



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	2万人規模の出生コーホートと、500人規模の小コーホートからなる北海道スタディが目指してきたもの : 環境と子どもの健康 : 先天異常・発達・アレルギーの15年におよぶ経験と成果
Author(s)	岸, 玲子; 荒木, 敦子; 宮下, ちひろ 他
Description	ミニ特集 小児環境保健疫学研究のパラダイム
Citation	日本衛生学雑誌, 73(2), 164-177 https://doi.org/10.1265/jjh.73.164
Issue Date	2018-05-31
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70727
Type	journal article
File Information	JpnJHyg73_164.pdf



2 万人規模の出生コーホートと、500 人規模の小コーホートからなる北海道スタディが目指してきたもの：環境と子どもの健康―先天異常・発達・アレルギーの 15 年におよぶ経験と成果

岸玲子，荒木敦子，宮下ちひろ，伊藤佐智子，湊屋街子，小林澄貴，山崎圭子，アイツバマイゆふ，三浦りゅう，田村菜穂美
北海道大学環境健康科学研究教育センター

利益相反はありません。

〒060-0812

北海道札幌市北区北 12 条西 7 丁目

北海道大学 環境健康科学研究教育センター

電話：011-706-4746

Fax：011-706-4725

E-mail：rkishi@med.hokudai.ac.jp

表 4，図 9

別刷請求先

岸 玲子

北海道大学 環境健康科学研究教育センター

〒060-0812 北海道札幌市北区北 12 条西 7 丁目

The importance of two birth cohorts (n=20,926 and n=514) : 15 years' experiences of the Hokkaido study on environment and children's health: malformation, development and allergy

Reiko KISHI, Atsuko ARAKI, Chihiro MIYASHITA, Sachiko ITOH, Machiko MINATOYA, Sumitaka KOBAYASHI, Keiko Yamazaki Yu AIT BAMA, Ryu MIURA, Naomi TAMURA

Center for Environmental and Health Sciences, Hokkaido University

WHO Collaboration Centre for environmental health and prevention of chemical hazards

Abstract

Since "Our Stolen Future" by Theo Colborn was published in 1996, global interest on the impact of chemical substances, such as the endocrine-disrupting action of chemicals, has increased. In Japan, "The Hokkaido Study on Environment and Children's Health: Malformation, Development and Allergy" was launched in 2001. It was a model of Japan Environment and Children's Study of the Ministry of the Environment. In a large-scale, Hokkaido cohort, we obtained the consent of 20,926 mothers at the organogenesis stage with the cooperation of 37 obstetrics clinics in Hokkaido. We tracked the effects of endocrine disruptors on developmental disorders. In a small-scale Sapporo cohort, we observed in detail the neuropsychiatric development of children with the consent of 514 mothers in their late pregnancy. We examined how prenatal exposure to low concentrations of environmental chemicals affect the development of organs and the postnatal development of children. Maternal exposure to POPs, such as PCB/dioxins and perfluorinated alkyl substances, has affected not only children's birth size, thyroid functions, and sex hormone levels, but also postnatal neurodevelopment, infection, and allergy among others. The associations of short-half-life substances, such as DEHP and BPA, with obesity, ASD, and ADHD have been investigated. Gene-environment interactions have been found for smoking, caffeine, folic acid, and PCB/dioxin. In 2015, our center was officially designated as the WHO Collaborating Center for Environmental Health and Prevention of Chemical Hazards, and we continue to contribute to the global perspectives of child health.

Address reprint request to:

Reiko KISHI, MD, PhD, MPH

Kita 12, Nishi 7, Kita-ku, Sapporo, Hokkaido 060-0812

Phone: 011-706-4746

Fax: 011-706-4725

E-mail: rkishi@med.hokudai.ac.jp

キーワード: Environmental Chemicals 環境化学物質, Birth Cohort Study 出生コ－ホ
ート研究, DOHaD 仮説 Developmental Origin Health and Diseases Hypothesis, Endocrine
Disruptors 内分泌かく乱物質

1. 北海道スタディ（大小二つのコーホート）の研究の背景と目的、特徴

日本では乳幼児健診などに参加した児を追跡し、子どもの成長を追う研究が幾つか実施されていたが、胎児期からの環境曝露影響を前向きに検討する出生コーホート研究は 2000 年まで存在しなかった。我々は 1990 年代から尿道下裂や停留精巣の遺伝環境要因について症例対照研究を始めたが妊娠中の曝露評価ができない限界があったことから[1], 2001 年より前向き研究「環境と子どもの健康に関する北海道スタディ (The Hokkaido Study on Environment and Children's Health: Malformation, Development and Allergy)」を立ち上げた。[2]

北海道スタディの立ち上げの背景と目的や特徴はこれまでも経緯や到達点をコーホートプロフィール等として詳細に述べたのでここでは簡潔に記す [3, 4]。および邦文 3 編[5-7]。世界では、1996 年に “Our stolen future” が Theore Colbourn らによって出版され[8], 特に内分泌かく乱作用が大きな関心を集め各国で研究が始まった。取り上げられた多くは PCB などの環境濃度が高い地域での問題であった。しかし、私たちは、環境リスク評価としては、日本の中でも比較的汚染レベルが低い北海道においても影響が認められるか、影響が見られるとしたらその濃度はどのくらいか？が重要であると考えた。さらにその影響は異物代謝酵素に関係する Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) など遺伝的なハイリスク集団でリスクの上昇が認められるか？を疫学的に検討することが急務と考え、世界的に見ても早い時期に地域に基づいた出生コーホート研究を開始した。特に子どもの脆弱（ぜいじゃく）性を考える時、「疾病の起源が、胎児期あるいは小児発達期にあるという DOHaD (Developmental Origin of Health and Diseases) 学説[9]」の検証も重要と考えた。すなわち大人になってからの病気と考えられる肥満や糖尿病、がんや高血圧なども、一部は胎児期や幼少時期に原因があるという考え方が世界的に注目されるようになっていたので、私たちは、生涯を通じての予防医学の重要性を証明していくことが公衆衛生上の大きな課題になると考えたからである。

北海道スタディは大小 2 つの前向きコーホートから構成され、一つは地域ベースの 37 医療機関における北海道コーホートで母児 20, 926 人ペアである。もう一つは、札幌の一産科医療機関を受診した妊婦を対象にした小規模な札幌コーホート母児 514 人ペアである。表 1 に北海道スタディの特徴をまとめた。①一般的な日常生活で受ける低濃度の環境化学物質の曝露影響評価、②妊娠中の母体血や臍帯血などを採取保存することによって胎児の器官形成期を含む胎児期の環境曝露要因についての正確な測定分析、③先天異常、出生時体格、成長発育、アレルギー感染症、甲状腺、発達障害、思春期発達など出生後の様々なアウトカムに対して正確な曝露評価に基づく縦断的なリスク評価、④生活環境要因との関

係(たとえば妊娠中の母体血の葉酸や、コチニン値の定量的評価, 社会経済要因の分析など)を含めた解析, ④それぞれの化学物質の代謝や児の疾病感受性などを配慮した遺伝的なハイリスクグループの特定, ⑤パイロ・シークエンサー等による個別の遺伝子および網羅的エピゲノム作用を含む次世代影響メカニズムの検討である。生後の曝露については, 学童期の尿や住宅環境のダスト中のフタル酸エステル類およびコチニンの測定を行い, 現在はいさらに一部の 9-10 歳児で同意を得て血液についても曝露評価を一部は実施している。

2. 前向きコーホート：追跡の時系列デザインと測定項目

2 万人規模の北海道コーホートでは, 妊娠初期(器官形成期)の 12 週までに同意を得た妊婦を対象に環境化学物質濃度を測定し, 曝露による先天異常, 早産, 在胎期間別出生時体格標準値 10%未満(Small for Gestational Age; SGA)および低出生体重, 免疫アレルギーへの影響と児の神経発達(自閉症スペクトラム障害 (Autism Spectrum Disorder; ASD) や注意欠如・多動性障害 (attention-deficit hyperactivity disorder; ADHD) など)への直接的因果関係を評価した(図 1)。もう一つの札幌コーホートでは, 妊娠後期(妊娠 23~35 週)の母の血液, 臍帯血, 母乳, 毛髪水銀, 児の成長発育, 臍帯血 IgE, 免疫アレルギーに加え, 詳細な対面による発達調査を実施している(図 2)。北海道スタディでは日常生活で受ける比較的 low レベルの環境化学物質について, 妊娠中母体血および臍帯血の微量な生体試料を用いた高感度測定による正確な曝露評価を実施している。表 2 に我々が測定項目と分析法を示した。

2001 年から 2004 年にリクルートした札幌コーホートでは Polychlorinated biphenyl(PCB)・ダイオキシン類, 有機フッ素化合物 perfluorooctane sulfonate (PFOS) と perfluorooctanoic acid (PFOA), 有機塩素系農薬, フタル酸エステル代謝物 mono(2-ethylhexyl) phthalate (MEHP), ビスフェノール A(BPA), および水銀の測定を終えた。北海道コーホートは 2002 年から 2012 年までリクルートし, 環境化学物質測定は有機フッ素化合物 perfluorinated alkyl substances(PFASs)11 種類と PCB・ダイオキシン類, フタル酸エステル類代謝物 7 種類, BPA 等について実施している(表 2)。フタル酸エステル類は主にプラスチックの可塑剤であり, 生産量・使用量ともに最も多いのが di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)である。ポリ塩化ビニル製品に加え, 合皮, 塗料, 化粧品等の日用品にも添加される。厚生労働省により, 玩具(平成 22 年厚生労働省告示第 336 号, 2010), および油性, 脂肪性食品を含有する食品に接触する器具および包装容器への使用は制限されているが(平成 14 年厚生労働省告示 267 号, 2002), その他の内装材や日用品への使用に関する規制はない。半減期は数時間~数日程度と短く, PCB・ダイオキシン類,

塩素系農薬、PFAS のような残留性はないが、日用品に含まれるため、日々恒常的に曝露され続ける。BPA もフタル酸エステル類同様に、半減期が短い。主にポリカーボネート樹脂の食品容器、缶や瓶の内側にコーティングされているエポキシ樹脂に使用され、酸性食品の缶詰や缶飲料から経口曝露する。かつてはポリカーボネート製の哺乳瓶に使用されていたが、現在は食品安全委員会により、ポリカーボネート製器具及び容器・包装からの溶出試験規格が定められている[10]。

3. 北海道スタディでこれまでに得られた成果(概要)

現在、子どもたちを 14 歳まで追跡をしているが、そのうち、出生時、6 か月、18 か月、および 3 歳半、一部は 7 歳までの結果を示す。アウトカムについては最近 (2018 年 2 月) まで主に英文誌に受理されたものについての結果の概要を表 3 にまとめた。以下、紙幅の関係で残留性有機汚染物質 Persistent Organic Pollutants (POPs) を主として結果を述べ、一部については短半減期の化学物質の影響も併せて述べる。

