

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 4 日現在

機関番号：12601  
 研究種目：基盤研究(B)  
 研究期間：2010～2012  
 課題番号：22310040  
 研究課題名（和文） 化学物質曝露による男性生殖器形成及び機能への影響

研究課題名（英文） Effects of chemical exposure on male reproductive organogenesis and functions

研究代表者

吉永 淳 (YOSHINAGA JUN)

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・准教授

研究者番号：70222396

研究成果の概要（和文）：日常生活の中で頻繁に曝露が起きている化学物質による、男性生殖器および生殖機能への影響を、ヒトを対象として調べた。環境レベルのフタル酸ジエチルヘキシルへの胎児期曝露により、出生男児の肛門性器間距離が有意に短縮すること、ピレスロイド系殺虫剤への環境レベルの曝露により、成人男性の精子運動率が低下することを見出した。どちらも一般環境中のレベルの曝露によって、テストステロン作用阻害や産生抑制がおこっていることを示唆するものであった。

研究成果の概要（英文）：Effects of environmental exposure to some selected chemicals on male reproductive organs and functions were examined in non-exposed general subjects. Urinary concentration of the target chemicals and/or their metabolites was used as a biomarker of exposure and anogenital distance (AGD) at birth and semen parameters was used for the assessment of effect on fetal and adult exposure to the target chemicals, respectively. In utero exposure to phthalate di(2-ethylhexyl) was found to shorten AGD of male newborn. Exposure to pyrethroid insecticides was found to decrease semen motility in male partners of infertile couples. These findings were assumed to be related to interference on testosterone action or production due to exposure to these chemicals at environmental levels.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	4,900,000	1,470,000	6,370,000
2011年度	4,300,000	1,290,000	5,590,000
2012年度	4,300,000	1,290,000	5,590,000
年度			
年度			
総計	13,500,000	4,050,000	17,550,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学・放射線・化学物質影響科学

キーワード：フタル酸エステル、ピレスロイド、バイオマーカー、肛門性器間距離、精液所見

1. 研究開始当初の背景

欧米に於いて近年、成人における精巣がん等の男性生殖器疾患や精液所見の劣化、および尿道下裂、停留辜丸などの異常が増加しているとの報告がある。これらは胎生期の精巣発

達不全が原因であるとの「Testicular Dysgenesis Syndrome (TDS) 仮説」が提唱されている。胎生期の正常なアンドロゲン環境が男性生殖器の発育に不可欠であるとの生理学的事実、およびフタル酸エステルなど一

部の化学物質が齧歯類等の胎生期アンドロゲン環境をかく乱し、上記のような疾患や発達異常を引き起こすという実験的事実から、ヒトにおける TDS に化学物質が関与している、という懸念が高まっている。しかしながら、ヒトにおいて TDS 仮説を検証した調査研究はこれまでに多くなされていない。また、さらに、上記の胎生期曝露影響と一部関連がある可能性もあるが、成人後の化学物質曝露が精液のパラメータに影響を及ぼすとの疫学的な報告も散見される。影響が懸念されている化学物質には、プラスチック添加剤や殺虫剤、化粧品等の添加剤など、われわれが日常生活のなかで曝露されているものであり、このような男性生殖影響は、明白な疾患・異常を引き起こすような重篤なものだけでなく、よりマイルドな、サブクリニカルな形で多くの男性に発現している可能性がある。より敏感な影響指標を用い、日常レベルの化学物質曝露の範囲で、ヒトにおける量-影響関係をあらかじめすることは、生殖影響リスク評価をおこなう上できわめて重要となっている。

