

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 3 月 31 日現在

機関番号：10101  
 研究種目：基盤研究(C)  
 研究期間：2009～2011  
 課題番号：21590678  
 研究課題名（和文） ヒト胎児期における喫煙曝露と遺伝要因の交互作用による小児神経発達への影響の解明  
 研究課題名（英文） Adverse neurodevelopment in infancy 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・助教  
 研究者番号：30448831

## 研究成果の概要（和文）：

妊娠中の喫煙曝露と化学物質に対する遺伝的感受性の個体差が胎児発育に関与することはいくつか報告されてきたが、出生後の神経発達・認知機能への影響についてはまだ十分な検証がされていないことから、妊娠 23～35 週に前向きコホート研究に登録した妊婦を対象として、胎児期の喫煙曝露と母親の遺伝的感受性素因による交互作用が小児神経発達に及ぼす影響を検討した。外来異物と結合してチトクロム P450(CYP)などの発現誘導に関与しているアリル炭化水素受容体(AhR)やたばこ煙に含まれる化学物質である多環芳香族炭化水素類(PAHs)、ニコチンやニトロソアミン類などの代謝、解毒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について解析したが、喫煙曝露による小児神経発達への遺伝-環境交互作用に有意な関連は認められなかった。

## 研究成果の概要（英文）：

Genetic susceptibility to tobacco smoke might have relation to adverse birth outcomes. To estimate the effects of maternal smoking during pregnancy and genetic polymorphisms on infant neurodevelopment, we conducted a prospective birth cohort study of women who delivered singleton live births. Multiple linear regression models were used to estimate the association maternal smoking and certain polymorphisms with cognitive deficits at 6, 18 and 42 months of age. There was no correlation between any of the genotypes and adverse effects.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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：母子保健

1. 研究開始当初の背景  
 妊娠中の喫煙曝露は乳幼児期や学童期の

神経行動発達に影響を及ぼす可能性が示唆されているが、関連は認められないという報

告もあり、一因として、化学物質に対する遺伝的感受性の関与が考えられる。また、低出生時体重や Small-for-Gestational-Age (SGA)が乳幼児期の神経発達・認知機能遅延あるいは幼児期の問題行動と関連する可能性も示唆されている。妊娠後期に母親の多環芳香族炭化水素類(PAHs)曝露量が多いと児の出生時体格が低下し、その後、3歳時におけるベイリー乳幼児発達検査(BSID-II)の精神発達得点(MDI)が有意に低いことが報告された。

胎児発育への影響の個体差については、喫煙妊婦において、たばこ煙中の 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(CYP1A1, GSTT1 など)と低出生体重あるいは早産との関連が報告されている。さらに、申請者のグループは、これらの遺伝子多型に加え、外来異物と結合して CYP などの発現誘導に関与しているアシル炭化水素受容体(AhR)、ニトロソアミン類の代謝に関与する酵素として NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 (NQO1) 遺伝子の遺伝子多型が出生時体格と負の関連があることを報告した。

このように、妊娠中の喫煙曝露と遺伝的感受性の個体差が胎児発育に関与することはいくつか報告されてきたが、出生後の神経発達・認知機能への影響における遺伝的感受性素因の関連についてはまだ十分な検証がされていない。

## 2. 研究の目的

前向きコホート研究として約500名の妊婦とその児からなる調査集団を維持している本研究では、胎児期における喫煙曝露と母親の遺伝的感受性素因による交互作用が小児神経発達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 PAHs, ニコチンやニトロソアミン類などの代謝、解毒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、喫煙曝露に対する感受性個体要因の解明と、②BSID-IIなどの神経行動発達検

査および質問紙による育児環境調査を行ない、小児の神経発達・認知機能を評価して、③ 喫煙曝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た。同程度の曝露でも母の感受性素因によってどのように小児の神経発達あるいは認知機能が異なるかを明らかにすることにより、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 週の妊婦を登録して、児の出生時、生後 6 カ月、18 カ月、42 カ月時に追跡調査を実施した。

(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、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曝露時間、家庭内喫煙者の喫煙本数など 妊娠時における能動および受動喫煙曝露状況について思い出しバイアスがか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た。さらに、生後 18 カ月および 42 カ月時に児の受動喫煙曝露状況や健康状態について郵送法で追跡調査を実施した。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直接的神経発達検査の結果を総合的に解析して環境要因を評価した。