(1)PCBs・ダイオキシン類曝露による出生体重、精神発達、感染症アレルギーなどへの影響

北海道スタディでは世界で初めて高精度のガスクロマトグラフィー質量分析 (GC/MS 分析) を用いて、特にカネミ・ライスオイル事件で問題となった Polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDD), polychlorinated dibenzofuran (PCDF) などの同族異性体分析および dioxin-like PCBs 濃度を測定し、また世界保健機関 (World Health Organization; WHO) が設定した毒性等価係数 (toxic equivalency factor; TEF) を用いてダイオキシン類 (29 種類) の毒性等価量 (toxic equivalent; TEQ) の算出を行い、交絡要因を調整した検討を行っている。曝露レベルについては、札幌コーホートの母体血中総ダイオキシン濃度は 16.5 TEQ pg/g lipid (中央値) で、出産可能年齢の女性で比較した場合、国内 (福岡: 22.1 TEQ pg/g lipid), およびオランダ (35.8 TEQ pg/lipid) [11] やドイツ (28.4 TEQ pg/lipid) [12], アメリカ (NY) (39.1 TEQ pg/lipid) [13] などの諸外国より低かった [14, 15]。

出生時体重については、母体血中の総 PCDFs 濃度、総 PCDFs/TEQ 濃度が高いほど出生体重を有意に約 300g 低下させ、男児では総 PCDDs 濃度、総ダイオキシン TEQ レベルが高いほど体重を下げた [15]。異性体別では、2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PeCDF) により出生時体重の有意な減少が認められた。しかし、女児では影響は認められなかった [15]。

神経発達については、母体血中 PCDF と PCDD の特定の異性体濃度が高くなると生後 6 か月時のベイリー乳幼児発達検査 II (Bayley Scale of Infant & Toddler Development-II; BSID-II) の得点が低く、特に運動発達に顕著で、男児に影響が強かった [14]。総ダイオキシン TEQ 値も BSID-II の得点と有意な負の関連が見られた。18 か月時の BSID-II への影響

は6か月時より小さく成長に伴い胎児期影響が見えづらくなった[16]。

42 か月時の個別式知能検査(Kaufman Assessment Battery for Children; K-ABC)による知的機能の測定では、全体としては知的機能と dioxin like compound (DLC)の間に負の関連は見られなかった。しかし、性別ごとに解析を行うと、女兒では知識・技能の習得度尺度と DLC の間に正の関連が、男児では認知処理過程尺度と DLC に負の関連が有意であり、性別によって影響が異なることが示唆された[17]。

免疫アレルギーについては、母のダイオキシン類濃度が高いほど臍帯血 IgE レベルが低下し[18]、生後18か月までの感染症（最も罹患頻度が高かった中耳炎）と有意の関連が認められた。TEQ 値はPCDFs が10倍増加すると中耳炎オッズ比（Odds Ratio; OR）が1.36倍と有意に増加した。男児のみ母体血中ダイオキシンレベル増加に伴い中耳炎オッズ比の有意な増加が認められた[19]。上記は、油症などの高濃度な曝露で報告された結果と一致し、日常生活の低濃度曝露において、児の免疫への影響を世界で初めて報告した[19]。さらに生後の追跡で3歳半では明白な影響は見いだせなかったが、7歳の時点ではダイオキシンによる児の喘鳴のリスクが7.8倍に認められ免疫系への影響が持続することが明らかになった[20]。

(2)PFASs 曝露の出生体重・精神発達、感染症アレルギーなどへの影響

PFASs は、炭素鎖にフッ素が結合し、末端にアルキル基またはスルホン基を持つ界面活性剤である。炭素鎖数が異なる同族体が存在するが、代表的な化合物として炭素鎖数8のPFOSおよびPFOAがある。撥水発油性、熱・化学的安定性などの優れた化学・物理学的特性をもち、半導体等の製造現場にて使用されるほか、調理器具、食品包装資材、アウトドア用品、防水スプレーとして日用品に含有される。PFOSはその残留性が高いことからストックホルム条約において規制され、PFOAも自主規制による排出削減への取り組みが始まっている。PFASs は1950年頃から世界的に難燃剤として使用されてきたアメリカでは高濃度汚染地域で住民への影響が問題となり、3M社では訴訟を恐れて2000年代に生産を中止した。2009年に、有機フッ素化合物であるPFOS、PFOAは残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約に入れられ使用が制限された。

我々はまず、札幌コーホートについて、2004年に胎盤を経て母子移行が直線的であることを世界で初めて指摘した。さらに札幌コーホートのPFASs曝露レベル(PFOS: 5.2 ng/mL)はアメリカ(PFOS: 24.4 ng/mL)[21]やデンマーク(PFOS: 34.4 ng/mL)[22]、およびノルウェー(PFOS: 13.0 ng/mL)[23]などの諸外国より低かった[18, 24, 25]。アジア諸国では、台湾が最も高いが、日本、韓国、中国はいずれも欧米に比べやや低い濃度であった[4]。出

生体重との関連を調べたところ、母体血 PFOS 濃度は女児の出生体重を有意に低下させた。また、その影響は女児でより顕著であった[18]。

免疫アレルギーについて、PFOA は高濃度になるほど臍帯血 IgE を低下させ、生後 18 か月のアレルギー・感染症リスクとは有意な関連が認められなかった[24]。

精神運動発達については、母体血 PFOA 濃度が上昇すると、6 か月における女児の BSID-II の精神発達のスコアの低下が見られましたが、18 ヶ月ではその影響は認められなかった[26]。

北海道コホートについては、2003 年から 2011 年に PFASs11 種類を測定した結果、近年 PFOS と PFOA 濃度は規制が強まったため有意に減少したが、炭素鎖が長く、毒性が強いとされる、血中 perfluorononanoic acid (PFNA) と perfluoroundecanoic acid (PFUnDA) の母体血の濃度は年ごとにそれぞれ 4.7% および 2.4% 増加の増加が認められた[25]。免疫アレルギーについては 1 歳時のアレルギー症状との関連では、食物アレルギー、アトピー性皮膚炎、気管支喘息について検討した結果、有意な関連は認められなかった。2 歳時では、女児のみにおいて母体血中 PFUnDA, perfluorotridecanoic acid (PFTrDA) 濃度が高いほど、2 歳児の湿疹の発症リスクが量反応的に低下し[27]、免疫抑制の可能性が示唆された。さらに、引き続き母体血中 PFASs 濃度と 4 歳のアレルギー疾患および感染症との関連を検討し、胎児期 PFASs 曝露濃度が高いほど、4 歳の時点でアレルギー疾患や湿疹のリスクが低下した。一方、中耳炎、肺炎、水痘や RS ウイルス感染症など感染症の罹患リスクは上昇した[28]。

これまでほとんど知られていなかった曝露影響としては、母体血の PFOS 濃度が高いほど、リノール酸・ α -リノレン酸・アラキドン酸・DHA など 8 種類の母体血中脂肪酸の濃度が低下し、脂肪酸組成は濃度依存性に強く関連した(図 3)。一方、PFOA 曝露は脂肪酸への影響は小さかった。これは世界でも初めてのデータで、児への影響の検討が必要である[29]。

(3) 農薬などの精神運動発達への影響

有機塩素系農薬は環境中に持続的に存在する環境汚染物質であり、人や動物の食物連鎖を通じて生物の体内に蓄積され、出生前の有機塩素系農薬への曝露とそれに続く神経発達の間に関連性が懸念されている。有機塩素系農薬と生後 6 か月時の BSID-II の得点の間に関連は見られなかったが、18 カ月では有機塩素系農薬のひとつである cis-heptachlor epoxide と精神発達得点との間に負の関連が有意であった。出生前の有機塩素系農薬への曝露は、低レベルであっても児の神経発達に悪影響を持つかもしれない[30]。

(4) 化学物質曝露が胎児の性・ステロイドホルモンへ与える影響

北海道スタディでは、さらにステロイドホルモン 7 化合物（プロゲステロン、テストステロン、エストラジオール、dehydroepiandrosterone (DHEA)、androstenedione、コルチゾール、コルチゾン）を分析した[31, 32]。疫学研究で初めて胎児期の環境化学物質曝露が、ステロイドホルモンバランスをかく乱する可能性が示唆された。特に男児において、有機フッ素化合物、フタル酸エステルなどの環境化学物質の胎児期曝露により、精巣のライディッヒ細胞およびセルトリ細胞の機能を表す性ホルモン濃度の低下が示された（図 3、図 4）[31, 33]。

① PCB・ダイオキシン類

北海道スタディにおける PCB やダイオキシン曝露は、諸外国よりも低い曝露レベルであったが、母の曝露濃度が高いと児の inhibin B が低い結果が得られた[34]。フランスの出生コホート研究 PELAGE [35]の PCB 曝露濃度も北海道スタディとほぼ同レベルで、曝露濃度とテストステロンおよびテストステロン／エストラジオール比との負の相関が報告されている。このように、低濃度曝露であっても、出生時、臍帯血のホルモン濃度をかく乱したことから、成長後にも性ホルモンあるいは性分化への影響が見られるか、現在も追跡を続けている。

② 塩素系農薬

Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT)に代表される塩素系農薬は、その残留性が高いことから 1970 年代初頭より使用が規制された。その後 30 年以上が経過したにもかかわらず、北海道スタディに参加した妊婦の血液からは、濃度は低いが、多くの塩素系農薬が検出された[36]。北海道スタディでは、男女で層別にしたところ、男児では Mirex, Nonachlor, Dichloro-diphenyl-dichloroethylene (DDE), Dieldrin, Toxaphen などいくつかの化合物がテストステロン、テストステロン／アンドロステネジオン比, Steroid Hormone Binding Globulin (SHBG), プロラクチンと負の相関を示し、DHEA, エストラジオール／テストステロン比とは正の相関を示した[37]。

③有機フッ素化合物 (Perfluoroalkyl substances: PFAS)

母体血中の PFAS 濃度と出生時の性ホルモンの関連を検討は、報告を調べた限り世界的に見ても北海道スタディのみである。男児では PFOS 濃度とプロゲステロン, inhibin B, Insulin like factor 3 (INSL3), テストステロン／エストラジオール比と負の相関があり（図 4）、女児では、PFOS とプロゲステロン, SHBG, プロラクチンと負の相関がみられた[38]。また、男女合わせた解析で、PFOS と DHEA は正の相関、コルチゾール、コルチゾンとは負の相関が認められた（図 4）[39]。PFAS は、雄ラットの精巣内ステロイド合成阻害、ライディッヒ細胞のテストステロン放出阻害が報告されており、我々の結果からみると、動物の

みならず、ヒトでもその影響は既に胎児期に始まり、生後も継続する可能性が示唆された。

④フタル酸エステル類

北海道スタディでは、男児で、プロゲステロン、テストステロン／エストラジオール比、inhibin B、INSL3 との負の相関が認められたほか（図 4）[31]、男女ともに DEHA とは正の相関、コルチゾール、コルチゾンとは負の相関が認められた[38]。台湾では、胎児期の DEHP 曝露濃度とテストステロン、テストステロン／エストラジオール比の負の相関が女児で認められた[40]。DEHP は、動物実験で胎仔のライディッヒ細胞、セルトリ細胞の減少あるいは増殖抑制を引き起こし、テストステロン濃度の低下などのホルモンバランスを乱すことが報告されていたが[41, 42]、ヒトでも同様の影響があることが、我々の疫学研究によって示唆された。

