

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 18 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2014

課題番号：23590736

研究課題名(和文)ビスフェノールAの健康影響評価のための疫学調査研究

研究課題名(英文)Urinary bisphenol A concentration for biological monitoring and IIEF5.

研究代表者

津田 洋子(TSUDA, Yoko)

信州大学・学術研究院医学系・助手

研究者番号：80512904

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：ビスフェノールA(BPA)は樹脂等の原材料として広く使用されている。本研究では、BPAを含む粉体塗料、ポリカーボネートを成型・加工する男性作業員、合計25名の作業前後の尿中のBPA濃度、血液および尿検査、国際勃起機能スコア簡易版(IIEF5)、自記式質問票調査(年齢、身長、体重、喫煙、飲酒、婚姻及び子どもの有無、慢性疾患、等)を行った。

作業前尿中BPA濃度は 4.6 ± 5.2 (平均 \pm 標準偏差)、最少0.9-最大 $21.7 \mu\text{g/g Crea}$ だった。作業前尿中BPA濃度の上昇に伴い、血清中卵胞刺激ホルモン濃度は有意に上昇し、尿中 2-マイクログロブリンと尿中NAG、IIEF5スコアは有意に減少した。

研究成果の概要(英文)： Bisphenol-A (BPA) is widely used for manufacture as low material in make resin, polycarbonate plastic and powder body paint. We investigate adverse effects of BPA to worker who handling polycarbonate plastic and powder body paint in daily work. Total BPA (conjugated and free) in urine sample, luteinizing hormone, follicle stimulating hormone and testosterone in blood serum, liver and kidney function, International Index of Erectile Function 5-item version (IIEF5) and worker's characteristics (age, weight and height, smoking, drinking, marriage status, chronic disease, etc.).

Urinary BPA before work were 4.6 ± 5.2 (mean \pm SD) and ranged from 0.9 to $21.7 \mu\text{g/g Crea}$. Urinary BPA before work significantly positively correlated with follicle stimulating hormone, and negatively correlated to urinary 2-microglobuline and N-acetyl- D-glucosaminidase, and IIEF5.

研究分野：産業医学

キーワード：ビスフェノールA 疫学 生物学的ばく露指標

1. 研究開始当初の背景

ビスフェノール A (C₁₅H₁₆O₂, CAS No.80-05-7) は白色個体の化学物質であり、水に溶けにくい(水溶解性 120mg/L)がアルコール、エタノール、アセトン等の有機溶剤に可溶である。ポリカーボネート樹脂やエポキシ樹脂の原材料として用いられる。

ビスフェノール A は本邦では化学物質排出把握管理促進法の第一種指定化学物質であるが、食器等の樹脂に含まれ、そこから溶出し食物と共に人体に取り込まれている可能性が示唆されたことから、動物による毒性評価実験結果から 1993 年にヒトに対する耐用一日摂取量 (TDI) が 0.05mg/Kg 体重/日に設定され、食品衛生法により溶出基準が 2.5ppm に規定された。その後本物質は、いわゆるホルモン様物質として、生殖系をはじめとした内分泌系への影響が懸念される物質として広く関心を集め、動物実験を中心に代謝、影響評価の研究が進展した。

代謝はラットやカニクイザル等による研究が多く、代謝速度には種差があり、ラット、マウス、ヒトの肝細胞の培養試験ではビスフェノール A 代謝の初速度はマウス>ラット>ヒトと報告されている¹⁾。ヒトボランティアへのビスフェノール A (重水素でラベル) 経口投与実験 (5,490 μg/Kg 体重) では、全投与量が尿中に排泄され、血中半減期 5.3 時間、尿中半減期 5.4 時間であった²⁾。一方、ヒトの尿中にはビスフェノール A がバックグラウンド値として存在し、男性 (n=259) の尿中ビスフェノール A 濃度は 26.50 μg/g Crea であり閉経前女性 (n=80) (7.72 μg/g Crea) の 3 倍以上であるが、喫煙、アルコール消費量、教育レベル、運動量による違いはなかった³⁾。東京近郊の小学生 (n=94) の尿中ビスフェノール A 濃度を 1~6 年生 (1998~2003 年) まで追跡調査した報告では、1、3、6 年生時でそれぞれ 2.66、1.52、0.66 μg/g Crea であり、尿中ビスフェノール A の減少は、この間に変更された給食用食器の変化や、ポリカーボネート製の食品、飲料の容器等の規制が変わったことがと推察している⁴⁾。したがって、生物学的モニタリング手法の確立にはバックグラウンド値を考慮した研究が必要である。

