

## 特集：これまでの環境リスクとこれからの環境リスク

## &lt;総説&gt;

わが国で初めての本格的な出生コーホート研究から見た  
環境化学物質の濃度レベルと次世代影響岸玲子<sup>1)</sup>, 荒木敦子<sup>2)</sup><sup>1)</sup> 北海道大学環境健康科学研究教育センター<sup>2)</sup> 環境化学物質による健康障害の予防に関するWHO研究協力センターEnvironmental chemicals and their effects on children based  
on the first birth cohort studies in JapanReiko Kishi<sup>1)</sup>, Atsuko Araki<sup>2)</sup><sup>1)</sup> Center for Environmental and Health Sciences, Hokkaido University<sup>2)</sup> WHO Collaboration Centre for environmental Health and Prevention of Chemical Hazards

## 抄録

シーア・コルボーンらにより「Our stolen future (邦訳「奪われし未来」)」が出版された1996年頃から、各国で環境化学物質の内分泌かく乱作用など次世代影響に関心が高まった。日本でも我々は2001年から厚生労働科学研究により「環境と子どもの健康に関する北海道スタディ：先天異常・発達・アレルギー」として2つのコーホートを立ち上げた。コーホートの1つは北海道全域の産科の協力により器官形成期に同意を得て、母20,926人のベースライン採血を行い、出生アウトカムを観察し、その児を学童期、思春期と追跡している。他の一つは妊娠中後期に母514人の同意を得て児の詳細な精神神経発達を観察している。この研究は我が国で初めての本格的な出生コーホートで、16年に渡って追跡し、現在までに100編を超える原著論文が出ている。コーホート研究の最近の成果を見るとPCB・ダイオキシン類、有機フッ素化合物、有機塩素系農薬など半減期の長いPOPsでは母の曝露濃度が体格、甲状腺機能、性ホルモンに影響を与え、生後の神経発達、感染症アレルギー等にも影響を与えた。近年、使用量が増加しているプラスチック可塑剤やBPAなど短半減期物質と肥満や発達障害等の関係についても検討を開始している。日本では過去に高濃度の水銀曝露で水俣病が、またダイオキシン類曝露でカネミライスオイル事故が引き起こされた。一方、本研究における比較的低濃度レベルの曝露でも、比較的高い人と低い人では影響の差が検出された。北海道スタディは当初から環境遺伝交互作用に着目し、SNPs解析によって喫煙やカフェインなど環境要因に感受性が高いハイリスク群を発見してきた。またエピゲノム解析では、環境化学物質の濃度と関連したメチル化への影響や、出生体重など発育に影響するCpGサイトを介在分析で明らかにできた。近年は世界的にDOHaD仮説 (Developmental origin of health and Diseases, 疾病の胎児期・幼少時期起源説) が重要になっているので、今後は広く小児疾患への環境要因として捉えることが必要になる。環境疫学では正確な曝露測定に基づくリスク評価を行い、科学的な成果を環境政策に活かすことが重要である。実際に、北海道スタディは環境省エコチル研究のモデルにもなり、計画設計時から協力している。また日本、韓国、台湾の3つのコー

連絡先：岸玲子

〒060-0812 北海道札幌市北区北12条西7丁目

Kita 12, Nishi 7, Kita-ku, Sapporo 060-0812, Japan.

Tel: 011-706-4746

Fax: 011-706-4725

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

[平成30年7月23日受理]

わが国で初めての本格的な出生コーホート研究から見た環境化学物質の濃度レベルと次世代影響

ホートの主任研究者が協力してBiCCA (Birth Cohort Consortium of Asia) を設立し、現在15か国で29の出生コーホートが参加して活動をしている。今後のリスク評価でも国際共同研究が数多く進展するであろう。

キーワード：環境化学物質、出生コーホート研究、内分泌かく乱作用、DOHaD 仮説

### Abstract

Since the publication of Theo Colborn et al.'s *Our Stolen Future* in 1996, global interest in the impact of chemical substances on endocrine disrupting action has escalated. In Japan, "The Hokkaido Study on Environment and Children's Health: Malformation, Development, and Allergy" was launched in 2001. It was a model of Japan Environment and Children's Study of the Ministry of the Environment that started 10 years later. In a Hokkaido large-scale cohort, we obtained 20,926 mothers' consent at the organogenesis stage, with the cooperation of 37 obstetrics clinics in Hokkaido. We follow up children's health outcomes, including birth size, neonatal hormone levels, neurobehavioral development, asthma, allergies, and infectious diseases. In a small-scale Sapporo cohort, we observed the detailed neuropsychiatric development of children with the consent of 514 mothers in the late pregnancy. We examined how prenatal exposure to low concentrations of environmental chemicals affect the prenatal and postnatal development of children. The maternal exposures to persistent organic pollutants, such as PCB/Dioxins, polyfluorinated alkyl substances, and organochlorine pesticides, affected children's birth size, thyroid function, and sex hormone levels, and their postnatal neurodevelopment, infection, and allergy, among others. Effects of short half-life substances, such as phthalates and bisphenol A were also investigated. Gene-environment interactions were found in smoking, caffeine, folic acid, and PCB/Dioxin. Epigenome modification was also investigated. In 2011, three principle investigators of Japan, Korea, and Taiwan cohorts established the Birth Cohort Consortium in Asia, comprising 29 birth cohorts of 15 countries. Many collaborating studies will be expected from the consortium in the near future.

**keywords:** environmental chemicals, birth cohort study, endocrine disruptors developmental origin, health and diseases hypothesis

(accepted for publication, 23rd July 2018)

## I. 環境と子どもの健康に関する北海道スタディの背景と目的、特徴

日本では2000年まで、胎児期の環境曝露影響を前向きに検討する出生コーホート研究が存在しなかった。我々は1990年代から尿道下裂や停留精巣の遺伝および環境要因についての疫学研究を始めたが、症例対照研究では妊娠中の曝露評価ができない限界があったことから[1]、2001年より前向き研究「環境と子どもの健康に関する北海道スタディ (The Hokkaido Study on Environment and Children's Health: Malformation, Development and Allergy)」を立ち上げた。実際に参加者がリクルートされたのは2002年からである[2]が、日本で最も早い出生コーホート研究である。北海道スタディ立ち上げの背景と目的や特徴はこれまでも詳細に述べたので[3-7]、ここでは簡潔に記す。1996年にシーア・コルボーン (Theo Colborn) らによって "Our stolen future (邦訳奪われし未来)" が出版され[8]、特に環境化学物質の内分泌かく乱作用が大きな関心を集め各国で研究が始まった。まず取り上げられたのはPCBなどの汚染地域での問題であった。しかし、我々は比較的汚染レベルが低い北海道においても影

響が認められるか？影響が見られるとしたらその濃度はどのくらいかを明らかにし、ハザードの予防のための環境リスクマネジメントに結びつけることが重要と考えた。妊婦は「好むと好まざるとにかかわらず」、環境化学物質に曝露される。その異物代謝に関係する酵素のSingle Nucleotide Polymorphisms (SNPs) など遺伝的なハイリスク集団が存在するか？も検討することは予防医学的な喫緊の課題と考え、世界的に見ても早い時期に環境遺伝相互作用についての研究を開始した。さらに胎児の脆弱(ぜいじゃく)性を考える時、「疾病の起源が、胎児期あるいは小児発達期にあるというDOHaD (Developmental Origin of Health and Diseases) 学説[9]」の検証も重要と考えた。すなわち成人の病気と考えられる糖尿病、高血圧やがんなども、一部は胎児期や幼少時期に原因があるという考え方が世界的に注目されるようになっており、ライフコースアプローチで生涯を通じて介入を含む予防医学の重要性を証明していくことが、公衆衛生上の大きな課題になると考えたからである。

表1 各年齢で実施しているアウトカム関連の調査項目 (北海道コーホート)

	神経行動発達	アレルギー	体格 / 性成熟
札幌コーホート			
6-7 months	BSID-II, FTII, EES		
1.5 years	BSID-II, DDST, EES	ISAAC	健診データ
3.5 years	K-ABC, CBCL, WAIS-R, EES	ISAAC	健診データ
7 years	WISC-III, WCST-KFS, CBCL, J-PSAI, 2D/4D	ISAAC	健診データ
12 years			ターナーステージ分類, 思春期発来
北海道コーホート			
1 year		ISAAC, ATS-DLD	健診データ
1.5 years	M-CHAT		
2 years		ISAAC	健診データ
3 years	KIDS, SDQ		
4 years		ISAAC	健診データ
5 years	SDQ, DCDQ		
6 years	ADHD-RS, ASQ		
7 years		ISAAC, 家庭訪問	学校保健データ
8 years	ADHD-RS, Conners 3P, ASQ, CBCL, J-PSAI, WISC-IV		
9 years			ターナーステージ分類, 思春期発来

*ADHD-RS* Attention Deficit Hyperactivity Disorder-Rating Scale, *ASQ* Autism screening questionnaire, *ATS-DLD* American Thoracic Society-Division of Lung Disease, *M-CHAT* Modified Checklist for Autism Toddlers, *BSID-II* Bayley Scales of Infant Development second edition, *CBCL* Child Behavior Checklist, *Conners 3P* Conner's 3rd Edition for Parents, *DCDQ* Developmental Coordination Disorder Questionnaire, *DDST* Denver Developmental Screening Tests, *EES* Evaluation of Environmental Stimulation, *FTII* Fagan Test of Infant Intelligence, *ISAAC* International Study of Asthma and Allergies in Childhood, *J-PSAI* Japanese Pre-School Activities Inventory, *K-ABC* Kaufman Assessment Battery for Children, *KIDS* Kinder Infant Development Scale, *SCQ* Social Communication Questionnaire, *SDQ* Strengths and Difficulties Questionnaire, *WAIS-R* Wechsler Adult Intelligence Scale-Revised, *WISC-III* Wechsler Intelligence Scale for Children third edition, *WCST-KFS* Wisconsin Card Sorting Test (Keio Version), *WISC-IV* Wechsler Intelligence scale for children 4th edition.

