



Title	一般生活環境レベルの妊娠中PCBs曝露が妊婦と新生児の甲状腺機能および3歳児の行動、精神症状に及ぼす影響：芳香族炭化水素受容体遺伝子多型との関連において
Author(s)	馬場, 俊明
Description	配架番号：1697
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	乙第7045号
Issue Date	2018-03-22
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.r7045
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70834
Type	doctoral thesis
File Information	Toshiaki_Baba.pdf



学 位 論 文

一般生活環境レベルの妊娠中 PCBs 曝露が妊婦と新生児の甲状腺機能および 3 歳児の行動、精神症状に及ぼす影響 — 芳香族炭化水素受容体遺伝子多型との関連において

(The effects of exposure to background polychlorinated biphenyls on thyroid hormone levels in pregnant women and neonates and child psychiatric symptoms at age 3 years in relation to aryl hydrocarbon receptor polymorphisms)

2018 年 3 月

馬 場 俊 明

(Toshiaki BABA)

目次

発表論文目録および学会発表目録	2
緒言	4
略語一覧	6
第一章	
緒言	7
研究方法	8
結果	14
考察	27
第二章	
緒言	29
研究方法	30
結果	31
考察	32
総括および結論	34
謝辞	36
引用文献	37

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に発表した。

1. Baba, T., S. Ito, M. Yuasa, E. Yoshioka, C. Miyashita, A. Araki, S. Sasaki, S. Kobayashi, J. Kajiwara, T. Hori, S. Kato and R. Kishi (2018). "Association of prenatal exposure to PCDD/Fs and PCBs with maternal and infant thyroid hormones: The Hokkaido Study on Environment and Children's Health." *Science of The Total Environment* 615: 1239-1246.
2. 池野多美子、小林澄貴、馬場俊明、岸玲子.(2012) 注意欠如・多動性障害 (ADHD) の有病率と養育環境要因に関する文献 Review、北海道公衆衛生学雑誌 25 (2) : 53-60

本研究の一部は以下の学会に発表した。

1. Baba, T., Yoshioka, E., Sasaki, S., Miyashita, C., Yuasa, M., Ito, S., Kajiwara, J., Todaka, T., Kato, S., Kobayashi, S., Okada, E., Kashino, I., Yila, T., Braimoh, T., Kishi, R. (2012). Levels of PCB congeners in maternal blood and their effect on maternal and neonatal thyroid hormones - result from Hokkaido Study on Environment and Children's health. Paper presented at: 6th International Congress of Asian Society of Toxicology (Sendai).
2. 池野多美子、小林澄貴、馬場俊明、岸玲子、注意欠損・多動性障害 (ADHD) の文献 Review (1)－有病率と発生に関する要因、第 82 回日本衛生学会学術総会、2012 年 3 月 24-26 日、京都
3. 小林澄貴、池野多美子、馬場俊明、岸玲子、注意欠損・多動性障害 (ADHD) の文献 Review (2)－環境要因と遺伝要因、その交互作用、第 82 回日本衛生学会学術総会、2012 年 3 月 24-26 日、京都

緒言

ポリ塩化ビフェニル (Polychlorinated biphenyls ; PCBs)は難分解性の有機化合物で、広く環境や人体に蓄積する。その毒性と残留性有機汚染物質(POPs)に分類されることから、PCBsの生産と販売はほぼ全ての先進国で1980年代から禁止されている¹。一般住民は食物と汚染され空気を吸うことによりPCBsに曝露されるが、食物は最大部分を占める²。Sasamoto, et al.³による日本での全食事量調査(TDS)によれば、dioxin-like PCBsは魚介類からの摂取が高い割合を占め、全研究期間(1999 から 2004 年)に渡って割合が増加していた。

ヒトおよび動物における PCBs 曝露による健康影響には、肝臓、甲状腺、皮膚、眼、免疫、神経発達の変化、出生体重の低下、生殖毒性および発がんがある²。PCBsの毒性については、ダイオキシン様毒性が最も良く研究されているが、非ダイオキシン様 PCBs (NDL-PCBs)の甲状腺、肝臓、免疫系、生殖および神経発達への影響も動物実験も、個別の NDL-PCB の congener について報告がある⁴。

当研究グループでは、月齢 6 ヶ月の児におけるダイオキシン様 PCB(DL-PCBs)を含むダイオキシン様物質 (DLCs)と精神神経発達の負の関連⁵および perfluorooctane sulfonate (PFOS)および DLCs の曝露と出生体重の負の関連を同じコホートのデータにより報告した^{6,7}。

甲状腺ホルモン (TH) は、ヒトの発達、特に神経発達において欠かせないことから、PCBsを含む甲状腺ホルモンかく乱化学物質 (TDCs)に関する関心が近年高まっている。

Coplanar (または dioxin-like) PCBs は芳香族炭化水素受容体 (AhR) 転写因子に結合し、活性化することによりダイオキシン様毒性を示す。AhR の多型は数種類報告されており、そのうち最も頻繁に研究されているのが exon 10 に存在する Lys554Arg である。Exon 10 は AhR 遺伝子の転写活性領域のほとんどを含んでいる⁸。リガンドの結合により、AhR は AhR nuclear translocator (ARNT)と二量体を形成し、CYP1A1, CYP1A2 and CYP1B1 などの異物代謝酵素の遺伝子をコードしているダイオキシン応答領域に作用することができる

ようになる⁹。CYP1A1 については、2 つの機能的多型が報告されており、その一つが 3698T>C 置換(CYP1A1*2A, rs 4646903)であり、これは MspI 制限領域を 3 隣接領域に形成する。もう一つは 2454A>G 置換(CYP1A1*2C, rs 1048943)で、これは exon 7 (Ile462Val)のアミノ酸置換を起こす¹⁰。CYP1B1 の単塩基多型のうちアミノ酸の置換を起こすものは 4 つ報告されており、その一つが rs1056836 (Leu432Val)である¹¹。

一方、NDL-PCB の毒性の特徴は十分に解明されていない。この結果、DL-PCB における Toxic equivalent の概念¹²のような統一的な尺度が NDL-PCBs に関しては存在していない。

Gauger らは、動物実験の結果から、PCB126 のような AhR リガンドが CYP1A1 を誘導し、それが NDL-PCB を甲状腺ホルモンレセプター (TR) に作用するアナログに変化させるという二段階の過程を提案した¹³。このことは AhR が DL-PCB と NDL-PCB の両方とどのように相互作用を示し、TH 平衡をかく乱するかを研究する必要性を示唆する。

以上を検討した結果、PCBs のダイオキシン毒性と、AhR に関連する遺伝子多型を考慮して、PCBs が TH、さらに神経発達に対する影響を評価する研究を計画した。

本研究全体の目的は、PCBs のダイオキシン毒性の有無と遺伝子多型による作用の違いに着目しながら、母児の TH 濃度を介して 3 歳児の精神症状に影響を与えるかどうかを明らかにすることである。第 1 章では、まず妊娠中の一般生活環境レベルの PCBs 曝露が母児の TH 濃度に及ぼす影響を疫学的に評価することを目的とした。第 2 章は PCBs が精神症状に与える影響を評価し、第 1 章の結果と合わせて、その影響が TH 濃度の変化を介しているかを明らかにすることを目的とした。詳細な背景と目的は各章に記載する。

ABBREVIATIONS

AhR	aryl hydrocarbon receptor
AMC	anti-microsomal antibodies
ATG	anti-thyroglobulin antibodies
CI	confidence interval
DLC	dioxin-like compounds
FT4	free thyroxine
ND	non-detectable
NDL-PCBs	non-dioxine-like polychlorinated biphenyls
PCBs	polychlorinated biphenyls
PCDDs	polychlorinated dibenzo-p-dioxins
PCDFs	polychlorinated dibenzofurans
PFOA	perfluorooctanoate
PFOS	perfluorooctane sulfonate
T3	triiodothyronine
T4	thyroxine
TEF	toxic equivalent factor
TEQ	toxic equivalent
TH	thyroid hormone
TSH	thyroid stimulating hormone
WHO	World Health Organization

第一章 一般生活環境レベルの妊娠中 PCBs 曝露が妊婦と新生児の甲状腺機能に与える影響

緒言

PCB やその代謝物は、甲状腺ホルモンレセプター (TH) にアゴニストとして結合する、T3 と T4 の胆汁からの排泄を促進することが報告されており、これらのメカニズムにより TH の平衡を崩すと考えられている¹⁴。また、動物実験により dioxin-like PCBs および non-dioxin-like PCBs が甲状腺の組織障害および T4 の低下を起こすことが報告されている²。

ヒトにおける PCBs と TH の疫学研究の結果は一致していない。Salay らは PCBs と成人の TH の疫学研究の系統的レビューを行ったが、PCBs と TSH および FT4 の関連に関しては明確な結論に至らなかった¹⁵。PCBs と小児の TH 濃度の関連の研究については 2 編の総説^{16,17} およびその後 10 編の研究¹⁸⁻²⁷ が報告されているが、有意な関連があったものとなかったものがある。

本論文全体の緒言でも述べたように、Coplanar (または dioxin-like) PCBs は芳香族炭化水素受容体 (AhR) 転写因子に結合し、活性化することによりダイオキシン様毒性を示す。活性化された AhR は 3 つの CYP1 等の代謝酵素を誘導する。また、Gauger らは動物実験により、dioxin-like PCBs と NDL-PCBs の両方を投与した場合に最も CYP1A1 が活性化することを示した¹³。このことは AhR および CYP1 代謝酵素が DL-PCB と NDL-PCB それぞれとどのように相互作用を示し、TH 平衡をかく乱するかを研究する必要性を示唆する。

妊婦が自身と胎児の必要量を満たす TH を分泌するためには、ヨウ素摂取量を 50% 増やすことが推奨されており、食物からのヨウ素摂取不足は母の、さらには胎児のヨウ素欠乏を引き起こす。ヨウ素欠乏症になった場合、母が低サイロキシン血症になり、その結果胎児の神経発達に障害を及ぼす。障害は児の甲状腺機能低下症が併存するとさらに悪化する²⁸。一方ヨウ素過多は甲状腺機能低下症²⁹ または甲状腺機能亢進症³⁰ を引き起こす。また、日本においてヨウ素を多く食事から摂取していた妊婦の新生児において一過性の TSH 上昇が見られた³¹。このため、PCBs と TH の関連を評価する上で、魚介類の摂取量と合わせてヨウ素摂取量を考慮することが必要である。

以上から、本章は、dioxin-like PCBs および NDL-PCBs が母児の甲状腺に与える影響を、AhR と CYP1 多型、PCBs 以外の環境化学物質、ヨウ素摂取量、種々の交絡要因を考慮しながら評価することを目的とする。

研究方法

研究デザインと対象

この前向き出生コホート研究は、日本の北海道札幌市にある産婦人科病院である札幌東豊病院でリクルートされた妊婦（およびその後出生した児）を対象としている（環境と子どもの健康北海道スタディー）³²。参加者は、2002年7月から2005年10月までに登録された妊娠23～35週の日本人女性で、すべての妊婦は札幌またはその近郊に居住していた。1796人の妊婦に研究参加を依頼し、514人が参加に同意した（参加率 = 28.6%）。

データの収集

研究参加時に自記式の調査票によりベースラインの情報を得た。これには両親の人口学的情報、既往歴、サプリメント摂取、妊娠中の食事習慣、化学物質への曝露、喫煙歴、アルコール摂取等が含まれた。分娩後5日以内に魚介類の摂取に関する食物摂取頻度調査票を記入した。分娩歴、母の分娩時身長体重、分娩方法、出産時の妊娠週数、児の性別と体格等の医学的情報は診療録から得た。

ヨウ素の摂取量はTHに影響与えるため、海草を含むエサを与えられ、ヨウ素含有量が多いとされるヨード卵またはヨウ素サプリメントの摂取頻度を母に尋ねた。妊娠中の海藻（コンブ、ヒジキ、ワカメ）の摂取頻度も調査票に入れた。コンブは食用の海藻の中で最もヨウ素の含有量が多い（分布範囲：1.2–1.9 mg/g）³³。

曝露およびアウトカムの測定

PCBsに加え polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDD) および polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) が交絡因子の可能性を考慮するために測定した。PCBsの標準物質はWellington Laboratories社から購入した。内部標準としてPCDDs、PCDFs、PCBsの[13C12]-congenerもWellington Laboratories社から購入した。活性炭コラムは以下のように準備した。ナカライテスク（株）

から購入した活性炭コラムを、トルエンによる 1 時間環流 3 回行い、真空乾燥させた後、500 mg の活性炭素が 500 g の無水硫酸ナトリウム（和光純薬(株)製）と混合した。活性炭混合シリカゲルは関東化学(株)から購入した。測定に使用されたすべての試薬と溶媒は、市販されているダイオキシン用のものを使用した。

母体血は妊娠 30 週以降に末梢の静脈から採血し、PCDDs、PCDFs および Coplanar PCBs の測定を合わせて行った。血液中からの脂質の抽出は高速溶媒装置(ASE-200、日本ダイオネクス社製)を用いて行った。血液試料 5g を 3g の珪藻土を充填した抽出セル中に注入し、約 14 時間凍結乾燥を行った。クリーンアップスパイクを添加後、抽出セルを装置本体に装着し、温度 150℃、圧力 2000 psi の条件下で 10 分間アセトン/ヘキサン (1:3、 v/v) で 2 回抽出した。得られたアセトン/ヘキサン抽出液を減圧下濃縮し、秤量ビンに移した。溶媒を完全に留去させ、恒量とした後の重量から秤量ビンの風袋重量を差し引いた値を脂質の重量とした。抽出した脂質に n-ヘキサン 5ml を加えて溶解し、濃硫酸 3ml を加えて一夜放置した。そのヘキサン層を 10 % (w/w) 硝酸銀シリカゲルを乾式充填したカラムに負荷した後、ヘキサン 15ml で溶出させた。その溶出液を 0.1 % (w/w) 活性炭/無水硫酸ナトリウム 0.5g を乾式充填したカラムに直接負荷させ、ジクロロメタン/n-ヘキサン (1:9、 v/v) 10 ml で Monoortho-PCB 類を、トルエン 25ml でダイオキシン類 (PCDDs、PCDFs および Nonortho-PCBs) を溶出した。得られた両画分は 0.5ml 以下に減圧下濃縮した。トルエン画分は風乾後、ジクロロメタンを用いて洗いこみ、その溶液を 0.2ml まで室温で濃縮後、10 µl の n-ノナンを加えた GC/MS 用バイアルビンに添加した。ジクロロメタンを室温で完全に留去後、シリジンスパイクを加えて質量分析用試料液とした。血液中 PCDDs、PCDFs および Coplanar PCBs の濃度は、大量注入装置を装備した高分解能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析装置 (HRGC/HRMS) を用いて行った。HRGC/HRMS は、GC 部は Agilent 社製 HP-6890A、MS 部は Micromass 社製 AutoSpec-UltimaNT を使用し、SCLV は SGE 社製を使用した。カラムとして、プレカラムに BPX5 (SGE 社製、内径;0.25mm; 膜厚 0.25mm; 長さ;6m) および分析カラムに BPX5-DioxinI (SGE 社製、内径;0.15mm; 長さ;30m) を使用した。昇温条件は、160℃ (0 分間保持) から 300℃ まで 20℃/分 で昇温、300℃ (8 分間保持)、70℃/分 で降温、195℃ (0.5 分間保持) から 300℃ まで 3℃/分の割合で昇温、300℃ (1 分間保持) で行った。試料注入法は、SCLV injection

