

平成11年度環境庁委託業務結果報告書

内分泌攪乱化学物質のヒトへの影響調査研究

平成12年3月

財団法人 日本公衆衛生協会

内分泌攪乱化学物質のヒトへの影響調査研究班

- | | |
|-------|------------------------------|
| 住吉 好雄 | 神奈川県衛生福祉協会産婦人科先天異常モニタリングセンター |
| 平原 史樹 | 横浜市立大学医学部産婦人科学 教授 |
| 黒木 良和 | 神奈川県立こども医療センター 病院長 |
| 岩本 晃明 | 聖マリアンナ医科大学泌尿器科学 主任教授 |
| 高橋 剛 | 聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院泌尿器科 部長 |
| 三浦 猛 | 神奈川県立がんセンター泌尿器科 部長 |

目 次

1. 内分泌攪乱化学物質のヒトへの影響調査研究	1
研究要旨	1
A. 研究目的	1
B. 研究方法	1
C. 研究結果	1
1) BPAの生体内動態	1
2) BPAのヒト検体中の濃度	2
3) 生殖器系への影響	2
4) 胎児期のエストロゲン暴露の影響	3
D. 考 察	3
E. 文 献	3
F. 研究論文発表	4
2. 妊娠女性の各種内分泌攪乱化学物質（いわゆる環境ホルモン）の ヒト先天異常発生および妊よう性に及ぼす影響に関する研究	5
研究要旨	5
研究協力者	5
A. 研究目的	5
B. 研究方法	5
C. 研究結果	6
D. 考 察	7
E. 結 論	7
F. 研究発表	7
3. 尿道下裂の疫学的調査	12
研究要旨	12
研究協力者	12
A. 研究目的	12
B. 研究方法	13
C. 研究結果	14
D. 考 察	14
E. ま と め	14
F. 研究発表	14
文 献	14

4. 泌尿生殖器への影響について	28
研究要旨	28
研究協力者	28
A. 研究目的	28
B. 研究方法	29
C. 研究結果と考察	29
D. 結 論	29
E. 研究発表	30
5. 先天奇形を指標とした環境モニタリング	31
研究要旨	31
研究協力者	31
A. 研究目的	31
B. 研究方法	31
C. 結果と考察	31
(1) 1999年の先天奇形の発生状況	31
(2) 外性器異常の地域別発生状況	32
(3) 調査票の変更	32
(4) インフォームド・コンセントのあり方の検討	32
D. 結 論	33
E. 文 献	33
6. 外因性内分泌攪乱化学物質と精巣癌の発生に及ぼす影響の研究	38
研究要旨	38
研究協力者	38
A. 研究目的	38
B. 研究方法	38
1. 一次調査	38
2. 二次調査	39
3. パイロットスタディ	39
C. 研究結果	40
1. 一次調査結果	40
2. 文献的調査結果	41
3. パイロットスタディの調査結果	41
D. 考 察	41
E. 結 論	43

1. 内分泌攪乱化学物質のヒトへの影響調査研究

研究者 住吉 好雄 (神奈川県衛生福祉協会産婦人科先天異常モニタリングセンター)

研究要旨

内分泌攪乱作用を有すると疑われる化学物質の一つであるビスフェノール A のヒトへの影響 (特に生殖器への影響) について研究を始めるにあたり、先人が行った研究成果について文献的考察を行った。ヒト以外の実験動物に与える影響については、多くの報告が見られるが、ヒトに対する影響に関する報告は数が少なくこれからのテーマであるが、男性への影響では

(1) 精子形成障害、(2) 精子数減少、(3) 尿道下裂の増加等が報告されている。一方女性への影響では、(1) 子宮内膜症の増加、(2) 乳ガンの増加、(3) 思春期の早期化などの報告がみられる。

A. 研究目的

内分泌攪乱作用を有すると疑われる化学物質としては多くの物質が挙げられているが、その中の一つであるビスフェノール A (BPA) はポリカーボネート、エポキシ樹脂等の原料モノマーとして使用されており、年産 20 万トンを超えているといわれる物質である。その樹脂で加工したプラスチックや缶詰の内張りなどから溶出する BPA は *in vitro* 及び *in vivo* の試験系で内分泌攪乱化学物質としての作用が疑われている。フォンサー等¹⁾ はマウスの系で胎児期に投与した微量の BPA が雌雄の生殖器発達に影響を与える可能性を示している¹⁾。そこで BPA がヒト生殖器にも同様に影響をあたえる事が考えられ、それらを調べるための方法を確立するために、現在までに報告された文献の調査を行った。

