

令和 3 年 5 月 25 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22730

研究課題名(和文)環境・遺伝・エピゲノム相互作用のコホート縦断的解明：学童期肥満の早期予防へ

研究課題名(英文) Gene-epigenome-environment interactions in cohort longitudinal study: early prevention of school aged obesity

研究代表者

岸 玲子 (Kishi, Reiko)

北海道大学・環境健康科学研究教育センター・センター特別招へい教授

研究者番号：80112449

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：胎児期環境と出生後の疾病や健康状況に関するエピゲノム変化を明らかにすることを目的とした。肥満傾向児218名と非肥満傾向の児282名のケースサブコホート集団で臍帯血DNAの網羅的メチル化解析(EPIC)を実施した。ロバスト線形回帰による有意水準FDR  $q < 0.05$ を満たすメチル化変化は、全体の集団で母の非妊娠前肥満で差異がある1CpG( $q = 0.049$ )、男児のみの集団で2CpGが検出された( $q < 0.1$ )。KEEGパスウェイ解析により全体で、母の妊娠前肥満と関連する遺伝子機能的経路として、栄養の代謝や炎症、免疫系に関与し、母の体格と関連する経路として妥当であると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胎児期の環境と出生後の健康リスクを結ぶエピゲノム変化に関する疫学的エビデンスはまだ不十分である。前向き出生コホート研究により、エピゲノムを介する胎児期曝露の健康リスク発現メカニズムを解明できれば、世界的に先駆的な実証的エビデンスとなる。成長後の健康リスク、特に発症前の予測・診断が可能になれば予防的な早期介入により次世代の健康リスク軽減に貢献できると考える。これらにより、最終的には世界に先駆けて「エピゲノムに基づく次世代の疾病予防」の礎を確立することができる。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to identify epigenomic changes involved in fetal environment and postnatal disease and health status. In a case-sub-cohort study including 218 obesity and 282 non-obesity children, we analyzed epigenome wide association study analysis (EPIC) in cord blood DNA. In robust linear regression, methylation rate of only 1 CpG site was significantly differenced with/without maternal pre-pregnancy obesity (FDR  $q < 0.05$ ). Among only mothers having male offspring, methylation rate of 2 CpG sites were differenced with/without maternal pre-pregnancy obesity (FDR  $q < 0.1$ ). In KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) pathway analysis, functional pathways of nutrient metabolism, inflammation and immune system were detected as linking to maternal pre-pregnancy's obesity.

研究分野：公衆衛生学

キーワード：出生コホート 胎児期環境 後天的遺伝子修飾 小児肥満 網羅解析

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

近年、工業化された先進国では感染症の発生率は低下している。一方で、小児の肥満や代謝異常、喘息・アレルギー、および ADHD(注意欠陥多動性障害)などの環境要因の関与が示唆される疾患が増えている。胎児期は化学物質に曝露した場合に最も障害を引き起こす感受性が高く、出生時体重の低下、先天異常などの様々なリスクの上昇を引き起こす。さらにこれらの影響は出生時のみならず、生後、あるいは成長後の健康状態にも影響する可能性がある。環境要因により児の DNA の修飾異常が引き起こされ次世代に出生後も影響が引き継がれるからである。しかしヒトを対象にこれを明確に実証した研究はほとんどない (EHP 2013)。特にヒトでの検証には前向き出生コホートによる追跡や介入が必須であるため、世界的に研究体制の整備は喫緊の課題である。

次世代影響発現のメカニズムとして、可塑性に富む胎児期および生後早期の時期に、DNA の化学修飾を伴う後天的遺伝子制御・エピゲノム変化が起こり、それが疾病素因となり健康障害をもたらすという “DOHaD (Developmental Origins of Health and Disease)” 説が注目されている (Science 2004; Nature 2004; Trends Genet 2017)。この DNA 修飾異常は次世代の発達障害や発育遅延・肥満、アレルギーなどの多様な健康リスクに関連して発現するので、その分子メカニズムを解明することは環境化学物質のリスク評価に必須である。エピゲノム修飾は塩基配列変化を伴わないため可逆性を有している。従ってコホート研究により疾病発症者と非発症者を比較することにより原因を見つけること、あるいは胎児期または乳幼児期に起源をもつ多くの小児疾病を予防するための介入研究への糸口をつかむこともできる (J DOHaD 2017)。

