

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究(C)  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19590648  
 研究課題名（和文） 妊娠期の能動・受動喫煙曝露と遺伝要因の交互作用によるヒト胎児発育への影響の解明  
 研究課題名（英文） Adverse birth outcomes associated with maternal smoking during pregnancy and genetic polymorphisms: exploiting gene-environmental interaction  
 研究代表者  
 佐々木 成子 (SASAKI SEIKO)  
 北海道大学・大学院医学研究科・学術研究員  
 研究者番号：30448831

## 研究成果の概要：

妊婦の喫煙による胎児発育への影響には個体差がみられることから、前向きコホート研究に登録している妊娠 23～35 週の妊婦を対象としてたばこ煙中化学物質に対する遺伝的感受性素因と環境要因との交互作用が胎児発育に及ぼす影響を検討した。ニトロソアミン類などの活性化に関与している遺伝子と DNA 修復に関与している遺伝子の多型について解析を行ったところ、遺伝子多型の関与で酵素活性が上昇したニトロソアミン類代謝物が胎盤経路で胎児発育に負の影響を与える可能性が示唆された。一方、非喫煙妊婦では遺伝子多型による有意な関係は認められず、喫煙による胎児発育への影響には遺伝-環境交互作用が関与していることが示唆された。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,220,000	660,000	2,860,000
2008 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

## 研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・公衆衛生学 健康科学

キーワード：遺伝的感受性素因・喫煙曝露・環境化学物質・遺伝環境交互作用・次世代影響・ヒト胎児発育・妊婦

## 1. 研究開始当初の背景

妊娠中の喫煙は胎盤剥離、前置胎盤といった合併症あるいは流産や子宮内胎児発育遅延 (IUGR) などの高リスク要因である。中でも、低出生体重は成人期における高血圧、糖尿病、循環器疾患等のリスクを高める危険因子の一つであると考えられている。胎児期の低栄養が循環器系や内分泌系の臓器発育に影響を与えることは「胎児期起源仮説 (Fetal origins hypothesis)」として提

唱されているが、たばこ煙中のニコチンはその薬理作用によって臍帯や胎児の血管を収縮させ、血流量の減少による酸素や栄養の供給低下をもたらすことから、胎児期における喫煙曝露は出生時体格だけでなく、成人期の生活習慣病発症にも重大な影響を及ぼす可能性が示唆される。

妊娠中の喫煙曝露による胎児発育への影響には個体差がみられることから、化学物質に対する遺伝的感受性

の関与が示唆されている。喫煙妊婦においては、たばこ煙中の多環芳香族炭化水素類 (PAHs) の代謝・解毒酵素であるチトクロム P450 (CYP) やグルタチオン転移酵素 (GST) の遺伝子多型と低出生体重あるいは早産との関連が報告されている。また、PAHs は遺伝毒性や発がん性を持ち、細胞内 DNA に不活化体を形成するが、喫煙妊婦の白血球中 DNA 付加体量は非喫煙妊婦に比べると有意に多くなり、さらに DNA 付加体量と出生時体重、身長や頭囲が反比例することが報告されている。

## 2. 研究の目的

前向きコホート研究の約 500 名の母児からなる調査集団を維持している本研究では、妊娠期における喫煙暴露と母親の遺伝的感受性素因による交互作用が胎児発育に及ぼす影響を解明し、禁煙支援プログラムの開発など健康教育や禁煙指導に役立てることを目的とした。具体的には、1) たばこ煙に含まれる化学物質としてニコチンやニトロソアミン類などの活性に関与する酵素の遺伝子多型および DNA 修復に関与する酵素の遺伝子多型を解析して、喫煙暴露に対する感受性個体要因の解明を行ない、2) 喫煙暴露という環境要因と化学物質の代謝活性に関わる遺伝要因との交互作用を総合的に解析して、IUGR や低出生体重の遺伝的ハイリスク群の検出と効果的な禁煙指導プログラムによる予防対策を検討した。

## 3. 研究の方法

本研究は前向きコホート研究として妊娠 23~35 週の妊婦を登録し、本人の喫煙の有無や喫煙本数、禁煙した妊娠週数、および妊娠各時期 (初期・中期・後期) における家庭内や職場での受動喫煙暴露時間、家庭内喫煙者の喫煙本数など、妊娠期における能動および受動喫煙暴露状況について思い出しバイアスがわからないよう妊娠中に把握した。また、社会経済的要因や妊娠時の飲酒状況、産科既往歴などの詳細な情報を収集して、これらの要因について十分に調整したうえで解析を行なった。

