

厚生労働科学研究費補助金
食品の安全確保推進研究事業

研究課題：鉛及びヒ素などの食品汚染物質の実態調査
ならびにその健康影響に関する研究
(課題番号：H25-食品-一般-006)

平成 2 7 年度研究報告書

研究代表者：香山 不二雄
(所属機関 自治医科大学)

平成 2 8 年 7 月

目 次

目次	1
研究組織	2
概要	3
1. 研究の背景	9
2. 研究目的	10
3. 研究方法	10
4. 結果と考察	18
5. 謝辞	46
6. 研究発表	47
7. 研究成果による特許権等の知的財産権の出願・登録状況	48
8. 健康危険情報	48
【添付文書1】計画書	S1
【添付文書2】説明文書	S2
【添付文書3】同意書	S3
【添付文書4】同意撤回書	S4
【添付文書5】質問票	S5
【添付文書6】アガカーン大学倫理審査申請書	S6
【添付文書7】アガカーン大学との契約書	S7

研究組織

研究代表者：

香山 不二雄 自治医科大学 医学部環境予防医学講座

研究分担者：

吉田 貴彦 旭川医科大学 医学部健康科学講座

野原 恵子 独立行政法人国立環境研究所 環境リスク・健康研究センター

研究協力者：

Zafar Fatmi アガカーン大学 医学部地域医療学教室

三瀬 名丹 自治医科大学 医学部環境予防医学講座

池上 昭彦 自治医科大学 医学部環境予防医学講座

水野 敦子 自治医科大学 医学部薬理学講座

大津 真弓 自治医科大学 医学部環境予防医学講座

崔 笑怡 自治医科大学 医学部環境予防医学講座

東本 明子 自治医科大学 医学部環境予防医学講座

米田 昌美 自治医科大学 医学部環境予防医学講座

舘野 由美子 自治医科大学 医学部環境予防医学講座

細井 陽子 自治医科大学 医学部環境予防医学講座

馬場 洋介 自治医科大学 医学部産科婦人科学講座

中木 良彦 旭川医科大学 医学部健康科学講座

小林 弥生 独立行政法人国立環境研究所 環境リスク・健康研究センター

高木 麻衣 独立行政法人国立環境研究所 環境リスク・健康研究センター

石黒 聡 一般財団法人日本食品分析センター 衛生化学部無機分析課

概 要

自治医科大学 医学部 環境予防医学講座

香山不二雄

1. 研究目的

我が国の平均的な鉛及びヒ素の曝露量は低い。しかし、上水道に残存する鉛管や地域限定的に土壤中鉛の高い地域がある。また、ホンダワラ科の海藻の多食者や井戸水および米からのヒ素経口曝露の高い事例が散見される。鉛及びヒ素曝露は胎児、小児がハイリスク集団であり、現時点での生体負荷量とその曝露源を確認し、健康影響および生体影響の可能性の有無について調査することを目的とする。

【貢献】

血中鉛濃度 10 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 以下では、小児の IQ 低下との相関は明らかでないが、出生前後における低濃度の鉛曝露による小児の IQ の低下が危惧されており、JECFA (FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 : FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives)、EFSA (欧州食品安全機関 : European Food Safety Authority) などで耐容摂取量の再評価が予定されている。胎児期および幼児期の無機ヒ素曝露の影響評価のためのバイオマーカーの検索が喫緊の課題である。さらに、食生活や曝露経路およびヒ素の化学型分布が欧米とは大きく異なるため、我が国の曝露実態と影響評価が必要である。

2. 研究方法

【調査地域の条件】

国内で鉛及びヒ素の曝露の高い可能性のある地域で、調査の実施可能性から、旭川市を選んだ。すなわち 有鉛ガソリン使用時に大気の停滞や沈降が多い盆地であり、その盆地内で農業が営まれ、その卵、野菜類など農業産品を食している集団が居る。ヒ素の高い可能性のある温泉水の流れている田圃がある。

胎児期曝露の評価のために臍帯血を集めてきた環境省エコチル調査の経験がある。以前の 3 歳児の血中鉛調査で神奈川県より旭川市の方が高かった。大雪山系の火山性土壌である。家屋の気密性が高く、室内で過ごす時間が長

く、室内ダスト吸入および経口摂取による鉛曝露の影響が高い可能性がある。また、農村地帯が広がる対照地区として、エコチル調査のパイロット調査を実施している自治医大のある栃木県下野市近郊を選んだ。さらに、これまでに共同研究の実績があるアガカーン大学医学部地域医療学講座 Zafar Fatmi 准教授とのパキスタンにおける調査地域（カラチ市及びインダス川流域のハイルプル地区ガンバット町）を、鉛及びヒ素曝露の陽性対照群として選んだ。因みに、パキスタンでは有鉛ガソリンや化粧品として硫化鉛を多く含むスルマがいまだに使用されているため鉛汚染ひどいとされており、また、インダス川流域では地下水のヒ素汚染が深刻であるとの報告がある。

【実施計画】

調査地域で妊婦をリクルートし、出生児及びその兄姉（12～42 月齢）を被験者とする。25～27 年度に旭川市では吉田貴彦が、下野市では香山不二雄が、パキスタンのカラチ市およびハイルプル地区ガンバット町では Zafar Fatmi が、それぞれ被験者を募る。妊娠後期の時期に、リクルートした妊婦（母親）の家庭から、母親及び出生児の兄姉（小児）の 3 日分の陰膳、井戸水または上水道の飲料水、約 2 週間分のハウスダストなどを収集する。これらの鉛及びヒ素濃度を測定し、その耐容摂取量を算出し、鉛及びヒ素の曝露を評価する。生体負荷量としては、生体試料（母親末梢血、臍帯血、小児末梢血など）中の鉛及び総ヒ素濃度を測定する。健康影響に関しては、ヒ素曝露の高いパキスタンのハイルプル地区ガンバット町から収集する生体試料との差を解析する。また、平成 25、26 年度に、各地域（旭川、下野、カラチ、ガンバット）の試料を利用して、野原による解析遺伝子の候補検索、平成 27 年度に影響のバイオマーカーと推定される遺伝子発現及びエピジェネティック変異解析を実施する。

3．進捗状況及び見込まれる研究結果（達成度）

【調査地域】

鉛及びヒ素の曝露が比較的高い旭川市を選び、その対照地区として栃木県下野市を選んだ。さらに、陽性対照群として、大気汚染や食品汚染からの鉛曝露の高い地域であるパキスタンのカラチ市を、汚染された地下水からのヒ素曝露が高い地域であるインダス川流域のハイルプル地区ガンバット町を調査地域として選んだ。

【実施計画】

調査地域で妊婦をリクルートし、出生児及びその兄姉（12～42 月齢）を被験者とした。25～27 年度に、旭川地域では吉田貴彦が、下野地域では香山不二雄が、パキスタンでは Zafar Fatmi が、それぞれ被験者を募った。それぞれの被験者から陰膳（3 日分）、飲料水、ハウスダスト（2 週間分）などを回収した。回収試料中の鉛及びヒ素濃度を測定し、その耐容摂取量を算出することで、陰膳等からの曝露量を明らかにした。また、被験者の血液、尿、爪等の生体試料を回収し、血中の鉛及び総ヒ素濃度を測定して生体負荷量を算出した。健康影響に関しては、現在調査中である。

【結果と考察】

平成 27 年度までに、下野地域では、自治医科大学附属病院産科、木村クリニック、樹レディースクリニック、和田マタニティクリニック、やまなかレディースクリニック、池羽レディースクリニック、こいけレディースクリニックにて妊婦のリクルートを実施し、合計 86 家族のリクルートに成功して陰膳等試料を回収した。旭川地域では、マンパワー不足と産科クリニックとの距離、少ない出産数など、リクルートがうまく進んでいなかった。そのため、妊婦（母親）と出生児兄姉（小児）が同一家族でなくともリクルート可とした。最終的に、母親 15 名、小児が 17 名のリクルートに成功し、陰膳等試料を回収することができた。パキスタンの調査では、研究代表者の香山がカラチ市のアガカーン大学に行き、試料の回収・調整等の指導を行った。Zafar Fatmi が陰膳およびハウスダスト等の収集を担当した。カラチ地域で 66 家族、ガンバット地域で 44 家族のリクルート並びに試料の回収に成功した。また、回収した陰膳等試料は、分析のために香山もしくは Fatmi が日本へ搬入した。

陰膳中の鉛及び総ヒ素、無機ヒ素濃度は、日本食品分析センターにて測定した。また、ハウスダスト中の鉛濃度は、栃木県産業技術センターにて測定した。さらに、飲料水中の鉛及び総ヒ素濃度、並びに、血中鉛及び総ヒ素濃度は国立環境研究所において測定した。

日本における陰膳からの鉛摂取量（幾何平均値、以降全て）は、母親で 0.98 $\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ 、小児で 2.70 $\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ と母親に比較して小児の方が多かった。ハウスダストからの推定鉛摂取量は、母親で 0.17 $\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ 、小児で 0.70 $\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ であった。これらの結果から、日本における母親と小児の陰

膳とハウスダスト両方からの鉛摂取量は、2011年にJECFAにより撤回された鉛の旧耐用摂取量（PTWI：25 µg/kgBW/week）よりもかなり低いことが明らかになった。

一方、パキスタンにおける陰膳からの鉛摂取量は、母親で8.12 µg/kgBW/week、小児で18.29 µg/kgBW/weekであった。これは、母親の陰膳からの鉛摂取量が日本の約8倍、小児の陰膳からの鉛摂取量が約7倍多い量である。さらに、パキスタンにおける母親と小児の陰膳からの鉛摂取量は、鉛の旧PTWIを超える母親が5%、小児が30%みられ、パキスタンにおける食品の鉛汚染が大きな問題であることが明らかとなった。

日本の母親末梢血、臍帯血、小児末梢血の血中鉛濃度は、それぞれ0.67 µg/dL、0.81 µg/dL、1.19 µg/dLと国際的な値と比較して、非常に低い範囲内であった。一方、パキスタンの母親末梢血、臍帯血、小児末梢血の血中鉛濃度は、それぞれ8.87 µg/dL、7.01 µg/dL、15.28 µg/dLと日本と比較して非常に高い値であった。

パキスタンの血中鉛濃度は、カラチの場合に非常に高く、母親で14.52 µg/dL、臍帯血で12.52 µg/dL、小児で20.17 µg/dLであった。また、ガンバットの場合でも、母親で4.01 µg/dL、臍帯血で2.83 µg/dL、小児で10.84 µg/dLであり、カラチよりは低いですが、日本と比較すると高い値であった。これまでに、血中鉛濃度が10 µg/dL以下でも、小児の神経行動発達に異常が見られることが報告されている。カラチの小児血中鉛濃度は、その約2倍（最大で約5倍）の血中鉛濃度であり、カラチにおける鉛曝露は健康障害に危惧すべきレベルであることが示唆された。

日本の陰膳からの総ヒ素の摂取量は、母親で6.15 µg/kgBW/week、小児で16.68 µg/kgBW/weekであった。無機ヒ素の摂取量は、母親で1.45 µg/kgBW/week、小児で4.28 µg/kgBW/weekであった。特に、陰膳中のヒジキの有無による無機ヒ素の摂取量は、母親ヒジキ無し1.22 µg/kgBW/week、母親ヒジキ有り2.71 µg/kgBW/week、小児ヒジキ無し3.90 µg/kgBW/week、小児ヒジキ有り7.59 µg/kgBW/weekであった。この結果から、陰膳中にヒジキが含まれると母親と小児で共に無機ヒ素摂取量が約2倍高くなることが分かった。さらに、無機ヒ素の旧PTWI（15 µg/kgBW/week）を超過していた小児（1名）の陰膳中にも、3日間の食事全てにヒジキが含まれていたことが確認された。

一方、パキスタンの陰膳からの総ヒ素の摂取量は、母親で 2.08 $\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ 、小児で 4.46 $\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ であった。また、無機ヒ素の摂取量は、母親で 1.49 $\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ 、小児で 5.81 $\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ であった。カラチおよびガンバットの母親および小児の陰膳からの無機ヒ素の摂取量は、カラチに比較してガンバットの方が母親と小児共に摂取量が多い傾向が見られた。さらに、無機ヒ素の旧 PTWI を超過していた母親 1 名と小児 13 名は、すべてガンバットの被験者であった。カラチおよびガンバットの飲料水中総ヒ素濃度は、カラチ 1.25 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、ガンバット 3.03 $\mu\text{g}/\text{L}$ であり、それどころか、ガンバットの飲料水には WHO の飲料水の暫定ガイドライン値 0.01 mg/L (10 $\mu\text{g}/\text{L}$) 超えるものが 13 試料も含まれていた。これらのことから、ガンバットにおける陰膳からの無機ヒ素摂取は、井戸水に由来することが示唆され、井戸水が無機ヒ素の主要な曝露源であることが推定された。

日本の陰膳では、海産物の摂取量が多いために総ヒ素の摂取量が高くなり、総ヒ素に対する無機ヒ素の割合は 3 割と少なかった。一方、パキスタンの陰膳では、無機ヒ素を含む井戸水からの曝露が主な経路になるため、無機ヒ素の割合が 7~8 割と高い割合を示した。

影響評価については、現在、血中および尿中 8-OHdG 濃度、他の影響指標の検索は、別の研究予算を獲得して実施する予定である。また、エピゲノムへの影響については、現在解析を進めている。日本 105 名、パキスタン 70 名の 12~42 月齢の被験者小児に、Bayley III 発達調査を実施したが、現在、交絡因子を含め、解析途中である。

【結果の総括】

日本の鉛曝露は十分に低く、陰膳とハウスダストに由来する鉛摂取量も十分に低いことが明らかとなった。ヒ素曝露については、総ヒ素が魚介類、海藻の摂取量に由来するためパキスタンに比べ高いが、無機ヒ素は FAO/WHO JECFA の旧耐用摂取量に比べて十分に低かった。しかしながら、陰膳にヒジキが含まれると、それに由来する無機ヒ素摂取量が増加するため、ヒジキが日本における無機ヒ素の曝露源となりうることが示された。

パキスタンでは、カラチの高鉛曝露の家族において、陰膳由来の鉛摂取量が多く、旧耐用摂取量を超えている家族も多数確認され、食品が鉛の主要な曝露源であることが示された。ヒ素曝露に関しては、ガンバットの様な特定地域の

地下水汚染が酷く、それが陰膳と飲料水を通して無機ヒ素の曝露源となっていることが示された。

鉛及びヒ素などの食品汚染物質の実態調査ならびにその健康影響に関する研究

(課題番号 : H25- 食品- 一般-006)

自治医科大学 医学部 環境予防医学講座

香山不二雄

1 . 背景

国際比較では、我が国の平均的な鉛及びヒ素の曝露量は低い。しかし、上水道に敷設された鉛管が残存することや、土壌中鉛濃度の高い地域の問題がある。また、日本はヒジキなどのホンダワラ科海藻中の高い無機ヒ素を摂取している状況や、井戸水及び米中の無機ヒ素の高い報告例がある。鉛及びヒ素は胎盤を通過するため、また鉛の消化管吸収率が小児期に特に高いため、胎児及び小児が当該物質曝露による健康影響のハイリスク集団である。

10 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 以下の血中鉛濃度と小児の IQ 低下との相関は、これまでの調査では明らかにされていない。しかし、出生前後の低濃度鉛曝露により将来、小児の IQ が低下することが危惧され、FAO/WHO 合同食品添加物専門会議 (JECFA)、European Food Safety Authority (EFSA) などで耐容摂取量の再評価が予定されている。我が国の内閣府食品安全委員会でも、鉛及びヒ素の耐容摂取量に関する審議が予定されており、再評価と新たな耐容摂取量の設定ために、評価に資する疫学調査が必要である。

胎児期及び幼児期における低濃度の鉛及び無機ヒ素曝露の影響評価の可能なバイオマーカーの検索が喫緊の課題である。さらに、食生活や当該物質の曝露経路及びヒ素の化学型分布が欧米とは大きく異なるため、我が国の曝露実態調査とその影響評価とが必要である。

当研究計画では、当該物質の曝露の高いパキスタンの生体試料を用いて、各組織における遺伝子やマイクロ RNA (miRNA) の発現制御に関わる DNA メチル化などのエピジェネティック変異パターンの解析および発現解析を行い、鉛及びヒ素曝露がエピゲノムと遺伝子発現に与える影響について調べる。また、日本における低濃度曝露群でも同様のエピジェネティック変異が起こるか否かを確認することにより、鉛及びヒ素の耐容摂取量を低減させるべきかどうか、判断する知見となり得る。

2. 目的

- 1) 母親（妊婦）胎児及びその兄姉（小児）の鉛及びヒ素曝露を把握する目的で、飲料水・陰膳を収集し、鉛及びヒ素濃度を測定し、経口曝露量を評価する。また、室内のハウスダスト中鉛濃度を測定して合わせて算定する。
- 2) 末梢・臍帯血、毛髪、爪、尿中の鉛及びヒ素濃度を測定することにより、当該物質への生体負荷量を求める。
- 3) 調査地域は、国内では鉛及びヒ素曝露が高い可能性のある旭川市、及び低いと想定される下野市近郊とする。パキスタンでは、鉛曝露の高いカラチ市、及びヒ素曝露が高いインダス川流域近郊とする。
- 4) 鉛及びヒ素の異なる曝露レベルの集団の臍帯血、胎盤、及び小児末梢血の遺伝子発現及びエピジェネティック変異について解析し、当該物質曝露との相関を検討する。

3. 研究方法

- 1) 対象地域及び対象者
 - ・ 低濃度の鉛及びヒ素曝露でも健康影響が危惧される胎児、小児を調査対象とする。母親（妊婦）血液中当該物質を測定することで、胎内曝露量を推定し、臍帯血で出生時の胎児の曝露量を評価する。また、小児血液中の当該物質濃度から小児の曝露量を評価する。
 - ・ 3歳児の血中鉛濃度が神奈川県に比べ旭川市で高いことを旭川医科大学吉田貴彦らは報告しており、日本の高濃度鉛曝露群として旭川市を、対照群として研究責任者の所属がある下野市近郊を調査地域とした。
 - ・ パキスタンのインダス川流域ハイルプル地区ガンバット町では、地下水中ヒ素濃度が高く、飲料水及び食品からのヒ素曝露が高いことが想定される。
 - ・ パキスタンの女性は新生児期から硫化鉛を含む化粧品のスルマをアイシャドーの様に使用しており、スルマの使用による意図しない新生児による鉛の経口摂取の可能性がある。また、カラチ市内では、依然として一部の自動車では有鉛ガソリンが使用されているので、鉛曝露の高い環境にある。

- ・ 下野市近郊の被験者は、胎児の他に 12～42 月齢の小児がいる妊婦を選び、かつ自治医科大学附属病院産科、木村クリニック、樹レディースクリニック、和田マタニティクリニック、やまなかレディースクリニック、池羽レディースクリニック、こいけレディースクリニックのいずれかを受診し出産する予定である妊婦とする。ただし、本人に同意がとれる 20 歳以上の妊娠女性に限る。
- ・ 旭川市近郊では、旭川医科大学の共同研究者が、エコチル調査のリクルートが終わる平成 26 年 3 月までは小児科医院で、それ以降は小児科、産科医院、附属病院産科にて、同様の条件でリクルートを行う。
- ・ パキスタンでは、アガカーン大学医学部地域医療学の共同研究者により、カラチ市内およびハイルプル地区ガンバット町近郊の産科施設で、同様の条件の妊婦をリクルートする。

> 【添付書類 1】計画書

< 対象地域略記 (英表記) >

- ✓ 旭川 (Asahikawa): 日本国 北海道 旭川市
- ✓ 下野 (Shimotsuke): 日本国 栃木県 下野市および近郊市町村
- ✓ 日本 (Japan): 旭川と下野の両地域
- ✓ カラチ (Karachi): パキスタン・イスラム共和国 シンド州 カラチ市 (Islamic Republic of Pakistan / Sindh province / Karachi)
- ✓ ガンバット (Gambat): パキスタン・イスラム共和国 シンド州 ハイルプル地区 ガンバット町 (Islamic Republic of Pakistan / Sindh province / Khairpur District / Gambat)
- ✓ パキスタン (Pakistan): カラチとガンバットの両地域

2) リクルート

- ・ 対象地域から対象者である 母親 (妊婦)、 出生児、 小児 (出生児兄弟のうち一人) の計 3 名を被験者としてリクルートする。
- ・ 3 年間の調査期間中に旭川 20 組、下野 80 組、カラチ 50 組、ハイルプル 50 組の家族の被験者、計 200 組 600 名を被験者としてリクルートする。なお、環境省エコチル調査の対象者はリクルートから除外する。

- > 【添付書類 2】 説明文書
- > 【添付文書 3】 同意書
- > 【添付文書 4】 同意撤回書

3) 試料の予定数および種類・量・測定項目

国	地域	予定数
日本	下野	80 組
	旭川	20 組
パキスタン	カラチ	50 組
	ガンバット	50 組

種類	量	測定項目
母親末梢血	5 ml	鉛、ヒ素、DNA/RNA 解析、葉酸
臍帯血	20 ml	鉛、ヒ素、DNA/RNA 解析、葉酸
小児末梢血	5 ml	鉛、ヒ素、DNA/RNA 解析、 アレルギー検査
胎盤	20 g	DNA/RNA 解析
母親頭髮	100 本	鉛、ヒ素
母親爪	少量	鉛、ヒ素
母親尿	20 ml	鉛、ヒ素
小児頭髮	100 本	鉛、ヒ素
小児爪	少量	鉛、ヒ素
小児尿	20 ml	鉛、ヒ素
母親陰膳	3 日間	鉛、ヒ素
小児陰膳	3 日間	鉛、ヒ素
飲料水	20 ml	鉛、ヒ素
ハウスダスト	14 日間	鉛
吸入性粉じん	24 時間	鉛

4) 曝露評価

- ・ 鉛及びヒ素の曝露量評価は、研究者がクリニックに赴くか、妊婦の家庭を訪問して、飲料水、陰膳、掃除機によるハウスダストの収集などの実施方法を説明する。
- ・ 井戸水または上水道中の鉛及びヒ素濃度、母親および小児の3日間陰膳食品中の鉛及びヒ素濃度を調べ、当該物質への経口曝露量を求め、国際基準との比較を行う。
- ・ 掃除機により収集されたハウスダスト中の鉛濃度を測定し、経口曝露として合わせて評価する。
- ・ 気中鉛濃度の高いパキスタンでは、地上50cmでローボリューム・エアサンプラーを用いて24時間室内大気中吸入性粉じんを収集し、その鉛濃度を測定して、小児の吸入曝露量として評価する。

5) 鉛曝露源解析

- ・ 鉛同位体比分析により、鉛曝露源の解析を行う。
- ・ 試験方法は、USEPA (2012)の「Standard Operating Procedure for an In Vitro Bioaccessibility Assay for Lead in Soil」を参考に、擬似消化液による可給態鉛の溶出を行い、これを国立環境研究所にて誘導結合プラズマ質量分析計 (ICP-MS) を用いて分析する。

6) 生体負荷量評価

- ・ とちぎ子ども医療センターにて、医師により母親、小児 (兄弟) から5mlの採血及び20mlの採尿を実施する。母親および小児の爪少量は各家庭で採取し、郵送していただき入手する。また、出産時に臍帯血を採取する。さらに、パキスタンにおいては母親および小児の毛髪100本を頭皮に近いところで切断し採取する。
- ・ 母親と小児の血液、毛髪、爪、尿、臍帯血中の鉛及びヒ素濃度を測定して、生体負荷量を調べる。
- ・ 遺伝子のエピジェネティック変異に影響を与える生体内葉酸レベルを、母親の血中葉酸濃度と臍帯血中葉酸濃度を測ることにより評価する。

7) 鉛及びヒ素濃度測定

- 鉛及びヒ素の濃度測定は、下記の3施設において所定の方法に従い、機器分析を実施する。

施設名	対象試料	元素	装置
日本食品分析センター	陰膳	鉛 総ヒ素 無機ヒ素	ICP-MS または HPLC-ICP-MS
栃木県産業技術センター	ハウスダスト	鉛	EDXRF
国立環境研究所	飲料水 血液	鉛 総ヒ素	ICP-MS

8) 健康影響

- 鉛及びヒ素への曝露が発達中の胎児・小児に与える影響のバイオマーカーとして、これまでに発現変化の報告例がある遺伝子やマイクロRNA (miRNA) に加え、新生児期の神経発達、呼吸器発達に関わる遺伝子や発がんに関わる遺伝子などについて、その発現を制御するDNAメチル化などのエピジェネティック変異の解析を実施し、日本国内の低曝露群とパキスタンの高曝露群の比較を行う。
- さらに詳細なエピジェネティック変異の解析が必要な場合は、匿名化された代表的な試料を用いて、マイクロアレイや大規模シーケンスなどを利用したゲノムワイドなエピゲノム解析を外部分析機関にて行う。
- 発がん関連遺伝子群の変異と鉛及びヒ素曝露との関連性を検討するために、臍帯血DNA、胎盤DNAおよび母体末梢血DNAを用いて、母子間での遺伝子多型やエピジェネティック変異を解析する。
- 鉛及びヒ素への曝露によって発現制御領域に遺伝子多型やエピジェネティック変異が生じている遺伝子やmiRNAが発見された場合、代表的なサンプルを用いてRT-PCR、real time PCR、マイクロアレイなどによる遺伝子発現解析を行い、遺伝子多型の出現やエピジェネティック変異が遺伝子発現に与える影響について検討する。

- ・ 被験者家族の 12～42 月齢の小児の精神運動発達調査として、Bayley Scales of Toddler and Infant development, 3rd Edition (Bayely-III 発達検査) を実施し、鉛やヒ素への曝露の影響を評価する。

9) 生活習慣調査

- ・ 母親の既往歴、喫煙やアルコール摂取、食習慣、家庭環境や妊娠経過などに関する生活習慣および小児の生活習慣に関して、質問票および調査票を用いて調査する。

> 【添付文書 5】質問票

10) アレルギー検査

- ・ 小児の血清中特異的 IgE (食物アレルギー; 卵白、牛乳、小麦、米など。室内アレルギー; ハウスダスト、コナヒョウヒダニ、ヤケヒョウヒダニなど。屋外アレルギー; スギ花粉、シラカバ花粉、ブタクサなど) について調べて、鉛及びヒ素曝露等の環境要因と関連性を検討する。

11) 精神運動発達調査

- ・ 小児(兄弟)の精神身体発達の評価指標として、日本およびパキスタンでは、Bayley 乳幼児発達調査第三版(以下 Bayley-III) を実施して、曝露レベルとの関連性を検討する。

12) 被験者への謝礼

- ・ 調査協力への謝礼は、母と小児の陰膳収集費用の補償および交通費として、2 万円を支払う。
- ・ 調査結果の報告をすることを、研究に協力して頂くためのインセンティブとする。すなわち、陰膳中、生体試料中、ハウスダスト中の鉛濃度、臍帯血中葉酸濃度、小児の血清中特異的 IgE 抗体価を調べ、簡単な解説を付けて郵送で報告する。
- ・ Bayley-III を受けた場合は、郵送で検査結果を報告し、発達に問題があった場合は、電話で報告するとともに、自治医大とちぎ子ども医療センター外来に紹介する。

13) 個人情報の保護の方法

- ・ 試料等は、本学の個人情報管理者に依頼して連結可能匿名化したうえで、研究に使用する。
- ・ データは、研究責任者が環境予防医学においてそれぞれパスワードを設定したファイルに記録し、CD に保存して、鍵の掛かるキャビネットに保管する。
- ・ 同意書も同様に鍵の掛かるキャビネットに保管する。
- ・ 匿名化された DNA 等の試料は、フリーザーに施錠して保管する。

14) 遺伝情報の開示に関する考え方

- ・ 遺伝情報の解析結果は、個人が特定されないように学術論文に開示する。個人の遺伝子解析結果は開示しない。
- ・ 鉛及びヒ素の異なる曝露レベル集団として、あるいは地域ごとの集団として、鉛及びヒ素の胎児期曝露と遺伝子のエピゲノム変異との関係を解析した結果は、提供者に分かり易く解説したニュースレターを郵送することで報告する。

15) 遺伝情報の安全管理の方法

- ・ 環境予防医学教室の常時施錠されている疫学資料保存室を兼ねるサーバー室内のサーバーに、遺伝情報は保存する。解析を行う際には、本学の個人情報管理者が連結可能匿名化したファイルのみを各自のコンピュータに複写して使用する。
- ・ 学内ネットワークシステムへの接続は、ソフトウェア・アップグレードなどの時に限り、極力ネットワークに繋がずに運用する。
- ・ 遺伝情報の安全管理は、遺伝情報の安全管理措置を定める手順の策定、事故等への対処法、研究者への遺伝情報の取り扱いに関する教育・指導方法、入退室管理の実施、盗難等の防止策等は大学の規程に則って行う。

16) 倫理審査委員会の承認

・ 研究計画書の遺伝子解析倫理審査

- 自治医科大学 平成 26 年 1 月 17 日承認 (第遺 13-38 号)
- 旭川医科大学 平成 26 年 1 月 27 日承認 (1660)
- 国立環境研究所 平成 26 年 2 月 26 日承認 (2013-9R)
- アガカーン大学 平成 26 年 3 月 17 日承認 (2196-chs-erc-14)

> 【添付文書 6】アガカーン大学倫理審査申請書

> 【添付文書 7】アガカーン大学との契約書

4. 調査結果と考察

4.1. 試料回収および分析

本調査において、日本の下野/旭川とパキスタンのカラチ/ガンバットの各地域より回収した試料の種類と数を表1に、これらのうち分析済みの試料の種類と数を表2に示した。

表1 本調査において回収した試料の種類と数

	日本			パキスタン		
	下野	旭川	計	カラチ	ガンバット	計
母親末梢血	89	16	105	100	74	174
臍帯血	81	13	94	100	72	172
小児末梢血	89	17	106	52	40	92
胎盤	85	16	101	103	61	164
母親頭髪	未回収			103	81	184
母親爪	87	16	103	75	64	139
母親尿	87	17	104	7	9	16
小児爪	87	17	104	64	42	106
小児尿	86	14	100	未回収		
母親陰膳	87	15	102	65	47	112
小児陰膳	88	17	105	65	47	112
飲料水	65	25	90	66	44	110
ハウスダスト	88	17	105	62	0	62
吸入性粉じん	未回収			66	14	80

表 2 分析済み試料の種類と数

	日本			パキスタン		
	下野	旭川	計	カラチ	ガンバット	計
母親末梢血	89	16	105	66	41	107
臍帯血	66	0	66	61	39	100
小児末梢血	89	17	106	52	42	94
胎盤	分析中			分析中		
母親頭髮	未回収			分析中		
母親爪	分析中			分析中		
母親尿	分析中			分析中		
小児爪	分析中			分析中		
小児尿	分析中			未回収		
母親陰膳	87	15	102	65	47	112
小児陰膳	88	17	105	65	47	112
飲料水	65	25	90	66	44	110
ハウスダスト	87	17	104	分析中		
吸入性粉じん	未回収			分析中		