## 2. 研究の目的

日常生活中で頻繁な曝露が起こっている化学物質による、男性生殖器及び生殖機能への影響を、ヒトを対象として調査する。化学物質として、フタル酸エステル類、ピレスロイド系殺虫剤、パラベン類など、生殖機能への影響が動物実験などによって示唆されているものを、影響指標として肛門性器間距離 (AGD) および精液パラメータを、それぞれ取り上げる。特に AGD はヒトでほとんど測定されていないので、新たな早期影響指標としての適用性評価も兼ねてホルモンレベルや疾患との関連を調べる。対象者は産婦人科、泌尿器科などでリクルートし、化学物質曝露評価は対象者の尿中代謝産物排泄レベルをもとにしたバイオマーカー法を採用し、共変量としてイソフラボン摂取量のバイオマーカーも調査して解析に加える。

## 3. 研究の方法

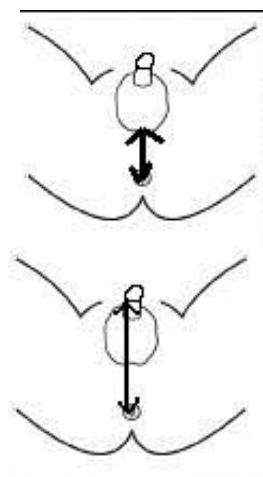
研究は3つのサブテーマからなる。(1)AGDと先天性男性生殖器疾患との関連調査、(2)化学物質胎児期曝露と出生時AGDの関連調査、(3)成人男性の精液所見と化学物質曝露との関連調査、である。研究対象者は計3か所でリクルートした。(1)は研究分担者の所属する名古屋市内大学病院泌尿器科で行われた。停留精巣児と対照児を対象に、疾患の有無とAGDとの関連を調査した。なお、この病院において、AGDの測定精度に関する基礎的検討も行った。

(2)は研究協力者の所属する都内総合病院産婦人科でリクルートした妊婦111名の尿中化学物質(及び代謝産物)濃度とその妊婦が主

産した男児のAGDとの関連を調べた。

(3)は研究協力者の所属する都内産婦人科クリニックに不妊相談に訪れたカップルの男性42名の精液所見と尿中化学物質(及び代謝産物)濃度との関連を調べた。

(2)(3)とも、尿中化学物質濃度はLCMSやGCMS等により測定した。また化学物質だけでなく、イソフラボン等天然エストロゲン様物質濃度や、質問票から得られたライフスタイルや食生活に関する情報を共変量とした多変量解析手法を用いて解析した。以上、すべての調査は関連機関における倫理審査委員会での承認を得て実施した。



## 4. 研究成果

### (1) AGDの測定精度及び先天疾患との関連

男児のAGDとは肛門の中心からペニスの付け根上端まで (AGD1、図下) あるいは陰囊の付け根 (AGD2、図上) まで、の2通りがこれまで測定されている。いずれの場合も測定者が測定器を使用して目視で測定を行うため、測定値の精度がどの程度であるかを検証した。予備測定において、ノギスを使用してmmの桁まで測定したところ、0や5で終わる数値が多く、digit preferenceの現象が見られた。目視による目盛の読み取りではなく、デジタル表示のノギスを使用する必要性が認められた。60人の男児を対象に、一人の測定者がデジタルノギスを使用して測定日を変えて一人の男児あたり2回測定した結果、相関係数はAGD1、2でそれぞれ0.94、0.92と高い再現性を示した。測定者を限定することで信頼性のある測定が可能であることを示した。

この測定方法で停留精巣男児11名、対象男児26名についてAGD1、2の比較を行ったが、有意差は見られなかった。

### (2) 胎児期化学物質曝露と出生時AGDとの関連

わが国で出生児のAGDを測定した例はないので、基礎的なデータとして、研究協力者の所属する産婦人科において、男児326例、女児317例の計629例についてAGD1を測定した。その結果、男児は $45.3 \pm 7.7$  mm、女児は $33.8 \pm 5.3$  mmと、有意に男児の方が長かった。なお出生時体重・身長・頭囲、胎盤重量、出生順位、母親の年齢・妊娠週数などに男女差