システムを用いた。イオン化法は EI 法で、イオン源温度とインターフェイス温度は、それぞれ 280℃で、イオン化電圧、イオン化電流および加速電圧は、それぞれ 40eV、750 μ A および 8000V に設定し、分解能 10000 に調整した。キャリアガスとして He を用い、流速 1.3mL/min で行った。Selected Ion Monitor 法によって、PCDDs、PCDFs および coplanar PCBs 類の定量を行った。

NDL-PCB の測定は別に行った。GPC システムは GLサイエンス(株)製を用いた。システム構成はオートサンプラー (MIDAS)、デガッシングユニット (DG660B)、送液ポンプ (PU614-F)、UV ディテクター (UV702)、フラクションコレクター (FC693) および汎用レコーダーである。GPC カラムは MSpakGF-3104D (内径 4.6mm、長さ 150mm、昭和電工(株)製)を用いた。移動相はアセトンを用い、流速は 0.1ml/min とした。HRGC/HRMS には HP6890 ガスクロマトグラフ (Agilent 社製)/質量分析計 AutoSpec Ultima (Micromass 社製)を用いた。PCB の同定・定量には定量計算ソフトウェア OPUSquan (Micromass 社製)を用いた。分析試料の調製血液約 5g を正確に量り取り、凍結乾燥を行って水分を除いた後、クリーンアップスパイクとして $^{13}\text{C}_{12}$ ラベル標識の 2,3,7,8 位塩素置換体 PCDD/DF17 種類及び non-orthocoplanar PCB4 種類 (IUPAC#77、#81、#126 および#169)を各 50pg、さらに PCB の 3~10 塩素置換体 21 種類 (IUPAC#28、#37、#52、#70、#95、#101、#123、#118、#114、#105、#153、#138、#157、#178、#180、#170、#189、#202、#194、#206 及び#209)各 500pg を添加した。これを高速溶媒抽出器により抽出し、得られた脂質を硫酸処理した後、硝酸銀シリカゲルカラム及び活性炭カラムで精製を行った。活性炭カラムの第 1 画分 (10% (v/v)ジクロロメタン/n-ヘキサン画分)を減圧濃縮した後、ガラス製マイクロバイアルに移し、クリーンベンチ内で室温常圧下に放置し濃縮乾固した。アセトン 100 μ l を加えてミキサーで攪拌し、残留物を溶解させ、GPC 精製用試料とした。GPC 注入に当たってはサンプルロスが少なく大容量注入の可能な「 μ l ピックアップ」モードを選択し、注入量は 50 μ l に設定した。GPC 精製後の試料にシリンジスパイクとして $^{13}\text{C}_{12}$ ラベル標識の 2,3,3',5,5'-PeCB (IUPAC#111) 250pg を添加し、全量を 50 μ l として HRGC/HRMS 測定試料とし、測定を行った。

すべての PCB congener の検出限界値は 10 pg/g lipid である。全 209 PCB 種類の PCB congener のうち、70 種類が 426 人の血液サンプルから検出された

(International Union for Pure and Applied Chemistry numbers 28, 29, 37, 44, 47, 49, 52, 56/60, 63, 66, 70, 71, 74, 77, 81, 85, 87, 92, 95, 99, 101, 105, 107, 110, 114, 117, 118, 123, 126, 128, 130, 132, 134, 135, 137, 138, 139/149, 141, 146, 147, 151, 153, 156, 157, 164, 165, 167, 169, 170, 172, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 189, 191, 194, 195, 198/201, 200, 202, 203, 205, 206, 207, 208, 209)。

母児の TSH と FT4 濃度の測定は札幌市衛生研究所により市のマスキニング事業として行われた。母の指から妊娠 7～20 週に採血され、児のかかとかからは生後 4～7 日に採血された。TSH と FT4 の濃度はフィルター紙の血液から 0.3 cm のディスクを切り取って測定された。検体は enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) キット (Enzaplate Neo-TSH and Enzaplate N-FT4, バイエル(株)製)を用いて測定された。TSH の測定限界は 0.50 μ U/mL だが、FT4 の測定限界はない。抗サイログロブリン抗体 (ATG) と抗マイクロソーム抗体 (AMC) は同時にゼラチン粒子凝集法で Serodia-AMC および Serodia-ATG キット (富士レビオ(株)製)を用いて測定した。

母の血清コチニン濃度は Cozart® Cotinine EIA Serum kit (Cozart plc., UK) を用い、製造者のプロトコルに沿って 2 回測定された。

PFOS と PFOA の濃度は、交絡要因の検討のために、liquid chromatography-tandem mass spectrometry 法 (LC/MS/MS) で Waters Quattro micro system (Nihon Waters KK, Tokyo, Japan) を用いて測定された⁶。水銀は母の毛髪を用いて測定を行った。毛髪は出産後 5 日以内に採取した。根元から 10 mm の部分が分析に用いられ、oxygen combustion-gold amalgamation 法により原子吸光分析装置 MD-1 (Nippon Institute, Co., Ltd., Osaka) を用いて国立水俣病研究所で行った³⁴。

遺伝子型決定

母の血液サンプルを研究参加同意時に得て、ゲノム DNA をリンパ球から抽出した。AhR 多型は minor groove binder (MGB) プローブを用いて TaqMan PCR 法で行った。AhR (rs2066853) 多型の決定には、G アレル特異的 MGB プローブ (5'-FAM-CAT GTG TCT GAT GTC T-MGB-3') と A アレル特異的 MGB プローブ (5'-CTG CAT GTG TTT GAT-MGB-3') を用いた。用いたプライマーは

forward が 5'-CAG CAT AAT GAA AAA CCT AGG CAT T-3'で、reverse が 5'-CAT CCG TTA AGT CAA TGT CTC TCA A-3'である。PCR はサーマルサイクラー (GeneAmp® PCR System 9700, Applied Biosystems, Foster City, USA)と ABI PRISM 7000 Sequence Detector (Applied Biosystems)を用いた。CYP1A1、CYP1B1 多型についても同様の方法で決定された⁹。

数値計算

PCBs の濃度は、脂質で補正した (pg/g lipid)。検出限界以下だった PCB congener の濃度には、検出限界の 2 分の 1 が代入された。

PCBs はダイオキシン様毒性によってグルーピングした。NDL-PCBs は、世界保健機関により 2005 年に toxic equivalency factor (TEF)が与えられた coplanar PCBs を除く全ての PCBs と定義した。Coplanar PCBs の Toxic equivalent (TEQ)値は同じ TEF を用いて計算された¹²。

妊娠中の魚介類の摂取量は、特定の種類の魚介類の摂取頻度と 1 回の摂取量から計算した³⁴。

統計解析

血中 PCBs 濃度を測定した母 (n = 426)のうち、甲状腺疾患の治療を受けている者 (n = 10)は除外した。残りの母子の 416 組のうち、TH を測定した 386 人の妊婦と 411 人の新生児を解析に用いた。

出産歴は「なし」または「1 回以上の出産」のどちらかにコードした。喫煙状況は、調査票で喫煙すること答えたか、血清コチニン > 10.0 ng/mL のどちらかを満たすものを喫煙者とした。³⁵。甲状腺抗体に関しては AMC、ATG に関しては、AMC または ATG > 0 の場合にあわせて「上昇」、どちらも 0 の場合を正常とコードした。

PCBs、TSH、PFOS、PCDD/PCDF TEQ、水銀の濃度は log-normal 分布を示したため、log₁₀ スケールに変換して解析に用いた。

母児の属性、化学物質濃度、遺伝子多型が PCB または TH と相関があるかの検定には Spearman's rank correlation test、analysis of variance、または

Kruskal-Wallis test を用いた。

共変量と判断した変数について調整するためには、重回帰分析を用いた。母の TH と児の TH に関して別のモデルを作成した。Models 1 と 3 には単変量解析で総 PCBs 濃度と TH(TSH または FT4)濃度の両方に $p < 0.05$ 水準で有意な相関を認めたもの(母の TH の解析に用いる model 1 には母の年齢、教育、PFOS 濃度を、児の TH の解析に用いる model 3 には教育、出産歴、魚の摂取量、ポビドンヨードによるうがい)を投入した。Models 2 と 4 には単変量解析で TH(TSH または FT4)濃度に $p < 0.05$ 水準で有意な相関を認めたもの(母の TH の解析に用いる model 2 には母の年齢、教育、PFOS 濃度、リクルート時の Body Mass Index (BMI)を、児の TH の解析に用いる model 4 には教育、出産歴、魚の摂取量、ポビドンヨードによるうがい、ヨウ素サプリメント摂取、喫煙状況、出生体重、分娩時の妊娠週数、採血時の時の年齢)を投入した。

さらに分娩方法（経膈かつ補助器具を用いない分娩、またはそれ以外）と、時の性別、AhR および CYP1 の遺伝子多型によって層別化解析を行った。

調整後モデルに関して AhR または CYP1 による作用修飾の検定を、interaction term をモデルに投入することにより行った。

統計解析は JMP (SAS Institute, Inc., USA) for Windows version 9 および 10 および Stata (StataCorp LP, USA) for Windows version 12 を用いた。解析の結果は、 $p < 0.05$ のとき統計学的に有意と判断した。

全ての参加者は文書による説明と同意を提出した。研究プロトコルは北海道大学医学研究科の倫理委員会で承認を得た。

結果

PCBs の分布

PCBs と TH の濃度を Table 1 に示す。総 PCB 濃度は 17,815 から 495,063 pg/g lipid の範囲に分布した。総 PCBs と他 3 種類のグルーピングの相関は、NDL-PCB で最も高く、coplanar PCB-TEQ で最も低かった(それぞれ Spearman's $r = 0.9991, 0.809$)。Coplanar PCB-TEQ の幾何平均は 4.19 だった。

検出された 70 種類の PCB congener のうち、PCB 153 の濃度が最も高く、PCBs 全体の 20.3%を占めた。総 PCBs 濃度と各 PCB congener の間の Spearman's r は 0.0208 (PCB81) から 0.9812 (PCB 153)の範囲に分布していた (Table 1.)。

Table 1. Concentration of PCBs in maternal serum lipid (pg/g lipid) (n = 411)

	r ^s with Σ PCBs	Minimum	25th	Median	75th	Maximum	Geometric Mean
Σ PCBs	-	17815	72231	106073	147430	495063	103819
Σ NDL-PCBs	0.9991	16017	64715	93920	131285	445249	92803
Σ Coplanar PCBs	0.9453	1744	7539	11172	15524	49813	10859
Σ Coplanar PCB-TEQ	0.809	0.70	2.84	4.56	6.29	23.86	4.19
244'-TrCB(#28)	0.3984	ND	806	1121	1539	4665	1047
245'-TrCB(#29)	0.0815	ND	ND	ND	22	175	9
344'-TrCB(#37)	0.1154	ND	ND	ND	ND	16061	14
22'35'-TeCB(#44)	0.1553	ND	104	267	377	1447	140
22'44'-TeCB(#47)	0.2693	ND	170	322	494	1512	196
22'45'-TeCB(#49)	0.1900	ND	85	178	266	924	124
22'55'-TeCB(#52)	0.2481	ND	323	613	902	4389	372
233'4'-/2344'TeCBs(#56/60)	0.5853	ND	182	270	408	1139	250
234'5'-TeCB(#63)	0.5773	ND	31	51	74	352	44
23'44'-TeCB(#66)	0.6624	64	429	650	995	2907	636
23'4'5'-TeCB(#70)	0.2111	ND	84	148	201	1204	96
23'4'6'-TeCB(#71)	0.0512	ND	41	98	174	624	69
244'5'-TeCB(#74)	0.8633	580	2186	3080	4521	14083	3098
33'44'-TCB(#77)	0.3259	ND	ND	11	14	475	10
344'5'-TCB(#81)	0.0195	ND	ND	ND	ND	10	5
22'344'-PeCB(#85)	0.4413	ND	53	89	132	1083	75
22'345'-PeCB(#87)	0.5969	ND	181	254	361	2071	233
22'355'-PeCB(#92)	0.5940	ND	156	262	417	1977	220
22'35'6'-PeCB(#95)	0.3495	ND	224	388	567	1762	308
22'44'5'-PeCB(#99)	0.8865	623	2606	3962	5535	18662	3823
22'455'-PeCB(#101)	0.5941	ND	430	657	932	4390	611
233'44'-PeCB(#105)	0.8579	256	969	1430	2066	5992	1395
233'4'5'-PeCB(#107)	0.7793	ND	175	281	431	1676	264
233'4'6'-PeCB(#110)	0.3873	ND	91	164	255	1524	115
2344'5'-PeCB(#114)	0.8832	ND	228	338	474	1695	316
234'56'-PeCB(#117)	0.7790	ND	167	256	362	1453	234
23'44'5'-PeCB(#118)	0.9010	636	3815	5785	8215	25243	5584
2'344'5'-PeCB(#123)	0.7505	ND	68	108	154	942	100
33'44'5'-PeCB(#126)	0.7555	ND	21	34	48	219	31
22'33'44'-HxCB(#128)	0.6993	ND	207	326	482	4766	312
22'33'45'-HxCB(#130)	0.9168	ND	438	657	956	4141	630
22'33'46'-HxCB(#132)	0.3539	ND	63	112	174	709	77
22'33'56'-HxCB(#134)	0.0565	ND	ND	ND	20	115	9
22'33'56'-HxCB(#135)	0.6278	ND	93	143	232	702	134
22'344'5'-HxCB(#137)	0.9459	79	522	752	1057	4108	732
22'344'5'-HxCB(#138)	0.9659	1303	7694	11558	16591	60524	11349
22'344'6'-/22'34'5'6'-HxCB(#13)	0.4868	ND	135	238	374	1449	173
22'3455'-HxCB(#141)	0.4867	ND	45	94	159	733	65
22'34'55'-HxCB(#146)	0.9599	371	2024	2942	4304	17344	2908
22'34'56'-HxCB(#147)	0.6920	ND	74	120	179	874	99
22'355'6'-HxCB(#151)	0.6624	ND	215	333	531	3137	333
22'44'55'-HxCB(#153)	0.9812	2821	14505	20861	30696	120172	20691
233'44'5'-HxCB(#156)	0.9213	282	1290	1920	2669	9422	1874
233'44'5'-HxCB(#157)	0.9051	ND	327	468	651	2713	451
233'4'5'6'-HxCB(#164)	0.8603	473	2614	4025	6072	19612	3954
23'44'55'-HxCB(#167)	0.9464	ND	465	688	968	3431	661
33'44'55'-HxCB(#169)	0.8027	ND	16	24	32	86	23
22'33'44'5'-HpCB(#170)	0.9188	615	3010	4492	6331	24488	4435
22'33'455'-HpCB(#172)	0.8984	ND	446	668	998	3878	646
22'33'4'56'-HpCB(#177)	0.9362	ND	987	1433	2081	8373	1412
22'33'55'6'-HpCB(#178)	0.9288	ND	884	1276	1882	7130	1270
22'33'566'-HpCB(#179)	0.5074	ND	36	70	125	659	54
22'344'55'-HpCB(#180)	0.9328	1476	8586	12842	18494	75056	12700
22'344'56'-HpCB(#181)	0.3850	ND	ND	25	47	379	20
22'344'56'-HpCB(#182)	0.9600	741	3770	5712	8480	36848	5753
22'344'5'6'-HpCB(#183)	0.9423	ND	1074	1608	2381	11206	1603
233'44'55'-HpCB(#189)	0.8018	ND	161	230	331	950	222
233'44'5'6'-HpCB(#191)	0.7633	ND	100	161	245	748	122
22'33'44'55'-OeCB(#194)	0.8623	316	1097	1592	2324	7090	1595
22'33'44'56'-OeCB(#195)	0.8504	48	292	422	618	2062	420
22'33'45'66'-OeCB(#200)	0.7090	ND	54	92	146	649	77
22'33'45**'-OeCB(#201/198)	0.8740	269	1215	1871	2684	10610	1815
22'33'55'66'-OeCB(#202)	0.8080	ND	303	483	712	2304	465
22'344'55'6'-OeCB(#203)	0.8468	ND	1062	1581	2352	7503	1562
233'44'55'6'-OeCB(#205)	0.6193	ND	45	72	104	300	53
22'33'44'55'6'-NoCB(#206)	0.7007	ND	365	527	745	2316	513
22'33'44'566'-NoCB(#207)	0.8100	ND	71	110	167	631	102
22'33'455'66'-NoCB(#208)	0.6580	ND	139	217	323	1125	200
22'33'44'55'66'-DeCB(#209)	0.7564	47	327	445	607	3301	442