4.2. 鉛曝露について

日本（下野および旭川）の母親および小児の陰膳とハウスダストからの鉛の摂取量を、下野と旭川を合わせた日本を表3に、下野を表4に、旭川を表5にそれぞれ示した。

表3 日本の母親および小児の陰膳とハウスダストからの鉛の
摂取量 (μg/kgBW/week)

		N (GM)	GM	GSD	N (M)	Median	Range	
Mother	Diet	102	0.98	1.88	102	0.89	0.30	7.97
	House-dust	84	0.17	1.72	104	0.13	0.00	0.87
Child	Diet	105	2.70	1.83	105	2.66	0.28	13.64
	House-dust	104	0.70	2.78	104	0.83	0.02	3.82

Mother：母親、Child：小児、Diet：陰膳、House-dust：ハウスダスト、
N(GM)：データ数（幾何平均値）、GM：幾何平均値、GSD：幾何標準偏差値、
N(M)：データ数（中央値）、Median：中央値、Range：最小最大範囲

表4 下野の母親および小児の陰膳とハウスダストからの鉛の
摂取量 (μg/kgBW/week)

		N (GM)	GM	GSD	N (M)	Median	Range	
Mother	Diet	87	1.01	1.87	87	0.94	0.32	7.97
	House-dust	82	0.17	1.73	87	0.16	0.00	0.87
Child	Diet	88	2.71	1.86	88	2.67	0.28	13.64
	House-dust	87	0.74	2.56	87	0.85	0.02	3.13

表5 旭川の母親および小児の陰膳とハウスダストからの鉛の
摂取量 (μg/kgBW/week)

		N (GM)	GM	GSD	N (M)	Median	Range	
Mother	Diet	15	0.83	1.92	15	0.75	0.30	3.47
	House-dust	2	0.13	1.05	17	0.00	0.00	0.14
Child	Diet	17	2.61	1.72	17	2.57	0.97	8.56
	House-dust	17	0.54	3.96	17	0.79	0.02	3.82

日本における陰膳からの鉛摂取量(幾何平均値)は、母親で $0.98 \mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ 、小児で $2.70 \mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ であった。陰膳からの鉛摂取量は下野と旭川でほぼ同じレベルであり、両地域共に母親に比較して小児の方が多かった。

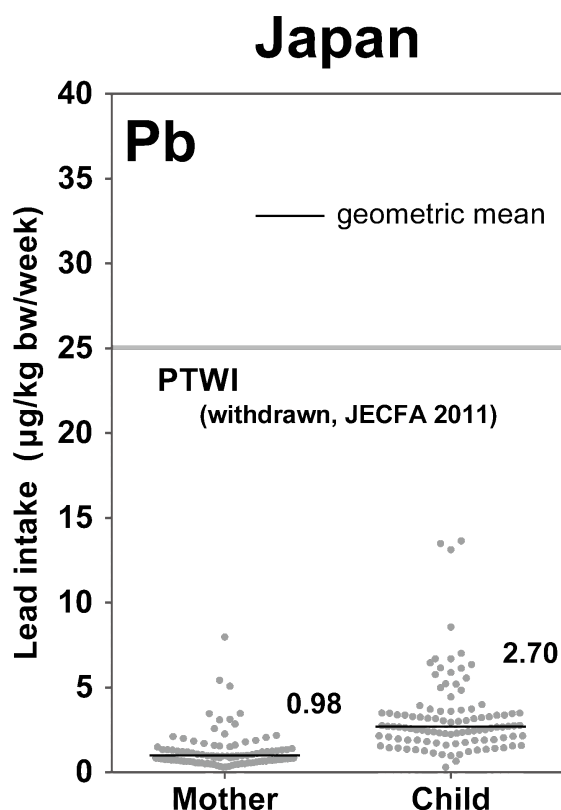


図1 日本の母親および小児の陰膳からの鉛摂取量
鉛旧耐用摂取量 (PTWI) $25 \mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ [JECFA, 2011]

日本の母親および小児の陰膳からの鉛摂取量を分散図(図1)に示した。2011年に JECFA により撤回された鉛の旧耐用摂取量 (PTWI) $25 \mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ と比較した結果、母親と小児共に旧 PTWI よりも低いことが明らかになった。

また、陰膳以外にハウスダストによる鉛曝露も考えられるため、ハウスダストからの鉛摂取量を、米国環境保護庁のハウスダスト摂取量の報告値「成人 30 mg/日」と「小児 60 mg/日」をもとに算出した。ハウスダストからの推定鉛摂取量(幾何平均値)は、母親で $0.17 \mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ 、小児で $0.70 \mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ であった。ハウスダストからの鉛摂取量も、陰膳と同様に下野と旭川でほぼ同じレベルであり、両地域共に母親に比較して小児の方が多かった。

パキスタン（カラチおよびガンバット）の母親および小児の陰膳からの鉛の摂取量を、カラチとガンバットを合わせたパキスタンを表 6 に、カラチを表 7 に、ガンバットを表 8 にそれぞれ示した。なお、ハウスダストからの鉛摂取量については、現在分析中である。

表 6 パキスタンの母親および小児の陰膳からの鉛の摂取量 ($\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$)

		N (GM)	GM	GSD	N (M)	Median	Range	
Mother	Diet	103	8.12	1.91	103	8.01	2.01	44.34
Child	Diet	102	18.29	2.19	102	17.14	1.76	171.93

表 7 カラチの母親および小児の陰膳からの鉛の摂取量 ($\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$)

		N (GM)	GM	GSD	N (M)	Median	Range	
Mother	Diet	63	8.21	1.79	63	8.05	2.61	32.57
Child	Diet	62	15.35	2.13	62	14.66	1.76	111.77

表 8 ガンバットの母親および小児の陰膳からの鉛の摂取量 ($\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$)

		N (GM)	GM	GSD	N (M)	Median	Range	
Mother	Diet	40	7.99	2.10	40	7.54	2.01	44.34
Child	Diet	40	23.99	2.13	40	20.83	7.59	171.93

パキスタンにおける陰膳からの鉛摂取量（幾何平均値）は、母親で $8.12 \mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ 、小児で $18.29 \mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ であった。パキスタンにおける陰膳からの鉛摂取量は、カラチとガンバットでほぼ同じレベルであり、両地域共に母親に比較して小児の方が多かった。母親に比較して小児の方が多いのは、日本の場合と同様の傾向である。

Pakistan

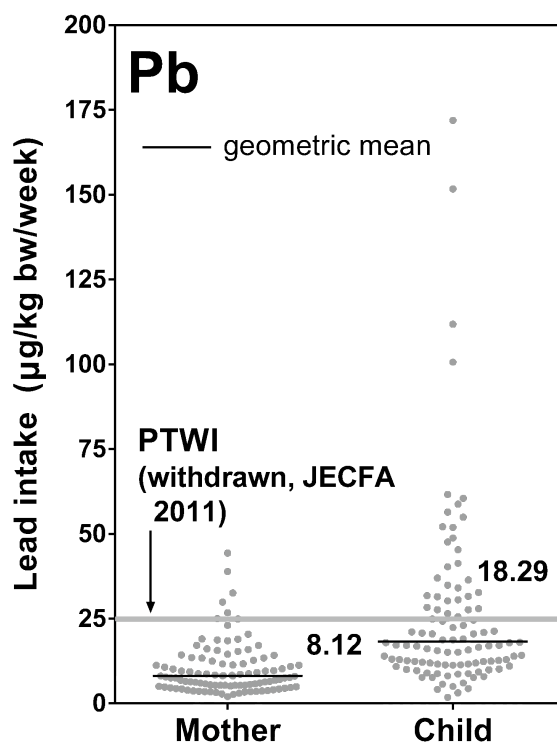


図2 パキスタンの母親および小児の陰膳からの鉛摂取量
鉛旧 PTWI 25 $\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ [JECFA, 2011]

パキスタンの母親および小児の陰膳からの鉛摂取量を分散図(図2)に示した。鉛の旧 PTWI と比較した結果、PTWI を超える母親が約 5%、小児では約 30%に認められた。本結果より、パキスタンにおける食品の鉛汚染が大きな問題であることが明らかとなった。

次に、日本およびパキスタンの陰膳およびハウスダストからの鉛摂取量を図3に示した。母親の陰膳からの鉛摂取量は、パキスタンが8.12 $\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ と、日本の0.98 $\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ に比べて約8倍多い量であった。また、小児の陰膳からの鉛摂取量は、パキスタンが18.29 $\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ と、日本2.70 $\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ に比べてこちらも約7倍多い量であった。

さらに、ハウスダストからの鉛摂取量は、陰膳からの摂取量と比較して、母親で14%、小児で21%にあたり、小児の鉛曝露に対するハウスダストの寄与率が高いことが示された。なお、パキスタンのハウスダストの測定がまだ完了していないが、同様の傾向であると推定している。

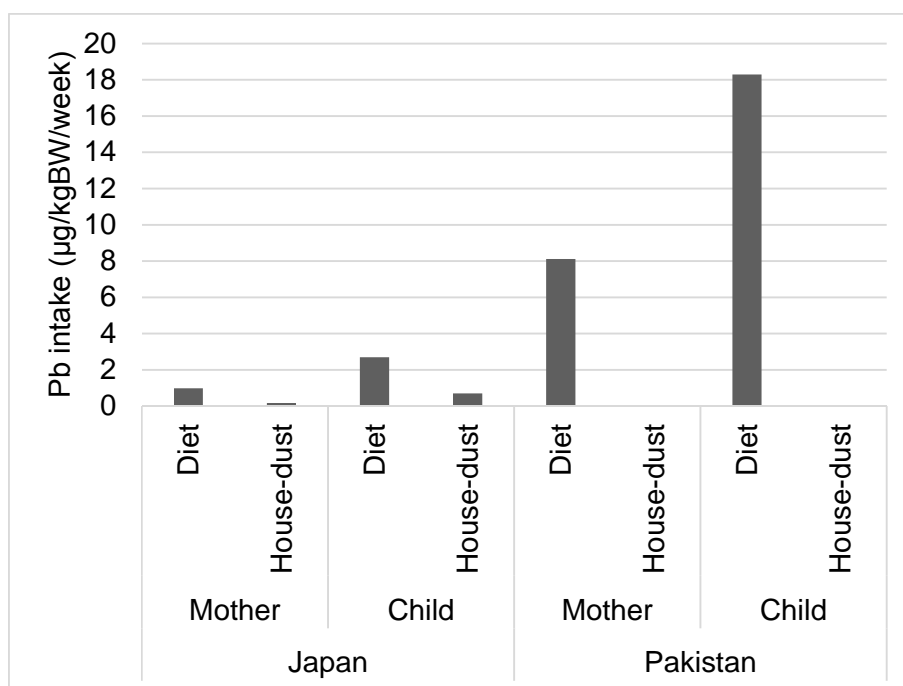


図3 日本およびパキスタンの陰膳およびハウスダストからの鉛摂取量

Pb intake : 鉛摂取量、Diet : 陰膳、House-dust : ハウスダスト、

Mother : 母親ハウスダスト、Child : 小児、

Japan : 日本、Pakistan : パキスタン

注) パキスタンのハウスダストは分析中

日本とパキスタンの母親末梢血、臍帯血および小児末梢血の血中鉛濃度を表 9 と図 4 に示した。

日本の母親末梢血、臍帯血、小児末梢血の血中鉛濃度（幾何平均値）は、それぞれ 0.67 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 、0.81 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 、1.19 $\mu\text{g}/\text{dL}$ と他国での調査報告の値と比較して、非常に低い範囲内であった。

一方、パキスタンの母親末梢血、臍帯血、小児末梢血の血中鉛濃度（幾何平均値）は、それぞれ 8.87 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 、7.01 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 、15.28 $\mu\text{g}/\text{dL}$ と日本と比較して非常に高い値であった。

表 9 日本とパキスタンの血中鉛濃度 ($\mu\text{g}/\text{dL}$)

		N	GM	Median
Japan	Mother	105	0.67	0.64
	Cord	66	0.81	0.73
	Child	106	1.19	1.19
Pakistan	Mother	107	8.87	9.83
	Cord	100	7.01	8.79
	Child	94	15.28	15.93

Japan : 日本、Pakistan : パキスタン、
 Mother : 母親末梢血、Cord : 臍帯血、Child : 小児末梢血、
 N : データ数、GM : 幾何平均値、Median : 中央値

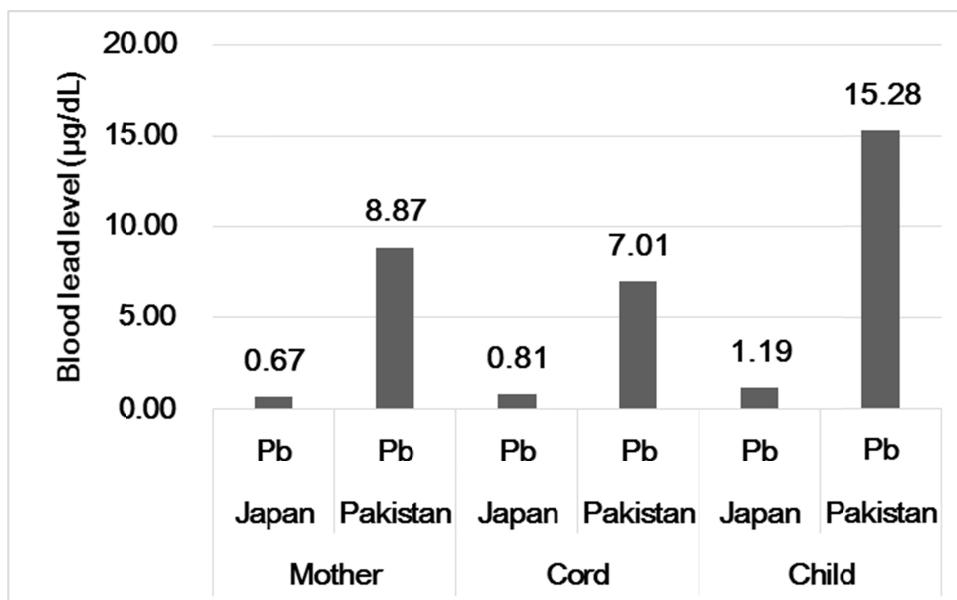


図 4 日本とパキスタンの血中鉛濃度

パキスタンの母親末梢血、臍帯血および小児末梢血の血中鉛濃度を、カラチとガンバットに分けて表 10 と図 5 に示した。

表 10 カラチとガンバットの血中鉛濃度 ($\mu\text{g}/\text{dL}$)

		N	GM	Median
Karachi	Mother	66	14.52	14.79
	Cord	61	12.52	12.69
	Child	52	20.17	20.11
Gambat	Mother	41	4.01	3.90
	Cord	39	2.83	2.96
	Child	42	10.84	10.52

Karachi : カラチ、Gambat : ガンバット

パキスタンの血中鉛濃度は、カラチの場合に非常に高く、その幾何平均値は、母親で $14.52 \mu\text{g}/\text{dL}$ 、臍帯血で $12.52 \mu\text{g}/\text{dL}$ 、小児で $20.17 \mu\text{g}/\text{dL}$ であった。また、ガンバットの場合でも、母親で $4.01 \mu\text{g}/\text{dL}$ 、臍帯血で $2.83 \mu\text{g}/\text{dL}$ 、小児で $10.84 \mu\text{g}/\text{dL}$ とカラチよりは低いが、日本に比較すると高い値であった。

これまでの Surveillance for Elevated Blood Lead Levels Among Children United States, 1997-2001 (<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/ss5210a1.htm>) によると、血中鉛濃度が $10 \mu\text{g}/\text{dL}$ 以下でも、小児の神経行動発達に異常が見られることが報告されており、カラチの小児血中鉛濃度は、その幾何平均値で約 2 倍、最大では約 $50 \mu\text{g}/\text{dL}$ と約 5 倍の血中鉛濃度であった。このため、健康障害に危惧すべきレベルであることが示唆された。

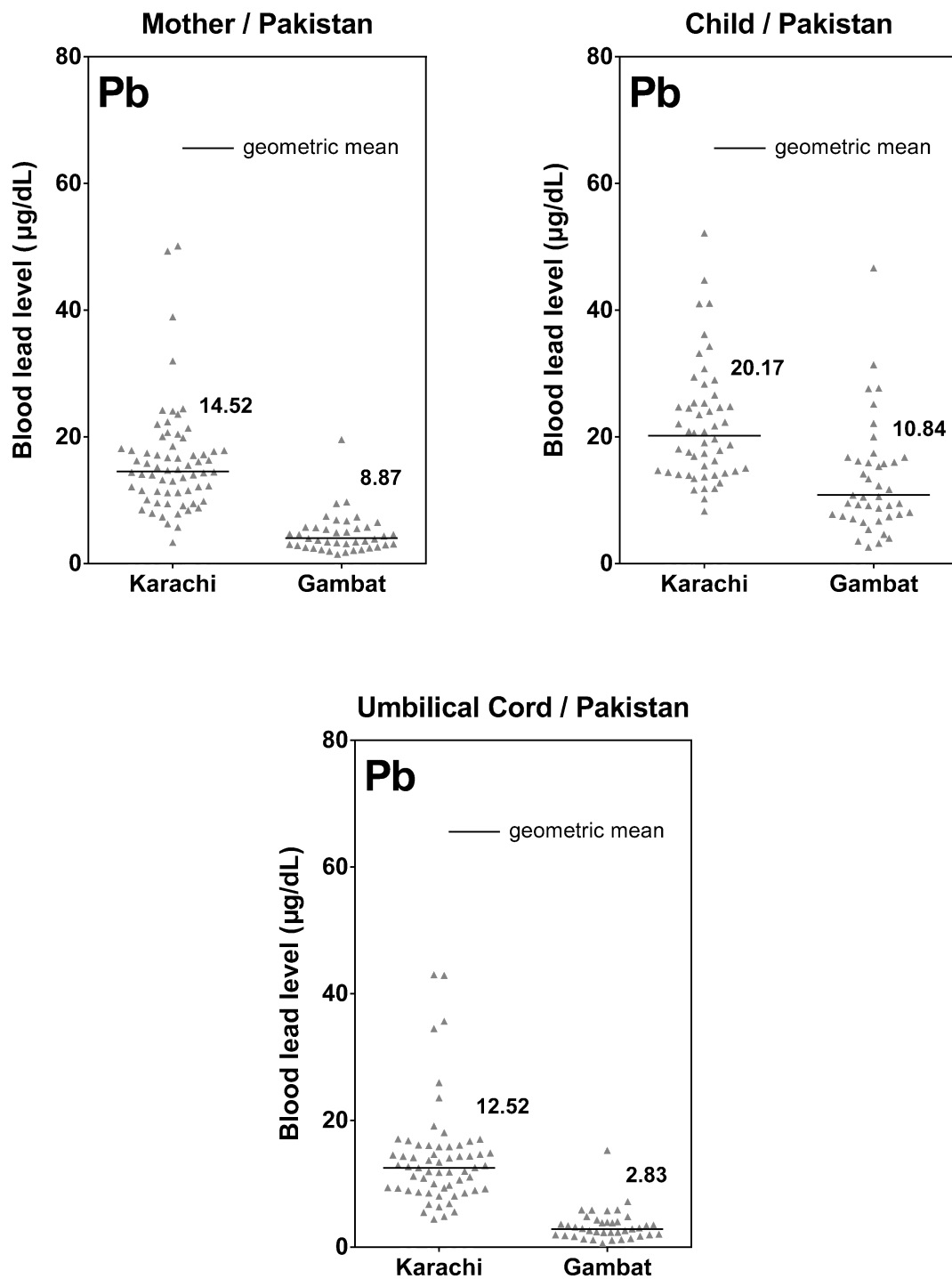


図5 カラチとガンバットの血中鉛濃度
 上左：母親末梢血、上右：小児末梢血、下：臍帯血

4.3. ヒ素曝露について

日本（下野および旭川）の母親および小児の陰膳からの総ヒ素および無機ヒ素の摂取量を、下野と旭川を合わせた日本を表 11 に、下野を表 12 に、旭川を表 13 にそれぞれ示した。

表 11 日本の母親および小児の陰膳からの総ヒ素および無機ヒ素の
摂取量 ($\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$)

		N	GM	GSD	Median	Range	
Mother	tAs	102	6.15	2.16	6.4	1.03	73.8
	iAs	102	1.45	1.77	1.38	0.47	6.75
Child	tAs	105	16.68	1.86	17.17	3.68	57.39
	iAs	105	4.28	1.6	4.11	1.54	20.42

Mother : 母親、Child : 小児、tAs : 総ヒ素、iAs : 無機ヒ素、
N: データ数、GM: 幾何平均値、GSD: 幾何標準偏差値、
Median : 中央値、Range : 最小最大範囲

表 12 下野の母親および小児の陰膳からの総ヒ素および無機ヒ素の
摂取量 ($\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$)

		N	GM	GSD	Median	Range	
Mother	tAs	87	5.96	2.13	6.60	1.03	45.23
	iAs	87	1.49	1.76	1.49	0.47	6.75
Child	tAs	88	16.23	1.89	17.08	3.68	57.39
	iAs	88	4.38	1.60	4.30	1.54	20.42

表 13 旭川の母親および小児の陰膳からの総ヒ素および無機ヒ素の
摂取量 ($\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$)

		N	GM	GSD	Median	Range	
Mother	tAs	15	7.41	2.35	6.36	1.58	73.80
	iAs	15	1.23	1.82	1.10	0.63	4.93
Child	tAs	17	19.25	1.69	18.60	10.26	57.12
	iAs	17	3.79	1.59	3.71	1.75	7.56

日本の陰膳からの総ヒ素の摂取量は、母親で幾何平均 6.15 $\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ 、小児で 16.68 $\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ であった。日本における総ヒ素摂取量は、魚介類や海藻などの海産物を頻繁に摂取する食習慣から高いことが知られており、アルセノベタインやアルセノコリンなどの有機ヒ素化合物が主体であると推定される。また、陰膳からの無機ヒ素の摂取量は、母親で幾何平均 1.45 $\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ 、小児で 4.28 $\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ であった。

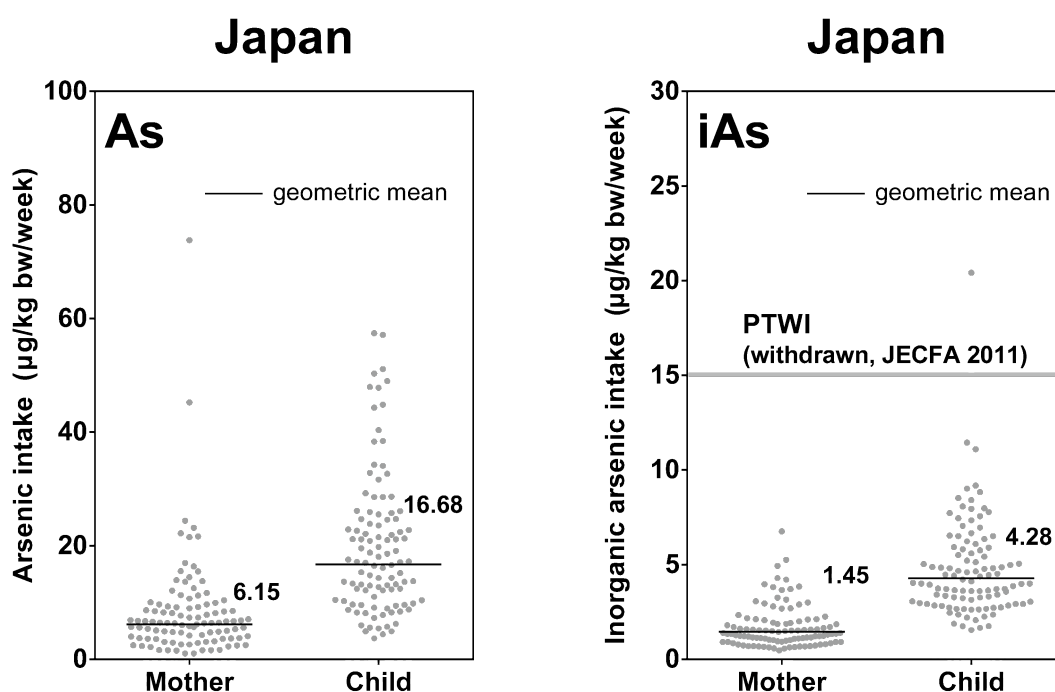


図6 日本の母親および小児の陰膳からの総ヒ素（左）
および無機ヒ素（右）の摂取量
無機ヒ素旧耐用摂取量（PTWI）15 $\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ [JECFA, 2011]

日本の母親および小児の陰膳からの総ヒ素および無機ヒ素の摂取量を散布図（図6）で示した。体重当たりの総ヒ素および無機ヒ素摂取量は、母親より小児の方が高い。また、2011年のJECFAにて撤回された無機ヒ素の旧耐用摂取量（PTWI）15 $\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ を超えている小児が1名含まれていた。

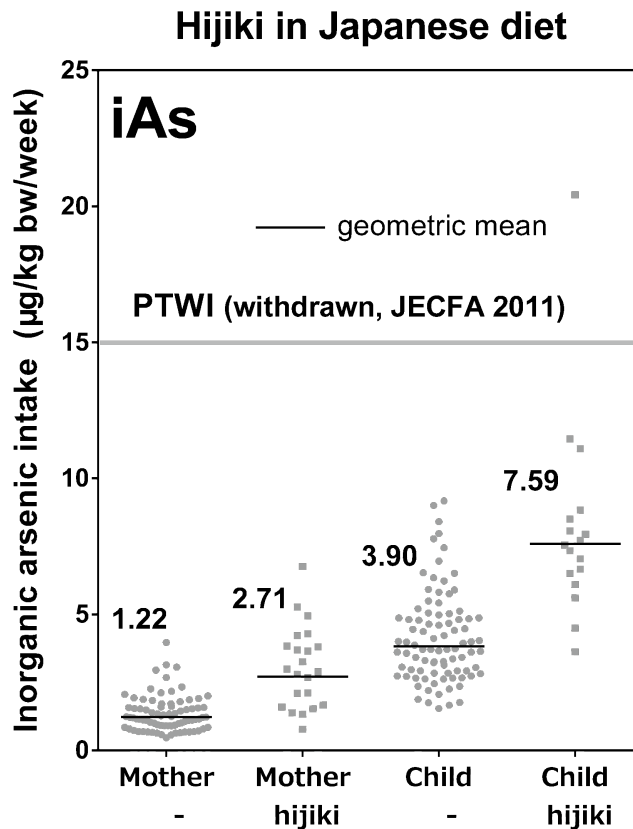


図7 陰膳中のヒジキの有無による無機ヒ素摂取量
無機ヒ素旧 PTWI 15 µg/kgBW/week [JECFA, 2011]

陰膳中にヒジキが含まれていたか否かで分類し解析した結果を図7に示した。ヒジキの有無による無機ヒ素の摂取量は、母親の場合、無し 1.22 µg/kgBW/week に対して、有り 2.71 µg/kgBW/week と約2倍高かった。小児の場合も、無し 3.90 µg/kgBW/week に対して、有り 7.59 µg/kgBW/week と同様に約2倍高かった。このことから、ヒジキの有無により明らかな差が見られた。さらに、無機ヒ素の旧PTWIを超過していた小児は、その陰膳中にヒジキが含まれており、しかも陰膳を実施した3日間毎日摂取していたことが確認された。

パキスタン（カラチおよびガンバット）の母親および小児の陰膳からの総ヒ素および無機ヒ素の摂取量を、カラチとガンバットを合わせたパキスタンを表 14 に、カラチを表 15 に、ガンバットを表 16 にそれぞれ示した。

表 14 パキスタンの母親および小児の陰膳からの総ヒ素および無機ヒ素の
摂取量 ($\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$)

		N	GM	GSD	Median	Range	
Mother	tAs	103	2.08	2.19	1.99	0.36	20.65
	iAs	103	1.49	2.34	1.29	0.33	20.89
Child	tAs	102	5.81	2.72	3.33	0.52	183.36
	iAs	102	4.46	2.60	5.34	0.54	188.13

表 15 カラチの母親および小児の陰膳からの総ヒ素および無機ヒ素の
摂取量 ($\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$)

		N	GM	GSD	Median	Range	
Mother	tAs	63	1.44	1.62	1.48	0.36	3.46
	iAs	63	0.94	1.53	0.95	0.33	1.98
Child	tAs	62	3.53	1.77	3.65	0.54	11.20
	iAs	62	2.57	1.66	2.75	0.52	9.09

表 16 ガンバットの母親および小児の陰膳からの総ヒ素および無機ヒ素の
摂取量 ($\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$)

		N	GM	GSD	Median	Range	
Mother	tAs	40	3.74	2.27	3.27	0.90	20.65
	iAs	40	3.05	2.39	2.67	0.74	20.89
Child	tAs	40	12.57	2.52	11.62	2.09	188.13
	iAs	40	10.47	2.65	10.26	1.77	183.36

パキスタンの総ヒ素の摂取量は、母親で幾何平均値 $2.08 \mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ 、小児で $5.81 \mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ であった。また、無機ヒ素の摂取量は、母親で幾何平均値 $1.49 \mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ 、小児で $4.46 \mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ であった。

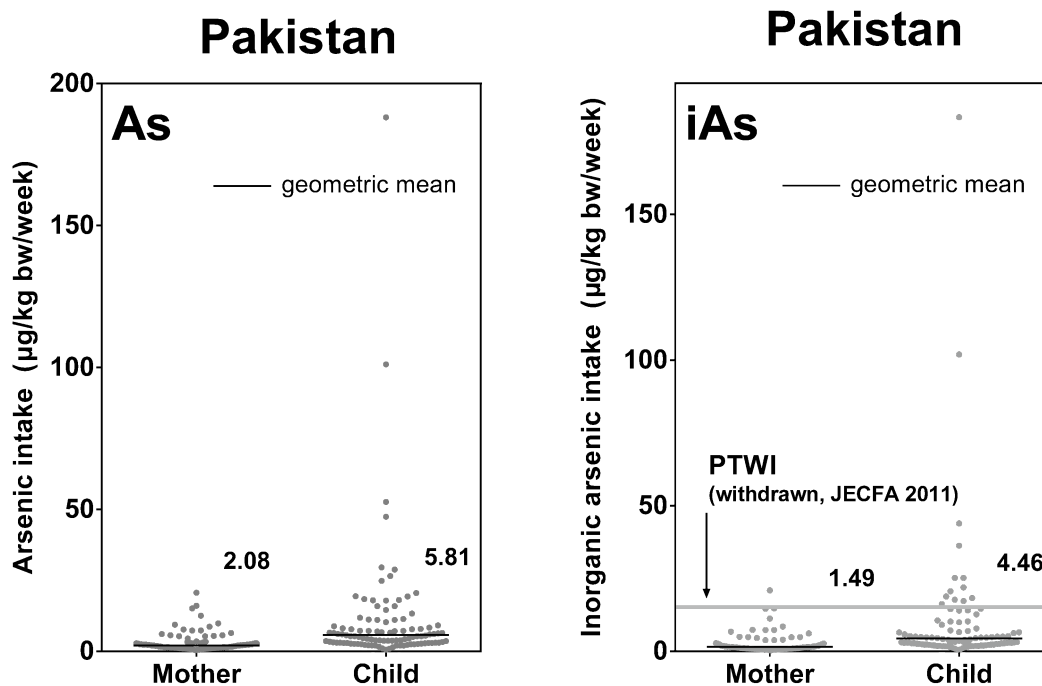


図8 パキスタンの母親および小児の陰膳からの総ヒ素（左）
 および無機ヒ素（右）の摂取量
 無機ヒ素旧 PTWI 15 µg/kgBW/week [JECFA, 2011]