B. 研究方法

過去 10 年間に報告された BPA に関する文献のうち、BPA のヒトに及ぼす影響と関連すると思われる文献について検索を行った。

C. 研究結果

1) BPA の生体内動態

BPA のヒトでの作用を推定するには、生体内動態を知ることが必要である。ヒトにもっとも近いサルにおける BPA の吸収、排泄および血中動態についての検討では¹⁴C-BPA 100 μ g/Kg をサルに投与すると、そのほとんどは速やかに吸収され、そのかなりの割合は投与後 12 時間以内に尿中に排泄され、その割合は静脈投与では、雄で 73.7%、雌で 66.2%、24 時間では雄で 81.7%、雌で 74.3% 排泄され、経口投与では雄で 80.6%、雌で 81.9% と差はなかった。投与後 7 日間でも静脈投与では雄が 85.8%、雌では 78.8% であり、経口投与では雄が 84.8%、雌では 81.9% と差は見られなかった。以上の結果から 100 μ g/Kg でサルに経口投与された¹⁴C-BPA のほとんどは速やかに吸収され、かなりの割合は投与後 12 時間以内に尿中に排泄され、残りも主に尿中に排泄されることが判明している (H. Kurebayashi, 1999)

2)。ラットにおける実験では、BPAは肝臓内でグルクロン酸抱合され、主に胆汁中に排泄されるという(井上ら、1999)³⁾。

2) BPAのヒト検体中の濃度

従来BPA濃度の測定については、河川水等の環境試料ではGC/MS法による測定が行われ、その検出頻度が高いことが明らかになった。しかし生体試料による検討はほとんどなされていなかった。1999年栗林らによりヒト臍帯中のノニルフェノールおよびBPAのGC/MS法による濃度が測定、報告された⁴⁾。それによると臍帯9試料中BPAは6試料に検出され0.2~3.1ng/g-wetweightであったとしている。最近新たに開発されたELISA法による成人6例(男性4人、女性2人)の尿中BPAの値は6.0~504.1μg/g Creであった(臼杵ら、2000)⁵⁾。堤は同じくELISA法を用いて体外受精の卵胞液中BPA濃度を測定してBPAはすべての検体から検出され2.01±0.33(1.60~2.50)ng/ml存在したと報告している⁶⁾。

3) 生殖器系への影響

男性への影響として、Carlsenらは1992年、過去50年間に精子数が1940年 $113 \times 10^6 / \text{ml}$ から1990年には $66 \times 10^6 / \text{ml}$ へ、精液量は3.40mlから2.75mlへ減少し、この減少は泌尿生殖器の異常(潜伏精巣、尿道下裂や精巣癌)が不随して増加しており、男性性腺の機能に重大な影響力が加わっていることを示すものであるとした⁷⁾。次いで1995年Augerらもパリの正常な男性1351人の調査で、1973年から1992年までの20年間に精子数が1973年 $89 \times 10^6 / \text{ml}$ から1992年 $60 \times 10^6 / \text{ml}$ へ減少し正常な形の精子も年々0.1%減少しているが精液量には変化は見られなかったとしている⁸⁾。同じ地域の男性にこのような変化がみられていることから、何らかの影響即ち水道水の中の何らかの物質や、環境汚染物質の影響が考えられている。1997年Swanらは米国ヨーロッパ、西洋以外の国々で1930年から1990年の間に発表された56篇の論文の精子濃度の比較検討を行い、Carlsenらの発表以来の精子数の減少は採取方法、採取時期等の差異によるものではなく、明らかな減少で、その病因を幅広く研究する必要があるとしている⁹⁾。1997年Pajarinenらは、1981年から1991年の10年間のフィンランド人男性35歳~69歳の528名の司法解剖例からの報告で、正常精子形成率は56.4%から26.9%に減少し、精子形成の部分的あるいは完全停止の増加、精管のサイズの減少、繊維組織の増加、辜丸重量の減少等が見られ、これらはタバコ、アルコール、薬剤の使用量等とは関係なく、何らか他の原因によるものと考えられるとしている¹⁰⁾。1997年Paulozziらは米国の2つの先天異常サーベイランスシステムの成績から尿道下裂の1970年の値、20.2/1万と1993年の値、39.7/1万を比べると約2倍に増加しており¹¹⁾、この原因はこの時代に増加した何らかが考えられ早急に調査されるべきであるとしている。

女性への影響としては、Mayaniらの1997年の報告で、子宮内膜症44名の血中ダイオキシンを測定し18%に検出し0.6~1.2pptの範囲で、コントロール群35名の中1名、3%の検出率で0.4pptであったとしている¹²⁾。

1997年Herman-Giddensらはアメリカの17,077名の少女を調査し、3歳で乳房発達、および恥毛の見られたものは、白人で1%、アフリカーアメリカ人で3%、8歳では14.7%の白人に、48.3%のアフリカーアメリカ人に乳房発達および恥毛が見られた。平均年齢で見ると、乳房発達の開始は白人9.96歳、アフリカーアメリカ人8.87歳で、恥毛発達は白人