⑤BPA

胎児期の BPA 曝露による児の性ホルモンへの影響については、男児で臍帯血中濃度とテストステロン、プロゲステロンとの正の相関がみられた[43]。

⑥第 2 指／第 4 指比や遊びのスコア

このほか、胎児期のダイオキシンや PCB、フタル酸エステル類への曝露が高いことが、幼児期の遊びの男児スコアが低くなることから[44]、胎生期のアンドロゲン曝露の減少が脳の性分化に影響したと指摘されている。そこで北海道スタディでは、胎生期のアンドロゲンのサロゲートマーカーとして学童期の掌のコピーをもとに、第 2 指／第 4 指比を測定した。この結果、胎児期のホルモン環境として INSL3 濃度が低いと、男児の学童期の第 2 指／第 4 指比が大きい、すなわち女児傾向を示した[32]。さらに、男児では第 2 指／第 4 指比が大きいと学童期に遊びのスコアが女児傾向を示した[45]。今後、胎児期の環境化学物質曝露による第 2 指／第 4 指比や遊びの傾向への影響に関する解析を引き続き行う必要がある。

(5) アディポカインへの影響

脂肪細胞から分泌される生理活性物質であるアディポカインについては、臍帯血中のレプチンやアディポネクチン濃度と出生体重の関係について疫学研究から報告されている。特に、レプチンは胎盤で生産・分泌されることが知られており、胎児の成長や発達に重要であるとされる。北海道スタディでは、臍帯血中のアディポネクチン、レプチン濃度が母体血中の環境化学物質濃度と関係するかを検討した。母体血中の PFOS 濃度の増加は、臍帯血中アディポネクチン濃度を上昇させた[46]。また、母体血中の BPA やフタル酸エステル類（DEHP、Di-n-butyl phthalate; DnBP）濃度が増加すると、臍帯血液中レプチンの濃度

が減少することがわかった（表 4）[47]。成人では、アディポネクチンやレプチンは肥満やメタボリックシンドロームの指標となっており、さらに近年はレプチンが神経精神行動発達と関係する可能性も指摘され始め、今後の成長過程における、子どものアディポサイトカイン濃度を注意深く観察していく必要があると考えられる。

(6) 遺伝的感受性素因

遺伝的感受性素因については、母親が喫煙者で、多環芳香族炭化水素の代謝に関わる *Aryl Hydrocarbon Receptor (AHR)*, *cytochrome P450 1A1 (CYP1A1)*, および *glutathione S-transferase mu 1 (GSTM1)* 遺伝子多型[48]や、発がん性物質ニトロソアミン類の代謝に関わる *NAD(P)H quinone dehydrogenase 1 (NQO1)* および *CYP2E1* 遺伝子多型[49]や、DNA 修復に関わる *X-ray repair cross-complementing protein 1 (XRCC1)* 遺伝子多型[50]について特定の組み合わせをもつと、児の出生体重はより大きく低下した。さらに、これらの遺伝子多型の組み合わせは、同じ曝露を受けている妊婦であっても、児の健康影響は大きく異なった。受動喫煙の影響については母体血漿中のコチニン濃度を高感度で測定し（検出限界 0.12ng/mL）、低濃度側から非受動、受動、能動喫煙の 3 群に分類したところ、コチニン濃度が高くなるほど出生体重は量依存的に低下し、特に *AHR* と *XRCC1* 遺伝子多型の違いによってこの量依存的な関係が大きく異なった（図 6）[51]。さらに母の妊娠中の受動喫煙と *CYP1A1* 遺伝子多型が、母の妊娠中の受動喫煙と 3 歳までの児の頭囲発育の違いとの関連に違いをもたらしたことを明らかにした[52]。

ダイオキシン類の影響については、ダイオキシン類の代謝に関わる母の *CYP1A1* 遺伝子多型によって、同じ曝露を受けていても母体血中ダイオキシン類濃度が異なった（図 7）[53]。さらに、母の *GSTM1* 遺伝子多型の違いによって、母体血中ダイオキシン類濃度と出生体重との関連が大きく異なることを明らかにした（図 7）[54]。

カフェインの影響については、カフェインがパラキサンチンに代謝されるときに主に関わる *CYP1A2* 遺伝子多型によって、母のカフェイン摂取量と出生体重との関連に違いが認められた[55]。

葉酸など栄養の影響については、葉酸は胎児の成長に不可欠で、1 日 400 μ g の摂取は推奨されるが、葉酸還元酵素（*5, 10-MTHFR*）遺伝子多型によっては、出生体重が低下する。これは喫煙によってさらに影響が強まった[56]。

(7) エピゲノム

エピゲノム解析は、ゲノム全体の DNA メチル化の指標となる long interspersed element-1

(*LINE1*), および, 胎児期発育に重要な役割を果たす Insulin-like growth factor 2 (*IGF2*) /*H19* 領域の臍帯血 DNA メチル化率を測定し, 胎児期曝露との関連を検討した。その結果 PFOA 曝露と *IGF2* のメチル化との間に有意な負の関連が見られた。さらに, *IGF2* メチル化が PFOA 曝露による出生時体格 (ポンドラル) 指数の減少を仲介しており, その影響の 20% を説明できることが示された (図 8)。したがって, PFASs 曝露は, DNA メチル化への影響を介して胎児の成長に影響を与えていることが示唆される[57]。

また, 環境化学物質 PCBs の胎児期曝露と DNA メチル化との関連では, decaCB 異性体濃度と *H19* のメチル化との正の関連, また, heptaCB 異性体と *LINE-1* のメチル化との正の関連が認められた。男女別では, 女兒にそれらの影響が見られた[54]。

(8) 社会経済要因などその他の研究成果

北海道スタディで観察した出生時のアウトカムを早産 (37 週未満), 超低出生体重 (1, 500g 未満), term-SGA (37 週以降) に分けて見ると, 両親の学歴が大学卒業以上であることが SGA のリスクを減らすことが示された。社会経済要因の影響については, 母親の学歴と Body Mass Index (BMI) が term-SGA に及ぼすリスクでは交互作用が認められ, 最終学歴が中学卒業かつ BMI が 18.5 未満の母親で最もリスクが高くなる可能性が示された[58]。また, 世帯収入が高いほど, 生後 42 か月の児の知的発達得点 (K-ABC) は高くなり, 問題行動得点 (child behavior checklist; CBCL) は低くなった。所得による子どもの知的発達影響は, 母親の知的能力 WAIS-R (成人知能検査) で調整しても, 有意な関連を残した[59]。また北海道コーホートの 2000 名以上の解析から, 5 歳における子どもの問題行動 (Strengths and Difficulties Questionnaire; SDQ) は, 母の妊娠前の BMI が 30 以上 (肥満)、母の教育歴が高卒未満、妊娠中の世帯年収が 300 万円未満、第一子で、男児であることと関係していることが明らかとなった[60]。環境要因の中で, 社会経済要因の重要性が示唆された。

4. 北海道スタディの今後の課題と提言

①図 9 に PFACs の胎児期曝露が妊娠中の母, 出生後の児に与える様々な健康影響を例示した。幼少期でみられた影響が, いつまで続き, どのように影響していくのかを引き続きみていく必要があり, 追跡が非常に重要である。発達障害は出生後の生活環境も考慮し, 胎児期曝露の影響がいつまで持続あるいはキャッチアップするかなど詳細を明らかにすることで国民にわかりやすい貴重なデータとなる。

②因果関係の解明については, アウトカムへの影響が化学物質の独立した作用か, 複合的な効果かをグラフィカルモデリング分析等を用いて曝露・アウトカム・交絡要因の関連

を構造的に可視化して検討する必要がある。

③曝露およびアウトカム評価の両方について、世界各国、特にアジアの国々と協力して各地域での有害環境の危険性のレベルを調査し、環境化学物質が引き起こす次世代影響を明らかにすることが今後の予防策を作成するために重要である。我々は台湾、韓国のコーホートの Principal Investigators と相談し、BiCCA (Birth Cohort Consortium of Asia) を 2011 年に設立した[61]。日本でも既に北海道スタディや、東北スタディ、浜松スタディなどは BiCCA メンバーである。環境省エコチル研究も是非、BiCCA に参画していただき、アジアのリーダーとして頑張っていただきたい。ちなみにヨーロッパのデンマークやノルウェーのコーホートは欧州の出生コーホートのプロジェクト Environmental Health Risks in European Birth Cohorts (ENRIECO)に加わり協力して共同研究の実施も行っている[62]。

④低濃度曝露による次世代影響について国内の疫学データでリスク評価を行っているので、政策への反映をできるだけ訴えていきたい。たとえば、特に、POPs 条約で濃度が低下した PFOS と PFOA に比べて、国内で曝露量が増加している PFNA, PFDA など炭素鎖が長い PFASs のリスク評価を行うことで規制など対策に活用できる。

⑤特に環境省エコチル研究に先立ち 10 年前から厚生労働科学研究でのデータの蓄積があるので、我々北海道スタディの長年の成果を活用していただきたい。我々が本論著で訴えたかったことは英文誌の Science of the Total Environment のアジアのコーホートの特集号にも述べたが[63]、アジアでも欧米においても多くのコーホート研究が行われており、その数は 200 に上る。コーホートが扱っている人数も数百から 10 万に上るが、たとえ 100 人ほどの小さいコーホートであっても、それぞれの国や地方、あるいはある時代の歴史を反映し、かつその時代の医学的課題や科学技術の特徴を表している。アジアの高濃度汚染地域ヴェトナムのコーホートを日本の大学がサポートをしている事例やモンゴルのコーホートの一つは日本人が PI であり、日本が貢献している例である。我々の 500 人の札幌コーホートも小さいが、本報告で述べたようにその意義は歴史的にある。ヨーロッパのノルウェーやデンマークでは国家コーホートは 10 万人規模であるが、特色ある別の新しいコーホートが研究を開始している。新しい科学的な課題が出てきているからである。大きいコーホートも小さいコーホートもそれぞれに重要であることを申し上げて提言としたい。

謝辞：本研究は厚生労働科学研究，文部科学省科学研究，および環境省環境推進総合研究の研究助成を受けて実施しています。また，参加者，協力医療機関関係者，多くの共同研究者などに多大なご協力を賜っております。ここに厚く感謝申し上げます。

