

内分泌かく乱化学物質のヒトへの健康影響調査研究

2005 年 3 月 8 日
環境安全課

1. 内分泌かく乱化学物質（いわゆる環境ホルモン）のヒト妊孕性ならびにヒト胎児、先天異常に及ぼす影響に関する研究（平成 11 年度～平成 16 年度）

研究者（平成 16 年度）

研究代表者 住吉好雄 神奈川県労働衛生福祉協会理事，婦人科部長
横浜市立大学客員教授

研究分担者 平原史樹 横浜市立大学産婦人科教授

研究協力者

高橋恒男 横浜市立大学市民総合医療センター母子医療センター助教授
黒澤健司 神奈川県立こども医療センター遺伝科医長
黒木良和 川崎医療福祉大学教授
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
大久保賢治 東レリサーチセンター
井口詔雄 東レリサーチセンター
臼杵靖晃 大塚製薬

【研究要旨】

平成 11 年度より、本邦の女性・妊娠女性ならびに新生児における内分泌かく乱化学物質の存在につき検討を試みるため、本研究を行った。

平成 15 年度までの研究により、いずれの臍帯血中のビスフェノール A 濃度も母体血中ビスフェノール A に比し、高値を示す一方、非妊娠女性の血中ビスフェノール A 値は、妊娠女性の血中ビスフェノール A 値に比し高値を示す傾向のあることが示された。

他方、研究中間発表として H14 年に公表された尿道下裂患者ならびにその母親（30 組）の血中レベルのデータに関しては、対照データ（妊婦約 3100 名）と必ずしも比較対応した群間での検討ではないという問題があり、このデータから尿道下裂とビスフェノール A との関連について何らかの結論を出すことは困難と考えられた。

本研究では、大量サンプルの測定に適した ELISA 法を用いたが、全標本の測定値を評価対象として標準化するために、平成 16 年度は HPLC 法との比較を行い、ELISA 法の妥当性とその測定精度を検討した。まず、サンプル測定法としてのバリデーションを行い、その結果、BPA キットの BPA の回収率は良好な回収率を示し、 β -グルクロニダーゼ処理の場合には回収率は上昇した。また、BPA のグルクロン酸抱合体を用いた試験では、BPA キットは未変化体の BPA に加え、抱合体にも反応することが示唆された。これが、HPLC 法により測定される未変化体のみとの解離の原因と推察された。よって、ELISA 法による測定値は、あくまで同一アッセイ間での比較は可能な相対的な値として扱われるべきであると考えられた。ポリフェノール類との交差反応性に関しては、交差反応性はほとんど示していないと判断された。

