



Title	妊婦の受動喫煙と多環芳香族炭化水素（PAHs）代謝関連遺伝子多型が児の出生時体格に及ぼす影響
Author(s)	小林, 澄貴
Citation	北海道大学. 博士(医学) 甲第11212号
Issue Date	2014-03-25
DOI	10.14943/doctoral.k11212
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/67582
Type	theses (doctoral)
Note	配架番号 : 2084
File Information	Sumitaka_Kobayashi.pdf



[Instructions for use](#)

学位論文

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

(Adverse Effects of Maternal Passive Smoking during Pregnancy and
Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-metabolizing Genes on Birth Size)

2014年3月

北海道大学

小林 澄貴

Sumitaka KOBAYASHI

目次

発表論文目録および学会発表目録	1
緒言	3
略語表	8
第Ⅰ章 妊婦の受動喫煙が児の出生時体格に及ぼす影響	
およびその性差	9
1. 緒言	9
2. 研究方法	11
3. 研究結果	15
4. 考察	19
第Ⅱ章 妊婦の受動喫煙と多環芳香族炭化水素（PAHs）代謝関連	
遺伝子多型が児の出生時体格に及ぼす影響およびその性差	21
1. 緒言	21
2. 研究方法	24
3. 研究結果	28
4. 考察	35
総括	38
謝辞	40
参考文献	42

発表論文目録および学会発表目録

本研究の一部は以下の論文で発表した。

1. Sumitaka Kobayashi, Fumihiro Sata, Seiko Sasaki, Susumu Ban, Chihiro Miyashita, Emiko Okada, Mariko Limpar, Eiji Yoshioka, Jumboku Kajiwara, Takashi Todaka, Yasuaki Saijo, Reiko Kishi. Genetic association of aromatic hydrocarbon receptor (AHR) and cytochrome P450, family 1, subfamily A, polypeptide 1 (CYP1A1) polymorphisms with dioxin blood concentrations among pregnant Japanese women. *Toxicology Letters* **219**: 269–278 (2013).

2. Reiko Kishi, Sachiko Kobayashi, Tamiko Ikeno, Atsuko Araki, Chihiro Miyashita, Sachiko Itoh, Seiko Sasaki, Emiko Okada, Sumitaka Kobayashi, Ikuko Kashino, Kumiko Itoh, Sonomi Nakajima; The members of the Hokkaido Study on Environment and Children's Health. Ten years of progress in the Hokkaido birth cohort study on environment and children's health: cohort profile—updated 2013. *Environmental Health and Preventive Medicine* **18**: 429–450 (2013).

3. Sumitaka Kobayashi, Seiko Sasaki, Fumihiro Sata, Chihiro Miyashita, Thamar Ayo Yila, Titilola Serifat Braimoh, Kumiko Itoh, Sachiko Kobayashi, Tamiko Ikeno, Atsuko Araki, Akiko Tamakoshi, Reiko Kishi. Adverse effects on birth sizes among male infants associated with maternal passive smoking during pregnancy and polycyclic aromatic hydrocarbon metabolizing-enzyme polymorphisms in Japanese pregnant women. *Molecular Human Reproduction* (投稿中).

本研究の一部は以下の学会で発表した。

1. 小林澄貴、佐々木成子、坂晋、宮下ちひろ、岡田恵美子、Mariko Limpar、吉岡英治、梶原淳睦、戸高尊、岸玲子。AhR および AhRR 遺伝子多型と母体血中ダイオキシン類濃度との関連—『環境と健康に関する北海道スタディ』—。第 21 回日本疫学会学術総会、2011 年 1 月、札幌市

2. Titilola S. Braimoh, Seiko Sasaki, Thamar A. Yila, Toshiaki Baba, Chihiro Miyashita, Emiko Okada, Ikuko Kashino, Kumiko Ito, Sumitaka Kobayashi, Eiji Yoshioka, Reiko Kishi. Effects to second-hand smoke during pregnancy on infant birth size. Women' s Health Conference, New York, USA, April 2011.

緒言

たばこ煙の中には約 4,000 種類の化学物質が含まれ¹、このうち 60 種類は発がん性物質で、多環芳香族炭化水素 (Polycyclic aromatic hydrocarbons: PAHs) やニトロソアミン類などがある²。たばこ煙は主流煙と、たばこの先端から立ち上る副流煙に分けられ、含まれる化学物質は変わらないものの、PAHs やニトロソアミン類など主流煙よりも副流煙に多く含まれる化学物質がある²⁻⁴。

受動喫煙による健康影響として、成人では、非喫煙男性の配偶者と比較して、喫煙男性の配偶者の全肺がんの発症リスクは 1.34 倍、また肺腺がんの発症リスクは 2.03 倍⁵、非喫煙女性と比較して、受動喫煙女性における乳がんの発症リスクも 1.38 倍高いことが報告された⁶。

胎児期の受動喫煙曝露では、非喫煙妊婦と比較して、受動喫煙妊婦における早産のリスクは 1.56 倍⁷、自然流産のリスクは 1.67 倍と報告された⁸。また先天異常において、受動喫煙妊婦の児が神経管欠損のリスクは 1.7 倍⁹、口蓋裂のリスクは 1.8 倍¹⁰、円錐動脈管欠損のリスクは 2.23 倍¹¹、左心室流出管閉塞のリスクは 13.12 倍高かったことが報告されている¹¹。また、出生時では、受動喫煙妊婦の低出生時体重のリスクが 1.8 倍であった¹²。さらに生後において、受動喫煙妊婦の 1 歳半児の喘鳴のリスクは 1.42 倍、掻痒性発疹の発症リスクは 1.45 倍¹³、2 歳児における喘鳴のリスクは 3.5 倍¹⁴、中耳炎の発症リスクは 1.91-3.54 倍高いと認められた¹⁵。これらのように妊婦の受動喫煙は出生時だけでなく生後でも健康影響に及ぼすことが示唆されるため、健康影響の追跡研究が必要である。

近年、遺伝的感受性素因による健康影響の個体差が注目され、妊婦自身の喫煙については、遺伝要因との交互作用が出生時体格に及ぼす影響についても報告されており、PAHs 代謝関連遺伝子多型が出生時体重の減少に関与することが示唆された¹⁶⁻²⁰ (表 1)。代謝のメカニズムとしては、細胞内に入った PAHs は、まず芳香族炭化水素受容体 (Aromatic Hydrocarbon Receptor: AHR) に結合して核内へと移行し、PAHs と AHR との複合体が異物代謝酵素のチトクロム P450 (Cytochrome P450: CYP) *1A1*、*1A2*、および *1B1* 遺伝子に結合することで遺伝子の発現を誘導し、さらにこれらの酵素が産生される。その後、PAHs は CYP1A1、CYP1A2、および CYP1B1 によって代謝中間物質の 7β 、 8α -

ジヒドロキシ-9 α , 10 α -エポキシ-7, 8, 9, 10-テトラヒドロ-ベンゾ(a)ピレン (7 β , 8 α -dihydroxy-9 α , 10 α -epoxy-7, 8, 9, 10-tetrahydro-benzo(a)pyrene; BPDE) になる²¹。この PAHs は主流煙よりも副流煙に多く含まれているが²、妊婦の受動喫煙と遺伝子相互作用が児の出生時体格に及ぼす影響については報告がほとんどない (表 1)。

また、化学物質による健康影響の性差も注目されていて、妊婦の化学物質曝露については、児の発育や神経発達に及ぼす影響とその性差が報告されている²²⁻²⁸ (表 2)。例えば、母体血中ダイオキシン類のポリ塩化ジベンゾ-*p*-ダイオキシン (PCDDs) 濃度が 10 倍増加すると男児のみ出生時体重が減少し (-331.4 g)²²、ポリ塩化ジベンゾフラン (PCDFs) 濃度が低濃度群 (9.5-14.39 pg/g lipid) と比較して、高濃度群 (22.60-52.88 pg/g lipid) の妊婦では 18 か月児の中耳炎の発症リスクは、女児の 1.28 倍に対して、男児では 3.80 倍でより影響があることが報告された²⁵ (表 2)。

一方、母体血中有機フッ素化合物のペルフルオクタンスルホン酸 (PFOS) 濃度が 10 倍増加すると女児の出生時体重が 269.4 g 減少し²³、ペルフルオロオクタン酸 (PFOA) 濃度が 0.3ng/mL から 0.7ng/mL に増加すると、臍帯血中 IgE 値が 0.863IU/mL 減少することが示された²⁶。また妊婦の尿中カドミウム濃度が 2 倍増加すると、5 歳女児の言語知能指数 (Verbal IQ; VIQ)、行動知能指数 (Performance IQ; PIQ)、および全知能指数 (Full-scale IQ; FSIQ) の平均点が男児よりも低くなった²⁷。さらに妊婦の尿中ビスフェノール A 濃度が 2 倍増加すると、9 歳女児のみアディポネクチン濃度の対数 (Log₂) 値が 3.71 増加し²⁸、女児により影響があることが報告された (表 2)。しかし、妊婦の受動喫煙が児の出生時体格に及ぼす影響の性差についてはまだ報告されていない。

わが国では、成人男性の喫煙率は 1989 年 (平成元年) の 55.3% から 2011 年 (平成 23 年) の 32.4% と年々減少しているが²⁹、欧米諸国と比較して依然高率である³⁰。妊婦が職場や家庭において受動喫煙する可能性は高いといえることから、受動喫煙による胎児発育への影響を明らかにして、環境整備への提言をすることは、公衆衛生的観点からも重要である。

