

内分泌かく乱化学物質の健康影響に関する検討会  
中間報告書追補その2

平成17年3月31日

厚生労働省医薬食品局化学物質安全対策室

## 目次

概要.....	9
序章 はじめに.....	9
第1章 重点課題の検討成果と今後の取組.....	9
第1節 試験スキーム.....	9
第2節 採取・分析法.....	9
第3節 低用量問題.....	10
第4節 暴露疫学等調査.....	11
第4-1節 生体暴露量等.....	11
第4-2節 疫学研究.....	11
第5節 リスクコミュニケーション.....	12
第2章 行動計画.....	14
序章 はじめに.....	15
検討会委員.....	16
その他の関係者.....	16
検討経過.....	17
第1章 重点課題の検討成果と今後の取組.....	18
第1節 試験スキーム.....	18
1 はじめに.....	18
2 試験スキーム（拡張版）の概要.....	18
3 研究の進捗状況及び得られている成果.....	19
(1) スクリーニング試験.....	19
ア <i>In silico</i> スクリーニング試験（①）.....	19
イ <i>In vitro</i> スクリーニング試験（②）.....	20
1) 細胞系.....	20
2) 無細胞系.....	20
ウ <i>In vivo</i> スクリーニング試験（③）.....	20
(2) 「優先リスト」.....	21
(3) 確定試験（詳細試験）.....	21
4 今後の展望.....	22
(1) スクリーニング試験.....	22
(2) 確定試験（詳細試験）.....	23
第2節 採取・分析法.....	25
1 はじめに.....	25
2 食品中の内分泌かく乱化学物質分析ガイドラインについて.....	26
3 生体試料中の内分泌かく乱化学物質分析ガイドライン.....	27
第1部 一般試験法.....	27

1. はじめに.....	27
2. 試料の採取、運搬及び保存 .....	27
3. 器具・装置及び試薬類 .....	27
4. 分析法 .....	28
5. 検出下限値 .....	29
6. 精度管理及び精度保証 .....	29
7. その他 .....	30
第2部 .....	32
生体試料中のビスフェノール A の分析法.....	32
【試験法の概要】 .....	32
【試薬】 .....	32
【器具】 .....	32
【装置及び測定条件】 .....	33
【検量線】 .....	33
【試験溶液の調製】 .....	34
【検出下限・定量下限】 .....	34
【注解】 .....	34
【参考文献】 .....	36
生体試料中のフタル酸エステル類の分析法.....	38
【試験法の概要】 .....	38
【試薬】 .....	38
【装置】 .....	38
【試験溶液の調製】 .....	38
【試験操作】 定量分析 .....	39
【検出下限・定量下限】 .....	39
【注解】 .....	40
【参考文献】 .....	41
生体試料中の 4-ノニルフェノールの分析法 .....	43
【試験法の概要】 .....	43
【試薬】 .....	43
【器具】 .....	43
【装置】 .....	43
【試験溶液の調製】 .....	44
【試験操作】 .....	44
【参考測定法】 .....	44
【注解】 .....	45
4 実験動物飼育飼料中の内分泌かく乱化学物質分析ガイドライン .....	47
第1部 一般試験法 .....	47
1. はじめに.....	47
2. 試料の採取、運搬及び保存 .....	47

3. 器具・装置及び試薬類 .....	47
4. 分析法 .....	48
5. 検出下限値 .....	49
6. 精度管理及び精度保証 .....	49
7. その他 .....	50
第2部 .....	52
動物飼料中のビスフェノール A の分析法 .....	52
【試験法の概要】 .....	52
【試薬】 .....	52
【器具】 .....	52
【装置及び測定条件】 .....	52
【検量線】 .....	53
【試験溶液の調製】 .....	53
【検出下限・定量下限】 .....	53
【注解】 .....	53
動物飼料中のフタル酸エステル類の分析法 .....	56
【試験法の概要】 .....	56
【試薬】 .....	56
【装置】 .....	56
【試験溶液の調製】 .....	56
【試験操作】 定量分析 .....	57
【検出下限・定量下限】 .....	58
【注解】 .....	58
動物飼料中の 4-ノニルフェノールの分析法 .....	61
【試験法の概要】 .....	61
【試薬】 .....	61
【器具】 .....	61
【装置】 .....	61
【試験溶液の調製】 .....	61
【試験操作】 .....	62
【検出下限値及び定量下限値】 .....	62
【注解】 .....	63
【参考文献】 .....	64
動物飼料中の植物エストロゲンの分析法(暫定) .....	65
【試験法の概要】 .....	65
【試薬】 .....	65
【装置及び測定条件】 .....	65
【検量線】 .....	65
【試験溶液の調製】 .....	66
【検出下限・定量下限】 .....	66

【注解】 .....	66
動物飼料中の 17β-エストラジオールの分析法(暫定) .....	67
【試験法の概要】 .....	67
【試薬】 .....	67
【器具】 .....	67
【装置及び測定条件】 .....	67
【試験溶液の調製】 .....	68
【検量線】 .....	68
【検出下限値及び定量下限値】 .....	68
【注解】 .....	68
5 分析値の信頼性確保について.....	70
(1) 分析法の信頼性の確認 .....	70
(2) 精度管理保証のための措置について.....	70
6 動物の飼育・実験環境からの化学物質暴露について .....	71
(1) 飼育・実験環境の化学物質 .....	71
ア 飼料・床敷等中のビスフェノール A.....	71
イ 飼料・床敷等中のフタル酸エステル類 .....	71
ウ 飼料・床敷等中の 4-ノニルフェノール.....	71
エ 飼料中の植物エストロゲン .....	72
オ 飼料中の 17β-エストラジオール .....	72
(2) 飼育・実験環境からの化学物質暴露への対応について .....	73
7 今後、必要な調査研究等の取組 .....	74
第3節 低用量問題.....	75
1 背景的事項 .....	75
2 低用量問題に関連する新たな知見 .....	76
(1) 低用量問題の概括 .....	77
(2) 作用機構上の新たな知見.....	78
(3) 高次生命系の諸系列における知見 .....	79
(4) 情報関連の成果とその知見 .....	81
3 今後、必要な調査研究等の課題の提言 .....	82
(1) 高感受性期—胎生期・新生児期・思春期の問題 .....	82
(2) 高感受性期と低用量問題.....	83
(3) 生体影響の焦点—高次生命系 .....	83
(4) ゲノミクス手法による内分泌かく乱化学物質影響研究 .....	84
第4節 暴露疫学調査 .....	86
第4-1節 生体暴露量等 .....	86
1 はじめに.....	86
2 測定法の確立.....	86
3 生体暴露量 .....	86
3-1 ビスフェノール A.....	88

3-2	クロロベンゼン類	88
3-3	パラベン類	88
3-4	フタル酸エステル類	88
3-5	ベンゾ(a)ピレン	89
3-6	PCB	89
3-7	ダイオキシン類	89
3-8	クロルデン	90
3-9	有機スズ化合物	91
3-10	4-ノニルフェノール	91
3-11	ハロゲン化炭化水素系殺虫剤	91
3-12	有機リン系殺虫剤	91
3-13	有機塩素化合物（DDT、PCB、ダイオキシン類等）	92
3-14	有機フッ素系化合物（PFOS、PFOA、PFOSA）	93
3-15	植物エストロゲン	93
3-16	重金属	93
3-17	揮発性有機化合物（トルエン、ベンゼン、キシレン、スチレン、パラジクロロベンゼンなど）	93
4	生体暴露量の考え方	94
5	生体内での作用発現	94
6	今後、必要な調査研究等の課題の提言	95
7	引用文献等	95
第4-2節	疫学研究	98
1	はじめに	98
2	各論 — 内分泌かく乱化学物質と健康影響に関する疫学研究の現状 —	98
	[発がん影響]	98
2-1	乳がん	98
2-2	子宮体がん	131
2-3	卵巣がん	135
2-4	前立腺がん	141
2-5	精巣がん	154
2-6	甲状腺がん	164
	[甲状腺機能への影響]	170
2-7	甲状腺機能への影響	170
	[器官形成への影響]	187
2-8	尿道下裂	187
2-9	停留精巣	197
	[小児神経発達への影響]	207
2-10	小児神経発達への影響	207
	[生殖機能への影響]	225
2-11	精子数	225

2-12	子宮内膜症	243
	[免疫機能への影響]	248
2-13	免疫機能（アレルギー）への影響	248
3	まとめ	254
	[発がん影響]	254
	[甲状腺機能への影響]	254
	[器官形成への影響]	254
	[小児神経発達への影響]	255
	[生殖機能への影響]	255
	[免疫機能への影響]	255
4	必要な研究の提言	256
4	必要な研究の提言	256
	(1) 化学物質暴露と疾病の現状把握とモニタリング	256
	(2) 症例対照研究やコホート研究などの疫学を方法論の基盤とした、人を対象とした研究の推進	257
	(3) EDCの人への健康影響に関する研究の継続的な総括とその情報公開	259
第5節	リスクコミュニケーション	260
1	はじめに	260
2	内分泌かく乱化学物質問題とリスクコミュニケーション	260
	2-1 リスクコミュニケーションの必要性について（目的）	260
	2-2 リスクコミュニケーションに係る関係者	261
3	内分泌かく乱化学物質問題のリスクコミュニケーションガイドライン	262
	(1) 情報（コンテンツ）の内容について	262
	(2) 情報（コンテンツ）の作成	262
	(3) 情報伝達手段とそこに含まれるべき情報の種類	263
	ア ウェブサイト（いわゆるホームページ）	263
	イ 窓口配布	263
	(4) 継続対応	264
	(5) 参考文献	264
4	今後、必要な調査研究等の取組	265
5	中間報告書追補その2の概要の解説について	266
	中間報告書追補その2の概要の解説	266
	(1) 試験スキーム（健康影響についての試験と評価の体系）	267
	(2) 採取・分析法	267
	(3) 低用量問題	268
	(4) 暴露疫学等調査	269
	(4-1) 生体暴露量等	269
	(4-2) 疫学研究	270
第2章	まとめ及び行動計画	272

行動計画 .....	273
<b>作業班、参考資料・文献等 .....</b>	<b>274</b>
第1節 試験スキーム .....	274
第2節 採取・分析法 .....	274
第3節 低用量問題 .....	275
第4-1節 生体暴露量等 .....	275
第4-2節 疫学研究 .....	276
第5節 リスクコミュニケーション .....	276
<b>付録 .....</b>	<b>278</b>
◎内分泌かく乱化学物質の健康影響に関する検討会中間報告書の概要（平成10年12月） .....	278

#### 別冊目次

- 第1節 試験スキーム
- 第4節 暴露疫学等調査
- 第5節 リスクコミュニケーション



## 概要

### 序章 はじめに

内分泌かく乱化学物質とは、内分泌系の機能に変化を与える外因性化学物質のうち生体に障害や有害な影響を起こすものを指すが、現時点では、合成ホルモン剤の薬理効果のような例を除けば、ヒトに対して内分泌かく乱作用が確認された事例はない。この点については、平成13年に中間報告書追補を取りまとめた時点と大きく変わっていない。

中間報告書追補において提示された行動計画について、これまでの取組の成果と、今後更に進めるべき具体的課題の概要は、以下のとおりである。

また、これらを踏まえ、中間報告書追補で策定された行動計画についても更新・見直しを行った。

## 第1章 重点課題の検討成果と今後の取組

### 第1節 試験スキーム

〔取組の成果〕

- 1 スクリーニングについては、①*In silico*スクリーニング（電算機内予測）、②細胞系、無細胞系を用いた *in vitro* スクリーニング試験、及び③卵巣摘出動物又は幼若動物、あるいは去勢動物等を用いた *in vivo* 試験が実施され、データの蓄積が進んだ。
- 2 確定試験（詳細試験）については、生体の成長過程（胎児期・新生児期・思春期）や生体反応（神経系、内分泌系、免疫系などの高次生命系に及ぼす変化）を包括的に検討する試験法の開発を進めている。

〔今後の取組〕

- 1 試験系を構成する各試験についてガイドライン及び評価基準を整備する。
- 2 精度及び網羅性の高いスクリーニング手法の開発整備を行って、ホルモン様作用（低用量域の作用を含む）を有することが生物学的に説明可能な物質の順位付け、リスト化を継続かつ高度化する。
- 3 そのためにスクリーニング試験に関しては、エストロゲン受容体に加え、アンドロゲン受容体、甲状腺受容体系等に加え、強化スキームを検討する。
- 4 マイクロアレイ技術を用いたパスウェー・スクリーニングを第4の項目として追加することを検討する。
- 5 詳細試験に関しては、神経・内分泌・免疫ネットワークの発生・発達・成熟・老化を考慮した「げっ歯類一生涯試験法」を開発する。
- 6 リスク評価を行い、ヒトに対する内分泌かく乱作用の可能性があると判断された物質に関して、暴露の実態も踏まえた上で、用途制限や監視等必要な法的措置又は行政措置を講ずる。

### 第2節 採取・分析法

〔取組の成果〕

- 1 中間報告書追補（平成13年12月）において暫定的に取りまとめられた「食品中の内分泌かく乱化学物質分析ガイドライン」について、必要な情報を収集し、再検討した

結果、改訂すべき根拠となる新たな知見は得られなかった。

- 2 生体試料中の低濃度の化学物質を分析するための一般試験法、及び生体試料中に混入する3種の化学物質（ビスフェノールA、フタル酸エステル類、ノニルフェノール）の分析ガイドラインを取りまとめた。
- 3 実験動物の飼育飼料中に存在する化学物質を分析するための一般試験法、及び飼料中に混入する可能性のある3種の化学物質（ビスフェノールA、フタル酸エステル類、ノニルフェノール）の分析法についてガイドラインを取りまとめた。
- 4 実験動物について、飼育環境及び実験環境からの化学物質暴露の状況を調べるため飼料、床敷等中のビスフェノールA、フタル酸エステル類、ノニルフェノール、植物エストロゲン、エストラジオールの含有量を測定した。その結果、これら化学物質が検出されたサンプルもあったことから、動物実験の実施に際しては、用いる飼料、床敷等のロット番号、入手可能な当該化学物質の分析データを明示するとともに、必要に応じて基礎暴露量を正確に把握するために飼料等中の化学物質濃度を測定して、論文、報告書等に記載する等の配慮が必要である。

〔今後の取組〕

- 1 効率の良い分析法やより精度、感度に優れた分析法の構築に関して情報収集を行い、分析ガイドラインの充実を図る。

### 第3節 低用量問題

〔取組の成果〕

- 1 内分泌かく乱作用については、成体では、内在性ホルモンへの適応があることやこれまでの調査研究結果から、さしあたり障害性の焦点にはならないものと判断される。
- 2 一方で、胚細胞期・胎生期・新生児期・思春期といった形態形成期、機能が安定する前の時点における影響を糸口にした作用機構の解明が研究の焦点となりつつある。
- 3 低用量問題は、同時に取り上げられた閾値問題、相乗・相加性、用量相関問題などを構成要素とし、相互に密接な関連をもつ。
- 4 内分泌様活性をもつ化学物質の作用機構の解明や、アリールカーボン受容体とエストロゲン受容体シグナルの相互作用関係の認識などから、作用機構の多様性が判明しつつあり、このことが低用量問題や複合効果の解明にも影響をもつと考えられる。
- 5 内分泌かく乱作用として、生殖系、免疫系、神経系など、いわゆる高次生命系への影響が焦点となっており、種々の試験結果が明らかになりつつあるが、未だ不明な点が多く、さらに作用機構を解明するための取組が求められる状況にある。
- 6 なお、問題の解明の中で、膜受容体が発見され、遺伝子機能を介さないホルモン様作用について理解が進むとともに、現状では未知の要因が介在していることを念頭において検討を進めることの意義も喚起された。

〔今後の取組〕

- 1 低用量問題を解明するため、以下の調査研究を進める。
  - ・低用量域のホルモン様作用を検出する実験結果の再現性に関する問題を克服するための調査研究
  - ・高感受性期としての胎生期・新生児期・思春期における暴露による内分泌かく乱作用

について、作用機構の解明や評価基準決定のための調査研究

- ・高感受性期において低用量で作用が発現したとの試験結果に関して、継続的及び系統的な情報収集、並びに①閾値問題、②非線形の用量相関、③相加反応などの問題を踏まえた、試験結果の解釈のための調査研究
- ・免疫系、甲状腺—中枢神経系・行動などの高次生命系に与える影響を検討するための調査研究
- ・ゲノミクス手法を利用した知見の調査研究

2 内分泌かく乱性に関する試験の評価に関する包括的なガイドラインを策定する。

#### 第4節 暴露疫学等調査

##### 第4-1節 生体暴露量等

〔取組の成果〕

- 1 以下の物質について、生体試料（血液、尿、毛髪等）中の濃度を測定した。  
ビスフェノールA、クロロベンゼン類、パラベン類、フタル酸エステル類、ベンゾ(a)ピレン、PCB、ダイオキシン類、クロルデン、有機スズ化合物、4-ノニルフェノール、ハロゲン化炭化水素系殺虫剤、有機リン系殺虫剤、有機塩素系殺虫剤、有機フッ素系化合物、植物エストロゲン、重金属、揮発性有機化合物  
（なお、物質ごとに研究対象者、測定に用いた生体試料等が異なっている。）  
クロルデン以外の上記物質は、いずれかの生体試料中に含まれており、環境中暴露の点から問題となりうる。
- 2 生体暴露量を検討していく過程で、ビスフェノールAは代謝されて血中から速やかに消失すること、また、フタル酸エステル類は体内でモノエステル又はジエステル型に代謝されることが明確になった。

〔今後の取組〕

- 1 引き続き、内分泌かく乱作用が疑われる環境汚染化学物質について、同一母体の複数部位からの生体試料（さい帯血等を含む）の採取及び濃度分析データの蓄積を行うことにより、母体からの暴露の実態を解明する。
- 2 これらの物質の生体内に存在する量（体内負荷量）の範囲で、生体にどのような作用を発現するのか否か、代謝・解毒の全容も含めて明らかにする。
- 3 今後、生体試料中の分析を進めると同時に環境中の値（バックグラウンド値）を経時的に観測することによって生体暴露の影響を評価する。

##### 第4-2節 疫学研究

〔取組の成果〕

疫学研究の現状について、文献的考察を行った。

- 1 有機塩素系化合物などの化学物質と、乳がん、子宮体がん、卵巣がん、前立腺がん、精巣がん、甲状腺がんについての疫学研究からの報告が複数あったが、関連があることを支持するには、依然として知見は不十分である。
- 2 高濃度のPCB暴露が、甲状腺機能に何らかの影響を及ぼしているという複数の研究があるものの信頼性の高い報告はなく、関連があることを支持するには、依然として知