引用文献

1. Kishi R, Sata F, Yoshioka E, Ban S, Sasaki S, Konishi K, Washino N: Exploiting gene-environment interaction to detect adverse health effects of environmental chemicals on the next generation. *Basic Clin. Pharmacol* 2008, 102(2):191-203.
2. Kishi R, Sasaki S, Yoshioka E, Yuasa M, Sata F, Saijo Y, Kurahashi N, Tamaki J, Endo T, Sengoku K, Nonomura K, Minakami H: Cohort profile: the Hokkaido study on environment and children's health in Japan. *Int J Epi* 2011, 40(3):611-618.
3. Kishi R, Kobayashi S, Ikeno T, Araki A, Miyashita C, Itoh S, Sasaki S, Okada E, Kobayashi S, Kashino I, Itoh S, Nakajima S, The members of the Hokkaido Study on Environment and Children's Health: Ten years of progress in the Hokkaido birth cohort study on environment and children's health: cohort profile--updated 2013. *Environ Health Prev Med* 2013, 18(6):429-450.
4. Kishi R, Araki A, Minatoya M, Hanaoka T, Miyashita C, Itoh S, Kobayashi S, Ait Bamai Y, Yamazaki K, Miura R, Tamur N, Ito K, Goudarzi H: The Hokkaido Birth Cohort Study on Environment and Children's Health: cohort profile—updated 2017. *Environ Health Prev Med* 2017, 22(1):46.
5. 岸玲子: 環境リスクによる潜在的な健康障害の解明 特に次世代影響に関する研究. *日本医師会雑誌* 2010, 138(10):56-59.
6. 岸玲子.: 【子どもの健康と環境に関するエビデンス】出生コホート研究の現状と今後の課題 日本で前向き研究を実施してきた経験から. *保健医療科学* 2010, 59(4):366-371.
7. 岸玲子.: 【公害・環境問題の変貌と新展開】環境化学物質の次世代影響 出生コホート研究による成果と今後の課題. *公衆衛生* 2014, 78(8):547-552.
8. Colborn TD, D Myers JP: Our Stolen Future: Are we threatening our fertility, intelligence, and survival? A scientific detective story: Dutton, 1996.
9. Barker DJ: The fetal and infant origins of adult disease. *BMJ (Clinical research ed)* 1990, 301(6761):1111.
10. ビスフェノール A に つ い て の Q & A
[<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/kigu/topics/080707-1.html>]
11. Weisglas-Kuperus N, Patandin S, Berbers GA, Sas TC, Mulder PG, Sauer PJ, Hooijkaas H: Immunologic effects of background exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins in Dutch preschool children. *Environ Health Perspec* 2000, 108(12):1203-1207.
12. Wittsiepe J, Furst P, Wilhelm M: The 2005 World Health Organization re-evaluation of

- TEFs for dioxins and dioxin-like compounds--what are the consequences for German human background levels? *Int J Hyg Environ Health* 2007, 210(3-4):335-339.
13. Schecter A, Papke O, Tung KC, Joseph J, Harris TR, Dahlgren J: Polybrominated diphenyl ether flame retardants in the U.S. population: current levels, temporal trends, and comparison with dioxins, dibenzofurans, and polychlorinated biphenyls. *J Occup Environ Med* 2005, 47(3):199-211.
 14. Nakajima S, Saijo Y, Kato S, Sasaki S, Uno A, Kanagami N, Hirakawa H, Hori T, Tobiishi K, Todaka T, Nakamura Y, Yanagiya S, Sengoku Y, Iida T, Sata F, Kishi R. Effects of prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins on mental and motor development in Japanese children at 6 months of age. *Environ Health Perspect* 2006, 114(5):773-778.
 15. Konishi K, Sasaki S, Kato S, Ban S, Washino N, Kajiwara J, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Yasutake D, Kishi R: Prenatal exposure to PCDDs/PCDFs and dioxin-like PCBs in relation to birth weight. *Environ Res* 2009, 109(7):906-913.
 16. Nakajima S, Saijo Y, Miyashita C, Ikeno T, Sasaki S, Kajiwara J, Kishi R: Sex-specific differences in effect of prenatal exposure to dioxin-like compounds on neurodevelopment in Japanese children: Sapporo cohort study. *Environ Res* 2017, 159:222-231.
 17. Ikeno T, Miyashita C, Nakajima S, Kobayashi S, Yamazaki K, Saijo Y, Kita T, Sasaki S, Konishi K, Kajiwara J, Hori T, Kishi R: Effects of low-level prenatal exposure to dioxins on cognitive development in Japanese children at 42months. *Sci Total Environ* 2018, 618:1423-1430.
 18. Washino N, Saijo Y, Sasaki S, Kato S, Ban S, Konishi K, Ito R, Nakata A, Iwasaki Y, Saito K, Kanazawa K, Kishi R: Correlations between prenatal exposure to perfluorinated chemicals and reduced fetal growth. *Environ Health Perspect* 2009, 117(4):660-667.
 19. Miyashita C, Sasaki S, Saijo Y, Washino N, Okada E, Kobayashi S, Konishi K, Kajiwara J, Todaka T, Kishi R: Effects of prenatal exposure to dioxin-like compounds on allergies and infections during infancy. *Environ Res* 2011, 111(4):551-558.
 20. Miyashita C, Bamai YA, Araki A, Itoh S, Minatoya M, Kobayashi S, Kajiwara J, Hori T, Kishi R: Prenatal exposure to dioxin-like compounds is associated with decreased cord blood IgE and increased risk of wheezing in children aged up to 7years: The Hokkaido study. *Sci Total Environ* 2018, 610-611:191-199.

21. Fleisch AF, Rifas-Shiman SL, Mora AM, Calafat AM, Ye X, Luttmann-Gibson H, Gillman MW, Oken E, Sagiv SK: Early-Life Exposure to Perfluoroalkyl Substances and Childhood Metabolic Function. *Environ Health Perspect* 2017, 125(3):481-487.
22. Fei C, McLaughlin JK, Tarone RE, Olsen J: Perfluorinated chemicals and fetal growth: a study within the Danish National Birth Cohort. *Environ Health Perspect* 2007, 115(11):1677-1682.
23. Brantsaeter AL, Whitworth KW, Ydersbond TA, Haug LS, Haugen M, Knutsen HK, Thomsen C, Meltzer HM, Becher G, Sabaredzovic A, Hoppin JA, Eggesbo M, Longnecker MP: Determinants of plasma concentrations of perfluoroalkyl substances in pregnant Norwegian women. *Environ Int* 2013, 54:74-84.
24. Okada E, Sasaki S, Saijo Y, Washino N, Miyashita C, Kobayashi S, Konishi K, Ito YM, Ito R, Nakata A, Iwasaki Y, Saito K, Nakazawa H, Kishi R: Prenatal exposure to perfluorinated chemicals and relationship with allergies and infectious diseases in infants. *Environ Res* 2012, 112:118-125.
25. Okada E, Kashino I, Matsuura H, Sasaki S, Miyashita C, Yamamoto J, Ikeno T, Ito YM, Matsumura T, Tamakoshi A, Kishi R: Temporal trends of perfluoroalkyl acids in plasma samples of pregnant women in Hokkaido, Japan, 2003-2011. *Environ Int* 2013, 60:89-96.
26. Goudarzi H, Nakajima S, Ikeno T, Sasaki S, Kobayashi S, Miyashita C, Ito S, Araki A, Nakazawa H, Kishi R: Prenatal exposure to perfluorinated chemicals and neurodevelopment in early infancy: The Hokkaido Study. *Sci Total Environ* 2016, 541:1002-1010.
27. Okada E, Sasaki S, Kashino I, Matsuura H, Miyashita C, Kobayashi S, Itoh K, Ikeno T, Tamakoshi A, Kishi R: Prenatal exposure to perfluoroalkyl acids and allergic diseases in early childhood. *Environ Int* 2014, 65:127-134.
28. Goudarzi H, Miyashita C, Okada E, Kashino I, Chen CJ, Ito S, Araki A, Kobayashi S, Matsuura H, Kishi R: Prenatal exposure to perfluoroalkyl acids and prevalence of infectious diseases up to 4years of age. *Environ Int* 2017, 104:132-138.
29. Kishi R, Nakajima T, Goudarzi H, Kobayashi S, Sasaki S, Okada E, Miyashita C, Itoh S, Araki A, Ikeno T et al: The Association of Prenatal Exposure to Perfluorinated Chemicals with Maternal Essential and Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids during Pregnancy and the Birth Weight of Their Offspring: The Hokkaido Study. *Environ Health Perspect*

- 2015, 123(10):1038-1045.
30. Yamazaki K, Araki A, Nakajima S, Miyashita C, Ikeno T, Itoh S, Minatoya M, Kobayashi S, Mizutani F, Chisaki Y, Kishi R: Association between prenatal exposure to organochlorine pesticides and the mental and psychomotor development of infants at ages 6 and 18 months: The Hokkaido Study on Environment and Children's Health. *Neurotoxicology* 2017, pii: S0161-813X(17)30234-6.
 31. Araki A, Mitsui T, Miyashita C, Nakajima T, Naito H, Ito S, Sasaki S, Cho K, Ikeno T, Nonomura K, Kishi R: Association between maternal exposure to di(2-ethylhexyl) phthalate and reproductive hormone levels in fetal blood: the Hokkaido study on environment and children's health. *PloS one* 2014, 9(10):e109039.
 32. Mitsui T, Araki A, Imai A, Sato S, Miyashita C, Ito S, Sasaki S, Kitta T, Moriya K, Cho K, Moriya K, Kishi R, Nonomura K: Effects of prenatal Leydig cell function on the ratio of the second to fourth digit lengths in school-aged children. *PloS one* 2015, 10(3):e0120636.
 33. Itoh S, Araki A, Mitsui T, Miyashita C, Goudarzi H, Sasaki S, Cho K, Nakazawa H, Iwasaki Y, Shinohara N, Nonomura K, Kishi R: Association of perfluoroalkyl substances exposure in utero with reproductive hormone levels in cord blood in the Hokkaido Study on Environment and Children's Health. *Environ Int* 2016, 94:51-59.
 34. 北海道大学大学院医学研究科, 北海道大学環境健康科学研究教育センター, 国立保健医療科学院: 妊娠中および胎児期における内分泌かく乱物質が性分化および性腺機能に及ぼす影響について(5C-1252) 平成24年度～平成26年度 環境省環境研究総合推進費終了研究等成果報告書 2015.
 35. Warembourg C, Debost-Legrand A, Bonvallot N, Massart C, Garlantézec R, Monfort C, Gaudreau E, Chevrier C, Cordier S: Exposure of pregnant women to persistent organic pollutants and cord sex hormone levels. *Human Reproduct* 2016, 31(1):190-198.
 36. Kanazawa A, Miyasita C, Okada E, Kobayashi S, Washino N, Sasaki S, Yoshioka E, Mizutani F, Chisaki Y, Saijo Y, Kishi R: Blood persistent organochlorine pesticides in pregnant women in relation to physical and environmental variables in The Hokkaido Study on Environment and Children's Health. *Sci Total Environ* 2012, 426:73-82.
 37. Araki A, Miyashita C, Mitsui T, Goudarzi H, Mizutani F, Chisaki Y, Itoh S, Sasaki S, Cho K, Moriya K, Shinohara N, Nonomura K, Kishi R: Prenatal organochlorine pesticide exposure and the disruption of steroids and reproductive hormones in cord blood: The Hokkaido study. *Environ Int* 2018, 110(Supplement C):1-13.