パキスタンの母親および小児の総ヒ素および無機ヒ素の摂取量を散布図(図8)に示した。陰膳からの総ヒ素および無機ヒ素の摂取量は、母親よりも小児が高い傾向が見られた。また、パキスタンにおける無機ヒ素の摂取量では、母親で1名、小児で13名が無機ヒ素の旧 PTWI 15 µg/kgBW/week を超過していた。

Pakistan diet

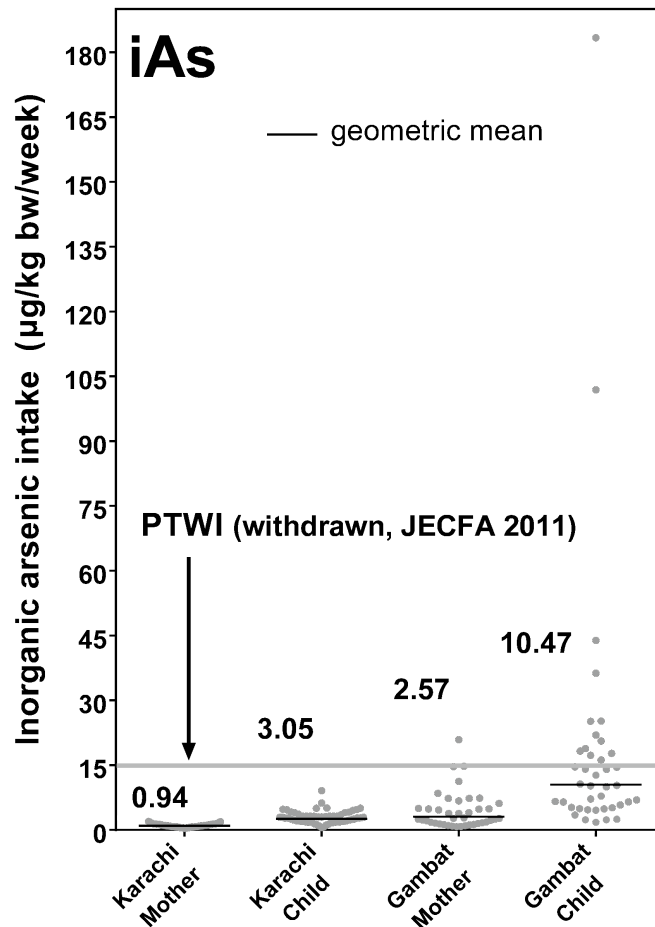


図9 カラチおよびガンバットの母親および小児の陰膳からの無機ヒ素の摂取量
無機ヒ素旧 PTWI 15 µg/kgBW/week [JECFA, 2011]

カラチおよびガンバットの母親および小児の陰膳からの無機ヒ素の摂取量を分散図(図9)に示した。カラチに比較してガンバットにおける無機ヒ素の摂取量が母親と小児共に高い傾向が見られた。さらに、無機ヒ素の旧 PTWI を超過していた母親 1 名と小児 13 名は、すべてガンバットの被験者であった。

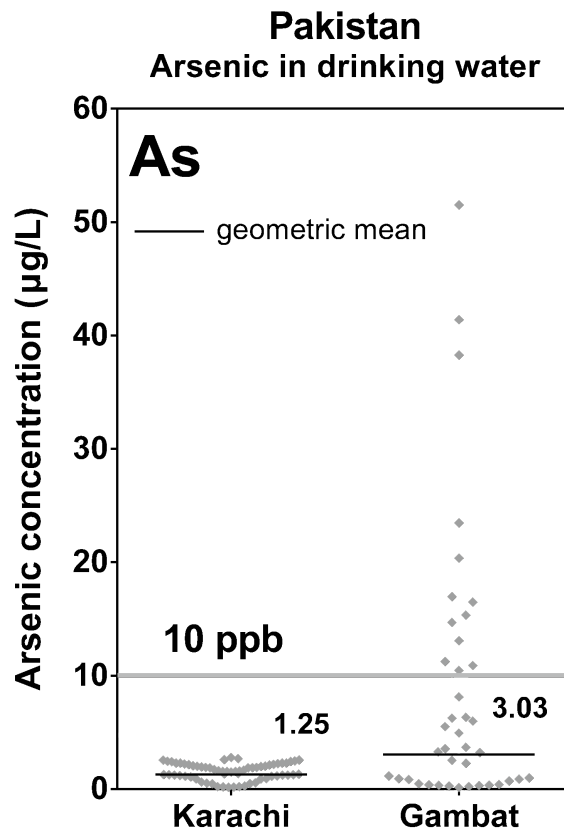


図 10 カラチおよびガンバットの飲料水中総ヒ素濃度 ($\mu\text{g/L}$)
WHO 飲料水暫定ガイドライン値 0.01 mg/L (10 ppb)

カラチおよびガンバットの飲料水中総ヒ素濃度を分散図 (図 10) に示した。これらの幾何平均値は、カラチ $1.25 \mu\text{g/L}$ 、ガンバット $3.03 \mu\text{g/L}$ であった。さらに、ガンバットの飲料水には WHO の飲料水の暫定ガイドライン値 0.01 mg/L ($10 \mu\text{g/L}$) 超えるものが 13 試料含まれていた。ガンバットにおける飲料水は、基本的に井戸水であり、多くの無機ヒ素を含むことが知られていた。本調査の結果から、ガンバットにおける陰膳からの無機ヒ素摂取の旧 PTWI 超過者 (母親 1 名、小児 13 名) は、陰膳 (食品の調理水と飲料水) の井戸水に由来するものであることが示唆された。

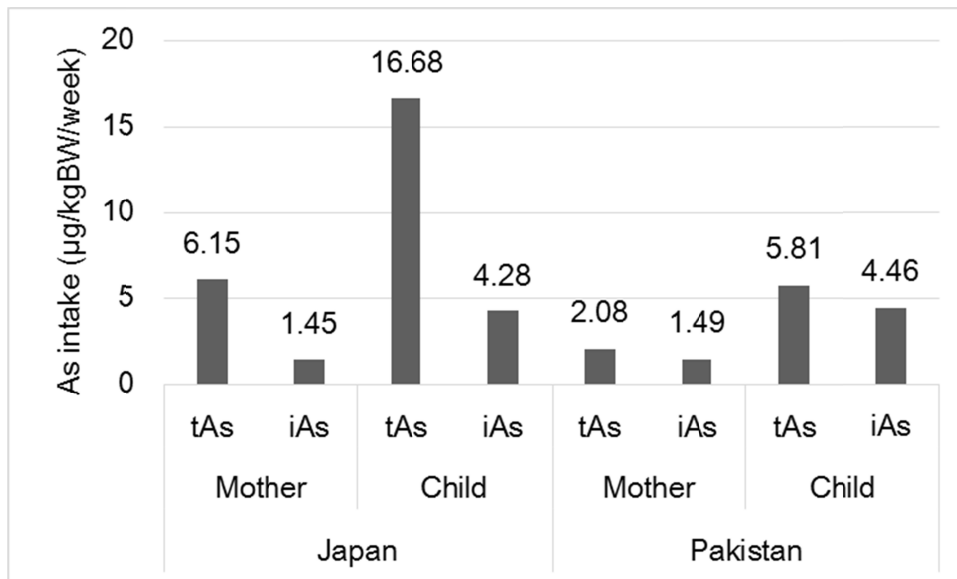


図 11 日本およびパキスタンの母親および小児の総ヒ素および無機ヒ素の摂取量

As intake : ヒ素摂取量、tAs : 総ヒ素、iAs : 無機ヒ素、
 Mother : 母親ハウスダスト、Child : 小児、
 Japan : 日本、Pakistan : パキスタン

日本およびパキスタンの母親および小児の総ヒ素および無機ヒ素の摂取量を図 11 に示した。日本の陰膳では、海産物の摂取量が多いために総ヒ素の摂取量が高くなり、総ヒ素に対する無機ヒ素の割合は 3 割と少なくなった。一方、パキスタンの陰膳では、無機ヒ素が井戸水に由来することから、無機ヒ素の割合が 7~8 割を占めた。これらの結果を合わせると、日本とパキスタンの陰膳からの無機ヒ素摂取量には、二国間であまり差が見られないことになった。

日本とパキスタンの母親末梢血、臍帯血および小児末梢血の血中総ヒ素濃度を表 17 と図 12 に示した。日本の母親末梢血、臍帯血、小児末梢血の血中総ヒ素濃度（幾何平均値）は、それぞれ 4.57 $\mu\text{g/L}$ 、3.65 $\mu\text{g/L}$ 、5.13 $\mu\text{g/L}$ であった。一方、パキスタンの母親末梢血、臍帯血、小児末梢血の血中鉛濃度（幾何平均値）は、それぞれ 1.07 $\mu\text{g/L}$ 、0.94 $\mu\text{g/L}$ 、1.90 $\mu\text{g/L}$ であった。

日本の血中総ヒ素濃度は、母親末梢血、臍帯血、小児末梢血の全てがパキスタンに比べ明らかに高かった。これは、海産物の頻繁な摂取により、血中の総ヒ素濃度が高くなったものと推定される。

表 17 日本とパキスタンの血中総ヒ素濃度 ($\mu\text{g/L}$)

		N	GM	Median
Japan	Mother	105	4.57	4.45
	Cord	66	3.65	3.66
	Child	106	5.13	4.75
Pakistan	Mother	107	1.07	1.38
	Cord	100	0.94	0.92
	Child	94	1.90	1.96

Japan : 日本、Pakistan : パキスタン、
 Mother : 母親、Cord : 臍帯血、Child : 小児、
 N : データ数、GM : 幾何平均値、Median : 中央値

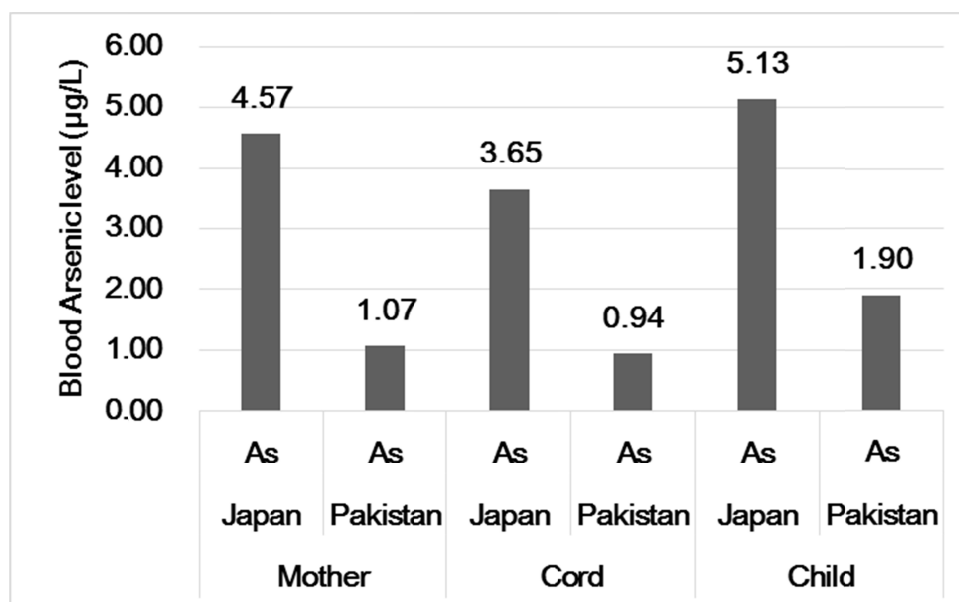


図 12 日本とパキスタンの血中総ヒ素濃度

4.4. 小児発達調査について

Bayley 乳幼児発達調査第三版とは、イギリスで開発された国際的に使用可能な発達調査である。評価可能年齢：16 days ~ 42 months 15 days であり、認知 (Cognitive)、言語 (Language)、運動 (Motor) の三領域で評価され、うち言語は受動的コミュニケーション力：RC (Receptive Communication) と表出的コミュニケーション力：EC (Expressive Communication) に、運動は微細運動：FM (Fine Motor) と粗大運動：GM (Gross Motor) に分けて評価される。

本調査法は月齢で start point が異なる。全部で 16 の start point があり、今回のぴーばす調査では I~P (生後 12 months 16days ~ 42 months 15 days) の start point となる対象児の調査を実施した。結果の評価にはそれぞれの項目で Scaled Score を算出した。このスコアは 8~12 であれば正常と判断され、7 未満で発達に遅れがあり、13 以上で発達が早いと判断される。表 17 に結果の算術平均値の比較を示した。

表 17 発達調査結果 Scaled Score の平均値の比較

日本	Cognitive	RC	EC	FM	GM
下野 88	9.7	10.4	8.4	10.9	8.7
旭川 17	11.2	9.9	8.6	13.6	8.8
計 105	10.5	10.1	8.5	12.3	8.8

パキスタン	Cognitive	RC	EC	FM	GM
Karachi 48	10.6	8.6	7.9	10.1	9.3
Gambat 26	8.6	7.9	7.1	8.9	8.0
計 74	10	8.4	7.5	9.7	8.7

RC: Receptive Communication, EC: Expressive Communication

FM: Fine Motor, GM: Gross Motor

平均値を比較すると、言語の発達は日本よりもパキスタンの方に遅れを認められた。ただし、Bayley III がイギリスで開発されたものであり、公用語が英語でない日本とパキスタンにおいては、SS で 8~12 が正常と判断される基準が適切でない可能性がある。

次に評価する領域毎に start point で分けた SS 値の散布図を図 13~17 として示す。

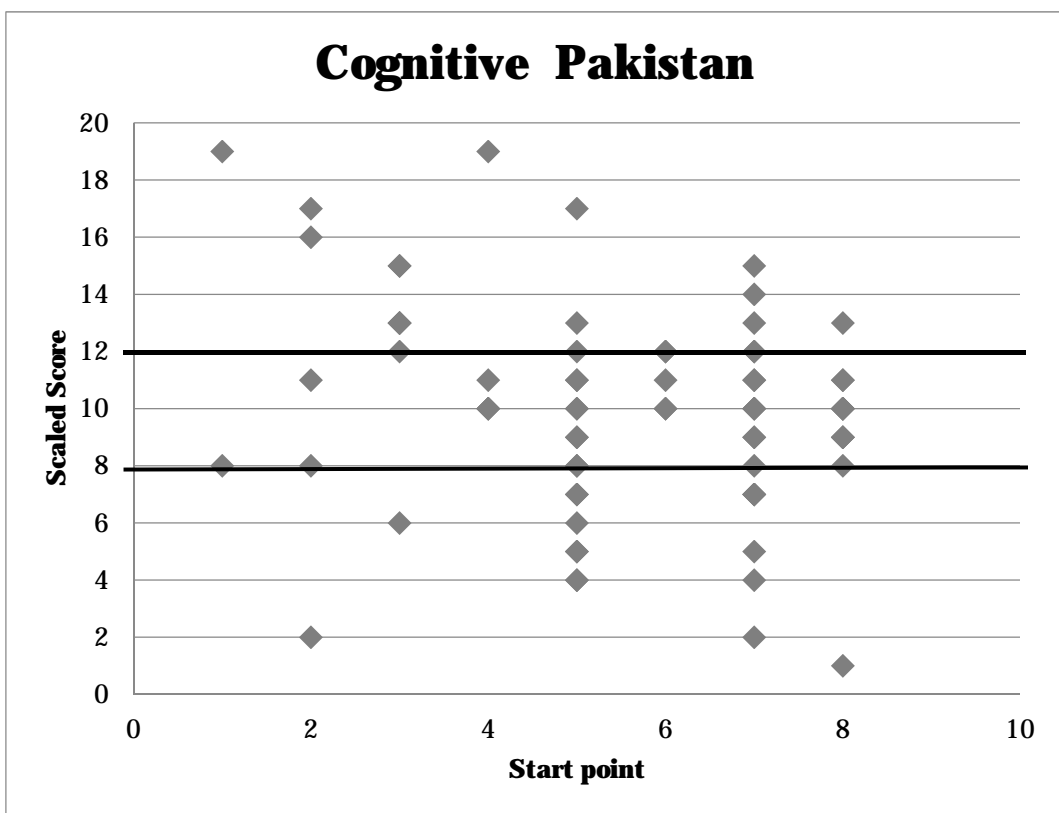
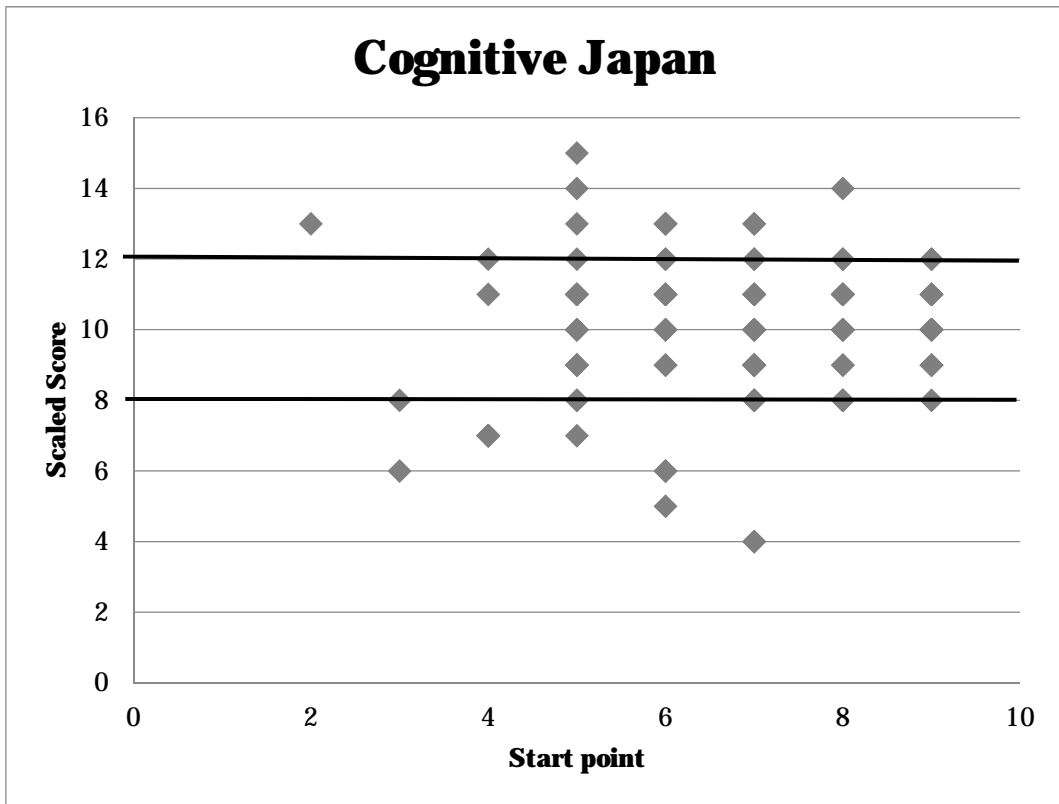


図 13 start point 別 Cognitive の SS 値 日本 vs パキスタン
 (1 I, 2 J, 3 K, 4 L, 5 M, 6 N, 7 O, 8 P)

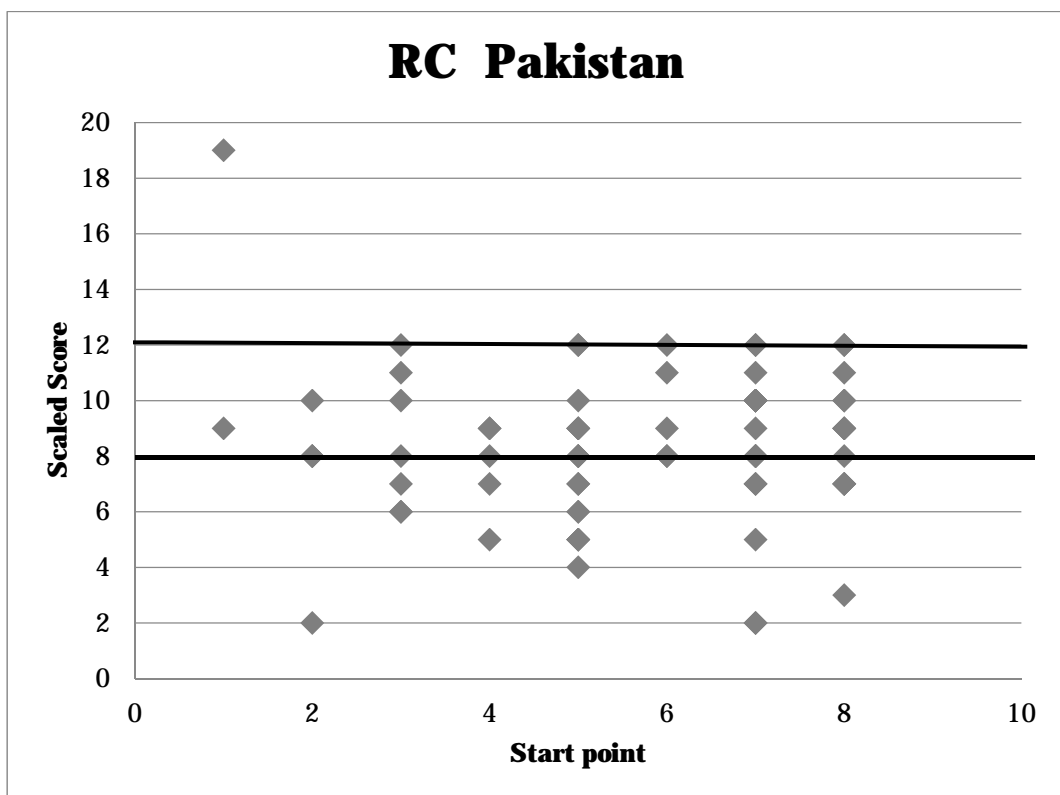
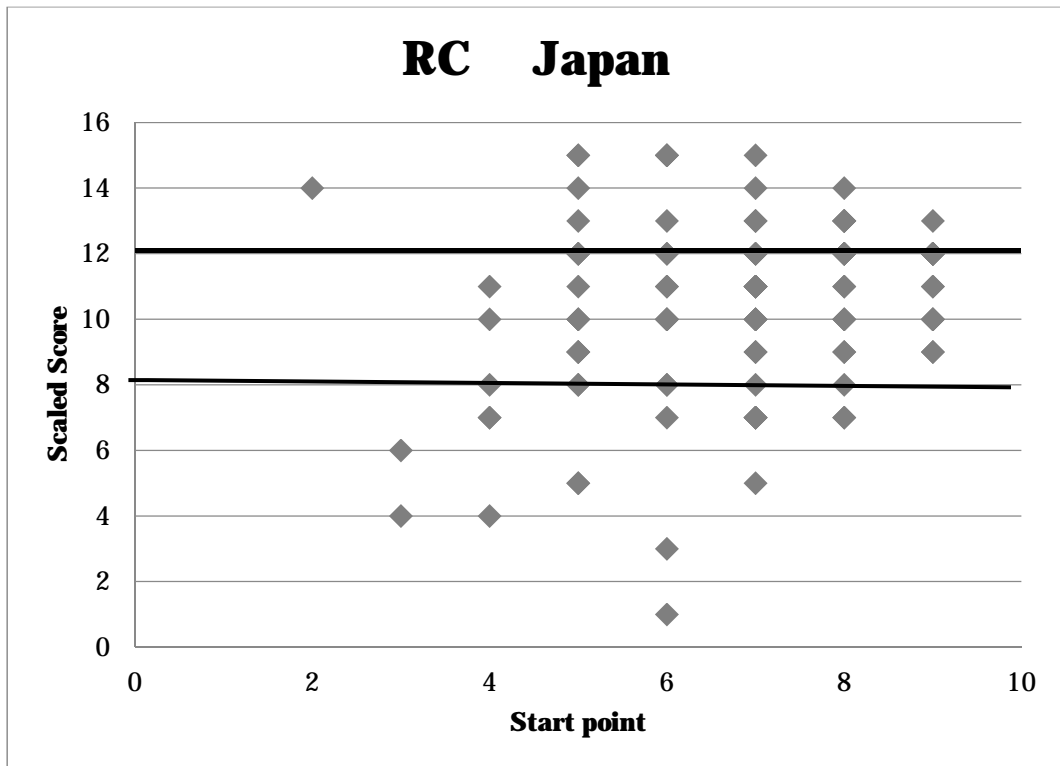


図 14 start point 別 RC の SS 値 日本 vs パキスタン
 (1 I,2 J,3 K,4 L,5 M,6 N,7 O,8 P)

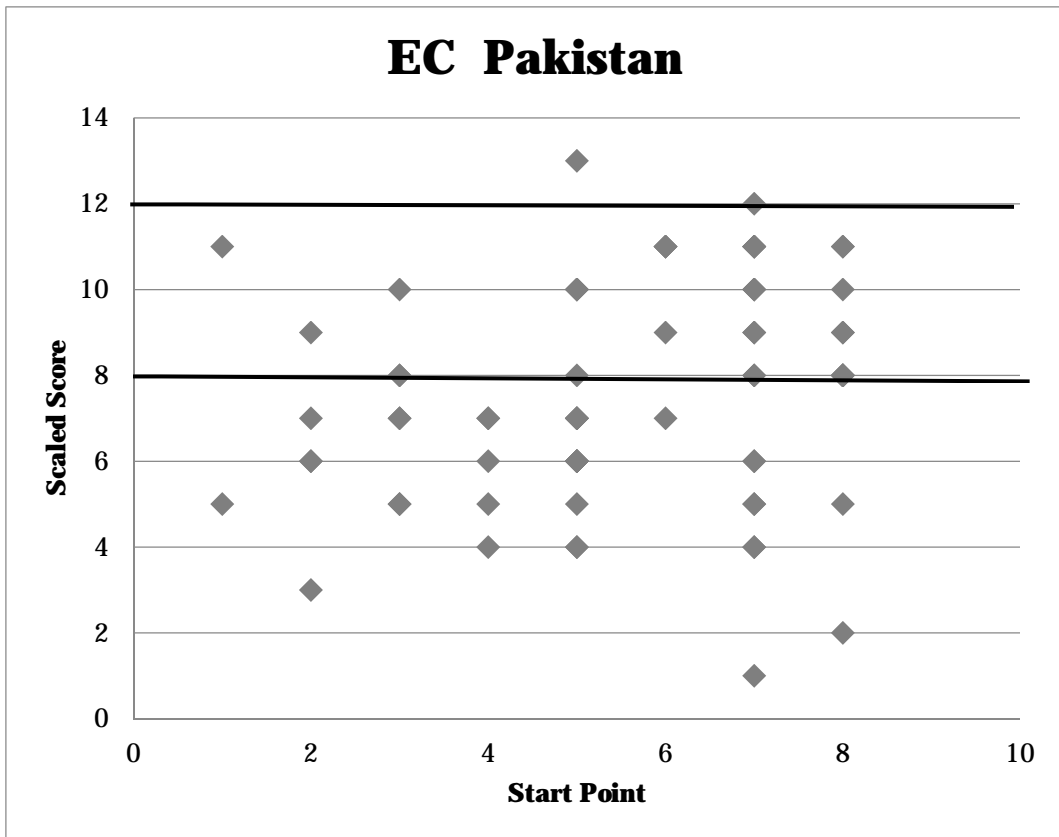
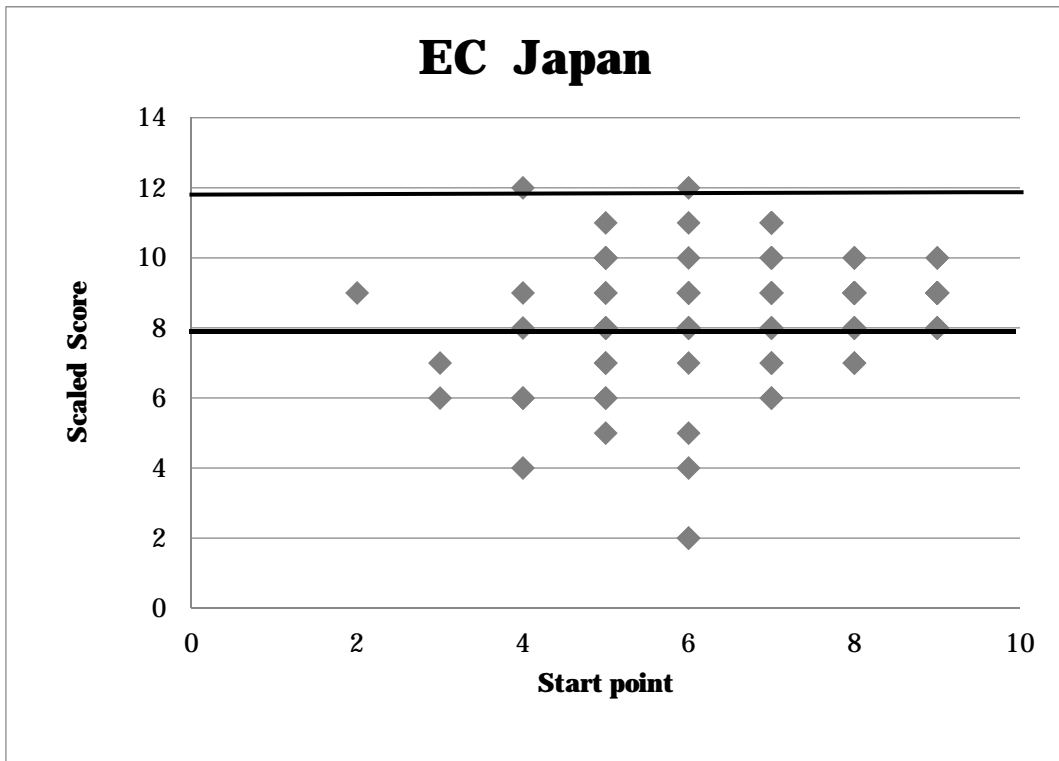