見は不十分である。一般環境レベルでの PCB 暴露やその他の有機塩素系化合物との関連について言及するには、依然として知見は不十分である。

- 3 器官形成にかかわる問題のうち、尿道下裂については、1 件のコホート研究で DES による有意なリスクの上昇が示されていた。停留精巣については、1 件の介入研究で DES による有意なリスクの上昇が示されていた。DES については、器官形成への影響があるとする限定的な報告があるが、関連があることを支持するには依然として知見は不十分である。その他の化学物質については、疫学研究はほとんど存在せず、関連について言及するには、依然として知見は不十分である。
- 4 有機塩素系化合物による小児神経発達への影響については、複数の地域でのコホート研究からの報告があるが、他の要因による影響や、暴露・神経発達双方の評価指標や評価時期などが多様であり、関連があることを支持するには、依然として知見は不十分である。
- 5 精子数低下については、化学物質の高濃度暴露群での質の低下について複数の報告があったが、精巣毒性による影響である可能性があり、内分泌かく乱作用によることとの関連を支持するには、依然として知見は不十分である。
- 6 免疫機能への影響についての検討を今回追加したが、成人期の高濃度 PCB 暴露がアレルギーのリスクを増加させるという報告や、胎児期乳幼児期の一般環境レベルの暴露がアレルギーのリスクを減少させるという報告があり、結果が一致せず、関連について言及するには、知見は不十分である。
- 7 日本人を対象とした疫学研究の報告は、依然としてほとんどない。

〔今後の取組〕

- 1 日本国民の代表となりうる対象者を設定し、
  - ・ 内分泌かく乱作用が疑われる化学物質の暴露
  - ・ その影響が懸念される疾病についての現状把握と継続的な監視を行う。
- 2 主として日本人を対象とした、生体試料の収集と利用を含めた、疫学の方法論に基づく相当規模の研究を進める。
- 3 いわゆる内分泌かく乱作用が疑われる化学物質のヒト健康影響に関する研究を継続的に総括（刊行論文のレビュー及び更新）し、その成果を継続して広く国民に周知する。

## 第5節 リスクコミュニケーション

〔取組の成果〕

- 1 内分泌かく乱化学物質問題の特徴を以下のように整理した。
  - ・ 提出された仮説が従来の化学物質の有害性発現の概念を超えるものであったこと
  - ・ 事実ならば大変な問題であるが、その検証が容易ではない仮説であること
  - ・ 実際に仮説検証作業が始まってからも、研究者の間で意見が別れるほど相反する結果が報告されていること
  - ・ 従来の科学的（毒性学的）手法では予測できない結果（逆U字現象など）が報告されていること
  - ・ 現在までに合成ホルモン剤の薬理効果のような例を除けば、ヒトに対して内分泌かく

乱作用が確認された事例は認められておらず、有害性の内容や対象化学物質が明らかになっている従来の化学物質管理とは大きく異なること

2 その上で、厚生労働省と国民の間の情報や意見の交換にあたって、特に行政が国民に情報等を発信する場合の方法や留意点をまとめた「内分泌かく乱化学物質問題のリスクコミュニケーションガイドライン」を作成した。

3 リスクコミュニケーションに資するため、本書の概要の解説を試みた。

〔今後の取組〕

1 リスクコミュニケーションを継続的に実施し、その結果を改善に生かす。

## 第2章 行動計画

行動	目標
スクリーニング試験に関しては、エストロゲン受容体に加え、アンドロゲン受容体、甲状腺受容体等を対象とし、また、マイクロアレイ技術を用いたパスウェー・スクリーニングを加えた強化スキームを検討し、精度及び網羅性の高いスクリーニング手法を開発する。	～2007 年度
スクリーニング試験系を構成する各試験についてガイドライン及び評価基準を整備する。	～2007 年度
スクリーニング試験を行い、ホルモン様作用（低用量域の作用を含む）を有することが生物学的に説明可能な物質を順位付けし、リスト化を継続かつ高度化する。	2002 年度～
低用量問題を解明するため、以下の調査研究を進める。 <ul style="list-style-type: none"> <li>・低用量域のホルモン様作用を検出する実験結果の再現性に関する問題を克服するための調査研究</li> <li>・高感受性期としての胎生期・新生児期・思春期における暴露による内分泌かく乱作用について、作用機構の解明や評価基準決定のための調査研究</li> <li>・高感受性期において低用量で作用が発現したとの試験結果に関して、継続的及び系統的な情報収集、及び①閾値問題、②非線形の用量相関、③相加反応などの問題を踏まえた、試験結果の解釈のための調査研究</li> <li>・免疫系、甲状腺－中枢神経系・行動などの高次生命系に与える影響を検討するための調査研究</li> <li>・ゲノミクス手法を利用した知見の調査研究</li> </ul>	～2007 年度
確定試験（詳細試験）に関しては、神経・内分泌・免疫ネットワークの発生・発達・成熟・老化を考慮した「げっ歯類一生涯試験法」を開発する。	2003 年度～
内分泌かく乱性の試験評価に関する包括的ガイドライン（仮称）を策定する。	2005 年度～
リストされた物質の詳細試験を行い、ヒトに対して内分泌かく乱作用を有するかどうかを予測する。	2005 年度～
詳細試験の結果及び暴露の実態を踏まえ、リスク評価を行い必要な化学物質について監視の対象とする等の措置を講じる。	2005 年度～
効率の良い分析法やより精度、感度に優れた分析法の構築に関して情報収集を行い、ガイドラインの充実を図る。	2005 年度～
いわゆる内分泌かく乱化学物質の暴露と疾病についての現状把握と継続的な監視を行う。	2002 年度～
主として日本人を対象とした、疫学の方法論に基づく相当規模の研究を進め、あわせて生体試料の保存を継続的に行う。	2002 年度～
疫学研究を継続的に総括し（刊行論文のレビューと更新）、その成果を広く国民に周知する。	2002 年度～
同一母体の複数部位からの生体試料（さい帯血等を含む）について、いわゆる内分泌かく乱化学物質の濃度分析データを蓄積する。	2002 年度～
いわゆる内分泌かく乱化学物質が生体内に実際に存在する暴露量の範囲で、どのような作用が発現するかを解明するための研究を進める。	～2007 年度
リスクコミュニケーションを継続的に実施し、その結果を改善に生かす。	2002 年度～

## 序章 はじめに

本書は、平成13年12月に本検討会の中間報告書追補が公表されて以降、主として調査研究を中心に進められた取組から明らかになった、内分泌かく乱化学物質の健康影響に関する重点課題についての検討成果を取りまとめると共に、中間報告書追補において提示された行動計画について、これまでの取組の成果を踏まえ、更新・見直したものである。

内分泌かく乱化学物質は、内分泌系の機能をかく乱することによって、生殖系、神経系等に重大な障害を与えることが懸念されているが、どのような化学物質に内分泌かく乱作用があるのか等、未解明な部分が多いことから、厚生労働省では、主として健康影響の観点から、国際的な枠組みや他省庁とも協力して、必要な調査研究及び検討を進めてきた。

中間報告書（平成10年11月）では、人の健康を確保するために必要な課題を、データが不十分なため、必要な調査研究の実施が期待されている課題と、先端的な科学研究の推進によって解決が期待される課題に大別し、問題解決のための当面の取組方針が取りまとめられた。（本書の付録参照）

中間報告書追補では、中間報告書が公表されて以降の取組から明らかになった、7つの重点課題（逆U字効果の解明（低用量問題）、HTPS（超高速自動分析装置）を用いた対象物質の選定、ほ乳動物を用いたスクリーニング試験法の検討、内分泌かく乱作用の同定・確認のための詳細試験方法、試料の採取・分析方法の確立、暴露・疫学的情報等の収集及び解析、リスクコミュニケーションの充実）について、以下の5つの作業班で行われた検討成果が取りまとめられると共に、行動計画が提示された。

- （1）試験スキーム
- （2）採取・分析法
- （3）低用量問題
- （4）暴露疫学等調査
- （5）リスクコミュニケーション

第14回及び第15回検討会において、中間報告書追補の行動計画に基づき、主に厚生労働科学研究費補助金により行われた研究の成果について報告されたことを受け、第15回検討会において中間報告書追補取りまとめ時と同様に5つの作業班を設置し、中間報告書追補以降、明らかになった知見を取りまとめると共に、今後更に調査研究を進めるべき具体的課題を明らかにした。

厚生労働省は、ヒトの健康の確保に資するため、今般、取りまとめられた行動計画を踏まえつつ、必要な調査研究を推進することが望まれる。

なお、本書を取りまとめるに当たっては、リスクコミュニケーションの観点から、調査研究の成果を理解しやすいものとなるよう、特段の配慮を払うように努めた。

## 検討会委員

- 青山 博昭 (財) 残留農薬研究所 毒性部 副部長兼生殖毒性研究室長  
阿部 薫 (独) 労働者健康福祉機構 横浜労災病院長 (国立がんセンター名誉  
総長)
- 井口 泰泉 自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター教授  
○伊東 信行 名古屋市立大学名誉教授 (前名古屋市立大学学長)  
井上 達 国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター長  
岩本 晃明 聖マリアンナ医科大学泌尿器科学教授  
押尾 茂 (独) 科学技術振興機構 研究員、東京理科大学薬学部 研究員  
菅野 純 国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 毒性部長  
酒井 伸一 (独) 国立環境研究所 循環型社会形成推進・廃棄物研究センター長  
櫻井 治彦 中央労働災害防止協会 労働衛生調査分析センター 所長  
紫芝 良昌 国家公務員共済組合連合会 三宿病院長  
鈴木 勝士 日本獣医畜産大学 獣医生理学教室 教授  
鈴木 継美 元国立環境研究所長  
高杉 暹 横浜市立大学名誉教授 (元横浜市立大学学長)  
武谷 雄二 東京大学医学部 附属病院産科婦人科学教室 教授  
津金 昌一郎 国立がんセンター がん予防・検診研究センター 予防研究部長  
中澤 裕之 星薬科大学薬品分析化学教室 教授  
西原 力 大阪大学大学院薬学研究科 教授  
藤原 房子 (財) 日本女性学習財団 理事長  
眞柄 泰基 北海道大学 創成科学研究機構 特任教授  
松尾 昌季 大阪大学 客員教授  
安田 峯生 広島国際大学保健医療学部臨床工学科 教授  
和田 正江 主婦連合 参与  
(○：座長)

## その他の関係者

- 内山 充 (財) 日本公定書協会 会長  
牧野 恒久 東海大学医学部産婦人科学 教授



## 検討経過

第13回 平成14年 6月17日

第14回 平成15年 5月13日

第15回 平成16年 6月14日

第16回 平成16年12月 1日

第17回 平成17年 3月22日

# 第1章 重点課題の検討成果と今後の取組

## 第1節 試験スキーム

### 1 はじめに

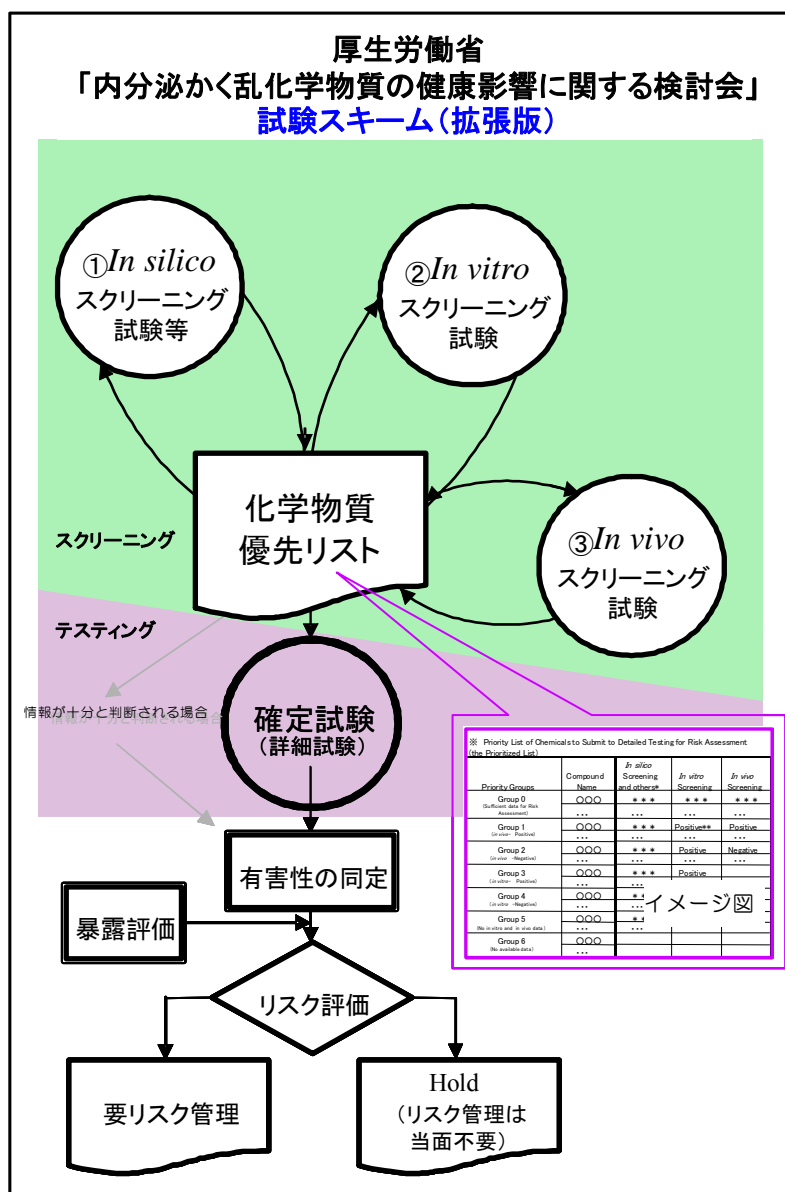
厚生労働省では、内分泌かく乱性を検討する必要がある数十万種の対象化学物質について、ホルモン活性に焦点を置いたスクリーニング手法の開発と確立を進め、もって、確定試験（詳細試験）に資する優先リストの作成を進めると同時に、詳細試験の開発を並行して行うこととされ（下図）、各試験の開発研究が行われてきた。

### 2 試験スキーム（拡張版）の概要

スクリーニングについては、図の①、②及び③の手法をバッテリーとして適応することにより、数十万種類の検討対象化学物質のホルモン活性を順次調べることが可能となり、その結果を基に、詳細試験に資するべき物質の優先リストが提供される。

優先リストは、新しい情報やスクリーニング試験結果が得られると、逐次ソーティング（並べ替え）（例えば、ホルモン活性が強い結果が得られると上位に、また、弱い結果が得られれば下位に当該化学物質の位置は移動する。）が行われることにより時間とともに、その内部構造が成熟していく。また、暴露量の知見等、スクリーニング試験結果以外の情報を加味することが可能であり、包括的な優先順位付けが行われる。

優先リスト上位の化合物から逐次、詳細試験を行い、有害性評価、暴露評価を経て、



リスク評価を行い、「要リスク管理」物質及び「リスク管理は当面不要」物質にふるい分けられ、後者については新たな科学的知見により再評価が必要となるまで、暫定的に hold される。(例外として、農薬等、多世代試験などの大型詳細試験がすでに実施されている物質については、そのデータが内分泌かく乱性の評価に十分であると考えられた場合について、直ちに有害性評価、暴露評価、リスク評価へと進むことができる)

### 3 研究の進捗状況及び得られている成果

#### (1) スクリーニング試験

##### ア *In silico* スクリーニング試験 ( )

「受容体分子への結合性」を検討するスクリーニング試験法については、ハイスループトット性に優れる *in silico* による3次元構造活性相関 (SAR) 手法について検討された。事前調査の結果、エストロゲン受容体(ER)  $\alpha$ に関する自動ドッキングモデルを採用し、その改良研究を加えた。その上で、バーチャルスクリーニングを実施し、ER  $\alpha$ に結合する可能性のある物質の抽出を行った。

今までに、ER  $\alpha$ について、約 200,000 化学物質リストの中から、約 2,000 物質が結合候補物質としてリストアップされた。現在、更に計算手法を改良し、あるいは 17 $\beta$ -エストラジオールに対する相対結合能を推定する試みが成されている。

また、ER  $\beta$ についての *in silico* ドッキング計算法を開発し、ER  $\alpha$ との比較検討に入っている(菅野班)。

*In silico* スクリーニング法に関するガイドライン及び評価基準の整備に向けての作業は、以下のような経緯の延長線上で進められている。すなわち、十分な事前調査により、従来から汎用され、米国 EPA が採用した CoMFA 法を初めとする一連のリガンド構造解析・回帰モデル型の手法を避け、あえて、受容体-リガンド相互作用を計算する Docking 法を採用した。

前者は、特定のリガンドの活性測定値に基づいたリガンド分子の形状に関わる統計学的な分析を行う。そのために、受容体の分子構造が未知の系に対しても検討を加えることができる特徴を有する。反面、統計分析に資するデータを作出するためにどのような化合物を「教師」として用いるかにその予測性能が依存する、言い換えると、用いた教師化合物に類似した構造の化合物にしか適応できない傾向が強い。

後者には、受容体の構造が既知である必要がある、相互作用計算理論が複雑かつ完璧ではなく、計算自体も煩雑になる傾向がある、という制限がある。有利な点としては、現状では「教師」化合物を用いているが、システム完成時には「教師」化合物を用いることがないため、予想するリガンドの構造的制限が無い点があげられる。実際に、計算による予測と幾つかの測定系による実測値との照合の結果、偽陽性を容認するスクリーニングの立場からは、利用可能であることが示されている。

## イ *In vitro* スクリーニング試験 ( )

### 1) 細胞系

哺乳動物由来培養細胞を用いたレポーター遺伝子試験<sup>1</sup>

「ホルモン受容体依存性蛋白合成誘導」を検討するスクリーニング試験法については、Hela 細胞や CHO 細胞等の哺乳動物由来培養細胞を用いたレポーター遺伝子試験法を検討した。その結果、ER $\alpha$ 、ER $\beta$ 、アンドロゲン受容体(AR)、及び甲状腺ホルモン受容体(TR) $\beta$  (TR $\beta$ とレチノイド X 受容体(RXR) $\alpha$ の組み合わせ)の各受容体系について各々500、100、50、及び50アッセイ結果を得た。