【2004年業績一覧】

- ・ Yamanaka M, Sumiyoshi Y, Asakura H, Sasaki S, Sakamoto S, Hirahara F: Con-genital birth defects from the view of maternal drug exposure. *Congenital Anomalies*, 44(4):A22-A23, 2004.
- ・ Okuda M, Takahashi T, Endoh M, Ishikawa H, Osada H, Asukai K, Ishikawa M, Yamanaka M, Sumiyoshi Y, Asakura H, Sasaki S, Sakamoto S, Hirahara F. The Third Report from the Japan Association of Obstetricians and Gynecologists(JAOG)Program of Birth Defects Monitoring: A Study and Analysis of the Efficacy of the Folic Acid Campaign. *Congenital Anomalies*, 44(4):A35-A36. 2004.
- ・ Natsume N, Kawai T, Yoshida W, Tomoda Y, Sakai E, Sumiyoshi Y, Hirahara F, Kohama G, Noguchi M, Endo T, Sugiyama Y, Fukushima A, Echigo S, Saito C, Uchiyama T, Tanabe K, Yoshimasu H, Enomoto S, Omura K, Kubota T, Takato T, Kozuma S, Kurita K, Suzumori K, Matsuya T, Kogo M, Sakuda M, Mori Y, Murata Y, Yoshimura Y, Miyazaki K, Ohishi M, Tsukimori K, Katsuki T, Yanagisawa S, Miyakawa I, Shiba R, Ikenoue T, Sugihara K, Mimura T, Ikuta Y, Sunakawa H, Kanazawa K, Shimozato K. Attempt for Prevention of Cleft Lip and Palate in Japan. *Dentistry in Japan*, 39: 194-198, 2003.
- ・ 遠藤方哉, 平原史樹, 山中美智子, 石川浩史, 小笠原智香, 安藤紀子, 高橋恒男, 住吉好雄: 本邦における妊娠女性, 胎児のビスフェノール A 曝露状況に関する検討. 第 56 回日本産科婦人科学会学術講演会, 東京, 2004, 4.
- ・ 岡本真知, 春木篤, 石川浩史, 安藤紀子, 高橋恒男, 平原史樹: 悪性リンパ腫合併妊娠の 1 例. *日産婦神奈川会誌*, 40: 73-78, 2004.
- ・ 野村可之, 武井美城, 梅津信子, 岡本真知, 細川真理子, 春木篤, 石川浩史, 安藤紀子, 高橋恒男, 平原史樹: 非定型性肺炎により SIRS を合併し、早産にいたった 1 例. *日産婦神奈川会誌*, 40: 92-96, 2004.
- ・ 倉橋清泰, 安部咲帆, 遠藤方哉, 倉澤健太郎, 平原史樹, 山田芳嗣: 先天性左冠動脈口閉鎖症患者の帝王切開術. *分娩と麻酔*, 85: 23-26, 2004.
- ・ 鈴木理絵, 宮城悦子, 井畑穰, 助川明子, 小笠原智香, 石川浩史, 遠藤方哉, 仲沢経夫, 小野瀬亮, 高橋恒男, 平原史樹: 妊娠合併子宮頸癌症例の検討. *産婦人科の実際*, 53(8): 1229-1233, 2004.
- ・ 平原史樹: 臨床の場における『出生前診断』 - 親と胎児、その微妙な関係 - . *生命倫理*, 14(1) 4-11, 2004.
- ・ 平原史樹: ART と先天異常. *産婦人科の実際*, 53(12): 1881-1887, 2004.
- ・ 平原史樹: 胎児水腫 - 次回の妊娠対策. *周産期医学*, 34: 249-253, 2004.
- ・ 平原史樹: 生殖補助技術におけるコメディカルの役割 生殖医療カウンセラー. *産婦人科の世界*, 56 増刊号: 302-307, 2004.

2. ヒト生体試料中の内分泌かく乱化学物質等の測定（平成15年度～16年度）
- 研究者 岩本 晃明（聖マリアンナ医科大学泌尿器科教授）
研究協力者 中澤 裕之（星薬科大学薬品分析化学教授）
近藤 文雄（愛知県衛生研究所主任研究員、16年度より）
高取 聡（大阪府立公衆衛生研究所研究員、16年度より）
野澤資亜利（聖マリアンナ医科大学泌尿器科助手）
田中 紀子（東京大学大学院医学系研究科助手 16年度より）
井之上浩一（星薬科大学薬品分析化学助手、15年度まで）
伊藤 里恵（星薬科大学薬品分析化学助手、15年度まで）

【概要】

本研究の目的は、生体試料中の内分泌かく乱化学物質等を高感度かつ高精度に測定できる分析手法を開発し、その方法で日本人健常男性の血液・精漿等における暴露状況を明らかにすることにある。これまでの内分泌かく乱化学物質の暴露評価は、環境試料や大型海洋哺乳類の試料など、測定試料が大量に得られるケースが主体で、ヒトでの評価は、測定に十分な試料を入手することの困難さから、殆ど行われていないのが現状であった。本研究は、現時点で最も高感度で信頼性が高い測定方法を用いて、背景データ(教育、職業、生活習慣や出生前後の状況ならびに病歴等)および臨床データ(精液所見、理学的所見、血清中の各種内分泌ホルモン値)の揃った健常男性集団から得た生体試料(血清、精漿、尿)中の内分泌かく乱化学物質の濃度を測定しようとする試みである。