図 15 start point 別 EC の SS 値 日本 vs パキスタン
 (1 I, 2 J, 3 K, 4 L, 5 M, 6 N, 7 O, 8 P)

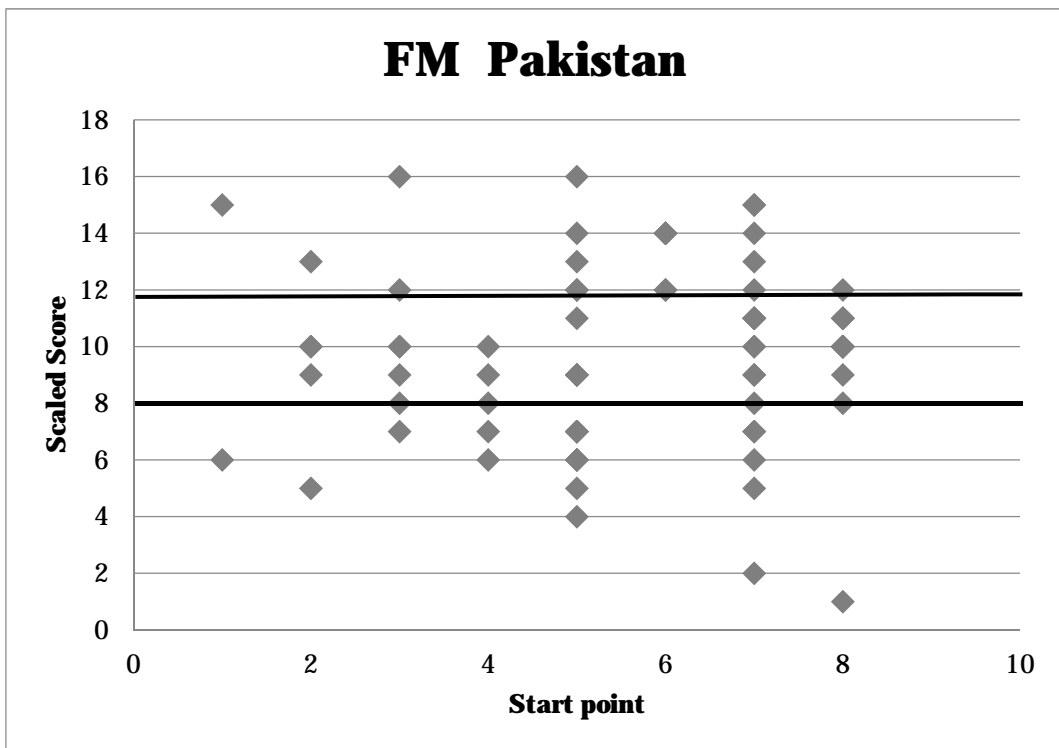
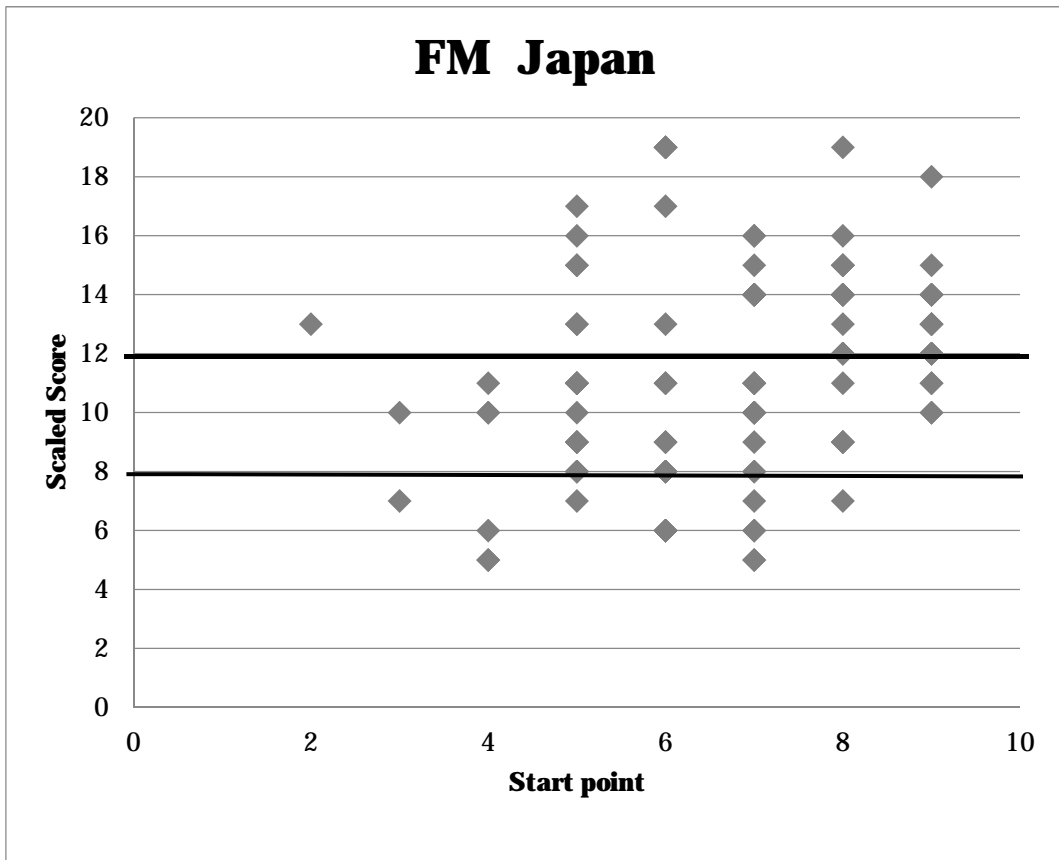


図 16 start point 別 FM の SS 値 日本 vs パキスタン
 (1 I, 2 J, 3 K, 4 L, 5 M, 6 N, 7 O, 8 P)

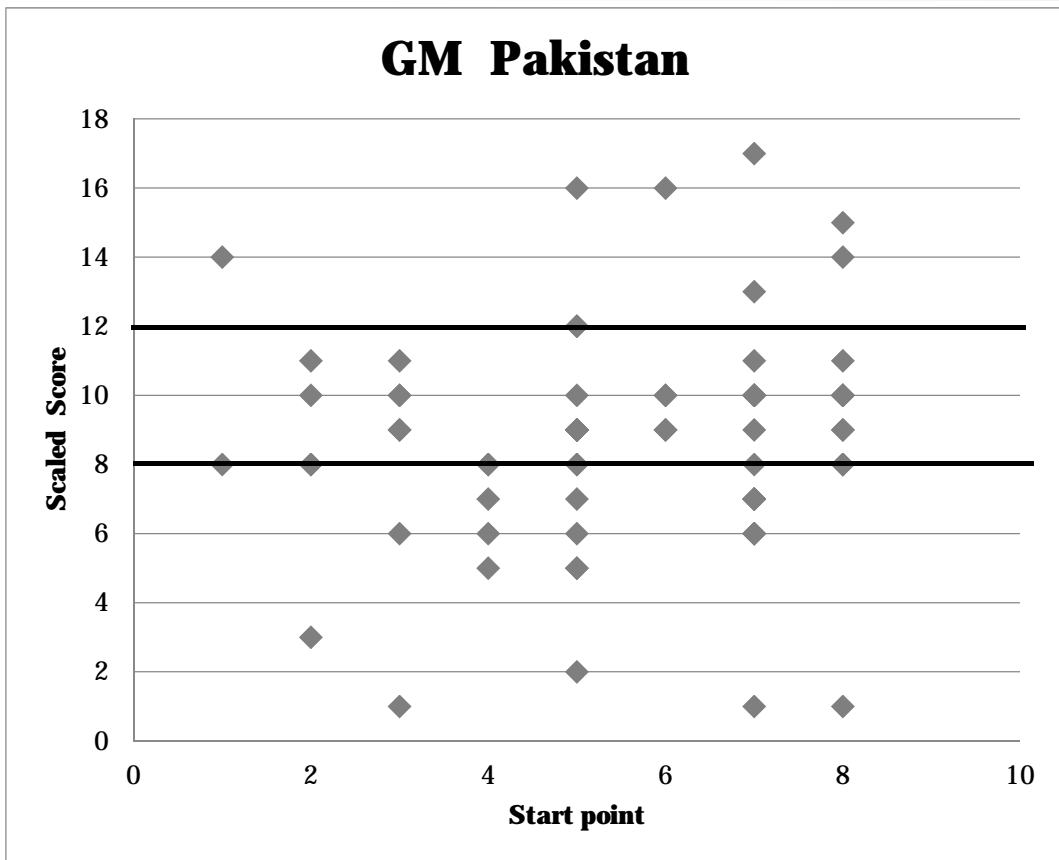
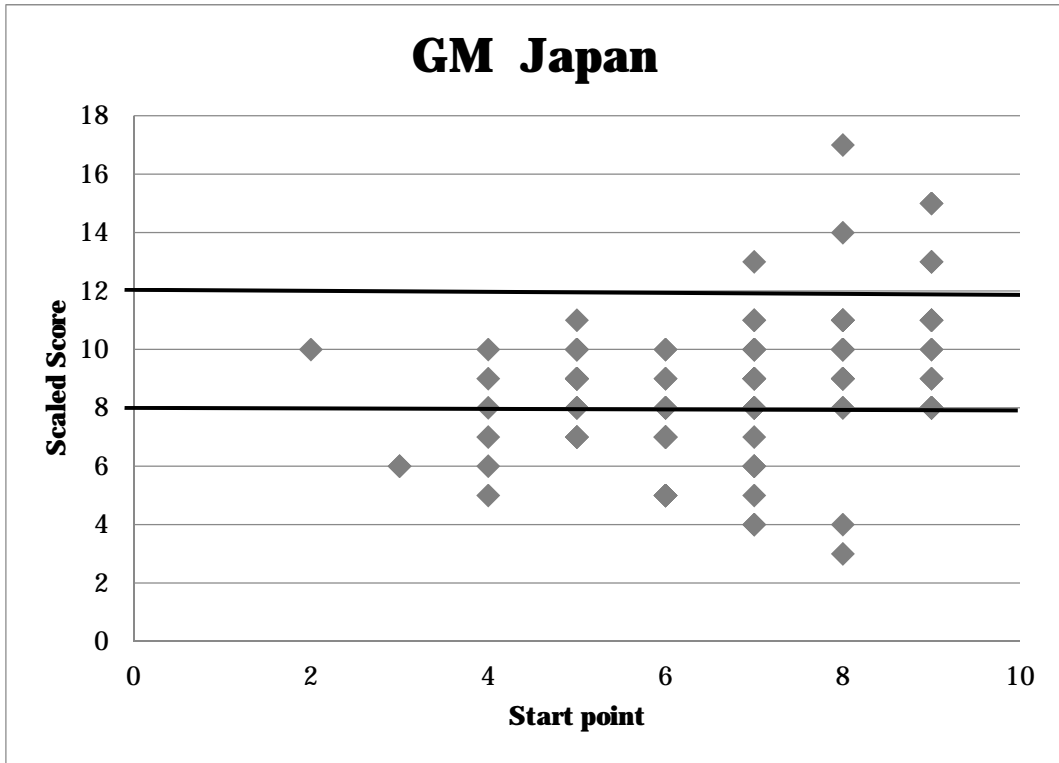


図 17 start point 別 GM の SS 値 日本 vs パキスタン
 (1 I,2 J,3 K,4 L,5 M,6 N,7 O,8 P)

日本と比較し、パキスタンの方が全体的に結果のばらつきを認め、個人差が大きい事が伺えた。認知力はパキスタンの方が遅い児の割合が多く、早い児の割合も多かった。特にガンバットでは認知力の発達の遅い児が多かった。

日本は細かい運動能力の発達が早く、50%近くの児が基準を超えていた。一方で粗大運動の発達の遅い児の割合は高く、23.8%も該当した。パキスタンでは、微細運動と粗大運動の発達の遅い児の割合はそれぞれ27%と30%と高かった。特に、ガンバットで運動能力の発達の遅れが目立つ結果であった。

言語の遅れは前述したように評価基準の問題もあるが、パキスタンでは言葉を表現する力の発達の遅れは実に50%の児に見られた。

表18～20に日本における陰膳中の鉛、無機ヒ素、総ヒ素量と発達調査結果の平均値の比較をそれぞれ示した。日本では微量の鉛やヒ素の摂取量の違いで、小児の発達に差は認めなかった。日本では無機ヒ素の摂取量で旧PTWI 15 $\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ [JECFA, 2011]を超えた児1人がいたが、その発達調査の結果では、表出的コミュニケーション力と粗大運動に遅れを認めた。

表 18 日本における陰膳中の鉛摂取量と発達調査の結果の平均値

Pb intake ($\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$)	該当人数(人)	SS(Cog)	SS(RC)	SS(EC)	SS(FM)	SS(GM)
<1	3	8.7	7.7	7.7	13.3	8.7
1<Pb intake<2	26	9.9	10.1	8.4	11.5	9.0
2<Pb intake<3	31	10.3	10.2	8.5	10.9	8.8
3<Pb intake<4	25	9.9	10.7	8.8	11.6	9.0
4<Pb intake<5	3	8.7	10.3	8.3	9.7	8.0
5<Pb intake<6	5	9.5	9.8	8.3	11.4	8.7
6<Pb intake<7	6	10.0	11.2	8.7	10.3	7.3
7<Pb intake<14	5	9.7	10.5	8.5	10.8	8.4
合計	104					

表 19 日本における陰膳中の無機ヒ素摂取量と発達調査の結果の平均値

iAs intake ($\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$)	該当人数(人)	SS(Cog)	SS(RC)	SS(EC)	SS(FM)	SS(GM)
<2	5	10.4	10.8	9.6	12.6	10.0
2<iAs intake<3	20	10.2	11.2	8.6	11.7	8.6
3<iAs intake<4	24	9.6	9.3	8.4	11.3	9.3
4<iAs intake<5	19	9.8	9.7	8.2	11.9	9.1
5<iAs intake<6	11	9.0	8.8	7.5	10.7	8.5
5<iAs intake<7	8	11.1	11.5	9.3	12.1	8.0
7<iAs intake<8	8	10.9	12.1	8.4	11.4	8.4
8<iAs intake<12	8	10.1	10.5	8.6	11.7	8.8
15<	1	10.0	10.0	7.0	9.0	7.0
合計	104					

表 20 日本における陰膳中の総ヒ素摂取量と発達調査の結果の平均値

As intake ($\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$)	該当人数(人)	SS(Cog)	SS(RC)	SS(EC)	SS(FM)	SS(GM)
<10	24	9.7	10.1	8.3	11.8	9.3
10<As intake <20	36	10.1	10.6	8.5	11.8	8.8
20<As intake<30	27	10.0	10.4	8.7	10.8	8.4
30<As intake<40	7	9.7	9.7	7.9	8.9	8.3
40<As intake<50	6	10.7	11.3	8.5	13.0	9.5
50<As intake<60	4	10.3	9.5	7.8	11.5	7.0
合計	104					

表 21～23 にパキスタンにおける陰膳中の鉛、無機ヒ素、総ヒ素量と発達調査結果の平均値の比較をそれぞれ示した。鉛の摂取量が $25 \mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ より多い児は、少ない児に比べて認知・言語・運動の三つの領域で発達が遅れていた。無機ヒ素の摂取量が $15 \mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$ より多い児は、少ない児に比べて、認知・言語と微細運動で発達が遅れていた。総ヒ素の摂取量が多くなればなるほど、認知と言語の二つの領域では発達の遅れが目立つようになった。

表 21 パキスタンにおける陰膳中の鉛量と発達調査の結果の平均値

Pb intake ($\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$)	該当人数(人)	SS(Cog)	SS(RC)	SS(EC)	SS(FM)	SS(GM)
Pb intake<25	44	10.5	8.5	7.8	9.9	9.1
25<Pb intake	20	9.5	7.9	7.2	9.3	8.3
total	64	10	8.4	7.5	9.7	8.7

表 22 パキスタンにおける陰膳中の無機ヒ素量と発達調査の結果の平均値

iAs intake ($\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$)	該当人数(人)	SS(Cog)	SS(RC)	SS(EC)	SS(FM)	SS(GM)
iAs intake<15	56	10.3	8.5	7.6	9.9	8.8
15<iAs intake	8	6.9	6.5	6.5	7.9	7.9
total	64	10	8.4	7.5	9.7	8.7

表 23 パキスタンにおける陰膳中の総ヒ素量と発達調査の結果の平均値

As intake ($\mu\text{g}/\text{kgBW}/\text{week}$)	該当人数(人)	SS(Cog)	SS(RC)	SS(EC)	SS(FM)	SS(GM)
<10	51	10.4	8.6	7.7	9.9	8.9
10<As intake <20	7	8.9	7.6	6.9	10.0	7.7
20<As intake<30	5	7.4	6.8	6.8	8	8.8
30<As intake<40	0					
40<As intake<50	1	2	2	1	2	1
50<As intake<60	0					
total	64	10	8.4	7.5	9.7	8.7

4.5. その他の健康影響について

健康影響評価については、現在、血中および尿中 8-OHdG 濃度、他の影響指標の検索は、別の研究予算を獲得して実施する予定である。また、エピゲノムへの影響については、現在解析を進めている。

4.6. 結果の総括

日本の鉛曝露は十分に低く、陰膳とハウスダストに由来する鉛摂取量も十分に低いことが明らかとなった。ヒ素曝露については、総ヒ素が魚介類、海藻の摂取量に由来するためパキスタンに比べ高いが、無機ヒ素は FAO/WHO JECFA の旧耐用摂取量に比べて十分に低かった。しかしながら、陰膳にヒジキが含まれると、それに由来する無機ヒ素摂取量が増加するため、ヒジキが日本における無機ヒ素の曝露源となりうることが示された。

パキスタンでは、カラチの高鉛曝露の家族において、陰膳由来の鉛摂取量が多く、旧耐用摂取量を超えている家族も多数確認され、食品が鉛の主要な曝露源であることが示された。ヒ素曝露に関しては、ガンバットの様な特定地域の地下水汚染が酷く、それが陰膳と飲料水を通して無機ヒ素の曝露源となっていることが示された。

5 . 謝辞

本調査は、自治医科大学産婦人科学、同小児科学、研究支援課、木村クリニック、樹レディースクリニック、和田マタニティクリニック、やまなかレディースクリニック、池羽レディースクリニック、こいけレディースクリニック、旭川医科大学産婦人科学、アガカーン大学医学部、独立行政法人国立環境研究所、一般財団法人日本食品分析センターの教員、スタッフの皆様のご協力の下に実施することが出来ました。

また、本調査にご参加いただいた日本ならびにパキスタンの調査参加者の方々のご協力にも感謝いたします。

最後に、本調査に関わった全ての皆様に深く感謝いたします。

8 . 研究発表

8 . 1 . 論文発表

Kayama F, Fatmi Z, Ikegami A, Mizuno A, Ohtsu M, Mise N, Cui X, Ogawa M, Sakamoto T, Nakagi Y, Yoshida T, Sahito A, Naeem S, Ghias K, Zuberi H, Tariq K, Kobayashi Y, Nohara K. Exposure assessment of lead from food and airborne dusts and biomonitoring in pregnant mothers, their fetus and siblings in Karachi, Pakistan and Shimotsuke, Japan. *Rev Environ Health*. 2016 Mar 1;31(1):33-5. doi: 10.1515/reveh-2015-0046.

8 . 2 . 学会発表

大津真弓、中木良彦、三瀬名丹、池上昭彦、崔笑怡、水野敦子、小林弥生、Zafar Fatmi 「日本とパキスタンにおける BayleyIII を用いた小児発達調査結果から見られる環境要因が発達に与える影響-ピーバズ調査より-」 第 89 回日本産業衛生学会 (2016)

香山不二雄、池上昭彦、高木麻衣、水野敦子、三瀬名丹、崔笑怡、小川真規、吉田貴彦、小林弥生、Zafar Fatmi 「カラチ市の妊婦、臍帯血および小児の血液中鉛同位体解析による曝露源解析」 第 86 回日本衛生学会学術総会 (2016)

水野敦子、大津真弓、崔笑怡、三瀬名丹、中木良彦、吉田貴彦、小林弥生、野原恵子、Zafar Fatmi、香山不二雄 「日本とパキスタンの母親・小児における鉛およびヒ素摂取量の陰膳方式による調査」 第 86 回日本衛生学会学術総会 (2016)

池上昭彦、高木麻衣、Zafar Fatmi、小林弥生、大津真弓、崔笑怡、三瀬名丹、水野敦子、香山不二雄 「パキスタンにおける妊婦爪の鉛汚染に

対するスルマの重要性」 第 86 回日本衛生学会学術総会（2016）

香山不二雄 「日本およびパキスタンにおけるヒ素および鉛の曝露評価と生体負荷量」 第 15 回分子予防環境医学研究会大会（2016）

大津真弓、三瀬名丹、池上昭彦、崔笑怡、水野敦子、香山不二雄 「栃木と旭川での Bayley による小児発達調査結果報告-ピーばす調査より-」環境ホルモン学会第 18 回研究発表会（2015）

大津真弓、三瀬名丹、池上昭彦、崔笑怡、水野敦子、香山不二雄 「日本とパキスタンにおける妊婦・胎児・小児を対象とした鉛及びヒ素曝露の実態調査（ピーばす調査）」 第 25 回日本産業衛生学会 産業医・産業看護全国協議会（2015）

> 【添付文書 1 3】抄録集

9 . 研究成果による特許権等の知的財産権の出願・登録状況

無し

1 0 . 健康危険情報

無し

遺伝子解析研究計画書

課 題 名	鉛及びヒ素などの食品汚染物質の実態調査とその健康影響に関する研究 Health risk assessment of dietary intake of lead and arsenic			
研究責任者 (申請者)	所 属	環境予防医学講座	職 名	教授
	氏 名	香山 不二雄		

1 試料・情報提供者の選定方針

- ・ 低濃度の鉛及びヒ素曝露でも健康影響が危惧される胎児、小児を調査対象とする。母親（妊婦）血液中当該物質を測定することで、胎内曝露量を検討し、臍帯血で出生時の児の曝露量を評価する。また、小児血液中当該物質濃度で曝露量を評価する。
- ・ 3歳児の血中鉛濃度が神奈川県に比べ旭川市で高いことを旭川医科大学吉田貴彦らは報告しており、日本国内は高濃度暴露群として旭川市近郊と対照群として研究責任者の所属がある下野市近郊を調査地域とした。
- ・ インドス川流域（パキスタン）では地下水中ヒ素濃度が高く、飲料水及び食品からのヒ素曝露が高いことが想定される。
- ・ パキスタンの女性は新生児期から硫化鉛を含むスルマ（化粧品）をアイシャドーの様に使用しており、スルマの使用による意図しない新生児の経口摂取の可能性がある。また、パキスタン・カラチ市内では、依然、一部の自動車で有鉛ガソリンが使用されているので、鉛曝露の高い環境である。
- ・ 下野市近郊の被験者は、胎児の他に 18～48 月齢の小児がいる妊婦であり、かつ自治医科大学附属病院産科（下野市）、木村クリニック（下野市）、樹レディースクリニック（小山市）、和田マタニティクリニック（下野市）、やまなかレディースクリニック（小山市）、池羽レディースクリニック（結城市）、こいけレディースクリニック（宇都宮市）のいずれかを受診し出産する予定である妊婦とする。ただし、本人に同意がとれる 20 歳以上の妊娠女性に限る。
- ・ 旭川市近郊では、旭川医科大学の共同研究者が、エコチル調査のリクルートが終わる平成 26 年 3 月までは小児科医院で、それ以降は小児科、産科医院、附属病院産科にて、同様の条件でリクルートを行う。
- ・ パキスタンでは、アガカーン大学医学部地域医療学の共同研究者により、カラチ市内およびシンド州 Khairpur 近郊の産科施設で、同様の条件の妊婦をリクルートする。

2 研究の意義、目的、方法、期間、予測される結果・危険・不利益、個人情報の保護の方法

(1) 意義

国際比較では、我が国の平均的な鉛及びヒ素の曝露量は低い。しかし、上水道に敷設された鉛管が残存することや、土壌中鉛濃度の高い地域の問題がある。また、日本はヒジキなどのホンダワラ科海藻中の高い無機ヒ素を摂取している状況や、井戸水及び米中の無機ヒ素の高い報告例がある。鉛及びヒ素は胎盤を通過するため、鉛の消化管吸収率が小児期に特に高いため、胎児及び小児が当該物質曝露による健康影響のハイリスク集団である。

10 µg/dL 以下の血中鉛濃度と小児のIQ低下との相関は、これまでの調査では明らかにされていない。しかし、出生前後の低濃度鉛曝露により将来、小児のIQが低下することが危惧され、FAO/WHO 合同食品添加物専門会議(JECFA)、European Food Safety Authority (EFSA) などで耐容摂取量の再評価が予定されている。我が国の内閣府食品安全委員会でも、鉛及びヒ素の耐容摂取量に関する審議が予定されており、再評価と新たな耐容摂取量の設定のために、評価に資する疫学調査が必要である。

胎児期及び幼児期における低濃度の鉛及び無機ヒ素曝露の影響評価の可能なバイオマーカーの検索が喫緊の課題である。さらに、食生活や当該物質の曝露経路及びヒ素の化学型分布が欧米とは大きく異なるため、我が国の曝露実態調査とその影響評価とが必要である。

当研究計画では、当該物質の曝露の高いパキスタンの生体試料を用いて、各組織における遺伝子やマイクロRNA(miRNA)の発現制御に関わるDNAメチル化などのエピジェネティック変異パターンの解析および発現解析を行い、鉛及びヒ素曝露がエピゲノムと遺伝子発現に与える影響について調べる。また、日本における低濃度曝露群でも同様のエピジェネティック変異が起こるか否かを確認することにより、鉛及びヒ素の耐容摂取量を低減させるべきかどうか、判断する知見となり得る。

(2) 目的

1. 母親(妊婦)、胎児及び小児の鉛及びヒ素曝露を把握する目的で、飲料水・陰膳を収集し、鉛及びヒ素濃度を測定し、経口曝露量を評価する。また、室内のハウスダスト中鉛濃度を測定し、経気道曝露量も算定する。
2. また、毛髪、爪、臍帯血、末梢血中、尿中の鉛及びヒ素濃度を測定することにより、当該物質への生体負荷量を求める。
3. 調査地域は、国内では、鉛及びヒ素曝露が高い可能性のある旭川市近郊、及び低いと想定される下野市近郊とする。パキスタンでは、鉛曝露の高いカラチ市、及びヒ素曝露が高いインダス川流域 Khairpur 近郊とする。
4. 鉛及びヒ素の異なる曝露レベルの集団の臍帯血、胎盤、及び小児末梢血の遺伝子発現及びエピジェネティック変異について解析し、当該物質曝露との相関を検討する。
5. ハウスダスト中のアレルゲン調査、母親の口腔衛生調査をあわせて実施する。

(3) 方法

【リクルート方式】栃木県下野市近郊に住む自治医科大学附属病院産科、木村クリニック、樹レディースクリニック、和田マタニティクリニック、やまなかレディースクリニック、池羽レディースクリニック、こいけレディースクリニックのいずれかを受診し、同施設で出産予定の妊婦であり、すでに18-48 月齢の小児をもつ母親を調査対象者とし、母親(妊婦)、出生児、小児(兄弟)の1名を被験者とする。共同で調査する旭川医科大学では、旭川市近郊の産科医院および小児科で、同様の条件の妊婦をリクルートする。パキスタンでは、アガカーン大学の共同研究者が、カラチ市内およびシンド州 Khairpur の産科施設でリクルートする。3年間の調査期間中に旭川市近郊、下野市近郊、カラチ市、Khairpur 近郊でそ

それぞれ50組の家族の被験者、200組600名を被験者とする。因みに、環境省エコチル調査の対象者は除外する。

【生活習慣調査】母親の既往歴、喫煙やアルコール摂取、食習慣、家庭環境や妊娠経過などに関する生活習慣および小児の生活習慣に関して、質問票および調査票を用いて調査する。

【曝露評価】鉛及びヒ素の曝露量評価は、研究者が妊婦の家庭訪問をして、飲料水、3日間の陰膳、掃除機によるハウスダストの収集などの実施方法を説明する。井戸水または上水道中の鉛及びヒ素濃度、ハウスダスト中の鉛、母親および小児の3日間陰膳食品中の鉛およびヒ素濃度を調べ、当該物質への経口曝露量を求め、国際基準との比較を行う。また、掃除機により収集されたハウスダスト中の鉛濃度を測定し、経口曝露の一部や経気道暴露として評価する。また、気中鉛濃度の高いパキスタンでは、地上50cmで、ローボリューム・エアサンプラーを用いて24時間室内大気中吸入性粉じんを収集して、小児の吸入曝露量として評価する。

【生体負荷量評価】とちぎ子ども医療センターにて、医師による母親、小児（兄弟）から5mlの採血及び20mlの採尿を実施する。母親および児の毛髪100本を頭皮に近いところで切断し採取し、母親および児の爪少量を採取する。また、出産時に臍帯血を採取する。妊婦と児との毛髪、爪、血液、尿、臍帯血中鉛及びヒ素濃度を測定して、生体負荷量を調べる。

遺伝子のエピジェネティック変異に影響を与える生体内葉酸レベルを、母親および児の血中葉酸濃度、臍帯血中葉酸濃度を測ることにより評価する。

【健康影響】鉛及びヒ素への曝露が発達中の胎児・小児に与える影響のバイオマーカーとして、これまでに発現変化の報告例がある遺伝子やマイクロRNA(miRNA)に加え、新生児期の神経発達、呼吸器発達に関わる遺伝子や発がんに関わる遺伝子などについて、その発現を制御するDNAメチル化などのエピジェネティック変異の解析を実施し、日本国内の低曝露群とパキスタンの高曝露群の比較を行う。特に臍帯血からは、CD34陽性細胞を磁気ビーズにより分離し、メチル化解析を行う。また、CD34陽性細胞の回収効率を確認するために、人CD34細胞を理化学研究所バイオリソースセンターより購入して確認作業を行う。さらに詳細なエピジェネティック変異の解析が必要な場合は、匿名化された代表的な試料を用いて、マイクロアレイや大規模シーケンスなどを利用したゲノムワイドなエピゲノム解析を外部分析機関にて行う。また、発がん関連遺伝子群の変異とヒ素及び鉛曝露との関連性を検討するために、臍帯血DNA、胎盤DNAおよび母体末梢血DNAを用いて、母子間での遺伝子多型やエピジェネティック変異を解析する。ヒ素、鉛への曝露によって発現制御領域に遺伝子多型やエピジェネティック変異が生じている遺伝子やmiRNAが発見された場合、代表的なサンプルを用いてRT-PCR、real time PCR、マイクロアレイなどによる遺伝子発現解析を行い、遺伝子多型の出現やエピジェネティック変異が遺伝子発現に与える影響について検討する。

