exposed to PFOA in Drinking Water in the Mid Ohio Valley: [http://www.c8sciencepanel.org/pdfs/Status_Report_C8_and_Immune_markers_March2009.pdf] (Accessed 27 Sept 2011).
76. Harada K, Koizumi A, Saito N, Inoue K, Yoshinaga T, Date C, et al. Historical and geographical aspects of the increasing perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate contamination in human serum in Japan. *Chemosphere.* 2007;66(2):293–301.
77. Jensen AA, Leffers H. Emerging endocrine disruptors: perfluoroalkylated substances. *Int J Androl.* 2008;31(2):161–9.
78. Kannan K, Corsolini S, Falandysz J, Fillmann G, Kumar KS, Loganathan BG, et al. Perfluorooctanesulfonate and related fluorochemicals in human blood from several

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

- countries. *Environ Sci Technol.* 2004;38(17):4489–95.
79. Yoshioka W, Peterson RE, Tohyama C. Molecular targets that link dioxin exposure to toxicity phenotypes. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2011;127(1–2):96–101.
80. Tsuchiya Y, Nakajima M, Yokoi T. Cytochrome P450-mediated metabolism of estrogens and its regulation in human. *Cancer Lett.* 2005;227(2):115–24.
81. Sørensen M, Autrup H, Møller P, Hertel O, Jensen SS, Vinzents P, et al. Linking exposure to environmental pollutants with biological effects. *Mutat Res Rev Mutat Res.* 2003;544(2–3): 255–71.
82. Braimoh TS. Effects of maternal secondhand smoke exposure and gene polymorphisms of CYP1A1, EPHX1 and NAT2 on infant birth size. Doctoral thesis. Japan: Hokkaido University; 2012.
83. Damstra T, Barlow S, Bergman A, Kavlock R, Kraak Glen V. Global assessment of the state-of the science of endocrine disruptors. Geneva: World Health Organization; 2002.
84. Aschim EL, Nordenskjold A, Giwercman A, Lundin KB, Ruhayel Y, Haugen TB, et al. Linkage between cryptorchidism, hypospadias, and GGN repeat length in the androgen receptor gene. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(10):5105–9.
85. Thai HT, Kalbasi M, Lagerstedt K, Frisen L, Kockum I, Nordenskjold A. The valine allele of the V89L polymorphism in the 5-alpha-reductase gene confers a reduced risk for hypospadias. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(12):6695–8.
86. Radpour R, Rezaee M, Tavasoly A, Solati S, Saleki A. Association of long polyglycine tracts (GGN repeats) in exon 1 of the androgen receptor gene with cryptorchidism and penile hypospadias in Iranian patients. *J Androl.* 2007;28(1):164–9.
87. Lichtenstein P, Carlstrom E, Rastam M, Gillberg C, Anckarsater H. The genetics of autism spectrum disorders and related neuropsychiatric disorders in childhood. *Am J Psychiatry.* 2010;167(11):1357–63.
88. Ikeno T, Kobayashi S, Baba T, Kishi R. Literature review of the prevalence of attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD) and its relation to environmental factors (ADHD no yuubyouritsu to youiku kankyō ni kansuru bunken review). *Hokkaido J Public Health.* 2011;25(2):53–9 (in Japanese).
89. Strang-Karlsson S, Raikkonen K, Pesonen AK, Kajantie E, Paavonen EJ, Lahti J, et al. Very low birth weight and behavioral symptoms of attention deficit hyperactivity disorder in young adulthood: The Helsinki study of very-low-birth-weight adults. *Am J Psychiatry.* 2008;165(10):1345–53.
90. Wolke D, Samara M, Bracewell M, Marlow N, Group EPS. Specific language difficulties and school achievement in children born at 25 weeks of gestation or less. *J Pediatr.* 2008;152(2): 256–62.
91. Hille ETM, den Ouden AL, Saigal S, Wolke D, Lambert M, Whitaker A, et al. Behavioural problems in children who weigh 1000 g or less at birth in four countries. *Lancet.* 2001;357(9269): 1641–3.
92. Hack M, Youngstrom EA, Cartar L, Schluchter M, Taylor HG, Flannery D, et al. Behavioral outcomes and evidence of psychopathology among very low birth weight infants at age 20 years. *Pediatrics.* 2004;114(4):932–40.
93. Hackett JA, Surani MA. DNA methylation dynamics during the mammalian life cycle.

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

- Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2013;368(1609):20110328.
94. Azumi K, Kobayashi S, Kishi R. Review: epigenetic research for the elucidation of the transgenerational effects of the environmental chemicals (Kankyou-kagaku bussitu no jisedaieikyuu no kaimei ni okeru epigenetics kenkyuu). Hokkaido J Public Health. 2012;26(2):26–38 (in Japanese).
95. Baccarelli A, Bollati V. Epigenetics and environmental chemicals. Curr Opin Pediatr. 2009;21(2):243–51.
96. Bollati V, Baccarelli A. Environmental epigenetics. Heredity (Edinb). 2010;105(1):105–12.
97. Murphy SK, Adigun A, Huang Z, Overcash F, Wang F, Jirtle RL, et al. Gender-specific methylation differences in relation to prenatal exposure to cigarette smoke. Gene. 2012;494(1):36–43.
98. Hoyo C, Fortner K, Murtha AP, Schildkraut JM, Soubry A, Demark-Wahnefried W, et al. Association of cord blood methylation fractions at imprinted insulin-like growth factor 2 (IGF2), plasma IGF2, and birth weight. Cancer Causes Control. 2012;23(4):635–45.
99. Vrijheid M, Casas M, Bergstrom A, Carmichael A, Cordier S, Eggesbo M, et al. European birth cohorts for environmental health research. Environ Health Perspect. 2012;120(1):29–37.

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

Fig. 1 The geographical distributions of the collaborating hospitals in Hokkaido, Japan. The large circled dot indicates Sapporo city (the prefectural capital of Hokkaido). The black dots indicate the geographical distributions of the collaborating hospitals and clinics outside of Sapporo City

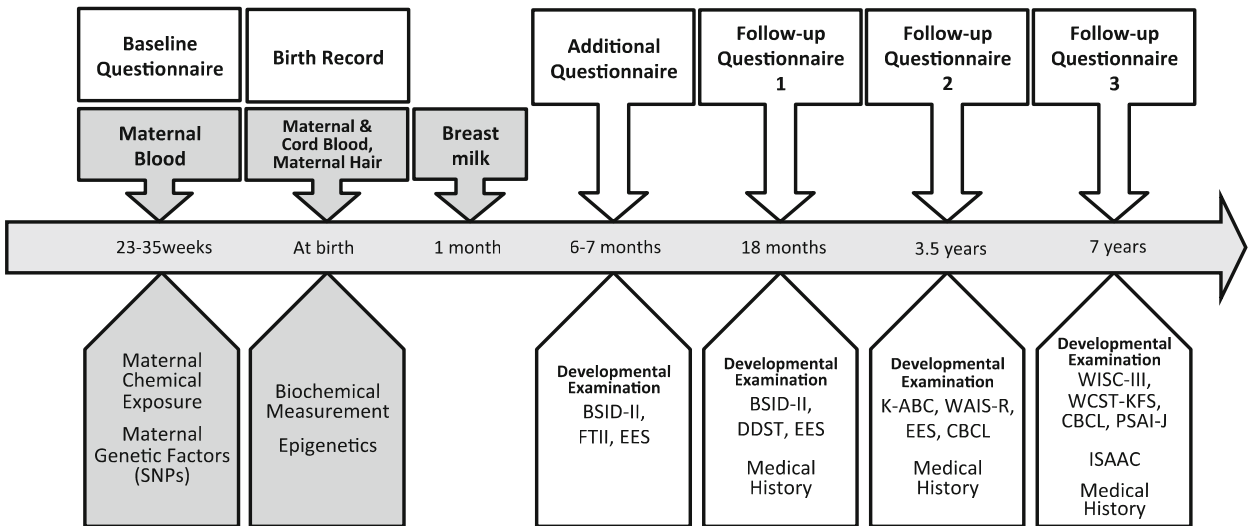
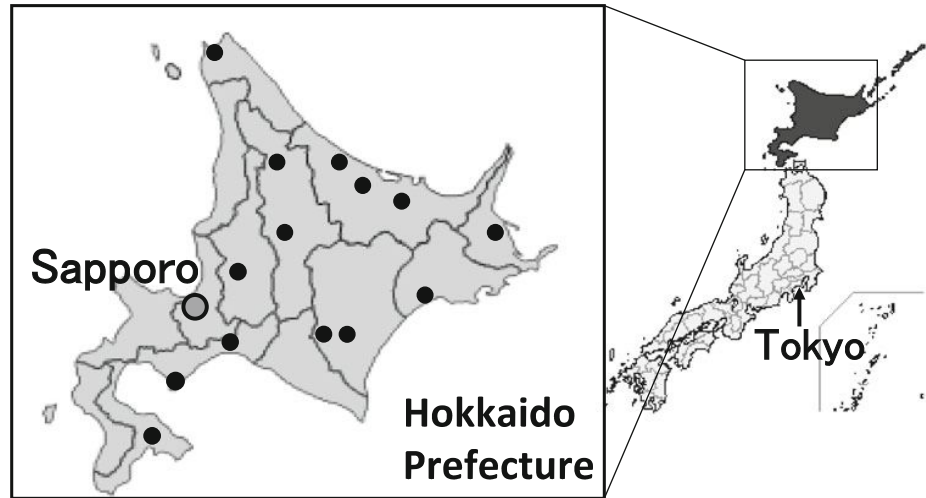


Fig. 2 Design of the Sapporo Toho hospital cohort study: obtaining information and specimens. SNPs single nucleotide polymorphisms, BSID-II The Bayley Scales of Infant Development-Second edition, FTII The Fagan Test of Infant Intelligence, EES the evaluation of environmental stimulation, DDST The Denver developmental screening tests, K-ABC The Kaufman-Assessment Battery for Children,

WAIS-R The Wechsler Adult Intelligence Scale-Revised, CBCL Child Behavior Checklist, WISC-III The Wechsler Intelligence Scale for Children-Third edition, WCST-KFS Wisconsin Card Sorting Test-Keio-F-S version, PSAI-J Pre-School Activities Inventory-Japanese version, ISAAC International Study of Asthma and Allergies in Childhood

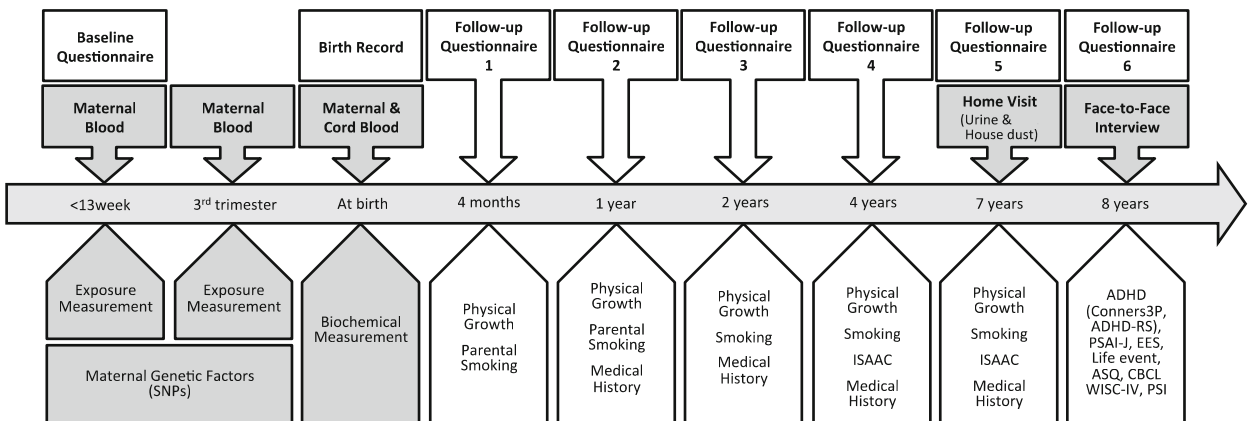


Fig. 3 Design of the Hokkaido large-scale cohort study: obtaining information and specimens. SNPs single nucleotide polymorphisms, ISAAC International Study of Asthma and Allergies in Childhood, ADHD attention deficit hyperactivity disorder, Conners3P The Conners Third edition Parent, ADHD-RS attention deficit hyperactivity disorder-rating scale, PSAI-J Pre-School Activities Inventory-

Japanese version, EES the evaluation of environmental stimulation, Life Event life event questionnaire for parents, ASQ autism screening questionnaire, CBCL child behavior checklist, WISC-IV The Wechsler Intelligence Scale for Children-Fourth edition, PSI Parenting Stress Index

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

Table 1 Items measured in the Hokkaido study on environment and children's health

Specimen	Measurement
Exposure measurement	
Maternal blood	PCB and dioxin; PCDD and PCDF (congeners)
	OH-PCB (congener level)
	PFCs (PFOS, PFOA and other PFAAs)
	MEHP (phthalate metabolite)
	Chlorinated pesticides
Cotinine	
Maternal hair	Me-Hg
Cord blood	BPA
Child urine	Cotinine
	Phthalate and phosphate esters (7-year-old)
House dust	Phthalate and phosphate esters (7-year-old)
Biochemical measurements	
Maternal blood	TSH, FT4, Folic acid, 11 Fatty acids
Cord blood	IgE, TSH, FT4, 9 Steroid hormones

PCB polychlorinated biphenyls, PCDF polychlorinated dibenzofurans, PCDD polychlorinated dibenzodioxins, OH-PCB hydroxylated polychlorinated biphenyl, PFCs perfluorinated compounds, PFOS perfluorooctane sulfonate, PFOA perfluorooctanoic acid, PFAAs perfluoroalkyl acids, MEHP mono-2-ethylhexyl phthalate, Me-Hg methylmercury, BPA bisphenol A, TSH thyroid stimulating hormone, FT4 free thyroxine

Table 3 Gender differences in the effect of PCB/dioxins exposure on birth weight in a multiple linear regression model

log ₁₀ scale	Male		Female	
	b ^a	p value	b ^a	p value
Total (pg/g lipid)				
Total PCDDs	- 125.7	0.371	- 19.3	0.890
Total PCDFs	- 237.6	0.191	- 304.9	0.058
Total PCDDs/PCDFs	- 136.6	0.340	- 28.7	0.839
Total non-ortho PCBs	- 90.7	0.491	- 122.4	0.286
Total mono-ortho PCBs	- 138.6	0.244	- 104.3	0.315
Total DL-PCBs	- 138.7	0.245	- 105.3	0.311
Total dioxin	- 148.5	0.229	- 106.8	0.319
TEQ (WHO 2005) (TEQ pg/g lipid)				
Total PCDDs TEQ	- 331.4	0.019*	- 126.3	0.336
Total PCDFs TEQ	- 269.8	0.070	- 241.7	0.058
Total PCDDs/PCDFs TEQ	- 338.7	0.022*	- 173.9	0.195
Total non-ortho PCBs TEQ	- 107.3	0.288	- 114.8	0.196
Total mono-ortho PCBs TEQ	- 138.6	0.244	- 104.3	0.315
Total DL-PCBs TEQ	- 112.1	0.278	- 117.5	0.195
Total dioxin TEQ	- 289.5	0.037*	- 144.2	0.243

This table was reconstructed by using data from a previously published study by Konishi et al. [59]. Among male infants, a significant negative association between birth weight and total PCDDs TEQ levels, total PCDDs/PCDFs TEQ levels and total TEQ levels was found. However, among the female infants, these significant associations were not found

* p < 0.05

The Toxicity Equivalency Quantity (TEQ) levels were calculated by multiplying the levels of individual congeners by its toxic equivalency factor (TEF) values of WHO 2005 [38]

^a Beta coefficients represent the change in birth weight (g) for a 10-fold increase in the levels of PCDDs/PCDFs and DL-PCBs

Table 2 Genetic factors and its environmental interaction being studied in the Hokkaido study (up to 2013)

Maternal genetic factors	Environmental exposure	Outcomes	Results	Ref.
AHR, AHRR, CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1	Dioxin and dioxin-like PCBs	(Concentration)	Decreased	[55]
AHR, CYP1A1, GSTM1, GSTT1	Active tobacco smoking (PAHs)	Birth size	Reduction	[56]
NQO1, CYP2E1, MGMT	Active tobacco smoking	Birth size	Reduction	[57]
5,10-MTHFR (C677T, A1298C)	Tobacco smoking and Folic acid	Birth weight	Reduction	[58]

Genes described in bold font in the table represent the genetic polymorphisms that are significantly associated with the outcome

AHR aryl hydrocarbon receptor, AHRR AHR repressor, CYP1 cytochrome P450, family 1, CYP1A1 CYP1 subfamily A polypeptide 1, CYP1A2 CYP1 subfamily A polypeptide 2, CYP1B1 CYP1 subfamily B polypeptide 1, GSTM1 glutathione-S-transferase mu-1, GSTT1 glutathione-S-transferase theta-1, NQO1 NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1, CYP2E1 CYP2 subfamily E polypeptide 1, MTHFR methylenetetrahydrofolate reductase

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

Table 4 Gender differences in the effect of PCB/dioxins exposure on BSID-II Mental (MDI) and Psychomotor (PDI) development scores at 6 months of age in multiple linear regression models

(log ₁₀ transformed)	6 months MDI						6 months PDI					
	Male (n = 99)			Female (n = 91)			Male (n = 99)			Female (n = 91)		
	b ^a	t	p value	b ^a	t	p value	b ^a	t	p value	b ^a	t	p value
PCDD												
2,3,7,8-TCDD	- 0.15	- 1.54	0.13	- 0.05	- 0.48	0.63	- 0.19	- 2.01	0.048*	- 0.06	- 0.56	0.58
1,2,3,7,8-PeCDD	- 0.07	- 0.70	0.48	0.22	2.14	0.04*	- 0.10	- 0.98	0.33	- 0.04	- 0.33	0.75
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	- 0.25	- 2.52	0.01*	- 0.14	- 1.34	0.18	- 0.24	- 2.56	0.01*	- 0.19	- 1.78	0.08
OCDD	- 0.09	- 0.92	0.36	- 0.18	- 1.74	0.09	- 0.22	- 2.33	0.02*	- 0.21	- 1.97	0.05
PCDF												
2,3,7,8-TCDF	- 0.08	- 0.84	0.41	- 0.11	- 1.05	0.30	- 0.21	- 2.21	0.03*	- 0.13	- 1.21	0.23
1,2,3,7,8-PeCDF	- 0.02	- 0.22	0.83	- 0.06	- 0.54	0.59	- 0.22	- 2.38	0.02*	- 0.17	- 1.59	0.12
1,2,3,4,7,8-HxCDF	- 0.07	- 0.73	0.47	- 0.10	- 0.93	0.36	- 0.17	- 1.69	0.09	- 0.25	- 2.36	0.02*
Non-ortho PCB												
33 ⁰ 44 ⁵ -PenCB (#126)	- 0.03	- 0.33	0.74	- 0.01	- 0.10	0.93	- 0.15	- 1.62	0.11	- 0.24	- 2.25	0.03*
Mono-ortho PCB												
2344 ⁵ -PeCB (#114)	- 0.07	- 0.71	0.48	0.08	0.79	0.43	- 0.19	- 2.00	0.049*	- 0.16	- 1.49	0.14
2 ⁰ 344 ⁵ -PeCB (#123)	0.02	0.23	0.82	0.01	0.05	0.96	- 0.13	- 1.39	0.17	- 0.25	- 2.37	0.02*
233 ⁰ 44 ⁵ ⁰ -HxCB (#157)	- 0.08	- 0.85	0.40	0.10	0.90	0.37	- 0.21	- 2.19	0.03*	- 0.11	- 1.09	0.28
23 ⁰ 44 ⁵ ⁵ ⁰ -HxCB (#167)	- 0.05	- 0.49	0.63	0.04	0.41	0.69	- 0.22	- 2.35	0.02*	- 0.15	- 1.38	0.17
Di-ortho PCB												
22 ⁰ 33 ⁰ 44 ⁵ -HpCB(#170)	- 0.13	- 1.25	0.22	0.10	0.88	0.38	- 0.25	- 2.47	0.02*	- 0.04	- 0.37	0.71
22 ⁰ 344 ⁵ ⁵ ⁰ -HpCB(#180)	- 0.13	- 1.23	0.22	0.10	0.88	0.38	- 0.24	- 2.42	0.02*	0.00	0.01	1.00
Total												
Total PCDD	- 0.10	- 1.00	0.32	- 0.17	- 1.63	0.11	- 0.22	- 2.31	0.02*	- 0.21	- 1.97	0.05
Total PCDF	- 0.06	- 0.61	0.55	0.02	0.15	0.88	- 0.18	- 1.81	0.07	- 0.20	- 1.83	0.07
Total PCDD/PCDF	- 0.10	- 1.00	0.32	- 0.17	- 1.58	0.12	- 0.22	- 2.33	0.02*	- 0.21	- 1.98	0.05
Total non-ortho PCBs	- 0.01	- 0.12	0.91	0.03	0.25	0.81	- 0.16	- 1.72	0.09	- 0.19	- 1.73	0.09
Total mono-ortho PCBs	- 0.05	- 0.55	0.58	0.05	0.46	0.64	- 0.19	- 1.97	0.05	- 0.17	- 1.60	0.11
Total DL-PCB	- 0.05	- 0.55	0.59	0.05	0.46	0.65	- 0.19	- 1.97	0.05	- 0.17	- 1.60	0.11
Total dioxins	- 0.06	- 0.56	0.58	0.04	0.39	0.70	- 0.19	- 2.03	0.045*	- 0.17	- 1.65	0.10
Total PCDD-TEQ	- 0.09	- 0.87	0.39	0.14	1.31	0.19	- 0.12	- 1.24	0.22	- 0.08	- 0.77	0.44
Total PCDF-TEQ	- 0.03	- 0.28	0.78	0.08	0.73	0.47	- 0.17	- 1.74	0.09	- 0.15	- 1.42	0.16
Total PCDD/PCDF-TEQ	- 0.08	- 0.75	0.45	0.13	1.19	0.24	- 0.14	- 1.39	0.17	- 0.10	- 0.95	0.34
Total non-ortho PCBs-TEQ	- 0.03	- 0.28	0.78	0.01	0.08	0.94	- 0.16	- 1.67	0.10	- 0.22	- 2.04	0.04*
Total mono-ortho PCBs-TEQ	- 0.05	- 0.55	0.58	0.05	0.46	0.64	- 0.19	- 1.97	0.05	- 0.17	- 1.60	0.11
Total DL-PCB-TEQ	- 0.05	- 0.55	0.59	0.05	0.46	0.65	- 0.19	- 1.97	0.05	- 0.17	- 1.60	0.11
Total dioxins-TEQ	- 0.05	- 0.53	0.60	0.09	0.84	0.41	- 0.15	- 1.52	0.13	- 0.15	- 1.39	0.17

This table was constructed by reanalyzing the data from a previous study by Nakajima et al. [60]. Only statistically significant congeners are presented in this table (*p < 0.05)

The TEQ levels were calculated by multiplying the levels of individual congeners by its TEF values of WHO 2005 [38]

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

Table 5 Gender differences in the effect of PCB/dioxins exposure on cord blood IgE level in multiple linear regression models

	Male (n = 112)				Female (n = 123)			
	Crude model		Adjusted model		Crude model		Adjusted model	
	b (95 % CI)	p value	b (95 % CI)	p value	b (95 % CI)	p value	b (95 % CI)	p value
Total								
Total PCDD	0.032 (- 0.681, 0.746)	0.928	- 0.061 (- 0.821, 0.700)	0.875	0.562 (- 0.164, 1.287)	0.128	0.594 (- 0.198, 1.386)	0.140
Total PCDF	- 0.630 (- 1.503, 0.244)	0.156	- 1.097 (- 2.127, - 0.067)	0.037**	0.455 (- 0.350, 1.261)	0.265	0.590 (- 0.313, 1.493)	0.198
Total PCDD/PCDF	0.012 (- 0.715, 0.740)	0.973	- 0.088 (- 0.866, 0.689)	0.822	0.571 (- 0.164, 1.306)	0.127	0.607 (- 0.195, 1.410)	0.136
Total non-ortho PCBs	- 0.201 (- 0.811, 0.410)	0.516	- 0.587 (- 1.305, 0.132)	0.108	0.383 (- 0.154, 0.919)	0.16	0.479 (- 0.110, 1.067)	0.110
Total mono-ortho PCBs	- 0.252 (- 0.804, 0.299)	0.367	- 0.482 (- 1.137, 0.172)	0.147	0.120 (- 0.366, 0.605)	0.626	0.230 (- 0.330, 0.790)	0.418
Total DL-PCB	- 0.253 (- 0.805, 0.300)	0.367	- 0.484 (- 1.140, 0.171)	0.146	0.121 (- 0.365, 0.607)	0.622	0.232 (- 0.329, 0.792)	0.415
Total dioxins	- 0.246 (- 0.817, 0.325)	0.395	- 0.521 (- 1.275, 0.234)	0.174	0.142 (- 0.346, 0.631)	0.566	0.375 (- 0.219, 0.970)	0.214
TEQ (WHO 2005)								
Total PCDD TEQ	- 0.630 (- 1.288, 0.028)	0.060*	- 1.008 (- 1.822, - 0.194)	0.016**	0.138 (- 0.453, 0.728)	0.645	0.332 (- 0.376, 1.039)	0.355
Total PCDF TEQ	- 0.689 (- 1.408, 0.030)	0.060*	- 1.229 (- 2.113, - 0.344)	0.007***	0.390 (- 0.227, 1.007)	0.213	0.643 (- 0.065, 1.352)	0.075
Total PCDD/PCDF TEQ	- 0.681 (- 1.373, 0.011)	0.054*	- 1.144 (- 2.006, - 0.282)	0.010**	0.203 (- 0.406, 0.812)	0.511	0.427 (- 0.299, 1.153)	0.246
Total non-ortho PCBs TEQ	- 0.234 (- 0.689, 0.222)	0.312	- 0.498 (- 1.017, 0.021)	0.060*	0.205 (- 0.216, 0.627)	0.337	0.251 (- 0.217, 0.719)	0.290
Total mono-ortho PCBs TEQ	- 0.252 (- 0.804, 0.299)	0.367	- 0.482 (- 1.137, 0.172)	0.147	0.120 (- 0.366, 0.605)	0.626	0.230 (- 0.330, 0.790)	0.418
Total DL-PCB TEQ	- 0.242 (- 0.708, 0.224)	0.305	- 0.514 (- 1.047, 0.019)	0.058*	0.202 (- 0.228, 0.632)	0.354	0.254 (- 0.224, 0.732)	0.295
Total dioxins TEQ	- 0.535 (- 1.176, 0.106)	0.101	- 1.011 (- 1.794, - 0.229)	0.012**	0.234 (- 0.337, 0.806)	0.419	0.406 (- 0.265, 1.076)	0.233

This table was reconstructed by using data from a previously published study by Washino et al. [61]. Multiple linear regression adjusted for mother's age, maternal allergy history, paternal allergy history, smoking during pregnancy, parity, gestational age, frequency of deep sea fish consumption, distance of highway to home and blood sampling period

* p ≠ 0.10, ** p ≠ 0.05, *** p ≠ 0.01

The TEQ levels were calculated by multiplying the levels of individual congeners by their TEF values of WHO 2005 [38]

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

Table 6 Gender differences in the effect of PCB/dioxins exposure on the onset of otitis media at 18 months of age in multiple logistic regression models

(log ₁₀ transformed)		Adjusted			p-value for trend	
		Quartile 2 OR (95 % CI)	Quartile 3 OR (95 % CI)	Quartile 4 OR (95 % CI)		
All						
TEQ						
PCDDs	P	PCDDs	1.2 (0.53–2.7)	1.1 (0.50–2.6)	1.5 (0.65–3.5)	0.39
PCDFs	P	PCDFs	1.6 (0.68–3.8)	2.2 (0.93–5.1)	2.5 (1.1–5.9)*	0.03
Non-ortho PCBs	P	Non-ortho PCBs	1.8 (0.79–4.2)	2.5 (1.1–6.0)*	1.5 (0.62–3.6)	0.30
Total Dioxins			2.1 (0.92–4.8)	1.7 (0.71–3.9)	1.7 (0.70–4.1)	0.38
Congeners						
PCDDs		OCDD	3.4 (1.4–8.5)*	2.8 (1.1–7.0)*	2.6 (1.0–6.9)*	0.12
PCDFs		2,3,4,7,8-PeCDF	1.6 (0.7–3.9)	2.0 (0.88–4.8)	2.8 (1.2–6.6)*	0.02
Non-ortho PCBs		33 ⁰ 44 ⁰ -TCB(#77)	2.4 (0.99–5.9)	1.4 (0.61–3.3)	3.4 (1.6–7.3)*	0.01
Mono-ortho PCBs		233 ⁰ 44 ⁰ 5 ⁰ -HxCB(#157)	2.4 (1.0–5.5)*	1.1 (0.43–2.7)	2.5 (1.1–5.9)*	0.16
Males						
TEQ						
PCDDs	P	PCDDs	0.5 (0.13–1.8)	2.0 (0.65–6.2)	2.9 (0.83–10)	0.03
PCDFs	P	PCDFs	1.0 (0.28–3.3)	2.9 (0.87–9.8)	3.8 (1.1–13)*	0.01
Non-ortho PCBs	P	Non-ortho PCBs	2.4 (0.70–8.3)	2.9 (0.86–9.7)	3.6 (0.98–13.3)	0.05
Total dioxins			2.1 (0.61–6.9)	2.2 (0.67–7.1)	4.4 (1.2–16)*	0.03
Congeners						
PCDFs		2,3,4,7,8-PeCDF	1.7 (0.48–6.0)	2.9 (0.87–10)	5.3 (1.5–19)*	0.01
Non-ortho PCBs		33 ⁰ 44 ⁰ -TCB(#77)	2.8 (0.85–9.4)	0.9 (0.24–3.4)	3.5 (1.2–11)*	0.08
		33 ⁰ 44 ⁰ 5 ⁰ -HxCB(#169)	1.0 (0.25–3.8)	3.0 (0.93–9.6)	3.6 (1.1–12)*	0.01
Mono-ortho PCBs		2344 ⁰ 5-PeCB(#114)	2.4 (0.62–8.9)	4.5 (1.2–16.6)*	4.9 (1.3–18)*	0.01
		23 ⁰ 44 ⁰ 5 ⁰ -HxCB(#167)	3.1 (0.83–11)	3.3 (0.91–11)	3.7 (1.0–13)*	0.06
		233 ⁰ 44 ⁰ 5 ⁰ -HxCB(#157)	4.5 (1.2–17)*	1.6 (0.37–6.5)	7.5 (1.9–29)*	0.02
Female						
TEQ						
PCDDs	P	PCDDs	2.3 (0.71–7.6)	0.5 (0.11–2.0)	1.1 (0.30–4.1)	0.44
PCDFs	P	PCDFs	4.0 (1.1–14.7)*	1.2 (0.30–5.1)	1.3 (0.29–5.8)	0.41
Non-ortho PCBs	P	Non-ortho PCBs	1.3 (0.41–4.3)	1.9 (0.51–7.1)	0.8 (0.22–3.1)	0.86
Total Dioxins			2.6 (0.78–8.6)	1.0 (0.25–4.0)	1.0 (0.27–4.1)	0.57
Congeners						
Non-ortho PCBs		33 ⁰ 44 ⁰ -TCB(#77)	1.4 (0.3–6.9)	1.5 (0.45–4.9)	3.8 (1.2–12)*	0.03

This table was reconstructed by using data from a previously published study by Miyashita et al. [62]. Only statistically significant congeners are presented in this table. (* p ≠ 0.05). The OR (95 % CI) versus the first quartile (reference) in the logistic regression model was adjusted for maternal educational level, parity, infant gender, duration of breast-feeding, environmental tobacco exposure, day care attendance and blood sampling period (infant gender was excluded from covariates in gender-stratified analysis)

^a quartiles applied as ordinal variables in the model

* p ≠ 0.05, ** p ≠ 0.01; Statistically significant, p-value

The TEQ levels were calculated by multiplying the levels of individual congeners by its TEF values of WHO 2005 [38]

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

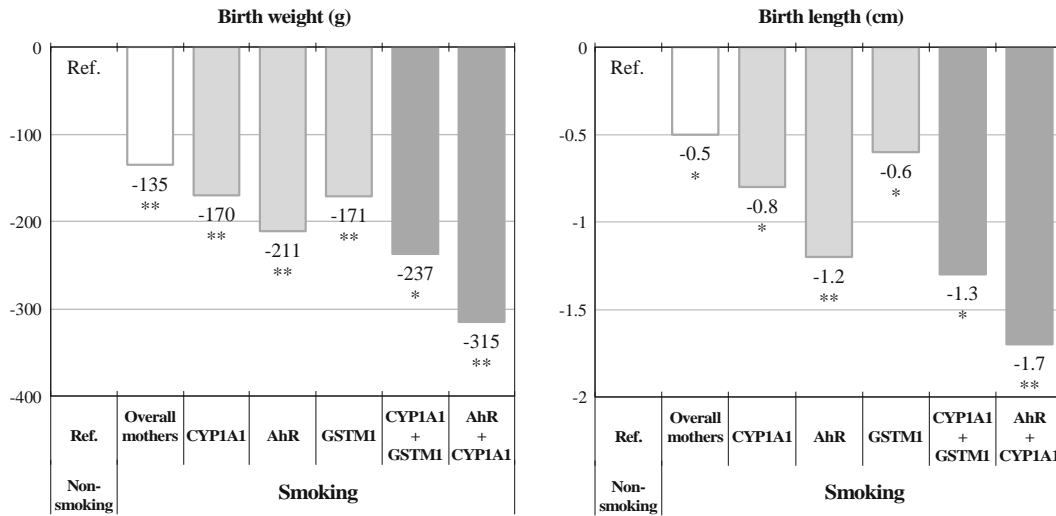


Fig. 4 The effects of maternal smoking in combination with maternal PAHs-metabolism-related genetic polymorphisms on infants' birth size. Adjusted for maternal age, height, weight before pregnancy, alcohol consumption during pregnancy, history of delivery, newborn

sex, gestational weeks and household income. *p≦ 0.05, **p≦ 0.01 This figure was created by modifying a figure contained in our previous study by Sasaki et al. [56]

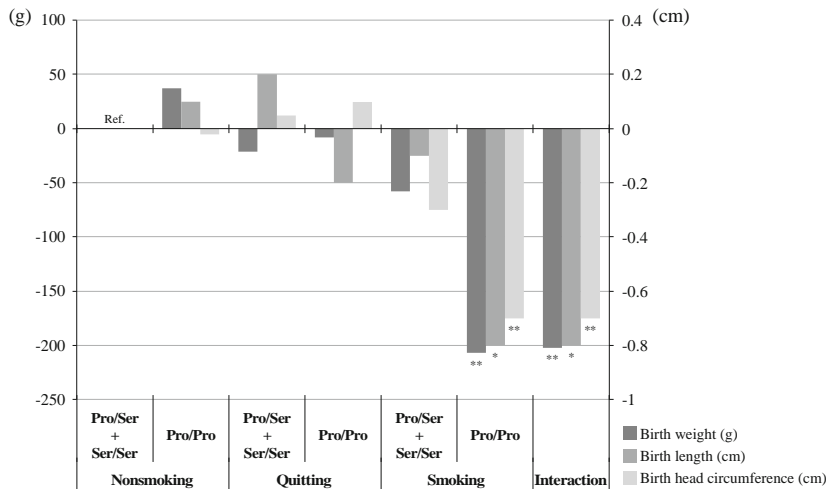


Fig. 5 The effects of maternal smoking in combination with maternal NQO1 genotype on infants' birth size. Adjusted for maternal age, height, weight before pregnancy, weight gain during pregnancy, alcohol consumption during pregnancy, parity, infant gender, gestational age, and household income. Interaction in multiple linear regression models was defined as product terms for the product of the

dummy independent variables: maternal smoking status (nonsmoker, quitter or smoker) and genotype (wild or mutant). b represents the product term for smoker 9 wild genotype. NQO1 NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1, Pro proline, Ser serine This figure was constructed by using the data from previous study by Sasaki et al. [57]

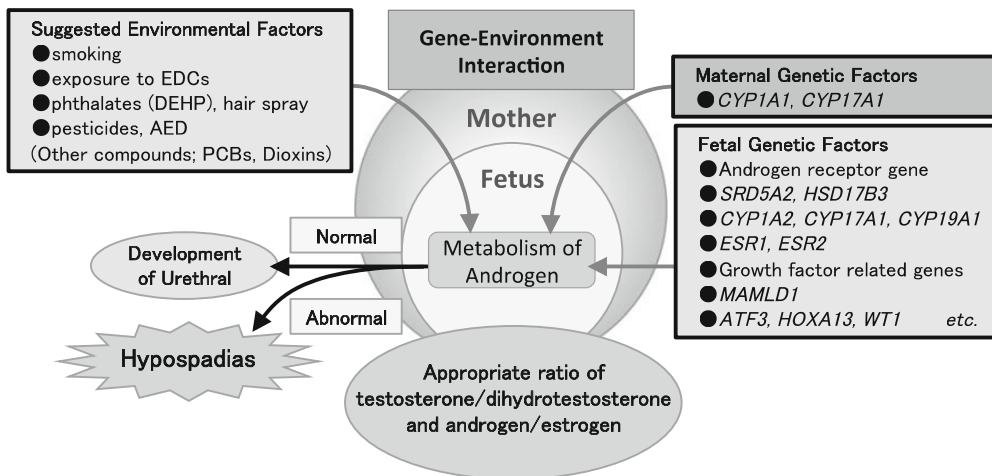


Fig. 6 Summary and suggestions for further studies on the environmental and genetic factors that influence hypospadias development. This figure was created by modifying a figure contained in our previous review by Kishi et al. [26]

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. Yamada T., Morikawa M., Yamada T., Kishi R., Sengoku K., Endo T., Saito T., Cho K., Minakami H.; First-trimester serum folate levels and subsequent risk of abortion and preterm birth among Japanese women with singleton pregnancies. *Arch Gynecol Obstet.* 287 (1):9-14, 2013.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. Yila T. A., Sasaki S., Miyashita C., Braimoh T. S., Kashino I., Kobayashi S., Okada E., Baba T., Yoshioka E., Minakami H., Endo T., Sengoku K., Kishi R.; 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 (2):91-102, 2012.
8. Okada E., Sasaki S., Saijo Y., Washino N., Miyashita C., Kobayashi S., Konishi K., Ito Y. M., Ito R., Nakata A., Iwasaki Y., Saito K., Nakazawa H., Kishi R.; Prenatal exposure to perfluorinated chemicals and relationship with allergies and infectious diseases in infants. *Environ Res.* 112 (1):118-125, 2012.

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

9. Kanazawa A., Miyashita C., Okada E., Kobayashi S., Washino N., Sasaki S., Yoshioka E., Mizutani F., Chisaki Y., Saijo Y., Kishi R.; Blood persistent organochlorine pesticides in pregnant women in relation to physical and environmental variables in The Hokkaido Study on Environment and Children's Health. *Sci Total Environ.* 426 73-82, 2012.
 10. Todaka T., Hirakawa H., Kajiwara J., Onozuka D., Sasaki S., Miyashita C., Yoshioka E., Yuasa M., Kishi R., Iida T., Uchi H., Furue M.; Concentrations of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and polychlorinated biphenyls in blood and breast milk collected from pregnant women in Sapporo City, Japan. *Chemosphere.* 85 (11):1694-1700, 2011.
 11. Sasaki S., Braimoh T. S., Yila T. A., Yoshioka E., Kishi R.; Self-reported tobacco smoke exposure and plasma cotinine levels during pregnancy - A validation study in Northern Japan. *Sci Total Environ.* 412-413 114-118, 2011.
 12. Miyashita C., Sasaki S., Saijo Y., Washino N., Okada E., Kobayashi S., Konishi K., Kajiwara J., Todaka T., Kishi R.; Effects of prenatal exposure to dioxin-like compounds on allergies and infections during infancy. *Environ Res.* 111 (4):551-558, 2011.
 13. Kishi R., Sasaki S., Yoshioka E., Yuasa M., Sata F., Saijo Y., Kurahashi N., Tamaki J., Endo T., Sengoku K., Nonomura K., Minakami H., Hokkaido Study on Environment, Children's Health; Cohort Profile: The Hokkaido Study on Environment and Children's Health in Japan. *Int J Epidemiol.* 40 (3):611-618, 2011.
 14. 安住薫, 小林祥子, 岸玲子; 環境化学物質曝露の次世代影響の解明におけるエビジェネティクス研究. 北海道公衆衛生学雑誌 . 26 (2):29-38, 2012.
 15. 池野多美子, 小林澄貴, 馬場俊明, 岸玲子; 注意欠如・多動性障害 (ADHD) の有病率と養育環境要因に関する文献 Review. 北海道公衆衛生学雑誌. 25 (2):53-59, 2012.
 16. 金澤文子, 宮下ちひろ, 岡田恵美子, 小林澄貴, 鷲野孝揚, 湯浅資之, 佐々木成子, 吉岡英治, 水谷太, 菅木洋一, 岸玲子; 北海道の妊婦の全血中POPs系農薬の濃度 環境と子どもの健康に関する北海道研究. 日本衛生学雑誌. 66 (1):95-107, 2011.
- 著書
17. 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~. 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
18. 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.
 19. 那須民江, 岸玲子; 胎生期低栄養と小

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

- 児の健康. 日本衛生学雑誌. 67 (1):21, 2012.
20. 宮下 ちひろ, 佐々木 成子, 西條 泰明, 鷲野 考揚, 岡田 恵美子, 小林 澄貴, 小西 香苗, 梶原 淳睦, 戸高 尊, 岸 玲子; 胎児期ダイオキシン類曝露が乳幼児のアレルギーおよび感染症リスクに与える影響. 北海道医学雑誌. 87 (2-3):78, 2012.
21. 岸玲子; フタル酸エステル類の生態影響に関する世界の研究動向. *Endocrine Disrupter News Letter*. 15 (1):1, 2012.
22. 岸玲子; 生殖・次世代影響の今後の研究課題 環境と子どもの健康に関する北海道研究 先天異常・発達・アレルギーの到達点と課題. 日本衛生学雑誌. 67 (2):261, 2012.
23. 岡田恵美子, 佐々木成子, 西條泰明, 鷲野考揚, 宮下ちひろ, 小林澄貴, 小西香苗, 伊藤陽一, 伊藤里恵, 中田彩子; 有機フッ素化合物の胎児期曝露と乳幼児のアレルギー症状および感染症との関連. 北海道医学雑誌. 87 (4):184-185, 2012.
24. 岸玲子; 環境と子どもの健康に関する北海道コホートの成果と今後の課題（特集 地域における母子保健縦断調査の活用）. *保健の科学*. 53 (2):98-104, 2011.
25. 岸玲子; スタートする「環境省エコチル調査」とその先駆けモデルとなった「北海道スタディ」について：これまでの成果と今後の課題. *北海道の公衆衛生*. 37 37-41, 2011.
- 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)
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*

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

- 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. Okada E., Kashino I., Matsuura U., Yamamoto J., Sasaki S., Miyashita C., Matsuura T., Kishi R.; Levels of perfluorinated chemicals in plasma samples of pregnant women from 2003-2011 in Hokkaido Japan. BiCCA. Taipei, Taiwan.
(2012.11.17-22)
10. Miyashita C., Ikeno T., Sasaki S., Okada E., Kobayashi S., Konishi K., Kajiwara J., Todaka T., Kishi R.; Effects of prenatal exposure to dioxin-like compounds on infant health. BiCCA. Taipei, Taiwan.
(2012.11.17-22)
11. Kishi R.; Health Effect of prenatal persistent organic pollutant exposure focused on PCDD/PCDF, dioxin-like PCB and PFOS and PFOA. BiCCA. Taipei, Taiwan. (2012.11.17-22)
12. Kishi R.; Cohort Profile of the Hokkaido Study of Environment and Children's health on malformation, development, and allergy in Japan. BiCCA. Taipei, Taiwan.
(2012.11.17-22)
13. Araki A., Miyashita C., Ikeno T., Sasaki S., Okada E., Ait Bamai Y., Tajima S., Cong S., Ukawa S., Kawai T., Tsuboi T., Kishi R.; Research plan for 7-year old survey of the Hokkaido Study. BiCCA. Taipei, Taiwan.
(2012.11.17-22)
14. Tsuboi T., Kawai T., Araki A., Ait Bamai Y., Kishi R.; Determination of Human urinary metabolites of five phthalate by gas chromatography-mass spectrometry -Exposure assessment to plasticizer

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

- and flame retardants and their risk on children (1)-. ISES 22nd Annual Meeting. Seattle, USA. (2012.10.28-11.01)
15. Kawai T., Tsuboi T., Araki A., Ait Bamai Y., Kishi R.; Phthalic anhydride as a marker of total uptake of phthalate diesters -Exposure assessment to plasticizer and flame retardants and their risk on children (2)-. ISES 22nd Annual Meeting. Seattle, USA. (2012.10.28-11.01)
16. Araki A., Kawai T., Tsuboi T., Ait Bamai Y., Takeda T., Yoshioka E., Shuji T, Ukawa S., Cong Shi, Kishi R.; Determination of Phthalate Metabolites in Urine of Children and Their Family-Exposure Assessment to Plasticizer and Flame Retardants and Their Risk on Children (3)-. ISES 22nd Annual Meeting. Seattle, USA. (2012.10.28-11.01)
17. Miyashita C., Sasaki S., Saijo Y., Okada E., Kobayashi S., Baba T., Kajiwara J., Todaka T., Iwasaki H., Nakazawa H., Hachiya N, Yasutake A, Kishi R.; Dioxins, Perfluorooctane sulfonate, Perfluorooctanoic Acid in the Blood, and Mercury Concentrations in the Hair During Perinatal Period in Japan. ISES 22nd Annual Meeting. Seattle, USA. (2012.10.28-11.01)
18. Kishi R.; S-016: The Cohort Profiles and the Recent Findings on the Japan-Hokkaido Birth Cohort Study on Malformation, Development and Allergy. ISEE Conference. Columbia, USA. (2012.08.26-30)
19. Ha E., Chen P., Kishi R., Hong Y., Park H., Ha M., Kim N., Yu S.; S-014: Brief Introduction of the Collaboration Work Process and Introduction and Findings of Birth Cohort Study from MOCEH, Korea. ISEE Conference. Columbia, USA. (2012.08. 26-30)
20. Kishi R.; Ten years' progress of the Hokkaido Study on Environment and child health and a brief introduction of the nationwide study of Japan Eco-Child Study(JECS). Environmental and Children's Health. Seoul, Korea. (2012.06.08)
21. Braimoh T., Sasaki S., Yila TA., Baba T., Miyashita C., Okada E., Kashino I., Ito K., Kobayashi S., Yoshioka E., Kishi R.; Effects of prenatal environmental tobacco smoke exposure on infant birth size. The American Public Health Association (APHA) 139th Annual Meeting and Exposition. Washington, DC, USA. (2011.10.29-11.2)
22. Itoh S., Kato S., Yuasa M., Sasaki S., Yoshioka E., Kashino I., Okada E., Miyashita C., Kishi R.; The effects of PFOS and PROA in maternal serum on maternal and infant thyroid hormones. ISEE2011:The 23rd International Society for Environmental Epidemiology Conference. Barcelona, Spain. (2011.09.13-16)
23. Braimoh T., Sasaki S., Yila TA., Baba T., Miyashita C., Okada E., Kashino

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

- I., Kobayashi S., Yoshioka E., Kishi R.; Effects of exposure to second-hand smoke during pregnancy on birth size. . Women's Health Conference. New York, USA. (2011.04.02)
24. 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)
25. 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)
26. 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)
27. 河合俊夫, 坪井樹, 荒木敦子, アイツバマイゆふ, 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一. 第86回日本産業衛生学会. 松山. (2013.05.14-17)
28. 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)
29. 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)
30. 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)
31. 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)
32. 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)
33. 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)
34. 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

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

- 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)
35. 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)
36. 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)
37. 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)
38. 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)
39. 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)
40. 池野多美子, 小西香苗, 中島そのみ, 喜
多歳子, 小林澄貴, 馬場俊明, 岸玲子;
胎児期ダイオキシン類曝露が3歳半の
発達に及ぼす影響 - 「環境と子どもの
健康に関する北海道スタディ」-. 第23
回日本疫学会学術総会. 大阪.
(2013.01.24-26)
41. 河合俊夫, 坪井樹, 荒木敦子, アイツバ
マイゆふ, 岸玲子; 可塑剤・難燃剤の曝
露評価手法の開発と小児アレルギー・
リスク評価への応用 尿中2-エチル-1-
ヘキサノールの分析方法と測定事例.
第52回近畿産業衛生学会. 和歌山.
(2012.11.17)
42. 岸玲子; 子どもの健康と環境: 日本に
おける現状と今後の課題. 第3回国際シ
ンポジウム: 東アジアの子供の健康と
サステナビリティ: 子供たちを取り巻
く環境と健康問題(Health and
Sustainable Lifestyle of East Asian
Children -Health risks posed by
living environments-). 札幌.
(2012.10.15-16)
43. 岸玲子; 第14回日本衛生学会学会賞受
賞講演: 「出生コホート研究による
次世代影響解明など生涯を通じた人々
の健康増進のための環境疫学研究」. 第
82回日本衛生学会学術総会. 京都.
(2012.03.24-26)
44. 宮下ちひろ, 佐々木成子, 岡田恵美子,
小林澄貴, 蜂谷紀之, 岩崎雄介, 中澤裕
之, 梶原淳睦, 戸高尊, 岸玲子; 妊婦血
と毛髪環境化学物質に関連する要因
- 環境と子どもの健康北海道スタディ
-. 第82回日本衛生学会学術総会. 京
都. (2012.03.24-26)
45. 坂晋, 宮下ちひろ, 岡田恵美子, 小林澄
貴, 岸玲子; 有機フッ素化合物
N-EtFOSEの胎児期曝露による雌雄に

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

- おける胎盤遺伝子発現量の変化. 第82回日本衛生学会学術総会. 京都. (2012.03.24-26)
46. 池野多美子, 小林澄貴, 馬場俊明, 岸玲子; 注意欠損・多動性障害(ADHD)の文献 Review(1) - 有病率と発生に関する要因. 第82回日本衛生学会学術総会. 京都. (2012.03.24-26)
47. 小林澄貴, 池野多美子, 馬場俊明, 岸玲子; 注意欠損・多動性障害(ADHD)の文献 Review(2) - 環境要因と遺伝要因, その交互作用. 第82回日本衛生学会学術総会. 京都. (2012.03.24-26)
48. 田川雅大, 内藤久雄, 林由美, 川野愛子, 佐々木成子, 荒木敦子, 小林澄貴, 岸玲子; ヒトの出産前後における血液 DEHP代謝物濃度の解析. 第82回日本衛生学会学術総会. 京都. (2012.03.24-26)
49. 坂晋, 宮下ちひろ, 岡田恵美子, 小林澄貴, 里見佳子, 原田均, 井上純子, 大西志保, 川西正祐, 岸玲子; 有機フッ素化合物N-EtFOSEの胎児期曝露による雄胎仔の胎盤遺伝子発現量変化. 日本薬学会 第132年会. 札幌. (2012.03.28-31)
50. 岸玲子; 日本における先行研究 環境と子どもの健康に関する北海道研究. 環境省「エコチル」調査国際シンポジウム. 北九州. (2012.02.28)
51. 岸玲子; 環境リスクの次世代影響: わが国で最初の本格的な出生コホートによる先天異常・発達・免疫アレルギーの検討「環境と子どもの健康に関する北海道研究」. 第28回日本医学会総会. 東京. (2011.09.18)
52. 山本潤, 羽山真介, 佐藤修之, 松村徹, 岸玲子, 佐々木成子, 宮下ちひろ; 生体試料中ビスフェノールA分析の検討. 日本環境化学会第20回環境化学討論会. 熊本. (2011.07.16-18)
53. 伊藤久美子, 佐々木成子, Yila T. A., 馬場俊明, 宮下ちひろ, 榎野いく子, 岡田恵美子, 小林澄貴, 吉岡英治, 岸玲子; 妊婦葉酸値と先天異常リスクとの関連 環境と子どもの健康に関する北海道スタディ(1). 第81回日本衛生学会学術総会. 東京. (2011.03.25-28)
54. 宮下ちひろ, 佐々木成子, 岡田恵美子, 小林澄貴, 西條泰明, 吉岡英治, 馬場俊明, 梶原淳睦, 戸高尊, 岸玲子; 抗エストロゲン様作用PCBs曝露と出生体格との関連 環境と子どもの健康に関する北海道スタディ(2). 第81回日本衛生学会学術総会. 東京. (2011.03.25-28)
55. 中島そのみ, 佐々木成子, 加藤静恵, 鷗野安希子, 中村裕二, 仙石泰仁, 梶原淳睦, 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 環境と子どもの健康に関する北海道スタディ(3). 第81回日本衛生学会学術総会. 東京. (2011.03.25-28)
56. 小西香苗, 坂晋, 佐々木成子, 鷲野孝揚, 吉岡英治, 梶原淳睦, 戸高尊, 中島そのみ, 岸玲子; 生後42ヶ月児における認知能と胎児期PCB・ダイオキシン類曝露との関連 環境と子どもの健康に関する北海道スタディ(4). 第81回日本衛生学会学術総会. 東京. (2011.03.25-28)
57. 小林澄貴, 佐々木成子, 坂晋, 宮下ちひろ, 岡田恵美子, Limpar M., 吉岡英治, 梶原淳睦, 戸高尊, 岸玲子; AhRおよびAhRR遺伝子多型と母体血中ダイオキシン類濃度との関連-「環境と子どもの

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
総合研究報告書

健康に関する北海道スタディ」. 第21
回日本疫学会学術総会. 札幌.
(2011.01.21-22)

知的財産権の出願・登録状況

該当なし

先天異常の発生状況

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

研究要旨

国際先天異常モニタリングセンター（Japan Association of Obstetricians and Gynaecologists: JAOG）報告によると、わが国の先天異常の発生率は1997年から画像診断による心臓血管形態異常把握開始により、若干の増加を示し約1.7～2%前後となり、その後大きな変動はみられていない。JAOG登録施設は大学病院や地域基幹病院中心であるため、選択バイアスの問題が指摘されている。本研究では北海道全域の産科クリニックから大学病院まで多様な規模の施設で妊婦を対象とした前向きコホート研究の一環として北海道における先天異常発生状況を調査している。平成15年から平成24年12月末までに、北海道内の36産科医療施設で妊婦健診を受け、本調査への参加に同意した妊婦20,940名のうち、新生児個票が平成24年12月末まで提出された19,680件（生産、死産、流産含む）を対象として先天異常の出産頻度を算出した。先天異常のある児の総数は378名、マーカー異常266件、その他の異常143件で、先天異常を有する児の出産頻度は1.92%であった。また、JAOG分析基準の在胎22週以降では、出産数19,409名、先天異常のある児は328名で、出産頻度1.69%であった。

研究分担者

吉岡 英治（旭川医科大学健康科学講座）

研究協力者

伊藤 久美子、馬場 俊明、櫻野 いく子、
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

（北海道社会保険病院周産期医療センター）
馬場 剛（札幌医科大学産婦人科学講座）
宮本 敏伸（旭川医科大学産婦人科学講座）

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、土別市立病院、室蘭日鋼記念病院、市立札幌病院、幌南病院、市立函館病院、道立紋別総合病院、天使病院、函館五稜郭病院、中村病院、勤医協札幌クリニック、北見レディースクリニック、帯広厚生病院、釧路赤十字病院、名寄市立総合病院、遠軽厚生病院、市立釧路総合病院、札幌東豊病院

A．研究目的

わが国の先天異常発生のモニタリングは、1972年より日本産婦人科医会による全国規模の先天異常モニタリングが実施され、その後、国際先天異常モニタリングセンター（Japan Association of Obstetricians and Gynaecologists: JAOG）が実施している。JAOGは全国270施設が登録し、国際的な先天異常モニタリングシステムであるInternational Clearinghouse for Birth Defects Surveillance and Research（ICBDSR）に報告を行っている。JAOG報告によると、わが国の先天異常の発生率は1997年から画像診断による心臓血管形態異常把握開始により、若干の増加を示し約1.7～2%前後となり、その後、大きな変動はみられていない（平原史樹, 2007）。しかし、JAOG報告は特定の36疾病の発生状況であり、登録施設は大学病院や地域基幹病院中心であるため、選択バイアスの問題が指摘されている（湯浅ら, 2009; 篠崎ら, 2010）。本研究は、平成15年から現在進行中の前向きコホート研究によって、北海道全域の産科クリニックから大学病院まで多様な規模の参加施設の協力のもと、北海道における先天異常発生状況を調査することを目的にしている。

B．研究方法

1．対象

平成15年から平成24年12月末までに、北海道内の36産科医療施設で妊婦健診を行い、本調査への参加に同意した妊婦は20,940名である。参加登録妊婦が出産した場合、出産施設に「新生児個票」への記載を依頼し、平成24年12月末までに受け付けた新生児個票19,680件について先天異常発生状況を集計した。

2．方法

参加登録妊婦が出産した場合には、出産施設に新生児の健康状態を7日間観察し、研究班作成の「新生児個票」に記入後、郵送による返送を依頼した。「新生児個票」の質問項目は、出産日、在胎週数、出生時体重、児性別、単・多胎、生・死・流産、妊娠中の疾患、先天異常の有無、先天異常内容などである。先天異常の内容は、先天異常発生に環境要因の関与が考えられる先天性心疾患、口唇口蓋裂、停留精巣などの奇形55種をマーカー奇形として設定し、その他の先天奇形については自由記載とした。提出された全新生児個票（流産、死産含む）から先天異常の発生状況を算出した。

（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

1．出産報告の概要

本研究へのお産報告数を地域別で見ると、最も報告数の多い地域は道央圏39.6%で、そのほとんどは札幌地区である。次いで十勝圏28.2%、道南圏19.5%と続く（図1）。施設の規模別では、最も多いのは産科病院32.2%で、次に産科クリニック23.2%であった。NICUを持つ地域周産期母子医療センター、総合周産期母子医療センター、道内3大学附属病院は合わせて26.5%であっ

た（図2）。

2. 対象母児の属性

母親の出産時年齢は 30.3 歳、在胎週数 38.4 (6-42) 週であった。児の性別は男児 9,840 名 (50.5%)、女児 9,627 名 (49.5%) であった（表1）。

3. 先天異常の発生状況

生産、死産、流産を含む全出産のうち、何らかの先天異常のある児の総数は 378 件 (1.92%) であった。そのうちマーカー奇形 266 件 (1.35%)、その他の先天奇形 143 件 (0.73%) であった。また、在胎 22 週以降の出産 19,409 件中では、先天異常のある児は 328 件 (1.69%) であった（表2）。

全出産において、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 15.8 (31 名) であった。次いで停留精巣・非触知精巣 15.2 (15 名: 男児のみ 9,840 名で算出)、Down 症候群 13.1 (24 名)、口唇口蓋裂 10.2 (20 名)、多指症 9.7 (19 名) などであった（表3）。マーカー奇形、先天性心疾患の内訳を表4および表5に示した。マーカー奇形以外の先天異常は、中枢神経系疾患、マーカー奇形以外の染色体異常、下肢形成不良などの重篤な大奇形から、副耳、臀部母斑などの小奇形まで 82 種の報告があった（表6）。

4. 先天異常の頻度：JAOG との比較

在胎 22 週以降の出産に関して先天異常の頻度を平成 16-20 年度の JAOG 報告 (ICBDSR Annual Report, 2010) の先天異常発生頻度と比較すると、JAOG の頻度よりも高かった異常は、尿道下裂 8.8 (JAOG 報告 4.06)、口蓋裂 5.7 (4.73) などであった（いずれも出生1万対）。一方、発生頻度の低かった異常は、ファロー四徴症 2.1 (5.8)、大動脈縮窄症 1.5 (4.63)、大

血管転位症 2.1 (4.19)、左室低形成症 1.0 (3.78) などの先天性心疾患、18 トリソミー 1.0 (8.49)、水頭症 2.1 (7.31)、脊髄髄膜瘤 1.5 (4.96)、食道閉鎖 1.0 (4.93)、小腸閉鎖 2.6 (6.8) などであった（表4・5）。

D. 考察

平成 15 年から平成 24 年 12 月までの在胎 22 週以降の先天異常発生率は 1.69% であり、JAOG 報告 1.7~2.0% とほぼ同程度であった。しかし、尿道下裂、ダウン症、口蓋裂などは JAOG よりも高かった。また、消化管系閉鎖、脊髄髄膜瘤、水頭症などの発生頻度は低かった。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。尿道下裂に限らず、先天異常発生頻度を国内外の報告と比較するにはこれらの点に留意して、発生数、年次推移を検討する必要がある。

先天異常は染色体異常や多因子遺伝によるものが大部分を占める。多因子遺伝は環境要因と遺伝子要因との相互作用により発生するが、そのメカニズムはまだ解明されていないものが多いが、1990 年代後半からのヒトゲノム解析の進歩により、疾患発症に關与する遺伝子の同定が進められている (木村、2012)。今後は、環境化学物質曝露と先天異常との関係、葉酸値に關する遺伝子多型とその活性に影響を及ぼす生活要因、地域特性などとも合わせて、先天異常発生要因を検討する必要がある。

本研究の研究協力施設は、北海道内 6 医療圏全域を網羅しており、産科施設の規模も産科クリニックから大学病院まで様々で

ある。研究を開始して10年が経過し、この間に約2万人以上の妊婦の協力を得られた。地域ベースによる長期間の先天異常モニタリングは、先天異常発生動向を把握する上では極めて重要である。今後は先天異常発生の年次推移、要因環境解明とともに予防に向けた生活指導も検討していく必要があると考える。

E . 結論

平成15年から平成24年12月末までに新生児個票が提出された19,680名に対して先天異常の集計を行った。先天異常のある児の総数は378名、そのうちマーカー奇形発生数は266件、その他の先天異常発生数は143件であった。先天異常の発生頻度は1.92%であった。

F . 研究発表

1) 論文発表

1. 湯浅資之, 岸玲子. 前向き出生コーホート研究の現状と課題-「環境と子どもの健康に関する北海道スタディ」を基に-. 日本衛生学会誌. 2009, 64(4):774-781.

2) 学会発表

1. 伊藤久美子, 佐々木成子, Yila TA, 馬場俊明, 宮下ちひろ, 檜野いく子, 岡田恵美子, 小林澄貴, 吉岡英治, 岸玲子. 「妊婦葉酸値と先天異常リスクとの関連-環境と子どもの健康に関する北海道スタディ(1)-」第81回日本衛生学会学術総会. 東京; 2011 3/25-28.

G . 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

参考文献

1. 平原史樹. 日本産婦人科学会誌. 2007, 59(9).
2. 湯浅資之, 岸玲子. 前向き出生コーホート研究の現状と課題-「環境と子どもの健康に関する北海道スタディ」を基に-. 日本衛生学会誌. 2009, 64(4):774-781.
3. 篠崎圭子, 田中敏博, 伊藤真也. 葉酸による神経管閉鎖障害の一次予防. 日本小児科学会誌. 2010, 114(3):447-453.
4. 木村彰方. 先天性心疾患の成因. 周産期医学. 2012, 42(10):1229.