影響評価の研究は動物実験を主としている。ビスフェノール A の LD₅₀ はマウス、ラット、ウサギの報告があり、ウサギの LD₅₀ は経口投与 2,230~4,000mg/Kg 体重、経皮投与 3,000~6,400mg/Kg 体重、腹腔内投与 150mg/Kg 体重である⁵⁾。経口反復投与動物実験では体重増加抑制、肝臓、腎臓、前立腺、精囊、精巣、精巣上体、卵巣および子宮の重量減少、親動物 (ラット) の生殖能力の障害が見られているが児動物への奇形は見られていない。吸入曝露では体重の減少、鼻腔および呼吸器粘膜の炎症があり、紫外線照射による光反応生成物の感作性に関する報告もある。

一般のヒトでは尿中ビスフェノール A 濃度と心血管および糖尿病の所見との関連、お

よび尿中のビスフェノール A 濃度と肝の γ-GTP およびアルカリフォスファターゼの異常値との関連が報告されている⁶⁾。職業性曝露では、男性曝露作業者の尿中ビスフェノール A 濃度の上昇と卵胞刺激ホルモン濃度の減少の関係が報告されている⁷⁾ が、本研究グループは更に、同様の職業性曝露職場において自記式質問票を用いた疫学調査を行い、曝露と男性が生殖可能な程度の勃起硬度が確保されないこととの因果関係がある、との結果を報告した⁸⁾。しかし生体影響の疫学研究結果が少なく、職域における日本産業衛生学会の許容濃度および ACGIH (米国労働衛生専門家会議) の TLV-TWA は設定に至っていない。

以上の学術的背景から、ビスフェノール A の職業性曝露のデータのみならず、疫学調査報告が非常に少なく、許容曝露限界値の設定に至らない。ビスフェノール A の曝露濃度の把握、生物学的モニタリング手法の確立と生物学的曝露指標の設定に重要であり、更に、健康影響評価を行い許容曝露限界値を設定することは、ビスフェノール A 曝露作業者の労働衛生管理を行う上で不可欠である。

<引用文献>

- 1) Pritchett et al., Metabolism of bisphenolA in primary cultured hepatocytes from mice, rats, and humans. *Drug Metab.* 2002; 30:1180-1185
- 2) Volkel et al., Metabolism and kinetics of bisphenolA in humans at low doses following oral administration. *Chem. Res. Toxicol.* 2002; 15:1281-1287
- 3) Yang et al., BisphenolA exposure is associated with oxidative stress and inflammation in postmenopausal women. *Environ. Res.* 2009;6:797-801
- 4) Yamano et al., Long-term study of urinary bisphenolA in elementary school children. *Environ. Health Prev. Med.* 2008; 13:332-337
- 5) Dow Chemical. OECD SIDE Dossier on bisphenolA. Dow Europe S.A., Horgon 1994
- 6) Hiroi et al., Difference in serum bisphenolA concentration in premenopausal normal woman and woman with endometrial hyperplasia. *Endocr. J.* 2004; 51:595-600
- 7) Hanaoka et al., Urinary bisphenolA diglycidyl ether and mixed organic solvents. 2002; 59:625-628
- 8) Zhou et al., Occupational exposure to bisphenolA and the risk of Self-Reported Male Sexual Dysfunction. *Human Reproduction* 2010; 25(2):519-527.

2. 研究の目的

本研究では、ビスフェノール A を原材料に含む塗料を取り扱う作業員、および、ポリカーボネートを成型もしくは加工する作業員を対象に、尿中の代謝物による生物学的モニタリング手法の確立を図る。更に、健康影響評価（血液検査、尿検査、自記式質問票、問診、等）を実施し、曝露量-反応関係を得る。

3. 研究の方法

ビスフェノール A を原材料に含む塗料を取り扱う作業員 3 名、ポリカーボネート樹脂を成型する作業員 10 名、ポリカーボネート樹脂を加工する作業員 12 名を対象に、尿中ビスフェノール A 濃度の測定、自記式質問票（年齢、身長、喫煙、飲酒、婚姻、子どもの有無、慢性疾患、等）、血液検査（白血球数、赤血球数、血色素量、HbA1c、肝機能酵素、腎機能、脂質代謝、黄体形成ホルモン、卵胞刺激ホルモン、テストステロン）、尿一般検査、尿中 β 2-マイクログロブリン、尿中 NAG、国際勃起機能スコアの簡易版 (IIEF5) を調査した。