38. Araki A, Mitsui T, Goudarzi H, Nakajima T, Miyashita C, Itoh S, Sasaki S, Cho K, Moriya K, Shinohara N, Nonomura K, Kishi R: Prenatal di(2-ethylhexyl) phthalate exposure and disruption of adrenal androgens and glucocorticoids levels in cord blood: The Hokkaido Study. *Sci Total Environ* 2017, 581-582:297-304.
39. Goudarzi H, Araki A, Itoh S, Sasaki S, Miyashita C, Mitsui T, Nakazawa H, Nonomura K, Kishi R: The Association of Prenatal Exposure to Perfluorinated Chemicals with Glucocorticoid and Androgenic Hormones in Cord Blood Samples: The Hokkaido Study. *Environ Health Perspect* 2017, 125(1):111-118.
40. Li N, Liu T, Zhou L, He J, Ye L: Di-(2-ethylhexyl) phthalate reduces progesterone levels and induces apoptosis of ovarian granulosa cell in adult female ICR mice. *Environ Toxicol Pharm* 2012, 34(3):869-875.
41. David RM: Proposed mode of action for in utero effects of some phthalate esters on the developing male reproductive tract. *Toxicol Pathol* 2006, 34(3):209-219.
42. Hu GX, Lian QQ, Ge RS, Hardy DO, Li XK: Phthalate-induced testicular dysgenesis syndrome: leydig cell influence. *Trends Endocrinol Metab* 2009, 20(3):139-145.
43. Minatoya M, Sasaki S, Araki A, Miyashita C, Itoh S, Yamamoto J, Matsumura T, Mitsui T, Moriya K, Cho K, Morioka K, Minakami H, Shinohara N, Kishi R: Cord Blood Bisphenol A Levels and Reproductive and Thyroid Hormone Levels of Neonates: The Hokkaido Study on Environment and Children's Health. *Epidemiology* 2017, 28 Suppl 1:S3-s9.
44. Swan SH, Liu F, Hines M, Kruse RL, Wang C, Redmon JB, Sparks A, Weiss B: Prenatal phthalate exposure and reduced masculine play in boys. *Int J Androl* 2010, 33(2):259-269.
45. Mitsui T, Araki A, Goudarzi H, Miyashita C, Ito S, Sasaki S, Kitta T, Moriya K, Cho K, Morioka, Kishi R, Shinohara N, Takeda M, Nonomura K: Effects of adrenal androgens during the prenatal period on the second to fourth digit ratio in school-aged children. *Steroids* 2016, 113:46-51.
46. Minatoya M, Itoh S, Miyashita C, Araki A, Sasaki S, Miura R, Goudarzi H, Iwasaki Y, Kishi R: Association of prenatal exposure to perfluoroalkyl substances with cord blood adipokines and birth size: The Hokkaido Study on environment and children's health. *Environ Res* 2017, 156:175-182.
47. Minatoya M, Araki A, Miyashita C, Ait Bamai Y, Itoh S, Yamamoto J, Onoda Y, Ogasawara K, Matsumura T, Kishi R: Association between prenatal bisphenol A and

- phthalate exposures and fetal metabolic related biomarkers: The Hokkaido study on Environment and Children's Health. *Environ Res* 2017, 161:505-511.
48. Sasaki S, Kondo T, Sata F, Saijo Y, Katoh S, Nakajima S, Ishizuka M, Fujita S, Kishi R: Maternal smoking during pregnancy and genetic polymorphisms in the Ah receptor, CYP1A1 and GSTM1 affect infant birth size in Japanese subjects. *Mol Human Reproduction* 2006, 12(2):77-83.
 49. Sasaki S, Sata F, Katoh S, Saijo Y, Nakajima S, Washino N, Konishi K, Ban S, Ishizuka M, Kishi R: Adverse birth outcomes associated with maternal smoking and polymorphisms in the N-Nitrosamine-metabolizing enzyme genes NQO1 and CYP2E1. *Am J Epidemiol* 2008, 167(6):719-726.
 50. Kobayashi S, Sata F, Sasaki S, Braimoh TS, Araki A, Miyashita C, Goudarzi H, Kobayashi S, Kishi R: Combined effects of AHR, CYP1A1, and XRCC1 genotypes and prenatal maternal smoking on infant birth size: Biomarker assessment in the Hokkaido Study. *Reprod Toxicol* 2016, 65:295-306.
 51. Kobayashi S, Sata F, Sasaki S, Braimoh TS, Araki A, Miyashita C, Goudarzi H, Kobayashi S, Kishi R: Modification of adverse health effects of maternal active and passive smoking by genetic susceptibility: Dose-dependent association of plasma cotinine with infant birth size among Japanese women-The Hokkaido Study. *Reprod Toxicol* 2017, 74:94-103.
 52. Braimoh TS, Kobayashi S, Sata F, Sasaki S, Goudarzi H, Yila TA, Araki A, Miyashita C, Minakami H, Baba T, Sengoku K, Kishi R: Association of prenatal passive smoking and metabolic gene polymorphisms with child growth from birth to 3years of age in the Hokkaido Birth Cohort Study on Environment and Children's Health. *Sci Total Environ* 2017, 605-606:995-1002.
 53. Kobayashi S, Sata F, Sasaki S, Ban S, Miyashita C, Okada E, Limpar M, Yoshioka E, Kajiwara J, Todaka T, Saijo Y, Kishi R: Genetic association of aromatic hydrocarbon receptor (AHR) and cytochrome P450, family 1, subfamily A, polypeptide 1 (CYP1A1) polymorphisms with dioxin blood concentrations among pregnant Japanese women. *Toxicol Let* 2013, 219(3):269-278.
 54. Kobayashi S, Sata F, Miyashita C, Miura R, Azumi K, Kobayashi S, Goudarzi H, Araki A, Ishizuka M, Todaka T, Kajiwara J, Hori T, Kishi R: Gender-specific association of exposure to non-dioxin-like polychlorinated biphenyls during pregnancy with methylation

- levels of H19 and long interspersed nuclear element-1 in cord blood in the Hokkaido study. *Toxicology* 2017, 390:135-145.
55. Sasaki S, Limpar M, Sata F, Kobayashi S, Kishi R: Interaction between maternal caffeine intake during pregnancy and CYP1A2 C164A polymorphism affects infant birth size in the Hokkaido study. *Pediatric Res* 2017, 82(1):19-28.
 56. Yila TA, Sasaki S, Miyashita C, Braimoh TS, Kashino I, Kobayashi S, Okada E, Baba T, Yoshioka E, Minakami H, Endo T, Sengoku K, Kishi R: Effects of maternal 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C Polymorphisms and tobacco smoking on infant birth weight in a Japanese population. *J Epidemiol* 2012, 22(2):91-102.
 57. Kobayashi S, Azumi K, Goudarzi H, Araki A, Miyashita C, Kobayashi S, Itoh S, Sasaki S, Ishizuka M, Nakazawa H, Ikeno T, Kishi R: Effects of prenatal perfluoroalkyl acid exposure on cord blood IGF2/H19 methylation and ponderal index: The Hokkaido Study. *J Exp Sci Environ Epidemiol* 2017, 27:251-259.
 58. Tamura N, Hanaoka T, Ito K, Araki A, Miyashita C, Ito S, Minakami H, Cho K, Endo T, Sengoku K, Ogasawara K, Kishi R: Different risk factors for very low birth weight, term-small-for-gestational-age or preterm birth in Japan. *Int J Environ Res Public Health* 2018, in press.
 59. Kita T, Nakajima S, Ikeno T, Kishi R: The association between parental socioeconomic status and intellectual ability in Japanese infants aged 42 month: The Hokkaido Study. In: *International Epidemiological Association 2014, World Congress of Epidemiology: Aug 17-24 2014; Anchorage, Alaska; 2014.*
 60. Minatoya M, Itoh S, Araki A, Tamura N, Yamazaki K, Nishihara S, Miyashita C, Kishi R: Associated factors of behavioural problems in children at preschool age: the Hokkaido study on environment and children's health. *Child: Care, Health Dev* 2017, 43(3):385-392.
 61. Kishi R., Zhang JJ., Ha EH., Chen PC., Tian Y., Xia Y., Tsuchiya K. J., Nakai K, Kim S., Hong SJ., Hong YC., Lee JR., Mohamed HJB., Parajul RP. i, Adai r LS., Chong YS., Guo YL., Wang SL., Nishijo M., Kido T., Tai PT., Nandasena S.; Birth Cohort Consortium of Asia (BiCCA) – Current and Future Perspectives, *Epidemiology* 2017, 1, S19-S34.
 62. Vrijheid M, Casas M, Bergstrom A, Carmichael A, Cordier S, Eggesbo M, Eller E, Fantini MP, Fernandez MF, Fernandez-Somoano A, Gehring U, Grazuleviciene R, Hohmann C,

- Karvonen AM, Keil T, Kogevinas M, Koppen G, Kramer U, Kuehni CE, Magnus P, Majewska R, Andersen AM, Patelarou E, Petersen MS, Pierik FH, Polanska K, Porta D, Richiardi L, Santos AC, Slama R: European birth cohorts for environmental health research. *Environ Health Perspect.* 2012, 120: 29-37.
63. Kishi R., Araki A., Minatoya M., Itoh S., Goudarz i H., Miyashita C., Birth cohorts in Asia: The importance, advantages, and disadvantages of different-sized cohorts, *Sci Total Environ* 2018, 615:1143-1154.
 64. Minatoya M, Araki A, Miyashita C, Sasaki S, Goto Y, Nakajima T, Kishi R: Prenatal di(2-ethylhexyl) phthalate exposure and cord blood adipokine levels and birth size: The Hokkaido study on environment and children's health. *Sci Total Environ* 2017, 579:606-611.
 65. Kato S, Itoh S, Yuasa M, Baba T, Miyashita C, Sasaki S, Nakajima S, Uno A, Nakazawa H, Iwasaki Y, Okada E, Kishi R: Association of perfluorinated chemical exposure in utero with maternal and infant thyroid hormone levels in the Sapporo cohort of Hokkaido Study on the Environment and Children's Health. *Environ Health Prev Med* 2016, 21(5):334-344.
 66. Baba T, Ito S, Yuasa M, Yoshioka E, Miyashita C, Araki A, Sasaki Kobayashi S, Kajiwara J, Hori T, Kato S, Kishi R: Association of prenatal exposure to PCDD/Fs and PCBs with maternal and infant thyroid hormones: The Hokkaido Study on Environment and Children's Health. *Sci Total Environ* 2018, 615:1239-1246.
 67. Minatoya M, Araki A, Nakajima S, Sasaki S, Miyashita C, Yamazaki K, Yamamoto J, Matsumura T, Kishi R: Cord blood BPA level and child neurodevelopment and behavioral problems: The Hokkaido Study on Environment and Children's Health. *Sci Total Environ* 2017, 607-608:351-356.
 68. Minatoya M, Itoh S, Araki A, Tamura N, Yamazaki K, Miyashita C, Kishi R: Association between Fetal Adipokines and Child Behavioral Problems at Preschool Age: The Hokkaido Study on Environment and Children's Health. *Int J Environ Res Public Health* 2018, 15(1):E120.
 69. Ait Bamai Y, Miyashita C, Araki A, Nakajima T, Sasaki S, Kishi R: Effects of prenatal di(2-ethylhexyl) phthalate exposure on childhood allergies and infectious diseases: The Hokkaido Study on Environment and Children's Health. *Sci Total Environ* 2018, 618:1408-1415.