(2) 小児神経発達検査の解析と評価：生後 6 カ月、18 カ月に BSID-II および 42 カ月に認知機能検査 (K-ABC)を実施した。また、母親の認知能検査(簡易版 WAIS-R)も行った。質問紙による育児環境を調整因子として解析を行ない、胎児期の喫煙曝露が小児神経発達に及ぼす影響について評価した。

(3) 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、たばこ煙中化学物質の代謝、解毒酵素遺伝子および DNA 修復遺伝子の多型を解析した(下記①~⑫)。遺伝子解析は Real-time PCR 装置を用いた TaqMan 法で行ない、個体要因を評価した。

- ①Aryl hydrocarbon receptor (AhR),
- ②Cytochrome P450 1A1 (CYP1A1),
- ③Cytochrome P450 1B1 (CYP1B1),
- ④Cytochrome P450 2E1 (CYP2E1),
- ⑤NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 (NQO1),
- ⑥Glutathione S-transferase Mu 1 (GSTM1),
- ⑦Glutathione S-transferase Theta 1 (GSTT1),
- ⑧Glutathione S-transferase Pi 1 (GSTP1),
- ⑨X-ray repair complementing defective repair in Chinese hamster cells 1 (XRCC1),
- ⑩X-ray repair complementing defective repair in Chinese hamster cells 3 (XRCC3),
- ⑪Excision repair cross-complementing rodent repair deficiency, complementation group 1 (ERCC1),
- ⑫O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT).

(4) 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と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解析して乳幼児期の神経発達・認知機能に関連する要因の評価を行ない、胎児期の喫煙曝露に対する小児神経発達の危険因子を同定した。

#### 4. 研究成果

(1) 乳幼児期における直接的な神経行動発達評価として実施した BSID-II の平均得点は、生後 6 ヶ月の心理発達指標 (MDI) が 90.6 ± 5.7, 心理運動発達指標 (PDI) が 89.8 ± 10.6, 生後 18 ヶ月の MDI が 83.4 ± 11.8, PDI が 87.1 ± 11.3 であった。また、生後 42 ヶ月の K-ABC 平均得点は、経時処理尺度が 99.7 ± 16.9, 同時処理尺度が 105.1 ± 12.4, 認知処理過程尺度が 103.2 ± 12.7 および習得度尺度が 99.9 ± 13.9 で日本人の同年齢の幼児とほぼ同じであった。

(2) 本コーホートで胎児期のダイオキシン類曝露と神経行動発達との関連を検討した報告では、生後 6 ヶ月の BSID-II の MDI と PDI で有意な関連が認められた異性体があったが、生後 18 ヶ月では、有意な負の関連が減少しており、胎児期曝露の影響は母乳保育や生後の養育環境により改善されることが示唆された。本研究では、胎児期の喫煙曝露と母親の遺伝的感受性素因が乳幼児期の

神経行動発達に及ぼす影響を検討したが、生後 6, 18, 42 ヶ月のいずれにおいても有意な関連は認められなかった。今後は、たばこ煙中化学物質として芳香族アミン類の代謝に関与する遺伝子多型 (NAT2 など) の解析を実施する。また、母だけでなく、児の遺伝子解析も行って、胎児期の喫煙曝露が小児神経発達に及ぼす影響について検討する。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 16 件)

- 1) Kanazawa A, Miyashita C, Okada E, Kobayashi S, Washino N, Sasaki S, Yoshioka E, Mizutani F, Chisaki Y, Saijo Y, Kishi R. Blood persistent organochlorine pesticides of pregnant women relating to their characteristics in the Hokkaido Study on environment and children's health. *Sci Total Environ*. In press. 査読有.
- 2) Yla TA, Sasaki S, Miyashita C, Braimoh TS, Kashino I, Kobayashi S, Okada E, Baba T, Yoshioka E, Minakami H, Endo G, Sengoku K, Kishi R. Effects of maternal 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphisms and tobacco smoking on infant birth weight in a Japanese population. *J Epidemiology*. 22(2):91-102,2012. 査読有.
- 3) Okada E, Sasaki S, Saijo Y, Washino N, Miyashita C, Kobayashi S, Konishi K, Ito YM, Ito R, Nakata A, Iwasaki Y, Saito K, Nakazawa H, Kishi R. Prenatal exposure to perfluorinated chemicals and relationship with allergies and infectious diseases in infants. *Environ Res*. 112(1): 118-125,2011. 査読有.
- 4) Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Onozuka D, Sasaki S, Miyashita C, Yoshioka E, Yuasa M, Kishi R, Iida T, Uchi H, Furue M. Concentrations of polychlorinated dibenzop-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and polychlorinated biphenyls in blood and breast milk collected from pregnant women in Sapporo City, Japan. *Chemosphere*. 85(11):1694-1700,2011. 査読有.
- 5) Kishi R, Sasaki S, Yoshioka E, Yuasa M, Sata F, Saijo Y, Kurahashi N, Tamaki J, Endo T, Sengoku K, Nonomura K, Minakami H. Cohort Profile: The Hokkaido Study on Environment and Children's Health in Japan. *Int J Epidemiol*. 40(3)