尿中ビスフェノール A は、調査日の作業前および作業後の尿を採取し、分析まで -20°C で保管後、DFG の尿中ビスフェノール A 分析方法を一部改編し測定した。すなわち、尿 2ml に酢酸ナトリウム 3 水和物 4ml を加えた後グルクロニダーゼ $10\mu\text{l}$ と内標準物質 $20\mu\text{l}$ を加えて混ぜ合わせた後に 37°C で 2 時間以上保温してグルクロニド抱合を解いた。濃塩酸 0.1ml を加え、ジエチルエーテル、メタノール、脱イオン水で前処理を行った C18 カラムに通したのち脱イオン水で洗浄した。ジエチルエーテル 6ml で抽出し窒素下で乾固させた後、酢酸エチル $200\mu\text{l}$ を加え、GCMS 用バイアル瓶に移した。更に、BSTFA $100\mu\text{l}$ と TMCS $20\mu\text{l}$ を加えて密栓したのち、十分に混和し、 70°C で 1 時間加温してトリメチルシリル化したサンプル $1\mu\text{l}$ を GCMS で分析した。

測定結果の正規性を確認し、対数変換値を用いて、尿中ビスフェノール A 濃度と関連のある項目を回帰分析により求めた。更に、尿中ビスフェノール A 濃度を従属変数として重回帰分析を行った。統計解析は IBM SPSS Ver22 を用いた。

4. 研究成果

対象者は男性 25 人、年齢は 39.2 ± 12.1 (平均 \pm 標準偏差)、最小 21-最大 62 歳だった。喫煙者 10 人 (未回答 1 人)、この一週間に飲酒をした人は 13 人だった。既婚者は 13 人 (内 1 名は離婚) だった。既婚者は全員子どもがおり、子どもの人数は合計 31 人、既婚者一人当たり最少 1-最大 5 人だった。子どもの性別は男の子 13 人、女の子 13 人だった。5 人は服薬 (高血圧 2 人、鼻炎 1 人、頻脈 1 人、肌あれ 1 人) をしており、別の 1 人がアトピー性皮膚炎の治療を行っていた。腎炎および肝機能障害の人はいなかった。

血液検査の結果を表 1 に示した。尿検査の結果を表 2 に示した。表 1 および 2 について、3 人以上が基準値⁹⁾ 外であった項目に*を付して太字で示した。尿中蛋白は作業前 3 人が 1+、作業後は 1+と 2+が 1 名ずつであり作業前と同じ作業員だった。

尿中ビスフェノール A 濃度は、作業前 4.6 ± 5.2 (平均 \pm 標準偏差)、最少 0.9-最大 $21.7\mu\text{g/g Crea}$ 、作業後 5.2 ± 7.0 、 $0.4-11.2\mu\text{g/g Crea}$ だった。図 1 に作業前尿中ビスフェノール A 濃度の分布を示した。IIEF5 は 24 名がすべての項目に回答しており、スコアは 14.9 ± 7.5 (平均 \pm 標準偏差)、最少 3-最大 25 だった。分布を図 2 に示した。

単回帰分析において、作業前後の尿中ビスフェノール A 濃度と有意な関係のあった項目を図 3 に示した。作業前尿中全 BPA 濃度の上昇に伴い卵胞刺激ホルモンは上昇していた。年齢と体重を考慮しても、作業前尿中ビスフェノール A 濃度の上昇に伴い卵胞刺激ホルモン濃度は上昇していた ($p < 0.01$)。

作業前尿中 BPA 濃度の低下に伴い、尿中 β 2-マイクログロブリン、尿中 NAG、IIEF5 スコアは低下していた (図 3-2~4)。

IIEF5 には卵胞刺激ホルモンも有意な関連があったことから (図 4)、年齢、体重、作業前尿中ビスフェノール A 濃度、卵胞刺激ホルモンを独立変数とし、IIEF5 を従属変数として重回帰分析を行った結果、卵胞刺激ホルモンのみ有意な負の相関がみられた ($p = 0.04$)。なお、独立変数それぞれには共線性はみられなかった。

ビスフェノール A を原材料として含む原材料を取り扱う男性作業員の尿中ビスフェノール A 濃度と尿・血液検査及び自記式調査票を実施した。尿中ビスフェノール A 濃度の上昇にともない血清中卵胞刺激ホルモン濃度は上昇し、尿中 β 2-マイクログロブリンと尿中 NAG、IIEF5 スコアは減少した。重回帰分析の結果、IIEF5 スコア減少に有意に関連する項目は卵胞刺激ホルモンの上昇だった。

<引用文献>

- 9) 高久史磨 監修. 臨床検査データブック
LAB DATA 2013-2014. 医学書院 2013.