本研究では、出生前向きコホート研究で、妊婦の受動喫煙と PAHs 代謝関連遺伝子多型が児の出生時体格に及ぼす影響を解明することを目的とした。

はじめに第 I 章では、非喫煙妊婦の児と比較し、受動喫煙妊婦の児が出生時体格に及ぼす影響を明らかにし、さらにその影響の性差も検討した。

次に第 II 章では、妊婦の受動喫煙と PAHs 代謝関連遺伝子多型が出生時体格に及ぼす影響を明らかにし、さらにその影響の性差についても検討した。

表 1. 妊婦の遺伝-喫煙交互作用と児の出生時体格との関連

出版年 著者 国名 対象者数	遺伝子多型	アウトカム評価	結果
＜喫煙・コホート内症例対照研究＞			
2002 Wang et al. ¹⁶ アメリカ 741名	妊婦/ <i>CYP1A1</i> , <i>GSTT1</i>	出生時体重	非喫煙で <i>GSTT1</i> 遺伝子多型の Present 型の児と比較して、喫煙し Absent 型の妊婦の児の出生時体重は 642g 減少
2012 Danileviciute et al. ²⁰ イタリア 543名	妊婦/ <i>GSTM1</i> , <i>GSTT1</i>	出生時体重	喫煙で <i>GSTT1</i> 遺伝子多型の Absent 型、かつ <i>GSTM1</i> 遺伝子多型の Absent 型の妊婦の児は、非喫煙で <i>GSTT1</i> 遺伝子多型の Present 型かつ <i>GSTM1</i> 遺伝子多型の Present 型の妊婦の児と比較して、311.2 g 減少
＜喫煙・症例対照研究＞			
2006 Infante-Rivard et al. ³¹ カナダ 965名	妊婦・新生児/ <i>CYP1A1</i> , <i>GSTM1</i> , <i>GSTT1</i> , <i>XRCC3</i>	SGA	非喫煙で新生児の <i>GSTM1</i> 遺伝子多型の Present 型と比較して、喫煙で新生児の Absent 型の SGA のリスクは 0.63 倍
2009 Delpisheh et al. ¹⁹ イギリス 252名	妊婦/ <i>CYP1A1</i> , <i>GSTM1</i> , <i>GSTT1</i>	子宮内胎児発育遅延	遺伝-喫煙交互作用のみ有意であった。妊婦の喫煙 - <i>GSTT1</i> 遺伝子多型の Present 型 Interaction のリスクは 4.1 倍
＜喫煙・前向きコホート研究＞			
2004 Nukui et al. ¹⁷ アメリカ 955名	妊婦・新生児/ <i>CYP1A1</i> , <i>CYP2E1</i> , <i>NAT2</i> , <i>GSTM1</i> , <i>GSTT1</i>	早産	非喫煙で母児ともに <i>GSTT1</i> 遺伝子多型の Present 型である児と比較して、妊娠後期に喫煙で母児いずれかに <i>GSTT1</i> 遺伝子多型の Absent 型の児が早産になるリスクは 4.02 倍
2006 Sasaki et al. ¹⁸ 日本 293名	妊婦/ <i>AhR</i> , <i>CYP1A1</i> , <i>GSTM1</i> , <i>GSTT1</i>	出生時体格	非喫煙で <i>AhR</i> 遺伝子多型の Arg/Lys+Lys/Lys 型である妊婦の児と比較して、喫煙で Arg/Arg 型をもつ妊婦の児の出生時体重は 211g 減少
2008 Sasaki et al. ³² 日本 460名	妊婦/ <i>NQO1</i> , <i>CYP2E1</i>	出生時体格	非喫煙で <i>NQO1</i> 遺伝子多型の Pro/Ser+Ser/Ser 型をもつ妊婦の児と比較して、喫煙で Pro/Pro 型をもつ妊婦の児の出生時体重は 199 g 減少
＜受動喫煙・前向きコホート研究＞			
2003 Hong et al. ³³ 韓国 266名	妊婦/ <i>GSTM1</i> , <i>GSTT1</i>	出生時体重	受動喫煙で <i>GSTM1</i> 遺伝子多型の Absent 型で <i>GSTT1</i> 遺伝子多型の Absent 型の Interaction は有意に減少。児の出生時体重は 3070g
2007 Wu et al. ³⁴ 中国 1,388名	妊婦/ <i>CYP1A1</i> , <i>EPHX1</i>	出生時体重	非喫煙で <i>EPHX1</i> 遺伝子多型の Tyr/Tyr 型の妊婦の児と比較して、受動喫煙で His/His 型の妊婦の児の出生時体重は 315.6g 減少

表 2. 妊婦の化学物質曝露と児の健康影響の性差

出版年 著者 国名 対象者数	妊婦の曝露物質 妊婦の曝露指標	児の年齢 アウトカム評価	男児の結果	女兒の結果
2009 Konishi et al. ²² 日本 398名	ダイオキシン類 母体血	出生時 出生時体重	PCDDs 濃度が 10 倍増加すると出生時体重は 331.4 g 減少	関連なし
2009 Washino et al. ²³ 日本 428名	有機フッ素化合物 母体血	出生時 出生時体重	関連なし	PFOS 濃度が 10 倍増加すると出生時体重は 269.4 g 減少
2009 Jedrychowski et al. ²⁴ ポーランド 457名	鉛 臍帯血	12 か月 MDI スコア	低濃度群と比較して、高濃度群の MDI スコアは 0.259 点減少	関連なし
2009 Jedrychowski et al. ²⁴ ポーランド 457名	鉛 臍帯血	24 か月 MDI スコア	低濃度群と比較して、高濃度群の MDI スコアは 2.225 点減少	関連なし
2009 Jedrychowski et al. ²⁴ ポーランド 457名	鉛 臍帯血	36 か月 MDI スコア	低濃度群と比較して、高濃度群の MDI スコアは 6.158 点減少	関連なし
2012 Kippler et al. ²⁵ バングラデシュ 1,305名	カドミウム 尿	5 歳 知能指数 (IQ)	関連なし	曝露群では、言語知能指数、行動知能指数、全知能指数の平均点が男児よりも女兒は低い
2011 Miyashita et al. ²⁶ 日本 364名	ダイオキシン類 母体血	18 か月 中耳炎のリスク	PCDFs 濃度が低濃度群と比較して、高濃度群のリスクは 3.80 倍	関連なし
2012 Okada et al. ²⁷ 日本 343名	有機フッ素化合物 母体血	18 か月 臍帯血 IgE 値	関連なし	PFOA 濃度が 0.3 ng/mL から 0.7 ng/mL に増加すると、臍帯血 IgE 値が 0.863 IU/mL 減少
2012 Volverg et al. ²⁸ アメリカ 188名	ビスフェノール A 尿	9 歳 血漿中アディポネクチン値	関連なし	濃度が 2 倍増加すると、アディポネクチン値の対数 (Log ₂) 値が 3.71 増加

MDI: Mental development index.

略語

AHR	Aromatic Hydrocarbon Receptor
BMI	Body Mass Index
BPDE	7 β , 8 α -dihydroxy-9 α , 10 α -epoxy-7, 8, 9, 10-tetrahydro- benzo(a)pyrene
CI	Confidence Interval
CYP	Cytochrome P450
DNA	Deoxyribonucleic Acid
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
ETS	Environmental Tobacco Smoke
GST	Glutathione S-transferase
LOD	Limit of Detection
PAH	Polycyclic Aromatic Hydrocarbon
XRCC1	X-ray Cross-complementing Gene 1
WHO	World Health Organization

第 I 章

妊婦の受動喫煙が児の出生時体格に及ぼす影響およびその性差

1. 緒言

わが国における妊婦の受動喫煙率は、53.0-53.9%と報告されている^{35,36}。非喫煙妊婦が喫煙たばこ煙 (Environmental tobacco smoke: ETS) で汚染された空間で、意識の有無にかかわらず受動喫煙する機会は多く、健康への影響が懸念される。

近年、妊婦の受動喫煙による児への健康影響が注目されている。胎児期では、非喫煙妊婦と比較して、受動喫煙妊婦の死産のリスクは 3.35 倍であった³⁷。出生時では、受動喫煙妊婦の早産のリスクは 1.87 倍³⁷、児の低出生時体重のリスクは 1.21 倍³⁸、SGA のリスクは 2.51 倍であった³⁹。さらに、新生児期では、受動喫煙妊婦の新生児敗血症の発症リスクは 2.96 倍であった³⁷。受動喫煙妊婦の 3 歳児のベイリー精神発達スコアが有意に減少し ($P=0.0002$)⁴⁰、5-6 歳児の外面的な行動問題のリスクは 2.08 倍⁴¹、9 歳児の喘息のリスクは 2.06 倍、アレルギー性鼻炎のリスクは 1.22 倍であったと報告されている⁴²。このように妊婦の受動喫煙は、胎児期のみならず出生時から生後も長期間にわたり児に健康影響を及ぼすことが示唆されている。

また、妊娠中の化学物質曝露による児への健康影響の性差も近年報告されている。母体血中ダイオキシン類のポリ塩化ジベンゾ-*p*-ダイオキシン (PCDDs) 濃度が 10 倍増加すると男児の出生時体重が 331.4 g 減少した²²。また鉛低曝露群 ($1.67 \mu\text{g/dL}$ 以下) の妊婦の児と比較して、高曝露群 ($1.67 \mu\text{g/dL}$ 以上) の妊婦の 6 か月男児は神経発達の遅延のリスクが 2.33 倍高かった²⁴。一方、母体血中有機フッ素化合物のペルフルオクタンスルホン酸 (PFOS) 濃度が 10 倍増加すると女児の出生時体重が 269.4 g 減少し²³、ペルフルオロオクタン酸 (PFOA) 濃度が 0.3ng/mL から 0.7ng/mL に増加すると、臍帯血中 IgE 値が 0.863IU/mL 減少することが示された²⁶。また妊婦の尿中カドミウム濃度が 2 倍増加すると、5 歳女児の言語知能指数 (Verbal IQ; VIQ)、行動知能指数 (Performance IQ; PIQ)、および全知能指数 (Full-scale IQ; FSIQ) の平均点が男児よりも低くなった²⁷。しかし、妊婦の受動喫煙による児への健康影響の性差についてはまだ報告されていない。

そこで本研究では、北海道内 40 産科病院で参加登録した妊婦を対象にし

た出生前向きコホート研究を用いて、非喫煙妊婦の児と比較した受動喫煙妊婦の児が出生時体格に及ぼす影響を明らかにし、さらに出生時体格に及ぼす影響の性差も検討した。

2. 研究方法

(1) 研究対象者

北海道内 40 産科病院を受診した妊婦とその児を対象にした前向き出生コーホート研究「環境と子どもの健康に関する北海道スタディ」に登録した日本人妊婦で、2003 年 2 月から 2007 年 12 月までに 10,731 名から同意を得た (参加同意率 54.3%)。

(2) 質問票によるベースライン調査と追跡調査 (生後 4 カ月)

妊娠初期の研究参加登録時に妊婦はベースライン調査票に回答した。この自記式調査票から妊婦と配偶者について、既往歴、教育歴、世帯収入、喫煙歴、妊娠期喫煙状況、飲酒歴、妊娠期飲酒状況などの基本情報を収集した。妊娠中非飲酒者は、飲酒歴がない、または妊娠初期に飲酒しなかったものと定義した。在胎週数、児の性別、出生時体重、形態異常、流産・死産、多胎、妊娠高血圧症候群、妊娠性糖尿病などの妊娠経過および出産記録を分娩時に病院から回収した。出生時体格については、生後 4 か月時に自記式調査票に母子健康手帳からの転記を依頼した。

(3) 血漿コチニン値測定

母体血を妊娠後期に採取して、測定時まで -80°C で保存し、9,011 名を測定した。血漿コチニン値は高感度酵素結合免疫吸着法 (highly-sensitive enzyme-linked immunosorbent assay; ELISA) を用いてコスミック・コーポレーション (東京) にて測定した。検出限界 (Limit of detection; LOD) は 0.12 ng/mL で、LOD 以下の検体は、半値の 0.06 ng/mL を代入した。

血漿コチニン値の感度と特異度は Receiver operating characteristic (ROC) 曲線解析を用いて、非喫煙妊婦から喫煙妊婦に分ける最適なカットオフ値を決定した。さらに非喫煙妊婦から受動喫煙妊婦に分けるために ROC 曲線の最大感度と特異度をもつ点を解析し、0.21 ng/mL をカットオフ値とした。0.21 ng/mL 以下を非喫煙妊婦、0.21 ng/mL 以上を受動喫煙妊婦とした⁴³ (図 2)。

(4) 解析対象者

2003 年 2 月から 2007 年 12 月までに同意を得た 10,731 名のうち、出生時体格 (体重、身長および頭囲) のデータ、血漿コチニン値、第 II 章で妊婦の受動喫煙と遺伝子多型が児の出生時体格に及ぼす影響を検討するために必要なゲノム Deoxyribonucleic Acid (DNA) の全てそろった妊婦は 6,335 名で

あった。本研究では受動喫煙の影響を検討することが目的のため、喫煙妊婦 840 名を除外した。さらに双胎(54名)、妊娠高血圧症候群(46名)、妊娠性糖尿病(27名)、および身長(36名)、妊娠前体重(77名)、出産歴(62名)、妊娠中飲酒(48名)、妊婦の教育歴(45名)の欠損値がある 270 名を除外した。その後、5,118 名から乱数表を用いて 1,633 名を抽出して、この人数を最終解析対象者とした(図 1)。

(5) 統計解析

BMI は、妊娠初期のベースライン調査票から得た妊婦の身長と妊娠前体重で算出した。教育歴は 9 年以下、10-12 年、13-16 年、17 年以上の 4 群、出産歴は 0、1、2 回以上の 3 群に分けた。世帯収入は 300 万円未満、300-500 万円未満、500-700 万円未満、700 万円以上の 4 群に分けた。妊娠中飲酒状況は飲酒ありとなしの 2 群に分けた。低出生時体重児は 2,500 g 未満で分類した児とした。Small-for-gestational-age (SGA) は、日本小児科学会の 2011 年 1 月以降の在胎期間別出生時体格標準値を用いて判断した⁴⁴。