## 2. 研究の目的

世界的に製造・使用量が増加し健康影響が懸念されている環境化学物質への胎児期曝露が、エピゲノム変化の 1 つである DNA メチル化変化を引き起こし、小児期以降の健康障害をもたらす可能性を、ライフコース・アプローチにより実証的に示す。具体的には、様々な環境化学物質の胎児期曝露によって生じるメチル化変化が胎児期および生後、学童期・思春期の健康障害を発現させる機序を明らかにする。エピゲノムを介した健康影響発現メカニズムが解明できれば、胎児期あるいは乳幼児期に起源をもつ多くの小児疾病予防の糸口となり、将来的には本格的な介入研究への発展が可能になる。

## 3. 研究の方法

北海道スタディ大規模コホートの対象者に、学校健診記録の転記を依頼し、児の小学校 1 年生から 6 年生の 1 年に 1 回から 2 回の学校健診日 (測定日)、身長、体重の測定値を収集した。出生時および小学校 1 年生から 6 年生までの体格データがそろった児のうち、小学 6 年生時の肥満度 = (実測体重 - 標準体重) / 標準体重 × 100 (日本小児内分泌学会) が 20 以上の肥満傾向児 218 名、および、肥満傾向でない児 282 名、合計 500 名のケースサブコホート集団を抽出した。

小児肥満ケースサブコホート 500 名について、胎児期環境によるエピゲノム変化が将来の疾病発症を予測できるかを検討するため、イルミナ社の Infinium MethylationEPIC BeadChip を用いて臍帯血 DNA 約 85 万 CpG のエピゲノム網羅的メチル化解析 (EPIC) を実施した。500 名の臍帯血から DNA を抽出・精製後、2 本鎖 DNA の濃度・純度を分光および蛍光法により検定、さらに、断片化がないことを電気泳動法により確認した。得られた DNA をバイサルファイト処理し、全ゲノム増幅、断片化処理、マイクロアレイへのハイブリダイゼーション、スキヤニングを実施、全 500 検体のシグナルデータを得た。以上の行程はタカラバイオ社で行なった。500 検体全てにおいて 99% (約 85 万 CpG) 以上の高い検出率を得た。また、各プレートに配置されたコントロールサンプルの相関係数は全て 0.98 以上であり、懸念されるプレート間ごとに生じるバッチ差も大きくないと予想された。

得られた 85 万 CpGs の DNA メチル化値に関して、クオリティーコントロール、標準化、バッチ補正等の作業を行った。母の妊娠前肥満によるメチル化変化の差異を抽出することを目的に、ロバスト線形回帰、および、経験ベイズ法を用いて、従属変数に 85 万 CpG、独立変数に母の年齢、母の学歴、児の性別および細胞組成を投入して解析した。児の性別で 2 群に層別して解析する場合は、児の性別を除く共変量を用いた。

## 4. 研究成果

小学校 6 年生の肥満傾向のケースコントロール 500 名の集団において、両親と児の属性を肥満の有無で比較した結果を表 1 に示した。母の妊娠前 BMI、母の妊娠前肥満、母と父の教育歴、児の性別、7 歳の児の受動喫煙に関して、小児肥満の有無で有意な差を認めた。