表 1 血液検査結果

	平均 \pm 標準偏差 (最少 - 最大)
赤血球数 ($\times 10000/\mu\text{l}$)	506 ± 33 428 - 556
白血球数* ($/\mu\text{l}$)	6344 ± 1239 4100 - 9100
血小板 ($\times 10000/\mu\text{l}$)	25.2 ± 4.9 14.5 - 33.6
ヘモグロビン (g/dl)	15.6 ± 0.9 14.0 - 17.2
MCV (fl)	94.6 ± 3.4 89.6 - 104.4

表 1 続き

	平均±標準偏差 (最少 - 最大)
アルブミン* (g/dl)	4.9 ± 0.2 4.4 - 5.4
コリンエステラーゼ (U/l)	357 ± 59.8 263 - 461
総コレステロール* (mg/dl)	200 ± 32.8 160 - 302
HDL コレステロール* (mg/dl)	61 ± 12 40 - 91
LDL コレステロール* (mg/dl)	120 ± 32 80 - 217
中性脂肪* (mg/dl)	127 ± 62 49 - 292
HbA1c (%)	5.3 ± 0.3 4.6 - 5.8
AST (U/l)	21 ± 6.1 11 - 37
ALT (U/l)	22 ± 8.7 9 - 46
総ビリルビン (mg/dl)	0.6 ± 0.3 0.2 - 1.2
γ-GTP* (U/l)	33 ± 20 14 - 92
アルカリフォスターゼ* (μmol/l)	53 ± 3.1 1.3 - 12.8
クレアチニン (mg/dl)	0.89 ± 0.09 0.73 - 1.07
黄体形成ホルモン (mIU/ml)	4.9 ± 3.4 1.2 - 18.4
卵胞刺激ホルモン (mIU/ml)	5.5 ± 4.6 1.9 - 22.2
テストステロン (ng/ml)	4.8 ± 1.5 2.5 - 8.7

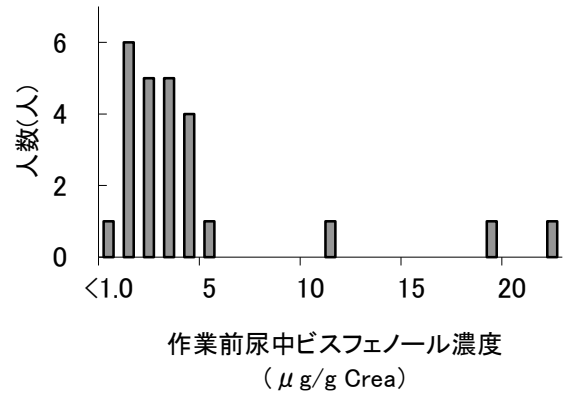


図 1 作業前尿中ビスフェノールA 濃度の分布

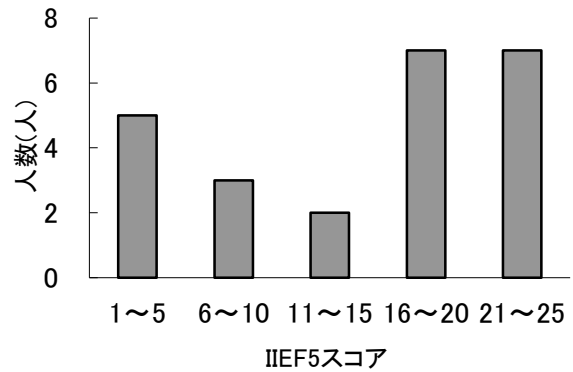


図 2 IIEF5 スコア分布

表 2-1 尿検査結果 (朝)

	平均±標準偏差 (最少 - 最大)
pH	6.3 ± 0.7 5.5 - 8.0
尿中 β 2-マイクログロブリン (μg/l)	194 ± 176 35 - 779
NAG* (U/l)	4.2 ± 2.8 0.4 - 11.4

表 2-2 尿検査結果 (夕)

	平均±標準偏差 (最少 - 最大)
pH	6.7 ± 0.8 5.0 - 8.0
尿中 β 2-マイクログロブリン (μg/l)	165 ± 179 25 - 799
NAG* (U/l)	4.1 ± 3.1 0.6 - 12.2