## II. 大小二つの前向きコーホート追跡

北海道スタディは大小2つの前向きコーホートから構成され、一つは地域ベースの37医療機関における北海道コーホートで母児20,926人ペアである。もう一つは、札幌の一産科医療機関を受診した妊婦を対象にした小規模な札幌コーホート母児514人ペアである。北海道スタディの特徴は、①日常生活で受ける低濃度の環境化学物質の曝露影響評価、②妊娠中の母体血や臍帯血などを採取保存することによる胎児の器官形成期を含む胎児期の環境曝露要因の正確な測定分析、③先天異常、出生時体格、成長発育、アレルギー感染症、甲状腺や生殖ホルモン影響、発達障害、思春期発達など出生後の様々なアウトカムに対して縦断的なリスク評価、④生活環境要因（たとえば妊娠中の母体血の葉酸や、コチニン値の定量的評価と社会経済要因）を含めた解析、⑤化学物質の代謝や児の疾病感受性などを配慮した遺伝的なハイリスクグループの同定、⑥網羅的エピゲノム作用を含む次世代影響メカニズムの検討、である。

2万人規模の北海道コーホートでは、妊娠初期（器官形成期）の12週までに同意を得た妊婦を対象に環境化学物質濃度を測定し、曝露による先天異常、早産、在胎期間別出生時体格標準値10%未満（Small for Gestational Age; SGA）および低出生体重、免疫アレルギーやホルモン系への影響と児の神経発達（自閉症スペクトラム障害（ASD）や注意欠如・多動性障害（ADHD）など）への直接的因果関係を評価している。もう一つの札幌コー

ホートでは、妊娠後期（妊娠23~35週）の母の血液、臍帯血、母乳、毛髪水銀、児の成長発育、臍帯血IgE、性ホルモン、免疫アレルギー系影響に加え、詳細な対面による発達調査を実施している（表1）。

## III. 環境化学物質の曝露評価

北海道スタディでは日常生活で受ける比較的低レベル（バックグラウンド）の環境化学物質について、妊娠中母体血および臍帯血の微量な生体試料を用いた高感度測定による、正確な曝露評価を実施している。514人を2001年から2004年にリクルートした札幌コーホートではPolychlorinated biphenyl (PCB)・ダイオキシン類、有機フッ素化合物perfluorooctanesulfonic acid (PFOS)とperfluorooctanoic acid (PFOA)、有機塩素系農薬、フタル酸エステル代謝物mono (2-ethylhexyl) phthalate (MEHP)、ビスフェノールA (BPA)、および水銀の測定を終えた。北海道コーホートは2002年から2012年までリクルートし、環境化学物質測定は有機フッ素化合物perfluorinated alkyl substances (PFASs) 11種類とPCB・ダイオキシン類、フタル酸エステル類代謝物7種類、BPA等について実施している（表2）。

表3には、既に曝露評価が終っている札幌コーホートでの各環境化学物質の曝露濃度を示した。北海道スタディでは、福岡県環境保健研究所の協力を得て、高精度のガスクロマトグラフィー質量分析(GC/MS分析)を用いて、特にカネミ油症事件で問題となった

表2 測定項目

測定項目
化学物質
Dioxins, PCBs, OH-PCBs (congener level)
11 PFASs (PFHpA, PFHxA, PFOA, PFNA, PFDA, PFUnDA, PFDoDA, PFTrDA, PFTeDA, PFHxS, PFOS)
7 Phthalate metabolites (MnBP, MiBP, MBzP, MEHP, MEHHP, MECPP, cx-MiNP)
Chlorinated pesticides
Bisphenol A
Me-Hg
Cotinine
その他の測定項目
Thyroid hormones (TSH, FT3, FT) , Anti-thyroid antibodies (TPOAb, TgAb)
Folic acid
Fatty acids (palmitic, stearic, palmitoleic, oleic, linoleic, arachidonic, $\alpha$ -linolenic, EPA, DHA)
Triglyceride
IgE, IgA,
Adipokines (adiponectin, leptin, TNF- $\alpha$ , IL-6)
Steroid hormones (estradiol, testosterone, progesterone, cortisol, cortisone, DHEA, androstenedione)
Reproductive hormones (inhibin B, INSL-3, SHBG, FSH, LH)

*cx-MiNP* mono-carboxy-isononyl phthalate, *DHA* docosahexaenoic acid, *DHEA* Dehydroepiandrosterone, *EPA* eicosapentaenoic acid, *FSH* follicle-stimulating hormone, *FT4* free thyroxine, *IgA* immunoglobulin A, *IgE* immunoglobulin E, *IL-6* interleukin-6, *INSL-3* Insulin-like factor 3, *LH* luteinizing hormone, *Me-Hg* methylmercury, *MnBP* mono-*n*-butyl phthalate, *MiBP* mono-*i*-butyl phthalate, *MBzP* mono benzyl phthalate, *MECPP* mono-(2-ethyl-5-carboxypentyl) phthalate, *MEHP* mono(2-ethylhexyl) phthalate, *MEHHP* mono (2-ethyl-5-hydroxyhexyl) phthalate, *OH-PCB* hydroxylated polychlorinated biphenyl, *PCB* polychlorinated biphenyl, *PFASs* perfluorinated alkyl substances, *PFOA* perfluorooctanoic acid, *PFDA*, perfluorodecanoic acid, *PFDoDA*, perfluorododecanoic acid, *PFHpA* perfluoroheptanoic acid, *PFHxA*, perfluorohexanoic acid, *PFHxS*, perfluorohexane sulfonate, *PFNA*, perfluorononanoic acid, *PFTeDA* perfluorotetradecanoic acid, *PFTrDA* perfluorotridecanoic acid, *PFOS* perfluorooctanoic sulfonate, *PFUnDA* perfluoroundecanoic acid, *SHBG* sex hormone-binding globulin, *TgAb* thyroglobulin antibody, *TG* triglyceride, *TNF- $\alpha$*  tumor necrosis factor, *TPOAb* thyroid peroxidase antibody, *TSH* thyroid-stimulating hormone

表3 環境化学物質の曝露レベル (札幌コーホート)

	n	DL	>DL (%)	Min	パーセンタイル			
					25th	50th	75th	Max
母体血								
Total dioxins (TEQ pg/g lipid)	426	n/a	n/a	3.17	9.95	13.9	18.2	43.4
Total PCBs (ng/g lipid)	426	n/a	n/a	17.8	73.0	107	148	41460
p,p'-DDE	379	0.60	100	99.52	401.53	650.99	1011.48	4575.67
PFOS (ng/mL)	447	0.5	100	1.30	3.40	5.20	7.00	16.2
PFOA (ng/mL)	447	0.5	92.8	0.25	0.80	1.30	1.80	5.30
MEHP (ng/mL)	493	0.278	100	1.94	5.82	9.95	16.3	101.7
Bisphenol A in (ng/mL)	59	0.04	76.3	<DL	0.040	0.057	0.072	0.419
臍帯血								
Bisphenol A (ng/mL)	285	0.04	68.8	<DL	<DL	0.051	0.076	0.217
母の毛髪								
Me-Hg ( $\mu$ g/g)	430	n/a	100	0.24	0.96	1.40	1.89	7.55

*p,p'-DDE* 1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl) ethylene, *DL* detection limit, *Me-Hg* メチル水銀, *MEHP* Mono(2-ethylhexyl) phthalate, *PCBs* polychlorinated biphenyls, *PFOA* perfluorooctanoic acid, *PFOS* perfluorooctanoic sulfonate, *TEQ* Toxicity Equivalency Quantity.

Polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDD), polychlorinated dibenzofuran (PCDF) などの同族異性体分析および dioxin-like PCBs濃度を世界で初めて測定し、また世界保健機関 (WHO) が設定した毒性等価係数 (toxic equivalency factor; TEF) を用いてダイオキシン類 (29種類) の毒性等価量 (toxic equivalent; TEQ) の算出を行った。曝露濃度レベルについては、札幌コーホートの母体血中総ダイオキシン濃度は16.5 TEQ pg/g lipid (中央値) で、出産可能年齢の女性で比較した場合、国内 (福岡 : 22.1

TEQ pg/g lipid), およびオランダ (35.8 TEQ pg/lipid) [10] やドイツ (28.4 TEQ pg/lipid) [11], アメリカ (NY) (39.1 TEQ pg/lipid) [12]などの諸外国より低かったが、出生体重や神経発達への影響が認められた[13,14]。図1に示したのは、欧米とアジア各国と比較した母乳中の濃度である。日本の濃度は、大阪、東北に比べて札幌が低めであることがわかる[15]。

PFASsは、炭素鎖にフッ素が結合し、末端にアルキル基またはスルホン基を持つ界面活性剤である。炭素鎖数

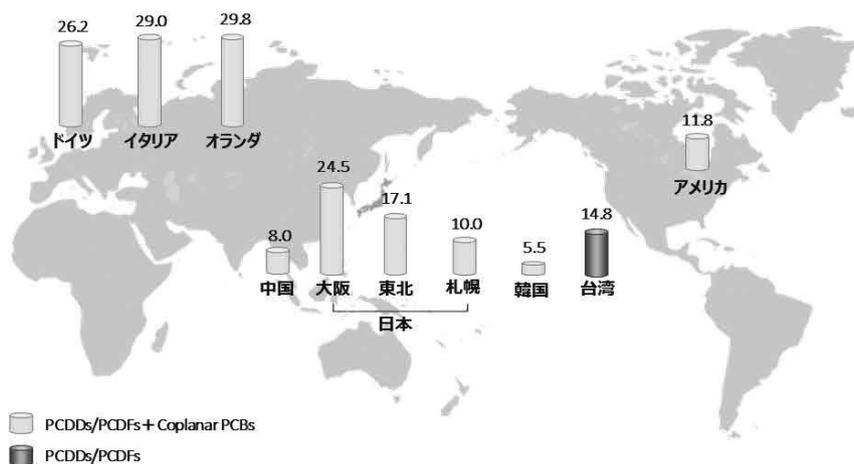


図1 母乳中のダイオキシン類濃度 2001年-2005年 (TEQpg/g lipid)

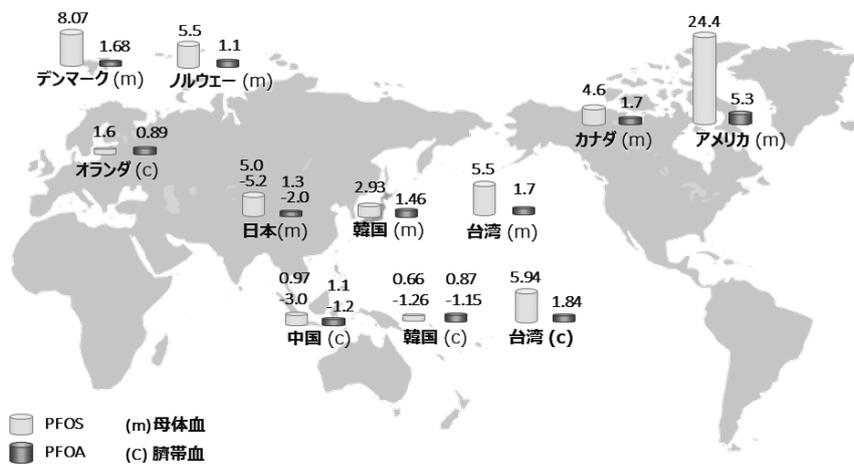


図2 母体血および臍帯血中のPFOS, PFOA濃度 (ng/mL)

が異なる同族体が存在するが、代表的な化合物として炭素鎖数8のPFOSおよびPFOAがある。撥水発油性、熱・化学的安定性などの優れた化学・物理学的特性をもち、半導体等の製造現場にて使用されるほか、調理器具、食品包装資材、アウトドア用品、防水スプレーとして日用品に含有される。PFASsは1950年頃から世界的に難燃剤として使用されてきた。アメリカでは高濃度汚染地域で住民への影響が問題となり、3M社では訴訟を恐れて2000年代に生産を中止した。2009年に、PFOSはその残留性が高いことからストックホルム条約において規制され、PFOAも自主規制による排出削減への取り組みが始まっている。我々はまず、札幌コーホートにおいて、2004年に胎盤を経たPFOSの母子移行が直線的であることを世界で初めて指摘した。さらに札幌コーホートの母体血のPFASs曝露レベル (PFOS: 5.2 ng/mL) はアメリカ (PFOS: 24.4 ng/mL) [16] やデンマーク (PFOS: 34.4 ng/mL) [17]、およびノルウェー (PFOS: 13.0 ng/mL) [18] などの諸外国より低かったが、胎児期曝露による児への影響が認められた[19-21]。アジア諸国では、台湾が最も高いが、日本、

韓国、中国はいずれも欧米に比べやや低い濃度であった (図2) [15]。

フタル酸エステル類はプラスチックの可塑剤で、生産量・使用量ともに最も多いのがdi (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) である。床や壁紙などポリ塩化ビニル製品に加え、合皮、塗料、化粧品等の日用品にも添加される。厚生労働省により、玩具 (平成22年厚生労働省告示第336号, 2010)、および油性、脂肪性食品を含有する食品に接触する器具および包装容器への使用は制限されているが (平成14年厚生労働省告示267号, 2002)、その他、住宅内装材や日用品への使用に関する規制はない。半減期は数時間~数日程度と短く、残留性はないが、日用品に含まれるため、日々恒常的に曝露され続ける。BPAもフタル酸エステル類同様に、半減期が短い。主にポリカーボネート樹脂の食品容器、缶や瓶の内側にコーティングされているエポキシ樹脂に使用され、酸性食品の缶詰や缶飲料から経口曝露する。かつてはポリカーボネート製の哺乳瓶に使用されていたが、現在は食品安全委員会により、ポリカーボネート製器具及び容器・包装からの溶

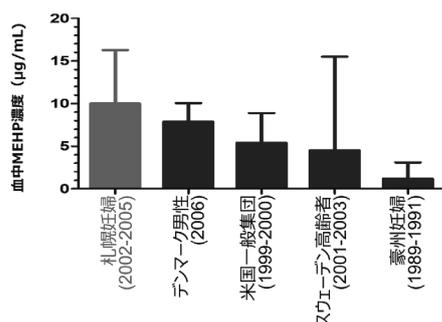


図3 血中MEHP濃度の比較

出試験規格が定められている[22]。図3に示したように、北海道の妊婦血液ではDEHPの代謝物MEHPの濃度は世界の他地域に比べてやや高かった。フタル酸エステル類などの半揮発性物質の濃度は住宅の気密性などに関係しているためと考えられる。なお北海道では、生後の曝露については、学童期の尿や住宅環境のダスト中のフタル酸エステル類およびコチニンの測定を行い、現在はさらに9-10歳児で同意を得て血液を採取し、曝露評価を実施する計画である。

#### IV. これまでに実施された研究の概要

現在、最も年齢が高い子は16歳であるが、最も小さい子は7歳であるので、出生時、6か月、18か月、および3歳半、一部は7歳までの結果を示す。アウトカムについては最近(2018年6月)までに査読のある英文誌に受理されたものについての結果の概要を表3にまとめた。

- (1) 出生時体格については、生活環境要因である喫煙、カフェイン、教育歴、母の妊娠前のBMIや生殖補助医療が有意の負の影響を与えた[23]。環境化学物質ではダイオキシン類、PFASs、フタル酸エステルが有意の負の影響を示した[14,19,24,25]。北海道スタディの曝露レベルでは水銀、PCB類、有機塩素系農薬、BPAでは出生体格への影響は認められなかった[4]。
- (2) 甲状腺ホルモンはダイオキシン類、PFASsにより負の影響を認めた。PCB類およびフタル酸エステル類、BPAなどでは影響がなかった[26,27]。
- (3) 神経発達については、母体血中PCDFとPCDDの特定の異性体濃度が高くなると生後6か月時のベイリー乳幼児発達検査II (Bayley Scale of Infant & Toddler Development- II; BSID- II) の得点が低く、特に運動発達に顕著で、男児に影響が強かった[13]。総ダイオキシンTEQ値もBSID- II の得点と有意な負の関連が見られた。18か月時のBSID- II への影響は6か月時より小さく、成長に伴い胎児期影響が見えづらくなった[28]。42か月時の個別式知能検査 (Kaufman Assessment Battery for Children; K-ABC) による知的機能の測定では、全体としては知的機能とdioxin like compound