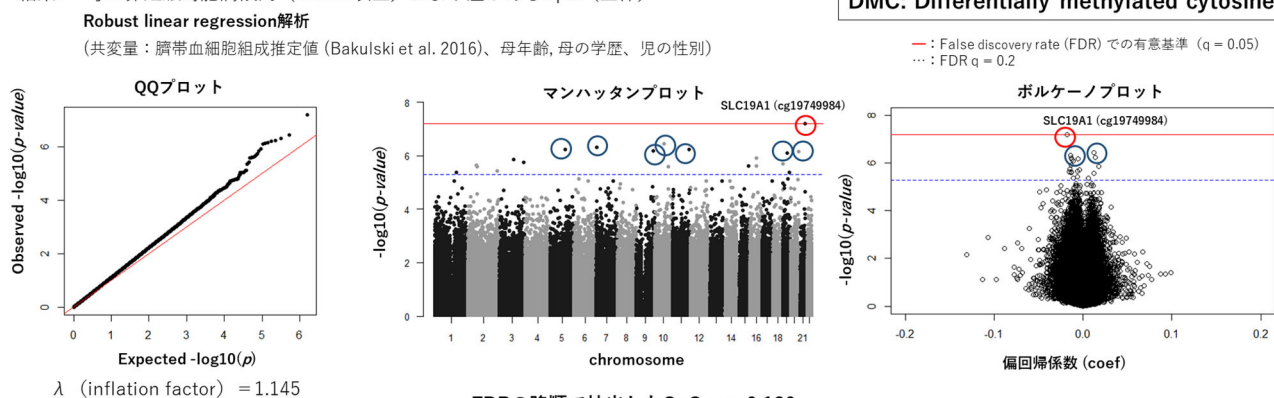
結果1 小児肥満の有無による両親と児の属性

属性		肥満あり (n=218)	肥満なし (n=282)	p値
<b>両親の特徴</b>				
出産時の母の年齢	歳	30.9 ± 4.8	30.9 ± 4.4	0.998
出産時の父の年齢	歳	33.2 ± 5.8	32.4 ± 5.5	0.123
母の妊娠前BMI	Kg/m <sup>2</sup>	<b>23.3 ± 4.0</b>	<b>20.7 ± 2.4</b>	<b>&lt; 0.001</b>
母の妊娠前肥満	肥満 (BMI 25 ≧)	<b>51 (24.3)</b>	<b>17 (6.3)</b>	<b>&lt; 0.001</b>
出産歴	なし	108 (50.9)	128 (47.6)	0.261
	あり	104 (49.1)	141 (52.4)	
母の教育歴	12年以下	<b>105 (49.6)</b>	<b>105 (38.9)</b>	<b>0.012</b>
	13年以上	<b>107 (50.5)</b>	<b>165 (61.1)</b>	
父の教育歴	12年以下	<b>107 (50.7)</b>	<b>110 (40.9)</b>	<b>0.02</b>
	13年以上	<b>104 (49.3)</b>	<b>159 (59.1)</b>	
妊娠期の世帯年収	500万円未満	122 (63.9)	148 (63.4)	0.42
	500万円以上	69 (36.1)	89 (37.6)	
妊娠初期の母の飲酒	あり	35 (16.7)	37 (13.9)	0.235
妊娠初期の母の喫煙	あり	17 (8.3)	18 (6.9)	0.351
妊娠初期の父の喫煙	あり	126 (60.3)	145 (55.3)	0.162
妊娠後期の母の血中コチニン濃度	<0.21ng/ml	40 (20.8)	47 (19.2)	0.875
	0.22-11.48ng/ml	136 (70.8)	179(73.1)	
	≧11.49ng/ml	16 (8.3)	19 (7.8)	
<b>児の特徴</b>				
性別	男児	<b>131 (60.1)</b>	<b>139 (49.3)</b>	<b>0.016</b>
	女児	<b>87 (39.9)</b>	<b>143 (50.7)</b>	
出生体重	G	3,063 ± 364	3,058 ± 356	0.846
在胎期間	週	38.9 ± 1.4	38.9 ± 1.3	0.91
7歳の児の受動喫煙 (n=452)	あり	<b>96 (49.0)</b>	<b>86 (33.6)</b>	<b>0.001</b>

p-value by chi-square test, t-test, and Mann-Whitney U-test.

ロバスト線形回帰による有意水準 FDR  $q < 0.05$  を満たすメチル化変化は、全体の集団で母の非妊娠前肥満で差異がある 1CpG、男児のみの集団で児の肥満傾向により差異がある 2CpG が検出された (結果 2、3、4)。全体の解析で抽出された SLC19A1 遺伝子 (cg19749984) は細胞内の葉酸代謝に関与し、ヒト肥満細胞で SLC19A1 をノックダウンすると細胞内の葉酸代謝が阻害され DNA メチル化が誘導されることにより炎症に関連する遺伝子の発現が増強されることが報告されている (Petrus et al., 2019)。有意水準に達しなかったが、母の妊娠前肥満による差異が認められた (FDR  $q < 0.1$ ) 7CpG のうち、MAD1L1 遺伝子 (cg13844341) は野菜 (大豆など) に含まれる植物性エストロゲンの接種によるメチル化率が変化し、欧米で母や子の BMI と関連する報告されている (Alfano et al., 2019; Sharp et al., 2017) (結果 2)。

結果2 母の非妊娠時肥満傾向 (BMI25以上) により差があるCpG (全体)



FDRの降順で抽出したCpG  $q < 0.120$

Probe ID	Gene	CHR	Feature	Coef	q
cg19749984	SLC19A1	21	TSS1500	-0.01774	0.049198
cg20445314	SGPL1	10	Body	0.012359	0.077512
cg13844341	MAD1L1	7	Body	-0.01436	0.077512
cg17155068	PGGT1B	5	Body	0.01357	0.077512
cg16279861		11	IGR	-0.01299	0.077512
cg18974533	MAPKAP1	9	Body	-0.00551	0.077512
cg00331541	GMEB2	20	3'UTR	-0.0123	0.077512
cg19225848	LRP3	19	Body	-0.01077	0.077512
cg20119380	ZNF423	16	Body	-0.01295	0.104275
cg16006418	BBX	3	5'UTR	0.017517	0.107037
cg07148691	ST6GAL1	3	5'UTR	-0.01522	0.120832
cg18695619	ATP9B	18	Body	-0.00378	0.120832
cg10021234	LOC101927661	2	Body	-0.00671	0.120832
cg00192220		16	IGR	-0.01365	0.120832
cg06105546		15	IGR	-0.01565	0.120832
cg26605164	KAZALD1	10	1stExon	-0.01343	0.120832
cg26386284	STAMPB	2	Body	0.012471	0.120832