受動喫煙状況による妊婦と児の属性との関連は、妊娠年齢、妊婦の身長、妊娠前体重、妊娠前 BMI、出生時体重、出生時身長、出生時頭囲、および在胎週数は Kruskal-Wallis 検定、出産歴、教育歴、世帯収入、低出生時体重、および SGA は χ^2 検定で検討した。妊婦の受動喫煙と児の出生時体格との関連については重回帰分析を用いた。妊娠年齢、妊娠前 BMI、妊娠中飲酒、教育歴、出産歴、児の性別および在胎週数で調整した。

統計学的有意水準は $P < 0.05$ とした。統計解析には SPSS 15.0 および JMP 9.0 を用いた。

(6) 倫理的配慮

本研究は、北海道大学大学院医学研究科医の倫理委員会の承認を得て実施した。インフォームド・コンセントは、全対象者から疫学研究に関する倫理指針およびヘルシンキ宣言に基づき行われ、対象者から書類による同意を得た。対象者のプライバシーは最大限の配慮をし、データは全て匿名化して統計解析を実施した。また、データは情報管理室で厳重な配慮の下で管理した。

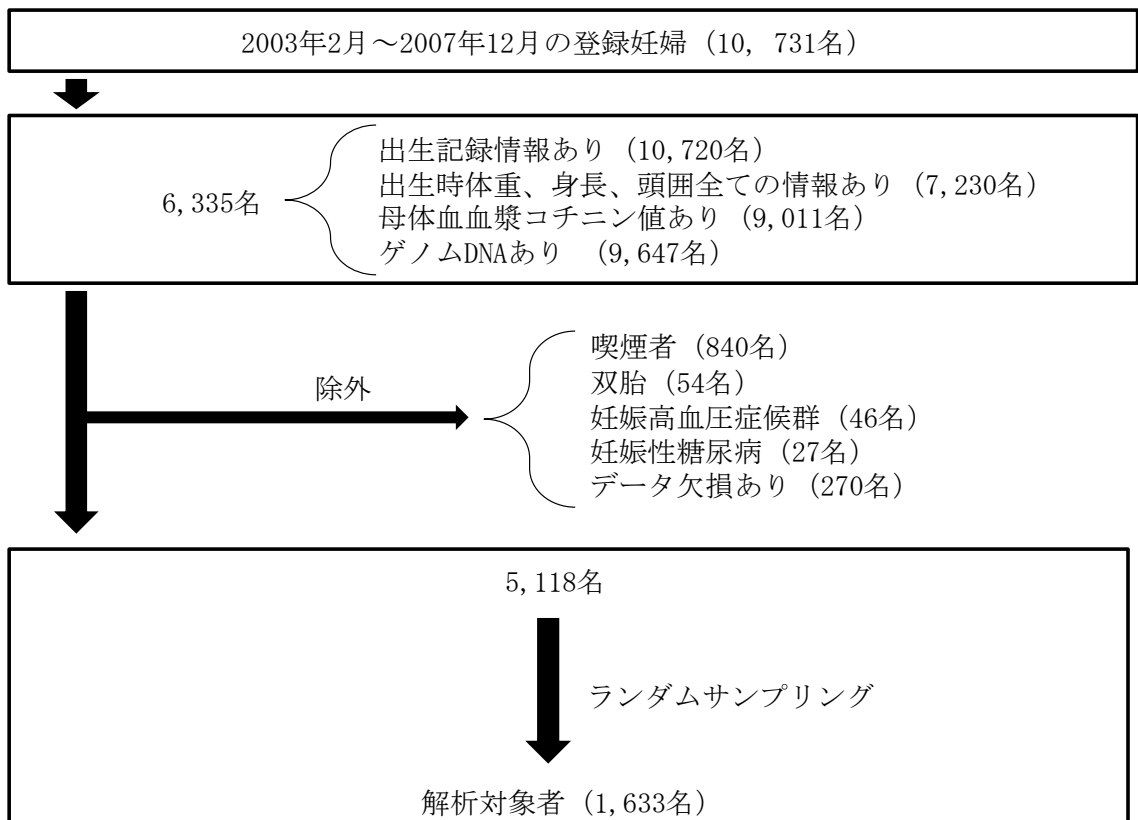


図 1. 解析対象者の選出方法

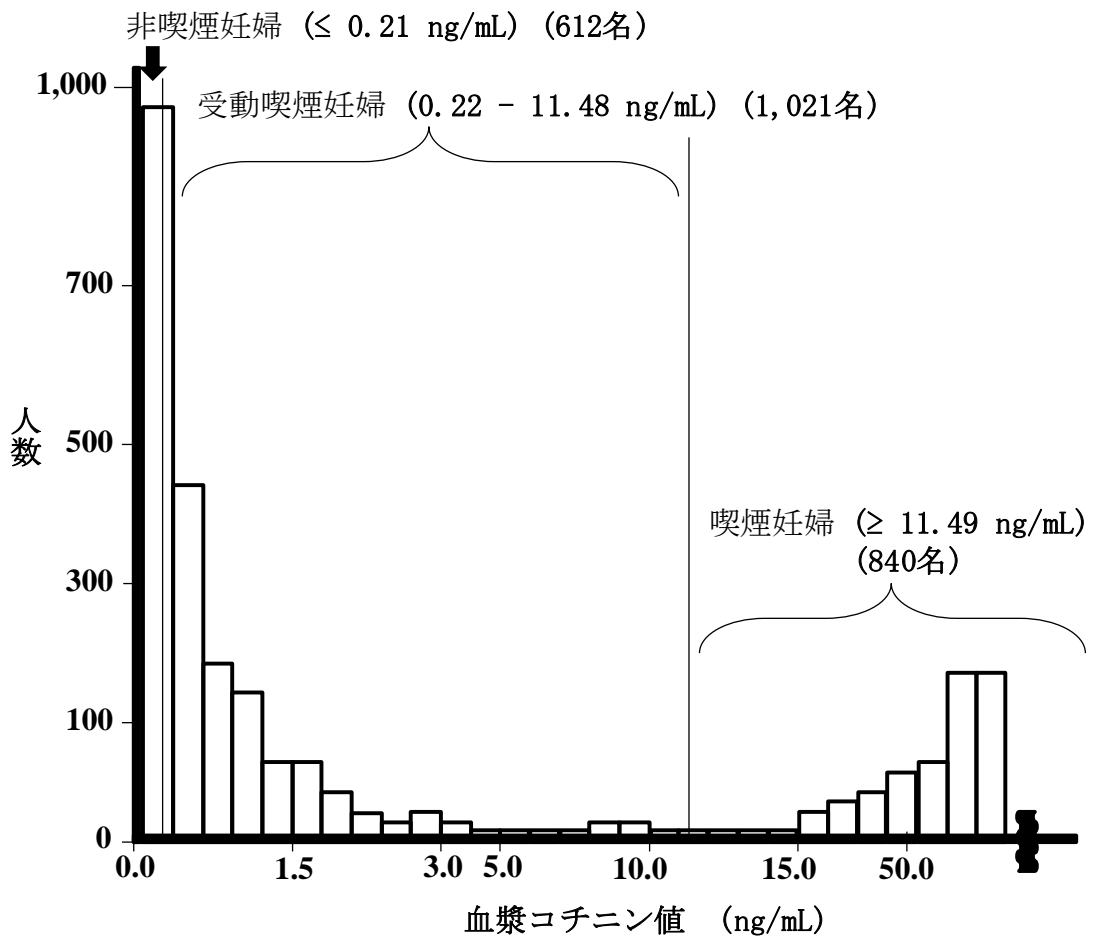


図 2. 母体血血漿コチニン値の分布図

非喫煙妊婦と受動喫煙妊婦のカットオフ値は 0.21 ng/mL.

3. 研究結果

(1) 受動喫煙と母児の属性

非喫煙妊婦と比較して、受動喫煙妊婦は年齢が若く ($P < 0.001$)、妊娠時飲酒が少なく ($P = 0.042$)、低学歴の割合が高く ($P = 0.003$)、低所得の割合が高かった ($P = 0.002$)。しかし、妊婦の身長、妊娠前体重、BMI、および出産歴では有意な差はなかった (表 3)。

また児の属性では、非喫煙妊婦の児と比較して、受動喫煙妊婦の児は在胎週数が長かった ($P < 0.001$)。しかし、児の性別、出生時体重、身長、頭囲、低出生時体重児、および SGA では、有意な差はなかった (表 4)。

(2) 妊婦の受動喫煙が児の出生時体格に及ぼす影響とその性差

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

表 3. 妊娠中の受動喫煙状況による妊婦の属性

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

連続変数は平均 (標準偏差)、カテゴリー変数は N (%) .

Kruskal-Wallis 検定あるいは χ^2 検定.

^a; 血漿コチニン値.

表 4. 妊娠中の受動喫煙状況による児の属性

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

連続変数は平均 (標準偏差)、カテゴリー変数は N (%) .

Kruskal-Wallis 検定あるいは χ^2 検定で統計解析.

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

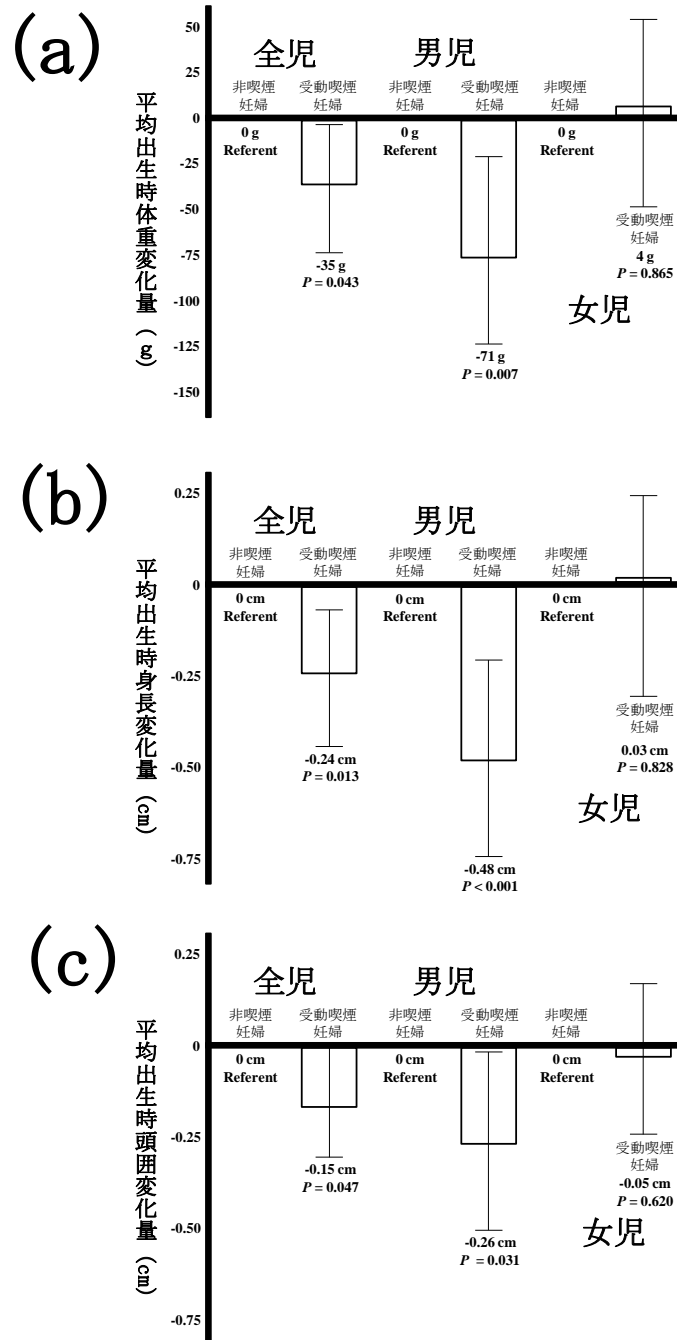


図 3. 非喫煙妊婦と受動喫煙妊婦の児の出生時体格の比較

(a) 出生時体重、(b) 出生時身長、(c) 出生時頭囲。

Bar は調整平均と 95%信頼区間。

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

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

4. 考察

(1) 妊婦の受動喫煙が出生時体格に及ぼす影響とその性差

本研究では、非喫煙妊婦の児と比較して、受動喫煙妊婦の児は出生時体重の減少を認め、先行研究の結果と一致した⁴⁵。さらに、男児にのみその影響が認められた。受動喫煙の報告はまだないが、喫煙では、非喫煙妊婦の児と比較して、喫煙妊婦の女児の出生時体重は 177 g 減少したのに対して、男児の出生時体重は 316 g 減少したと報告されており⁴⁶、女児と比較して、妊娠中喫煙の負の影響は男児で大きいことが示唆された⁴⁷。