測定対象とする化学物質は、日常的に広く利用または摂取する可能性があり、生殖系への影響およびヒトへの健康影響が強く懸念されているものを選択した。このうち、有機フッ素系化合物のPFOSは内分泌かく乱作用(神経系ホルモンのかく乱)の疑いが持たれ、米国を中心に最も注目される環境汚染化学物質のひとつとされている。また、フタル酸エステル類の代謝物であるフタル酸モノエステル類は、健常人の広い範囲で汚染が確認され、特に胎児への影響が懸念されている。

【平成15年度事業】

平成15年度は、撥水剤等に使用されている有機フッ素系化合物(FOCs)について、高感度で精度の高い血中分析法を開発した。分析対象物質として、パーフルオロオクタンスルホン酸塩(PFOS)、パーフルオロオクタン酸(PFOA)、パーフルオロオクタンスルホニルアミド(PFOSA)を選択した。抽出・精製は、オンライン前処理固相抽出法、測定はカラムスイッチングLC/MS法を用いた。血漿試料からの回収率は80%以上と、良好な結果が得られた。確立した分析法を用い、健常人男性における血清及び精漿ペア(n=50)を分析した。その結果、PFOSについては、血清中からの検出率が100%、中央値が16.2 ng/mL、濃度範囲が9.9-40.3 ng/mLであったのに対して、精漿からの検出率が82%、中央値が0.18 ng/mL、濃度範囲がND-0.6 ng/mLであった。PFOAについては、血清からの検出率が22%、中央値が1.0 ng/mL、濃度範囲がND-3.3 ng/mLであったが、精漿からは検出されなかった。PFOSAについては、血清、精漿ともに検出されなかった。今回の測定結果は、既に報告されている生体試料中の濃度レベルとほぼ同等であった。一方、生殖能へ直接作用が懸念される精漿中濃度レベルは非常に低く、血中濃度との相関は認められなかった。

【平成 16 年度事業】

平成 16 年度は、FOCs の血液濃度と精液所見等の臨床データとの関連について、交絡因子による補正を行った上で解析を行う。FOCs の測定に関しては、現時点で十分なデータが得られたので、平成 16 年度は新たに、高分子素材由来のフタル酸エステル類を対象物質とし、精度の高い分析法を構築し、その方法により日本人男性の試料（血清、精漿、尿）約 50 検体を目処に測定を実施する。さらに、臭素系難燃剤のポリ臭化ジフェニール類（PBDEs）、ハロゲン系化合物類で防虫剤のパラジクロロベンゼン等の測定法の検討を行う。ヒトの生体試料の場合、測定対象物質が生体内で代謝を受け、親化合物では検出されないことがあるため、生体内動態を考慮した代謝物モニタリングも重視する。測定結果は暴露に関するその他の情報とともにデータベース化し、既にデータベース化されている背景データ（生活習慣および健康状態等に関する情報、理学的所見、精液所見、血清中の各種ホルモン値等）との関連を解析する。

現在までに聖マリアンナ医科大学泌尿器科研究室には、日本人健常男性（妊孕能を有する男性および一般若年男性）3000 名以上から得られた生体試料が凍結保存されている。平成 16 年度は、これら生体試料のリスク分散および有効利用を目的に、環境省の環境試料保存事業（代表者：独立行政法人国立環境研究所・柴田康行）の補助を得て、一部を国立環境研究所に移管する。今回、移管する試料は、約 2400 名の男性から得られた約 10000 検体（1ml × 100 本 × 100 箱）となる。

【有害性に関する主な文献】

PFOS

げっ歯類等の動物実験において、妊娠母体の生理的变化、胎児数の減少、生存率の低下、hypothyroxinemia（甲状腺のヨウ素濃度の異常低下）を伴う成長、発達の遅れなどが報告されている。