ND: not detected, NDL-PCBs, non-dioxin-like PCBs

^a Spearman's correlation coefficient with Total PCB concentration

甲状腺ホルモン濃度の分布

87 人の妊婦(22.5%)と 21 人の児(5.1%)の TSH 濃度は検出限界(0.50 $\mu\text{U}/\text{mL}$)以下であった。母の TSH 濃度は検出限界以下から 6.50 $\mu\text{U}/\text{mL}$ に、児の TSH 濃度は検出限界以下から 25.20 $\mu\text{U}/\text{mL}$ にそれぞれ分布した。母の FT4 濃度は 0.51 から 3.78 ng/dL の間に、児の FT4 濃度は 0.85 と 3.26 ng/dL の間に分布した(Table 2.)。

Table 2. Concentrations of thyroid hormones

	n	Minimum	25th	Median	75th	Maximum	Geometric Mean
Maternal TSH ($\mu\text{U}/\text{mL}$)	386	ND	0.50	1.00	1.70	6.50	0.89
Maternal FT4 (ng/dL)	386	0.51	0.86	0.98	1.14	3.78	1.00
Neonatal TSH ($\mu\text{U}/\text{mL}$)	411	ND	1.20	2.20	3.70	25.20	2.03
Neonatal FT4 (ng/dL)	411	0.85	1.77	2.02	2.30	3.26	2.01

ND, not detected; NDL-PCBs, non-dioxin-like PCBs

母児の属性と PCBs 濃度の単変量解析

母の血中 PCBs 濃度と母 ($n = 386$) と児 ($n = 411$)の属性の関連を評価した(Table 3)。単変量解析の結果、母の教育、世帯収入、出産歴、ヨウ素サプリメント摂取、ポビドンヨードによるうがい総 PCBs 濃度と有意に関連していた。

Table 3. Maternal total PCB concentrations in relation to characteristics of mothers and infants (n = 411)

MATERNAL CHARACTERISTICS (obtained at recruitment)	n (Mean $\pm$ SD)	Σ PCB (pg/g lipid)		
		Median or r ^a	25th	75th
Maternal age (years)	410 (31.1 $\pm$ 4.7)	r = 0.4052	**	
BMI at recruitment (kg/m ²)	385 (21.1 $\pm$ 3.1)	r = -0.0073		
Gestational age at maternal blood sampling for THs	381 (10.9 $\pm$ 2.2)	r = -0.0071		
Education (years)	12 < 238 $\leq$ 12 173	111637 * (77775 - 150407) 95035 (67986 - 137611)		
Household income (millions of yens per year)	< 3 69 3 - 5 203 5 - 7 90 7 $\leq$ 48 (unknown) 1	85931 ** (68822 - 117502) 106227 (69102 - 138385) 120300 (74992 - 152472) 122742 (81184 - 178738) 104686		
Parity	primiparous 198 multiparous 213	113377 * (76313 - 151331) 101587 (69102 - 138319)		
Alcohol	never 286 once a month 59 2-3 times a month 35 once a week or more 31	102228 (70639 - 137611) 106074 (70511 - 146554) 107434 (75470 - 171112) 124010 (81299 - 174806)		
Current smoker (Reported and/or cotinine >10 ng/ml)	yes 109 no 277 (Unknown) 25	96972 (68843 - 138580) 109852 (71919 - 150159) 83424 (67301 - 125613)		
Elevated AMC/ATG	yes 36 no 346 (unknown) 29	102583 (72175 - 165854) 104813 (70911 - 146554) 117044 (94377 - 139781)		
Iodine supplement/egg intake	yes 56 no 284 (unknown) 71	113322 (77339 - 172662) 106390 (71094 - 149003) 101130 (70764 - 127666)		
Gargling with povidone-iodine	never 273 a couple of times a year 78 once a month or more 59 (Unknown) 1	99838 * (69102 - 141888) 119918 (80181 - 145956) 113091 (78648 - 163495) 130882		
Seaweed intake (wakame or hijiki)	twice a month or less 70 once or twice a week 206 three times a week or more 135	92381 (69946 - 156564) 108751 (71277 - 147911) 103580 (76701 - 138319)		
Seaweed intake (kombu or kombu product)	twice a month or less 123 once or twice a week 82 three times a week or more 135 (unknown) 71	97005 (69207 - 152472) 111461 (73068 - 141315) 113664 (81069 - 158834) 101130 (70764 - 127666)		
seafood intake (g)	339 (47.1 $\pm$ 38.8)	r = 0.1935	**	
DELIVERY AND NEONATAL CHARACTERISTICS				
Maternal BMI at delivery (kg/m ²)	380 (25.3 $\pm$ 2.9)	-		
Gestational age at delivery (weeks)	411 (39.4 $\pm$ 1.4)	-		
Spontaneous Unassisted Vaginal Delivery	yes 214 no 197	- -		
Infant Gender	boy 196 girl 215	- -		
Birth weight (g)	411 (3068 $\pm$ 381)	-		
Infant age at blood sampling (days)	411 (4.4 $\pm$ 0.9)	-		

SD, standard deviation

^a r, Spearman's correlation coefficient

*: p < 0.05, **: p < 0.01 (statistically significant using Spearman's correlation test, t-test, or analysis of variance)

母児の属性と甲状腺ホルモン濃度の関連

母児の属性と母児の TH 濃度の関連を単変量解析で評価した。母の TSH との統計学的に有意な関連は、AMG/ATG、リクルート時 BMI で見られた。FT4 の低下の間の有意な関連は、低い教育歴、高い母の年齢、高いリクルート時 BMI、高い採血時妊娠週数に見られた。児の TSH との有意な関連は母の教育、出産歴、喫煙状況、ヨウ素サプリメントまたはヨード卵摂取、ポビドンヨードによるうがい、魚の摂取量、出産時の妊娠週数で見られた。出生体重、児の年齢、児の採血時年齢は児の FT4 濃度と有意な関連が見られた (Table 4)。

Table 4. Univariate analyses for characteristics and thyroid hormones

		Mothers				Neonates					
		n	TSH (μU/ml)		FT4 (ng/dl)		n	TSH (μU/ml)		FT4 (ng/dl)	
			Mean	± SD	Mean	± SD		Mean	± SD	Mean	± SD
MATERNAL CHARACTERISTICS (obtained at recruitment)											
Maternal Age at delivery		388	r = 0.0909		r = -0.1172 *		410	r = -0.0290		r = -0.0187	
BMI at recruitment		385	r = 0.1001 *		r = -0.1234 *		410	r = 0.0215		r = 0.0486	
Gestational Age at maternal blood sampling		387	r = 0.0760		r = -0.1835 **		-	-		-	
Education (years)	12 <	221	1.207 ± 1.042		1.064 ± 0.325 *		238	2.551 ± 2.040		2.055 ± 0.379	
	≤ 12	165	1.286 ± 1.011		0.998 ± 0.288		173	3.017 ± 2.675 *		2.038 ± 0.414	
Household income (million yens)	< 3	66	1.203 ± 1.151		1.043 ± 0.396		69	2.530 ± 1.607		2.044 ± 0.329	
	3 - 5	190	1.246 ± 1.011		1.033 ± 0.316		203	3.048 ± 2.845		2.037 ± 0.404	
	5 - 7	84	1.131 ± 0.883		1.080 ± 0.264		90	2.388 ± 1.730		2.107 ± 0.410	
	7 <	45	1.488 ± 1.158		0.954 ± 0.207		48	2.435 ± 1.619		1.988 ± 0.406	
Parity	primiparous	183	1.266 ± 0.983		1.025 ± 0.315		198	2.466 ± 2.177 **		2.048 ± 0.398	
	multiparous	203	1.218 ± 1.069		1.045 ± 0.308		213	3.009 ± 2.453		2.048 ± 0.390	
Alcohol intake	never	268	1.263 ± 1.044		1.047 ± 0.341		286	2.691 ± 2.484		2.041 ± 0.406	
	once a month	56	1.190 ± 1.208		1.038 ± 0.254		59	2.855 ± 2.092		2.054 ± 0.361	
	2 - 3 times a month	34	1.279 ± 0.784		0.990 ± 0.222		35	2.731 ± 1.459		2.027 ± 0.374	
	once a week or more	28	1.084 ± 0.733		0.975 ± 0.182		31	3.081 ± 2.237		2.123 ± 0.369	
Current smoker (Reported and/or cotinine >10 ng/ml)	yes	109	1.221 ± 1.033		1.023 ± 0.250		120	3.202 ± 2.972 *		2.040 ± 0.416	
	no	277	1.249 ± 1.028		1.040 ± 0.333		291	2.560 ± 1.994		2.051 ± 0.384	
Elevated AMC/ATG	yes	36	1.629 ± 1.213 *		0.963 ± 0.208		36	2.847 ± 2.300		2.139 ± 0.370	
	no	350	1.201 ± 1.001		1.043 ± 0.319		346	2.709 ± 2.348		2.034 ± 0.391	
Iodine supplement/egg intake	yes	49	1.391 ± 1.166		1.031 ± 0.218		56	2.044 ± 1.565 *		1.979 ± 0.403	
	no	267	1.298 ± 1.038		1.011 ± 0.331		284	2.709 ± 2.347		2.053 ± 0.387	
gargling with povidone-iodine	never	257	1.289 ± 1.070		1.026 ± 0.341		273	2.774 ± 2.066 *		2.035 ± 0.371	
	a few times a year	72	1.052 ± 0.882		1.075 ± 0.267		78	2.437 ± 1.805		2.082 ± 0.403	
	once a month or more	56	1.265 ± 1.003		1.028 ± 0.206		59	2.987 ± 3.733		2.074 ± 0.468	
Seaweed intake (wakame or hijiki)	twice a month or less	66	1.198 ± 0.843		0.995 ± 0.250		70	2.844 ± 2.346		2.002 ± 0.397	
	once or twice a week	196	1.191 ± 1.058		1.058 ± 0.341		206	2.599 ± 1.841		2.052 ± 0.406	
	three times a week or more	124	1.343 ± 1.070		1.022 ± 0.288		135	2.924 ± 2.936		2.065 ± 0.373	
Seaweed intake (kombu or kombu product)	Twice a month or less	112	1.425 ± 1.118		1.011 ± 0.400		123	2.644 ± 2.057		2.060 ± 0.387	
	once or twice a week	74	1.108 ± 0.981		1.074 ± 0.322		82	2.712 ± 2.033		2.029 ± 0.455	
	three times a week or more	130	1.332 ± 1.037		0.983 ± 0.209		135	2.491 ± 2.534		2.031 ± 0.351	
seafood intake		341	r = 0.0076		r = -0.0136		365	r = -0.1089 *		r = 0.0555	
DELIVERY AND NEONATAL CHARACTERISTICS											
BMI at delivery			-				380	r = 0.0169		r = 0.0254	
Gestational week at delivery			-				411	r = 0.1302 **		r = 0.0641	
Spontaneous Unassisted Vaginal Delivery	yes		-				214	2.839 ± 2.500		2.065 ± 0.404	
	no		-				196	2.639 ± 2.151		2.026 ± 0.380	
Infant Gender	male		-				196	2.788 ± 2.800		2.042 ± 0.376	
	female		-				215	2.710 ± 1.821		2.053 ± 0.410	
Birth weight			-				411	r = -0.0362		r = 0.1888 **	
Infant age at blood sampling (days)			-				411	r = 0.0329		r = -0.1271 **	

AMC, anti-microsomal antibodies; ATG, anti-thyroglobulin antibodies; BMI, body mass index; PCDDs, polychlorinated dibenzo-p-dioxins; PCDFs, polychlorinated dibenzofurans;

PFOA, perfluorooctanoate; PFOS, perfluorooctane sulfonate; SD: Standard Deviation

r: Spearman's rank coefficient

*: p < 0.05, **: p < 0.01 (statistically significant using Spearman's correlation test, t test, or analysis of variance)

環境化学物質濃度と PCBs の濃度ならびに甲状腺ホルモン濃度の関連

単変量解析により環境化学物質と総 PCBs 濃度ならびに TH との関連を評価した (Table 5.)。総 PCDD/PCDF TEQ、水銀、および PFOS は総 PCBs と有意な正の関連を示した。PFOS は TSH と負の、FT4 と正の関連を示した。それ以外の化学物質は TH と有意な関連を持たなかった。

