

# オランダにおける停留精巣と尿道下裂： 内分泌攪乱化学物質が関与しているか？

フランク H. ピエリク

オランダ エラスムス大学ロッテルダム

丁寧なご紹介ありがとうございます。皆さん、こんにちは。私を招待してくださり、このような素晴らしい会議を開催された主催者に感謝の意を表したいと思います。今回初めて日本を訪問する機会を得てうれしく思っています。

私のプレゼンテーションのテーマは、停留精巣と尿道下裂の有病率および内分泌攪乱化学物質の役割です。主催者に伝えたこのプレゼンテーションのタイトルが少し野心的過ぎたような気がしています。私は「内分泌攪乱化学物質が関与しているか？」という問題への明確な答えがありません。しかし、答えを求めて努力しています。

このプレゼンテーションでは、停留精巣と尿道下裂の考察における 2 つの重要な側面について扱います。プレゼンテーションの第 1 部では、出生異常の登録の正確さを取り上げます。出生異常モニタリングシステムで報告されている経時的傾向と地理的な差を示したあと、これらのデータの方法上の制約について解説します。オランダで行われた停留精巣と尿道下裂の正確な有病率に関するユニークな研究の結果をご紹介します。これらの結果は簡潔に考察します。

私のプレゼンテーションの第 2 部では、「内分泌攪乱化学物質が停留精巣と尿道下裂の病因に関与しているのか？」という問題について取り上げます。この問題に答える前に、我々は一般集団における非常に複雑な曝露を推定するための方法を開発する必要があります。我々の最新の方法を説明するため、ロッテルダムで進行中の研究における曝露アセスメントの方法について解説します。

最後に、結論と今後の計画をお話して締めくくります。

話を進める前に、私が何を話そうとしているのかを理解していただくために、皆さんに 2 件の出生異常に関する 2 枚の写真を見ていただきます。[次のスライドをお願いします。]

## 停留精巣の写真

これは若い少年の生殖器です。ご覧の通り、精巣の 1 つが陰嚢内の正常な位置にありません。これが停留精巣の定義です。

## 尿道下裂の写真

このスライドは、尿道下裂の一例です。尿道下裂の場合、尿道の開口部は亀頭の先端にはなく、陰茎の腹側面のどこかにあります。通常、この異常は、外科的な矯正が行われます。

## 第 1 部：登録の正確さ

まず、「停留精巣と尿道下裂の有病率には実際に時や場所による差がありますか？」という問題から第 1 部を始めたいと思います。ヨーロッパ、米国、およびアジアの複数のグループが 20 世紀末にこれらの異常に増加傾向および地理的な差があることを報告しています。いくつかの事例を次のスライドに示しています。

### 事例 1

これらの数値は、Jorma Toppari らによるレビューから引用したのですが、英国およびハンガリーにおける研究の結果を示しており、30~50 年の間に尿道下裂の有病率が 2 倍になったことを示唆しています。これらの最初の研究に続き、他にもいくつかの報告がなされました。下に示したのはいくつかのスカンジナビア諸国における尿道下裂の有病率のグラフです。これらのグラフには 3 つの現象があることに注意してください。1 つ

は明らかな増大傾向です。2 つ目は、有病率に大きな地域差があることです。そして 3 つ目は、いくつかの登録には連続した年度間に大きな差が見られることです。いくつかの国では数年間かかって他の国より信頼性が高い有病率を導き出しているように見えます。

#### 事例 2

これは大規模な米国の登録における尿道下裂の上昇傾向の例です。この登録では全期間にわたって標準化された方法が使用されています。

#### 事例 3

このスライドは、Paullozi による別の論文から引用した 2 つの図で、出生異常モニタリングシステムに関する国際クリアリングハウスのデータを示しています。左側のパネルは、1960 年代後期から 1990 年代までの期間にわたる複数の国の尿道下裂有病率です。最も低い曲線（アスタリスクで表示した曲線）は、1972 年から 1996 年までの日本の有病率をプロットしています。先ほど平原博士のお話にあったように、日本の有病率は他の国よりも比較的 low、連続した複数年にわたる有病率が非常に一定しているため、日本の曲線は興味深いです。平原博士は、より最近の有病率が再び若干高くなっていることを示されました。