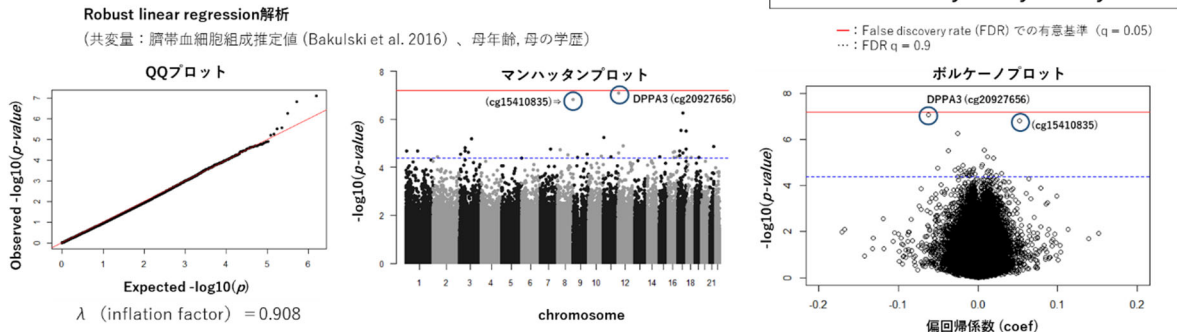
抽出されたCpGサイト:

**SLC19A1** 遺伝子: 細胞内の葉酸代謝に関与し、ヒト肥満細胞で SLC19A1 をノックダウンすると細胞内の葉酸代謝が阻害され DNA メチル化が誘導されることにより炎症に関連する遺伝子の発現が増強される (Petrus et al., 2019)

**SGPL1** 遺伝子: スフィンゴ脂質を含む代謝に関与する遺伝子

**MAD1L1** 遺伝子: 有糸分裂などの細胞周期制御遺伝子。野菜 (大豆など) に含まれる植物性エストロゲンの接種によるメチル化率が変化する。欧米で母や子の BMI と関連する報告あり (Alfano et al., 2019; Sharp et al., 2017)

結果3 母の非妊娠時肥満傾向 (BMI25以上) により差があるCpG (男児のみ)