レポーター遺伝子試験以外の試験<sup>2</sup>

ヒト卵巣顆粒膜細胞株 KGN 細胞を用いたアロマターゼ(エストロゲン合成)活性に影響を与える物質を55種類の物質について測定した結果、アロマターゼ活性の抑制あるいは上昇させる物質を確認できた。また、KGN 細胞を用いた ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) によるアロマターゼ活性の測定系(従前の<sup>3</sup>H-water 法に比べ、感度、簡便性の点で優れる)を立ち上げ、100種類の化合物のスクリーニングを行った結果、その中からアロマターゼ活性抑制物質を検出できた。

さらに、アンドロゲン受容体(AR)系としては、ARの核内ドット分布、アクチビン受容体細胞株転移能、始原生殖細胞の遊走能を利用した抗アンドロゲン作用の新規検出系の開発も行っている。

### 2) 無細胞系

表面プラズモン共鳴(SPR)による、受容体、リガンド、DNA 応答配列(ERE)及び共役因子結合配列(LxxLL)の相互作用の検討を進め、ER $\alpha$ +EREは300、ER $\beta$ +EREは30、ER $\alpha$ +TIF-2は300、ER $\beta$ +TIF-2は30測定を実施し<sup>1</sup>、スクリーニング試験の①、②、③の補強データ及び評価に活用されている。

ガイドライン及び評価基準の整備に関しては、自然、あるいは人の生活の環境中に存在していて、既に何らかの内分泌学的生体影響が自然、実験を問わず報告されている化学物質を当面の陽性対象物質群として、それらの影響の機序、あるいは、影響の強度が十分な精度で観測可能であることをスクリーニング試験法の評価基準としている。そして、実験手法の内、この評価基準を満たすものを、国際的・国内的なバリデーション(有効性確認)、あるいはその前段階のプレ・バリデーションの対象となる手法としてガイドライン化を念頭に提案している。

## ウ *In vivo* スクリーニング試験 ( )

さらに、上記の①*in silico*、及び②*in vitro*の系において認定されたホルモン活性が実際の生体内において発揮されるか否かを検討するスクリーニング試験法には、エストロゲン様作用を発揮する化合物に関する試験系として子宮肥大試験、アンドロゲン様物質

<sup>1</sup> 厚生労働科学研究費補助金研究報告書(主任研究者:菅野純)

<sup>2</sup> 厚生労働科学研究費補助金研究報告書(主任研究者:名和田新)

に関する試験系としてハーシュバーガー試験を検討した。その結果、前者については既存化学物質や食品関連物質27化合物、後者についても5物質に関する試験が終了している<sup>3</sup>。

また、OECD テストガイドライン 407（28 日間反復投与試験）の改良版についても、甲状腺系などを考慮したスクリーニングとしての有用性の検討を行った<sup>3</sup>。

ガイドライン及び評価基準の整備に関しては、②同様、既に何らかの内分泌学的生体影響が自然、実験を問わず報告されている化学物質を当面の陽性対象物質群として、それらの生体影響の機序、あるいは、影響の強度が十分な精度で観測可能であることをスクリーニング試験法の評価基準としている。そして、実験手法の内、この評価基準を満たすものを、国際的・国内的なバリデーション（有効性確認）、あるいはその前段階のプレ・バリデーションの対象となる手法としてガイドライン化を念頭に提案している。

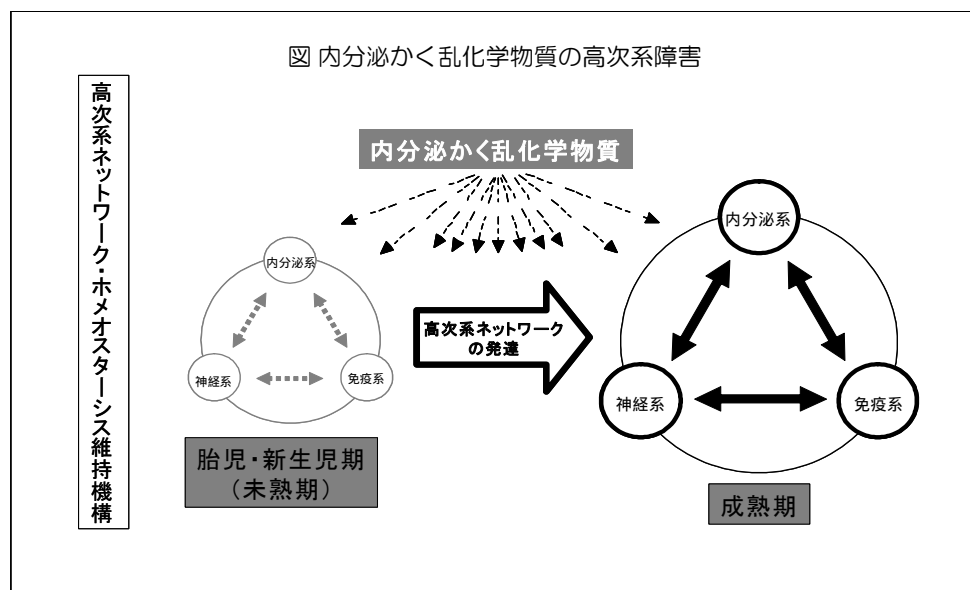
## （２）「優先リスト」<sup>4</sup>

スクリーニング試験で述べた各試験についての結果を基に、優先リストの成熟化（データの蓄積）が進められている<sup>5</sup>。

## （３）確定試験（詳細試験）

詳細試験に関しては、従来の多世代繁殖毒性試験の限界を認識し、その改良を含む試験

法の開発が進められている。これは、具体的には、一生涯（発生、発達、成熟、老化）のすべての段階において内分泌かく乱作用により懸念される毒性指標（神経・行動、免疫毒性等、高次生命系及びそ



の成熟に対する障害（図）に焦点を当てた、従来の多世代繁殖試験の指標に限定されない一連の指標）を網羅的に確認する「げっ歯類一生涯試験法」である。

神経・行動に関しては、Bisphenol A 妊娠期・授乳期暴露をモデルとし、dopamine 及びserotonin (5-HT) 神経系に着目した行動影響の評価と機序、マウス・オペラント条件付けによる神経系高次機能影響の評価及び脳の性分化への影響解析が行われている。

<sup>3</sup> 厚生労働科学研究費補助金研究報告書（主任研究者：今井清）

<sup>4</sup> リスク評価のための詳細試験に供する化学物質の優先リスト

<sup>5</sup> 厚生労働科学研究費補助金研究報告書（主任研究者：菅野純）

免疫系に関しては、自己免疫発症に関わるモデルの改良、Local Lymph Node Assayを用いた免疫機能の修飾影響の解析が実施されている<sup>6</sup>。

内分泌系に関しては、従前の生殖毒性に限定せず、中枢を含む性分化への影響、生殖関連臓器の形成、発達、機能、及びその加齢変化に対する影響を視野に入れた研究が進められている<sup>7</sup>。

さらに、これを支援する基礎研究が並行して実施されている。

神経系に関しては、中枢神経系に作用する化学物質のスクリーニング法として*in vitro*でPC12細胞からのドパミン遊離を指標とした試験、アフリカツメガエル初期胚、神経ステロイドを介した微小管関連タンパク質2（MAP2）依存重合能を利用した試験、ビスフェノールAの結合蛋白質をラット脳より精製し、その蛋白質に対する結合実験より甲状腺ホルモンを介した中枢神経系への影響の評価法の開発、内分泌かく乱化学物質を胎児期暴露した仔マウスの脳内ドパミン量の測定、また、膜エストロゲン受容体や甲状腺ホルモン系を介した神経影響の解析が行われている<sup>8</sup>。

さらに、胎児発生期の神経分化に及ぼす内分泌かく乱化学物質の影響解析のため、神経幹細胞を用いた試験が実施されている<sup>6</sup>。

免疫系に関しては、リンパ球のT細胞系機能については胎児胸腺細胞からの分化・増殖が内分泌かく乱物質の影響を受けること、さらに、リンパ球のサイトカイン産生機能が内分泌かく乱物質の影響を受けることを明らかにしている<sup>6</sup>。

化学物質のホルモン受容体への結合に伴う受容体コンホメーション変化を感知・センシングする抗体を用いたホルモンの核内受容体（グルココルチコイド受容体、甲状腺ホルモン受容体、プロジェステロン受容体等）結合性及びホルモン活性の同時測定評価法<sup>9</sup>、各種核内受容体転写活性迅速確認系構築、胎児モデル系としてのES細胞を用いた内分泌かく乱物質の影響解析、生殖器制御メカニズムに基づいた内分泌かく乱作用点の解析等が実施されている<sup>10</sup>。

さらに、従前の肉眼・組織形態所見（老化・発がん性を含む）のほか、マイクロアレイ等遺伝子発現情報を駆使する手法も取り入れた技術基盤の導入に成功している<sup>11</sup>。

## 4 今後の展望

### （1）スクリーニング試験

当初は、技術的、時間的問題から、エストロゲン受容体に関わる試験法を優先して扱ってきた。それに続いてアンドロゲン受容体系と甲状腺受容体系に関わる試験系が充実されつつある。実際に、我々の体の中にある内分泌関連受容体は、この他にも多数あることから、包括的なスクリーニングが必要であることは、当初から指摘されてきたところである。

<sup>6</sup> 厚生労働科学研究費補助金研究報告書（主任研究者：井上達）（主任研究者：小野宏）

<sup>7</sup> 厚生労働科学研究費補助金研究報告書（主任研究者：小野宏）

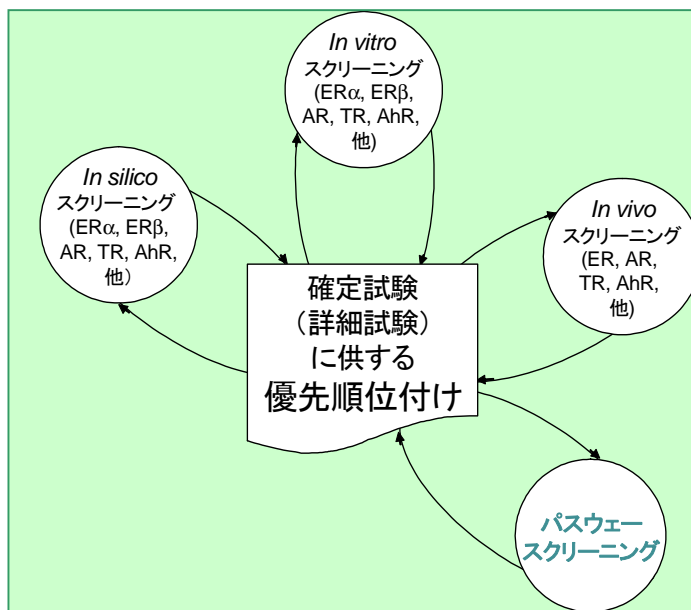
<sup>8</sup> 厚生労働科学研究費補助金研究報告書（主任研究者：船江良彦）

<sup>9</sup> 厚生労働科学研究費補助金研究報告書（主任研究者：下東康幸）

<sup>10</sup> 厚生労働科学研究費補助金研究報告書（主任研究者：今井清）（主任研究者：小野宏）

<sup>11</sup> 厚生労働科学研究費補助金研究報告書（主任研究者：菅野純）（主任研究者：今井清）（主任研究者：小野宏）

今後は、複数の受容体系を取りこぼしなく包括するための強化スキームを検討する。すなわち、複数の受容体シグナル系に対する影響、及び系統間のクロストークの問題をより効率的に検討可能とするため、従前の各項目に現在利用可能な系を投入する。具体的には、実際にタンパク質の構造や、分子そのものが利用出来ない受容体系を考慮した網羅的検討としてマイクロアレイ技術を用いたパスウェー・スクリーニング<sup>12</sup>を第4の項目として追加することを検討する(図)。



なお、スクリーニング段階では偽陽性を容認し、むしろ偽陰性の

回避を念頭にスキームを構築している。例えば、*in silico* スクリーニングにおいては、アンタゴニスト結合時の受容体構造(ポケットが広い)を用いるなどの方策により偽陰性を極力減らしている。優先順位付けは、複数のバッテリーであるスクリーニング試験の結果をソーティング(並び替え)することにより行うため、個々の試験について陽性・陰性の判別基準を設定する必要性(いわゆる線引き)は大きくないが、活性が既知の物質のデータが新たに取得されるたびに、必要があれば判別基準を見直すことで、精度の向上(偽陰性の判定を最小限にする)を図る。

## (2) 確定試験(詳細試験)

神経・内分泌・免疫ネットワークの発生・発達・成熟・老化を考慮した「げっ歯類一生涯試験法」を開発する。

この中で、神経障害性に関しては、必ずしも明確な器質的障害は誘導されないことが想定されることから、当面は、高次行動異常を当面の焦点に、胎生期・新生児期暴露が認知機能、場面適応性や報酬効果に及ぼす影響の確認実験系の導入をすすめる。

<sup>12</sup> パスウェー・スクリーニングとは、①各種核内受容体の典型的リガンド(ホルモンなど)が引き起こす一連の遺伝子発現プロファイルや遺伝子発現経路(パスウェー)情報が登録されたトキシコゲノミクス・データベース(比較的大掛かりな動物実験を基にしたもの)を事前に用意する、②スクリーニングすべき化学物質をごく少数の実験動物に投与し、適切な標的臓器の遺伝子発現プロファイルをトキシコゲノミクス手法を用いて取得し、③この結果と①で用意したデータベースとを比較することで、当該化学物質が作用するパスウェーを検出し、広範囲な受容体系に対する、より取りこぼしの少ないスクリーニングを行う、というものである。

なお、①のデータベースは別途進めている化学物質安全トキシコゲノミクスとの連携により作成が進んでいる。

免疫系に関しては、有害性指標として自己免疫疾患モデル（人において性差が著しいことで知られるシェーグレン病のモデル）、あるいは IV 型免疫応答のモデルである Local Lymph Node Assay の改良形を用いて、化学物質による自己免疫及び獲得免疫機能の修飾の影響を当面の対象として解析する。

内分泌系に関しては、生殖機能に関わる従来の指標に加えて、早発閉経等のモデルの一つとしての成熟後の機能異常の発生を中心とした解析をさらに推進する。

以上の、神経・内分泌・免疫 3 要素への影響を検討することと平行して、これら 3 要素を限られた時間と資金で実施可能な試験系に集約する研究を実施する。これには、前述の各支援基盤研究に加え、スクリーニングに用いた手法を詳細試験の補助手段として活用する。



## 第2節 採取・分析法

### 1 はじめに

樹脂原料等として用いられるビスフェノール A、可塑剤等として用いられるフタル酸エステル類、界面活性剤の原料等として用いられるアルキルフェノール類は、暴露量も多いと想定され、社会的にも注目される化学物質である。そのリスク評価を実施するには、生体影響評価に加えて、ヒト暴露量の評価が必要である。

この目的のためには、ヒト生体試料の信頼性の高い高感度測定法の構築やサンプリング・保存方法の基礎的検討が要求されている。しかし、これら化学物質の微量分析を実施するに当たっての共通の課題は、試料採取から分析に供するまでの測定環境における汚染（コンタミネーション）が懸念され、分析値に影響を及ぼすことが危惧されることである。

そこで、上記3種の化学物質を測定対象物質として、生体試料を視野に入れた分析精度の高い測定法を構築し、生体試料中の内分泌かく乱化学物質に関する分析ガイドラインの作成を行った。

一方、内分泌かく乱化学物質の生体影響評価を実施する際、実験動物を利用した *in vivo* 系試験が広く行われている。しかし、低用量域における生体影響を評価するための動物実験の信頼性を確保するためには、飼育・実験環境（飼料、床敷、給水瓶、空気等）における化学物質暴露の影響を明らかにする必要性が指摘されている。

そこで、上記3種の化学物質の他、植物エストロゲン等について飼料等の測定法を構築し、実試料への応用を試みた。

## 2 食品中の内分泌かく乱化学物質分析ガイドラインについて

食品中の内分泌かく乱化学物質の分析ガイドラインについては、中間報告書追補（平成13年12月）において、当時の採取・分析法検討作業班が、「食品中の内分泌かく乱化学物質分析ガイドライン」を暫定的に取りまとめている。

今回、当作業班において、必要な情報を収集し、当該「食品中の内分泌かく乱化学物質分析ガイドライン」を再検討した結果、改訂すべき根拠となる新たな知見は、得られなかった。

### 3 生体試料中の内分泌かく乱化学物質分析ガイドライン

#### 第1部 一般試験法

##### 1. はじめに

いわゆる内分泌かく乱化学物質の生体試料中に存在する濃度は一般的に低濃度であり、現在の分析測定技術レベルで信頼性の高い数値を得るためには、分析装置や測定室の設備に加えて、測定・分析操作等にかかわる一定水準以上の技術が要求される。そこで、内分泌かく乱化学物質等の生体試料中の濃度を測定する際の一般的留意点をまとめた。

なお、ここで示した以外の方法であっても測定結果の信頼性を確保できることが認められるならばその方法を採用しても良い。

##### 2. 試料の採取、運搬及び保存

- 1) 試料の採取に当たっては、塩化ビニル製等の手袋が試料に接触することのないよう注意する。やむを得ず手袋を使用する時は、ラテックス製等のものを用いる。
- 2) 手袋等の選択に当たっては、ブランク試験を実施して、分析対象物質の汚染がないことを確認する。
- 3) 採取器具等は、ステンレス、ガラス製等のものを、分析対象物質の汚染がないことを確認した後使用する。
- 4) 採取容器等は、ガラス製ないしはフッ素樹脂製等のものを用いる。採取容器等の選択に当たっては、ブランク試験を行い、分析対象物質の汚染がないことを確認する。
- 5) 試料は少なくとも最低2回分析できる量（試料の均一性を確保する観点から可能な限り量を確保することが望ましい。）を採取し、二等分する（一方は再試験用）。
- 6) 試料は冷凍し、暗所に保存する。
- 7) 運搬・保存容器等は、ガラス製ないしはフッ素樹脂製等のものを用いる。運搬・保存容器等の選択に当たっては、ブランク試験を行い、分析対象物質の汚染がないことを確認する。

##### 3. 器具・装置及び試薬類

###### 3-1. 器具・装置

- 1) 使用するすべての器具及び装置は、分析に悪影響を及ぼさないものを用いる。
- 2) 試料の汚染を防ぐ観点から、使用するすべての器具及び装置はクリーンな状態に保つこととし、当該分析対象物質専用とすることが望ましい。