右側のパネルは停留精巣の有病率を示した曲線で、ここでも時と場所により差があることを示しています。多くの登録では停留精巣を記録していないため、停留精巣に関するデータはわずかしかなりません。停留精巣の精巣が若年期に陰囊中へ自然に下降することがあるため、停留精巣の有病率は少年の年齢により非常に異なります。

残念ながら、時と場所による差が真実であるか、または、差が不正確な方法の結果により生じているのかを、これらのグラフから判断することはできません。

#### 登録データの解釈における問題：

従って、登録データに基づいて結論を導く前に、我々はこれらのデータの方法上の制約を理解する必要があります。このスライドは、登録システムの正確さに影響を及ぼす可能性があるいくつかの問題を列挙しています。ただし、これらの問題によって、すべての登録システムで同じように偏向が生じているわけではないことを強調しておきます。

計算者に影響を及ぼしている問題を次に挙げます。これらが症例数に影響します。

- 症例の定義の相違：すべての登録システムが同一の症例診断基準を使用しているわけではありません。
- サブタイプの除外：一部の登録システムは、軽微な等級を除外しており、その結果、推定有病率を低くしています。さらに、サブタイプの等級付けは、登録機関により異なります。
- 多くの場合、すべての新生児が異常の有無について体系的にスクリーニングされているわけではありません。従って、すべての症例が検出されているわけではなく、実際有病率を過小に見積もることとなります。
- 一部の登録は、医師が症例の報告に協力してくれることに依存しており、この報告で全ての症例がカバーされるとは言えません。
- 一部の登録が外科手術記録に基づいています。しかし、すべての症例が外科手術の治療の対象とされるわけではなく、外科手術の適応基準が変更されていることがあります。  
一部の問題は、対象集団の総数を表す分母に影響を及ぼす場合があります。
- すべての新生児がスクリーニングされるわけではないため、分母は近似値です。例えば、分母はある病院を利用している集団の推定総数に基づいていることがあります。
- もう 1 つの問題は、すべての症例がこの対象地域内で報告されるわけではないということです。例えば、一部の母親は定義された対象区域外で出産したり、別の病院で出産することを選んだりします。

これらの問題にはどの程度の影響力があるのでしょうか？

登録におけるこれらの問題の影響力の強さを認識することが重要です。我々は、ほとんどの公表されているデータがこのような登録システムに基づいていることを認識する必要があります。

これらの問題の影響力の強さは、登録を出生コホートの完全な組織的スクリーニングと比較することで分析することができます。

#### ロッテルダムの停留精巣および尿道下裂に関する研究

我々はロッテルダム市でこのような比較を行いました。研究の第一の目的は私のプレゼンテーションの第 1 部に関連しています。他の 2 つの目的は、内分泌攪乱化学物質の役割に関連しており、プレゼンテーションの第 2 部で取り上げます。研究の第一の目的は、出生コホートをすべて検査することにより、尿道下裂と停留精巣の有病率を正確に調査することでした。

#### ロッテルダム研究のデザイン

我々は横断的デザインを採用し、2 年間にロッテルダムで生まれた 7,000 名以上の連続した男児の尿道下裂と停留精巣の発生率について調査しました。7000 名の男児は、ほぼ 1 カ月齢のときにチャイルドヘルスケアセンターで標準化された検査を受けました。これらのチャイルドヘルスケアセンターは全国的な予防小児保健プログラムを実施しており、例えば、伝染病の予防接種が含まれます。これらのサービスは無料で、全新生児の 99%が参加しています。全ての症例は我々の小児科病院の小児泌尿器専門医に差し向けられ、当該異常の確認と等級付けが行われます。

私のプレゼンテーションの第 2 部で取り上げる内分泌攪乱化学物質の役割を調査するため、この出生コホート中に同定された症例は、約 150 名の症例を 450 名の対照群被験者と比較するネステード・ケースコントロール研究に含まれています。

症例群と選択された対照群は研究担当看護婦が家庭訪問しています。この往診の際に、面接調査および新生児と母親の血液を採取することにより、内分泌攪乱化学物質への曝露に関するデータが集められます。