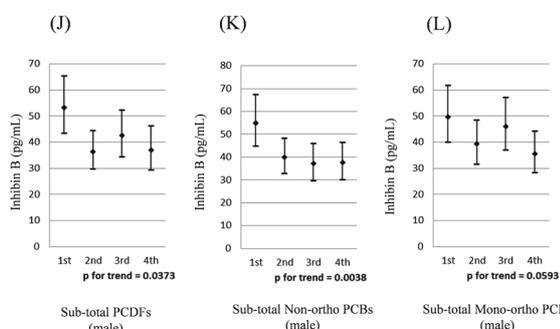
(DLC) の間に負の関連は見られなかった。しかし、性別ごとに解析を行うと、女児では知識・技能の習得尺度とDLCの間に正の関連が、男児では認知処理過程尺度とDLCに負の関連が有意であり、性別によって影響が異なることが示唆された[29]。有機フッ素化合物では生後6か月齢で曝露影響が認められるものの、18か月では差が見られなくなった[30]。有機塩素系農薬は先進国では既に使用が禁止されているが、環境中に持続的に存在する環境汚染物質であり、人や動物の食物連鎖を通じて生物の体内に蓄積される。出生前の有機塩素系農薬への曝露と神経発達の間に関連性が懸念されているが、我々のデータでは有機塩素系農薬と生後6か月時のBSID- II の得点の間に関連は見られなかったが、18か月では有機塩素系農薬のひとつであるcis-heptachlor epoxideと精神発達点との間に負の関連が有意であった。海外の農業従事者に比べて、低い残留農薬レベルであっても、児の神経発達に悪影響を持つかもしれない[31]。この他、BPAでは臍帯血濃度と6か月、18か月、3歳半の発達 (CBCL) との関係を調べたところ、3歳半での問題行動とのみ、有意な関連を認めた[32]。

- (4) 免疫アレルギーについては、母のダイオキシン類濃度が高いほど臍帯血IgEレベルが低下し、生後18か月までの感染症 (最も罹患頻度が高かった中耳炎) と有意の関連が認められた。TEQ値はPCDFsが10倍増加すると中耳炎オッズ比 (Odds Ratio; OR) が1.36倍と有意に増加した。男児のみ母体血中ダイオキシンレベル増加に伴い中耳炎オッズ比の有意な増加が認められた[33]。上記は、油症などの高濃度な曝露で報告された結果と一致し、日常生活の低濃度曝露において、児の免疫への影響を世界で初めて報告した。さらに生後の追跡で3歳半では明白な影響は見いだせなかったが、7歳の時点ではダイオキシンによる児の喘鳴のリスクが7.8倍あがる関連性が認められ、免疫系への影響が持続することが明らかになった[34]。有機フッ素化合物については、胎児期曝露で臍帯血中IgEの低下、アレルギーリスクの低下と感染症の増加が認められ、免疫系への影響が示唆された[20,35,36]。母の妊娠中のMEHD濃度は、臍帯血中IgEを下げ、3歳半の喘鳴のリスクを下げた。一方、7歳の中耳炎およびChicken Pox (水痘) のリスクを上げた。胎児期曝露の影響をさらに検討する必要がある[37]。
- (5) 化学物質曝露が胎児の性ホルモンへ与える影響  
北海道スタディでは、さらにステロイドホルモン7化合物 (プロゲステロン、テストステロン、エストラジオール、dehydroepiandrosterone (DHEA), androstenedione (A-dione), コルチゾール, コルチゾン) を分析した[38,39]。疫学研究で初めて胎児期の環境化学物質曝露が、ステロイドホルモンバランスをかく乱する可能性が示唆された。特に男児において、有機フッ素化合物、フタル酸エステルなどの環境化学物質の胎

胎期曝露により、精巣のライディッヒ細胞およびセルトリ細胞の機能を表す性ホルモン濃度の低下が示された [38,40]。本稿ではこれらの内分泌かく乱作用を中心に図示する。

①PCB・ダイオキシン類

北海道スタディにおけるPCBやダイオキシン曝露は、諸外国よりも低い曝露レベルであったが、母の曝露濃度が高いと児のinhibin Bが低い結果が得られた[41]。フランスの出生コーホート研究PELAGE [42]のPCB曝露濃度も北海道スタディとほぼ同レベルで、曝露濃度とテストステロンおよびテストステロン/エストラジオール比との負の相関が報告されている。このように、低濃度曝露であっても、出生時、臍帯血のホルモン濃度をかく乱したことから、成長後も性ホルモンあるいは生殖機能への影響が見られるか、現在も追跡が続いている (図4)。

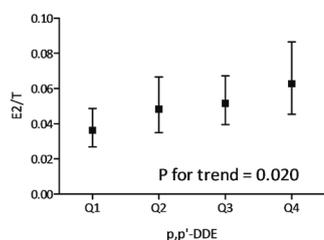


母体血中ダイオキシン濃度を四分位にしたときのInhibin Bの最小二乗平均値 (95%信頼区間) を示す。

図4 母体血中ダイオキシン濃度と臍帯血中Inhibin Bとの関連 (男児)

②塩素系農薬

Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) に代表される塩素系農薬は、その残留性が高いことから1970年代初頭より使用が規制された。その後30年以上が経過したにもかかわらず、北海道スタディに参加した妊婦の血液からは、濃度は低い、多くの塩素系農薬が検出された[43]。北海道スタディでは、男女で層別に解析をしたところ、男児ではMirex, Nonachlor,



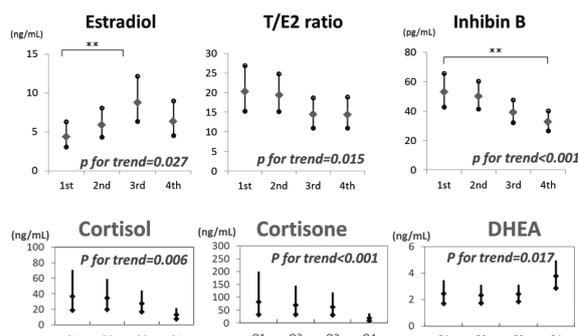
母体血中p,p'-DDE濃度を四分位にしたときのエストラジオール/テストステロン比の最小二乗平均値 (95%信頼区間) を示す。

図5 母体血中塩素系農薬p,p'-DDEは臍帯血中エストラジオール/テストステロン比との正の相関

Dichloro-diphenyl-dichloroethylene (DDE), Dieldrin, Toxaphenなどいくつかの化合物がテストステロン、テストステロン/A-dione比、Sex Hormone Binding Globulin (SHBG)、プロラクチンと負の相関を示し、DHEA、エストラジオール/テストステロン比とは正の相関を示した (図5) [44]。

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

母体血中のPFAS濃度と出生時の性ホルモンの関連を検討した報告は、調べた限り世界的に見ても北海道スタディのみである。男児ではPFOS濃度とプロゲステロン、inhibin B、Insulin like factor 3 (INSL3)、テストステロン/エストラジオール比と負の相関があり (図6)、女児では、PFOSとプロゲステロン、SHBG、プロラクチンと負の相関がみられた[40]。また、男女合わせた解析で、PFOSとDHEAは正の相関、コルチゾール、コルチゾンとは負の相関が認められた (図6) [45]。PFASは、雄ラットの精巣内ステロイド合成阻害、ライディッヒ細胞のテストステロン放出阻害が報告されており、我々の結果からみると、動物のみならず、ヒトでもその影響は既に胎児期に始まり、生後も継続する可能性が示唆された。

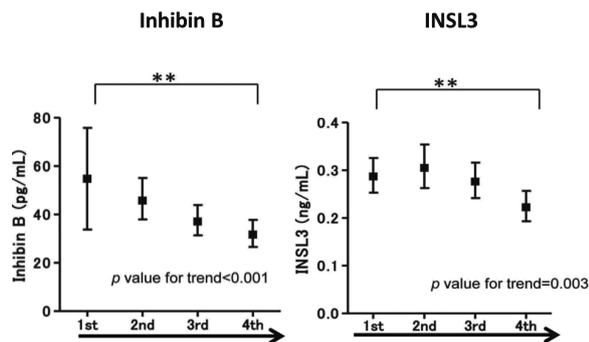


PFAS濃度を四分位にしたときの各性ホルモンの最小二乗平均値 (95%信頼区間) を示す。

図6 母体血中PFOS濃度と臍帯血中性・ステロイドホルモンとの関連

④フタル酸エステル類

特に世界的に生産量の多いDEHPを中心に述べる。北海道スタディでは、男児で、プロゲステロン、テストステロン/エストラジオール比、inhibin B、INSL3との負の相関が認められたほか (図7) [38]、男女ともにDEHAとは正の相関、コルチゾール、コルチゾンとは負の相関が認められた[39]。台湾では、胎児期のDEHP曝露濃度とテストステロン、テストステロン/エストラジオール比の負の相関が女児で認められた[46]。DEHPは、動物実験で胎仔のライディッヒ細胞、セルトリ細胞の減少あるいは増殖抑制を引き起こし、テストステロン濃度の低下などのホルモンバランスを乱すことが報告されていたが[47,48]、ヒトでも同様の影響があることが示唆された。



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

図7 母体血中フタル酸エステル代謝物濃度と臍帯血中の性ホルモン濃度との関連 (男児)

⑤BPA

胎児期のBPA曝露による児の性ホルモンへの影響については、男児で臍帯血中濃度とテストステロン、プロゲステロンとの正の相関がみられた[49].