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

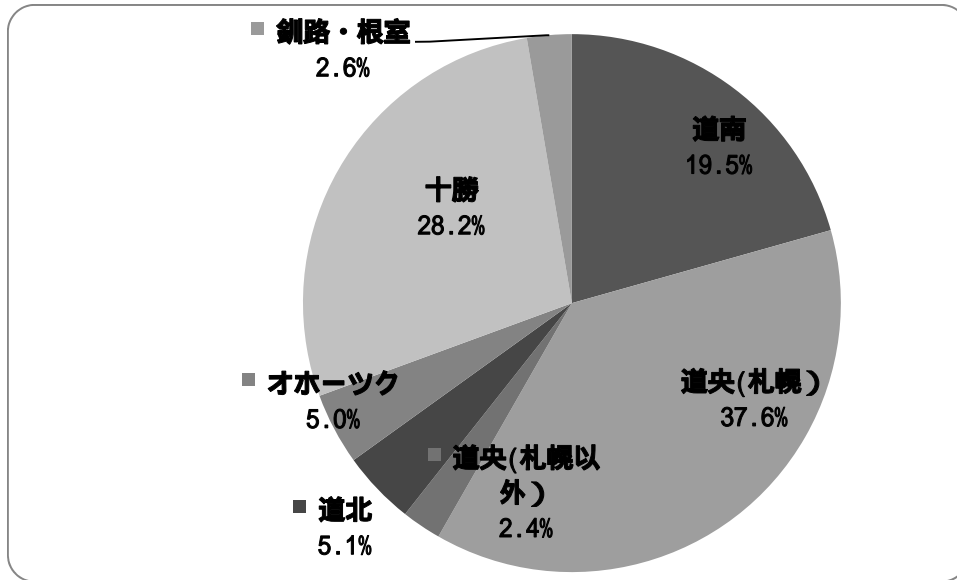


図 1. 地域別出産報告数

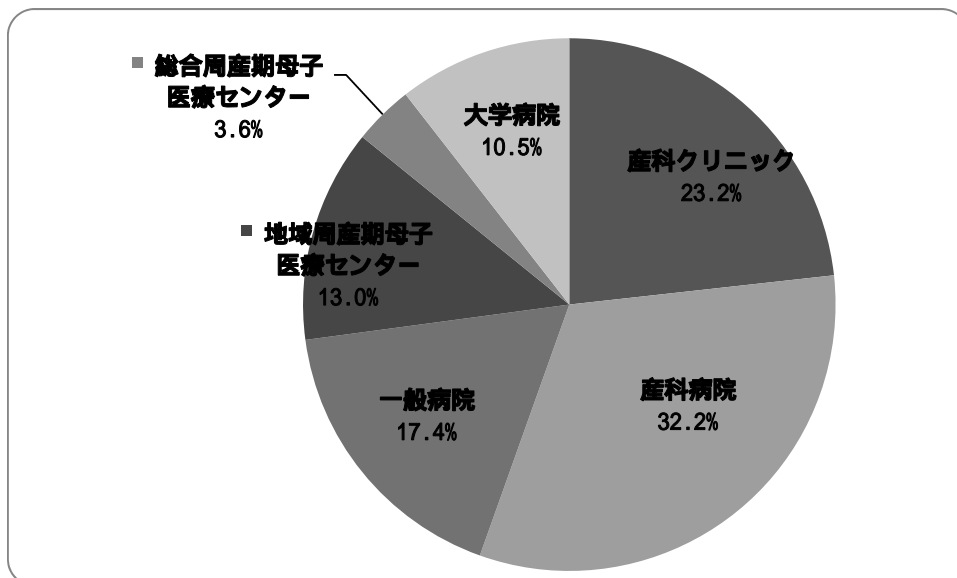


図 2. 出産施設規模別の出産報告数

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. 対象母児の属性

	n	全出産 (N=19,680)
		n (%)
母親		
出産時年齢 (歳)	19,630	30.3歳
出産児		
在胎週数 (週)	19,652	38.4(6 - 42) ^a 週
< 22		243 (1.2)
22 - 36		1,119(5.7)
37 - 41		18,255 (92.9)
42		35 (0.2)
出生時体重 (g)	19,445	3,002.4(10 - 4,750) ^a g
出産児数	19,164	
単胎		19,2796 (98.2)
双胎		341 : 168組 (1.7)
三胎		3 : 1組 (0)
性別	19,467	
男児		9,840(50.5)
女児		9,627 (49.5)

^amean (範囲)

*不明は除く

表 2. 先天異常件数

	全出産 (n=19,680)	在胎22週以降 (n=19,409)
	n (%)	n (%)
先天異常発生数	378 (1.92)	328 (1.69)
マーカー奇形発生数	266 (1.35)	242 (1.25)
その他の奇形発生数	143(0.73)	113 (0.58)

(但し、「疑い」を含む)

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. 発生頻度の高い先天異常

	全出産 n=19,680		在胎22週以降の出産 n=19,409		JAOG
	人数	北海道 (出産1万対)	人数	北海道 (出産1万対)	2004-2008年 (出産1万対)
心室中隔欠損症	31	15.8	31	16.0	
停留精巣・非触知精巣 * 男児のみ(全9,840人/22週以降9,109人)	15	15.2	15	16.5	27.7
Down症候群	24	12.2	23	11.9	10.88
口唇口蓋裂	20	10.2	19	9.8	
多指症	19	9.7	19	9.8	
尿道下裂 * 男児のみ(全9,840人/22週以降9,109人)	9	9.1	8	8.8	
水腎症	15	7.6	14	7.2	4.23
副耳	12	6.1	12	6.2	
口蓋裂	11	5.6	11	5.7	4.45
心房中隔欠損症	10	5.1	10	5.2	

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. マーカー奇形形の発生頻度（平成24年12月末現在）

項目			全出産 n=19,680		在胎22週以降の出産 n=19,409		JAOG	
			数	北海道 (出産1万対)	数	北海道 (出産1万対)	2004-2008年 (出産1万対)	
頭部	A1	無脳症	6	3.0	1	0.5	1.1	
	A2	脳瘤	1	0.5	0	-		
	A3	小頭症	2	1.0	2	1.0	1.69	
	A4	水頭症	4	2.0	4	2.1	7.31	
	A5	全前脳胞症	2	1.0	2	1.0		
眼部	B1	眼瞼欠損	0	-	0	-		
	B2	小眼球症・無眼球症	0	-	0	-		
	B3	白内障	0	-	0	-		
耳部	C1	小耳症	2	1.0	2	1.0	1.48	
	C2	外耳道閉鎖	2	1.0	2	1.0		
	C3	埋没耳	3	1.5	3	1.5		
	C4	耳介低位	7	3.6	5	2.6		
口顔部	D1	口唇裂	9	4.6	9	4.6		
	D2	口蓋裂	11	5.6	11	5.7	4.73	
	D3	口唇口蓋裂	20	10.2	19	9.8		
	D4	顔面裂	0	0.0	0	0.0		
	D5	先天性歯	1	0.5	1	0.5		
上肢	E1	多指症	19	9.7	19	9.8		
	E2	合指症	7	3.6	6	3.1		
	E3	裂手症	0	-	0	-		
	E4	上肢の減数異常	0	-	0	-		
	E5	上肢先天性絞扼輪症候群	0	-	0	-		
	E6	橈骨側の異常	0	-	0	-		
	E7	尺骨側の異常	0	-	0	-		
体幹	F1	脊髄髄膜瘤（二分脊椎）	5	2.5	3	1.5	4.96	
	F2	臍帯ヘルニア	4	2.0	2	1.0	3.89	
	F3	腹壁破裂	4	2.0	0	-		
	F4	その他の腹壁異常	14	7.1	13	6.7		
		横隔膜ヘルニア	8	4.1	8	4.1	5.5	
		鼠径ヘルニア	5	2.5	5	2.6		
		不明	1	0.5	1	0.5		
心臓	G1	先天性心疾患	70	35.6	70	36.1		

項目			全出産 n=19,680		在胎22週以降の出産 n=19,409		JAOG	
			数	北海道 (出産1万対)	数	北海道 (出産1万対)	2004-2008年 (出産1万対)	
消化器	H1	食道閉鎖	2	1.0	2	1.0	4.93	
	H2	直腸肛門奇形	6	3.0	6	3.1	6.31	
	H3	小腸閉鎖	5	2.5	5	2.6	6.8	
	H4	十二指腸閉鎖	5	2.5	5	2.6		
泌尿器・生殖器	I1	水腎症	15	7.6	14	7.2		
	I2	異形成腎	3	1.5	2	1.0		
	I3	尿道下裂 * 男児のみ 全9,840人/22週以降9,109人	9	9.1	8	8.8	4.06	
	I4	停留精巣・非触知精巣 * 男児のみ 全9,840人/22週以降9,109人	15	15.2	15	16.5		
	I5	膀胱外反症・ 総排泄腔外反症	1	-	1	-	0.2	
	I6	陰核肥大	0	-	0	-		
	I7	性別不分明	1	0.5	1	0.5		
	I8	膈欠損	0	-	0	-		
下肢	J1	多趾症	7	3.6	7	3.6		
	J2	合趾症	8	4.1	6	3.1		
	J3	裂足症	1	0.5	0	-		
	J4	下肢の減数異常	0	-	0	-		
	J5	下肢先天性絞扼輪症候群	0	-	0	-		
皮膚	K1	6個以上または 巨大な色素異常斑	5	2.5	5	2.6		
	K2	継続する水疱・小水疱 ・びらん形成（先天性表皮水疱）	2	1.0	2	1.0		
症候群・染色体異常	L1	Down症候群	24	12.2	23	11.9	11.73	
	L2	軟骨無形成症	1	0.5	1	0.5		
	L3	Apert症候群	0	-	0	-		
	L4	先天性多発性関節拘縮症	0	-	0	-		
	L5	trisomy 18	3	1.5	2	1.0	8.49	
	L6	trisomy 13	1	0.5	1	0.5	2.22	
結合双生児	M1	結合双生児	0	-	0	-		

* JAOG: 国際先天異常モニタリングセンター

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．先天性心疾患の内訳（平成24年12月末現在）

	全出産 n=19,680		在胎22週以降の出産 n=19,409		JAOG
	数	北海道 (出産1万対)	数	北海道 (出産1万対)	2004-2008年 (出産1万対)
先天性心疾患全体	70	35.6	70	36.1	
心室中隔欠損症	31	15.8	31	16.0	
心房中隔欠損症	10	5.1	10	5.2	
肺動脈（弁）狭窄症	6	3.0	6	3.1	
ファロー四徴症	4	2.0	4	2.1	5.8
動脈管開存症	7	3.6	7	3.6	
大動脈縮窄症	3	1.5	3	1.5	4.63
肺動脈閉鎖症	5	2.5	5	2.6	
大血管転位症	4	2.0	4	2.1	4.19
単心室	1	0.5	1	0.5	
単心房単心室	3	1.5	3	1.5	
大動脈（弁）狭窄症	2	1.0	2	1.0	
心内膜床欠損症	4	2.0	4	2.1	
左室低形成症	2	1.0	2	1.0	3.78
右室低形成症	1	0.5	1	0.5	
両大血管右室起始	2	1.0	2	1.0	
右胸心	1	0.5	1	0.5	
総肺静脈還流異常症	1	0.5	1	0.5	
動脈管動脈瘤症	1	0.5	1	0.5	
三尖弁閉鎖（不全）症	1	0.5	1	0.5	
心室内結節	1	0.5	1	0.5	
大動脈逆流弁	1	0.5	1	0.5	
大動脈離断症	1	0.5	1	0.5	
心奇形疑い	7	3.6	7	3.6	

* JAOG: 国際先天異常モニタリングセンター

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．その他の先天奇形症例数および有病率（平成24年12月末現在）

項目		全出産 n=19,680		項目		全出産 n=19,680				
		数	北海道 (出産1万対)			数	北海道 (出産1万対)			
頭頸部	1	無頭蓋骨	2	1.0	泌尿器・生殖器	42	巨大膀胱	1	0.5	
	2	脳室拡大	1	0.5		43	陰茎低形成（男児9,840人）	1	1.0	
	3	頭蓋骨形成不全	1	0.5		44	陰のう水腫（男児9,840人）	3	3.0	
	4	脳室上衣下嚢胞	1	0.5		45	外陰のう胞（女児9,627人）	1	1.0	
	5	透明中核欠損	1	0.5		46	卵巣のう腫（女児9,627人）	3	3.1	
	6	脳梁低形成	1	0.5		47	Skene腺のう症（女児9,627人）	1	1.0	
	7	小脳低形成	1	0.5		48	Prune belly症候群	1	0.5	
	8	頭部腫瘍（頭頂部に水腫瘍突起物）	1	0.5		皮膚	49	先天性魚鱗癬症	1	0.5
	9	眼球異常（網膜欠損ほか）	1	0.5	50		血管腫（顔面、頸部）	2	1.0	
	10	副耳	12	6.1	51		母斑	2	1.0	
	11	難聴	1	0.5	52		イボ	1	0.5	
	12	耳形状左右差、位置のアンバランス	1	0.5	53		痣（顔面）	1	0.5	
	13	耳瘻孔	2	1.0	54		神経皮膚黒色症疑い	1	0.5	
	14	耳介水平	2	1.0	55		先天性皮膚欠損症	3	1.5	
	呼吸器	15	小顎	1	0.5	症候群・染色体異常	56	Pierre Robin症候群	1	0.5
		16	鰓弓症候群	2	1.0		57	骨形成不全症候群	1	0.5
		17	鰓弓遺残（左頸部）	1	0.5		58	レグリングハウゼン病	1	0.5
		18	歯槽のう胞	2	1.0		59	Campomelic dysplasia	2	1.0
		19	頸部リンパ管腫	4	2.0		60	マーカー奇形以外の染色体異常症	10	5.1
		20	左後頭部皮下水腫	1	0.5		四肢	61	手指欠損	1
		21	翼状頸	1	0.5	62		手指形態異常	3	1.5
腹部	22	声門狭窄	1	0.5	63	手指の腫瘍		1	0.5	
	23	肺低形成	1	0.5	64	内反足		3	1.5	
体幹	24	消化管穿孔	1	0.5	65	外反足		2	1.0	
	25	乳び腹水	1	0.5	66	爪欠損（手/趾）		2	1.0	
	26	ヒルシュスブルグ病	1	0.5	67	軟骨低形成症（四肢短縮症の疑い）		1	0.5	
	27	脊椎側弯	1	0.5	68	下趾の形態異常		2	1.0	
泌尿器・生殖器	28	腸管重複症	1	0.5	69	先天性下肢奇形（右足第5足の變形）		1	0.5	
	29	脂肪腫	2	1.0	70	片側下肢低形成		1	0.5	
	30	背部リンパ管腫	1	0.5	71	膝関節脱臼	2	1.0		
	31	腹部腫瘍	1	0.5	72	骨形成不全	2	1.0		
	32	腹部腫瘍	1	0.5	73	limb-body wall complex	1	0.5		
	33	仙尾部腫瘍	2	1.0	74	関節拘縮	2	1.0		
	34	体幹の變形（脊髄髄膜瘤に伴う麻痺性の變形）	1	0.5	75	四肢長の異常	4	2.0		
他	35	尿管遺残症	3	1.5	76	四肢短縮（軟骨無形成症、骨形成不全症を除く）	4	2.0		
	36	多嚢胞腎	1	0.5	77	内臓逆位	4	2.0		
	37	胎児水腎症	1	0.5	78	胆のう拡張	1	0.5		
	38	腎盂拡張	2	1.0	79	単一臍帯動脈	3	1.5		
	39	腎盂尿管移行部狭窄	1	0.5	80	副腎過形成	1	0.5		
	40	腎拡張	1	0.5	81	羊膜索症候群	1	0.5		
	41	腎のう胞	1	0.5	82	胎児腹水/胎児水腫	11	5.6		

母体血液中の PCBs・ダイオキシン類，有機フッ素化合物および毛髪水銀濃度に関連する要因の基礎的検討

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 センター長・特任教授

研究分担者 梶原 淳睦 福岡県保健環境研究所 保健科学部生活化学課 課長

研究分担者 佐々木 成子 北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 助教

研究要旨

PCBs・ダイオキシン類，有機フッ素化合物，水銀は生体から検出される環境化学物質である。これら物質は妊婦から胎児へ移行して，その発育を阻害する可能性がある (Toft et al., 2004)。体内の曝露量に影響する要因は国や地域によって異なるが，わが国の妊婦の曝露量と生活・食習慣などの多様な要因を検討した報告はわずかである。本研究では，一般生活環境の母体血および毛髪中の環境化学物質濃度に関連する要因を検討した。対象者は一般病院・産科を受診した妊娠 23 週～35 週の妊婦で，妊婦とその配偶者から，自記式調査票により既往歴，教育歴，世帯収入，ライフスタイルなどの情報を得た。妊娠後期の母体血で 426 名の PCBs・ダイオキシン類濃度(HRGC/HRMS 法)および 447 名の PFOS，PFOA 濃度(LC/MS/MS 法)，さらに分娩直後の毛髪で 430 名の総水銀濃度(AAS 法)を測定した。重回帰分析で，各濃度(log10)を従属変数，関連要因を独立変数として，環境化学物質に有意に影響する要因を検討した。交絡要因として母親の属性(年齢，出産歴など)，両親の喫煙・飲酒状況，分娩年，採血時期，および食物摂取頻度などで調整した。重回帰分析では，PFOA を除く環境化学物質濃度は分娩年経過と共に低下し，環境中の曝露レベルの低下を反映していると考えられた。妊娠前，妊娠中の喫煙は妊婦のダイオキシン類と PFOS 濃度を低下させ，喫煙による酵素誘導が胎児・胎盤を含む母体外への排出を亢進させると考えられた。妊娠中の飲酒，魚摂取量，牛肉摂取により母体血中濃度が増加したことから，食生活の欧米化が曝露源の変化や飲酒による肝代謝変化が関与すると考えられた。

研究協力者

宮下 ちひろ，馬場 俊明
Brimoh Titilola，櫻野 いく子
岡田 恵美子，小林 澄貴
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)
Yila Thamar
(北海道大学
環境健康科学研究教育センター)
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，高尾 佳子
飛石 和太，安武 大輔
(福岡県保健環境研究所)

戸高 尊
(九州大学医学部)
飯田 隆雄
(北九州生活科学センター)
蜂谷 紀之
(環境省国立水俣病総合研究センター)
中澤 裕之
(星薬科大学薬品分析化学教室)

A．研究目的

PCBs・ダイオキシン類，有機フッ素化合物・水銀は生体から広く検出される環境化学物質である。これら物質の主な曝露源は食物であり，日本では海産物による曝露の割合が大きいと報告されている (Geary

2007; Todaka 2010; Murata 2011)。体内の曝露量は、食生活、年齢、体脂肪、喫煙、飲酒、生活環境などの多様な要因と相互的に影響するため、曝露量に関連する要因は国や地域で異なる。

出産可能年齢の女性を含む日本の成人 1656 名では、魚介類やアルコール摂取が増加するほど血中 PCBs・ダイオキシン類が有意に増加した(Arisawa 2011)。海外では、妊婦の曝露量に関連する要因として、飲酒や社会経済的要因を検討している。わが国の妊婦を対象とした東北と東京の研究では、複数の要因を調整する多変量解析により、母体血、臍帯血および母乳中 PCBs・ダイオキシン類が出産歴、母親の年齢および喫煙歴と有意に関連することを示した(Tajimi et al., 2006; Nakamura et al., 2007)。

しかし、一般環境における日本人妊婦の有機フッ素化合物(PFOS, PFOA)濃度については報告がまだなく、また、低濃度の水銀に関しては、東北地域での研究が 1 報あるが、対象者数が少ないため、社会経済的要因や食生活の影響に関する検討が十分に行われていない。

そこで本研究では、一般生活環境における妊婦の環境化学物質濃度に関連する要因のプロファイリングを飲酒や社会経済的な要因を含めて検討することを目的とした。

B．研究方法

対象者は 2002 年 7 月から 2005 年 10 月に札幌市の一般病院・産科を受診した妊娠 23 週～35 週の妊婦で、インフォームドコンセントを得られた母児 514 組である。妊婦とその配偶者から、自記式調査票により既往歴、教育歴、世帯収入、ライフスタイルなどの情報を得た。妊娠中期～後期に母親から採血し、高分解能ガスクロマトグラフィー・高分解能マスペクトロメトリー法

(HRGC/HRMS 法)で、426 名の母体血中 PCBs・ダイオキシン類濃度、およびオンライン国相抽出—高速液体クロマトグラフィタンデム質量分析法(LC/MS/MS 法)で 447 名の母体血中 PFOS, PFOA 濃度を測定した。分娩後 5 日以内に採取した 430 名の母親の毛髪中総水銀濃度(Hg)を酸化燃焼金アマルガム法(AAS 法)で測定した。PCBs・ダイオキシン類を測定した 426 名のうち 1 名は PCDFs が異常高値を示したので、解析から除外した。

環境化学物質の濃度と両親の属性、飲酒、喫煙、社会経済的要因および妊婦の食事摂取頻度などの項目との関係は、Spearman の相関係数および Student's *t* 検定を用いて解析した。各濃度の相関は Spearman の相関係数を用いて解析した。対数変換した各物質濃度を従属変数に、全ての関連要因を独立変数として投入し、重回帰分析のステップワイズ法により各物質濃度に有意に関連する要因を選択した。投入した変数は母親の属性(年齢、出産歴など)、両親の喫煙・飲酒状況、分娩年、採血時期、食物摂取頻度、および魚摂取量等である。毛髪水銀濃度の解析にのみ母親のパーマ状況を追加で投入した。また、PCBs・ダイオキシン類および PFOA, PFOS 濃度の解析にのみ採血時期(出産前、出産後)を追加投入した。

(倫理面への配慮)

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および研究協力施設の研究倫理委員会に諮り、承認を得たうえで実施した。

C．研究結果

環境化学物質の濃度(中央値)はそれぞれ PCBs=107 ng/g lipid, Total ダイオキシン類 =13.9 TEQ pg/g lipid,

PFOS=5.20ng/ml, PFOA=1.30ng/ml, および Hg=1.40ppm であった(表 1)。それぞれの物質濃度の相関は, PCBs とダイオキシン類が最も強く($r=0.808$, $p<0.001$), PCBs と Hg ($r=0.380$, $p<0.001$), ダイオキシン類と Hg ($r=0.318$, $p<0.001$), ダイオキシン類と PFOS ($r=0.257$, $p<0.001$) および PFOS と PFOA($r=0.240$, $p<0.001$) で中程度の相関が認められた(表 2)。単変量解析では, 各物質濃度と母親の年齢, 身長, 出産歴, 採血時期, 分娩年, 世帯収入, 北海道の居住期間, 母親の喫煙歴, 妊娠中飲酒, 1 日魚摂取量, 遠海魚摂取, および牛乳摂取が有意に関連した(表 3)。ステップワイズ法で選択した母親の年齢, 非妊娠時体重, 出産歴, 分娩年, 採血時期, 魚推定摂取量, 遠海魚摂取頻度, および牛肉摂取頻度を重回帰分析の最終モデルとした(表 4)。

各物質濃度は, 母親の年齢, 非妊娠時体重, 母親の妊娠中飲酒, 魚推定摂取量(g/day), 遠海魚摂取頻度および牛肉摂取頻度と正の関連を示した。特に, 母親年齢の PCBs およびダイオキシン類濃度に対する標準化回帰係数(Std β), 分娩年の PFOA 濃度に対する標準化回帰係数は正の関連を示す変数の中で高かった(PCBs:Std $\beta=0.469$, 95%CI ダイオキシン類:Std $\beta=0.348$, PFOA:Std $\beta=0.204$)。

一方で, 各物質濃度は, 母親の出産歴, 母親の喫煙歴, 出産後採血, 北海道の居住期間と負の関連を示した。特に母親出産歴の PCBs・ダイオキシン類と PFOA 濃度に対する標準化回帰係数(PCBs:Std $\beta=-0.292$, ダイオキシン類:Std $\beta=-0.359$, PFOA:Std $\beta=-0.379$), 分娩年のダイオキシン類および PFOS 濃度に対する標準化回帰係数(ダイオキシン類:Std $\beta=-0.206$, PFOS:Std $\beta=-0.455$), 測定時期の PFOS 濃度に対する標準化回帰係数(PFOS:Std $\beta=-0.226$)は負の関連を示した変数の中で

高かった。分娩年と PFOA を除く物質濃度は負の関連を示した。

さらに, 魚推定摂取量と遠洋魚の総水銀濃度(魚摂取量/Hg:Std $\beta=0.185$, 遠洋魚/Hg:Std $\beta=0.149$) および牛肉摂取量の PCBs 濃度(牛肉摂取量/PCBs:Std $\beta=0.090$) に対する標準化回帰係数は正の関連を示した。

D. 考察

本研究から, 妊婦の母体血および毛髪中の環境化学物質濃度は母親の年齢, 非妊娠時体重, 出産歴, 分娩年, 北海道居住期間, 喫煙歴, 妊娠中飲酒状況, 1 日魚推定摂取量, 遠海魚摂取頻度および牛肉摂取頻度と有意に関連することが示された。

本研究ならびにわが国における先行研究では, 母親の加齢と共に PCBs・ダイオキシン類は増加していたことから(Nakamura et al., 2008; Tajimi et al., 2006), 一般生活環境による日常の摂取量が排出量を上回り, 結果的に加齢とともに蓄積量が増加することが示唆された。

本研究では, 母体血中 PCBs・ダイオキシン類および PFOS・PFOA 濃度は初産妊婦より経産妊婦で低かった。妊婦を対象にした先行研究でも同様の結果が認められており, 女性に特有となる PCBs・ダイオキシン類の排出経路が妊娠から出産後の時期に存在すること示した日本および諸外国の先行研究と一致した(Milbrath et al., 2008; Nakamura et al., 2007; Tajimi et al., 2006)。

環境モニタリングや疫学研究では, PCBs・ダイオキシン類の環境中レベルが経年的に減少していることが報告されており(Link et al., 2007), 本研究でも認められた母親の加齢に伴う PCBs・ダイオキシン類濃度の増加および分娩年経過に伴う減少は, 環境中レベルの経年変化や物質の体内

半減期に依存する生体の長期的な曝露状況を反映した結果であると考えられる (Glynn et al., 2007; Ibarluzea et al., 2011)。

一方で、わが国の環境モニタリング調査では、PFOS、PFOAの分布および経年変化は物質により異なることが報告されており (Zushi et al., 2010)、本研究で認められた分娩年とPFOS、PFOA濃度との関連の相違は、環境中や体内曝露量の分布あるいはバックグラウンドレベルの経年変化が物質間で異なることを示していると考えられた。

本研究では、毛髪水銀濃度と母親年齢、分娩年には有意な関連が認められなかったが、体内半減期が90日程度の水銀では長期的曝露状況を反映しなかったことが考えられる。

本研究の北海道に2年以上住んでいる妊婦は、2年未満の妊婦より母体血中ダイオキシン類濃度が低かった。我々の先行研究では、北海道の曝露量は日本国内および諸外国より相対的に低いレベルであると報告しており (Konishi et al., 2009)、北海道で長く住んでいる妊婦ほど曝露量が低いという結果は、母体血中濃度が過去2年の居住地での曝露状況を反映したと考えられた。

本研究では、喫煙歴がある妊婦でPCBs・ダイオキシン類およびPFOS濃度が低かった。先行研究では喫煙が薬物代謝酵素の誘導促進を起こして、PCBs・ダイオキシン類排出が亢進することが報告されている (Milbrath et al., 2008)、本研究はダイオキシン類だけでなく、PFOSの代謝亢進も起こる可能性も初めて示した。また、妊娠中のPCBs・ダイオキシン類とPFOSの排出促進は胎児の曝露量増加と直結するため、次世代へのリスク評価を行う上で重要な要因であると考えられた (Lackman et al., 2000)。

本研究では、妊婦の飲酒がPCBs・ダイ

オキシン類濃度の増加と有意に関連していた。日本の成人を対象者にした先行研究はアルコール摂取が肝臓代謝に悪影響を与え、この変化にダイオキシン類の代謝も影響を受ける可能性を報告している (Arisawa 2011)、本研究は、妊娠中のアルコール摂取が母体血中PCBs・ダイオキシン類濃度を増加させる可能性も初めて報告した。

曝露源や物質の特性が類似するためPCBsとダイオキシン類濃度の間には高い相関がみられたが、関連要因には相違が認められた。PCBs・ダイオキシン類と水銀濃度の中程度の相関は、毛髪水銀が生体の環境化学物質曝露の指標になることを示したが、水銀とPFOS、PFOA濃度の弱い相関は有機フッ素化合物の物質特性および曝露状況の違いを反映した可能性が考えられた。

E. 結論

本研究では、毛髪水銀濃度は魚摂取量や遠海魚摂取頻度が増えると増加した。遠海魚は体脂肪率が高く、水系食物連鎖の上位にいるため水銀蓄積量が高いと報告されている。一方、PCBs濃度は牛肉摂取頻度が増えると増加した。近年、わが国では、食生活の欧米化と魚摂取量の減少が報告されていることから (Matsumura 2001)、わが国でも肉類が環境化学物質の主要な曝露源となっていることが考えられ、魚摂取に加えて牛肉摂取がPCBsの主要な摂取源である可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- (1) 宮下ちひろ, 佐々木成子, 岡田恵美子, 小林澄貴, 蜂谷紀之, 岩崎雄介, 中澤裕之, 梶原淳, 戸高尊, 岸玲子. 妊婦血と毛髪環境化学物質に関連する要因-環境と子

どもの健康北海道スタディー.第 82 回
日本衛生会学術総会.京都市.Mar.
24-26, 2012.

G . 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

参考文献

- (1)Glynn, A., Aune, M., Darnerud, P.O., Cnattingius, S., Bjerselius, R., Becker, W., and Lignell, S. (2007). Determinants of serum concentrations of organochlorine compounds in Swedish pregnant women: a cross-sectional study. *Environ Health* 6, 2.
- (2)Murata K, Yoshida M, Sakamoto M, Iwai-Shimada M, Yaginuma-Sakurai K, Tatsuta N, Iwata T, Karita K, Nakai K.(2011).Recent evidence from epidemiological studies on methylmercury toxicity. *Nihon Eiseigaku Zasshi*. Sep;66(4):682-95.
- (3)Todaka, T., Hirakawa, H., Kajiwara, J., Hori, T., Tobiishi, K., Yasutake, D., Onozuka, D., Sasaki, S., Miyashita, C., Yoshioka, E., et al. (2010). Relationship between the concentrations of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and polychlorinated biphenyls in maternal blood and those in breast milk. *Chemosphere* 78, 185-192.
- (4)Arisawa, K., Uemura, H., Hiyoshi, M., Kitayama, A., Takami, H., Sawachika, F., Nishioka, Y., Hasegawa, M., Tanto, M., Satoh, H., et al. (2011). Dietary patterns and blood levels of PCDDs, PCDFs, and dioxin-like PCBs in 1656 Japanese individuals. *Chemosphere* 82, 656-662.
- (5)Tajimi, M., Uehara, R., Watanabe, M., Oki, I., Ojima, T., and Nakamura, Y. (2005). Relationship of PCDD/F and Co-PCB concentrations in breast milk with infant birthweights in Tokyo, Japan. *Chemosphere* 61, 383-388.
- (6)Nakamura, T., Nakai, K., Matsumura, T., Suzuki, S., Saito, Y., and Satoh, H. (2008). Determination of dioxins and polychlorinated biphenyls in breast milk, maternal blood and cord blood from residents of Tohoku, Japan. *Sci Total Environ* 394, 39-51
- (7)Milbrath, M.O., Wenger, Y., Chang, C.W., Emond, C., Garabrant, D., Gillespie, B.W., and Jolliet, O. (2009). Apparent half-lives of dioxins, furans, and polychlorinated biphenyls as a function of age, body fat, smoking status, and breast-feeding. *Environ Health Perspect* 117, 417-425.
- (8)Ibarluzea, J., Alvarez-Pedrerol, M., Guxens, M., Marina, L.S., Basterrechea, M., Lertxundi, A., Etxeandia, A., Goni, F., Vioque, J., Ballester, F., et al. (2011). Sociodemographic, reproductive and dietary predictors of organochlorine compounds levels in pregnant women in Spain. *Chemosphere* 82, 114-120.
- (9)Zushi Y, Tamada M, Kanai Y, Masunaga S.(2010). Time trends of perfluorinated compounds from the sediment core of Tokyo Bay, Japan (1950s-2004). *Environ Pollut*. Mar;158(3):756-63. Epub 2009 Nov 2.
- (10)Konishi, K., Sasaki, S., Kato, S., Ban, S., Washino, N., Kajiwara, J., Todaka,

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

- T., Hirakawa, H., Hori, T., Yasutake, D., et al. (2009). Prenatal exposure to PCDDs/PCDFs and dioxin-like PCBs in relation to birth weight. *Environ Res* 109, 906-913.
- (11)Lackmann, G.M., Angerer, J., and Tollner, U. (2000). Parental smoking and neonatal serum levels of polychlorinated biphenyls and hexachlorobenzene. *Pediatr Res* 47, 598-601.
- (12)Matsumura, Y. (2001). Nutrition trends in Japan. *Asia Pac J Clin Nutr* 10 Suppl, S40-47.

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. 妊婦の母体血および毛髪中の環境化学物質濃度

	N	GM	(95% CI)	Minimum	Percentile			Maximum
					25th	50th	75th	
Total PCBs (ng/g lipid)	425	105	(47.9-229)	17.8	73.0	107	148	495
Total Dioxins-TEQ (TEQ pg/g lipid)	425	13.5	(6.32-26.9)	3.17	9.94	13.9	18.2	43.4
PFOS (ng/mL)	447	4.94	(2.00-11.0)	1.30	3.40	5.20	7.00	16.2
PFOA (ng/mL)	447	1.16	(0.25-2.90)	0.25	0.80	1.30	1.80	5.30
Hg (ppm)	430	1.34	(0.58-2.95)	0.24	0.96	1.40	1.89	7.55

TEQs were calculated with toxic equivalency factor values (Van den Berg et al. 2006)

GM: geometric mean

表2. 環境化学物質濃度の相関

		Total Dioxins- TEQ (TEQ pg/g lipid)	PFOS (ng/mL)	PFOA (ng/mL)	Hg (ppm)
Total PCBs (pg/g lipid)	r	0.81**	0.09	0.11*	0.38**
	N	425	376	376	378
Total Dioxins-TEQ (TEQ pg/g lipid)	r		0.26**	0.17**	0.32**
	N		376	376	378
PFOS (ng/mL)	r			0.24**	0.12*
	N			447	386
PFOA (ng/mL)	r				0.02
	N				386

*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3. 妊婦の基本的属性、喫煙、および食生活と環境化学物質との関連

Characteristics	N(%)	Mean±SD	Total PCBs (ng/g lipid)	Total Dioxins (pg/g TEQ lipid)	PFOS (ng/mL)	PFOA (ng/mL)	Hg (ppm)
Maternal characteristics							
Maternal age (years)	510	30.37±4.9.10	r=0.399 **	r=0.239 **	r=-0.154 **	r=-0.078	r=0.027
Maternal high	506	158.24±5.2.72	r=0.063	r=0.096 *	r=0.023	r=0.041	r=-0.051
Parity							
0	240(47.7)		127±67.3 *	16.41±7.17 **	6.21±2.88 **	1.72±0.86 **	1.47±0.75
≥1	263(52.3)		111±56.6	13.45±5.62	5.00±2.36	1.10±0.68	1.57±0.85
Blood sampling period							
During pregnancy	354(70.7)		118±59.6	15.17±6.55	6.04±2.64	1.49±0.88 **	1.52±0.82
After delivery	147(29.3)		121±68.7	14.22±6.61	4.26±2.36	1.14±0.60	1.52±0.77
Detection year (2002-2005)	504		r=-0.014	r=-0.199 **	r=-0.558 **	r=0.176 **	r=-0.103 *
Annual household income (million yen)							
<5	345(68.3)		111±55.3 **	14.15±6.21	5.54±2.65	1.39±0.87	1.46±0.80
≥5	160(31.7)		133±72.7	16.28±7.06	5.64±2.75	1.42±0.74	1.62±0.78
Residence duration in Hokkaido (years)							
<2	60(11.7)		138±70.5 *	17.86±8.46	5.15±2.76	1.39±0.65	1.46±0.72
≥2	454(88.3)		117±61.1	14.53±6.23	5.62±2.68	1.40±0.85	1.53±0.81
Maternal smoking history							
No	228(44.9)		124±61.7	15.95±6.76	6.01±2.86	1.47±0.90	1.62±0.81
Yes	280(55.1)		114±62.8	13.88±6.25	5.22±2.49	1.34±0.76	1.44±0.79
Maternal alcohol intake during pregnancy							
No	357(69.5)		115±59.8	14.62±6.57	5.56±2.69	1.40±0.87	1.50±0.82
Yes	157(30.5)		127±67.6	15.47±6.57	5.61±2.68	1.39±0.74	1.57±0.75
Deep-sea fish							
<1 time/week	234(46.1)		114±58.1	14.18±6.20	5.41±2.76	1.41±0.85	1.33±0.63 **
≥1 time/week	274(53.9)		123±65.7	15.48±6.84	5.71±2.62	1.39±0.82	1.68±0.89
Estimated value of fish intake during pregnancy (g/day)	430	38.8(0.0-400.0) [†]	r=0.185 **	r=0.122 *	r=-0.026	r=-0.042	r=0.229 **
Beef intake during pregnancy							
<1 time/week	373(73.9)		116±57.7	14.63±6.41	5.47±2.58	1.41±0.82	1.46±0.73
≥1 time/week	132(26.1)		128±74.8	15.58±7.06	5.87±2.94	1.36±0.85	1.68±0.94
Egg intake during pregnancy							
<1 time/week	20(4.0)		112±43.3	14.57±5.43	4.37±1.83 *	1.50±1.12	1.54±0.68
≥1 time/week	486(96.0)		119±63.1	14.91±6.62	5.62±2.70	1.39±0.82	1.52±0.81
Milk intake during pregnancy							
<1 time/week	72(14.2)		104±63.3	12.75±6.37 *	5.34±2.84	1.36±0.86	1.53±0.99
≥1 time/week	436(85.8)		121±62.0	15.22±6.55	5.61±2.66	1.40±0.82	1.52±0.77

[†]Median (minimum-maximum)

*, **Statistically significant (p<0.05, p<0.01 respectively) using the t-test, Spearman correlation test

†; p-value < 0.1

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4 妊婦の基本的属性、喫煙、飲酒、食生活に対する環境化学物質の回帰係数および標準化回帰係数(95%信頼区間)

	Total PCBs log10			Total Dioxin-TEQ log10			PFOS(ng/mL)log10			Hg(ppm)log10					
	β	Std β	(95%CI)	β	Std β	(95%CI)	β	Std β	(95%CI)	β	Std β	(95%CI)			
Maternal characteristics															
Age (years)	0.022	0.469	(0.018, 0.026)**	0.014	0.348	(0.011, 0.018)**	-0.003	-0.070	(-0.007, 0.000)	0.000	-0.001	(-0.005, 0.005)	0.000	0.001	(-0.004, 0.004)
Pre-pregnancy weight (kg)	0.001	0.021	(-0.002, 0.003)	0.003	0.129	(0.001, 0.005)*	-0.001	-0.056	(-0.003, 0.000)	-0.001	-0.032	(-0.004, 0.002)	0.000	-0.007	(-0.003, 0.002)
Parity	-0.128	-0.292	(-0.167, -0.089)**	-0.138	-0.359	(-0.172, -0.105)**	-0.069	-0.157	(-0.103, -0.035)**	-0.214	-0.379	(-0.264, -0.164)**	-0.001	-0.003	(-0.044, 0.041)
Delivery year (2002-2005)	-0.009	-0.037	(-0.030, 0.012)	-0.043	-0.206	(-0.061, -0.025)**	-0.113	-0.455	(-0.132, -0.094)**	0.065	0.204	(0.038, 0.093)**	-0.024	-0.089	(-0.049, 0.002)
Residence duration in Hokkaido	-0.044	-0.061	(-0.104, 0.017)	-0.081	-0.128	(-0.133, -0.028)*	0.016	0.022	(-0.039, 0.071)	-0.044	-0.046	(-0.124, 0.036)	0.030	0.041	(-0.038, 0.097)
Sampling period	0.002	0.003	(-0.040, 0.043)	-0.006	-0.014	(-0.042, 0.030)	-0.113	-0.226	(-0.151, -0.074)**	-0.089	-0.139	(-0.145, -0.033)*	-0.001	-0.002	(-0.046, 0.044)
Smoking history	-0.016	-0.036	(-0.053, 0.022)	-0.046	-0.120	(-0.079, -0.014)*	-0.069	-0.156	(-0.102, -0.035)**	-0.037	-0.065	(-0.086, 0.012)	-0.038	-0.086	(-0.079, 0.004)
Alcohol drinking during pregnancy	0.057	0.119	(0.016, 0.097)*	0.046	0.110	(0.011, 0.081)*	0.000	0.000	(-0.036, 0.036)	0.042	0.069	(-0.010, 0.095)	0.029	0.060	(-0.016, 0.074)
Estimated values of fish intake (g/day) ^c	0.053	0.082	(-0.003, 0.108)	0.023	0.042	(-0.025, 0.072)	-0.004	-0.006	(-0.051, 0.044)	-0.032	-0.041	(-0.101, 0.037)	0.106	0.185	(0.050, 0.161)**
Beef intake	0.045	0.090	(0.003, 0.088)*	0.027	0.060	(-0.010, 0.064)	0.008	0.017	(-0.029, 0.046)	-0.003	-0.005	(-0.058, 0.051)	0.042	0.084	(-0.005, 0.089)
Deep-fish intake	0.011	0.024	(-0.028, 0.050)	0.015	0.038	(-0.019, 0.048)	0.033	0.075	(-0.002, 0.068)	0.016	0.028	(-0.035, 0.066)	0.065	0.149	(0.023, 0.108)*

β : regression coefficient provide the expected change in the log-transformed concentrations for a one-unit change in the independent variable.

Std β , standardized partial regression coefficients

^c coefficient β show the correspondence to 10 fold increase in estimated values, because of the log-transformed values.

*, ** Statistically significant ($p < 0.05$, $p < 0.01$ respectively) by using the multiple regression analysis.

有機フッ素化合物（PFCs）の胎児期曝露評価と児への健康影響評価

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 センター長・特任教授

研究分担者 松村 徹 いであ株式会社 環境創造研究所 副所長

研究分担者 佐々木 成子 北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 助教

研究要旨

本研究対象者において有機フッ素化合物(PFCs)の曝露評価を行うために、ヒト試料のPFCsの測定系の確立を検討した。標準血清(NIST standard reference material (SRM) 1957)を用いて血中PFCs濃度14種を世界の他機関との測定値を比較したところ、同様の測定値が得られた。さらに、研究対象者である妊婦4名の予備測定を実施したところ、母体血漿中PFOS濃度は平均5.94 ng/ml、PFOA濃度は平均1.48 ng/mlであり、東豊コーホースタディのPFOS・PFOA濃度と同様の結果であった。以上より、ヒト血清中もしくは血漿中PFCsの一斉分析の測定系を確立することができた。今後は、対象者約2,000名の母体血中PFCs濃度14種の一斉分析を行う。また、児への健康影響を評価するために、前向きコホート研究およびNested-ケースコントロール研究のデザインで、児の体格(身長・体重・胸囲・頭囲)、Small for Gestational Age (SGA)、Low Birth Weight (LBW)、早産、先天異常、アレルギー疾患・感染症への影響を検討する。本分析法によりPFCsの胎児期曝露評価が可能となり、北海道における妊婦のPFCs汚染実態を把握するとともに、出生後の児の健康影響を検討することでPFCsの胎児期曝露の影響を解明できるものと期待される。

研究協力者

榎野 いく子、岡田 恵美子

(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)

松浦 英幸

(北海道大学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)

性・高残留性の物質であり、環境中に放出され自然界および生体内で分解を受けずに蓄積されることから、人体への健康影響が懸念されている。

動物実験では、肝肥大、内分泌障害(甲状腺ホルモン減少、血清コレステロール値減少)、運動機能の低下、発達障害、免疫抑制、仔の出生体重減少などが示されている。ヒトにおいては母体の曝露による胎盤透過性が報告され、胎児への移行が示唆されている。疫学研究では胎児期のPFCs曝露による出生時体格、出生後の神経行動発達、免疫・アレルギー疾患、甲状腺疾患などへの影響が報告されている。

A. 研究目的

PFOS・PFOA・PFNA・PFHxS・PFDA・PFUnDAのような有機フッ素化合物(PFCs)は、撥水の性質を利用して衣類、建材、フッ素系の表面コーティング剤、界面活性剤などに広く使用されている。難分解

しかし、これまで多くの先行研究では主に PFOS・PFOA に焦点が当てられ、他の PFCs の影響については明らかにされていない。また、PFOS 以外の PFCs は規制の対象外であるため、ヒトに及ぼす影響を明らかにすることは極めて重要である。

本研究では、妊婦における PFCs の曝露評価を行うために、ヒト試料の測定系の確立を検討することを目的に標準血清(NIST standard reference material (SRM) 1957) を用いて血中 PFCs 濃度 14 種(PFOS・PFOA・PFNA・PFDA・PFUnDA・PFBS・PFHxS・PFBA・PFPeA・PFHxA・PFHpA・PFDoA・PFTrDA・PFTeDA)について海外および国内の他機関との測定値を比較する。また、研究対象者である妊婦 4 名の予備測定を実施する。

B. 研究方法

血漿中の PFCs を測定するのに LC/MS/MS(北海道大学農学研究科に設置)が適した条件かを確認するために、研究対象とする PFCs(PFOS・PFOA・PFNA・PFDA・PFUnDA・PFHxS)の標準品を用いて検量線を作成した。この時の機器の条件設定の詳細については、表 1, 表 2 に示す。

機器の状態を確認後、我々の開発した血漿中 PFCs 前処理方法(図 1)の正確性を検討するために、標準血清(NIST standard reference material (SRM) 1957)を用いて血中 PFCs 濃度 14 種を世界の他機関との測定値を比較した。この時、血清に添加する内部標準物質は、PFOS- $^{13}\text{C}_4$ ・PFOA- $^{13}\text{C}_4$ PFNA- $^{13}\text{C}_9$ ・PFDA- $^{13}\text{C}_9$ ・PFHxS- $^{13}\text{C}_3$ を用いた。

北海道内の約 40 産科医療施設で実施し

た出生前向きコホート研究(北海道スタディ)対象者の血漿を実際に測定することで、札幌市の一般病院・産科で実施した東豊コホートスタディで測定されている結果と比較検討を行った。

(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

標準液を用いて検量線を作成したところ、6 種類すべての PFCs において R^2 が 0.993 以上であり、綺麗な直線性を示した(図 2)。標準血清を用いた血中 PFCs 濃度 14 種を他機関との測定値を比較した結果、ほぼ同様の結果が示された(表 3)。さらに、北海道スタディの検体の測定を行った結果、PFOS・PFOA については、同様の結果を示した(表 4)。また、本研究の対象者は PFOS・PFOA・PFNA・PFDA・PFUnDA が検出可能であった。PFBS・PFHxS・PFBA・PFPeA・PFHxA・PFHpA・PFDoA・PFTrDA・PFTeDA については検出限界以下であった。

D. 考察

血漿中 PFCs の一斉分析の測定系を確立したことにより、本研究の対象者は母体血

中 PFOS・PFOA・PFNA・PFDA・PFUnDA 濃度とアウトカムとの関連の検討が可能であると考えられる。PFBS・PFHxS・PFBA・PFPeA・PFHxA・PFHpA・PFDaA・PFTrDA・PFTeDA については低濃度もしくは検出限界以下が予測されるが、北海道における妊婦の PFCs の曝露状況を把握することが可能である。

今後の計画：PFCs の胎児期曝露による児への健康影響評価

本研究では、前向きコホート研究および Nested-ケースコントロール研究のデザインで、PFCs の胎児期曝露による児の体格（身長・体重・胸囲・頭囲）、Small for Gestational Age (SGA)、Low Birth Weight (LBW)、早産、先天異常、アレルギー疾患・感染症への影響を検討することが可能である（参考表 1）。Danish National Birth Cohort において胎児期の PFCs 曝露と 5 ヶ月・12 ヶ月時の体格との負の関連が報告されていることから（Andersen et al. 2010）、本研究でも出生時体格のみならず 1 歳・1 歳 6 ヶ月・3 歳時の体格についても継続して検討する。

前向きコホート研究では、2003 年～2005 年の研究参加登録者 8,426 名のうち、初期調査票があるもの 7,892 名、妊娠後期の血液サンプルがあるもの 6,381 名、新生児個票があるもの（生産）5,966 名から先天異常、多胎を除外し、4 ヶ月・1 歳・2 歳調査票があるもの 2,937 名からデータ欠損者を除外した約 2,000 名を対象とする。約 2,000 名の母体血中 PFCs 濃度を測定し、出生時・1 歳 6 ヶ月・3 歳時の体格、LBW、アレルギー感染症との関連について解析を行う（参考図 1）。

SGA をアウトカムとした Nested-ケースコントロール研究では、前向きコホート研究と同様に母体血中 PFCs 濃度を測定する約 2,000 名の中から、1 対 2 の割合でケースとコントロールを選出する。ケースである SGA 224 名（7.62%）と、児の性別、出産経歴、在胎週数でマッチングを行ったコントロール 448 名で解析を行う（参考図 2）。

先天異常をアウトカムとした Nested-ケースコントロール研究では、前向きコホート研究のデザインで除外した先天異常を有する対象者をケースとし、母体血中 PFCs 濃度の測定を行う。コントロールは、母体血中 PFCs 濃度を測定する約 2,000 名の中から 1 対 2 の割合で選出する。ケースである先天異常 86 名（1.48%）、児の性別、出産病院、母の年齢でマッチングを行ったコントロール 172 名で解析を行う（参考図 3）。

今後は、対象者約 2,000 名の母体血中 PFCs 濃度 14 種の一斉分析を行う。北海道における妊婦の PFCs 汚染実態を把握するとともに、出生後の児の健康影響を検討することで PFCs の胎児期曝露の影響を解明することが可能である。

E．結論

本研究対象者において PFCs の曝露評価を行うために、ヒト血清中もしくは血漿中 PFCs の一斉分析の測定系を確立した。本分析法により PFCs の胎児期曝露評価が可能となり、北海道における妊婦の汚染実態の解明および児への健康影響の解明に大きく貢献できるものと期待される。

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

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. LC/MS/MS による有機フッ素化合物測定条件(装置)

Instrument	LC: ACQUITY UPLC system (Waters) MS/MS: Micromesh Quattro Premier tandem quadrapole mass spectrometer (Waters)																					
Colum	Ethylen-bridged (BEH) C18 column (1.7 μ m, 62.1 \times 100 mm) (Waters)																					
Colum temp	50																					
Flow rate	0.3 mL/min																					
Injection volume	10 μ l																					
Mobile phase (vol/vol)	A: 2mM Aq. Ammonium acetate B: 2mM ammonium Columacetate/MeOH																					
Measurement time	8 min																					
LC/MS/MS gradient	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Time (min)</th> <th>% A</th> <th>% B</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.00</td> <td>70</td> <td>30</td> </tr> <tr> <td>0.20</td> <td>70</td> <td>30</td> </tr> <tr> <td>5.00</td> <td>0</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>6.50</td> <td>0</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>7.00</td> <td>70</td> <td>30</td> </tr> <tr> <td>8.00</td> <td>70</td> <td>30</td> </tr> </tbody> </table>	Time (min)	% A	% B	0.00	70	30	0.20	70	30	5.00	0	100	6.50	0	100	7.00	70	30	8.00	70	30
Time (min)	% A	% B																				
0.00	70	30																				
0.20	70	30																				
5.00	0	100																				
6.50	0	100																				
7.00	70	30																				
8.00	70	30																				

表 2. LC/MS/MS による有機フッ素化合物測定条件(MS)

Function	PFCs	RT	Dwell	Precursor Ion (m/z)	Product Ion (m/z)	Cone (V)	Collision (eV)
1. Time 0-3.0	PFBA	0.62	0.1	213	169	18	8
	PFPeA	2.49	0.1	263	219	15	9
	PFBuS	2.75	0.1	299	80	45	29
2. Time 3.0-4.35	PFHxA	3.34	0.08	313	269	15	10
	PFHpA	3.86	0.08	363	319	16	10
	PFHxS	3.91	0.08	399	99	50	30
	PFHxS- ¹³ C ₃	3.95	0.08	402	99	50	30
	PFOA	4.25	0.08	413.03	368.76	17	11
	PFOA- ¹³ C ₄	4.26	0.08	417.09	372.7	17	11
3. Time 4.35-4.7	PFTTrDA	4.42	0.1	663	619	22	15
	PFNA- ¹³ C ₉	4.56	0.1	472	427	16	11
	PFNA	4.57	0.1	463	419	16	11
	PFOS	4.57	0.1	498.99	80	45	40
	PFOS- ¹³ C ₄	4.57	0.1	503.05	80	45	40
3. Time 4.7-8.0	PFDA- ¹³ C ₉	4.82	0.1	522	477	17	12
	PFDA	4.84	0.1	513	469	17	12
	PFUnDA	5.06	0.1	563	519	18	12
	PFDoA	5.26	0.1	613	569	20	13
	PFTeDA	5.56	0.1	713	669	15	14

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

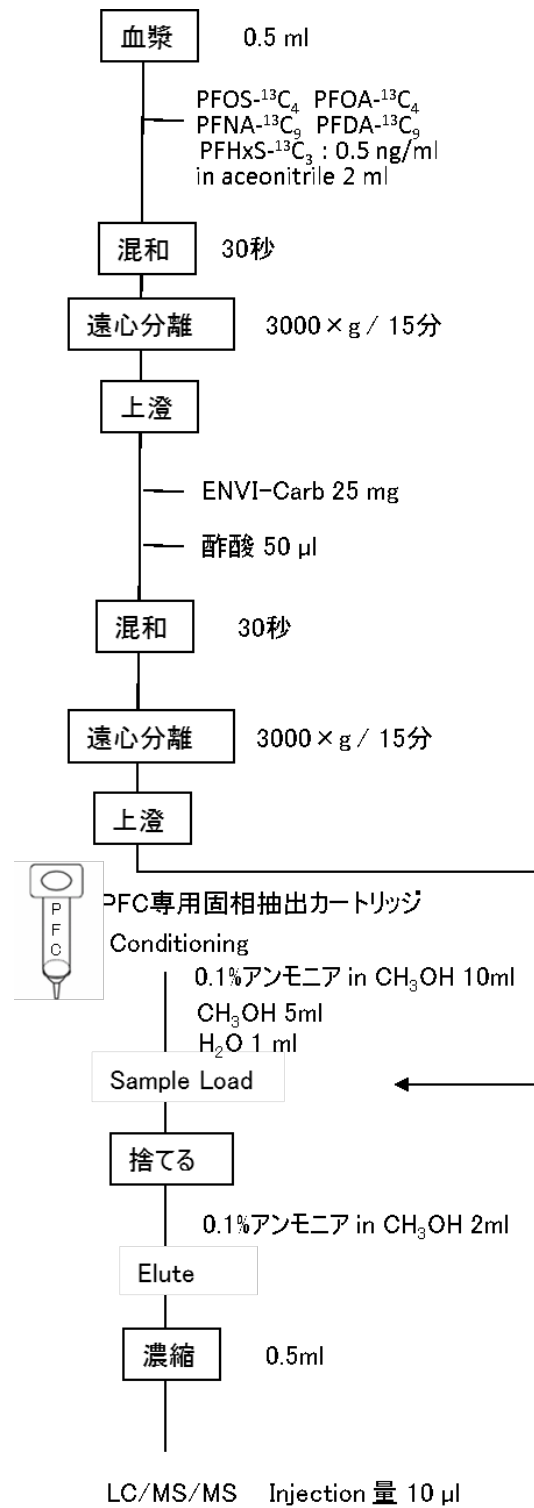
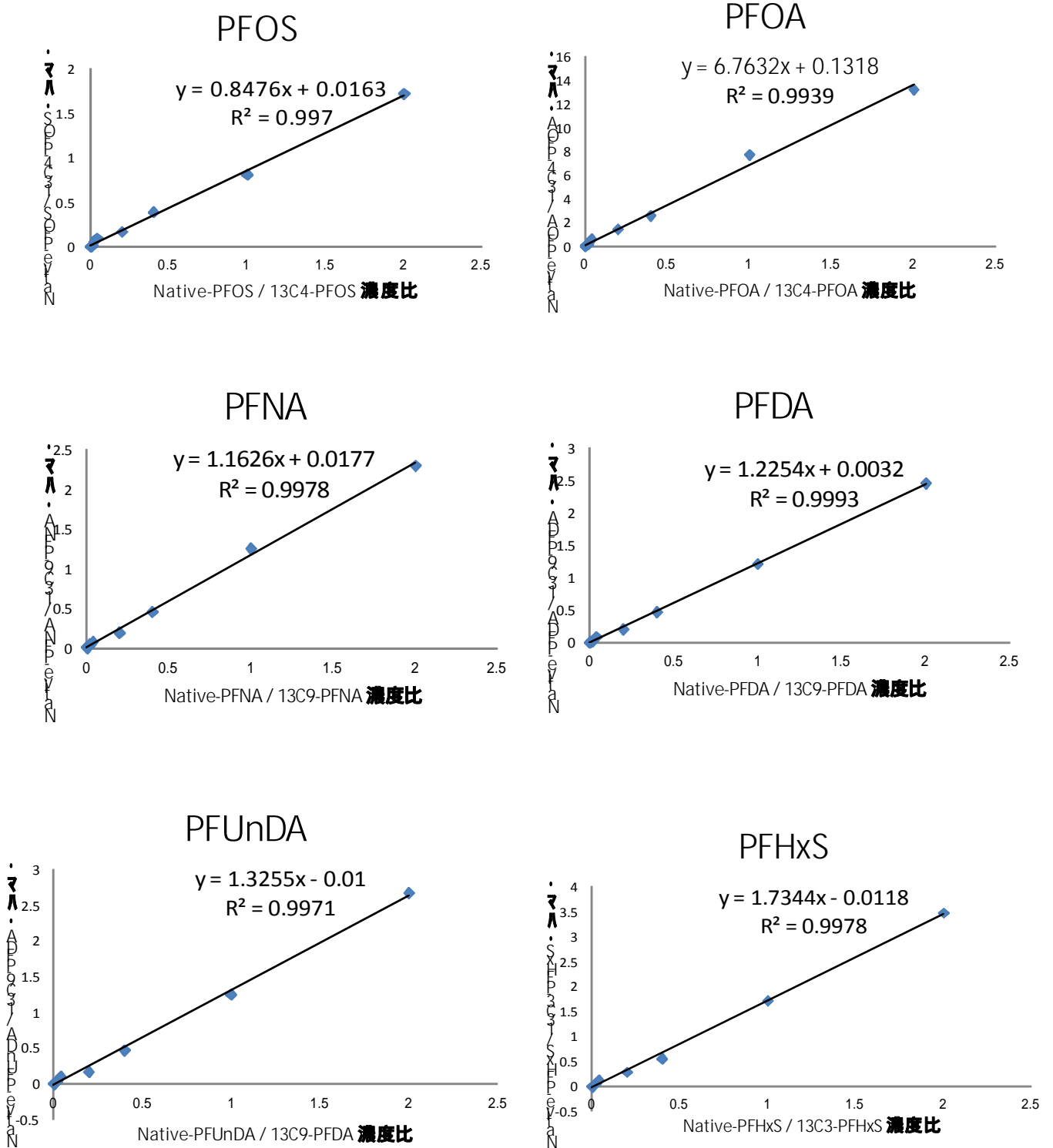


図 1. 血漿中の有機フッ素化合物抽出の前処理方法

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



x = Native / Internal standard 濃度比
y = Native / Internal standard 面積比

図 2. 標準液による検量線

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. 標準血清を用いた有機フッ素化合物濃度

	北大 (ng/ml)	NIST (ng/g)	CDC (ng/g)	3M (ng/g)	U. Toronto (ng/g)	Env. Canada (ng/g)	EPA (ng/g)	京都大学 (ng/ml)
PFBA	ND	-	-	<0.05	-	-	-	-
PFPeA	ND	-	-	<0.05	-	-	-	-
PFHxA	ND	<0.093	-	<0.05	<0.05	-	NR	<0.05
PFHpA	ND	0.279	<0.4	0.277	0.33	<0.61	<1.0	0.27
PFOA	5.55	4.43	4.88	5.36	4.81	5.13	5.86	4.77
PFNA	0.474	0.762	0.833	0.97	-	0.934	0.869	0.96
PFDA	0.299	0.393	<0.2	0.285	0.327	0.53	<1.0	0.26
PFUnDA	0.359	0.176	<0.2	0.159	0.216	0.105	<0.5	0.174
PFDoA	ND	<0.073	<0.2	<0.05	<0.025	0.203	<0.25	0.16
PFBS	ND	<0.075	<0.1	<0.02	-	-	<0.25	<0.1
PFHxS	5.17	3.01	3.22	3.53	3.88	5.15	5.23	-
PFOS	22.0	21.0	19.8	23.6	21.0	21.9	19.5	-
PFOSA	-	0.116	<0.1	<0.1	-	-	-	-

Standard 血清: NIST standard reference material (SRM) 1957. Keller et al. 2010; Harada et al. 2011 を改変

表 4. 北海道スタディ対象者の血漿中有機フッ素化合物濃度

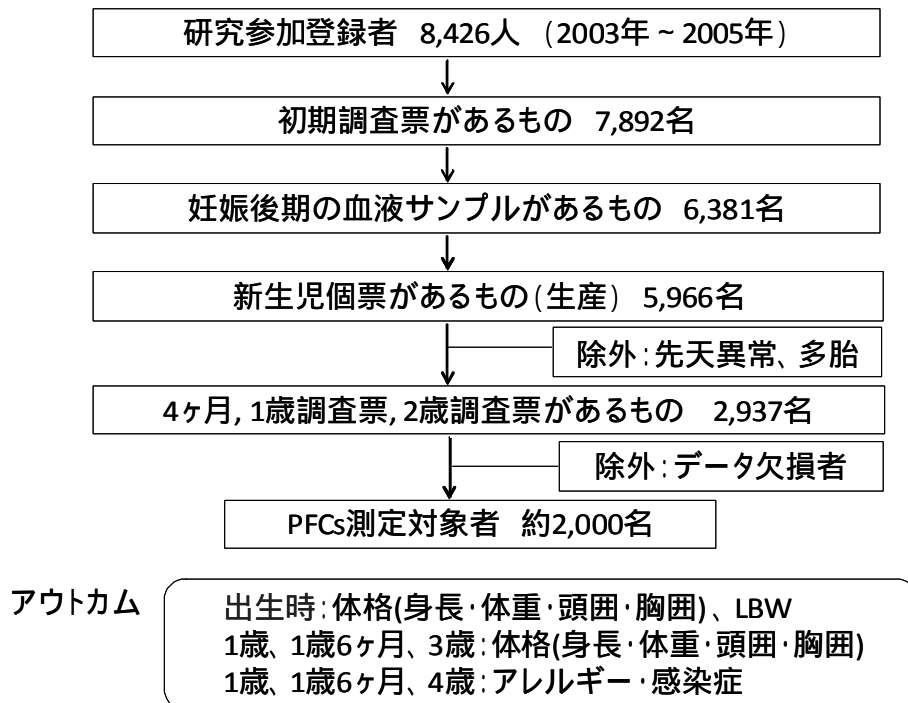
	PFOS	PFOA	PFNA	PFHxS	PFDA	PFUnDA
水Blank	ND	ND	ND	ND	ND	ND
北海道スタディ1	5.52	1.14	ND	ND	ND	0.28
北海道スタディ2	6.28	1.55	0.93	ND	0.43	1.50
北海道スタディ3	8.50	2.25	0.72	ND	0.53	1.44
北海道スタディ4	3.44	1.00	2.52	ND	0.81	4.43
北海道スタディ平均値	<u>5.94</u>	<u>1.48</u>	1.39	ND	0.59	1.91
東豊コホート中央値	<u>5.20</u>	<u>1.30</u>	-	-	-	-

Native / Internal standard 濃度比・面積比の検量線から濃度計算

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

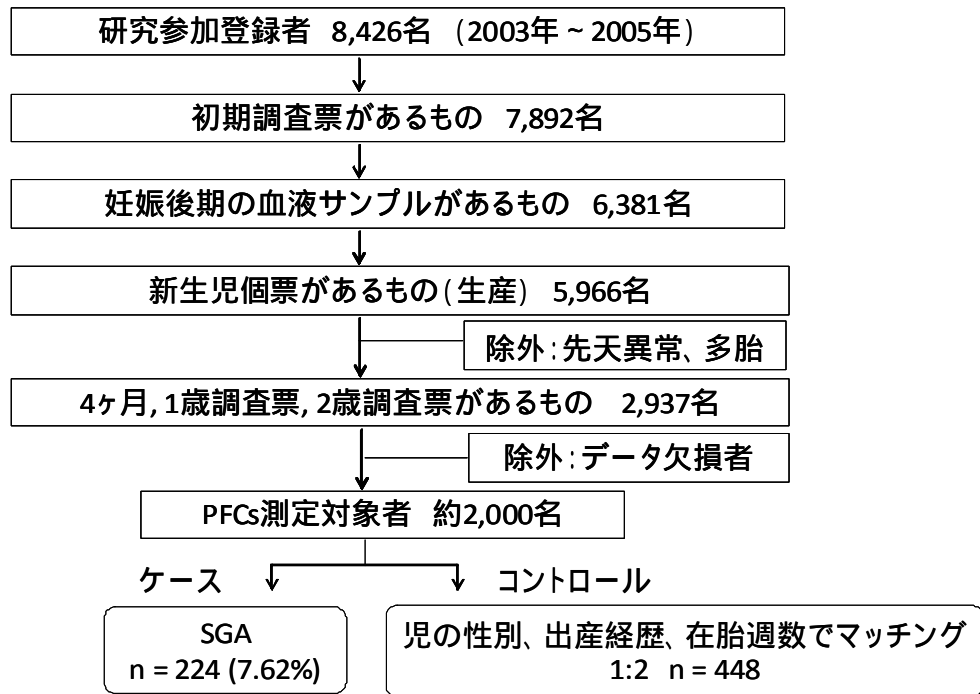
参考表 1. 北海道スタディにおける児のアウトカム

調査票(月齢)	アウトカム	研究デザイン
新生児個票(出生時)	体格(身長・体重・頭囲・胸囲)	前向きコホート研究
	SGA: Small for Gestational Age (出生時体重が標準値の 10 パーセントイル未満)	Nested-ケースコントロール研究 (case: n=224)
	LBW: Low Birth Weight (出生時体重が 2500g 未満)	前向きコホート
	早産(在胎週数が 37 週未満)	Nested-ケースコントロール研究 (case: n=195)
	先天異常	Nested-ケースコントロール研究 (case: n=86)
4ヶ月調査票(4ヶ月)	体格(身長・体重・頭囲・胸囲)	前向きコホート研究
1歳調査票(12ヶ月)	1歳時の体格(身長・体重・頭囲・胸囲)	前向きコホート研究
	アレルギー・感染症	前向きコホート研究
2歳調査票(24ヶ月)	1歳6ヶ月時の体格(身長・体重・頭囲・胸囲)	前向きコホート研究
	アレルギー・感染症	前向きコホート研究
4歳調査票(42ヶ月)	3歳時の体格(身長・体重・頭囲・胸囲)	前向きコホート研究
	アレルギー・感染症	前向きコホート研究

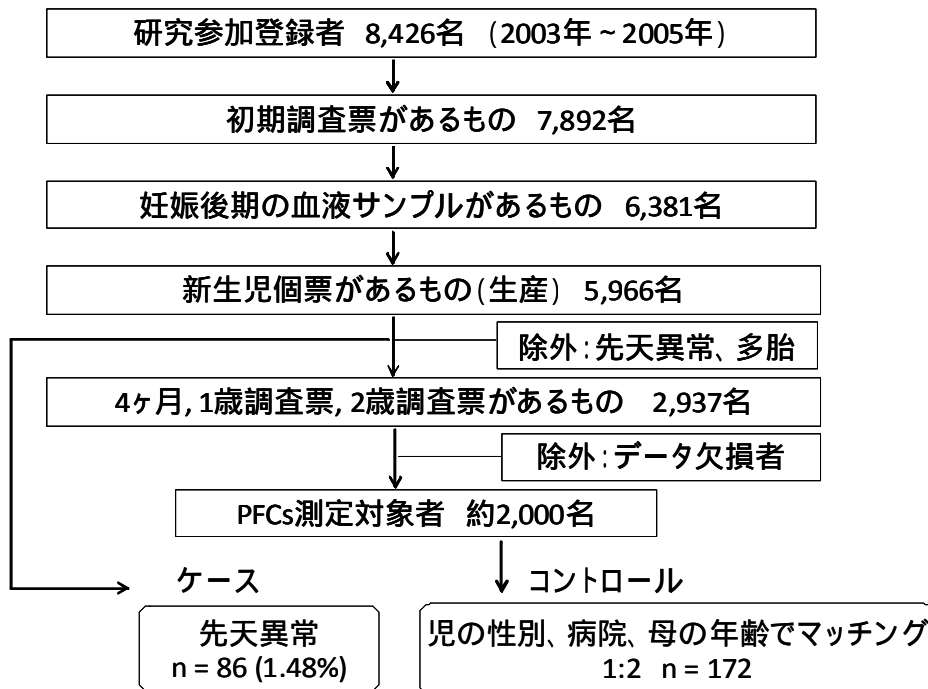


参考図 1. 研究フロー：前向きコホート研究

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



参考図 2. 研究フロー：Nested-ケースコントロール研究(SGA がアウトカムの場合)



参考図 3. 研究フロー：Nested-ケースコントロール研究(先天異常がアウトカムの場合)

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

妊婦の有機フッ素化合物（PFCs）濃度の経年変化：2003年-2011年

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 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副所長
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学術研究員

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。疫学研究では、一般生活環境レベルのPFCs胎児期曝露による児の健康影響が認められた。また近年では、炭素鎖の長いPFNA, PFDAのヒト血液中濃度が経年して上昇していることが報告されているが、日本における報告はわずかである。そこで本研究では、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）を用いた一斉分析により、妊婦の血液中PFCs 11化合物濃度を測定し、北海道におけるPFCsの曝露実態を明らかにするとともに、血中濃度の経年変化を検討した。対象者は、2003年～2011年に登録した妊婦20,737名から2年ごとに30名をランダム抽出した150名である。妊娠後期の母体血中PFCs 11化合物濃度を測定した結果、PFOS, PFOA濃度は諸外国の妊婦と比較して低い濃度であった。2003年～2011年の間で、PFOS, PFOA濃度は経年して有意に減少した一方で、PFNA, PFDA濃度は有意な経年上昇が認められた。今後、長鎖のPFCAsに注目し、PFOS, PFOAを含めたPFCs 11化合物の胎児期曝露によるリスク評価を行う予定である。

研究協力者

岡田 恵美子、櫻野 いく子
（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）
山本 潤（いであ株式会社環境創造研究所）

を受けずに蓄積されることから、人体への健康影響が懸念されている。

ヒトにおいても妊娠中の曝露によりPFCs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（Midasch et al. 2007; Monroy et al. 2008）。疫学研究では、PFCsの胎児期曝露が子どもの出生時体重に影響を及ぼすことが明らかにされており（Fei et al. 2007; Washino et al. 2009）、妊婦の曝露評価を行うことは極めて重要である。

PFOS, PFOAは、アメリカや欧州連合、カナダを始めとした世界各国での製造や使用の規制が始まり、2009年には残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約で制限物質としてPFOS, PFOSFが新たに追加

A．研究目的

PFOS, PFOAに代表される有機フッ素化合物（PFCs）は、絶縁性、撥水撥油性をはじめとする優れた表面特性を有することから、衣類、建材、界面活性剤など幅広い分野で使用されている。人体への曝露経路には飲料水、食品、食品パッケージ、ハウスダストが報告されている。PFCsは難分解性、高残留性の物質であり、環境中に放出された後も自然界および生体内で分解

された。しかし、PFCs は PFOS, PFOA 以外にも PFHxS や炭素鎖が長い PFNA, PFDA, PFUnDA, PFHxS など多く存在し、これらは未だ規制の対象外である。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)。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ていることから (Calafat et al. 2007; Glynn et al. 2012; Harada et al. 2011)、PFOS, PFOA だけではなく、その他の PFCs、特に長鎖のパーフルオロアルキルカンボン酸 (PFCAs) の曝露実態を把握する必要があるが、日本においてこれらのヒト血液中濃度の報告はほとんどない。

本研究では、超高速液体クロマトグラフィ / タンデム質量分析装置 (UPLC-MS/MS) を用いた一斉分析により、妊婦の血液中 PFCs 11 化合物濃度を測定し、北海道における PFCs の曝露実態を明らかにするとともに、血中濃度の経年変化を検討することを目的とした。

B . 研究方法

2003 年から現在進行中の北海道全域を対象とした前向きコホート研究「環境と子どもの研究に関する北海道スタディ」に参加登録し同意の得られた妊婦を対象とした。対象者は、2003 ~ 2011 年の参加登録者 20,737 名のうち、初期調査票、医療診療録、母体血検体があるものから、2003 年 1,944 名、2005 年 2,459 名、2007 年 1,820 名、2009 年 1,274 名、2011 年 1,103 名を抽出し、それぞれ 30 名ずつをランダムに抽出した 150 名である。

分析試料は妊娠 28 ~ 31 週の母体血漿を分析試料とした。前処理方法は、血漿 0.5 mL に安定同位体標識物質 PFHxA-¹³C₂, PFHxS-¹³C₃, PFOA-¹³C₄, PFNA-¹³C₅, PFOS-¹³C₄, PFDA-¹³C₂, PFUnDA-¹³C₂ を各 2.5 ng 添加し、アセトニトリル溶液 2 mL を加えて攪拌、15 分間遠心分離した。

液相を分取した後、Envi-carb 25 mg と酢酸 50 μ L を添加し、攪拌、遠心分離を 15 分間行った。次に分取した液相を窒素気流下で乾固させメタノール 0.5 mL に再溶解したものを試料溶液とした。LC 装置は Waters 製 ACQUITY UPLC system、MS/MS 装置は Waters 製 Micromass Quattro Premier を使用した分析カラムは Ethylen-bridged (BEH) C18 column (1.7 μ m, 2.1 \times 50 mm) を用い、リテンションギャップカラム BEH C18 column (1.7 μ m, 2.1 \times 100 mm) を設置した。移動相には 2 mM 酢酸アンモニウムの水/メタノール混液を用いて、流量 0.3 mL/min で送液し、試料溶液 5 μ L を UPLC/MS/MS に注入して PFCs 11 化合物 (PFHxA, PFHpA, PFOA, PFNA, PFDA, PFUnDA, PFDoDA, PFTrDA, PFTeDA, PFHxS, PFOS) の一斉分析を行った。Mass モニタリングイオンの値を Table 1、LC グラジエント条件を Table 2 に示す。装置検出下限値 (Instrumental detection limits: IDL) は 0.1 ~ 0.2 ng/mL、分析方法の検出下限値 (Method detection limits: MDL) は 0.2 ~ 0.3 ng/mL だった。標準血清 NIST standard reference material (SRM) 1950 を測定した結果、日本および諸外国の他機関と同様の値が得られたことから、本研究における PFCs 分析法の妥当性と信頼性が確立された (Keller et al., 2010; Harada et al., 2011)。IDL、MDL、標準血清の測定値を Table 1 に示す。

統計解析には、検出限界未満の対象者に MDL の半値を充てた。年齢を調整した平均値は、least square mean of ANCOVA model を用いて算出した。2003 ~ 2011 年の傾向をみるために、線形回帰分析を行った。各 PFCs の相関をみるために Spearman's rank correlation coefficient を用いた。統計解析には SPSS for Widows, version 16.0J を用い、 $p < 0.05$ を統計学的有意とした。

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

（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

2003～2011年の対象者の平均年齢は 30.32 ± 4.74 歳であった（Table 3）。

Table 4 に、全ての年と 2003～2011 年 2 年ごとの PFCs 濃度を化合物別に示した。PFOA, PFNA, PFDA, PFUnDA, PFOS は全ての検体から検出された。その他の化合物の検出率は、PFHxA 13.3%, PFHpA 23.3%, PFDoDA 73.3%, PFTrDA 97.3%, PFTeDA 28.0%, PFHxS 80.7% だった。全ての年の平均濃度は、PFOA 1.53 ng/mL, PFNA 1.18 ng/mL, PFDA 0.57 ng/mL, PFUnDA 1.29 ng/mL, PFDoDA 0.16 ng/mL, PFTrDA 0.31 ng/mL, PFHxS 0.32 ng/mL, PFOS 3.96 ng/mL, PFCs（PFCs 11 化合物の合計濃度）10.33 ng/mL だった。全ての年の年齢を調整した平均濃度は、PFOA 1.50 ng/mL, PFNA 1.17 ng/mL, PFDA 0.56 ng/mL, PFUnDA 1.27 ng/mL, PFDoDA 0.16 ng/mL, PFTrDA 0.31 ng/mL, PFHxS 0.31 ng/mL, PFOS 3.89 ng/mL, PFCs 10.19 ng/mL だった。

2003～2011 年 2 年ごとの PFOA, PFNA, PFDA, PFOA, PFCs 濃度の散布図と傾向性の直線回帰を Figure 1 に示した。PFOA, PFOS, PFCs 濃度は 2003～2011 年の間で有意に減少した [estimate: PFOA = -0.058 ng/mL/y (95% CI, -0.108 to -0.007) ; PFOS = -0.294

ng/mL/y (95% CI, -0.382 to -0.206) ; PFCs = -0.264 ng/mL/y (95% CI, -0.441 to -0.088)]。一方、PFNA, PFDA 濃度は 2003～2011 年の間で有意に上昇した [estimate: PFNA = 0.047 ng/mL/y (95% CI, 0.008 to 0.087) ; PFDA = 0.018 ng/mL/y (95% CI, 0.006 to 0.030)]。その他の化合物については経年変化が認められなかった。

Figure 2 に PFCs 11 化合物の合計濃度に占める各 PFCs 濃度の割合を示した。PFOS 濃度の割合は、2003 年および 2005 年と比較して、2007 年以降減少した。PFNA, PFDA, PFUnDA 濃度の割合は、2005 年以降上昇した。2003 年と 2011 年で、PFOS 濃度の割合は 46.2% から 32.8%、PFOA 濃度の割合は 16.7% から 15.4% に減少した。PFNA 濃度の割合は 9.1% から 14.5%、PFDA 濃度の割合は 5.0% から 7.5%、PFUnDA 濃度の割合は 11.1% から 15.4% に上昇した。

各 PFCs 濃度の相関を Table 5 に示した。炭素鎖が近い PFCs 濃度の相関が強く、特に炭素鎖が長い化合物において強い相関が認められた。

D . 考察

本研究は、北海道における妊婦の PFCs 11 化合物の血漿中濃度を測定し、PFOA, PFNA, PFDA, PFUnDA, PFOS は全ての検体から検出された。2003～2011 年の間で PFOA, PFOS, PFCs 濃度は有意に減少傾向を示し、PFNA, PFDA 濃度は上昇傾向を示した。

PFOS, PFOA 濃度の減少は、多くの先行研究と一致した結果だった (Calafat et al., 2007; Harada et al., 2011; Olsen et al., 2008; Olsen et al., 2012)。PFOS 濃度の減少傾向は、2002 年にアメリカの 3M 社が PFOS の製造を中止したこと、また 2009 年に「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」で PFOS が制限物質に追加されたこと、さらに 2010 年に日本で「化

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

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に指定されたことが要因と考えられる。PFOA 濃度の減少については、2006 年からの PFOA 管理プログラムによる製造や輸入の自主規制によるものと考えられる。

PFNA, PFDA 濃度の上昇傾向は、近年の報告と同様の結果だった。スウェーデンの妊婦では、1996～2010 年の間に、PFNA が 4.3%/y、PFDA が 3.8%/y 上昇した（Glynn et al., 2012）。アメリカの National Health and Nutrition Examination Survey（NHANES）では、1999～2000 年と 2003～2004 年で PFNA 濃度が 0.5 ng/mL から 0.9 ng/mL に上昇した（Calafat et al., 2007）。本研究の 2011 年の PFNA 濃度は、PFOA 濃度と同程度であり、PFCs 合計濃度に占める長鎖の PFCAs 濃度の割合が増加した。長鎖の PFCAs は生物濃縮性が高く、半減期も長いことが報告されている（Martin et al., 2003; Ohmori et al., 2003）。世界的に PFNA, PFDA のヒト血液中濃度は上昇傾向にあることから、PFOA よりも炭素鎖の長い PFCAs 曝露によるヒトへの健康影響について評価する必要がある。

本研究の妊婦において PFUnDA, PFDoDA, PFTrDA も高い検出率であった。これらは国内の他地域と比較して低い濃度であったが、諸外国と比べると高かった（Harada et al. 2011）。国内の他地域や韓国においては上昇傾向を示しており（Harada et al. 2011）、日本を含めた東アジアでは、長鎖の PFCAs 濃度が高いことが示された。各 PFCs 濃度の相関は、炭素鎖の長さが近い化合物同士が強く、特に長鎖の化合物において強い相関が認められた。しかし、世界的に長鎖の PFCAs、特に PFDA より炭素鎖が長い PFCAs のヒトサンプルの報告はわずかであることから、長期的にモニタリングしていく必要がある。

本研究の PFOS, PFOA 濃度は（PFOS

3.96 ng/mL; PFOA 1.53 ng/mL）、先行研究の前向きコホート研究における妊婦の濃度と比較し、低い濃度であった。アメリカの NHANES では、PFOS 12.29 ng/mL; PFOA 2.6 ng/mL（Woodruff et al., 2011）、デンマークの Danish National Birth Cohort では、PFOS 35.3 ng/mL; PFOA 5.6 ng/mL だった（Fei et al., 2007）。さらに札幌市の一産科病院を対象とした前向きコホート研究よりも低かった（PFOS 5.2 ng/mL; PFOA 1.3 ng/mL）（Washino et al., 2009）。したがって、北海道全域は、PFCs 曝露が低い地域であることが示唆された。しかし、札幌市のコホート研究では PFOS または PFOA の胎児期曝露による出生時体重や臍帯血 IgE への負の影響が認められていることから（Washino et al., 2009; Okada et al., 2012）、北海道全域においても PFOS, PFOA を含めた PFCs のリスク評価が重要である。今後、さらに大きなサンプルサイズで妊婦の PFCs 11 化合物の曝露評価を行い、児の出生時体重や免疫アレルギー、神経行動発達への影響について検討する予定である。

E . 結論

北海道における妊婦の PFOS, PFOA 濃度は諸外国の妊婦と比較して低い濃度であった。2003～2011 年の間で、PFOS, PFOA 濃度は経年して減少した一方で、PFNA, PFDA 濃度は経年上昇が認められた。今後、長鎖の PFCAs に注目し、PFOS, PFOA を含めた PFCs 11 化合物の胎児期曝露によるリスク評価が必要である。

F . 研究発表

1) 論文発表

なし

2) 学会発表

1. Emiko OKADA, Ikuko KASHINO, Hideyuki MATSUURA, Jun YAMAMOTO, Seiko SASAKI,

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

Chihiro MIYASHITA, Toru MATSUMURA, Reiko KISHI. Levels of perfluorinated chemicals in plasma samples of pregnant women from 2003-2011 in Hokkaido, Japan. In: Birth Cohort Consortium Asia. Taiwan; 2012 November.