Table 5. Other environmental chemical exposures in relation to total PCB concentrations and thyroid hormones

	n	median	(25th - 75th)	r ^a	Mother			Neonate		
					n	TSH	FT4	n	TSH	FT4
Σ PCDD/PCDF TEQ (pg/g lipid)	411	9.21	(6.92 - 12.12)	0.7157 **	388	-0.0193	0.0521	411	-0.0128	0.0412
Mercury (μg/g)	366	1.39	(0.96 - 1.87)	0.3826 **	342	-0.0162	-0.0248	366	0.0571	0.0288
PFOS (ng/ml)	364	5.2	(3.4 - 7.0)	0.1030 *	344	-0.2035 **	0.1053 *	364	0.0216	-0.0239
PFOA (ng/ml)	339	1.3	(0.9 - 1.8)	0.0923	319	0.0609	-0.0453	339	-0.0681	-0.0216

^a Spearman's correlation coefficient with Total PCB concentration

*: p < 0.05, **: p < 0.01 (statistically significant using analysis of variance)

遺伝子多型の頻度、PCBs、甲状腺ホルモンとの関連

AhR または CYP1 の多型と総 PCBs または TH の関連を単変量解析で評価した。AhR-Lys554Arg 多型は総 PCB および母の FT4 と有意に関連していた。3 つの CYP1 多型(CYP1A1-Ile462Val, CYP1A1-Msp1 and CYP1B1-Leu432Val)はいずれも TH と有意な関連を持たなかった(Table 6)。407 人の妊婦における AhR-Lys554Arg 多型の頻度分布は Hardy-Weinberg equilibrium (chi-squared test, $p = 0.414$)を満たしていた。

Table 6. Aryl hydrocarbon Receptor genotype and other chemical exposures in relation to total PCB concentrations and thyroid hormones

	Σ PCBs (pg/g lipid) (n = 411)				Mother (n = 386)						Neonate (n = 411)					
	n	median	(25th - 75th)		TSH			FT4			TSH			FT4		
					n	median	(25th - 75th)	median	(25th - 75th)		n	median	(25th - 75th)	median	(25th - 75th)	
AhR-Arg554Lys																
Arg-Arg (wild)	135	94051 *	(69207 - 128086)		129	0.90	(0.50 - 1.60)	0.98 *	(0.88 - 1.15)		135	2.30	(1.40 - 3.90)	1.98	(1.75 - 2.29)	
Arg-Lys (mutant-hetero)	191	113663	(72032 - 158347.1)		178	1.03	(0.50 - 1.80)	1.00	(0.83 - 1.13)		191	2.10	(1.10 - 3.60)	2.04	(1.80 - 2.25)	
Lys-Lys (mutant-homo)	81	115393	(76120 - 147300.9)		75	1.40	(0.88 - 2.03)	0.94	(0.86 - 1.12)		81	2.20	(1.30 - 3.40)	1.99	(1.80 - 2.35)	
(Unkown)	4				4						4					
CYP1A1-Ile462Val																
(wild)	245	102103	(71644.2 - 144273.5)		228	0.90	(0.50 - 1.50)	0.98	(0.88 - 1.15)		245	2.10	(1.20 - 3.70)	2.04	(1.79 - 2.30)	
(mutant-hetero)	145	113091	(76120 - 149002.7)		136	1.03	(0.50 - 1.70)	1.00	(0.84 - 1.14)		145	2.20	(1.20 - 3.80)	2.02	(1.76 - 2.31)	
(mutant-homo)	17	73682.9	(48073 - 157740)		18	1.30	(0.75 - 2.03)	1.01	(0.91 - 1.15)		17	2.30	(1.85 - 3.15)	1.88	(1.77 - 2.05)	
(Unkown)	4				4						4					
CYP1A1-Msp1																
(wild)	171	107434	(77775 - 150634.9)		156	1.00	(0.50 - 1.71)	0.97	(0.87 - 1.13)		171	2.00	(1.10 - 3.40)	2.04	(1.76 - 2.29)	
(mutant-hetero)	194	103598	(69180.7 - 149972.9)		185	0.90	(0.50 - 1.60)	1.00	(0.85 - 1.16)		194	2.20	(1.30 - 4.00)	2.02	(1.79 - 2.32)	
(mutant-homo)	42	106419	(64623.3 - 142539.2)		41	1.05	(0.25 - 1.73)	1.01	(0.88 - 1.13)		42	2.15	(1.40 - 3.00)	1.95	(1.78 - 2.18)	
(Unkown)	4				4						4					
CYP1B1-Leu432Val																
(wild)	307	109941	(72950.1 - 150160.4)		288	1.00	(0.50 - 1.70)	0.99	(0.86 - 1.11)		307	2.10	(1.20 - 3.70)	1.98	(1.77 - 2.30)	
(mutant-hetero)	91	97005	(70639 - 130864.1)		85	0.90	(0.25 - 1.8)	0.98	(0.885 - 1.195)		91	2.40	(1.40 - 3.90)	2.08	(1.79 - 2.28)	
(mutant-homo)	9	111341	(54926.7 - 170649.6)		9	1.1	(0.25 - 1.30)	0.94	(0.82 - 1.08)		9	2.60	(0.70 - 4.45)	1.94	(1.69 - 2.32)	
(Unkown)	4				4						4					

AhR, aryl hydrocarbon receptor

*: p < 0.05, **: p < 0.01 (statistically significant using Kruskal-Wallis test)

PCBs と甲状腺ホルモンの関連

母体血中の PCBs 濃度と TH 濃度の関連を重回帰分析を用いて解析した (Tables 7, 8, 9, 10, and 11)。サンプル全体の解析では、4 つの PCB グループといずれの TH もすべてのモデルにおいて有意な関連は見られなかった

(Table 7)。分娩方法(SUVD or not SUVD) (Table 8)、および児の性別(Table 9)による層別化解析でも有意な関連は見られなかった。

Table 7. Multiple linear regression analyses of maternal serum PCB levels and maternal and neonatal thyroid hormone levels

	TSH		FT4	
	β	(95 % CI)	β	(95 % CI)
MOTHER				
Model 1 (n = 342)				
Σ PCBs	0.092	(-0.108 , 0.291)	-0.001	(-0.158 , 0.156)
Σ NDL-PCBs	0.089	(-0.111 , 0.289)	-0.003	(-0.161 , 0.154)
Σ Coplanar PCBs	0.108	(-0.076 , 0.292)	0.009	(-0.136 , 0.155)
Σ Coplanar PCB-TEQ	0.057	(-0.110 , 0.224)	0.010	(-0.122 , 0.141)
Model 2 (n = 340)				
Σ PCBs	0.107	(-0.089 , 0.303)	-0.015	(-0.168 , 0.139)
Σ NDL-PCBs	0.106	(-0.091 , 0.303)	-0.020	(-0.173 , 0.134)
Σ Coplanar PCBs	0.109	(-0.074 , 0.291)	0.016	(-0.126 , 0.159)
Σ Coplanar PCB-TEQ	0.059	(-0.107 , 0.225)	0.018	(-0.112 , 0.147)
NEONATES				
Model 3 (n = 364)				
Σ PCBs	0.042	(-0.128 , 0.212)	0.044	(-0.140 , 0.229)
Σ NDL-PCBs	0.045	(-0.125 , 0.214)	0.039	(-0.144 , 0.223)
Σ Coplanar PCBs	0.020	(-0.147 , 0.186)	0.087	(-0.092 , 0.267)
Σ Coplanar PCB-TEQ	-0.006	(-0.156 , 0.145)	0.064	(-0.099 , 0.227)
Model 4 (n = 322)				
Σ PCBs	0.079	(-0.097 , 0.255)	0.059	(-0.135 , 0.253)
Σ NDL-PCBs	0.082	(-0.093 , 0.257)	0.054	(-0.140 , 0.247)
Σ Coplanar PCBs	0.052	(-0.121 , 0.225)	0.105	(-0.085 , 0.296)
Σ Coplanar PCB-TEQ	0.023	(-0.132 , 0.177)	0.089	(-0.081 , 0.259)

β , regression coefficient; CI, confidence interval

Model 1: adjusted for maternal age, education, and PFOS

Model 2: adjusted for maternal age, education, PFOS, BMI at recruitment, elevated AMC/ATG, and gestational age at maternal blood sampling

Model 3: adjusted for education, parity, fish consumption, and gargling with povidone-iodine

Model 4: adjusted for education, parity, fish consumption, gargling with povidone-iodine, iodine supplement intake, smoking status, birth weight, gestational age at delivery, and infant age at blood sampling

Table 8. Multiple linear regression analysis of PCBs and maternal thyroid hormones stratified by delivery mode

	Spontaneous Unassisted Vaginal Delivery (SUVD)				Not SUVD			
	TSH		FT4		TSH		FT4	
	β	(95 % CI)	β	(95 % CI)	β	(95 % CI)	β	(95 % CI)
Model 3	(n = 195)				(n = 169)			
Σ PCBs	0.163	(-0.081 , 0.407)	0.075	(-0.199 , 0.348)	-0.066	(-0.308 , 0.175)	0.004	(-0.238 , 0.246)
Σ NDL-PCBs	0.167	(-0.077 , 0.410)	0.062	(-0.211 , 0.334)	-0.064	(-0.305 , 0.176)	0.007	(-0.233 , 0.247)
Σ Coplanar PCBs	0.113	(-0.121 , 0.348)	0.172	(-0.088 , 0.433)	-0.072	(-0.314 , 0.169)	-0.020	(-0.261 , 0.222)
Σ Coplanar PCB-TEQ	0.072	(-0.137 , 0.281)	0.152	(-0.081 , 0.384)	-0.090	(-0.313 , 0.134)	-0.047	(-0.271 , 0.177)
Model 4	(n = 156)				(n = 145)			
Σ PCBs	0.132	(-0.113 , 0.377)	0.087	(-0.209 , 0.383)	-0.001	(-0.271 , 0.269)	-0.019	(-0.291 , 0.252)
Σ NDL-PCBs	0.135	(-0.109 , 0.379)	0.077	(-0.218 , 0.372)	0.005	(-0.264 , 0.273)	-0.018	(-0.288 , 0.251)
Σ Coplanar PCBs	0.093	(-0.146 , 0.331)	0.163	(-0.124 , 0.450)	-0.044	(-0.319 , 0.230)	-0.022	(-0.298 , 0.255)
Σ Coplanar PCB-TEQ	0.071	(-0.135 , 0.278)	0.106	(-0.143 , 0.355)	-0.105	(-0.356 , 0.147)	-0.031	(-0.284 , 0.222)

β , regression coefficient; CI, confidence interval

Model 1: adjusted for maternal age, education, and PFOS

Model 2: adjusted for maternal age, education, PFOS, BMI at recruitment, elevated AMC/ATG, and gestational age at maternal blood sampling

Model 3: adjusted for education, parity, fish consumption, and gargling with povidone-iodine

Model 4: adjusted for education, parity, fish consumption, gargling with povidone-iodine, iodine supplement intake, smoking status, birth weight, gestational age at delivery, and infant age at blood sampling

Table 9. Multiple linear regression analysis of PCBs and maternal thyroid hormones stratified by infant gender

	Male				Female			
	TSH		FT4		TSH		FT4	
	β	(95 % CI)	β	(95 % CI)	β	(95 % CI)	β	(95 % CI)
Model 3	(n = 173)				(n = 191)			
Σ PCBs	0.105	(-0.173 , 0.383)	0.037	(-0.245 , 0.319)	0.021	(-0.193 , 0.234)	0.070	(-0.179 , 0.318)
Σ NDL-PCBs	0.112	(-0.166 , 0.389)	0.033	(-0.248 , 0.314)	0.020	(-0.192 , 0.233)	0.064	(-0.184 , 0.311)
Σ Coplanar PCBs	0.046	(-0.224 , 0.316)	0.056	(-0.217 , 0.329)	0.020	(-0.191 , 0.231)	0.124	(-0.121 , 0.370)
Σ Coplanar PCB-TEQ	0.026	(-0.213 , 0.264)	0.079	(-0.162 , 0.319)	-0.015	(-0.210 , 0.180)	0.060	(-0.168 , 0.287)
Model 4	(n = 140)				(n = 161)			
Σ PCBs	0.119	(-0.169 , 0.407)	0.139	(-0.176 , 0.454)	0.023	(-0.201 , 0.247)	0.027	(-0.239 , 0.294)
Σ NDL-PCBs	0.123	(-0.163 , 0.410)	0.135	(-0.179 , 0.449)	0.026	(-0.197 , 0.248)	0.021	(-0.245 , 0.286)
Σ Coplanar PCBs	0.078	(-0.204 , 0.360)	0.155	(-0.152 , 0.463)	-0.006	(-0.229 , 0.218)	0.092	(-0.174 , 0.358)
Σ Coplanar PCB-TEQ	0.021	(-0.219 , 0.261)	0.105	(-0.157 , 0.368)	-0.043	(-0.248 , 0.162)	0.044	(-0.200 , 0.289)

β , regression coefficient; CI, confidence interval

Model 1: adjusted for maternal age, education, and PFOS

Model 2: adjusted for maternal age, education, PFOS, BMI at recruitment, elevated AMC/ATG, and gestational age at maternal blood sampling

Model 3: adjusted for education, parity, fish consumption, and gargling with povidone-iodine

Model 4: adjusted for education, parity, fish consumption, gargling with povidone-iodine, iodine supplement intake, smoking status, birth weight, gestational age at delivery, and infant age at blood sampling

遺伝子多型による層別化解析

AhR の多型による層別化解析では (Table 10)、Wild-type の母の FT4 と coplanar PCB-TEQ は Model 1 では正の有意な関連を示したが、Model 2 では関連が見られなかった。Heterozygous variant の母では、model 1 で、母の FT4 は total PCB、NDL-PCB 濃度および coplanar PCB-TEQ が上昇する時に有意に低下した。model 2 では、total PCB and NDL-PCB 濃度については同様の関連が見られたが、coplanar PCB-TEQ は有意な関連が見られなかった。各 PCBs グルーピングと児の TH の有意な関連は、どの AhR 多型でも認められなかった。

CYP1 の多型 (CYP1A1-Ile462Val, CYP1A1-Msp1, and CYP1B1-Leu432Val) による層別化解析では (Table 11, 12 and 13)、coplanar PCB 濃度の増加と児の FT4

の増加が CYP1A1-Msp1 の wild-type で有意に関連していた(beta = 0.321, 95 % CI = 0.002, 0.640) (Table 12). しかし、この有意な関連は studentized residual > 2 である外れ値を除外すると消失した。他のグルーピング (total PCBs, NDL-PCBs, and coplanar PCB-TEQs) はいずれの TH とも関連がなかった。

Table 10. Mutiple linear regression analysis of PCBs and maternal thyroid hormones stratified by AhR-Lys554Arg genotype