はなかった。これらの結果は、出生児の AGD は胎児期のテストステロン曝露によって伸長する、というこれまでの説と矛盾のないものであった。

このうち 111 名の男児について、その母親が妊娠中に採取した尿中のフタル酸エステル類（フタル酸メチル、フタル酸エチル、フタル酸ジエチルヘキシル、フタル酸ジブチル、フタル酸ブチルベンジルの 5 種）のモノエステル体 7 種及びパラベン類（メチルパラベン、エチルパラベン、プロピルパラベン、ブチルパラベン）の 4 種とその代謝産物（PHBA）の計 12 種類の物質の濃度を測定して、各々の物質への胎児期曝露の使用とし、出生時の男児の AGD と尿中濃度レベルとの関連を調べた。

測定対象物質は、ほとんどの対象者から検出され、これらの化学物質に日本人女性が日常的に曝露していることを示唆するものであった。表 1 に中央値のみを示す。

表 1 尿中化学物質・代謝産物濃度\* (ng/mL)

	MEP	MMP	MBP	MEHP
中央値	10.7	7.13	50.8	4.68
	MEHHP	MEOHP	MBzP	MP
中央値	9.97	10.0	4.73	108
	EP	PP	BP	PHBA
中央値	7.26	33.3	0.80	301
	ダイゼイン	エクオール		
中央値	1240	141		

MEP フタル酸モノエチル；MMP フタル酸モノメチル；MBP フタル酸モノブチル；MEHP フタル酸モノエチルヘキシル；MEHHP フタル酸モノエチルヒドロキシヘキシル；MEOHP フタル酸モノエチルオキシヘキシル；MBzP フタル酸モノベンジル；MP メチルパラベン；EP エチルパラベン；PP プロピルパラベン；BP ブチルパラベン；PHBA パラヒドロキシ安息香酸

\* 尿中濃度は比重補正 (d=1.020) したものの。

AGD を出生児の体重で補正した Anogenital index (AGI、単位 mm/kg) を従属変数に、妊婦の尿中化学物質濃度と、尿中イソフラボンや妊婦の年齢、喫煙、出産週数を独立変数として行った逐次変数選択重回帰分析の結果、妊婦の尿中フタル酸モノエチルヘキシル

(MEHP) が有意な負の変数として選択された (図 2)。このことは、胎児期のフタル酸ジエチルヘキシル曝露が、出生男児の AGD を短縮させることを示唆している。フタル酸ジエチルヘキシルには抗アンドレオ言作用があることが動物実験などから判明している。しかしながら尿中 MEHP 濃度から推定されるフタル酸ジエチルヘキシル曝露レベルは、AGD の短縮が見られた動物実験における投与レベルの 1/1000 程度であり、ヒトの方がげっ歯類よりもフタル酸ジエチルヘキシルに対す

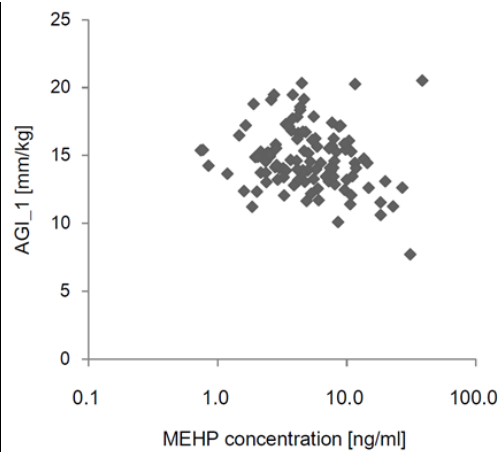


図 2 尿中 MEHP 濃度と AGI の関係

性が高い可能性がある。

一方、パラベン類やイソフラボン等エストロゲン様作用を持つことが知られる人工・天然化学物質への環境曝露によっては AGD (あるいは AGI) に影響が見られなかった。