〈例〉

- ・ガラス器具:電気炉中、450℃で5時間以上加熱処理する。
- ・ロータリーエバポレーター:大気開放コックの先に活性炭カラム、エアフィルターを装着するか、トラップ球を使用する等して室内空気等からの汚染を防ぐようにする。
- ・ガス吹き付け装置:抽出精製試料を濃縮する為に使用するもので、ガス管のライン上に活性炭又はフロリジル等を詰めた管を接続して使用する。

### 3-2. 試薬類

#### 3-2-1. 標準品

- 1) 高純度のものを用いる。
- 2) ロット番号等を5. に従って記録する。

#### 3-2-2. 試薬

- 1) 高純度のもの(精密分析用、ダイオキシン分析用、残留農薬・PCB 分析用、フタル酸分析用、HPLC 用等)を用いる。
- 2) 必要に応じて蒸留、加熱処理、洗浄等により精製する。
- 3) 第2部の分析法に従って使用する量が、定量に悪影響を及ぼさないことを確認する。

〈例〉

- ・精製水：精製水製造装置等で得られるものを、必要に応じて n-ヘキサンで洗浄する等して精製する。
- ・硫酸：半導体製造用高純度硫酸等、高純度のものを用いる。必要に応じて n-ヘキサンで洗浄する。
- ・無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用等、高純度のものを用いる。必要に応じて 450°C で 5 時間以上加熱処理する。
- ・シリカゲル：カラムクロマトグラフィー用シリカゲルを、メタノールにて超音波洗浄した後、減圧乾燥し、層の厚さが 10mm 以下になるようにガラス製ビーカーに入れて 130°C で約 18 時間乾燥した後、密閉可能な容器に入れ、デシケーター内で保管する。
- ・活性炭シリカゲル：活性炭シリカゲルをアセトンで超音波洗浄し、ろ過した後、トルエンでソックスレー抽出洗浄する。ロータリーエバポレーターで減圧乾燥させ、密閉可能な容器に入れ、デシケーター内で保存する。

## 4. 分析法

### 4-1. 試料調製法（クリーンアップ、濃縮）

- 1) 操作ブランク試験を行い、分析対象物質の汚染の無いことを確認する。
- 2) 溶媒の濃縮に際しては、ロータリーエバポレーター、クデルナダニッシュ(KD)濃縮器及び窒素吹きつけ濃縮操作等での汚染を排除する。

### 4-2. 測定（分析装置の保守管理、校正、洗浄）

- 1) ガスクロマトグラフ/質量分析計(GC/MS)の状態確認及び測定条件の設定 GC/MS を分析対象物質が測定できる条件に設定し、GC/MS の再現性、感度等が適切な状態であることを確認する。
- 2) HPLC 等の分析装置の状態確認及び測定条件の設定分析対象物質が測定できる条件に設定し、HPLC 等分析装置の再現性、感度等が適切な状態であることを確認する。
- 3) GC/MS、LC/MS で測定するときは、同位体希釈質量分析(IDMS)によることが望ましい。

## 5．検出下限値

### 5-1．装置の検出下限値

1) 分析化学的な見地における検出下限値標準物質を測定したときのクロマトグラムピーク高が  $S/N=3$  に相当する標準物質の絶対量を装置(HPLC、GC、GC/MS、LC/MS等)の検出下限値とするが、分析機器で検出できる低濃度標準溶液を5回以上繰り返し測定し、その標準偏差の3倍を検出下限値としても良い。

### 2) 実測定の検出下限値

実試料を測定し、そのときの分析対象物質のクロマトグラムピーク高を標準物質のピーク高と比較し、試料中のピーク高が  $S/N=3$  に相当する標準物質濃度と、採取試料量等から計算した値を実測定における検出下限値とする。実試料でピークが出現しない化合物に関しては、 $S/N=3$  に相当するピーク高を、標準物質を測定したときのピーク高から推定し、それに等しいピーク高に相当する標準物質濃度と採取試料量等から計算した値を実測定の検出下限値とする。なお、試料の検出下限値は目標定量下限値を満足していなければならない。

## 6．精度管理及び精度保証

概略を図1に示した。

測定値の精度保証のため以下のとおり、作業し、記録を取る。記録すべき事項を欠いている場合は、その原因を明らかにするとともに、可能な場合は原因を取り除いた後、再分析等を行う。

- 1) 分析法の標準作業書を作成する。
- 2) 試料採取の記録: 試料の採取日時・場所、採取者、採取器具・容器、採取方法、運搬・保存容器、保存方法等を記録する。
- 3) 試験機関における試料の受付・確認の記録: 試料確認の日時・場所、確認した者、運搬方法、試料の状態、保管場所、保管方法、管理番号等を記録する。運送業者を利用した場合、その配送伝票の複製を保管する。
- 4) 試薬類の記録: 用いた標準品・試薬のメーカー名、製品名、ロット番号、純度、使用期限、購入日、購入先等を記録する。調製した場合その状況(調製日時・場所、調製者、試薬類の使用履歴等)を記録する。
- 5) 機器の記録: 使用記録(使用状況、測定条件)、日常点検記録、感度の記録(測定時に必要な感度が得られていることを確認できる記録(クロマトグラム等))、保守点検・修理の状況等を記録する。
- 6) 分析の記録: 分析の各段階における操作日時、分析場所及びその環境、分析者、分析した試料、分析に供した試料の量、試料の測定順序、用いた試薬類及び使用量、を記録する。
- 7) 最終溶媒ブランク、全操作ブランク、2重測定(同一試料バイアルからの2回測定、試料採取からの2重測定)等の記録を残す。
- 8) 同位体測定を行う場合、標準物質の同位体比を確認: 測定した標準物質中の各化合

物に関して、2つのモニターイオンのレスポンス比が理論値とずれていないことを確認できる記録を残す。理論同位体存在比と実測同位体比の採用範囲は30%以内とする。

9) クロマトグラムの保管：標準溶液、最終溶媒ブランク、全操作ブランク、試料に係るクロマトグラムを保管する。

#### 10) 計算

- ・ 計算工程の記録：標準溶液の濃度、内部標準の添加量、機器測定面積値、試料採取量から最終濃度算出までの計算工程がトレース可能となる記録を残す。
- ・ 回収率の確認・記録：回収率を記録する。回収率は、70～120%の範囲であることが望ましい。

#### 11) ブランク試験

- ・ 採取器具、採取容器、運搬・保存容器等についてブランク試験を行い、その結果を記録する。
- ・ 試薬類のブランク試験を行い、その結果を記録する。このブランク試験は試薬類のロット番号が変わるごとに行う。
- ・ 全操作ブランク：試料に対して行う分析方法と同一の方法で操作を行い、その結果を全操作ブランクとして記録する。

#### 12) 2重測定

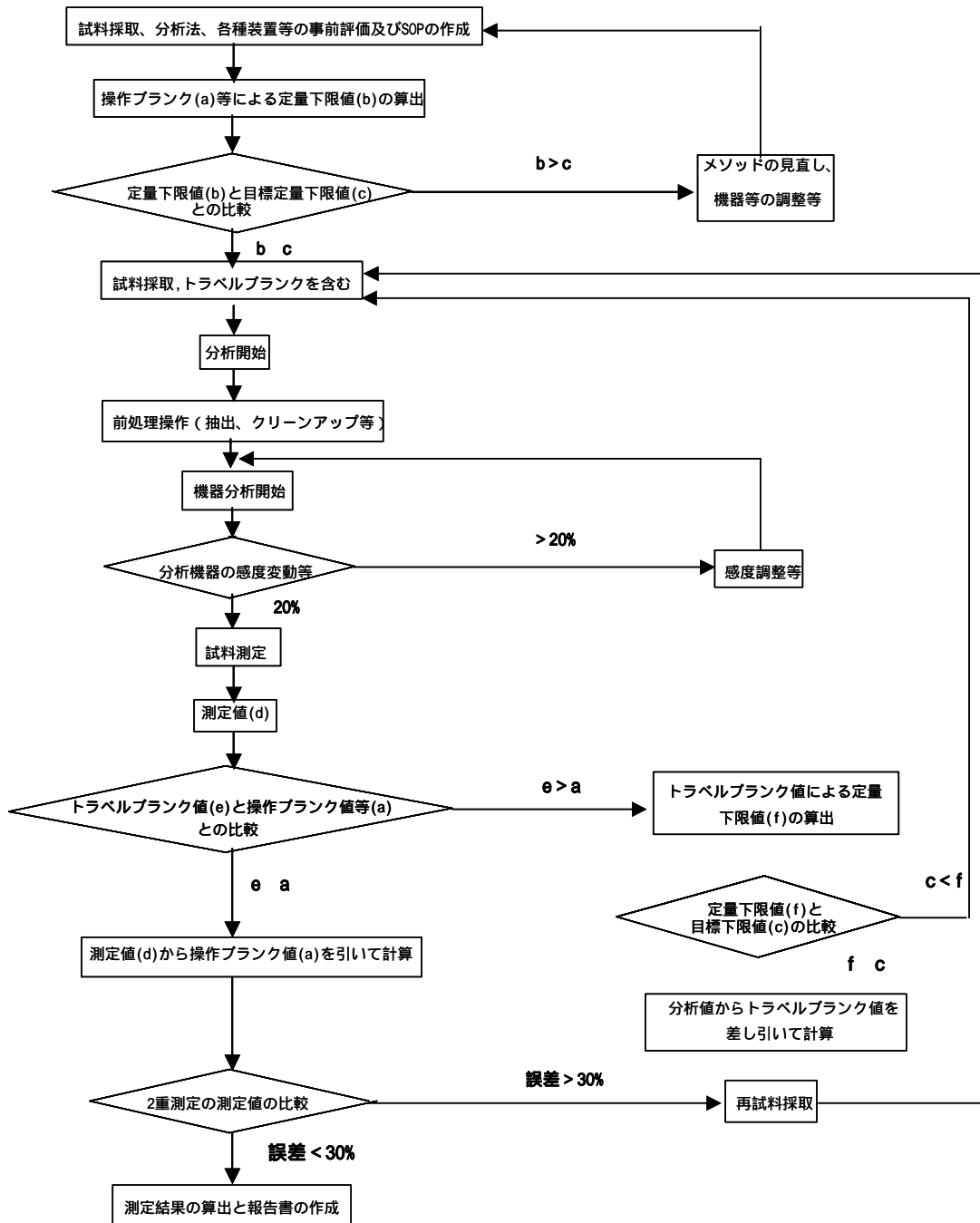
分析検体数10に対して1以上の頻度で行うことが望ましい。この2重測定の結果は各実測値の差が30%以内であることが望ましい（実測値が目標定量下限値の10倍以下の化合物に関しては規定しない）。

#### 13) 外部機関とのインターキャリブレーションを行うことが望ましい。

### 7. その他

食品衛生法「食品衛生検査施設における検査等の業務管理要綱」参照。

図 1



## 第 2 部

### 生体試料中のビスフェノール A の分析法

#### 【試験法の概要】

##### ①LC/MS 法<sup>注1</sup>

血清あるいは尿試料を、マルチモードカートリッジを用いてクリーンアップし、高速液体クロマトグラフ/質量分析計 (LC/MS) で定性・定量する。

##### ②GC/MS 法<sup>注2</sup>

尿試料を、酸性下で C18 カートリッジを用いてクリーンアップ後、TMS 化し、更にフロリジルカートリッジでクリーンアップする。これをガスクロマトグラフ/質量分析計 (GC/MS) に注入し定性・定量する。

#### 【試薬】

すべての試薬類は、クロマトグラム上でビスフェノール A (BPA) の分析に支障がないことを確認した後用いる。

- ① 標準品: BPA 及びビスフェノール A-d<sub>16</sub> (BPA-d<sub>16</sub>) は、環境分析用試薬を用いる。  
<sup>13</sup>C-BPA はケンブリッジアイソトープ製を用いる。
- ② BPA 標準溶液: BPA 標準品 100mg を 100mL 用メスフラスコに秤量し、メタノールを加えて溶解して 1000 μg/mL の標準原液とする。標準原液を適宜希釈し、標準溶液を調製する。
- ③ 内部標準物質溶液: 内部標準物質として LC/MS には BPA-d<sub>16</sub>、GC/MS には <sup>13</sup>C-BPA<sup>注3</sup>を用いる。各 10mg をそれぞれ 50mL 用メスフラスコに秤量し、メタノールを加えて溶解して 200 μg/mL の標準原液とする。内部標準物質を暫定濃度になるように加え、LC/MS もしくは GC/MS 法により標準溶液及び試料溶液を測定する。
- ④ β-グルクロニダーゼ: 100,000 units/mL 以上のものを用いる。
- ⑤ 精製用カートリッジ: マルチモードタイプカートリッジ(500 mg)<sup>注4</sup>及び C18 カートリッジ(500mg)<sup>注5</sup>。カートリッジは、予めメタノール 10mL、水 5mL の順で洗浄した後使用する。  
フロリジルカートリッジ(500mg)<sup>注6</sup>は、予め n-ヘキサン 5mL で洗浄して使用する。
- ⑥ BSTFA<sup>注7</sup>: 環境分析用を用いる。
- ⑦ 精製水: BPA の汚染が少ないミリ Q 水を用いる。

その他の試薬はすべて特級品あるいは HPLC 用を用いる<sup>注8</sup>。

#### 【器具】

検体の採取及び調製に用いる器具<sup>注8</sup>は、事前に材質試験あるいは溶出試験を行い、可能な限り BPA が検出されないものを用いる。また、ガラス器具類は、350°C で 2 時間以上加熱し、環境中の BPA の汚染を受けないところで放冷し、使用直前にアセトンで洗浄したものを使用する。



## 【装置及び測定条件】

測定には、高速液体クロマトグラフ/質量分析計（LC/MS）及びガスクロマトグラフ/質量分析計（GC/MS）を用い、下記に示す条件（代表例）で測定する。

### 測定条件

#### ①LC/MS 法

分析用カラム：C18系カラム<sup>注9</sup>（内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒径 5 μm）

カラム温度：40 °C

移動相：0.003%アンモニア水-アセトニトリル(58:42) <sup>注10</sup>

流速：0.18 mL/min

注入量：10 μL

イオン化法：エレクトロスプレーイオン化(ESI)法 ネガティブモード

フラグメンター電圧：90V

モニターイオン： $m/z=227$  (BPA)、 $m/z=241$  (BPA-d<sub>16</sub>)

#### ②GC/MS 条件

カラム：ヒューズドシリカ・キャピラリーカラム（内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μm）、液相は 5 %フェニルメチルシリコンを使用したもの<sup>注11</sup>。

カラム温度：70°C(2min)-20°C/min-150°C-10°C/min-300°C(5min)

注入口温度：250°C

キャリアーガス：He、1mL/min

注入方法：スプリットレス パージオフ 1min

イオン源温度：230°C                      イオン化法：EI ポジ

イオン化電圧：70V

モニターイオン ( $m/z$ ) : BPA(357、 372)、<sup>13</sup>C-BPA(369)

## 【検量線】

内部標準法により検量線を作成し、定量する。LC/MS においては、BPA と BPA-d<sub>16</sub>。GC/MS においては、BPA と <sup>13</sup>C-BPA の面積値の比から検量線を用いて定量値を求める。

#### ①LC/MS 測定

安定同位体標識内部標準物質 BPA-d<sub>16</sub> を 5ng 含んだ BPA の 0.5~100ng/mL の溶液を調製し、その 10μL を LC-MS に注入する。検出には選択イオン検出(selected ion monitoring、SIM)法を採用し、それぞれモニターイオン  $m/z=227$ 、 $m/z=241$  により得られた SIM クロマトグラムよりピーク面積を求め、BPA と BPA-d<sub>16</sub> の面積比により検量線を作成する。

#### ②GC/MS 測定

試験管に BPA を 10~200ng の範囲で段階的に採り、これに安定同位体標識内部標準物質として <sup>13</sup>C-BPA を 100ng 添加し、BSTFA 200μL を加え、アセトンで 1mL に定容する。これを一夜放置し、GC/MS-SIM で測定し、<sup>13</sup>C-BPA との面積比で検量線を作成する。

## 【試験溶液の調製】

### ① LC/MS 測定用試験溶液の調製

#### ・遊離体 BPA 測定用試験溶液

血清、腹水は 1mL を、尿は 2mL を採り、内部標準物質である BPA-d<sub>16</sub> を 5ng 加えた後、マルチモードタイプカートリッジに負荷する。水 3mL 及び 20%メタノール 3mL で洗浄した後、メタノール 3mL で溶出し、減圧乾固後、20%メタノール 1mL に溶解して試験溶液とする。

#### ・総 BPA 測定用試験溶液

血清、腹水は 1mL を、尿は 2mL を採り、0.2M 酢酸緩衝液(pH 5) 1mL、β-グルクロニダーゼ 6,500units/mL (試薬 β-グルクロニダーゼを 0.2M 酢酸緩衝液(pH 5) で 10 倍希釈) を 50μL 加えた後、37°C で 1 時間インキュベートする。その後の操作は、遊離体 BPA 測定用試験溶液と同様に行い、試験溶液を調製する。

### ② GC/MS 測定用試験溶液の調製

#### ・遊離体 BPA 測定用試験溶液

尿試料 100 mL を共栓付き三角フラスコに採り、<sup>13</sup>C-BPA 0.1μg を加え、これに(1+1)リン酸 1mL を加え、pH 3 以下にする。これを、予めメタノール 5mL、精製水 10mL でコンディショニングした C18 カートリッジに負荷し BPA を抽出する。カートリッジを 10%メタノール 10mL で洗浄後、3mL のメタノールで BPA を溶出させ、100mL のナス型フラスコに受け、酢酸エチル 20mL を加え、ロータリーエバポレーターで濃縮乾固する。フラスコに BSTFA 200μL とアセトン 2mL を加え一夜放置して TMS 化し、ロータリーエバポレーターでアセトンを留去する。これに n-ヘキサン 2mL を加え、超音波洗浄器を用いて溶解させ、予め n-ヘキサン 5mL で洗浄したフロリジルカートリッジに負荷し、流出液を試験管に採取する。更に、n-ヘキサン 2mL ずつでフラスコを 2 回洗浄し、カートリッジに負荷し、先の流出液と合わせる。流出液に窒素ガスを吹き付け、1mL に濃縮し、これを GC/MS-SIM で定量する。

#### ・総 BPA 測定用試験溶液

尿試料 100mL を共栓付き三角フラスコに採り、β-グルクロニダーゼ溶液 100μL と <sup>13</sup>C-BPA 0.1μg を加え、37°C で 90 分間酵素処理する。その後の操作は遊離体 BPA 測定用試験溶液と同様に行い、試験溶液を調製する。