	Wild				heterozygous variant				homozygous variant			
	TSH		FT4		TSH		FT4		TSH		FT4	
	β	(95 % CI)	β	(95 % CI)	β	(95 % CI)	β	(95 % CI)	β	(95 % CI)	β	(95 % CI)
MOTHER												
Model 1	(n = 112)		(n = 112)		(n = 159)		(n = 159)		(n = 69)		(n = 69)	
Σ PCBs	-0.056	(-0.440 , 0.328)	0.156	(-0.056 , 0.368)	0.262	(-0.017 , 0.541)	-0.237 *	(-0.447 , -0.028)	0.031	(-0.421 , 0.483)	0.166	(-0.368 , 0.700)
Σ NDL-PCBs	-0.072	(-0.456 , 0.312)	0.153	(-0.060 , 0.365)	0.265	(-0.015 , 0.544)	-0.242 *	(-0.452 , -0.032)	0.038	(-0.414 , 0.491)	0.168	(-0.366 , 0.702)
Σ Coplanar PCBs	0.057	(-0.293 , 0.408)	0.150	(-0.044 , 0.344)	0.225	(-0.034 , 0.484)	-0.182	(-0.378 , 0.013)	-0.010	(-0.427 , 0.408)	0.112	(-0.382 , 0.606)
Σ Coplanar PCB-TEQ	0.000	(-0.304 , 0.304)	0.181 *	(0.015 , 0.347)	0.135	(-0.106 , 0.376)	-0.189 *	(-0.369 , -0.009)	0.077	(-0.305 , 0.460)	0.066	(-0.387 , 0.519)
Model 2	(n = 111)		(n = 111)		(n = 159)		(n = 159)		(n = 68)		(n = 68)	
Σ PCBs	0.013	(-0.378 , 0.404)	0.128	(-0.085 , 0.341)	0.259	(-0.022 , 0.540)	-0.239 *	(-0.445 , -0.032)	-0.115	(-0.542 , 0.311)	0.325	(-0.198 , 0.847)
Σ NDL-PCBs	0.001	(-0.390 , 0.393)	0.124	(-0.090 , 0.338)	0.262	(-0.019 , 0.544)	-0.245 *	(-0.452 , -0.039)	-0.111	(-0.537 , 0.316)	0.322	(-0.201 , 0.845)
Σ Coplanar PCBs	0.088	(-0.267 , 0.444)	0.133	(-0.061 , 0.326)	0.215	(-0.047 , 0.478)	-0.172	(-0.365 , 0.022)	-0.127	(-0.524 , 0.271)	0.291	(-0.197 , 0.780)
Σ Coplanar PCB-TEQ	0.035	(-0.275 , 0.345)	0.158	(-0.010 , 0.326)	0.119	(-0.128 , 0.366)	-0.165	(-0.346 , 0.016)	0.002	(-0.367 , 0.370)	0.234	(-0.219 , 0.686)
NEONATES												
Model 3	(n = 120)		(n = 120)		(n = 168)		(n = 168)		(n = 74)		(n = 74)	
Σ PCBs	-0.050	(-0.361 , 0.261)	-0.107	(-0.431 , 0.217)	0.118	(-0.134 , 0.369)	0.143	(-0.121 , 0.406)	0.009	(-0.388 , 0.406)	0.034	(-0.440 , 0.508)
Σ NDL-PCBs	-0.055	(-0.365 , 0.255)	-0.112	(-0.435 , 0.211)	0.124	(-0.126 , 0.374)	0.136	(-0.126 , 0.398)	0.013	(-0.383 , 0.409)	0.032	(-0.441 , 0.505)
Σ Coplanar PCBs	-0.005	(-0.303 , 0.293)	-0.040	(-0.350 , 0.271)	0.060	(-0.190 , 0.311)	0.185	(-0.077 , 0.446)	-0.034	(-0.419 , 0.352)	0.044	(-0.416 , 0.505)
Σ Coplanar PCB-TEQ	-0.012	(-0.275 , 0.251)	0.030	(-0.244 , 0.305)	0.029	(-0.204 , 0.261)	0.147	(-0.096 , 0.390)	-0.004	(-0.360 , 0.352)	-0.078	(-0.502 , 0.347)
Model 4	(n = 101)		(n = 101)		(n = 148)		(n = 148)		(n = 71)		(n = 71)	
Σ PCBs	0.023	(-0.279 , 0.324)	-0.029	(-0.354 , 0.295)	0.133	(-0.140 , 0.406)	0.129	(-0.172 , 0.430)	0.101	(-0.302 , 0.504)	-0.047	(-0.521 , 0.427)
Σ NDL-PCBs	0.017	(-0.284 , 0.318)	-0.036	(-0.359 , 0.288)	0.140	(-0.130 , 0.411)	0.119	(-0.179 , 0.417)	0.104	(-0.299 , 0.506)	-0.047	(-0.521 , 0.426)
Σ Coplanar PCBs	0.062	(-0.223 , 0.347)	0.037	(-0.270 , 0.344)	0.058	(-0.223 , 0.340)	0.204	(-0.104 , 0.512)	0.060	(-0.331 , 0.451)	-0.035	(-0.494 , 0.425)
Σ Coplanar PCB-TEQ	0.022	(-0.228 , 0.272)	0.082	(-0.187 , 0.351)	0.028	(-0.226 , 0.282)	0.177	(-0.101 , 0.455)	0.078	(-0.285 , 0.442)	-0.082	(-0.508 , 0.345)

β, regression coefficient; CI, confidence interval, * p < 0.05

Model 1: adjusted for maternal age, education, and PFOS

Model 2: adjusted for maternal age, education, PFOS, BMI at recruitment, elevated AMC/ATG, and gestational age at maternal blood sampling

Model 3: adjusted for education, parity, fish consumption, and gargling with povidone-iodine

Model 4: adjusted for education, parity, fish consumption, gargling with povidone-iodine, iodine supplement intake, smoking status, birth weight, gestational age at delivery, and infant age at blood sampling

Table 11. Mutiple linear regression analysis of PCBs and maternal thyroid hormones stratified by CYP1A1-Ile462Val

	Wild				heterozygous variant				homozygous variant			
	TSH		FT4		TSH		FT4		TSH		FT4	
	β	(95 % CI)	β	(95 % CI)	β	(95 % CI)	β	(95 % CI)	β	(95 % CI)	β	(95 % CI)
MOTHER												
Model 1	(n = 199)				(n = 123)				(n = 18)			
Σ PCBs	0.067	(-0.194 , 0.329)	0.048	(-0.172 , 0.268)	0.210	(-0.127 , 0.548)	-0.182	(-0.428 , 0.064)	0.069	(-1.078 , 1.216)	0.491	(-0.112 , 1.094)
Σ NDL-PCBs	0.063	(-0.199 , 0.325)	0.044	(-0.177 , 0.264)	0.210	(-0.127 , 0.548)	-0.181	(-0.427 , 0.064)	0.075	(-1.081 , 1.231)	0.489	(-0.121 , 1.098)
Σ Coplanar PCBs	0.096	(-0.145 , 0.337)	0.064	(-0.139 , 0.267)	0.193	(-0.124 , 0.510)	-0.173	(-0.403 , 0.058)	0.026	(-1.006 , 1.058)	0.459	(-0.078 , 0.996)
Σ Coplanar PCB-TEQ	0.074	(-0.139 , 0.287)	0.030	(-0.149 , 0.209)	0.100	(-0.197 , 0.397)	-0.120	(-0.336 , 0.096)	0.060	(-0.850 , 0.970)	0.329	(-0.166 , 0.824)
Model 2	(n = 199)				(n = 121)				(n = 18)			
Σ PCBs	0.086	(-0.172 , 0.344)	0.034	(-0.184 , 0.251)	0.201	(-0.136 , 0.538)	-0.162	(-0.400 , 0.077)	-0.207	(-1.666 , 1.251)	0.331	(-0.344 , 1.007)
Σ NDL-PCBs	0.086	(-0.172 , 0.345)	0.027	(-0.191 , 0.245)	0.202	(-0.135 , 0.538)	-0.165	(-0.403 , 0.073)	-0.189	(-1.650 , 1.272)	0.323	(-0.355 , 1.002)
Σ Coplanar PCBs	0.079	(-0.160 , 0.318)	0.076	(-0.125 , 0.278)	0.181	(-0.139 , 0.501)	-0.126	(-0.353 , 0.101)	-0.309	(-1.654 , 1.036)	0.349	(-0.268 , 0.967)
Σ Coplanar PCB-TEQ	0.058	(-0.154 , 0.271)	0.040	(-0.140 , 0.219)	0.082	(-0.220 , 0.384)	-0.062	(-0.276 , 0.152)	-0.020	(-1.064 , 1.024)	0.197	(-0.293 , 0.687)
NEONATES												
Model 3	(n = 220)				(n = 125)				(n = 17)			
Σ PCBs	0.119	(-0.121 , 0.358)	0.018	(-0.231 , 0.268)	-0.044	(-0.323 , 0.235)	0.085	(-0.230 , 0.399)	-0.141	(-0.636 , 0.355)	-0.062	(-1.074 , 0.950)
Σ NDL-PCBs	0.119	(-0.119 , 0.357)	0.018	(-0.231 , 0.266)	-0.038	(-0.316 , 0.240)	0.072	(-0.241 , 0.386)	-0.142	(-0.639 , 0.355)	-0.055	(-1.070 , 0.960)
Σ Coplanar PCBs	0.106	(-0.129 , 0.340)	0.028	(-0.215 , 0.272)	-0.091	(-0.363 , 0.182)	0.180	(-0.127 , 0.486)	-0.130	(-0.611 , 0.350)	-0.108	(-1.086 , 0.870)
Σ Coplanar PCB-TEQ	0.058	(-0.150 , 0.267)	-0.006	(-0.223 , 0.211)	-0.084	(-0.334 , 0.166)	0.155	(-0.126 , 0.436)	-0.249	(-0.762 , 0.263)	-0.094	(-1.178 , 0.990)
Model 4	(n = 177)				(n = 107)				(n = 15)			
Σ PCBs	0.156	(-0.089 , 0.402)	0.031	(-0.235 , 0.297)	-0.032	(-0.332 , 0.269)	0.105	(-0.244 , 0.455)	-0.720	(-1.072 , -0.369)	-0.380	(-0.939 , 0.179)
Σ NDL-PCBs	0.159	(-0.086 , 0.403)	0.031	(-0.233 , 0.296)	-0.028	(-0.326 , 0.271)	0.090	(-0.257 , 0.437)	-0.722	(-1.095 , -0.350)	-0.379	(-0.950 , 0.191)
Σ Coplanar PCBs	0.128	(-0.112 , 0.368)	0.031	(-0.229 , 0.291)	-0.070	(-0.373 , 0.232)	0.231	(-0.119 , 0.581)	-0.678	(-0.933 , -0.422)	-0.369	(-0.849 , 0.111)
Σ Coplanar PCB-TEQ	0.067	(-0.146 , 0.280)	-0.022	(-0.251 , 0.208)	-0.057	(-0.330 , 0.215)	0.205	(-0.111 , 0.520)	-0.641	(-0.937 , -0.345)	-0.367	(-0.785 , 0.051)

β , regression coefficient; CI, confidence interval

Model 1: adjusted for maternal age, education, and PFOS

Model 2: adjusted for maternal age, education, PFOS, BMI at recruitment, elevated AMC/ATG, and gestational age at maternal blood sampling

Model 3: adjusted for education, parity, fish consumption, and gargling with povidone-iodine

Model 4: adjusted for education, parity, fish consumption, gargling with povidone-iodine, iodine supplement intake, smoking status, birth weight, gestational age at delivery, and infant age at blood sampling

Table 12. Mutiple linear regression analysis of PCBs and maternal thyroid hormones stratified by CYP1A1-MspI

	Wild		heterozygous variant		homozygous variant	
	TSH		FT4		TSH	
	β	(95 % CI)	β	(95 % CI)	β	(95 % CI)
MOTHER						
Model 1	(n = 137)		(n = 168)		(n = 35)	
Σ PCBs	0.187 (-0.183 , 0.556)		0.039 (-0.214 , 0.292)		0.240 (-0.559 , 1.038)	
Σ NDL-PCBs	0.188 (-0.182 , 0.558)		0.036 (-0.217 , 0.289)		0.227 (-0.582 , 1.037)	
Σ Coplanar PCBs	0.160 (-0.172 , 0.493)		0.058 (-0.182 , 0.299)		0.306 (-0.375 , 0.988)	
Σ Coplanar PCB-TEQ	0.085 (-0.165 , 0.334)		-0.010 (-0.237 , 0.218)		0.399 (-0.257 , 1.055)	
Model 2	(n = 137)		(n = 166)		(n = 35)	
Σ PCBs	0.244 (-0.118 , 0.605)		0.053 (-0.200 , 0.305)		0.352 (-0.513 , 1.217)	
Σ NDL-PCBs	0.250 (-0.113 , 0.612)		0.050 (-0.202 , 0.303)		0.335 (-0.541 , 1.212)	
Σ Coplanar PCBs	0.182 (-0.145 , 0.509)		0.065 (-0.177 , 0.306)		0.431 (-0.306 , 1.168)	
Σ Coplanar PCB-TEQ	0.115 (-0.161 , 0.391)		-0.003 (-0.233 , 0.227)		0.517 (-0.198 , 1.233)	
NEONATES						
Model 3	(n = 155)		(n = 170)		(n = 37)	
Σ PCBs	0.197 (-0.098 , 0.492)		-0.040 (-0.274 , 0.194)		-0.196 (-0.703 , 0.310)	
Σ NDL-PCBs	0.200 (-0.094 , 0.493)		-0.038 (-0.272 , 0.195)		-0.192 (-0.697 , 0.314)	
Σ Coplanar PCBs	0.154 (-0.136 , 0.443)		-0.053 (-0.283 , 0.176)		-0.211 (-0.706 , 0.284)	
Σ Coplanar PCB-TEQ	0.037 (-0.220 , 0.293)		-0.051 (-0.263 , 0.162)		-0.076 (-0.567 , 0.415)	
Model 4	(n = 132)		(n = 135)		(n = 32)	
Σ PCBs	0.300 (-0.002 , 0.602)		-0.077 (-0.306 , 0.151)		-0.133 (-0.778 , 0.512)	
Σ NDL-PCBs	0.304 (0.004 , 0.604)		-0.077 (-0.304 , 0.150)		-0.132 (-0.778 , 0.514)	
Σ Coplanar PCBs	0.231 (-0.067 , 0.529)		-0.080 (-0.308 , 0.148)		-0.132 (-0.750 , 0.486)	
Σ Coplanar PCB-TEQ	0.083 (-0.178 , 0.343)		-0.086 (-0.295 , 0.124)		0.017 (-0.617 , 0.651)	

β, regression coefficient; CI, confidence interval, * p < 0.05

Model 1: adjusted for maternal age, education, and PFOS

Model 2: adjusted for maternal age, education, PFOS, BMI at recruitment, elevated AMC/ATG, and gestational age at maternal blood sampling

Model 3: adjusted for education, parity, fish consumption, and gargling with povidone-iodine