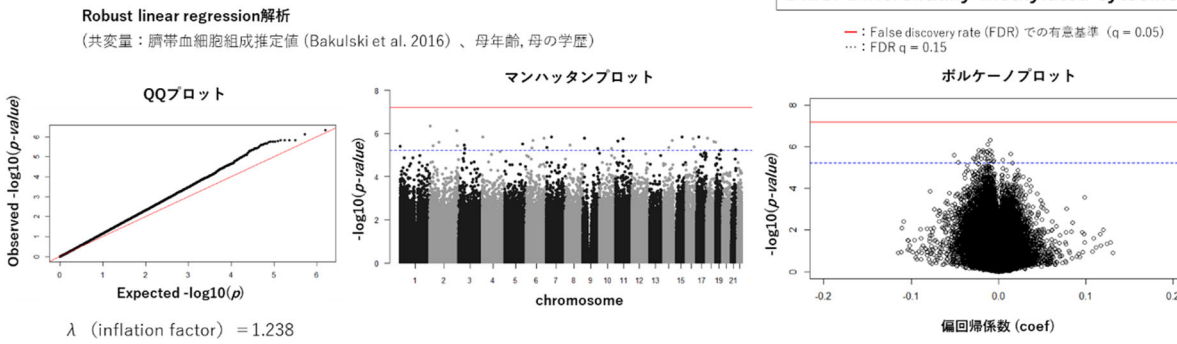


Probe ID	Gene	CHR	Feature	Coef	q
cg20927656	DPPA3	12	TSS1500	-0.06245	0.060292
cg15410835		8	IGR	0.052148	0.060292
cg11584200		17	IGR	-0.02574	0.144189
cg24593076	UTP6	17	Body	0.007986	0.473084
cg17467035	TBC1D16	17	5'UTR	-0.03704	0.473084
cg14081591	TSSC4	11	TSS1500	0.012287	0.714676
cg06196742		3	IGR	0.01976	0.114676
cg00966380		12	IGR	0.005056	0.86212
cg19749984	SLC19A1	21	TSS1500	-0.01922	0.86212
cg03434479	DCP1A	3	Body	0.004027	0.86212
cg10570002	RHBDP2	17	5'UTR	-0.02446	0.86212
cg27297376	SMURF1	7	3'UTR	-0.05111	0.86212
cg04172561	TNFRSF10D	8	Body	-0.09563	0.86212
cg04091206	TOM1L2	17	3'UTR	-0.02294	0.86212
cg06114200	GACNA2D3	3	Body	-0.00662	0.86212
cg10087399	SORT1	1	Body	-0.0219	0.86212
cg19897874	TMEM201	1	3'UTR	-0.0103	0.86212
cg26863864		16	IGR	0.012906	0.86212

Probe ID	Gene	CHR	Feature	Coef	q
cg13702954		3	IGR	0.016356	0.86212
cg20119380	ZNF423	16	Body	-0.01624	0.86212
cg12413440	VWF	12	Body	0.011406	0.86212
cg08654815	NFE2L1	17	Body	-0.00759	0.86212
cg19035916	VGLL4	3	5'UTR	-0.01004	0.86212
cg08251386	GPR21	9	TSS1500	-0.01465	0.86212
cg11758055	UQCRCB	8	TSS1500	0.029235	0.86212
cg12978198	TOM1L2	17	TSS1500	-0.00358	0.86212
cg02783601		10	IGR	-0.00833	0.86212
cg08729719	COX4NB	16	Body	-0.01141	0.86212
cg19375783	PWRN1	15	Body	0.022655	0.86212
cg14763806	LOC101929596	2	Body	-0.01291	0.86212
cg24478470		11	IGR	-0.01908	0.86212
cg19605701	PEPD	19	Body	0.009547	0.86212
cg21164455	LOC102723376	18	TSS1500	-0.02187	0.86212
cg01087950	SETBP1	18	Body	0.016771	0.86212
cg04388076	SHB	9	Body	-0.01032	0.86212
cg1749481	NUDT21	16	Body	0.015233	0.86212
cg21574423	BTNL9	5	Body	-0.02554	0.86212

抽出されたCpGサイト:  
**DPPA3**遺伝子: マイルズ・カーバナー症候群、早発閉経の発症に関連する遺伝子  
**cg15410835**: これまでに詳しい報告がない

結果4 母の非妊娠時肥満傾向 (BMI25以上) により差があるCpG (女児のみ)



Probe ID	Gene	CHR	Feature	Coef	q
cg11024746	MYT1L	2	Body	-0.00899	0.121635209
cg05957382		2	IGR	-0.01212	0.121635209
cg05774127	GLI3	7	5'UTR	-0.02233	0.121635209
cg12157761	UACA	15	Body	-0.01773	0.121635209
cg06836512	PPP2R2C	4	Body	-0.01042	0.121635209
cg00306284	SLC5A10	17	TSS200	-0.01008	0.121635209
cg11065462	NFIB	9	Body	-0.01378	0.121635209
cg10414242	AKAP12	6	5'UTR	-0.00824	0.121635209
cg13865214		18	IGR	-0.01974	0.121635209
cg25136126	ARL2-SNX15	11	Body	-0.01274	0.121635209
cg22686259	CNGB1	16	Body	-0.01688	0.121635209
cg01856754	SERPINA1	14	TSS200	-0.01529	0.121635209
cg10536327	PRIM2	6	Body	0.01428	0.121635209
cg20161736	NAV2	11	Body	-0.00964	0.121635209
cg02384112		18	IGR	-0.05077	0.121635209
cg05795731	LRRTM4	2	Body	-0.02402	0.121635209

Probe ID	Gene	CHR	Feature	Coef	q
cg02465177	ATP9B	18	Body	-0.00757	0.121635209
cg22941668	MIR145	5	TSS200	-0.02372	0.13230148
cg24990241		8	IGR	-0.02878	0.13230148
cg16664822	IFRD2	3	TSS1500	-0.01548	0.13230148
cg01620785	SLC5A6	2	TSS1500	-0.01945	0.13230148
cg22355050		2	IGR	-0.01289	0.13230148
cg05611259	PEX10	1	TSS1500	-0.02711	0.13230148
cg19123760	EDC4	16	TSS200	0.004744	0.13230148
cg00083265	KIAA0415	7	Body	-0.00556	0.13230148
cg25167372	SPTB	14	Body	-0.00805	0.13230148
cg23346933	CLIC5	6	Body	-0.01198	0.13230148
cg18974533	MAPKAP1	9	Body	-0.00624	0.13230148
cg04941246	WNT5A	3	Body	-0.01086	0.13230148
cg00763006	FL41350	10	Body	-0.02579	0.13230148
cg20733761	PCBP3	21	Body	-0.04602	0.141448067
cg00741731	LYPD4	19	TSS200	0.016084	0.147794508