小児の血清中特異的IgE（食物アレルゲン；卵白、牛乳、小麦、米など。室内アレルゲン；ハウスダスト、コナヒョウヒダニ、ヤケヒョウヒダニなど。屋外アレルゲン；スギ花粉（シラカバ花粉）、ブタクサなど）について調べて、鉛およびヒ素曝露等の環境要因と関連性を検討する。

小児（兄弟）の精神身体発達の評価指標として、国内およびパキスタンでは、Bayley-III

【添付文書 1】計画書

発達検査を実施して、曝露レベルとの関連性を検討する。

母親の唾液を採取し、口腔内細菌を解析し、口腔衛生と鉛およびヒ素曝露等の環境要因と関連性を検討する。

【被験者への謝礼】調査協力への謝礼を渡す。母と小児の陰膳収集および小児の発達調査協力への謝礼として、2万円を支払う。調査結果の報告することを、研究に協力して頂くためのインセンティブとする。すなわち、陰膳中、生体試料中、ハウスダスト中の鉛及びヒ素濃度、臍帯血中葉酸濃度、小児の血清中特異的IgE抗体価を調べ、簡単な解説を付けて郵送で報告する。また、新版K式発達検査を受けた場合は、検査結果を報告し、発達に問題があった場合は、自治医大とちぎ子ども医療センター外来に紹介する。

(4) 期間

許可を得てから平成29年3月31日まで(リクルートは目標人数に達すれば終了)
遺伝子解析、統計解析、論文作成は平成31年3月31日まで

(5) 予測される結果・危険・不利益

国内での鉛及び無機ヒ素の低い曝露レベルでも、健康影響の可能性はあるか確認するが、影響のない可能性も高い。しかし、鉛及びヒ素のハイリスク集団である小児及び胎児リスク評価を行うことが出来る。また、パキスタン・カラチ市の鉛高曝露群とインダス川流域のヒ素高曝露群と、日本国内の下野市近郊の微量曝露群と旭川市近郊の低曝露群とを比較することで、当該物質の高濃度から微量曝露の生体影響を検証することができ、厚生行政におけるリスク管理に資することが出来る。

小児の5mlの採血は、本人に採血することを説明した上で、局麻剤を含むクリーム(エムラクリーム)を塗って、小児の採血になれた小児科医または看護師により、痛みやストレスが出来るだけ少なくなるように行う。髪、爪、尿の採取量は少量である。臍帯血および胎盤の採取は、出産後の胎児が分離された後に行うので、新生児に危険はない。母親の採血は医師または看護師が行い、臍帯血採取、小児の採血は、国内ではそれぞれ産科医、小児科医、小児科看護師が実施し、パキスタンでは助産師及びプライマリケア医が採取し、採取量も少量である。

(6) 個人情報の保護の方法

試料等は、本学の個人情報管理者に依頼して連結可能匿名化したうえで、研究に使用する。データは、研究責任者が環境予防医学においてそれぞれパスワードを設定したファイルに記録し、CDに保存して、鍵の掛かるキャビネットに保管する。同意書も同様に鍵の掛かるキャビネットに保管する。匿名化されたDNA等の試料は、フリーザーに施錠して保管する。

3 試料・情報の種類、量、予定人数

【添付文書 1】計画書

地域	種類	量	予定人数	測定項目
下野市	母親末梢血	5 ml	80 名	DNA, RNA 解析, 葉酸, ビ素, 鉛
	臍帯血	20 ml	80 名	DNA, RNA 解析, 葉酸, ビ素, 鉛
	兄弟末梢血	5 ml	80 名	DNA, RNA 解析, 葉酸, ビ素, 鉛, アルキル-検査
	胎盤	20 g	80 検体	DNA, RNA 解析
	母親頭髮	100 本	80 検体	ビ素、鉛
	母親爪	少量	80 検体	ビ素、鉛
	母親尿	20 ml	80 検体	ビ素、鉛
	母親唾液	3 ml	80 検体	細菌解析
	兄弟頭髮	100 本	80 検体	ビ素、鉛
	兄弟爪	少量	80 検体	ビ素、鉛
	兄弟尿	20 ml	80 検体	ビ素、鉛
	飲料水	20 ml	80 検体	ビ素、鉛
	陰膳（各自）	3 日間	160 検体	ビ素、鉛
	ハウスダスト	7 日間	80 検体	鉛
旭川市	母親末梢血	5 ml	20 名	DNA, RNA 解析, 葉酸, ビ素, 鉛
	臍帯血	20 ml	20 名	DNA, RNA 解析, 葉酸, ビ素, 鉛
	兄弟末梢血	5 ml	20 名	DNA, RNA 解析, 葉酸, ビ素, 鉛, アルキル-検査
	胎盤	20 g	20 検体	DNA, RNA 解析
	母親頭髮	100 本	20 検体	ビ素、鉛
	母親爪	少量	20 検体	ビ素、鉛
	母親尿	20 ml	20 検体	ビ素、鉛
	母親唾液	3 ml	20 検体	細菌解析
	兄弟頭髮	100 本	20 検体	ビ素、鉛
	兄弟爪	少量	20 検体	ビ素、鉛
	兄弟尿	20 ml	20 検体	ビ素、鉛
	飲料水	20 ml	20 検体	ビ素、鉛
	陰膳（各自）	3 日間	40 検体	ビ素、鉛
	ハウスダスト	7 日間	20 検体	鉛
パキスタン カラチ市	母親末梢血	5 ml	50 名	DNA, RNA 解析, 葉酸, ビ素, 鉛
	臍帯血	20 ml	50 名	DNA, RNA 解析, 葉酸, ビ素, 鉛
	兄弟末梢血	5 ml	50 名	DNA, RNA 解析, 葉酸, ビ素, 鉛, アルキル-検査
	胎盤	20 g	50 検体	DNA, RNA 解析
	母親頭髮	100 本	50 検体	ビ素、鉛
	母親爪	少量	50 検体	ビ素、鉛
	母親尿	20 ml	50 検体	ビ素、鉛

【添付文書 1】計画書

	母親唾液	3 ml	50 検体	細菌解析
	兄弟頭髮	100 本	50 検体	ヒ素、鉛
	兄弟爪	少量	50 検体	ヒ素、鉛
	兄弟尿	20 ml	50 検体	ヒ素、鉛
	飲料水	20 ml	50 検体	ヒ素、鉛
	陰膳（各自）	3 日間	100 検体	ヒ素、鉛
	ハウスダスト	7 日間	50 検体	鉛
パキスタン Khairpur 近郊	母親末梢血	5 ml	50 名	DNA, RNA 解析, 葉酸, ヒ素, 鉛
	臍帯血	20 ml	50 名	DNA, RNA 解析, 葉酸, ヒ素, 鉛
	兄弟末梢血	5 ml	50 名	DNA, RNA 解析, 葉酸, ヒ素, 鉛, アルカリ - 検査
	胎盤	20 g	50 検体	DNA, RNA 解析
	母親頭髮	100 本	50 検体	ヒ素、鉛
	母親爪	少量	50 検体	ヒ素、鉛
	母親尿	20 ml	50 検体	ヒ素、鉛
	母親唾液	3 ml	50 検体	細菌解析
	兄弟頭髮	100 本	50 検体	ヒ素、鉛
	兄弟爪	少量	50 検体	ヒ素、鉛
	兄弟尿	20 ml	50 検体	ヒ素、鉛
	飲料水	20 ml	50 検体	ヒ素、鉛
	陰膳（各自）	3 日間	100 検体	ヒ素、鉛
ハウスダスト	7 日間	50 検体	鉛	

4 共同研究機関の名称、共同研究者の職名、氏名、役割

旭川医科大学 健康科学講座 教授 吉田貴彦 疫学調査
国立環境研究所 環境健康研究センター 分子毒性機構研究室 室長 野原恵子 遺伝子解析
パキスタン アガ・カーン大学医学部地域保健学部 准教授 Zafar Fatmi 疫学調査

5 研究者等の所属、職名、氏名、講習会受講年月日

(1) インフォームド・コンセントのための説明を行う研究者

所属	職名	氏名	講習会受講年月日	
産婦人科学	教授	松原 茂樹	平成 25 年 3 月 25 日	研究者
産婦人科学	講師	馬場 陽介	平成 25 年 3 月 25 日	研究者
環境予防医学	教授	香山不二雄	平成 25 年 11 月 13 日	研究者
環境予防医学	大学院生	大津 真弓	平成 25 年 03 月 15 日	研究者
保健センター	講師	小川 真規	平成 25 年 01 月 21 日	研究者

【添付文書 1】計画書

			日	
樹レディースクリニック	院長	佐山 雅昭		研究者
木村クリニック	院長	木村 孔三		研究者
和田マタニティクリニック	院長	和田 智明		研究者
やまなかレディースクリニック	院長	山中 誠二		研究者
池羽レディースクリニック	副院長	池羽 一紀		研究者
池羽レディースクリニック	医長	高澤 環志		研究者
こいけレディースクリニック	院長	小池 俊光		研究者

(2) インフォームド・コンセントの説明を行わない研究者

所属	職名	氏名	講習会受講年月日	
小児科学	教授	山形 崇倫	平成 25 年 3 月 13 日	研究者
小児科学	講師	門田 行史	平成 25 年 3 月 13 日	研究者
環境予防医学	学内講師	三瀬 名丹	平成 25 年 11 月 13 日	研究者
分子薬理学	助教	水野 敦子	平成 25 年 11 月 13 日	研究者
環境予防医学	助教	池上 昭彦	平成 25 年 11 月 13 日	研究者
環境予防医学	リサーチ・コーディネーター	東本 明子	平成 25 年 11 月 13 日	調査担当者
環境予防医学	リサーチ・コーディネーター	米田 昌美	平成 25 年 11 月 13 日	調査担当者
環境予防医学	リサーチ・コーディネーター	舘野由美子	平成 27 年 5 月 予定	調査担当者
環境予防医学	リサーチ・コーディネーター	細井 陽子	平成 27 年 5 月 予定	調査担当者

6 インフォームド・コンセントのための手続及び方法

研究者から試料・情報提供者に対して説明文書を用いて説明し、同意を得られた場合は、同意書に署名又は記名・捺印をいただき受領する。

7 インフォームド・コンセントを受けるための説明文書及び同意文書

別紙のとおり

8 代諾者等を必要とする提供者の予定

鉛及びヒ素曝露のハイリスク集団である胎児及び小児の調査研究が必要である。母親(妊婦)に、胎児血として臍帯血の採取及びその兄姉の血液、尿、毛髪、爪の生体試料・情報の提供を受けなければ、当該物質の曝露評価及び影響評価の研究が成り立たないことを説明し、同意を得る。また、小児の提供者には、母親を代諾者として、母親から同意を得る。

9 遺伝情報の開示に関する考え方

遺伝情報の解析結果は、個人が特定されないように学術論文に開示する。個人の遺伝子解析結果は開示しない。しかし、鉛及びヒ素の異なる曝露レベル集団として、あるいは地域ごとの集団として、ヒ素および鉛の胎児期曝露と遺伝子のエピゲノム変異との関係を解析

【添付文書 1】計画書

した結果を、提供者に分かり易く解説したニュースレターを郵送して報告する。
また、遺伝子解析結果以外の個人の調査結果の報告することを、研究に協力して頂くためのインセンティブとする。すなわち、報告を希望する被験者に、それぞれの陰膳中、生体試料中、ハウスダスト中の鉛及びヒ素濃度、臍帯血中葉酸濃度、小児の血清中特異的 IgE 抗体価を調べ、簡単な解説を付けて郵送で報告する。また、Bayley-III 発達検査を受けた場合は、検査結果を報告し、発達に問題があった場合は、自治医大とちぎ子ども医療センター外来に紹介する。

10 既存試料・情報の使用

なし

11 外部の機関から試料・情報の提供を受ける場合

旭川医科大学 申請中書類を添付。
アガカーン大学 申請中書類を添付。
国立環境研究所 申請中書類を添付。
本学が上記共同研究期間から試料および情報を受ける場合は、各施設において試料提供者に同意を得て、匿名化を行った上で、本学に送付する。

12 試料・情報を外部の機関に提供する場合又は研究の一部を委託する場合の必要性、外部機関の名称等及び匿名化の方法

(1) 必要性

環境予防医学講座および共同研究機関の国立環境研究所(野原恵子博士)で、広い範囲の遺伝子のエピジェネティック変異の解析を、主にパイロシークエンサーを用いて行う。しかし、さらに詳細なエピジェネティック変異の解析が必要な場合は、両機関の現有の研究機器では無理であるので、匿名化された代表的な試料を用いて、マイクロアレイや大規模シーケンスなどを利用したゲノムワイドなエピゲノム解析を外部分析機関にて行う。それにより、より包括的にかつより迅速な解析を実施することが出来る。

(2) 外部機関

外注先の遺伝子解析業者は株式会社 医学生物学研究所 MBL
http://ruo.mbl.co.jp/jutaku/methylated_dna.html を予定している。
国立環境研究所 環境健康研究センター 分子毒性機構研究室 室長 野原恵子

(3) 本学で行う匿名化の方法

自治医科大学では、遺伝子情報を含むデータ・生体試料は、本学の個人情報管理者が連結可能匿名化した上で研究に使用する。共同研究調査実施機関のそれぞれにおいては、連結可能匿名化されたデータのみを用いて研究を行う。対象者の利益のために、対象者の同意や照会が必要となった場合は、委員会の承認を受けた後に、本学の個人情報管理者により連結を行う。

【添付文書 1】計画書

13 試料・情報の保存

(1) 研究遂行中の試料・情報の保管

保管責任者の所属・職名・氏名	環境予防医学講座 教授 香山不二雄
保管場所	試料：環境予防医学講座フリーザー室 情報：環境予防医学サーバー室
保管方法	試料：ディープフリーザー内(-80)に施錠して保管 情報：常に部屋のドアおよびロッカーの施錠管理

(2) 研究期間の終了後の試料・情報の保存

<ul style="list-style-type: none">・提供者から同意が得られた場合は試料・情報を研究期間終了後も、将来の解析のために、自治医科大学環境予防医学講座フリーザー室の施錠されたディープフリーザー内にて、保存する。・DNA または cDNA は匿名化したまま、残存する血液及び胎盤試料は匿名化せずに保存する。・保存の期間は 10 年とする。
--

14 遺伝情報の安全管理の方法

環境予防医学教室の常時施錠されている疫学資料保存室を兼ねるサーバー室内のサーバーに、遺伝情報は保存し、解析の折には、本学の個人情報管理者が連結可能匿名化したファイルのみを各自のコンピュータに複写して使用する。学内ネットワークシステムへの接続は、ソフトウェア・アップグレードなどの時に限り、極力ネットワークに繋がずに運用する。遺伝情報の安全管理は、遺伝情報の安全管理措置を定める手順の策定、事故等への対処法、研究者への遺伝情報の取り扱いに関する教育・指導方法、入退室管理の実施、盗難等の防止策等は大学の規程に則って行う。

15 研究終了後に他の研究を行う機関への試料・情報の提供

共同研究者に比較解析および論文作成のために、匿名化した後に、情報を提供する。現時点では、試料の提供は含まれない。

16 試料・情報の廃棄方法及びその際の匿名化の方法

DNA 試料等を廃棄する場合には、プラスチック容器に密封して焼却処分する。質問票、調査票、遺伝子情報の記された紙媒体および電子媒体の資料は、シュレッダーなどにより物理的に破壊して廃棄する。

17 遺伝カウンセリングの必要性及びその体制

なし

18 研究資金の調達方法、起こり得る利害の衝突及び研究者等の関連組織との関わり

(1) 研究資金の調達方法

- ・平成 25～28 年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
- ・平成 27～29 年度科研費（基盤研究 C）
- ・環境予防医学講座研究費

(2) 起こり得る利害の衝突

- ・なし

(3) 研究者等の関連組織との関わり

- ・なし

遺伝子解析研究(研究題目 鉛及びヒ素などの食品汚染物質の実態調査とその健康影響に関する研究; Health risk assessment of dietary intake of lead and arsenic) への協力のお願いと説明文書

これから、あなた及びあなたのお子様はこの遺伝子解析研究への協力をお願いするため、研究の内容や研究協力に同意していただくための手続などについて説明します。

この説明を十分に理解し、研究に協力しても良いと考えられた場合には、「遺伝子解析研究への協力についての同意書」に署名又は記名・押印し、同意したということをはっきり示して下さるようお願いいたします。

1 遺伝子と病気

「遺伝」とは、「親の体質が子に伝わること」です。「体質」には、顔かたち、体つきのほか、病気にかかりやすいことなどが含まれます。人の体の状態は、遺伝とともに、生まれ育った環境によって決まりますが、遺伝は基本的な部分で人の体や性格の形成に重要な役割を果たしています。「遺伝」に「子」という字が付き「遺伝子」となると、「遺伝を決定する小単位」という科学的な言葉になります。遺伝子の本体は「DNA」という物質です。



「DNA」はA(アデニン)、T(チミン)、G(グアニン)、C(シトシン)という四つの構成成分(塩基)の連続した鎖です。この構成成分(塩基)がいくつもつながって遺伝子になります。

1つの細胞の中には数万種類の遺伝子が散らばって存在しています。全ての遺伝情報を総称して「ゲノム」といいます。人体は約60兆個の細胞から成り立っていて、細胞の一つ一つに全ての遺伝子が含まれています。

遺伝子には二つの重要な働きがあります。一つは、精密な「体の設計図」です。受精した一つの細胞は分裂を繰り返して増え、一個一個の細胞が「これは目の細胞」、「これは腸の細胞」と決まりながら、最終的には約60兆個まで増えて人体を形作ります。二つ目は、「種の保存」です。先祖から現在まで「人間」という種が保存されてきたのも、遺伝子の働きによります。

ほとんど全ての病気は、その人の生れながらの体質(遺伝素因)と病原体、生活習慣などの影響(環境因子)の両者が合わさって起こります。遺伝素因と環境因子のいずれか一方が病気の発症に強く影響しているものもあれば、がんや糖尿病などのように両者が複雑に絡み合っているものもあります。遺伝素因は遺伝子の違いに基づくものですが、遺伝子の違いがあればいつも病気になるわけではなく、環境因子との組合せも重要です。

胎児から小児の時期は体の細胞が急速に増え、それぞれの臓器を造るために、それぞれの特徴をもった細胞に変わって行きます。その時期が最も環境因子による感受性の高い時期で、体の中に有害な鉛やヒ素があると、遺伝子の働きを調節している遺伝子の変化を邪魔してしまい、その変化は大人になるまで続く可能性が、近年の研究成果から分かってきました。

2 研究に協力するかどうかを考えるために

お子様の発育・発達と環境の要因との関係を調べるために、環境省では「子ども健康と環境に関する全国調査(エコチル調査)」を開始しました。全国15カ所で10万人のお子様を13歳になるまで追跡する調査です。自治医科大学でもこの調査に協力しています。しかし、エコチル調査では遺伝子への影響を調査する予定はまだありません。この調査は、

【添付文書 2】説明文書

今回の短期間のご協力を頂くだけで終わりますが、エコチル調査では行われていない遺伝子への影響を調査します。

この研究で比較検討するパキスタンの食品やハウスダストに含まれるヒ素や鉛が高いことが知られており、健康への影響が危惧されています。一方、我が国の食品やハウスダストの中に含まれる鉛及びヒ素は微量であります。しかし、分析機器および技術の進歩でほとんどの食品に自然界からや過去の使用に由来する微量のヒ素や鉛が存在していますが、健康影響を与えるレベルではありません。しかし、子宮の中の胎児や小児は感受性が高い時期なので、微量のヒ素や鉛が発育発達に悪影響があるのかどうかまだよく分かっていません。そのためこの調査を行います。つまり、鉛やヒ素の影響する可能性のある脳や神経の発達、呼吸器や泌尿器系臓器の発育や発がんに関係があるかもしれない遺伝子について、その構造や機能を解析し、実際に関係があるかどうかを調べることを目的としています。

妊娠中期～後期に、生活習慣調査票にご記入頂き、あなたとお子様の1人ごとが食べる3日間の食事それぞれ一食分、飲料水とおやつと、ご自宅のハウスダストを提出して頂き、それらの鉛及びヒ素濃度を測定するために使用させて頂きたいのです。妊娠後期にあなた自身の血液及び尿、爪と、産まれて来るお子様の兄弟のうち1名の血液と尿、爪を提供して頂き、その中の鉛及びヒ素濃度を測定するためにも使わせて頂きたいのです。出産時に新生児の臍帯血と胎盤とを頂き、あなたおよびお子様の血液と共に、遺伝子の変化を調べる研究に使用させていただきたいのです。あなたの唾液を頂き、口腔衛生を調べる研究に使用させていただきたいのです。

次に、あなた及びあなたのお子様、この研究に協力するかどうかを決めるために理解していただきたい事項について、順次説明します。



(1) 研究協力の任意性と撤回の自由

研究協力を同意するかどうかは任意です。あなたの自由意思で決めてください。協力を同意されてもされなくても、当院では同じように最善の医療を提供いたします。

いったん同意された場合でも、不利益を受けることなく、いつでも文書により同意を撤回することができます。その場合は提供いただいた血液、臍帯血、胎盤、尿、爪、唾液や遺伝子解析の結果は廃棄され、調査記録もそれ以降は本研究のために用いられることはありません。ただし、同意を撤回したとき既に試料・情報が誰のものか完全に分からないようにする連結が不可能な匿名化されていた場合など、血液、臍帯血、胎盤のDNAやRNA及びその他の試料や遺伝子解析の結果を廃棄できないことがあります。

【添付文書 2】説明文書

(2) あなたが選ばれた理由

この研究では、発育発達している子宮内の胎児や小さいお子様を研究対象にしています。調査協力医療機関の自治医科大学附属病院産科、木村クリニック、樹レディースクリニック、和田マタニティクリニック、やまなかレディースクリニック、池羽レディースクリニック、こいけレディースクリニックのいずれかに受診され、あなたの産まれてくるお子様に 18～48 月齢のお兄ちゃんまたはお姉ちゃんがいるので、研究への協力をお願いすることにしました。

(3) 研究責任者の氏名、職名及び所属名

氏名：香山不二雄、職名：教授、所属：自治医科大学医学部環境予防医学講座

(4) 研究の意義、目的、方法、期間

【研究の意義】我が国の鉛及び無機ヒ素の摂取量は世界各国と比較すると極めて低いほうです。しかし、感受性の高い胎児期や小児期に低レベルの鉛及びヒ素を取り込むことは、子どもの発育・発達に悪い影響があるかもしれません。そのため、国際保健機関(WHO)などでは、鉛及びヒ素の摂取量の上限(耐容摂取量)を下げる必要性について検討しています。その基準を改正するために必要な科学的調査結果を必要としているので、この調査研究を計画し実施します。

【目的】あなたと小児のお子様の 1 名の鉛及びヒ素の食事からの摂取量をしらべます。

あなたとあなたのお子様の鉛やヒ素が溜まっている爪、及び静脈血、並びに産まれてくるお子様の臍帯血の中の鉛やヒ素濃度を測定します。3 名の血液と胎盤の遺伝子の変化が鉛やヒ素により変化があるかどうか調べます。鉛やヒ素の摂取量の多いパキスタンの試料の遺伝子の変化と比較します。小児のお子様の食品アレルゲン、室内アレルゲン、室外アレルゲンに対する抗体検査を行います。小児のお子様の発達検査を行います。あなたの口腔衛生調査を行います。



【方法】栃木県下野市近郊の母親(妊婦)と出生児及びその兄姉(18-48 月齢)の 1 名を調査対象者としてします。妊娠中期～後期に 3 日間(連続しない日でも可)食べたものの提出をお願いします。具体的には、あなたおよび調査対象となるお子さん 1 名が摂取された、上水道や井戸水を含む 3 日間の食事と、おやつと飲料品と同じものをもう一人分揃えていただき、ぴーばす調査事務局まで宅急便(ヤマト運輸)で送って下さい。食品の混合物中の鉛及びヒ素濃度を調べます。新生児や小児はより多くのハウスダス

【添付文書 2】説明文書

トを吸入したり、手に付いたホコリをしゃぶったりして体に取り込みますので、ハウスダスト中の鉛濃度も測定し、食事中濃度と加算して、経口摂取量を評価します。また、あなたと小児のお子様の爪少量を採取します。自治医科大学とちぎ子ども医療センターに来院時に、あなたの血液及びあなたのお子様の血液 5 ml を採血し、尿 20 ml を採取します。爪、血液及び尿中の鉛及びヒ素濃度を測定して、生体に存在している量を推定します。また、出産時に出生児の臍帯血及び胎盤を採取し、鉛及びヒ素濃度を測定して、胎児がさらされていた鉛及びヒ素の負荷量を調べます。あなたの唾液を採取し、口腔衛生を調べます。また、生活習慣について調査票に記入していただき調べます。

新生児期の神経発達に関連する遺伝子、発がんに関連する遺伝子、呼吸器発達に関連する遺伝子などと推定される遺伝子の働きを調節している DNA 塩基のメチル化（エピジェネティック変異）及び遺伝子発現について調べます。また、調査目的のためにより詳しい解析が必要な場合は、参加者の中の一部の方の試料の全ての遺伝子のエピジェネティック変異を調べることがあります。また、あなたと赤ちゃんとお子様との遺伝子多型についても調べます。

研究計画の全体像としては、下野市近郊 80 組、旭川市近郊 20 組、パキスタン・カラチ市、インダス川流域地帯でそれぞれ 50 組の家族（母親（妊婦）、新生児、兄姉）を募ります。

遺伝子変化への鉛による影響については、ハウスダストからの曝露の高いパキスタン・カラチ市で集めた試料と比較検討します。ヒ素については、井戸水からのヒ素の摂取量の高いパキスタン・インダス川流域地帯で収集する生体試料との差を、精密に調べます。また、精神身体発達調査に協力を承諾していただければ、小児のお子様の精神身体発達を評価するために、Bayley- 発達検査を自治医大とちぎ子ども医療センターにて行います。

【結果報告事項】陰膳中の鉛及びヒ素摂取量、血中、爪中、臍帯血中の鉛及びヒ素濃度、小児のお子様のアレルギー検査結果（食物アレルギー、室内アレルギー、屋外花粉アレルギーに対する抗体など）、Bayley- 発達検査結果を、解説を添えて報告書として郵送します。ヒ素や鉛などの検査結果に関する質問には、専門家の香山不二雄が対応します。また、発達検査で異常所見が見つかった場合は、自治医大とちぎ子ども医療センター外来を紹介します。

【調査期間】平成 26 年 1 月 17 日から平成 29 年 3 月 31 日まで

- (5) 共同研究機関の名称、共同研究者の職名、氏名、役割
- | | | |
|-----------------------------|-----------------|-------|
| ・旭川医科大学 健康科学講座 | 教授 吉田貴彦 | 疫学調査 |
| ・国立環境研究所環境健康研究センター分子毒性機構研究室 | 室長 野原恵子 | 遺伝子解析 |
| ・パキスタン アガ・カーン大学医学部 | 准教授 Zafar Fatmi | 疫学調査 |

(6) 予想される研究結果

国内での鉛及び無機ヒ素の低い摂取量で、遺伝子への影響の可能性はあるかどうか確認しますが、微量であるため影響のない可能性が高いです。すなわち、本研究では、鉛及びヒ素の感受性の高い胎児及び小児へのリスク評価を行うことが出来ます。また、パキスタン・カラチ市の鉛を多く取り込んでいるお子様と、インダス川流域及びガンジス川流域の

【添付文書 2】説明文書

ヒ素を多く摂っているお子様と、日本国内のこれらの物質を微量に摂取しているお子様とを比較することが出来ます。高濃度から微量までのこれらの物質による生体への影響を調べることで、食品の安全性を確保する上で大きな寄与をすることが出来ます。

(7) 試料・情報を提供した人にとって予想される危険及び不利益

提供いただく試料：あなたの血液 5 ml の採取は、とちぎ子ども医療センターに来院して頂いて、医師または看護師が通常の方法で行ないますので、この研究のために加わる危険性はほとんどありません。小児のお子様の 5 ml の採血は、本人に採血することを説明した上で、痛みを感じなくするクリーム(エムラクリーム)を塗って、小児の採血になれた小児科医または看護師により、痛みやストレスが出来るだけ少なくなるように行います。爪、尿の採取量は少量です。臍帯血及び胎盤の採取は、出産後の胎児が離れた後に行いますので、赤ちゃんに危険はありません。

この研究では、研究実施者が誰の遺伝子を解析しているか分からないように、(9)で述べる匿名化などを行なって、個人情報を厳重に管理します。

(8) 研究計画などを見たいとき

希望があれば、個人情報の保護や研究の独創性の確保に支障を来さない範囲内で、この研究計画の内容を見ることが出来ます。また、遺伝子を調べる方法等に関する資料が必要な場合も用意いたします。

(9) 個人情報の保護

遺伝子解析の結果は、いろいろな問題を引き起こす可能性があるために、他人に漏れないように取扱いを慎重にしています。解析を開始する前に、あなた及びあなたのお子様の血液などの生体試料や生活習慣調査票からは住所、名前等が削られ、代わりに新しい符号がつけられます。これを匿名化といいます。

あなた及びあなたのお子様とこの符号とを結びつける対応表は、本学の個人情報管理者が厳重に管理します。これを連結可能匿名化といいます。こうすることによって、あなた及びあなたのお子様の遺伝子の解析を行なう者には符合しか分からず、誰の遺伝子を解析しているのか分かりません。ただし、結果を本人に説明する場合には、個人情報管理者を通じてこの符号を元に戻します。

(10) 試料・情報を外部の機関へ提供する可能性又は研究の一部を委託する可能性

調査中に、広い範囲で遺伝子の変化を調査する必要があった場合、外部の遺伝子解析機関に依頼する場合があります。また、共同研究者の国立環境研究所 野原恵子室長の下で遺伝子解析をします。その場合は、本学の個人情報管理者が匿名化して外部に委託します。自治医科大学倫理委員会等により個人情報の取り扱い、提供先機関名、提供先における利用目的が妥当であることについて審査されて、承諾された範囲内で実施します。

(11) 遺伝子解析結果の伝え方

この研究では、多くの方々の協力を得て、低レベルの鉛及びヒ素の摂取によるお子様の発育・発達にかかわる遺伝子の変化を調べるものです。この調査から、なんらかの結果が見出されたとしても、その意義を明らかにし、実際に医療に応用するには、更に多くの研究が必要です。したがって、あなた及びあなたのお子様個人の病気の治療などに有益な結果が出る可能性は極めて低いので、あなたを含め、だれにも解析結果を開示したり報告したりすることはありません。ただし、まれに重大な病気との関係が見つかり、あなたやあ