#### 方法：標準検査

左側に示すように、尿道下裂は経験豊かな小児泌尿器科医が等級付けをしました。亀頭部尿道下裂のグレードは一般にあまり重度視されておらず、他の尿道下裂のグレードが重度と考えられています。いくつかの登録における尿道下裂の有病率の増加傾向は、軽微な重症度の症例の報告が増加した結果であることが示唆されています。この仮説は、十分な検証ができませんでした。なぜなら、ほとんどの場合、サブタイプの発現頻度分布が分かっていなかったからです。従って、我々の研究にこれらすべてのサブタイプを含めることに決めました。

また、精巣の位置は、このスライドの右側に示した標準化した方法で検査しました。

#### 結果：停留精巣の発生率

この表は、7,292 名の男児の停留精巣検査の結果を示しています。停留精巣の存在の有無は、ロッテルダムのチャイルドヘルスケアセンターを訪れた男児の 95%について報告されました。男児 79 名で片側または両側性の停留精巣が小児科医によって確認され、この結果、有病率は 1.1%でした。

#### 結果：尿道下裂の発生率

この表は、小児泌尿器科医が確認したあとに明らかになった同数の男児における尿道下裂サブタイプの発生率を示しています。尿道下裂は 53 名の男児に見られ、有病率は約 0.7%でした。チャイルドヘルスケアセンターの医師が判断した症例の 88% (60 名中 53 名) が小児科チームにより最終確認されました。軽度症例対重度症例は 12 対 36 であり、25%が軽微な重症度でした。尿道下裂の状態で生まれた男児の 80%では、排尿の問題または陰茎の屈曲のために外科手術が必要とされました。また亀頭部尿道下裂の症例の 25%は、外科的矯正の適用とされました。

次のいくつかのスライドでは、科学誌に掲載された他の報告と比較しながら我々の結果を考察します。

## 考察1

ロッテルダムにおける停留精巣の有病率 1.1%は、国際的な文献と一致しています。

チャイルドヘルスケアセンターの医師が判断した症例の 72%が専門の小児科医により最終確認されました。チャイルドヘルスケアセンターは、オランダにおける停留精巣と尿道下裂を組織的にスクリーニングするための優れた施設と考えられます。多くの停留精巣は若年期に自然に下降することが分かっており、小児科医の診断に差が見られるのは、恐らく検査に時間的な差があるためであると考えられます。

## 考察2

我々の研究における最も重要な所見は、尿道下裂の有病率が高いことです。我々は 0.7%の有病率を確認しており、その値は、オランダを含むヨーロッパの 16 地域からデータを収集している Eurocat（全欧先天異常登録）をもとにした予測値を超えています。ヨーロッパの登録では、亀頭部尿道下裂の症例は除外されています。我々も亀頭部尿道下裂の症例を除外しても、オランダの有病率は依然として Eurocat 有病率の 4 倍の高さになります。

我々の研究は、ヨーロッパの出生異常登録には実質的に報告漏れがあることを示唆しています。尿道下裂の傾向に関する報告が何れもこのような症例の把握の変化に敏感な登録データに基づいていることを理解する必要があります。

米国における尿道下裂の過去 50 年間の 2 倍の増加は、近年、軽微な症例がより効率的に報告される傾向があることに起因する可能性があるということが示唆されています。症例の大半についての尿道下裂のサブタイプが分かっていないため、この仮説は検証することができませんでした。我々の研究の集団では、軽微な症例対重度の症例の比率は 1 対 3 でした。この比率が米国の登録システムに当てはまるとすれば、米国の登録システムにおける尿道下裂の有病率が 2 倍になったことが、軽微な症例の比率が高くなったことに起因するとは言えません。

## 考察3

我々が行ったのと同時期に、尿道下裂の組織的なスクリーニングに関する同様の研究がフィンランドで実施されました。この研究では、ほぼ 6000 名の男児からわずか 19 症例が発見されました。我々の研究ではその 2 倍の有病率を確認しています。この研究は来年初頭に「Human Reproduction」誌上で発表する予定です。