- 岡田恵美子、櫻野いく子、松浦英幸、山本潤、佐々木成子、宮下ちひろ、松村徹、岸玲子。「北海道における妊婦のPFOS/PFOA および類縁化合物濃度」第21回環境化学討論会。愛媛;2012年7月。

G . 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

- 特許取得
なし
- 実用新案登録
なし
- その他
なし

参考文献

- 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.
- 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.
- Fei C, McLaughlin JK, Tarone RE, Olsen J. 2007. Perfluorinated chemicals and fetal growth: a study within the Danish National Birth Cohort. *Environ Health Perspect.*

115:1677–1682.

- Washino N, Saijo Y, Sasaki S, Kato S, Ban S, Konishi K, et al. 2009. Correlations between prenatal exposure to perfluorinated chemicals and reduced fetal growth. *Environ Health Perspect.* 117:660–667.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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

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

- Vietnam. *Environ Int* chemicals and relationship with
2011;37:1183–1189. allergies and infectious diseases in
10. Keller JM, Calafat AM, Kato K, infants. *Environ Res*
Ellefson ME, Reagen WK, Strynar M, 2012;112:118–125.
et al. 2010. Determination of
perfluorinated alkyl acid
concentrations in human serum and
milk standard reference materials.
Anal Bioanal Chem. 397:439–451.
11. Olsen GW, Mair DC, Church TR,
Ellefson ME, Reagen WK, Boyd TM,
et al. 2008. Decline in
perfluorooctanesulfonate and other
polyfluoroalkyl chemicals in
American Red Cross adult blood
donors, 2000–2006. *Environ Sci
Technol.* 42:4989–4995.
12. Olsen GW, Lange CC, Ellefson ME,
Mair DC, Church TR, Goldberg CL,
et al. 2012. Temporal trends of
perfluoroalkyl concentrations in
American Red Cross adult blood
donors, 2000–2010. *Environ Sci
Technol.* 46:6330–6338.
13. Glynn A, Berger U, Bignert A, Ullah
S, Aune M, Lignell S, et al. 2012.
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.* 46:9071–9079.
14. 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.
15. Okada E, Sasaki S, Saijo Y, Washino
N, Miyashita C, Kobayashi S, et al.
Prenatal exposure to perfluorinated

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

Table 1. Mass transitions, MS/MS conditions, recovery, and detection limits for each PFCs and internal standard analysis in human plasma samples.

Compound	Precursor Ion (m/z)	Product Ion (m/z)	Cone (V)	Collision (eV)	Recovery (%)	RSD ^a (%)	IDL ^{b,c} (ng/mL)	MDL ^{d,e} (ng/mL)	SRM1957 ^f (ng/mL) (SE)
PFCAs									
PFHxA	313	269	10	9	94.9	(9.29)	0.1	0.1	< 0.1
¹³ C ₂ -PFHxA	315	270	10	9	-	-	-	-	-
PFHpA	363	319	16	10	93.1	(9.09)	0.1	0.1	0.34 (0.02)
PFOA	413	368	17	11	94.9	(6.41)	0.1	0.2	4.76 (0.23)
¹³ C ₄ -PFOA	417	372	17	11	-	-	-	-	-
PFNA	463	419	15	11	92.9	(5.74)	0.1	0.3	0.92 (0.05)
¹³ C ₅ -PFNA	468	423	15	11	-	-	-	-	-
PFDA	513	469	15	13	94.5	(4.90)	0.1	0.1	0.27 (0.05)
¹³ C ₂ -PFDA	515	470	15	13	-	-	-	-	-
PFUnDA	563	519	15	13	85.8	(4.60)	0.1	0.1	0.16 (0.05)
¹³ C ₂ -PFUnDA	565	520	15	13	-	-	-	-	-
PFDoDA	613	569	20	13	90.1	(5.55)	0.1	0.1	0.14 (0.01)
PFTTrDA	713	669	22	15	85.7	(5.59)	0.1	0.1	0.11 (0.01)
PFTeDA	663	619	15	14	100.0	(4.23)	0.1	0.1	< 0.1
PFASs									
PFHxS	399	80	50	30	91.5	(6.13)	0.2	0.2	4.01 (0.27)
¹³ C ₃ -PFHxS	402	80	50	30	-	-	-	-	-
PFOS	499	80	45	40	75.2	(4.76)	0.2	0.3	20.8 (1.40)
¹³ C ₄ -PFOS	503	80	45	40	-	-	-	-	-

^aRSD: Relative standard deviation

^bIDL: Instrument detection limit

^c5 µL injection

^dMDL: Method detection limit

^e0.5 mL plasma sample

^f0.5 mL serum sample of NIST SRM was analyzed

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

Table 2. LC gradient condition

Time (min)	Water (%)	Methanol (%)
0.0	90	10
0.2	90	10
9.0	0	100
12.0	0	100
12.1	90	10
15.0	90	10

Table 3. Study populations

Year	n	Age		
		Mean	(SD)	Range
All year	150	30.32	(4.74)	19–40
2003	30	29.67	(4.77)	23–39
2005	30	29.23	(4.75)	19–37
2007	30	30.57	(3.83)	24–37
2009	30	29.63	(5.79)	19–38
2011	30	32.50	(3.87)	25–40

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

Table 4. Concentrations of each PFCs compounds in maternal plasma from 2003-2011

Compound	Year	Detection		Concentration (ng/mL)						Age-adjusted concentration (ng/mL) ^a		<i>p</i> for trend ^c
		No.	(%)	Range	Mean	(SD ^b)	25th	50th	75th	Mean	(95%CI)	
PFCAs												
PFHxA (C6)	All year	20	(13.3)	< 0.1–0.16	0.06	(0.02)	< 0.1	< 0.1	< 0.1	0.06	0.05–0.06	0.074
	2003	8	(26.7)	< 0.1–0.16	0.07	(0.03)	< 0.1	< 0.1	0.11	0.07	0.06–0.08	
	2005	5	(16.7)	< 0.1–0.14	0.06	(0.03)	< 0.1	< 0.1	< 0.1	0.06	0.05–0.07	
	2007	1	(3.3)	< 0.1–0.12	0.05	(0.01)	< 0.1	< 0.1	< 0.1	0.05	0.04–0.06	
	2009	0	(0)	< 0.1–< 0.1	0.05	(0.00)	< 0.1	< 0.1	< 0.1	0.05	0.04–0.06	
	2011	6	(20)	< 0.1–0.13	0.06	(0.03)	< 0.1	< 0.1	< 0.1	0.06	0.05–0.07	
PFHpA (C7)	All year	35	(23.3)	< 0.1–0.26	0.07	(0.04)	< 0.1	< 0.1	0.05	0.07	0.06–0.08	0.165
	2003	17	(56.7)	< 0.1–0.26	0.11	(0.06)	< 0.1	0.11	0.16	0.11	0.09–0.12	
	2005	1	(3.3)	< 0.1–0.11	0.05	(0.01)	< 0.1	< 0.1	< 0.1	0.05	0.04–0.07	
	2007	0	(0)	< 0.1–< 0.1	0.05	(0.00)	< 0.1	< 0.1	< 0.1	0.05	0.04–0.06	
	2009	2	(6.7)	< 0.1–0.14	0.05	(0.02)	< 0.1	< 0.1	< 0.1	0.05	0.04–0.07	
	2011	15	(50.0)	< 0.1–0.20	0.09	(0.04)	< 0.1	0.08	0.12	0.09	0.08–0.11	
PFOA (C8)	All year	150	(100)	0.30–6.88	1.53	(0.90)	0.97	1.35	1.81	1.50	1.36–1.65	0.026
	2003	30	(100)	0.71–6.88	2.05	(1.26)	1.33	1.93	2.18	2.01	1.70–2.33	
	2005	30	(100)	0.70–2.35	1.25	(0.44)	0.88	1.16	1.56	1.22	0.90–1.55	
	2007	30	(100)	0.55–4.89	1.56	(0.78)	1.09	1.44	1.71	1.56	1.25–1.88	
	2009	30	(100)	0.30–5.45	1.36	(0.99)	0.72	1.19	1.68	1.38	1.06–1.70	
	2011	30	(100)	0.54–2.93	1.42	(0.63)	0.98	1.27	1.77	1.34	0.98–1.70	
PFNA (C9)	All year	150	(100)	0.41–6.74	1.18	(0.70)	0.76	1.04	1.37	1.17	1.06–1.28	0.019
	2003	30	(100)	0.41–3.14	1.13	(0.66)	0.72	0.92	1.14	1.10	0.86–1.35	
	2005	30	(100)	0.49–1.52	0.81	(0.25)	0.65	0.74	0.91	0.81	0.57–1.06	
	2007	30	(100)	0.57–6.74	1.31	(1.06)	0.90	1.19	1.33	1.33	1.09–1.57	
	2009	30	(100)	0.42–3.57	1.32	(0.59)	0.98	1.24	1.45	1.34	1.10–1.58	
	2011	30	(100)	0.60–2.54	1.34	(0.57)	0.82	1.26	1.73	1.26	0.98–1.54	
PFDA (C10)	All year	150	(100)	0.25–1.27	0.57	(0.21)	0.41	0.51	0.67	0.56	0.53–0.59	0.003
	2003	30	(100)	0.41–1.20	0.60	(0.18)	0.49	0.56	0.68	0.60	0.53–0.67	
	2005	30	(100)	0.26–0.66	0.42	(0.09)	0.36	0.40	0.48	0.42	0.35–0.49	
	2007	30	(100)	0.25–1.25	0.54	(0.20)	0.40	0.52	0.61	0.54	0.47–0.61	
	2009	30	(100)	0.28–1.24	0.57	(0.20)	0.42	0.51	0.67	0.57	0.50–0.64	
	2011	30	(100)	0.29–1.27	0.71	(0.26)	0.50	0.69	0.89	0.65	0.57–0.73	
PFUnDA (C11)	All year	150	(100)	0.42–3.40	1.29	(0.52)	0.85	1.23	1.60	1.27	1.19–1.36	0.252
	2003	30	(100)	0.71–2.22	1.34	(0.41)	1.09	1.26	1.64	1.34	1.16–1.53	
	2005	30	(100)	0.55–1.64	1.08	(0.31)	0.79	1.13	1.30	1.10	0.91–1.28	
	2007	30	(100)	0.47–2.28	1.37	(0.52)	0.84	1.44	1.87	1.37	1.19–1.55	
	2009	30	(100)	0.42–2.90	1.19	(0.53)	0.77	1.21	1.46	1.21	1.03–1.40	
	2011	30	(100)	0.43–3.40	1.45	(0.70)	0.90	1.30	1.80	1.33	1.12–1.54	

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

PFDoD A (C12)	All year	110	(73.3)	< 0.1–0.51	0.16	(0.09)	< 0.1	0.15	0.23	0.16	0.15–0.17	
	2003	30	(100)	0.17–0.35	0.24	(0.05)	0.21	0.23	0.27	0.24	0.22–0.26	0.359
	2005	14	(46.7)	< 0.1–0.15	0.08	(0.04)	< 0.1	< 0.1	0.13	0.09	0.07–0.11	
	2007	19	(63.3)	< 0.1–0.30	0.12	(0.06)	< 0.1	0.11	0.16	0.12	0.10–0.14	
	2009	18	(60.0)	< 0.1–0.21	0.11	(0.06)	< 0.1	0.12	0.15	0.11	0.09–0.13	
	2011	29	(96.7)	< 0.1–0.51	0.25	(0.08)	0.22	0.24	0.30	0.26	0.24–0.29	
PFTrDA (C13)	All year	146	(97.3)	< 0.1–0.81	0.31	(0.14)	0.21	0.29	0.38	0.31	0.29–0.33	
	2003	30	(100)	0.25–0.81	0.41	(0.12)	0.32	0.40	0.47	0.41	0.37–0.46	0.236
	2005	29	(96.7)	< 0.1–0.40	0.24	(0.08)	0.18	0.24	0.29	0.24	0.20–0.29	
	2007	29	(96.7)	< 0.1–0.80	0.27	(0.14)	0.18	0.25	0.34	0.27	0.23–0.32	
	2009	28	(93.3)	< 0.1–0.48	0.25	(0.11)	0.17	0.25	0.34	0.25	0.21–0.30	
	2011	29	(96.7)	< 0.1–0.78	0.36	(0.14)	0.28	0.33	0.44	0.35	0.30–0.39	
PFTeDA (C14)	All year	42	(28.0)	< 0.1–0.16	0.07	(0.03)	< 0.1	< 0.1	0.11	0.07	0.07–0.07	
	2003	16	(53.3)	< 0.1–0.16	0.09	(0.04)	< 0.1	0.11	0.12	0.09	0.08–0.10	0.164
	2005	0	(0)	< 0.1–< 0.1	0.05	(0.00)	< 0.1	< 0.1	< 0.1	0.05	0.04–0.06	
	2007	0	(0)	< 0.1–< 0.1	0.05	(0.00)	< 0.1	< 0.1	< 0.1	0.05	0.04–0.06	
	2009	0	(0)	< 0.1–< 0.1	0.05	(0.00)	< 0.1	< 0.1	< 0.1	0.05	0.04–0.06	
	2011	4	(13.3)	< 0.1–0.15	0.11	(0.03)	0.11	0.12	0.13	0.11	0.11–0.12	
PFASs												
PFHxS (C6)	All year	121	(80.7)	< 0.2–0.78	0.32	(0.15)	0.22	0.32	0.41	0.31	0.28–0.33	
	2003	29	(96.7)	< 0.2–0.60	0.40	(0.11)	0.34	0.40	0.49	0.40	0.34–0.45	0.200
	2005	22	(73.3)	< 0.2–0.53	0.27	(0.13)	< 0.2	0.26	0.35	0.26	0.21–0.31	
	2007	24	(80)	< 0.2–0.61	0.28	(0.13)	0.22	0.27	0.35	0.28	0.23–0.33	
	2009	23	(76.7)	< 0.2–0.77	0.30	(0.16)	< 0.2	0.29	0.39	0.30	0.25–0.36	
	2011	23	(76.7)	< 0.2–0.78	0.33	(0.18)	< 0.2	0.33	0.46	0.30	0.24–0.36	
PFOS (C8)	All year	150	(100)	1.09–11.19	3.96	(1.75)	2.74	3.55	4.95	3.89	3.64–4.14	
	2003	30	(100)	2.54–11.19	5.62	(1.99)	4.28	5.09	6.81	5.58	5.03–6.12	< 0.001
	2005	30	(100)	1.89–7.46	3.98	(1.24)	3.32	3.59	4.39	3.96	3.41–4.51	
	2007	30	(100)	1.90–7.41	4.03	(1.35)	2.93	3.92	5.06	4.05	3.51–4.59	
	2009	30	(100)	1.55–7.24	3.00	(1.13)	2.23	2.99	3.47	3.00	2.46–3.55	
	2011	30	(100)	1.09–7.13	3.18	(1.64)	1.94	2.57	3.91	2.85	2.23–3.47	
ΣPFCs												
	All year	-	-	4.97–21.92	10.33	(3.17)	8.09	9.79	11.83	10.19	9.71–10.66	0.004
	2003	-	-	7.38–21.92	12.84	(3.44)	10.69	12.30	15.37	12.73	11.70–13.77	
	2005	-	-	5.60–14.54	8.97	(1.88)	7.96	8.62	9.82	8.94	7.89–9.99	
	2007	-	-	5.65–21.81	10.55	(2.85)	8.75	10.43	11.62	10.59	9.56–11.62	
	2009	-	-	5.77–17.16	9.19	(2.63)	7.51	8.86	10.20	9.26	8.23–10.30	
	2011	-	-	4.97–18.38	10.09	(3.38)	7.57	9.33	12.65	9.40	8.22–10.59	

^aAge-adjusted concentrations were evaluated for age of 30.32 years by analysis of covariance.

^bSD: standard deviation

^cThe liner regressions for temporal trend by sample collection year from 2003 to 2011

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
 分担研究報告書

Table 5. Correlation between different-chain of PFCs compounds

	PFOA (C8)		PFNA (C9)		PFDA (C10)		PFUdA (C11)		PFDoA (C12)		PFTrDA (C13)		PFHxS (C6)		PFOS (C8)	
	ρ		ρ		ρ		ρ		ρ		ρ		ρ		ρ	
PFCAs																
PFOA (C8)	1.00															
PFNA (C9)	0.492	***	1.00													
PFDA (C10)	0.480	***	0.702	***	1.00											
PFUdA (C11)	0.201	*	0.482	***	0.698	***	1.00									
PFDoA (C12)	0.288	***	0.271	***	0.616	***	0.459	***	1.00							
PFTrDA (C13)	0.128		0.227	**	0.548	***	0.675	***	0.707	***	1.00					
PFASs																
PFHxS (C6)	0.267	***	0.202	*	0.239	**	0.291	***	0.264	**	0.329	***	1.00			
PFOS (C8)	0.413	***	0.184	*	0.278	***	0.358	***	0.190	*	0.341	***	0.432	***	1.00	

ρ : Spearman's rank correlation coefficient.

*: < 0.05, **: < 0.01, ***: < 0.001

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

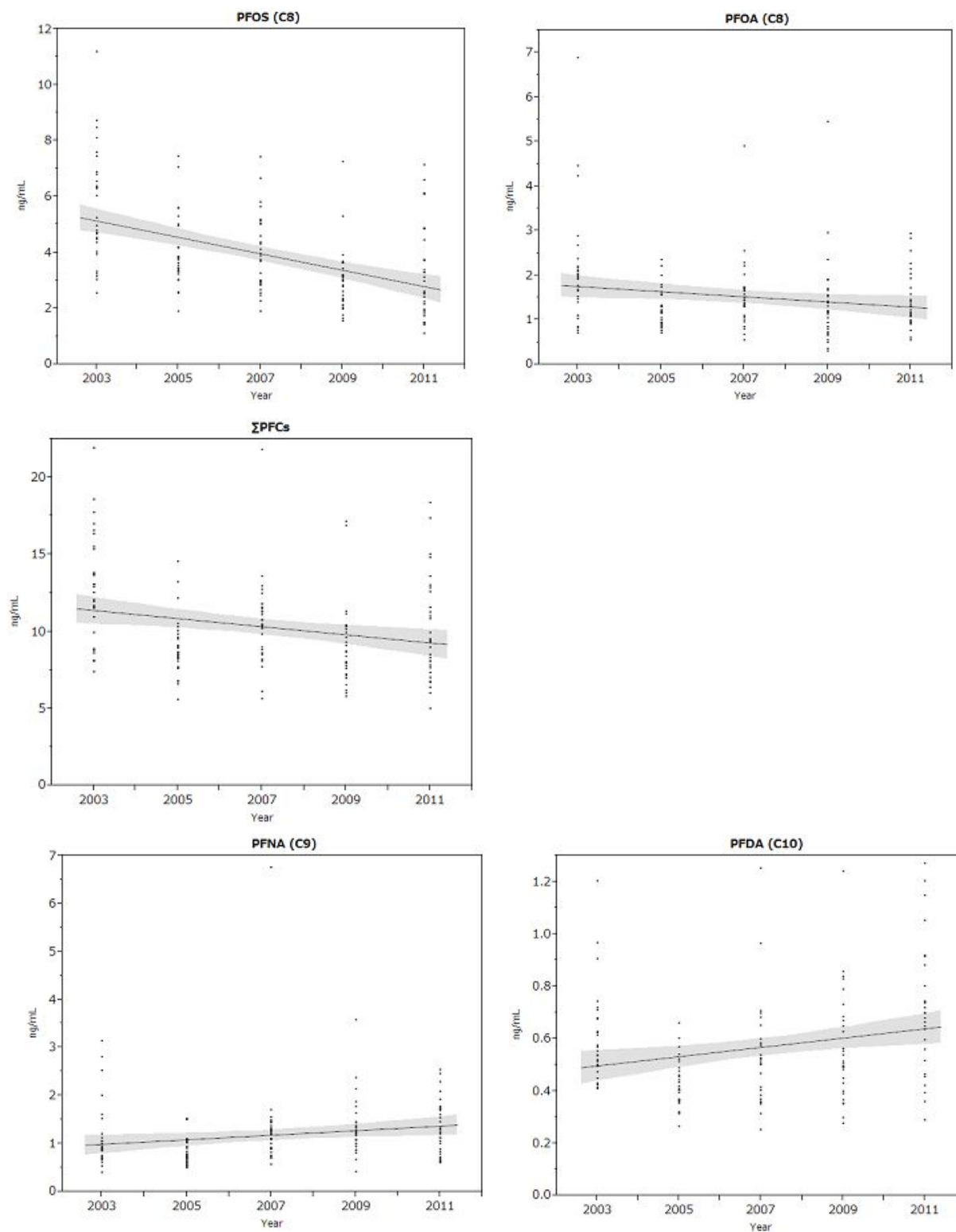


Fig. 1. Temporal trends in PFOA, PFNA, PFDA, PFOS and Σ PFCs levels in maternal plasma from 2003-2011. The solid lines denote the predicted fit from the liner regression model and 95% CI.

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

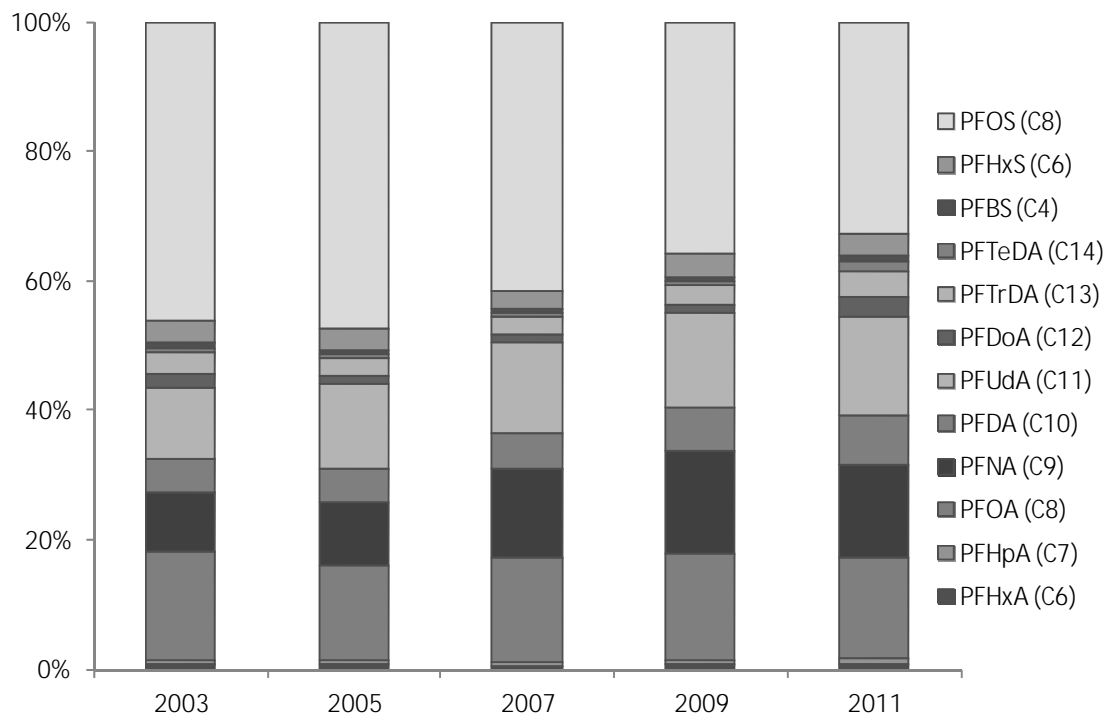


Fig. 2. PFCs concentrations composition from 2003-2011. Composition of PFCs concentration denotes the proportion of mean-value of each PFC compound concentration accounted by among the sum total of PFC concentrations from 2003-2011.

有機フッ素化合物（PFCs）の胎児期曝露による出生時体重への影響

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 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副所長
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学術研究員

研究要旨

残留性有機汚染物質である有機フッ素化合物 Perfluorinated Compounds (PFCs) は胎盤透過性があり、子宮内での曝露による胎児への発育影響が懸念されている。PFOS (C8)、PFOA (C8) は、残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約での規制や国際規模での自主規制が行われている。一方で、PFOS, PFOA より炭素鎖数の長い Perfluoroalkyl carboxylic acids (PFCAs) は、血中濃度上昇が報告されているが、動物実験での毒性指摘にも関わらず、ヒトへの影響についての報告は極めて少なく規制も行われていない。そこで、11 種類の PFCs 胎児期曝露が出生時体重に及ぼす影響について前向きコホート研究にて合計 1,986 名で検討した。2003 年～2009 年に登録した母児 17,869 名から各年 300 名をランダム抽出し、UPLC-MS/MS を用いて妊娠後期の母体血中 PFCs 11 化合物の一斉分析を行った。独立変数を母体血中 PFCs 濃度、従属変数を出生時体重とし、共変量で調整後、重回帰分析を行った結果、1,986 名の対象者では、PFNA は、血中の PFOS, PFOA に比べて低濃度であるにも関わらず出生時体重と負の関連を示し、その関連は男児でより顕著であった。また PFUnDA と PFTrDA は女児において、濃度が上昇するに従って出生時体重の減少が認められた。その他の PFCs 曝露は出生時体重と有意な関連を認めなかった。

研究協力者

榎野 いく子、岡田 恵美子
（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）
山本 潤
（いであ株式会社環境創造研究所）

A. 研究目的

有機フッ素化合物 Perfluorinated Compounds (PFCs) は残留性有機汚染物質である。ヒトは主に飲料水や赤肉や魚介類を通して曝露されるが、PFCs は胎盤透過性が報告されており、子宮内での胎児曝露による児への発育影響が懸念されている

(Midasch et al. 2007; Monroy et al. 2008)。Perfluorooctane sulfonate (PFOS, C8) は、環境中での残留性、生物蓄積性、長距離移動性、毒性が懸念されることから国際規模で規制する等の対策が進められている。日常生活レベルの PFOS、Perfluorooctanoic acid (PFOA, C8) 曝露によるヒトの出生時体格への影響については、まだ一致した結論に至っていない (Fei et al. 2007; Hamm et al. 2010; Monroy et al. 2008; Washino et al. 2009)。また、PFOS, PFOA より炭素鎖数の長い Perfluoroalkyl carboxylic acids (PFCAs)

は、PFOS, PFOA の血中濃度が経年低下しているのに対して、濃度が上昇していることが報告されている（Harada et al. 2011; Calafat et al. 2007）。PFNA（C9）の妊娠期曝露は、げっ歯類の仔死亡、仔の体重減少、発達の遅延に関係することや（Wolf et al. 2010）より炭素鎖が長いPFCAsは、PFOAより低濃度で生物学的反応を起こすことが報告されている（Matsubara et al. 2006; Liao et al. 2009）。しかし、ヒトへの影響についての報告は極めて少なく規制も行われていない。

本研究では環境化学物質にもっとも脆弱な胎児を対象として一般生活レベルによるPFCs曝露、特に炭素鎖の長いPFCAsに焦点をあて胎児発育への影響を大規模な前向き出生コホート研究を用いて明らかに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ホート研究「環境と子どもの健康に関する北海道研究」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名から形態異常、死産を除外した。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、妊娠高血圧症候群、妊娠糖尿病、糖尿病合併妊娠、子癇、先天異常、先天性心疾患、ならびに後期検体採取26週以内の妊婦の合計109人を除外し、1,986名を最終解析対象者とした（図1）。

分析試料は妊娠28～31週の母体血漿とした。前処理方法は、血漿0.5 mLに安定同位体標識物質PFHxA-¹³C₂, PFHxS-³C₃, PFOA-³C₄, PFNA-³C₅, PFOS-³C₄, PFDA-³C₂, PFUnDA-³C₂を各2.5 ng添加し、アセトニトリル溶液2 mLを加えて攪拌、15分間遠心分離した。液相

を分取した後、Envi-carb 25 mgと酢酸50 μLを添加し、攪拌、遠心分離を15分間行った。次に分取した液相を窒素気流下で乾固させメタノール0.5 mLに再溶解したものを試料溶液とした。LC装置はWaters製ACQUITY UPLC system、MS/MS装置はWaters製Micromass Quattro Premierを使用した。分析カラムはEthylene-bridged（BEH）C18 column（1.7 μm, 2.1 × 50 mm）を用い、リテンションギャップカラム BEH C18 column（1.7 μm, 2.1 × 100 mm）を設置した。移動相には2 mM酢酸アンモニウムの水/メタノール混液を用いて、流量0.3 mL/minで送液し、試料溶液5 μLをUPLC/MS/MSに注入してPFCs 11化合物（PFHxA, PFHpA, PFOA, PFNA, PFDA, PFUnDA, PFDoDA, PFTrDA, PFTeDA, PFHxS, PFOS）の一斉分析を行った。

研究対象者1,986人中1名は血漿PFOS濃度が312.7 n/mLと高く、本研究参加者のPFOS濃度の中央値の約10倍であったため、除外し最終的に1,985人を本研究対象者とした。また、検出限界値未達がPFHxAは1,110人（55.9%）、PFHpAは1,360（68.6%）、PFTeDAは1,807（91.0%）と多く観察されたため、これら3種類のPFCsは個別の解析の対象から除外した。Total PFCsは、11種類のPFCsすべての濃度を合計したものである。

研究参加登録時に妊娠時の年齢、既往歴などの質問を含んだ自記式質問票への回答を依頼し、出産記録は病院から入手した。

教育歴は9-12年、13-14年、15年以上の3群に分け、出産歴は初産と経産に分類した。妊娠前のBody Mass Index（BMI）については、妊婦自記式調査票から得た母親の体重と身長を体重（kg）÷身長（m）²の式から算出した。また、喫煙状況については血漿コチニン濃度を用いた。妊娠初期の飲酒歴は、「飲んでない」と「飲んだ」の2群に分けた。母親または児の属性間の

PFCs 濃度の差については、2 群間は Mann-Whitney U-test、3 群以上は Kruskal-Wallis test、属性が連続尺度の場合、または PFCs 間の相関については Spearman's correlation test を用いて解析を行った。Spearman's correlation test の相関係数は r と略した。さらに、母体血中の 8 種類 PFCs 濃度（11 種類中 PFHxA, PFHpA, PFTeDA は検出限界値未満が 50%以上だったため省く）と出生時体重との関連について重回帰分析を行った。濃度分布が正規性を示さないため、解析にあたって母体血中の PFCs の濃度を常用対数に変換した後に、連続変数として処理した。PFCs の母体の血中濃度が検出限界未満であった場合には、検出限界値の半分の値を割り当てた。Crude model に加えて、交絡因子を調整した model を 3 つ検討した。adjusted model 1 では、基本的属性での調整（在胎週数、母親の出産時の年齢、妊娠前 BMI、出産児の性別、出産回数）を行い、adjusted model 2 では、adjusted model 1 の交絡因子に加えて母親の教育歴、血漿中のコチニン濃度（検出限界値未満は検出限界値の半値 0.06 ng/mL を使用）、妊娠初期の飲酒歴をさらに加えて調整を行い、adjusted model 3 では、adjusted model 2 の交絡因子に加えて、他の PFCs の影響を除外するために解析する PFCs を除いたその他 10 種類の PFCs の合計濃度をそれぞれ加えて調整し、解析を実施した。すべての統計解析には、JMP for Windows、version 9.0 を用い、P 値が 0.05 未満の場合に統計学的に有意な差を認めるとした。

（倫理面への配慮）

本研究は、北海道大学環境健康科学研究教育センターおよび北海道大学大学院医学研究科・医の倫理委員会の承認を得た。個人名及び個人データの漏洩については、データの管理保管に適切な保管場所を確保するなどの方法により行うとともに、研究者

の道義的責任に基づいて個人データをいかなる形でも本研究の研究者以外の外部の者に触れられないように厳重に保管し、取り扱った。

C . 研究結果

1,986 名の母体血漿中の Total PFC と 11 種類の PFCs 濃度を示した（表 1）。Total PFC 濃度は 11.1 ng/mL であり、最も高かったのは PFOS 3.8 ng/mL であり、次に PFOA 2.7 ng/mL であった。以下、PFUnDA, PFNA, PFDA, PFHxS と PFTeDA, PFDoA の順に濃度が低下した。

表 2 は total PFCs 濃度と母児の属性との関連についてそれぞれ示した。母体血中 total PFCs 濃度と母児の属性との関連については、母親の年齢（平均年齢（ \pm SD） 30.4 ± 4.5 歳）が高くなるにつれて血漿中 total PFCs は有意に減少した（ $r=-0.051$; $p=0.023$ ）。妊娠前の母親の BMI（平均値（ \pm SD） 21.0 ± 3.0 ）が高くなるにつれて total PFCs は有意に減少した（ $r=-0.118$; $p<0.001$ ）。教育歴が長くなるにつれて、total PFCs の濃度が有意に高値を示した（ $p<0.001$ ）。血中コチニン値は（平均値（ \pm SD） 9.7 ± 38.2 ng/mL）、PFCs と関連を認めなかった（ $r=-0.009$; $p=0.684$ ）。妊娠初期に飲酒していた母親（12.8%）の方が、血中 total PFCs の濃度が有意に高かった（ $p=0.002$ ）。また、出産歴は、初産婦（1,063 人、53.6%）が、経産婦（920 人、46.3%）に比べて血中 total PFCs の濃度が有意に低かった（ $p<0.001$ ）。在胎週数（平均値（ \pm SD） 38.9 ± 1.3 週）が長くなるにつれて total PFCs が有意に上昇した（ $r=0.045$; $p=0.012$ ）。また、男児（1,002 人、50.5%）と女児は（983 人、49.5%）では、母体血中 total PFCs 濃度に有意な差は認められなかった。

表 3 は、TotalPFCs、各 PFCs 曝露による出生時体重への影響の検討を行った。児の平均出生時体重（ \pm SD）は、 $3060.3 \pm$

370.1 g であった。Total PFCs 濃度は、Crude model で 2.7 倍 totalPFCs 濃度が上がると 54.9g 出生時体重が減少し、その影響は特に男児に認められたが、交絡調整することでその影響は消失した。PFOS、PFOA (C8) においても、Crude model では 2.7 倍濃度が上がると 36.3g、26.7g それぞれ出生時体重が減少したが、交絡調整することでその影響は消失した。PFNA (C9) はすべてのモデルで有意な負の関連を示し、adjusted model 3 では 2.7 倍 PFNA 濃度が上がると 41.7g 出生時体重が減少した (95% CI, -77.9 to -5.6g, $p = 0.024$)。さらに、その有意な関連は男児で顕著に認められ、出生時体重の減少は 59.3g であった (95% CI, -110.2 to -8.3g, $p = 0.023$)。PFDA (C10) では、基本的属性での調整 (在胎週数、母親の出産時の年齢、妊娠前 BMI、出産児の性別、出産回数)、母親の教育歴、血漿中のコチニン濃度、妊娠初期の飲酒歴を調整した Adjusted model 2 で児全体に 2.7 倍濃度が上がると 31.8g 出生時体重が減少し (95% CI, -60.6 to -3.0 g, $p = 0.031$)。さらに男女で層別した結果、男児に負の傾向を示したが (per log-unit: $= -39.9$ g, 95% CI, -80.5 to 0.7 g, $p = 0.054$)。Adjusted model 2 での調整因子に加えて他の PFCs の影響を除外するために行った解析する PFCs を除いたその他 10 種類の PFCs の合計濃度をそれぞれ加えて調整した Adjusted model 3 ではその影響は消失した。PFUnDA (C11) は、児全体では出生時体重との有意な関連が認められなかったが、性で層別した結果、女児のみで -38.7 g 出生時体重が減少した (Adjusted model 2 ; 95% CI, -77.1 to -0.4 g, $p = 0.048$)。しかし、Adjusted model 3 でその影響は弱くなった (per log-unit: $= -42.0$ g, 95% CI, -84.6 to 0.6 g, $p = 0.053$)。また、PFTrDA (C13) でも、児全体では出生時体重との関連が認められなかったのに対し、性で層別した結果、

Crude model から Adjusted model 2 までは女児の出生時体重が有意に減少した (Adjusted model 2 ; per log-unit: $= 43.8$, 95% CI, -84.8 to -2.8 g, $p = 0.036$)。しかし、Adjusted model 3 でその影響は弱くなった (per log-unit: $= -44.9$ g, 95% CI, -90.1 to 0.3 g, $p = 0.052$)。その他の PFCs については、出生時体重との有意な関連は認められなかった。

D. 考察

本研究は先行研究に比べて大きいサンプルサイズで日常生活レベルの胎内 PFCs 曝露、特に情報が乏しい PFOS, PFOA より炭素鎖が長い PFCAs に焦点を当て、胎児への発育を、性差を含めて検討した初めての研究である。

ヒト血漿中 PFOS, PFOA が他国に比べて低濃度を示した一方で、PFNA, PFUnDA, PFTrDA など PFOS, PFOA より炭素鎖数の長い PFCAs は、欧州に比べて高濃度に存在し、これは東アジアに特徴的であった。(Harada et al.2011)

今回、全児を対象としたとき、PFNA 曝露上昇によって出生時体重に有意な負の関連を示した。さらに、男女で層別した結果、男児において出生時体重に顕著な負の関連が認められた。

動物実験の報告では、妊娠マウスに 18 日間 PFNA を 1.5 mg/kg、2mg/kg 強制経口投与した結果、仔の死亡、仔の体重減少、発達の遅延が認められた (Wolf et al. 2010)。PFCs 曝露が出生時体重に影響する生体メカニズムとして、糖、脂肪酸代謝に関わる転写因子であるペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 (PPAR) の関与が示唆されている。PFCs は、ペルオキシソーム増殖剤であり、肝臓などの組織に分布する PPAR を活性化し、脂肪酸の酸化を介した反応を促進させ、肝臓からの超低密度リポタンパクやコレステロールの分泌作用を阻害する。このように脂質の

代謝及び輸送に対する作用は血清中のコレステロールやトリグリセリドの減少と肝臓蓄積をもたらすと考えられている（Abbott et al. 2007; Escher and Wahli 2000）。PPAR ノックアウトマウスを用いた実験では、妊娠期の PFNA 曝露による仔の生存率の低下や仔の体重減少に PPAR が関与していることが報告された（Wolf et al. 2010）。また、本研究では、男児により顕著に体重への影響が認められてが、雌ラットに比べて雄の肝臓中の PFNA 濃度が顕著に高く、PPAR による α -酸化活性も雄の方が高い傾向が報告された（Kudo et al. 2000）。また、Han らは PFNA の腎排泄率は性差があり、男児でより腎排泄率が低いことを報告した（Han et al. 2012）。これらの報告は本研究結果と同じ方向性を示す結果であった。

しかし、ヒトでの先行研究 2 報は、PFNA 胎児期曝露による出生時体重へ負の関連が認められなかった。本研究の研究対象者数が 1,985 人、母体血漿中央値 1.2 ng/mL、幾何平均値 1.2 ng/mL に対して、カナダの報告は、研究対象数 101 人、母体血清中央値 0.8 ng/mL であり、台湾の研究対象数は 429 人、血清濃度幾何平均値 4.2 ng/mL（臍帯血 2.36 ng/mL を血清濃度に換算（Liu et al. 2011））であった（Monroy et al. 2008; Chen et al. 2012）。台湾の母体血濃度は、本研究より濃度が高いが体重との関連は認められなかった。サンプルサイズの違い、交絡の違いが考えられる。アジア人での人種差があるかについては不明である。

また、PFUnDA は、児全体では出生時体重との有意な関連が認められなかったが、性で層別した結果、女兒のみで出生時体重が減少する傾向を示した（ $P=0.053$ ）。PFTrDA でも同様の傾向を示した（ $P=0.052$ ）。

動物実験では、炭素鎖の短い PFCs、例えば PFHxA は血中半減期（ラット）が PFOS、PFOA ではそれぞれ 180 時間、138

～202 時間に対して、1～3 時間でありきわめて早く尿中から排泄されるのに対して、PFOA より長い炭素鎖を持つ PFCs は、クリアランス値が低くより高い肝残存性と毒性を示す傾向があることが示唆されている（Conder et al. 2008; Chengelis et al. 2009）。また、PFOS、PFOA より炭素鎖の長い PFCAs は、PFOA よりも低濃度で生物学的反応を起こすことが報告されていることから（Matsubara et al. 2006; Liao et al. 2009）本研究では、PFOA より炭素鎖数が多い PFNA、PFUnDA、PFTrDA で出生時体重への影響が認められたのかもしれない。また、Liu らは、解釈には注意が必要だとした上で、他の PFCs に比べ、PFTrDA は母体血中よりも臍帯血中の濃度が高いことを示しており、その傾向は特に女兒において顕著であったと報告している（Han et al. 2012; Liu et al. 2011）。これらの知見は、今回の解析結果と同じ方向性を示すものであったとも考えられる。しかし、PFTrDA についての報告はほとんどなく、いまだ不明な点が多いため解釈には慎重である必要がある。また、近年、炭素鎖数 9 の PFNA まで PPAR の作用に強く関与するが、それ以上炭素鎖が長いものには作用が弱くなるという報告が PPAR ノックアウトマウスを用いた実験で行われた（Wolf et al. 2012）。

PFUnDA についてのヒトでの先行研究は 1 報であり、児全体では本研究結果と同様、PFUnDA 胎児期曝露による出生時体重へ負の関連は認められなかった（Chen et al. 2012）。性差については、台湾では報告されていないため、今後更なる検討が必要である。

E . 結論

日常生活レベルの胎児期 PFCs 曝露は、より炭素鎖数の長い PFCAs 曝露が、血漿中の PFOS、PFOA に比べて低濃度であるにも関わらず出生時体重の間に負の関連が

認められたことである。特に、PFNA の胎児期曝露は、男児の出生時体重に負の影響を及ぼしており、PFUnDA と PFTrDA は、女児の出生時体重に弱い負の関連を示した。一方、PFHxS, PFOS, PFOA, PFDoA 曝露は出生時体重に、目立った関連は見られなかった。

F . 研究発表

1) 論文発表

なし

2) 学会発表

1. 榎野いく子, 岡田恵美子, 松浦英幸, 山本潤, 佐々木成子, 宮下ちひろ, 松村徹, 岸玲子. 「妊婦の血中 PFOS/PFOA および類縁化合物の定量法の確立. PFC concentrations in blood samples of pregnant women in Hokkaido.」第 21 回環境化学討論会. 愛媛; 2012 年 7 月
2. 榎野いく子, 佐々木成子, 岡田恵美子, 松浦英幸, 宮下ちひろ, 小林澄貴, 池野多美子, 伊藤陽一, 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時体格への影響」第 83 回日本衛生学会総会. 金沢; 2013 年 3 月

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

3. その他

なし

参考文献

1. Midasch O, Drexler H, Hart N, Beckmann MW, Angerer J. 2007. Transplacental exposure of neonates

- to perfluorooctanesulfonate and perfluorooctanoate: a pilot study. *Int Arch Occup Environ Health* 80(7): 643-648.
2. 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(1): 56-62.
3. Fei C, McLaughlin JK, Tarone RE, Olsen J. 2007. Perfluorinated chemicals and fetal growth: a study within the Danish National Birth Cohort. *Environmental health perspectives* 115(11): 1677-1682.
4. Hamm MP, Cherry NM, Chan E, Martin JW, Burstyn I. 2010. Maternal exposure to perfluorinated acids and fetal growth. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 20(7): 589-597.
5. Washino N, Saijo Y, Sasaki S, Kato S, Ban S, Konishi K, et al. 2009. Correlations between prenatal exposure to perfluorinated chemicals and reduced fetal growth. *Environmental health perspectives* 117(4): 660-667.
6. Harada KH, Hitomi T, Niisoe T, Takanaka K, Kamiyama S, Watanabe T, et al. 2011. Odd-numbered perfluorocarboxylates predominate over perfluorooctanoic acid in serum samples from Japan, Korea and Vietnam. *Environment international* 37(7): 1183-1189.
7. Calafat AM, Wong LY, Kuklenyik Z, Reidy JA, Needham LL. 2007. Polyfluoroalkyl chemicals in the U.S. population: data from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2003-2004 and

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

- comparisons with NHANES 1999-2000. *Environmental health perspectives* 115(11): 1596-1602.
8. Wolf CJ, Zehr RD, Schmid JE, Lau C, Abbott BD. 2010. Developmental effects of perfluorononanoic Acid in the mouse are dependent on peroxisome proliferator-activated receptor-alpha. *PPAR Res* 2010.
 9. Matsubara E, Harada K, Inoue K, Koizumi A. 2006. Effects of perfluorinated amphiphiles on backward swimming in *Paramecium caudatum*. *Biochemical and biophysical research communications* 339(2): 554-561.
 10. Liao C, Wang T, Cui L, Zhou Q, Duan S, Jiang G. 2009. Changes in synaptic transmission, calcium current, and neurite growth by perfluorinated compounds are dependent on the chain length and functional group. *Environmental science & technology* 43(6): 2099-2104.
 11. Abbott BD, Wolf CJ, Schmid JE, Das KP, Zehr RD, Helfant L, et al. 2007. Perfluorooctanoic acid induced developmental toxicity in the mouse is dependent on expression of peroxisome proliferator activated receptor-alpha. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology* 98(2): 571-581.
 12. Escher P, Wahli W. 2000. Peroxisome proliferator-activated receptors: insight into multiple cellular functions. *Mutation research* 448(2): 121-138.
 13. Kudo N, Bandai N, Suzuki E, Katakura M, Kawashima Y. 2000. Induction by perfluorinated fatty acids with different carbon chain length of peroxisomal beta-oxidation in the liver of rats. *Chemico-biological interactions* 124(2): 119-132.
 14. Han X, Nabb DL, Russell MH, Kennedy GL, Rickard RW. 2012. Renal elimination of perfluorocarboxylates (PFCAs). *Chemical research in toxicology* 25(1): 35-46.
 15. Liu J, Li J, Liu Y, Chan HM, Zhao Y, Cai Z, et al. 2011. Comparison on gestation and lactation exposure of perfluorinated compounds for newborns. *Environment international* 37(7): 1206-1212.
 16. Chen MH, Ha EH, Wen TW, Su YN, Lien GW, Chen CY, et al. 2012. Perfluorinated compounds in umbilical cord blood and adverse birth outcomes. *PloS one* 7(8): e42474.
 17. Conder JM, Hoke RA, De Wolf W, Russell MH, Buck RC. 2008. Are PFCAs bioaccumulative? A critical review and comparison with regulatory criteria and persistent lipophilic compounds. *Environmental science & technology* 42(4): 995-1003.
 18. Chengelis CP, Kirkpatrick JB, Myers NR, Shinohara M, Stetson PL, Sved DW. 2009. Comparison of the toxicokinetic behavior of perfluorohexanoic acid (PFHxA) and nonafluorobutane-1-sulfonic acid (PFBS) in cynomolgus monkeys and rats. *Reprod Toxicol* 27(3-4): 400-406.
 19. Wolf CJ, Schmid JE, Lau C, Abbott BD. 2012. Activation of mouse and human peroxisome

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

proliferator-activated receptor-alpha (PPARalpha) by perfluoroalkyl acids (PFAAs): further investigation of

C4-C12 compounds. *Reprod Toxicol* 33(4): 546-551.

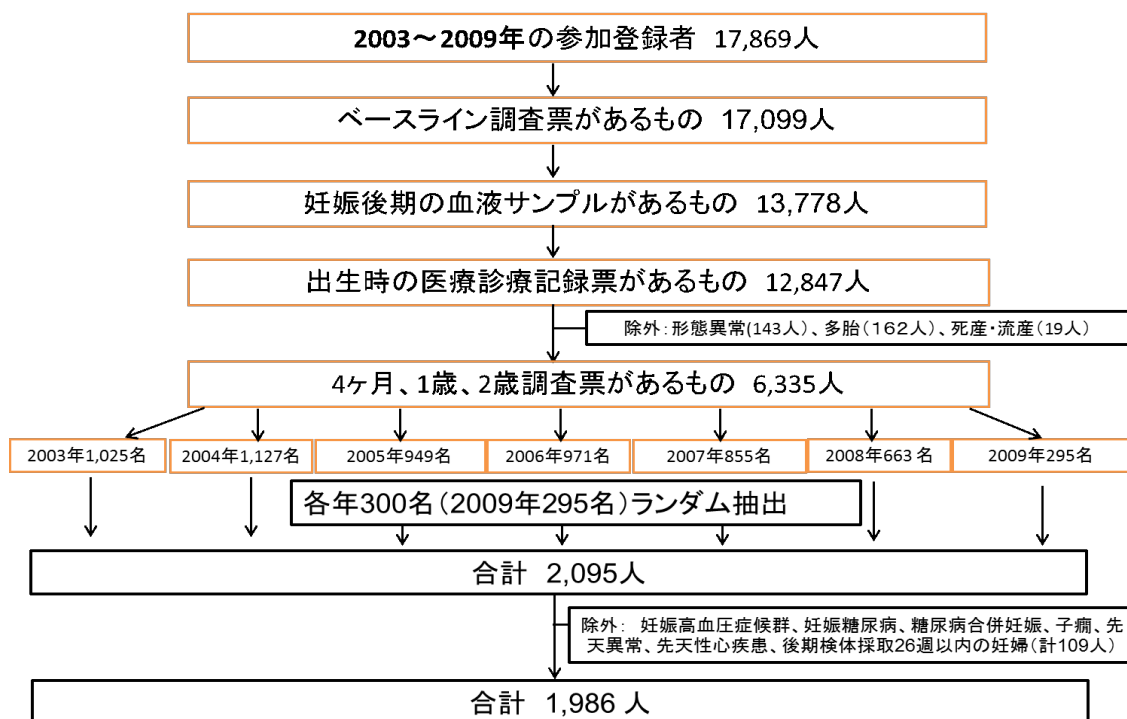


図 1. 研究対象者抽出方法

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

表 1 . 母体血漿中の Total PFC と 11 種類の PFCs 濃度 (n=1,986)

	Detection		Mean	Minimum	25th	50th	75th	Maximum
	limit (MDL) ^a	ND ^b , No. (%)						
total PFC			11.1	3.0	8.0	10.2	12.9	44.4
PFASs								
PFHxS	0.2	374 (18.8)	0.3	ND	0.2	0.3	0.4	3.4
PFOS	0.3	0 (0)	3.8	0.8	2.6	3.4	4.7	17.9
PFCAs								
PFHxA	0.1	1,110 (55.9)	0.1	ND	ND	ND	0.1	0.7
PFHpA	0.1	1,360 (68.6)	0.1	ND	ND	ND	0.1	1.0
PFOA	0.2	1 (0.1)	2.7	ND	1.3	2.0	3.3	24.9
PFNA	0.3	3 (0.2)	1.4	ND	0.9	1.2	1.6	13.2
PFDA	0.1	13 (0.7)	0.6	ND	0.4	0.5	0.7	2.4
PFUnDA	0.1	7 (0.4)	1.5	ND	1.0	1.4	1.9	5.9
PFDoA	0.1	209 (10.5)	0.2	ND	0.1	0.2	0.2	0.7
PFTTrDA	0.1	51 (2.6)	0.3	ND	0.2	0.3	0.4	1.3
PFTeDA	0.1	1,807 (91.0)	0.1	ND	ND	ND	ND	0.3

^aMDL : Method Detction Limit

^bND : not detected.

^bFor subjects with a level below the detection limit, we used a value equal to half the detection limit.

表 2 . 母体血中 total PFCs 濃度と母児の属性との関連

	NO	%	total PFCs (ng/ml)		p-Value
			Median	(25th-75th)	
Maternal characteristics					
Age at delivery (years)	30.4 ± 4.5 ^a		r = - 0.051		0.023
Prepregnancy BMI (kg/m ²)	21.0 ± 3.0 ^a		r = - 0.118		<0.001
Educational level (years)					<0.001
9-12	886	44.6	9.80	(7.67 - 12.39)	
13-14	868	43.7	10.39	(8.05 - 12.89)	
15	230	11.6	11.64	(9.20 - 15.54)	
plasma cotinine level during prepregnancy (ng/ml)	9.7 ± 38.2 ^a	100	r = - 0.009		0.684
Alcohol intake during early pregnancy ^b					0.002
No	1701	85.7	10.10	(7.90 - 12.78)	
Yes	254	12.8	10.92	(8.56 - 13.77)	
Parity					<0.001
0	920	46.3	11.41	(8.96 - 14.75)	
1	1063	53.6	9.34	(7.53 - 11.58)	
Infant characteristics					
Gestational age (weeks)	38.9 ± 1.3 ^a		r = 0.056		0.012
Gender					0.223
Male	1002	50.5	10.20	(7.91 - 12.67)	
Female	983	49.5	10.23	(8.02 - 13.17)	

^aMean ± SD.

Missing data : Prepregnancy BMI (31), Educational level (1), Alcohol intake during early pregnanc (30), Parity (2)

Statistically significant differences (p<0.05) using the Sperman's correlation test, Mann-Whitney U-test, and Kruskal-Wallis test for total PF

^bFor subjects with a level below the detection limit, we used a value equal to half the 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 .PFCs 曝露による出生時体重への影響

Log PFC Concentrations	Overall			Male infants			Female infants		
	N	Regression coefficient	95% CI	N	Regression coefficient	95% CI	N	Regression coefficient	95% CI
Log total PFCs									
Crude model	1985	-54.9*	(-98.0, -11.8)	1002	-76.8*	(-139.1, -14.5)	983	-27.5	(-86.4, 31.3)
Adjusted model 1	1951	-24.5	(-63.7, 14.7)	983	-32.5	(-87.5, 22.6)	968	-11.2	(-67.4, 45.0)
Adjusted model 2	1920	-35.2	(-75.1, 4.6)	982	-40.8	(-96.5, 15.0)	968	-24.7	(-82.1, 32.7)
Log PFHxS (C6)									
Crude model	1985	-6.6	(-34.8, -21.6)	1002	-13.7	(-53.9, 26.5)	983	3.3	(-35.7, 42.3)
Adjusted model 1	1951	-0.6	(-25.6, 24.3)	983	-13.7	(-47.9, 20.6)	968	12.3	(-24.1, 48.7)
Adjusted model 2	1920	-0.3	(-25.7, 25.0)	965	-9.4	(-44.3, 25.6)	955	8.5	(-28.6, 45.5)
Adjusted model 3	1920	7.1	(-19.4, 33.7)	965	-1.4	(-38.3, 35.4)	955	14.2	(-24.3, 52.7)
Log PFOS (C8)									
Crude model	1985	-36.3*	(-72.3, -0.3)	1002	-45.4	(-96.6, 5.8)	983	-20.3	(-70.4, 29.7)
Adjusted model 1	1951	-12.2	(-44.2, 19.9)	983	-18.2	(-62.6, 26.2)	968	-3.2	(-49.6, 43.2)
Adjusted model 2	1920	-23.7	(-56.3, 8.9)	965	-25.2	(-70.3, 19.8)	955	-20.2	(-67.7, 27.3)
Adjusted model 3	1920	-13.3	(-50.0, 23.4)	965	-13.8	(-64.8, 37.2)	955	-13.2	(-66.5, 40.0)
Log PFOA (C8)									
Crude model	1985	-26.7*	(-50.5, -3.0)	1002	-44.5*	(-79.0, -10.1)	983	-8.5	(-40.8, 23.8)
Adjusted model 1	1951	-7.5	(-29.7, 14.7)	983	-12.4	(-43.6, 18.8)	968	0.2	(-31.7, 32.0)
Adjusted model 2	1920	-10.1	(-32.6, 12.3)	965	-15.1	(-46.6, 16.4)	955	-2.1	(-34.3, 30.1)
Adjusted model 3	1920	1.8	(-23.7, 27.2)	965	-4.6	(-40.2, 30.9)	955	10.7	(-25.9, 47.3)
Log PFNA (C9)									
Crude model	1985	-52.9**	(-86.4, -19.4)	1002	-82.1**	(-131.2, -33.1)	983	-24.9	(-70.0, 20.1)
Adjusted model 1	1951	-35.2*	(-65.1, -5.3)	983	-47.6*	(-90.2, -5.1)	968	-21.3	(-63.4, 20.9)
Adjusted model 2	1920	-41.9**	(-72.2, -11.6)	965	-56.0*	(-99.1, -12.8)	955	-26.9	(-69.8, 15.9)
Adjusted model 3	1920	-41.7*	(-77.9, -5.6)	965	-59.3*	(-110.2, -8.3)	955	-25.0	(-76.6, 26.6)
Log PFDA (C10)									
Crude model	1985	-32.1	(-64.6, 0.4)	1002	-43	(-90.2, 4.2)	983	-19.6	(-63.9, 24.7)
Adjusted model 1	1951	-27.2	(-55.8, 1.4)	983	-35.2	(-75.4, 5.0)	968	-19.1	(-59.9, 21.8)
Adjusted model 2	1920	-31.8*	(-60.6, -3.0)	965	-39.9	(-80.5, 0.7)	955	-23.6	(-64.7, 17.6)
Adjusted model 3	1920	-26.7	(-63.5, 10.1)	965	-36.2	(-87.9, 15.4)	955	-20.8	(-73.6, 31.9)
Log PFUnDA (C11)									
Crude model	1985	-15.5	(-46.5, 15.4)	1002	1.5	(-43.9, 46.9)	983	-29.6	(-71.2, 12.0)
Adjusted model 1	1951	-22.3	(-49.6, 5.0)	983	-1.2	(-40.9, 38.4)	968	-36.0	(-73.8, 1.9)
Adjusted model 2	1920	-26.2	(-53.8, 1.4)	965	-7.2	(-47.6, 33.2)	955	-38.7*	(-77.1, -0.4)
Adjusted model 3	1920	-20.1	(-51.2, 11.1)	965	11.4	(-34.9, 57.6)	955	-42.0	(-84.6, 0.6)
Log PFDoA (C12)									
Crude model	1985	-17.1	(-49.4, 15.2)	1002	-13.1	(-59.1, 32.8)	983	-20.0	(-64.8, 24.8)
Adjusted model 1	1951	-22.4	(-50.8, 6.1)	983	-16.4	(-55.8, 23.0)	968	-25.3	(-66.4, 15.9)
Adjusted model 2	1920	-24.4	(-53.0, 4.2)	965	-19.0	(-58.6, 20.7)	955	-26.8	(-68.4, 14.8)
Adjusted model 3	1920	-16.3	(-48.5, 16.0)	965	-7.1	(-51.8, 37.5)	955	-23.7	(-70.4, 23.0)
Log PFTrDA (C13)									
Crude model	1985	-21.2	(-54.1, 11.8)	1002	7.7	(-40.9, 56.2)	983	-47.4*	(-91.5, -3.2)
Adjusted model 1	1951	-18.9	(-47.9, 10.1)	983	12.9	(-28.5, 54.3)	968	-45.1*	(-85.7, -4.5)
Adjusted model 2	1920	-17.8	(-46.9, 11.3)	965	13.4	(-28.3, 55.0)	955	-43.8*	(-84.8, -2.8)
Adjusted model 3	1920	-8.1	(-40.6, 24.4)	965	35.9	(-11.2, 83.0)	955	-44.9	(-90.1, 0.3)

Adjusted model 1 for gestational age, maternal age, maternal BMI, infant sex, and parity;

Adjusted model 2 for gestational age, maternal age, maternal BMI, infant sex, parity, maternal educational level, plasma cotinine concentration, and maternal drinking status;

Adjusted model 3 for factors from model 2 and total PFC concentrations of other PFCs. * p<0.05, ** p<0.01. 95% CI: confidence interval.