【添付文書 2】説明文書

あなたの家族又は血縁者がその結果を知ることが有益であると研究責任者等が判断し、自治医科大学生命倫理委員会等も同様に考えた場合に限り、担当医師から、あなたやあなたの家族又は血縁者に、その結果の説明を受けるかどうかについて問い合わせることがあります。

遺伝情報の解析結果や研究成果は、試料提供者個人が特定されないように学術論文に発表します。あなたやあなたのお子様個人の遺伝子解析結果はあなたに報告しません。しかし、鉛及びヒ素の異なる曝露レベル集団として、あるいは地域ごとの集団としての遺伝子解析結果は、あなたに分かり易く解説したニュースレターをお送りして、報告させていただきます。

(12) 知的財産権が生じたとき

遺伝子解析の結果として特許権などが生じる可能性があります。その権利は、大学や研究者等に属し、あなた及びあなたのお子様には属しません。また、その特許権などにより経済的利益が生じる可能性があります。あなた及びあなたのお子様はこれについても権利がありません。

(13) 試料・情報の保存及び使用方法、並びに試料・情報の廃棄の方法

提供いただいた試料・情報は、研究遂行中は自治医科大学医学部環境予防医学講座において厳重に保管し、(4)で説明したような方法で本研究に使用させていただきます。研究終了後、あなたの同意が得られない場合は、匿名のまま密封容器に入れて焼却処分します。質問票、調査票、遺伝子情報の記された紙媒体及び電子媒体の資料は、シュレッダーなどにより物理的に破壊して廃棄します。しかし、あなたが同意してくだされば、将来の研究のための貴重な資源として、研究終了後も自治医科大学環境予防医学講座において10年間厳重に保管させていただきます。将来、試料を医学研究に用いる場合には、改めて研究計画書を提出し、自治医科大学生命倫理委員会等の承認を受けたうえで使用させていただきます。

(14) 試料・情報の提供を受ける時点では特定されない将来のヒトゲノム・遺伝子解析研究に試料・情報が利用される可能性

なし。

(15) 研究資金の調達方法、起こり得る利害の衝突及び研究者等の関連組織との関わり

この研究は、「平成25～28年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）」及び環境予防医学講座研究費を用いて実施します。起こりうる利害の衝突はありません。

(16) 試料・情報の提供に対する謝礼

遺伝子解析は研究費によって行なわれますので、あなたが費用を負担することはありません。また、この研究への協力に対して、あなたと小児のお子様の1名の3日間の食事と同じ品目を集める費用等を補償するために、謝金2万円をお渡しします。

(17) 問い合わせ、苦情の受付

この遺伝子解析研究についてのお問い合わせは、下記の研究責任者までご連絡下さい。

研究責任者：自治医科大学医学部環境予防医学講座 教授 香山不二雄

〒329-0498 栃木県下野市薬師寺 3311-1 電話 0285-58-7336

【添付文書 2】説明文書

苦情がある場合は、自治医科大学大学事務部研究支援課（電話 0285-58-7550）で受け付けます。

遺伝子解析研究への協力についての同意書

自治医科大学学長 殿

私は、遺伝子解析研究：研究題目 **鉛及びヒ素などの食品汚染物質の実態調査とその健康影響に関する研究**：Health risk assessment of dietary intake of lead and arsenic に関して、下記の研究者から説明文書を用いて説明を受けました。

(説明を受け理解した項目の 〇 中にご自分でチェックの印を付けてください。)

遺伝子と病気について

研究協力の任意性と同意後の撤回の自由について

- ・研究の協力に同意するかしないかは任意で、協力しなくても不利益を受けないこと。
- ・いったん協力に同意した場合でも、不利益を受けることなく、いつでも文書により同意を撤回することができること。

個人情報保護の方法について

- ・提供された試料や診療情報を解析する前に、試料や診療情報から住所、名前等の個人情報を削除し、代わりに新しい符号等を付けて連結可能匿名化してから研究を実施すること。
- ・個人情報と符号を結びつける対応表は、本学の個人情報管理者が厳重に管理すること。

この研究に関して

- ・研究責任者の氏名、職名及び所属名
- ・研究の意義、目的、方法、期間
- ・共同研究機関について
- ・予想される研究結果、試料・情報提供者にとって予想される危険及び不利益
- ・希望すれば研究計画を見られること。
- ・試料・情報を外部の機関へ提供する可能性又は研究の一部を委託する可能性
- ・遺伝子解析結果の伝え方
- ・知的財産権は試料・情報提供者に無いこと。
- ・試料・情報の保存及び使用方法、並びに試料・情報の廃棄の方法
- ・将来のヒトゲノム・遺伝子解析研究に試料・情報が利用される可能性
- ・研究資金の調達方法、起こり得る利害の衝突及び研究者等の関連組織との関わり
- ・試料・情報の提供は無償で無報酬、問合せと苦情の受付の窓口

私は以上の説明を理解したので、研究に協力することに同意します。また、胎児の臍帯血試料等の採取および胎児の兄姉が研究に協力することについて、私は代諾者として同意します。また、私が本研究のために提供する試料・情報の研究終了後の取扱いについては、

- 1 本研究終了時に速やかに廃棄してください。
- 2 長期間保存され、将来新たに計画・実施される遺伝子の解析を含む医学研究に使用されることに同意します。

(1 又は 2 のどちらかを丸で囲んでください。どちらなのか不明確な場合は、1 を選択したものとします。)

平成 年 月 日

本人の住所 _____

氏名 _____ (署名又は記名・捺印)

胎児の兄姉の氏名 _____

説明者の署名 _____

【添付文書4】同意撤回書

遺伝子解析研究への協力の同意撤回文書

自治医科大学学長 殿

私は、先般、遺伝子解析研究（課題名 **鉛及びヒ素などの食品汚染物質の実態調査とその健康影響に関する研究：Health risk assessment of dietary intake of lead and arsenic**）への協力に同意いたしましたが、この度、本同意を撤回しますので、速やかに対処してください。

平成 年 月 日

本人住所 _____
氏名 _____（署名又は記名・捺印）
電話 _____

（お願い）

同意を撤回される場合は、本文書を研究責任者（香山不二雄）又は、同意書を提出した担当医にお渡しくださるか、あるいは次の住所にご郵送ください。

〒 329 - 0498

栃木県下野市薬師寺3311-1

自治医科大学 医学部 環境予防医学講座

香山不二雄

質問票ご記入のお願い

このたびは、厚生労働科学研究費による調査「鉛及びヒ素などの食品汚染物質の実態調査とその健康影響に関する研究」(ピーばす調査 [PbAs Research])にご参加をいただきありがとうございます。

信頼できるデータを得るためには、お子さまの健康状態や成長環境、お母さまの健康状態や生活状況について正確に教えていただき、その結果を科学的に分析する必要があります。

お寄せいただくご回答や個人情報は、調査の目的にのみ利用し、それぞれの方が、どのようなご回答をされたかは、直接顔を合わせる医師や看護師には分からないようになっています。なお、ご回答が届かない、ご記入いただいた内容が読み取れないなどの場合には、調査の担当者から確認の連絡を入れさせていただくことがありますのでご了承ください。

記入上のご注意

- 1 . 質問票の説明にしたがってご回答をご記入ください。
- 2 . ご回答に要する時間は30分くらいですが、制限時間などはありません。
ご自分のペースでお進めください。
- 3 . 記入の終わった質問票は、封筒に入れ、封をしてください。

この調査についてのお問い合わせ先
自治医科大学 医学部 環境予防医学講座
ピーばす調査 事務局
電話番号 0285-58-7336

調査のためにお時間をお割きいただきますことに心より御礼申し上げます。

【添付文書5】質問票

お母さまのイニシャル (ご記入不要)

お母さまのID (ご記入不要)

（ご注意） 回答したくない質問があった場合は、質問文全体に二重線を引いてください。質問項目の中でわからないことばや質問がありましたら、その質問番号に×印をつけてください。

A、あなたのご家族やご家庭の状況についておたずねします。あてはまる番号に をつけてください。選択肢がない場合は 内に数字をご記入ください。

質問1 あなたの現在の婚姻状況について教えてください。(一つだけ)

- 1. 結婚している（内縁・事実婚を含む）
- 2. 未婚（過去に一度も結婚したことがない）
- 3. 離婚
- 4. 死別

質問2 あなたは何人と一緒に暮らしていますか？

(自分を含めて) 人

質問3 現在、あなたと一緒に住まいのすべての方に をつけて、 内に人数をご記入ください。

- 1. (あなたの)夫・パートナー
- 2. (あなたの)子ども 人
- 3. (あなたの)父親
- 4. (あなたの)母親
- 5. 夫・パートナーの父親
- 6. 夫・パートナーの母親
- 7. (あなたの)兄弟姉妹 人
- 8. (夫・パートナーの)兄弟姉妹 人
- 9. そのほか 人

質問3-1 「2.(あなたの)子ども」を選択された方は、あなたのお子さまについて、年の大きい順番に性別・誕生年月を教えてください。

	性別	西暦	お誕生年	年	お誕生月	月
第1子:	(男・女)	西暦	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
第2子:	(男・女)	西暦	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
第3子:	(男・女)	西暦	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
第4子:	(男・女)	西暦	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
第5子:	(男・女)	西暦	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

B . あなたの妊娠や出産に関することについておたずねします。妊娠や出産に関するご経験は、その後のお母さまの健康やお子さまの健康と関係すると考えられています。あてはまる番号に をつけてください。選択肢がない場合は 内に数字をご記入ください。

質問4 妊娠前のふだんの身長と体重を教えてください。

身長 . cm 体重 . kg

質問5 今回の妊娠の出産予定日はいつですか？

20 年 月 日

質問6 妊娠を知った時の気持ちはいかがでしたか？（一つだけ）

- | | | |
|---------------|-------------------|----------------|
| 1. とてもうれしかった | 2. 予想外で驚いたがうれしかった | |
| 3. 予想外で驚き戸惑った | 4. 困った | 5. 特に何とも思わなかった |

質問7 これまでの妊娠や出産についてお答えください。

初めて妊娠した時の年齢はいくつですか 歳
経膣分娩 回
帝王切開分娩 回
子宮外妊娠 回
自然流産の回数 回（うち連続流産 回）
人工流産（中絶）の回数 回

質問8 初経（初潮）は何歳でしたか？ 歳

質問9 経口避妊薬（ピル）を使用したことがありますか？（一つだけ）

- | | | |
|-------|-------|--|
| 1. ない | 2. ある | （使用した期間 <input type="text"/> <input type="text"/> 年） |
|-------|-------|--|

質問10 今回の妊娠では不妊治療を受けられましたか？（一つだけ）

- | | |
|----------------|---------------|
| 1. はい（質問10-1へ） | 2. いいえ（質問11へ） |
|----------------|---------------|

質問10-1 質問10で「1.はい」を選択された方は不妊治療の内容を教えてください。（あてはまるものすべてに）

- | | | |
|----------------|---------|---------|
| 1. 排卵誘発剤 | 2. 人工授精 | 3. 体外受精 |
| 4. 体外受精（胚盤胞移植） | | |

C. あなたの最近の気分についておたずねします。

質問11 次の質問では、過去1ヵ月間に、あなたがどのように感じていたかについておたずねします。それぞれの質問に対して、そういう気持ちをどれくらいの頻度で感じていたか、一番あてはまる番号に をつけてください。

過去1ヵ月間にどれくらい	いつも	たいてい	ときどき	少しだけ	全くない
神経過敏に感じましたか。	1	2	3	4	5
絶望的だと感じましたか。	1	2	3	4	5
そわそわしたり、落ち着き無く感じましたか。	1	2	3	4	5
気分が沈みこんで、何が起こっても気が晴れないように感じましたか。	1	2	3	4	5
何をするのも骨折りだと感じましたか。	1	2	3	4	5
自分は価値のない人間だと感じましたか。	1	2	3	4	5

D. あなたご自身の健康状態についておたずねします。以下のそれぞれの質問について、一番よくあてはまる番号に 印をつけてください。

質問12 妊娠中、薬を飲んだり、注射・点滴を受けていたりしていますか？（一つだけ）

1. はい	2. いいえ
-------	--------

質問13 過去1年間に、薬を飲んだり、注射・点滴を受けていたりしていますか？（一つだけ）

1. はい	2. いいえ
-------	--------

質問14 過去1年間に、以下の病気にかかったことがありますか？（～、それぞれ一つだけ）

はしか	1. はい	2. いいえ
風疹	1. はい	2. いいえ
結核	1. はい	2. いいえ
インフルエンザ	1. はい	2. いいえ

質問15 下記の病気の中で、あなたが生まれてから今日に至るまで医師から診断を受けた病名があれば教えてください。あてはまる病名すべてにチェックを入れて下さい。

< 循環器（心臓、脳、血管の病気）>				
貧血	高血圧	高脂血症	脳卒中（脳出血、脳梗塞、くも膜下出血）	
心筋梗塞・狭心症		先天性心疾患	川崎病	
< アレルギーや耳鼻科の病気>				
気管支喘息	アレルギー性鼻炎・花粉症		慢性副鼻腔炎	
慢性中耳炎	アトピー性皮膚炎		アレルギー性結膜炎	
食物アレルギー	薬疹・薬剤アレルギー		蕁麻疹	
接触性皮膚炎	シックハウス症候群		化学物質過敏症	
< 膠原病や免疫の病気>				
膠原病	自己免疫性疾患	全身性エリテマトーデス	リウマチ	
< 内分泌系の病気>				
1型糖尿病（インスリン注射を最初から必要とするタイプ）			2型糖尿病	
妊娠糖尿病	甲状腺機能亢進症・バセドウ氏病	甲状腺機能低下症・橋本病		
その他の内分泌系の病気				
< 神経・精神の病気>				
うつ病	自律神経失調症	統合失調症	てんかん	偏頭痛
髄膜炎	水頭症	その他の神経・精神の病気		
< 消化器・肝臓・膵臓などの病気>				
逆流性食道炎	胃炎	胃潰瘍	十二指腸潰瘍	過敏性腸症候群
クローン病	潰瘍性大腸炎	脂肪肝	肝炎（B型肝炎）	
肝炎（C型肝炎）	胆石	膵炎		
< 腎臓の病気>				
慢性腎炎（IgA腎症、糸球体腎炎）		ネフローゼ症候群	その他の腎臓の病気	
< 産婦人科系の病気>				
月経不順・生理不順	子宮内膜症	子宮筋腫	子宮腺筋症	
子宮奇形	卵巣腫瘍・卵巣のう腫	多のう胞性卵巣症候群		
尿路や生殖器の奇形				
< 眼科の病気>				
近視	先天性緑内障	角膜混濁	視神経萎縮	
< 整形（骨や筋肉）の病気>				
先天性股関節脱臼の既往		脊椎側彎症の既往		
< がん>				
乳がん	子宮頸がん	子宮体がん	胃がん	大腸がん
血液のがん（白血病、悪性リンパ腫、多発性骨髄腫）				その他の部位

【添付文書5】質問票

質問16 現在、継続的に治療・経過観察している病気がありますか？（一つだけ）
「ある」場合はその内容をお書きください。（風邪や湿疹など一時的なものは除きます。）

- | |
|---------------------|
| 1. ない |
| 2. ある （具体的に： _____） |

質問17 過去に予防接種（ワクチン）を受けて、副反応（強い発熱、発疹、アナフィラキシー反応など）がありましたか？（一つだけ）

- | | |
|-------|--------|
| 1. はい | 2. いいえ |
|-------|--------|

質問18 輸血を受けたことがありますか？（一つだけ）

- | | |
|-------|--------|
| 1. はい | 2. いいえ |
|-------|--------|

質問19 全体的にみて、過去1ヵ月間のあなたの健康状態はいかがでしたか。

- | | | |
|------------|----------|-------------|
| 1. 最高に良い | 2. とても良い | 3. 良い |
| 4. あまり良くない | 5. 良くない | 6. ぜんぜん良くない |

質問20 過去1ヵ月間に、いつもの仕事（家事も含みます）をすることが、身体的な理由でどのくらい妨げられましたか。

- | | |
|--------------------|--------------|
| 1. ぜんぜん妨げられなかった | 2. わずかに妨げられた |
| 3. 少し妨げられた | 4. かなり妨げられた |
| 5. 体を使う日常活動ができなかった | |

質問21 過去1ヵ月間に、身体の痛みはどのくらいありましたか。

- | | | |
|-------------|-----------|-------------|
| 1. ぜんぜんなかった | 2. かすかな痛み | 3. 軽い痛み |
| 4. 中くらいの痛み | 5. 強い痛み | 6. 非常に激しい痛み |

質問22 過去1ヵ月間、どのくらい元気でしたか。

- | | | |
|--------------|-------------|------------|
| 1. 非常に元気だった | 2. かなり元気だった | 3. 少し元気だった |
| 4. わずかに元気だった | 5. 元気でなかった | |

質問23 過去1ヵ月間に、家族や友人とのふだんのつきあいが、身体的あるいは心理的な理由で、どのくらい妨げられましたか。

- | | |
|-----------------|--------------|
| 1. ぜんぜん妨げられなかった | 2. わずかに妨げられた |
| 3. 少し妨げられた | 4. かなり妨げられた |
| 5. つきあいができなかった | |

【添付文書5】質問票

質問24 過去1ヵ月間に、心理的な問題（不安を感じたり、気分が落ち込んだり、イライラしたり）に、どのくらい悩まされましたか。

- | | |
|-----------------|--------------|
| 1. ぜんぜん悩まされなかった | 2. わずかに悩まされた |
| 3. 少し悩まされた | 4. かなり悩まされた |
| 5. 非常に悩まされた | |

質問25 過去1ヵ月間に、日常行う活動（仕事、学校、家事などのふだんの行動）が、心理的な理由で、どのくらい妨げられましたか。

- | | |
|-----------------|--------------|
| 1. ぜんぜん妨げられなかった | 2. わずかに妨げられた |
| 3. 少し妨げられた | 4. かなり妨げられた |
| 5. 日常活動ができなかった | |

質問26 今回妊娠する前に、パートナーから侮辱されたり罵られたことがありますか？

- | | | |
|-----------|-----------|------------|
| 1. 全くなかった | 2. まれにあった | 3. ときどきあった |
| 4. よくあった | | |

質問27 今回妊娠する前に、パートナーとのケンカが原因でケガをするほど叩かれたり殴られたりしたことがありますか？

- | | | |
|-----------|-----------|------------|
| 1. 全くなかった | 2. まれにあった | 3. ときどきあった |
| 4. よくあった | | |

E. あなたの食事などについておたずねします。あてはまる番号に をつけ、内にあてはまる数字をご記入ください。

質問28 あなたが思う妊婦にとって適正な体重増加量をおしえてください。わからない場合は、「2. わからない」に をつけてください。

1. <input type="text"/> <input type="text"/> kg から <input type="text"/> <input type="text"/> kg の範囲内。もしくは <input type="text"/> <input type="text"/> kg 以下
2. わからない

質問29 あなたは、妊娠中に太り過ぎないようにすること（前問に挙げた「適正な体重増加量」を超えないこと）は大切なことだと思いますか？（1つに ）

1. とてもそう思う	2. ややそう思う	（ 質問 29-1 へ）
3. どちらともいえない	4. そう思わない	（ 質問 30 へ）
5. 全くそう思わない		

質問29-1 問 29 で「1.とてもそう思う」「2.ややそう思う」にお答えいただいた方におたずねします。それはどのような理由からですか？（あてはまるものすべてに ）

1. 元気な子どもを生むため	2. お産を楽にするため
3. 産後早く元の体型に戻すため	4. 妊娠線を残さないため
5. 医師や看護師にそう言われるから	6. 家族や友人にそう言われるから
7. 特に理由はない	8. 産後の生活習慣病予防のため
9. その他（具体的に： _____）	

質問30 妊娠中、朝食を抜くことはどの程度ありますか？（一つだけ ）

1. 毎日	2. 週に 4～6 日	3. 週に 2～3 日
4. 週に 1 回	5. 月に数回	6. 全くない

質問31 妊娠中、夜食（夕食を食べた後に寝る前に食べる食事）を食べることはどの程度ありますか？（一つだけ ）

1. 毎日	2. 週に 4～6 日	3. 週に 2～3 日
4. 週に 1 回	5. 月に数回	6. 全くない

質問32 妊娠中、特に意識して食べない・飲まないものはありますか？（あてはまるものすべてに ）

1. 牛乳・乳製品	2. 卵	3. 大豆
4. 魚	5. 牛肉	6. ピーナッツ
7. その他（具体的に： _____）		

質問33 過去1ヵ月間に、サプリメントや健康食品を摂取しましたか？

(一つだけ)

1. はい (質問33-1へ)

2. いいえ (質問34へ)

質問33-1 葉酸をとっていますか？(一つだけ)

1. 日に2回以上

2. 日に1回

3. 週に4~6回

4. 週に1~3回

5. 月に2~3回

6. 月に1回

7. 使わない

質問33-2 亜鉛(Zn)をとっていますか？(一つだけ)

1. 日に2回以上

2. 日に1回

3. 週に4~6回

4. 週に1~3回

5. 月に2~3回

6. 月に1回

7. 使わない

質問33-3 EPA(エイコサペンタエン酸)をとっていますか？(一つだけ)

1. 日に2回以上

2. 日に1回

3. 週に4~6回

4. 週に1~3回

5. 月に2~3回

6. 月に1回

7. 使わない

質問33-4 DHA(ドコサヘキサエン酸)をとっていますか？(一つだけ)

1. 日に2回以上

2. 日に1回

3. 週に4~6回

4. 週に1~3回

5. 月に2~3回

6. 月に1回

7. 使わない

質問33-5 乳酸菌をとっていますか？(一つだけ)

1. 日に2回以上

2. 日に1回

3. 週に4~6回

4. 週に1~3回

5. 月に2~3回

6. 月に1回

7. 使わない

質問34 過去1ヵ月間に、朝食や昼食、夕食としてハンバーガーやフライドポテト、ピザ、ドーナツなどをファーストフード店で食べる(持ち帰って食べることも含む)はどのくらいありますか？(一つだけ)

1. 週に1回未満

2. 週に1~2回

3. 週に2~3回

4. 週に3~6回

5. 毎日

質問35 過去1ヵ月間に、朝食や昼食、夕食をレストランなどで外食したことはどのくらいありますか？(一つだけ)

1. 週に1回未満

2. 週に1~2回

3. 週に2~3回

4. 週に3~6回

5. 毎日

【添付文書5】質問票

質問36 過去1ヵ月間に、朝食や昼食、夕食としてコンビニエンスストア、スーパー、弁当などで買ったお弁当を食べることはどのくらいありますか？（一つだけ）

- | | | |
|-----------|-----------|-----------|
| 1. 週に1回未満 | 2. 週に1~2回 | 3. 週に2~3回 |
| 4. 週に3~6回 | 5. 毎日 | |

質問37 過去1ヵ月間に、朝食や昼食、夕食として冷凍食品を食べることはどのくらいありますか？（一つだけ）

- | | | |
|-----------|-----------|-----------|
| 1. 週に1回未満 | 2. 週に1~2回 | 3. 週に2~3回 |
| 4. 週に3~6回 | 5. 毎日 | |

質問38 過去1ヵ月間に、朝食や昼食、夕食として大豆製品（納豆、豆腐、豆乳等）を食べることはどのくらいありますか？（一つだけ）

- | | | |
|-----------|-----------|-----------|
| 1. 週に1回未満 | 2. 週に1~2回 | 3. 週に2~3回 |
| 4. 週に3~6回 | 5. 毎日 | |

質問39 過去1ヵ月間に、朝食や昼食、夕食としてレトルト食品を食べることはどのくらいありますか？（一つだけ）

- | | | |
|-----------|-----------|-----------|
| 1. 週に1回未満 | 2. 週に1~2回 | 3. 週に2~3回 |
| 4. 週に3~6回 | 5. 毎日 | |

質問40 過去1ヵ月間に、朝食や昼食、夕食としてカップ麺やスープ等のプラスチック容器に入っていて熱湯を注いで食べる食事を食べることはどのくらいありますか？（一つだけ）

- | | | |
|-----------|-----------|-----------|
| 1. 週に1回未満 | 2. 週に1~2回 | 3. 週に2~3回 |
| 4. 週に3~6回 | 5. 毎日 | |

質問41 過去1ヵ月間に、朝食や昼食、夕食として缶詰を食べることはどのくらいありますか？（一つだけ）

- | | | |
|-----------|-----------|-----------|
| 1. 週に1回未満 | 2. 週に1~2回 | 3. 週に2~3回 |
| 4. 週に3~6回 | 5. 毎日 | |

質問42 コーヒーや紅茶を飲むときに入れるものは主に何ですか？（一つだけ）

- | |
|-------------------------------|
| 1. 液体のコーヒークリーム（コーヒーフレッシュともいう） |
| 2. 粉末のコーヒークリーム |
| 3. 牛乳 |
| 4. 生クリーム |
| 5. ミルク類は何もいれない |

F. 喫煙についておたずねします。あてはまる番号に をつけ、 内にあてはまる数字をご記入ください。

質問43 あなたご自身の喫煙についてお答えください。(一つだけ)

1. 喫煙したことはない。		
2. 以前は吸っていたが、今回の妊娠に気づく前から止めていた。		
吸い始めた年齢は？	<input type="text"/> <input type="text"/>	才
吸うのを止めた年齢は？	<input type="text"/> <input type="text"/>	才
平均して毎日何本くらい吸っていましたか？	<input type="text"/> <input type="text"/>	本
3. 以前は吸っていたが、今回の妊娠に気づいて止めた。		
吸い始めた年齢は？	<input type="text"/> <input type="text"/>	才
最後に吸ったのはいつですか？	<input type="text"/> <input type="text"/>	日前
平均して毎日何本くらい吸っていましたか？	<input type="text"/> <input type="text"/>	本
4. 喫煙を続けている。		
吸い始めた年齢は？	<input type="text"/> <input type="text"/>	才
平均して毎日何本くらい吸っていますか？	<input type="text"/> <input type="text"/>	本

質問44 あなたは現在、家の中や仕事場、外出先の屋内で、他の人が吸ったタバコの煙を吸い込む機会がどれくらいありますか？(一つだけ)

1. ほとんどない		
2. 週1日くらい	3. 週2~3日	(質問44-1へ)
4. 週に4~6日	5. 毎日	

質問44-1 そのような場合、他の人が吸ったタバコの煙を、あなたが吸う時間は1日のうち、どれくらいですか？(一つだけ)

1. 1時間未満	2. 1~2時間くらい	3. それ以上
----------	-------------	---------

G . あなたの生活についておたずねします。平均的な 1 週間を考えた場合、あなたが 1 日にどのくらいの時間、体を動かしているのかをおたずねします。
身体活動（体を動かすこと）とは、仕事での活動、通勤や買い物などいろいろな場所への移動、家事や庭仕事、余暇時間の運動やレジャーなど、体を動かすすべての活動です。以下の質問では、1 回につき少なくとも 10 分以上続けて行う身体活動についてのみ考えて、お答えください。

< 妊娠前の生活について >

質問 45 妊娠前の平均的な 1 週間で、強い身体活動（身体的にきつと感じるような、かなり呼吸が乱れるような活動）を行う日は何日ありましたか？（一つだけ）

1. 週 日（ 質問 45-1 へ） 2. ない（ 質問 46 へ）

質問 45-1 強い身体活動を行う日は、通常、1 日合計してどのくらいの時間行いましたか？

1 日 時間 分

質問 46 妊娠前の平均的な 1 週間で、中等度の身体活動（身体的にやや負荷がかかり、少し息がはずむような活動）を行う日は何日ありましたか？ 歩行やウォーキングは含めないでください。（一つだけ）

1. 週 日（ 質問 46-1 へ） 2. ない（ 質問 47 へ）

質問 46-1 中等度の身体活動を行う日には、通常、1 日合計してどのくらいの時間行いましたか？

1 日 時間 分

質問 47 妊娠前の平均的な 1 週間で、10 分以上続けて歩くことは何日ありましたか？ここで、歩くとは仕事や日常生活で歩くこと、ある場所からある場所へ移動すること、あるいは趣味や運動としてのウォーキング、散歩など、すべてを含みます。（一つだけ）

1. 週 日（ 質問 47-1 へ） 2. ない（ 質問 48 へ）

質問 47-1 そのような日には、通常、1 日合計してどのくらいの時間歩きましたか？

1 日 時間 分

質問 48 妊娠前、座ったり寝転んだりして過ごしていた時間は、1 日合計してどれくらいでしたか？ 睡眠時間は含めないでください。

1 日 時間 分

質問 48-1 そのうちで、テレビを見て過ごす時間はどれくらいでしたか？

1 日 時間 分

質問48-2 そのうちで、ゲーム（携帯電話のゲームを含む）をして過ごす時間はどれくらいでしたか？

1日 時間 分

質問49 妊娠前、寢床（ベッドや布団）に入って眠ろうとする（消灯する）時刻は平均して何時頃ですか？ 時・分を記入してください。

午前・午後（ で囲む） 時 分

質問50 妊娠前、平均的な起床時刻は何時頃ですか？ 時・分を記入してください。

午前・午後（ で囲む） 時 分

< 妊娠中の生活について >

質問51 妊娠中の平均的な1週間で、強い身体活動（身体的にきつと感じるような、かなり呼吸が乱れるような活動）を行う日は何日ありますか？（一つだけ）

1. 週 日（ 質問 51-1 へ） 2. ない（ 質問 52 へ）

質問51-1 強い身体活動を行う日は、通常、1日合計してどのくらいの時間行いますか？

1日 時間 分

質問52 妊娠中の平均的な1週間で、中等度の身体活動（身体的にやや負荷がかかり、少し息がはずむような活動）を行う日は何日ありますか？ 歩行やウォーキングは含めないでお答えください。（一つだけ）

1. 週 日（ 質問 52-1 へ） 2. ない（ 質問 53 へ）

質問52-1 中等度の身体活動を行う日には、通常、1日合計してどのくらいの時間行いますか？

1日 時間 分

質問53 妊娠中の平均的な1週間で、10分間以上続けて歩くことは何日ありますか？
ここで、歩くとは仕事や日常生活で歩くこと、ある場所からある場所へ移動すること、あるいは趣味や運動としてのウォーキング、散歩など、すべてを含みます。
（一つだけ）