- :611-618,2011. 査読有.
- 6)Miyashita C, Sasaki S, Saijo Y, Washino N, Okada E, Kobayashi S, Konishi K, Kajiwara J, Todaka T, Kishi R. Effects of prenatal exposure to dioxin-like compounds on allergies and infections during infancy. *Environ Res.* 111(4):551-558,2011. 査読有.
- 7)金澤文子,宮下ちひろ,岡田恵美子,小林登貴,鷲野孝揚,湯浅資之,佐々木成子,吉岡英治,水谷太,荻木洋一,岸玲子. 北海道の妊婦の全血中POPs系農薬の濃度「環境と子どもの健康に関する北海道研究」. *日本衛生学雑誌* 66(1):95-107,2011. 査読有.
- 8)Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Hori T, Tobiishi K, Yasutake D, Onozuka D, Sasaki S, Miyashita C, Yoshioka E, Yuasa M, Kishi R, Iida T, Furue M. Relationship between the concentrations of polychlorinated dibenzop-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and polychlorinated biphenyls in maternal blood and those in breast milk. *Chemosphere.* 78(2):185-192,2010. 査読有.
- 9)中島そのみ,仙石泰仁,中村裕二,加藤静恵,岸玲子. 生後6ヶ月児に対するベビリー乳幼児発育検査第2版による発育評価とその有用性. *作業療法* 29(3):309-316, 2010. 査読有.
- 10)岸玲子,佐々木成子. 出生コホート研究の現状と今後の課題-日本で前向き研究を実施してきた経験から-*保健医療科学.* 59(4):366-371,2010. 査読有.
- 11)岸玲子,佐々木成子. 環境化学物質の次世代影響に関するわが国における研究事例-北海道スタディの概要とこれまでの成果. *医学のあゆみ.* 235(11):1117-1121, 2010. 査読無.
- 12)佐々木成子,岸玲子. 遺伝的バイリスク群への対応を喫煙と遺伝的感受性の複合効果による出生体重低下の知見から. *科学.* 79(9):978-981,2009. 査読無.
- 13)中島そのみ,岸玲子. 環境と子どもの健康に関するコホート研究について-子どもの発育評価とその課題-. *日本衛生学雑誌* 64(4):765-773,2009. 査読有.
- 14)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* 64(4):759-764,2009. 査読有.
- 15)Konishi K, Sasaki S, Kato S, Ban S, Washino N, Kajiwara J, Todaka T, Hirakawa H, Hori T, Yasutake D, Kishi R. Prenatal exposure to PCDDs/PCDFs and dioxin-like PCBs in relation to birth weight. *Environ Res.* 109(7):906-913,2009. 査読有.
- 16)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 Persp.* 117(4):660-667,2009. 査読有.

[学会発表] (計23件)