## 【検出下限・定量下限】

全操作を通したブランク値の標準偏差 (SD) の 3 倍を検出下限値 (LOD)、10 倍を定量下限値 (LOQ) とする。

## 【注解】

ビスフェノール A (BPA) は、1891 年に合成された化学物質で、ポリカーボネート樹脂、エポキシ樹脂の原料やポリ塩化ビニルの安定剤として多用されている。その国内生産量は平成 13 年度で約 49 万トンである。BPA は 2 分子のフェノールとアセトン 1 分子の縮合反応物で、その性状は白色の粉末状で、アセトン、メタノールには溶け易いが、水には溶

け難い性質を有している。

体内動態の概要は次のとおりである。ヒトでは、消化器管から速やかに吸収され、肝臓等でグルクロン酸抱合体に代謝され、主に尿中に排泄される。低濃度暴露（50 μg）及び高濃度暴露（1mg）共に 24 時間以内にそのほとんどが尿中(80-97%)に排泄される。

ラットに経口投与した実験（800mg/kg）では、2 日以内に投与量の 80%が糞尿中（主に糞中）に排泄され、8 日後には完全に排泄される。

このように、経口投与されたBPAの排泄過程は種差により大きく異なり、ラットでは主に糞中に、ヒトやサルでは主に尿中に排泄される。

注1 LC/MS 法は誘導体化操作を必要とせず、簡便である。しかし、夾雑成分の影響を受け易い点が、現状での課題である。

注2 本法は主に尿試料を分析対象とする。PFB 化し NCI-GC/MS で測定する方法もある。

注3 BPA-d<sub>16</sub> を用いても良い。

注4 International Sorbent Technology Ltd.製の Isolute Multimode 等がある。

注5 スペルコ製、スペルクリン ENVI-18 等がある。

注6 スペルコ製、スペルクリン ENVI フロリジル等がある。

注7 BSTFA：N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetoamide, ジーエルサイエンス社製等がある。

注8 BPA は、プラスチック製実験器具、精製水、駒込ピペットのゴムキャップなどにも含まれており、高感度分析を達成するためには次の点等に留意し、操作ブランク値の低減化を図る必要がある。

- ・ 精製水には、BPA の汚染が少ないミリ Q 水等を用いる。
- ・ ガラス器具は使用前にアセトンで洗浄して使用する。
- ・ カートリッジは、必ず一定量の溶媒等でコンディショニングを行う。
- ・ 試薬類の微量採取時には、プラスチック製チップは使用せず、ガラス製マイクロシリンジ等を使用する。
- ・ エバポレーター内をアセトンで留去するなどして十分洗浄して使用する。

注9 Agilent Technologies 製の Zorbax XDB 等がある。

注10 移動相：0.01%酢酸－アセトニトリル(55:45)の利用も可能であるが、試料が尿の場合妨害を受け易い面がある。

注11 J&W Scientific 社製の DB-5MS 等がある。

### 《最近の動向》

米国環境保護庁（U.S. EPA）はラットを用いたビスフェノール A(BPA)の慢性毒性評価から参照用量(RfD：Reference Dose)を 0.05mg/kg/day に設定した。最近(2002 年)、EU においてBPAのリスク評価(案)が出され、ラットを用いた慢性毒性試験結果から、NOAEL として 5mg/kg/day を採用し、不確実係数（安全係数）として 1/500 をかけて耐用一日摂取量(TDI)を 0.01mg/kg/day としている。

ポリカーボネート食器等中に含まれる BPA の材質試験や、ポリカーボネート食器等から溶出する BPA の測定には、UV 検出器や蛍光検出器を用いた HPLC 法が汎用されてきた。しかし、血液や尿等の生体試料に含まれる BPA 濃度は極めて微量であり、高感度、高選択性且つ信頼性の高い分析法が必要とされている。生体試料中の BPA 測定について、最近の報告例をみると GC/MS 法や LC/MS(MS)が汎用されている。GC に用いられているキャピラリーカラムは高い分離能を有しており、Negative CI を用いた GC/MS 法は感度、選択性にも優れており、生体試料中の BPA 測定法として幾つか報告されている。しかし、BPA はフェノール基を有しており、GC 法ではカラムへの吸着やテーリングが見られることから、誘導体化操作が必要となる。一方、LC/MS 法は誘導体化の必要性はなく、感度、選択性共に優れていることから、生体試料中の BPA 分析法として最も汎用されている方法と言える。

#### 【参考文献】

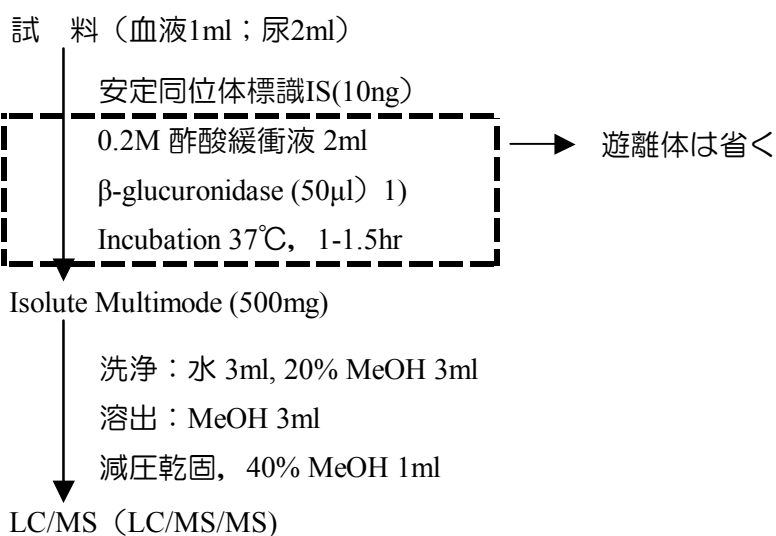
下記に生体試料中の BPA 分析に関する最近の報告例を示す。

- 1) Kawaguchi,M; Inoue,-K; Yoshimura,-M; Ito,-R; Sakui,-N; Okanouchi,-N; Nakazawa,-H, Determination of bisphenol A in river water and body fluid samples by stir bar sorptive extraction with in situ derivatization and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. J-Chromatogr, B, 805, 41-48 (2004)
- 2) Inoue,-K; Kawaguchi,-M; Funakoshi,-Y; Nakazawa,-H, Size-exclusion flow extraction of bisphenol A in human urine for liquid chromatography-mass spectrometry. J-Chromatogr,-B, 798, 17-23 (2003)
- 3) Tsukioka,-T; Brock,-J; Graiser,-S; Nguyen,-J; Nakazawa,-H; Makino,-T, Determination of trace amounts of bisphenol A in urine by negative-ion chemical-ionization-gas chromatography/mass spectrometry. Anal-Sci. 19, 151-153 (2003)
- 4) Kuklennyik,-Z; Ekong,-J; Cutchins,-CD; Needham,-LL; Calafat,-AM, Simultaneous measurement of urinary bisphenol A and alkylphenols by automated solid-phase extractive derivatization gas chromatography/mass spectrometry. Anal. Chem. 75, 6820-6825 (2003)
- 5) Matsumoto A, Kunugita N, Kitagawa K, Isse T, Oyama T, Foureman GL, Morita M, Kawamoto T. Bisphenol A levels in human urine, Environ. Health Perspect. 111, 101-4 (2003)
- 6) Yoshimura,-Y; Brock,-JW; Makino,-T; Nakazawa,-H, Measurement of bisphenol A in human serum by gas chromatography--mass spectrometry. Anal-Chim-Acta. 458, 331-336 (2002)
- 7) Inoue,-K; Yamaguchi,-A; Wada,-M; Yoshimura,-Y; Makino,-T; Nakazawa,-H, Quantitative detection of bisphenol A and bisphenol A diglycidyl ether metabolites in human plasma by liquid chromatography-electrospray mass spectrometry.

- J-Chromatogr,-B, 765, 121-126 (2001)
- 8) Katayama,-M; Sasaki,-T; Matsuda,-Y; Kaneko,-S; Iwamoto,-T; Tanaka,-M, Sensitive determination of bisphenol A and alkylphenols by high-performance liquid chromatography with precolumn derivatization with 2-(4-carboxyphenyl)-5, 6-dimethylbenzimidazole. Biomed-Chromatogr. 15, 403-407 (2001)
- 9) Shin,-BS; Park,-KL; Han,-SY; Lee,-BM; Kim,-HS; Lee,-KC; Eom,-HJ; Yoo,-SD, Sensitive micro-sample analysis of bisphenol A in serum by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. Chromatographia. 53, 669-672 (2001)
- 10) Sajiki,-Jm, Determination of bisphenol A in blood using high-performance liquid chromatography-electrochemical detection with solid-phase extraction. J-Chromatogr,-B, 755, 9-15 (2001)

## BPAの試料調製法

### ◎ LC/MS法



注1)  $\beta$ -glucuronidase は125,000units/mlを0.2M酢酸緩衝液で10倍希釈し, その50 $\mu$ lを使用.

☒ 生体試料中のBPA分析法フローシート

## 生体試料中のフタル酸エステル類の分析法

### 【試験法の概要】

生体試料からアセトニトリルによりフタル酸エステル類（PAE）<sup>注1、注2</sup>を抽出し、抽出液をフロリジル・PSA カラムクロマトグラフィーによって精製し、ガスクロマトグラフ／質量分析計（GC/MS）で定性、定量を行う。

分析の対象となる PAE は、フタル酸ジブチル（DBP）、フタル酸ブチルベンジル（BBP）、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル（DEHP）、フタル酸ジイソオクチル（DiOP）、フタル酸ジイソノニル（DiNP）である。

なお、本法は血清に適用できる。

### 【試薬】

すべての試薬類は、クロマトグラム上で PAE の分析に支障のないことを確認した後用いる。

- ① 有機溶媒：n-ヘキサン、アセトニトリル、アセトンはフタル酸エステル試験用を用い、使用直前に開封する<sup>注3</sup>。
- ② 無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用を 200℃で 2 時間加熱し、放冷後使用する。
- ③ 塩化ナトリウム：フタル酸エステル試験用を 200℃で 2 時間加熱し、放冷後使用する。
- ④ 精製水：フタル酸エステル試験用の n-ヘキサンで洗浄した蒸留水を用いる<sup>注4</sup>。
- ⑤ フロリジル：フロリジル PR を 200℃で 2 時間加熱し、放冷後使用する。
- ⑥ PSA：ボンデシル PSA を用いる。
- ⑦ PAE 標準溶液：各標準品 20 mg を 20 mL のメスフラスコに量り取り、n-ヘキサンにて 20 mL とし、1000  $\mu$ g/mL 溶液を調製する。適宜希釈し、PAE 標準溶液とする。
- ⑧ 内部標準溶液：各フタル酸エステル-d<sub>4</sub> 標準品 20 mg を 20 mL のメスフラスコに量り取り、n-ヘキサンにて 20 mL とし、1000  $\mu$ g/mL 溶液を調製する。適宜希釈し、内部標準溶液とする。

### 【装置】

- ① ガスクロマトグラフ／質量分析計（GC/MS）：電子イオン化（EI）イオン源及びキャピラリーカラム（スプリットレス）を装着し、選択イオン検出法（SIM）による分析が可能な装置を用いる。
- ② フロリジル・PSA カラム：ガラス製クロマトカラム（内径 15 mm、長さ 110 mm）に、フロリジル 1 g、その上に PSA0.5 g、無水硫酸ナトリウム 2 g を充填する。使用前にアセトン 10 mL 及び n-ヘキサン 10 mL を用いて洗浄する。

### 【試験溶液の調製】<sup>注5</sup>

血清 1 mL を共栓試験管（10 mL、ガラス製）に採り、アセトニトリル 5 mL、塩化ナトリウム 0.5 g、n-ヘキサン 1 mL 及び内部標準溶液（4  $\mu$ g/mL）25  $\mu$ L を添加後、3 分間振とうする。3000 rpm で 5 分間遠心分離後、アセトニトリル層を分取し、減圧留去する。

残渣を精製水 2 mL に溶解し、n-ヘキサン 5 mL 及び 3 mL で 2 回抽出する。n-ヘキサン層をフロリジル・PSA カラムに負荷し、n-ヘキサン 3 mL でカラムを洗浄後、5%アセトン-n-ヘキサン 10 mL で PAE を溶出する。溶出液を減圧濃縮後、n-ヘキサンで 1 mL に定容し、試験溶液とする。

【試験操作】定量分析<sup>注6</sup>

① GC/MS 測定条件：一例を以下に示す。

カラム：ヒューズドシリカ・キャピラリーカラム（内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25  $\mu$ m）、液層は 5%フェニルメチルシリコンを使用する<sup>注7</sup>。

カラム温度：80°C（3分）→10°C/分→300°C（5分）

キャリアーガス：ヘリウム、全流量 50 mL/分、カラム流量 1.5 mL/分

注入口温度：240°C

注入方式：スプリットレス

インターフェース温度：300°C

検出法：SIM

モニターイオン：表 1 に示した。

表 1 モニターイオン

物質名	略称	定量イオン	参照イオン
フタル酸ジ-n-ブチル	DBP	149	205, 223
フタル酸ブチルベンジル	BBP	149	91, 206
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル	DEHP	149	167, 279
フタル酸ジイソオクチル	DiOP	149	279
フタル酸ジイソノニル	DiNP	149	293
フタル酸ジ-n-ブチル-d <sub>4</sub>	DBP-d <sub>4</sub>	153	227, 209
フタル酸ブチルベンジル-d <sub>4</sub>	BBP-d <sub>4</sub>	153	91, 210
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル-d <sub>4</sub>	DEHP-d <sub>4</sub>	153	171, 283
フタル酸ジオクチル-d <sub>4</sub>	DOP-d <sub>4</sub>	153	283
フタル酸ジノニル-d <sub>4</sub>	DNP-d <sub>4</sub>	153	297

② 定量：試験溶液の一定量を GC/MS に注入し、各 PAE のピーク面積を内部標準物質のピーク面積で除した値を、検量線と比較して定量する。DiOP は主要な 2 本のピークを、DiNP は主要な 5 本のピーク面積をそれぞれ合計して定量対象とする。

③ 検量線の作成：内部標準物質を含んだ PAE 標準溶液を GC/MS に注入し、各 PAE のピーク面積を内部標準物質のピーク面積で除した値を用いて検量線を作成する。DiOP は主要な 2 本のピークを、DiNP は主要な 5 本のピーク面積をそれぞれ合計してピーク面積とする。

【検出下限・定量下限】

検出下限は、後述のごとく操作ブランク中の DBP 及び DEHP 濃度を低減化できるので、DBP、BBP、DEHP は 3 ng/mL に、DiOP、DiNP は 20 ng/mL に設定する。また、定量下限は、DBP、BBP、DEHP は 10 ng/mL に、DiOP、DiNP は 50 ng/mL に設定する。

## 【注解】

注1 PAE は、ポリ塩化ビニル製樹脂（PVC）等に使用されている可塑剤の一つである。

PVC は家庭用品や建築材として広く使用され、これらからの揮散あるいは溶出により環境汚染が問題になっている化合物である。したがって、環境から混入するブランク値が問題となるため、分析を実施する上では特に操作ブランク値の低減化に注意を払う必要がある。

操作ブランクの低減化に関して、以下の項目が有効であることが判明している。これらの項目に注意を払わない場合には、操作ブランクのSIM プロファイル上に 100 ng/mL レベルの DBP 及び DEHP が出現するのに対して、これらの実施すると、操作ブランク値が、それぞれ 10 ng/mL 以下に低減されるので、本試験法を実施する際にはこれらの点に留意して実験を行うこと。

- a) 使用する水は、フタル酸エステル試験用の n-ヘキサンで洗浄した蒸留水を使用する。
- b) ホールピペット及びメスフラスコ以外のすべての実験器具（エバポレーターのトラップも含む）は、200℃、2 時間加熱し、放冷した後に、使用する直前にフタル酸エステル試験用の n-ヘキサンで洗浄する。なお、n-ヘキサン洗浄は手が器具に直接触れないように、ピンセットを用いて実施する。
- c) 実験操作開始直前には必ず両手を石けんでよく洗い、その後は、極力実験器具以外には触れないようにする。特に、ドアノブに触れた場合には必ず両手を洗浄する。
- d) 使用する実験台は、アルミホイルで覆い、毎日交換する。
- e) エバポレーターは、使用する直前にフタル酸エステル試験用アセトンを濃縮乾固する。
- f) 標準品を扱う際は、作業する実験台とは異なる実験台で行う。
- g) ピペットの先端が実験室内の器具装置等に触れないようにする。
- h) ホールピペットは必ず基本操作どおり扱い、決して口で吹いたりして溶液を排出しない。
- i) 腕時計は外しておく。
- j) 髪の毛は小さくまとめる。
- k) 爪は短く切る。

注2 本法ではサロゲートによる内部標準法を採用し、回収率を補正している。血清に DBP、BBP、DEHP の濃度がそれぞれ 100 ng/mL に、DiOP、DiNP の濃度が 200 ng/mL になるように添加したときの平均回収率は、98.7-123.7%、相対標準偏差は 0.86-7.52% である。

注3 開封後長期間経たものは、環境中から PAE が混入している可能性が高いので使用しない。

注4 使用する精製水に妨害ピークが認められた場合には、n-ヘキサンによる洗浄を繰り返し実施するとよい。

注5 PAE の分析では、試薬、器具等に起因する汚染に十分注意する必要があるため、ブランク試験を必ず実施して分析操作中に混入する PAE 量を把握する必要がある。