たばこ煙中にはダイオキシン類、粒子状物質である Particle Matter (PM) 2.5 や鉛が含まれており、これらの化学物質による出生時体格の減少との関連は男児にのみ認められている^{22, 28, 48, 49}。たばこ煙中の化学物質にはまだ検討されていない化学物質があるが、これらについても胎児発育への影響にも性差があることが考えられる。

(2) たばこ煙が出生児体格に及ぼす影響の性差のメカニズム

たばこ煙は胎盤組織で酸化ストレスを与え⁵⁰、PAHs などの化学物質は DNA 付加体を形成し⁵¹、胎盤に移行する。4~8 歳の前脳と後脳の血流速度は男児と比較して、女児は速いと報告されており⁵²、胎児の血流速度は男児においても遅いと考えられる。男児は女児と比較して、DNA 付加体が血流によって組織外に移行しにくいため、DNA 付加体が胎盤組織内に残りやすく、DNA 損傷を引き起こしやすいことが示唆された。また超音波診断で男児は一般的に女児と比較して、発育が速いことが報告されていることから⁵³、胎盤組織への影響によって、胎児発育が著しく遅くなったために男児に対する脆弱性が認められたと考えられる。

受動喫煙による出生時体格に及ぼす影響の性差のメカニズムについてはまだ明らかではないが、たばこ煙中の化学物質による子宮内発育速度に影響を与えるファクターがあり、胎児発育を阻害したと考えられる。

(3) 研究の限界

妊婦の受動喫煙曝露状況は妊娠後期のコチニン濃度に基づいて判定したため、ある一時点のみの評価である。コチニンの半減期は 17.9 時間であり⁵⁴、長い妊娠期間の受動喫煙曝露状況が正確に反映されていないと考えられる。しかし、先行研究では同時期に得られた質問票とコチニン濃度との正の相関が報告されている⁵⁵。また、同時期の自記式調査票による受動喫煙曝露状況と同じ時期でも時間が異なった数回のコチニン濃度との両方が受動喫

煙曝露評価分類の正確性を高められると報告されていることから、本研究においても受動喫煙状況を十分把握できていると考える。

第II章

妊婦の受動喫煙と PAHs 代謝関連遺伝子多型が 児の出生時体格に及ぼす影響とその性差

1. 緒言

多環芳香族炭化水素 (PAHs) の一つである発がん物質のベンゾ (a) ピレンは細胞内に入ると芳香族炭化水素受容体 (AHR) に結合して核内に移行し、シトクロム P450 (CYP) *1A1*、*CYP1A2*、および *CYP1B1* 遺伝子の発現を誘導し、これらの酵素が産生される。その後、ベンゾ (a) ピレンは *CYP1A1*、*CYP1A2*、および *CYP1B1* によって代謝中間物質の 7 β , 8 α -ジヒドロキシ-9 α , 10 α -エポキシ-7, 8, 9, 10-テトラヒドロ-ベンゾ (a) ピレン (BPDE) に生成される。BPDE は DNA と反応して付加体が形成されるが、修復遺伝子である X-ray cross-complementing gene 1 (*XRCC1*) により DNA 塩基が切除される⁵⁶。一方、グルタチオン S-転移酵素 (GSTs) により、BPDE は解毒されて体外に排泄される⁵⁷ (図 4)。

まず AHR は、*AHR* (G>A, Arg554Lys) 遺伝子多型の GG 型をもつ健常人と比較して、GA/AA 型をもつ健常人では *CYP1A1* の誘導が低下することがわかっている⁵⁸。

次に、*CYP1A2* や *CYP1B1* は、第 I 相反応酵素で PAHs のほか、2-アミノアントラセンや 2-アセチルアミノフルオレンといったアリル環アミン、ヘテロ環アミンの代謝に関わるが⁵⁹⁻⁶¹、*CYP1A2* (A>C, *CYP1A2**1F) 遺伝子多型では、非喫煙で AA 型の健常男性と比較して、非喫煙で CC 型の健常男性はテオフィリン代謝の活性が高いと報告された⁶²。また、*CYP1B1* (C>G, Leu432Val) 遺伝子多型では、細胞実験で、非喫煙と禁煙者の CC 型と比較して、非喫煙と禁煙者の GG 型の DNA 付加体量が多いと報告されており⁶³、CC/CG 型のヒトと比較して、GG 型のヒトの代謝する酵素の活性が高かった。

さらに、GSTs は第 II 相反応酵素の一つで複数のサブグループ (α 、 κ 、 σ 、 μ 、 θ) からなり、*GSTM1* と *GSTT1* 遺伝子多型は欠損変異がある⁶⁴ (Eaton and Bammler, 1999)。PAHs 高曝露で *GSTM1* あるいは *GSTT1* 遺伝子多型の Present 型をもつ労働者と比較して、Absent 型の労働者は BPDE-DNA 付加体量が多いことが報告された⁶⁵。

最後に *XRCC1* (C>T, Arg194Trp) 遺伝子多型の CC 型のヒトの細胞は TT 型のヒトの細胞と比較して、DNA 損傷量の指標である Tail moment が有意に短かった⁶⁶。このようにして遺伝子多型は塩基の違いによる代謝や解毒、DNA 修

復能に差があることが示されている。

また、受動喫煙と遺伝的感受性素因による健康への影響が注目され、例えば PAHs の代謝に関与する遺伝子多型との相互作用が肺がんに影響を及ぼすと報告されている。受動喫煙が 1 回未満/週で、*CYP1A1*(Ile462Val) 遺伝子多型の Ile/Ile + Ile/Val 型の女性と比較して、受動喫煙が 1 回以上/週で Val/Val 型の女性の扁平上皮および肺腺がんの発症リスクは 5.0 倍であった⁶⁷。また受動喫煙で *CYP1B1*(Leu432Val) 遺伝子多型の Leu/Leu 型の女性と比較して、受動喫煙で Val/Val 型の女性の扁平上皮および肺腺がんの発症リスクは 3.19 倍であった⁶⁸。次に PAHs 遺伝子多型の組合せでは、受動喫煙で *CYP1B1* (Leu432Val) 遺伝子多型が Leu/Leu 型、*GSTM1*(Present/Absent) 遺伝子多型が Present 型の女性と比較して、受動喫煙で *CYP1B1* 遺伝子多型が Ile/Val + Val/Val 型、*GSTM1* 遺伝子多型が Absent 型の女性の扁平上皮および肺腺がんの発症リスクは 4.55 倍であった⁶⁸。本人が喫煙者でなくても、受動喫煙と遺伝子多型によって肺がんへのリスクが高くなるとされている。

近年、妊婦の喫煙と遺伝子多型が胎児発育に及ぼす影響も報告されている。PAHs の代謝に関与する遺伝子として、非喫煙で *AHR* (G>A, Arg554Lys) 遺伝子多型が GA/AA 型の妊婦の児と比較して、喫煙で GG 型の妊婦の児の出生時体重は 211 g 減少した¹⁸。*CYP1A1* 遺伝子多型では、非喫煙で *CYP1A1*(T>C, *CYP1A1**2A) 遺伝子多型が TT 型の妊婦の児と比較して、喫煙で TC/CC 型の妊婦の児の出生時体重は 520 g 減少した¹⁶。*GST* 遺伝子多型では、非喫煙で *GSTM1* 遺伝子多型が Present 型の妊婦の児と比較して、喫煙で Absent 型の妊婦の児の出生時体重は 171 g 減少した¹⁸。また、非喫煙で *GSTT1* 遺伝子多型が Present 型の妊婦の児と比較して、喫煙で Absent 型の妊婦の児の出生時体重は 642 g 減少した¹⁶。

受動喫煙でもこの代謝関連遺伝子多型についての報告があり、*GSTM1* および *GSTT1* 遺伝子多型は出生時体重に影響を及ぼした³³。しかし、妊婦の受動喫煙と遺伝子多型が児の出生時体格に及ぼす影響についてはまだ研究が少ない(表 1)。

第 II 章では、妊婦の受動喫煙と PAHs 代謝関連遺伝子多型が出生時体格に及ぼす影響を明らかにし、さらにこの影響の性差についても検討した。

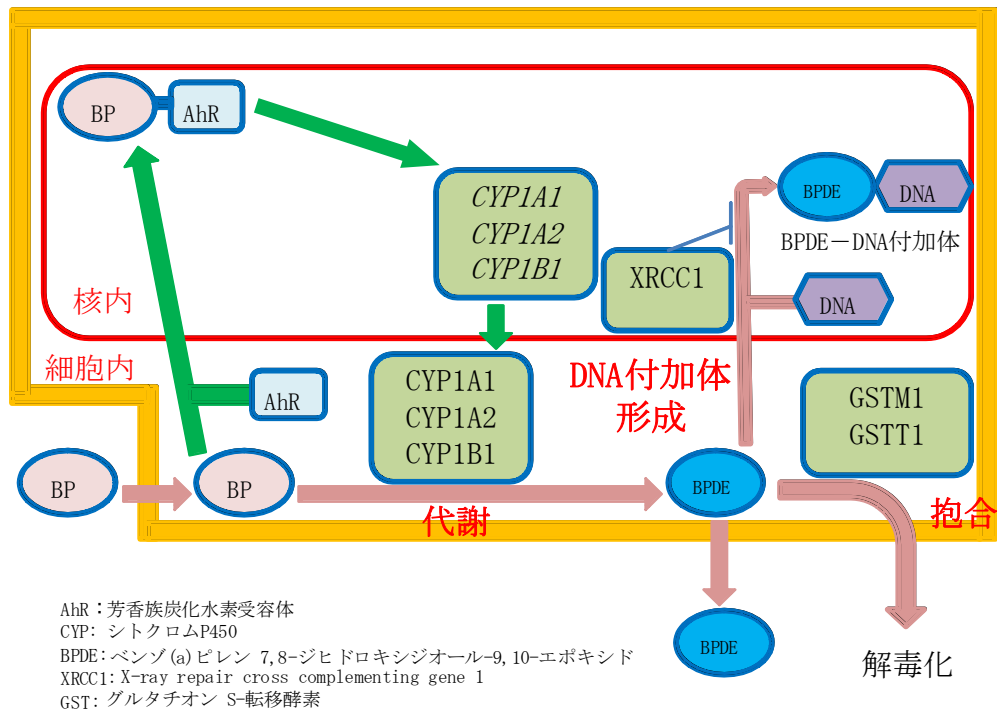


図4. 細胞内におけるベンゾ (a) ピレンの代謝メカニズム

2. 研究方法

(1) 研究対象者

本稿第 I 章 研究方法に記載した。

(2) 質問票によるベースライン調査と追跡調査 (生後 4 カ月)