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

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、女兒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、女兒のみで母体血中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は特に女兒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曝露は女兒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かかわらず、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と同機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，齊藤貢一，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（ \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 曝露による女兒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、ポンデラル指数、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 -3 、 -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

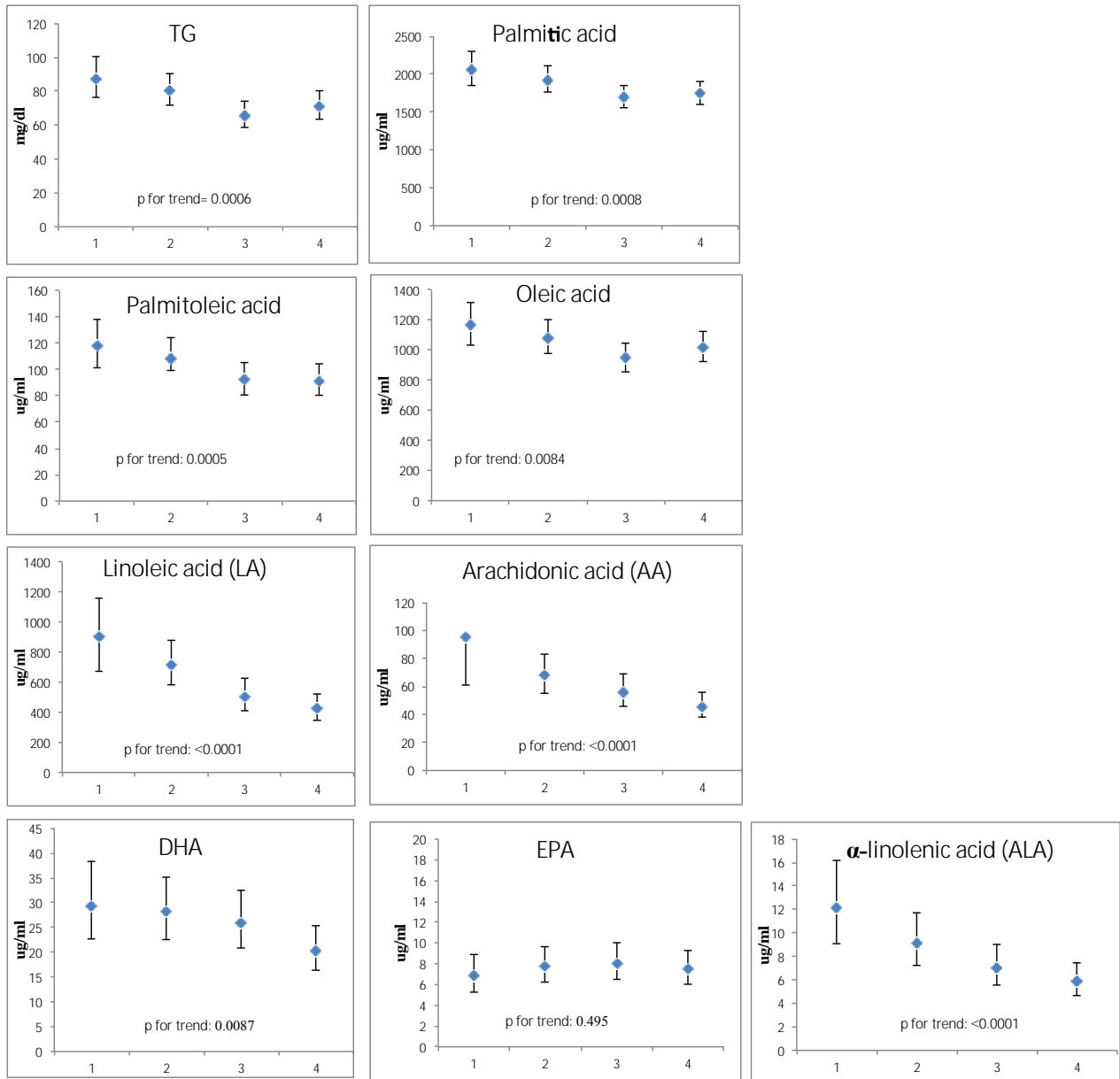
Model 1: Adjusted for maternal age, smoking and alcohol intake during pregnancy, annual household income, and parity

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)



微量ダイオキシン類，水酸化 PCB（OH-PCB）測定法の開発（1）

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 課長

研究要旨

血液および母乳中ダイオキシン・PCB 類一斉分析法の精製工程を検討し，水酸化 PCB(OH-PCB)を同時に測定できる分析法を追加した。しかし，1970 年以降に出生した妊婦の血液中総 PCB 濃度平均は 0.3 ppb であり，妊婦の血液中 OH-PCB を測定するためにはより高感度に OH-PCB を検出できるように精製法および測定法の改良を加えた。血液中総 PCB 濃度の高い検体(0.5ppb 以上)の OH-PCB 濃度を測定したところ，総 OH-PCB 濃度の平均は 37pg/g，最も濃度の高い水酸化 PCB の異性体は 4-OH-2,2',3,4',5,5'-HxCB(4OHCB146)であった。今後は，検出感度を検討しながら順次低濃度の検体の OH-PCB 濃度を測定する。本分析法の開発により少量の血液で多種類の化学物質の測定が可能になり，母体の環境化学物質による汚染実態の解明に大きく貢献するものと期待される。

研究協力者

平田 輝昭，千々和 勝己，平川 博仙
堀 就英，中川 礼子，芦塚 由紀
高橋 浩司，高尾 佳子，飛石 和大
安武 大輔
(福岡県保健環境研究所)
戸高 尊
(九州大学 医学部)
飯田隆雄
(北九州生活科学センター)

チトクローム P450 等の酵素により水酸化 PCB (OH-PCB)に代謝され排泄されるが，一部の OH-PCB は甲状腺ホルモンと類似した構造を持つため，生体内に残留することが報告され，PCB よりも強い EDC 作用があるのではないかと懸念されている。さらに，これら化学物質が母体に取り込まれ，母体内で胎児に影響を及ぼし先天異常や発達障害を引き起こすのではないかと危惧されている。なぜなら胎児は ECD の影響を最も敏感に受けると考えられているからである。従って，妊婦体内に蓄積されたダイオキシン・PCB 類および OH-PCB と出生児の先天異常との関係を明らかにすることは極めて重要である。

本研究では先天異常の疫学研究の基礎資料を得ることを目的に，妊婦血液および母乳中のダイオキシン類濃度(PCDDs7 種，PCDFs10 種，ノンオルソ-PCB 4 種 モノオルソ-PCB 8 種 合計 29 種)および非ダイオ

A . 研究目的

科学技術の発展に伴い様々な化学物質が生産，副生あるいは非意図的に生成され環境や人体に蓄積されている。特に，ダイオキシン・PCB 類は環境中で極めて安定で，環境汚染物質として広く分布し，食物連鎖を介してヒト体内に蓄積され，内分泌かく乱物質(EDC)として働くことが知られている。また，ヒト体内に蓄積された PCB 類は，

キシシン様 PCB 類(58 異性体)濃度を精密に測定し、母体血 426 件、母乳 250 件のダイオキシシン類および PCB 類の異性体ごとの濃度データを明らかにした。さらに、ダイオキシシン・PCB 類一斉分析法を改良し、同一試料から OH-PCB も同時に測定できる分析法を開発した。さらに近年、環境および食品中のダイオキシシン・PCB 類濃度は低下しており、妊婦の血液中 OH-PCB を測定するためより高感度に OH-PCB を検出できる精製法の改良を加えた。従来の血液中 OH-PCB の分析法は、酸性条件下で溶媒抽出後、シリカゲルカラムで分画し、ジアゾメタン等で誘導体化(メチル化)し高分解能 GC/MS 等を用いて測定する方法が報告されている。我々は血液中の OH-PCB 濃度を誘導体化せずに LC/MS/MS を用いて直接測定する一斉分析法を開発し、妊婦の血液中 OH-OCB 濃度を測定した。

B. 研究方法

我々の開発した血液および母乳中ダイオキシシン・PCB 類一斉分析方法の精製工程を検討し、市販の OH-PCB 標準物質が一斉分析法の工程のどの画分に分画されるか精査した。次に血液試料を用い夾雑物の有無を検討した。さらに妊婦の血液中 OH-PCB を測定するためより高感度に OH-PCB を検出できる改良として固相カラムによる精製を加えた。表 1 に使用した OH-PCB 標準物質、内部 OH-PCB 類を示した。また、LC/MS/MS で OH-PCB を測定するため、分離用カラム、モニターイオンを検討した。

分析対象は札幌市の一般病院・産科を受診した妊婦 268 名の血液であるが、妊婦の多くは PCB の製造および使用が中止された 1970 年以降に出生しており、血液中総

PCB 濃度平均は約 0.3 ppb で比較的低濃度であった。そこで本年度は血液中総 PCB 濃度の高い検体(0.5ppb 以上)の OH-PCB 濃度を測定した。

(倫理面への配慮)

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および研究協力施設の研究倫理委員会に諮り、承認を得たうえで実施した。

C. 研究結果

血液および母乳中ダイオキシシン・PCB 類一斉分析方法では OH-PCB は硝酸銀シリカゲルカラムに保持されていたため、50%ジクロロメタン ヘキサンで OH-PCB を溶出した。さらに、OH-PCB 画分を濃縮・乾固し、0.5ml メタノールに溶解した後、固相カラムを Envi18 カラムに変更した。精製した試料にシリンジスパイクを添加し LC/MS/MS で測定した。Figure 1 に我々が開発した血液中ダイオキシシン・PCB 類および OH-PCB 一斉分析法のフローを示した。また、表 2 に LC/MS/MS の測定条件(装置)、表 3 に LC/MS/MS の測定条件(Mass)を示した。モニターイオンは従来最も強度の強い M+イオンを使用したが、塩素イオン(35)を使用しバックグラウンドの低い測定条件に変更した。

今回開発した血液中ダイオキシシン・PCB 類および OH-PCB 一斉分析法で測定した妊婦の血液中総 OH-PCB 濃度の平均は 37pg/g、最も濃度の高い OH-PCB の異性体は 4-OH-2,2',3,4',5,5'-HxCB(4OHCB146)であった。表 4 に今回の分析で検出した異性体別濃度と他機関の分析例での検出濃度

を比較した。

D．考察

OH-PCBは甲状腺ホルモンと類似した構造を持つため、生体内で甲状腺ホルモンレセプターと結合し残留あるいは甲状腺ホルモン作用をかく乱する可能性があることが報告されており、母体内で胎児に及ぼす影響が危惧されている。OH-PCBの分析法は血液から抽出、精製後誘導体化し高分解能GC/MS等を用いて測定する方法が報告されている。しかし、誘導体化の際に異性体により反応性が異なる可能性があること、

LC/MS/MSを用い分離測定が出来れば誘導体化を省略できること、我々の血液中ダイオキシン、PCB一斉分析法で同時にOH-PCBも分析することができればより簡便になるため新たな分析法を開発した。現在、誘導体化し高分解能GC/MSを用いた測定を行っている国内の他機関と同一試料を用いたクロスチェックを実施している。

近年、環境および食品中のダイオキシン・PCB類濃度は低下しており、人体の血液中PCB類濃度も低下していることが報告されている。分析法の開発に用いた血液のTotal PCB濃度は2.4ng/g lipidであるが、本研究で対象とする妊婦の血液中PCB濃度は平均1.2ng/g lipidであった。このため、本研究で対象とする妊婦の血液中OH-PCB濃度も約半分程度であることが推察されたが総OH-PCB濃度は1/3程度であり、異性体では1/2から1/10程度であった。2010年度カネミ油症検診の油症患者の血液中OH-PCB濃度を測定した結果、総OH-PCB濃度の平均値は514pg/g (53-1740pg/g)で最も濃度の高いOH-PCBの異性体は4-OH-2,2',3,4',5,5',6-HpCB (4OHCB187)

であった。油症患者はPCBに汚染された食用油を摂取しているため血液中総PCB濃度の平均は約5ppbと一般人の数倍高い値を示す。油症患者の血液中総OH-PCB濃度は一般人の4倍、本研究対象妊婦の14倍であり、最も濃度の高いOH-PCBの異性体も異なっていた。OH-PCB濃度は生体の代謝機能や体内の化学物質濃度・組成により異なることが推測され今後の解析が必要と思われる。

本研究で開発した分析法は5gの血液からダイオキシン・PCB類、OH-PCBの一斉分析が可能となるため母体の環境化学物質による汚染実態の解明に大きく貢献するものと期待される。今後も妊婦の血液中OH-PCB濃度を測定し、OH-PCB濃度とダイオキシン・PCB類濃度との相関や先天異常との関係を解析する。

E．結論

PCBの代謝物であるOH-PCBの一部は、生体内に残留しやすくPCBよりも毒性が強いと考えられていることから、母体内で胎児に及ぼす影響が危惧されている。OH-PCBの体内濃度の事態解明のため、少量の血液からダイオキシン・PCB類、OH-PCBを同時に測定できる一斉分析法を開発した。本分析法の開発により少量の血液で多種類の化学物質の測定が可能になり、汚染実態の解明が大きく進展するものと期待される。

F．研究発表

1．論文発表

- 1．Todaka T., Hirakawa H., Kajiwara J., Onozuka D., Sasaki S., Miyashita C., Yoshioka E., Yuasa M., Kishi R., Iida

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

- T., Uchi H., Furue M. Concentrations of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and polychlorinated biphenyls in blood and breast milk collected from pregnant women in Sapporo City, Japan. *Chemosphere*. Dec;85(11):1694-700. 2011
- 2 . Tobiishi K. , Todaka T., Hirakawa H Hori T. , Kajiwara J., Hirata T., Iida T., Uchi H., Furue M. Measurement Method for Hydroxylated Polychlorinated Biphenyls in the Blood of Yusho Patients by Liquid Chromatography-Electrospray Tandem Mass Spectrometry. *Fukuoka Igakuzashi*. 102(4):153-158. 2011
- 3 . Yasutake D. , Hori T. , Kurokawa Y., Kajiwara J. , Tsutsumi T., Amakura Y. The Measurement of Hydroxylated Polychlorinated Biphenyls without Derivatization using a high-resolution gas chromatograph / high-resolution mass spectrometer. *Organohalogen Compounds*. 73:625-628. 2011
- 4 . Takahashi K., Hori Y., Yasutake D., Morokuma S., Otera Y., Fukushima K., Yamamoto T., Kajiwara J., Kawamoto T., Hirata T., Tsukimori K., Furue M. Determination of dioxins in umbilical cord blood samples using accelerated solvent extraction. *Organohalogen Compounds*. 73:645-648. 2011
- 5 . Kajiwara J. , Todaka T. , Hirakawa H. ,Hori T. , Onozuka D. , Takao Y., Hirata T., Iida T., Uchi H., and Furue M.: Sex difference as it is related to the dioxin concentrations in the blood of Yusho patients. *Organohalogen Compounds*. 73:1596-1599. 2011
- 6 . Tobiishi K., Todaka T. , Hirakawa H. ,Hori T. ,Kajiwara J., Hirata T., Iida T., Uchi H., and Furue M.: DETERMINATION OF HYDROXYLATED POLYCHLORINATED BIPHENYLS (OH-PCBs) IN THE BLOOD OF YUSHO PATIENTS BY LC/MS/MS . *Organohalogen Compounds*. 73:1608-1610. 2011
- 2 . 学会発表
- 1 . Yasutake D. , Hori T. , Kurokawa Y., Kajiwara J. , Tsutsumi T., Amakura Y. The Measurement of Hydroxylated Polychlorinated Biphenyls without Derivatization using a high-resolution gas chromatograph / high-resolution mass spectrometer. 31TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM HALOGENATED PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS, Brussels , Belgium, (2011 , August)

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 . Tkahashi K., Hori Y., Yasutake D., Morokuma S., Otera Y., Fukushima K., Yamamoto T., Kajiwara J., Kawamoto T., Hirata T., Tsukimori K., Furue M. Determination of dioxins in umbilical cord blood samples using scelerated solvent extraction. 31TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM HALOGENATED PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS, Brussels , Belgium, (2011 , August)
- 3 . Kajiwara J. , Todaka T. , Hirakawa H. ,Hori T. , Onozuka D. , Takao Y., Hirata T., Iida T., Uchi H., and Furue M.: Sex difference as it is related to the dioxin concentrations in the blood of Yusho patients. 31TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM HALOGENATED PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS, Brussels , Belgium, (2011 , August)
- 4 . Tobiishi K., Todaka T. , Hirakawa H. ,Hori T. ,Kajiwara J., Hirata T., Iida T., Uchi H., and Furue M.: DETERMINATION OF HYDROXYLATED POLYCHLORINATED BIPHENYLS (OH-PCBs) IN THE BLOOD OF YUSHO PATIENTS BY LC/MS/MS . 31TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM HALOGENATED PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS, Brussels , Belgium, (2011 , August)
- 5 . 梶原淳睦,戸高尊,平川博仙,堀就英,安武大輔,飛石和大,小野塚大介,平田輝明,岸玲子,古江増隆.血液中ダイオキシン類濃度のクロスチェック.第 20 回環境化学討論会.熊本市.July.16-18,2011.

G . 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

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

表 1. OH-PCBs standards

Compounds	Abbreviation	
4-OH-2,2',4',6,6'-PeCB	4'-OH-CB104	4H104
4-OH-2,3,3',4',5-PeCB	4-OH-CB109	4H109
3-OH-2,2',3',4,4',5-HxCB	3'-OH-CB138	3H138
4-OH-2,2',3,4',5,5'-HxCB	4-OH-CB146	4H146
4-OH-2,2',3,3',4',5,5'-HpCB	4'-OH-CB172	4H172
4-OH-2,2',3,4',5,5',6-HpCB	4-OH-CB187	4H187
OH-[¹³ C ₁₂]-PCBs for internal standards		
Compounds	Abbreviation	
4-OH-2',3,4',5,5'-PeCB	4'-OH-CB120	M4H120
4-OH-2',3,3',4',5,5'-HxCB	4'-OH-CB159	M4H159
3-OH-2,2',3',4,4',5-HxCB	3'-OH-CB138	3H138
4-OH-2,2',3,4',5,5'-HxCB	4-OH-CB146	4H146
4-OH-2',3,3',4',5,5'-HxCB	4-OH-CB159	4H149
4-OH-2,2',3,3',4',5,5'-HpCB	4'-OH-CB172	M4H172
4-OH-2,2',3,4',5,5',6-HpCB	4-OH-CB187	M4H187

表 2 LC/MS/MSによるOH-PCB測定条件(装置)

Instrument	LC: UPLC(Waters) MS/MS: XEVO(Waters)
Column	Ascentis Express C18
Flow Rate	0.2 mL/min.
Injection Volume	10 μL
Column Temperature	40 °C
Mobile Phase	2mM Ammonium acetate : 60 : 40 5 : 95 linear gradient
Temperature; Source	120 °C
Desolvation	350 °C
Gas Flow; Cone	Nitrogen, 50 L/hr
Desolvation	Nitrogen, 600 L/hr
Voltage; Cone	40 V
Capillary	2.0kV
Collision	Argon, 10kV
Ionization	ESI-Negative

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 LC/MS/MSによるOH-PCB測定条件(Mass)

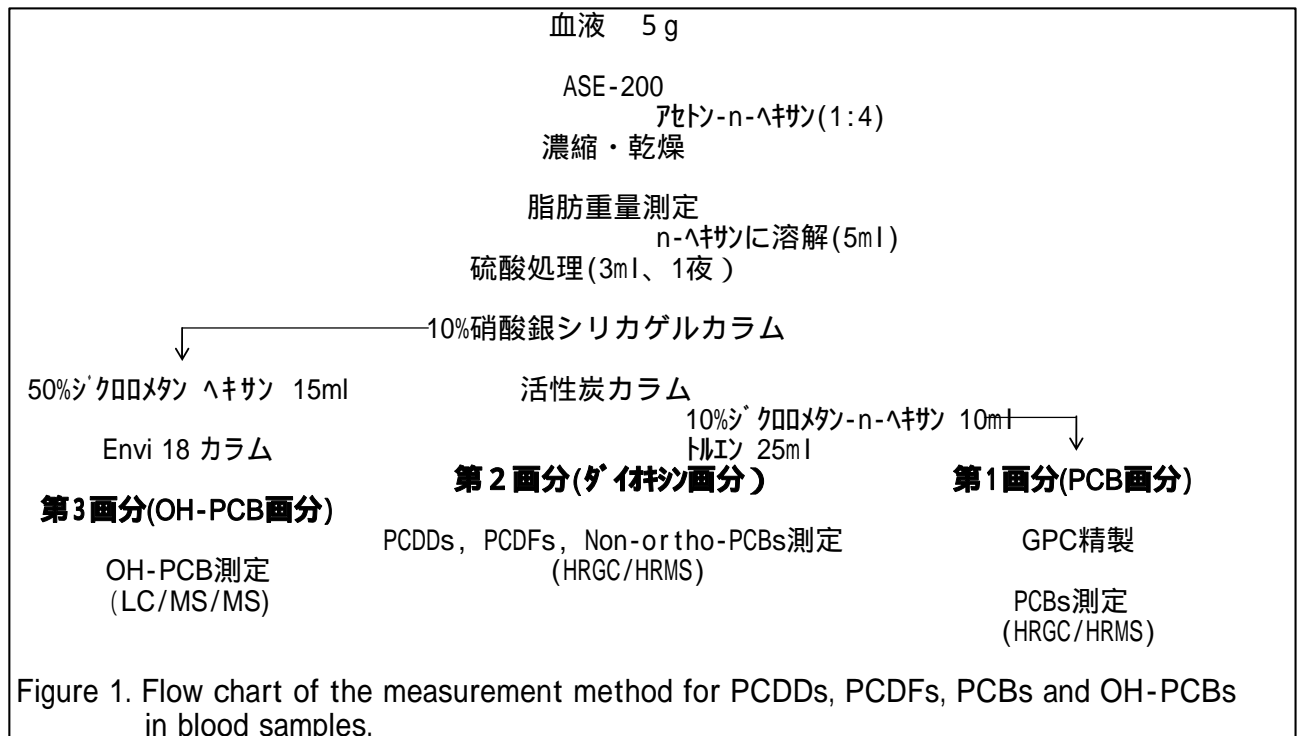
Compounds	Precursor ion → product ion m/z
OH- PeCB	¹² C 340.87 35.0
	¹³ C 352.91 35.0
OH- HxCB	¹² C 374.83 35.0
	¹³ C 386.87 35.0
OH- HpCB	¹² C 408.79 35.0
	¹³ C 420.83 35.0

表 4 血液中OH PCB濃度

	OH-PCB	Pregnant Blood	Cont. Blood ¹⁾	Cont. Range ²⁾
PeCB-OH	4-OH-CB109	2 (nd - 23)	21	1.6-16
HxCB-OH	3'-OH-CB138	16 (nd - 35)	21	0.8-14
	4-OH-CB146	19 (nd - 38) ⁴⁾	48 ⁴⁾	2.2-19
	3-OH-CB153	-	-	0.8-11
HpCB-OH	4'-OH-CB172	nd	5.6	0.5-5.6
	4-OH-CB187	nd	31	7.1-26
Total OHPCB		37 (nd - 88)	126.6	16 - 92

(pg / g)

- 1) プール血液(平均年齢50歳)
2) 榎本剛司, 他 : 環境化学, 16, 91-98, 2006
3) 4-OH-CB146と3-OH-CB153の合算値



微量ダイオキシン類、水酸化（OH）PCB の測定法の開発（2）

研究分担者 梶原 淳睦 福岡県保健環境研究所保健科学部生活化学課長

研究要旨

血液及び母乳中のダイオキシン、PCB 及び OH-PCB 類一斉分析法を開発し、札幌コーホート（N=514）の妊婦の血液中ダイオキシン、PCB 類を測定終了し、OH-PCB 濃度を測定中である。これまでの測定の結果、血液中総 OH-PCB 濃度の平均は 40pg/g で血液中総 PCB 濃度の約 4%であった。本分析法の精度管理のため国内 4 分析機関で同一試料を用いたクロスチェック試験を実施した。各分析機関の OH-PCB 主要 6 種異性体の測定値の変動率（CV）は 9~17%で良く一致し、我々の一斉分析法の分析精度の信頼性は確保されたと考えられた。また、北海道コーホートの微量化学物質分析の予備検討として、臍帯血中 PCB 濃度を測定したところ総 PCB 濃度の平均は 80ng/g lipid であった。

研究協力者

平田 輝昭、千々和 勝己、平川 博仙、
堀 就英、中川 礼子、高橋 浩司、
新谷 依子、岡元 冬樹、高尾 佳子、
飛石 和太、宮脇 崇

（福岡県保健環境研究所）

戸高 尊

（九州大学医学部学術研究員）

飯田 隆雄

（北九州生活科学センター理事）

一部の OH-PCB は甲状腺ホルモンと類似した構造を持つため、生体内に残留することが報告され、PCB よりも強い EDC 作用があるのではないかと懸念されている。さらに、これら化学物質が母体に取り込まれ、母胎内で胎児に影響を及ぼし先天異常や発達障害を引き起こすのではないかと危惧されている。なぜなら胎児は EDC の影響を最も敏感に受けると考えられているからである。従って、妊婦体内に蓄積されたダイオキシン、PCB 類及び OH-PCB と出生児の先天異常との関係を明らかにすることは極めて重要である。

本研究では先天異常の疫学研究の基礎資料を得ることを目的に、妊婦血液及び母乳中のダイオキシン類濃度（PCDDs7 種、PCDFs10 種、ノンオルソ-PCB 4 種、モノオルソ-PCB 8 種 合計 29 種）及び非ダイオキシン様 PCB 類（58 異性体）濃度を精密に測定し、母体血 426 件、母乳 250 件のダイオキシン類及び PCB 類の異性体ごとの濃度データを明らかにした。さらに、ダ

A . 研究目的

科学技術の発展に伴い様々な化学物質が生産、副生あるいは非意図的に生成され環境や人体に蓄積されている。特に、ダイオキシン類および PCB 類は環境中で極めて安定で、環境汚染物質として広く分布し、食物連鎖を介してヒト体内に蓄積され、内分泌かく乱物質（EDC）として働くことが知られている。また、ヒト体内に蓄積された PCB 類は、チトクローム P450 等の酵素により OH-PCB に代謝され排泄されるが、

イオキシシ、PCB 類一斉分析法を改良し、同一試料から OH-PCB（5 異性体）も同時に測定できる分析法を開発し、測定している。今年度は本分析法の精度管理のため国内 4 分析機関で同一試料を用いたクロスチェック試験を実施し、本分析法の信頼性を検討した。

また、北海道コーホートの微量化学物質分析の予備検討として、臍帯血中 PCB 濃度を測定した。

B．研究方法

血液および母乳中ダイオキシシ、PCB 及び OH-PCB 類一斉分析方法を Figure 1 に示した。測定は札幌コーホートで集められた妊婦の血液の内、PCB 濃度の高い検体から順に分析を行っている。

血液中 OH-PCB 濃度測定の精度管理は当所を含む国内の 4 分析機関に同一検体(血液及びその血清)を配付し、OH-PCB 濃度を測定した。分析方法は各分析機関が日常行っている分析方法とした。

臍帯血中 PCB 濃度の測定は Figure 1 の分析方法に従い、臍帯血 6 g を用いて分析した。測定検体は北海道コーホートで集められた臍帯血 44 件である。

（倫理面への配慮）

ダイオキシシ・PCB 及び OH-PCB 類の測定は、本人の同意が得られた者のみを対象とした。研究成果の発表に際しては統計的に処理された結果のみを使い、個人を特定できるような情報は扱っていない。

C．研究結果

今年の血液中ダイオキシシ、PCB 及び OH-PCB 一斉分析法で測定した妊婦の血液中総 PCB 及び OH-PCB 濃度を表 1 に示した。これまでの測定は血液中 PCB 濃度の高

い検体から順に 20 件であるが、血液中総 OH-PCB 濃度の平均は 40pg/g-wet であった。同じ血液の総 PCB 濃度の平均は 911pg/g-wet であったので、総 OH-PCB 濃度は総 PCB 濃度の約 4%であった。

OH-PCB 濃度測定のクロスチェックの結果を表 2 に示した。機関 A、B は誘導体化し高分解能 GC/MS を用いた測定を行っており、機関 C、D は誘導体化せずに直接 LC/MS で分析している。各分析機関の OH-PCB 主要 6 種異性体の測定値の変動率（CV）は 9~17%で測定値は良く一致した。

臍帯血中 PCB 濃度の測定結果を表 3 に示した。臍帯血中総 PCB 濃度の平均は 80 ng/g lipid であり、札幌コーホートで測定した妊婦の血液中総 PCB 濃度の平均（110ng/g lipid）の約 73%であった。また、臍帯血の脂肪含量は 0.18%で血液の脂肪含量（0.38%）の約 1/2 であった。

D．考察

妊婦の血液中 OH-PCB 濃度を測定し、同一人の血液中 PCB 濃度と比較したところ、総 OH-PCB 濃度は総 PCB 濃度の約 4%であったが、OH-PCB 濃度と PCB 濃度に相関は見られなかった。今後分析数を増やし異性体ごとの関係についても解析する予定である。

OH-PCB 類の分析法は血液から抽出、精製後誘導体化し高分解能 GC/MS 等を用いて測定する方法が報告されている。しかし、誘導体化の際に異性体により反応性が異なる可能性があること、LC/MS/MS を用い分離測定が出来れば誘導体化を省略できること、我々の血液中ダイオキシシ、PCB 一斉分析法で同時に OH-PCB も分析することができればより簡便になるため新たな分析法を開発した。今回、誘導体化し高分解能 GC/MS を用いた測定を行っている国

内の他機関等と同一試料を用いたクロスチェックを実施した結果、各分析機関のOH-PCB主要6種異性体の測定値の変動率（CV）は9~17%で良く一致した。従って、我々の一斉分析法の分析精度の信頼性は確保されたものと考えられた。さらに、この試料のOH-PCB 20異性体を測定した結果から、我々が測定対象としているOH-PCB5異性体（4HO-CB107、4HO-CB146、3HO-CB153、4HO-CB172、4HO-CB187）の総量がOH-PCB異性体20種の総量の約83%を占めていることが明らかになった。従って、我々が測定しているOH-PCB5異性体を測定することで血液中OH-PCBの大部分が測定できていることが確認できた。しかし、定量下限値は誘導体化GC/MS法の0.5~1.4pg/g-wetに対し、非誘導体化LC/MS法では7~8pg/g-wetであり、誘導体化GC/MS法の方が5倍程感度が良かった。今後も分析法を検討し感度の向上を計りたい。

北海道コーホートの臍帯血中PCB濃度を測定した結果、臍帯血中総PCB濃度の平均値は80 ng/g lipidであり、札幌コーホートで測定した妊婦の血液中総PCB濃度の平均値（110ng/g lipid）の73%程度であった。異性体別では血液も臍帯血もHxCB153が最も濃度の高い異性体であるが、臍帯血で3塩素化体や4塩素化体濃度が極端に高い検体があったため、平均値での濃度順位は血液と臍帯血で異なっている。一方、中央値で比較した場合は異性体の濃度順位はほぼ同じであった。さらに、臍帯血の脂肪含量は0.18%で血液の脂肪含量（0.38%）の約1/2であり、検体重量当たりの臍帯血中PCB濃度は母体血中PCB濃度の40%程度であると考えられる。胎盤ではPCB類等の化学物質の一部の通過を抑えることが知られており、母体血より臍帯血のPCB濃度

が低い理由と考えられている。

本研究で開発した分析法は約5gの血液、母乳、臍帯血等の生体試料からダイオキシン、PCB及びOH-PCB類の一斉分析が可能となるため母体の化学物質による汚染実態の解明に大きく貢献するものと期待される。今後も妊婦の生体試料中の微量化学物質を測定し、ダイオキシン、PCB及びOH-PCB類濃度と先天異常との関係を解析する基礎資料を提供する。

E. 結論

PCBの代謝物であるOH-PCBの一部は、生体内に残留しやすくPCBよりも毒性が強いと考えられていることから、母体内で胎児に及ぼす影響が危惧されている。少量の血液からダイオキシン、PCB及びOH-PCB類を同時に測定できる一斉分析法を開発し、札幌コーホートの妊婦血液の分析を進めている。一方、本分析法の精度管理のため国内の他分析機関とクロスチェックを行い本分析法の信頼性を確認した。また、北海道コーホートの臍帯血の微量開学物質も分析を開始し、本年度はPCB濃度を測定した。本分析法の開発により少量の血液で多種類の化学物質の測定が可能になり、汚染実態の解明が大きく進展するものと期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1) 論文発表

1. Tsukimori K, Uchi H, Mitoma C, Yasukawa F, Chiba T, Todaka T, Kajiwara J, Yoshimura T, Hirata T, Fukushima K, Wake N, Furue M. Maternal exposure to high levels 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

- dioxins in relation to birth weight in women affected by Yusho disease. *Environ Int.* 38(1). 79-86. 2012.
2. Tobiishi K, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, kajiwara J, Hirata T, Sasaki S, Miyashita C, Yoshioka E, Yuasa M, Kishi R, Iida T, Uchi H, Furue M. Determination of hydroxylated polychlorinated biphenyls (OH-PCBs) in the blood of pregnant woman by LC/MS/MS. *Organohalogen Compounds.* 74. 43-45. 2012.
 3. Nagayama J, Tanaka H, Shimojo Saito T, Hirakawa H, Kajiwara J, et al. COMPARISON OF LIPID EXTRACTION FROM THE SERUM BY THREE DIFFERENT METHODS. *Organohalogen Compounds.* 74. 136-139. 2012.
 4. Hori T, Takahashi K, Kajiwara J, Morokuma S, Otera Y, Yamamoto T, Kawamoto T, Hirata T, Furue M, Tsukimori K, et al. CHARACTERIZATION OF DIOXINS IN SETS OF PLACENTAL TISSUE, MATERNAL BLOOD AND UMBILICAL CORD BLOOD SAMPLES COLLECTED FROM JAPANESE PREGNANT WOMEN. *Organohalogen Compounds.* 74. 763-766. 2012.
 5. Kiyomi Tsukimori, Hirohi Uchi, Shouji Tokunaga, Fumiko Yasukawa, Takahiro Chiba, Jumboku Kajiwara, Teruakai Hirata, Masutake Furue, et al. Blood levels of PCDDs, PCDFs, and coplanar PCBs in Yusho mothers and their descendants: Association with fetal Yusho disease. *Chemosphere.* 90(5). 1581-1588.2013.
- 2) 学会発表
1. Tobiishi K, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, kajiwara J, Hirata T, Sasaki S, Miyashita C, Yoshioka E, Yuasa M, Kishi R, Iida T, Uchi H, Furue M. Determination of hydroxylated polychlorinated biphenyls (OH-PCBs) in the blood of pregnant woman by LC/MS/MS. 32TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM HALOGENATED PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS, Cairns, Australia, (2012, August)
 2. Nagayama J, Tanaka H, Shimojo Saito T, Hirakawa H, Kajiwara J, et al. COMPARISON OF LIPID EXTRACTION FROM THE SERUM BY THREE DIFFERENT METHODS. 32TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM HALOGENATED PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS, Cairns, Australia, (2012, August)
 3. Hori T, Takahashi K, Kajiwara J, Morokuma S, Otera Y, Yamamoto T, Kawamoto T, Hirata T, Furue M, Tsukimori K, et al. CHARACTERIZATION OF DIOXINS IN SETS OF PLACENTAL TISSUE, MATERNAL BLOOD AND UMBILICAL CORD BLOOD SAMPLES COLLECTED FROM JAPANESE PREGNANT WOMEN. 32TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM HALOGENATED PERSISTENT ORGANIC

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

POLLUTANTS, Cairns , Australia,
(2012 , August)

H . 知的所有権取得

4. 梶原淳睦、戸高尊、平川博仙、堀就英、
宮脇崇、飛石和大、高尾佳子、平田輝
明、岸玲子、古江増隆. 「血液中 PCB
類濃度のクロスチェック」 第 21 回環
境化学討論会. 松山市; 2012 7/11-13

- 1 . 特許取得
なし
2 . 実用新案登録
なし
3 . その他
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

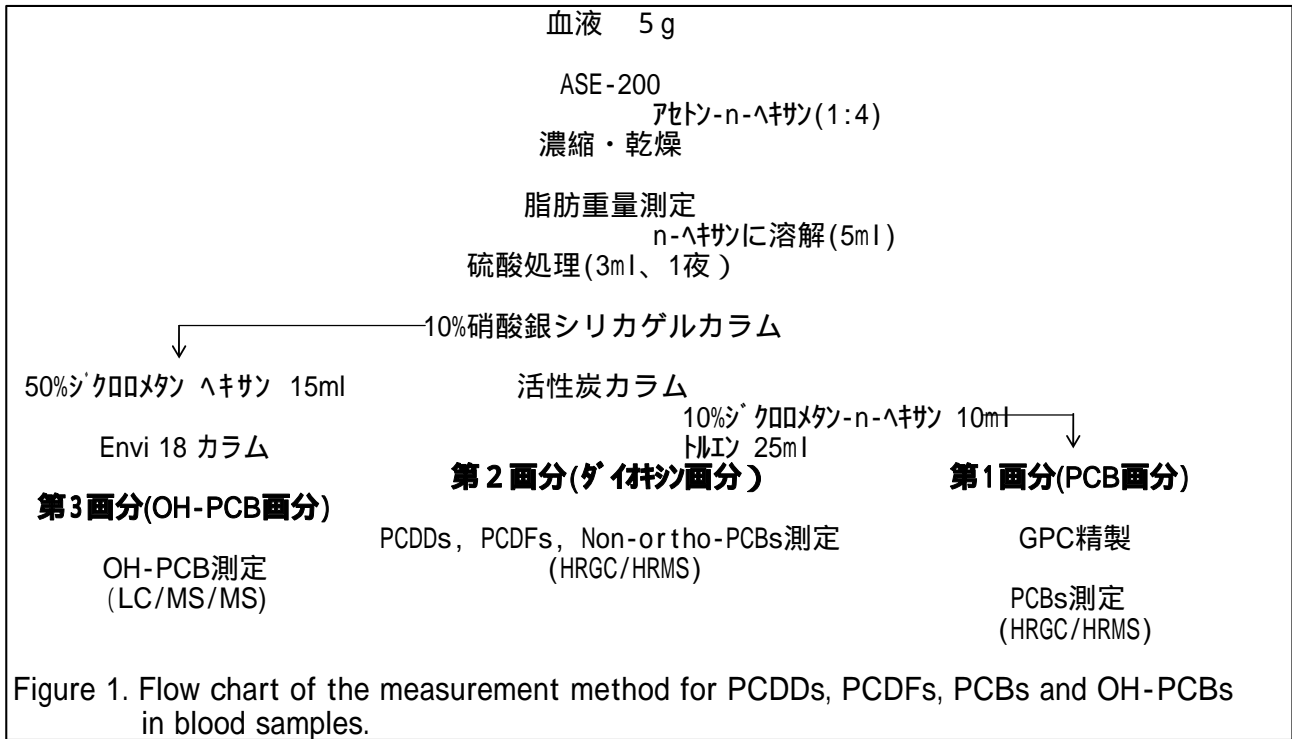


表1 妊婦の血液中PCB、OH-PCB濃度

Congeners	Mean	Median	Min.	Max.	SD	CV
Total PCBs	911	950	499	1290	234	0.257
Total OH-PCBs	40	40	ND	88	24.4	0.609
4-OH-CB107	4	ND	ND	35	9.4	2.33
4-OH-CB146 + 3-OH-CB153	20	22	ND	38	13.1	0.671
4-OH-CB187	15	18	ND	35	12.1	0.784
4'-OH-CB172	1	ND	ND	14	3.4	3.26

ND:Not detected, SD:Standard deviation, CV:Cocfficient Variation (pg / g-wet)

表2 国内4機関の血液中水酸化PCB測定結果の比較

PCB No.	Compounds	A	B	C	D	Mean	SD	CV
4HO-CB107	4-OH-2,3,3',4',5'-PeCB	36	28	32	37	33	4.2	0.13
3HO-CB138	3'-OH-2,2',3,4,4',5'-HxCB	7.3	10	9.7	-	9	1.5	0.16
4HO-CB146	4-OH-2,2',3,4,4',5,5'-HxCB	39	40	28	36	43	7.3	0.17
3HO-CB153	3-OH-2,2',4,4',5,5'-HxCB	13	4.6	10				
4HO-CB172	4'-OH-2,2',3,3',4,5,5'-HpCB	9.7	-	9.7	11.6	10	1.1	0.11
4HO-CB187	4-OH-2,2',3,4,4',5,5',6'-HpCB	49	52	42	49	48	4.2	0.09
	Total OH-PCBs	154	135	131	133	138	10.6	0.08

(pg/g-wet)

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 さい帯血中PCB濃度測定結果

	PCB concentration (n=44, pg/g lipid)				
	MEAN	SD	Median	Min	Max
245-TrCB(#29)	84	348	22	ND	2311
244'-TrCB(#28)	2770	11092	613	ND	70989
344'-TrCB(#37)	2131	2475	1167	ND	9185
22'55'-TeCB(#52)	7308	41001	514	207	271878
22'45'-TeCB(#49)	2678	15561	85	ND	103065
22'44'-TeCB(#47)	2837	16362	140	ND	108359
22'35'-TeCB(#44)	4413	24676	265	ND	163325
23'4'6'-TeCB(#71)	915	5221	46	ND	34602
23'4'5'-TeCB(#63)	124	503	41	ND	3357
24'4'5'-TeCB(#74)	2779	7391	1472	401	50038
23'4'5'-TeCB(#70)	2660	14632	191	ND	96993
23'4'4'-TeCB(#66)	2215	10465	429	199	69682
233'4'-/2344'TeCBs(#56/60)	837	4047	123	16	26798
22'35'6'-PeCB(#95)	3110	16926	192	ND	111956
22'355'-PeCB(#92)	758	3527	101	ND	23278
22'455'-PeCB(#101)	2653	13737	342	105	91183
22'44'5'-PeCB(#99)	2230	4938	1189	458	33392
23'4'5'6'-PeCB(#117)	864	4321	145	43	28820
22'345'-PeCB(#87)	1494	8142	151	58	54139
22'344'-PeCB(#85)	347	1783	56	ND	11871
233'4'6'-PeCB(#110)	2135	11850	183	ND	78743
233'4'5'-PeCB(#107)	138	101	126	ND	536
2'344'5'-PeCB(#123)	38	32	38	M	152
23'44'5'-PeCB(#118)	3047	4163	2243	584	28339
2344'5'-PeCB(#114)	142	90	123	ND	380
233'44'-PeCB(#105)	806	1217	530	174	8199
22'355'6'-HxCB(#151)	309	674	168	59	4566
22'33'56'-HxCB(#135)	322	1612	66	ND	10760
22'34'56'-HxCB(#147)	154	728	41	ND	4869
22'344'6'-HxCB(#139)	126	666	ND	ND	4428
22'33'56'-HxCB(#134)	109	661	ND	ND	4393
233'55'6'-HxCB(#165)	-	1	ND	ND	13
22'34'55'-HxCB(#146)	1490	1827	1009	285	12003
22'33'46'-HxCB(#132)	116	198	72	ND	1070
22'44'55'-HxCB(#153)	8867	8187	6355	1820	49635
22'3455'-HxCB(#141)	51	68	41	ND	468
22'344'5'-HxCB(#137)	305	196	270	ND	799
22'33'45'-HxCB(#130)	263	197	259	ND	952
233'4'5'6'-HxCB(#164)	2261	1487	1845	508	6218
22'344'5'-HxCB(#138)	5131	3952	4099	1330	22249
22'33'44'-HxCB(#128)	132	98	117	ND	565
23'44'55'-HxCB(#167)	242	173	213	ND	802
233'44'5'-HxCB(#156)	799	899	557	120	5808
233'44'5'-HxCB(#157)	163	108	129	ND	492
22'33'566'-HpCB(#179)	25	27	16	ND	140
22'33'55'6'-HpCB(#178)	458	366	363	ND	2115
22'344'56'-HpCB(#182)	1988	1970	1344	407	11554
22'344'5'6'-HpCB(#183)	557	642	384	69	4100
22'344'56'-HpCB(#181)	43	138	ND	ND	838
22'33'4'56'-HpCB(#177)	406	311	367	ND	1303
22'33'455'-HpCB(#172)	172	119	144	ND	503
22'344'55'-HpCB(#180)	3629	2393	2838	766	11613
233'44'5'6'-HpCB(#191)	50	45	41	ND	260
22'33'44'5'-HpCB(#170)	1347	1017	950	260	4808
233'44'55'-HpCB(#189)	58	43	42	ND	156
22'33'55'66'-OcCB(#202)	117	82	81	ND	330
22'33'45'66'-OcCB(#200)	19	16	13	ND	57
22'33'45**'-OcCB(#201/198)	339	463	207	43	3005
22'344'55'6'-OcCB(#203)	266	208	202	ND	1063
22'33'44'56'-OcCB(#195)	103	83	84	ND	358
22'33'44'55'-OcCB(#194)	433	384	318	ND	2337
233'44'55'6'-OcCB(#205)	15	11	15	ND	52
22'33'455'66'-NoCB(#208)	109	337	45	ND	2270
22'33'44'566'-NoCB(#207)	36	72	19	ND	473
22'33'44'55'6'-NoCB(#206)	151	146	127	ND	919
22'33'44'55'66'-DeCB(#209)	91	147	54	11	968
Total TrCBs	4985	11602	1826	243	73305
Total TeCBs	26764	139797	3267	1297	928098
Total PeCBs	17761	70226	5419	2149	469935
Total HxCBs	20844	19806	15348	4727	124390
Total HpCBs	8733	6163	6654	1849	29976
Total OcCBs	1292	970	917	236	5027
Total NoCBs	296	381	200	ND	2280
Total PCBs	80766	242076	34834	12707	1626683
Lipid contents(%)	0.184	0.019	0.189	0.146	0.225

水酸化 PCB (OH-PCB) 胎児期曝露による母児甲状腺機能への影響

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 梶原 淳睦 福岡県保健環境研究所保健科学部生活化学課長

研究要旨

水酸化 PCB(OH-PCB)は、PCB が生体内で代謝を受け産生される物質である。近年 OH-PCB が PCB と同様に生体内に蓄積し、妊娠中の曝露により胎盤を透過して胎児へ移行することが報告されているが、胎児の発育に必要な母児甲状腺ホルモン値への影響はほとんど研究されていない。そこで本研究では、妊娠期の母体血中 OH-PCB 曝露と母児甲状腺ホルモン値 (TSH、FT4) との関連を検討した。2003 年～2005 年に同一産科医院にて参加登録した母児 514 組のうち、母体血中 OH-PCB 濃度および甲状腺ホルモン値の両方が得られた母 205 名、児 219 名 (うち男児 103 名、女児 116 名) を解析対象として重回帰分析を行った。その結果、母体血中 OH-PCB 濃度と母児甲状腺ホルモン値との間に crude 解析、交絡要因で調整を行った adjust model での解析ともに有意な関連は認められなかった。今後、さらに詳細な異性体レベルの解析や代謝遺伝子多型が及ぼす PCB 濃度と OH-PCB 濃度との関係も含めて甲状腺ホメオスターシスへの影響を検討し、学童期まで追跡して神経発達や体格成長へ及ぼす影響も評価する必要がある。

研究協力者

伊藤 佐智子
(北海道大学環境健康科学研究教育センター)
戸高 尊 (九州大学医学部学術研究員)

A. 研究目的

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

PCB の一部は生体内で Cytochrome450 による酸化を受けた後、大部分が OH-PCB

へ代謝され速やかに体外へ排出されるとされてきたが、近年 OH-PCB は PCB 同様生体内や環境中に蓄積することが報告されている (Letcher et al. 2000)。そのため OH-PCB のヒトへの健康影響が懸念されているが、生体内における PCB の代謝経路は明らかになっていない。またこれまで PCB の健康影響とされてきたものが本来は OH-PCB の影響である可能性があり、早急に解明が必要である。OH-PCB は PCB よりも甲状腺ホルモンによく似た構造を有し、Transthyretin (TTR) と強い結合力を有することから (Brouwer et al. 1998)、PCB よりも体内の甲状腺機能維持へ強く影響を与えるとされており、これまで血清中の OH-PCB 濃度と甲状腺ホルモン FT4 との間に負の関連がみられたが、PCB 濃度と FT4 とは関連がみられなかった (Sandau et al. 2002) という報告や PCB、OH-PCB 濃度ともに T3 との関連がみられ

たという報告（Dallaire et al. 2009）があるが、一致した結果は得られていない。甲状腺ホルモンは胎児発育において重要な役割を示し、胎児は自らの甲状腺が分泌を開始するまでの妊娠初期は母親の甲状腺ホルモンに依存している（de Escobar et al. 2004；Calvo et al. 2002）。OH-PCB は胎盤通過性を有し、母体血中より臍帯血中の OH-PCB/PCB 濃度比が高い（Kawashiro et al. 2008）ことから、感受性が高い胎児への影響を直ちに明らかにする必要があるが、OH-PCB 胎児期曝露による児甲状腺機能への影響についての疫学報告はわずか 1 報である（Dallaire et al. 2009）。さらに甲状腺ホルモンは児の脳神経発達に重要な役割を示すことが知られており、脳神経の発生・発育時期の甲状腺機能異常は脳神経発達障害を招くと考えられる（Haddow et al. 1999）。これまでに OH-PCB 曝露と 5-6 歳の注意力低下との関連が報告され（Roze et al. 2009）、また男児において臍帯中の OH-PCB 濃度と 2 歳、5 歳時の体重との関連がみとめられたとの報告があるが（Yonemoto et al. 2011、Yonemoto et al. 2012）、これらの結果は OH-PCB 曝露による甲状腺ホルモン値変動を介している可能性がある。しかし、胎児期 OH-PCB 曝露による生後の行動情緒や体格成長へ影響を与える可能性については研究が不足しており十分な結果が得られていないため、わが国における早急な検討と予防対策が急務である。

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

B．研究方法

2003 年から前向き出生コホート研究「環境と子どもの健康に関する北海道研究」を実施中であり、そのうち 2003 年～2005 年に参加登録を行い、2005 年までに札幌市内

同一産科医院にて出産を終えた母児 514 組を対象とした。

妊婦とその配偶者の既往歴、教育歴、世帯収入、喫煙状況などの対象者の属性は妊娠中期から後期に実施した自記式調査票、児の性別、出生時体重、出産経歴などの出生時所見は医療診療録から得た。OH-PCB 曝露評価のため、妊娠中期から後期に採血を行い、貧血のために妊娠中に採血ができなかったものは分娩後に実施した。母体血中 OH-PCB 濃度は福岡県保健環境研究所で測定し、また母児甲状腺ホルモン値（TSH、FT4）は、札幌市が実施しているマスキングの結果を用いた。

母体血中 OH-PCB 濃度と母児甲状腺ホルモン値の関連については多変量解析を行った。多変量解析の独立変数は、母体血中 OH-PCB 濃度とした。なお、OH-PCB 濃度、母児 TSH、FT4 値は常用対数変換して解析に用いた。従属変数は、母児 TSH、FT4 値とし、母親は出産時年齢、非妊娠時 BMI、出産回数、OH-PCB 測定用採血時期で、児は母親の出産時年齢、非妊娠時 BMI、出産回数、OH-PCB 測定用採血時期に加え、在胎週数、出生時体重、生下時採血日数、帝王切開の有無で調整して性別ごとに重回帰分析を行った。また、他物質の影響も考慮し、母児ともに PFOS、PFOA 濃度での調整も行った。統計解析には SPSS for Windows、version 16.0J 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

514 組の母児のうち、母体血中 OH-PCB 濃度と濃度が得られた 231 名の母親について、母体血中 OH-PCB 濃度と濃度の平均は 35.1pg/g-wet であった。この値は諸外国および国内と比較して低い数値であった。また、甲状腺ホルモン値との関連検討は OH-PCB 測定値および甲状腺ホルモン値の両方を有する母 205 名、児 219 名（うち男児 103 名、女児 116 名）を解析対象とし、母体血中 OH-PCB 濃度と母児甲状腺ホルモン値との間に crude 解析、交絡要因で調整を行った adjust model 解析ともに有意な関連は認められなかった。（表）

D．考察

本研究では、一般生活環境レベルでの妊娠中 OH-PCB 暴露による母児甲状腺ホルモン値への影響について検討を行ったが、母児ともに有意な関連は認められなかった。

本研究の母体血中 OH-PCB 濃度は先行研究における妊婦と比較して低い濃度であった（Kawashiro et al. 2008; Park JS et al. 2007）。これまでの報告では OH-PCB の体内濃度は代謝前の物質である PCB の濃度と相関がみられ、本研究でも一致した結果が得られた。本研究では事前にコホート内妊婦 20 名の体内 PCB 濃度を過去の報告と比較したところ、PCB の濃度はヨーロッパ諸国より低く、千葉県柏市とインドでの報告よりやや高かったが、OH-PCB/PCB 濃度比は最も低い値を示した（Dirtu AC et al. 2010、Eguchi A et al. 2012、Gómara B et al. 2012、Kawashiro et al. 2008、Soechitram SD et al. 2004、Fångström et al. 2002）。

これは申請者らのコホート内妊婦では他のコホート対象者と比較して、環境中か

らの曝露量が低いことに加え、体内の PCB から OH-PCB への代謝能力が低い、または OH-PCB 体外排泄能力が高いため、体内 OH-PCB 濃度が低くなっている可能性も考えられる。妊娠期は体内の異物動態が変化する時期であるため PCB の代謝環境の変化や個々の代謝能力の違いによることが考えられるが、これまでヒトにおける PCB、OH-PCB の代謝経路は明らかになっておらず、個々人の生体内代謝環境による血中濃度差についての疫学研究はない。今後は代謝遺伝子多型も含めた検討が必要である。また、高塩基の PCB は水酸化されにくく、低塩基の PCB は水酸化されやすいことから、総 PCB 濃度が高値であっても総 OH-PCB 濃度は PCB の異性体の種類によることが多い。よって、PCB および OH-PCB 異性体ごとの検討が今後必要とされる。

児の胎児期 OH-PCB 曝露による甲状腺ホルモン値への影響はみとめられず、これは過去の報告と一致していた（Dallaire et al. 2009）。しかし、Yonemoto らの報告では臍帯中の OH-PCB 濃度と 2 歳時、5 歳時の体重との関連がみられたことから（Yonemoto et al. 2012）、胎児期の OH-PCB 曝露が生後も長期にわたって影響を及ぼすと考えられ、継続的な調査が必要と思われる。甲状腺ホルモンについては、母親の妊娠初期における甲状腺機能低下症と児の IQ 低下や神経心理学発達悪化との関連を示す報告があることから（Haddow et al. 1999）、胎児初期における母親の甲状腺ホルモン値が非常に重要であることが知られている。ラットでの動物実験では母ラットの OH-PCB 曝露後に胎児血清中 T4 値の低下と TSH 値の増加がみられた（Meerts et al. 2002）。T4 値の低下という点では PCB 曝露と同様の結果がみられ（Morse et al. 1996）、これは本来生体内で代謝された OH-PCB による影響であった可能性もある。しかし、ヒトについては

報告が少なく、代謝前の物質である PCB との結果の比較を行いながらさらに検討が必要である。

E . 結論

母体血中 OH-PCB 濃度の妊娠期曝露による母児甲状腺ホルモン値への影響はみとめられなかった。今後、OH-PCB 異性体レベルでの解析や、個人の代謝遺伝子多型が及ぼす PCB 濃度と OH-PCB 濃度との関係も含め、甲状腺ホメオスターシスへの影響を検討し、学童期まで追跡して神経発達や体格へ及ぼす影響も評価する必要があると考える。

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（予定を含む。）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

参考文献

1. Schecter A, Cramer P, Boggess K, Stanley J, Pöpke O, Olson J, Silver A, Schmitz M. 2001. Intake of dioxins and related compounds from food in the U.S. population. *J Toxicol Environ Health A*. May 11;63(1):1-18.
2. Grandjean P, Weihe P, Burse VW, Needham LL, Storr-Hansen E, Heinzow B, et al., 2001.

Neurobehavioral deficits associated with PCB in 7-year-old children prenatally exposed to seafood neurotoxicants. *Neurotoxicol Teratol*. Jul-Aug;23(4):305-17.

3. Jacobson JL, Jacobson SW. 1996. Dose-response in perinatal exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs): the Michigan and North Carolina cohort studies. *Toxicol Ind Health*. May-Aug;12(3-4):435-45.
4. Letcher RJ, Klasson Wehler E, Bergman Å. 2000. Methyl sulfone and hydroxylated metabolites of polychlorinated biphenyls. In: *New Types of Persistent Halogenated Compounds* (Paasivirta J, ed). Berlin:Springer-Verlag, 315-359.
5. Brouwer A, Morse DC, Lans MC, Schuur AG, Murk AJ, Klasson-Wehler E, Bergman A, Visser TJ. 1998. Interactions of persistent environmental organohalogens with the thyroid hormone system: mechanisms and possible consequences for animal and human health. *Toxicol Ind Health*. Jan-Apr;14(1-2):59-84.
6. Sandau CD, Ayotte P, Dewailly E, Duffe J, Norstrom RJ. 2002. Pentachlorophenol and hydroxylated polychlorinated biphenyl metabolites in umbilical cord plasma of neonates from coastal populations in Québec. *Environ Health Perspect*. Apr;110(4):411-7.
7. de Escobar GM, Obregón MJ, del Rey FE. 2004. Maternal thyroid hormones early in pregnancy and fetal brain development. *Best Pract Res Clin*

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

- Endocrinol Metab. Jun;18(2):225-48.
8. Calvo RM, Jauniaux E, Gulbis B, Asunción M, Gervy C, Contempré B, Morreale de Escobar G. 2002. Fetal tissues are exposed to biologically relevant free thyroxine concentrations during early phases of development. *J Clin Endocrinol Metab.* Apr;87(4):1768-77.
 9. Kawashiro Y, Fukata H, Omori-Inoue M, Kubonoya K, Jotaki T, Takigami H, Sakai S, Mori C. 2008. Perinatal exposure to brominated flame retardants and polychlorinated biphenyls in Japan. *Endocr J.* Dec;55(6):1071-84.
 10. Dallaire R, Muckle G, Dewailly E, Jacobson SW, Jacobson JL, Sandanger TM, Sandau CD, Ayotte P 2009. Thyroid hormone levels of pregnant inuit women and their infants exposed to environmental contaminants. *Environ Health Perspect.* Jun;117(6):1014-20.
 11. Haddow JE, Palomaki GE, Allan WC, Williams JR, Knight GJ, Gagnon J, 1999. Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child. *N Engl J Med.* Aug 19;341(8):549-55.
 12. Roze E, Meijer L, Bakker A, Van Braeckel KN, Sauer PJ, Bos AF. 2009. Prenatal exposure to organohalogen, including brominated flame retardants, influences motor, cognitive, and behavioral performance at school age. *Environ Health Perspect.* Dec;117(12):1953-8.
 13. Yonemoto J., Kawahara J., Sone H., Hattori T, Matsumura T, Sugama S, Hamaguchi M, Ohya Y (2012) PRENATAL EXPOSURE TO OH-PCBs IN RELATION TO PHYSICAL DEVELOPMENT IN A BIRTH COHORT (T-Child) AT 5 YEARS OF AGE. 32nd International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, Organohalogen Compounds, 74
 14. Yonemoto J., Kawahara J., Sone H., Hattori T., Matsumura T., Ohya Y., Sugama S. (2011) Prenatal exposure to OH-PCBs in relation to body weight and neurodevelopment. 31th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, Abstract of 31th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, 73, 1211-1214
 15. Park JS, Linderholm L, Charles MJ, Athanasiadou M, Petrik J, Kocan A, Drobna B, Trnovec T, Bergman A, Hertz-Picciotto I. 2007. Polychlorinated biphenyls and their hydroxylated metabolites (OH-PCBS) in pregnant women from eastern Slovakia. *Environ Health Perspect.* Jan;115(1):20-7.
 16. Dirtu AC, Jaspers VL, Cernat R, Neels H, Covaci A. 2010. Distribution of PCBs, their hydroxylated metabolites, and other phenolic contaminants in human serum from two European countries. *Environ Sci Technol.* 2010 Apr 15;44(8):2876-83.
 17. Eguchi A, Nomiyama K, Devanathan G, Subramanian A, Bulbule KA, Parthasarathy P, Takahashi S, Tanabe S. 2012. Different profiles of anthropogenic and naturally

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

produced organohalogen compounds in serum from residents living near a coastal area and e-waste recycling workers in India. *Environ Int.* 2012 Oct 15;47:8-16.

18. Gómara B, Athanasiadou M, Quintanilla-López JE, González MJ, Bergman A. 2012. Polychlorinated biphenyls and their hydroxylated metabolites in placenta from Madrid mothers. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2012 Jan;19(1):139-47.
19. Soechitram SD, Athanasiadou M, Hovander L, Bergman A, Sauer PJ. 2004. Fetal exposure to PCBs and their hydroxylated metabolites in a Dutch cohort. *Environ Health Perspect.* 2004 Aug;112(11):1208-12.
20. Fångström B, Athanasiadou M, Grandjean P, Weihe P, Bergman A. 2002. Hydroxylated PCB metabolites and PCBs in serum from pregnant Faroese women. *Environ Health Perspect.* 2002 Sep;110(9):895-9.
21. Meerts IA, Assink Y, Cenijs PH, Van Den Berg JH, Weijers BM, Bergman A, Koeman JH, Brouwer A. 2002. Placental transfer of a hydroxylated polychlorinated biphenyl and effects on fetal and maternal thyroid hormone homeostasis in the rat. *Toxicol Sci.* Aug;68(2):361-71.
22. Morse DC, Wehler EK, Wesseling W, Koeman JH, Brouwer A. 1996. Alterations in rat brain thyroid hormone status following pre- and postnatal exposure to polychlorinated biphenyls (Aroclor 1254). *Toxicol Appl Pharmacol.* Feb;136(2):269-79.

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

Table. Results of multiple linear regression analyses in maternal and infant serum TSH and FT4 by maternal OH-PCB levels

variables	log ₁₀ transformed TSH				log ₁₀ transformed FT4				
	Crude		Adjusted		Crude		Adjusted		
	B (95%CI)	p-value	B (95%CI)	p-value	B (95%CI)	p-value	B (95%CI)	p-value	
log₁₀ transformed OH-PCB (pg/g)									
Mothers (n=205)	0.070 (-0.083 to 0.223)	0.369	0.023 (-0.166 to 0.212) ^a	0.809	-0.025 (-0.079 to 0.030)	0.373	0.015 (-0.049 to 0.080) ^a	0.638	
Male infants (n=103)	0.067 (-0.167 to 0.300)	0.572	0.085 (-0.213 to 0.382) ^b	0.568	-0.025 (-0.078 to 0.027)	0.339	0.009 (-0.059 to 0.077) ^b	0.797	
Female infants (n=116)	0.083 (-0.107 to 0.272)	0.389	0.144 (-0.077 to 0.366) ^b	0.199	0.025 (-0.026 to 0.077)	0.331	0.028 (-0.033 to 0.088) ^b	0.362	

^a; adjusted for maternal age at delivery, BMI, parity, Log10 transformed PFOS and PFOA, blood sampling period of OH-PCBs and PFCs (PFOS, PFOA).

^b; adjusted for maternal age at delivery, parity, maternal BMI, gestational weeks, birth weight, experience of cesarean operation, Log10 transformed PFOS and PFOA, maternal blood sampling period of OH-PCBs and PFCs (PFOS, PFOA), blood sampling day after birth of thyroid hormones.

Statistically significant; * p < 0.05, ** p < 0.01.

血液中のビスフェノール A(BPA)の分析(1)

研究分担者 松村 徹 いであ株式会社 環境創造研究所 副所長

研究要旨

血液中のビスフェノール A(BPA)の測定分析方法を検討した。同位体希釈 LC-MS/MS 法を採用し、前処理方法と組合せて検討した結果、血中 BPA の分析方法を確立できた。確立した方法を用い、ヒト血液 70 検体に適用し結果を得た。

研究協力者

山本 潤
(いであ株式会社 環境創造研究所)

A . 研究目的

ビスフェノール A(BPA)はポリカーボネート製のプラスチックを製造する際、モノマーや、エポキシ樹脂の原料として使用されている化学物質であり、摂取によりエストロゲン受容体が活性化され、エストロゲンに類似した生理作用を表すことが報告されている。低用量仮説の提唱によって注目を受けたが、ヒトに対する健康影響評価に関しては現在も諸説の報告例があり継続して研究が行われているところである。

また、近年、BPA については尿道下裂との関連性について幾つか報告がなされているが、血中濃度は極低濃度であり、試料間の有意な濃度差を観測するためには精確な測定値が必要である。

BPA の体内負荷量を評価するにはヒト血液中における濃度データが必要であるが、存在量は極低く測定分析が困難であり、現在のところ、確からしい結果を用いて議論されているとは言えない状況であることから、本研究ではヒト血液中の BPA を議論可能な濃度レベルで精確に測定する手法を開発することを目的とした。

B . 研究方法

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。

分析フローを図 1 に LC-MS/MS の測定条件を表 1 に示す。

C . 研究結果

(1) 操作ブランク

試料 70 検体は、3 ロットにわけて分析を実施した(ロット 1: 試料 ID 1~21, ロット 2: 試料 ID 22~46, ロット 3: 試料 ID 47~70)。操作ブランク試験は各ロットについて 5 回実施した。操作ブランク試験の結果を表 2 に示す。操作ブランクの平均値は 1 回目 0.088ng/mL, 2 回目 0.038ng/mL 及び 3 回目 0.088ng/mL であり 0.1 ng/mL 未満であった。

(2) ヒト血液の分析

血液試料 70 検体の分析結果を表 3 に示す。なお、ロット毎のブランク試験とは別途、実試料の分析を行う前に、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。なお、表 3 における血液中の BPA 濃度は、操作ブランク値を差し引いた値である。

分析した血液全試料について、BPA 濃度分布を図 2 に示す。

(3)回収率

検体の測定における各試料の回収率(クリーンアップスパイク内標準物質(BPA d-16) / シリンジスパイク内標準物質(BPA d-4)の値を用い、回収率を計算した。結果を図 3 に示す。全試料の回収率は 71 ~ 113%の範囲であった。

(4)装置の変動の確認

装置の変動について確認を行うため、濃度 1.0ng/mL の標準溶液を測定試料 3 ~ 5 検体毎に測定し、その相対感度係数(RRF)を検量線作成時の RRF と比較して評価を行った。試料 70 検体を 3 回にわけて分析した各測定日別の結果を表 4 ~ 6 に示す。

各測定日における RRF は、検量線における RRF の±20%の範囲であった。また、各測定の平均値は、1.02、1.05 及び 1.01 であった。

D . 考察

本研究ではヒト血液中の BPA を議論可能な濃度レベルで精確に測定する手法を開発した。昨年度までに、固相抽出カラムを用いた前処理とそれに続く同位体希釈-液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計(ID-LC/MS/MS)法を検討した。さらに、血液中 BPA の分析においてはブランク値の低減が最も重要であったため、試薬ブランク、個々の前処理段階におけ

るブランク、カートリッジからの溶出ブランク及び全操作ブランク、並びに前処理用カートリッジカラムのコンディショニング方法の検討を行い、最終的にブランク値を 0.1ng/mL 未満のレベルに安定して抑えることが可能となった。

E . 結論

血液中のビスフェノール A(BPA)の測定分析方法を検討した。同位体希釈 LC-MS/MS 法を採用し、前処理方法と組合せて検討した結果、血中 BPA の分析方法を確立できた。確立した方法を用い、ヒト血液 70 検体に適用し結果を得た。

F . 研究発表

1.論文発表

なし

2.学会発表

- (1)山本潤,羽山真介,佐藤修之,松村徹,岸玲子, 佐々木成子,宮下ちひろ.生体試料中ビスフェノール A 分析の検討.第 20 回環境化学討論会. 熊本市. July 16-18, 2011.

G . 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

参考文献

- (1)Schönfelder G, Wittfoht W, Hopp H, Talsness CE, Paul M, Chahoud I. Parent Bisphenol A Accumulation in the Human Maternal-Fetal-Placental Unit. *Environ. Health Perspectives* 2002;110:703-707
- (2)Kuroda N, Kinoshita Y, Sun Y, Wada M, Kishikawa N, Nakashima K, Makino T, Nakazawa H. Measurement of bisphenol A levels

in human blood serum and ascitic fluid by HPLC using a fluorescent labeling reagent. *J. Pharmaceutical and Biomedical Anal.*

2003;30:1743-1749

(3)Chen M, Chang C, Shen Y, Hung J, Guo B, Chuang H, Mao I.