- 1)宮下ちひろ,佐々木成子,岡田恵美子,小林登貴,蜂谷紀之,岩崎雄介,中澤裕之,梶原朝睦,戸高尊,岸玲子. 妊婦血と毛髪に環境化学物質に關連する要因-環境と子どもの健康北海道スタディ-. 第82回日本衛生学会学術総会. 2012年3月25日, 京都大学吉田キャンパス, 京都
- 2)田川雅大,内藤久雄,林由美,川野愛子,佐々木成子,荒木敦子,小林登貴,岸玲子. ヒトの出産前後における血液DEHP代謝物濃度の解析. 第82回日本衛生学会学術総会. 2012年3月25日, 京都大学吉田キャンパス, 京都
- 3)Braimoh TS, Sasaki S, Yila TA, Baba T, Miyashita C, Okada E, Kashino I, Ito K, Kobayashi S, Yoshioka E, Kishi R. Effects of prenatal environmental tobacco smoke exposure on infant birth size. The American Public Health Association (APHA) 139th Annual Meeting and Exposition. Oct.29,2011. Washington DC,USA.
- 4)Itoh S, Kato S, Yuasa M, Sasaki S, Yoshioka E, Kashino I, Okada E, Miyashita C, Kishi R. The effects of PFOS and PROA in maternal serum on maternal and infant thyroid hormones. ISEE2011. Sep.14,2011. Barcelona,Spain.
- 5)山本潤,羽山真介,佐藤修之,松村徹,岸玲子,佐々木成子,宮下ちひろ. 生体試料中ビスフェノールA分析の検討-日本環境化学会第20回環境化学討論会-. 2011年7月17日, 熊本県立大学, 熊本
- 6)Braimoh TS, Sasaki S, Yila TA, Baba T, Miyashita C, Okada E, Kashino I, Ito K, Kobayashi S, Yoshioka E, Kishi R. Effects of exposure to second-hand smoke during pregnancy on birth size. Women's Health Conference. April 2, 2011. New York,USA.
- 7)伊藤久美子,佐々木成子,Yila TA,馬場俊明,宮下ちひろ,櫻野いづ子,岡田恵美子,小林登貴,吉岡英治,岸玲子. 妊婦葉酸値と先天異常リスクとの関連-環境と子どもの健康に関する北海道スタディ(1)-. 第81回日本衛生学会学術総会. 2011年3月26日, 昭和大学旗の台キャンパス, 東京
- 8)宮下ちひろ,佐々木成子,岡田恵美子,小林登貴,西條泰明,吉岡英治,馬場俊明,梶原朝睦,戸高尊,岸玲子. 抗エスト