本稿第 I 章 研究方法に記載した。

(3) 血漿コチニン値測定

本稿第 I 章 研究方法に記載した。

(4) 遺伝子解析

分娩時に母体血 400 μ L を採取してから Maxwell 16 Instrument (Promega Corporation, Madison, Wisconsin, USA) を用いて DNA 抽出をおこなった。

AHR (G>A, rs2066853)、*CYP1A2* (A>C, rs762551)、*CYP1B1* (C>G, rs1056836)、および *XRCC1* (C>T, rs1799782 と G>A, rs25487) 遺伝子多型については Gene Amp 9700 サーマルサイクラー (Applied Biosystems, Foster, California, USA) を用いてリアルタイム PCR 法で DNA を増幅した⁶⁹。*AHR* 遺伝子多型は、forward, 5' -CAGCATAATGAAAAACCTAGGCATT-3' と reverse, 5' -CATCCGTTAAGTCAATGTCTCTCAA-3' (20 \times Assay-on-Demand SNP Genotyping Assay Mix (Applied Biosystems, Foster, California, USA))、*CYP1A2* 遺伝子多型は forward, 5' -GGAAGGTATCAGCAGAAAGCC-3' と reverse, 5' -GGCTCATCCTTGACAGTGCC-3' (20 \times Assay-on-Demand SNP Genotyping Assay Mix (Applied Biosystems))、*CYP1B1* 遺伝子多型は forward, 5' -TGTCACACAGTGGTCTGTGAATC-3' と reverse, 5' -TCACTCTGCTGGTCAGGTCCTT-3' (20 \times Assay-on-Demand SNP Genotyping Assay Mix (Applied Biosystems)) を 0.5 μ L、次に TaqMan Universal PCR Master Mix, No AmpErase UNG (Applied Biosystems) を 5.0 μ L、さらに 2ng/ μ L から DNA を 1 μ L 加え、反応系を 10 μ L とした。また、*XRCC1* (C>T) 遺伝子多型は、forward, 5' -TCACCTGGGGATGTCTTGTTGATCC-3' と reverse, 5' -GCTGAAGAAGAGAGCCCCGGCCTC-3' (40 \times Assay-on-Demand SNP Genotyping Assay Mix (Applied Biosystems))、*XRCC1* (G>A) 遺伝子多型は forward, 5' -GGGTTGGCGTGTGAGGCCTTACCTC-3' と reverse, 5' -GGGAGGGCAGCCGCCGACGCATGCG-3' (40 \times Assay-on-Demand SNP Genotyping Assay Mix (Applied Biosystems)) を 0.25 μ L、次に TaqMan Universal PCR

Master Mix, No AmpErase UNG (Applied Biosystems) を $5.0 \mu\text{L}$ 、さらに $2\text{ng}/\mu\text{L}$ DNA を $1 \mu\text{L}$ 加え、反応系を $10 \mu\text{L}$ とした。

PCR については、 95°C で 10 分間、その次に 92°C で 15 秒間、 60°C で 1 分間を 1 サイクルとし、40 サイクル繰り返した。*XRCC1* (A>G) 遺伝子多型については、43 サイクル繰り返した。

PCR 法で DNA を増幅後、7300/7500 Real-time PCR system (Applied Biosystems) でエンドポイントアレルを判別した^{70,71}。

GSTM1 (Present/Absent) と *GSTT1* (Present/Absent) 遺伝子多型についてはマルチプレックス PCR 法で同定した⁶⁹。*GSTM1* 遺伝子多型について、 $2 \text{ng}/\mu\text{L}$ DNA から $1 \mu\text{L}$ を採取し、 $10 \mu\text{M}$ の各プライマーを $0.6 \mu\text{L}$ ずつ加え (*GSTM1* プライマー; forward, $5' \text{-AAGATTCGTGTGTGGACATTTTGG A-3}'$ と reverse, $5' \text{-TCTGGATTGTAGCAGATCATGCC-3}'$; CN1 プライマー forward, $5' \text{-CACAGCCATCGACAG GTACATATC-3}'$ と reverse, $5' \text{-CCTGGGCCTGGTGACAA-3}'$), さらに $5 \mu\text{M}$ *GSTM1* TaqMan プローブ $0.25 \mu\text{L}$ (FAM; $5' \text{-CAGACCATGGACAACCA-3}'$), $5 \mu\text{M}$ CN1 TaqMan プローブ $0.5 \mu\text{L}$ (VIC; $5' \text{-CCTGGCCTATAAGAGG-3}'$), 次に TaqMan Universal PCR Master Mix (2×) (Applied Biosystems) $10 \mu\text{L}$ を加え、反応系を $20 \mu\text{L}$ とした。*GSTM1* 遺伝子多型は、サーマルサイクラー (GeneAmp® PCR System 9700, Applied Biosystems) を用いて PCR をおこなった。PCR については、 95°C で 10 分間、その次に 95°C で 20 秒間、 60°C で 1 分間を 1 サイクルとし、35 サイクル繰り返した。*GSTT1* 遺伝子多型について、 $2 \text{ng}/\mu\text{L}$ DNA を $1 \mu\text{L}$ 採取し、 $10 \mu\text{M}$ の各プライマーを $0.6 \mu\text{L}$ ずつ加え (*GSTT1* プライマー forward, $5' \text{-CTGTGGTCCCAAATCAGATG-3}'$ と reverse, $5' \text{-TTGGGTCGGCCTTCG AA-3}'$; B2M プライマー forward, $5' \text{-TTGTTTCACTGTCCTGAGGACTATTTAT-3}'$ と reverse, $5' \text{-ATGTTACTCTGT CAATGTTCTCCACAT-3}'$), $5 \mu\text{M}$ *GSTT1* TaqMan プローブ $0.5 \mu\text{L}$ (FAM; $5' \text{-TGCCCTCACAACCAT-3}'$), $5 \mu\text{M}$ B2M TaqMan プローブ $0.125 \mu\text{L}$ (VIC; $5' \text{-CTCTAACATGATAACCCTCAC-3}'$), 次に TaqMan Universal PCR Master Mix (2×) (Applied Biosystems) $10 \mu\text{L}$ を加え、反応系を $20 \mu\text{L}$ とした。PCR サイクルの間、PCR 生成物の蛍光は ABI PRISM 7000 Sequence Detector (Applied Biosystems) を用い、*GSTM1* および *GSTT1* の遺伝子多型を同定した。

(5) 解析対象者

本稿第 I 章 研究方法に記載した。

(6) 統計解析

妊婦の受動喫煙状況と遺伝子多型頻度との関連については χ^2 検定で検討した。

一塩基多型 (Single Nucleotide Polymorphisms; SNPs) は 2 つの対立遺伝子の一对からなる 3 つの遺伝子型、集団の中で高頻度のホモ接合型、ヘテロ接合型、低頻度のホモ接合型として同定される。高頻度のホモ接合型とヘテロ接合型を 1 カテゴリーとし、低頻度のホモ接合型と比較する優性モデル (Dominant model)、ヘテロ接合型と低頻度のホモ接合型を 1 カテゴリーとし、高頻度のホモ接合型と比較する劣性モデル (Recessive model)、3 つの遺伝子型をそれぞれ 1 カテゴリーとして比較する遺伝子型モデル (Genotype model) の 3 つのタイプに分けられる。申請者は各遺伝子型をもつ集団のダイオキシン類濃度差の母平均の違いをみるために *AHR* および *CYP* 遺伝子多型とダイオキシン類濃度との関連を検討し、妊婦の *AHR* 遺伝子多型と母体血中ダイオキシン類濃度との関係は、優性モデルと遺伝子型モデルで有意差を認めた ($P = 0.004$; $P = 0.014$)⁷⁰。たばこ煙に含まれる化学物質の一つがダイオキシン類であり、PAHs は同じ経路で代謝されるため、妊婦の受動喫煙曝露状況と妊婦の遺伝子多型による出生時体格との関連を検討する際の Referent 群と遺伝子多型のモデルを選択した。

妊婦の 3 つの遺伝子多型を組合せて検討する際、遺伝子型モデルの組合せでは 0 人の群があったため、本研究では優性モデルを採用した。また *GSTM1* (Present/Absent) と *GSTT1* (Present/Absent) 遺伝子多型でヘテロ接合型の Present/Absent 型の人数は 10 人未満のため、本研究では、*GSTM1* と *GSTT1* 遺伝子多型は、Present 型と Absent 型の 2 群で検討した。

妊婦の受動喫煙曝露状況と妊婦の遺伝子多型による出生時体重、身長、および頭囲との関連を重回帰分析で検討した。妊婦の年齢、妊娠前 BMI、妊娠中飲酒、出産歴、教育歴、児の性別および在胎週数で調整した。

統計学的有意水準は $P < 0.05$ とし、多重比較の場合はボンフェロニーの補正を使って統計学的有意を判断した。統計解析には SPSS 15.0、および JMP 9.0 を用いた。

(7) 倫理的配慮

本研究は、北海道大学大学院医学研究科・医学部医の倫理委員会および遺伝子解析審査小委員会の承認を得て行った。インフォームド・コンセントは「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「疫学研究に関する倫

理指針」、およびヘルシンキ宣言に基づいて行った。研究への参加は自由意志により、自発的に中止しても不利益を被らないように配慮した。対象者のプライバシーの保持には細心の注意を払い、個人データの漏洩が一切生じないように、データ保管を厳重に行った。採血の方法は日常の一般診療で行われている血液生化学検査の際の採血と全く同様であり、各段の危険性は伴わなかった。全ての研究は、北海道大学大学院医学研究科で規定されている「ヒト組織および動物を用いた実験指針」に従った。

3. 研究結果

(1) 妊婦の遺伝子多型による出生時体格

CYP1A2 (A>C) 遺伝子多型の頻度では、非喫煙妊婦と受動喫煙妊婦との間に有意差が認められた ($P=0.023$)。しかし、*AHR* (G>A)、*CYP1B1* (C>G)、*GSTM1* (Present/Absent)、*GSTT1* (Present/Absent)、*XRCC1* (C>T)、および *XRCC1* (G>A) 遺伝子多型は有意差が認められなかった (表 5)。

また、妊婦の遺伝子多型による出生時体格では、妊婦の遺伝子多型による出生時体格に有意な差はなかった (表 6)。

(2) 妊婦の受動喫煙と遺伝子多型による出生時体格とその性差

非喫煙で *CYP1A2* (A>C) 遺伝子多型の AA 型をもつ妊婦の児と比較して、受動喫煙で AC/CC 型をもつ妊婦の児の出生時頭囲は 0.28 cm 減少した (95%CI; -0.49, -0.08)。次に、非喫煙で *CYP1B1* (C>G) 遺伝子多型の CC 型をもつ妊婦の児と比較して、受動喫煙で CG/GG 型をもつ妊婦の児の出生時頭囲は 0.29 cm 減少した (95%CI; -0.51, -0.08)。さらに、非喫煙で *XRCC1* (C>T) 遺伝子多型の CC 型をもつ妊婦の児と比較して、受動喫煙で CT/TT 型をもつ妊婦の児の出生時身長は 0.44 cm 減少した (95%CI; -0.72, -0.17)。いずれの遺伝子多型についても、遺伝-環境交互作用は有意差が認められなかった (表 7)。

次に児の性別で層別すると、男児は、非喫煙で *CYP1B1* (C>G) 遺伝子多型の CC 型をもつ妊婦の児と比較して、受動喫煙で CG/GG 型をもつ妊婦の児の出生時身長は 0.59 cm 減少 (95%CI; -0.99, -0.19)、出生時頭囲は 0.50 cm 減少した (95%CI; -0.85, -0.15)。また、非喫煙で *XRCC1* (C>T) 遺伝子多型の CC 型をもつ妊婦の児と比較して、受動喫煙で CT/TT 型をもつ妊婦の児の出生時身長は 0.66 cm 減少し (95%CI; -1.03, -0.28)、さらに遺伝-環境交互作用が認められた ($P=0.009$)。しかし、これらの遺伝子多型は女児では有意な差がなく、男児のみへの影響であることが示された (表 8)。

さらに遺伝子多型の組合せでは、非喫煙で *CYP1A2* (A>C) 遺伝子多型が AA 型、*CYP1B1* (C>G) 遺伝子多型が CC 型をもつ妊婦の児と比較して、受動喫煙で *CYP1A2* 遺伝子多型が AC/CC 型、*CYP1B1* 遺伝子多型が CG/GG 型をもつ妊婦の児の出生時頭囲は 0.41 cm 減少したが (95%CI; -0.70, -0.12)、他の組み合わせでは関連がなく、性差も関連がなかった (表 9)。

最後に *CYP1A2* (A>C)、*CYP1B1* (C>G)、および *XRCC1* (C>T) の 3 つの遺伝子多型を組み合わせても児の出生時体格に与える影響は有意差が認められなかった (表なし)。

表 5. 妊娠中受動喫煙状況による妊婦の遺伝子多型頻度

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

N (%). χ^2 検定で統計解析. ^a; 血漿コチニン値.