全体のKEEGパスウェイ解析では、FDRで有意水準に達する経路は抽出されず、多重比較の補正を行わないp < 0.05の統計水準では、グリコサミノグリカンの生合成 - ヘパラン硫酸 / ヘパリン (path:hsa00534、Glycosaminoglycan biosynthesis - heparan sulfate / heparin): 糖鎖の生合成と代謝に関与し、ヘパラン硫酸 (heparan sulfate (HS)) は免疫機能や成長因子に関与する経路 (Li et al., 2016)。アフリカトリパノソーマ (path:hsa05143、African trypanosomiasis): 寄生虫の感染による代謝物に関与する経路 (Pilalis et al., 2015)。同種移植片拒絶反応 (path:hsa05330、Allograft rejection): 免疫疾患に関連し、アルツハイマー症への関与が報告されている経路 (Jiang et al., 2017)。MAPKシグナル伝達経路 (path:hsa04010、MAPK signaling pathway): 細胞増殖やアポトーシスを含む多くの細胞機能を制御し、大腸がん (Slattery et al., 2018) や脳卒中後のうつ病 (Li et al., 2021) に関与することが報告されている経路が抽出された (結果5)。

結果5 母の非妊娠時肥満傾向により差異があるパスウェイ (全員)

	Description	N	DE	p-value	抽出されたパスウェイ:
path:hsa00534	Glycosaminoglycan biosynthesis - heparan sulfate / heparin	24	2	0.0237138	グリコサミノグリカンの生合成 - ヘパラン硫酸 / ヘパリン: 糖鎖の生合成と代謝に関与する。ヘパラン硫酸 (heparan sulfate (HS)) は免疫機能や成長因子に関与する (Li et al., 2016)
path:hsa05143	African trypanosomiasis	37	2	0.0309411	
path:hsa05330	Allograft rejection	38	2	0.0368968	アフリカトリパノソーマ: 寄生虫の感染による代謝物に関与 (Pilalis et al., 2015)
path:hsa04010	MAPK signaling pathway	295	7	0.0459692	
path:hsa05320	Autoimmune thyroid disease	53	2	0.0522725	同種移植片拒絶反応: 免疫疾患に関連し、アルツハイマー症への関与が報告されている (Jiang et al., 2017)
path:hsa00983	Drug metabolism - other enzymes	79	2	0.0709198	
path:hsa04061	Viral protein interaction with cytokine and cytokine receptor	100	2	0.0796573	MAPKシグナル伝達経路: 細胞増殖やアポトーシスを含み多くの細胞機能を制御する。大腸がん (Slattery et al., 2018) や脳卒中後のうつ病 (Li et al., 2020) に関与することが報告されている。
path:hsa00514	Other types of O-glycan biosynthesis	46	2	0.0913454	
path:hsa04110	Cell cycle	124	3	0.0932524	Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway analysis
path:hsa05162	Measles	138	3	0.0940182	
path:hsa05030	Cocaine addiction	49	2	0.1017139	
path:hsa04210	Apoptosis	136	3	0.1207686	
path:hsa01524	Platinum drug resistance	73	2	0.1265854	
path:hsa04340	Hedgehog signaling pathway	50	2	0.1387964	
path:hsa00533	Glycosaminoglycan biosynthesis - keratan sulfate	14	1	0.1391358	
path:hsa05160	Hepatitis C	155	3	0.1499995	
path:hsa00770	Pantothenate and CoA biosynthesis	19	1	0.1647415	
path:hsa04140	Autophagy - animal	137	3	0.1659128	
path:hsa05031	Amphetamine addiction	69	2.5	0.1720022	
path:hsa04977	Vitamin digestion and absorption	24	1	0.1734493	

DMC と KEGG パスウェイの結果から、500 名前後のサンプルサイズでは男女別の検討は難しいことが示唆された。全体では、母の妊娠前の肥満傾向によって差異が認められた CpG は、栄養の代謝や炎症、免疫系に関与し、母の体格と関連することは妥当であると考えられた。また、欧米のコホートで報告された結果と一致するもの、これまでに報告がない CpG の両方が含まれており、アジア人を対象にした網羅的メチル化解析の貴重なデータであると考えられた。

今後は差異が認められた CpG が関与するような、栄養や炎症性マーカーを測定すると共に、抽出された CpG を用いて、小児肥満との関連を多変量解析で明らかにする。