⑥その他

胎児期のダイオキシンやPCB、フタル酸エステル類への曝露が高いことが、幼児期の遊びの男児スコアが低くなることが報告されていることから[50], 胎生期のアンドロゲン曝露の減少が脳の性分化に影響したと指摘されている。そこで北海道スタディでは、胎生期のアンドロゲンのサロゲートマーカーとして学童期の掌のコピーをもとに、第2指/第4指比を測定した。この結果、胎児期のホルモン環境としてINSL3濃度が低いと、男児の学童期の第2指/第4指比が大きい、すなわち女兒傾向を示した[51]. さらに、男児では第2指/第4指比が大きいと学童期に遊びのスコアが女兒傾向を示した[52]. 今後、胎児期の環境化学物質曝露による第2指/第4指比や遊びの傾向への影響に関する解析を引き続き行う必要がある。

(6) アディポカインへの影響

脂肪細胞から分泌される生理活性物質であるアディポカインについては、臍帯血中のレプチンやアディポネクチン濃度と出生体重の関係について疫学研究から報告されている。特に、レプチンは胎盤で生産・分泌されることが知られており、胎児の成長や発達に重要であるとされる。北海道スタディでは、臍帯血中のアディポネクチン、レプチン濃度が母体血中の環境化学物質濃度と関係するかを検討した。母体血中のPFOS濃度の増加は、臍帯血中アディポネクチン濃度を上昇させた[53]. また、母体血中のBPAやフタル酸エステル類 (DEHP, Di-n-butyl phthalate; DnBP) 濃度が増加すると、臍帯血液中レプチンの濃度が減少することがわかった (表4) [54]. 成人では、アディポネクチンやレプチンは肥満やメタボリックシンドロームの指標となっており、さらに近年はレプチンが神経精神行動発達と関係する可能性も指摘され始め、北海道スタ

表4 北海道スタディから得られた結果

疾病アウトカム	関係するリスク要因 (文献番号)
出生時体格	喫煙 [56,57,58,60,64]
	カフェイン [63]
	教育歴, BMI, 生殖補助医療 [23]
甲状腺ホルモン	ダイオキシン類 [14]
	有機フッ素化合物 [19,24]
ステロイドホルモン・性ホルモン	フタル酸エステル [25]
	有機フッ素化合物 [26]
アディポカイン	ダイオキシン [27]
	有機フッ素化合物 [40,45]
	塩素系農薬 [44]
神経発達	ダイオキシン類 [41]
	フタル酸エステル類 [38,39]
	ビスフェノール A [49]
アレルギー・感染症	有機フッ素化合物 [53]
	フタル酸エステル類 [54]
	ビスフェノール A [54]
アディポカイン	ダイオキシン類 [13,28,29]
	有機フッ素化合物 [30]
	ビスフェノール A [32]
アディポカイン	社会経済要因 [67,68]
	アディポカイン [55]
	塩素系農薬 [31]
アレルギー・感染症	ダイオキシン類 [33,34]
	有機フッ素化合物 [20,35,36]
	フタル酸エステル [37]

ディでも同様の神経発達との関連知見が得られている [55]. 今後の成長過程における、子どものアディポサイトカイン濃度を注意深く観察していく必要があると考えられる。

(7) 遺伝的感受性素因

遺伝的感受性素因については、母親が喫煙者で、多環芳香族炭化水素の代謝に関わるAryl Hydrocarbon Receptor (AHR), cytochrome P450 1A1 (CYP1A1), およびglutathione S-transferase mu 1 (GSTM1) 遺伝子多型[56]や、発がん性物質ニトロソアミン類の代謝に関わるNAD(P)H quinone dehydrogenase 1 (NQO1) およびCYP2E1遺伝子多型[57]や、DNA修復に関わるX-ray repair cross-complementing protein 1 (XRCC1) 遺伝子多型[58]について特定の組み合わせをもつと、児の出生体重はより大きく低下した。さらに、これらの遺伝子多型の組み合わせによって、児への影響は大きく異なった。受動喫煙の影響については母体血漿中のコチニン濃度を高感度で測定し (検出限界0.12ng/mL), 低濃度側から、受動喫煙曝露なし群, 受動喫煙曝露あり, 能動喫煙の3群に分類したところ、コチニン濃度が高くなるほど出生体重は量依存的に低下し、特にAHRとXRCC1遺伝子多型の違いによってこの量依存的な関係が大きく異なった[59]. さらに母の妊娠中の受動喫煙とCYP1A1遺伝子多型が、3歳までの児の頭囲発育の違いとの関連に違いをもたらしたことを明らかにした[60]. ダイオキシン類の影響については、ダイオキシン類の代謝に関わる母のCYP1A1遺伝子多型によって、同じ曝露を受けていても母体血中ダイオキシン類濃度が異なった[61]. さらに、母のGSTM1遺伝子多型の違いによって、母体血中ダイオキシン類濃

度と出生体重との関連が大きく異なることを明らかにした[62]. カフェインの影響については, カフェインがパラキサンチンに代謝されるときに主に関わるCYP1A2 遺伝子多型によって, 出生体重に違いが認められた[63]. 葉酸など栄養の影響については, 葉酸は胎児の成長に不可欠で, 1日400  $\mu\text{g}$ の摂取は推奨されるが, 葉酸還元酵素 (5, 10-MTHFR) 遺伝子多型によっては, 出生体重が低下する. これは喫煙によってさらに影響が強まった[64].

#### (8) 遺伝子のエピゲノム修飾

近年注目される遺伝子DNAの修飾作用 (エピゲノム解析) については, 45万か所を調べることができる450K網羅的解析でどの遺伝子に有機フッ素系化合物がメチル化修飾をもたらすかを報告した[65]. さらにゲノム全体のDNAメチル化の指標となるlong interspersed element-1 (LINE1), および, 胎児期発育に重要な役割を果たすIGF2 (Insulin-like growth factor 2) およびH19領域の臍帯血DNAメチル化率を測定し, 胎児期曝露との関連を検討した. その結果PFOA曝露とIGF2のメチル化との間に有意な負の関連が見られた. さらに, IGF2メチル化がPFOA曝露による出生時体格 (ボンデラル) 指数の減少を仲介しており, その影響の20%を説明できることが示された. したがって, PFASs曝露は, DNAメチル化への影響を介して胎児の成長に影響を与えていることが示唆される[24]. また, PCBsの胎児期曝露では, DecaCB異性体濃度とH19のメチル化との正の関連, また, HeptaCB異性体とLINE-1のメチル化との正の関連が認められた. 男女別では, 女兒にそれらの影響が見られた[66].

#### (9) 社会経済要因の影響

北海道スタディで観察した出生時のアウトカムを早産 (37週未満), 超低出生体重 (1,500g未満), term-SGA (37週以降) に分けて見ると, 両親の学歴が大学卒業以上であることがSGAのリスクを減らすことが示された. 社会経済要因の影響については, 母親の学歴とBMIがterm-SGAに及ぼすリスクでは交互作用が認められ, 最終学歴が中学卒業かつBMIが18.5未満の母親で最もリスクが高くなる可能性が示された[23]. また, 世帯収入が高いほど, 生後42か月の児の知的発達得点 (K-ABC) は高くなり, 問題行動得点 (child behavior checklist; CBCL) は低くなった. 所得による子どもの知的発達影響は, 母親の知的能力WAIS-R (成人知能検査) で調整しても, 有意な関連を残した[67]. また北海道コーホートの2000名以上の解析から, 5歳における子どもの問題行動 (Strengths and Difficulties Questionnaire; SDQ) は, 母の妊娠前のBMIが30以上 (肥満), 母の教育歴が高卒未満, 妊娠中の世帯年収が300万円未満, 第一子で, 男児であることと有意に関連していることが明らかとなった[68]. このように環境要因の中で, 社会経済要因の重要性が示唆された.

## V. まとめと今後の課題

本稿では, 我が国における最も早い時期の出生コーホート研究, 北海道スタディで明らかになった成果の一部を紹介した. 最も強調されるべき点は, PCB・ダイオキシン類や有機塩素系化学物質はPOPs条約により世界的に規制が進み, 世界的に人々の曝露濃度は下がりつつあるが, 半減期が長いため未だ一定のレベルが続いている. 札幌, 北海道では日本の中でも比較的濃度は低いものの, 最も感受性の高い胎児期曝露の影響は種々のアウトカムで認められた. また近年はPFOSやPFOAなど比較的新しいPOPsの使用量が増え, 我々のデータから日本でその影響は既に広範囲に表れていることが示唆された. 半減期が短い動物実験で内分泌かく乱作用が指摘されているフタル産エステル類やBPA類の影響も, 本報告では要約しか述べられなかったが, 臍帯血の性ホルモン濃度から確実に存在することが示唆された.