- ロゲン様作用PCBs曝露と出生体格との関連-環境と子どもの北海道スタディ(2)-. 第81回日本衛生学会学術総会. 2011年3月26日, 昭和大学旗の台キャンパス, 東京
- 9)中島そのみ,佐々木成子,加藤静恵,鶴野安希子, 中村裕二,仙石泰仁,梶原朝睦,西條泰明,岸玲子. 母体血中ダイオキシン類と6ヶ月・18ヶ月児の精神・運動発達への影響-環境と子どもの北海道スタディ(3)-. 第81回日本衛生学会学術総会. 2011年3月27日, 昭和大学旗の台キャンパス, 東京
- 10)小西香苗,坂晋,佐々木成子,鷺野孝揚,吉岡英治,梶原朝睦,戸高尊,中島そのみ,岸玲子. 生後42ヶ月児における認知能と胎児期PCB・ダイオキシン類曝露との関連-環境と子どもの北海道スタディ(4)-. 第81回日本衛生学会学術総会. 2011年3月27日, 昭和大学旗の台キャンパス, 東京
- 11)小林登貴,佐々木成子,坂晋,宮下ちひろ,岡田恵美子, Limpar M,吉岡英治,梶原朝睦,戸高尊,岸玲子. AhRおよびAhRR遺伝子多型と母体血中ダイオキシン類濃度との関連-『環境と子どもの健康に関する北海道スタディ』. 第21回日本疫学会学術総会. 2011年1月22日, 北海道立道民活動センター, 札幌
- 12)Sasaki S, Kobayashi S, Ban S, Yoshioka E, Miyashita C, Okada E, Limpar M, Yila TA, Baba T, Braimoh TS, Kashino I, Otake Y, Kanazawa A, Yuasa M, Kajiwara J, Todaka T, Kishi R. Relation-ship between AhR gene polymorphisms and dioxin concentrations in maternal blood- Hokkaido Study on Environment and Children's Health. ISSES-ISEE 2010. Aug.29,2010. Seoul, South Korea.
- 13)Miyashita C, Sasaki S, Yoshioka E, Yila TA, Baba T, Braimoh TS, Kashino I, Okada E, Kobayashi S, Otake Y, Limpar M, Kajiwara J, Todaka T, Kishi R. Prenatal Exposure to Dioxins in Relation to Allergy and Infection in Infancy- Hokkaido Study on Environment and Children's Health. ISSES-ISEE 2010. Aug.29,2010. Seoul, South Korea
- 14)岸玲子,佐々木成子,吉岡英治,湯浅資之,佐田文宏,西條泰明,倉橋典絵,玉置淳子,北海道スタディグループ. コホートプロフィール『環境と子どもの健康 北海道スタディ』(1). 第80回日本衛生学会学術総会. 2010年5月10日, 仙台国際センター, 仙台.
- 15)宮下ちひろ,佐々木成子,鷺野孝揚,小西香苗,岡田恵美子,吉岡英治,湯浅資之,梶原朝睦,戸高尊,岸玲子. 母体血中ダイオキシン類の異性体濃度と乳幼児期の感染症との関連 『環境と子どもの健康 北海道スタディ』(2). 第80回日本衛生学会学術総会. 2010年5月10日, 仙台国際センター, 仙台.
- 16)坂晋,佐々木成子,小西香苗,吉岡英治,鷺野孝揚,戸高尊,平川博仙,梶原朝睦,岸玲子. 妊婦の喫煙と血中ダイオキシン類濃度との関連 『環境と子どもの健康 北海道スタディ』(3). 第80回日本衛生学会学術総会. 2010年5月11日, 仙台国際センター, 仙台.
- 17)金澤文子,佐々木成子,鷺野孝揚,宮下ちひろ,岡田恵美子,小林登貴,吉岡英治,水谷 太,菅木洋一,岸玲子. 難分解性有機塩素系農薬の妊婦への曝露状況 『環境と子どもの健康 北海道スタディ』(4). 第80回日本衛生学会学術総会. 2010年5月11日, 仙台国際センター, 仙台.
- 18)Yila TA, Sasaki S, Baba T, Miyashita C, Braimoh TS, Kashino I, Kobayashi S, Okada E, Yoshioka E, Kishi R. First Trimester Serum Folate Status of Japanese Women in Hokkaido- The Hokkaido Study on Environment and Children's Health (5). 第80回日本衛生学会学術総会. 2010年5月11日, 仙台国際センター, 仙台.
- 19)Braimoh TS, Sasaki S, Yila TA, Baba T, Miyashita C, Okada E, Kashino I, Kobayashi S, Yoshioka E, Kishi R. Self-Reported Exposure to Environmental Tobacco Smoke and Plasma Cotinine during Pregnancy-The Hokkaido Study on Environment and Children's Health (6). 第80回日本衛生学会学術総会. 2010年5月11日, 仙台国際センター, 仙台.
- 20)金澤文子,佐々木成子,加藤静恵,鷺野孝揚,宮下ちひろ,岡田恵美子,小林登貴,吉岡英治,岸玲子,水谷 太,菅木洋一. 北海道における有機塩素系農薬の妊婦への曝露状況. 北海道公衆衛生学会. 2009年11月12日, 北海道大学学術交流会館, 札幌
- 21)Yila TA, Sasaki S, Braimoh TS, Kobayashi S, Limpar M, Yoshioka E, Kishi R. Effects of maternal smoking and 5, 10-MTHFR C677T polymorphism on infant's birthweight -the impact of folic acid supplementation-. 3rd Annual Conference on Genomics of Common Diseases. Sep.24,2009. Cambridge,UK.
- 22)Yoshioka E, Yuasa M, Katoh S, Sasaki S, Washino N, Kanazawa A, Konishi K, Kishi R, Nakata A, Iwasaki Y, Ito R, Saito K, Nakazawa H. Effect of maternal serum perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA)

on maternal and newborn's thyroid hormone-  
Hokkaido Study on Environment and Children's  
Health. 3rd WHO International Conference on  
CEH. Jun.8,2009. Busan,Korea.

23) Kishi R, Washino N, Miyashita C, Sasaki S,  
Yuasa M, Yoshioka E, Konishi K, Kajiwara J,  
Todaka T, Hirakawa H, Hori T. Prenatal  
Exposure to Dioxins in Relation to IgE level of  
Newborn and Allergic and Infectious Diseases of  
Infants-Hokkaido Study on Environment and  
Children's Health. 3rd WHO International  
Conference on CEH. Jun.8,2009. Busan,Korea.

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・助教  
研究者番号：30448831

(2) 研究分担者

中島 そのみ (NAKAJIMA SONOMI)  
札幌医科大学・保健医療学部・講師  
研究者番号：70325877

(3) 連携研究者

岸 玲子 (KISHI REIKO)  
北海道大学・環境健康科学研究教育セン  
ター・特任教授  
研究者番号：80112449