10.51 歳、アフリカーアメリカ人 8.78 歳、初経は白人 12.88 歳、アフリカーアメリカ人 12.16 歳で思春期の早期化現象がみられているとしている¹³⁾。

1996 年、Bernstein らは、乳ガンと経口避妊薬 (OC) の関連を、多くの文献をレビューし、初経前後から使用した場合と閉経前後からの使用者に乳ガンの増加が見られることを指摘している¹⁴⁾。

4) 胎児期のエストロゲン暴露の影響

1993 年 Sharpe らは、過去 30 ~ 50 年の間の現代の西洋風の食事は、内因性エストロゲンにさらされる量を増加し、その結果停留精巣や精巣癌になる確率を増加させたとしている。また合成エストロゲン (DES) は家畜業界では過去 20 ~ 30 年にわたり広く使用されていたが、DES を使用したヒト妊婦から生まれた女兒に腫瘍が発生することがわかって 1981 年ヨーロッパでは使用が禁止された。しかしエチニールエストラジオールは避妊ピルに含まれ過去 20 ~ 40 年にわたり広く用いられている。また先進諸国では牛乳が広く飲まれておりそれに含まれるエストロン硫化物は大人及び子供の腸管から吸収されている。これらエストロゲンやエストロゲン作用を持つ環境汚染物質を妊娠動物 (ラット) に投与すると、それから生まれた雄ラットの精子数が減少することも報告され、それはセルトリ細胞の減少が原因であることもわかってきた。このような動物実験の結果は当然ヒトにもみられるはずであるとしている¹⁵⁾。

D. 考 察

従来、内分泌攪乱作用を有すると疑われる化学物質の一つである BPA は、母体で代謝されやすく、胎児への移行はほとんど無いと考えられていたが最近の研究では BPA やノニルフェノールもヒト臍帯中や卵胞液中にも検出されることが確認された。このエストロゲン作用のある BPA のヒトに及ぼす影響、特に胎児期におけるヒトへの影響は重要で今後の大きな研究課題と考えられる。

E. 文 献

- 1) F. S. Vom Saal, 低用量の内分泌攪乱化学物質の作用、内分泌攪乱化学物質問題に関する国際シンポジウム報告書、169-175, 1999 (京都)
- 2) H. Kurebayashi, et al. ビスフェノール A のサルにおける生体内動態、日本内分泌攪乱化学物質学会、第 2 回研究発表会要旨集、163, 1999
- 3) 井上博紀他、ラット肝灌流によるビスフェノール A 代謝解毒能、日本内分泌攪乱化学物質学会、第 2 回研究発表会要旨集、164, 1999
- 4) 栗林佐知江他、ヒト臍帯中のノニルフェノール及びビスフェノール A の濃度分布、日本内分泌攪乱化学物質学会、第 2 回研究発表会要旨集、212, 1999
- 5) 臼杵靖晃他、ELISA 法と HPLC 法によるヒト尿中ビスフェノール A の測定値の比較、*BIO Clinica*, 15(2) 55-58, 2000
- 6) 堤 治、環境ホルモンと生殖医療、日本内分泌攪乱化学物質学会、第 5 回講演会テキスト 10-21, 2000
- 7) Carlsen, E. et al. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years, *BMJ*, 305:609-613, 1992

- 8) J. Auger, et al. Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years, *New Engl. J. Med.*, 332:281-285, 1995
- 9) S. Swan et al. Have Sperm Densities Declined? A Reanalysis of Global Trend Data, *Env. Health Perspectives*, 105:1228-1232, 1997
- 10) J. Pajarinen, et al. Incidence of disorder of spermatogenesis in middle aged Finnish men. 1981-91: two necropsy series, *BMJ*, 314:13-18, 1997
- 11) L. J. Paulozzi, et al. Hypospadias Trends in Two US Surveillance Systems, *Pediatrics*, 100:831-834, 1997
- 12) A. Mayani et al. Dioxin concentrations in women with endometriosis, *Human Reprod.* 12: 373-375, 1997
- 13) M. E. Herman-Giddens et al. Secondary sexual Characteristics and Menses in Young Girls Seen in Office Practice, *Pediatric* 99: 505-512, 1997
- 14) L. Bernstein et al. *Cancer epidemiology and prevention-Exogenous Hormones*, 2nd edition, 465-470, Oxford Univ. Press
- 15) R. M. Sharpe et al. Are estrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? *The Lancet*, 341: 1392-1395, 1993

F. 研究論文発表

1. 住吉好雄、マタernal PKU-産婦人科との連携について、日本マス・スクリーニング学会誌、9:1, 29 - 32, 1999
2. 住吉好雄他、わが国の先天形態異常、産科と婦人科、7:7, 871 - 881, 1999
3. 住吉好雄、葉酸の神経管欠損症予防効果、日本医事新報、No 3923. 105. 1999
4. 住吉好雄他、先天異常モニタリング、産婦人科治療、78:168 - 172, 1999