1. 週 日（ 質問 53-1 へ） 2. ない（ 質問 54 へ）

質問53-1 そのような日には、通常、1日合計してどのくらいの時間歩きますか？

1日 時間 分

【添付文書5】質問票

質問54 妊娠中、座ったり寝転んだりして過ごしていた時間は、1日合計してどれくらいですか？ 睡眠時間は含めないでください。

1日 時間 分

質問54-1 1日のうち、テレビを見て過ごす時間はどれくらいですか？

1日 時間 分

質問54-2 1日のうち、ゲームをして過ごす時間はどれくらいですか？

1日 時間 分

質問55 妊娠中、寝床（ベッドや布団）に入って眠ろうとする（消灯する）時刻は平均して何時頃ですか？ 時・分を記入してください。

午前・午後（ で囲む） 時 分

質問56 妊娠中、平均的な起床時刻は何時頃ですか？ 時・分を記入してください。

午前・午後（ で囲む） 時 分

質問57 妊娠中、あなたの眠りの深さはどの程度だと思えますか？（一つだけ）

1. 非常に浅い方だと思う	2. 比較的浅い方だと思う	3. 普通だと思う
4. 比較的深い方だと思う	5. 非常に深い方だと思う	

質問58 妊娠中、朝、目覚めた時の気分はどうですか？（一つだけ）

1. 非常に悪い	2. 比較的悪い	3. 普通
4. 比較的良い	5. 非常に良い	

質問59 妊娠中の睡眠について、以下の質問はどの程度あてはまりますか？（～、それぞれ一つだけ）

眠いのになかなか寝付けない	1. まったくあてはまらない	2. あまりあてはまらない
	3. 少しあてはまる	4. わりとあてはまる
	5. 非常にあてはまる	
いったん眠ったら、朝まで目が覚めない	1. まったくあてはまらない	2. あまりあてはまらない
	3. 少しあてはまる	4. わりとあてはまる
	5. 非常にあてはまる	
いくら寝ても、寝不足のように感じる	1. まったくあてはまらない	2. あまりあてはまらない
	3. 少しあてはまる	4. わりとあてはまる
	5. 非常にあてはまる	

質問60 妊娠中、1日平均で何時間くらい音楽鑑賞をしていますか？

時間

【添付文書5】質問票

質問61 妊娠中、平均して1日どれくらい携帯電話で電話をしますか？（一つだけ）

1. 0分	2. 5分未満	3. 5～10分
4. 10～30分	5. 30分～1時間	6. 1時間以上

質問62 妊娠中、平均して1日何回くらい携帯電話でメールの送受信をしますか？（一つだけ）

1. 0回	2. 1～2回	3. 3～5回
4. 5～10回	5. 10回以上	

質問63 妊娠中、屋外で過ごす時間はどれくらいですか？

一日の平均 分

H. あなたの住居や環境についておたずねします。また、化粧品など、日常よく使っているものについてもおたずねします。それらは人体に無害と考えられていますが、今回の調査で、子どもの健康への影響をあらためて実証したいと考えています。
なお、最近転居された場合は、妊娠中で一番長く住んでいた場所でお答えください。

質問64 ご自宅についてお聞きします。（一つだけ）

1. 木造一戸建て
2. 鉄筋（鉄骨）一戸建て
3. 木造の集合住宅（アパート等）
4. 鉄筋（鉄骨）の集合住宅（アパート、マンション等）
5. その他（具体的に： <input type="text"/> ）

質問65 ご自宅は建築後何年ですか？（一つだけ）

1. 1年未満	2. 1年以上3年未満	3. 3年以上5年未満
4. 5年以上10年未満	5. 10年以上20年未満	6. 20年以上
7. わからない		

質問66 その家に何年くらいお住まいですか？

年

質問67 ふだん生活している家は、何階にありますか？

階建ての 階

質問68 ご自宅は何部屋ありますか？ 台所（キッチン）、風呂、トイレ、洗面台、倉庫、納戸は数えないでください。

部屋

【添付文書5】質問票

質問76 居間の床について当てはまるものをお答えください。(一つだけ)

1. 畳	2. 畳の上のじゅうたん
3. 床張り、フローリング、タイル	4. 床張り、フローリング、タイルの上のじゅうたん
5. その他(具体的に:)	

質問77 1年を通して、居間に掃除機をかける頻度をお答えください。(一つだけ)

1. 週に数回	2. 週に1回ていど	3. 月に1~2回
4. 年に数回	5. ほとんどかけない	

質問78 1年を通して、寝室の床に掃除機をかける頻度をお答えください。(一つだけ)

1. 週に数回	2. 週に1回ていど	3. 月に1~2回
4. 年に数回	5. ほとんどかけない	

質問79 1年を通して、布団に掃除機をかけることがありますか?(一つだけ)

1. 週に数回	2. 週に1回ていど	3. 月に1~2回
4. 年に数回	5. ほとんどかけない	

質問80 1年を通して、布団を干すことがありますか? 天気のことと考えて、平均的な様子をお答えください。(一つだけ)

1. 週に数回	2. 週に1回ていど	3. 月に1~2回
4. 年に数回	5. ほとんど干さない	

質問81 妊娠中、布団にダニ防止カバーや防ダニ仕様の寝具を使っていますか?
(一つだけ)

1. はい	2. いいえ
-------	--------

質問82 浴室や洗面所も含めてご自宅の中にカビが生えているところがありますか?
(あてはまる番号と記号をすべて 印で囲んでください。)

1. いいえ				
2. はい	具体的な場所は	a. 台所	b. 居間	c. ご自身の寝室
		d. その他の寝室	e. 浴室	f. トイレ
		g. その他(具体的に:)		

質問83 現在、ご自宅でペットを飼っていますか? もし飼っている場合は、その種類を教えてください。(あてはまる番号と記号をすべて 印で囲んでください。)

1. 現在飼っていない					
2. 現在飼っている	種類は	a. ネコ	b. 小鳥	c. 家の中で飼っている犬	
		d. 家の外で飼っている犬	e. ハムスター		
		f. カメ			g. その他(具体的に:)

質問84 ご自宅はオール電化住宅ですか？（一つだけ）

- | | |
|-------|--------|
| 1. はい | 2. いいえ |
|-------|--------|

質問85 上水の蛇口に浄水器を設置して使っていますか？（一つだけ）

- | | |
|--------------|--------|
| 1. はい | 2. いいえ |
| 3. その他（具体的に： | ） |

質問86 妊娠中、使用されているお化粧品のうち、香水などの香料についてお聞きします。
（一つだけ）

- | | |
|--------------|------------|
| 1. よく使った | 2. ときどき使った |
| 3. あまり使わなかった | 4. 使用しなかった |

質問87 妊娠中、マニキュア、ネイルアートをしますか？（一つだけ）

- | | |
|-------------|-----------|
| 1. よくした | 2. ときどきした |
| 3. あまりしなかった | 4. しなかった |

質問88 妊娠中、ご家庭で染毛剤（ヘアダイ）、パーマ液はよく使っていますか？
（一つだけ）

- | | |
|--------------|------------|
| 1. よく使った | 2. ときどき使った |
| 3. あまり使わなかった | 4. 使用しなかった |

質問89 妊娠中、ヘアサロンで染毛剤（ヘアダイ）、パーマ液はよく使っていますか？
（一つだけ）

- | | |
|--------------|------------|
| 1. よく使った | 2. ときどき使った |
| 3. あまり使わなかった | 4. 使用しなかった |

質問90 妊娠中、紫外線防護用のクリーム（いわゆる日焼け止め）は使っていますか？
（一つだけ）

- | | |
|--------------|------------|
| 1. よく使った | 2. ときどき使った |
| 3. あまり使わなかった | 4. 使用しなかった |

1. 妊娠に気付かれた時点でのあなたのご職業などをおたずねします(専業主婦の方もご記入ください)。職業と生まれてくるお子さまの健康状態との関係を調べます。

質問91 以下のリストであてはまる職業(家業に従事する場合を含みます)を1つ選び、をつけてください。複数の項目にあてはまる場合は、もっとも時間をかけているものを選んでください。

*なお、1)収入を伴わない仕事(例:PTA 役員その他の奉仕的活動、家庭菜園での作業)、2)小づかい程度の収入の仕事、3)学生/職業訓練生(奨学金類の有無を問いません)、4)財産収入(例:預貯金の利子、自己所有の株式配当や売買差益、家賃収入)で生活している方の場合は、「無職」を選択してください。

1. 専門・技術職	科学研究者、農林水産業・食品技術者・機械・電気技術者、鉱工業技術者、建築・土木・測量技術者、情報処理技術者、その他の技術者、医師、歯科医師、獣医師、薬剤師、保健師、助産師、看護師、医療技術者、その他の保健医療従事者、社会福祉専門職従事者、法務従事者、経営専門職業従事者、教員、宗教家、文芸家、記者、編集者、美術家、写真家、デザイナー、音楽家、舞台芸術家、その他の専門的職業従事者
2. 管理職	管理的公務員、会社・団体等役員、会社・団体等管理職員、その他の管理的職業従事者
3. 事務職	一般事務の職業、会計事務の職業、生産関連事務の職業、営業・販売等の職業、外勤事務の職業、運輸・通信事務の職業、事務用機器操作の職業
4. 営業販売職	商品販売の職業、販売類似の職業
5. サービス職	家庭生活支援サービスの職業、生活衛生サービスの職業、飲食物調理の職業、接客・給仕の職業、居住施設・ビル等管理の職業、その他のサービス職業従事者
6. 保安職	自衛官、司法警察職員、その他の保安職業従事者
7. 農林魚業	農業の職業、林業作業、漁業作業
8. 運輸・通信職	鉄道運転職業、自動車運転職業、船舶・航空機運転職業、その他の運輸職業、通信従事者
9. 生産・労務職	金属材料製造作業、化学製品製造作業、窯業製品製造作業、土石製品製造作業、金属加工作業、金属溶接・溶断作業、一般機械器具組立・修理作業、電気機械器具組立・修理作業、輸送機械組立・修理作業、計量計測機器・光学機械器具組立・修理作業、精穀・製粉・調味食品製造作業、食料品製造作業、飲料・たばこ製造作業、紡織作業、衣服・繊維製品作業、木・竹・草・つる製品製造作業、パルプ・紙・紙製品製造作業、印刷・製本作業、ゴム・プラスチック製品作業、革・革製品製造作業、装身具等身の回り品製造作業、その他の製造・制作作業、定置機関・機械及び建設機械運転作業、電気作業、採掘作業、建設躯体工事作業、建設作業、土木作業従事者、運搬労務作業、その他の労務作業、分類不能の職業
10. 専業主婦	
11. 学生・大学院生	
12. 無職	
13. 上記いずれにもあてはまらない職業()	

質問92 妊娠がわかってから、あなたの職業は変わりましたか？（一つだけ）

- | | |
|-----------------|---------------|
| 1. 変わらない（質問94へ） | 2. 休職中（質問94へ） |
| 3. 変わった（質問93へ） | |

質問93 質問92で「3.変わった」と回答された方は、以下のリストであてはまる職業（家業に従事する場合を含みます）を1つ選び、をつけてください。複数の項目にあてはまる場合は、もっとも時間をかけているものを選んでください。

- | | |
|-----------------------|---|
| 1. 専門・技術職 | 科学研究者、農林水産業・食品技術者・機械・電気技術者、鉱工業技術者、建築・土木・測量技術者、情報処理技術者、その他の技術者、医師、歯科医師、獣医師、薬剤師、保健師、助産師、看護師、医療技術者、その他の保健医療従事者、社会福祉専門職従事者、法務従事者、経営専門職業従事者、教員、宗教家、文芸家、記者、編集者、美術家、写真家、デザイナー、音楽家、舞台芸術家、その他の専門的職業従事者 |
| 2. 管理職 | 管理的公務員、会社・団体等役員、会社・団体等管理職員、その他の管理的職業従事者 |
| 3. 事務職 | 一般事務の職業、会計事務の職業、生産関連事務の職業、営業・販売等の職業、外勤事務の職業、運輸・通信事務の職業、事務用機器操作の職業 |
| 4. 営業販売職 | 商品販売の職業、販売類似の職業 |
| 5. サービス職 | 家庭生活支援サービスの職業、生活衛生サービスの職業、飲食物調理の職業、接客・給仕の職業、居住施設・ビル等管理の職業、その他のサービス職業従事者 |
| 6. 保安職 | 自衛官、司法警察職員、その他の保安職業従事者 |
| 7. 農林魚業 | 農業の職業、林業作業者、漁業作業者 |
| 8. 運輸・通信職 | 鉄道運転職業、自動車運転職業、船舶・航空機運転職業、その他の運輸職業、通信従事者 |
| 9. 生産・労務職 | 金属材料製造作業者、化学製品製造作業者、窯業製品製造作業者、土石製品製造作業者、金属加工作業者、金属溶接・溶断作業者、一般機械器具組立・修理作業者、電気機械器具組立・修理作業者、輸送機械組立・修理作業者、計量計測機器・光学機械器具組立・修理作業、精穀・製粉・調味食品製造作業者、食料品製造作業者、飲料・たばこ製造作業者、紡織作業者、衣服・繊維製品作業者、木・竹・草・つる製品製造作業者、パルプ・紙・紙製品製造作業者、印刷・製本作業者、ゴム・プラスチック製品作業者、革・革製品製造作業者、装身具等身の回り品製造作業者、その他の製造・制作作業者、定置機関・機械及び建設機械運転作業者、電気作業者、採掘作業者、建設躯体工事作業者、建設作業者、土木作業従事者、運搬労務作業者、その他の労務作業者、分類不能の職業 |
| 10. 専業主婦 | |
| 11. 学生・大学院生 | |
| 12. 無職 | |
| 13. 上記いずれにもあてはまらない職業（ | ） |

【添付文書5】質問票

質問94 妊娠中、毎月1回以上、次のもの(a.~u.)をご自分で扱いましたか？

お仕事で、半日以上かけて扱った回数を教えてください。例にしたがって、あてはまる番号1つに をつけてください。

	1. いいえ	2. 月1回~月 2、3回程度	3. 週に1回以 上	4. 毎日
例) 灯油・石油・ベンジン・ガソリン	1	2	3	4
a. 灯油・石油・ベンジン・ガソリン	1	2	3	4
b. 塩素系漂白剤・殺菌剤(「混ぜるな危険」 の表示のあるもの)	1	2	3	4
c. 医療用消毒殺菌剤	1	2	3	4
d. 油性マジック	1	2	3	4
e. 水性ペイント・インクジェットプリンタ	1	2	3	4
f. 有機溶剤(シンナー、試験・分析・抽出用 溶剤、ドライクリーニング用洗浄剤、染み 抜き溶剤、ペイント塗料、除光液(リムー バー)など)	1	2	3	4
g. コピー機、レーザープリンタ	1	2	3	4
h. エンジンオイル	1	2	3	4
i. ホルマリン・ホルムアルデヒド	1	2	3	4
j. 抗がん剤(自分の治療薬は除く)	1	2	3	4
k. 病院で手術や検査に用いる全身麻酔薬	1	2	3	4
l. 殺虫剤	1	2	3	4
m. 除草剤	1	2	3	4
n. 上記以外の、または種類がわからない農薬 *名前がわかれば教えてください ()	1	2	3	4
o. 放射線・放射性物質・アイソトープ	1	2	3	4
p. 微生物	1	2	3	4
q. はんだなど鉛を含む製品	1	2	3	4
r. 無鉛はんだ(鉛フリーはんだ)	1	2	3	4
s. クロム、ヒ素、カドミウム	1	2	3	4
t. 水銀	1	2	3	4
u. 染料(毛髪染め)	1	2	3	4
v. そのほか化学物質などの名前がわかれば教 えてください。()	1	2	3	4

【添付文書5】質問票

質問95 妊娠中、約10キログラム以上の重いもの(胎児の兄弟を含む)をもつことはありましたか?(一つだけ)

- | | | |
|--------|----------------|-----------|
| 1. いいえ | 2. 月1回~月2、3回程度 | 3. 週に1回以上 |
|--------|----------------|-----------|

質問96 妊娠中の住居や職場は騒音でうるさい環境ですか?(一つだけ)

- | | |
|-------|--------|
| 1. はい | 2. いいえ |
|-------|--------|

質問97 妊娠中、冷蔵庫や冷凍庫に出入りしましたか?(一つだけ)

- | | | |
|--------|----------------|-----------|
| 1. いいえ | 2. 月1回~月2、3回程度 | 3. 週に1回以上 |
|--------|----------------|-----------|

質問98 妊娠中、激しく汗をかくような暑い場所で仕事をしましたか?(一つだけ)

- | | | |
|--------|----------------|-----------|
| 1. いいえ | 2. 月1回~月2、3回程度 | 3. 週に1回以上 |
|--------|----------------|-----------|

質問99 妊娠中、振動の強い機械(電動芝刈り機、電動のこぎり等)や乗り物・装置をつかいましたか?(一つだけ)

- | | | |
|--------|----------------|-----------|
| 1. いいえ | 2. 月1回~月2、3回程度 | 3. 週に1回以上 |
|--------|----------------|-----------|

質問100 妊娠中、夜10時以降明け方までの時間帯に仕事をすることがありましたか?(一つだけ)

- | | | |
|--------|----------------|-----------|
| 1. いいえ | 2. 月1回~月2、3回程度 | 3. 週に1回以上 |
|--------|----------------|-----------|

質問101 あなたの最終学歴をお答えください。(一つだけ)

- | | | | |
|---------|-------|---------------|---------|
| 1. 中学 | 2. 高校 | 3. 高等専門学校 | 4. 専門学校 |
| 5. 短期大学 | 6. 大学 | 7. 大学院(修士・博士) | |

質問102 あなたの夫・パートナーの最終学歴をお答えください(一つだけ)

- | | | | |
|---------|-------|---------------|---------|
| 1. 中学 | 2. 高校 | 3. 高等専門学校 | 4. 専門学校 |
| 5. 短期大学 | 6. 大学 | 7. 大学院(修士・博士) | |

質問103 あなたの世帯の年間所得額(税込)を教えてください。(一つだけ)

- | | |
|------------------------|------------------------|
| 1. 200万円未満 | 2. 200万円以上~400万円未満 |
| 3. 400万円以上~600万円未満 | 4. 600万円以上~800万円未満 |
| 5. 800万円以上~1000万円未満 | 6. 1,000万円以上~1,200万円未満 |
| 7. 1,200万円以上~1,500万円未満 | 8. 1,500万円以上~2,000万円未満 |
| 9. 2,000万円以上~ | |

質問104 あなたの世帯で収入を得ている人は何人いますか。

人

J、あなたの重大なライフイベント（できごと）についておたずねします。

質問105 この1年間にあなたにとって下記のようなストレスになるようなできごとはありましたか？（一つだけ）

「2. あった」を選んだ場合、それは右欄のうち、どれにあてはまりますか。
（あてはまるものすべてをお答えください。）

1. なかった 2. あった	1. 親の死亡 2. 配偶者の死亡 3. 子どもの死亡 4. 親の病気 5. 配偶者の病気、けが 6. 子どもの病気、けが 7. 配偶者の解雇 8. 自分の解雇 9. 親しい友人の死亡 10. 巨額の借金 11. 家族構成の変化（祖父母の同居など） 12. 離婚 13. 転居 14. 夫婦間の問題 15. その他（具体的に： _____）
-------------------	--

K、あなたの社会的なつながりについておたずねします。

質問106 連絡可能な人で、あなたに愛情や好意を示してくれる人はいますか？
（一つだけ）

1. 常にはいない	2. いる時もある	3. ある程度いる
4. ほとんどの時にいる	5. 常にいる	

質問107 あなたは、何か問題を相談したり、難しい決断をするのを助けてくれる、精神的な支えとなる人はいますか？（一つだけ）

1. 常にはいない	2. いる時もある	3. ある程度いる
4. ほとんどの時にいる	5. 常にいる	

質問108 あなたは近しいと感じる、信頼できる人と望む程度の連絡をとっていますか？
（一つだけ）

1. 全くとっていない	2. まれにとっている	3. ある程度とっている
4. ほとんどとっている	5. いつもとっている	

質問109 気軽に相談事ができる親族や友人は何人いますか？（一つだけ）

1. いない	2. 1-3人	3. 3、4人以上
--------	---------	-----------

【添付文書5】質問票

質問110 あなたの地域についておたずねします。以下の～の文章について、あなたの考えに最もよくあてはまるもの一つを選んでください。

ご近所の人々は、お互いに信頼し合っている	1. そう思う 2. どちらかというと思う 3. どちらかというと思わない 4. そう思わない
ご近所の人々はお互いに助け合っている	1. そう思う 2. どちらかというと思う 3. どちらかというと思わない 4. そう思わない

質問111 たいていの人々は信頼できると思いますか？ 番号に をご記入ください。
(一つだけ)

たいてい 信頼できる	どちらとも いえない					用心するに 越したことはない			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	

質問112 たいていの人々は他人の役にたとうとしていると思いますか？ それとも自分のことだけ考えていると思いますか？ 番号に をご記入ください。(一つだけ)

他人の役に たとうとしている	どちらとも いえない					自分のことだけ 考えている			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	

質問票(その2)へ

質問票（その2）ご記入のお願い

引き続き、こちらのアンケートにもご回答ください。

本アンケートは、主に調査にご協力いただけるお子さまの健康状態や成長環境、生活状況についてのご質問になります。先のアンケートと同じような質問もございますが、気にせずにご回答ください。

【添付文書 5】質問票

お子さまのイニシャル (ご記入不要)

お子まの ID (ご記入不要)

（ご注意） 回答したくない質問があった場合は、質問番号全体に“二重線”を引いてください。質問項目の中でわからないことばや質問がありましたら、その質問番号に×印をつけてください。

A、調査にご協力いただけるお子さまのご家族やご家庭の状況についておたずねします。あてはまる番号に をつけてください。選択肢がない場合は 内に数字をご記入ください。

質問1 お子さんのお世話を主にされている方について教えてください。(一つだけ)

- 1. お母さま
- 2. お父さま
- 3. 祖母、祖父
- 4. その他 ()

質問2 お子さまは何人と一緒に暮らしていますか？

(お子さまを含めて) 人

質問3 現在、お子さまと一緒に住まいのすべての方に をつけて、 内に人数をご記入ください。

- 1. お父さま
- 2. お母さま
- 3. 兄弟姉妹(お母さまの子供)・・・ 人
- 4. お父さま方の祖父
- 5. お父さま方の祖母
- 6. お母さま方の祖父
- 7. お母さま方の祖母
- 8. お父さまの兄弟姉妹 …………… 人
- 9. お母さまの兄弟姉妹 …………… 人
- 10. その他 …………… 人

質問3-1 「3.兄弟姉妹」を選択された方は、お子さまの年の大きい順番に性別・誕生年月をお答えください。調査に協力されるお子さまに を付けてください。

	性 別	西 暦	お誕生年	年	お誕生月	月	調査されるお子さま
第1子:	(男・女)	西暦	<input type="text"/>	年	<input type="text"/>	月	()
第2子:	(男・女)	西暦	<input type="text"/>	年	<input type="text"/>	月	()
第3子:	(男・女)	西暦	<input type="text"/>	年	<input type="text"/>	月	()
第4子:	(男・女)	西暦	<input type="text"/>	年	<input type="text"/>	月	()

B、お母さまの妊娠や出産に関することについておたずねします。あてはまる番号に をつけてください。選択肢がない場合は□内に数字をご記入ください。

質問4 これまでの妊娠や出産についてお答えください。

- 初めて妊娠した時の年齢はいくつですか □□ 歳
- 経膈分娩 □□ 回
- 帝王切開分娩 □□ 回
- 子宮外妊娠 □□ 回
- 自然流産の回数 □□ 回 (うち連続流産 □□ 回)
- 人工流産(中絶)の回数 □□ 回

質問5 調査に協力いただけるお子さまの妊娠の際、不妊治療を受けられましたか？(一つだけ)

1. はい (質問 5-1 へ)	2. いいえ (質問 6 へ)
------------------	-----------------

↓

質問 5-1 質問 5 で「1.はい」を選択された方は不妊治療の内容を教えてください。(あてはまるものすべてに)

1. 排卵誘発剤	2. 人工授精	3. 体外受精
4. 体外受精(胚盤胞移植)		

質問6 調査に協力いただけるお子さまの妊娠の際、あなたに以下のような状況がありましたか？(あてはまるものすべてに)

1. 心臓病	2. 高血圧症	3. 糖尿病
4. 妊娠中毒症 5. その他()		

質問7 調査に協力いただけるお子さまの妊娠中、特に意識して食べない・飲まなかったものはありますか？(あてはまるものすべてに)

1. 牛乳・乳製品	2. 卵	3. 大豆
4. 魚	5. 牛肉	6. ピーナッツ
7. その他(具体的に:) 8. 特にない		

質問8 調査に協力いただけるお子さまの妊娠中、薬を飲んだり、注射・点滴を受けていたりしていませんか？(一つだけ)

1. はい	2. いいえ
-------	--------

↓

質問 8-1 どのような薬・注射を、いつ頃、受けましたか

薬		妊娠	□□	週	~	□□	週
薬		妊娠	□□	週	~	□□	週
薬		妊娠	□□	週	~	□□	週

【添付文書5】質問票

質問9 調査に協力いただけるお子さまの妊娠中、食事をめくなどダイエットをした時がありますか？（一つだけ）

1. はい	妊娠 <input type="text"/> <input type="text"/> 週 ~ <input type="text"/> <input type="text"/> 週の頃	2. いいえ
-------	--	--------

質問10 調査に協力いただけるお子さまの妊娠中、飲酒をしていましたか？（一つだけ）

1. はい	妊娠 <input type="text"/> <input type="text"/> 週 ~ <input type="text"/> <input type="text"/> 週	2. いいえ
-------	--	--------

質問11 調査に協力いただけるお子さまの妊娠中、あなたは喫煙をしていましたか？

1. はい	2. いいえ
-------	--------

質問 11-1 どのくらいの期間ですか 妊娠 週 ~ 週

質問 11-2 どのくらい頻度、本数ですか 1. 時々 本 2. 毎日 本

質問12 調査に協力いただけるお子さまの妊娠中、あなたは、家の中、外出先の屋内で、他の人が吸ったタバコの煙を吸い込む機会がありましたか？（一つだけ）

1. あった	2. ほとんどなかった
--------	-------------

質問 12-1 それはどのくらいの頻度でしたか 週に 日くらい

質問 12-2 そのような場合、他の人が吸ったタバコの煙を、あなたが吸う時間は1日のうち、どれくらいでしたか。 1日に 時間くらい

質問13 調査に協力いただけるお子さまの妊娠中、家屋のリフォームや、新築家屋への引っ越しなどしましたか。

1. はい	2. いいえ
-------	--------

質問 13-1 リフォーム 妊娠 週 ~ 週

引っ越し 妊娠 週頃

質問14 調査に協力いただけるお子さまの妊娠中、ペットを飼っていましたか。

1. はい	2. いいえ
-------	--------

質問 14-1 ペットの種類 家屋の（1.内 2.外） 妊娠 週 ~ 週

ペットの種類 家屋の（1.内 2.外） 妊娠 週 ~ 週

質問15 調査に協力いただけるお子さまの妊娠中、お仕事をされていましたか。

1. はい	2. いいえ
-------	--------

質問 15-1 どのような仕事ですか。具体的にお書きください。

<input type="text"/>

いつからいつまでですか。 妊娠 週 ~ 週

【添付文書5】質問票

質問16 調査に協力いただけるお子さまの妊娠中、毎月1回以上、次のもの(a.~u.)をご自分で扱いましたか？ お仕事で、半日以上かけて扱った回数を教えてください。例にしたがって、あてはまる番号1つに を付けてください。

	1. いいえ	2. 月1回~月 2、3回程度	3. 週に1回以上	4. 毎日
例) 灯油・石油・ベンジン・ガソリン	1	2	3	4
a. 灯油・石油・ベンジン・ガソリン	1	2	3	4
b. 塩素系漂白剤・殺菌剤(「混ぜるな危険」の表示のあるもの)	1	2	3	4
c. 医療用消毒殺菌剤	1	2	3	4
d. 油性マジック	1	2	3	4
e. 水性ペイント・インクジェットプリンタ	1	2	3	4
f. 有機溶剤(シンナー、試験・分析・抽出用溶剤、ドライクリーニング用洗浄剤、染み抜き溶剤、ペイント塗料、除光液(リムーバー)など)	1	2	3	4
g. コピー機、レーザープリンタ	1	2	3	4
h. エンジンオイル	1	2	3	4
i. ホルマリン・ホルムアルデヒド	1	2	3	4
j. 抗がん剤(自分の治療薬は除く)	1	2	3	4
k. 病院で手術や検査に用いる全身麻酔薬	1	2	3	4
l. 殺虫剤	1	2	3	4
m. 除草剤	1	2	3	4
n. 上記以外の、または種類がわからない農薬 *名前がわかれば教えてください ()	1	2	3	4
o. 放射線・放射性物質・アイソトープ	1	2	3	4
p. 微生物	1	2	3	4
q. はんだなど鉛を含む製品	1	2	3	4
r. 無鉛はんだ(鉛フリーはんだ)	1	2	3	4
s. クロム、ヒ素、カドミウム	1	2	3	4
t. 水銀	1	2	3	4
u. 染料(毛髪染め)	1	2	3	4
v. そのほか化学物質などの名前がわかれば教えてください。()	1	2	3	4

質問17 お子さまのご両親のアレルギーについて伺います。

それぞれに、該当するものに を付けてください。いくつでも。

	喘息	アトピー性皮膚炎	アレルギー性鼻炎 (花粉症など)	アレルギー性結膜炎 (花粉症など)	食物アレルギー	じんましん	なし
お母さま	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
お父さま	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.