注6 標準品及び試料を分析する前に n-ヘキサンのみを数回注入し、GC/MS の状態をチェックすると良い。

注7 Agilent technologies 社製の HP-5MS、HP-5MS SV、J&W Scientific 社製の

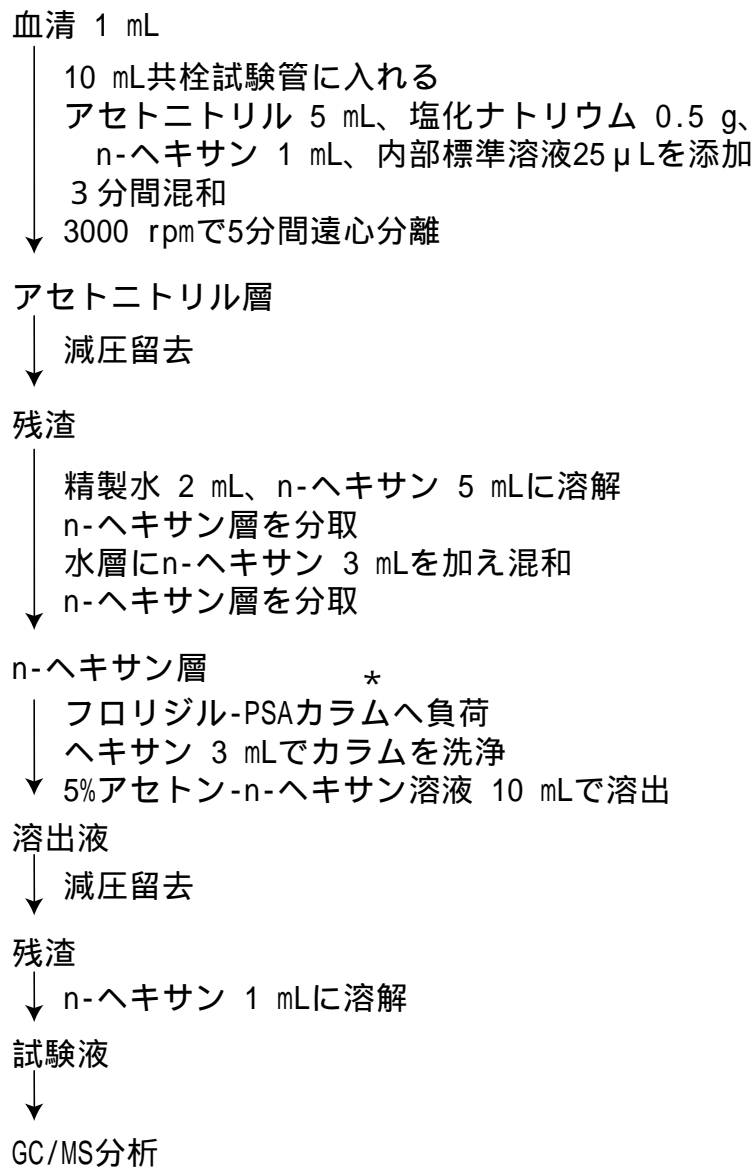


DB-5MS 等がある。

**【参考文献】**

下記に生体試料中のフタル酸エステル類分析に関する最近の報告例を示す。

- 1) Inoue K, Kawaguchi M, Okada F, Yoshimura Y, Nakazawa H, Column-switching high-performance liquid chromatography electrospray mass spectrometry coupled with on-line of extraction for the determination of mono- and di-(2-ethylhexyl) phthalate in blood samples. *Anal Bioanal Chem*, 375, 527-33 (2003)
- 2) Takatori S, Kitagawa Y, Kitagawa M, Nakazawa H, Hori S, Determination of di(2-ethylhexyl)phthalate and mono(2-ethylhexyl)phthalate in human serum using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B*, 804, 397-401 (2004)
- 3) Colon I, Dimandja JM, High-throughput analysis of phthalate esters in human serum by direct immersion SPME followed by isotope dilution-fast GC/MS. *Anal Bioanal Chem*, 380, 275-283 (2004)



フロリジル-PSA カラムの調製法  
ガラスカラム管の底にガラスフィルターを敷く  
フロリジル 1 g、PSA 0.5 g、硫酸ナトリウム 2 g の順に積層する  
アセトン 10 mL、n-ヘキサン 10 mL で洗浄する

図 血清中のフタル酸エステル類の分析法フローシート

## 生体試料中の 4-ノニルフェノールの分析法

### 【試験法の概要】

生体試料を直接カラムスイッチングー液体クロマトグラフ/質量分析計(LC/MS(/MS))<sup>注1</sup>に注入し、カラムスイッチングと抽出カラムを用いて、オンラインで前処理を行い、定性・定量を行う。

なお、本試験の対象化学物質は、4-ノニルフェノール(NP)であり、血清試料に適用できる。

### 【試薬】

すべての試薬類は、クロマトグラム上で NP の分析に支障のないことを確認した後用いる。

- ① 標準品(NP)：4-Nonylphenol 環境分析用（混合<sup>注2</sup> 95.0%以上）を用いる。
- ② 標準溶液の調製：NP 標準品 100 mg を 100 mL のメスフラスコに量りとり、アセトニトリルを加えて、100 mL として標準原液を調製し、適宜希釈して標準溶液とする。
- ③ 有機溶媒：残留農薬試験用、環境分析用又は HPLC 用を用いる。
- ④ 精製水：NP の汚染が少ないミリ Q 水又は市販の蒸留水を使用する。
- ⑤ 内部標準物質<sup>注3</sup>：4-(1-メチル)オクチルフェノールの重水素化体を使用して、内部標準補正を行う。回収率や再現性等測定に支障のない場合は、絶対検量線法による測定も可能である。
- ⑥ 前処理カラム：クリーンアップに使用するカラムとして、その回収率及び精製効果により、カラムを選択する<sup>注4</sup>。
- ⑦ グルクロニダーゼ処理：血清 1mL に対し、 $\beta$ -グルクロニダーゼ(15  $\mu$ L、89U/mL)及び酢酸アンモニウム(1.0M、200  $\mu$ L)を加え、37°Cで3時間インキュベートを行う<sup>注5</sup>。

### 【器具】

検体の調製に用いる器具は、事前に材質試験を行い、NP 不検出のものを用いる。

器具の洗浄は常に一定の条件で行う。特にガラス器具は洗浄後、200°Cで2時間以上加熱し、環境中の NP の汚染を受けないところで放冷する。使用直後にアセトンで洗浄して使用する。

### 【装置】

カラムスイッチングー液体クロマトグラフ/質量分析計(LC/MS)：カラムスイッチングバルブを装着した LC/MS 装置にエレクトロスプレーイオン源による選択イオン検出(SIM) ( $m/z=219$  [M-H]<sup>-</sup>)による分析が可能な装置を用いる。LC/MS/MS による測定も可能であるが、 $m/z=219$  の脱プロトンイオンをモニタリングすることとする。

## 【試験溶液の調製】<sup>注6</sup>

### 方法 A

血清 1mL を量り取り、試験管に移す。血清が入った試験管にグルクロニダーゼ処理を行う。酵素反応終了後、精製水で、全量 1.5 mL に定容する。その後、内部標準物質を暫定濃度になるように加え、カラムスイッチング LC/MS に直接注入し、分析を行う。

### 方法 B

血清 1mL を量り取り、試験管に移す。グルクロニダーゼ処理をした血清に内部標準物質を暫定濃度になるように加える。血清と同量のアセトニトリルを加え、混和後、遠心分離(3000 rpm、30 min、4°C)を行う。その後、上清をフィルター<sup>注7</sup>に通し、バイアル瓶に入れ分析に供する。

## 【試験操作】

### ① LC/MS 測定条件：一例を以下に示す。

分析用カラム：C18 逆相系カラム(内径 2.0 mm、長さ 100mm、粒径 5  $\mu$ m)<sup>注8</sup>

カラム温度：40°C

分析用移動相：水：アセトニトリル(0.02 %酢酸アンモニウム<sup>注9</sup>でグラジエント溶出する。30：70 (8min)→5：95 (10 min)→5：95 (20 min)

分析用移動相の流速：0.2 mL/min

抽出用カラム：内面逆相系カラム(内径 4.6 mm、長さ 10mm、粒径 5  $\mu$ m)<sup>注4</sup>

抽出用移動相：精製水(100%)<sup>注10</sup>

抽出用移動相の流速：0.5 mL/min

バルブスイッチ時間：5 min

注入量：30  $\mu$ L

イオン化法：エレクトロスプレーイオン化(ESI)法 ネガティブモード

MS モニターイオン： $m/z$ 219 (NP)、 $m/z$ 224 (m-OP-d<sub>5</sub>)

### ② 定性・定量

LC/MSにおいてSIM( $m/z$ 219)測定において検出される1本のピークがベースライン分離を達成していることを確認後、そのピーク面積を用いて、定量を行う。内部標準法により定量を実施する。検量線は、5~100 ppb の濃度範囲において作成する。また、検量線に用いた最も低濃度の標準溶液を5回以上測定し、その標準偏差(SD)の3倍を検出下限値 (LOD)、10倍を定量下限値(LOQ)とする。ただし、操作ブランクのある場合には操作ブランク値の測定を行い、標準溶液と操作ブランク値のうち、大きい方の標準偏差を用いて算出する<sup>注11</sup>。

## 【参考測定法】

1. K. Inoue, Y. Yoshimura, T. Makino, H. Nakazawa : Determination of 4-nonylphenol and 4-octylphenol in human blood samples by high-performance liquid chromatography with multi-electrode electrochemical coulometric-array detection. *Analyst* 125, 1959-1961 (2000)

2. K. Inoue, M. Kawaguchi, F. Okada, N. Takai, Y. Yoshimura, M. Horie, S. Izumi, T. Makino, H. Nakazawa : Measurement of 4-nonylphenol and 4-octylphenol in human urine by column-switching liquid chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 486, 41-50 (2003)

【注解】

注1 カラムスイッチング-LC/MS法は、試料を直接LCに導入することができ、前処理操作に伴うコンタミネーションを抑えることができる。また、LCのクロマトグラム上において、NPの異性体群が1本のピークとして確認できるため、定量が容易である。

注2 NPは側鎖であるノニル基が直鎖のものと分岐したものに大別できる。市販されている標準品は、ノニル基が種々に分岐した混合型と直鎖型単一成分からなるものがある。一般に環境試料や生物試料からは、混合型標準品に類似したピークパターンが観察される。したがって、混合型標準品を用いた評価が妥当である。しかし、市販されている混合型標準品の成分組成(ピークパターン)はメーカーや同一メーカーでもロットにより異なる場合があるので注意を要する。

注3 質量分析計で利用されるNPの補正物質としては、直鎖型4-n-NP(重水素・<sup>13</sup>C安定同位体)と4-(1-methyl) octylphenol-d<sub>5</sub>がある。直鎖型と分岐型では物理化学的性質が異なり、十分に内部標準補正できない場合がある。そこで、この2つを比較し、内部標準物質として4-(1-methyl) octylphenol-d<sub>5</sub>を選択した。この内部標準物質(IS)を用いた時、保持時間はNPと異なり、十分に補正しているとは言い難い。今後、重水素・<sup>13</sup>C安定同位体置換の混合体NPが望まれる。

注4 TOSOH社製TSK-PRECOLUMN BSA/ODS-S(4.6 x 10 mm, 5 μm)などがある。又は、これと同等の回収率及び精製効果を有するものを使用する。

注5 β-グルクロニダーゼでの脱抱合は、同じユニットUでなくても良いものとする。必ず、事前に抱合が外れる条件を確認するものとする。

注6 カラムスイッチングによる直接注入は少数検体には可能であるが、大量検体を測定する際には、約20検体(血清)で抽出カラムの回収率及び精製効果が得られなくなる。大量検体を測定するときには、方法Bの分析法が好ましい。

注7 Geiman Japan社製P/N Ekicrodisc 13 CR 0.45 μm PTFEなどがある。

注8 関東化学社製Mightysil RP18 GPなどがある。

注9 酢酸アンモニウム濃度0~2 mMの範囲において最大レスポンスを与える濃度を使用する。

水、アセトニトリルの両溶媒に0.02%酢酸アンモニウムになるよう調製した。

注10 カラムの洗浄を考慮し、10%までメタノールを混合することも可能である。その場合、抽出率を確認する必要がある。

注11 検出下限値及び定量下限値の算出方法は、「ダイオキシン類に係わる水質調査マニュアル」環境庁水質保全局水質規制課(平成10年7月)に従った。

## 方法A

血清 1 mL

↓  
β-グルクロニダーゼ(15 μL、89U/mL)、  
酢酸アンモニウム(1.0M、200 μL)を添加  
37°Cで3時間インキュベート

精製水で定容(全量1.5mL)  
内標準物質を暫定濃度添加

↓  
LC/MS(/MS)分析

## 方法B

血清 1 mL

↓  
試験管に移す  
β-グルクロニダーゼ(15 μL、89U/mL)、  
酢酸アンモニウム(1.0M、200 μL)を添加  
37°Cで3時間インキュベート

内標準物質を暫定濃度添加  
血清と同量のアセトニトリルを加え、5分間混和  
3000 rpmで30分間遠心分離 (4°C)

↓  
上清を採取

↓  
フィルターを通す

↓  
LC/MS(/MS)分析

図 血清中のノニルフェノール分析法フローシート

## 4 実験動物飼育飼料中の内分泌かく乱化学物質分析ガイドライン

### 第1部 一般試験法

#### 1. はじめに

いわゆる内分泌かく乱化学物質が実験動物飼育飼料中に存在する可能性がある。飼料中に存在する濃度は一般的に低濃度であり、現在の分析測定技術レベルで信頼性の高い数値を得るためには、分析装置や測定室の設備に加えて、測定・分析操作等にかかわる一定水準以上の技術が要求される。そこで、内分泌かく乱化学物質等の実験動物飼育飼料等中の濃度を測定する際の一般的留意点をまとめた。

なお、ここで示した以外の方法であっても測定結果の信頼性を確保できることが認められるならばその方法を採用しても良い。

#### 2. 試料の採取、運搬及び保存

- 1) 試料の採取に当たっては、塩化ビニル製等の手袋が試料に接触することのないよう注意する。やむを得ず手袋を使用する時は、ラテックス製等のものを用いる。
- 2) 手袋等の選択に当たっては、ブランク試験を実施して、分析対象物質の汚染がないことを確認する。
- 3) 採取器具等は、ステンレス、ガラス製等のものを、分析対象物質の汚染がないことを確認した後使用する。
- 4) 採取容器等は、ガラス製ないしはフッ素樹脂製等のものを用いる。採取容器等の選択に当たっては、ブランク試験を行い、分析対象物質の汚染がないことを確認する。
- 5) 試料は少なくとも最低2回分析できる量（試料の均一性を確保する観点から1kg以上を確保することが望ましい。）を採取し、二等分する（一方は再試験用）。
- 6) 試料は冷暗所に保存する。
- 7) 運搬・保存容器等は、ガラス製ないしはフッ素樹脂製等のものを用いる。運搬・保存容器等の選択に当たっては、ブランク試験を行い、分析対象物質の汚染がないことを確認する。

#### 3. 器具・装置及び試薬類

##### 3-1. 器具・装置

- 1) 使用するすべての器具及び装置は、分析に悪影響を及ぼさないものを用いる。
- 2) 試料の汚染を防ぐ観点から、使用するすべての器具及び装置はクリーンな状態に保つこととし、当該分析対象物質専用とすることが望ましい。

〈例〉

- ・ガラス器具:電気炉中、450℃で5時間以上加熱処理する。
- ・ロータリーエバポレーター:大気開放コックの先に活性炭カラム、エアフィルターを装着するか、トラップ球を使用する等して室内空気等からの汚染を防ぐようにする。
- ・ガス吹き付け装置:抽出精製試料を濃縮する為に使用するもので、ガス管のライン上に活性炭又はフロリジル等を詰めた管を接続して使用する。

### 3-2. 試薬類

#### 3-2-1. 標準品

- 1) 高純度のものを用いる。
- 2) ロット番号等を5. に従って記録する。

#### 3-2-2. 試薬

- 1) 高純度のもの(精密分析用、ダイオキシン分析用、残留農薬・PCB 分析用、フタル酸分析用、HPLC 用等)を用いる。
- 2) 必要に応じて蒸留、加熱処理、洗浄等により精製する。
- 3) 第2部の分析法に従って使用する量が、定量に悪影響を及ぼさないことを確認する。

〈例〉

- ・精製水：精製水製造装置等で得られるものを、必要に応じて n-ヘキサンで洗浄する等して精製する。
- ・硫酸：半導体製造用高純度硫酸等、高純度のものを用いる。必要に応じて n-ヘキサンで洗浄する。
- ・無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用等、高純度のものを用いる。必要に応じて 450℃で 5 時間以上加熱処理する。
- ・シリカゲル：カラムクロマトグラフィー用シリカゲルを、メタノールにて超音波洗浄した後、減圧乾燥し、層の厚さが 10mm 以下になるようにガラス製ビーカーに入れて 130℃で約 18 時間乾燥した後、密閉可能な容器に入れ、デシケーター内で保管する。
- ・活性炭シリカゲル：活性炭シリカゲルをアセトンで超音波洗浄し、ろ過した後、トルエンでソックスレー抽出洗浄する。ロータリーエバポレーターで減圧乾燥させ、密閉可能な容器に入れ、デシケーター内で保存する。

## 4. 分析法

### 4-1. 試料調製法（クリーンアップ、濃縮）

- 1) 操作ブランク試験を行い、分析対象物質の汚染の無いことを確認する。
- 2) 溶媒の濃縮に際しては、ロータリーエバポレーター、クデルナダニッシュ(KD)濃縮器及び窒素吹きつけ濃縮操作等での汚染を排除する。

### 4-2. 測定（分析装置の保守管理、校正、洗浄）

- 1) ガスクロマトグラフ/質量分析計(GC/MS)の状態確認及び測定条件の設定 GC/MS を分析対象物質が測定できる条件に設定し、GC/MS の再現性、感度等が適切な状態であることを確認する。
- 2) HPLC 等の分析装置の状態確認及び測定条件の設定分析対象物質が測定できる条件に設定し、HPLC 等分析装置の再現性、感度等が適切な状態であることを確認する。
- 3) GC/MS、LC/MS で測定するときは、同位体希釈質量分析(IDMS)によることが望ましい。



## 5．検出下限値

### 5-1．装置の検出下限値

1) 分析化学的な見地における検出下限値標準物質を測定したときのクロマトグラムピーク高が  $S/N=3$  に相当する標準物質の絶対量を装置(HPLC、GC、GC/MS、LC/MS等)の検出下限値とするが、分析機器で検出できる低濃度標準溶液を 5 回以上繰り返し測定し、その標準偏差の 3 倍を検出下限値としても良い。

### 2) 実測定の検出下限値

実試料を測定し、そのときの分析対象物質のクロマトグラムピーク高を標準物質のピーク高と比較し、試料中のピーク高が  $S/N=3$  に相当する標準物質濃度と、採取試料量等から計算した値を実測定における検出下限値とする。実試料でピークが出現しない化合物に関しては、 $S/N=3$  に相当するピーク高を、標準物質を測定したときのピーク高から推定し、それに等しいピーク高に相当する標準物質濃度と採取試料量等から計算した値を実測定の検出下限値とする。なお、試料の検出下限値は目標定量下限値を満足していなければならない。