Model 4: adjusted for education, parity, fish consumption, gargling with povidone-iodine, iodine supplement intake, smoking status, birth weight, gestational age at delivery, and infant age at blood sampling

Table 13. Mutiple linear regression analysis of PCBs and maternal thyroid hormones stratified by CYP1B1-Leu432Val

	Wild		heterozygous variant		homozygous variant	
	TSH		FT4		TSH	
	β	(95 % CI)	β	(95 % CI)	β	(95 % CI)
MOTHER						
Model 1	(n = 255)		(n = 78)		(n = 7)	
Σ PCBs	0.131 (-0.101 , 0.362)		-0.047 (-0.204 , 0.110)		0.036 (-0.420 , 0.493)	
Σ NDL-PCBs	0.123 (-0.109 , 0.355)		-0.047 (-0.204 , 0.110)		0.112 (-0.345 , 0.568)	
Σ Coplanar PCBs	0.177 (-0.037 , 0.392)		-0.051 (-0.197 , 0.095)		0.099 (-0.359 , 0.556)	
Σ Coplanar PCB-TEQ	0.109 (-0.085 , 0.304)		-0.046 (-0.178 , 0.085)		0.367 (-1.707 , 2.440)	
Model 2	(n = 254)		(n = 77)		(n = 7)	
Σ PCBs	0.129 (-0.099 , 0.357)		-0.038 (-0.188 , 0.111)		0.043 (-0.424 , 0.511)	
Σ NDL-PCBs	0.123 (-0.105 , 0.351)		-0.041 (-0.190 , 0.109)		0.130 (-0.340 , 0.600)	
Σ Coplanar PCBs	0.166 (-0.046 , 0.378)		-0.025 (-0.164 , 0.115)		0.112 (-0.359 , 0.583)	
Σ Coplanar PCB-TEQ	0.101 (-0.092 , 0.294)		-0.021 (-0.148 , 0.106)		0.240 (-0.194 , 0.675)	
NEONATES						
Model 3	(n = 277)		(n = 76)		(n = 9)	
Σ PCBs	0.115 (-0.075 , 0.305)		0.070 (-0.136 , 0.277)		-0.150 (-0.582 , 0.282)	
Σ NDL-PCBs	0.117 (-0.073 , 0.307)		0.066 (-0.140 , 0.272)		-0.001 (-0.468 , 0.466)	
Σ Coplanar PCBs	0.095 (-0.091 , 0.281)		0.103 (-0.098 , 0.305)		-0.719 (-6.638 , 5.200)	
Σ Coplanar PCB-TEQ	0.081 (-0.088 , 0.250)		0.040 (-0.143 , 0.224)		-0.143 (-5.555 , 3.269)	
Model 4	(n = 239)		(n = 55)		(n = 6)	
Σ PCBs	0.093 (-0.095 , 0.282)		0.109 (-0.108 , 0.327)		0.084 (-0.436 , 0.605)	
Σ NDL-PCBs	0.096 (-0.092 , 0.283)		0.105 (-0.112 , 0.322)		0.052 (-0.534 , 0.638)	
Σ Coplanar PCBs	0.070 (-0.117 , 0.257)		0.141 (-0.074 , 0.357)		0.090 (-0.431 , 0.610)	
Σ Coplanar PCB-TEQ	0.058 (-0.111 , 0.227)		0.055 (-0.141 , 0.250)		0.055 (-0.530 , 0.641)	

β, regression coefficient; CI, confidence interval

Model 1: adjusted for maternal age, education, and PFOS

Model 2: adjusted for maternal age, education, PFOS, BMI at recruitment, elevated AMC/ATG, and gestational age at maternal blood sampling

Model 3: adjusted for education, parity, fish consumption, and gargling with povidone-iodine

Model 4: adjusted for education, parity, fish consumption, gargling with povidone-iodine, iodine supplement intake, smoking status, birth weight, gestational age at delivery, and infant age at blood sampling

考察

本研究では総 PCBs と NDL-PCBs 濃度の上昇が AhR の heterozygous variant 群で母の FT4 濃度低下と有意に関連していた。これは、PCBs が TH に与える影響において遺伝環境交互作用の存在を示した初めての報告である。また、本研究は 24 種以上の PCB congener を測定し、成人の TSH と FT4 への影響を調べた研究で最も多い解析対象者数を持つ。本研究は PCBs と児の甲状腺の関連を調べた研究で数少ない congener ごとに PCBs の測定を行ったものの一つである。他に本研究の長所として、前向きコホート研究であること、母の年齢、BMI、喫煙、PFOS およびヨウ素について調整を行っていることであり、Salay and Garabrant¹⁵ の分類によれば、質の高い (tier 1 の) 研究となる。

AhR Arg554Lys の heterozygous 群で他の群と比較して、PCBs と NDL-PCBs の母の FT4 に対するより大きな影響が観察された。また、この結果は比較的低い PCBs の曝露濃度で得られた。本研究の Coplanar PCB-TEQ の中央値(4.56 pg/g lipid)は WHO の調査によるほとんどの先進国の値よりも低かった³⁶。また、日本国内の他の地域と比較して、特に NDL-PCB の値が低かった^{37,38}。PCBs が低濃度曝露であるにも関わらず AhR Arg554Lys の heterozygous 群で TH 濃度との関連が観察されたという結果は、公衆衛生上の新たな問題を提起する。この問題は特に heterozygous variant の頻度の高い日本人、アフリカ系の集団で特に懸念される。Heterozygous variant は中国を含むアジア諸国でも頻度が高い³⁹。

なぜ heterozygous variant 群でのみ PCBs の影響が観察されたかは、今までに AhR Lys554Arg 多型について分かっていることだけでは全てを説明することはできない。しかし、Helmig, et al.⁴⁰ によれば heterozygous variant 群において白血球中の AhR, CYP1B1 and ARNT の mRNA の発現量が最も高かったという報告がある。ただし、heterozygous variant と homozygous variant 群との差は有意だったが、wild-type 群の差は有意ではなかった。仮説として、heterozygous variant 群は最も PCBs を代謝する能力が高いために、血中水酸化 PCB (OH-PCB) 濃度が高くなることで、TH 平衡が崩されるということが考えられる。当研究グループでは、この仮説を確かめるため、OH-PCB を本研究の対象者で測定することとし、現在解析中である。

また、本研究では PCBs との関連は母の FT4 でのみ観察された。Salay らによる系統的レビュー¹⁵ によれば、成人の PCBs 曝露の影響を評価した先行研究において、FT4 は低下または関連なし、TSH は上昇、低下、関連なしの報告があり、本研究の結果は過去の報告から予想される範囲に含まれる。新生児に関しては TSH, FT4 のどちらも上昇、低下、関連なしの報告がある¹⁸。本研究で母の FT4 とのみ有意な関連が観察された理由としては、1. 母と比べ胎児の血中 PCBs 濃度が TH に影響を与えるほど高くない可能性 (未測定)、2. 新生児の TH は非常に動的であり、本研究の測定時期である生後 4-7 日目には PCBs の影響が観察できない可能性、3. PCBs のダイオキシン毒性は、AhR を介すると考えられている¹² が、新生児においては AhR の発現その他ダイオキシン毒性に発揮に必要な生化学的基盤が妊婦と比較して十分でないために PCBs の毒性が弱くなっている可能性、等の理由が考えられる。

本研究では、分娩方法で層別化解析を行った場合でも PCBs 濃度と児の TH の関連は観察されなかった。これは、Herbstman, et al.²²による報告と異なる結果である。

本研究は、魚介類およびヨウ素摂取の多い地域において行われた。日本に置ける平均ヨウ素摂取量は1日あたり1.5 mgであり、これは日本の妊婦の推奨栄養所要量 (240 µg) を大きく上回るが耐容上限量 (2200 µg) より少ない^{41,42}。このことは日本ではヨウ素欠乏症がまれであることを示唆する。多くの国では食塩にヨウ素を付加することが義務づけられている一方、日本では食品添加物としての登録がされていない⁴³。このため、食塩を含む食品にヨウ素を付加することはできない。これらの要因は本研究の結果を他の文化その他の状況に対して一般化することを制限する可能性がある。

本研究にはいくつか限界がある。多くの交絡要因候補が考慮されたが、今回測定されなかった OH-PCBs やビスフェノール A 濃度のような要因が PCBs と TH の関連に影響を与えた可能性が否定できない。当研究グループは OH-PCB とビスフェノール A を本研究同じ対象について測定し、さらなる検討を行う予定である。今回観察された AhR Arg554Lys 多型の修飾作用は、AhR Arg554Lys と連鎖不平衡の関係にある別の多型によるものである可能性が否定できない。また、本研究の参加同意率は低かった(28.6%)。この原因の一部は、参加を依頼した妊婦のうちの 22%が臍帯血バンクに登録したことや、さらに 3%の妊婦が他の施設で分娩を行ったことが挙げられる。これらの参加非同意が、本研究の結果を一般集団に外挿することを制限する可能性がある。

今後類似の研究を行う場合、AhR 多型が異なる文化や民族において TH および児の発達に与える影響を検討することが望まれる。当研究グループでは、ダイオキシン類、PFOS、PFOS が母児の TH 濃度に与える影響を評価し報告する予定であるが、OH-PCB やビスフェノール A を含め、甲状腺毒性が疑われるその他の化学物質についてもさらに検討されることが望まれる。

第二章 一般生活環境レベルの妊娠中 PCBs 曝露が 3 歳児の行動・精神症状に及ぼす影響

緒言

甲状腺ホルモン (TH) は、ヒトの発達 (特に神経発達) において欠かせないことから、甲状腺ホルモンかく乱化学物質 (TDCs) に関する関心が近年高まっている。

本稿の第一章では、一般生活環境レベルの胎児期PCBsおよびnon-dioxin-like PCBs曝露は、AhR Arg554Lysのheterozygous variantの妊婦において妊娠中の血中FT4と有意な負の関連を持つことを疫学的に示した。この結果が提起する次の疑問として、PCBsによる妊婦のFT4低下が児の神経発達に影響を及ぼしていないかということが第一に挙げられる。

胎児において、臨界期に脳内に適切な量のTHが保たれることが神経発達に不可欠である。第1三半期の後半から母のFT4からT3が生成され始め、第2三半期の始め頃から胎児の甲状腺もホルモンの生成を開始するが、能力が小さく、母のTHは出生まで胎児の総TH濃度に寄与している²⁸。

疫学研究では、母の甲状腺機能低下症 (TSH高値) と児の軽度知的障害との関連が報告されている⁴⁴。また、低サイロキシン血症 (FT4低値) と児の発達および神経発達との関連は数多く報告されている⁴⁵。低サイロキシン血症と注意欠陥多動性障害

(ADHD) との関連を示唆する症例対照研究の結果もある⁴⁶。一方で、新生児の甲状腺機能低下症(HT)は、予防可能な知的障害の原因のうち、最も多く見られるものであるが、スクリーニング検査の後、早期に適切な治療を行うことで、HTによる知能指数70を下回る知的障害は、新生児の全例スクリーニングが行われる地域では見られなくなっている⁴⁷。

T4はTTR等の甲状腺ホルモン結合タンパクによって脳まで運ばれ、内皮細胞を通り抜けて血管外に出る。そして星状細胞の表面にある細胞膜トランスポータOatp1c1を急速に通り返ける。次に細胞内のdeiodinase type 2によってT3に代謝され、未知の細胞膜トランスポータにより星状細胞の外に出される。T3はニューロンと乏突起膠細胞にMCT8細胞膜トランスポータを経由して急速に取り込まれる。THは細胞内を移動し、リガンド依存性転写因子である核内受容体TRと結合し、甲状腺ホルモン応答領域 (TRE) の転写を調節するか、deiodinase type 3によって生物学的活性のないT2に代謝される⁴⁸。

一方、甲状腺ホルモンがどのような機序で神経発達に関わっているかについての理解は限られている^{45,48}。その中では比較的小脳の研究は進んでおり、周産期甲状腺機能低下により、プルキンエ細胞樹状突起の伸展や、平行線維からのシナプス形成が低下し、登上線維は樹状突起の末端まで登上せず、プルキンエ細胞の細胞体や樹状突起近位部にシナプスを形成することが分かっている⁴⁹。また、新生仔ラットの小脳細胞に甲状腺ホルモンを添加する事により小脳プルキンエ細胞の樹状突起が伸展し、PCBを添加する事により樹状突起の伸展が抑制されることが分かった⁵⁰。甲状腺

機能低下ラットは新奇環境下では多動となる⁵¹が、小脳以外の部位では甲状腺ホルモンの作用機構は解明が進んでおらず、多動の原因はまだ明らかでない。

PCBが母児の甲状腺ホルモン濃度と児の精神および運動発達に及ぼす影響を合わせて評価した疫学研究の報告は、現在ドイツのDuisburg cohort studyの1編のみである。母児の甲状腺ホルモン濃度（TSH, T3, T4, FT3, FT4）、12ヶ月および24ヶ月時のBaily Scales for Infant Development (BISD)で有意な関連は見られなかった²¹が、甲状腺ホルモンとBISDは別の解析として行われ、その関係については一定程度考察されているものの、関係を直接検討するような統計解析は行われなかった。

また、上記の疫学研究を含め、PCBs曝露が児の知能や運動発達、およびADHD発症に与える影響を検討した疫学研究は複数存在し、有意な関連を示したものと示さなかったものがある^{21,28,44,46,52}が、児の精神症状を幅広く測定し、PCBs曝露との関連を検討した研究は報告されていない。

以上および1章の関連部分をまとめると、母児の甲状腺機能低下症により神経発達が障害されること、その機序の多くは分かっていないこと、ヒトではPCBs曝露により血中TH濃度が低下するかは明確でないこと、PCBsが甲状腺ホルモンの働きを阻害する機序は明確でないこと、PCBsが知能とADHD以外の精神発達に与える影響は分かっていないことが、先行研究から考えられる。このうち、PCBsが甲状腺ホルモンを介して児の幅広い精神症状に与えているかどうかは疫学研究によって統計解析することが可能であり、かつ必要であると考え、本章の研究を計画した。

本章では、PCBsが母児の甲状腺ホルモン濃度の変化を介して児の幅広い精神症状に影響を及ぼすかどうかを明らかにすることを目的とし、第一章で得られた結果と合わせて統計学的な解析を行う。

研究方法

対象

札幌市内の1産科病院を受診した妊娠23～35週の妊婦で、インフォームドコンセントの後参加に同意を得られた母子514組を対象とした。

測定

血中の化学物質濃度の測定方法および母児の属性のデータ収集方法に関しては第一章で詳述した。

第二章の解析のアウトカムであるCBCL 2/3は心理測定上の性能に優れ、2から3歳の幼児における精神症状を評価する標準化された自記式調査票で、過去2ヶ月間の状況について養育者が記入する。質問数は99項目あり、それぞれの項目について0～2点（0＝あてはまらない、1＝ややまたはときどきあてはまる、2＝よくあてはまる）で評価する。6つの下位尺度（Withdrawn, Somatic Complaints, Depressed, Sleep Problems, Aggressive Behavior and Destructive Behavior）が存在し、さらに上位尺度と