2. 妊娠女性の各種内分泌攪乱化学物質(いわゆる環境ホルモン)の ヒト先天異常発生および妊よう性に及ぼす影響に関する研究

研究班主任 住吉 好雄 (神奈川県衛生福祉協会産婦人科先天異常センター)
研究者 平原 史樹 (横浜市立大学医学部教授)

研究要旨

先天異常サーベイランスによる調査手法を用いて本邦における先天異常の実態有無、また、その背景因子として各種内分泌攪乱化学物質(いわゆる環境ホルモン)との関連性を調べることによりこれら内分泌攪乱化学物質(いわゆる環境ホルモン)を含む有害因子の存在につき検討を試みた。さらに妊娠初期女性の内分泌攪乱化学物質(いわゆる環境ホルモン)の測定とその意義に関する分析をおこなうため、調査様式、検査方法のプロトコールの検討を行った。

研究協力者

氏名	所属施設名	職名	備考
平原史樹	横浜市立大学産婦人科	教授	産婦人科学、臨床遺伝学 横浜市大昭52年
高橋恒男	横浜市立大学産婦人科	助教授	周産期学 横浜市大昭51年
山中美智子	神奈川県立こども医療 センター周産期科	科長	周産期学、臨床遺伝学 山形大昭和59年
森 千里	千葉大学医学部	教授	解剖学、発生生物学、 旭川医大昭和59年

A. 研究目的

内分泌攪乱化学物質(いわゆる環境ホルモン)が内分泌機構を攪乱することにより、ヒトの生殖機能、先天異常発生、疾病の誘因などに関与している可能性が指摘されていることから、環境因子中の有害因子との関連性を明らかにすることを目的に本研究は計画された。さらに妊娠初期の女性における内分泌攪乱化学物質(いわゆる環境ホルモン)の測定ならびにその解析に関する調査様式、検査方法のプロトコールの検討を行うことも目的とした。

B. 研究方法

日本母性保護産婦人科医会(日母)外表奇形等調査による先天異常発生状況を検討した。対象は在胎週数満22週以降の出産児の、出産後7日以内に確認された外表奇形であり、日母外表奇形等調査表による検討を行なった。

妊娠初期女性の内分泌攪乱化学物質(いわゆる環境ホルモン)の測定ならびにその解析

に関する調査様式、検査方法等のプロトコールの検討を行い適切な調査項目の分析をおこなった。

C. 研究結果

1. 日母外表奇形等調査；1998年1月1日より、1998年12月31日までに出生した外表奇形等調査結果から先天異常児は、出生児総数96,303児のうち1449児(1.50%)であった。本調査により全国出生児の約10%を把握、モニターしたことになる。

また妊娠中に診断される先天異常症例が増加しており、1998年度の症例においては全1,449児のうち、556児(38,4%)が出生前に判断されている。各外表奇形の内訳等については附表にまとめてあるが、心室中隔欠損が最も多く、ついで口唇・口蓋裂、ダウン症、水頭症、動脈管開存等が高頻度発生奇形であった。一方、この27年間の動向に着目すると、水頭症、尿道下裂、二分脊椎に増加傾向がみられた。

2. 妊娠初期女性における内分泌攪乱化学物質(いわゆる環境ホルモン)の測定ならびにその解析に関する調査様式、検査方法等のプロトコールの検討を行い下記項目の調査を行うことが適切との結果がえられた

インフォームドコンセントのもとに

本邦妊娠可能年齢期女性の生活環境、既往歴の基礎調査

アンケート調査(病歴、妊娠歴、食習慣ほか)

月経周期、排卵障害の有無等の検討

尿採取(初診時, 36週, 分娩時, または流産, 早産時) 10ml

妊娠初期末梢血 10ml

分娩時臍帯血 10ml

分娩(流産)時情報, 新生児情報を分析

生活様式、居住地区等との関連性の検討

また、対象施設としては

横浜市立大学医学部附属病院

横浜市立大学医学部附属市民総合医療センター

神奈川県立こども医療センター

他横浜市立大学医学部協力病院

さらに分析 検体, 情報は各施設より回収

(横浜市立大学医学部事務局にて)

情報は事務局の責任のもとに守秘管理

検体の測定分析をおこなう

データ・結果は各施設から個人情報開示を請求する個人へは通知

分析予定内分泌攪乱化学物質としては

ビスフェノール A

ノニルフェノール

ほかを検討とすることとした。

以上を各協力施設におけるIRBにおいて検討をおこない、了解をえた後、実施することとすることが必要要件との結果がえられた。