表 1 北海道スタディの特徴

	北海道大規模コホート	札幌コホート
リクルート	2002～2012 年	2001～2004 年
登録人数	20,926 名（北海道 37 医療機関）	514 名（札幌市 1 産科施設）
特 徴	1. 低濃度の環境化学物質の次世代影響を解明 2. 母体血・臍帯血を保存、胎児期の環境曝露測定と生後の曝露評価 3. 先天異常、出生時体格、発育、神経行動発達、免疫・アレルギー、内分泌ホルモン等のリスク評価 4. 化学物質代謝や疾病感受性遺伝子などを考慮したハイリスク群の特定（遺伝子多型 SNPs） 5. エピゲノム解析を通じた環境遺伝交互作用やメカニズムの解明	

表 2 測定項目

測定項目	方法
化学物質	
17 Dioxins, 69 PCBs, 6 OH-PCBs (congener level)	HRGC/HRMS
11 PFASs (PFHpA, PFHxA, PFOA, PFNA, PFDA, PFUnDA, PFDoDA, PFTrDA, PFTeDA, PFHxS, PFOS)	UPLC-MS/MS
7 Phthalate metabolites (MnBP, MiBP, MBzP, MEHP, MEHHP, MECPP, cx-MiNP)	GC-MS, LC-MS/MS
29 Chlorinated pesticides (<i>cis</i> -chlordane, <i>trans</i> -chlordane, <i>cis</i> -nonachlor, <i>trans</i> -nonachlor, oxychlordane, <i>o,p'</i> -DDT, <i>p,p'</i> -DDT, <i>o,p'</i> -DDE, <i>p,p'</i> -DDE, <i>o,p'</i> -DDD, and <i>p,p'</i> -DDD, aldrin, dieldrin, endrin, heptachlors, <i>cis</i> -HCE, <i>trans</i> -HCE, HCB, α -HCH, β -HCH, γ -HCH, and δ -HCH, Mirex, Parlar-26, Parlar-41, Parlar-40, Parlar-44, Parlar-50, and Parlar-62)	GC-NCIMS, GC- HRMS
Bisphenol A	ID-LC-MS/MS
Me-Hg	Oxygen combustion-gold amalgamation method
Cotinine	ELISA
その他の測定項目	
Thyroid hormones (TSH, FT4)	ELISA
Folic acid	CLEIA
Fatty acids (palmitic, stearic, palmitoleic, oleic, linoleic, arachidonic, α -linolenic, EPA, DHA)	GC-MS
Triglyceride	TC E-Test Wako
IgE, IgA,	ELISA
Adipokines (adiponectin, leptin, TNF- α , IL-6)	ELISA and RIA
Steroid hormones (estradiol, testosterone, progesterone, cortisol, cortisone, DHEA, androstenedione)	LC-MS/MS
Reproductive hormones (inhibin B, INSL-3, SHBG, FSH, LH)	ELISA, RIA, EIA
CLEIA Chemiluminescent Enzyme Immunoassay, <i>cx-MiNP</i> mono-carboxy-isononyl phthalate, <i>DDD</i> dichlorodiphenyldichloroethane, <i>DDE</i> dichlorodiphenyldichloroethylene, <i>DDT</i> dichlorodiphenyltrichloroethane, <i>DHA</i> docosahexaenoic acid, <i>DHEA</i> Dehydroepiandrosterone, <i>EIA</i> enzyme immune assay, <i>ELISA</i> Enzyme Linked Immunosorbent Assay, <i>EPA</i> eicosapentaenoic acid, <i>FSH</i> follicle-stimulating hormone, <i>FT4</i> free thyroxine, <i>GC-HRMS</i> gas chromatography-high resolution mass spectrometry, <i>GC-MS</i> gas chromatography- mass spectrometry , <i>GC-NCIMS</i> gas chromatographic-negative-ion chemical ionization mass spectrometric, <i>HCB</i> hexachlorobenzene, <i>HCE</i> heptachlor epoxide, <i>HCH</i> hexachlorocyclohexane, <i>HRGC/HRMS</i> high resolution gas chromatography/high resolution mass spectrometry, <i>ID-LC-MS/MS</i> isotopic dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry , <i>IgA</i> immunoglobulin A, <i>IgE</i> immunoglobulin E, <i>LC-MS/MS</i> gas chromatography-tandem mass spectrometry, <i>IL-6</i>, interleukin-6, <i>INSL-3</i> Insulin-like factor 3, <i>LH</i> luteinizing hormone, <i>Me-Hg</i> methylmercury, <i>MnBP</i> mono-<i>n</i>-buthyl phthalate, <i>MiBP</i> mono-<i>i</i>-buthyl phthalate, <i>MBzP</i> mono benzyl phthalate, <i>MECPP</i> mono-(2-ethyl-5-carboxypentyl) phthalate, <i>MEHP</i> mono(2-ethylhexyl) phthalate, <i>MEHHP</i> mono (2-ethyl-5-hydroxyhexyl) phthalate, <i>OH-PCB</i> hydroxylated polychlorinated biphenyl, <i>PCB</i> polychlorinated biphenyl, <i>PFASs</i> perfluorinated alkyl substances, <i>PFOA</i> perfluorooctanoic acid, <i>PFDA</i>, perfluorodecanoic acid, <i>PFDoDA</i>, perfluorododecanoic acid, <i>PFHpA</i> perfluoroheptanoic acid, <i>PFHxA</i>, perfluorohexanoic acid, <i>PFHxS</i>, perfluorohexane sulfonate, <i>PFNA</i>, perfluorononanoic acid, <i>PFTeDA</i> perfluorotetradecanoic acid, <i>PFTrDA</i> perfluorotridecanoic acid, <i>PFOS</i> perfluorooctanoic sulfonate, <i>PFUnDA</i> perfluoroundecanoic acid, <i>RIA</i> radioimmunoassay, <i>SHBG</i> sex hormone-binding globulin,	

TNF- α tumor nucleosis factor, *TG* triglyceride, *TSH* thyroid-stimulating hormone, UPLC-MS/MS Ultra Performance Liquid Chromatography-tandem mass spectrometry

表 3 北海道スタディから得られた結果

疾病アウトカム	関係するリスク要因 [文献]
出生時体格	喫煙 [48, 49, 50, 52, 56]
	カフェイン [55]
	教育歴、BMI、生殖補助医療 [58]
	ダイオキシン類 [15]
	有機フッ素化合物 [18, 57]
甲状腺ホルモン	フタル酸エステル [64]
	有機フッ素化合物 [65]
性ホルモン	ダイオキシン [66]
	有機フッ素化合物 [33, 39]
	塩素系農薬 [37]
	ダイオキシン類 [34]
	フタル酸エステル類 [31, 38]
アディポカイン	ビスフェノール A [45]
	有機フッ素化合物 [46]
	フタル酸エステル類 [47]
	ビスフェノール A [47]
神経発達	ダイオキシン類 [14, 16, 17]
	有機フッ素化合物 [26]
	ビスフェノール A [67]
	社会経済要因 [59, 60]
	アディポカイン [68]
	塩素系農薬 [30]
アレルギー・感染症	ダイオキシン類 [19, 20]
	有機フッ素化合物 [24, 27, 28]
	フタル酸エステル [69]

表 4 フタル酸エステル類への胎児期曝露による臍帯血アディポカインへの影響

代謝物	アウトカム	β	95% CI
MnBP	Total adiponectin	-0.07†	-0.14, 0.01
	HMW adiponectin	-0.09†	-0.19, 0.00
	Leptin	-0.11	-0.26, 0.05
MEHP	Total adiponectin	0.00	-0.03, 0.03
	HMW adiponectin	0.00	-0.04, 0.05
	Leptin	-0.09*	-0.16, -0.02
MECPP	Total adiponectin	-0.08*	-0.14, -0.03
	HMW adiponectin	-0.11*	-0.18, -0.03
	Leptin	0.00	-0.13, 0.13

* $p < 0.05$, † $P < 0.1$

CI confidence interval, HMW high molecular weight, MnBP mono-*n*-buthyl phthalate, MECPP mono-(2-ethyl-5-carboxypentyl) phthalate, MEHP mono(2-ethylhexyl) phthalate

(文献[47]をもとに作成)

Figure legends

図 1 北海道コーホートの流れ

図 2 札幌コーホートの流れ

ATS-DLD the American Thoracic Society-Division of Lung Disease, *BSID-II* the Bayley Scales of Infant Development second edition, *CBCL* the Child Behavior Checklist, *DDST* the Denver Developmental Screening Tests, *EES* the Evaluation of Environmental Stimulation, *FTII* the Fagan Test of Infant Intelligence, *ISAAC* the International Study of Asthma and Allergies in Childhood *K-ABC* the Kaufman Assessment Battery for Children, *KWCST* 慶應版 Wisconsin Card Sorting Test, *WAIS-R* the Wechsler Adult Intelligence Scale-Revised, *WISC-III* the Wechsler Intelligence Scale for Children third edition,

図 3 母体血中 PFOS 濃度と母体血中トリグリセリド、脂肪酸との関連

PFOS 濃度を四分位にしたときの各トリグリセリド、脂肪酸の最小二乗平均値 (95%信頼区間) を示す。AA arachidonic acid, ALA α -linolenic acid, DHA docosahexaenoic acid, EFA essential fatty acids, EPA eicosapentaenoic acid, LA linoleic acid

(文献[29]をもとに作成)

図 4 母体血中 PFOS 濃度と臍帯血中性・ステロイドホルモンとの関連

PFOS 濃度を四分位にしたときの各性ホルモンの最小二乗平均値 (95%信頼区間) を示す。

T/E2 テストステロン／エストラジオール

(文献[33,39]をもとに作成)

図 5 母体血中フタル酸エステル代謝物濃度と臍帯血中の性ホルモン濃度との関連(男児)

MEHP 濃度を四分位にしたときの各性ホルモンの最小二乗平均値 (95%信頼区間) を示す。(第 1 四分位に対し、第 4 四分位との濃度比較において** $P<0.003$)

INSL3, insulin like factor-3, *MEHP* mono(2-ethylhexyl) phthalate

(文献[31]をもとに作成)

図6 出生体重への母体血中コチニン濃度と SNPs による環境遺伝交互作用

AHR (G>A, A r g 554Lys; rs2066853) について、GG, GA, AA genotype に層別し、母体血中コチニン濃度を 5 段階にレベル分けを行い（レベル 1, 0.12-0.21 ng/mL; レベル 2, 0.22-0.55 ng/mL, レベル 3, 0.56-11.48 ng/mL, レベル 4, 11.49-101.66 ng/mL, レベル 5, 101.67-635.25 ng/mL）、それぞれのレベルにおける出生体重の最小二乗平均（95%信頼区間）を示す。レベル 1 を reference とした時の * $P < 0.05$ 、** $p < 0.1$ 、*** $p < 0.001$ 。

（文献[51]をもとに作成）

図7 母体血中ダイオキシン類濃度と出生時体重との環境・遺伝交互作用

左図は、CYP1A1 の遺伝子多型（TT/TC 型、CC 型）で層別したときの母体血中 PCDD/PCDF-TEQ を示す。右図は、GSTM1 の non-null 型と null 型に層別したとき、母体血中ダイオキシン濃度が 10 倍になったときの児の出生体重の減少量を示す。

CYP1A1 cytochrome P450 1A1, *GSTM1* glutathione S-transferase mu 1, *PCDD* polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, *PCDF* polychlorinated dibenzofuran, *TEQ* toxic equivalent.