### (3) 精液所見と化学物質曝露との関連

不妊相談のために都内産婦人科を訪れ、精液検査をした 42 名の男性から採取した尿中のフタル酸エステル類およびピレスロイド系殺虫剤の代謝産物およびカドミウム濃度の測定結果を表 2 にまとめた。

表 2 尿中化学物質・代謝産物濃度\* (ng/mL)

	MEP	MMP	MBP	MEHP
中央値	12.8	7.22	62.4	6.23
	MEHHP	MEOHP	MBzP	3-PBA
中央値	11.2	8.09	9.73	0.458
	Cd	ダイゼイン	エクオール	
中央値	0.561	1140	39.1	

3-PBA 3-フェニル安息香酸；他の略号は表 1 と同じ。

\* 尿中濃度は比重補正 (d=1.020) したものの。

精液の量、精子濃度、精子運動率それぞれを従属変数に、尿中化学物質濃度と対象者の年齢・BMI・禁欲期間・喫煙・飲酒・食習慣を独立変数とした重回帰分析を行ったところ、精子濃度の有意な独立変数として、尿中フタル酸モノブチル濃度と果物の摂取頻度が正の、尿中ダイゼインとコーヒーの摂取頻度が負の、それぞれ回帰係数で選択された。精子運動率には、尿中ピレスロイド系殺虫剤代謝産物 (3-PBA) 濃度、尿中エクオール、コーヒー摂取頻度が負の回帰係数で、喫煙が正の係数で、それぞれ有意として選択された。精液所見の変動要因としてフタル酸エステルやピレスロイド系殺虫剤、コーヒーやたばこなどの嗜好品の摂取、果物や大豆製品の摂取が

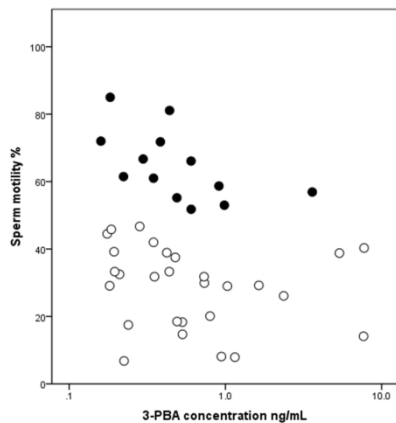


図3 尿中3-PBA濃度と精子運動率の関係  
●は成績所見がすべて正常者、○は一つでも基準値以下の項目のあった対象者。

見いだされた。とくにピレスロイド系殺虫剤への曝露による精液所見の低下は既往の疫学調査結果とも合致する結果であった。

尿中3-PBA濃度と精子運動率の間の負の関係は、すべての精液パラメータがWHO基準以上の対象者でより鮮明であり(n=14, 図3の黒丸)、精液の性情が正常な対象者の方がピレスロイド曝露の影響が明らかである、という知見であった。

以上より、特別な曝露のない一般の人々であっても、日常生活におけるフタル酸エステルやピレスロイド系殺虫剤への曝露が、胎児のアンドロゲン環境や、成人の精液所見に影響を与えている可能性を示した。