表 6. 妊婦の遺伝子多型による出生時体格

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

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

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

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

表 7. 妊婦の受動喫煙と遺伝子多型による出生時体格

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

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

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

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

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

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

*; Bornferroni 補正後有意。

表 8. 妊婦の受動喫煙と遺伝子多型による出生時体格の性差

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

表 8. 続き

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

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

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

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

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

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

*; Bornferroni 補正後有意。

表 9. 妊婦の受動喫煙と遺伝子多型との組合せによる出生時体格

妊婦の受動喫煙状況	妊婦の遺伝子多型		出生時体重 (g)		出生時身長 (cm)		出生時頭囲 (cm)	
			β (95%CI)	P	β (95%CI)	P	β (95%CI)	P
非喫煙	CYPIA2 (A>C) AA	CYP1B1 (C>G) CC (N = 206)	Referent		Referent		Referent	
		CG/GG (N = 67)	-17 (-109, 75)	0.718	-0.06 (-0.56, 0.45)	0.829	-0.20 (-0.60, 0.19)	0.306
	AC/CC	CC (N = 257)	23 (-38, 84)	0.465	0.32 (-0.02, 0.66)	0.064	-0.26 (-0.52, -0.00)	0.049
受動喫煙	AA	CG/GG (N = 82)	34 (-52, 119)	0.441	0.25 (-0.22, 0.72)	0.304	-0.14 (-0.50, 0.22)	0.453
		CC (N = 307)	-11 (-70, 49)	0.724	-0.06 (-0.38, 0.27)	0.728	-0.18 (-0.43, 0.08)	0.169
	AC/CC	CG/GG (N = 93)	7 (-75, 89)	0.863	0.07 (-0.39, 0.52)	0.775	-0.49 (-0.54, -0.14)	0.006*
Interaction		CC (N = 453)	-28 (-84, 27)	0.316	-0.13 (-0.44, 0.17)	0.390	-0.31 (-0.54, -0.07)	0.010
		CG/GG (N = 168)	-37 (-105, 32)	0.294	-0.10 (-0.47, 0.28)	0.615	-0.41 (-0.70, -0.12)	0.006*
		Crude		-26 (-115, 63)	0.566	-0.13 (-0.60, 0.35)	0.606	-0.11 (-0.46, 0.23)
	Adjusted		-61 (-139, 17)	0.127	-0.35 (-0.77, 0.08)	0.111	-0.16 (-0.49, 0.17)	0.350
非喫煙	CYPIA2 (A>C) AA	XRCCI (C>T) CC (N = 125)	Referent		Referent		Referent	
		CT/TT (N = 148)	-12 (-92, 67)	0.762	-0.05 (-0.48, 0.39)	0.836	-0.20 (-0.54, 0.14)	0.251
	AC/CC	CC (N = 151)	33 (-46, 112)	0.406	0.49 (0.06, 0.92)	0.027	-0.27 (-0.60, 0.07)	0.119
受動喫煙	AA	CT/TT (N = 188)	14 (-61, 90)	0.707	0.13 (-0.28, 0.55)	0.538	-0.31 (-0.63, 0.02)	0.061
		CC (N = 198)	-23 (-98, 52)	0.550	-0.01 (-0.42, 0.41)	0.981	-0.41 (-0.73, -0.09)	0.012
	AC/CC	CT/TT (N = 202)	5 (-70, 79)	0.900	-0.08 (-0.49, 0.33)	0.715	-0.20 (-0.52, 0.12)	0.213
Interaction		CC (N = 293)	-30 (-100, 40)	0.407	-0.11 (-0.50, 0.28)	0.578	-0.42 (-0.72, -0.13)	0.005*
		CT/TT (N = 328)	-36 (-105, 33)	0.306	-0.16 (-0.54, 0.22)	0.413	-0.36 (-0.66, -0.07)	0.015
		Crude		-24 (-89, 40)	0.459	-0.17 (-0.51, 0.18)	0.346	-0.02 (-0.28, 0.23)
	Adjusted		-52 (-108, 5)	0.072	-0.35 (-0.66, -0.04)	0.027	-0.02 (-0.26, 0.22)	0.843

妊婦の遺伝子多型: CYPIA2 (A>C), CYPIA2 (A>C, CYP1A2*1F); CYP1B1 (C>G), CYP1B1 (C>G, Leu432Val); XRCCI (C>T), XRCCI (C>T, Arg194Trp).

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

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

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

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

*; Bonferroni 補正後有意。

4. 考察

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

(1) 妊婦の受動喫煙と *AHR* 遺伝子多型が出生時体格に及ぼす影響

AHR (G>A, Arg554Lys) 遺伝子多型では、非喫煙で GA/AA 型の妊婦の児と比較して、受動喫煙で GG 型の妊婦の児の出生時体格の減少は認めなかった。しかし、先行研究では喫煙で GG 型の妊婦の児は減少し¹⁸、GG 型と比較して、GA/AA 型では *CYP1A1* の誘導が減少したと報告されている⁵⁸。結果の違いは受動喫煙と喫煙の曝露量によるもので、受動喫煙妊婦は副流煙の一部だけを体内に取り込むため、PAHs は副流煙には多く含まれるものの、曝露量としては少なかったために児の出生時体格まで影響を及ぼさなかったと考えられる。

(2) 妊婦の受動喫煙と *CYP1A2* および *CYP1B1* 遺伝子多型が出生時体格に及ぼす影響

CYP1A2 (A>C, CYP1A2*1F) 遺伝子多型では、非喫煙で AA 型の妊婦の児と比較して、受動喫煙で AC/CC 型の妊婦の児の出生時頭囲の減少を認めた。AC/CC 型では酵素の代謝活性が高いことが報告されていることから⁶²、AA 型と比較して AC/CC 型の妊婦は受動喫煙によってたばこ煙を体外から取り込むことで、BPDE がより生成されて、DNA の付加体が形成されやすいことにより、さらに胎盤組織の DNA が損傷し、児の出生時体格に影響を及ぼしたと考えられる。

また *CYP1B1* (C>G, Leu432Val) 遺伝子多型では、非喫煙で CC 型の妊婦の児と比較して、受動喫煙で CG/GG 型の妊婦の児の出生時頭囲の減少を認めた。CC 型と比較して、CG/GG 型では酵素の代謝活性が高いことが報告されていることから⁶³、CG/GG 型の妊婦は受動喫煙によってたばこ煙を体外から取り込むことで、BPDE がより生成されて、DNA の付加体が形成されやすいことにより、さらに胎盤組織の DNA が損傷し、児の出生時体格に影響を及ぼしたと考えられる。

(3) 妊婦の受動喫煙と GSTs 遺伝子多型が出生時体格に及ぼす影響

GSTM1 (Present/Absent) と *GSTT1* (Present/Absent) 遺伝子多型では、非喫煙で Present 型の妊婦の児と比較して、受動喫煙で Absent 型の妊婦の児の出生時体格の減少は認めなかった。しかし、先行研究では、受動喫煙で Absent 型の妊婦の児の出生時体重の減少が認められた³³。先行研究では、本研究よりも男児が 7.2%多く、*GSTM1* (Present/Absent) 遺伝子多型の Absent

型の受動喫煙妊婦が 10.3%多く、*GSTT1*(Present/Absent) 遺伝子多型の Absent 型の受動喫煙妊婦が 15.7%多かったと報告されており、男児と妊婦の遺伝子多型に対する研究対象者集団の違いが実験結果の相違に影響したと考えられる。

(4) 妊婦の受動喫煙と *XRCC1* 遺伝子多型が出生時体格に及ぼす影響とその性差

XRCC1 (C>T, Arg194Trp) 遺伝子多型では、非喫煙で CC 型の妊婦の児と比較して、受動喫煙で CT/TT 型の妊婦の児の出生時身長減少が認められた。*XRCC1* (C>T, Arg194Trp) 遺伝子多型の CC 型の妊婦と比較して、CT/TT 型の妊婦は DNA 修復能が低いために、BPDE-DNA 付加体がより多くなると考えられる。また、受動喫煙妊婦の胎盤には、PAH-DNA 付加体が存在し^{72,73}、ヒトの細胞実験で PAHs はヒトの細胞死を高めたとの報告から⁷⁴、CT/TT 型の妊婦は胎盤組織内で BPDE による DNA 損傷が多いことで胎盤機能の低下が起こり、出生時体格により強い影響が認められたと考えられる。また、男児と比較して、女児は血流が速いことが示されており⁷⁵、妊婦の胎盤機能の低下と、男児での血流の低下が、男児の胎児期発育により強い影響を及ぼしたために、出生時体格の減少が男児にのみ認められたと考えられる。

その一方、*XRCC1* (G>A, Arg399Gln) 遺伝子多型では、非喫煙の GG 型の妊婦の児と比較して、受動喫煙の GA/AA 型の妊婦の児の出生時体格の減少は認められなかった。本研究では、*XRCC1* (C>T, Arg194Trp) 遺伝子多型の低頻度のホモ接合型である TT 型の妊婦の割合が 9.8-10.5%であるのに対し、*XRCC1* (G>A, Arg399Gln) AA 型の妊婦の割合が 6.9-7.7%と少ないため、統計学的パワーが小さく児の出生時体格の影響が認められなかったと考えられる。

(5) 妊婦の受動喫煙と 2 つ以上の遺伝子多型の組合せが出生時体格に及ぼす影響

CYP1A2(A>C, CYP1A2*1F) 遺伝子多型と *CYP1B1* (C>G, Leu432Val) 遺伝子多型を組合せると、非喫煙で *CYP1A2* 遺伝子多型が AA 型、*CYP1B1* 遺伝子多型が CC 型の妊婦の児と比較して、受動喫煙で *CYP1A2* 遺伝子多型が AC/CC 型、*CYP1B1* 遺伝子多型が CG/GG 型の妊婦の児は出生時頭囲のみ大きな減少を示し、有意差が認められた。また、*CYP1A2* 遺伝子多型と *XRCC1* (C>T, Arg194Trp) 遺伝子多型を組合せると、非喫煙で *CYP1A2* 遺伝子多型が AA 型、*XRCC1* 遺伝子多型が CC 型の妊婦の児と比較して、受動喫煙で *CYP1A2* 遺伝子多型が AC/CC 型、*XRCC1* 遺伝子多型が CT/TT 型の妊婦の児の出生時体格の減少は示さなか