して withdrawn と depressed の 2 つを合わせた内向尺度、aggressive behaviour と destructive behaviour の 2 つを合わせた外向尺度の 2 つがある。Nakata らにより日本語版が作成され、標準化されている⁵³⁻⁵⁵。本研究では月齢 42 ヶ月以降に調査票を保護者に郵送して回答を得た。

母体血中 PCBs は 426 人について測定され、CBCL 2/3 の回答は 331 人で得られた。

統計解析

PCB と CBCL 両方のデータが得られた 313 名について解析を行った。

曝露要因である PCB に関してはダイオキシン毒性に注目して(総) PCBs、NDL-PCBs、Coplanar PCBs、および Coplanar PCB-TEQ の 4 種類のグルーピングで解析を行った。

17 種類の母児の属性(教育、世帯収入、アルコール摂取、出産歴、経膈かつ補助器具を使わない分娩かどうか、喫煙状況(血中コチニン > 10.0 ng/mL または自記式調査票による喫煙者)、CBCL 測定時の児の月齢、魚の摂取量、出生体重、出生時の妊娠週数、分娩時の母の年齢、母の血中化学物質濃度(PFOS、PFOA、水銀、PCDD と PCDF の総 TEQ)、母のリクルート時 BMI、母の分娩時 BMI) と総 PCB 濃度の関連について Wilcoxon 検定または Spearman's correlation test で単変量解析を行った。

次に多重回帰分析を行った。投入する変数を選択する基準は上記の単変量解析において $p < 0.1$ とし、17 の属性から、教育、世帯収入、アルコール摂取、出産歴、経膈かつ補助器具を使わない分娩かどうか、CBCL 測定時の児の月齢、魚の摂取量、出生体重、出生時の妊娠週数、母の血中化学物質濃度(PFOS、水銀)、母のリクルート時 BMI の 11 変数が選択され、それらをモデルに投入し、調整した(以下、調整後モデル)。

調整後モデルにおいて、さらに児の性別、AhR Arg554Lys 多型による層別化解析を行った。

また、各甲状腺ホルモンと CBCL の各スケールについて Spearman's correlation test で単変量解析を行った。上記調整後モデルにさらに各甲状腺ホルモン(母の TSH、FT4、児の TSH、FT4) をそれぞれ投入してサンプル全体の多変量解析および、第一章ので関連が見られた AhR 多型による層別化解析を行った。

最後に、CBCL の各スケールは正の歪度を示していたため、各スケールの平方根をアウトカムとしてサンプル全体の重回帰分析を行った。さらに、CBCL の各スケールをアウトカムとして多重ロジスティック解析も行った。いずれも重回帰分析の調整後モデルと同じ変数で調整を行った。

各解析の統計学的有意水準はすべて $p < 0.05$ とした。

結果

PCB と CBCL の多変量解析

各 PCB グルーピングと CBCL 各スケールの多変量解析では、いずれの組合せでも有意な関連は見られなかった。

児の性別による層別化解析

児の性別による層別化解析（重回帰分析）では、4 種類の PCB のグループと各 CBCL スケールの間に有意な関連は見られなかった。

芳香族炭化水素受容体遺伝子多型による層別化解析

AhR Arg554Lys の多型による層別化解析では、Heterozygous variant 群で、Coplanar PCBs と Destructive scale の負の有意な関連が見られた ($\beta = -2.80$, 95% CI: -5.43, -0.17, $p = 0.037$)。

各甲状腺ホルモンと CBCL 各スケールの単変量解析

各甲状腺ホルモンと CBCL 各スケールの単変量解析では、 $p < 0.05$ を基準とした場合、児の TSH と総得点、外向尺度、aggressive および destructive との正の関連、母の TSH と外向尺度、sleep problems, aggressive および destructive との正の関連、母の FT4 と destructive との負の関連をそれぞれ有意に示した (Table 14)。

Table 14. 各甲状腺ホルモンと CBCL 各スケールの単変量解析

	Total Score		Internalizing		Externalizing		Social Withdrawal		Depressed		Sleep problems		Somatic problems		Aggressive		Destructive	
	r	p value	r	p value	r	p value	r	p value	r	p value	r	p value	r	p value	r	p value	r	p value
Neonatal TSH	0.1177*	0.0484	0.0519	0.3848	0.1452*	0.0147	0.0139	0.8159	0.1076	0.0712	-0.0094	0.8749	0.1016	0.0884	0.1473*	0.0133	0.1376*	0.0208
Neonatal FT4	0.0645	0.2807	0.0861	0.1493	0.0229	0.7021	0.0722	0.227	0.0967	0.1052	0.0196	0.7429	0.0711	0.2339	0.0269	0.6525	0.0135	0.8218
Maternal TSH	0.0955	0.1096	-0.0009	0.988	0.1175*	0.0487	-0.0187	0.7551	0.0386	0.5185	0.1238*	0.0377	0.0762	0.2019	0.1202*	0.0437	0.1528*	0.0102
Maternal FT4	-0.0729	0.2221	0.0183	0.7594	-0.1049	0.0787	0.0312	0.6021	-0.0275	0.6459	-0.0796	0.1825	-0.0326	0.5853	-0.1112	0.0622	-0.1269*	0.0332

*: $p < 0.05$ (statistically significant using Spearman's correlation test)

各甲状腺ホルモンで調整した重回帰分析

各甲状腺ホルモン（母の TSH、FT4、児の TSH、FT4）をそれぞれ投入した多変量解析では、児の FT4 を投入したモデルで、Coplanar PCB と Depressed scale の間に有意な負の相関が見られた ($\beta = -1.175$, 95% CI: -2.27, -0.07, $p = 0.0358$)。また、AhR Arg554Lys の多型による層別化解析を母の FT4 で調整したところ、すべての組合せで有意な関連は見られなかった。

平方根を取った重回帰分析およびロジスティック回帰分析

CBCL の各スケールの平方根を取ったものをアウトカムとした重回帰分析では、有意な関連は見られなかった。各 TH をモデルに加えた場合も有意な関連は見られなかった。同様の解析をロジスティック回帰分析を行った場合も、有意な関連は見られなかった。

考察

本章では、PCBs が子どもの精神症状に与える影響が AhR 遺伝子多型により異なるかどうかを初めて評価・報告した。AhR Arg554Lys 多型により Coplanar PCB(-TEQ)と CBCL destructive scale の関連が異なることを示したが、Heterozygous variant 群は最

も代謝酵素の転写量が多いと報告されており⁴⁰、かつ coplanar PCBs のダイオキシン毒性によって特に転写が活性化されるため、この組合せでのみ有意な関連が現れたと考えられる。一方で、関連は coplanar PCB 摂取が多い方が、精神症状が少ないという方向になっており、動物実験や先行研究の結果とは逆であった。未知の交絡要因の存在や multiple testing による可能性も考えられるが、真の関連であるとした場合、母の FT4 と負の関連のあった PCBs のグループ（総 PCBs および NDL-PCBs）とは、CBCL destructive scale と関連があったグループとは異なることから、PCBs が TH の平衡を阻害することで児の精神運動発達を阻害するという仮説では説明することができない。

次に、児の FT4 を投入したモデルでのみ、Coplanar PCB と Depressed scale の間に有意な負の相関が見られた。今までに 3 歳時の抑うつ症状と PCBs の関連を見た先行研究は報告がないが、動物実験や一部の疫学研究が精神運動発達に有害な影響を示唆したこととは一致しない。一方で、ほとんどの scale で有意な関連を認めなかったことは、Duisberg cohort の結果²¹と概ね一致する。

また、AhR 多型による層別化解析では、母の FT4 による調整の前後で、存在していた Heterozygous variant 群での、Coplanar PCBs と Destructive scale の負の有意な関連が消失した。このことは、母の FT4 が PCBs が精神症状に影響を与える因果関係の経路上で intervening variable として効果を媒介していること、または因果関係の外で、交絡因子として働いていること⁵⁶を示唆する。

札幌市では妊婦および新生児に対して TSH と FT4 の測定を行い、対象者が治療を受けられる仕組みを整えている。このことにより先天性の甲状腺機能低下症による知的障害だけでなく、3 歳児の行動の障害や精神症状が予防され、本研究で母または児の FT4 濃度を介した PCB による CBCL 得点の上昇が観察されなかった可能性がある。このことは、本コホートにおいて児の FT4 と精神症状の関連が見られなかったことも説明しうる。

また、第一章でも述べたように、本コホートの PCBs 曝露濃度は国内および他国と比較して最も低いものの一つである。もし曝露濃度が高ければ、本研究で見られた以外にも関連が検出できた可能性がある。

この研究の限界として、出生後の環境要因を測定していないことが挙げられる。もし本研究において出生後の環境要因（例えば、既知の要因としてライフイベント等の強いストレスや劣悪な環境等⁵⁷）が精神症状のリスクを上昇と相関している場合、それは世帯収入（および PCBs の濃度）と逆相関していることが予想され（Table 3）、もしそのような要因で解析のモデルを調整した場合には、PCBs と CBCL 得点の相関をより強めることになり、この相関が打ち消されたり、逆相関にはならないと考えられる。一方で、コホート研究においても未知の要因が交絡因子となり、例えば PCBs と CBCL 得点の相関を見かけ上作り出している可能性は否定しきれない。

総括および結論

本研究から得られた新知見

- (I) 一般生活環境レベルの胎児期 PCBs および non-dioxin-like PCBs 曝露は、AhR Arg554Lys の heterozygous variant の妊婦において妊娠中の血中 FT4 と有意な負の関連を持つ。
- (II) 一般生活環境レベルの胎児期 coplanar PCBs 曝露は、児の FT4 で調整を行うことにより、3 歳児の抑うつ症状と有意な小さい正の関連を持つ。
- (III) 一般生活環境レベルの胎児期 coplanar PCBs 曝露は、AhR Arg554Lys の heterozygous variant の遺伝子を持つ母において 3 歳時の CBCL destructive scale と有意な正の関連を示すが、母の FT4 で調整することにより関連が消失する。

また、これらを総括すると、本研究では「胎児期 PCBs 曝露が母の FT4 を低下させるが、児の CBCL に対する有害な影響は観察されなかった」という結論となる。

新知見の意義、今後の研究展開と課題

(I) に関して、第一章で PCBs が妊婦の FT4 に与える影響が AhR の遺伝子多型により異なることを初めて示した。これは PCBs 曝露が TH に及ぼす影響について遺伝子多型の関与を示す初めての報告である。また、この結果は AhR の多型により層別化解析することで、より低濃度の曝露でも、PCBs が FT4 を低下させる可能性を示唆する。より低い濃度で関連が今後他の研究でも繰り返し再検されることで、保健・環境政策（環境濃度基準や摂取基準等）に影響を与える可能性がある。今後の研究においては AhR の多型を測定し、解析に用いることが期待される。

第二章は、PCBs と幅広い精神症状の関連を評価した初めての研究である。本コホートでは、PCBs が 3 歳児の精神症状に与える影響が観察されなかったため、PCBs が甲状腺ホルモンの濃度を介して神経発達を阻害するという仮説を検証するための疫学的データを提供できなかった。事故や汚染などによる PCBs の高濃度曝露を母児において同様の研究を行うことが期待される。

本研究は、一般生活環境レベルの中でも低いレベルの曝露が期待される地域で行われた研究である。一般生活環境レベルの研究の意義としては、最も多くの人がこの濃度での曝露を受けており、健康影響に関する新たな知見が得られた場合に、公衆衛生や政策に大きな影響与える可能性を含む。また、札幌市での研究は他の大都市と比較して平均血中 PCBs 濃度が低くなることが予想され、実際に大阪、福岡と比較して低い値が得られた(総 PCBs 濃度の中央値 = 103 ng/g lipid)^{37,38}。また、これは PCB と成人の TH 濃度の関連を調べた疫学研究での曝露で最も低い値である^{15,19,58}。一般的に、最も低濃度の曝露を受けた集団で、健康影響が観察された場合には、現状の **Lowest observed adverse effect level (LOAEL)** が低く変更される根拠となる。また、影響が観察されなかった場合は、**No observed adverse effect level (NOAEL)** が低く変更される根拠となる。本研究では、特定の遺伝子多型を持つ集団でのみ TH への影響が観察されたため解釈が複雑となるが、再検を経て、LOAEL やそれを用いて決められる様々な基準値が変更される可能性を示した。

本研究では、DL-PCB と NDL-PCB の甲状腺および神経発達毒性が異なっているという仮説の元に種々の解析を行ったが、甲状腺ホルモン濃度、特に児の FT4 の低下を介した 3 歳時の精神症状への影響を否定する結果が得られた。このことは、今後、血中甲状腺ホルモン濃度の変化や、PCBs が UGT1A1 や UGT1A6 等の代謝酵素の発現を変化させる機序よりも、PCBs 自体が T4 と競合的に TTR に結合すること、あるいは TR に結合することによる神経発達の障害を評価する必要性を示唆する。特に OH-PCBs は PCBs よりも TTR への結合が強く、一部は T4 と同程度と報告され⁵⁹、OH-PCB を測定した疫学研究で T3 との関連が報告されている²⁰ため、OH-PCBs による神経発達の障害を検討することは優先課題である。当研究グループでは、現在 OH-PCB の解析を進めており、上記の検討を行うことが可能となる。

また、CBCL 2/3 で測定した精神症状は直接診断に結びつくものではないため、今後は仮説に基づき、より詳細で疾患特異的な調査票を用いた研究を行うべきである。本研究では AhR Arg554Lys の層別化解析で PCBs と ADHD 関連症状との関連が見られた。当研究グループでは、より大規模な出生コホート³²を用い、学齢期の子どもを対象に、環境要因、エピジェネティックスに関する要因およびそれらの交互作用と ADHD 発症リスクの関連についてコホート内症例研究を計画し、準備を進めている。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、御指導と御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（以下、公衆衛生学分野）岸玲子名誉教授（特別招聘教授）、玉腰暁子教授に深く御礼申し上げます。また直接御指導頂きました旭川医科大学医学部健康科学講座地域保健疫学分野吉岡英治准教授、公衆衛生学分野佐々木成子助教に心より深謝いたします。またPCBsの測定および御助言を賜りました福岡県保健環境研究所保健科学部生活化学課梶原淳睦先生に深く感謝申し上げます。また御助言と御協力を賜りました公衆衛生学分野 客員研究員 加藤静恵先生、順天堂大学医学部公衆衛生学講座湯浅資之准教授に深く感謝申し上げます。また

「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御助言と御協力を賜りました、JR札幌病院鷺野考揚博士、札幌医科大学保健医療学部作業療法学臨床作業療法学講座中島そのみ准教授、ならびに研究の遂行に御助力と御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伊藤佐智子特任講師、荒木敦子准教授、宮下ちひろ特任准教授、小林澄貴特任講師、湊屋街子特任講師、アイツバマイゆふ特任助教、山崎圭子特任助教ならびに研究支援員の皆様に深く感謝申し上げます。