#### <引用文献>

1. Alfano R, Guida F, Galobardes B, Chadeau-Hyam M, Delpierre C, Ghantous A, et al. Socioeconomic position during pregnancy and DNA methylation signatures at three stages across early life: epigenome-wide association studies in the ALSPAC birth cohort. *International Journal of Epidemiology*. 2019;48(1):30-44.
2. Jiang QH, Jin SL, Jiang YS, Liao MZ, Feng RN, Zhang LC, et al. Alzheimer's Disease Variants with the Genome-Wide Significance are Significantly Enriched in Immune Pathways and Active in Immune Cells. *Mol Neurobiol*. 2017;54(1):594-600.
3. Li JP, Kusche-Gullberg M. Heparan Sulfate: Biosynthesis, Structure, and Function. *Int Rev Cel Mol Bio*. 2016;325:215-73.
4. Li Y, Wang ZC, Zhu MX, Fan GB, Xu GS, Zhao TY, et al. Network and Pathway-Based Integrated Analysis Identified a Novel "rs28457673-miR-15/16/195/424/497 Family-IGF1R-MAPK Signaling Pathway" Axis Associated With Post-stroke Depression. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2021;8.
5. Petrus P, Bialesova L, Checa A, Kerr A, Naz S, Backdahl J, et al. Adipocyte Expression of SLC19A1 Links DNA Hypermethylation to Adipose Tissue Inflammation and Insulin Resistance. *J Clin Endocr Metab*. 2018;103(2):710-21.
6. Pilalis E, Koutsandreas T, Valavanis I, Athanasiadis E, Spyrou G, Chatzioannou A. KENeV: A web-application for the automated reconstruction and visualization of the enriched metabolic and signaling super-pathways deriving from genomic experiments. *Comput Struct Biotech*. 2015;13:248-55.
7. Sharp GC, Salas LA, Monnereau C, Allard C, Yousefi P, Everson TM, et al. Maternal BMI at the start of pregnancy and offspring epigenome-wide DNA methylation: findings from the pregnancy and childhood epigenetics (PACE) consortium. *Hum Mol Genet*. 2017;26(20):4067-85.
8. Slattery ML, Mullany LE, Sakoda LC, Wolff RK, Samowitz WS, Herrick JS. The MAPK-Signaling Pathway in Colorectal Cancer: Dysregulated Genes and Their Association With MicroRNAs. *Cancer Inform*. 2018;17.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Miura Ryu, Araki Atsuko, Minatoya Machiko, Miyake Kunio, Chen Mei-Lien, Kobayashi Sumitaka, Miyashita Chihiro, Yamamoto Jun, Matsumura Toru, Ishizuka Mayumi, Kubota Takeo, Kishi Reiko	4. 巻 9
2. 論文標題 An epigenome-wide analysis of cord blood DNA methylation reveals sex-specific effect of exposure to bisphenol A	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 12369
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-48916-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Miura Ryu, Ikeda-Araki Atsuko, Ishihara Toru, Miyake Kunio, Miyashita Chihiro, Nakajima Tamie, Kobayashi Sumitaka, Ishizuka Mayumi, Kubota Takeo, Kishi Reiko	4. 巻 783
2. 論文標題 Effect of prenatal exposure to phthalates on epigenome-wide DNA methylations in cord blood and implications for fetal growth: The Hokkaido Study on Environment and Children's Health	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science of The Total Environment	6. 最初と最後の頁 147035 ~ 147035
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.scitotenv.2021.147035	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Miyake Kunio, Miyashita Chihiro, Ikeda-Araki Atsuko, Miura Ryu, Itoh Sachiko, Yamazaki Keiko, Kobayashi Sumitaka, Masuda Hideyuki, Ooka Tadao, Yamagata Zentaro, Kishi Reiko	4. 巻 13
2. 論文標題 DNA methylation of GF11 as a mediator of the association between prenatal smoking exposure and ADHD symptoms at 6?years: the Hokkaido Study on Environment and Children's Health	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical Epigenetics	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13148-021-01063-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Miyashita Chihiro, Araki Atsuko, Miura Ryu, Ait Bamai Yu, Kobayashi Sumitaka, Itoh Sachiko, Ito Kumiko, Tsai Meng Shan, Kishi Reiko	4. 巻 32
2. 論文標題 Prevalence of childhood wheeze and modified DNA methylation at 7 years of age according to maternal folate levels during pregnancy in the Hokkaido Study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pediatric Allergy and Immunology	6. 最初と最後の頁 514 ~ 523
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pai.13425	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Minatoya Machiko, Kishi Reiko	4. 巻 18
2. 論文標題 A Review of Recent Studies on Bisphenol A and Phthalate Exposures and Child Neurodevelopment	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Environmental Research and Public Health	6. 最初と最後の頁 3585 ~ 3585
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijerph18073585	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kashino Ikuko, Sasaki Seiko, Okada Emiko, Matsuura Hideyuki, Goudarzi Hومان, Miyashita Chihiro, Okada Eisaku, Ito Yoichi M., Araki Atsuko, Kishi Reiko	4. 巻 136
2. 論文標題 Prenatal exposure to 11 perfluoroalkyl substances and fetal growth: A large-scale, prospective birth cohort study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Environment International	6. 最初と最後の頁 105355 ~ 105355
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.envint.2019.105355	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 小林澄貴, 佐田文宏, 荒木敦子, 宮下ちひろ, ホウマヌゴウダルジ, 那須民江, 岸玲子
2. 発表標題 妊婦の血中フタル酸エステル類と脂肪酸濃度：遺伝環境交互作用の影響 北海道スタディ
3. 学会等名 第91回日本衛生学会学術総会 (Web開催)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 湊屋街子, 岸玲子
2. 発表標題 妊娠中の母のフタル酸エステル類曝露と子どもの肥満の関連の検討
3. 学会等名 第79回日本公衆衛生学会総会. オンライン開催
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮下ちひろ
2. 発表標題 胎児期の環境要因と低出生体重：環境と子どもの健康に関する北海道スタディ
3. 学会等名 第79回日本公衆衛生学会学術総会：出生コホート連携シンポジウム。（オンライン開催）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計8件