最初の 2 つの正確な尿道下裂の有病率に基づいた 2.2 倍の地理的な差は、この研究所見を説明する研究をさらに実施することを正当化するものです。例えば日本における有病率が本当に世界の他の地域よりも低いかどうか、また、環境上および遺伝性のリスク因子に国による違いが見られるかどうかを観察するため、組織的な方法で他の国の出生率を調査することは大変興味深いことです。

## プレゼンテーション構造

冒頭でお話しました通り、私のプレゼンテーションの第 2 部では集団をもとにした研究における曝露アセスメントという難しい作業を取り上げます。その中から、私の意見として重要と考える問題について要約してお話します。我々の最新の方法を説明するため、ロッテルダムで進行中の研究における曝露アセスメント法について解説します。

## 停留精巣と尿道下裂における内分泌攪乱化学物質の役割を示す証拠

内分泌攪乱化学物質への曝露と尿生殖器異常の発生の因果関係を示す証拠はあるでしょうか？これらの影響は野生生物と動物実験では確認されています。しかし、ヒトでは、そのような例は 1 つだけです。それは非常に強力な合成エストロゲンである DES（ジエチルstilbestrol）の薬理的用量の投与を受けた母親の子供に停留精巣と尿道下裂が発生したことです。

しかし、一般集団に関しては、状況証拠しかありません。疫学的リサーチによると、一部のサブグループにおいて、内分泌攪乱化学物質への曝露との関連が疑われる尿道下裂のリスクが増大していることが示されてい

ます。例えば、妊娠中に菜食であった母親が出産した男児に尿道下裂が多発しました。これについては、天然のフィトエストロゲンに高レベルで曝露していたことが原因として示唆されています。また、IVFのような人工授精技術の施行後に生まれた小児に尿道下裂のリスク増大が観察されました。この場合、可能性の高い理由としては、排卵誘発のために母親に投与されたホルモンへ胎児が曝露したことがあげられています。

これまでのところ、集団研究において疫学的関連性が示されているだけです。曝露とこれらの健康エンドポイントとの繋がりは実証されていません。関連性ではなく、明確な因果関係を確認するための最初の段階は、内分泌攪乱化学物質の原因としての役割を明らかにする必要があります。言い換えれば、実際の曝露について調査することが必要です。そしてこれは複雑な作業です。

### 曝露アセスメントの問題

動物実験における単一の化学物質への高濃度での明確に定義された曝露は、一般のヒト集団における曝露を表していません。一般に、ヒトは低濃度の複数の物質からなる複雑な混合物に曝露しており、生存中における曝露は様々に変化します。ヒトの曝露アセスメントのための統合化されたモデルを開発することは容易ではありません。

### 総合曝露アセスメントの側面

ここにいる我々全員が、食事、環境、職業、および消費者製品などの複数の曝露源から生じる内分泌攪乱化学物質に曝露しています。平均的な動物実験と異なり、ヒトは、皮膚や呼吸経路などの異なる経路を介して同時に曝露しています。地域を設定した研究において個々のレベルでこれらの経路や曝露源を介したすべての曝露を測定することは不可能であるため、我々は別の方法を利用することが必要です。

代替方法としては、食事や職業などに関するアンケートを利用することにより、被験者の曝露モデルを作成することができます。既存のデータを用いて、アンケートのデータから曝露レベルを推定することができます。例えば、化学物質への職業曝露レベルに関するデータベースを利用することができます。利用可能な毒物学的データが不十分ならば、特定の環境モニタリングを行うことができます。さらに、推定される曝露が内分泌攪乱化学物質の体内量と相関しているかを観察するため、血清標本でバイオアッセイを実施することができます。

次に、停留精巣と尿道下裂に関する現在進行中の我々の研究で利用している曝露アセスメントの方法を解説して、この方法を例証します。

### ロッテルダム研究における曝露アセスメント

このスライドは、内分泌攪乱化学物質への曝露と他のリスクファクターの様々な側面を示しています。これらは、アンケートに含まれており、症例である男児と対照群の男児の親と面接調査する際に使用します。このアンケートには、個人的な情報（教育、住所）、フィトエストロゲンに関する食事についてのセクション（例えば大豆製品）、詳細な職歴、医療関連情報などが含まれます。