今後, 引き続き, ①幼少期でみられたアウトカムが, いつまで続き, どのように影響が継続していくのか? あるいは見えづらくなるのか? を観察していく必要がある. 長期的な追跡が非常に重要である. 特に発達障害は出生後の生活環境も考慮し, 胎児期曝露の影響がいつまで持続あるいはキャッチアップするか? など詳細を明らかにすることで, 国民にわかりやすい貴重なデータとなる. ②因果関係については, アウトカムへの影響が個々の化学物質の独立した作用か, 複合的な効果かをさらに検討する必要がある. ③曝露およびアウトカム評価の両方について, 世界各国と協力して各地域での有害環境のハザード (危険性) を調査し, 環境化学物質による次世代影響のリスクの大きさを明らかにすることが, 予防策を作るために重要である. ④低濃度曝露による次世代影響について, 我々は既に国内の疫学データでリスク評価を行っており, 多くの知見が得られつつあるので, 政策への反映を求めたい. たとえば, 特に, POPs条約で濃度が低下したPFOSとPFOAに比べて, 日本国内で曝露量が増加しているPFNA, PFDAなど炭素鎖が長いPFASsのリスク評価の結果を, 規制など対策に活用できる. ⑤特に環境省エコチル研究に先立ちその10年前から実施した厚生労働科学研究でのデータの蓄積がある. 国の税金や予算を上手に使うためにも, 我々北海道スタディの長年の成果を国民の健康政策や環境対策に活用していただくことを強く訴えたい.

2011年には, 日本 (Hokkaido Study), 韓国 (MOCEH), 台湾 (TBPS) の3つのコーホートの主任研究者が協力してBiCCA (Birth Cohort Consortium of Asia) を設立した[69]. 現在, 我が国からは北海道スタディとほぼ同時期 (2001年) に立ち上げられた東北スタディ (TSCD) や, 浜松のHBC研究など, 15か国で29の出生コーホートが参加して活動を進めている[15]. その現況を表5および図8に示した. 国内のみならずベトナム, モンゴルなどで日本の研究者が現地の研究者と共同で研究を進めて

わが国で初めての本格的な出生コーホート研究から見た環境化学物質の濃度レベルと次世代影響

表5 Birth Cohort Consortium of Asia (BiCCA)に参画しているアジアの出生コーホート研究 (2018年6月現在)

	国名	コーホート名(省略形)	地域	登録期間	参加者数
1	フィリピン	Cebu Longitudinal Health and Nutrition Survey (CLHNS)	メトロセブ	1983-1984	3,327
2	台湾	Taiwan Maternal and Infant Cohort Study (TMICS)	台北市 新竹市 台中市 彰化市 高雄市 花蓮市	2000-2014	2577
3	日本	The Tohoku Study of Child Development (TSCD)	仙台 気仙沼	2001-2006	1,323
4	日本	Sapporo cohort: Hokkaido Study on Environment and Children's Health	札幌	2002-2005	514
5	日本	Hokkaido cohort: Hokkaido Study on Environment and Children's Health	北海道	2003-2013	20,929
6	台湾	Taiwan Early-Life Cohort (TEC)	台北市 嘉義市 玉林市 台南市 高雄市 台中市	2004-2005	1,589
7	台湾	Taiwan Birth Panel Study (TBPS)	台北市 新北市	2004-2005	486
8	韓国	The Mothers and Children's Environmental Health study (MOCEH)	ソウル, 蔚山広域市 天安市	2006-2010	1,751
9	日本	Hamamatsu Birth Cohort for Mothers and Children (HBC study)	浜松	2007-2011	1,138
10	韓国	COhort for Childhood Origin of Asthma and allergic diseases (COCOA)	韓国全域	2007-2028	1,734
11	韓国	Panel Study on Korean Children (PSKC)	韓国	2008	2,150
12	ネパール	Nepali Birth Cohort Study in Chitwan Valley	チトワン郡	2008	100
13	ベトナム	DaNang Dioxin Cohort study	ダナン	2008-2010	241
14	バングラディシュ	Harvard Reproductive and Birth Cohort (HRBC)	パプナ ムンシガンジ	2008-2011	1613
15	ベトナム	Dioxin and Development of Children in Vietnam	ハノイ フーカット ビエンホア	2008-2013	200
16	韓国	Environment and Development of Children Study (EDC study)	ソウル	2008-2014	698
17	モンゴル	Birth Cohort Study in Mongolia-Towards Solving Global Problems in the Maternal and Child Health	ボルガン県	2009-2010	501
18	シンガポール	Growing Up in Singapore Towards healthy Outcomes (GUSTO)	シンガポール	2009-2010	1,247
19	マレーシア	Universiti Sains Malaysia (USM) Pregnancy Cohort Study	クランタン	2010-2011	188
20	中国	Laizhou Wan Birth Cohort (LWBC)	萊州市の南部海岸沿い	2010-2013	773
21	韓国	Children's Health and Environmental Chemicals in Korea (CHECK)	韓国全域	2011-2013	352
22	ベトナム	BienHoa Dioxin Cohort study	ビエンホア	2012	200
23	中国	Shanghai Birth Cohort (SBC)	上海	2013-2018	3,000 (予定)
24	モンゴル	Ulaanbaatar Gestation and Air Pollution Research (UGAAR)	ウランバートル	2014-2015	540
25	スリランカ	Kalutara Children's Health Study (KCHS)	カルータラ	2014-2015	315
26	中国	Nanjing Medical University Birth Cohort (NJMUBC)	南京市 蘇州市 無錫市 淮安市 常州市	2014-2016	30,000 (予定)
27	アラブ首長国連邦	Mother Infant Study Cohort (MISC)	シャールジャ市	2015-2016	259
28	オーストラリア	Mothers and their Children's Health(MatCH)	オーストラリア	2016-2017	5,779
29	イラン	PERSIAN Birth Cohort (PBC)	エスファハーン ヤズド セムナーン	2016-2019	9,000

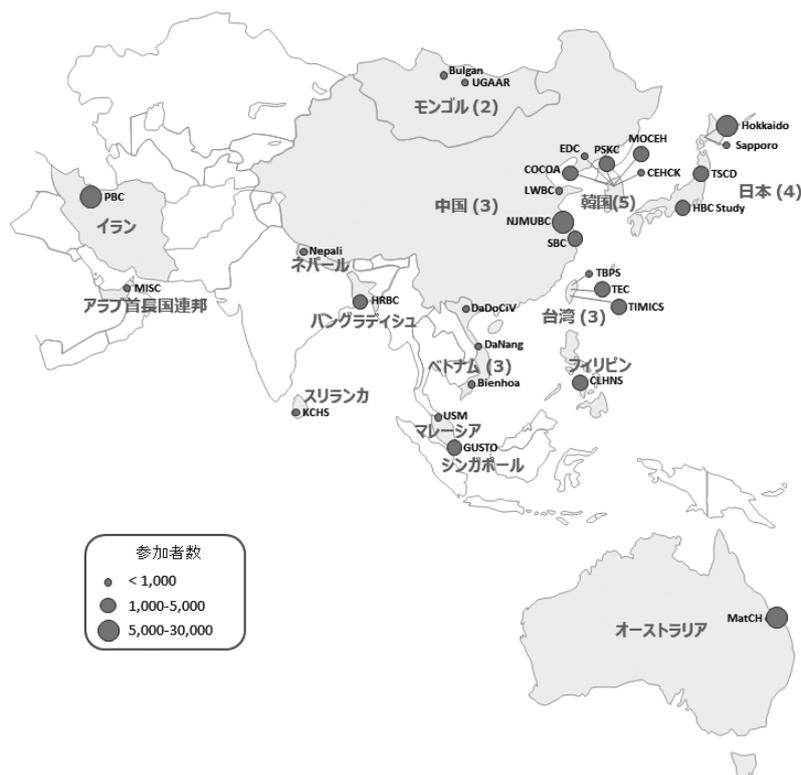


図8 BiCCA参加コーホート

いる。我々のエピゲノム解析の結果はアジアのコーホートが協力した科学的成果である[65]。今後はさらなる共同研究の発展とその成果をアジアの環境保健の向上に生かすことが大いに期待される。

### 謝辞

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

### 利益相反

なし

### 引用文献

[1] Kishi R, Sata F, Yoshioka E, Ban S, Sasaki S, Konishi K, et al. Exploiting gene-environment interaction to detect adverse health effects of environmental chemicals on the next generation. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. 2008;102(2):191-203.

[2] Kishi R, Sasaki S, Yoshioka E, Yuasa M, Sata F, Saijo Y, et al. Cohort profile: the Hokkaido study on environ-

ment and children's health in Japan. *International journal of epidemiology*. 2011;40(3):611-618.

[3] Kishi R, Kobayashi S, Ikeno T, Araki A, Miyashita C, Itoh S, et al. Ten years of progress in the Hokkaido birth cohort study on environment and children's health: cohort profile--updated 2013. *Environmental health and preventive medicine*. 2013;18(6):429-450.

[4] Kishi R, Araki A, Minatoya M, Hanaoka T, Miyashita C, Itoh S, et al. The Hokkaido Birth Cohort Study on Environment and Children's Health: cohort profile--updated 2017. *Environmental health and preventive medicine*. 2017;22(1):46.

[5] 岸玲子. 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. 2010;59(4):366-371.

[6] 岸玲子. 環境化学物質の次世代影響—出生コホート研究による成果と今後の課題—。公衆衛生. 2014;78(8):547-552.