C. 調査に協力いただけるお子さまについておたずねします。あてはまる番号に をつけてください。選択肢がない場合は 内に数字をご記入ください。

質問18 出生時について教えてお尋ねします。

質問18-1 出生は何週令でしたか 週

質問18-2 出生時体重はいくらでしたか . k g

質問18-3 出生時身長はいくらでしたか . c m

質問18-4 出生時頭囲はいくらでしたか . c m

質問18-5

1. 経膣分娩	2. 帝王切開分娩
---------	-----------

質問18-6 出生時に以下のような状況がありましたか。あったもの全てに をしてください。

1. 遷延分娩	2. 早期破水	3. 胎盤早期剥離
4. 臍帯巻絡	5. 新生児黄疸	6. その他 ()

質問19 出生直後に以下のような状況がありましたか。

1. 仮死状態	2. 呼吸困難	3. 新生児特定集中治療室に入った
4. 新生児黄疸	5. その他 ()	

質問20 授乳の状況についておたずねします。

質問20-1 母乳を飲んだ期間を教えてください。 ヶ月 ~ ヶ月

質問20-2 人工栄養(粉ミルク)を飲んだ期間を教えてください。

ヶ月 ~ ヶ月

以下は、質問20-2 で人工栄養(粉ミルク)を使った方だけお答えください。

質問20-3 人工栄養(粉ミルク)は、どのような物でしたか

1. 普通ミルク	2. アレルギー用ミルク	3. 特殊ミルク
----------	--------------	----------

質問20-4 人工栄養(粉ミルク)を溶いたのはどれですか。主なものを1つ選んでください。

1. 水道水(浄水器を通さない)	2. 水道水(浄水器を通す)
3. 井戸水(浄水器を通さない)	4. 井戸水(浄水器を通す)
5. 市販のボトル入り飲料水	6. その他 ()

【添付文書5】質問票

質問21 離乳食についてお聞きします。

質問21-1 離乳食を始めたのはいつからですか。

(ここでいう離乳食には果汁やおもゆも含めます。) 生後 ヶ月頃から

質問21-2 お子さんは、以下の食べ物とこれらを含む食品(原材料の一部に含むもの)をいつから食べ始めましたか

	6か月以前	7~8ヶ月	9~10ヶ月	11~12ヶ月	1歳~1歳半	1歳半以降
米 (おかゆ、せんべいなどを含む)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
小麦 (うどん、パンなど)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
大豆 (豆腐、納豆など)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
くだもの、果汁(しぼり汁、ジュースなど)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
牛乳 (ヨーグルト、チーズなど)粉ミルク除く	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
鶏卵 (卵ボール、パンなどを含む)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
白身魚 (たら、かれい等)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
赤身魚 (マグロ、鮭、かつお節など)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
青魚 (いわし、さんま等)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
鶏肉 エキス類は除く	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
豚肉 エキス類は除く	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
牛肉 エキス類は除く	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
ピーナッツ	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
そば	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
えび・かに	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

質問22 普通食(大人とほぼ同じ食事)を始めたのはいつ頃からですか。

生後 歳 ヶ月頃から

質問23 今までに、授乳、離乳食、普通食を飲食した後、1時間から数日間に何らかの症状が出たことがありますか。

1. 症状が出たことがある 2. 症状が出たことはない

質問23-1 どんな症状でしたか? あてはまるものを全て選んでください。

1. じんましんや皮膚のかゆみ 2. 顔や唇のむくみ・腫れ 3. 顔色が悪くなった
 4. 意識がなくなった 5. せきが出た 6. ぜーぜーした 7. けいれんした
 8. 吐いた 9. 下痢をした 10. ぐったりした 9. その他()

【添付文書5】質問票

c. 感染症

1. 上気道炎（咽頭炎、かぜなど） 2. 肺炎・気管支炎 3. 髄膜炎 4. 脳炎・脳症
5. 心筋炎 6. 細菌性心内膜炎 7. 肝炎 8. 急性虫垂炎（もうちょう）: 手術した
9. 尿路系感染症（ぼうこう炎など） 10. 中耳炎 11. 突発性発疹 12. 手足口病
13. ヘルパンギーナ（夏かぜ） 14. 嘔吐性下痢症（ウイルス性胃腸炎） 15. インフルエンザ
16. RSウイルス感染症 17. アデノウイルス感染症（咽頭結膜熱、プール熱）
18. カンジダ症 19. ヘルペス感染症 20. 風疹（三日ばしか） 21. 麻疹（はしか）
22. 水痘（水ぼうそう） 23. 流行性耳下腺炎（おたふくかぜ） 24. 百日咳
25. 溶連菌感染症 26. その他（ _____ ）

d. 神経・発達の病気

1. 精神運動発達障害 2. 脳性麻痺 3. 熱性けいれん 4. てんかん 5. その他

e. ホルモン・代謝の病気

1. 糖尿病 2. 成長ホルモンの病気 3. 甲状腺機能の病気 4. その他

f. 心臓の病気

1. 心筋症 2. 不整脈 3. その他

d. 腫瘍などの病気

1. 白血病・血液腫瘍 2. 脳腫瘍 3. 神経芽細胞腫 4. その他

e. 外傷（けがなど）

1. 熱傷（やけど） 2. 頭部打撲（転倒・転落など） 3. 骨折（どの骨ですか _____）
4. 異物誤嚥、誤飲（食べ物以外の物を間違えて飲み込むこと） 5. 溺れる
6. 怪我（どのような怪我ですか： _____）

質問27 病気やけがで入院したことがありますか？

1. はい 2. いいえ

質問 27-1 いつ頃に、どのような理由（病気やけが）で、ですか？

- 歳 ヶ月頃 理由： _____
 歳 ヶ月頃 理由： _____
 歳 ヶ月頃 理由： _____

質問28 この1ヶ月のお子さまの健康状態はいかがでしたか？

1. 良い 2. まあ良い 3. ふつう 4. あまり良くない 5. よくない

E. お子さまの生活状況についておたずねします。あてはまる番号に をつけ、 内にあてはまる数字をご記入ください。

質問29 お子さまが、寝床（ベッドや布団）に入って眠ろうとする（消灯する）時刻は平均して何時頃ですか？ 時・分を記入してください。

午前・午後（ で囲む） 時 分

質問30 お子さまの、平均的な起床時刻は何時頃ですか？ 時・分を記入してください。

午前・午後（ で囲む） 時 分

質問31 お子さまは、昼寝（夜の就寝以外）をしますか？ それは合計どのくらいですか？

一日に平均 時間 分間くらい

質問32 お子さまが、夏の日中（9時から17時） だいたいどのくらい屋外で遊んでいましたか？

一日の平均 時間 分間くらい

質問33 お子さまは、何か習い事をしていますか？

1. はい	2. いいえ
-------	--------

質問33-1 どのような習い事にどのくらい通っていますか。

	具体的に（水泳、バレエ、ピアノ、絵画など）	頻度
身体を動かす習い事	（ <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> ）	月に <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 度
	（ <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> ）	月に <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 度
音楽	（ <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> ）	月に <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 度
	（ <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> ）	月に <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 度
学習・その他	（ <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> ）	月に <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 度
	（ <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> ）	月に <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> 度

質問34 お子さまの飲食について、ほぼ毎日食べているものを選んでください。

1. 朝食 2. 午前のおやつ 3. 昼食 4. 午後のおやつ 5. 夕食
6. 夜のおやつないし夜食

質問35 お子さまは、一週間に平均何回、お風呂（バスタブ）に入りますか？

回

質問36 お子さまは、一週間に平均何回、お湯につからずにシャワーのみ浴びますか？

回

質問37 お風呂やシャワーの時に石けん（液体ソープを含む）使いますか？

- | | | | |
|---------|-----------|-----------|-------------|
| 1. 毎回使う | 2. だいたい使う | 3. ときどき使う | 4. ほとんど使わない |
|---------|-----------|-----------|-------------|

Exposure to heavy metals among women, neonates and young children in Japan and Pakistan: food duplicate risk assessment study

[Pakistan component]

Investigators:

Faculty:

Fujio Kayama, Jichi Medical University.

Takahiko Yoshida, Asahikawa Medical University.

Keiko Nohara, National Institute of Environmental Studies.

Zafar Fatmi and M. Masood Kadir, Division of Environmental Health Sciences, Department of Community Health Sciences, Aga Khan University.

Students: Aneeta Khoso and Adeel Khan, Aga Khan University.

20 August, 2013

Collaboration between Jichi Medical University & Asahikawa Medical University, Japan and Division of Environmental Health Sciences, Department of Community Health Sciences, Aga Khan University

Objectives:

- To determine the total exposure of arsenic and lead among children, newborn and pregnant women in urban and rural population of Pakistan.
 - Determine the source and proportion of exposure for lead from food and air (source apportionment).
- To validate the food frequency questionnaire with the food group eaten by urban and rural population.
- To determine the biomarker of effects (searching for new biomarkers of effects).
 - Epigenetic difference in cord bloods due to exposure to heavy metals.

Comparison studies:

- To compare heavy metal (arsenic and lead) exposure (total intake) among urban and rural population in Pakistan.
- To compare the biomarkers of effects (as above) among and between Pakistani and Japanese population with the differential exposure.

Introduction:

Metals and elements in food are of interest because of their potentials on human health risk. Some are known to be harmful to health (1). Lead is a known neurotoxin, particularly for young children. Its exposure during pregnancy and early childhood is harmful for neuropsychological development of the children (2). Inorganic arsenic is human carcinogen. Several non-carcinogenic adverse health effects of arsenic have also been identified (3, 4). Arsenic is not mutagenic, however affect the genes through epigenetic mechanism. While some other elements, such as copper, chromium, selenium and zinc are essential to health but they may be toxic at high levels of exposure. Heavy metals (arsenic and lead) exposure in food and also through air pollution lead to long term health effects among those exposed to these in their childhood. Lead is still the leading heavy metal with the highest global burden, especially for developing countries like Pakistan (5, 6). The underground water in Pakistan is heavy contaminated with Arsenic. The same water is used for agriculture and lead to further exposure through vegetable and fruits (7).

The health risk of heavy metals can be assessed by comparing estimates of dietary exposures with the Provisional Tolerable Weekly Intakes (PTWIs) and Provisional Maximum Tolerable Daily Intakes (PMTDIs) recommended by the FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA) as a part of the United Nations.

Malnutrition including under and over nutrition is an enormous public health problem worldwide, particularly in developing countries. Malnourished pregnant women and young children have devastating health effects in the shape of immediate and future burden of diseases. Malnutrition has several level of determinants from food production and agriculture to availability, cost and access to food, and also most importantly the choice and preparation/cooking of food. All of the above lead differential distribution of calorie intake, macro and micronutrient availability in the food.

Therefore, it is imperative to know the calorie intake, macronutrients distribution and its proportion in the local cuisine. Food frequency questionnaires (FFQ) are often used to determine the calories, macro and micronutrients in the food, based on recall. However, FFQ is subjective in nature and has its limitation in nutritional assessment (8). Food basket surveys and market basket surveys has also been done (9, 10). Also, even if the food types, amount and frequency is reliably recalled, the processing (cooking) of food itself make changes which are beyond assessment by FFQ and food basket surveys.

Therefore, it is important to have an objective assessment of calorie intake, macro and micronutrient intake, especially for pregnant women and young children. The information will not only do the objective assessment of intake of calories, macro and micronutrients among pregnant and breastfeeding women and children in Pakistan but provide intervention options for improving nutritional status for the most vulnerable and important population subgroup where the burden of malnutrition is the largest.

Lead levels in environment and exposure is steadily decreasing in Pakistan. However, it is still very high from the health standards (11, 12). Millions of people living along river Indus are affected by arsenic through drinking groundwater. Total intake assessment of heavy metals such as arsenic in rural population and lead in urban areas among children and breastfeeding mothers in Pakistan will determine the future burden of disease among the population. All of this information may lead to policy formulation regarding food and heavy metal monitoring in Pakistan.

Materials and Methods:

Study site: The study will be conducted at two sites in Pakistan (an urban location in Karachi and a rural Gambat taluka, Khairpur, province of Sindh, Pakistan).

Karachi is a megacity and the population is exposed to high levels of lead due to air and soil pollution. The population living along River Indus is exposed to high level of arsenic through underground drinking water.

Study population: Three individuals of the same family will be recruited, including:

- Women
- Newborn (1-3 months old), and
- Young child (2-5 year old)

Sample size: A total of 100 families, 50 each from urban and rural location will be recruited for sampling. A small sample of 25-30 individuals, are appropriate for objective exposure assessment studies. Our sample of 50 at each location will also allow any subgroup analysis of high and low exposed population.

[Note: A total of 100 (50 each in Northern Japan – under Asahikawa Medical University - and Central Japan – Jichi Medical University) families will be recruited for comparative studies].

Samples and Sampling Methods:

1. Biological samples:

- Hair samples: A sample 60-100 hairs from different places from the scalp base will be collected from the women for determining arsenic and lead exposure.

Collection method: Hair samples will be collected by using gloves and will be kept in arsenic-free polyethylene bags with zip-lock before analysis.

- Nail samples: All nails of both palms and soles. We will determine arsenic and lead levels for exposure assessment.

Collection method: Nail samples will be collected using gloves and kept in arsenic-free polyethylene bags with zip-lock before analysis.

- Placenta: It will be collected at the time of delivery. A sample of placenta will be cut (measuring 1x1 in diameter) from the fetal side and will be kept in polythene arsenic-free bags with zip-lock.
- Blood of pregnant women: 5ml blood will be collected by venipuncture.
- Cord blood for newborn: 8 ml blood will be collected from the cord.
- Blood of young child (sibling) (2-5 years old): 5 ml blood will be collected by venipuncture.
- Urine of breastfeeding women: Morning void urine samples of the breastfeeding women (60 ml) will be collected.
- Breast milk as newborn feed: One time breast milk sample of 30-50 ml will be collected for measurement of persistent organic pollutants (POPs), lead and arsenic.

2. Food duplicate samples:

Food duplicates for three-days for the young child (2-5 year old), breastfeeding women and one-time breast milk (as food duplicate for newborn) will be collected from the family. 'Food duplicate' means the same amount of duplicate food which is eaten by the individuals.

Collection method: Solid food will be collected for breakfast, lunch, dinner and snack in steel (arsenic and lead-free) containers separately for mother and child. Liquid food and water (total drinking water) will also be separately collected in plastic bottles for both child and mother.

- ### 3. Air and dust samples:
- Dust and air samples will be collected for 24 hours from the living rooms of the child (where the child spends most of his time in the home).

Collection method: Dust will be collected for one day using vacuum cleaners. Air samples will be collected using low-volume samplers on 47mm glass filters.

4. Water sample: A sample of first-run tap or well water will be collected from the drinking water source for the household.
5. Lead contents in household items: Lead levels in household utensils, paint, dust, toys and furniture will be measured using Niton handheld XRF analyzer. Spot samples will be collected. Correlation between lead levels in household items and food lead and blood levels will be done.

Sampling procedures in a household:

A total three days will be spent and sampling will be done in one household (Day 0 to Day 2). An additional day (Day 3) will be kept for correction for any error in sampling. Sampling will be done on weekdays for three consecutive days. Sampling will not be done on any holiday.

Day 0: The sampling will start at 10:00 am in the morning. The monitoring time would be the same for each household. One-hour variation in start time is acceptable for different households. A total of 72 hours of drinks and food would be collected for the study subjects starting 10:00 am.

During the first visit, consent will be taken from the mother and assent for the child. The study objectives and sampling details will be explained to the mother. Mothers will be advised about the food diary and keeping records of food and drinks taken by her and the child. Sampling utensils will be provided to the mother with ice-box for keeping the food and drinking samples. Urine sample container will also be provided to the mother to collect it the following morning. Incentives for cooperation and for the provision of food duplicate will be explained to the mother and provided during the last visit.

Tap or well water samples (500 ml) will be collected in a separate container. Air sampling will be explained and air sampler will be installed during the first visit in the house for 24 hours.

Dietary History Questionnaire (DHQ) and Food Frequency Questionnaire (FFQ) will be administered to the mother and young child during the first visit.

Day 1: All food samples for Day 0 will be collected in the morning during the second visit and utensils will be provided for second day. Morning void urine sample will also

be collected. Air samples and equipment will be collected from household. Food diary will be checked and completed with the help of the mother.

Day 2: All food samples for Day 1 will be collected in the morning during the third visit to household and utensils for Day 2 will provide. Food diary will be checked and completed with the help of the mother.

Day 3: All food samples for Day 2 will be collected in the morning during the fourth visit to the household. Food diary will be checked and completed.

Any error in sampling will be corrected by doing an additional day of sampling.

Sample measurement and processing (field and laboratory):

Weighing and measurement of food items: Solid food items will be categorized into common food groups and weighed. Liquid food intake will be measured in liters.

Food sample processing: All food samples will be brought to a hired kitchen in ice-box and will be processed daily. All solid food will be broken into small pieces with the help of food processor and will be grinded using a grinder. [Note: Only eatable parts of the solid food will be grinded and the rest will be discarded. For example bones, seeds of fruits etc. will be discarded]. All liquid food will also be mixed with the solid food and grinded together. The whole sample will be poured into big mixture tank for homogenization. A sample of 35-40 ml will be collected in duplicate in sterile arsenic-free bottles, for Japan and Pakistan, after stirring the paste to make it homogenous.

Sample for freezing and dispatch: All samples will be kept frozen at -20 °C in a refrigerator before dispatch.

Laboratory analysis:

Laboratory analysis for As and Pb levels for all the samples will be conducted at Jichi Medical University in Japan.

Exposure measurement for arsenic (As) and lead (Pb) will be conducted using atomic absorption spectrophotometry (AAS) Non-radioactive isotope profiles of Pb in house dust and food duplicates and the biological samples from some subjects will also be analyzed for Pb source apportionment.

To assess body burden of As and Pb will be conducted by measuring the metal concentrations in the biological samples such as hairs, nails, blood, breast milk and urine. Whole blood and placenta samples will be processed to extract DNA using Qiagen kits.

Urine samples will also be analyzed for 8-OHdG concentration and Delta aminolevurinic acid concentration.

Statistical analysis:

The analysis will be done based on the following objectives:

- To determine the health effects due to arsenic and lead exposure
- To determine correlation between surma use of mother and child and blood lead levels of mother and child.
- To determine correlation between utensils, household dust, paint, toys and blood lead levels of mother and child.
- To determine the effect of arsenic and lead on child development (follow-up of the cohort using Bayley's scale).
- To determine the total sodium intake of young child, newborn and pregnant women.

References:

1. Domingo JL, Perelló G, Giné Bordonaba J. Dietary Intake of Metals by the Population of Tarragona County (Catalonia, Spain): Results from a Duplicate Diet Study. *Biol Trace Elem Res.* 2012;146(3):420-5.
2. Lanphear BP, Hornung R, Ho M, Howard CR, Eberly S, Knauf K. Environmental lead exposure during early childhood. *J Pediatr.* 2002;140(1):40-7.
3. Kapaj S, Peterson H, Liber K, Bhattacharya P. Human Health Effects From Chronic Arsenic Poisoning—A Review. *J of Env Science and Health.* 2006;41(10).
4. Schuhmacher-Wolz U, Dieter HH, Klein D, Schneider K. Oral exposure to inorganic arsenic: evaluation of its carcinogenic and non-carcinogenic effects. *Crit Rev Toxicol.* 2009;39(4):271-98.
5. Kadir MM, Janjua NZ, Kristensen S, Fatmi Z, Sathiakumar N. Status of children's blood lead levels in Pakistan: implications for research and policy. *Public Health.* 2008;122 (7):708-15.
6. Iqbal MP. Lead pollution – A risk factor for cardiovascular disease in Asian developing countries. *Pak J Pharm Sci.* 2012;25(1):289-94.
7. Fatmi Z, Abbasi IN, Ahmed M, Kazi A, Kayama F. Burden of skin lesions of arsenicosis at higher exposure through groundwater of taluka Gambat district Khairpur, Pakistan: a cross-sectional survey. *Environ Geochem Health.* 2013;35(3):341-6.
8. Hedrick VE, Dietrich AM, Estabrooks PA, Savla J, Serrano E, Davy BM. Dietary biomarkers: advances, limitations and future directions. *Nutrition Journal.* 2012;11(109).

9. Schechter A, Päpke O, Harris TR, Tung KC, Musumba A, Olson J, et al. Polybrominated diphenyl ether (PBDE) levels in an expanded market basket survey of U.S. food and estimated PBDE dietary intake by age and sex. *Environ Health Perspect.* 2006;114(10):1515-20.
10. Zahir E, Naqvi IM, Mohi Uddin S. Market basket survey of selected metals in fruits From Karachi city (Pakistan). *J basic appl sci.* 2009;5(2):47-52.
11. Rahbar MH, White F, Agboatwalla M, Hozhabri S, Luby S. Factors associated with elevated blood lead concentrations in children in Karachi, Pakistan. *Bull World Health Organ.* 2002;80:769-75.
12. Kadir MM, Janjua NZ, Kristensen S, Fatmi Z, Sathiakumar N. Status of children's blood lead levels in Pakistan: implications for research and policy. *Public Health.* 2008;122(7):708-15.

Sub-Agreement

**(Health Science Research Grant from Ministry of Health, Labor and Welfare
Japan: Grant Title; Health risk assessment of dietary intake of lead and arsenic)**

This Sub-Grant Agreement (“Sub-Agreement”) is made on a collaborative research project between **Jichi Medical University**, (Jichi Medical University is a private university in Shimotsuke, Tochigi, Japan, **Address:** 3311-1 Yakushiji, Shimotsuke, Tochigi Prefecture 329-0498, Japan. **Phone:** +81 285-44-2111) (hereinafter referred to as "JMU") of the one part and Aga Khan university, a body corporate, established under the laws of Pakistan by virtue of President Order No. 3 of 1983, having a campus at Stadium Road, Karachi, Pakistan (hereinafter referred to as "the AKU") of the other part.

WHEREAS, under the Ministry of Health, Labor and Welfare, Japan (hereinafter referred to as “MHLW”) a grant was awarded to JMU in pursuance of a proposal and JMU is further awarding a grant to AKU in this regard to do work as defined in the scope of work attached as Annexure A.

AND WHEREAS, the AKU has agreed to perform the work required to be performed by the AKU for the purposes of the Project and as specified and described in the proposal.

NOW THEREFORE the parties agree to enter into this Grant Agreement on the following terms and conditions:

1. Scope of Work and Remuneration

The AKU shall perform work as specified and particularly described in the annexure A and for performing such work JMU will pay to the AKU a maximum amount of ¥714,600 (hereinafter referred to as the "Grant Funds"). AKU shall carry out work between the period 01 January, 2014 to 31st March, 2014 and Grand Funds to be disbursed by JMU to the AKU shall be in line with the Budget Annexed herewith and marked as Annexure "B". It is agreed that the AKU shall ensure that all the work required to be performed by the Sub recipient as per the proposal, shall be performed in a manner as set out in the proposal and/or under this Agreement.

Deliverables receiving date	Payment Schedule	Contingent Upon
	¥714,600	100% within 30 days of signing of the agreement and upon submission of an invoice by the AKU
Total	¥714,600	

AKU to fill the Bank Wire Transfer Information form (Annexure "D") attached along with this Agreement and send to JMU.

2. Reporting

AKU is required to submit brief technical reports to JMU specifying the work done upto the point of that deliverable and submitting an invoice of the amount due. Reports should be submitted electronically to the attention of Dr. Fujio Kayama via email (kayamaf@jichi.ac.jp) and (Mrs. Kyoko Isaoka) via email (keiri3@jichi.ac.jp) as per above deliverables table.

AKU also agrees to submit such other reports as JMU may reasonably request from time to time.

3. Record Maintenance and Inspection:

The AKU agrees to maintain adequate records for the Project (both technical and financial) and shall make them available to JMU (physically or electronically), as and when required, to enable it to easily determine how the Grant Funds were expended. All expenses should be based on the approved budget. The Foundation and/or JMU reserve the right to disallow inappropriate expenses or those not relevant to the Project. All records and systems should be maintained on generally accepted International Accounting Standards prevailing in the country of AKU.

4. Indemnity:

a. AKU will indemnify JMU, its directors, trustees, officers, employees, contractors, staff, and agents for any and all damages, costs, expenses and other liabilities, including reasonable attorney's fees and court costs, arising out of the AKU's performance of the Services to the extent that any such claim is caused by its negligence, recklessness, willful misconduct, failure in performing its obligations, or any breach of any warranty or representation under this agreement.

b. JMU will indemnify the AKU, its directors, trustees, officers, employees, contractors, and agents for any and all damages, costs, expenses and other liabilities, including reasonable attorney's fees and court costs, to the extent that any such claim is caused by JMU's negligence, recklessness, willful misconduct, failure in performing its obligations, or any breach of any warranty or representation under this Sub-agreement. JMU also agrees to indemnify AKU for any defects in any sample as mentioned in the Materials Transfer Agreement. The material is of an experimental nature and is provided without warranty of fitness for any purpose, or any other warranty or representation, whether express or implied.

5. Approvals and standards:

AKU will obtain all the necessary approvals from its relevant Governing Body and its ethical review committee. JMU also warrants that it has obtained approvals from its necessary Governing bodies regarding this project and grant.

6. Use of Grant Funds:

Grant Funds shall be used for the purposes of the scope of work stipulated under this Agreement. JMU will pay fixed amounts at the completion of each deliverable and this amount of (state amount) will not be exceeded in any circumstances except by written consent of JMU.

7. Political Campaign / Lobbying Activity:

Grant funds shall not be used by the AKU to influence the outcome of any election for public office or to carry on any voter registration drive. There is no agreement, oral or written, permitting the Grant funds to be directed to or earmarked for lobbying activity or other attempts to influence local, state, federal, or foreign legislation. AKU's strategies and activities, and any materials produced with grant funds, will comply with applicable local, state, federal, or foreign lobbying law. AKU agree to comply with lobbying, gift and ethics rules applicable to the Project under local, state, federal or foreign law.

8. Assignment:

This Agreement or any of the rights or obligations under this Agreement shall not be assigned without JMU's prior written consent. An assignment includes (a) any transfer of the Project or any part thereof: (b) an assignment by operation of law, including a merger or consolidation, or (c) the sale or transfer of all or substantially all of AKU's assets. This assignment does not include outsourcing non-research related activities to third parties eg. Transportation related to the project.

9. Force Majeure:

Both parties understand and agree not to hold any other party responsible and accountable in case either party fails to fulfill its obligations and responsibilities because of reasons including Acts of God, war, floods, terrorism, riots, government restriction or such other reason being beyond the control of either Party.

10. Disputes:

In the event of any controversy or claim arising out of or relating to any provision of this Sub-Agreement or any breach thereof, the parties will try to settle such conflict amicably between themselves. Further they may resort to arbitration if things are not settled bilaterally.

11. Intellectual Property Rights:

Both AKU and JMU will promptly disclose to each other all inventions, discoveries, improvements, designs, processes, formulations, products, computer programs, works of authorship, databases, mask works, trade secrets, and know how (whether or not patentable or subject to copyright or trade secret protection) first conceived or reduced to practice during the performance of the services under this Sub-Agreement. The ownership of any of the aforesaid intellectual property rights created jointly during the performance of this Agreement, shall vest jointly between JMU and AKU. The parties will jointly file application for the purposes of seeking protection and/or registration of the intellectual property rights created during the performance of this Sub-Agreement and the cost for seeking such protection and/or registration shall be borne jointly by the parties in equal proportion. The ownership of any of the aforesaid intellectual property rights created solely by AKU during the performance of this Sub-Agreement, shall vest in the AKU. The ownership of any of the aforesaid intellectual property rights created solely by JMU during the performance of this Sub-Agreement, shall vest in JMU.

12. Publication

AKU and its investigators shall be free to publish, present or use any of the results arising from the performance of the Research under this Sub-Agreement for their own instructional, research or publication objectives, provided that such use does not

disclose any of JMU's Confidential Information as described in ARTICLE 15 hereof other than as required to communicate an scientifically appropriate description of the methods and results of the Research. This publication also allows identification of JMU as a part of the publication process. At least thirty (30) days prior to submission of any publication or presentation the AKU and the Investigator shall submit any proposed publication or presentation to JMU for review and comment. Expedited reviews for abstract presentations may be arranged if mutually agreeable to the parties. Upon notice of JMU to the AKU that JMU reasonably believes that patent applications should be filed prior to any publication, then publication will be delayed until such applications have been filed the delay not to exceed 90 days unless by mutual agreement of JMU, the AKU and the AKU's Project Director. Except as specifically agreed to in this Agreement, neither party will use the other party's name in for advertising, for other commercial purposes, or otherwise, without appropriate written permission, unless required by law or government regulation.

13. Confidentiality:

Except with the prior written consent of JMU, the AKU shall ensure that it will not at any time communicate to any third party any confidential information disclosed to the AKU for the purposes of this Sub-Agreement or discovered by the AKU in the course of the work performed under this Sub-Agreement nor shall the AKU make public any information as to the recommendation formulated in the course of or as a result of work performed under this Sub-Agreement. The information required to be kept confidential includes amongst others the information pertaining to JMU, Foundation and their respective staff, employees, faculty etc as well as well as any data relating to the subjects or their medical tests or their results thereof that the AKU may come across during the completion of its activities under this Sub-Agreement.

Since the services involve substances or materials supplied by AKU (hereinafter referred to as "AKU's Materials"), the JMU agrees to treat AKU's Materials and all information concerning AKU's Materials as Information. JMU will return all unused AKU's Materials to AKU at the completion of the Services, except samples which it can destroy as per mutual agreement between AKU and JMU. AKU agrees to provide the JMU all Information in its possession concerning AKU's Materials that is reasonably necessary for safe and proper handling of AKU's Materials for performance of the Services.

14. Termination:

If (a) JMU is not reasonably satisfied with AKU's performance under this Agreement or the content of any written report from AKU as required under this Grant Agreement, or (b) AKU fails to comply with any term or condition of this Agreement, JMU has the right at its discretion to terminate this Agreement. Due intimation will be provided by JMU to AKU and proportionate payment will be made for deliverables already provided by AKU.

15. Entire Agreement; Amendment.

This Sub-agreement constitutes the entire agreement and supersedes any prior oral or written agreements or communication between the two parties regarding its subject matter. The provisions of this Sub-agreement are severable so that if any terms or provision is found for any reason to be invalid, illegal, or unenforceable, such finding shall not affect the validity, construction, or enforceability of any remaining terms or provision. This Sub-agreement may be amended or modified only by a mutual written agreement (modification) of the parties.

16. Warranty Disclaimer and Limitation of Liability

Except for a party's indemnification obligations above and obligations regarding Information, in no event will either party's liability to the other for any costs, expenses, or damages, regardless of the form of action, whether based on contract, tort, negligence, strict liability, products liability or otherwise, ever exceed the amount paid to the AKU hereunder. Under no circumstances will either party be liable to the other for loss of use or profits or other collateral, special, consequential or other damages, losses, or expenses.

IN WITNESS WHEREOF, the Parties have signed and subscribed to this Sub-agreement through their authorized representatives.

FOR AND ON BEHALF OF AKU
UNIVERSITY

FOR AND ON BEHALF OF JMU

{Name of Authorized Signatory}
{Title}

{Name of Authorized Signatory}
{Title}

AKU'S INVESTIGATOR

JMU'S INVESTGATOR

Dr Zafar Fatmi
Associate Professor
Department of Community Health Sciences

Dr Fujio Kayama
Professor
Department of Environmental &
Preventive Medicine, School of
Medicine

ANNEXURE A

Following is a brief outline of the scope of work of the AKU:

- Provide technical and logistic support on ground in Pakistan for facilitation of the overall study objectives.
- Collect process and store specimens before shipping to JMU, of food for three days from 50 households each from urban and rural location (for women, her newborn and young child under-5 years) (as described in the proposal).
- Collect process and store specimens before shipping to JMU, of blood, placenta, cord blood, hairs and nails samples from above study participants.
- Ship the specimens through mail in appropriate condition.

【添付文書 7】AKU 契約書

ANNEXURE B

BUDGET

ANNEXURE

BANK ACCOUNT INFORMATION

Request for Payment via Wire Transfer

INSTRUCTIONS:

1. Please complete this form and returned.

Bank information for fund transfer.

Account Title : _____

Account No : _____

Currency Account: _____

Name of Bank: _____

Bank Address : _____

Swift Code: _____

ABA Chips: _____

Any other information that facilitates the funds transfer: _____

Intermediary Bank if any: _____

Swift Code: _____

ABA Chips: _____

Any other information that facilitates the funds transfer: _____