Quantification of prenatal exposure and maternal-fetal transfer of nonylphenol. *Chemosphere*

2008;73:239-245

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

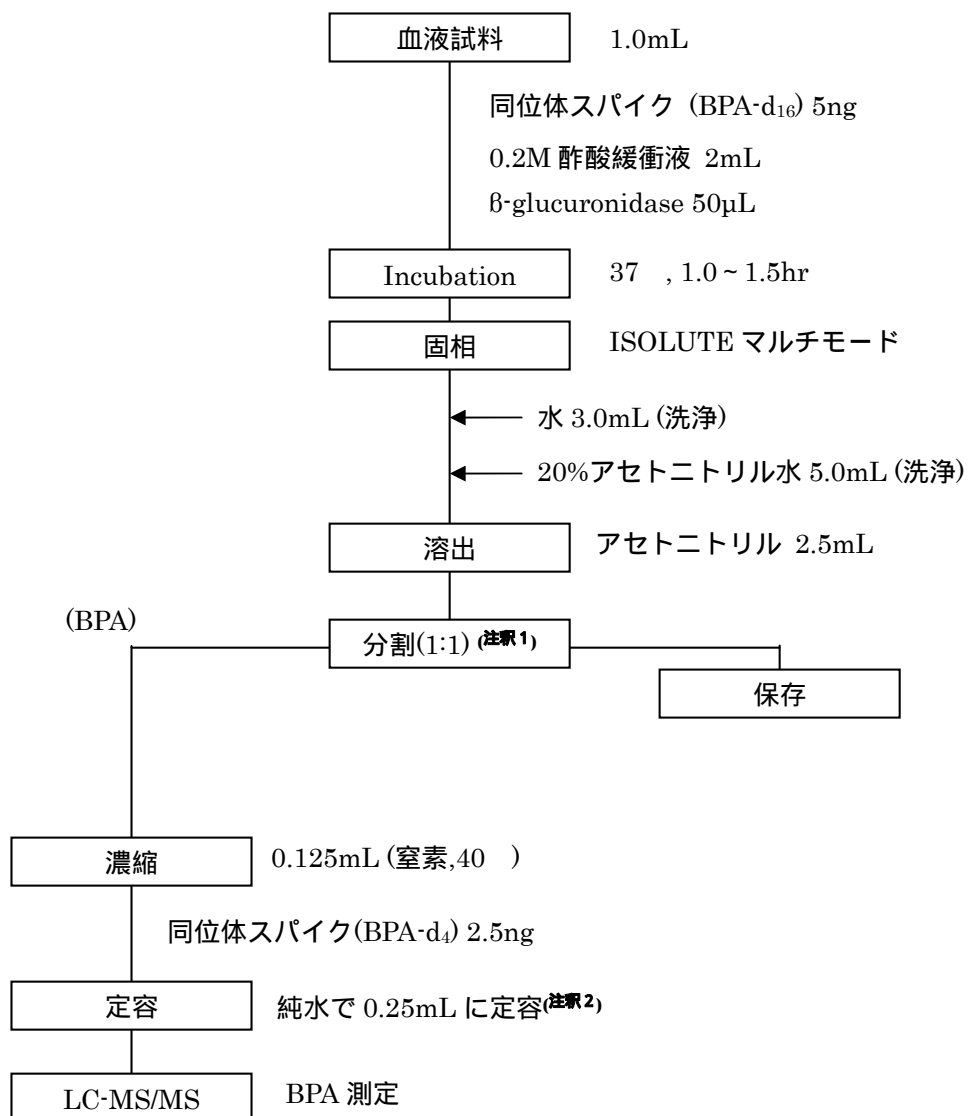


図 1. 血液中の BPA の分析フロー

(注釈 1) BPA のみの検討においては、分割操作を行っていない。

(注釈 2) BPA のみの検討においては、0.50mL に定容。したがって分割操作のありなしにかかわらず本検討における濃縮倍率は同じである。

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 . BPA 分析における LC/MS/MS 測定条件

測定装置	LC : Agilent-1100 MS : API-4000 Q Trap
分析カラム	Agilent Eclipse XDB-C8 2.1×150mm,5µm
溶離液	A : 水 B : アセトニトリル
グラジエント (B)	20%(0min)→20%(1min)→100%(17min)→100%(23min)→ 20%(23.1min)→20%(31min)
注入量	20µL
カラム温度	40
モード	ESI-Negative
m/z	227.0 > 132.9(BPA) 241.0 > 142.0(BPA-d ₁₆) 231.0 > 134.9(BPA-d ₄)

表 2 操作ブランク試験の結果

試料名	ブランク値	ブランク値	ブランク値
	(ng/mL) 1 回目	(ng/mL) 2 回目	(ng/mL) 3 回目
試料 1	0.086	0.041	0.093
試料 2	0.074	0.030	0.081
試料 3	0.097	0.047	0.099
試料 4	0.096	0.044	0.092
試料 5	0.090	0.030	0.074
平均 (ng/mL)	0.088	0.038	0.088
標準偏差	0.00944	0.00758	0.01014
t 値(危険率 5%、片側)	2.132	2.132	2.132
MDL (ng/mL)	0.041	0.033	0.044

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 血液中の BPA 分析結果

試料 ID	血中の BPA 濃度 (ng/mL) ()	回収率(%) ()	試料 ID	血中の BPA 濃度 (ng/mL) ()	回収率(%) ()
試料 1	0.12	83	試料 36	0.035	83
試料 2	0.093	78	試料 37	0.071	75
試料 3	0.061	79	試料 38	0.052	89
試料 4	0.081	74	試料 39	0.046	87
試料 5	0.047	72	試料 40	0.043	76
試料 6	0.047	81	試料 41	0.063	75
試料 7	0.094	71	試料 42	0.048	76
試料 8	0.085	77	試料 43	ND	80
試料 9	0.080	83	試料 44	0.097	74
試料 10	0.12	77	試料 45	0.068	82
試料 11	0.11	77	試料 46	0.063	91
試料 12	0.072	80	試料 47	ND	79
試料 13	0.13	77	試料 48	ND	85
試料 14	0.12	80	試料 49	ND	78
試料 15	0.056	73	試料 50	ND	77
試料 16	0.048	80	試料 51	ND	82
試料 17	0.065	79	試料 52	ND	78
試料 18	0.061	88	試料 53	ND	79
試料 19	0.099	77	試料 54	ND	80
試料 20	0.091	78	試料 55	ND	79
試料 21	0.12	78	試料 56	ND	82
試料 22	ND	74	試料 57	ND	73
試料 23	0.092	89	試料 58	0.048	83
試料 24	0.044	84	試料 59	0.069	77
試料 25	ND	80	試料 60	0.081	80
試料 26	ND	79	試料 61	ND	113
試料 27	ND	80	試料 62	ND	85
試料 28	0.047	77	試料 63	0.072	85
試料 29	ND	73	試料 64	0.070	84
試料 30	0.048	77	試料 65	0.090	86
試料 31	ND	83	試料 66	0.15	90
試料 32	ND	80	試料 67	0.090	78
試料 33	ND	78	試料 68	0.054	86
試料 34	0.050	82	試料 69	0.091	84
試料 35	0.040	78	試料 70	0.14	79

備考 1) 試料 ID の欄は、緑色 (ロット 1)、黄色 (ロット 2) 及びオレンジ色 (ロット 3) における分析を示す。

備考 2) 報告値 (血中の BPA 濃度) は、有効数字 2 桁で記載してある。

備考 3) 回収率は、クリーンアップスパイク内標準物質(BPA d-16) / シリンジスパイク内標準物質(BPA d-4)の値を用い、
(試料液) / (標準液の平均) × 100 で記載してある。

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

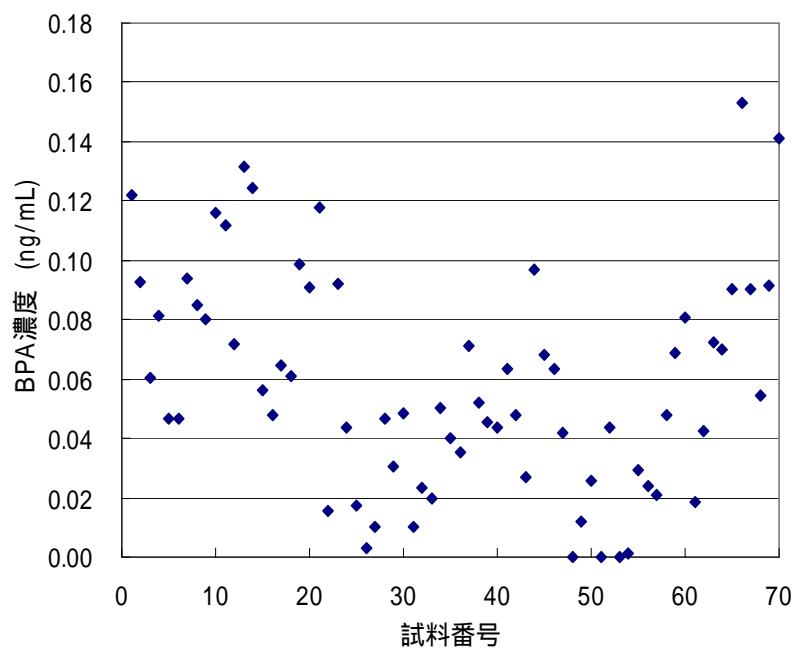


図.2 血液試料中の BPA 濃度

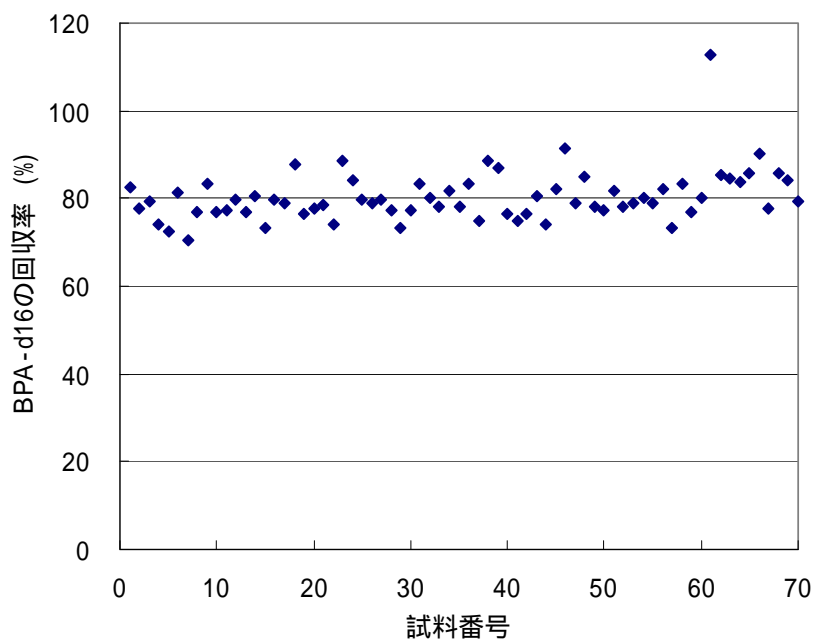


図.3 試料における内標準物質の回収率

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 装置の変動の確認 (1 回目の分析)

	RRF	相対比(%)()
検量線作成時	1.03	100
Check(1 回目)	1.11	107
Check(2 回目)	1.08	104
Check(3 回目)	1.06	103
Check(4 回目)	1.03	100
Check(5 回目)	0.99	96
Check(6 回目)	0.96	93
Check(7 回目)	0.92	89
Check(8 回目)	0.98	95
平均値	1.02	99
最大値	1.11	107
最小値	0.92	89

相対比 (%) = RRF(測定した標準液の値) / RRF (検量線の平均値)

表 5 装置の変動の確認 (2 回目の分析)

	RRF	相対比(%)()
検量線作成時	1.05	100
Check(1 回目)	1.08	103
Check(2 回目)	0.99	94
Check(3 回目)	1.05	100
Check(4 回目)	1.06	101
Check(5 回目)	1.07	102
Check(6 回目)	1.05	100
Check(7 回目)	1.07	102
Check(8 回目)	1.03	98
Check(9 回目)	1.04	99
Check(10 回目)	1.05	100
平均値	1.05	100
最大値	1.08	103
最小値	0.99	94

表 6 装置の変動の確認 (3 回目の分析)

	RRF	相対比(%)()
検量線作成時	0.95	100
Check(1 回目)	1.04	109
Check(2 回目)	0.99	104
Check(3 回目)	1.01	105
Check(4 回目)	1.04	109
Check(5 回目)	1.01	105
Check(6 回目)	0.98	103
Check(7 回目)	1.03	108
Check(8 回目)	1.04	109
平均値	1.01	106
最大値	1.04	109
最小値	0.95	100

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

血液中のビスフェノール A (BPA) の分析 (2)

研究分担者 松村 徹 いであ株式会社環境創造研究所副所長

研究要旨

昨年度までに検討し、開発した血液中のビスフェノール A (BPA) の測定分析方法を用い、ヒト血液 101 検体 (母体血 44 検体及び臍帯血 57 検体) に適用し結果を得た。全操作ブランク、MDL、二重測定及び回収率の品質管理項目の結果も安定しており血液試料 1mL を用いる測定分析手法としては完成したものとする。

研究協力者

山本 潤

(いであ株式会社環境創造研究所)

A . 研究目的

ビスフェノール A (以降 BPA) はポリカーボネート製のプラスチックを製造する際、モノマーや、エポキシ樹脂の原料として使用されている化学物質であり、摂取によりエストロゲン受容体が活性化され、エストロゲンに類似した生理作用を表すことが報告されている。低用量仮説の提唱によって注目を受けたが、ヒトに対する健康影響評価に関しては現在も諸説の報告例があり継続して研究が行われているところである。また、近年、BPA については尿道下裂との関連性について幾つか報告がなされているが、血中濃度は極低濃度であり、試料間の有意な濃度差を観測するためには精確な測定値が必要と考えられる。

BPA の体内負荷量を評価するにはヒト血液中における濃度データが必要であるが、存在量は極低く測定分析が困難であり、現在のところ、確からしい結果を用いて議論されているとは言えない状況と考えられる。本研究ではヒト血液中の BPA を議論可能な濃度レベルで精確に測定する手法を開発することを目的とした。

昨年度、固相抽出カラムを用いた前処理とそれに続く同位体希釈-液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計

(ID-LC/MS/MS)法を検討した。血液中 BPA の分析においてはブランク値の低減が最も重要であったため、試薬ブランク、個々の前処理段階におけるブランク、カートリッジからの溶出ブランク及び全操作ブランク、並びに前処理用カートリッジカラムのコンディショニング方法の検討を行い、最終的にブランク値を 0.1ng/mL 未満のレベルに安定して抑えることに成功した。本年度は確立した方法を実際のヒト血液試料 101 検体に適用し、結果を得た。

B . 研究方法

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 (以降 ID-LC-MS/MS) をヒト血液試料 101 検体 (母体血 44 検体及び臍帯血 57 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。

最終的に決定した分析フローを図 1 に LC-MS/MS の測定条件を表 1 に示す。

C . 研究結果・考察

(1) 操作ブランク及び分析法の検出下限値 (MDL : Method Detection Limit)

試料 101 検体は、4 ロットにわけて分析を行い、各ロットについて操作ブランク試験をそれぞれ 5 回実施した。操作ブランク試験の結果を及びそれによって計算された MDL を表 2 に示す。操作ブランクの平均値は 1 回目 0.040ng/mL、2 回目 0.030ng/mL、3 回目 0.049ng/mL 及び 4 回目 0.036ng/mL と 0.1 ng/mL 未満であった。また 4 回の操作ブランク試験の結果より計算された MDL は 1 回目 0.032ng/mL、2 回目 0.015ng/mL、3 回目 0.048ng/mL 及び 4 回目 0.045ng/mL であった。昨年度と同様に、操作ブランク及び MDL は、0.1ng/mL 未満であった。

(2) 二重測定

測定分析における品質管理の一環として 8 試料(全検体数の 7.9%)について二重測定を実施した。結果を表 3 に示す。二重測定における差は 5.3~20%であった。

(3) ヒト血液の分析

ヒト血液試料 101 検体(母体血 44 検体及び臍帯血 57 検体)について BPA の測定分析を行った。結果を表 4 に示す。血液中の BPA 濃度は、ND~0.18ng/mL(平均値 0.075ng/mL、中央値 0.069ng/mL)であった。なお、表 4 における BPA 濃度は、操作ブランク値を差し引いた値で、ND は、4 回の分析ロットごとに求めた検出下限値(MDL)未満であることを示す。

(4) 回収率

検体の測定における各試料の回収率(クリーンアップスパイク内標準物質(BPA d-16)/シリンジスパイク内標準物質(BPA d-4))の値を用い、回収率を計算した。結果を表 4 に示す。全試料において回収率は 60~96%の範囲であった。なお、本分析方法は内標準法であるので回収率の数値は結果に影響を与えない。

(5) 装置の応答変動の確認

装置の応答変動の確認のため、チェック用標準液(PA 濃度 1.0ng/mL)を実試料 7~10 検体ごとに測定し、その相対感度係数(RRF)を検量線作成時の RRF と比較した。4 回の分析ロットにおける測定時の装置の応答変動を表 5 に示す。各測定におけるチェック標準液の RRF は、4 回の分析ロットで 89~101%の範囲であった。また、測定ごとの RRF(平均)は、0.98、0.99、0.98 及び 0.98 であり、測定間の差がないことが確認された。

D. 結論

本研究で開発した分析方法によって血液中の BPA を評価可能な濃度レベルでデータ取得可能となった。昨年度から実試料計 171 検体へ適用したが、全操作ブランク、MDL、二重測定及び回収率の品質管理項目の結果も安定しており、試料 1mL を用いる手法の開発としては現在の科学技術レベルの範囲においては完成したものと考ええる。ただし、試薬及び実験器具の品質管理には細心の注意が必要である。MDL の更なる低減に関しては装置本体の検出感度に依存するので今後の装置の進歩に期待したい。

E. 健康危険情報

該当なし

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(予定を含む。)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

参考文献

1. Schönfelder G, Wittfoht W, Hopp H, Talsness CE, Paul M, Chahoud I. Parent Bisphenol A Accumulation in the Human Maternal-Fetal-Placental Unit. *Environ. Health Perspectives* 2002;110:703-707.
2. Kuroda N, Kinoshita Y, Sun Y, Wada M, Kishikawa N, Nakashima K, Makino T, Nakazawa H. Measurement of bisphenol A levels in human blood serum and ascitic fluid by HPLC using a fluorescent labeling reagent. *J. Pharmaceutical and Biomedical Anal.* 2003;30:1743-1749.
3. Chen M, Chang C, Shen Y, Hung J, Guo B, Chuang H, Mao I. Quantification of prenatal exposure and maternal-fetal transfer of nonylphenol. *Chemosphere* 2008;73:239-245.

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

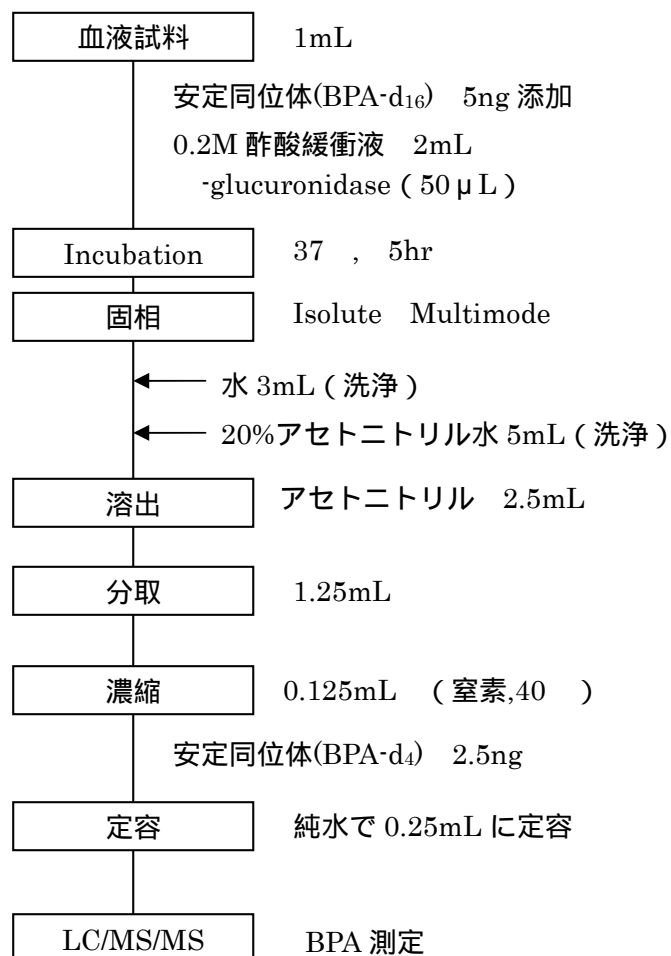


図 1. 血液中の BPA の分析フロー

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 . BPA 分析における LC/MS/MS 測定条件

測定装置	LC : Agilent-1100 MS : API-4000 Q Trap
分析カラム	Waters ACQUITY UPLC BEH C18 2.1×50mm,1.7μm
溶離液	A : 水 B : アセトニトリル
グラジエント(B)	20%(0min)→20%(1min)→60%(7min)→99%(7.1min)→99%(13min) →20%(13.1min)→20%(19min)
注入量	20μL
カラム温度	40
モード	ESI-Negative
m/z	227.0 > 132.9(BPA) 241.0 > 142.0(BPA-d ₁₆) 231.0 > 134.9(BPA-d ₄)

表 2 分析ロット毎の全操作ブランク試験の結果及び MDL .

試料名	BPA濃度 (ng/mL)			
	分析ロット No.1	分析ロット No.2	分析ロット No.3	分析ロット No.4
Blank 1	0.036	0.030	0.066	0.049
Blank 2	0.037	0.031	0.056	0.043
Blank 3	0.053	0.025	0.042	0.032
Blank 4	0.037	0.031	0.040	0.021
Blank 5	0.037	0.034	0.042	0.034
平均値	0.040	0.030	0.049	0.036
標準偏差	0.00745	0.00329	0.0111	0.0105
t値(危険率5%, 片側)	2.132	2.132	2.132	2.132
MDL	0.032	0.015	0.048	0.045

【注釈】

MDL= (標準偏差) × t 値 × 2

分析ロット No.4 については、血球試料と血漿試料を全量混合して分析試料とした。

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

表 3 8 検体についての二重測定の結果 .

北大ID	BPA濃度 (ng/mL)		差 (%)
	1回目	2回目	
232 (臍帯血)	0.057	0.069	20
224 (母体血)	0.024	0.027	11
369 (臍帯血)	0.066	0.054	20
511 (臍帯血)	0.094	0.077	19
230 (臍帯血)	0.042	0.044	5.5
302 (臍帯血)	0.057	0.051	11
76 (臍帯血)	0.082	0.086	5.3
129 (臍帯血)	0.027	0.023	17

【注釈】

差(%) = (2 回の測定分析における BPA 濃度の差) / (2 回の測定分析における BPA 濃度の平均) x 100
表 4 における BPA 濃度は、1 回目の結果を表記 .

表 5 母体血及び臍帯血中の BPA 濃度に関する統計量 .

統計量	BPA濃度 (ng/mL)		
	母体血 (n=44)	臍帯血 (n=57)	全体 (n=101)
最大	0.12	0.18	0.18
最小	0.016	0.021	0.016
平均値	0.052	0.065	0.059
標準偏差	0.029	0.036	0.034
中央値	0.053	0.064	0.059

【注釈】

濃度 ND については、対応する分析ロットにおける MDL の半値を用いて統計量を算出 .

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 母体血及び臍帯血中の BPA 濃度及び各検体における回収率 .

北大 ID	分析 ロット No.	母体血		分析 ロット No.	臍帯血	
		BPA濃度 (ng/mL)	回収率 (%)		BPA濃度 (ng/mL)	回収率 (%)
224	1	ND	91	1	0.071	69
232	1	0.092	82	1	0.057	66
221	1	ND	87	1	0.089	68
280	1	0.054	82	1	0.079	77
293	1	0.037	68	1	0.070	70
368	1	0.051	81	1	0.058	80
355	1	0.047	82	1	0.045	72
376	1	0.072	74	1	0.13	70
370	1	0.085	60	2	0.061	73
364	1	0.045	80	2	0.028	85
365	1	0.059	84	2	0.021	79
369	1	0.12	74	2	0.066	77
483	1	0.034	75	2	0.12	67
485	1	0.069	68	2	0.064	65
506	1	0.067	72	2	0.052	75
511	1	0.076	82	2	0.094	85
497	1	0.082	76	2	0.13	80
76	4	ND	73	4	0.082	80
49	4	0.057	80	4	ND	82
53	4	0.068	91	4	ND	83
56	4	0.061	75	4	ND	83
91	4	ND	80	4	ND	78
129	4	ND	74	4	ND	74
117	4	ND	87	4	ND	68
123	4	ND	91	4	0.058	66
139	4	ND	83	4	0.063	73
179	4	0.047	89	4	0.056	75
178	4	ND	82	4	0.068	69
160	4	ND	82	4	0.064	66
147	4	ND	79	4	ND	96
167	4	0.10	87	4	ND	73
438	3	ND	91	2	0.076	76
437	3	0.062	85	2	0.18	75
463	3	ND	89	2	0.078	73
469	3	0.11	90	2	0.056	83
458	3	ND	83	2	0.075	77
465	3	0.059	92	2	0.041	83
467	3	0.059	84	2	0.11	86
479	3	0.079	85	2	0.075	74
501	3	0.10	80	2	0.076	90
481	3	0.058	80	2	0.16	80
489	3	ND	82	2	0.084	89
504	3	ND	80	2	0.11	78
505	3	0.066	67	2	0.12	74
210				2	0.091	86
240				2	0.088	81
234				2	0.077	68
235				3	ND	85
225				3	0.077	77
249				3	ND	78
230				3	ND	76
284				3	ND	81
269				3	ND	74
277				3	0.070	78
283				3	ND	73
278				3	0.069	69
302				3	0.057	89

【注釈】

BPA 濃度は、対応するロットのブランク試験値を差し引いた値 .
 ブランク試験結果から求めた MDL(分析ロット 1:0.032ng/mL、分析ロット 2:0.015ng/mL、分析ロット 3:
 0.048ng/mL、分析ロット 4:0.045ng/mL)未満の試料については、『ND』で表記 .
 回収率は、クリーンアップスパイク内標準物質(BPA d-16)の応答/シリンジスパイク内標準物質(BPA d-4)の
 応答を用い、(試料液)/(標準液の平均) × 100 で算出した値 .

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 6 分析ロットにおける装置の応答変動の確認 .

分析ロット No.1	RRF	相対比(%)
検量線作成時	0.98	98
Check(1 回目)	1.01	101
Check(2 回目)	0.99	98
Check(3 回目)	0.96	95
Check(4 回目)	0.95	95
Check(5 回目)	0.99	98
平均値	0.98	98
最大値	1.01	101
最小値	0.95	95

分析ロット No.2	RRF	相対比(%)
検量線作成時	1.01	100
Check(1 回目)	1.01	100
Check(2 回目)	0.95	94
Check(3 回目)	1.02	101
Check(4 回目)	0.97	96
平均値	0.99	98
最大値	1.02	101
最小値	0.95	94

分析ロット No.3	RRF	相対比(%)
検量線作成時	0.97	92
Check(1 回目)	0.94	89
Check(2 回目)	0.98	93
Check(3 回目)	0.98	93
Check(4 回目)	1.01	96
Check(5 回目)	1.00	95
平均値	0.98	93
最大値	1.01	96
最小値	0.94	89

分析ロット No.4	RRF	相対比(%)
検量線作成時	0.93	92
Check(1 回目)	0.96	96
Check(2 回目)	1.00	100
Check(3 回目)	0.99	99
Check(4 回目)	1.00	100
平均値	0.98	97
最大値	1.00	100
最小値	0.93	92

【注釈】

相対比(%) = RRF(Check で測定した標準液の値)/RRF(検量線の平均値) .

母体血と臍帯血中のビスフェノール A (BPA) 濃度の相関

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副所長
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学術研究員
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

研究要旨

ビスフェノール A (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、微量試料中 BPA を迅速処理、高精度で測定する生体試料分析法（同位体希釈 LC/MS/MS 法）を開発し、一部測定を行った。母児の濃度相関を検討したところ、臍帯血の BPA 濃度は 0.055 ng/mL（幾何平均）[0.024-0.217ng/mL]で、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。しかし、母・胎児の相関係数は $r=0.11$ ($p=0.414$) で有意な関連は認められなかった。

研究協力者

山本 潤
（いであ株式会社環境創造研究所）
樫野 いく子、岡田 恵美子、小林 澄貴、
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）

A．研究目的

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、エストロゲン受容体が活性化することにより、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、実験的に思春期早発や神経発達への影響が示唆されたが、生体試料中の BPA 濃度は極めて低いため、リスク評価の際は精度の高いデータを用いる必要がある。本研究では、開発した微量試料中 BPA の高精度測定法を用いて母体血および臍帯血中の BPA 濃度を測定し、次世代影響を検討する。

B．研究方法

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

血液試料に適用した。母児 BPA 濃度の相関を検討するため、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。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。

（倫理面への配慮）

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および研究協力施設の研究倫理委員会に諮り、承認を得たうえで実施した。

C．研究結果

母児の母体血中 BPA 濃度は 0.047 ng/mL（幾何平均）[0.024-0.419ng/mL]、また、臍帯血中 BPA 濃度は 0.055 ng/mL（幾何平均）[0.024-0.217ng/mL]で、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（表 1、図 1）。濃度に関係する要因を検討すると、世帯収入が年間 500 万円未満では、臍帯血中 BPA 濃度が有意に高かった ($p=0.021$)（表 2）。しかし、母・

胎児の相関係数は $r=0.11$ ($p=0.414$) で有意な関連は認められなかった（図 2）。

D . 考察

血液中の BPA は、妊娠中の母親血液と臍帯血の相関は認められなかったが、胎児も成人と同レベルの曝露であることから、今後は、発達などへの影響を検証する必要がある。

E . 結論

微量試料中 BPA を迅速処理、高精度で測定する生体試料分析法を開発し、母児の濃度相関を検討したところ、臍帯血の BPA 濃度は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。

F . 研究発表

1) 論文発表

なし

2) 学会発表

1. 佐々木成子, 宮下ちひろ, 松村徹, 山本潤, 檜野いく子, 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. 金沢市; 2013 3/ 24-26.

G . 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

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

表 1 . 母体血および臍帯血中 BPA 濃度 (n=59, ng/mL)

	Geometric Mean	Min	25th	50th	75th	Max
母体血	0.047	0.024	0.024	0.058	0.073	0.419
臍帯血	0.055	0.024	0.024	0.061	0.079	0.217

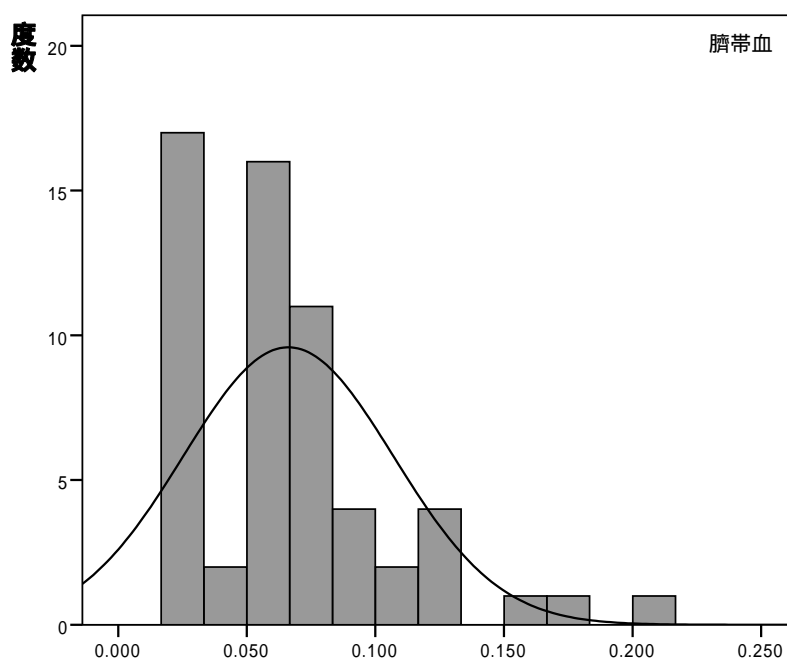
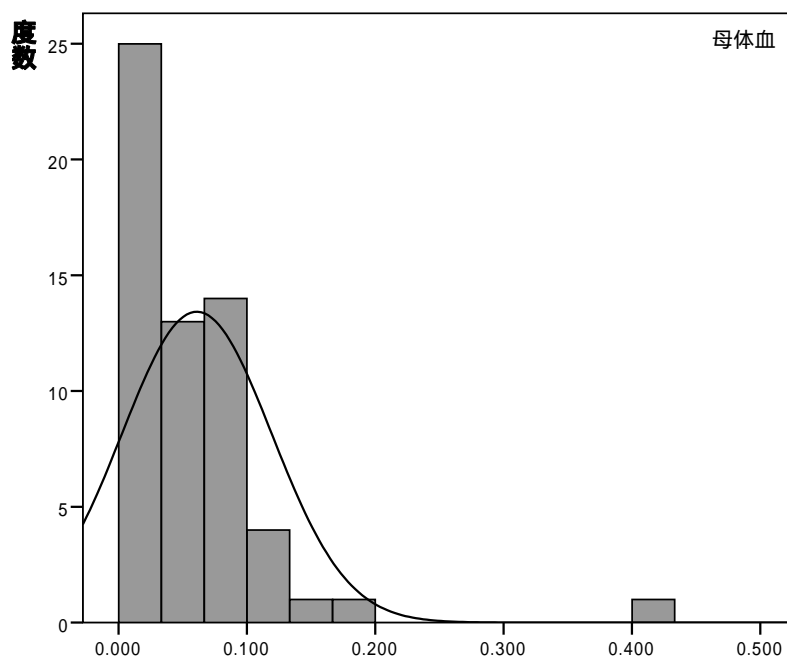


図 1 . 母体血および臍帯血中 BPA 濃度分布 (n=59, ng/mL)

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 2 . 母体血および臍帯血中 BPA 濃度との母児属性との関連 (n=59)

	Mean(SD) /numbers(%)	母体血BPA Geometric mean (ng/mL) /correlation coefficient	<i>p</i> -value	臍帯血BPA Geometric mean (ng/mL) /correlation coefficient	<i>p</i> -value
母属性					
年齢(歳)	30.3 (5.0)	r=-0.223	0.089 ^a	r=-0.195	0.139 ^a
身長(cm)	157.7 (6.1)	r=-0.219	0.096 ^a	r=-0.216	0.101 ^a
体重(kg)	50.9 (6.8)	r=-0.177	0.179 ^a	r=-0.179	0.175 ^a
教育歴(年)					
≤12	28 (47.5)	0.049	0.844 ^b	0.054	0.806 ^b
>12	31 (52.5)	0.046		0.056	
世帯収入(百万円)					
<5	40 (67.8)	0.050	0.755 ^b	0.061	0.021 ^b
≥5	19 (32.2)	0.044		0.046	
出産歴(回)					
0	28 (47.5)	0.053	0.099 ^b	0.054	0.753 ^b
≥1	31 (52.5)	0.043		0.056	
妊娠中喫煙歴					
非喫煙	44 (74.5)	0.047	0.168 ^c	0.051	0.180 ^c
禁煙	6 (10.2)	0.068		0.068	
喫煙	9 (15.3)	0.041		0.071	
飲酒量(g/day)	0.86 (2.16)	r=-0.068	0.607 ^a	r=-0.010	0.942 ^a
児属性					
在胎週数(週)	39.0 (1.1)	r=0.039	0.771 ^a	r=0.038	0.777 ^a
出生時体重(g)	3086 (336)	r=0.163	0.216 ^a	r=0.084	0.525 ^a
性別					
男児	26 (44.1)	0.050	0.302 ^b	0.057	0.688 ^b
女児	33 (55.9)	0.046		0.054	

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

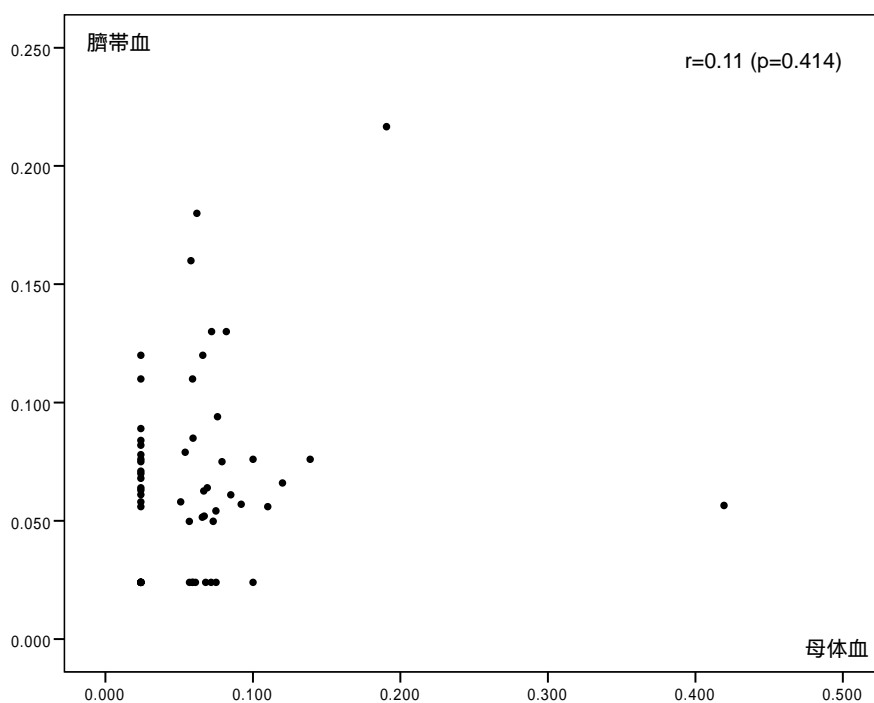


図 2 . 母体血および臍帯血中 BPA 濃度の相関 (n=59, ng/mL)

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 Setta 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 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

メチル水銀の胎児期曝露による出生時体格への影響

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学術研究員
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

妊婦の魚介類摂取は胎児発育を促進させると共に、環境化学物質であるメチル水銀の主な曝露源である。一般環境で生活する集団について、メチル水銀の胎児期曝露が出生時体格に与える影響は明確になっていない。本研究はメチル水銀の胎児期曝露による出生時体格への影響を、母親の魚摂取による影響を考慮した上で検討することを目的とした。本研究の対象者は2002年から2005年の間で「環境と子どもの健康に関する北海道スタディ」に参加登録した母児514組である。妊娠中の自記式調査票から両親の属性、既往歴、喫煙や飲酒状況を、また分娩出生時の医療診療記録から出生時体格や在胎週数などを得た。母親の出産後5日以内に得られた食事摂取頻度調査票から妊娠中の魚摂取量を算出した。母親の毛髪を出産後5日以内に採取し、メチル水銀の曝露指標として毛髪中の総水銀濃度を酸化燃焼金アマルガム法で測定した。毛髪中の総水銀濃度と出生時体格との関連について、魚摂取量を含めた交絡要因を調整した多変量解析で検討した。毛髪中の総水銀濃度と出生体重、身長、頭囲、胸囲との有意な関連は認められなかった。しかし、毛髪中の総水銀濃度が増加するほど、SGAリスクの有意な低下が認められた。本研究から、一般環境レベルでのメチル水銀の胎児期曝露は出生時体格に悪影響を及ぼさない可能性が示唆された。胎児発育を促進させるEPAやDHAなどの栄養素はFFQから推定された魚摂取量よりも、毛髪水銀濃度に正の相関を示した可能と考えられる。したがって本研究は1つの可能性として、母親の毛髪水銀の濃度増加に伴うSGAリスク低下は、胎児発育を促進させる栄養摂取のベネフィットな効果を反映することが推定された。

研究協力者

榎野 いく子、岡田 恵美子、小林 澄貴、
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）
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

出生時体格（体重、身長、頭囲および胸囲）は、子宮内の胎児成長を反映し、出生

後早期の発育成長、生存率、疾病罹患などに関連する重要な指標である（Bassler et al. 2009; Koo et al. 2010）。妊娠中の魚介類摂取は多価不飽和脂肪酸（PUFA）のような重要な栄養源であるため、出生体重の増加（Grandjean et al. 2001; Olsen et al. 1990）、および子宮内発育遅延のリスク低下（Olsen and Secher 2002）に関連することが報告されている。しかし一方で、魚介類摂取は、メチル水銀の主要な曝露源であると報告された（Xue et al. 2007）。メチル水銀は主に魚類の筋肉中に存在し生物

濃縮されて大型の捕魚類に蓄積する（Albert et al. 2010）。動物実験や中毒事故のような高レベル曝露を受けた集団を対象にした研究では、メチル水銀は胎盤関門と脳血液関門を通過し、胎児の脳発達および成長を抑制することが実証されている（National Research Council 2000; Wigle et al. 2008）。一般環境で生活する集団は、比較的低レベルのメチル水銀曝露を受ける。この一般環境レベルにおけるメチル水銀の胎児期曝露が出生時体格に与える影響に関して明確になっていない（Zahir et al. 2005）。この理由の一つとして、一般環境におけるメチル水銀の主な曝露源は魚介類であり、妊娠中の魚介類摂取による胎児発育促進が交絡として影響する可能性が報告されている（Grandjean et al. 2001）。本研究は、一般環境レベルにおけるメチル水銀の胎児期曝露が出生時体格に与える影響を、魚介類の摂取量を考慮した上で評価することを目的とした。

B．研究方法

対象者は2002年7月から2005年10月の期間に札幌市の一産科医療機関を受診した妊娠23週～35週の妊婦で、インフォームドコンセントが得られ、前向き出生コホート研究「環境と子どもの健康に関する北海道スタディ」に参加登録した母児514組である。自記式調査票により妊婦とその配偶者から、既往歴、教育歴、世帯収入、ライフスタイルなどを、医療診療録から母児の分娩情報、児の出生時所見、出生時体格（体重、身長、頭囲、胸囲）や在胎週数などを得た。分娩後5日以内に、母親430名から各魚類の1回摂取量と摂取頻度を食事摂取頻度調査票（FFQ）から得て、妊娠中の1日魚摂取量を算出した。また同時に母親のパーマ歴の情報を得た。分娩後5日以内に母親430名から頭皮に近接する1cm

の毛髪（総重量0.7-1.2mg）を得た。毛髪中の総水銀濃度を国立水俣病総合研究センターで原子吸光検知器MD-1（Nippon Institute Co. Ltd. Osaka）を用いて、酸化燃焼金アマルガム法（AAS法）で測定した（Yasutake et al. 2003）。

対象者20名（母親の妊娠高血圧症（n=11）、糖尿病（n=1）、胎児の心不全（n=1）および多胎（n=7））を解析から除外した。このうち調査票と水銀の両方のデータが得られた母児367名について、毛髪中の総水銀濃度と出生時体格の関連を検討した。Small-for-gestational-age（SGA）は、日本で2002年から2005年の間に出生した新生児143,370名の各妊娠週数別の体重と身長10%未満として定義した（Kato et al. 2012）。毛髪中の総水銀濃度と魚摂取量はLog10変換し重回帰分析で使用した。毛髪中の総水銀濃度と出生体重、身長、頭囲、胸囲との関連性は、交絡因子で調整された重回帰解析によって評価した。毛髪中の総水銀濃度とSGAとの関連性は、交絡因子で調整したロジスティックス回帰分析によって評価した。出生体格に影響すると報告された魚摂取量とPCBs・ダイオキシン類の影響を検討するため、多変量解析モデル1、2、3で検討した。モデル1の交絡変数は母親の年齢、母親の身長、前妊娠体重、妊娠中の母親の喫煙、妊娠中の母親の飲酒、世帯収入、出産歴（SGAは除く）、児の性別（SGAは除く）、および在胎週数（SGAは除く）である。モデル2はモデル1に加えて妊娠中の魚摂取で調整した。モデル3はモデル2に加えて採血時期およびPCBs・ダイオキシン類で調整した。

（倫理面への配慮）

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

倫理委員会および研究協力施設の研究倫理委員会に諮り、承認を得たうえで実施した。

C . 研究結果

毛髪中の総水銀濃度は中央値 1.41ug/g であった(表1)。毛髪中の総水銀濃度は、妊娠の魚摂取量と共に有意に増加した。所得が高い、遠洋魚および牛肉の摂取が多い(週に1回以上摂取する)対象者は、低所得、遠洋魚、牛肉の摂取が少ない対象者と比較しそれぞれ毛髪中の水銀濃度は有意に高かった(表2)。出生体格の平均値 \pm SDはそれぞれ体重 3077 ± 372 (g)、身長 48.1 ± 1.93 (cm)、胸囲 31.5 ± 1.55 (cm)および頭囲 33.3 ± 1.33 (cm)であった。出生時体格は、母親の非妊娠時体重、身長および在胎週数と共に増加し、普通分娩での出生、および男児で増加した。解析モデル1、2、3の交絡要因を調整した重回帰分析において、毛髪中の総水銀濃度と出生時体格(体重、身長、頭囲、胸囲)では有意な関連が認められなかった(model3:出生体重: $=154$ 、95%CI= -11.5 、 320) (表3)。魚摂取量およびPCBs・dioxinsで調整したmodel3でも有意な関連は認められなかった。

SGAの発生率は4.9%(18名)で、母親の非妊娠中体重の増加と共にSGAリスクは低下した(オッズ比(OR) $=0.89$ 、95%信頼区間(CI) $=0.81$ 、 0.97)。解析モデル1、2、3の交絡要因を調整したロジスティック回帰分析において、毛髪中の総水銀濃度の増加と共にSGAリスクは有意に低下した(model3: OR $=0.32$ 、95%CI $=0.11$ 、 0.88) (表4)。魚摂取量およびPCBs・dioxinsで調整したmodel3でもSGAリスクが低下した。

D . 考察

本研究より、一般環境レベルにおけるメ

チル水銀の胎児期曝露は出生時体格に悪影響を及ぼさない可能性が示唆された。しかし、総水銀濃度の増加はSGAリスクを低下させる可能性が示された。毛髪中の総水銀の90%以上がシステイン基とタンパク結合したメチル水銀であり、総水銀濃度はメチル水銀曝露の生体指標として最も頻繁に用いられる(National Research Council 2000)。本研究の毛髪総水銀濃度(中央値1.4ug/g)は臍帯血中の9.3ug/Lに換算することができる(Zahir et al. 2005)。本研究より曝露レベルが低いと推定されるオーストリアの研究(臍帯血中央値1.1ug/L)(Gundacker et al. 2010)、フランスの研究(毛髪中中央値0.52ug/g)(Drouillet-Pinard et al. 2010)などの結果と本研究の結果と一致した。しかし、本研究より曝露レベルが高いと推定されるグリーンランド(臍帯血平均値21ug/L)(Foldspang and Hansen 1990)の結果とは一致しなかった。よって、我々のメチル水銀曝露レベルは出生時体格へ負の影響を与えるに十分なレベルにない可能性が示された。

一方で、本研究と曝露レベルが匹敵するスペインの研究(臍帯血中の幾何平均9.4ug/L)において、総水銀濃度の第4四分位は第1四分位に比較し、出生体重が143.7g減少し、SGAリスクが5.3倍に増加した(Ramon et al. 2009)。しかし、この研究では量反応関係は認められず、結果が不十分であったため、Ramonらは結果の妥当性を検証するための追加研究が必要であると記述した。本研究は上記の結果とは異なり、母親の毛髪水銀濃度が増加するほどSGAリスクが低下した。また、本研究で、ほとんどの対象者(93.5%)の毛髪水銀濃度は、次世代影響が認められる可能性がある下限値:2.75ug/g未満であった。この下限値は日本の妊婦に対する暫定的耐

容量（PTWI: 1.6ug/kg）を元に推定された（厚生労働省 2005）。したがって、本研究のような一般環境における曝露レベルにおいては、メチル水銀の胎児期曝露は出生体格に対して明確な悪影響与えるには十分なレベルにない可能性が示唆された。

本研究では、母親の毛髪水銀の濃度増加に伴う SGA リスク低下が認められたが、先行研究で水銀曝露が胎児発育を直接促進させるという報告はなく、また作用機序としても裏付けが困難である。FFQ から推定された魚摂取量は実際の摂取量を 40%としか反映しないとの報告がある（Wakai 2009）。さらに EPA や DHA などの栄養素の摂取量が FFQ による魚摂取量推定より、毛髪水銀濃度に正の相関を示した可能と考えられる。したがって本研究は 1 つの可能性として、母親の毛髪水銀の濃度増加に伴う SGA リスク低下は、胎児発育を促進させる栄養摂取のベネフィットな効果を反映することが推定された。

E . 結論

本研究は、一般環境におけるメチル水銀の胎児期曝露は出生体格への悪影響を引き起こすには不十分な曝露レベルである可能性を示した。本研究は 1 つの可能性として、母親の毛髪水銀の濃度増加に伴う SGA リスク低下は、胎児発育を測定させる栄養摂取のベネフィットな効果を反映することが推定された。

F . 研究発表

1) 論文発表
作成中

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. Albert I, Villeret G, Paris A, Verger P. 2010. Integrating variability in half-lives and dietary intakes to predict mercury concentration in hair. *Regulatory toxicology and pharmacology* : RTP 58:482-489.
2. Bassler D, Stoll BJ, Schmidt B, Asztalos EV, Roberts RS, Robertson CMT, et al. 2009. Using a count of neonatal morbidities to predict poor outcome in extremely low birth weight infants: Added role of neonatal infection. *Pediatrics* 123:313-318.
3. Drouillet-Pinard P, Huel G, Slama R, Forhan A, Sahuquillo J, Goua V, et al. 2010. Prenatal mercury contamination: Relationship with maternal seafood consumption during pregnancy and fetal growth in the 'eden mother-child' cohort. *Br J Nutr* 104:1096-1100.
4. Foldspang A, Hansen JC. 1990. Dietary-intake of methylmercury as a correlate of gestational length and birth-weight among newborns in greenland. *American Journal of Epidemiology* 132:310-317.
5. Grandjean P, Bjerve KS, Weihe P, Steuerwald U. 2001. Birthweight in a fishing community: Significance of essential fatty acids and marine food contaminants. *Int J Epidemiol* 30:1272-1278.
6. Gundacker C, Frohlich S, Graf-Rohrmeister K, Eibenberger B, Jessenig V, Gicic D, et al. 2010. Perinatal lead and mercury exposure in austria. *The Science of the total*

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

- environment 408:5744-5749.
7. Harper V, Macinnes R, Campbell D, Hall M. 1991. Increased birth-weight in northerly islands - is fish consumption a red herring. *Brit Med J* 303:166-166.
 8. Kato O, Kawasaki N, Bodri D, Kuroda T, Kawachiya S, Kato K, et al. 2012. Neonatal outcome and birth defects in 6623 singletons born following minimal ovarian stimulation and vitrified versus fresh single embryo transfer. *Eur J Obstet Gyn R B* 161:46-50.
 9. Knobeloch L, Anderson HA, Imma P, Peters D, Smith A. 2005. Fish consumption, advisory awareness, and hair mercury levels among women of childbearing age. *Environmental Research* 97:220-227.
 10. Koo KY, Kim JE, Lee SM, Namgung R, Park MS, Park KI, et al. 2010. Effect of severe neonatal morbidities on long term outcome in extremely low birthweight infants. *Korean J Pediatr* 53:694-700.
 11. National Research Council. 2000. Toxicologic effects of methylmercury. Washington, DC:National Academy Press.
 12. Olsen SF, Olsen J, Frische G. 1990. Does fish consumption during pregnancy increase fetal growth? A study of the size of the newborn, placental weight and gestational age in relation to fish consumption during pregnancy. *International journal of epidemiology* 19:971-977.
 13. Olsen SF, Secher NJ. 2002. Low consumption of seafood in early pregnancy as a risk factor for preterm delivery: Prospective cohort study. *Brit Med J* 324:447-450.
 14. Ramon R, Ballester F, Aguinagalde X, Amurrio A, Vioque J, Lacasana M, et al. 2009. Fish consumption during pregnancy, prenatal mercury exposure, and anthropometric measures at birth in a prospective mother-infant cohort study in Spain. *Am J Clin Nutr* 90:1047-1055.
 15. Wakai K. 2009. A review of food frequency questionnaires developed and validated in Japan. *J Epidemiol* 19:1-11.
 16. Wigle DT, Arbuckle TE, Turner MC, Berube A, Yang QY, Liu SL, et al. 2008. Epidemiologic evidence of relationships between reproductive and child health outcomes and environmental chemical contaminants. *J Toxicol Env Heal B* 11:373-517.
 17. Xue F, Holzman C, Rahbar MH, Trosko K, Fischer L. 2007. Maternal fish consumption, mercury levels, and risk of preterm delivery. *Environ Health Persp* 115:42-47.
 18. Yasutake A, Matsumoto M, Yamaguchi M, Hachiya N. 2003. Current hair mercury levels in Japanese: Survey in five districts. *Tohoku J Exp Med* 199:161-169.
 19. Zahir F, Rizwi SJ, Haq SK, Khan RH. 2005. Low dose mercury toxicity and human health. *Environ Toxicol Pharmacol* 20:351-360.
 20. 厚生労働省 2005. <http://www.mhlw.o.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/suigin/dl/050812-1-05.pdf>

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. 母親の毛髪中における総水銀濃度(μg/g) (n=367)

	Geometric mean	Minimum	Percentile			Maximum
			25th	50th	75th	
Total Hg ^a	1.34	0.24	0.96	1.41	1.89	4.73

^a>90% methylmercury in maternal hair

表 2. 母親の属性と毛髪中の総水銀濃度 (μg/g) (n=367)

Maternal Characteristics	N (%)	Total Hg Mean±SD
Age at delivery (years)	30.76±4.76 ^a	0.094 ^b
Height (cm)	158.33±5.40 ^a	-0.055 ^b
Pre-pregnancy weight (kg)	52.50±7.94 ^a	-0.029 ^b
Parity		
0	180 (49.0)	1.44±0.62
≥1	187 (51.0)	1.58±0.87
History of hair perming		
No	260 (70.8)	1.50±0.76
Yes	107 (29.2)	1.52±0.75
Annual household income (million yen)		
<5	244 (66.5)	1.44±0.74*
≥5	123 (33.5)	1.65±0.78
Smoking consumption during pregnancy		
Nonsmoker	305 (83.1)	1.51±0.74
Smoker	62 (16.9)	1.51±0.84
Alcohol consumption during pregnancy		
Nondrinker	255 (69.5)	1.47±0.76
Drinker	112 (30.5)	1.60±0.76
Caffeine intake (mg/day)	120 (1.5-646.25) ^c	-0.005 ^b
Fish intake (g/day)	40.0 (0.83-400.0) ^c	0.215 ^{b**}
Frequency of food consumption during pregnancy		
Shoreline-fish		
<once/week	198 (54.0)	1.44±0.68
≥once/week	169 (46.0)	1.59±0.84
Pelagic-fish		
<once/week	171 (46.6)	1.35±0.64**
≥once/week	196 (53.4)	1.65±0.83
Beef		
<once/week	274 (75.3)	1.45±0.74*
≥once/week	90 (24.7)	1.66±0.75

^a Mean±SD

^b r: spearman correlation coefficient

^c Median (minimum·maximum)

*p < 0.05, **p < 0.01 by the t-test, Spearman correlation test and one-way ANOVA

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. 出生時体格と水銀濃度の回帰係数 (95% 信頼区間) (n = 367).

		Birth weight (g)	Length (cm)	Chest circumference (cm)	Head circumference (cm)
		B (95%CI)	B (95%CI)	B (95%CI)	B (95%CI)
Model 1	Hair Hg	111 (-40.3, 262)	0.28 (-0.55, 1.11)	0.36 (-0.30, 1.02)	-0.30 (-0.89, 0.29)
Model 2	Hair Hg	110 (-42.9, 263)	0.25 (-0.59, 1.08)	0.34 (-0.33, 1.01)	-0.26 (-0.85, 0.34)
Model 3	Hair Hg	154 (-11.5, 320)	0.22 (-0.69, 1.14)	0.29 (-0.44, 1.02)	-0.16 (-0.81, 0.49)

B: partial regression coefficient

CI: confidence interval

Model 1: adjusted for maternal age, maternal height, pre-pregnancy maternal weight, parity, gestational age, infant sex, tobacco smoking during pregnancy, alcohol-drinking during pregnancy, household income, and, hair permed.

Model 2: adjusted for log10-transformed fish intake in addition to adjusted factors of model 1.

Model 3: adjusted for timing of blood sampling, and log10-transformed total PCBs and dioxins in addition to adjusted factors of model 2.

Because Hg levels were log10-transformed, standardized partial regression coefficients represent the expected change in dependent variables as a result of a 10-fold change in Hg levels.

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. SGA と水銀濃度の調整オッズ比 (95%信頼区間) (n = 376).

		SGA for weight
		OR (95%CI)
Model 1	Hair Hg	0.36 (0.15, 0.91)*
Model 2	Hair Hg	0.38 (0.15, 0.94)*
Model 3	Hair Hg	0.32 (0.11, 0.88)*

SGA: small for gestational age

Model 1: adjusted for maternal age, maternal height, pre-pregnancy maternal weight, tobacco smoking during pregnancy, alcohol-drinking during pregnancy, household income, and, hair permed.

Model 2: adjusted for fish intake in addition to adjusted factors of model 1.

Model 3: adjusted for timing of blood sampling, and total PCBs and dioxins in addition to adjusted factors of model 2.

*p < 0.05

妊婦の葉酸値と先天性単発奇形との関連

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センター長・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 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

研究要旨

妊娠初期の母体血清葉酸値が先天性単発奇形発生リスクに関連があるかについて、平成15年5月から平成18年12月までに分娩終了した母親12,784名で検討した。妊婦と配偶者の学歴、世帯収入、既往歴、妊娠・出産歴、妊娠初期の内服薬、妊娠前後のサプリメント使用、喫煙・飲酒習慣、化学物質曝露状況などの情報は妊娠初期に実施した自記式調査票、また、分娩日、児の性別、出生時体重、先天性単発奇形有無などは診療録から得た。児の1歳時には健康調査票を送付して、母親の自記式で回答を得た。母体血清中葉酸値と先天性単発奇形発症リスクの関連は教育年数、世帯収入、妊娠時年齢、出産歴で調整後、ロジスティック回帰分析を行った。先天性単発奇形を有する児は272名(2.7%)であった。妊娠初期血清葉酸値の平均は、症例群で8.2ng/ml、対照群では8.0ng/mlで両群に有意な差なく、妊娠初期血清葉酸値と先天性単発奇形発症との関連はみられなかった。さらに、教育年数、世帯収入、葉酸サプリメント摂取、妊娠初期の喫煙習慣で層別して解析したが、いずれも妊娠初期血清葉酸値と先天性単発奇形発症との関連は認められなかった。

研究協力者

伊藤 久美子，宮下 ちひろ，馬場 俊明
Brimoh Titilola，櫻野 いく子
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)
Yila Thamar
(北海道大学環境健康科学研究教育センター)

A. 研究目的

先天性単発奇形は染色体異常や多因子遺伝によるものが大部分を占める。多因子遺伝は環境要因と遺伝子要因との相互作用により発生するが、そのメカニズムはまだ解明されていないものが多い。先天性単発奇形の一つである神経管欠損症は、妊娠

前の葉酸サプリメント摂取や血中葉酸濃度低値と関連することが大規模コホート研究で示されたことから、アメリカやカナダ等では、食品への葉酸添加を義務付けたことで有病率低下したと報告された。

神経管欠損症の他にも妊娠前葉酸サプリメント摂取と口唇裂、先天性心疾患、ダウン症の発症リスクに関する報告があるが、結果は一致していない(Krapels et al. 2006; Czeizel et al. 2004; コ克蘭データベース・システムレビュー 2010)。このような結果不一致の要因としては、先行研究の多くがケースコントロール研究であるために、ケースとコントロールを選出する際の選択バイアス、リスク要因暴露程度の思い出しバイアスなどが結果に影響を与えている可能性がある。また、体内葉酸量

情報は、妊娠前後の葉酸サプリメント摂取有無や食事摂取量調査などの主観的評価によるため、妊娠初期の葉酸値と先天性単発奇形との関連を評価しているものは少ないといえる。

さらに、先天性単発奇形の中でも単発奇形の発生には環境要因の関与が大きい。そこで本研究の目的では、妊娠初期の母体血清葉酸濃度と先天性単発奇形発生リスクとの関連を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

北海道内の約 40 産科医療施設で実施した出生前向きコホート研究で同意を得られた妊婦のうち、平成 15 年から平成 18 年 12 月までに分娩が終了した母親 12,784 名を対象とした。妊婦健診受診施設にて妊娠初期に採血し-80 以下で冷凍保存後、母体血清葉酸濃度を化学発光免疫測定法 (CLIA 法)により(株)エスールエルで測定した。妊婦と配偶者の学歴、世帯収入、既往歴、妊娠・出産歴、妊娠初期の内服薬、妊娠前後のサプリメント使用、喫煙・飲酒習慣、化学物質曝露状況などの情報は妊娠初期に実施した自記式調査票、また、分娩日、児の性別、出生時体重、先天性単発奇形有無などは新生児個票(診療録)から得た。児の 1 歳時には健康調査票を送付して、母親の自記式で回答を得た。

対象者のうち、妊娠初期血清葉酸値、妊娠初期調査票、新生児個票があるものを解析対象とした。双胎妊娠者、糖尿病既往者、葉酸代謝障害剤の使用者、妊娠時年齢不明者、児の性別、出生時体重が不明のものは解析から除外し、最終的な解析対象者は 10,185 名であった。

先天性単発奇形発生と妊娠初期血清葉

酸値との関連は、教育年数、世帯収入、妊娠時年齢、出産経験を交絡要因として多変量解析を行った。さらに、教育年数、世帯収入、葉酸サプリメント摂取、妊娠初期の喫煙習慣で層別して解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は、北海道大学環境健康科学研究教育センターおよび北海道大学大学院医学研究科・医の倫理委員会の承認を得た。個人名及び個人データの漏洩については、データの管理保管に適切な保管場所を確保するなどの方法により行うとともに、研究者の道義的責任に基づいて個人データをいかなる形でも本研究の研究者以外の外部の者に触れられないように厳重に保管し、取り扱った。

C. 研究結果

(1) 妊婦の属性・生活習慣と先天性単発奇形

先天性単発奇形がある出生児(症例群)は、272 名(2.7%)であった。症例群と対照群の妊娠時年齢は、それぞれ 29.5±4.5 歳、29.4±4.7 歳で両群に有意な差はみられなかった。教育年数区分は両群に有意な差が認められたが(p=0.042)、世帯収入、出産歴、妊娠初期の喫煙・飲酒の有無に有意な差はみられなかった。また、妊娠前後の葉酸サプリメント使用者(マルチビタミン含む)は、症例群 45 名(18.4%)、対照群 1,542 名(17.5%)で有意な差はみられなかった。

出生時体重は症例群 2762 ± 839g、対照群 3029 ± 469g で症例群が有意に低かった(p<0.001)。また、児の性別区分にも有意な差が認められた(p<0.001)(表 1)。

(2) 妊娠初期血清葉酸値と先天性単発奇形

リスク

妊娠初期血清葉酸値の平均は 8.0 ± 7.3 ng/ml で、99.4%が CLIA 法による基準値 3.1 ng/ml を超えていた。また、症例群の平均血清葉酸値は 8.2 ± 4.9 ng/ml、対照群群 8.0 ± 7.4 ng/ml で両群に有意な差はみられなかった。

次に、妊娠初期血清葉酸値と先天性単発奇形発症との関連を教育年数、世帯収入、妊娠時年齢、妊娠・出産歴、妊娠前喫煙習慣、世帯収入、葉酸サプリメント摂取開始時期、妊娠初期の喫煙・飲酒習慣で層別化分析を行ったが、いずれも有意な差はみられなかった(表 2, 3)。

さらに、妊娠初期血清葉酸値三分位数、葉酸サプリメント摂取時期、妊娠初期までの喫煙と先天性単発奇形発症との関連を検討したが、いずれも関連性は認められなかった(表 4)。

D. 考察

わが国における妊婦の血清葉酸値は、水戸ら(2007)は 10.3 ng/ml、中島ら(2003)は 11.16 ng/ml と報告しており、本研究の全対象者の血清葉酸値 8.0 ng/ml よりも高い。しかし、本研究対象者の 99.4%が CLIA 法による血清葉酸基準値 3.1 ng/ml 以上であることから、血清葉酸値は十分であったと考えられる。

本研究では妊娠初期血清葉酸値による先天性単発奇形発症への影響は認められなかった。また、葉酸サプリメント摂取開始時期、妊娠初期の喫煙有無を層別化して解析したが関連はなかった。コクランシステマティックレビューでは、妊娠前の葉酸サプリメント摂取による神経管欠損症発症リスク低下は認められたが、他の先天性奇形との関連は否定されている。しかし、

葉酸値と先天性単発奇形の関連には言及されていない。

葉酸代謝物は DNA 合成、メチル化に重要な役割を果たすことがわかっており、メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素(MTHFR)に代表される補酵素の活性変化が個体発生過程に生じた場合の奇形発生への関与が検討されている。体内で葉酸が十分に活用されるには、葉酸代謝関連遺伝子やその活性に関与する環境要因との交互作用を解明することが必要である。そこで、今後は葉酸代謝関連遺伝子多型を測定し、先天性単発奇形発症に関与する遺伝子多型と環境要因との交互作用を検討していく予定である。

E. 結論

本研究全対象者の妊娠初期血清葉酸値は平均 8.0 ng/ml であり、CLIA 法による基準値 3.1 ng/ml を 99.4%が超えていた。また、妊娠初期の血清葉酸値と先天性単発奇形発症との関連は認められなかった。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- (1) 伊藤久美子, 佐々木成子, Yila Thamar, Braimoh Titilola 馬場俊明, 宮下ちひろ, 櫻野いく子, 岡田恵美子, 小林澄貴, 吉岡英治, 岸玲子. 妊婦の葉酸値と先天性単発奇形との関連-環境と子どもの健康に関する北海道スタディ(1). 第 81 回日本衛生学会学術総会. 東京都. Mar. 25-28, 2011.

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

参考文献

- (1) Krapels IP, Zielhuis GA, Vroom F, de Jong-vanden Berg LT, Kuijpers-Jagtman AM, van der Molen AB, Steegers-Theunissen RP; Eurocran Gene-Environment Interaction Group. Periconceptional health and lifestyle factors of both parents affect the risk of live-born children with orofacial clefts. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 76(8):613-20, 2006.
- (2) Czeizel AE, Dobó M, Vargha P. Hungarian cohort-controlled trial of periconceptional multivitamin supplementation shows a reduction in certain congenital abnormalities. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* ;70(11):853-61, 2004.
- (3) Cochrane Database Syst Rev. 6(10), 2010.
- (4) Little J, Gilmour M, Mossey PA, Fitzpatrick D, Cardy A, Clayton-Smith J, Hill A, Duthie SJ, Fryer AE, Molloy AM, Scott JM; ITS MAGIC Collaboration. Folate and clefts of the lip and palate--a U.K.-based case-control study: Part II: Biochemical and genetic analysis. *Cleft Palate Craniofac J.* 45(4):428-38, 2008.
- (5) Candito M, Rivet R, Herbeth B, Boisson C, Rudigoz RC, Luton D, Journel H, Oury JF, Roux F, Saura R, Vernhet I, Gaucherand P, Muller F, Guidicelli B, Heckenroth H, Poulain P, Blayau M, Francannet C, Roszyk L, Brustié C, Staccini P, Gérard P, Fillion-Emery N, Guéant-Rodriguez RM, Van Obberghen E, Guéant JL. Nutritional and genetic determinants of vitamin B and homocysteine metabolisms in neural tube defects: a multicenter case-control study. *Am J Med Genet A*;146A(9):1128-33, 2008.
- (6) Zhang T, Xin R, Gu X, Wang F, Pei L, Lin L, Chen G, Wu J, Zheng X. Maternal serum vitamin B12, folate and homocysteine and the risk of neural tube defects in the offspring in a high-risk area of China. *Public Health Nutr.* 2(5):680-6, 2009.

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. 妊婦の基本的属性，生活習慣と先天性単発奇形

		全体 n=10,185 n(%)	対照群 n=9,735 n(%)	症例群 n=272 n(%)	p値
母親					
年齢(歳)		29.4 ± 4.7 ^a	29.4 ± 4.7 ^a	29.5 ± 4.5 ^a	0.550
	<20	149(1.5)	146(1.5)	3(1.1)	0.558
	20-29	4976(49.7)	4847(49.8)	129(47.4)	
	330-39	4744(47.4)	4606(47.3)	138(50.7)	
	40	138(1.4)	136(1.4)	2(0.7)	
教育年数(年)	< 10	482(4.9)	471(4.9)	11(4.1)	0.042
	10-12	4511(45.5)	4407(45.7)	104(38.4)	
	13-15	4009(40.4)	3877(40.2)	132(48.7)	
	16	912(9.2)	888(9.2)	24(8.9)	
	世帯収入(万円)	< 300	1888(22.3)	1844(22.4)	44(18.8)
	300-499	3781(44.7)	3677(44.7)	104(44.4)	
	500-799	2167(25.6)	2100(25.5)	67(28.6)	
	800	626(7.4)	607(7.4)	19(8.1)	
出産歴	初産	4512(45.8)	4392(45.8)	120(44.6)	0.710
	経産	5346(54.2)	5197(54.2)	149(55.4)	
妊娠前BMI	< 18.5	1703(17.5)	1651(17.4)	52(19.5)	0.679
	18.5-24.9	7004(71.9)	6816(71.9)	188(70.4)	
	25.0	1034(10.6)	1007(10.6)	27(10.1)	
葉酸サプリメント使用	なし	7479(82.5)	7280(82.5)	199(81.6)	0.67
	あり	1587(17.5)	1542(17.5)	45(18.4)	
葉酸サプリメント開始時期	使用なし	8418(84.5)	8191(84.5)	227(83.5)	0.544
	妊娠前3ヶ月から	130(1.3)	128(1.3)	2(0.7)	
	妊娠前3ヶ月未満	1418(14.2)	1375(14.2)	43(15.8)	
妊娠12週までの飲酒	なし	5940(89.8)	5780(89.8)	160(88.9)	0.674
	あり	673(10.2)	653(10.2)	20(11.1)	
妊娠14週までの喫煙	なし	8307(84.9)	8077(84.9)	230(86.1)	0.604
	あり	1478(15.1)	1441(15.1)	37(13.9)	
児					
性別	男児	5101(51.0)	4956(51.0)	145(53.5)	<0.001
	女児	4877(48.8)	4755(48.9)	122(45.0)	
	不分明	15(0.2)	11(0.1)	4(1.5)	
出生時体重(g)		3020 ± 487 ^a	3029 ± 469 ^a	2762 ± 839 ^a	<0.001

a: 平均値 ± 標準偏差

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. 妊娠初期血清葉酸値と先天性単発奇形

	全体 n=10,185 平均値 ± SD (range)	対照群 n=9,735 平均値 ± SD (range)	症例群 n=272 平均値 ± SD (range)	p値
血清葉酸値(ng/ml)	8.0 ± 7.3 (2.0-505.0)	8.0 ± 7.4 (2.0-505)	8.2 ± 4.9 (3.0-41.0)	0.366
	n(%)	n(%)	n(%)	
第1三分位 6.1	3305(33.0)	3208(33.0)	97(35.7)	0.568
第2三分位 6.2-8.1	3395(33.0)	3303(33.9)	92(33.8)	
第3三分位 8.2	3307(33.0)	3224(33.1)	83(30.5)	

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. 妊婦属性, 環境要因別の妊娠初期血清葉酸値と先天性単発奇形との関連

		全体 n=10,185 平均値 ± SD	対照群 n=9,735 平均値 ± SD	症例群 n=272 平均値 ± SD	p値
母親					
年齢(歳)	<20	6.0 ± 1.7	6.0 ± 1.7	6.7 ± 0.5	0.674
	20-29	7.6 ± 6.1	7.6 ± 6.1	7.5 ± 3.7	
	30-39	8.4 ± 8.6	8.4 ± 8.7	8.8 ± 5.7	
	40	8.6 ± 4.4	8.5 ± 4.4	12.7 ± 8.5	
教育年数(年)	< 10	7.0 ± 3.2	7.0 ± 3.1	9.9 ± 5.0	0.673
	10-12	7.5 ± 3.4	7.5 ± 3.3	7.4 ± 3.9	
	13-15	8.4 ± 10.7	8.4 ± 10.8	8.6 ± 5.5	
	16	9.0 ± 5.2	9.1 ± 5.2	8.3 ± 5.0	
世帯収入(万円)	< 300	7.4 ± 3.7	7.4 ± 3.7	7.6 ± 4.9	0.543
	300-499	8.0 ± 6.8	8.0 ± 6.8	8.1 ± 4.1	
	500-799	8.5 ± 11.4	8.5 ± 11.5	8.4 ± 3.7	
	800	9.1 ± 7.3	9.0 ± 7.9	11.5 ± 11.3	
出産歴	初産	8.2 ± 7.1	8.2 ± 7.1	8.9 ± 6.3	0.647
	経産	7.8 ± 7.7	7.8 ± 7.8	7.7 ± 3.4	
妊娠前BMI	< 18.5	8.1 ± 5.6	8.0 ± 5.6	8.7 ± 6.6	0.673
	18.5-24.9	8.0 ± 8.2	8.0 ± 8.3	8.0 ± 4.1	
	25.0	7.7 ± 3.7	7.7 ± 3.6	8.7 ± 6.6	
葉酸サプリメント使用	なし	7.1 ± 4.7	7.1 ± 4.8	6.9 ± 3.1	0.714
	あり	12.0 ± 13.9	11.9 ± 14.0	13.4 ± 7.8	
葉酸サプリメント開始時期	使用なし	7.3 ± 5.0	7.3 ± 5.0	7.2 ± 3.3	0.643
	妊娠前3ヶ月から	16.2 ± 9.2	16.1 ± 9.2	21.5 ± 10.7	
	妊娠前3ヶ月未満	11.5 ± 14.3	11.5 ± 14.4	13.0 ± 7.6	
妊娠12週までの飲酒	なし	8.1 ± 6.4	8.1 ± 6.4	8.4 ± 5.1	0.861
	あり	8.6 ± 19.4	8.7 ± 19.7	6.9 ± 2.3	
妊娠14週までの喫煙	なし	8.2 ± 7.9	8.2 ± 8.0	8.4 ± 5.2	0.689
	あり	7.0 ± 2.9	7.0 ± 2.9	6.6 ± 2.1	
児					
性別	男児	8.1 ± 9.6	8.1 ± 9.7	8.0 ± 5.0	0.662
	女児	7.9 ± 4.0	7.8 ± 3.9	8.4 ± 4.9	
	不分明	7.4 ± 2.3	6.7 ± 1.8	9.4 ± 2.6	

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. 妊娠初期血清葉酸値，葉酸サプリメント摂取開始時期，妊娠初期の喫煙と先天性単
 発奇形との関連

		単発奇形			
		p値	Crude OR(95%CI)	p値	Ajusted OR(95%CI)
第1三分位	6.1 (ng/ml)		1.18(0.87-1.58)	0.184	1.25(0.90-1.72)
第2三分位	6.2-8.1	0.289	1.08(0.80-1.46)	0.541	1.10(0.80-1.54)
第3三分位	8.2	0.608	refrence		refrence
葉酸サプリメント摂取時期	使用なし		refrence		refrence
	妊娠前3ヶ月未満	0.423	0.56(0.14-2.29)	0.497	0.61(0.15-2.51)
	妊娠前3ヶ月未満	0.474	1.13(0.81-1.57)	0.57	1.11(0.78-1.59)
妊娠14週までの喫煙	なし		refrence		refrence
	あり	0.604	0.90(0.63-1.28)	0.786	0.95(0.64-1.40)

教育年数，世帯収入，妊娠時年齢，出産歴で調整

妊娠初期(第1三半期)の母体血清葉酸濃度と流早産リスク等に関する研究

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

研究要旨

妊娠初期(第1三半期)の母体血清葉酸濃度と後期流産・早産，在胎週数，胎児発育に関連があるかについて，前向きコホート研究へ参加した5,075名の単胎妊婦で検討した。その結果，我が国の妊娠女性においては，妊娠初期の血清葉酸濃度は，これらの妊娠転帰と関連しないことが示唆された。

研究協力者

山田 俊
(北海道大学病院周産母子センター)

A．研究目的

葉酸摂取が胎児二分脊椎の罹患率や再発率を低下させるとの報告があり(MRC Vitamin Study Group 1991, Czeizel 1992)，妊婦の葉酸摂取が多く、国・地域で推奨されるようになってきている。葉酸は核酸の代謝に関わる補酵素であり，妊娠期には胎児成長・胎盤形成に伴い需要が増すと考えられる。栄養状態の悪い妊婦では，葉酸摂取により出生体重が増加することが観察されている(EK 1981)。葉酸は核酸の代謝に関わる補酵素であり，妊娠期には胎児成長・胎盤形成に伴い需要が増すと考えられる。栄養状態の悪い妊婦では，葉酸摂取により出生体重が増加することが観察されている(EK 1981)。葉酸はホモシステイン代謝にも関与しており，血清葉酸濃度と血清ホモシステイン値は負の相関を示す。高ホモシステイン血症は，流産や胎盤早期剥離，重症妊娠高血圧腎症と関連がある。第2三半期に葉酸が低いこと(16.3ng/ml)は早産リスクである(Siegg-Ritz 2004)。

母体の妊娠初期の血清葉酸濃度と流早産・妊娠持続期間，出生体重に関連があることが推測されるが，明確なエビデンスは

得られてない。全般的な栄養状態や国・地域の生活習慣にも影響されると考えられることから，我が国の妊娠女性においてこれらについての関連の有無を明らかにすることは，適切な妊娠管理方法を行う上で有用である。

本研究では，我が国の妊娠女性において，妊娠初期(第1三半期)の血清葉酸濃度と後期流産・早産や在胎週数，胎児発育不全に関連があるかを検討することを目的とした。

B．研究方法

1．対象

北海道内の約40産科医療施設で実施した出生前向きコホート研究で同意を得られた妊婦のうち，2003年2月から2006年3月までに妊娠初期(第1三半期)の血清葉酸濃度を測定した5,075名を対象とした。

2．方法

母体血清葉酸濃度は化学発光免疫測定法(CLIA法)により(株)エスアールエルで測定した。対象者の属性(母年齢，妊娠前BMI，初経産，不妊治療，葉酸サプリメント摂取，喫煙，飲酒，年収など)は妊娠初期に実施した自記式調査票，出生時所見は新生児個票から得た。

母体血清葉酸濃度と以下の転帰との関連について解析した。

【転帰】 在胎週数 出生体重 後期流産・早産の有無 胎児発育不全の有無
後期流産は「妊娠 12 週以降 22 週未満の死産」, 早産は「妊娠 22 週以降の生産」, 胎児発育不全は「妊娠 22 週以降に分娩となった症例の中で, 我が国の在胎週数別・性別・初経産別の出生時体格基準表(板橋ら 2010)において 10% タイル未満のもの (SGA)」とした。

ANOVA および χ^2 検定, Tukey HSD 検定, t-検定を用い, $p < 0.05$ を有意水準とした。

(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。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

(1) 母の基本的属性と母体血清葉酸濃度・流早産

母年齢が高いほど血清葉酸濃度が高い傾向が認められた (Table 1-1)。葉酸サプリメント摂取群では, 血清葉酸濃度が有意に高値であった (Table 1-2)。喫煙群では, 血清葉酸濃度は有意に低かった。また, 年収が高いほど血清葉酸濃度は高い傾向がみられた (Table 1-3)。

(2) 母体血清葉酸濃度四分位別の転帰

後期流産率と早産率, 在胎週数, 出生体重, SGA の割合は, 血清葉酸濃度で分けた 4 群間でいずれも有意差を認めなかった (Table 2)。

(3) 在胎週数と母体血清葉酸濃度

在胎週数で分けた 4 群間で, 在胎週数 37 週以上の群が, 在胎週数 28-36 週の群よりも血清葉酸濃度が低かった (Table 3)。葉酸欠乏症に相当する血清葉酸濃度を示した 20 例 (0.39%) のうち, 19 例は満期産であり, 出生体重は 3132 ± 321 g (平均 \pm 標準偏差) であった。

D. 考察

海外からの報告には, 妊娠初期の血清葉酸濃度が低いことと早産や胎児発育不全の関連を示唆したものが幾つかあるが, 本研究の結果は両者の関連を示さなかった。我が国の早産率が低い水準であることや, 妊婦の栄養摂取の特徴, 妊娠管理が充実していることなどが, 低い血清葉酸濃度が早産や胎児発育不全の危険因子とならないことの要因かもしれない。

本研究では, 血清葉酸値は妊婦の担当医に報告しているが, 介入すべき血清葉酸値の基準は統一されていないため, 妊婦への対応は医師に任せられている。結果を知らせた後に, 葉酸摂取が行われたかについて調査されていないが, 葉酸値の低いことを指摘された妊婦が, 葉酸を摂取したことが影響した可能性は否定できない。

E. 結論

妊娠初期 (第 1 三半期) の母体血清葉酸濃度と後期流産・早産, 在胎週数, 胎児発育に関連があるかについて, 前向きコホート研究へ参加した 5,075 名の単胎妊婦で検討した。その結果, 我が国の妊娠女性においては, 妊娠初期の血清葉酸濃度は, これらの妊娠転帰と関連しないことが示唆された。

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

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

Table 1-1. Relationships between demographic characteristics, serum folate levels, late abortion, and preterm birth

		Serum folate level (nmol/L)	Late abortion	Preterm delivery
Overall	(n=5075)	18.4 ± 21.6	48 (1.0%)	220 (4.3%)
Maternal age (years)				
≤19	(n=46)	13.2 ± 4.0	0 (0.0%)	2 (4.4%)
20–29	(n=2370)	17.2 ± 8.1 †	18 (0.8%)	90 (3.8%)
30–39	(n=2565)	19.6 ± 29.2	27 (1.1%)	124 (4.8%)
≥40	(n=94)	19.5 ± 10.7	3 (3.2%)	4 (4.3%)
p-value		0.0004 ^b	0.0825 ^a	0.3626 ^a
prepregnancy BMI (kg/m ²)				
<18.5	(n=899)	17.8 ± 11.0	9 (1.0%)	42 (4.7%)
18.5–24.9	(n=3528)	18.8 ± 25.0	31 (0.9%)	140 (4.0%)
≥25.0	(n=550)	17.3 ± 8.2	7 (1.3%)	37 (5.6%)
p-value		0.2082 ^b	0.6611 ^a	0.1617 ^a
Parity				
0	(n=1075)	18.2 ± 9.4	8 (0.7%)	46 (4.3%)
≥1	(n=2570)	18.3 ± 24.2	33 (1.3%)	107 (4.2%)
p-value		0.8855 ^b	0.1587 ^a	0.8739 ^a

a: χ^2 -test, b: ANOVA

BMI: Body mass index

†: p=0.0005 vs. age 30–39 years

Table 1-2. Relationships between demographic characteristics, serum folate levels, late abortion, and preterm birth

		Serum folate level (nmol/L)	Late abortion	Preterm delivery
Infertility treatment				
no	(n=4871)	18.3 ± 21.9	45 (0.9%)	208 (4.3%)
yes	(n=185)	20.8 ± 11.1	3 (1.6%)	10 (5.4%)
p-value		0.1246 ^b	0.3367 ^a	0.4556 ^a
Folate supplementation				
no	(n=4499)	16.9 ± 13.8	43 (1.0%)	194 (4.3%)
after conception	(n=389)	29.2 ± 59.2 ‡	4 (1.0%)	19 (4.9%)
before conception	(n=129)	36.0 ± 19.0 ¶	1 (0.8%)	5 (3.9%)
p-value		<0.0001 ^b	0.9888 ^a	0.4694 ^a

a: χ^2 -test, b: ANOVA

‡: p= 0.0089 vs. no folate supplementaion, ¶: p<0.0001 vs. no folate supplementaion and folate supplementaion after conception

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

Table 1-3. Relationships between demographic characteristics, serum folate levels, late abortion, and preterm birth

		Serum folate level (nmol/L)	Late abortion	Preterm delivery
Smoking				
no	(n=2207)	19.5 ± 26.3	18 (0.8%)	99 (4.5%)
yes	(n=2820)	17.7 ± 17.2	30 (1.1%)	119 (4.2%)
p-value		0.0038 ^b	0.3691 ^a	0.646 ^a
Alcohol				
no	(n=1866)	17.8 ± 16.9	18 (1.0%)	92 (5.0%)
yes	(n=3167)	18.8 ± 18.0	30 (1.0%)	125 (4.0%)
p-value		0.1339 ^b	0.9512 ^a	0.0971 ^a
Annual income (USD)				
<36,585	(n=889)	17.2 ± 9.7	11 (1.2%)	33 (3.7%)
36,586–60,974	(n=1927)	18.4 ± 20.1	11 (0.6%)	87 (4.5%)
60,975–97,560	(n=1092)	19.7 ± 35.5	16 (1.5%)	47 (4.3%)
>97,561	(n=323)	20.2 ± 9.7	4 (1.2%)	13 (4.0%)
p-value		0.066 ^b	0.0817 ^a	0.7985 ^a

a: χ^2 -test, b: ANOVA

USD: United States Dollar, Exchange rate: 1 USD/ 82.00 Japanese Yen

Table 2. Preterm birth, gestational week at delivery, and fetal growth according to serum folate levels

Serum folate level (nmol/L)	Late abortion Preterm delivery	Gestational age at delivery (wk)	Birthweight (g)	SGA (<10%tile)
Overall (n=5075)	268 (5.3%)	38.5 ± 2.9	3020 ± 485	7.1%
≤13.1 (n=1244)	71 (5.7%)	38.5 ± 3.0	3007 ± 474	5.5%
13.2–16.1 (n=1303)	72 (5.5%)	38.5 ± 3.1	3008 ± 528	7.6%
16.2–20.0 (n=1273)	60 (4.7%)	38.7 ± 2.4	3042 ± 447	6.8%
≥20.1 (n=1255)	65 (5.2%)	38.5 ± 2.8	3021 ± 487	8.4%
p-value	0.6928 [†]	0.2531 [‡]	0.2372 [‡]	0.1135 [†]

†: χ^2 -test, ‡: ANOVA

SGA: small for gestational age

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

Table 3. Serum folate levels according to gestational week at delivery

Gestational week at delivery (week)		Serum folate level (nmol/L)
Overall	(n=5075)	18.4 ± 21.6
14–21	(n=48)	17.3 ± 12.0
22–27	(n=12)	20.4 ± 10.9
28–36	(n=208)	22.3 ± 55.8
≥37	(n=4807)	18.2 ± 18.8 †

†: p<0.05 vs. 28–36 weeks

出生時体格に影響を及ぼす妊婦の受動喫煙曝露

(Prenatal secondhand smoke exposure is associated with infant birth size)

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 センター長・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 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

研究要旨

The hazardous effect of tobacco smoke exposure during pregnancy is a major public health concern. Maternal smoking has been associated with adverse birth outcomes. We investigated the association between secondhand smoke (SHS) exposure and infant birth size. A prospective cohort of 2,792 non-smoking Japanese pregnant women who delivered singleton babies at hospitals within Hokkaido Prefecture from 2003 to 2007 was conducted. Information on maternal and infants' characteristics, and lifestyle behaviors were gathered through self-administered questionnaires as well as hospital and birth records. Biochemical analysis of plasma cotinine was carried out using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) technique. Overall, an average increase in prenatal SHS exposure by about 0.66ng/mL, i.e. from 25th percentile (0.15ng/mL) to 75th percentile (0.81ng/mL) resulted in a mean reduction in birth weight of 61.4g (95% CI:-100.5, -22.3; $p=0.002$), birth length of 0.6cm (95%CI:-0.9, -0.2; $p=0.002$) and birth head circumference of 0.6cm (95%CI:-1.0, -0.1; $p=0.007$). The corresponding exposure brought about a mean birth weight deficit of 70g (95%CI:-124.9, -15.2; $p=0.012$) and head circumference deficit of 0.5cm (95%CI: -1.0, -0.03; $p=0.037$) in male infants and a birth length decrease of 0.8cm (95%CI:-1.3, -0.2; $p=0.011$) in female infants. This study concluded that maternal tobacco smoke exposure during pregnancy through passive route has negative effects on infant birth size especially the males.