### アンケート：食事に関するセクション

食事に関するセクションは、我々の研究のために特別に設計しました。食品が次のステップで選択されました。（1）製品は最も効力が高いフィトエストロゲンであるイソフラボノイドまたはリグナンを含有することが知られている。（2）製品は当該地域の集団で相当な頻度で使用されている。（3）イソフラボノイドまたはリグナンの濃度は過去の調査やデータベースから入手することができる。次に、摂取量は、使用頻度、1食分の量、および濃度から計算することができます。

### アンケート：職業および環境に関するセクション

職業に関するセクションには、曝露に関連する職業についての既存の知識を利用することができます。我々は、労働環境衛生士の専門家の意見から、曝露レベルを推定しました。これは、職業/曝露一覧と称されます。特定の職業については、データベースから曝露量データを入手することができます。

また、環境内曝露量を推定するには、大気汚染や飲用水のモニタリングシステムからデータを入手することができます。

#### ロッテルダム研究：バイオモニタリング

アンケートに加えて、我々は男児とその母親達の血液も集めました。我々は、血清中でのエストロゲン様生物活性の体内総活性量を測定するために、エストロゲン受容体を介したリポーター遺伝子アッセイを開発しました。この分析法は外因性作用と内因性の活性を測定します。内因性活性のレベルは、臨床でも使用されているエストラジオールアッセイで分析します。次に、バイオアッセイで測定した総活性量から内因性の活性分画を引いて、外因性のエストロゲン様活性を計算します。

このアッセイは、少量の検体で使用できるように最適化されています。なぜなら、一般に疫学的研究で利用できる血液の量は少ないためです。100  $\mu$  l の血清が必要なだけです。

来年初頭から停留精巣と尿道下裂の症例、対照群、母親から採取した血液の分析にこのアッセイを利用し始める予定です。我々は、このアンケートのデータを利用して、体内量を可能性の高い曝露源と結び付けることができます。

バイオモニタリングは、アンケートと照合して妥当性を確認します。

#### 全体的結論

私のプレゼンテーションのまとめに進みます。結論を述べます。

- (1) 停留精巣と尿道下裂の有病率と傾向の正確なモニタリングのためには、重症度の分類を含め、完全な症例確認法が必要です。非常に最近まで、この目的では登録データが利用できるだけでした。停留精巣と尿道下裂が広範囲にわたり増加していることを、登録データだけを基にして証明することは困難です。組織的なスクリーニング研究の有病率を国別に比較すると興味深いでしょう。
- (2) 第二に、停留精巣と尿道下裂の原因および時と場所による差の原因については、調査する必要があります。
- (3) 最後の3番目で私の結論として、健康上の影響を内分泌攪乱に関連づけるためには、我々は適切な曝露アセスメントの方法とマーカーを開発する必要があります。

#### 今後の計画

- 私の今後の計画はこのスライドに示されています。来年初頭に我々のケースコントロール研究でリスクファクターの分析を開始します。従って、来年の今ごろには、「内分泌攪乱化学物質が関与しているか？」という問題に対するより明確な答えを提示できるのではないかと思います。
- 先週、8,000名の妊娠女性とその出生子に関する大規模なコホート研究が始まりました。この研究では、小児が成人になるまでフォローアップが行われます。この研究では、生殖健康および神経の発達や成長などに対する内分泌攪乱化学物質への曝露の影響について病因調査を行うことができます。
- 3つ目の計画は、エストロゲン受容体アッセイの妥当性検査を含め、総合的な曝露アセスメントの戦略を確立することです。

尿道下裂の有病率における地理的な差について、さらに詳細に調査したいと思います。

これらすべての計画のため、我々の研究に関心のある他の研究グループと協力関係を築きたいと考えています。

#### 研究パートナー

この最後のスライドは、ロッテルダムで進行中の研究における研究パートナーを示しています。

以上で終わりです。ご清聴ありがとうございました。

## 質疑応答

ランカスター：ピエリク博士、ありがとうございます。結果だけではなく曝露情報に基づいていくつかの特定の仮説を実際に検証しようとしているグループがあることは良いことだと思います。何か質問はございませんか？