(1) 質問紙調査による環境要因の評価: ベースライン調査として質問紙で把握している社会経済的状況、栄養状態、飲酒、喫煙などの生活習慣および診療録から収集した分娩、出生時の母児の状態、在胎週数、出生時体格 (体重、身長、胸囲、頭囲) 等の記録を総合的に解析して環境要因を評価した。

(2) 遺伝要因の解析と評価: インフォームドコンセントを経て得られた末梢血中の白血球から DNA を抽出し、次のたばこ煙中化学物質の代謝酵素遺伝子および DNA 修復遺伝子の多型を解析した。

① Cytochrome P450 2E1 (CYP2E1),

② Cytochrome P450 2A6 (CYP2A6),

③ NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 (NQO1),

④ Excision repair cross-complementing rodent repair deficiency, complementation group 1 (ERCC1),

⑤ O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT),

⑥ X-ray repair complementing defective repair in Chinese hamster cells 1 (XRCC1),

⑦ X-ray repair complementing defective repair in Chinese hamster cells 3 (XRCC3)。

遺伝子解析は Real-time PCR 装置を用いた TaqMan 法で行ない、個体要因評価をした。

(3) 遺伝環境交互作用評価: 質問紙調査から得られた環境要因、喫煙暴露指標の測定および遺伝子多型解析から得られた母体の個体要因を総合的に統合解析して、胎児発育に関連する要因の評価を行ない、喫煙に対する IUGR や低出生体重等の危険因子を同定した。

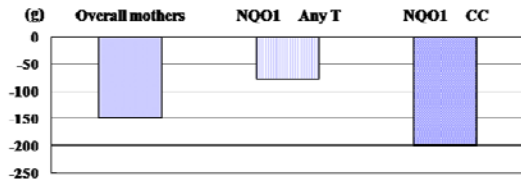
## 4. 研究成果

(1) ニトロソアミン類などの活性化に関与している NQO1 遺伝子および CYP2E1 遺伝子の多型について解析を行ったところ、喫煙妊婦では NQO1 遺伝子 CC 型で出生時体重、身長および頭囲が有意に減少し (図)、また、CYP2E1 遺伝子 GG 型では出生時体重に有意な減少が認められた。さらに、NQO1 遺伝子と DNA 修復に関与している MGMT 遺伝子の多型についても解析を行った。MGMT 遺伝子多型では非喫煙妊婦の CC 型と比較して喫煙妊婦の CT/TT 型で、それぞれ出生時体重が有意に低く、喫煙妊婦の NQO1 遺伝子多型が CC 型で MGMT 遺伝子多型が CT/TT 型の場合には、出生時体重の低下がさらに大きくなった。一方、非喫煙妊婦および妊娠初期で禁煙した妊婦では遺伝子多型による有意な関連が認められなかったことから、妊娠中の禁煙指導の重要性が示唆された。

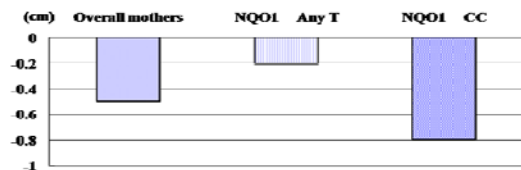
(2) ニトロソアミン類代謝物は出生直後に採取した喫煙妊婦の新生児尿から検出されていることから、胎児へ移行する可能性が示唆されている。本研究では喫煙妊婦において母親が NQO1 遺伝子 CC 型で出生時体重、身長および頭囲が減少したことから、遺伝子多型の関与で酵素活性が上昇したニトロソアミン類代謝物が胎盤経路で胎児発育に負の影響を与える可能性が示唆された。今回解析したたばこ特異的ニトロソアミン類は女性の方が男性に比べて感受性が高いという実験結果が報告されており、この物質はわが国において非喫煙者や女性に多い肺腺がん発症との関連が示唆されている発がん物質である。原因として受動喫煙暴露が関与している可能

性が考えられ、今後、受動喫煙曝露と母親の遺伝的感受性素因による交互作用が胎児発育に及ぼす影響についても検討する。

喫煙妊婦における出生時体重の低下



喫煙妊婦における出生時身長(cm)の低下



喫煙妊婦における出生時頭囲(cm)の低下

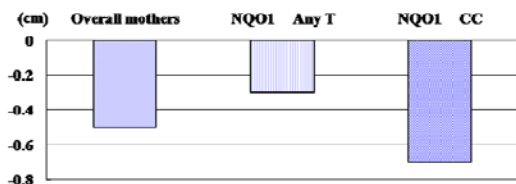


図:喫煙妊婦では、非喫煙妊婦と比較すると出生時体格は有意に低下した(体重-148g、身長-0.5cm、頭囲-0.5cm)。さらに、喫煙妊婦を遺伝子型で分類すると、NQO1遺伝子多型のCT/TT型と比較してCC型では出生時の体重(-77g vs. -199g;  $p<0.001$ )、身長(-0.2cm vs. -0.8cm;  $p=0.007$ )および頭囲(-0.3cm vs. -0.7cm;  $p=0.006$ )のすべてで、より大きな低下を示した。

##### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計9件)

- ①佐々木成子, 岸玲子, 遺伝的感受性素因の重要性母の喫煙が子どもの胎内発育に及ぼす影響. 日本衛生学雑誌 in press. 査読有.
- ② Washino N, Saijo Y, Sasaki S, Kato S, Ban S, Konishi K, Ito R, Nakata A, Iwasaki Y, Saito K, Nakazawa H, Kishi R. Correlations between prenatal exposure to perfluorinated chemicals and

reduced fetal growth. Environ Health Perspect. 117(4):660-667, 2009. 査読有.

- ③ Sata F, Toya S, Yamada H, Suzuki K, Saijo Y, Yamazaki A, Minakami H, Kishi R. Proinflammatory cytokine polymorphisms and the risk of preterm birth and low birthweight in a Japanese population. Mol Hum Reprod. 15(2):121-130, 2009. 査読有.
- ④ Todaka T, Hori T, Hirakawa H, Kajiwara J, Yasutake D, Onozuka D, Kato S, Sasaki S, Nakajima S, Saijo Y, Sata F, Kishi R, Iida T, Furue M. Congener-specific analysis of non-dioxin-like polychlorinated biphenyls in blood collected from 195 pregnant women in Sapporo City, Japan. Chemosphere. 73(6):923-931, 2008. 査読有.
- ⑤ Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Hori T, Tobiishi K, Onozuka D, Kato S, Sasaki S, Nakajima S, Saijo Y, Sata F, Kishi R, Iida T, Furue M. Concentrations of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and dioxin-like polychlorinated biphenyls in blood and breast milk collected from 60 mothers in Sapporo City, Japan. Chemosphere. 72(8):1152-1158, 2008. 査読有.
- ⑥ 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. 167 (6): 719-726, 2008. 査読有.
- ⑦ 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. BCPT. 102 (2): 191-203, 2008. 査読有.
- ⑧ Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Hori T, Tobiishi D, Onozuka S, Kato S, Sasaki S, Nakajima S, Saijo Y, Sata F, Kishi R, Iida T, Furue M. 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 (8): 1228-1237, 2007. 査読有.
- ⑨ Ban S, Kondo T, Ishizuka M, Sasaki S, Konishi K,

Washino N, Fujita S, Kishi R. Using microarray analysis to evaluate genetic polymorphisms involved in the metabolism of environmental chemicals. *Fukuoka Igaku Zasshi*. 98 (5): 208-214, 2007. 査読有.

[学会発表] (計 14 件)