った。

本研究のはじめに、妊婦の受動喫煙と 1 遺伝子多型との関連で、必要なサンプルサイズは 1,571 名と見積ったが（設定条件：予想される標準化効果量 = 0.1、統計学的有意水準 $\alpha = 0.05$ 、 β エラー = 0.20）⁷⁶、このサンプルサイズは遺伝子多型の組合せを考慮していなかった。また、実際に本研究で得られた効果量は、サンプルサイズの設定条件の効果量の 1/2 から 1/10 であった。

妊婦の受動喫煙と *CYP1A2* と *XRCC1* 遺伝子多型の組合せと出生時体重と出生時身長との関連は、この 2 つ以上の遺伝子多型の組合せを考慮されていないサンプルサイズと予想よりも小さかった効果量によって、有意な差が認められなかったと考えられる。また、妊婦の受動喫煙と、*CYP1A2* と *XRCC1* 遺伝子多型の組合せと出生時体格との関連は、統計学的パワーが小さかったことによって、有意な差が認められなかったと考えられる。

（6）研究の限界

副流煙に多く含まれる PAHs に注目し、その代謝に関連する *AHR*、*CYP1A2*、*CYP1B1*、*GSTM1*、*GSTT1*、および *XRCC1* 遺伝子多型について検討したが、他に多く含まれる N-ニトロソアミン類やカルボニル化合物類の代謝や解毒に関わる酵素についても検討していく必要があると考えられる。

総括

本研究では妊婦の受動喫煙による胎児発育への影響を遺伝的感受性も考慮して検討し、性差についても検討した。

妊婦の受動喫煙が児の出生時体格に及ぼす影響とその性差

本研究では北海道内 40 産科病院において登録した妊婦を対象者として、ランダムサンプリングした 1,633 名で解析をおこなった。

非喫煙妊婦の児と比較して、受動喫煙妊婦の児は出生時体格が減少した（出生時体重, $P = 0.043$; 出生時身長, $P = 0.013$; 出生時頭囲, $P = 0.047$ ）。さらに児の性別で層別したところ、男児で減少したが（出生時体重, $P = 0.007$; 出生時身長, $P < 0.001$; 出生時頭囲, $P = 0.031$ ）、女児では有意な差はなかった。

本研究の結果より次のことが明らかとなった。

- (1) 妊婦の受動喫煙は出生時体格を減少させる要因の一つである。
- (2) 妊婦の受動喫煙は児の出生時体格への影響を及ぼし、この影響は男児のみに認められた。

妊婦の受動喫煙と PAHs 代謝関連遺伝子多型が児の出生時体格に及ぼす影響とその性差

妊婦の受動喫煙と PAHs 代謝に関与する遺伝子多型として *AHR*、*CYP1A2*、*CYP1B1*、*GSTM1*、*GSTT1*、および *XRCC1* 遺伝子多型との交互作用を検討した。

非喫煙で *CYP1A2* (A>C) 遺伝子多型の AA 型をもつ妊婦の児と比較して、受動喫煙で AC/CC 型をもつ妊婦の児の出生時頭囲は減少した ($P = 0.006$)。また、非喫煙で *CYP1B1* (C>G) 遺伝子多型の CC 型をもつ妊婦の児と比較して、受動喫煙で CG/GG 型をもつ妊婦の児の出生時頭囲は減少した ($P = 0.008$)。さらに、非喫煙で *XRCC1* (C>T) 遺伝子多型 CC 型をもつ妊婦の児と比較して、受動喫煙し CT/TT 型をもつ妊婦の児の出生時身長は減少した ($P = 0.002$)。

次に遺伝子多型の組合せでは、非喫煙で *CYP1A2* (A>C) 遺伝子多型が AA 型、*CYP1B1* (C>G) 遺伝子多型が CC 型をもつ妊婦の児と比較して、受動喫煙で *CYP1A2* 遺伝子多型が AC/CC 型、*CYP1B1* 遺伝子多型が CG/GG 型をもつ妊婦の児の出生時頭囲は減少した ($P = 0.006$)。

さらに児の性別で層別すると、男児では、非喫煙で *CYP1B1* (C>G) 遺伝子多型が CC 型をもつ妊婦の児と比較して、受動喫煙で CG/GG 型をもつ妊婦の児

の出生時身長、および出生時頭囲は減少した ($P = 0.004$; $P = 0.005$)。また、非喫煙で *XRCC1* (C>T) 遺伝子多型の CC 型をもつ妊婦の児と比較して、受動喫煙で CT/TT 型をもつ受動喫煙妊婦の児の出生時身長は減少し ($P = 0.001$)、この遺伝-環境交互作用が認められたが ($P = 0.009$)、女兒では有意な差がなく、男児のみへの影響が認められた。

本研究の結果より次のことが明らかとなった。

(1) 妊婦の受動喫煙と遺伝-環境交互作用により、児の出生時体格の減少が認められた。PAHs 代謝と関与が認められた遺伝子多型としては *CYP1A2*、*CYP1B1*、および *XRCC1* の 3 つがあり、遺伝的なハイリスク群があった。

(2) 児の出生時体格の減少は男児により強い影響が出ることを第 I 章で明らかにしたが、妊婦の遺伝子多型による違いでも同様に男児により強い影響があった。

結論

妊婦の受動喫煙より児の出生時体格は減少し、男児で強い影響が認められた。PAHs 代謝に関わる遺伝子多型で関連が認められたのは、*CYP1A2*、*CYP1B1*、および *XRCC1* 遺伝子多型の 3 つであり、男児でより強い影響があった。妊婦の受動喫煙は胎児発育障害の要因であり、男児ではより強い影響が出ること、また遺伝的なハイリスク群があることがわかった。

今後の課題

低体重で産まれた児は小児期の肥満、成人期の生活習慣病との関連が示唆されており、生後の身体発育に及ぼす影響も追跡していく必要がある。

2011 年のわが国における非喫煙女性の家庭での受動喫煙率は 22.3%と報告されていて⁷⁷、妊婦だけでなく、配偶者や職場の同僚に禁煙教育をし、受動喫煙防止を周知していくことが重要である。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、ご指導とご助言を賜りました北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 玉腰暁子教授、北海道大学環境健康科学研究教育センター 岸玲子特任教授、北海道大学大学院医学研究科生殖・発達医学講座産科・生殖医学分野 水上尚典教授、北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 佐々木成子助教、国立保健医療科学院生活環境研究部 佐田文宏上席主任研究官に深甚なる謝意を表します。また本研究は北海道大学環境健康科学研究教育センター 宮下ちひろ特任助教、池野多美子特任講師、荒木敦子特任講師、および安住薫客員研究員、「環境と子どもの健康に関する北海道スタディ」研究グループで数々の貴重なご助言とご協力を賜りました北海道大学環境健康科学研究教育センター **Thamar Ayo Yila** 客員研究員、**Titilola Serifat Braimoh** 客員研究員、小林祥子研究補助員、東京大学大学院医学系研究科公共健康医学専攻社会予防疫学分野および日本学術振興会 檜野いく子特別研究員、北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野 岡田恵美子氏、伊藤久美子氏、**Mariko Limpar** 氏、馬場俊明氏、旭川医科大学健康科学講座地域保健疫学分野 西條泰明教授、吉岡英治准教授、ならびに鈴鹿医療科学大学薬学部薬学科 坂晋助手に深く感謝申し上げます。また研究の遂行にご助力とご支援をいただきました研究支援員、全ての北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野教室員、北海道大学環境健康科学研究教育センター研究員の皆様にも多大なるご協力を賜りました。また、研究生活を支えてくれた家族にも感謝致します。

最後に、本研究にご参加下さり貴重な研究資料をご提供いただきました対象者の皆様、ご協力いただきました札幌東豊病院、青葉産婦人科クリニック、秋山記念病院、旭川医科大学付属病院、旭川赤十字病院、岩見沢こども・産婦人科クリニック、遠軽厚生病院、えんどう桔梗マタニティクリニック、王子総合病院、帯広協会病院、帯広厚生病院、北見赤十字病院、北見レディースクリニック、勤医協札幌病院、釧路赤十字病院、釧路労災病院、慶愛病院、**KKR** 札幌医療センター、公立芽室病院、五輪橋産科婦人科小児科病院、札幌医科大学付属病院、札幌厚生病院、札幌徳州会病院、市立札幌病院、市立士別総合病院、市立函館病院、市立稚内病院、白石産科婦人科病院、新日鐵室蘭総合病院、手稲溪仁会病院、天使病院、北海道立紋別病院、町立中標津病院、中村病院、名寄市立総合病院、日鋼記念病院、函館五稜郭病院、函館中央病院、はしもとクリニック、朋佑会札幌産科婦人科病院、北海道社会保

険病院、および北海道大学病院の関係者の皆様に心からお礼申し上げます。

参考文献

1. Brunnemann K. D., Hoffmann D. Analytical studies on tobacco-specific N-nitrosamines in tobacco and tobacco smoke. *Crit Rev Toxicol* **21**: 235-240 (1991).
2. US Department of Health and Human Service. *Cigar* (1998).
3. Adams J. D., O' Mara-Adams K. J., Hoffmann D. Toxic and carcinogenic agents in undiluted mainstream smoke and sidestream smoke of different types of cigarettes. *Carcinogenesis* **8**: 729-731 (1987).
4. Borgerding M., Klus H. Analysis of complex mixtures—cigarette smoke. *Exp Toxicol Pathol* **57**: 43-73 (2005).
5. Kurahashi N., *et al.* Passive smoking and lung cancer in Japanese non-smoking women: a prospective study. *Int J Cancer* **122**: 653-657 (2008).
6. Sadri G., Mahjub H. Passive or active smoking, which is more relevant to breast cancer. *Saudi Med J* **28**: 254-258 (2007).
7. Fantuzzi G., *et al.* Preterm delivery and exposure to active and passive smoking during pregnancy: a case-control study from Italy. *Paediatr Perinat Epidemiol* **21**: 194-200 (2007).
8. George L., *et al.* Environmental tobacco smoke and risk of spontaneous abortion. *Epidemiology* **17**: 500-505 (2006).
9. Suarez L., *et al.* Maternal smoking, passive tobacco smoke, and neural tube defect. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* **91**: 29-33 (2011).
10. Li Z., *et al.* Maternal passive smoking and risk of cleft lip with or without cleft palate. *Epidemiology* **21**: 240-242 (2010).

11. Deng K., *et al.* Periconceptional paternal smoking and the risk of congenital heart defects: a case-control study. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* **97**: 210-216 (2013).
12. Windham G.C., *et al.* Prenatal active or passive tobacco smoke exposure and the risk of preterm delivery or low birth weight. *Epidemiology* **11**: 427-433 (2000).
13. Xepapadaki P., *et al.* Association of passive exposure of pregnant women to environmental tobacco smoke with asthma symptoms in children. *Pediatr Allergy Immunol* **20**: 423-429 (2009).
14. Carlsten C., *et al.* Cotinine versus questionnaire: early-life environmental tobacco smoke exposure and incident asthma. *BMC Pediatr* **12**: 187 (2012).
15. Jacoby P.A., *et al.* The effect of passive smoking on the risk of otitis media in Aboriginal and non-Aboriginal children in the Kalgoorlie-Boulder region of Western Australia. *Med J Aust* **188**: 599-603 (2008).
16. Wang X., *et al.* Maternal cigarette smoking, metabolic gene polymorphism, and infant birth weight. *JAMA* **287**: 195-202 (2002).
17. Nukui T., *et al.* Maternal/newborn GSTT1 null genotype contributes to risk of preterm, low birthweight infants. *Pharmacogenetics* **14**: 569-576 (2004).
18. Sasaki S., *et al.* Maternal smoking during pregnancy and genetic polymorphisms in the Ah receptor, CYP1A1, and GSTM1 affect infant birth size in Japanese subject. *Mol Hum Reprod* **12**: 77-83 (2006).
19. Delpisheh, A., *et al.* A case-control study of CYP1A1, GSTT1 and GSTM1 gene polymorphisms, pregnancy smoking and fetal growth restriction. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* **143**: 38-42 (2009).