研究協力者

Braimoh Titilola, 宮下 ちひろ
馬場 俊明, 櫻野 いく子
岡田 恵美子, 小林 澄貴
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)
Yila Thamar
(北海道大学環境健康科学研究教育センター)

A . 研究目的

Maternal active smoking is associated with adverse pregnancy and birth outcomes such as placenta previa, abruptio placentae, ectopic pregnancy, spontaneous abortion, preterm delivery, low birth weight and perinatal mortality. Results of few studies on the negative effects of secondhand smoke (SHS) exposure on

birth outcomes are not clearly defined. Lack of clarity is probably due to the evaluation of SHS exposure using only self-administered questionnaires, measurement of cotinine levels in body fluids during the early gestation or failure to control for gestational age, a major determinant of birth weight.

In order to improve the reliability and validity of assessments by self-reported questionnaires, the use of biomarkers have been recently introduced. Cotinine, a widely studied biomarker, is a main metabolite of nicotine which can be found in blood, saliva, hair or urine analysis of SHS-exposed nonsmoker. Given the high prevalence of smoking among the Japanese men and the reluctance of most husbands to quit smoking during their wives' pregnancy, nonsmoking pregnant women in Japan are at a risk of exposure to SHS especially at home. The impact of SHS exposure on the unborn fetus remains a significant public health concern as birth size of a newborn greatly determines its survival, perinatal morbidity and adulthood health conditions.

Gender-specific difference in the effect of environmental pollutants on birth outcomes has been recently reported but with inconsistent results. Birth weight of male infants was more negatively affected by prenatal toxic exposure such as smoking, lead and airborne fine particles than the females. Contrariwise, maternal smoking during pregnancy has higher

significantly negative influence on the mean birth weight and risk of small for gestational age (SGA) in newborn girls than in boys. In this study, we investigated the effects of maternal exposure to SHS during pregnancy on birth size using plasma cotinine concentrations as a biomarker for nicotine exposure. Gender-specific difference in fetal growth reduction was also assessed.

B . 研究方法

A total of 2972 Japanese pregnant women were recruited from 2003 to 2007 from the ongoing "Hokkaido study on Environment and Children's Health". Vital information were gathered from baseline self-administered questionnaires, infants' hospital birth records and post-partum self-administered questionnaires. Biochemical analysis of maternal blood specimens collected during the third trimester was carried out through enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) technique (Cosmic Corporation, Japan) with a limit of detection of 0.12ng/mL.

Briefly, the ELISA 96-well plates coated with a rabbit anti-cotinine-4-bovine- γ -globulin polyclonal antibody were first incubated with 1% bovine serum albumin (BSA) after which 25 μ l of blood plasma samples and 100 μ l horseradish peroxidase-labeled (HRP) cotinine were added. The mixture was left to incubate at 20-25°C for 1 hour. Subsequent to three

washes with 1% BSA, peroxidase substrate, tetramethylbenzidine, and H₂O₂ were added (Kirkegaard & Perry Laboratories, Gaithersburg, MD). The mixture was re-incubated for 30 minutes in the dark at the same temperature and 100µl phosphoric acid was added to the wells to stop enzyme activity. The absorbance was read at a wavelength of 450nm using an ELISA reader (E_{max}; Molecular Devices, Sunnyvale, CA)

The main birth outcomes were birth weight, length and head circumference and their relationship with maternal and infants' characteristics were examined with the student's t-test, Spearman's correlation test and analysis of variance (ANOVA). Next, their associations with exposure were examined using univariate and multivariate regression models. The main exposure variable (plasma cotinine concentration) was categorized by quartiles (<0.16, 0.16 - 0.33, 0.34 - 0.80 and >0.80ng/mL). First, their crude effects were examined and later adjusted for confounding variables such as maternal age, pre-pregnancy maternal weight, height, educational level, annual household income, parity, infant gender and gestational age at delivery. The subjects with undetectable cotinine levels were assigned a value half the detection limit (0.06ng/mL). Another multiple linear regression model was used to elucidate the gender-specific

difference in the effect of SHS exposure on infant birth size by stratifying with infant gender. All statistical analyses were performed using the Statistical Packages for Social Sciences (SPSS, Inc., Chicago, USA) software for Windows version 16.0.

（倫理面への配慮）

This study was conducted with the informed consent of all subjects and approved by the institutional ethical board for human gene and genome studies of the Hokkaido University Center for Environmental and Health Sciences and the Hokkaido University Graduate School of Medicine.

C . 研究結果

In our earlier study, cut-off points for distinguishing the smoking statuses were established. Thus, those women whose plasma cotinine levels suggested active smoking (>11.48ng/mL) were excluded.

In the current study, 80.7% of the overall study population has detectable plasma cotinine levels (≥0.12ng/mL). Table 1 summarizes the maternal and infants' characteristics in relation to birth size. Maternal age ranged from 17 to 44 years, with a mean (±SD) of 30.2 ± 4.4 years. Mean (±SD) pre-pregnancy weight and mean (±SD) maternal body mass index (BMI) were 52.8 ± 8.6 kg and 21.1 ± 3.2 kg/m² respectively. More mothers were

multi-parous (50.5%), less educated (83.3%), low-income earners (54.3%) and drank alcohol during pregnancy (61.3%). Mean (\pm SD) gestational age was 39.1 ± 1.1 weeks. The associations of birth size with maternal and infants' characteristics are also shown in Table 1. Maternal height, pre-pregnancy weight, BMI and gestational age positively correlated with birth weight, birth length and head circumference ($p < 0.001$). Maternal age positively correlated with birth head circumference but negatively with birth length ($p < 0.001$). First infants were smaller than subsequent babies ($p < 0.001$). Male infants were bigger, taller and had bigger head circumference than the females at birth ($p < 0.001$).

Table 2 shows the maternal and infants' characteristics in relation to plasma cotinine levels. Mothers with the highest cotinine levels are more likely to be significantly younger, nulliparous (51.5%), less educated (56.0%), earn less than 5 million yen per annum (70.4%), have husbands who smoke more than 20 cigarettes per day (5.8%) in comparison to those in the lower cotinine quartile groups.

Figure 1 shows the mean birth weight, birth length and head circumference in relation to cotinine quartile levels respectively. The mean (\pm SD) birth weight, birth length and head circumference of infants in the highest cotinine quartile (Q4) were 3058.8 ± 362.6 g, 48.9 ± 4.1 cm, and

32.9 ± 3.8 cm respectively; and lower in comparison to those of lower quartile groups.

Table 3 shows the multivariate regression analysis of birth size and plasma cotinine concentrations. In the adjusted model, the known risk factors of birth size from previous literature (maternal age, maternal height, maternal pre-pregnancy weight, educational level, annual household income, number of cigarettes smoked by partner per day, parity, infant gender, gestational age and delivery mode (included for head circumference)) were included. When all infants were considered, an inverse relationship of cotinine levels with infant birth weight, length and head circumference in the adjusted model was observed. Mothers in the highest quartile (>0.80 ng/mL) group gave birth to babies with significantly lower birth weight (61.4g; 95%CI:-100.5, -22.3; $p=0.002$), birth length (0.6cm; 95%CI:-0.9, -0.2; $p=0.002$) and head circumference (0.6cm; 95%CI:-1.0, -0.1; $p=0.007$) than those in the lowest quartile group (<0.16 ng/mL). Significant deficits in the mean birth weight (-70g; 95%CI:-124.9, -15.2; $p=0.012$) at the highest cotinine level and in the birth head circumference both at the 2nd (-0.6cm, 95%CI:-1.1, -0.1, $p=0.011$) and 4th quartiles (-0.5cm, 95%CI:-1.0, -0.003, $p=0.037$) of male infants were observed. On the other hand, reduction in the birth length of female infants was associated with

highest SHS exposure (-0.8cm, 95%CI:-1.3, -0.2, $p=0.011$).

D . 考察

The major strength of this study is the use of plasma cotinine measurements for assessing SHS exposure which reduces the possibility of misclassification bias. The current study found an association of high SHS exposure during pregnancy with reduced mean birth weight, birth length and birth head circumference, before and after adjusting for potential confounding factors. Our finding of an inverse relationship of plasma cotinine concentrations with birth outcomes confirms the results of two studies which observed the greatest effect of prenatal SHS exposure on birth weight at the highest cotinine levels. A decrease of 108g in the mean birth weight of infants with mothers in the upper tertile cotinine levels (>1ng/mL) in comparison with those of lower tertile (<0.5ng/mL) mothers (Haddow et al. 1988). Also, neonates of women with cotinine levels >1.7ng/mL were 85g smaller than those of lowest quintile range (Rebagliato et al. 1995).

In a study of 263 nonsmoking African-Americans and Dominican women, high prenatal exposure to PAHs was associated with lower birth weight and smaller head circumference (Perera et al. 2003). Nicotine exposure on pregnancy causes a transient reduction in

uterine blood flow due to early morphological changes of the placenta, while carbon monoxide in tobacco smoke can result in hypoxemia. Consequently, the birth weight, birth length and head circumference of the fetus may be reduced. The fundamental mechanisms of tobacco smoke effects on fetal growth need more clarifications and may possibly be multi-factorial.

Reduction in head circumference at birth has been correlated with a lower intelligence quotient (IQ), cognitive impairment, school performance in childhood and schizophrenia.

Our study provided an evidence of a gender difference in the effect of SHS exposure during pregnancy, with the male fetuses appearing to be more vulnerable to the exposure than the female ones. Overall average increase in exposure to SHS by about 0.66ng/mL gave rise to birth weight reduction of 70g (95% CI:-124.9, -15.2) in male infants compared to 50g (95%CI:-105.9, 5.7) in female infants. There are conflicting findings in previous studies regarding the effect of gender-specific differences. While a greater negative effect of heavy smoking in girls than in boys has been reported in a study, male fetuses have been observed to be more susceptible to the negative effect of active tobacco smoke than the females in other studies (Zaren et al. 2000, Varvarigou et al. 2009). Prenatal

exposure to fine particulate matters affected the birth size of male infants more than females (Jedrychowski et al. 2009). The gender-specific effect can be explained by the fact that the growth rate of male fetuses is normally higher than the females, hence, the effect of the factors restraining fetal development could be greater in fetuses with faster intrauterine growth. Demands on blood circulation, oxygen or fuels related to faster growth rate are also greater by the male gender. Differences exist in hormonal conditions based on gender. During the second half of the second trimester of pregnancy, the vulnerability to toxic effects of tobacco smoke chemicals increases as the brain begins its growth spurt (for example, glial cells and axon growth, dendrites' branching and synapses' formation) at this period.

The design of this study as a prospective cohort reduces recall bias. Second, exclusion of preterm births eliminates confounding from pregnancy complications and concentrates on fetal development. Third, the selection of study participants from 37 hospitals within Hokkaido eradicates the possibility of selection bias.

E . 結論

SHS exposure obviously has adverse effects on fetal growth especially among the male fetuses. The greater vulnerability of the male

fetuses may be due to their faster intrauterine growth and different hormonal conditions. It remains unclear why the birth length of the female fetuses suffers more negative effect than that of the males. There is the need to further investigate into this in future studies.

F . 研究発表

1.論文発表

1. Seiko Sasaki, Titilola S. Braimoh, Thamar A. Yila, Eiji Yoshioka, Reiko Kishi. Self-reported tobacco smoke exposure and plasma cotinine levels during pregnancy – A validation study in Northern Japan. *Science of the Total Environment* 2011; 412-413: 114-118.

2.学会発表

1. Titilola S. Braimoh, Seiko Sasaki, Thamar A. Yila, Toshiaki Baba, Chihiro Miyashita, Emiko Okada, Ikuko Kashino, Kumiko Ito, Sumitaka Kobayashi, Eiji Yoshioka, Reiko Kishi. Effects of prenatal environmental tobacco smoke exposure on infant birth size. *The American Public Health Association (APHA) 139th Annual Meeting and Exposition*. Oct 29 – Nov. 2, 2011. Washington DC, USA.
2. Titilola S. Braimoh, Seiko Sasaki, Thamar A. Yila, Toshiaki Baba, Chihiro Miyashita, Emiko Okada, Ikuko Kashino, Sumitaka Kobayashi, Eiji Yoshioka, and Reiko Kishi. Effects of exposure to

- second-hand smoke during pregnancy on birth size. Women's Health Conference. April 2, 2011. New York, USA.
3. Titilola S. Braimoh, Seiko Sasaki, Thamar A. Yila, Toshiaki Baba, Chihiro Miyashita, Emiko Okada, Ikuko Kashino, Sumitaka Kobayashi, Eiji Yoshioka, and Reiko Kishi. Self-reported exposure to tobacco smoke and plasma cotinine during pregnancy - The Hokkaido Study on Environment and Children's Health. The 80th Annual Meeting of the Japanese Society for Hygiene. May 9 -11, 2010. Sendai, Japan.
 4. Ivanovic DM, Leiva BP, Pérez HT, Olivares MG, Díaz NS, Urrutia MSC, et al. Head size and intelligence, learning, nutritional status and brain development: Head, IQ, learning, nutrition and brain. *Neuropsychologia* 2004; 42: 1118-31.
 5. Jedrychowski W, Perera F, Mrozek-Budzyn D, Mroz E, Flak E, Spengler JD, et al. Gender differences in fetal growth of newborns exposed prenatally to air borne fine particulate matter. *Environmental Research* 2009; 109: 447-456.
 6. Perera FP, Rauh V, Tsai WY, Kinney P, Camann D, Barr D, Bernert T, Garfinkel R, Tu YH, Diaz D, Dietrich J and Whyatt RM. Effects of transplacental exposure to environmental pollutants on birth outcomes in a multiethnic population. *Environmental Health Perspectives* 2003; 111 (2): 201-5.
 7. Rebagliato M, Florey CDV, Bolumar F. Exposure to environmental tobacco smoke in nonsmoking pregnant women in relation to birth-weight. *Am J Epidemiol.* 1995; 142(5):531-7.
 8. Robinson JS, Moore VM, Owens JA, McMillen IC. Origins of fetal growth restriction. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000; 92:13-9.
 9. Saito R. The smoking habits of pregnant women and their husbands, and the effect on their infants. *Jpn J Public Health* 1991; 38(2): 124-31.

G . 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

参考文献

1. Benowitz NL. Biomarkers of environmental tobacco smoke exposure. *Environmental Health perspectives* 1999; 107 (Suppl. 2): 349-55.
2. Haddow JE, Knight GJ, Palomaki GE, McCarthy JE. Second trimester serum cotinine levels in nonsmokers in relation to birth weight. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 159(2): 481-4.
3. Hegaard HK, Kjærgaard H, Møller LF, Wachmann H, Ottesen B. The effect of environmental tobacco smoke during pregnancy on birth weight. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2006; 85: 675-81.

10. Schwarzler P, Bland JM, Holden D, Campbell S, and Ville Y. Sex-specific antenatal reference growth charts for uncomplicated singleton pregnancies at 15–40 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004; 23: 23–29.
11. Varvarigou AA, Asimakopoulou A, Beratis NG. Impact of maternal smoking on birth size: effect of parity and sex dimorphism. *Neonatology* 2009; 95: 61–7.
12. Zaren B, Lindmark G, Bakketeig L. Maternal smoking affects fetal growth more in the male fetus. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2000; 14: 118-26.

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

Table 1. Maternal and infants' characteristics in relation to birth outcomes (N= 2972)

Variables	No.	Birth weight (g)	<i>p</i> value	Birth length (cm)	<i>p</i> value	Birth head circumference (cm)	<i>p</i> value ^a
Maternal age (years)		<i>r</i> = -0.025	0.178	<i>r</i> = -0.042	0.023	<i>r</i> = 0.058	0.002
Maternal height (cm)		<i>r</i> = 0.173	<0.001	<i>r</i> = 0.188	<0.001	<i>r</i> = 0.154	<0.001
Pre-pregnancy maternal weight (kg)		<i>r</i> = 0.219	<0.001	<i>r</i> = 0.183	<0.001	<i>r</i> = 0.177	<0.001
Maternal BMI (kg/m ²)		<i>r</i> = 0.153	<0.001	<i>r</i> = 0.105	<0.001	<i>r</i> = 0.114	<0.001
Parity							
Nulliparous	1361	3078.0 ± 354.3	0.001	49.2 (2.3)	0.046	33.0 (3.1)	0.314
Multiparous	1501	3124.8 ± 365.5		49.0 (3.6)		33.1 (3.7)	
Alcohol intake during pregnancy							
No	1126	3102.5 ± 359.8	0.725	49.0 (3.7)	0.080	33.0 (3.9)	0.345
Yes	1823	3097.7 ± 361.1		49.2 (2.8)		33.1 (3.2)	
Educational level (years)							
≤12	2477	3100.0 ± 359.1	0.809	49.2 (2.3)	0.031*	33.1 (3.1)	0.261
>12	492	3096.1 ± 366.9		48.1 (3.7)		33.0 (3.8)	
Annual household income (millions of Yen)							
<5	1615	3102.0 ± 362.3	0.736	49.1 (3.1)	0.246	33.0 (3.3)	0.780
≥5	888	3096.1 ± 366.9		49.0 (3.4)		33.1 (3.9)	
Number of cigarettes smoked by partner per day							
0	1457	3101.0 ± 373.9	0.998	49.1 (3.2)	0.500	33.0 (3.3)	0.834
1 – 9	427	3104.6 ± 368.0		49.1 (3.0)		33.0 (4.0)	
10 – 19	526	3103.4 ± 333.8		48.9 (4.1)		33.1 (3.3)	
≥20	539	3102.8 ± 380.0		49.2 (1.9)		33.2 (3.3)	
Gestational age (weeks)		<i>r</i> = 0.303	<0.001	<i>r</i> = 0.316	<0.001	<i>r</i> = 0.112	<0.001
Infant gender							
Male	1436	3146.9 ± 354.9	<0.001	49.5 (2.9)	<0.001	33.3 (3.2)	<0.001
Female	1536	3056.2 ± 360.1		48.8 (3.4)		32.8 (3.7)	

^a Spearman's correlation test, Student's *t* test, ANOVA

^b Mean (SD)

BMI, body mass index SD, standard deviation

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

Table 2. Maternal characteristics in relation to plasma cotinine levels during pregnancy (N= 2972)

Variable	<0.16ng/mL (n = 784)	0.16 - 0.33ng/mL (n = 714)	0.34 - 0.80ng/mL (n = 743)	>0.80ng/mL (n = 731)	p value ^a
Maternal age (years) ^b	31.1 (4.2)	30.6 (4.1)	29.8 (4.2)	29.1 (4.5)	<0.001 [§]
Nulliparous	336 (43.6)	339 (48.8)	339 (46.9)	347 (51.5)	0.024
Multiparous	434 (56.4)	356 (51.2)	384 (53.1)	327 (48.5)	
Alcohol intake during pregnancy					
No	292 (37.5)	269 (38.0)	287 (39.0)	278 (38.2)	0.939
Yes	487 (62.5)	439 (62.0)	448 (61.0)	449 (61.8)	
Educational level (years)					
≤12	277 (35.7)	294 (41.4)	326 (44.2)	405 (56.0)	<0.001
>12	498 (64.3)	416 (58.6)	412 (55.8)	318 (44.0)	
Annual household income (millions of Yen)					
<5	390 (59.4)	378 (61.2)	427 (67.7)	420 (70.4)	<0.001
≥5	267 (40.6)	240 (38.8)	204 (32.3)	177 (29.6)	
Number of cigarettes smoked by partner per day					
0	565 (72.5)	385 (54.1)	308 (41.6)	203 (27.8)	<0.001
1 – 9	119 (15.3)	188 (26.4)	216 (29.2)	257 (35.3)	
10 –19	90 (11.6)	122 (17.1)	179 (24.2)	227 (31.1)	
≥20	5 (0.6)	17 (2.4)	37 (5.0)	42 (5.8)	

^aChi square test, ANOVA [§]Kruskal Wallis test

^bMean (SD)

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

Table 3. Association of cotinine concentrations in maternal plasma with infant birth size (N = 2972)

	Birth weight (g)		Birth length (cm)		Head circumference (cm)	
	β (95%CI)	<i>p</i> value	β (95%CI)	<i>p</i> value	β (95%CI)	<i>p</i> value
All infants (N = 2972)						
SHS exposure						
<0.16ng/mL	Reference		Reference		Reference	
0.16 – 0.33ng/mL	-23.7 (-61.5, 14.1)	0.797	-0.1 (-0.5, 0.2)	0.542	-0.3 (-0.7, 0.1)	0.145
0.34 – 0.80ng/mL	-32.6 (-70.4, 5.7)	0.154	-0.2 (-0.5, 0.2)	0.353	-0.3 (-0.6, 0.1)	0.198
>0.80ng/mL	-61.4 (-100.5, -22.3)	0.002	-0.6 (-1.9, -0.2)	0.002	-0.6 (-1.0, -0.1)	0.007
Male infants (n = 1436)						
SHS exposure						
<0.16ng/mL	Reference		Reference		Reference	
0.16 – 0.33ng/mL	-7.0 (-59.9, 46.0)	0.797	-0.2 (-0.6, 0.2)	0.352	-0.6 (-1.1, -0.1)	0.011
0.34 – 0.80ng/mL	-38.6 (-91.7, 14.4)	0.154	-0.3 (-0.7, 0.1)	0.166	-0.4 (-0.9, 0.1)	0.121
>0.80ng/mL	-70.0 (-124.9, -15.2)	0.012	-0.4 (-0.9, 0.1)	0.093	-0.5 (-1.0, -0.03)	0.037
Female infants (n = 1536)						
SHS exposure						
<0.16ng/mL	Reference		Reference		Reference	
0.16 – 0.33ng/mL	-35.2 (-88.6, 18.2)	0.191	-0.04 (-0.6, 0.5)	0.925	-0.02 (-0.6, 0.6)	0.962
0.34 – 0.80ng/mL	-27.7 (-81.2, 25.9)	0.331	-0.1 (-0.6, 0.5)	0.840	-0.1 (-0.8, 0.5)	0.654
>0.80ng/mL	-50.1 (-105.9, 5.7)	0.092	-0.8 (-1.3, -0.2)	0.011	-0.6 (-1.2, 0.04)	0.079

CI, confidence interval

β : Change in birth weight after adjusting for maternal age, height, pre-pregnancy maternal weight, educational level, annual household income, parity, infant gender and gestational age.

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

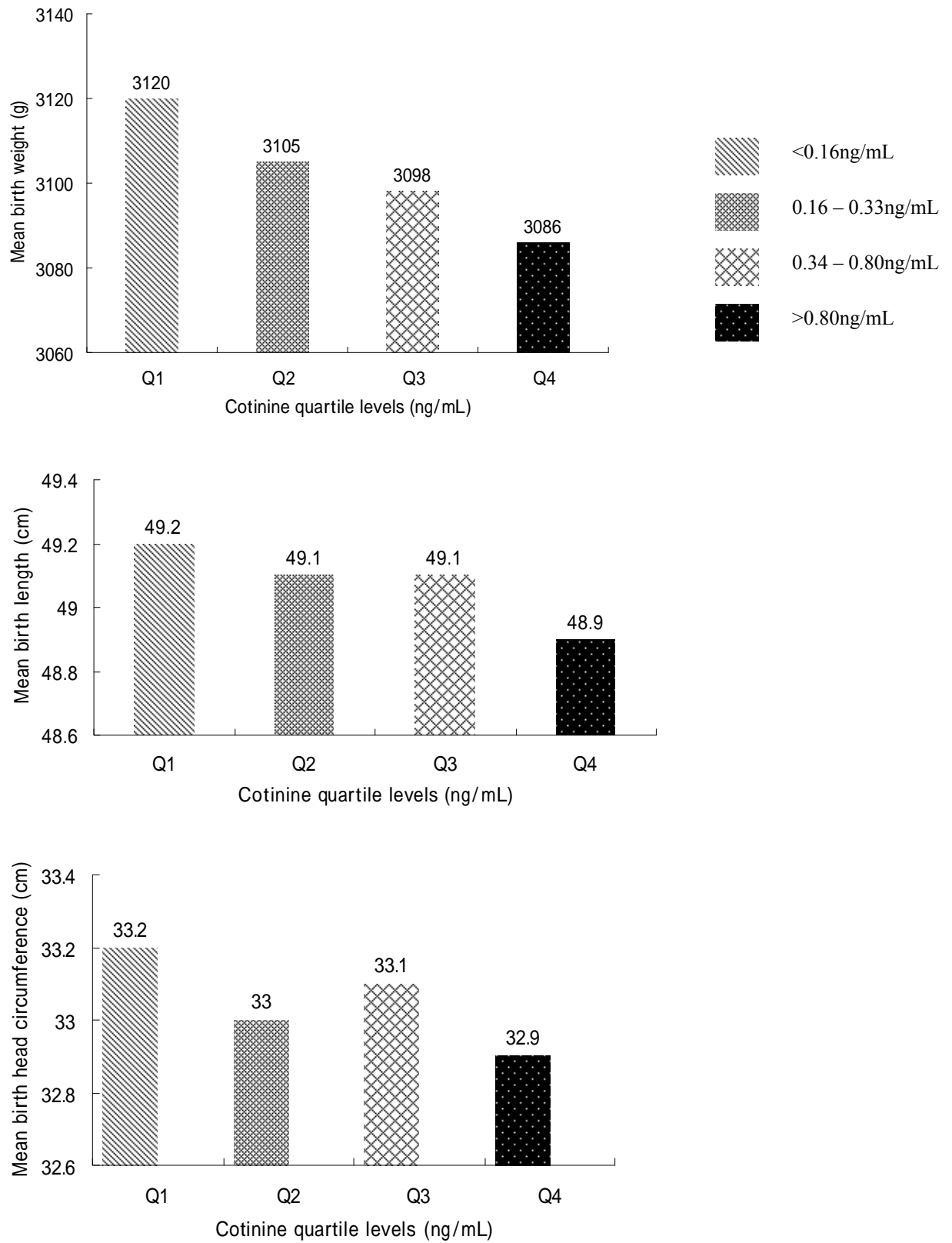


Figure 1: Fetal growth parameters and SHS exposure levels

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に、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).

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

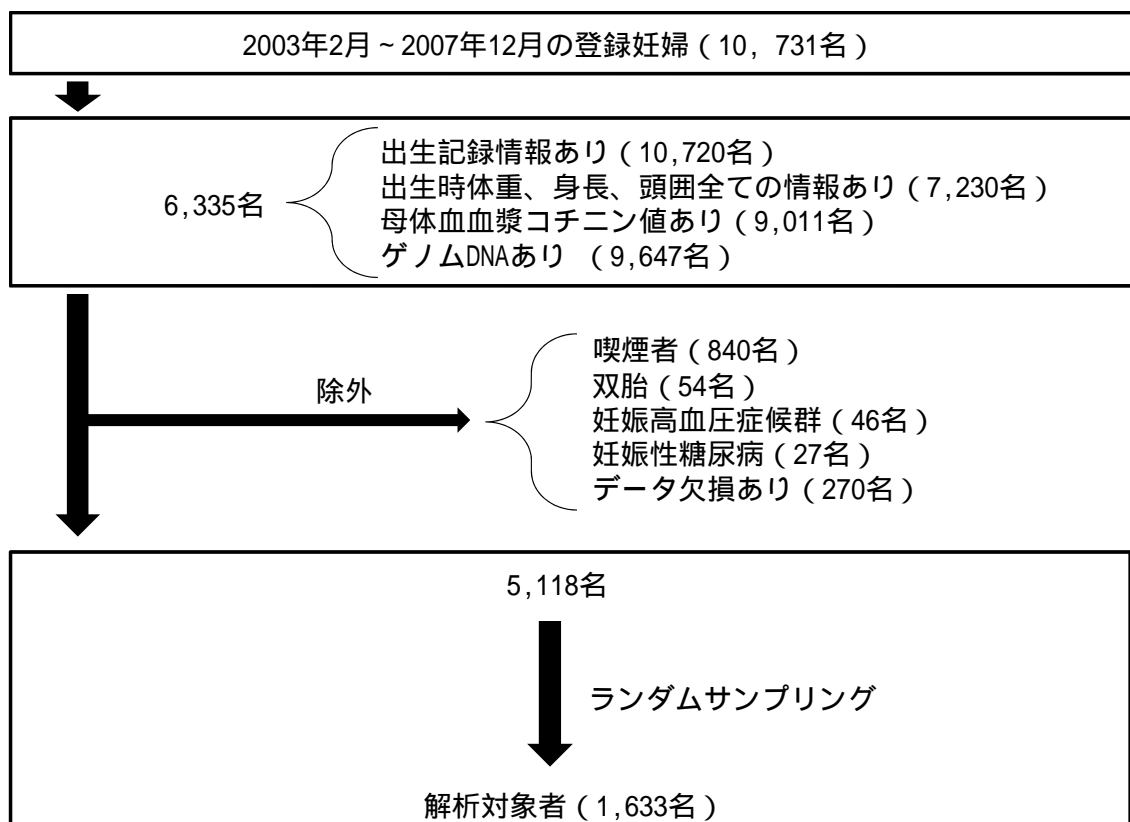
- 17) Miyashita C., et al. Effects of prenatal exposure to dioxin-like compounds on allergies and infections during infancy. *Environ Res* 111: 551-558 (2011).
- 18) Nebert D.W., Dalton D.P. The role of cytochrome P450 enzymes in endogenous signaling pathways and environmental carcinogenesis. *Nat Rev 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



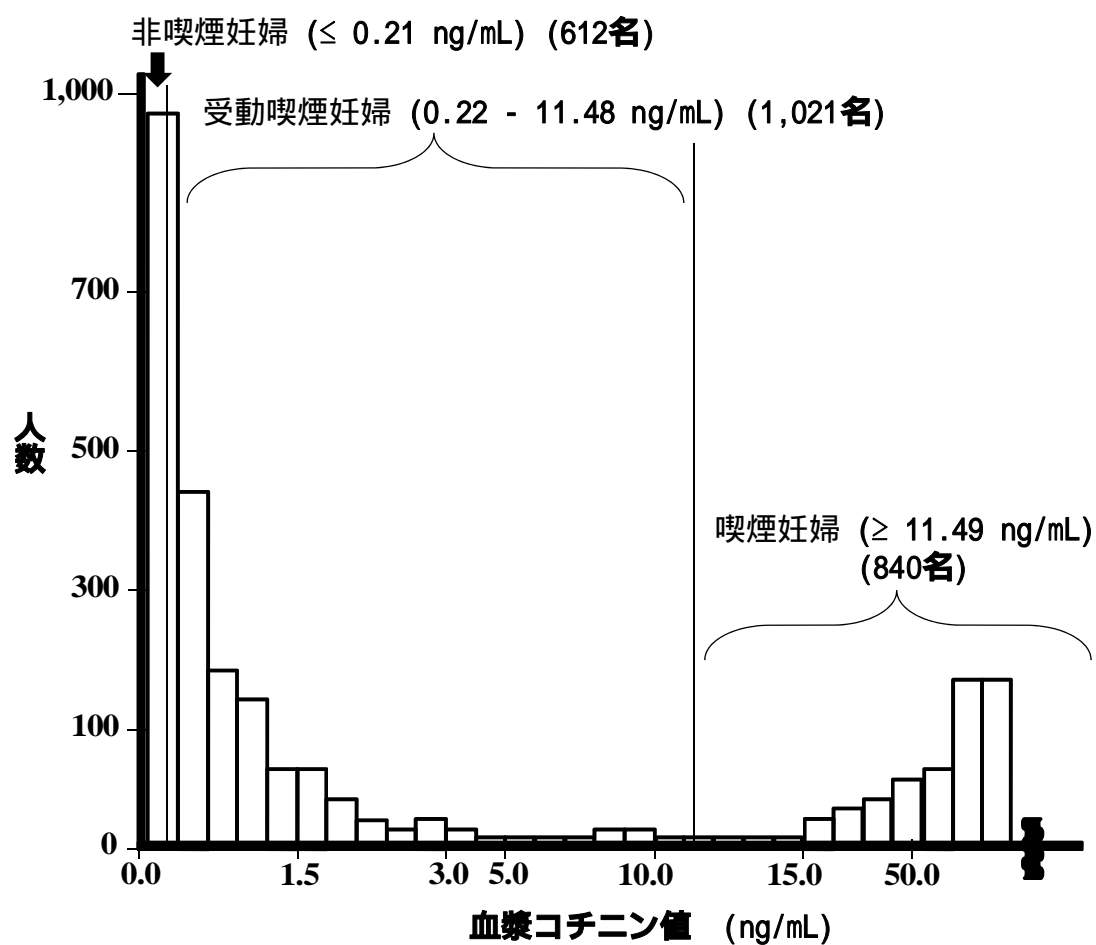


図2. 母体血漿コチニン値の分布図

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.

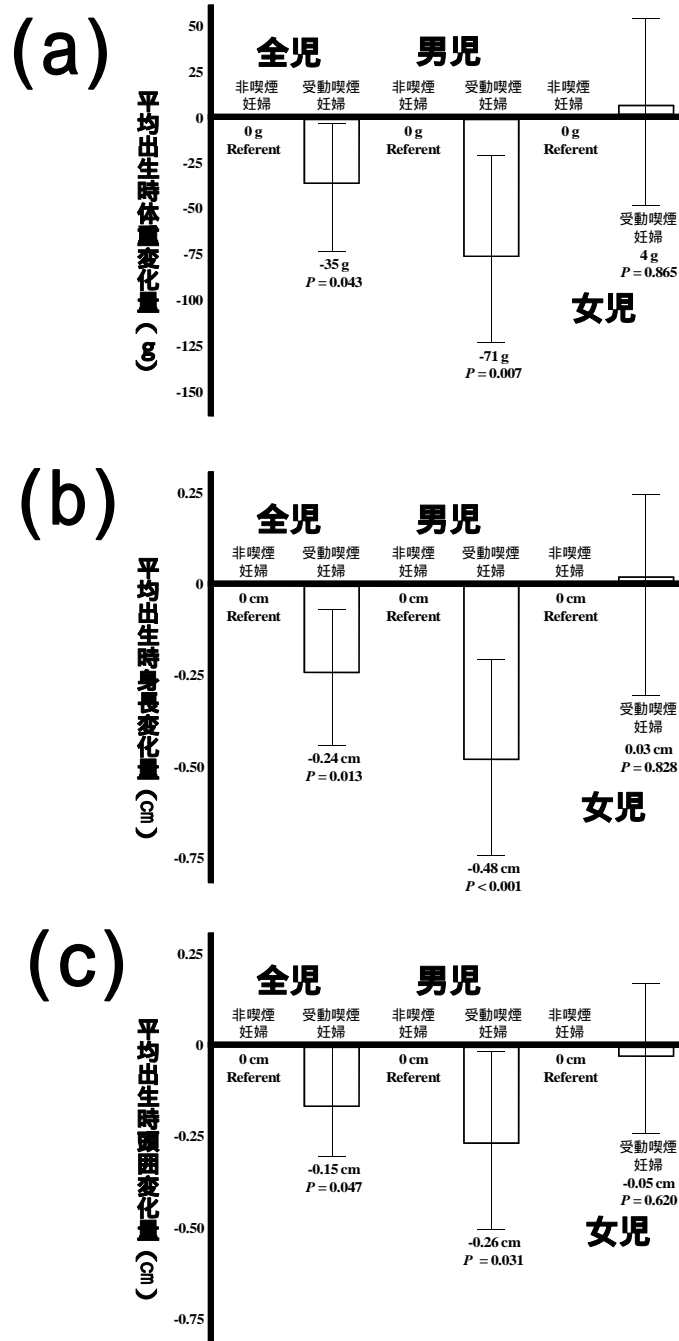


図 3. 非喫煙妊婦と受動喫煙妊婦の児の出生時体格の比較

(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。

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に関する研究

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特任講師
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

環境化学物質の胎児期曝露が、児の発育・発達、疾病に影響を及ぼすことが明らかになりつつある。その作用機序の解明に、最近、エピジェネティクスが注目されている。本研究では、胎児期環境化学物質曝露が児ゲノム DNA のメチル化に与える影響について、研究の現状と課題を把握することを目的とし、PubMed を用いて 2012 年までの先行研究を検索して報告内容を精査した。その結果、タバコ由来化学物質や多環芳香族炭化水素などの環境化学物質の胎児期曝露により、児ゲノム DNA のメチル化パターンが変動することが確認された。曝露要因の中では、喫煙曝露による影響を調べた報告が最も多かった。DNA メチル化の変化は蓄積することによって遺伝子発現を変化させるため、胎児期の化学物質曝露によって生じる児ゲノム DNA メチル化の変化は、胎児の発育・発達への影響のみならず、出生後の児の健康リスクに影響を及ぼすことが示唆された。

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）

A . 研究目的

現代の先進国では、多種多様な化学物質を原材料とした化学製品が、私たちに便利で快適な生活を提供してくれている。一方で、私たちは環境中の化学物質に常に曝露されており、これらの化学物質の人体への影響が懸念されている。特に胎児期においては、母体経由の化学物質への曝露が胎児の発育、あるいは出生後の児の健康に影響を及ぼすことが Colborn らにより指摘された¹⁾。また、Barker らは、胎児期の低栄養などの環境が、成人後の循環器疾患や 2 型糖尿病などの生活習慣病罹患率に影響を及ぼす「胎児プログラミング仮説」を提唱した²⁾。この仮説は、Gluckman と Hanson らによって、胎児期に加えて乳幼児期の環境もその後の健康に影響する「Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD)」の概念となり³⁾、こ

れらの仮説を検証する研究が精力的になされている。さらに最近では、胎児期のプログラミングのメカニズムを明らかにするために、遺伝要因と環境要因の交互作用の解析への関心も高まっている。

欧州⁴⁾、米国⁵⁾、台湾⁶⁾ではすでに複数の出生コーホートが立ち上がり、両親のライフスタイルや環境化学物質曝露の児の健康に与える影響を解明する研究がなされているが、日本においては、我々のグループが初めて 2001 年に「環境と子どもの健康に関する北海道スタディ」を立ち上げ、これまでに、札幌市内 514 人の小規模コーホートおよび北海道全域 20,000 人の大規模コーホートの二つの追跡型疫学研究を実施してきた⁷⁾。この研究により、母親血液中のダイオキシン類濃度が高いほど、児の出生体重が有意に低く、また、生後の中耳炎罹患率が有意に高いこと、この影響は男児で顕著であることが明らかになった。さらに、母親の妊娠中の喫煙によって児の出生体重が有意に低下し、化学物質の解毒に關与する母親 AhR 遺伝子と CYP1A1 遺伝子、

CYP1A1 遺伝子と GSTM1 遺伝子の特定の塩基配列の組み合わせで児の出生体重への影響が大きいことなどが明らかになった。これらの成果からも、遺伝要因と環境要因の相互作用が児の発育に影響を及ぼすことが示唆されている。

このように、生活環境中の化学物質に胎児期に曝露することにより、胎児、あるいは出生後の児の健康に負の影響が生じることが明らかになりつつあるが、その分子メカニズムについては、まだ詳細は明らかではない。しかしながら、その作用機序の解明の一つのアプローチとして、エピジェネティクスが注目を集めている。エピジェネティックな遺伝子発現制御のしくみを模式的に図 1、2 に示した。エピジェネティックな修飾機構は、1) DNA のメチル化（ゲノム DNA 中の CpG 配列中のシトシンをメチル化して、転写因子などの結合を阻害することによって遺伝子の転写や発現を調節）、2) ヒストンの翻訳後修飾（ヒストンをアセチル化またはメチル化することにより、クロマチン構造を変化させ、遺伝子の転写や発現を調節）、3) クロマチンリモデリング（クロマチン構造を凝縮、あるいは弛緩させることにより、転写因子などの結合を調節して遺伝子の転写や発現を制御）、で成り立っている。

本研究では、最近、報告が急増している、胎児期の環境化学物質曝露と「DNA メチル化」に関する疫学研究を整理し、今後の研究課題について考察を試みた。

B . 研究方法

英語の原著論文については、PubMed を用いて「DNA methylation exposure cord blood」および「methylation exposure (pregnancy OR birth)」(2000 年以降 2012 年まで)で検索した。多数の論文がヒットしたので、その中から、胎児期化学物質曝露の DNA メチル化への影響を調べた疫学研究の論文を絞り込んだ。レビュー等は除

いた。日本語論文については、医中誌データベースを用い、「メチル化 曝露 化学物質」のキーワードで同一期間の検索を行った。

C . 研究結果

(1) 先行研究の動向

胎児期化学物質曝露の DNA メチル化への影響を調べた疫学研究の英語原著論文は 19 報あった。日本語の原著論文および、国内外の疫学研究を網羅した総説はなかった。英語原著論文の中で、曝露要因としては、妊娠中の喫煙が 10 報^{8~17)}と最も多く(表 1)、喫煙以外の曝露では、多環芳香族炭化水素 (PAHs) が 3 報^{18~20)}、有機フッ素化合物 (PFCs)¹²⁾、有機塩素系化合物 (DDE)²¹⁾が各 1 報、天然由来のヒ素 (3 報)^{22~24)}および鉛²⁵⁾があった(表 2)。

DNA メチル化を調べた 19 報の疫学研究のうち、ゲノム全体のメチル化状態を調べたものが 11 報と一番多く、メチル化シトシンに対する抗体を用いた ELISA 法でゲノム全体のメチル化率を調べる方法や、LINE-1、Alu などの反復配列(ゲノムの半分以上を占める、遺伝子をコードしていない領域)のメチル化率をゲノム全体のメチル化率の指標として測定する方法が用いられている。また、ヒトゲノム上のメチル化されうるほぼすべての CpG アイランド(45 万カ所)を 1 枚の基盤上に搭載した DNA チップが開発されており、化学物質曝露によってメチル化が変化する遺伝子の網羅的探索を行った研究もすでに 4 報あった。胎児期の環境化学物質曝露で DNA メチル化が変化する遺伝子の詳細は表 3 にまとめた。

DNA メチル化解析の対象とした組織については、19 報の内 10 報で、臍帯血の DNA メチル化を測定し、胎児期曝露の影響を評価していた。5 報では、出生後(小児期、思春期、成人後)の末梢血や口腔細胞から DNA を抽出してメチル化を測定し、胎児期曝露による影響を評価していた。ま

た、3報では、胎児の発育との関連から、胎盤の DNA メチル化の変化に着目していた。

（2）喫煙曝露

胎児期喫煙曝露による低出生体重に関わるメカニズムのひとつとして、IGF2 など胎児の発育に関与し、ゲノムインプリンティング制御を受ける遺伝子のメチル化が考えられている。Murphy らは 2012 年、臍帯血 DNA (418 名) を用いて、胎児期喫煙曝露により男児で IGF2 遺伝子が高メチル化されることを報告した⁸⁾。この曝露により、2,500g 未満の低体重児が生まれるリスクが 4 倍以上になることが示された。また、同じコーホートでの研究で、IGF2 遺伝子メチル化率と臍帯血血清 IGF2 蛋白質濃度との間に負の相関があること、IGF2 蛋白質濃度と出生体重との間に正の相関があることが報告されている²⁶⁾。これらの結果から、男児においては、胎児期喫煙曝露により胎児ゲノム DNA の IGF2 遺伝子が高メチル化され、胎児血液中の IGF2 蛋白質濃度が低下し、子宮内での胎児発育抑制につながる可能性が示唆された。また、IGF2 遺伝子の高メチル化状態は出生後も維持されるため、出生後の健康へのリスクも懸念される。

その他の遺伝子では、胎児期喫煙曝露により、小児（4～6 歳）口腔細胞で AXL 遺伝子および PTPRO 遺伝子の高メチル化⁹⁾の報告があった。また、思春期男女末梢血の BDNF-6 遺伝子が高メチル化するとの報告もあり¹⁰⁾、胎児期喫煙曝露により BDNF-6 遺伝子の発現量が低下し、眼窩前頭皮質の薄化（思春期の薬物使用行動と関連）が進行する可能性も指摘されている²⁷⁾。また、母体胎盤組織で解毒酵素である CYP1A1 遺伝子の低メチル化と、それによる遺伝子発現の亢進の報告もあった¹¹⁾。

ゲノム全体の DNA メチル化を調べた報告は 5 報あり、うち 1 報は臍帯血、3 報は出生以後の末梢血・口腔細胞、1 報は胎盤

を使用していた。臍帯血血清を使用して ELISA 法でメチル化シトシンを定量した研究では、血清コチニン濃度とゲノム全体のメチル化レベルとの間に負の相関が見られた ($p < 0.001$)¹²⁾。また、成人女性の末梢血を用いた解析では、胎児期喫煙曝露の有無とセントロメア近傍配列 Sat2 メチル化との間に負の相関が確認されたが、反復配列である LINE-1 や Alu メチル化との間には有意な相関は見られなかった¹³⁾。また、同じコーホートで、三重水素標識メチル基を用いる手法で、胎児期喫煙曝露によりゲノム全体が高メチル化されるとの結果も出されたが、解析手法が一般的でないため、結果の信頼性に疑問もある^{9, 14)}。小児の口腔細胞を用いた解析では、胎児期喫煙曝露の有無と反復配列 Alu のメチル化との間に負の相関がみられた⁹⁾。反対に胎盤では、胎児期喫煙曝露により Alu は高メチル化されるが、LINE-1 のメチル化は変化しないとの報告もあり¹⁵⁾、組織によって化学物質に対する感受性やエピジェネティックな制御が異なる可能性も考えられる。

さらに、DNA チップを用いた網羅的な解析では、臍帯血 DNA で、CYP1A1 遺伝子の高メチル化および、AHRR 遺伝子や GFI1 遺伝子の低メチル化¹⁶⁾が新たに検出された。胎盤では、喫煙曝露によって、623 個の遺伝子の発現と、1,024 カ所の CpG サイトのメチル化が有意に変化していた。この内、メチル化率が 10 % 以上変動した CpG は 38 カ所あり、低体重に関連する 6 カ所の CpG サイトが含まれていた。また、PURA、GTF2H2、GCA、GPR135 遺伝子の高メチル化および、HKR1 遺伝子の低メチル化などが新たに見出された¹⁷⁾。

（3）喫煙以外の環境化学物質曝露

Perera ら¹⁸⁾は、米国ニューヨーク市の児の喘息罹患率が高い（25%）原因の一つとして、交通車両から排気される多環芳香族炭化水素 (PAH) への胎児期曝露を考え、700 人の出生コーホートを用い、PAH 曝露

レベルの高い妊婦グループと低いグループの各 10 児の臍帯血 DNA のメチル化部位を網羅的に解析して比較した。その結果、PAH 曝露レベルが高い児の臍帯血では、脂質代謝に關与する ACSL3 遺伝子のプロモーター領域が著しく高メチル化されており、胎盤での ACSL3 蛋白質の発現量も有意に減少していることを見出した。さらに同一コーホートの 56 児で、臍帯血 ACSL3 遺伝子のメチル化と曝露 PAH レベル、5 歳時の喘息発症に、いずれも正の關連があることを明らかにした。これらの結果から、ACSL3 遺伝子の DNA メチル化が PAH 曝露のエピジェネティックマーカーとなりうると考察している。その他にも、妊婦の多環芳香族炭化水素（PAHs）曝露と臍帯血 DNA メチル化を調べた報告は 2 報あり、PAHs 曝露レベルと、臍帯血ゲノム全体のメチル化レベルとの間には弱い負の關連（ $p=0.05$ ）¹⁹が、IFN 遺伝子のメチル化との間には正の關連²⁰が示されているが、アウトカムとの關連については調べていなかった。

有機フッ素化合物（PFOS, PFOA）曝露による DNA メチル化への影響を調べた報告は 1 報のみで、臍帯血血清 PFOA 濃度とゲノム全体のメチル化レベルの間には負の關連が示唆された（ $p=0.06$ ）¹²。ただし、この報告のサンプルサイズは $N=30$ と小さいため、規模の大きいコーホートで再確認する必要がある。

かつて殺虫剤として大量に使用され、環境中に残留している有機塩素系化合物の一種 DDE については、臍帯血血清中の DDE 濃度と 4 歳児末梢血 DNA の ALOX12 遺伝子のメチル化との間に負の關連が見られた²¹。ALOX12 遺伝子は、喘息症状のある 4 歳児とない児の血液 DNA を用いてメチル化部位の網羅的な解析の結果、見出された遺伝子で、喘息症状を持つ児で有意に低メチル化されていた（ $p=0.003$ ）。

東南アジアには、土壌や飲料水から高濃

度のヒ素に曝露される地域が存在する。ヒ素には発がん性があるが、肝臓がんを発症しやすい系統のマウスで、妊娠中の母親マウスに無機ヒ素を含む水を摂取させると、生まれたオスの仔の肝臓の発症率が増加することが報告された³⁰。これらの仔マウスでは、細胞増殖や癌化を促進する ER 遺伝子のプロモーター領域が低メチル化されており、かつ、ER 遺伝子の発現も亢進されていることから、無機ヒ素がエピジェネティックな作用を介して発症に關与すると考えられている。飲料水からの胎児期ヒ素曝露による臍帯血 DNA のメチル化の変化を調べた 3 報の疫学研究では、母体のヒ素曝露濃度の高さと、臍帯血 DNA の反復配列 LINE-1、Alu、がん抑制遺伝子 p16 および p53 プロモーターのいずれもの高メチル化が關連することが報告されている^{22~24}。鉛曝露については、母体骨の鉛レベルと臍帯血の反復配列 Alu および LINE-1 に負の關連が見られている²⁵。

D. 考察

本研究では、胎児期の化学物質曝露が児ゲノム DNA メチル化へ与える影響を調べた疫学研究のレビューを行った。この分野の報告はまだ多くはないが、2008 年から 2011 年まで年に 1~4 報だった報告が、2012 年には 8 報と急に増えており、今後、各国でさらに精力的に研究が行われていくことが予想される。また、現時点では、日本で行われた研究の報告はまだなく、遺伝的背景の違いによりエピジェネティックな制御に差がみられる^{29, 30}ことを鑑みても、日本人で同様の研究を進めることが必要である。

児ゲノム DNA メチル化へ与える影響を調べた疫学研究の多くは臍帯血 DNA を用いて解析を行っていたが、出生後の年数を経た児の血液を用いたメチル化解析の報告も複数見られた。このような場合は、出生後の環境曝露について質問票等で把握し、

重回帰分析の際に交絡要因として調整した上で胎児期の曝露評価をしている。しかしながら、出生後に曝露される様々な環境要因全てを考慮（調整）して解析することは難しく、臍帯血を使用する場合に比べ、解析精度の低下は否めないと思われる。

近年、生命科学分野でエピジェネティクス研究が急激に進展した背景には、解析技術の著しい進歩が挙げられる。ゲノム上のメチル基が結合している部位の同定に、パイロシーケンス法などが考案され、ハイスループットな解析機器も開発されている。また、ヒトゲノム上のメチル化されうるほぼ全部の CpG 配列が搭載された DNA チップを用いて、短時間で、細胞あるいは組織ゲノム全体のメチル化パターンを知ることできるようになった。本研究でも、網羅的な解析手法を用い、特に喫煙曝露において、児あるいは胎盤ゲノム上の多数の遺伝子（領域）のエピジェネティックな変化が見出されていた。これらの変化が、児の発育・発達や疾病にどのような影響を与えるのか、今後の研究が期待される。また、環境化学物質曝露リスク、あるいは疾病発症リスクを示すエピジェネティックマーカーが見つければ、曝露のモニタリングや疾病予防に有益である。このようなエピジェネティックマーカーの探索に加えて、実用性の証明や、遺伝的背景の異なる人種間での共通性などの検討も、今後の重要な研究課題であろう。

E . 結論

今回の文献レビューを通して、現段階では、胎児期の環境化学物質曝露によるエピジェネティックな変化の統一的な見解はまだ得られていないと思われた。さらに、疫学研究の多くでは、動物実験の結果のように化学物質の曝露による遺伝子のメチル化の変化と、蛋白質レベルの変化、あるいはアウトカム（表現型）の変化が必ずしもすぐには結びつかず、遺伝的、環境的背景が

異なるヒトの集団を対象にした疫学研究の難しさも考えられる。遺伝子の突然変異は、その部位が蛋白質の機能発現に重要な場合、ストレートに表現型の変化が現れる。一方、エピジェネティクスは、メチル化部位の変異が多少生じてもすぐには影響が現れず、変異が蓄積され、閾値を越えると遺伝子発現に影響が出ると考えられている。胎児期に環境化学物質に曝露することにより生じた、児ゲノムへのエピジェネティックな「変化」は、出生後の成長過程でさらに様々な環境要因に曝露されることにより蓄積され、将来、疾病発症リスクへとつながる可能性がある。

環境化学物質の児の健康影響の解明におけるエピジェネティクス研究はまだ緒に付いたばかりである。今後の基礎研究の課題としては、1) DNA のメチル化、ヒストンのアセチル化とメチル化、およびそれらの逆反応の詳細な分子メカニズムの解明、2) モデル動物やヒト細胞株を用いた、組織ごとのエピジェネティックな制御機構の解明が重要である。また、疫学研究としては、環境化学物質による胎児期曝露の結果生じた児ゲノム上のエピジェネティックな変化が、出生後の児の成長過程でどのように維持、あるいは変化していくのか、また、発育・発達や疾病とどのように関わるのか、肥満・がん・ADHD・生活習慣病などをアウトカムに設定したコホート研究や症例対象研究などで追跡することが必要であろう。そのような地道な研究の積み重ねの上に、将来、児臍帯血 DNA のメチル化パターンから、成長後の健康リスクの評価ができるようになり、かつ、DNA メチル化の可逆性を利用した（メチル化状態を正常に戻す）薬の開発や、栄養・運動エクササイズ、あるいは禁煙などの行動変容を含むヘルスプロモーション等、有効な予防策を講じることできるようになると考えられる。

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 IGF2 DNA メチル化に及ぼす影響」第 83 回日本衛生学会学術総会. 金沢市; 2013 3/ 24-26.

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
3. その他
なし

参考文献

- 1) Colborn T, Dumanoski D, Myers JP. Our Stolen Future. Dutton, New York, 1996.
- 2) Barker DJ, Osmond C. Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. Lancet 1986; 1: 1077-1081.
- 3) Gluckman PD, Hanson MA. Living with the past: evolution, development, and patterns of disease. Science. 2004; 305: 1733-1736.
- 4) Govarts E, Nieuwenhuijsen M, Schoeters G, et al. Birth weight and prenatal exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs) and dichlorodiphenyldichloroethylene

- (DDE): a meta-analysis within 12 European Birth Cohorts. Environ Health Perspect 2012; 120(2): 162-170.
- 5) Goodman JE, Kerper LE, Boyce CP, Prueitt RL, et al. Weight-of-evidence analysis of human exposures to dioxins and dioxin-like compounds and associations with thyroid hormone levels during early development. Regul Toxicol Pharmacol 2010; 58(1): 79-99.
- 6) Hsieh CJ, Hsieh WS, Su YN, et al. The Taiwan Birth Panel Study: a prospective cohort study for environmentally-related child health. BMC Res Notes 2011; 12(4): 291.
- 7) 岸玲子, 佐々木成子. 環境化学物質の次世代影響に関するわが国における研究事例- 北海道スタディの概要とこれまでの成果 . 医学のあゆみ 2010 ; 235 : 1117-1121 .
- 8) Murphy SK, Adigun A, Huang Z, et al. Gender-specific methylation differences in relation to prenatal exposure to cigarette smoke. Gene 2012; 494(1): 36-43.
- 9) Breton CV, Byun HM, Wenten M, et al. Prenatal tobacco smoke exposure affects global and gene-specific DNA methylation. Am J Respir Crit Care Med 2009; 180(5): 462-467.
- 10) Toledo-Rodriguez M, Lotfipour S, Leonard G, et al. Maternal smoking during pregnancy is associated with epigenetic modifications of the brain-derived neurotrophic factor-6 exon in adolescent offspring. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet 2010; 153B(7): 1350-1354.
- 11) Suter M, Abramovici A, Showalter L, et al. In utero tobacco exposure

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

- epigenetically modifies placental CYP1A1 expression. *Metabolism* 2010; 59(10): 1481-1490.
- 12) Guerrero-Preston R, Goldman LR, Brebi-Mieville P, et al. Global DNA hypomethylation is associated with in utero exposure to cotinine and perfluorinated alkyl compounds. *Epigenetics* 2010; 5(6): 539-546.
- 13) Flom JD, Ferris JS, Liao Y, et al. Prenatal smoke exposure and genomic DNA methylation in a multiethnic birth cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011; 20(12): 2518-2523.
- 14) Terry MB, Ferris JS, Pilsner R, et al. Genomic DNA methylation among women in a multiethnic New York City birth cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17(9): 2306-2310.
- 15) Wilhelm-Benartzi CS, Houseman EA, Maccani MA, et al. In utero exposures, infant growth, and DNA methylation of repetitive elements and developmentally related genes in human placenta. *Environ Health Perspect* 2012; 120(2): 296-302.
- 16) Joubert BR, Håberg SE, Nilsen RM, et al. 450K epigenome-wide scan identifies differential DNA methylation in newborns related to maternal smoking during pregnancy. *Environ Health Perspect* 2012; 120(10): 1425-1431.
- 17) Suter M, Ma J, Harris A, et al. Maternal tobacco use modestly alters correlated epigenome-wide placental DNA methylation and gene expression. *Epigenetics* 2011; 6(11): 1284-1294.
- 18) Perera F, Tang WY, Herbstman J, et al. Relation of DNA methylation of 5'-CpG island of ACSL3 to transplacental exposure to airborne polycyclic aromatic hydrocarbons and childhood asthma. *PLoS One* 2009; 4(2): e4488.
- 19) Herbstman JB, Tang D, Zhu D, et al. Prenatal exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons, benzo[a]pyrene-DNA adducts, and genomic DNA methylation in cord blood. *Environ Health Perspect* 2012; 120(5): 733-738.
- 20) Tang WY, Levin L, Talaska G, et al. Maternal Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and 5'-CpG Methylation of Interferon- γ in Cord White Blood Cells. *Environ Health Perspect* 2012; 120(8): 1195-1200.
- 21) Morales E, Bustamante M, Vilahur N, et al. DNA hypomethylation at ALOX12 is associated with persistent wheezing in childhood. *Am J Respir Crit Care Med* 2012; 185(9): 937-943.
- 22) Kile ML, Baccarelli A, Hoffman E, et al. Prenatal arsenic exposure and DNA methylation in maternal and umbilical cord blood leukocytes. *Environ Health Perspect* 2012; 120(7): 1061-1066.
- 23) Intarasunanont P, Navasumrit P, Waraprasit S, et al. Effects of arsenic exposure on DNA methylation in cord blood samples from newborn babies and in a human lymphoblast cell line. *Environ Health* 2012; 11: 31.
- 24) Pilsner JR, Hall MN, Liu X, et al. Influence of prenatal arsenic exposure and newborn sex on global methylation of cord blood DNA.

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

- PLoS One 2012; 7(5): e37147.
- 25) Pilsner JR, Hu H, Ettinger A, et al. Influence of prenatal lead exposure on genomic methylation of cord blood DNA. *Environ Health Perspect* 2009; 117(9): 1466-1471.
- 26) Hoyo C, Fortner K, Murtha AP, et al. Association of cord blood methylation fractions at imprinted insulin-like growth factor 2 (IGF2), plasma IGF2, and birth weight. *Cancer Causes Control* 2012; 23(4): 635-645.
- 27) Lotfipour S, Ferguson E, Leonard G, et al. Orbitofrontal cortex and drug use during adolescence: role of prenatal exposure to maternal smoking and BDNF genotype. *Arch Gen Psychiatry* 2009; 66(11): 1244-1252.
- 28) Waalkes MP, Liu J, Chen H, et al. Estrogen signaling in livers of male mice with hepatocellular carcinoma induced by exposure to arsenic in utero. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96(6): 466-774.
- 29) McKay JA, Groom A, Potter C, et al. Genetic and non-genetic influences during pregnancy on infant global and site specific DNA methylation: role for folate gene variants and vitamin B12. *PLoS One* 2012; 7(3): e33290.
- 30) Heijmans BT, Kremer D, Tobi EW, et al. Heritable rather than age-related environmental and stochastic factors dominate variation in DNA methylation of the human IGF2/H19 locus. *Hum Mol Genet* 2007; 16(5): 547-554.