## 6．精度管理及び精度保証

概略を図 1 に示した。

測定値の精度保証のため以下のとおり、作業し、記録を取る。記録すべき事項を欠いている場合は、その原因を明らかにするとともに、可能な場合は原因を取り除いた後、再分析等を行う。

- 1) 分析法の標準作業書を作成する。
- 2) 試料採取の記録:試料の採取日時・場所、採取者、採取器具・容器、採取方法、運搬・保存容器、保存方法等を記録する。
- 3) 試験機関における試料の受付・確認の記録:試料確認の日時・場所、確認した者、運搬方法、試料の状態、保管場所、保管方法、管理番号等を記録する。運送業者を利用した場合、その配送伝票の複製を保管する。
- 4) 試薬類の記録:用いた標準品・試薬のメーカー名、製品名、ロット番号、純度、使用期限、購入日、購入先等を記録する。調製した場合その状況(調製日時・場所、調製者、試薬類の使用履歴等)を記録する。
- 5) 機器の記録:使用記録(使用状況、測定条件)、日常点検記録、感度の記録(測定時に必要な感度が得られていることを確認できる記録(クロマトグラム等))、保守点検・修理の状況等を記録する。
- 6) 分析の記録:分析の各段階における操作日時、分析場所及びその環境、分析者、分析した試料、分析に供した試料の量、試料の測定順序、用いた試薬類及び使用量、を記録する。
- 7) 最終溶媒ブランク、全操作ブランク、2重測定(同一試料バイアルからの2回測定、試料採取からの2重測定)等の記録を残す。
- 8) 同位体測定を行う場合、標準物質の同位体比を確認:測定した標準物質中の各化合

物に関して、2つのモニターイオンのレスポンス比が理論値とずれていないことを確認できる記録を残す。理論同位体存在比と実測同位体比の採用範囲は30%以内とする。

9) クロマトグラムの保管：標準溶液、最終溶媒ブランク、全操作ブランク、試料に係るクロマトグラムを保管する。

10) 計算

- ・ 計算工程の記録：標準溶液の濃度、内部標準の添加量、機器測定面積値、試料採取量から最終濃度算出までの計算工程がトレース可能となる記録を残す。
- ・ 回収率の確認・記録：回収率を記録する。回収率は、70~120%の範囲であることが望ましい。

11) ブランク試験

- ・ 採取器具、採取容器、運搬・保存容器等についてブランク試験を行い、その結果を記録する。
- ・ 試薬類のブランク試験を行い、その結果を記録する。このブランク試験は試薬類のロット番号が変わるごとに行う。
- ・ 全操作ブランク：試料に対して行う分析方法と同一の方法で操作を行い、その結果を全操作ブランクとして記録する。

12) 2重測定

分析検体数10に対して1以上の頻度で行うことが望ましい。この2重測定の結果は各実測値の差が30%以内であることが望ましい(実測値が目標定量下限値の10倍以下の化合物に関しては規定しない)。

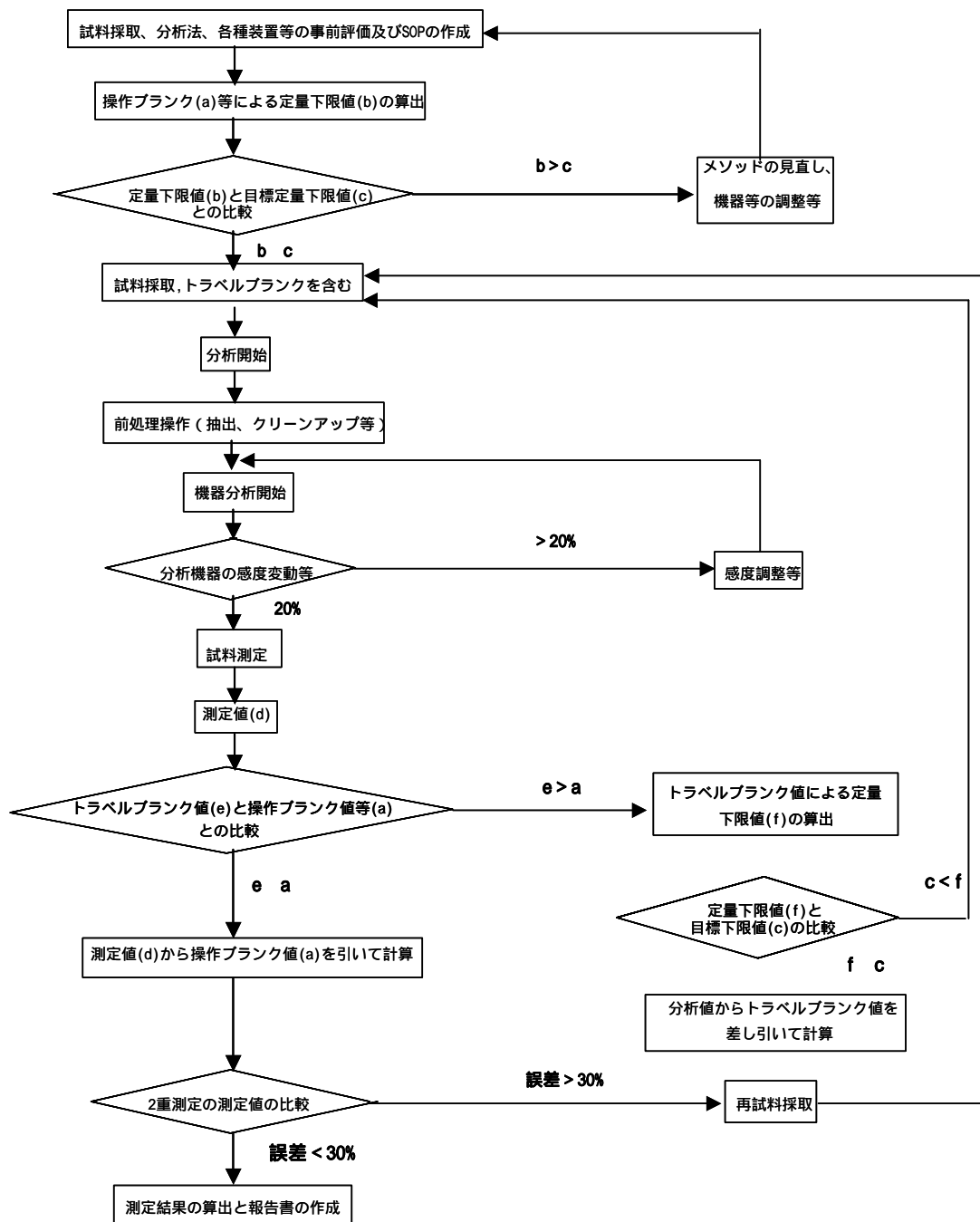
13) 外部機関とのインターキャリブレーションを行うことが望ましい。

## 7. その他

食品衛生法「食品衛生検査施設における検査等の業務管理要綱」参照。

飼料分析基準研究会 編著、飼料分析法・解説-2004-、社団法人 日本科学飼料協会 参照。

☒ 1



## 第 2 部

### 動物飼料中のビスフェノール A の分析法

#### 【試験法の概要】

動物飼料を、アルミナ-A カートリッジ及びポリマーゲル充填カートリッジを用いてクリーンアップし、高速液体クロマトグラフ/質量分析計 (LC/MS) で定性・定量する<sup>注1、注2</sup>。

#### 【試薬】

すべての試薬類は、クロマトグラム上で BPA の分析に支障がないことを確認した後用いる。

- ① 標準品: ビスフェノール A (BPA) 及びビスフェノール A-d<sub>16</sub> (BPA-d<sub>16</sub>) は、環境分析用試薬を用いる。
- ② BPA 標準溶液: BPA 標準品 100mg を 100mL 用メスフラスコに秤量し、メタノールを加えて溶解して 1000 µg/mL の標準原液とする。標準原液を適宜希釈し、標準溶液を調製する。
- ③ 内部標準物質溶液: 内部標準物質として BPA-d<sub>16</sub> を用い、10mg を 50mL 用メスフラスコに秤量し、メタノールを加えて溶解して 200 µg/mL の標準原液とする。内部標準物質を暫定濃度になるように加え、LC/MS 法により標準溶液及び試料溶液を測定する。
- ④ 精製用カートリッジ: アルミナ-A カートリッジ<sup>注3</sup> は、予めアセトン 5mL で洗浄した後使用する。  
ポリマーゲル充填カートリッジ<sup>注4</sup> は、予めメタノール 10mL、水 5mL の順で洗浄した後使用する。
- ⑤ 精製水: BPA の汚染が少ないミリ Q 水を用いる。

その他の試薬はすべて特級品あるいは HPLC 用を用いる<sup>注5</sup>。

#### 【器具】

検体の採取及び調製に用いる器具<sup>注5</sup> は、事前に材質試験あるいは溶出試験を行い、可能な限り BPA が検出されないものを用いる。また、ガラス器具類は、350°C で 2 時間以上加熱し、環境中の BPA の汚染を受けないところで放冷し、使用直前にアセトンで洗浄したものを使用する。

#### 【装置及び測定条件】

測定には、高速液体クロマトグラフ/質量分析計を用い、下記に示す条件 (代表例) で測定する。

測定条件

分析用カラム: C18 系カラム<sup>注6</sup> (内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒径 5 µm)

カラム温度：40 °C

移動相：0.003%アンモニア水-アセトニトリル(58:42) 注7

流速：0.18 mL/min

注入量：10 μL

イオン化法：エレクトロスプレーイオン化(ESI)法 ネガティブモード

フラグメンター電圧：90V

モニターイオン： $m/z=227$  (BPA)、  $m/z=241$  (BPA-d<sub>16</sub>)

### 【検量線】

内部標準法により検量線を作成し、定量する。BPA と BPA-d<sub>16</sub> の面積値の比から検量線を用いて定量値を求める。

安定同位体標識内部標準物質 BPA-d<sub>16</sub> を 10 ng 含んだ BPA の 0.5~100ng/mL の溶液を調製し、その 10 μL を LC-MS に注入する。検出には選択イオン検出(selected ion monitoring、SIM)法を採用し、それぞれモニターイオン  $m/z=227$ 、 $m/z=241$  により得られた SIM クロマトグラムよりピーク面積を求め、BPA と BPA-d<sub>16</sub> の面積比により検量線を作成する。

### 【試験溶液の調製】

飼料 1 g を採り、内部標準物質である BPA-d<sub>16</sub> を 10 ng 加えた後アセトニトリル 25mL で 2 分間ホモジナイズ抽出する。抽出液を 3000rpm で 5 分間遠心分離後、上清を分取し、減圧乾固する。残留物をアセトン 5mL に溶解し、アルミナ-A カートリッジ注3、注8 に負荷する。カートリッジをアセトン 5mL で洗浄後、水 5mL で溶出する。溶出液をポリマーゲル充填カートリッジ注4 に負荷し、水 3 mL、20%メタノール 3mL で洗浄後、メタノール 3mL で溶出する。溶出液を減圧乾固し、40%メタノール 1mL に溶解して LC/MS 用試験溶液とする。

### 【検出下限・定量下限】

全操作を通したブランク値の標準偏差 (SD) の 3 倍を検出下限値 (LOD)、10 倍を定量下限値 (LOQ) とする。

### 【注解】

ビスフェノール A (BPA) は、1891 年に合成された化学物質で、ポリカーボネート樹脂、エポキシ樹脂の原料やポリ塩化ビニルの安定剤として多用されている。その国内生産量は平成 13 年度で約 49 万トンである。BPA は 2 分子のフェノールとアセトン 1 分子の縮合反応物で、その性状は白色の粉末状で、アセトン、メタノールには溶解易いが、水には溶解難い性質を有している。

BPA は、その汎用性から様々な生産工程からの微量汚染が懸念されている。一方で、微量の BPA を投与する動物実験が実施され、その結果のみが議論されている。しかし、BPA に対する *in vivo* 系試験の信頼性確保には、実際に動物実験に使用されている飼料、ゲージ、給水瓶、床敷、及び実験環境下の大気等からの実験動物への暴露量を把握する必要がある。

したがって、動物飼料中に含まれる BPA の高感度・高精度な分析法の構築が必要とされている。しかし、飼料の主な原材料として、大豆が使用されていることから、飼料中に含まれる大豆イソフラボン分析に関する報告は幾つかなされているが、飼料中に含まれる BPA 分析に関する報告はほとんど見あたらない。

注1 LC/MS 法は誘導体化操作を必要とせず、簡便である。なお、試料の相違により時折夾雑成分の影響を受ける場合がある。

注2 本法は、床敷試料にも適用可能である。

注3 Waters 社製、Sep-Pak アルミナ-A カートリッジ(1.7 g)等がある。

注4 Waters 社製、Oasis HLB カートリッジ(60 mg)等がある。

注5 BPA は、プラスチック製実験器具、精製水、駒込ピペットのゴムキャップなどにも含まれており、高感度分析を達成するためには次の点等に留意し、操作ブランク値の低減化を図る必要がある。

- ・精製水には、BPA の汚染が少ないミリ Q 水等を用いる。
- ・ガラス器具は使用前にアセトンで洗浄して使用する。
- ・カートリッジは、必ず一定量の溶媒等でコンディショニングを行う。
- ・試薬類の微量採取時には、プラスチック製チップは使用せず、ガラス製マイクロシリンジ等を使用する。
- ・エバポレーター内をアセトンで留去するなどして十分洗浄して使用する。

注6 Agilent Technologies 製の Zorbax XDB 等がある。

注7 移動相：0.01%酢酸－アセトニトリル(55:45)の利用も可能であるが、試料が飼料の場合妨害を受け易い面がある。

注8 飼料は魚粉、大豆等を主原料としており、かなりの脂質成分を含んでいる。このことから、血清や尿を分析試料とした試験溶液調製法は適用困難である。フロリジル及びシリカゲルでは、脂質成分を完全に除去できないが、塩基性、中性及び酸性のいずれかの活性アルミナを用いることにより脂質成分を除去することが可能である。しかし、塩基性及び中性の活性アルミナでは、BPA の回収率が 30-40%である（酸性アルミナでは 60-80%）ことから、脂質の除去には酸性の活性アルミナが適している。

#### 《BPA 分析法の動向》

ポリカーボネート食器等中に含まれる BPA の材質試験や、ポリカーボネート食器等から溶出する BPA の測定には、UV 検出器や蛍光検出器を用いた HPLC 法が汎用されてきた。しかし、血液や尿等の生体試料等に含まれる BPA 濃度は極めて微量であり、高感度、高選択性且つ信頼性の高い分析法が必要とされている。生体試料中の BPA 測定について、最近の報告例をみると GC/MS 法や LC/MS(MS)が汎用されている。GC に用いられているキャピラリーカラムは高い分離能を有しており、Negative CI を用いた GC/MS 法は感度、選択性にも優れており、生体試料中の BPA 測定法として幾つか報告されている。しかし、BPA はフェノール性水酸基を有しており、GC 法ではカラムへの吸着やテーリングが見られることから、誘導体化操作が必要となる。一方、LC/MS 法は誘導体化の必要性はなく、感度、選択性共に優れていることから、生体試料中の BPA 分析法として最も汎用

されている方法となっている。

## 飼料中のビスフェノールA分析法



## 動物飼料中のフタル酸エステル類の分析法

### 【試験法の概要】

実験動物用飼料からアセトニトリルによりフタル酸エステル類(PAE)<sup>注1、注2</sup>を抽出し、抽出液をフロリジル・PSA カラムクロマトグラフィーによって精製し、ガスクロマトグラフ/質量分析計(GC/MS)で定性、定量を行う。

分析の対象となる PAE は、フタル酸ジブチル(DBP)、フタル酸ブチルベンジル(BBP)、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル(DEHP)、フタル酸ジイソオクチル(DiOP)、フタル酸ジイソノニル(DiNP)である。

なお、本法は飼料に適用できる<sup>注3</sup>。

### 【試薬】

すべての試薬類は、クロマトグラム上で PAE の分析に支障のないことを確認した後用いる。

- ① 有機溶媒：n-ヘキサン、アセトニトリル、アセトンはフタル酸エステル試験用を用い、使用直前に開封する<sup>注4</sup>。
- ② 無水硫酸ナトリウム：残留農薬試験用を 200℃で 2 時間加熱し、放冷後使用する。
- ③ 塩化ナトリウム：フタル酸エステル試験用を 200℃で 2 時間加熱し、放冷後使用する。
- ④ 精製水：フタル酸エステル試験用の n-ヘキサンで洗浄した蒸留水を用いる<sup>注5</sup>。
- ⑤ フロリジル：フロリジル PR を 200℃で 2 時間加熱し、放冷後使用する。
- ⑥ PSA：ボンデシル PSA を用いる。
- ⑦ PAE 標準溶液：各標準品 20 mg を 20 mL のメスフラスコに量り取り、n-ヘキサンにて 20 mL とし、1000  $\mu$ g/mL 溶液を調製する。適宜希釈し、PAE 標準溶液とする。
- ⑧ 内部標準溶液：各フタル酸エステル-d<sub>4</sub> 標準品 20 mg を 20 mL のメスフラスコに量り取り、n-ヘキサンにて 20 mL とし、1000  $\mu$ g/mL 溶液を調製する。適宜希釈し、内部標準溶液とする。

### 【装置】

- ① ガスクロマトグラフ/質量分析計(GC/MS)：電子イオン化(EI)イオン源及びキャピラリーカラム(スプリットレス)を装着し、選択イオン検出法(SIM)による分析が可能な装置を用いる。
- ② フロリジル・PSA カラム：ガラス製クロマトカラム(内径 15 mm、長さ 110 mm)に、フロリジル 1 g、その上に PSA 1 g、無水硫酸ナトリウム 2 g を充填する。使用前にアセトン 10 mL 及び n-ヘキサン 10 mL を用いて洗浄する。

### 【試験溶液の調製】<sup>注6</sup>

飼料 5 g を共栓遠沈管(50 mL、ガラス製)に採り、精製水 5 mL、アセトニトリル 20 mL 及び内部標準溶液(4  $\mu$ g/mL) 125  $\mu$ L を添加後、1 分間ホモジナイズする。3000 rpm で 5 分間遠心分離後、上清を分取する。残渣に精製水 5 mL、アセトニトリル 15 mL を添加