また、研究生活を支えてくれた家族と職場の皆様にも深く感謝申し上げます。

本研究は文部科学省科学研究費補助金ならびに厚生労働省科学研究費補助金により行いました。

最後に、本研究に御参加下さり貴重な研究資料を御提供いただきました対象者の皆様、御協力いただきました札幌東豊病院の関係者の皆様に心から御礼申し上げます。

引用文献

- 1 EFSA. Results of the monitoring of non dioxin-like PCBs in food and feed. *EFSA Journal* **8**, 1701-1736 (2010).
- 2 ATSDR. Agency for Toxic Substances and Toxic Substances and Disease Registry. 2000. Toxicological Profile for Polychlorinated Biphenyls (PCBs), Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services Public Health Service. (2000).
- 3 Sasamoto, T. *et al.* Estimation of 1999-2004 dietary daily intake of PCDDs, PCDFs and dioxin-like PCBs by a total diet study in metropolitan Tokyo, Japan. *Chemosphere* **64**, 634-641, doi:10.1016/j.chemosphere.2005.10.057 (2006).
- 4 EFSA. European Food Safety Authority (EFSA). (2005). Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to the presence of non dioxin-like polychlorinated biphenyls (PCB) in feed and food. *EFSA J.* **284**, 1–137. (2005).
- 5 Nakajima, S. *et al.* Effects of prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins on mental and motor development in Japanese children at 6 months of age. *Environ Health Perspect* **114**, 773-778 (2006).
- 6 Washino, N. *et al.* Correlations between prenatal exposure to perfluorinated chemicals and reduced fetal growth. *Environ Health Perspect* **117**, 660-667, doi:10.1289/ehp.11681 (2009).
- 7 Konishi, K. *et al.* Prenatal exposure to PCDDs/PCDFs and dioxin-like PCBs in relation to birth weight. *Environ Res* **109**, 906-913, doi:10.1016/j.envres.2009.07.010 (2009).
- 8 Long, J. R. *et al.* Population-based case-control study of AhR (aryl hydrocarbon receptor) and CYP1A2 polymorphisms and breast cancer risk. *Pharmacogenetics and genomics* **16**, 237-243, doi:10.1097/01.fpc.0000189803.34339.ed (2006).
- 9 Saijo, Y. *et al.* Ah receptor, CYP1A1, CYP1A2 and CYP1B1 gene polymorphisms are not involved in the risk of recurrent pregnancy loss. *Molecular human reproduction* **10**, 729-733, doi:10.1093/molehr/gah096 (2004).
- 10 Nisa, H. *et al.* Cigarette smoking, genetic polymorphisms and colorectal cancer risk: the Fukuoka Colorectal Cancer Study. *BMC cancer* **10**, 274, doi:10.1186/1471-2407-10-274 (2010).
- 11 Xu, W., Zhou, Y., Hang, X. & Shen, D. Current evidence on the relationship between CYP1B1 polymorphisms and lung cancer risk: a meta-analysis. *Molecular biology reports* **39**, 2821-2829, doi:10.1007/s11033-011-1041-6 (2012).
- 12 Van den Berg, M. *et al.* The 2005 World Health Organization reevaluation of human and Mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Toxicol Sci* **93**, 223-241 (2006).
- 13 Gauger, K. J. *et al.* Polychlorinated biphenyls 105 and 118 form thyroid hormone receptor agonists after cytochrome P4501A1 activation in rat pituitary GH3 cells. *Environ Health Perspect* **115**, 1623-1630, doi:10.1289/ehp.10328 (2007).
- 14 Crofton, K. M. Thyroid disrupting chemicals: mechanisms and mixtures. *Int J Androl* **31**, 209-223 (2008).
- 15 Salay, E. & Garabrant, D. Polychlorinated biphenyls and thyroid hormones in adults: a systematic review appraisal of epidemiological studies. *Chemosphere* **74**, 1413-1419 (2009).
- 16 Hagmar, L. Polychlorinated biphenyls and thyroid status in humans: a review. *Thyroid* **13**, 1021-1028, doi:10.1089/105072503770867192 (2003).
- 17 Kimbrough, R. D. & Krouskas, C. A. Polychlorinated biphenyls, dibenzo-p-dioxins, and dibenzofurans and birth weight and immune and thyroid function in children. *Regul Toxicol Pharmacol* **34**, 42-52, doi:10.1006/rtp.2001.1484 S0273-2300(01)91484-9 [pii] (2001).
- 18 Goodman, J. E., Kerper, L. E., Boyce, C. P., Prueitt, R. L. & Rhomberg, L. R. Weight-of-evidence

- analysis of human exposures to dioxins and dioxin-like compounds and associations with thyroid hormone levels during early development. *Regul Toxicol Pharmacol* **58**, 79-99, doi:10.1016/j.yrtph.2010.04.008 (2010).
- 19 Darnerud, P. O. *et al.* POP levels in breast milk and maternal serum and thyroid hormone levels in mother-child pairs from Uppsala, Sweden. *Environ Int* **36**, 180-187, doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2009.11.001> (2010).
 - 20 Dallaire, R. *et al.* Thyroid hormone levels of pregnant inuit women and their infants exposed to environmental contaminants. *Environ Health Perspect* **117**, 1014-1020, doi:10.1289/ehp.0800219 (2009).
 - 21 Wilhelm, M. *et al.* The Duisburg birth cohort study: influence of the prenatal exposure to PCDD/Fs and dioxin-like PCBs on thyroid hormone status in newborns and neurodevelopment of infants until the age of 24 months. *Mutat Res* **659**, 83-92 (2008).
 - 22 Herbstman, J. B. *et al.* Birth delivery mode modifies the associations between prenatal polychlorinated biphenyl (PCB) and polybrominated diphenyl ether (PBDE) and neonatal thyroid hormone levels. *Environ Health Perspect* **116**, 1376-1382, doi:10.1289/ehp.11379 (2008).
 - 23 Dallaire, R. *et al.* Effects of prenatal exposure to organochlorines on thyroid hormone status in newborns from two remote coastal regions in Quebec, Canada. *Environ Res* **108**, 387-392, doi:S0013-9351(08)00184-9 [pii] 10.1016/j.envres.2008.08.004 (2008).
 - 24 Chevrier, J., Eskenazi, B., Holland, N., Bradman, A. & Barr, D. B. Effects of exposure to polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides on thyroid function during pregnancy. *Am J Epidemiol* **168**, 298-310 (2008).
 - 25 Otake, T. *et al.* Thyroid hormone status of newborns in relation to in utero exposure to PCBs and hydroxylated PCB metabolites. *Environ Res* **105**, 240-246, doi:10.1016/j.envres.2007.03.010 (2007).
 - 26 Hsu, P.-C., Lai, T.-J., Guo, N.-W., Lambert, G. H. & Leon Guo, Y. Serum hormones in boys prenatally exposed to polychlorinated biphenyls and dibenzofurans. *J Toxicol Environ Health A* **68**, 1447-1456 (2005).
 - 27 Ribas-Fito, N. *et al.* Organochlorine compounds and concentrations of thyroid stimulating hormone in newborns. *Occup Environ Med* **60**, 301-303 (2003).
 - 28 Skeaff, S. A. Iodine Deficiency in Pregnancy: The Effect on Neurodevelopment in the Child. *Nutrients* **3**, 265-273, doi:10.3390/nu3020265 (2011).
 - 29 Markou, K., Georgopoulos, N., Kyriazopoulou, V. & Vagenakis, A. G. Iodine-Induced hypothyroidism. *Thyroid : official journal of the American Thyroid Association* **11**, 501-510, doi:10.1089/105072501300176462 (2001).
 - 30 Roti, E. & Uberti, E. D. Iodine excess and hyperthyroidism. *Thyroid : official journal of the American Thyroid Association* **11**, 493-500, doi:10.1089/105072501300176453 (2001).
 - 31 Nishiyama, S. *et al.* Transient hypothyroidism or persistent hyperthyrotropinemia in neonates born to mothers with excessive iodine intake. *Thyroid : official journal of the American Thyroid Association* **14**, 1077-1083, doi:10.1089/thy.2004.14.1077 (2004).
 - 32 Kishi, R. *et al.* Cohort profile: the Hokkaido study on environment and children's health in Japan. *International journal of epidemiology* **40**, 611-618, doi:10.1093/ije/dyq071 (2011).
 - 33 Mihashi, T. Iodine, Microelements in food, Eiken report 13:1-2. Kobe, Japan: Hyogo Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences. (in Japanese) available: <http://www.hyogo-iphes.jp/kikaku/report/eiken/report13.pdf>. **13**, 1-2 (2004).
 - 34 Yasutake, A., Matsumoto, M., Yamaguchi, M. & Hachiya, N. Current hair mercury levels in Japanese: survey in five districts. *Tohoku J Exp Med* **199**, 161-169 (2003).
 - 35 CDC. Fourth Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention. available: <http://www.cdc.gov/exposurereport/>. (2009).

- 36 Van Leeuwen, F. X. R. & Malisch, R. Results of the third round of the WHO coordinated exposure study on the level of PCBs, PCDDs, and PCFDs in human milk. *Organochalogen Compd.* **56**, 311–316 (2002).
- 37 Todaka, T. *et al.* Congener-specific analysis of non-dioxin-like polychlorinated biphenyls in blood collected from 195 pregnant women in Sapporo City, Japan. *Chemosphere* **73**, 923-931 (2008).
- 38 Todaka, T. *et al.* Concentrations of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and dioxin-like polychlorinated biphenyls in blood collected from 195 pregnant women in Sapporo City, Japan. *Chemosphere* **69**, 1228-1237, doi:10.1016/j.chemosphere.2007.05.083 (2007).
- 39 Rowlands, C. J., Staskal, D. F., Gollapudi, B. & Budinsky, R. The human AHR: identification of single nucleotide polymorphisms from six ethnic populations. *Pharmacogenetics and genomics* **20**, 283-290 (2010).
- 40 Helmig, S., Seelinger, J. U., Dohrel, J. & Schneider, J. RNA expressions of AHR, ARNT and CYP1B1 are influenced by AHR Arg554Lys polymorphism. *Molecular genetics and metabolism* **104**, 180-184, doi:10.1016/j.ymgme.2011.06.009 (2011).
- 41 Department of Nutritional Epidemiology National Institute of Health and Nutrition, J. p48, Dietary Reference Intakes for Japanese -2010-. Tokyo, Japan: National Institute of Health and Nutrition, Japan. available: <http://www0.nih.go.jp/eiken/info/pdf/dris2010en.pdf> (2010).
- 42 Ministry_of_Health_Welfare_and_Labor. p237, Dietary Reference Intakes for Japanese -2010-. Tokyo, Japan: Ministry of Health, Welfare and Labor, Japan (in Japanese). available: <http://www.mhlw.go.jp/shingi/2009/05/s0529-4.html> (2010).
- 43 Ministry_of_Health_Welfare_and_Labor_Japan. Registered food additives. Ministry of Health, Welfare and Labor, Japan (in Japanese). available: http://www.mhlw.go.jp/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/shokuhin/syokuten/index.html. (2011).
- 44 Haddow, J. E. *et al.* Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child. *The New England journal of medicine* **341**, 549-555, doi:10.1056/NEJM199908193410801 (1999).
- 45 Morreale de Escobar, G., Obregon, M. J. & Escobar del Rey, F. Role of thyroid hormone during early brain development. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies* **151 Suppl 3**, U25-37 (2004).
- 46 Vermiglio, F. *et al.* Attention deficit and hyperactivity disorders in the offspring of mothers exposed to mild-moderate iodine deficiency: a possible novel iodine deficiency disorder in developed countries. *J Clin Endocrinol Metab* **89**, 6054-6060, doi:10.1210/jc.2004-0571 (2004).
- 47 Grosse, S. D. & Van Vliet, G. Prevention of intellectual disability through screening for congenital hypothyroidism: how much and at what level? *Arch Dis Child* **96**, 374-379, doi:10.1136/adc.2010.190280 (2011).
- 48 Patel, J., Landers, K., Li, H., Mortimer, R. H. & Richard, K. Thyroid hormones and fetal neurological development. *J Endocrinol* **209**, 1-8, doi:10.1530/JOE-10-0444 (2011).
- 49 Koibuchi, N. Developmental neurotoxicology of environmental chemicals by disruption of thyroid hormone action. *Japanese Journal of Animal Psychology* **61**, 15-21, doi:10.2502/janip.61.1.10 (2011).
- 50 Kimura-Kuroda, J., Nagata, I. & Kuroda, Y. Hydroxylated metabolites of polychlorinated biphenyls inhibit thyroid-hormone-dependent extension of cerebellar Purkinje cell dendrites. *Brain research. Developmental brain research* **154**, 259-263, doi:10.1016/j.devbrainres.2004.11.004 (2005).
- 51 Negishi, T. *et al.* Attention-deficit and hyperactive neurobehavioural characteristics induced by

- perinatal hypothyroidism in rats. *Behavioural brain research* **159**, 323-331, doi:10.1016/j.bbr.2004.11.012 (2005).
- 52 Pop, V. J. & Vulsm, T. Maternal hypothyroxinaemia during (early) gestation. *The Lancet* **365**, 1604-1606, doi:10.1016/s0140-6736(05)66489-6 (2005).
- 53 Achenbach, T. M., Edelbrock, C. & Howell, C. T. Empirically based assessment of the behavioral/emotional problems of 2- and 3- year-old children. *J Abnorm Child Psychol* **15**, 629-650 (1987).
- 54 Nakata, Y. *et al.* 幼児の行動チェックリスト(CBCL/2-3)の日本語版作成に関する研究. *小児の精神と神経* **39**, 305-316 (1999).
- 55 Nakata, Y. *et al.* 幼児の行動チェックリスト(CBCL/2-3)の標準化の試み. *小児の精神と神経* **39**, 317-322 (1999).
- 56 Katz, M. in *Multivariate analysis: a practical guide for clinicians and public health researchers* Ch. 6, 96-97 (2011).
- 57 Biederman, J. *et al.* Family-environment risk factors for attention-deficit hyperactivity disorder. A test of Rutter's indicators of adversity. *Arch Gen Psychiatry* **52**, 464-470 (1995).
- 58 Lopez-Espinosa, M.-J. *et al.* Association between thyroid hormone levels and 4,4'-DDE concentrations in pregnant women (Valencia, Spain). *Environ Res* **109**, 479-485 (2009).
- 59 Cheek, A. O., Kow, K., Chen, J. & McLachlan, J. A. Potential mechanisms of thyroid disruption in humans: interaction of organochlorine compounds with thyroid receptor, transthyretin, and thyroid-binding globulin. *Environ Health Perspect* **107**, 273-278 (1999).