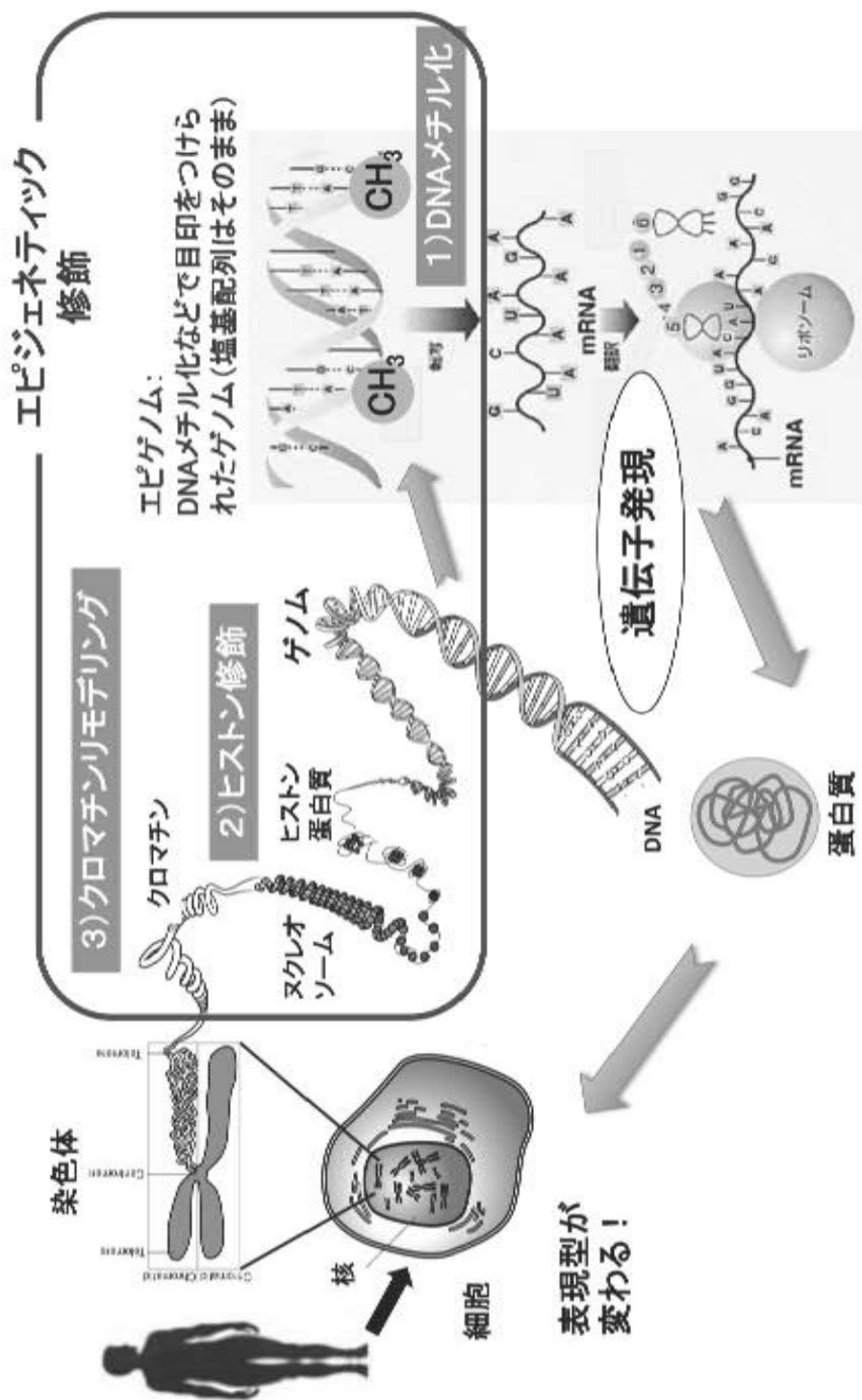


図1 エピジェネティクスのしくみ
 (National Human Genome Research Instituteのイラストを用いて作成)

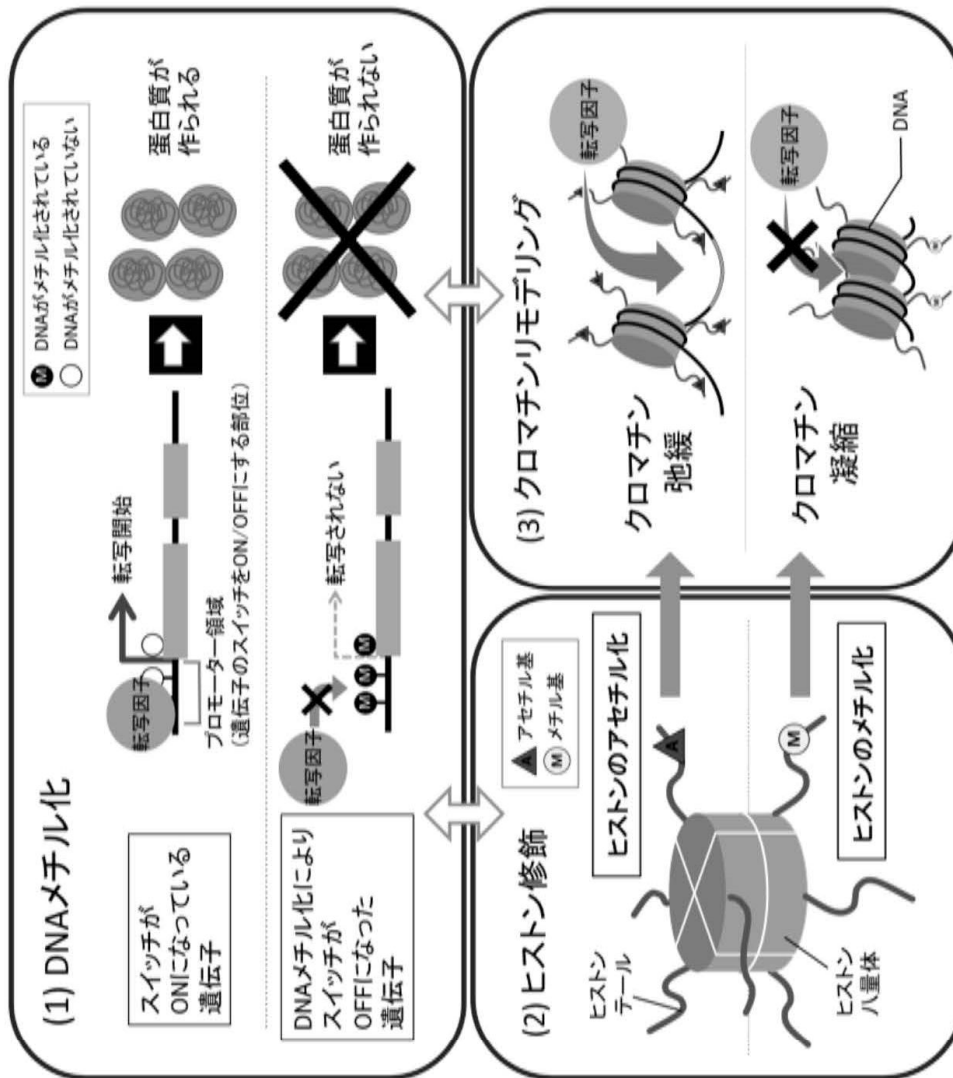


図2 エピジェネティック修飾による遺伝子発現制御機構

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 タバコ由来化学物質（喫煙）の胎児期曝露とエピジェネティクス

	著者 / 年 / 国	対象者	曝露評価	DNAメチル化解析 (測定方法)	DNA抽出組織	対象メチル化 領域	結果
遺伝子特異的メチル化	Murphyら / 2012 / USA ⁸⁾	前向き出生コーホート 新生児418名	妊娠中の喫煙の有無(質問票)	臍帯血遺伝子領域のメチル化率(パイロシーケンス法)	臍帯血	IGF2 DMR H19 DMR	・H19 DMRに喫煙者而非喫煙者の間で違いなし ・IGF2 DMRは喫煙者の方が高メチル化(2.9-3.7%) ・男女で層別化した場合、喫煙曝露で男児でのみIGF2高メチル化
	Bretonら / 2009 / USA ⁹⁾	後ろ向きコーホート 小児(4~7歳児) 348名 272名	妊娠中の喫煙・受動喫煙の有無(質問票)	パイロシーケンス法 メチル化レベルに差のあるCpGサイトのスクリーニング(Illumina GoldenGate Cancer methylation panel, Illumina社)	口腔細胞	ゲノムDNA 全体のメチル化レベル(Alu, LINE-1) 807遺伝子, 1505CpGサイト	・胎児期喫煙曝露により、Alu低メチル化(= -0.31, p=0.03) ・GSTM1 null genotypeでLINE-1に喫煙の影響あり ・曝露によりAXL高メチル化(= 0.37, p=0.005)、PTPRO高メチル化(= 0.34, p=0.02)
	Toledo-Rodriguezら / 2010 / UK ¹⁰⁾	後ろ向きコーホート 思春期男女156名(カナダ)	妊娠中の喫煙(中期以降1日1本以上)の有無(質問票)	バイサルファイトシーケンス法	末梢血	BDNF6	・胎児期喫煙曝露によりBDNF-6エクソン高メチル化
	Suterら / 2010 / USA ¹¹⁾	前向き出生コーホート 新生児34名	妊娠中(登録時)の喫煙の有無(質問票)	バイサルファイトシーケンス法	胎盤	CYP1A1プロモーター	・胎児期喫煙曝露により、CYP1A1プロモーター領域が低メチル化(喫煙あり55.6% vs. なし45.9%, p=0.027) ・上記メチル化は胎盤CYP1A1遺伝子発現と相関あり(r=0.737, p=0.007)
ゲノム全体のメチル化	Guerrero-Prestonら / 2010 / USA ¹²⁾	前向き出生コーホート 新生児30名	臍帯血血清中のコチニン濃度(LCタンデム質量分析)	臍帯血血清中のグローバルDNAメチル化率(ELISA法)	臍帯血血清	ゲノムDNA全体のメチル化レベル(5mC)	・臍帯血血清DNAメチル化率は、血清コチニン濃度と濃度依存的な負の相関を示した(p<0.001)。
	Flomら / 2011 / USA ¹³⁾	前向き出生コーホート 成人女性90名(1959-63年 出生)	妊娠中の喫煙の有無(出生時質問票) 1959-63年時	MethylLight法(メチル化・非メチル化CpG識別)	末梢血	ゲノムDNA全体のメチル化レベル(Sat2, Alu, LINE-1)	・胎児期喫煙曝露と43才時末梢血Sat2メチル化とは負の相関(= -0.22) ・LINE-1・Aluメチル化とは有意な相関なし
	Terryら / 2008 / USA ¹⁴⁾	前向き出生コーホート 成人女性85名(1959-63年 出生)	妊娠中の喫煙の有無(出生時質問票) 1959-63年時	³ H]-methyl acceptance assay	末梢血	ゲノムDNA全体のメチル化レベル	・胎児期喫煙曝露により、高メチル化
	Wilhelm-Benartziら / 2012 / USA ¹⁵⁾	前向き出生コーホート 新生児 380名 184名	妊娠中の喫煙の有無(質問票)	パイロシーケンス法 網羅的メチル化解析(Infinium HumanMethylation27 BeadChip, Illumina社, 14,000遺伝子, 27,000CpGサイト搭載)	胎盤	ゲノムDNA全体のメチル化レベル(Alu, LINE-1) ポリコーム関連遺伝子群(ヒストン修飾など)に關与)	・胎児期喫煙曝露によりAlu高メチル化(喫煙あり66.2% vs. なし64.8%, p<0.01)、LINE-1有意差なし(p=0.10) ・Aluメチル化とポリコーム関連遺伝子群メチル化との間に正の相関
網羅的メチル化解析	Joubertら / 2012 / USA ¹⁶⁾	前向き出生コーホート2つのコーホートの母児 Norwegian Mother and Child Cohort Study (MoBa), 1062組 Newborn Epigenetics Study (NEST)36名(母喫煙:非喫煙=1:1)	妊婦血液中のコチニン濃度(LCタンデム質量分析)	網羅的メチル化解析(Infinium HumanMethylation450 BeadChip, Illumina社, 45万CpGサイト搭載)	臍帯血	ゲノムDNAの全メチル化サイト	・10個の遺伝子上の26カ所のCpGサイトのメチル化レベルと母体血中コチニン濃度に強い関連性あり(p-value < 1.06 x 10 ⁻⁷) ・喫煙曝露によりAHRHが高メチル化、CYP1A1, GF11が低メチル化
	Suterら / 2011 / USA ¹⁷⁾	コーホート内コーホート研究 新生児 36名; Discovery cohort 18名; Validation cohort (各 母喫煙:非喫煙=1:1)	妊娠中の喫煙の有無(質問票)	網羅的メチル化解析(Infinium HumanMethylation27 BeadChip, Illumina社, 14,000遺伝子, 27,000CpGサイト搭載)	胎盤	ゲノムDNAのメチル化サイト	・胎児期喫煙曝露により623の遺伝子発現と1024CpGサイトが有意に変化 ・うち10%以上メチル化が変化していたCpGは38ヶ所 ・38CpG中、6ヶ所は喫煙による低体重に關連

遺伝子略称; IGF2 DMR (Insulin-like growth factor 2 differentially methylated region), H19 DMR (H19 differentially methylated region), AXL (AXL receptor tyrosine kinase), PTPRO (protein tyrosine phosphatase, receptor type, O), CYP1A1 (cytochrome P450, family 1, subfamily A, polypeptide 1), BDNF (brain-derived neurotrophic factor), AHRH (aryl-hydrocarbon receptor repressor), GF11 (growth factor independent 1 transcription repressor)

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 喫煙以外の環境化学物質の胎児期曝露とエピジェネティクス							
著者 / 年 / 国	対象者	曝露物質	曝露評価	測定項目(測定方法)	DNA抽出組織	対象メチル化領域	結果
Pereraら /2009/USA ¹⁸⁾	出生コホート 母児20組 (ケーススタディ) 5歳児56名	多環芳香族炭化水素(PAH)	妊婦PAHs(大気中)曝露レベル (GC質量分析)	臍帯血DNAのメチル化部位を網羅的に解析(methylation sensitive restriction fingerprinting法)	臍帯血	ゲノムDNAの全メチル化サイト	・PAH高曝露群でACSL3遺伝子高メチル化(OR=13.8, p<0.001) ・PAH曝露濃度はACSL3高メチル化群>低メチル化群(P<0.001)、高メチル化群で5歳までの喘息発症リスクが高くなる(OR=3.9, p=0.03)
Herbstmanら /2012/USA ¹⁹⁾	縦断的コホート 母児164組	PAH	妊婦PAHs(大気中)曝露レベル (GC質量分析)	臍帯血DNAのメチル化レベル(ELISA法) 臍帯血中のBaP-DNA付加体濃度(HPLC)	臍帯血	ゲノムDNA全体のメチル化レベル(5mC)	・胎児期PAH曝露は、臍帯血DNAメチル化レベルと弱い負の関連あり(p=0.05) ・臍帯血DNAメチル化レベルは、臍帯血中のBaP(ベンゾピレン)-DNA付加体と正の相関あり(p=0.01) (PAH曝露がメチル化を介してDNA付加体の生成に影響を及ぼしている可能性あり)
Tangら /2012/USA ²⁰⁾	前向き出生コホート (Columbia Center for Children's Environmental Health cohort) 母児53組	PAH	妊婦PAHs(大気中)曝露レベル (GC質量分析)	臍帯血DNAのメチル化(バイサルファイトシークエンス法)	臍帯血	IFN プロモーター	・妊婦PAHs曝露レベルと児臍帯血IFN プロモーターのメチル化率は正の相関あり
Guerrero-Prestonら /2010/USA ¹²⁾	前向き出生コホート 母児30組	有機フッ素化合物(PFOS, PFOA)	臍帯血血清中の有機フッ素化合物濃度(LCタンデム質量分析)	臍帯血血清中のグローバルDNAメチル化率(ELISA法)(臍帯血血清から単離したDNAのメチル化シトシンをELISA法で定量)	臍帯血血清	ゲノムDNA全体のメチル化レベル(5mC)	・臍帯血血清DNAメチル化率は、血清PFOA濃度と負の相関(r=-0.35, p=0.06) ・PFOS濃度とは相関はなし
Moralesら /2012/Spain ²¹⁾	2つの出生コホート 4-6歳児 Menorca (122名) Sabadell (236名)	DDE (dichlorodiphenyldichloroethylene, POPs)	臍帯血血清DDE濃度(GC質量分析)	喘鳴の症状の有無 4歳児血液DNA網羅的DNAメチル化解析(Illumina GoldenGate Panel I)(パイロシークエンス法)	4歳児血液	ゲノムDNAの全メチル化サイト	・喘鳴症状のある児で、ALOX12が有意に低メチル化(p=0.003) ・臍帯血血清中の高DDE濃度は、ALOX12の低メチル化と関連あり(p=0.033)
Kileら /2012/Taiwan ²²⁾	前向き出生コホート(バングラディッシュ) 母児113組	ヒ素	飲料水および妊婦尿中のヒ素濃度(ICP質量分析)	母体血、臍帯血DNAメチル化率(パイロシークエンス法)	母体血および臍帯血	ゲノムDNA全体のメチル化レベル(Alu, LINE-1)癌抑制遺伝子(p16, p53)プロモーター	・母親尿中ヒ素濃度の高い群では、母体血(1.36%)、臍帯血(1.08%)両者のDNAでLINE-1が有意に高メチル化、臍帯血癌抑制遺伝子p16プロモーターも高メチル化の傾向あり
Intarasunanontら /2012/Thailand ²³⁾	2重コホート研究 新生児71名(ヒ素曝露55名、非曝露16名)	ヒ素	飲料水および臍帯血、母の爪、毛髪中のヒ素濃度(ICP質量分析)	臍帯血DNAメチル化率(COBRA法、HPLC-MS/MS)	臍帯血	ゲノムDNA全体のメチル化レベル(LINE-1)癌抑制遺伝子(p53)プロモーター	・ヒ素曝露群ではp53プロモーターが高メチル化、爪のヒ素濃度と正の相関あり(p<0.05)
Pilsnerら /2012/USA ²⁴⁾	前向き出生コホート(バングラディッシュ) 母児101組	ヒ素	母尿、血液、臍帯血中のヒ素濃度(ICP質量分析)	母体血、臍帯血DNAメチル化率([³ H]-methyl-incorporation assay, バイロシークエンス法、LUMA法)	母体血 臍帯血	ゲノムDNA全体のメチル化レベル(Alu, LINE-1)	・母尿中のヒ素濃度の増加は、臍帯血DNAゲノム全体のメチル化率の増加と関連 ・ヒ素曝露とAlu, LINE-1, LUMAのメチル化との正の相関が男児であり、女児ではなし
Pilsnerら /2009/USA ²⁵⁾	出生コホート(メキシコ) 母児103組	鉛	母体骨鉛レベル(蛍光X線分析)	臍帯血DNAメチル化率(パイロシークエンス法)	臍帯血	ゲノムDNA全体のメチル化レベル(Alu, LINE-1)	・母体骨の鉛レベルと児臍帯血Alu, LINE1には負の相関

遺伝子略称: ACSL3 (acyl-CoA synthetase long-chain family member 3), IFN (interferon, gamma), ALOX12 (arachidonate 12-lipoxygenase)

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 胎児期環境化学物質曝露でDNAメチル化レベルが変化する遺伝子				
遺伝子・領域	正式名称	役割	関連のあるアウトカム	胎児期曝露
<i>IGF2</i>	インスリン様成長因子2; Insulin-like growth factor 2	有糸分裂促進因子(母由来アレルで高メチル化)	胎児期成長制限	喫煙曝露により高メチル化(男児) ⁸⁾
<i>H19</i>	H19	IGF2転写調節(父由来アレルで高メチル化)	胎児期成長制限	喫煙曝露と関連なし ⁸⁾
<i>CYP1A1</i>	シトクロムP450; cytochrome P450, family 1, subfamily A, polypeptide 1	薬物代謝経路(有毒な親水性DNA付加体への変換)	胎児期成長制限 がん	喫煙曝露により高メチル化(臍帯血) ¹⁶⁾ , もしくは低メチル化(胎盤) ¹¹⁾
<i>AHRR</i>	芳香族炭化水素受容体レセプター; aryl-hydrocarbon receptor repressor	薬物代謝経路(AhRを負に調節, CYP1A1転写抑制)	胎児期成長制限 がん	喫煙曝露により低メチル化 ¹⁶⁾
<i>PTPRO</i>	protein tyrosine phosphatase, receptor type, O	胎児期のニューロンの分化・軸索伸長に關与	神経系発達	喫煙曝露により高メチル化 ⁹⁾
<i>BDNF-6</i>	脳由来神経栄養因子6; Brain-derived neurotrophic factor 6	ニューロンの軸索伸長(学習・記憶・脳の可塑性に關与)	神経系発達	喫煙曝露により高メチル化 ¹⁰⁾
<i>ACSL3</i>	acyl-CoA synthetase long-chain family member 3	脂肪酸代謝	喘息	PAHs曝露により高メチル化 ¹⁸⁾
<i>IFN</i>	インターフェロン ; Interferon	Th1サイトカイン(Th2細胞分化抑制)	喘息	PAHs曝露により高メチル化 ²⁰⁾
<i>ALOX12</i>	アラキドン酸-12-リポキシゲナーゼ; arachidonate 12-lipoxygenase	リポキシゲナーゼ(アラキドン酸を12[S]-HETEに代謝)	喘息	DDE曝露により低メチル化 ²¹⁾
<i>p16</i>	サイクリン依存性キナーゼ阻害因子2A; Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A	がん抑制遺伝子(細胞周期調節)	がん	ヒ素曝露により高メチル化 ^{22, 23)}
<i>p53</i>	protein 53	がん抑制遺伝子(細胞周期調節)	がん	ヒ素曝露により高メチル化 ²³⁾
<i>GFI1</i>	growth factor independent 1 transcription repressor	ヒストン修飾(造血細胞・内耳・肺神経内分泌系の発生過程に關与)	がん 自己免疫疾患	喫煙曝露により低メチル化 ¹⁶⁾
<i>AXL</i>	AXL receptor tyrosine kinase	Gas6/Axlシグナル経路(抗アポトーシス・細胞分裂促進・細胞移動などに關与)	がん, 循環器疾患, 自己免疫疾患	喫煙曝露により高メチル化 ⁹⁾
<i>LINE-1*</i>	長鎖散在反復配列; long interspersed nucleotide element	レトロトランスポゾン型 長鎖散在反復配列(LINEs), ゲノム全体の約20%を占める	—	ヒ素曝露により高メチル化 ^{22, 23)}
<i>Alu*</i>	短鎖散在反復配列の一種; short interspersed nucleotide element	レトロトランスポゾン型 短鎖散在反復配列(SINE), ゲノム全体の約10%を占める	—	喫煙曝露により高メチル化(胎盤) ¹⁵⁾ , もしくは低メチル化(口腔細胞) ⁹⁾ , 鉛曝露により低メチル化 ²⁵⁾ , ヒ素曝露により高メチル化 ¹⁵⁾
<i>Sat2*</i>	juxtacentromeric satellite 2	セントロメア近傍の反復配列	—	喫煙曝露により低メチル化 ¹³⁾
*は遺伝子をコードしていない領域				

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 (β = -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 (β = -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 (β = -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 (β = 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 (β = -1.61, 95% CI: -3.00 to -0.22)、MEHP 曝露による H19 低メチル化 (β = -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 (β = 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てい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		234	r = -0.059 0.370		257	r = 0.047 0.456		238	r = 0.293 <0.001**		239	r = 0.455 <0.001**		246	r = 0.044 0.494	
Pre-pregnancy BMI (kg/m ²) ^a	234	r = -0.059 0.367		234	r = -0.105 0.108		257	r = 0.032 0.614		238	r = 0.022 0.731		239	r = -0.049 0.447		246	r = -0.042 0.514	
Maternal weight gain (kg) ^a	223	r = -0.009 0.894		223	r = 0.085 0.207		244	r = -0.025 0.697		229	r = -0.204 0.002**		230	r = -0.187 0.004**		240	r = 0.041 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		220	r = -0.079 0.243		237	r = -0.113 0.083		221	r = 0.148 0.028*		222	r = 0.217 0.001**		246	r = 0.230 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**		234	r = -0.190 0.004**		257	r = -0.254 <0.001**		237	r = -0.087 0.183		238	r = -0.064 0.325				
Before delivery	176	r = -0.311 <0.001**		176	r = -0.224 0.003**		184	r = -0.224 0.002**		169	r = -0.057 0.459		170	r = -0.061 0.430				
After delivery	58	r = -0.078 0.562		58	r = -0.072 0.590		73	r = -0.031 0.794		68	r = 0.027 0.830		68	r = 0.019 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		234	r = 0.048 0.470		257	r = -0.011 0.858		238	r = 0.061 0.346		239	r = 0.091 0.162		246	r = 0.006 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

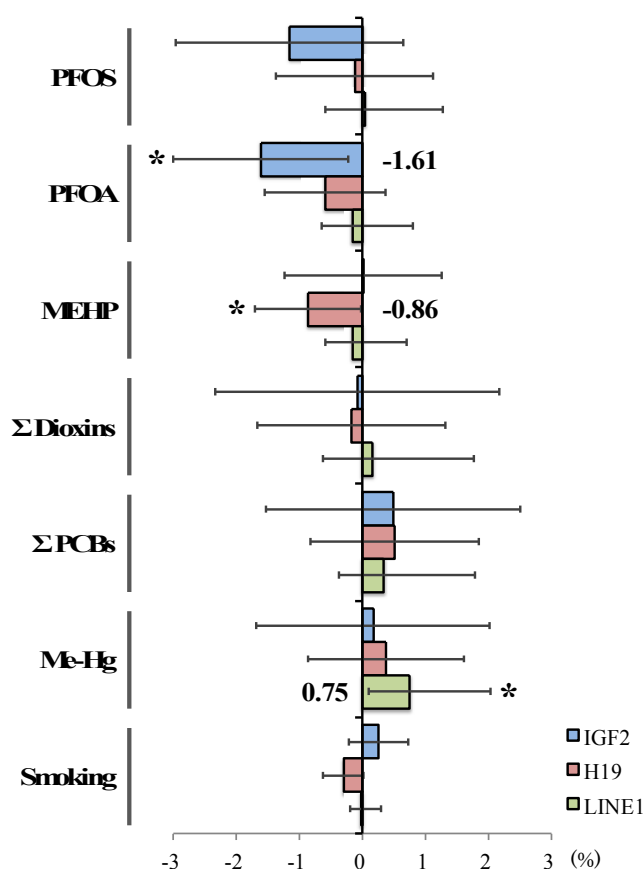
^b Adjusted for maternal age, pre-pregnancy BMI, Annual household income, infant's sex, smoking during pregnancy, blood sampling period

^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。



注意欠損・多動性障害(ADHD)の発症に関わる脳内神経伝達物質と養育環境要因の関係

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 センター長・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 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

研究要旨

注意欠損・多動性障害(Attention-deficit/hyperactivity disorder: ADHD)の発症には脳内神経伝達物質の関係が示唆されているが、遺伝的素因だけでなく養育環境要因も関与すると考えられる。ADHDの化学物質リスク評価において、これら脳内神経伝達物質および化学物質以外の環境について明らかにしておく必要があると考え、本研究では先行研究を整理することを目的とした。方法はPubMedを用いて文献検索を行った。養育環境要因では、母性的暖かさや授乳期間、ダイエットがADHDの症状を緩和・改善する一方で、TVやDVDの視聴時間が発症リスクに影響していた。脳内神経伝達物質と養育環境の交互作用では9編の論文があり、ドーパミン系あるいはセロトニン系物質の候補遺伝子多型について検討していた。前向きコホート研究は4編と少なく、いずれも児の遺伝的解析のみだった。今後は、出生前後それぞれの養育環境要因と脳内神経伝達物質のADHD関連遺伝子の関連を明らかにする必要がある。

研究協力者

池野 多美子
(北海道大学環境健康科学研究教育センター)
小林 澄貴, 馬場 俊明
(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

注意欠損・多動性障害(Attention-deficit/hyperactivity disorder: ADHD)は、注意持続の困難あるいは年齢にそぐわない衝動性や多動性を特徴とする行動障害で、児童期において自閉症スペクトラムや学習障害(LD)などに比べて頻度の高い疾患である。

ADHDの有病率は、DSM-TRでは3~7%と報告されている。学童期に診断を受けた者の30~50%前後が成人期にも移行するとの報告があり¹⁾、児の学校生活適応だけ

でなく、成人期の就労や社会生活適応も含め社会的問題となっている。

ADHDは衝動性に対する薬物効果などから、前頭前野でのカテコールアミン系神経伝達物質の機能が十分に発揮されないことが示唆され、それらの物質のADHD関連遺伝子の研究が進んできた。Faraoneらはメタアナリシスにより、双生児研究において発症要因の76%を規定すること、ADHD関連遺伝子としてカテコールアミン系とセロトニン系の神経伝達物質が強く関与していることを報告している²⁾。また、Gizerらは、小児のADHD関連の候補遺伝子についてメタアナリシスにより分析した結果、神経伝達物質受容体のDRD4, DRD5, HTR1B, 神経伝達物質トランスポーターのDAT1, 5-HTT, セロトニン系のシナプソム関連タンパクのSNAP-25に有意な関連があったと報告している(図1)³⁾。しかし、遺伝的素因と環境の影響は、もともと

両親から受け継いだ遺伝的素因が強く影響しているものか、出生前後の環境要因が関連しているのか、相互に影響し合うものであるのか、完全に分離できるものではない。一般環境の化学物質リスク評価に際しては、これら神経伝達物質と環境要因の関与について明らかにしておく必要がある。

本研究では、ADHD 発症に関連する養育環境要因(喫煙、飲酒の曝露を除く)および脳内神経伝達物質の ADHD 関連遺伝子との交互作用について先行研究を整理することを目的とした。

B．研究方法

英文の引用文献は、PubMed のデータベースを用いて検索した。検索キーワードは、[MeSH] を使い “Attention Deficit Hyperactivity Disorders” および “home or life or social environment” とした。脳内神経伝達物質との交互作用では、“genes”、“interaction” を追加して検索した。日本語論文は、医中誌データベースを用い、同一の検索キーワードを用いた。期間は 2011 年までの 10 年間とした。

C．研究結果

海外の論文から、ADHD と養育環境要因の関連を検討したものは 4 編であった。養育環境要因と脳内神経伝達物質の交互作用を検討した報告は 9 編であった。日本における研究は見当たらなかった。

養育環境要因は、母親の温かさ(Tullu ら)⁴⁾ や授乳期間の長さ(Julvetz ら)⁵⁾ が ADHD 症状の緩和に関連していた。テレビやゲームの視聴時間は注意機能に関連しており、その影響は青年期も同様に認められた(Swing ら)⁶⁾。また、Pelsser らはダイエットと ADHD との関連について無作為化対照試験を実施し⁷⁾、ADHD 児への介入プロ

グラムとしての可能性を報告していた(表 1)。

養育環境と脳内神経伝達物質との交互作用では、夫婦間の葛藤・自己非難の曝露が、*DRD4* リスク型において ADHD の不注意症状と関連していた⁸⁾。経済状況に絡んでは 3 編の報告があった。Nikolas らは経済的困難と両親の不仲に関する自責感と *SLC4AC* との関連を⁹⁾、Lasky-Su らは経済状況と *BNTF10SNPs* との関連を¹⁰⁾、Nobile らは経済状況と *COMT Val158Met* との関連を報告していた¹¹⁾。母親のぬくもりや批判と言った愛情の曝露と遺伝交互作用では関連が認められなかった¹²⁾。社会認識能力と *OXTR5SNPs* との関連が¹³⁾、人生上の出来事と *NET*、*COMT*、*SERTPR* との関連が¹⁴⁾、心理的ストレスと *DAT1* との関連が¹⁵⁾、しつけの質と *DRD4VNTR* との関連が¹⁶⁾ 1 編ずつ報告されていた(表 2)。

D．考察

養育環境では、母親の温かさ⁴⁾ や授乳期間⁵⁾ という養育態度そのものが、ADHD 症状を緩和あるいは改善することが明らかとなり、母児間の接触の重要性を示唆している。しかしながら、ADHD と養育環境の研究は少なく、報告された 4 編については遺伝的素因の検討がなされていない限界がある。一方ダイエットの RCT 研究から⁷⁾、食生活も症状に関連していたことは、ADHD 傾向を示す児童への介入方法としての可能性を示唆しているだろう。

養育環境と脳内神経伝達物質との交互作用の研究は 9 編であった。ドーパミン系あるいはセロトニン系物質を中心に候補遺伝子の多型について検討していたが、前向きコホート研究は 4 編のみであること、環境曝露要因が様々な観点から設定されていること、すべて児の遺伝子多型しか調べていないことなど、交互作用について結論付

けることは難しい。特に経済状況のように胎児期から影響が考えられる環境要因は、前向きコホート研究で出生前後の経済状況を考慮する必要がある。また虐待など出生後の養育環境が二次的に ADHD 発症に影響しうる可能性を考えると、母児ペアの候補遺伝子と環境要因との関連を検討する必要がある。さらに、今後は ADHD 発症に関連する遺伝的素因を有していても発症を予防するあるいは症状を緩和する環境要因について研究を蓄積することが求められる。

E . 結論

ADHD と養育環境との関連については研究が少なく、脳内神経伝達物質と養育環境の交互作用についての研究が近年蓄積されてきている。しかし日本での研究は未だ報告がない。今後は、環境化学物質曝露の影響も含め、ADHD 発症と関連する出生前後の養育環境要因もさらに検討することで、ADHD 発症予防や症状を緩和できる要因が明らかになると考えられる。

F . 研究発表

1.論文発表

(1)池野多美子,小林澄貴,馬場俊明,岸玲子.
注意欠損/多動性障害(ADHD)の有病率と養育環境要因に関する文献 Review.北海道公衆衛生学雑誌. 25 (2):53-59, 2012.

2.学会発表

(1)池野多美子,小林澄貴,馬場俊明,岸玲子.
注意欠損・多動性障害に関する文献 Review(1)-有病率と発生に関する要因.第 82 回日本衛生学会学術総会.京都市.Mar.24-26,2012.

G . 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

参考文献

- (1) Roy-Byrne,P., Scheele, L., Ward, N. et al. Adult attention-deficit hyperactive disorder. Assessment guideline based on clinical presentation to a specialty clinic.
- (2) Faraone,S.V., R.H.Perilis, et al. Molecular genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biological Psychiatry*. 2005;57(11):1313-1323.
- (3) Gizer,I.R., C.Ficks, et al. Candidate gene studies of ADHD: a meta-analytic review. *Hum Genet*. 2009;126(1):51-90.
- (4) Tully Lucy A, Arseneault, Avshalom et al. Does Maternal Warmth Moderate the Effects of Birth Weight on Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD) Symptoms and Low IQ? *J of Consulting and Clinical Psychology*. 2004;72(2):218-226.
- (5) Jordi Julvez, Nuria Ribas-Fito,et al. Attention behaviour and hyperactivity at age 4 and duration of breast-feeding. *Acta Paediatrica*. 2007;96(6):842-847.
- (6) Swing, E. L., D. A. Gentile, et al. Television and video game exposure and the development of attention problems. *Pediatrics*. 2010;126(2):214-221.
- (7) Pelsser, Lidy M., Franken Klass, et al. Effects a restricted elimination diet on the behavior of children with attention-deficit hyperactivity disorder (INCA study): a randomized controlled trial. *Lancet*. 2011;377:494-503.
- (8) Martel MM, Nikolas M, Jarnigan K, et al. The dopamine receptor D4 gene (DRD4) moderates family

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

- environmental effects on ADHD. *J Abnorm Child Psychol.* 2011;39:1-10.
- (9) Nikolas M, Friderici K, Waldman I, et al. Gene x environment interactions for ADHD: synergistic effect of 5HTTLPR genotype and youth appraisals of inter-parental conflict. *Behav Brain Funct.* 2010;6:23.
- (10) Nobile M, Rusconi M, Bellina M, et al. COMT Val158Met polymorphism and socioeconomic status interact to predict attention deficit/hyperactivity problems in children aged 10-14. *Eur Child Adolesc Psychiatry.* 2010;19: 549-557.
- (11) Lasky-Su J, Faraone SV, Lange C, et al. A study of how socioeconomic status moderates the relationship between SNPs encompassing BDNF and ADHD symptom counts in ADHD families. *Behav Genet.* 2007;37: 487-497.
- (12) Sonuga-Barke EJ, Lasky-Su J, Neale BM, et al. Does parental expressed emotion moderate genetic effects in ADHD? An exploration using a genome wide association scan. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2008;147B: 1359-1368.
- (13) Park J, Willmott M, Vetuz G, et al. Evidence that genetic variation in the oxytocin receptor (OXTR) gene influences social cognition in ADHD. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2010;34: 697-702.
- (14) Müller DJ, Mandelli L, Serretti A, et al. Serotonin transporter gene and adverse life events in adult ADHD. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2008;147B:1461-1468.
- (15) Laucht M, M.H.Skowronek, et al. Interacting effects of the dopamine transporter gene and psychosocial adversity on attention-deficit/hyperactivity disorder symptoms among 15-years-olds from a high-risk community sample. *Arch Gen Psychiatry.* 2007;64(5):585-590.
- (16) Sheese BE, Voelker PM, Rothbart MK, et al. Parenting quality interacts with genetic variation in dopamine receptor D4 to influence temperament in early childhood. *Dev Psychopathol.* 2007;19:1039-1046.

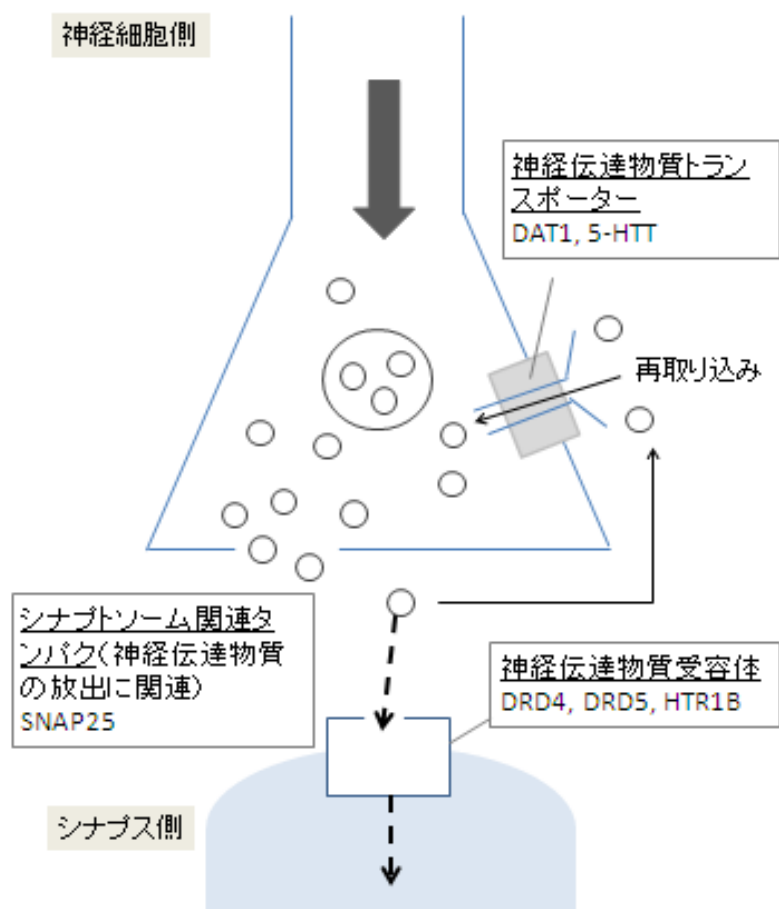


図1 神経伝達物質のADHD関連遺伝子
(Gizerら,2009.を改変)

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. 養育環境要因と ADHD(あるいは ADHD 関連症状)との関連

著者 / 国 / 年	研究デザイン	対象者	曝露評価	ADHD の評価	結果
Tully et al., 2004 UK	後ろ向き コホート	低体重出生の 双子の 5 歳児 2232 組	母性的温かさ(ビデオ 撮影された子どもの 反応からコード化し た感情表現)	教員と養育者による ADHD 症状の調査 票	ADHD 得点において, 児の体重と母性的 温かさの間に有意な交互作用があった。 IQ とは関係しなかった。
Jurvetz et al., 2007 Spain	前向き出 生コホー ート	4 歳児 500 名 (2 箇所のコ ホート)	授乳期間(聞き取り)	ADHD-DSM- に 基づく教員による調 査票 MCSA(神経心理学 検査) 教員による CPSCS	授乳 12 週以上は ADHD 得点と社会適応 の改善が認められた (ADHD RR=0.56;95%CI.0.37-0.85; 社会適応 RR=0.57;95%CI.0.52-0.66)。 授乳 20 週以上は実行機能と関連があっ た(RR=0.49;95%CI.0.6-9.2)。 交絡要因調整後も効果は維持した。
Swing et al., 2009 USA	縦断研究	6 歳から 12 歳 1323 名	テレビやビデオゲー ムの視聴時間(13 ヶ月 間)	教員による注意機能 の評価	テレビやビデオゲームの視聴は注意機能 と非常に関連している (OR=1.81, 95%CI.1.56-2.11)。
Pelsser et al., 2011 Netherlands	クロスオ ーバーの RCT	ADHD と診断 された 4~8 歳 児 100 名	ダイエット(厳格なダ イエットと健康的ダ イエットの指導を受 ける対照群)	小児科医による ADHD-RS と Conners, SDQ,SPI	ダイエット群は対照群に比べ, ADHD 症 状評価指標の ADHD-RS 得点が 23.7(95%CI 18.6-28.8; p<0.0001)差があ り, 両群を交差した結果, 30 人中 16 人 (63%)に症状のぶり返しが認められた。

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

表 2. 脳内神経伝達物質と養育環境要因の交互作用と ADHD(あるいは ADHD 関連症状)

著者/ 地域/ 出版年	対象者/ 対象者年齢/ 男児割合/ 研究デザイン	養育環境評価指標	遺伝評価指標	結果
		対象/ 評価方法	対象/ 遺伝子多型	
< 葛藤・自己非難曝露(夫婦間) >				
Martel ら/ アメリカ/ 2011	548 名/ 6-18 歳/ 59%/ 前向きコーホート	父母/ インタビュー調査	児 / <i>DRD4</i> プロモーター VNTR	<i>DRD4</i> リスク型において、一貫したしつげがない群はある群と比べて ADHD の不注意症状が多い($t=2.26, P<0.025, R^2=0.04$)。 <i>DRD4</i> リスク型において、夫婦間葛藤自己非難が高い群は低い群と比べて ADHD の不注意症状が多い $t=2.82, P<0.01, R^2=0.07$ 。
< 経済状況曝露(経済的困難さ・両親の不仲) >				
Nikolas ら/ アメリカ/ 2010	304 名/ 6-18 歳/ 56.6%/ 前向きコーホート	父母/ CPIC 調査	児 / <i>SLC4AC</i> プロモーター A>G	自己非難と <i>SLC4AC</i> 高活性遺伝子型をもつ ADHD との間に正相関 ($r=0.32, P<0.001$)。 自己非難と <i>SLC4AC</i> 低活性遺伝子型をもつ ADHD との間に正相関 ($r=0.40, P<0.001$)。
< 経済状況曝露(社会的経済状況) >				
Lasky-Su ら/ アメリカ/ 2007	701 名/ 12 歳/ 60.9%/ 症例-対照研究	父母/ Hollingshead によって開発された 5 点スケール評価	児 / <i>BNTF</i> 10SNPs	低い社会的経済状況の中で不注意症状と rs1013442 A アレルとの交互作用による有意な増加が認められた($P=0.012$)。 不注意症状と rs1387144 C アレルとの交互作用による有意な増加が認められた($P=0.009$)。
Nobile ら/ イタリア/ 2010	575 名/ 10-14 歳/ 51.5%/ 横断研究	父母/ Hollingshead によって開発された 9 点スケール評価	児 / <i>COMT</i> Val158Met	親の社会的状況が低く、 <i>COMT</i> Val/Val の児のなかで、 <i>COMT</i> と社会的経済状況の交互作用が ADHD に影響を及ぼした($F=5.693, P=0.004$)。
< 愛情曝露(母のぬくもり・批判) >				
Sonuga-Barke ら/ ヨーロッパ7カ国/ 2008	958 名/ 5-17 歳/ 86.99%/ 横断研究	父母/ インタビュー調査	児 / 600,000 SNPs*	関連なし。

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

< 社会認識能力曝露 >				
Park ら/ イギリス, アイルランド/ 2010	450 名/ 16-70 歳/ 不明/ 横断研究	児/ CAPA を用いたインタビュー調査	児 / OXTR 5SNPs	ADHD 児において, rs53576 AA 遺伝子型は, AG 遺伝子型と比べて, 社会能力が高かった($F=5.24, P=0.007$)。ADHD 児において, rs13316193 CC 遺伝子型は, TT 遺伝子型と比べて, 社会能力が低かった($F=3.09, P=0.05$)。
< 有害な人生の出来事曝露 >				
Müller ら/ カナダ/ 2008	110 名/ 17-56 歳/ 64.5%/ 横断研究	児/ インタビュー調査	児 / NET, COMT, SERTPR (A>G)	SERTPR Long 型変異は, ADHD のうちの感情干渉の管理について有意な増加を示した($\beta=0.97, P=0.001$)。
< 強い心理社会的ストレス >				
Laucht ら/ ドイツ/ 2007	305 名/ 15 歳/ 47.9%/ 前向きコーホート	父母/ the Rutter family adversity index	児/ DAT1	DAT1 10-repeat allele の発症リスクは, 不注意型と多動/衝動型に有意に高かった(不注意型 OR=3.28, CI 1.24-8.68; 多動/衝動型 OR=3.70, CI 1.32-10.40)。
< しつけの質曝露 >				
Sheese ら/ アメリカ/ 2007	45 名/ 4 歳/ 64.4%/ 前向きコーホート	児/ 10 分間介護士と交わせる(ビデオ撮影) 父母/ 児のビデオテープを見せた観察的評価方法を用いた調査	児 / DRD4 VNTR	7-repeat アレルをもつ児はしつけの質に影響を及ぼし, 低いしつけの質は高い感情の探求と関連あり($F(1.39)=6.63, P=0.01$)。

*; 600,000 SNPs の遺伝子: NR4A2, PER2, SLC6A1, DRD3, SLC9A9, HES1, ADRA2C, ADRB2, ADRA1B, DRD1, HTR1E, DDC, STX1A, ADRA1A, NFIL3, ADRA2A, ADRB1, SLC18A2, TPH1, BDNF, FADS1, FADS2, ADRBK1, ARRB1, DRD2, HTR3B, TPH2, SYT1, HTR2A, SLC6A2, ARRB2, PER1, PNMT, CHRNA4, COMT, ADRBK2, CSNK1E.

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

注意欠損・多動性障害（ADHD）の発症に関わる環境化学物質（生活環境も含む）曝露とその代謝に関する遺伝子多型と交互作用

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 センター長・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 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

研究要旨

注意欠損・多動性障害(Attention-deficit/hyperactivity disorder: ADHD)発症には、遺伝要因だけでなく、環境要因も重要である。ADHD の発症には幾つかの環境化学物質の関与が報告されている。環境化学物質の曝露要因とその代謝に関する遺伝子多型との交互作用と、ADHD の関連を中心に、現在までの知見を整理するために、PubMed を用いて文献検索を行った。環境要因には生活環境(喫煙，飲酒)，環境化学物質(フタル酸エステル類，有機フッ素系化合物，有機塩素系化合物)，農薬(有機リン系，有機ハロゲン系)，無機ヒ素が研究されていた。遺伝要因については，脳内神経伝達物質が関与する遺伝子多型の研究が中心だった。母の能動・受動喫煙については，26 編であった。環境化学物質の曝露要因については，これまで 13 編の論文があった。さらにその代謝に関わる遺伝要因については，有機リン系農薬曝露とその代謝酵素の遺伝子多型との交互作用を検討した研究が 1 編あったが，結果は有意でなかった。今後，ADHD の発症に関わる要因を明らかにするためには，その他の環境化学物質についても，環境化学物質の曝露要因とその代謝酵素や神経伝達物質の遺伝子多型，および家庭の養育環境要因との交互作用など総合的な研究を行う必要があると考えられた。

研究協力者

小林 澄貴，馬場 俊明
(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)
池野 多美子
(北海道大学環境健康科学研究教育センター)

A．研究目的

注意欠損・多動性障害(Attention-deficit/hyperactivity disorder: ADHD)は，発達年齢に比べて注意力障害，衝動性，多動性を示す児童期の神経行動障害である。欧米で ADHD に影響を与える要因について，家庭環境，生活スタイル，環境化学物質などの研究が進んでいる。例

えば，鉛中毒や鉄欠乏，食品添加物の摂取と ADHD 発症との関連が報告されている¹⁾。

一方，ADHD の発症には，家系内研究や双生児研究，養子縁組研究などから¹⁾，遺伝要因の関連も示唆されている。ADHD の発症要因について，遺伝要因は 79%との報告がある²⁾。ADHD の発症に関する候補遺伝子の研究については，ドパミン系の関連遺伝子が中心だった¹⁾。

環境化学物質は体外から吸収されて体内に入った後，各組織に分布，そして代謝，排泄される。環境化学物質の曝露要因が，その代謝に関わる酵素やトランスポーターの遺伝子多型との交互作用(環境 遺伝交互作用)が ADHD の発症に影響するかもし

れない。

現在、環境化学物質の曝露要因とその代謝に關与する遺伝子多型との交互作用と、ADHD の発症との關連を明らかにする研究を計画中であり、現在までの環境化学物質(生活環境も含む)曝露と遺伝子多型との交互作用の知見を整理する必要がある。

そこで本研究は、生活環境や環境化学物質および農薬などの環境要因とこれらに關与する遺伝要因との交互作用と、ADHD の關連について先行研究を整理した。

B . 研究方法

検索に PubMed を用いた。環境要因では、ADHD と内分泌かく乱化学物質(67 種)³⁾、あるいは農薬(443 種)⁴⁾を組合せた検索式とした。遺伝要因と環境-遺伝交互作用では、[MeSH]を使い ADHD および genes、さらに environment, smoking, alcohols, environmental pollutants, endocrine disruptors, agrochemicals, dioxins, perfluorooctanoic acid, pesticides, 内分泌かく乱化学物質(67 種)³⁾、あるいは農薬(443 種)⁴⁾を組合せた検索式とした。さらに、ヒト、英語、日本語、子ども(0-18 歳)に制限し、本疾患と關係なかった論文は除いた。

環境要因の研究は、欧米中心に多数行われていた。ADHD の主要な要因は周産期の障害と考えられており、特に、喫煙や飲酒といった胎児期における環境化学物質の影響に関する研究が行われていた¹⁾。2003 年までの文献は吉益ら¹⁾や著者ら⁵⁾の総説を一部改編し、2003 年以降の論文を追加した。

環境 遺伝交互作用との研究は検索期間を絞らずに検索したが、ここ 10 年以内の研究が多かったため、これらの研究を中心に検討した。

C . 研究結果

生活環境曝露要因と ADHD について表

1 に示した。生活環境の曝露要因は喫煙が 26 編(26 編のうち 4 編は受動喫煙も検討)、飲酒が 3 編であった。

環境化学物質曝露要因と ADHD について表 2 に示した。環境化学物質の曝露要因について、フタル酸エステル類が 2 編、有機フッ素系化合物が 2 編、有機塩素系化合物が 1 編、有機臭素系化合物が 1 編、有機リン系農薬が 5 編、有機塩素系農薬が 1 編、無機ヒ素が 1 編であった。

ADHD に關わる環境要因と脳内神経伝達物質および環境化学物質の代謝に關わる遺伝要因について表 3 に示した。脳内神経伝達物質が關与する遺伝要因との關連には、喫煙が 5 編、飲酒が 2 編、出生季節が 1 編であった。環境化学物質の代謝に關わる遺伝子多型との關連について、有機リン系農薬の曝露研究が 1 編あった。Eskenazi ら(2010)は、有機リン系農薬(OP)曝露と OP の解毒酵素であるパラオキシゲナーゼ 1 型(*PON1*)との交互作用を分析した。その結果、児の *PON1* -108C>T 遺伝子多型において、ベイリーテストの MDI(Mental Development Index)点数については、CC 型と比べて、CT 型が 3.9 点低く(95%CI -6.6 to -1.2; $P<0.01$)、TT 型が 5.7 点(95%CI -9.0 to -2.5; $P<0.01$)有意に低かった(P for trend=0.01)。妊婦の尿中ジアルキルリン酸ジメチル代謝物(DM DAPs)と児の *PON1* -108C>T 遺伝子多型において、ベイリーテストの MDI 点数については、CC 型が 2.2 点低く(95%CI -8.0 to 3.6)、CT 型が 3.4 点低く(95%CI -7.4 to 0.6)、TT 型が 5.9 点低かった(95%CI -11.1 to -0.6; $P<0.05$)(P for trend=0.91)⁵¹⁾。

D . 考察

妊娠中の生活環境要因には喫煙や飲酒が報告されていた。吉益らのメタ分析で、妊娠中の軽度喫煙者あるいは非喫煙者と比べて、重度喫煙者から産まれた児の ADHD

のオッズ比は 1.91 (95%CI 1.66-2.21) だった¹⁾。妊婦の喫煙との関連について、横断研究、症例 対照研究、前向きコホート研究で、有意な関連が認められたものが多かった。曝露評価の方法は、妊娠中の「喫煙の有無」あるいは「喫煙本数」など調査票であった。タバコ煙中の化学物質を定量したものではなかったため、情報バイアスや聞き取りバイアスがあると考えられた。また、能動喫煙の影響を評価した 26 編に対し、受動喫煙を研究したものは 4 編で^{23), 26), 29), 31)}、うち 2 編が児の曝露評価を生体試料で測定していた。喫煙について調査票のみからの情報を用い、コチニン値といった客観的な指標を使った研究が少なかった。この点で、曝露評価方法の妥当性に問題がある。また、研究ごとに曝露時期が異なるので、どの曝露時期が ADHD の発症に影響に及ぼしているのか明確でない。妊娠中の受動喫煙曝露は能動喫煙と同じく出生前後のアウトカムに影響を与える。例えば、妊娠中の受動喫煙曝露は受胎能力の減少⁵²⁾、新生児の抗酸化物質の減少⁵³⁾、胎児死亡の増加、未熟児の増加、胎児発育の低下⁵⁴⁾⁻⁵⁶⁾が報告されている。それゆえに、受動喫煙も胎児発育や発達に影響を及ぼすと考えられ、受動喫煙の曝露と ADHD の発症との関連について、妥当性のある研究が求められる。

飲酒と ADHD との関連では、アルコールを多量に飲む習慣のある者から産まれた児は注意症状と関連があった³²⁾。しかしこの研究の尿中や血中のアルコール濃度は不明であり、生体試料の曝露量に関する情報がない。

環境化学物質と ADHD との関連では、内分泌かく乱化学物質であるフタル酸エステル類^{33), 34)}、有機フッ素系化合物^{35), 36)}、有機塩素系化合物³⁷⁾、有機臭素系化合物³⁸⁾について報告があった。しかしながら、研

究数が少なく、曝露評価方法が一致していない上に、曝露濃度も大きく異なった。環境化学物質の曝露(例えば、皮膚の曝露、呼吸による肺の曝露など)や代謝経路など明らかになっていない点があり、解明していく必要がある。

農薬と ADHD との関連については、有機リン系農薬³⁹⁾⁻⁴³⁾と有機塩素系農薬⁴⁴⁾の研究があった。特に有機リン系農薬については、ジメチルリン酸エステル類代謝物(DMAP)とジエチルリン酸エステル類代謝物(DEAP)を指標としたものが最も多く研究されていた^{12)-14), 33)}。有機リン系農薬と ADHD との関連で、オッズ比は 1.55 だった⁴²⁾。有機リン系農薬曝露との関連に調整因子に遺伝要因を加えても ADHD 関連症状の評価尺度(ベイリーテストの MDI 点数)は有意な減少を示した⁵¹⁾。ADHD の発症については、環境要因と遺伝要因の両者が相互に関与している可能性が考えられた。

遺伝要因について、脳内神経伝達物質に関与する遺伝子多型を検討した研究が多い。Faraone ら(2005)のメタ解析の結果では、ドパミン系やセロトニン系に関与する遺伝子多型が ADHD と関連していた⁵⁷⁾。大村(2007)の報告によると、ドパミン D4 受容体(DRD4)、D5 受容体(DRD5)、ドパミントランスポーター(DAT)、ドパミン β 水酸化酵素(DBH)、カテコール-O-メチル基転移酵素(COMT)、セロトニントランスポーター(5-HTT)、セロトニン受容体(HTR1B)、シナプトソーム関連タンパク(SNAP-25)が ADHD と強く関連した⁵⁸⁾。脳内神経伝達物質の遺伝子多型が環境要因と相互に作用し、ADHD 関連症状の出現に影響することが示唆された。環境要因のうち社会的環境(養育環境)要因に関して、母親の温かさや授乳期間が ADHD 症状を緩和した報告が見られた⁵⁾。家庭環境によって ADHD 発症関連の遺伝子多型を有しても発症を抑制す

る可能性がある。

ADHD の発症に関する生活環境の曝露要因と脳内神経伝達物質が関与する遺伝子多型との相互作用の研究については、喫煙曝露要因が最も多かった。その理由は次のことが考えられる。タバコ煙中の化学物質の一つであるニコチンとドパミンとの関係は、中脳のニコチン様アセチルコリン受容体にニコチンが結合し直接的にドパミンの脱抑制が起こるといふ、ニコチンによるドパミン活性化機序が知られている。さらに ADHD はドパミン機能の異常と関連していることが示唆されていたため、注目されたことと思われる。

Eskenazi ら(2010)⁵¹⁾は、体内における有機リン系農薬の代謝に関与する遺伝子多型との相互作用の影響を研究した。結果は有意ではなかったものの、農薬曝露とその代謝酵素の遺伝子多型との相互作用を検討した点で重要である。胎児期における環境化学物質の曝露とその代謝に関与する遺伝子多型との環境-遺伝相互作用が ADHD に与える影響を解明するためには、さらに大きなサンプルサイズで研究しなければならないと考えられた。また、他の環境化学物質の曝露要因やその代謝に関与する遺伝要因も研究する必要がある。今後、本報告の結果を踏まえ、研究計画に反映させる。

E . 結論

ADHD の発症と環境要因との関連には、生活環境(喫煙や飲酒)と環境化学物質(内分泌かく乱化学物質や農薬)の曝露があった。遺伝要因との関連については、これまでは脳内神経伝達物質、特にドパミン系、セロトニン系に関与する遺伝子多型に関する研究が中心だった。環境化学物質の曝露とその代謝に関与する遺伝子多型との環境-遺伝相互作用の影響については、有機リン系農薬とその代謝酵素の遺伝子多型の研究の

みだったが、環境-遺伝相互作用について有意でなかった。現在、環境化学物質の曝露とその代謝に関与する遺伝子多型との相互作用は未だ明らかになっていないことが多い。そのため、環境化学物質の曝露要因とその代謝に関与する遺伝子多型との環境-遺伝相互作用が ADHD にどのように影響する、さらには環境要因のうち社会的環境(養育環境)要因が ADHD 症状を緩和した報告が見られるので、家庭環境を考慮した研究を同時に行う必要がある。

F . 研究発表

1. 論文発表

池野多美子,小林澄貴,馬場俊明,岸玲子. 注意欠損/多動性障害(ADHD)の有病率と養育環境要因に関する文献 Review. 北海道公衆衛生学雑誌. 25 (2):53-59, 2012.

2. 学会発表

小林澄貴,池野多美子,馬場俊明,岸玲子. 注意欠損・多動性障害に関する文献 Review(2)-環境要因と遺伝要因, およびその相互作用. 第 82 回日本衛生学会学術総会. 京都市. 2012.3.24.-26.

G . 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

参考文献

- (1) 吉益光一,山下洋,清原千香子 他. 注意欠陥多動性障害の疫学, 治療と予防. 日本公衆衛生学雑誌 2006; 53: 398-410.
- (2) Lichtenstein P, Carlström E, Råstam M, et al. The genetics of autism spectrum disorders and related neuropsychiatric disorders in childhood. Am J Psychiatry 2010; 167: 1357-1363.
- (3) 東京都健康安全研究センター. 内分泌かく乱化学物質(67 物質)データ集(環境

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

- ホルモン)。2011。
<http://www.tokyo-eiken.go.jp/topics/endocrin.html>
- (4) 内閣府食品安全委員会. ヒトの発達障害と農薬に関する情報収集調査. 2011.
<http://www.fsc.go.jp/fsciis/survey/ssho/cho20110050001>
- (5) 池野多美子, 小林澄貴, 馬場俊明 他. 注意欠損/多動性障害(ADHD)の有病率と養育環境要因に関する文献 Review. 北海道公衆衛生学雑誌 In press.
- (6) Fergusson DM, Horwood LJ, Lynskey MT. Maternal smoking before and after pregnancy: effects on behavioral outcomes in middle childhood. *Pediatrics* 1993; 92: 815-822.
- (7) McIntosh DE, Mulkins RS, Dean RS. Utilization of maternal perinatal risk indicators in the differential diagnosis of ADHD and UADD children. *Int J Neurosci* 1995; 81: 35-46.
- (8) Milberger S, Biederman J, Faraone SV, et al. Is maternal smoking during pregnancy a risk factor for attention-deficit hyperactivity disorder in children? *Am J Psychiatry* 1996; 153: 1138-1142.
- (9) Bor W, Najman JM, Andersen MJ, et al. The relationship between low family income and psychological disturbance in young children: an Australian longitudinal study. *Aust N Z J Psychiatry* 1997; 31: 664-675.
- (10) Milberger S, Biederman J, Faraone SV, et al. Further evidence of an association between maternal smoking during pregnancy and attention deficit hyperactivity disorder: findings from a high-risk sample of siblings. *J Clin Child Psychol* 1998; 27: 352-358.
- (11) Landgren M, Kjellman B, Gillberg C. Attention deficit disorder with developmental coordination disorders. *Arch Dis Child* 1998; 79: 207-212.
- (12) Weissman MM, Warner V, Wickramaratne PJ, et al. Maternal smoking during pregnancy and psychopathology in offspring followed to adulthood. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 1999; 38: 892-899.
- (13) Breslau N, Chilcoat HD. Psychiatric sequelae of low birth weight at 11 years of age. *Biol Psychiatry* 2000; 47: 1005-1011.
- (14) Hill SY, Lowers L, Locke-Wellman J, et al. Maternal smoking and drinking during pregnancy and the risk for child and adolescent psychiatric disorders. *J Stud Alcohol* 2000; 61: 661-668.
- (15) Mick E, Biederman J, Faraone SV, et al. Case-control study of attention-deficit hyperactivity disorder and maternal smoking, alcohol use, and drug use during pregnancy. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2002; 41: 378-385.
- (16) Kotimaa AJ, Molanen I, Taanila A, et al. Maternal smoking and hyperactivity in 8-year-old children. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2003; 42: 826-233.
- (17) Thapar A, Fowler T, Rice F, et al. Maternal smoking during pregnancy and attention deficit hyperactivity disorder symptoms in offspring. *Am J Psychiatry* 2003; 160: 1985-1989.
- (18) Kahn RS, Khoury J, Nichols WC, et al. Role of dopamine transporter genotype and maternal prenatal smoking in childhood

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

- hyperactive-impulsive, inattentive, and oppositional behaviors. *J Pediatr* 2003; 143: 104-110.
- (19) Batstra L, Hadders-Algra M, Neeleman J. Effect of antenatal exposure to maternal smoking on behavioural problems and academic achievement in childhood: prospective evidence from a Dutch birth cohort. *Early Hum Dev* 2003; 75: 21-33.
- (20) Button TM, Thapar A, McGuffin P. Relationship between antisocial behavior, attention-deficit hyperactivity disorder and maternal prenatal smoking. *Br J Psychiatry* 2005; 187: 155-160.
- (21) Obel C, Linnet KM, Henriksen TB, et al. Smoking during pregnancy and hyperactivity-inattention in the offspring—comparing results from three Nordic cohorts. *Int J Epidemiol* 2009; 38: 698-705.
- (22) Langley K, Holmans PA, van den Bree MB, et al. Effects of low birth weight, maternal smoking in pregnancy and social class on the phenotypic manifestation of attention deficit hyperactivity disorder and associated antisocial behavior: investigation in clinical sample. *BMC Psychiatry* 2007; 7: 26.
- (23) Gatzke-Kopp LM and Beauchaine TP. Direct and passive prenatal nicotine exposure and the development of externalizing psychopathology. *Child Psychiatry Hum Dev* 2007; 38: 255-269.
- (24) Stene-Larsen K, Borge AI, Vollrath ME. Maternal smoking in pregnancy and externalizing behavior in 18-month-old children: results from a population-based prospective study. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 2009; 48: 283-289.
- (25) Kollins SH, Garrett ME, McClernon FJ, et al. Effects of postnatal parental smoking on parent and teacher ratings of ADHD and oppositional symptoms. *J Nerv Ment Dis* 2009; 197: 442-449.
- (26) Yoshimasu K, Kiyohara C, Minami T, et al. Maternal smoking during pregnancy and offspring attention-deficit/hyperactivity disorder: a case-control study in Japan. *Atten Def Hyp Disord* 2009; 1: 223-231.
- (27) Cho SC, Kim BN, Hong YC, et al. Effect of environmental exposure to lead and tobacco smoke on inattentive and hyperactive symptoms and neurocognitive performance in children. *J Child Psychol Psychiatry* 2010; 51: 1050-1057.
- (28) Gustafsson P, Källén K. Perinatal, maternal, and fetal characteristics of children diagnosed with attention-deficit-hyperactivity disorder: results from a population-based study utilizing the Swedish Medical Birth Register. *Dev Med Child Neurol* 2011; 53: 263-268.
- (29) Xu X, Cook RL, Ilacqua VA, et al. Racial differences in the effects of postnatal environmental tobacco smoke on neurodevelopment. *Pediatrics* 2010; 126: 705-711.
- (30) Agrawal A, Scherrer JF, Grant JD, et al. The effects of maternal smoking during pregnancy on offspring outcomes. *Prev Med* 2010; 50: 13-18

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

- (31) Bandiera FC, Richardson AK, Lee DJ, et al. Secondhand smoke exposure and mental health among children and adolescents. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2011; 165: 332-338.
- (32) Torvik FA, Rognum K, Ask H, et al. Parental alcohol use and adolescent school adjustment in the general population: results from the HUNT study. *BMC Public Health* 2011; 11: 706.
- (33) Kim BN, Cho SC, Kim Y, et al. Phthalates exposure and attention-deficit/hyperactivity disorder in school-age children. *Biol Psychiatry* 2009; 66: 958-963.
- (34) Engel SM, Miodovnik A, Canfield RL, et al. Prenatal phthalate exposure is associated with childhood behavior and executive functioning. *Environ Health Perspect* 2010; 118: 565-571.
- (35) Hoffman K, Webster TF, Weisskopf MG, et al. Exposure to polyfluoroalkyl chemicals and attention deficit/hyperactivity disorder in U.S. children 12-15 years of age. *Environ Health Perspect* 2010; 118: 1762-1767.
- (36) Stein CR and Savitz DA. Serum perfluorinated compound concentration and attention deficit/hyperactivity disorder in children 5-18 years of age. *Environ Health Perspect* 2011; 119: 1466-1471.
- (37) Sagiv SK, Thurston SW, Bellinger DC, et al. Prenatal organochlorine exposure and behaviors associated with attention deficit hyperactivity disorder in school-aged children. *Am J Epidemiol* 2010; 171: 593-601.
- (38) Gascon M, Vrijheid M, Martínez D, et al. Effects of pre and postnatal exposure to low levels of polybromodiphenyl ethers on neurodevelopment and thyroid hormone levels at 4 years of age. *Environ Int* 2011; 37: 605-611.
- (39) Garry VF, Harkins ME, Erickson LL, et al. Birth defects, season of conception, and sex of children born to pesticide applicators living in the red river valley of Minnesota, USA. *Environ Health Perspect* 2002; 110: 441-449.
- (40) Rauh VA, Garfinkel R, Perera FP, et al. Impact of prenatal chlorpyrifos exposure on neurodevelopment in the first 3 years of life among Inner-city children. *Pediatrics* 2006; e1845-e1859.
- (41) Eskenazi B, Marks AR, Bradman A, et al. Organophosphate pesticide exposure and neurodevelopment in young Mexican-American children. *Environ Health Perspect* 2007; 115: 792-798.
- (42) Bouchard MF, Bellinger DC, Wright RO, et al. Attention-deficit/hyperactivity disorder and urinary metabolites of organophosphate pesticides. *Pediatrics* 2010; e1270-e1277.
- (43) Marks AR, Harley K, Bradman A, et al. Organophosphate pesticide exposure and attention in young Mexican-American children: The CHAMACOS study. *Environ Health Perspect* 2010; 118: 1768-1774.
- (44) Ribas-Fitó N, Torrent M, Carrizo D, et al. Exposure to hexachlorobenzene during pregnancy and children's social

- behavior at 4 years of age. *Environ Health Perspect* 2007; 115: 447-450.
- (45) Roy A, Kordas K, Lopez P, et al. Association between arsenic exposure and behavior among first-graders from Torreón, Mexico. *Environ Res* 2011; 111: 670-676.
- (46) Todd RD, Neuman RJ. Gene-environment interactions in the development of combined type ADHD: evidence for a synapse-based model. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2007; 144B: 971-975.
- (47) Neuman RJ, Lobos E, Reich W, et al. Prenatal smoking exposure and dopaminergic genotypes interact to cause a severe ADHD subtype. *Biol Psychiatry* 2007; 61: 1320-1328.
- (48) Becker K, El-Faddagh M, Schmidt MH, et al. Interaction of dopamine transporter genotype with prenatal smoke exposure on ADHD symptoms. *J Pediatr* 2008; 152: 263-269.
- (49) Palmason H, Moser D, Sigmund J, et al. Attention-deficit/hyperactivity disorder phenotype is influenced by a functional catechol-O-methyltransferase variant. *J Neural Transm* 2010; 117: 259-267.
- (50) Brookes KJ, Neale B, Xu X, et al. Differential dopamine receptor D4 allele association with ADHD dependent of proband season of birth. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2008; 147B: 94-99.
- (51) Eskenazi B, Huen K, Marks A, et al. PON1 and neurodevelopment in children from the CHAMACOS study exposed to organophosphate pesticides in utero. *Environ Health Perspect* 2010; 118: 1775-1781.
- (52) Neal MS, Hughes EG, Holloway AC, et al. Sidestream smoking is equally as damaging as mainstream smoking on IVF outcomes. *Hum Reprod* 2005; 20: 2531-2535.
- (53) Fayol L, Gulian JM, Dalmaso C, et al. Antioxidant status of neonates exposed in utero to tobacco smoke. *Bio Neonate* 2005; 87: 121-126.
- (54) Eskenazi B, Prehn AW, Christianson RE, et al. Passive and active maternal smoking as measured by serum cotinine: the effect on birthweight. *Am J Public Health* 1995; 85: 395-398.
- (55) Goel P, Radotra A, Singh I, et al. Effects of passive smoking on outcome in pregnancy. *J Postgrad Med* 2004; 50: 12-16.
- (56) Kharrazi M, DeLorenze GN, Kaufman FL, et al. Environmental tobacco smoke and pregnancy outcome. *Epidemiology* 2004; 15: 660-670.
- (57) Faraone SV, Perlis RH, Doyle AE, et al. Molecular genetics of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry* 2005; 57: 1313-1323.
- (58) 大村一史. ADHD における衝動性への行動—遺伝的アプローチ. *山形大学紀要(教育科学)*2007; 14: 55-64.