1. 著者名 Kishi R., Grandjean P.	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Springer Nature	5. 総ページ数 557
3. 書名 Health Impacts of Developmental Exposure to Environmental Chemicals	

1. 著者名 Kishi R., Norback D., Araki A.	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Springer Nature	5. 総ページ数 333
3. 書名 Indoor Environmental Quality and Health Risk toward Healthier Environment for All	

1. 著者名 Itoh S.	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Springer Nature	5. 総ページ数 21
3. 書名 Health Impacts of Developmental Exposure to Environmental Chemicals. (Chapter 6) Thyroid Hormone System and Development	



1. 著者名 Kishi R.	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Springer Nature	5. 総ページ数 20
3. 書名 Impacts of Developmental Exposure to Environmental Chemicals on Human Health with Global Perspectives. Health Impacts of Developmental Exposure to Environmental Chemicals	

1. 著者名 Kishi R., Araki A.	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Springer Nature	5. 総ページ数 13
3. 書名 Health Impacts of Developmental Exposure to Environmental Chemicals. (Chapter 22) Further Direction of Research and Policy Making of Environment and Children's Health	

1. 著者名 Minatoya M., Hanaoka T., Kishi R.	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Springer Nature	5. 総ページ数 14
3. 書名 Health Impacts of Developmental Exposure to Environmental Chemicals. (Chapter 2) Environmental Exposures and Adverse Pregnancy-Related Outcomes	

1. 著者名 Miyashita C.	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Springer Nature	5. 総ページ数 28
3. 書名 Health Impacts of Developmental Exposure to Environmental Chemicals. (Chapter 12) Environmental Pollution and Recent Data on Asian Children's Health in Relation to Pre- and Early Post-natal Exposure to Persistent Organic Pollutants, Including PCBs, PCDD/PCDFs, and Organochlorine Pesticides	

1. 著者名 Sata F., Kobayashi S., Kishi R.	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Springer Nature	5. 総ページ数 28
3. 書名 Health Impacts of Developmental Exposure to Environmental Chemicals. (Chapter 19) Gene-Environment Interactions to Detect Adverse Health Effects on the Next Generation	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	荒木 敦子 (Araki Atsuko) (00619885)	北海道大学・環境健康科学研究教育センター・特任教授  (10101)	
研究分担者	小林 澄貴 (Kobayashi Sumitaka) (10733371)	北海道大学・環境健康科学研究教育センター・特任講師  (10101)	
研究分担者	三浦 りゅう (Miura Ryu) (20506414)	北海道大学・環境健康科学研究教育センター・客員研究員  (10101)	
研究分担者	湊屋 街子 (Minatoya Machiko) (50733367)	北海道大学・環境健康科学研究教育センター・客員研究員  (10101)	
研究分担者	宮下 ちひろ (Miyashita Chihiro) (70632389)	北海道大学・環境健康科学研究教育センター・特任准教授  (10101)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	伊藤 佐智子  (Ito Sachiko)  (90580936)	北海道大学・環境健康科学研究教育センター・特任講師    (10101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関