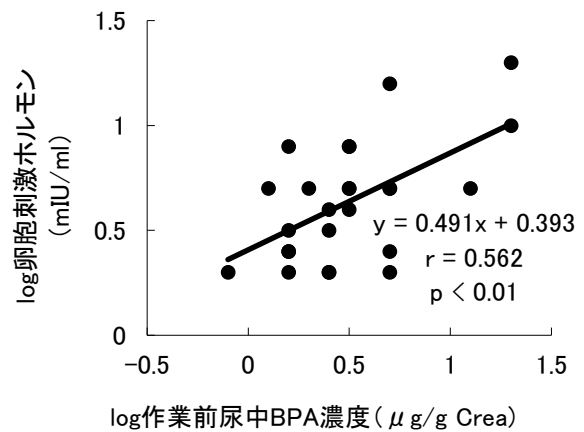


図 3-1 作業前尿中 BPA 濃度と卵胞刺激ホルモンの関係

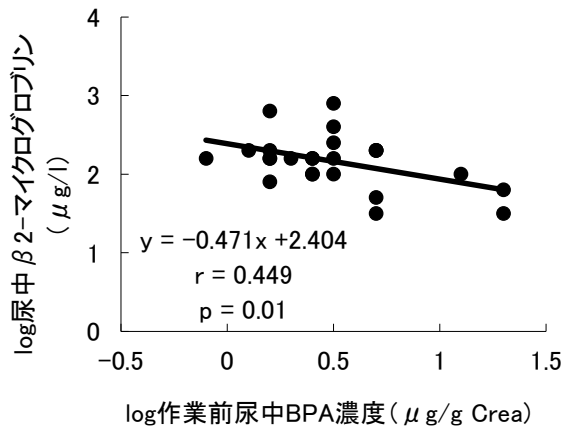


図 3-2 作業前尿中 BPA 濃度と尿中β2-マイクログロブリンの関係

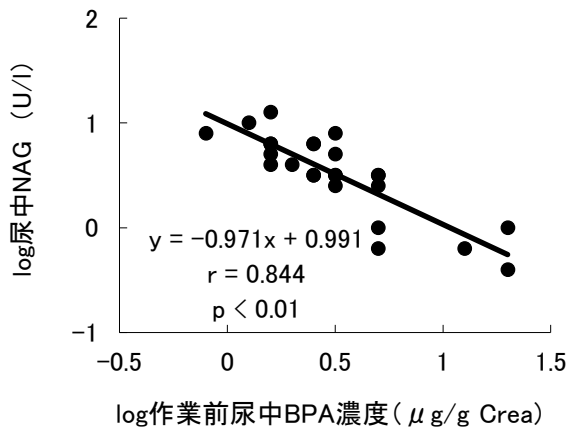


図 3-3 作業前尿中 BPA 濃度と尿中 NAG の関係

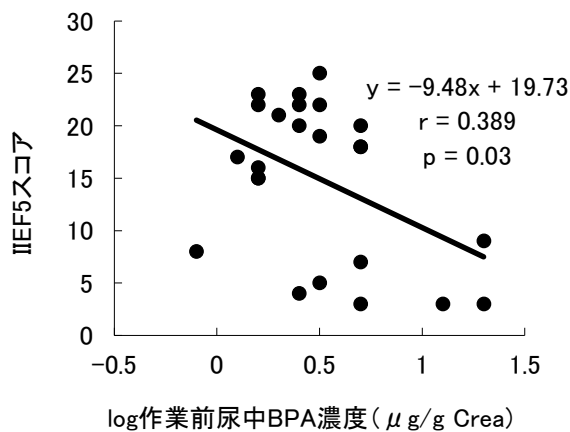


図 3-4 作業前尿中 BPA 濃度と IIEF5 の関係

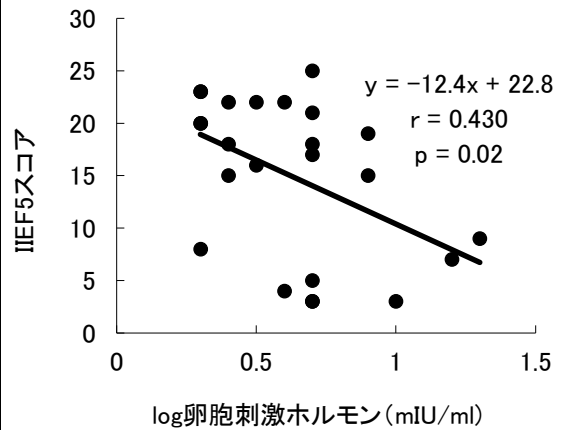


図 4 卵胞刺激ホルモンと IIEF5 の関係

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

津田 洋子 (TSUDA, Yoko)
 信州大学・学術研究院医学系・助手
 研究者番号：80512904

(2) 研究分担者

野見山 哲生 (NOMIYAMA, Tetsuo)
 信州大学・学術研究院医学系・教授
 研究者番号：70286441

塚原 照臣 (TSUKAHARA, Teruomi)
 信州大学・学術研究院医学系・講師
 研究者番号：50377652