20. Danileviciute A., *et al.* Low level maternal smoking and infant birthweight reduction: genetic contributions of GSTT1 and GSTM1 polymorphisms. *BMC Pregnancy Childbirth* **12**: 161 (2012).
21. Nebert D.W., Dalton D.P. The role of cytochrome P450 enzymes in endogenous signaling pathways and environmental carcinogenesis. *Nat Rev Cancer* **6**: 947–960 (2006).
22. Konishi K., *et al.* Prenatal exposure to PCDDs/PCDFs and dioxin-like PCBs in relation to birth weight. *Environ Res* **109**: 906–913 (2009).
23. Washino N., *et al.* Correlation between prenatal exposure to perfluorinated chemicals and reduced fetal growth. *Environ Health Perspect* **117**: 660–667 (2009).
24. Jedrychowski W., *et al.* Gender specific differences in neurodevelopmental effects of prenatal exposure to very low-lead levels: the prospective cohort study in three-year olds. *Early Hum Dev* **85**: 503–510 (2009).
25. Miyashita C., *et al.* Effects of prenatal exposure to dioxin-like compounds on allergies and infections during infancy. *Environ Res* **111**: 551–558 (2011).
26. Okada E., *et al.* Prenatal exposure to perfluorinated chemicals and relationship with allergies and infectious diseases in infants. *Environ Res* **112**: 118–125 (2012).
27. Kippler M., *et al.* Factors influencing intestinal cadmium uptake in pregnant Bangladeshi women—a prospective cohort study. *Environ Res* **109**: 914–921 (2009).
28. Volverg V., *et al.* Maternal bisphenol A exposure during pregnancy and its association with adipokines in Mexican-American children.

Environ Mol Mutagen **54**: 621-628 (2013).

29. 厚生労働省. 平成 23 年度国民健康・栄養調査.

<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/eiyou/dl/h23-houkoku-06.pdf>
(2011) (2013 年 10 月 18 日検索)

30. World Health Organization (WHO). Prevalence of tobacco use.
<http://www.who.int/gho/tobacco/use/en/> (2013 年 10 月 18 日検索)

31. Infante-Rivard C., Weinberg C.R., Guiquet M.

Xenobiotic-metabolizing genes and small-for-gestational-age births:
interaction with maternal smoking. *Epidemiology* **17**: 38-46 (2006).

32. Sasaki S., *et al.* Adverse birth outcomes associated with maternal
smoking and polymorphisms in the N-nitrosamine-metabolizing enzyme
genes NQO1 and CYP2E1. *Am J Epidemiol* **167**: 719-726 (2008).

33. Hong Y.C., *et al.* Effects of the GSTM1 and GSTT1 polymorphisms on
the relationship between maternal exposure to environmental tobacco
smoke and neonatal birth weight. *J Occup Environ Med* **45**: 492-498 (2003).

34. Wu T., *et al.* Passive smoking, metabolic gene polymorphisms, and
infant birth weight in a prospective cohort study of Chinese women. *Am
J Epidemiol* **166**: 313-322 (2007).

35. 鈴木史明、笠松隆洋. 妊婦における喫煙状況とタバコの害の認知状況と
の関連. *日本禁煙学会雑誌* **4**: 119-124 (2009).

36. Yila T.A., *et al.* Effects of maternal

5,10-methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C
polymorphisms and tobacco smoking on infant birth weight in a Japanese
population. *J Epidemiol* **22**: 91-102 (2011).

37. Crane J.M., *et al.* Effects of environmental tobacco smoke on
perinatal outcomes: a retrospective cohort study. *BJOG* **118**: 865-871

(2011).

38. Ward C., Lewis S., Coleman T. Prevalence of maternal smoking and environmental tobacco smoke exposure during pregnancy and impact on birth weight: retrospective study using Millenium Cohort. *BMC Public Health* **7**: 81 (2007).

39. Fantuzzi G., *et al.* Exposure to active and passive smoking during pregnancy and severe small for gestational age at term. *J Matern Fetal Neonatal Med* **21**: 643-647 (2008).

40. Jedrychowski W., *et al.* Gender differences in fetal growth of newborns exposed prenatally to airborne fine particulate matter. *Environ Res* **109**: 447-456 (2010).

41. Liu J., *et al.* Mother' s environmental tobacco smoke exposure during pregnancy and externalizing behavior problems in children. *Neurotoxicology* **34**: 167-174 (2013).

42. Lee S.L., *et al.* Foetal exposure to maternal passive smoking is associated with childhood asthma, allergic rhinitis, and eczema. *Scientific World Journal* **2012**: 542983 (2012).

43. Sasaki S., *et al.* Self-reported tobacco smoke exposure and plasma cotinine levels during pregnancy--a validation study in Northern Japan. *Sci Total Environ* **412-413**: 114-118 (2011).

44. 板橋家頭夫ら. 新しい在胎期間別出生時体格標準値の導入について. *日本小児科学会雑誌* **114**: 1271-1293 (2010).

45. Wahabi H. A., *et al.* Effects of secondhand smoke on the birth weight of term infants and the demographic profile of Saudi exposed women. *BMC Public Health* **13**: 341 (2013).

46. Zarén, B, Lindmark, G., Bakketeig, L. Maternal smoking affects fetal

- growth more in male fetus. *Pediatr Perinat Epidemiol* **14**: 118–126 (2000).
47. Wartelecki W., Hoff C., Zansky S. Maternal smoking: greater effect on males, fetal tobacco syndrome? *Teratology* **35**: 317–320 (1987).
48. Kishi R., *et al.* Cohort profile: the Hokkaido study on environment and children' s health. *Int J Epidemiol* **40**: 611–618 (2011).
49. Bellinger D., *et al.* Longitudinal analyses of prenatal and postnatal lead exposure and early cognitive development. *N Engl J Med* **316**: 1037–1043 (1987).
50. Aycicek A., *et al.* Maternal active or passive smoking causes oxidative stress in placental tissue. *Eur J Pediatr* **170**: 645–651 (2011).
51. Obolenskaya M.Y., *et al.* Human placental glutathione S-transferase activity and polycyclic aromatic hydrocarbon DNA adducts as biomarkers for environmental oxidative stress in placentas from pregnant women living in radioactivity- and chemically-polluted regions. *Toxicol Lett* **196**: 80–86 (2010).
52. Tontisirin N., *et al.* Early childhood gender differences in anterior and posterior cerebral blood flow velocity and autoregulation. *Pediatrics* **119**: e610–615 (2007).
53. Parker A.J., *et al.* The ultrasound estimation of sex-related variations of intrauterine growth. *Am J Obstet Gynecol* **149**: 665–669 (1984).
54. Dempsey D.A., *et al.* CYP2A6 genotype but not age determines cotinine half-life in infants and children. *Clin Pharmacol Ther* **94**: 400–406 (2013).
55. Pichini S., *et al.* Cord serum cotinine as a biomarker of fetal exposure to cigarette smoke at the end of pregnancy. *Environ Health*

Perspect **108**: 1079–1083 (2000).

56. Dai L., *et al.* XRCC1 gene polymorphisms and lung cancer susceptibility: a meta-analysis of 44 case-control studies. *Mol Biol Rep* **39**: 9535–9547 (2012).

57. Xue W., Warshawsky D. Metabolic activation of polycyclic aromatic hydrocarbon and heterocyclic aromatic hydrocarbons and DNA damage: a review. *Toxicol Appl Pharmacol* **206**: 73–93 (2005).

58. Wong J.M., *et al.* Ethnic variability in the allelic distribution of human aryl hydrocarbon receptor codon 554 and assessment of variant receptor function in vivo. *Pharmacogenesis* **11**: 85–94 (2001).

59. Cheung Y.L., *et al.* Differential expression of CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1 in human kidney tumors. *Cancer Lett* **139**: 199–205 (1999).

60. Moonen H., *et al.* The CYP1A2 -162A-->C polymorphism (CYP1A2*1F) is associated with the risk of colorectal adenomas in human. *Cancer Lett* **229**: 25–31 (2005).

61. Salinus-Sánchez A.S., *et al.* Role of CYP1B1 gene polymorphisms in bladder cancer susceptibility. *J Urol* **187**: 700–706 (2012).

62. Wang L., *et al.* Association between common CYP1A2 polymorphisms and theophylline metabolism in non-smoking healthy volunteers. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* **112**: 257–263 (2013).

63. Schoket B., *et al.* Impact of metabolic genotypes on levels of biomarkers of genotoxic exposure. *Mutat Res* **482**: 57–69 (2001).

64. Eaton D.L., Bammler T.K. Concise review of the glutathione S-transferases and their significance to toxicology. *Toxicol Sci* **49**: 156–164 (1999).

65. Pavanello S., *et al.* GSTM1 null genotype as a risk factor for anti-BPDE-DNA adduct formation in mononuclear white blood cells of coke-oven workers. *Mutat Res* **558**: 53-62 (2004).
66. Weng H., *et al.* Effects of cigarette smoking, XRCC1 genetic polymorphisms, and age on basal DNA damage in human blood mononuclear cells. *Mutat Res* **679**: 59-64 (2009).
67. Ng D.P., *et al.* CYP1A1 polymorphisms and risk of cancer in non-smoking Chinese women: influence of environmental tobacco smoke exposure and GSTM1/T1 genetic variation. *Cancer Causes Control* **16**: 399-405 (2005).
68. Wenzlaff A.S., *et al.* CYP1A1 and CYP1B1 polymorphisms and risk of lung cancer among never smokers: a population-based study. *Carcinogenesis* **26**: 2207-2212 (2012).
69. Covault J., *et al.* Quantitative real-time PCR for gene dosage determinations in microdeletion genotypes. *Biotechniques* **35**: 594-596 (2003).
70. Kobayashi S., *et al.* Genetic association of aromatic hydrocarbon receptor (AHR) and cytochrome P450, family 1, subfamily A, peptide 1 (CYP1A1) polymorphisms with dioxin blood concentrations among pregnant Japanese women. *Toxicol Lett* **219**: 269-278 (2013).
71. Ranade K., *et al.* High-throughput genotyping with single nucleotide polymorphisms. *Genome Res* **11**: 1262-1268 (2001).
72. Zalacain M., *et al.* Effects of benzo[a]pyrene-7,8-diol-9,10-epoxide (BPDE) in vitro and of maternal smoking in vivo on micronuclei frequencies in fetal cord blood. *Pediatr Res* **60**: 180-184 (2006).
73. Sanyal M.K., *et al.* DNA adducts in human placenta exposed to ambient environment and passive cigarette smoke during pregnancy. *Birth Defects*

Res A Clin Mol Teratol **79**: 289-294 (2007).

74. Rorke E. A., *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons enhance terminal cell death of human ectocervical cells. *Int J Oncol* **13**: 557-563 (1998).

75. Tontisirin N., *et al.* Early childhood gender differences in anterior and posterior cerebral blood flow velocity and autoregulation. *Pediatrics* **119**: e610-e615 (2007).

76. Hulley S. B., *et al.* Designing clinical research: an epidemiologic approach, second edition. *Lippincott Williams & Wilkins*, Philadelphia, PA, USA (2001).

77. 厚生労働省. 平成 24 年労働者健康状況調査.

http://www.mhlw.go.jp/toukei/list/dl/h24-46-50_01.pdf (2012) (2013 年 10 月 18 日検索)