[7] 岸玲子, 荒木敦子, 宮下ちひろ, 伊藤佐智子, 湊屋街子, 小林澄貴, 他. 2万人規模の出生コホートと, 500人規模の小コホートからなる北海道スタディが目指してきたもの: 環境と子どもの健康—先天異常・発達・アレルギーの15年におよぶ経験と成果—。日本衛生学会誌. 2018;73:164-177.

[8] Colborn T, Dumanoski D, Myers JP. Our Stolen Future. Are we threatening our fertility, intelligence, and surviv-

- al?: A scientific detective story. NY, USA: Dutton; 1996.
- [9] Barker DJ. The fetal and infant origins of adult disease. *BMJ (Clinical research ed)*. 1990;301(6761):1111.
- [10] Weisglas-Kuperus N, Patandin S, Berbers GA, Sas TC, Mulder PG, Sauer PJ, et al. Immunologic effects of background exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins in Dutch preschool children. *Environmental health perspectives*. 2000;108(12):1203-1207.
- [11] Wittsiepe J, Furst P, Wilhelm M. The 2005 World Health Organization re-evaluation of TEFs for dioxins and dioxin-like compounds--what are the consequences for German human background levels? *International journal of hygiene and environmental health*. 2007;210(3-4):335-339.
- [12] Schecter A, Papke O, Tung KC, Joseph J, Harris TR, Dahlgren J. Polybrominated diphenyl ether flame retardants in the U.S. population: current levels, temporal trends, and comparison with dioxins, dibenzofurans, and polychlorinated biphenyls. *Journal of occupational and environmental medicine*. 2005;47(3):199-211.
- [13] Nakajima S, Saijo Y, Kato S, Sasaki S, Uno A, Kanagami N, et al. Effects of prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins on mental and motor development in Japanese children at 6 months of age. *Environmental health perspectives*. 2006;114(5):773-778.
- [14] Konishi K, Sasaki S, Kato S, Ban S, Washino N, Kajiwara J, et al. Prenatal exposure to PCDDs/PCDFs and dioxin-like PCBs in relation to birth weight. *Environmental research*. 2009;109(7):906-913.
- [15] Kishi R, Araki A, Minatoya M, Itoh S, Goudarzi H, Miyashita C. Birth cohorts in Asia: The importance, advantages, and disadvantages of different-sized cohorts. *Sci Total Environ*. 2018;615:1143-1154.
- [16] Fleisch AF, Rifas-Shiman SL, Mora AM, Calafat AM, Ye X, Luttmann-Gibson H, et al. Early-Life Exposure to Perfluoroalkyl Substances and Childhood Metabolic Function. *Environmental health perspectives*. 2017;125(3):481-487.
- [17] Fei C, McLaughlin JK, Tarone RE, Olsen J. Perfluorinated chemicals and fetal growth: a study within the Danish National Birth Cohort. *Environmental health perspectives*. 2007;115(11):1677-1682.
- [18] Brantsaeter AL, Whitworth KW, Ydersbond TA, Haug LS, Haugen M, Knutsen HK, et al. Determinants of plasma concentrations of perfluoroalkyl substances in pregnant Norwegian women. *Environment international*. 2013;54:74-84.
- [19] Washino N, Saijo Y, Sasaki S, Kato S, Ban S, Konishi K, et al. Correlations between prenatal exposure to perfluorinated chemicals and reduced fetal growth. *Environmental health perspectives*. 2009;117(4):660-667.
- [20] Okada E, Sasaki S, Saijo Y, Washino N, Miyashita C, Kobayashi S, et al. Prenatal exposure to perfluorinated chemicals and relationship with allergies and infectious diseases in infants. *Environmental research*. 2012;112:118-125.
- [21] Okada E, Kashino I, Matsuura H, Sasaki S, Miyashita C, Yamamoto J, et al. Temporal trends of perfluoroalkyl acids in plasma samples of pregnant women in Hokkaido, Japan, 2003-2011. *Environment international*. 2013;60:89-96.
- [22] 厚生労働省. ビスフェノールAについてのQ&A. <http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/kigu/topics/080707-1.html> (accessed 2018-07-18).
- [23] Tamura N, Hanaoka T, Ito K, Araki A, Miyashita C, Ito S, et al. Different Risk Factors for Very Low Birth Weight, Term-Small-for-Gestational-Age, or Preterm Birth in Japan. *Int J Environ Res Public Health*. 2018;15(2):369.
- [24] Kobayashi S, Azumi K, Goudarzi H, Araki A, Miyashita C, Kobayashi S, et al. Effects of prenatal perfluoroalkyl acid exposure on cord blood IGF2/H19 methylation and ponderal index: The Hokkaido Study. *Journal of exposure science & environmental epidemiology*. 2017;27:251-259.
- [25] Minatoya M, Araki A, Miyashita C, Sasaki S, Goto Y, Nakajima T, et al. Prenatal di-2-ethylhexyl phthalate exposure and cord blood adipokine levels and birth size: The Hokkaido study on environment and children's health. *Sci Total Environ*. 2017;579:606-611.
- [26] Kato S, Itoh S, Yuasa M, Baba T, Miyashita C, Sasaki S, et al. Association of perfluorinated chemical exposure in utero with maternal and infant thyroid hormone levels in the Sapporo cohort of Hokkaido Study on the Environment and Children's Health. *Environ Health Prev Med*. 2016;21(5):334-344.
- [27] Baba T, Ito S, Yuasa M, Yoshioka E, Miyashita C, Araki A, et al. Association of prenatal exposure to PCDD/Fs and PCBs with maternal and infant thyroid hormones: The Hokkaido Study on Environment and Children's Health. *Sci Total Environ*. 2018;615:1239-1246.
- [28] Nakajima S, Saijo Y, Miyashita C, Ikeno T, Sasaki S, Kajiwara J, et al. Sex-specific differences in effect of prenatal exposure to dioxin-like compounds on neurodevelopment in Japanese children: Sapporo cohort study. *Environmental research*. 2017;159:222-231.
- [29] Ikeno T, Miyashita C, Nakajima S, Kobayashi S, Yamazaki K, Saijo Y, et al. Effects of low-level prenatal exposure to dioxins on cognitive development in Japanese children at 42 months. *The Science of the total environment*. 2018;618:1423-1430.
- [30] Goudarzi H, Nakajima S, Ikeno T, Sasaki S, Kobayashi S, Miyashita C, et al. Prenatal exposure to perfluorinated