##### 5. 主な発表論文等 〔雑誌論文〕(計7件)

1. S. Shirai, Y. Suzuki, J. Yoshinaga, H. Shiraishi, Y. Mizumoto (2013) Urinary excretion of parabens in Japanese pregnant women. *Reprod. Toxicol.* 35: 96-101. 【査読有】 doi:10.1016/j.reprotox.2012.07.004
2. Y. Suzuki, J. Yoshinaga, Y. Mizumoto, S. Serizawa, H. Shiraishi (2012) Foetal exposure to phthalate esters and anogenital distance. *Int. J. Androl.* 35: 236-244. 【査読有】 doi:10.1111/j.1365-2605.2011.01190.x
3. S. Kurokawa, Y. Kojima, K. Mizuno, H. Kamisawa, K. Tozawa, K. Kohri, Y. Hayashi (2012) Association of prolactin-induced protein with preputial development of hypospadias. *BJU Int.* 109:926-32. 【査読有】 doi:10.1111/j.1464-410X.2011.10467.x
4. H. Toshima, Y. Suzuki, K. Imai, J. Yoshinaga, H. Shiraishi, Y. Mizumoto, S. Hatakeyama, C. Onohara, S. Tokuoka (2012) Endocrine disrupting chemicals in urine of Japanese male partners of subfertile couples: A pilot study on exposure and semen quality. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 215:502-506. 【査読有】 doi:10.1016/j.ijheh.2011.09.005
5. S. Iwatsuki, Y. Kojima, K. Mizuno, H. Kamisawa, Y. Umemoto, S. Sasaki, K. Kohri, Y. Hayashi (2011) Endocrine assessment of prepubertal boys with a history of cryptorchidism and/or hypospadias: a pilot study. *J Urol.* 185(6 Suppl):2444-50. 【査読有】
6. M. Niwa, Y. Suzuki, J. Yoshinaga, C. Watanabe, Y. Mizumoto (2011) Prenatal exposure to polycyclic aromatic hydrocarbon and birth outcomes. *Polycyclic Aromatic Compounds* 31: 16-27. 【査読有】 doi:10.1080/10406638.2010.543448
7. Y. Suzuki, M. Niwa, J. Yoshinaga, Y. Mizumoto, S. Serizawa, H. Shiraishi (2010) Prenatal exposure to phthalate esters and PAHs and birth outcomes. *Environ. Int.* 36: 699-704. 【査読有】 doi:10.1016/j.envint.2010.05.003

##### 〔学会発表〕(計6件)

1. 鈴木弥生、吉永淳「尿中代謝産物濃度を用いた日本人のイソフラボン曝露評価」第82回日本衛生学会学術総会、2012年3月24-26日、京都大学吉田キャンパス百周年時計台記念館、京都
2. 登島弘基、吉永淳、白石寛明、伊藤由起、上島通浩、上山純「異なる前処理による尿中ピレスロイド代謝産物濃度測定値の変動」第81回日本衛生学会 総会、2011年3月25-28日、昭和大学旗の台キャンパス4号館、東京
3. 白井さやか、吉永淳、白石寛明「パーソナルケア製品使用によるパラベン類経皮吸収率の推定」環境ホルモン学会 第13回研究発表会 2010年12月16-17日、東京大学山上会館、東京
4. 鈴木弥生、登島弘基、吉永淳、水本賀文、白石寛明、小野原千恵、畠山将太、徳岡晋「日本人男性のフタル酸エステル類曝露と精液パラメータの関連」環境ホルモン学会第13回研究発表会、2010年12月16-17日、東京大学山上会館、東京
5. 登島弘基、吉永淳、水本賀文、白石寛明、小野原千恵、畠山将太、徳岡晋「日本人男性におけるピレスロイド曝露と精液所見との関連」環境ホルモン学会第13回研

究発表会、2010年12月16-17日、東京  
大学山上会館、東京

6. Y. Suzuki, J. Yoshinaga, Y. Mizumoto, S. Serizawa, H. Shiraishi "Prenatal exposure to soy isoflavones and anogenital distance in male newborns" 2010 Joint Conference of International Society of Exposure Science & International Society for Environmental Epidemiology, Seoul, Korea, 28 August - 1 September 2010

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

吉永 淳 (YOSHINAGA JUN)

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・  
准教授

研究者番号：70222396

### (2) 研究分担者

林 祐太郎 (HAYASHI YUTARO)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・准教  
授

研究者番号：40238134

小島 祥敬 (KOJIMA YOSHIYUKI)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・講師  
研究者番号：60305539

### (3) 研究協力者

水本 賀文 (MIZUMOTO YOSHIFUMI)

自衛隊中央病院産婦人科・部長

徳岡 晋 (TOKUOKA SUSUMU)

徳岡レディースクリニック・院長