- 1) Thibodeaux JR, Hanson RG, Rogers JM, Grey BE, Barbee BD, Richards JH, Butenhoff JL, Stevenson LA, Lau C. Exposure to perfluorooctane sulfonate during pregnancy in rat and mouse. I: maternal and prenatal evaluations. *Toxicol Sci* 74: 369-381 (2003).
- 2) Lau C, Thibodeaux JR, Hanson RG, Rogers JM, Grey BE, Stanton ME, Butenhoff JL, Stevenson LA. Exposure to perfluorooctane sulfonate during pregnancy in rat and mouse. II: postnatal evaluations. *Toxicol Sci* 74: 382-392 (2003).

フタル酸エステル類

げっ歯類等の動物実験において、生殖及び発達毒性、肝細胞内ペルオキシゾーム増殖作用を介する発がん性、催奇形性が報告されている。

- 1) Ema M, Harazono A, Miyawaki E, Ogawa Y. Developmental toxicity of mono-n-benzyl phthalate, one of the major metabolites of the plasticizer n-butyl benzyl phthalate, in rat. *Toxicol Lett* 86: 19-25 (1996).
- 2) David RM, Moore MR, Cifone MA, Finney DC, Guest D. Chronic peroxisome proliferation and hepatomegaly associated with the hepatocellular tumorigenesis of di(2-ethyl)phthalate and effects of recovery. *Toxicol Sci* 50: 195-205 (1999).
- 3) Ema M, Itami T, Kawasaki H. Teratogenic phase specificity of butyl benzyl phthalate in rats. *Toxicology* 79: 11-19 (1993).

PBDEs

げっ歯類への投与実験において、血清中の甲状腺ホルモン（T4）濃度の有意な低下等が報告されている。

- 1) Fowles JR, Fairbrother A, B-Steppan L, Kerkvliet NI, Immunologic and endocrine effects of the flame-retardant pentabromodiphenyl ether (DE-71) in C57BL/6J mice. *Toxicology*, 8: 49-61 (1994).
- 2) Zhou T, Taylor MM, DeVito MJ, Crofton KM, Developmental exposure to brominated diphenyl ethers results in thyroid hormone disruption. *Toxicol Sci.*, 66: 105-116 (2002).

脳発達期の新生仔マウスへの投与実験において、成熟後の異常行動や学習障害、海馬のニコチン受容体の減少等が観察されている。

- 1) Viberg H, Fredriksson A, Eriksson P, Neonatal exposure to the brominated flame retardant 2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether causes altered susceptibility in the cholinergic transmitter system in the adult mouse. *Toxicol Sci* 67: 104-107 (2002).
- 2) Viberg H, Fredriksson A, Eriksson P, Neonatal exposure to polybrominated diphenyl ether (PBDE 153) disrupts spontaneous behaviour, impairs learning and memory, and decreases hippocampal cholinergic receptors in adult mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 192: 95-106 (2003).

DEHP

フタル酸エステルの中でも最も汎用される DEHP の代謝物である MEHP については、ラット用いた動物実験でセルトリ細胞を標的とした精巣毒性があることが知られている。

- 1) Gray TJ and Gangolli SD, Aspects of the testicular toxicity of phthalate esters. *Environ Health Perspect* 65: 229-35 (1986)
- 2) Sjoberg P, Bondesson U, Gray TJ, and Ploen L, Effects of di-(2-ethylhexyl) phthalate and five of its metabolites on rat testis in vivo and in vitro., *Acta Pharmacol Toxicol* 58: 225-33 (1986)
- 3) Poon R, Lecavalier P, Mueller R, Valli VE, Procter BG, and Chu I, Subchronic oral toxicity of di-n-octyl phthalate and di(2-Ethylhexyl) phthalate in the rat., *Food Chem Toxicol* 35: 225-39 (1997)