- chemicals and neurodevelopment in early infancy: The Hokkaido Study. *Sci Total Environ.* 2016;541:1002-1010.
- [31] Yamazaki K, Araki A, Nakajima S, Miyashita C, Ikeno T, Itoh S, et al. Association between prenatal exposure to organochlorine pesticides and the mental and psychomotor development of infants at ages 6 and 18 months: The Hokkaido Study on Environment and Children's Health. *Neurotoxicology.* 2017. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2017.11.011> (accessed 2018-07-18)
- [32] Minatoya M, Araki A, Nakajima S, Sasaki S, Miyashita C, Yamazaki K, et al. Cord blood BPA level and child neurodevelopment and behavioral problems: The Hokkaido Study on Environment and Children's Health. *Sci Total Environ.* 2017;607-608:351-356.
- [33] Miyashita C, Sasaki S, Saijo Y, Washino N, Okada E, Kobayashi S, Konishi K, et al. Effects of prenatal exposure to dioxin-like compounds on allergies and infections during infancy. *Environmental research.* 2011;111(4):551-558.
- [34] Miyashita C, Bamai YA, Araki A, Itoh S, Minatoya M, Kobayashi S, et al. Prenatal exposure to dioxin-like compounds is associated with decreased cord blood IgE and increased risk of wheezing in children aged up to 7years: The Hokkaido study. *The Science of the total environment.* 2018;610-611:191-199.
- [35] Okada E, Sasaki S, Kashino I, Matsuura H, Miyashita C, Kobayashi S, et al. Prenatal exposure to perfluoroalkyl acids and allergic diseases in early childhood. *Environ Int.* 2014;65:127-134.
- [36] Goudarzi H, Miyashita C, Okada E, Kashino I, Chen CJ, Ito S, et al. Prenatal exposure to perfluoroalkyl acids and prevalence of infectious diseases up to 4 years of age. *Environ Int.* 2017;104:132-138.
- [37] Ait Bamai Y, Miyashita C, Araki A, Nakajima T, Sasaki S, Kishi R. Effects of prenatal di(2-ethylhexyl) phthalate exposure on childhood allergies and infectious diseases: The Hokkaido Study on Environment and Children's Health. *Sci Total Environ.* 2018;618:1408-1415.
- [38] Araki A, Mitsui T, Miyashita C, Nakajima T, Naito H, Ito S, et al. Association between maternal exposure to di(2-ethylhexyl) phthalate and reproductive hormone levels in fetal blood: the Hokkaido study on environment and children's health. *PLoS One.* 2014;9(10):e109039. doi:10.1371/journal.pone.0109039 (accessed 2018-07-18)
- [39] Araki A, Mitsui T, Goudarzi H, Nakajima T, Miyashita C, Itoh S. Prenatal di(2-ethylhexyl) phthalate exposure and disruption of adrenal androgens and glucocorticoids levels in cord blood: The Hokkaido Study. *Sci Total Environ.* 2017;581-582:297-304.
- [40] Itoh S, Araki A, Mitsui T, Miyashita C, Goudarzi H, Sasaki S, et al. Association of perfluoroalkyl substances exposure in utero with reproductive hormone levels in cord blood in the Hokkaido Study on Environment and Children's Health. *Environment international.* 2016;94:51-59.
- [41] Miyashita C, Araki A, Mitsui T, Itoh S, Goudarzi H, Sasaki S, et al. Sex-related differences in the associations between maternal dioxin-like compounds and reproductive and steroid hormones in cord blood: the Hokkaido Study. *Environment International.* 2018;117:175-185.
- [42] Warembourg C, Debost-Legrand A, Bonvallot N, Massart C, Garlantézec R, Monfort C, et al. Exposure of pregnant women to persistent organic pollutants and cord sex hormone levels. *Human Reproduction.* 2016;31(1):190-198.
- [43] Kanazawa A, Miyashita C, Okada E, Kobayashi S, Washino N, Sasaki S, et al. Blood persistent organochlorine pesticides in pregnant women in relation to physical and environmental variables in The Hokkaido Study on Environment and Children's Health. *The Science of the total environment.* 2012;426:73-82.
- [44] Araki A, Miyashita C, Mitsui T, Goudarzi H, Mizutani F, Chisaki Y, et al. Prenatal organochlorine pesticide exposure and the disruption of steroids and reproductive hormones in cord blood: The Hokkaido study. *Environment International.* 2018;110:1-13.
- [45] Goudarzi H, Araki A, Itoh S, Sasaki S, Miyashita C, Mitsui T, et al. The Association of Prenatal Exposure to Perfluorinated Chemicals with Glucocorticoid and Androgenic Hormones in Cord Blood Samples: The Hokkaido Study. *Environmental Health Perspectives.* 2017;125(1):111-118.
- [46] Lin LC, Wang SL, Chang YC, Huang PC, Cheng JT, et al. Associations between maternal phthalate exposure and cord sex hormones in human infants. *Chemosphere.* 2011;83:1192-1199.
- [47] David RM. Proposed mode of action for in utero effects of some phthalate esters on the developing male reproductive tract. *Toxicologic Pathology.* 2006;34(3):209-219.
- [48] Hu GX, Lian QQ, Ge RS, Hardy DO, Li XK. Phthalate-induced testicular dysgenesis syndrome: Leydig cell influence. *Trends Endocrinol Metab.* 2009;20(3):139-145.
- [49] Minatoya M, Sasaki S, Araki A, Miyashita C, Itoh S, Yamamoto J, et al. Cord Blood Bisphenol A Levels and Reproductive and Thyroid Hormone Levels of Neonates: The Hokkaido Study on Environment and Children's Health. *Epidemiology.* 2017;28(Suppl 1):S3-S9.
- [50] Swan SH, Liu F, Hines M, Kruse RL, Wang C, Redmon JB, et al. Prenatal phthalate exposure and reduced masculine play in boys. *International journal of andrology.* 2010;33(2):259-269.

- [51] Mitsui T, Araki A, Imai A, Sato S, Miyashita C, Ito S, et al. Effects of prenatal Leydig cell function on the ratio of the second to fourth digit lengths in school-aged children. *PLoS One*. 2015;10(3):e0120636. doi:10.1371/journal.pone.0120636 (accessed 2018-07-18)
- [52] Mitsui T, Araki A, Miyashita C, Ito S, Ikeno T, Sasaki S, et al. The Relationship between the Second-to-Fourth Digit Ratio and Behavioral Sexual Dimorphism in School-Aged Children. *PLoS One*. 2016;11(1):e0146849. doi:10.1371/journal.pone.0146849 (accessed 2018-07-18)
- [53] Minatoya M, Itoh S, Miyashita C, Araki A, Sasaki S, Miura R, et al. Association of prenatal exposure to perfluoroalkyl substances with cord blood adipokines and birth size: The Hokkaido Study on environment and children's health. *Environmental research*. 2017;156:175-182.
- [54] Minatoya M, Araki A, Miyashita C, Ait Bamai Y, Itoh S, Yamamoto J, et al. Association between prenatal bisphenol A and phthalate exposures and fetal metabolic related biomarkers: The Hokkaido study on Environment and Children's Health. *Environmental research*. 2017;161:505-511.
- [55] Minatoya M, Itoh S, Araki A, Tamura N, Yamazaki K, Miyashita C, et al. Association between fetal adipokines and child behavioral problems at preschool age: The Hokkaido Study on Environment and Children's Health. *Int J Environ Res Public Health*. 2018;15(1):E120.
- [56] Sasaki S, Kondo T, Sata F, Saijo Y, Katoh S, Nakajima S, et al. Maternal smoking during pregnancy and genetic polymorphisms in the Ah receptor, CYP1A1 and GSTM1 affect infant birth size in Japanese subjects. *Molecular human reproduction*. 2006;12(2):77-83.
- [57] Sasaki S, Sata F, Katoh S, Saijo Y, Nakajima S, Washino N, et al. Adverse birth outcomes associated with maternal smoking and polymorphisms in the N-Nitrosamine-metabolizing enzyme genes NQO1 and CYP2E1. *American journal of epidemiology*. 2008;167(6):719-726.
- [58] Kobayashi S, Sata F, Sasaki S, Braimoh TS, Araki A, Miyashita C, et al. Combined effects of AHR, CYP1A1, and XRCC1 genotypes and prenatal maternal smoking on infant birth size: Biomarker assessment in the Hokkaido Study. *Reproductive toxicology*. 2016;65:295-306.
- [59] Kobayashi S, Sata F, Sasaki S, Braimoh TS, Araki A, Miyashita C, et al. Modification of adverse health effects of maternal active and passive smoking by genetic susceptibility: Dose-dependent association of plasma cotinine with infant birth size among Japanese women-The Hokkaido Study. *Reproductive toxicology*. 2017;74:94-103.
- [60] Braimoh TS, Kobayashi S, Sata F, Sasaki S, Goudarzi H, Yila TA, et al. Association of prenatal passive smoking and metabolic gene polymorphisms with child growth from birth to 3years of age in the Hokkaido Birth Cohort Study on Environment and Children's Health. *The Science of the total environment*. 2017;605-606:995-1002.
- [61] Kobayashi S, Sata F, Sasaki S, Ban S, Miyashita C, Okada E, et al. Genetic association of aromatic hydrocarbon receptor (AHR) and cytochrome P450, family 1, subfamily A, polypeptide 1 (CYP1A1) polymorphisms with dioxin blood concentrations among pregnant Japanese women. *Toxicology letters*. 2013;219(3):269-278.
- [62] Kobayashi S, Sata F, Miyashita C, Sasaki S, Ban S, Araki A, et al. Dioxin-metabolizing genes in relation to effects of prenatal dioxin levels and reduced birth size: The Hokkaido Study. *Reprod Toxicol*. 2017;67:111-116.
- [63] Sasaki S, Limpar M, Sata F, Kobayashi S, Kishi R. Interaction between maternal caffeine intake during pregnancy and CYP1A2 C164A polymorphism affects infant birth size in the Hokkaido study. *Pediatric research*. 2017;82(1):19-28.
- [64] Yila TA, Sasaki S, Miyashita C, Braimoh TS, Kashino I, Kobayashi S, et al. Effects of maternal 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C Polymorphisms and tobacco smoking on infant birth weight in a Japanese population. *Journal of epidemiology*. 2012;22(2):91-102.
- [65] Miura R, Araki A, Miyashita C, Kobayashi Su, Kobayashi Sa, Wang SL, et al. An epigenome-wide study of cord blood DNA methylations in relation to prenatal perfluoroalkyl substance exposure: the Hokkaido study, *Environment International*. 2018;115:21-28.
- [66] Kobayashi S, Sata F, Miyashita C, Miura R, Azumi K, Kobayashi S, et al. Gender-specific association of exposure to non-dioxin-like polychlorinated biphenyls during pregnancy with methylation levels of H19 and long interspersed nuclear element-1 in cord blood in the Hokkaido study. *Toxicology*. 2017;390:135-145.
- [67] Kita T, Nakajima S, Ikeno T, Kishi R. The association between parental socioeconomic status and intellectual ability in Japanese infants aged 42 month: The Hokkaido Study. In: *International Epidemiological Association 2014, World Congress of Epidemiology: 2014 Aug 17-24; Anchorage, Alaska*. 2014.
- [68] Minatoya M, Itoh S, Araki A, Tamura N, Yamazaki K, Nishihara S, et al. Associated factors of behavioural problems in children at preschool age: the Hokkaido study on environment and children's health. *Child: care, health and development*. 2017;43(3):385-392.
- [69] Kishi R, Zhang JJ, Ha EH, Chen PC, Tian Y, Xia Y, et al. Birth Cohort Consortium of Asia (BiCCA): Current and Future Perspectives. *Epidemiology*. 2017;28:(Suppl 1):S19-S34.