- ①小西香苗, 佐々木成子, 鷲野考揚, 宮下ちひろ, 岡田恵美子, 吉岡英治, 湯浅資之, 梶原朝彦, 戸高尊, 岸玲子. 胎児期ダイオキシン類曝露が出生体重に与える影響: 喫煙の相互作用環境と子どもの健康に関する北海道スタディ(1). 第79回日本衛生学会総会. 2009年3月31日, 東京.
- ②宮下ちひろ, 佐々木成子, 鷲野考揚, 小西香苗, 岡田恵美子, 吉岡英治, 湯浅資之, 梶原朝彦, 戸高尊, 岸玲子. 胎児期のダイオキシン類曝露と乳幼児期アレルギー症状および感染症との関連の検討環境と子どもの健康に関する北海道スタディ(2). 第79回日本衛生学会総会. 2009年3月30日, 東京.
- ③岡田恵美子, 鷲野考揚, 佐々木成子, 小西香苗, 宮下ちひろ, 吉岡英治, 湯浅資之, 伊藤里恵, 中澤裕之, 岸玲子. 胎児期の有機フッ素化合物曝露と乳幼児期のアレルギー症状との関連の検討環境と子どもの健康に関する北海道スタディ(3). 第79回日本衛生学会総会. 2009年3月30日, 東京.
- ④佐々木成子, 坂晋, 湯浅資之, 吉岡英治, 金澤文子, 鷲野考揚, 小西香苗, 宮下ちひろ, 小林登貴, 岡田恵美子, 佐田文宏, 近藤朋子, 岸玲子. 胎児発育に及ぼす母の喫煙の影響とNQO1およびMGMT遺伝子多型との関連「環境と子供の健康 北海道スタディ」-第19回日本疫学会学術総会. 2009年1月23日, 金沢.
- ⑤小林登貴, 佐々木成子, 坂晋, 近藤朋子, 湯浅資之, 吉岡英治, 金沢文子, 鷲野考揚, 小西香苗, 梶原朝彦, 戸高尊, 平川博山, 堀就英, 安武大輔, 岸玲子. 胎児発育に影響を与えるダイオキシン類の曝露と遺伝要因との関連「環境と子供の健康 北海道スタディ」-第19回日本疫学会学術総会. 2009年1月23日, 金沢.
- ⑥鷲野考揚, 小西香苗, 佐々木成子, 加藤静恵, 吉岡英治, 湯浅資之, 西條泰明, 前田言彦, 岸玲子. 母体血中有機フッ素化合物・ダイオキシン類の出生体重への影響. 第60回北海道公衆衛生学会. 2008年11月13日, 札幌.
- ⑦Konishi K, Sasaki S, Kato S, Ban S, Washino N, Yuasa M, Yoshioka E, Kajiwara J, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Yasutake D, Yasutake A, Hachiya N, Kishi R. Prenatal Exposure to Dioxins in relation to Small-for-Gestational-Age. *ISEE/ISEA* 2008. Oct.16, 2008, Pasadena, California, USA
- ⑧佐々木成子. 遺伝的感受性素因の重要性—母の喫煙が

子どもの胎内発育に及ぼす影響: 環境と子どもの健康に関するコーホート研究の現状と課題. 第78回日本衛生学会総会. 2008年3月29日, 熊本.

- ⑨岸玲子. 「環境と子どもの健康に関する北海道コーホート」研究から見た化学物質の次世代影響: 多種化学物質への低濃度日常曝露の時代の衛生学. 第78回日本衛生学会総会. 2008年3月29日, 熊本.
  - ⑩佐田文宏, 鈴木佳奈, 東倫子, 鷲野考揚, 小西香苗, 松澤重行, 金澤文子, 坂晋, 吉岡英治, 西條泰明, 遠藤俊明, 千石一雄, 水上尚典, 岸玲子. 胎児期の母親の血清葉酸値及び喫煙・飲酒が子供の体格に及ぼす影響. 第78回日本衛生学会総会. 2008年3月30日, 熊本.
  - ⑪佐田文宏, 鈴木佳奈, 東倫子, 鷲野考揚, 小西香苗, 松澤重行, 金澤文子, 坂晋, 吉岡英治, 西條泰明, 遠藤俊明, 千石一雄, 水上尚典, 岸玲子. 母親の妊娠中の血清葉酸値, 喫煙・飲酒習慣と児の出生時の身体サイズ. 第18回日本疫学会学術総会. 2008年1月26日, 東京.
  - ⑫Konishi K, Sasaki S, Kato S, Ban S, Washino N, Kajiwara J, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Inoue S, Kishi R. Effects of prenatal exposure to dioxins and methyl mercury on birth weight. *International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants*. Sep.5, 2007. Tokyo.
  - ⑬Ban S, Kondo T, Sasaki S, Konishi K, Washino N, Kajiwara J, Todaka T, Hirakawa H, Ishizuka M, Fujita S, Kishi R. Correlations among serum PCB/dioxin levels, smoking status, and gene polymorphisms in mothers from Hokkaido, Japan. *International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants*. Sep.5, 2007. Tokyo.
  - ⑭Washino N, Saijo Y, Konishi K, Kato S, Sasaki S, Ban S, Kajiwara J, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Inoue S, Kishi R. The effect of prenatal exposure to dioxins on cord serum IgE. *International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants*. Sep.5, 2007. Tokyo.
6. 研究組織
- (1) 研究代表者  
佐々木 成子 (SASAKI SEIKO)  
北海道大学・大学院医学研究科・学術研究員  
研究者番号: 30448831
  - (2) 研究分担者  
なし
  - (3) 連携研究者  
岸 玲子 (KISHI REIKO)  
北海道大学・大学院医学研究科・教授  
研究者番号: 80112449

佐田 文宏 (SATA FUMIHIRO)  
国立保健医療科学院・疫学部社会疫学室・  
室長  
研究者番号：90187154

近藤 朋子 (KONDO TOMOKO)  
北海道医療大学・薬学部・講師  
研究者番号：70374254