（文献[54,55]をもとに作成）

図8 母体血中 PFOA 濃度と児のボンデラル指数への影響と DNA メチル化による介在

母体血中 PFOA 濃度が 10 倍になったときのボンデラル指数への直接影響は -0.44 kg/m^3 、メチル化を介在した間接影響は -0.11 kg/m^3 、IGF2 メチル化の介在率は 20% ($-0.11 / -0.55 = 0.2$) であった。* $p < 0.05$ 、** $p < 0.1$

（文献[54]をもとに作成）

図9 今後の課題（胎児期有機フッ素化合物曝露の例）

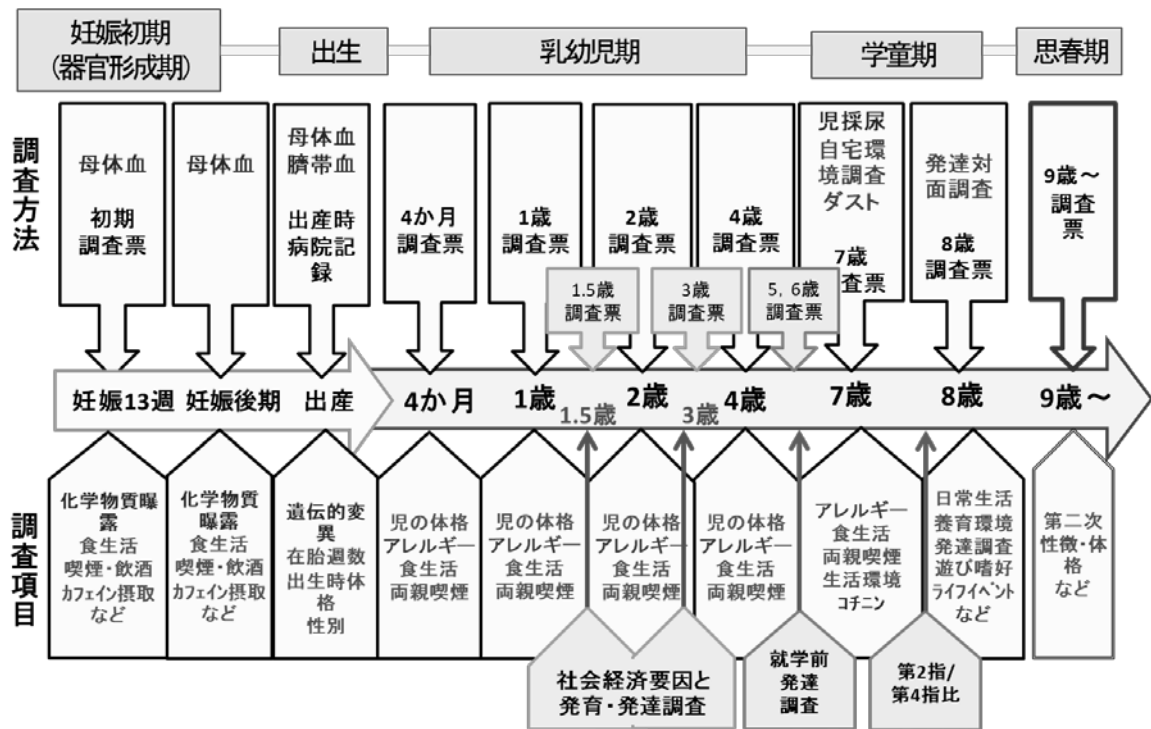


図1 北海道コホートの流れ

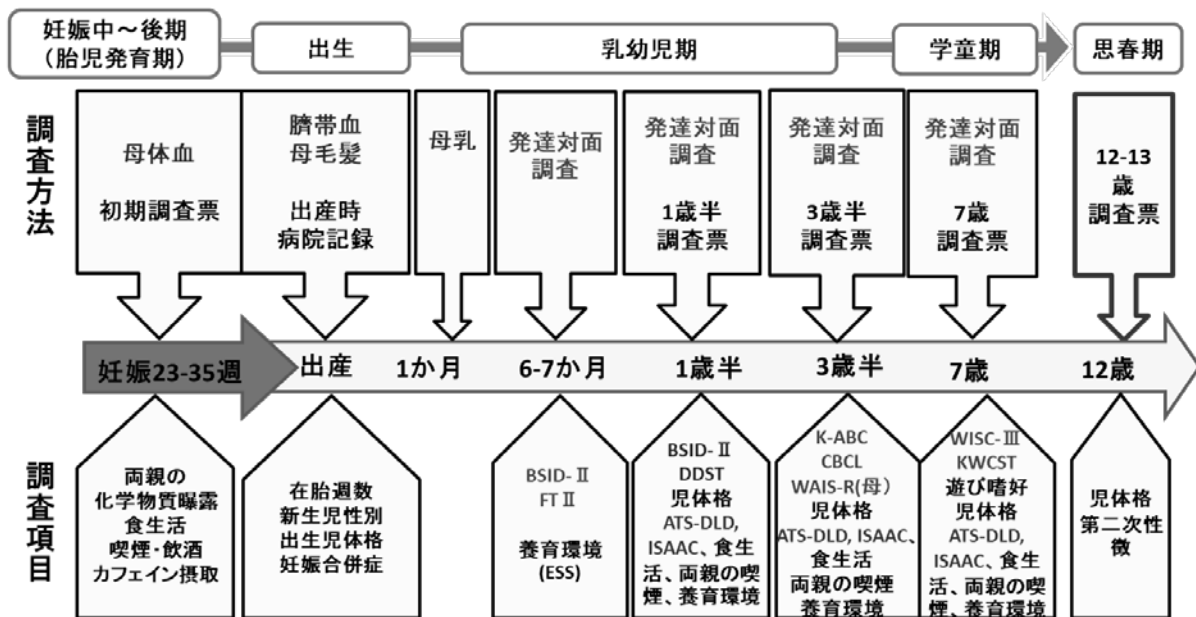


図 2 札幌コーホートの流れ

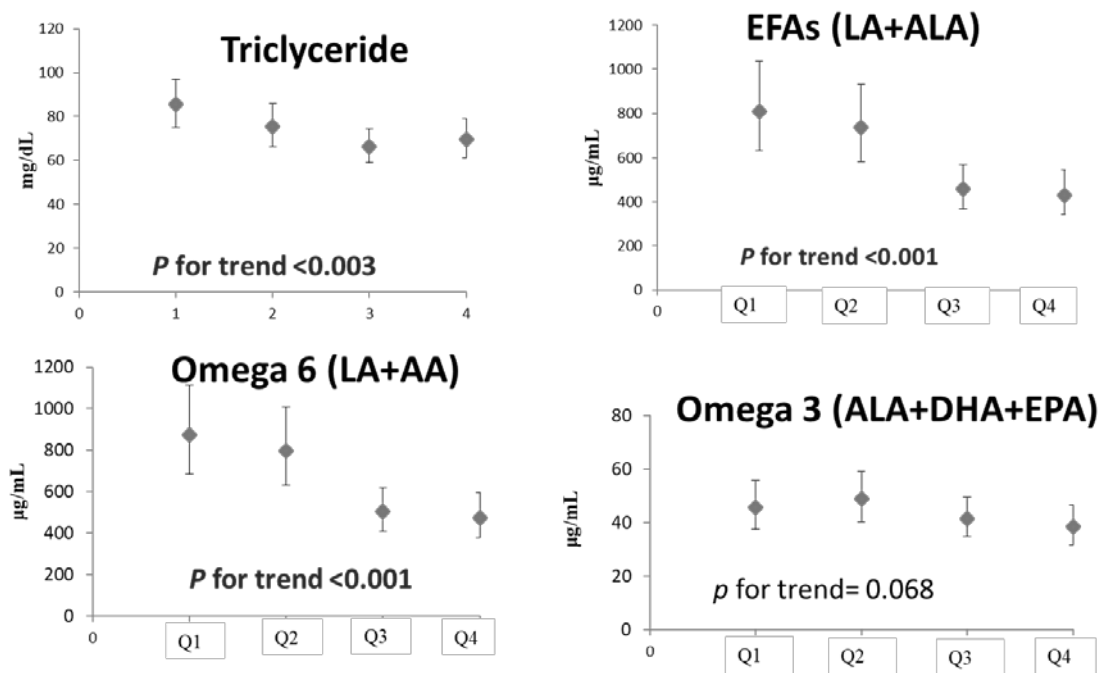


図3 母体血中PFOS濃度と母体血中トリグリセリド、脂肪酸との関連

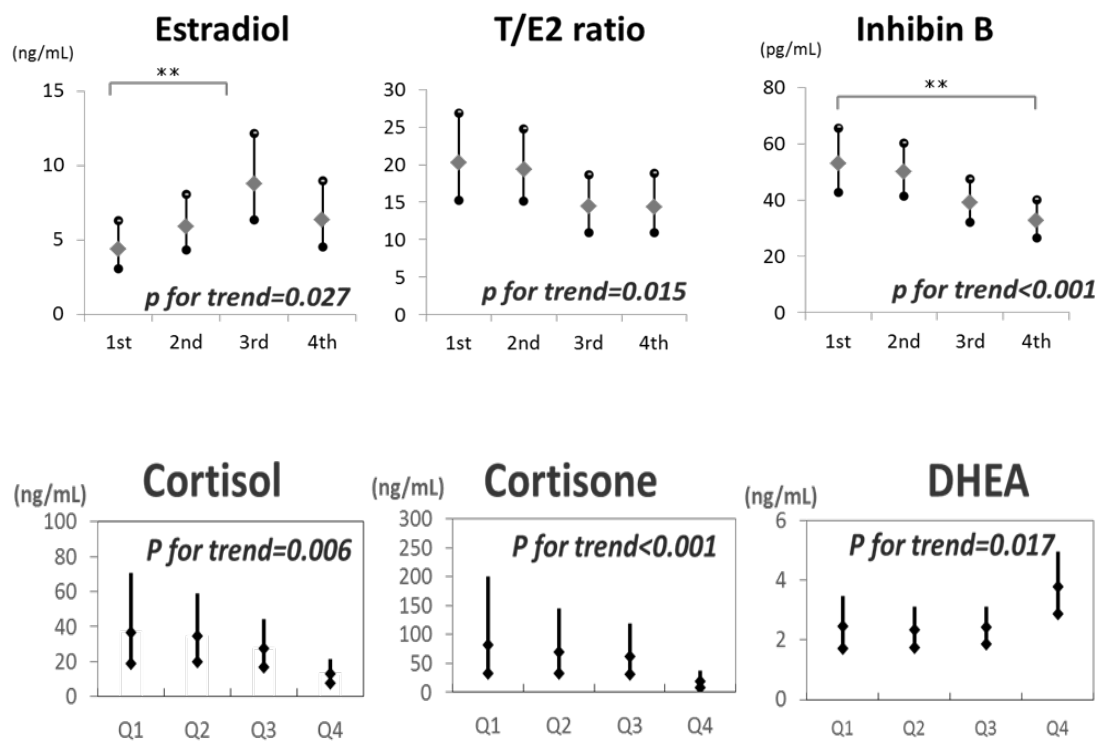


図4 母体血中PFOS濃度と臍帯血中性・ステロイドホルモンとの関連

INSL3

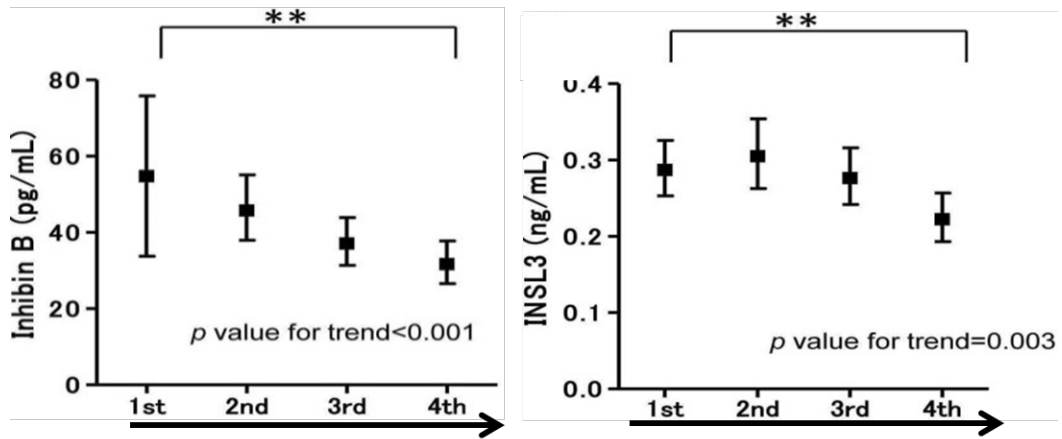