ダストン：興味深い話ですね。2 つ質問があります。1 つは、あなたが計画しておられる症例-対照研究では、対照群には健常被験者を入れる予定ですか、それとも無関係な先天異常を有する被験者を対照群にする予定ですか？

ピエリク：異常が全く見られない健常男児を対照群に入れる予定です。それを対照群の基準とし、年齢を合わせて症例と対応させます。

ダストン：あなたは、このような場合の想起バイアスを制御するには何をされる予定ですか？

ピエリク：想起バイアスの抑制のための唯一の方法は、出生後の症例を含めることだと思います。理想的な状態とは、我々が症例を選択すること—選択するというよりも、単に従うことがその研究におけるバイアスの問題を防止するために我々が行おうとしていることです。現在行っている研究では、そのことが何らかの役割を果たしている可能性があります。我々は、症例および対照の双方の親の参加を募っており、対照については、親が知っている他の情報があるものと考えられます。

ダストン：2 つの対照群を設けることがあなたの研究で可能かどうかはわかりませんが—健常対照と無関係な先天異常を持っている形成異常対照の 2 つの対照群を設けると面白いと思いますがどうでしょうか。

奇形学や疫学の文献で私が読んだ白熱した議論の 1 つは、想起バイアスを抑制する方法ですが、特にこのケースでは、あなたがおっしゃったように尿道下裂の一部はかなり軽度であり、外科的に矯正可能であるため、バイアス抑制が困難だと思います。この想起バイアスは他のケースに比べれば重度ではないかもしれませんが、あなたが抱えている問題と想起バイアスの重要性の両方を知らせておけば面白いと思います。

もう 1 つの質問は、あなたの前の講演者は尿道下裂、出産時低体重、および早熟との間に強い相関があることを示しています。あなたもご自分のデータセットに同じ相関を確認されましたか？

ピエリク：我々は症例群と対照群の調査を完了するまではリスクファクターの分析は行わない予定です。4 月初旬には完了したいと考えています。完了時には 150 症例を扱っているはずで、その後、リスクファクターの分析に着手しようと考えています。なぜなら、恐らく最も顕著なリスクファクターが出産時低体重であることが良くわかっているからです。同じく人種や他の影響もあると思います。例えば、人工授精のケースではより高いリスクがあります。従って、人工授精についても調査する予定です。

ランカスター：あなたの最初の質問については私も同意見です。内分泌攪乱化学物質は現在ではかなり広く公表されており、情報が行き渡っているオランダの集団においては、女性らがこの仮説について既に知っている可能性は十分に考えられるため、健常対照群に加え形成異常を有する対照群を設ける必要性についてあなたが指摘した点は非常に重要だと思います。従って、これは非常に重要だと思います。

ピエリク：はい、それは重要です。しかし、一般的な栄養に関するアンケートをどうするかという問題があり、また、一般の人々はどのような食品にフィトエストロゲンが多く含まれるか知らないため、重要ですが難しいと思います。でも、人々は自分達がどのようなものに曝露しているかを真剣に考えようとしています。そのことは、何らかの役割を果たすかもしれません。

ランカスター：私から最後にコメントしたいと思います。あなたはロッテルダムにおける尿道下裂の発現率が EUROCAT の平均値の 4 倍だとおっしゃいましたが、実際、私はインターナショナルクリアリングハウスの値を知っています。尿道下裂はほぼ男性のみに特異的な奇形であることを私は知っていますが、我々は出生児総数 10,000 名あたりの発現率を報告しています。私は、あなたの数値と比較した場合、あなたの数値の分母は男児ですが、EUROCAT データでは. . . 。

ピエリク：プロジェクターのスイッチを再度入れて頂けたら、その問題に関連した発生率についてのスライドをお見せできます。発生率を計算すると、このとおり 16 という発生率が得られます。ヨーロッパの様々な地域によって、差が見られると思います。ご覧の通り、平均は 1 : 1,000 で、この値は 10,000 名における値です。従って、これは 10:10,000 であり、オランダのロッテルダムの発現率は 38 : 10,000 でした。

値には女兒も含まれています。我々の値も同じで、女兒を含んだ上で 38 : 10,000 です。

ランカスター：分かりました。ピエリク博士、プレゼンテーションありがとうございました。