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. 生活環境曝露要因と ADHD(ADHD 関連症状も含む)

著者/地域/ 出版年	対象者/対象者 年齢/男児割合/ 研究デザイン	生活環境曝露要因	結果(関連ありのみ)
<喫煙>		対象/時期/曝露方法/ 妊娠中喫煙率/評価方法	
Fergusson ら ⁶⁾ / ニュージーラン ド/1993	1020 名 /8,10, 12 歳/不明/前向 きコーホート	妊婦/妊娠第三期、産後 年 1 回 (5 歳まで)/ 能動喫煙/ 不明/ 0, 1-19, 20+本/日	妊娠中の喫煙本数が増加すると、8 歳児の行為障害(80.08; $P=0.013$), 注意 欠損(8 0.011; $P=0.001$), 破壊的行動障害(8 0.001; $P=0.001$)のスコアは有 意に増加
McIntosh ら ⁷⁾ / アメリカ/1995	265 名/6-13 歳/ 不明/症例 対 照研究	妊婦/不明/能動喫煙/ 不明/ 喫煙の有無	関連あり($P<0.03$)
Milberger ら ⁸⁾ / アメリカ/1996	260 名/6-17 歳/ 不明/症例 対 照研究	妊婦/妊娠中/能動喫煙/ 22%/妊娠中 3 か月以上 20 本/日以上	非喫煙と比べて、妊娠中の喫煙は児の ADHD 発症のオッズ比が 2.7 で有意 に高かった(OR 2.7; 95%CI 1.1-7.0; $P 0.04$)
Bor ら ⁹⁾ / オーストラリア /1997	5296 名/5 歳/ 不明/前向きコ ーホート	妊婦/不明/能動喫煙/ 不明/重度(7.3%), 中度 (27.5%), なし(65.2%)	外面的および内面的問題行動, 社会性または注意思考に関する問題いずれ についても関連あり
Milberger ら ¹⁰⁾ / アメリカ/1998	271 名/6-17 歳/ 不明/症例 対 照研究	妊婦/妊娠中/能動喫煙/ 不明/妊娠中 3 か月以上 20 本/日以上	非喫煙と比べて、妊娠中の喫煙ありは児の ADHD 発症のオッズ比が 4.4 で 有意に高かった(OR 4.4; $P=0.02$)
Landgren ら ¹¹⁾ / スウェーデン/ 1998	113 名/6 歳/ 80.5%/症例 対 照研究	妊婦/妊娠中/能動喫煙/ 不明 / 機会 喫煙 以上 (smoking more than occasional cigarette during pregnancy)	非喫煙と比べて、喫煙者の児の注意, 運動制御, 認知の障害(DAMP)の相 対リスクは 2.5 で有意に上昇(RR=2.5; 95%CI 0.8-7.3).
Weissman ら ¹²⁾ / アメリカ/1999	147 名/17-36 歳/ 不明/前向きコ ーホート	妊婦/不明/能動喫煙/ 不明/10 本/日以上	男 13 歳未満 相対リスク RR=0.444 (95%CI 0.094-2.09) 女 13 歳未満 相対リスク RR=2.16(95%CI 0.135-34.71)

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

Breslau ら ¹³⁾ / アメリカ/2000	823名/11歳/ 不明/前向きコ ーホート	妊婦/妊娠中/能動喫煙/ 31.0%/喫煙の有無	妊娠中に喫煙者の児は外面化問題が有意に増加($P<0.05$)
Hill ら ¹⁴⁾ / アメリカ/2000	150名/18歳/ 51.3%/前向きコ ーホート	妊婦/不明/能動喫煙/ 不明/喫煙の有無	関連なし
Mick ら ¹⁵⁾ / アメリカ/2002	522名/6-17歳/ 50%/症例対 照研究	妊婦/妊娠中/能動喫煙/ 不明/妊娠中3か月以上 20本/日以上	非喫煙と比べて、喫煙の ADHD 発症のオッズ比は 2.1 で有意に高かった (OR=2.1; 95%CI 1.1-4.1; $P=0.02$).
Kotimaa ら ¹⁶⁾ / フィンランド/ 2003	7135名/8歳/ 51.1%/前向きコ ーホート	妊婦/妊娠8週以降/ 能動喫煙/28.1%/喫煙の 有無, 妊娠8週以降に 禁煙の「有無」, 喫煙量 の「減少の有無」	非喫煙と比べて、喫煙者の児の多動症状発症のオッズ比は 1.78 で有意に高かった (OR=1.78; 95%CI 1.53-2.07). 男児 (OR=1.78; 95%CI 1.49-2.13), 女児においても有意に高かった (OR=1.81; 95%CI 1.53-2.07). 非喫煙と比べて、妊娠8週未満に禁煙した児 (OR=1.52; 95%CI 1.16-2.01; $P=0.003$), 喫煙量を減らした児 (OR=1.84; 95%CI 1.47-2.31; $P<0.001$), 喫煙量を同じあるいは増量した児 (OR=2.12; 95%CI 1.62-2.77; $P<0.001$) の多動症状発症のオッズ比は有意に高かった.
Thapar ら ¹⁷⁾ / アメリカ/2003	1452組(双生 児)/5-16歳/不明 /横断研究	妊婦/妊娠中/能動喫煙/ 14.3%/ 0, 1-9, 10-20, 21+本/日	ADHD 症状について、一変量 ADE モデルを用いると妊娠中喫煙は影響する ($s^2=0.01$; 95%CI 0.012-0.17).
Kahn ら ¹⁸⁾ / アメリカ/2003	161名/5歳/ 48.5%/前向きコ ーホート	妊婦/妊娠中全時期/ 能動喫煙/24%/ 喫煙の有無	非喫煙者と比べて、喫煙者は Conners スケールの反抗型点数は有意に増加 ($\beta=6.5$; $P=0.007$).
Batstra ら ¹⁹⁾ / オランダ/2003	1186名/5.5-11 歳/55%/前向き コーホート	妊婦/妊娠中全時期なら びに産後5歳まで/能動 喫煙/48%/0, 1-5, 6-10, 11-19, 20+本/日	妊娠中非喫煙者と比べて、妊娠中喫煙者は注意欠損型 ($\beta=0.59$; $P<0.001$), 外面型 ($\beta=0.24$; $P<0.001$) で有意に増加.
Button ら ²⁰⁾ / イギリス/2005	2846家族(双生 児)/5-18歳 /46.9%/横断研 究	妊婦/妊娠中/能動喫煙/ 29.1%/0, 1-10, 11-20, 21+本/日	ADHD 症状について、一変量 ADE モデルを用いると妊娠中喫煙は影響するが小さい (0.02; 95%CI 0.01-0.03).

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

Obel ら ²¹⁾ / フィンランド, デンマーク/ 2007	20936 名/7-15 歳*/不明/前向き コホート**	妊婦/妊娠中/能動喫煙/ 16-36%***/ 0, 1-9, 10+本/日	多動不注意型において、非喫煙者と比べて、喫煙者の児の ADHD 発症オッズ比は各コホートにおいても、有意に上昇。
Langley ら ²²⁾ / イギリス/2007	356 名/6-16 歳/ 90%/ 横断研究	妊婦/妊娠中/能動喫煙/ 46%/ 喫煙の有無・本数	非喫煙者と比べて、喫煙者から産まれた児の集中障害発症 ($\beta=0.21$; $P=0.001$), 反抗行動発症は有意に上昇 ($\beta=0.58$; $P=0.03$).
Gatzke-Kopp ら ²³⁾ /アメリカ/ 2007	176 名/7-15 歳/ 75.6%/横断研究	妊婦/妊娠第一期・第二期・第三期/能動喫煙・ 受動喫煙/11.9%/ 能動喫煙は半箱までを 3 カテゴリー化, 半箱 から 1 箱までを 2 カテゴリー化, 1 箱以上. 受 動喫煙は曝露の有無	非喫煙者と比べて、喫煙者から産まれた児の集中障害発症 ($\beta=0.25$; $P=0.023$), ADHD 発症は有意に上昇 ($\beta=0.31$; $P=0.007$).
Stene-Larsen ら ²⁴⁾ /ノルウェ ー/2009	22545 名/18 カ 月/51%/前向き コホート	妊婦/妊娠 17 週目/ 能動喫煙/13.1%/ 0, 1-9, 10+本/日	非喫煙者と比べて、10+本/日の喫煙者から産まれた児は外面的行動点数においてオッズ比 1.32 で有意に上昇 ($OR=1.32$; 95%CI 1.03-1.70; $P<0.05$)
Kollins ら ²⁵⁾ / アメリカ/2009	244 名/5-12 歳/ 59.84%/横断研 究	妊婦/出産前・後/能動喫 煙/7.79%/喫煙の有無 父/出産後/能動喫煙/不 明/喫煙の有無	産後の喫煙状況を調整すると、出産前妊婦の喫煙者から産まれた児は、CPRS スケールの反抗型点数の Log 値が平均 4.31 点有意に上昇 ($P<0.05$).
Yoshimasu ら ²⁶⁾ /日本/2009	360 名/6-15 歳/ 77.4%/症例-対 照研究	妊婦/妊娠中/能動喫 煙・受動喫煙/20.3%/喫 煙の有無	非喫煙者と比べて、性で調整した時のみ、妊娠中喫煙者の児の ADHD 発症オッズ比は 2.3 上昇 ($OR=2.3$; 95%CI 1.2-4.3).
Cho ら ²⁷⁾ /韓国/ 2010	667 名/8-11 歳/ 52.1%/前向きコ ホート	妊婦/妊娠中・最近/能動 喫煙/15.0%/喫煙の有無 児/8-11 歳/ / /尿中コ チニン量	尿中コチニン値について、非喫煙環境の児(平均 2.75 ng/mL)と比べて、喫煙環境に置かれた児(7.78 ng/mL)は有意に高かった。 尿中コチニン値が上がると, Continuous Performance Test の Omission errors ($\beta=0.147$; $P=0.002$)と Commission errors ($\beta=0.120$; $P=0.009$) は有意に増加。

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

Gustafsson ら ²⁸⁾ /スウェーデン/2010	237名/5-17歳/ 86.9%/症例-対 照研究	妊婦/妊娠中/能動喫煙/ 36.2%/喫煙の有無	非喫煙者と比べて、喫煙者の児における ADHD 発症オッズ比は 1.35. (OR=1.35; 95%CI 1.14-1.60)
Xu ら ²⁹⁾ /アメリカ/2010	5475名/4-15歳/ 48.6%/症例-対 照研究	妊婦/妊娠中/能動喫煙/ 15.0%/喫煙の有無 児/4-15歳/受動喫煙/ 血清コチニン量	血清コチニン量 33 パーセンタイル 0.035ng/mL, 67 パーセンタイル 0.291 ng/mL. 親の ADHD 症状報告において、血清コチニン値が第一三分位と比べて、第 三三分位のオッズ比は 2.16 有意に上昇(OR 2.16; 95%CI 1.37-3.39). 非喫煙者と比べて、喫煙者のオッズ比は 2.06 で有意に上昇 (OR 2.06; 95%CI 1.40-3.03). 白人と黒人(ヒスパニック系を除く)、メキシコ系アメリカ人を除く民族に おいて、血清コチニン値が第一三分位と比べて、第二三分位のオッズ比は 4.81 (OR 4.81; 95%CI 1.27-18.2), 第三三分位のオッズ比は 5.32 (OR 5.32; 95%CI 1.55-18.3)で有意に上昇.
Agrawal ら ³⁰⁾ /アメリカ/2010	1342名/12-32 歳/不明/横断研 究	妊婦/妊娠第一期・第二 期・第三期・現在/14.2%/ 能動喫煙/喫煙の有無 父/現在/ /能動喫煙/喫 煙の有無・ニコチン依 存	非喫煙者と比べて、喫煙者の ADHD 発症は有意に増加(β =1.53; 95%CI 1.00-2.35).
Bandiera ら ³¹⁾ /アメリカ/2011	2901名/8-15歳/ 51.06%/横断研 究	妊婦/妊娠中/能動喫煙 (受動喫煙)/17.08%/喫 煙の有無(血清コチニン 量)	妊婦の血清コチニン値 平均 5.675 nmol/L. 非喫煙環境に置かれた児と比べて、受動喫煙曝露ありの児は DSM-IV の ADHD 点数は有意に増加(b =0.08; P <0.001)

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

< 飲酒 >		対象/時期/妊娠中飲酒率/ 評価方法/ 血中アルコール濃度	
Mick ら ¹⁵⁾ / アメリカ/2002	522名/ 6-17歳/ 50%/ 症例対 照研究	妊婦/妊娠中/3.6%/ 飲酒の有無/不明	非飲酒者と比べて、飲酒者の児のADHD発症のオッズ比は2.5で有意に上昇(OR=2.5; 95%CI 1.1-5.5; P=0.03).
Kotimaa ら ¹⁶⁾ / フィンランド/ 2003	7135名/ 8歳/ 51.1%/前向きコ ーホート	妊婦/妊娠中/28.5%/ 飲酒の有無/不明	非飲酒者と比べて、飲酒者の児の多動症状発症のオッズ比は1.32で有意に上昇(OR=1.32; 95%CI 1.07-1.63). 性別で層別化すると、男児にのみ有意に上昇(OR=1.51; 95%CI 1.18-1.93).
Torvik ら ³²⁾ / ノルウェー/ 2011	8984名/ 13-19 歳/ 不明/前向き コーホート	妊婦/妊娠中/61.0%/ 「禁酒家」「低飲酒者」 「リスク飲酒者」「アル コール依存症」の4つ のカテゴリー化/不明 父/妊娠中/50.2%/ 「禁酒家」「低飲酒者」 「リスク飲酒者」「アル コール依存症」の4つ のカテゴリー化/不明	妊婦が低飲酒者の児と比べて、リスク飲酒者の児(Cohen's d=0.09; P<0.05)とアルコール依存症の児(d=0.27; P<0.05)の注意症状は有意な関連あり. 父が低飲酒者の児と比べて、リスク飲酒者の児(Cohen's d=0.11; P<0.01)とアルコール依存症の児(d=0.21; P<0.01)の注意症状は有意な関連あり.

2003年までの報告は吉益ら¹⁾、池野ら⁵⁾の論文を一部改編し、以降の論文を追加した。

*, **, ***; 3つの前向きコーホートを合わせた研究. Northern Finnish Birth Cohortは児の対象者年齢8歳、妊娠中喫煙率16%.

Aarhus Birth Cohortは年齢10, 11, 12歳、喫煙率29%. Healthy Habits for Tow cohortは年齢7-15歳、喫煙率36%.

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. 環境化学物質曝露要因と ADHD(ADHD 関連症状も含む)

著者/地域/ 出版年	対象者/ 対象者年齢/ 男児割合/ 研究デザイン	曝露評価指標 対象/指標	評価物質・濃度 (平均:Ave; 幾何平均:GM;中央値: Med)	結果(関連ありのみ)
<フタル酸エステル類>				
Kim ら ³³⁾ / 韓国/2009	児 261 名/ 8-11 歳/ 54.0%/ 横断研 究	児/尿	代謝物 フタル酸モノ-2-エチルヘキシル (MEHP) (Ave. 34.0µg/dL) フタル酸モノ-2-エチル-5-オキソヘキシル (MEOP) (Ave. 23.4µg/dL) フタル酸ジブチル(DBP) (Ave. 46.723.4µg/dL)	ADHD は MEHP, MEOP と正の相関 MnBP は CPT のエラー数と正の相関
Engel ら ³⁴⁾ / アメリカ/ 2010	母児 177 組/ 4-9 歳/不明/ 前向きコーホ ート	妊婦/尿	代謝物モノエステルの分子量(250Da)で 2つのカテゴリー化 低分子量フタル酸代謝物 (LMWP) (Med.1.88 µM/L) 高分子量フタル酸代謝物 (HMWP) (Med. 0.43 µM/L)	HMWP の増加で BACS の適応性スケール得点低 下
<有機フッ素系化合物>				
Hoffman ら ³⁵⁾ / アメリカ/ 2010	571 名/ 12-15 歳/ 51.8%/ 横 断研究	児/血清	ペルフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS)(Med. 22.6µg/L) ペルフルオロオクタン酸(PFOA) (Med. 4.4µg/L) ペルフルオロノナン酸(PFNA) (Med. 2.2µg/L) ペルフルオロヘキシルスルホン酸 (PFHxS)(Med. 0.6µg/L)	血清中の PFOS, PFOA, PFHxS が 1µg/L 上昇に対する ADHD(親のレポートによる)ありのオッズ比(OR)は有 意に上昇. PFOS:OR=1.03(95%CI:1.01-1.05),PFOA:OR=1.12 (95%CI:1.01-1.23),PFHxS:OR=1.06(95%CI:1.02-1.11).
Stein and Savitz ³⁶⁾ / アメリカ/ 2011	10546 名/5-18 歳/ 51.6%/ 横断研究	児/血清	PFOS (Ave. 22.9 ng/mL) PFOA (Ave. 66.3 ng/mL) PFNA (Ave. 1.7 ng/mL) PFHxS (Ave. 9.3 ng/mL)	服薬中の ADHD 出現は PFHxS 濃度の第一四分位 (0.25-2.9ng/mL) と比べて, 第四四分位 (10.1-276.4ng/mL) の オ ッ ズ 比 は 1.59 (95%CI,1.21-2.08)に上昇.

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

< 有機塩素系化合物 >				
Sagiv ら ³⁷⁾ / アメリカ/ 2010	607 名/7-11 歳 (PCB 濃度の 高い港湾近郊 在住)/不明/前 向きコーホー ト	妊婦/ 臍帯血 血清	モノオルソポリ塩化ビフェニル (Mono-ortho PCB) 105, 118, 156, 167, 189(合計 Ave. 7.20 pg/g lipid, Med. 4.45 pg/g lipid) ポリ塩化ビフェニル(PCB) 118, 138, 153, 180(合計 Ave. 0.26 ng/g, Med. 0.19 ng/g) <i>p,p'</i> -ジクロロジフェニルジクロロエチ レン(DDE) (Ave. 0.50 ng/g, Med. 0.31 ng/g)	PCBs, Mono-ortho PCBs, <i>p,p'</i> DDE 濃度の第一四分位 と比べて, 第四四分位の DSM-IV テストの ADHD リス ク比は 1.79, 1.92, 1.69 で有意に上昇.
< 有機臭素系化合物 >				
Gascon ら ³⁸⁾ / スペイン/ 2010	244 名/4 歳/ 不明/前向きコ ーホート	妊婦/ 臍帯血 血清	ポリ臭化ジフェニルエーテル(PBDE) 47 (Med. 2.10 ng/g lipid) PBDE 99 (Med. 0.38 ng/g lipid) PBDE 100 (Med. 25.7 ng/g lipid) ポリ塩素ビフェニル(PCBs) 28, 52, 101, 118, 153, 138, 180(合計 GM 0.7 ng/mL) ジクロロジフェニルトリクロロエタン (DDT) (GM 0.1 ng/mL) ジクロロジフェニルジクロロエチレン (DDE)(GM 1.1 ng/mL) ヘキサクロロベンゼン(HCB) (GM 0.7 ng/mL)	出生後 PBDEs 曝露により ADHD の注意欠如のリ スク増大(RR(95%CI)=1.8(1.0-3.2)).
	児/ 血清		PBDE 47 (Med. 0.12 ng/g lipid) PBDE 99 (Med. 0.12 ng/g lipid) PBDE 100 (Med. 0.12 ng/g lipid) PCBs (妊婦と同じ物質) (合計 GM 0.9 ng/mL) DDT (GM 0.1 ng/mL) DDE (GM 0.9 ng/mL) HCB (GM 0.3 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

Marks ら ⁴³⁾ / アメリカ/ 2010	348 名/3 歳半 331 名, 5 歳 323 名/46.8%/ 前向きコーホ ート	妊婦/尿 児/尿	DEAP (合計 Ave. 17.7 nmol/L) DMAP (合計 Ave. 76.8 nmol/L) DAPs (合計 Ave. 109.0 nmol/L) DEAP (合計 3 歳半 Ave. 7.0 nmol/L, 5 歳 7.2 nmol/L) DMAP (合計 3 歳半 Ave. 62.5 nmol/L, 5 歳 72.4 nmol/L) DAPs (合計 3 歳半 Ave. 77.5 nmol/L, 5 歳 Ave. 92.6 nmol/L)	DAPs (nmol/L) 10 倍上昇すると 5 歳男児の注意症 状と ADHD の CBCL 点数は有意に上昇. 注意症状 $\beta=0.7(95\%CI,0.2-1.2)$ ADHD $\beta=1.3(95\%CI,0.4-2.1)$ (男児にのみ有意)
< 有機塩素系農薬 >				
Ribas-Fito ら ⁴⁴⁾ / 2007/ スペイン	475 名/4 歳/ 不明/前向きコ ーホート	妊婦/ 臍帯血 血清 児/尿	ヘキサクロロベンゼン(HCB) (Med. 0.73 ng/mL) PCBs (Med. 不明., 調整因子) <i>p,p'</i> -DDE (Med. 不明., 調整因子) <i>p,p'</i> -DDT (Med. 不明., 調整因子)	HCB 0.5ng/mL 未満と比べて, 1.5ng/mL 以上は, 4 歳児における社会適応不良の相対リスクが 4.04 (RR=4.04;95%CI.1.76-9.58), ADHD の症状得点の 相対リスクが 2.71(RR=2.71;95%CI.1.05-6.96) 増 加.
< 無機ヒ素 >				
Roy ら ⁴⁵⁾ / メ キシコ/ 2011	526 名/6-7 歳 (メキシコ工業 地帯近郊在 住)/55.5%/ 前向きコーホ ート	児/尿	尿中ヒ素(UAs) (Med. 55.2 μ g/L) モノメチルアルソン酸(MMA) (Med. 6.7 μ g/L) ジメチルアルシン酸(DMA) (Med. 39.3 μ g/L)	関連なし

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

表 3. ADHD に関わる環境要因と脳内神経伝達物質および環境化学物質の代謝に関わる遺伝要因(ADHD 関連症状も含む)

著者/地域/ 出版年	対象者/ 対象者年齢/ 男児割合/研 究デザイン	環境曝露評価	遺伝子多型	結果(関連ありのみ)
【脳内神経伝達物質に関わる遺伝要因】				
<喫煙>				
		対象/時期/曝露方法/ 妊娠中喫煙率/評価方法		
Kahn ら ¹⁸⁾ / アメリカ/2003	161 名/5 歳/ 48.5%/ 前 向 き コーホ ー ト	妊婦/妊娠中全時期/能動喫煙/ 24%/喫煙の有無	児/ <i>DAT1</i> VNTR	妊娠中に喫煙曝露を受け, <i>DAT1</i> 10-repeat アレル 2 コピー型は, 妊娠中に非喫煙で, <i>DAT1</i> 10-repeat アレルなし型と比べて, Conners スケールの多動衝動型点数($P<0.01$)と反抗型点数($P<0.001$)が有意に増加.
Todd ら ⁴⁶⁾ / アメリカ/2007	812 名/7-19 歳/62.0%/ 前 向き コーホ ー ト	妊婦/妊娠 3 カ月/能動喫煙/ 26.9%/喫煙の有無	児/ <i>DRD4</i> エキソン 3 VNTR, <i>CHRNA4</i> エキ ソ ン 5 C>T (rs1044396), <i>DAT1</i> 3'- 非転写領域 VNTR	<i>CHRNA4</i> C アレルはリスクあり(OR=3.0; 95%CI 1.1-8.4)
Neuman ら ⁴⁷⁾ / アメリ カ / 2007	747 名(双生 児)/7-19 歳/ 62.7%/症例- 対照研究	妊婦/妊娠中全時期/能動喫煙/ 24.4%/喫煙の有無	児 / <i>DAT1</i> VNTR, <i>DRD4</i> VNTR	<i>DAT1</i> VNTR あり群において非喫煙妊婦と比 べて,喫煙妊婦から産まれた児の ADHD のオ ッズ比は 1.8 に上昇 (OR=1.8, 95%CI 1.01-3.36).
Becker ら ⁴⁸⁾ / ドイツ/2008	305 名/15 歳/ 47.9%/ 前 向 き コーホ ー ト	妊婦/妊娠 3 カ月/能動喫煙/ 26.9%/喫煙の有無	児/ <i>DAT1</i> 3'-非転写領域 VNTR	関連なし
Pálmason ら ⁴⁹⁾ / ドイツ/2010	166 名/6-13 歳/84.3%/ 症 例-対照研究	妊婦/妊娠 3 カ月目以降/ 能動喫煙/28.9%/喫煙の有無	児/ <i>COMT</i> エキソン 4 Val158Met (rs4680)	Met/Met と Val/Met は, Val/Val と比べて ADHD 症状に有意に増加(B=6.8, $P=0.001$; B=5.3, $P=0.004$)

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

< 飲酒 >		対象/時期/妊娠中飲酒率/ 評価方法/アルコール濃度	
Neuman ら ⁴⁷⁾ / アメリカ/2007	747 名(双生 児)/7-19 歳/ 62.7%/症例- 対照研究	妊婦/妊娠中全時期/5.0%/ 飲酒の有無/不明	児 / <i>DAT1</i> VNTR, 関連なし <i>DRD4</i> VNTR
Pálmason ら ⁴⁹⁾ / ドイツ /2010	166 名/6-13 歳/84.3%/症 例-対照研究	妊婦/妊娠 3 カ月目以降/12.0%/ 飲酒の有無/不明	児/ <i>COMT</i> エキソン 4 関連なし Val158Met (rs4680)
< 出生季節 >		出生季節時期の評価方法・分布 割合	
Brookes ら ⁵⁰⁾ / ヨーロッパ*/ 2008	600 名/4-15 歳 /89-92%/ 前向きコー ホート(4 つ 合体)	夏季(3 月 22 日- 9 月 22 日) 54.1%;冬季(9 月 23 日- 3 月 21 日) 45.9% の 2 つの群に分けた	児/ <i>DRD4</i> エキソン 3 関連なし VNTR
【環境化学物質の代謝に関わる遺伝要因】			
< 有機リン系農薬 >		対象/指標/ 評価物質・濃度（幾何平均; GM)	
Eskenazi ら ⁵¹⁾ / アメリカ/2010	371 名/2 歳 /49.1%/前向 きコーホー ト	妊婦/尿/ ジメチルリン酸エステル代謝 物(DMAP)(ジメチルリン酸エ ステル, ジメチルチオリン酸エ ステル, ジメチルジチオリン酸 エステル) (合計 GM 77 nmol/L) ジエチルリン酸エステル代謝 物(DEAP)(ジエチルリン酸エ ステル, ジエチルチオリン酸エ ステル, ジエチルジチオリン酸	妊婦・児/ <i>PONI</i> (-108 C>T, 192 R>Q) 児の <i>PONI</i> (-108 C>T)TT 型において, 母体血 中 DM AP 濃度が 10 倍増えると, ベイリー MDI(Mental Development Index)スコアは 5.9 点有意に減少($P=0.03$). しかし, 交互作用 は有意でなかった($P=0.91$).

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

エステル)
(合計 GM 18 nmol/L)
の 6 代謝物(DAPs)(合計 GM
110 nmol/L)

*; ベルギー, イギリス, ドイツ, ホーランド, アイルランド, イスラエル, スペイン, スイス

胎児期環境化学物質曝露による注意欠損多動性障害（ADHD）への影響

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

児童の発達障害の中でも発症頻度の高い注意欠損多動性障害（ADHD）のリスク要因として胎児期の環境化学物質曝露影響が示唆されている。本研究は、胎児期環境要因の一つとして喫煙曝露に注目し、妊娠中の母親血漿中コチニン値測定による評価と、発育過程の両親の喫煙状況を調査票で聴取して、ADHD 関連症状に及ぼす影響を検討することを目的とした。対象者は大規模コホート 8 歳時調査を行い、その回答が得られた 619 名である。ADHD 関連症状は Conners3 日本語版の「不注意」「多動衝動」「Conners3 総合指標」の得点を用い、妊娠中血漿コチニン値、7 歳時の両親の喫煙状況、養育環境得点、ライフイベント数を評価し、喫煙との関連を解析した。その結果、妊娠中血漿コチニン値、妊娠前及び妊娠中の喫煙者は ADHD 関連症状の各得点が高い傾向を示したが有意ではなかった。調査票による 7 歳時の母親または父親の喫煙状況が ADHD に影響を及ぼすことが示唆されたが、さらに社会的要因も考慮した多変量解析を行う必要がある。生育環境の 1 つとしてストレスイベント数の多さが症状を強める一方、養育環境得点は負の相関が示唆された。今後は 7 歳時の受動喫煙曝露を生体試料により客観的に評価するとともに、一般環境中の化学物質や社会的環境の要因を考慮したリスク評価が課題である。

研究協力者

喜多 歳子

（北海道大学環境健康科学研究教育センター）

小林 澄貴、馬場 俊明

（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）

室橋 春光（北海道大学教育学研究院）

A . 研究目的

近年、発達障害殊に知能の遅れがない自閉症スペクトラムや注意欠損多動性障害（Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder; ADHD）など軽度の発達障害が年々増えている。ADHD は、7 歳以前より認められ、発達水準にそぐわない不注意、多動、衝動性を主症状とする障害で、診断は 7 歳以降に確定される¹⁾。ADHD の有病率は、日本では 3～7%前後の報告が多いが、正確な疫学データは報告ない。また相原らは特別支援教育を希望する児童生徒数が増

えている現状を検証し²⁾、小児療育施設における発達障害初診患者の調査からその総数は、平成 12 年頃より増加傾向を認め、平成 18 年より急激な増加が認められたと報告している。診断別では ADHD、広汎性発達障害、学習障害が 7 割にのぼる。

ADHD 発症の環境要因の先行研究では、喫煙との関連を報告したものが最も多く（表 1）Weissman³⁾が 147 人を追跡した報告から Obel⁴⁾の 2 万人規模のコホートまで、対象者人数は幅があり、喫煙の評価、アウトカムの評価基準とも様々であった（吉益⁵⁾、池野⁶⁾）。喫煙の曝露評価は、調査票による聞き取りをもとにした研究がもっとも多かったが、ニコチン代謝物であるコチニン測定といった客観的指標による評価は Choらの 1 報⁷⁾しかなかった。また喫煙以外の要因として、胎児期の鉛や PCB といった化学物質、出生時の低出生

体重、出生後の強い社会的ストレス、甲状腺機能障害などがあげられている。養育環境では、母親の温かさ（Tullu ら⁸⁾）や授乳期間の長さ（Julvetz ら⁹⁾）が ADHD 症状の緩和に関連していたとの報告もあり、発達障害には胎児期と発育過程の環境要因も考慮した評価が重要である。

本研究では、北海道スタディ大規模コーホートの 8 歳時調査票をもとに、妊娠中の母親血漿中コチニン値や妊娠前・妊娠中、7 歳時点の親の喫煙状況が ADHD 関連症状に影響しているか評価することを目的とする。

B . 研究方法

対象者は、大規模コーホートで 8 歳に達し、8 歳時調査票のデータが揃った 619 名である。喫煙曝露評価は、妊娠中母親血漿中のコチニン値を測定し、妊娠前、妊娠中、7 歳時の喫煙状況は調査票により得た。ADHD 関連症状は、国際的に用いられている Conners3^{10,11)}の日本語版保護者用を用いた。全 110 問から成り、ADHD 主症状である「不注意」「多動性/衝動性（以下、多動衝動）」と「Conners 総合指標」得点を用いた。3 項目の得点は、いずれも年齢層別、男女別に分けてプロフィールで T 得点化して解析した。その他の環境要因として、ライフイベント数は塩川宏郷のライフイベント質問票（25 問）¹²⁾を、養育環境は安梅らの養育環境調査票（HOME）¹³⁾を一部学童期に合うよう改変した。養育環境が恵まれているほど高得点になるよう構成されている。

ADHD 各得点と要因のカテゴリー間の比較には、Man-Whitney の U 検定、または Kruskal-Wallis 検定を用いた。血漿中コチニン値と ADHD 得点の関連は、コチニン値の分布から 3 群に分けて検討した。そのほかの連続変数の検定には T 検定を、

ADHD 各得点との関連は Sperman の相関係数を用いた。有意確率は 5%とした。

（倫理面への配慮）

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および研究協力施設の研究倫理委員会に諮り、承認を得たうえで実施した。

C . 研究結果

対象 619 名の基本属性を表 2 に示した。ADHD の診断または治療中の児は 12 名（1.9%）であった。喫煙習慣は、母親が妊娠前、妊娠初期より妊娠中に 44 名（7.1%）に低下していたが、7 歳時点では母親 102 名（16.5%）、父親 307 名（49.6%）と上昇していた。

妊娠中の母親血漿中コチニン値の分布を図 1 に示した。分布は、25.00ng/ml までが多数を占め、80.00ng/ml までの群とそれ以上の 3 群に分かれた。妊娠前及び妊娠中の喫煙状況によるコチニン値は、喫煙本数別に算出し、全体の結果と合わせて表 3 に示した。

ライフイベントの調査結果を表 4 に、イベントの合計数の分布を図 2 に示した。

「（自分が）この子に対して傷つけるようなひどいことを言った」という回答が 120 名（18.6%）と最も多かった。経験したイベント数の平均 1.2（SD1.6）であった。

養育環境調査票の項目と回答分布を表 5 に示した。読み聞かせや童謡を一緒に歌う、公園に行くといった頻度が少なかった。

ADHD 関連症状の各得点分布を図 3、4、5 に示した。得点結果は全体と男女別にして表 5 に示した。全体の得点は「不注意」得点が平均 52.6（SD11.0）、「多動衝動」得点が平均 48.3（SD8.7）、「Conners3 総合指標」得点が平均 51.1（SD10.9）であった。男女別では、男児の得点が有意に

高かった（「不注意」得点：男児平均 54.0（SD11.5）、女児平均 51.0（SD10.2）、 $p=0.001$ 、「多動衝動」得点：男児平均 49.8（SD9.2）、女児平均 46.6（SD7.9）、 $p=0.000$ 、「Conners3 総合指標」得点：男児平均 52.9（SD11.6）、女児平均 49.0（SD9.7）、 $p=0.000$ ）。

喫煙と ADHD 関連症状得点について、妊娠中母体血の血漿中コチニン値の 3 群（25.00ng/ml 以下、25.01～79.9ng/ml、80.00ng/ml 以上）、妊娠前・妊娠中の母親の喫煙の有無、7 歳時母親・父親の喫煙状況別（非喫煙・禁煙・喫煙）で比較した結果を表 6 に示した。血漿中コチニンの 3 群間に、ADHD 各得点の差は見られなかった。調査票による喫煙の有無では、妊娠前に喫煙している群は、「多動衝動」得点が有意に高く（ $p=0.009$ ）、他の 2 得点も高い傾向を示した。7 歳時の母親の喫煙状況は、「不注意」「多動衝動」「Conners 総合指標」すべての得点が、喫煙している群で有意差が認められた（ $p=0.032\sim 0.006$ ）。父親の喫煙状況は「多動衝動」「Conners 総合指標」得点に差があった（ $p=0.014\sim 0.010$ ）。母親、父親とも、非喫煙者より喫煙しているほうが、また途中禁煙しても ADHD 関連症状の各得点が高い結果であった。

その他の連続変数で表される要因と ADHD 得点との相関を表 7 に示した。妊娠中の母体血血漿コチニン値は、コチニン値が高いほど、すなわち喫煙曝露を受けているほど「不注意」「多動衝動」「Conners3 総合指標」得点が高い傾向が示された（ $r=0.086\sim 0.112$ 、 $p<0.05\sim 0.01$ ）。「不注意」得点は、家族人数が多いほど、養育環境得点が高いほど、ライフイベント数が多いほど「不注意」得点が高かった（それぞれ $r=-0.146$ 、 $p<0.001$ 、 $r=-0.291$ 、 $p<0.001$ 、 $r=0.354$ 、 $p<0.001$ ）。「多動衝動」得点は、

とライフイベント数が多いほど（ $r=0.271$ 、 $p<0.001$ ）、養育環境得点が高いほど（ $r=-0.172$ 、 $p<0.001$ ）「多動衝動」得点が高かった。「Conners3 総合指標」得点も、ライフイベント数が多いほど（ $r=0.354$ 、 $p<0.001$ ）、養育環境得点が高いほど「Conners 総合指標」得点は高かった（ $r=-0.270$ 、 $p<0.001$ ）。

D. 考察

胎児期の環境曝露の中でも喫煙曝露に注目して ADHD 関連症状への影響を検討した。その結果、妊娠中血漿コチニン値を 3 群に分けて比較したところ、ADHD 関連症状各得点において有意な差は認められなかったが、全体の血漿中コチニン値が高いほど ADHD 関連症状得点が高くなる傾向は認められた。一方で、調査票による妊娠前の母親の喫煙と 7 歳時の母親または父親が喫煙している群において、喫煙を全くしない群より「不注意」「多動衝動」「Conners3 総合指標」得点が有意に高かった。

先行研究 Review(吉益⁵⁾、池野⁶⁾)では、喫煙曝露を調査票のみで評価するよりニコチンの代謝物であるコチニン値など客観的指標を用いる必要を指摘していたが、今回の結果ではその指摘を支持する確証は得られなかった。その理由として、コチニン値の高い群の対象者数が少ないことがあげられる。コチニン値の分布は偏っており、受動喫煙と能動喫煙の区別がつきにくいことも影響している可能性がある。今後対象者数を増やし、母親だけでなく家族や職場の喫煙状況（本数など）も考慮して検討していく。

妊娠前の喫煙の影響については、Obel⁴⁾が非喫煙より禁煙・喫煙でリスクが上がると報告しており、今回の妊娠前の喫煙が ADHD 関連症状得点をあげる結果と一致

して、能動喫煙の影響の強さを示唆しているが、母親の喫煙習慣の背景要因（教育歴や経済状況など）も考慮する必要があると考える。

7歳時点の両親の喫煙が ADHD 関連症状得点を高めるという結果は、生育環境での喫煙影響を示唆している。学童期の喫煙曝露を検討した研究は、Cho⁴⁾の研究しかなく、Cho は交絡要因調整後も尿中コチニンが神経認知学的能力に影響すると報告していた。本研究は胎児期の母体血漿中コチニン値と7歳時受動喫煙という出生の前と学童期において ADHD への影響を評価している点で意義がある。しかし、受動喫煙の評価が調査票の回答を参考にしているため、本研究の大規模コーホート7歳時調査にて、一部対象者から収集した尿についても、コチニン値測定を行い、受動喫煙の影響を再検討する予定である。加えて、喫煙の ADHD 関連症状へのリスク評価は、経済状況や教育歴などの社会環境要因での調整した多重解析が必要である。

受動喫煙の児の健康への影響は、遺伝子多型分析も含め出生体格に影響することを佐々木¹⁴⁾、Yila¹⁵⁾、Blaimoh¹⁵⁾が報告しており、ADHD についても遺伝子解析を含めた検討が将来的な課題である。

性別の影響は、ADHD 有病率が男児に多いという報告（Planczyk¹⁷⁾、吉益⁵⁾）と一致する。

生育環境要因として調査したライフイベントは経験数が多いほど、ADHD 関連症状の得点を高めることが明らかとなった。出生後の心理社会的ストレスは、Linett¹⁸⁾が Review で ADHD 発症に関わる要因としてあげている。本研究で用いたライフイベント調査票は、子どもが体験したイベントを養育者より把握するために作成した質問票である。具体的には過去6か月間の出来事を尋ねているが、両親の不仲や本人及び

家族の健康問題、災害・事故など経験内容により生活環境への間接的な影響の可能性も否定できない。社会的要因も考慮した検討が必要である。

養育環境得点は得点が高いほど ADHD 関連症状を強めることが示唆された。この理由として、不注意や落ち着きのなさといった子どもの行動傾向があるから、養育面で親が関与せざるを得ない可能性が考えられる。また質問には一緒に買い物をする機会や読み聞かせ、歌を歌うなど、就学により回数が減る項目もあり、質問内容ごとに詳細な分析を行う予定である。

さらには、有機フッ素化合物や PCB・ダイオキシン類など一般環境中の化学物質の曝露評価を行い、ADHD 発症に関連する要因を明らかにすることが課題である。

E . 結論

喫煙曝露が ADHD 関連症状に及ぼす影響を検討した結果、胎児期の喫煙曝露の影響は小さく、生育期の受動喫煙がより強く影響する可能性が示唆された。喫煙曝露以上に、ストレスフルライフイベント数の多さが ADHD 関連症状を強めていた。今後は7歳時の喫煙曝露の客観的評価、他の環境化学物質曝露評価、社会的要因も調整した多変量解析を行い、ADHD 発症に関わる要因を解明する必要がある。

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. 渡部京太 第4章ADHDの中長期経過 . 齋藤万比古,渡部京太編 . 注意欠如・多動性障害-ADHD-の診断・治療ガイドライン . じほう,東京.2008 ; 221-224.
2. 相原正男, 畠山和男, 青柳閣郎, 他 . 山梨県立あけぼの医療センター発達障害外来患者の推移 .平成 20 年度厚生労働省障害者保健福祉推進事業 障害者自立支援調査研究プロジェクト編 : いま, 発達障害が増えているか . 社団法人日本発達障害福祉連盟 ,東京 .2009 ; 20-23.
3. Weissman MM, Warner V, Wickramaratne PJ, et al. Maternal smoking during pregnancy and psychopathology in offspring followed to adulthood. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry 1999; 38: 892-899.
4. Obel C, Linnet KM, Heriksen TB, et al. Smoking during pregnancy and hyperactivity-inattention in the offspring-comparing results from three Nordic cohorts. Int J Epidemiology. 2008; 38(3): 698-705.
5. 吉益光一,山下洋,清原千賀子,他. 注意欠陥多動性障害の疫学,治療と予防 . 日本公衛誌 2006 ; 53(6):398-410.
6. 池野多美子、小林澄貴、馬場俊明、岸玲子.注意欠如・多動性障害(ADHD)の有病率と養育環境要因に関する文献 Review . 北海道公衆衛生学雑誌 2011 ; 25 : 53-59.
7. Cho SC, Kin BN, Hong YC, et al. Effect of environmental exposure to lead and tobacco smoke on inattentive and hyperactive symptoms and neurocognitive performance in children. J of Child Psycho and Psych 2010 ; 51(9) : 1050-1057.
8. Tully LA, Arseneault L, Caspi A, et al. Does Maternal Warmth Moderate the Effects of Birth Weight on Twins' Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD) Symptoms and Low IQ? J of Consulting and Clinical Psychology 2004 ; 72(2):218-226.
9. Julvez J, Ribas-Fito N, Forms M, et al. Attention behavior and hyperactivity at age 4 and duration of breast-feeding. Acta Paediatrica 2007 ; 96(6); 842-847.
10. Conners,C.K., Sitarenios,G., Parker,J.D.A., & Epstein,J.N. The revised Conners'Parent Rating Scale (CPRS-R): Factor structure, reliability, and criterion validity. Journal of Abnormal Child Psychology 1998;26:257-269.
11. C.Keith Conners .田中康雄監訳 .坂本律訳 . Conners3TM 日本語版マニュアル . 2012 金子書房,東京.
12. 塩川宏郷.幼児の養育者用ライフイベント質問票の作成.自治医科大学紀要 2007 ; 30 : 165-172.
13. 安梅勅江、上田礼子、平山宗宏 . 質問紙による家庭養育環境スクリーニングの研究HOMEによるHSQ妥当性の研究 . 小児保健研究 1986 ; 455(4) ; 556-469.
14. Sasaki S, Sata F, Katoh S, Saijo Y, Nakajima S, Washino N, Konishi K, Ban S, Ishizuka M, Kishi R. Adverse Birth Outcomes associated with Maternal Smoking and Polymorphisms in the N-Nitrosamine-Metabolizing Enzyme Genes NQ01 and CYP2E1. American Journal of Epidemiology,

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

2008, 167(6):719-726.

15. Yila TA, Sasaki S, Miyashita C, Braimoh TS, Kashino I, Kobayashi S, Okada E, Baba T, Yoshioka E, Minakami H, Endo G, Sengoku K, Kishi R: Effects of Maternal 5, 10-Methylenetetrahydrofolate Reductase C677T and A1298C Polymorphisms and Tobacco Smoking on Infant Birth Weight in a Japanese Population. *Journal of Epidemiology*, 2012, 22(2):91-102.
16. Braimoh T, Sasaki S, Yila TA, Baba T, Miyashita C, Okada E, Kashino I, Ito K, Kobayashi S, Yoshioka E, Kishi R: Effects of prenatal environmental tobacco smoke exposure on infant birth size. The American Public Health Association (APHA) 139th Annual Meeting and Exposition Washington, DC, USA. Oct.29-Nov. 2, 2011.
17. Polanczyk G, Lima MS, Horta BL, et al. Worldwide Prevalence of ADHD: a systematic review and Metaregression Analysis. *Am J Psychiatry* 2007 ; 164(6):942-948.
18. Linnet KM, Dalsgaard S, Obel C, et al. Maternal lifestyle factors in pregnancy risk of attention deficit hyperactivity disorder and associated behaviors: review of the current evidence. *Am J Psychiatry* 2003 ; 160(6): 1028-1040.

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 妊娠期の喫煙とADHD（またはADHD関連症状）～前向きコーホート研究 ¹⁾						
著者 / 年 / 国	対象者	喫煙評価	アウトカム	ADHDの評価指標 または診断基準	結果	調整因子
Fergusson 5 / 1993 / New Zealand	1,020人 8,10,12歳、男女	0, 1 - 19, 20本 / 日	行為障害、注意欠陥、破壊的行動	RutterおよびConnerの質問紙	行為障害、注意欠陥、破壊的行動障害（行為障害 + 注意欠陥）に有意に関連あり	性、人種、家族数、母親の年齢と学歴、経済状況、母親の養育態度、ライフイベント、10歳までに通った学校数、両親の不和や離婚、両親の薬物使用
Bor5 / 1997 / Australia	5,296人 6か月 5歳	重度(7.3%) 中度(27.5%) なし(65.2%)	外面的および内面的問題行動、社会性または注意思考に関する問題	CBCL	3つのアウトカムいずれについても関連あり	なし
Weissman5 / 1999 / USA	147人 6-23歳 17-36歳 男女	10本以上 / 日	ADHD	SADS-Life, Time Version, DSM-	男: 13歳未満 RR=0.444 95%CI 0.094-2.09 女: 13歳未満 RR=2.16 95%CI 0.135-34.71	子どもの精神状態に影響を与える両親の精神状態、人口統計的要因、周産期要因、家族要因のうち、妊娠期の母親と関係のあるもの、子どもの年齢と母親の大きい病性障害
Breslau5 / 2000 / USA	823人 6歳 11歳 男女	喫煙の有無	外面的および内面的問題行動、注意の問題	CBCL(母)、TRF(教師)	外面的問題行動に関連あり(p<0.05)	出生体重、評価者の違い、居住地、性、母親の学歴
Hill5 / 2000 / USA	150人 8-18歳 18歳 男女	喫煙の有無	ADHD	K-SADS	有意な関連なし	妊娠中の飲酒、アルコール依存症の家族歴
Kotimaa5 / 2003 / Finland	7,135人 0-8歳 男女	喫煙の有無	Hyperactivity	Rutter B2	OR=1.30 95%CI 1.1-4.1	性、家族構成、経済状況、母親の年齢、妊娠期の飲酒
Kahn5 / 2003 / USA ²⁰⁾	161人 6か月 5歳 男女	喫煙の有無	ADHD	DSM-	多動及び衝動性と関連傾向あり(p<0.08)	生後の受動喫煙、経済状況、家庭環境、性、同胞数
Bastra5 / 2003 / Netherland	1,186人 0 5.5 11歳 男女	0, 1-5, 6-10, 11-19, 20本以上 / 日	注意欠陥、外面・内面的問題行動、計算・所持障害	独自の作成による質問紙	内面的問題行動を除いて関連あり	社会経済状況、妊娠期の母親の精神障害および薬物使用などの周産期合併症
Obel5 / 2007 / Finland,Denmark	20,936人 7-15歳 男女	0, 禁煙(妊娠前喫煙) 1-9本 / 10本以上)、喫煙(妊娠中も喫煙) 1-9本 / 10本以上	ADHD	Rutters sacle(教師) またはSDQ(教師と母)、SDQ修正版(母)	非喫煙より禁煙・喫煙で有意にリスクが上昇 2つのコーホートで量反応性が認められた	性、妊娠中飲酒、両親の教育歴、家族構成、経済状況、出生体重
Cho5 / 2010 / Corea	667人 8-11歳 男女	妊娠中の喫煙の有無 最近の喫煙曝露の有無 児の尿中コチニン	ADHD、神経認知学評価	K-ARS(両親、教師) Continuous Pergformance Test, Stroop Word and Color Test, Children's Color Trail Test	尿中コチニンは、Hyperactivityとの関連が見られたが、調整後関連性は消失した尿中コチニンは調整後も神経認知的能力との関連あり(血中鉛は調整後もK-ARS,神経認知能力と関連)	性、年齢、父の教育歴、母のIQ、児のIQ、居住地、出生体重、血中鉛量****
1)池野の論文より引用						
*: CBCL: Child Behavior Check List; TRF: Teacher's Report Form ; K-SADS: Schedule for Affective Disorders and Schizophrenia for School-Age Children-Epidemiologic Version; DSM- :						
** : Northern Finnish Birth Cohort, Aarhus Birth Cohort, Healthy Habits for Two cohortを合計した数。						
***2003年までの論文は吉武らの論文を一部改編し、以降の論文を追加した。						
***鉛と喫煙曝露によるADHD発症リスクを検討、現在の曝露評価を血中鉛量,尿中コチニンで評価。						

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 対象児の基本属性			
		全体	N
児の調査時月齢	平均 ± SD	102.2 ± 2.9	619
性別	男児(%)	331 (53.5%)	619
出生体重	平均 ± SD (g)	3037.9 ± 371.0	619
家族人数	平均 ± SD	4.2 ± 1.1	617
健康状態	健康	468(75.6%)	619
	診断・通院中内訳		
	アトピー	51 (8.2%)	619
	気管支喘息	37(6.0%)	619
	てんかん	5(0.8%)	619
	ADHD診断あり	12(1.9%)	619
	発達障害診断あり	14(2.3%)	619
<hr/>			
母親の喫煙習慣あり	妊娠前	167(27.0%)	619
	妊娠初期	256(41.4%)	594
	妊娠中	44(7.1%)	619
	7歳時調査	102(16.5%)	555
<hr/>			
父親の喫煙習慣あり	妊娠前	376(60.7%)	619
	妊娠初期	465(75.1%)	595
	妊娠中	351(56.7%)	619
	7歳時調査	307(49.6%)	546

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

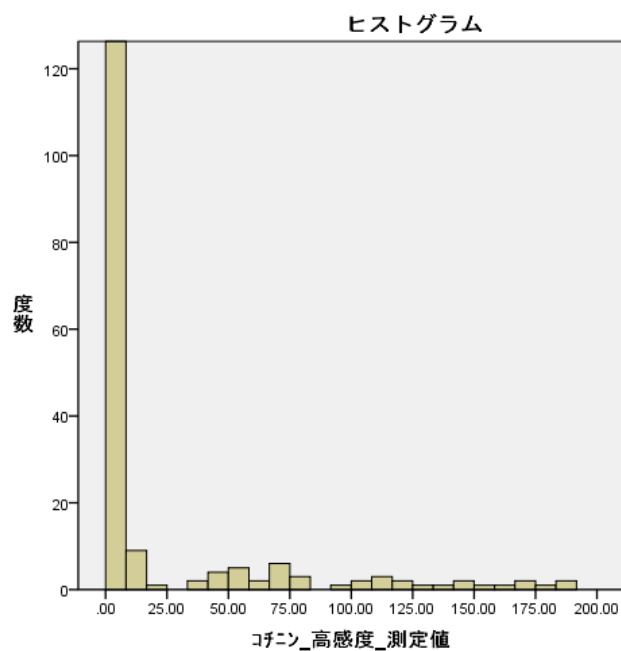


表3 母親の妊娠前、妊娠中の喫煙状況と血漿中コチニン値 (ng/ml)

	喫煙本数	N	平均値	最小	25%	50%	75%	最大
全体	-	529	8.60	0.12	0.12	0.29	0.95	206.52
妊娠前 非喫煙	0本	387	1.59	0.12	0.12	0.22	0.54	162.55
喫煙	1-10本	72	15.40	0.12	0.23	0.76	2.85	173.17
	11-20本	63	34.98	0.12	0.23	2.22	68.11	206.52
	20本以上	7	88.48	0.54	0.80	105.00	151.39	183.00
妊娠中 非喫煙	0本	489	1.59	0.12	0.12	0.25	0.75	82.43
喫煙	1-10本	31	88.15	0.12	52.54	71.10	117.49	190.84
	11-20本	9	115.45	0.80	32.54	131.44	183.85	206.52

図1 母体血漿中コチニン値の分布

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 ライフイベント調査票 ¹⁾ の内容と体験者数			
内容		あり	%
1	この子の仲のよい友達がいなくなった（引っ越しなどで）	70	11.0
2	この子が他人に暴力をふるった	26	4.1
3	この子に対して（自分が）暴力をふるった	89	13.9
4	引っ越しをした	35	5.5
5	家を改築あるいは新築した（引っ越しはしていない）	15	2.4
6	家族に新しい大人が加わった	9	1.4
7	家族の収入の大幅な減少があった	30	4.7
8	父親が家にいる時間が増えた	38	6.0
9	父親が失業した	46	7.2
10	両親が離婚した	9	1.4
11	両親が別居した	11	1.7
12	両親の一方または双方が入院した	21	3.3
13	両親間の言い争いの回数が増えた	39	6.1
14	両親の一方または双方が失業した	13	2.0
15	（自分が）この子に対して傷つけるようなひどいことを言った	120	18.8
16	（自分が）育児を負担に感じるようになった	61	9.6
17	ひどく落ち込んだりやる気がないと感じたりするようになった	31	4.9
18	ひどく取り乱したり混乱したりした	37	5.8
19	自然災害の被害を受けた	1	0.2
20	この子が外から見てわかる障害・傷を負った	15	2.4
21	この子が病気で入院した	7	1.1
22	（自分が）この子の生命の危険を感じた	3	0.5
23	自分が暴力・犯罪の被害にあった	1	0.2
24	祖父母の一方あるいは双方が死亡した	11	1.7
25	両親の一方または双方が死亡した	0	0.0

1)塩川宏郷のライフイベント質問票：過去6か月の出来事を養育者に回答してもらう

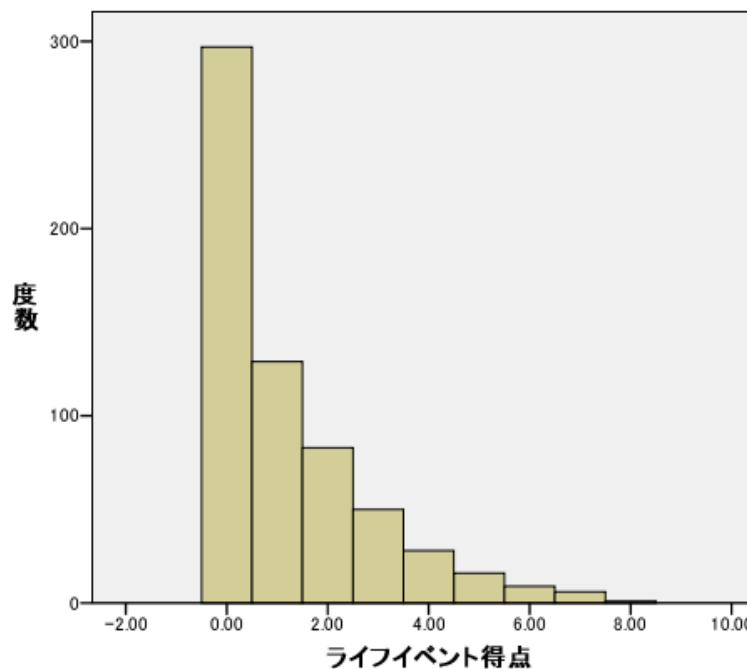


図2 ライフイベント合計数の分布

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 養育環境調査票 ¹⁾ 結果						
質問内容						
	1) めったにない	2) 1週間に1～2回	3) 1週に3～4回	4) 1週に5～6回	5) ほぼ毎日	
1	お子様と一緒に話す機会（子どもと向き合っ て過ごすこと）はどれくらいありますか？	2 (0.3)	18 (2.8)	21 (3.3)	31 (4.9)	545 (85.9)
2	お子様と一緒に買い物に行く機会はどのくら いありますか？	49 (7.7)	449 (70.4)	83 (13.0)	14 (2.2)	5 (0.8)
3	お子様に読み聴かせる機会はどのくらいい ありますか？	436 (68.3)	107 (16.8)	25 (3.9)	9 (1.4)	26 (4.1)
4	あなたは童謡やお子様の好きな歌を一緒 に歌いますか？	324 (50.8)	180 (28.2)	52 (8.2)	15 (2.4)	34 (5.3)
5	お子様と公園に行く機会はどのくらいい ありますか？	416 (65.2)	144 (22.6)	11 (1.7)	2 (0.3)	2 (0.3)
6	お子様と同じくらいの年齢の子供を持つ友 人や親戚との程度の頻度で訪問したりされ たりしますか？	270 (42.3)	210 (32.9)	35 (5.5)	8 (1.3)	14 (2.2)
7	お父様（お母様、または父親（母親）代 わりとなる方）はどの程度協力的ですか？	76 (11.9)	168 (26.3)	64 (10.0)	29 (4.5)	253 (39.7)
8	お子様は両親（または母親、父親の代 わりとなる方）と一緒に食卓を囲んで食 べるのは何回くらいですか？	15 (2.4)	49 (7.7)	50 (7.8)	17 (2.7)	478 (74.9)
9	お子様がわざと牛乳をこぼしたらどう しますか？あてはまるもの 一つに を つけてください。	29 (4.5)	458 (71.8)	34 (5.3)	14 (2.2)	
		1) 子どもをたたく	2) 口でしかる	3) 何らかの方法で悪いことを わからせる	4) 別の方法でこぼさない ように考える	
10	先週は何回くらいお子様を叩いたり しましたか？	454 (71.2)	126 (19.7)	14 (2.2)	8 (1.3)	4 (0.6)
11	夫婦（または母親、父親の代わりとな る方）で子どもの話をする時間はどの 程度とれますか？	30 (4.7)	18 (2.8)	105 (16.5)	116 (18.2)	334 (52.4)
12	学校以外に、お子様の面倒を見てく れる人がいますか？	1) いない	2) いる			
		38 (6.0)	581 (91.1)			
13	子育てについて誰か相談できる人 がいますか？	9 (1.4)	610 (85.8)			
14	お子様を育てながら、育児の自信が なくなると感じることはありますか？	1) よくある	2) 時々ある	3) あまりない	4) 全くない	
		76 (11.9)	271 (42.5)	209 (32.8)	60 (9.4)	
15	15. お子様は小学校に行くのを楽 しみにしていますか？	1) 大変楽しみにしている	2) まあ楽しみにしている	3) どちらでもない	4) あまり行きたくない	5) いやがっている
		254 (39.8)	307 (48.1)	44 (6.9)	10 (1.6)	4 (39.8)
1) 養育環境調査票は安梅の開発した調査票を一部学童用に改変した						

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

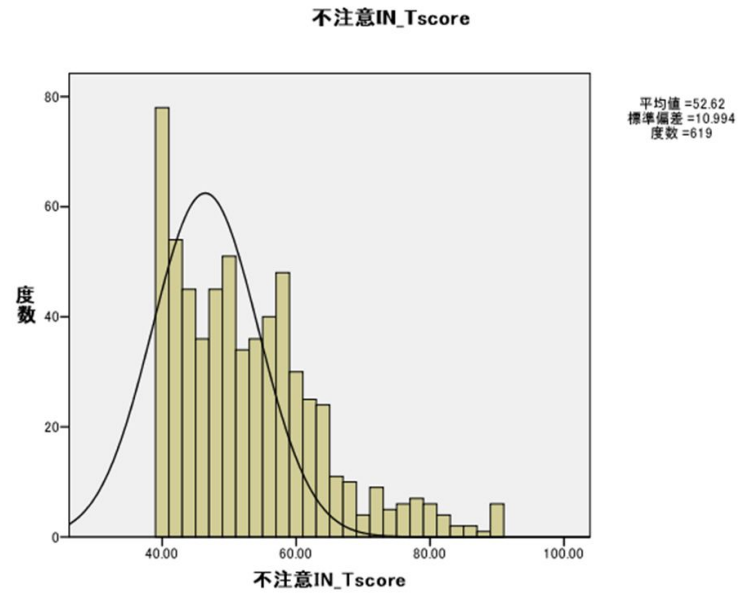


図3 不注意得点分布

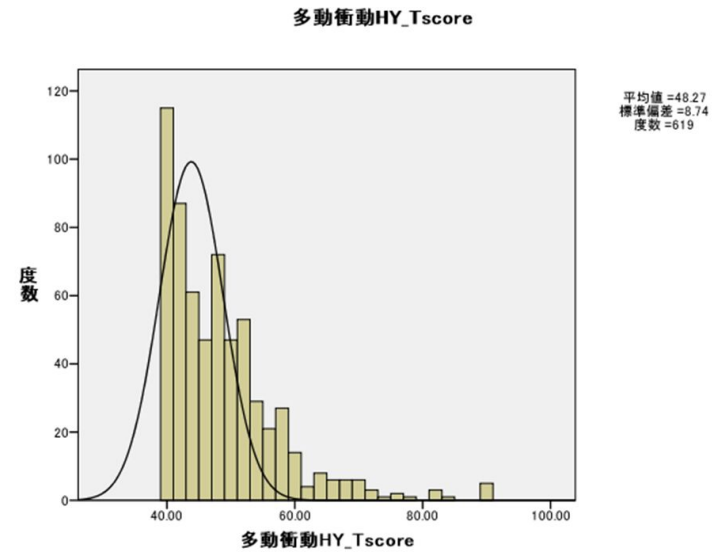


図4 多動衝動得点分布

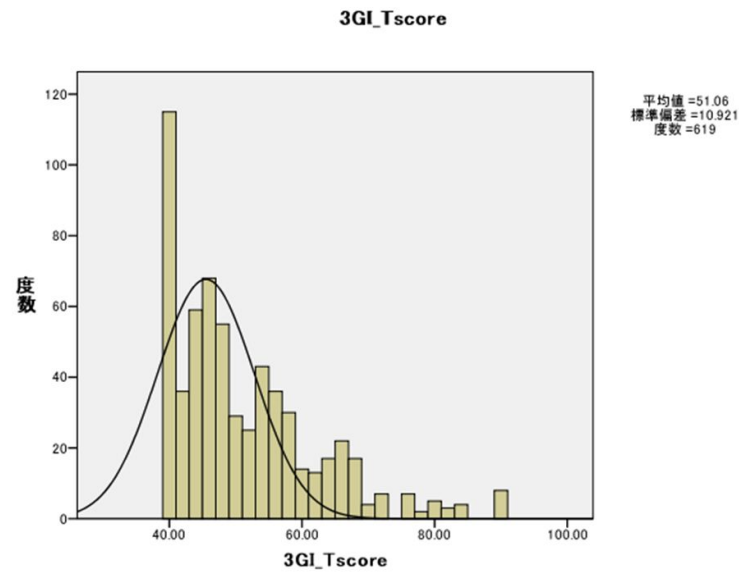


図5 Conners 総合指標得点分布

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 喫煙とADHD関連症状の関連											
		N	不注意得点 平均 ± SD		p	多動衝動得点 平均 ± SD		p	Conners総合指標得点 平均 ± SD		p
母体血漿中コチニン値 ¹⁾	25.00ng/ml	487	52.3 ± 10.9		0.389	48.1 ± 8.6		0.273	50.9 ± 10.9		0.880
	25.01 ~ 79.99ng/ml	20	55.0 ± 13.4			52.0 ± 12.3			52.9 ± 14.4		
	80.00ng/ml	22	53.2 ± 8.6			47.6 ± 7.5			51.7 ± 11.1		
妊娠前 ²⁾ 母	非喫煙	452	52.2 ± 11.0		0.078	47.9 ± 8.7		0.009	50.6 ± 10.7		0.059
	喫煙	167	53.6 ± 10.9			49.3 ± 8.9			52.3 ± 11.4		
妊娠中 ²⁾ 母	非喫煙・禁煙	575	52.4 ± 10.9		0.136	48.2 ± 8.6		0.542	50.9 ± 10.8		0.432
	喫煙	44	55.0 ± 12.0			49.2 ± 10.1			52.7 ± 12.4		
7歳 母 ¹⁾	非喫煙	453	52.1 ± 10.7		0.032	47.7 ± 8.0		0.006	50.4 ± 10.3		0.021
	禁煙	37	56.4 ± 12.1			49.5 ± 7.7			53.8 ± 11.3		
	喫煙	65	53.9 ± 10.6			50.5 ± 10.2			53.4 ± 12.2		
7歳 父 ¹⁾	非喫煙	239	51.4 ± 10.2		0.021	47.0 ± 7.6		0.014	49.4 ± 9.5		0.010
	禁煙	90	52.8 ± 10.5			48.0 ± 7.8			50.4 ± 9.8		
	喫煙	217	53.9 ± 11.5			49.3 ± 9.1			52.8 ± 12.1		
1)Kruscal-Walis検定											
2)Man-WhitneyのU検定											

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 Conners3によるADHD関連症状得点と要因の関連					
	ADHD関連症状得点 ¹⁾				
	不注意得点		多動衝動得点		Conners3総合指標得点
対象児	r		r		r
母体血漿コチニン値 (ng/ml)	0.087 *		0.112 **		0.086 *
児の調査時月齢	0.048		0.018		0.049
母親妊娠時年齢	-0.027		0.001		0.022
出生体重	-0.049		-0.022		-0.053
家族人数	-0.146 ***		-0.070		-0.065
ライフイベント数	0.354 ***		0.271 ***		0.354 ***
養育環境得点	-0.291 ***		-0.172 ***		-0.270 ***
数値はSpearmanの相関係数 *: $p < 0.05$ 、**: $p < 0.01$ 、***: $p < 0.001$					
1)ADHD関連症状得点:各得点はT得点で関連を見ている					

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巣、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。停留精巣に関する報告が 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. 停留精巣との関連

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巣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巣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。児の停留精巣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、症例の停留精巣児は 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巣児 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

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
Yamada T., Morikawa M., Yamada T., Kishi R., Sengoku K., Endo T., Saito T., Cho K., Minakami H.	First-trimester serum folate levels and subsequent risk of abortion and preterm birth among Japanese women with singleton pregnancies.	Arch Gynecol Obstet.	287 (1)	9-14	2013
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 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
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

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Yila T. A., Sasaki S., Miyashita C., Braimoh T. S., Kashino I., Kobayashi S., Okada E., Baba T., Yoshioka E., Minakami H., Endo T., Sengoku K., Kishi R.	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 (2)	91-102	2012
Okada E., Sasaki S., Saijo Y., Washino N., Miyashita C., Kobayashi S., Konishi K., Ito Y. M., Ito R., Nakata A., Iwasaki Y., Saito K., Nakazawa H., Kishi R.	Prenatal exposure to perfluorinated chemicals and relationship with allergies and infectious diseases in infants.	Environ Res.	112 (1)	118-125	2012
Kanazawa A., Miyashita C., Okada E., Kobayashi S., Washino N., Sasaki S., Yoshioka E., Mizutani F., Chisaki Y., Saijo Y., Kishi R.	Blood persistent organochlorine pesticides in pregnant women in relation to physical and environmental variables in The Hokkaido Study on Environment and Children's Health.	Sci Total Environ.	426	73-82	2012
Todaka T., Hirakawa H., Kajiwara J., Onozuka D., Sasaki S., Miyashita C., Yoshioka E., Yuasa M., Kishi R., Iida T., Uchi H., Furue M.	Concentrations of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and polychlorinated biphenyls in blood and breast milk collected from pregnant women in Sapporo City, Japan.	Chemosphere.	85 (11)	1694-1700	2011

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sasaki S., Braimoh T. S., Yila T. A., Yoshioka E., Kishi R.	Self-reported tobacco smoke exposure and plasma cotinine levels during pregnancy - A validation study in Northern Japan.	Sci Total Environ.	412-413	114-118	2011
Miyashita C., Sasaki S., Saijo Y., Washino N., Okada E., Kobayashi S., Konishi K., Kajiwara J., Todaka T., Kishi R.	Effects of prenatal exposure to dioxin-like compounds on allergies and infections during infancy.	Environ Res.	111 (4)	551-558	2011
Kishi R., Sasaki S., Yoshioka E., Yuasa M., Sata F., Saijo Y., Kurahashi N., Tamaki J., Endo T., Sengoku K., Nonomura K., Minakami H.	Hokkaido Study on Environment, Children's Health; Cohort Profile: The Hokkaido Study on Environment and Children's Health in Japan.	Int J Epidemiol.	40 (3)	611-618	2011
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
池野多美子, 小林澄貴, 馬場俊明, 岸玲子	注意欠如・多動性障害(ADHD)の有病率と養育環境要因に関する文献 Review.	北海道公衆衛生学雑誌	25 (2)	53-59	2011

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
金澤文子, 宮下ちひろ, 岡田恵美子, 小林澄貴, 鷲野孝揚, 湯浅資之, 佐々木成子, 吉岡英治, 水谷太, 苮木洋一, 岸玲子	北海道の妊婦の全血中POPs系農薬の濃度 環境と子どもの健康に関する北海道研究.	日本衛生学雑誌	66 (1)	95-107	2011
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
那須民江, 岸玲子	胎生期低栄養と小児の健康.	日本衛生学雑誌	67 (1)	21	2012
宮下 ちひろ, 佐々木 成子, 西條 泰明, 鷲野 考揚, 岡田 恵美子, 小林 澄貴, 小西 香苗, 梶原 淳睦, 戸高 尊, 岸 玲子	胎児期ダイオキシン類曝露が乳幼児のアレルギーおよび感染症リスクに与える影響.	北海道医学雑誌	87 (2-3)	78	2012
岸玲子	フタル酸エステル類の生態影響に関する世界の研究動向.	Endocrine Disrupter News Letter.	15 (1)	1	2012
岸玲子	生殖・次世代影響の今後の研究課題 環境と子どもの健康に関する北海道研究 先天異常・発達・アレルギーの到達点と課題.	日本衛生学雑誌	67 (2)	261	2012

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
岡田恵美子, 佐々木成子, 西條泰明, 鷲野考揚, 宮下ちひろ, 小林澄貴, 小西香苗, 伊藤陽一, 伊藤里恵, 中田彩子	有機フッ素化合物の胎児期曝露と乳幼児のアレルギー症状および感染症との関連.	北海道医学雑誌	87 (4)	184-185	2012
岸玲子	環境と子どもの健康に関する北海道コホートの成果と今後の課題 (特集 地域における母子保健縦断調査の活用).	保健の科学	53 (2)	98-104	2011
岸玲子	スタートする「環境省エコチル調査」とその先駆けモデルとなった「北海道スタディ」について：これまでの成果と今後の課題.	北海道の公衆衛生	37	37-41	2011