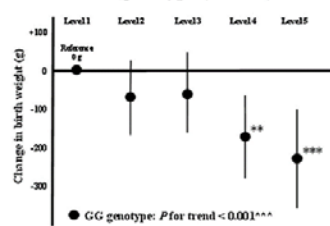
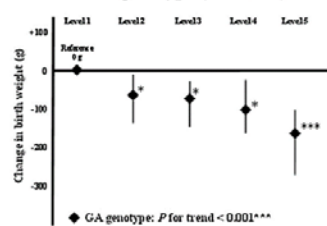


図5 母体血中フタル酸エステル代謝物濃度と臍帯血中の性ホルモン濃度との関連(男児)

(i) *AHR* (G>A, Arg554Lys; rs2066853)
GG genotype (n = 989)



GA genotype (n = 1,586)



AA genotype (n = 688)

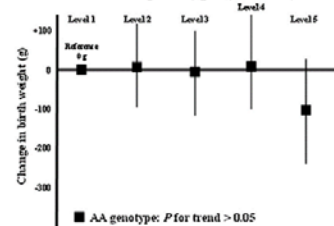


図6 出生体重への母体血中コチニン濃度と SNPs による環境遺伝交互作用

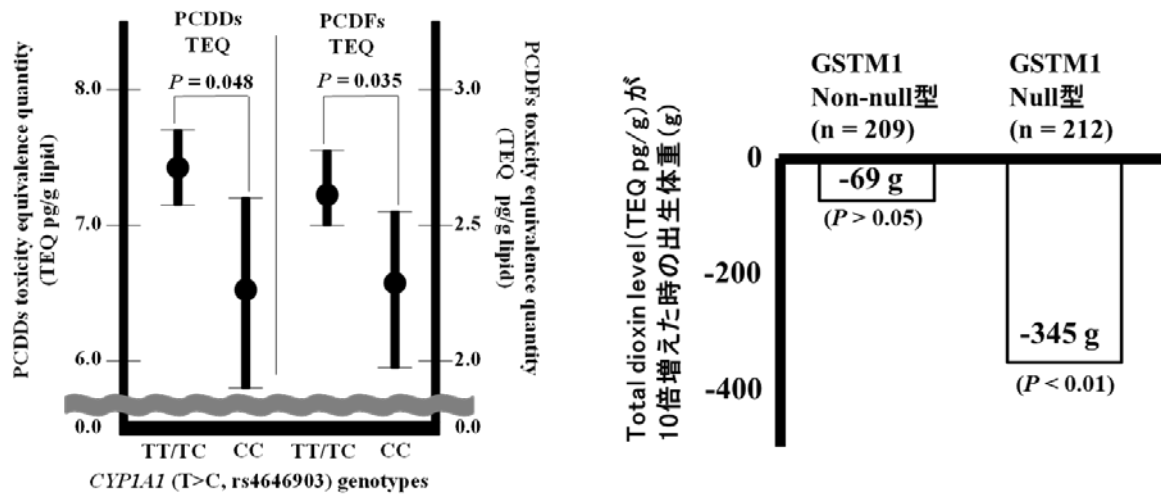


図7 母体血中ダイオキシン類濃度と出生時体重との環境・遺伝交互作用

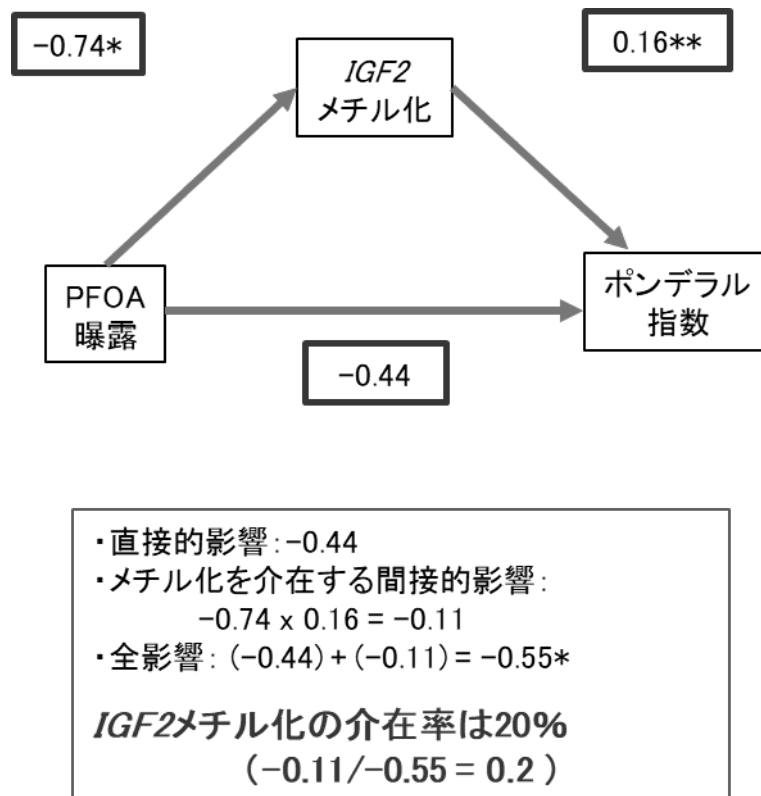


図8 母体血中 PFOA 濃度と児のポンデラル指数への影響と DNA メチル化による介在

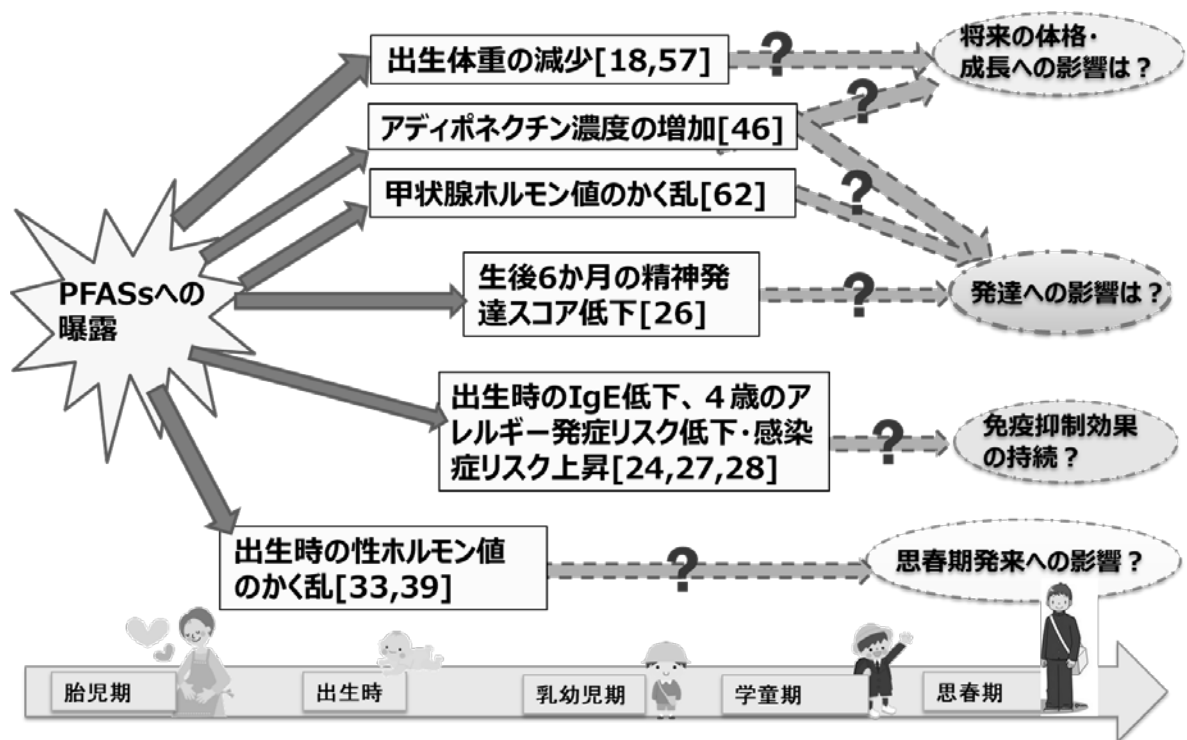


図9 今後の課題（胎児期有機フッ素化合物曝露の例）