し、同様に操作する。上清を合わせ、塩化ナトリウム 1.5 g を添加後 5 分間振とうする。アセトニトリル層を分取し、アセトニトリル飽和 n-ヘキサン 4 mL を添加後、5 分間振とうする。アセトニトリル層を分取し、減圧留去する。残渣を精製水 2 mL に溶解し、n-ヘキサン 5 mL を加えた後共栓試験管（10 mL、ガラス製）に移す。30 秒間振とう後、3000 rpm で 5 分間遠心分離し、n-ヘキサン層を分取する。水層に n-ヘキサン 5 mL を加え、同様に操作する。n-ヘキサン層をフロリジル・PSA カラムに負荷し、n-ヘキサン 3 mL でカラムを洗浄後、5%アセトン-n-ヘキサン 10 mL で PAE を溶出する。溶出液を減圧濃縮後、n-ヘキサンで 1 mL に定容し、試験溶液とする。

【試験操作】定量分析<sup>注7</sup>

① GC/MS 測定条件：一例を以下に示す。

カラム：ヒューズドシリカ・キャピラリーカラム（内径 0.25 mm、長さ 30 m、膜厚 0.25 μm）、液層は 5%フェニルメチルシリコンを使用する<sup>注8</sup>。

カラム温度：80℃（3分）→10℃/分→300℃（5分）

キャリアーガス：ヘリウム、全流量 50 mL/分、カラム流量 1.5 mL/分

注入口温度：240℃

注入方式：スプリットレス

インターフェース温度：300℃

検出法：SIM

モニターイオン：表 1 に示した。

表 1 モニターイオン

物質名	略称	定量イオン	参照イオン
フタル酸ジ-n-ブチル	DBP	149	205、223
フタル酸ブチルベンジル	BBP	149	91、206
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル	DEHP	149	167、279
フタル酸ジイソオクチル	DiOP	149	279
フタル酸ジイソノニル	DiNP	149	293
フタル酸ジ-n-ブチル-d <sub>4</sub>	DBP-d <sub>4</sub>	153	227、209
フタル酸ブチルベンジル-d <sub>4</sub>	BBP-d <sub>4</sub>	153	91、210
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル-d <sub>4</sub>	DEHP-d <sub>4</sub>	153	171、283
フタル酸ジオクチル-d <sub>4</sub>	DOP-d <sub>4</sub>	153	283
フタル酸ジノニル-d <sub>4</sub>	DNP-d <sub>4</sub>	153	297

② 定量：試験溶液の一定量を GC/MS に注入し、各 PAE のピーク面積を内部標準物質のピーク面積で除した値を、検量線と比較して定量する。DiOP は主要な 2 本のピークを、DiNP は主要な 5 本のピーク面積をそれぞれ合計して定量対象とする。

③ 検量線の作成：内部標準物質を含んだ PAE 標準溶液を GC/MS に注入し、各 PAE のピーク面積を内部標準物質のピーク面積で除した値を用いて検量線を作成する。DiOP は主要な 2 本のピークを、DiNP は主要な 5 本のピーク面積をそれぞれ合計してピーク面積とする。

### 【検出下限・定量下限】

検出下限は、後述のごとく操作ブランク中の DBP 及び DEHP 濃度を低減化できるので、DBP、BBP、DEHP は 3 ng/g に、DiOP、DiNP は 20 ng/g に設定する。また、定量下限は、DBP、BBP、DEHP は 10 ng/g に、DiOP、DiNP は 50 ng/g に設定する。

### 【注解】

注1 PAE は、ポリ塩化ビニル製樹脂（PVC）等に使用されている可塑剤の一つである。

PVC は家庭用品や建築材として広く使用され、これらからの揮散あるいは溶出により環境汚染が問題になっている化合物である。したがって、環境から混入するブランク値が問題となるため、分析を実施する上では特に操作ブランク値の低減化に注意を払う必要がある。

操作ブランクの低減化に関して、以下の項目が有効であることが判明している。これらの項目に注意を払わない場合には、操作ブランクの SIM プロファイル上に 100 ng/mL レベルの DBP 及び DEHP が出現するのに対して、これらのことを実施すると、操作ブランク値が、それぞれ 10 ng/mL 以下に低減されるので、本試験法を実施する際にはこれらの点に留意して実験を行うこと。

- a) 使用する水は、フタル酸エステル試験用の n-ヘキサンで洗浄した蒸留水を使用する。
- b) ホールピペット及びメスフラスコ以外のすべての実験器具（エバポレーターのトラップも含む）は、200°C、2 時間加熱し、放冷した後に、使用する直前にフタル酸エステル試験用の n-ヘキサンで洗浄する。なお、n-ヘキサン洗浄は手が器具に直接触れないように、ピンセットを用いて実施する。
- c) 実験操作開始直前には必ず両手を石けんでよく洗い、その後は、極力実験器具以外には触れないようにする。特に、ドアノブに触れた場合には必ず両手を洗浄する。
- d) 使用する実験台は、アルミホイルで覆い、毎日交換する。
- e) エバポレーターは、使用する直前にフタル酸エステル試験用アセトンを濃縮乾固する。
- f) 標準品を扱う際は、作業する実験台とは異なる実験台で行う。
- g) ピペットの先端が実験室内の器具装置等に触れないようにする。
- h) ホールピペットは必ず基本操作どおり扱い、決して口で吹いたりして溶液を排出しない。
- i) 腕時計は外しておく。
- j) 髪の毛は小さくまとめる。
- k) 爪は短く切る。

注2 本法ではサロゲートによる内部標準法を採用し、回収率を補正している。飼料に DBP、BBP、DEHP の濃度がそれぞれ 100 ng/g に、DiOP、DiNP の濃度が 500 ng/g になるように添加したときの平均回収率は、98.8・148%、相対標準偏差は 0.4・7.8% である。

注3 本法は、床敷の分析にも応用可能である。ただし、抽出はアセトンを用い、減圧留去して得られる残渣を n-ヘキサン抽出後、フロシジル-PSA カラムで精製を行う。

注4 開封後長期間経たものは、環境中から PAE が混入している可能性が高いので使用

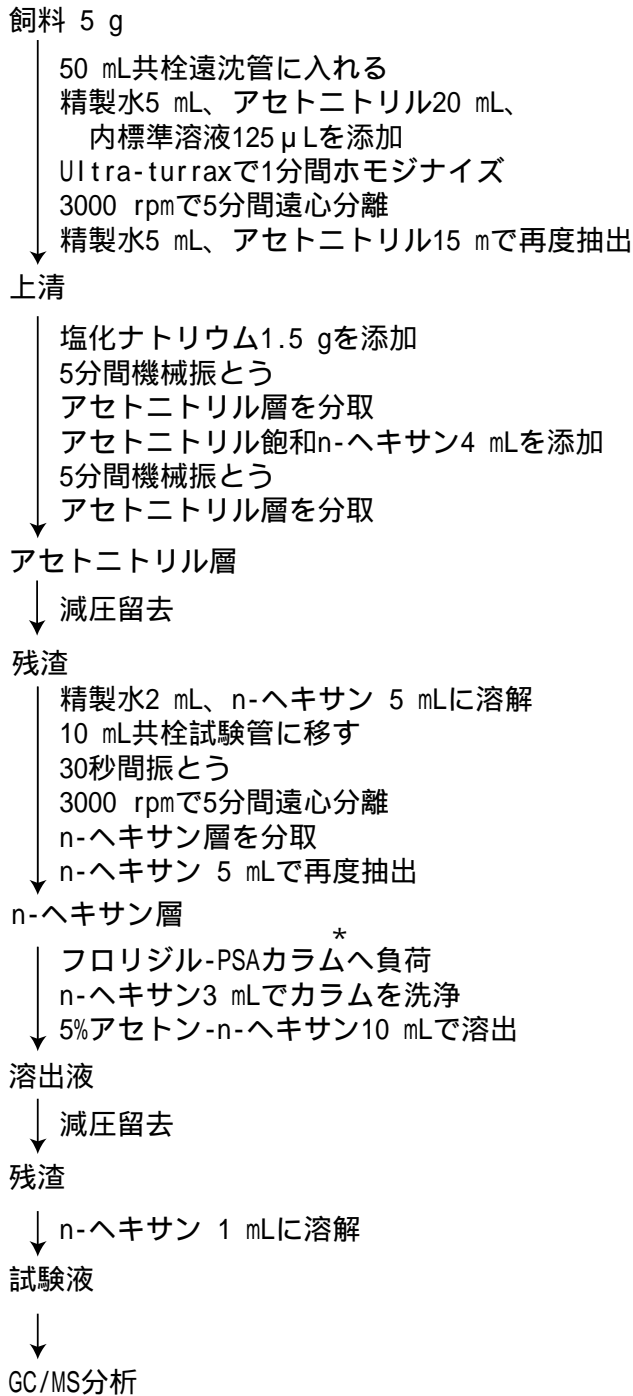
しない。

注5 使用する精製水に妨害ピークが認められた場合には、n-ヘキサンによる洗浄を繰り返し実施するとよい。

注6 PAE の分析では、試薬、器具等に起因する汚染に十分注意する必要があるため、ブランク試験を必ず実施して分析操作中に混入する PAE 量を把握する必要がある。

注7 標準品及び試料を分析する前に n-ヘキサンのみを数回注入し、GC/MS の状態をチェックすると良い。

注8 Agilent technologies 社製の HP-5MS、HP-5MS SV、J&W Scientific 社製の DB-5MS 等がある。



\*  
フロリジル-PSAカラムの調製法  
ガラスカラム管の底にガラスフィルターを敷く  
フロリジル 1 g、PSA 1 g、硫酸ナトリウム 2 g  
の順に積層する  
アセトン 10 mL、n-ヘキサン 10 mLで洗浄する

図 飼料中のフタル酸エステル類の分析法フローシート

## 動物飼料中の 4-ノニルフェノールの分析法

### 【試験法の概要】

動物飼料を精油定量装置を用い、前処理を行った後、液体クロマトグラフ/質量分析計(LC/MS(/MS))<sup>注1</sup>で定性・定量を行う。

なお、本試験法は床敷及び給水にも適用できる。

### 【試薬】

すべての試薬類は、クロマトグラム上で NP の分析に支障のないことを確認した後用いる。

- ① 標準品(NP)：4-Nonylphenol 環境分析用（混合<sup>注2</sup> 95.0%以上）を用いる。
- ② 標準溶液の調製：NP 標準品 100 mg を 100 mL のメスフラスコに量りとり、ヘキサンを加えて 100 mL として標準原液を調製する。適宜、メタノールで希釈して標準溶液を作製する。
- ③ 有機溶媒：残留農薬試験用、フタル酸エステル分析用、LC-MS 用を用いる。
- ④ 精製水：ミリ Q 水又は市販の蒸留水を使用する。
- ⑤ 内部標準物質（m-OP-d<sub>5</sub>）<sup>注3</sup>：4-(1-methyl) octylphenol-d<sub>5</sub> を重水素化体の内部標準物質として用いる。回収率や再現性等測定に支障のない場合は、絶対検量線法による測定も可能である。

### 【器具】

検体の調製に用いる器具は、事前に材質試験を行い、NP 不検出のものを用いる。

器具の洗浄は常に一定の条件で行う。特にガラス器具は洗浄後、200℃で 2 時間以上加熱し、環境中の NP の汚染を受けないところで放冷する。使用直後にアセトンで洗浄して使用する。

精油定量装置は、あらかじめ水 100mL とヘキサン 3mL を精油定量装置に入れ、約 30 分間、数回の蒸留を行う<sup>注4</sup>。毎回、蒸留後ヘキサン層は捨てる。

### 【装置】

液体クロマトグラフ/質量分析計(LC/MS)：LC/MS 装置にエレクトロスプレーイオン源による選択イオン検出(SIM)による分析が可能な装置を用いる。液体クロマトグラフ/タンデム質量分析計(LC/MS/MS)による場合はマルチプル リアクション モニタリング(MRM)による分析法とする。

### 【試験溶液の調製】

精油定量装置に水 100mL と試料 2g<sup>注5</sup>を入れ、ヘキサン 3mL、内部標準物質 m-OP-d<sub>5</sub> 50ng を入れて 1 時間、環流蒸留を行う。得られたヘキサン層<sup>注6</sup>を遠心エバポレーター<sup>注7</sup>で濃縮乾固し、メタノール 1mL を入れ、超音波で溶解した後、試験溶液とした。

## 【試験操作】

### LC/MS の場合

① LC/MS 測定条件：一例を以下に示す。

分析用カラム：C18 逆相系カラム(内径 2.0 mm、長さ 100mm、粒径 5  $\mu$ m)<sup>注8</sup>

カラム温度：40℃

分析用移動相：水：アセトニトリル(0.02 %酢酸アンモニウム<sup>注9</sup>でグラジエント溶出する。30：70 (8min)→5：95 (10 min)→5：95 (20 min)

分析用移動相の流速：0.2 mL/min

注入量：30  $\mu$ L

イオン化法：エレクトロスプレーイオン化(ESI)法 ネガティブモード

MS モニターイオン： $m/z=219$  (NP)、 $m/z=224$  (m-OP-d<sub>5</sub>)

② 定性・定量

LC/MSにおいてSIM( $m/z=219$ )測定において検出される1本のピークがベースライン分離を達成していることを確認後、そのピーク面積を用いて、定量を行う。内部標準法により定量を実施する。検量線は、1~100 ppb の濃度範囲において作成する。高濃度試料の場合は、必要に応じ検量線の濃度範囲を広げる。

### LC/MS/MS の場合

① LC/MS/MS 測定条件：一例を以下に示す。

分析用カラム：C18 逆相系カラム(内径 2.1mm、長さ 150mm、粒径 5  $\mu$ m)<sup>注8</sup>

カラム温度：40℃

分析用移動相：水：メタノール(0.5mM 酢酸アンモニウム<sup>注9</sup>)

分析用移動相の流速：0.2 mL/min

注入量：20  $\mu$ L

イオン化法：エレクトロスプレーイオン化(ESI)法 ネガティブモード

モニターイオン：NP プレカーサーイオン  $m/z=219$  プロダクトイオン  $m/z=133$   
m-OP-d<sub>5</sub> プレカーサーイオン  $m/z=224$  プロダクトイオン  $m/z=123$

イオンスプレー電圧：-4500V

イオンソース温度：550℃

② 定性・定量

LC/MS/MSにおいてMRM( $m/z=219 \rightarrow 133$ )測定において検出される1本のピークがベースライン分離を達成していることを確認後、そのピーク面積を用いて、定量を行う。内部標準法により定量を実施する。検量線は、1~100 ppb の濃度範囲において作成する。高濃度試料の場合は、必要に応じ検量線の濃度範囲を広げる。

## 【検出下限値及び定量下限値】

検量線に用いた最も低濃度の標準溶液を5回以上測定し、その標準偏差(SD)の3倍を検出下限値 (LOD)、10倍を定量下限値(LOQ)とする。ただし、操作ブランクのある場合には操作ブランク値の測定を行い、標準溶液と操作ブランク値のうち、大きい方の標準偏差を用いて算出する<sup>注10</sup>。

### 【注解】

注1 LC/MS/MS法はLC/MS法で妨害のある場合、MRMモードで測定を行う。

注2 NPは側鎖であるノニル基が直鎖のものと分岐したものに大別できる。市販されている標準品は、ノニル基が種々に分岐した混合型と直鎖型単一成分からなるものがある。一般に環境試料や生物試料からは、混合型標準品に類似したピークパターンが観察される。したがって、混合型標準品を用いた評価が妥当である。しかし、市販されている混合型標準品の成分組成(ピークパターン)はメーカーや同一メーカーでもロットにより異なる場合があるので注意を要する。

注3 質量分析計で利用されるNPの補正物質としては、直鎖型4-n-NP(重水素・<sup>13</sup>C安定同位体)が主であるが、直鎖型と分岐型では物理化学的性質が異なり、十分に内部標準補正できない場合がある。そこで、m-OP-d<sub>5</sub>を内部標準物質として利用し、NPの回収率を良好に補正することが可能である。

注4 操作ブランク値が一定になるまで洗浄(おおよそ3~4回程度)を繰り返す。

注5 飼料及び床敷は2gであるが、給水の場合は試料水100mLとヘキサン3mLのみを用いて同様な操作を行う。

注6 若干、混入する水とヘキサンの分離はパスツールピペットを用いてヘキサンを分取するか、冷凍(-20℃)により水を除去する。しかし、その後無水硫酸ナトリウムによる脱水の必要はない。

注7 エバポレーターを使用する場合はあらかじめ、アセトン等の溶媒を減圧留去し、ガラス器具内を洗浄する。

注8 関東化学社製 Mightysil RP18 GP、ジーエルサイエンス社製 ODS-3 などがある。

注9 酢酸アンモニウム濃度0~2 mMの範囲において最大レスポンスを与える濃度を使用する。

注10 検出下限値及び定量下限値の算出方法は、「ダイオキシン類に係わる水質調査マニュアル」環境庁水質保全局水質規制課(平成10年7月)に従った。

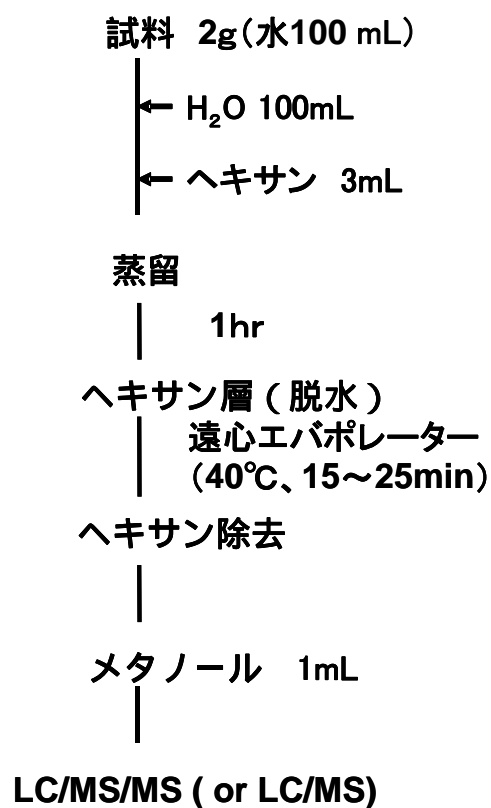


図 飼料・床敷き及び給水中の4-ノニルフェノール分析法フローシート

【参考文献】

1. K. Inoue, Y. Yoshimura, T. Makino, H. Nakazawa : Determination of 4-nonylphenol and 4-octylphenol in human blood samples by high-performance liquid chromatography with multi-electrode electrochemical coulometric-array detection. *Analyst* 125, 1959-1961 (2000)
2. K. Inoue, M. Kawaguchi, F. Okada, N. Takai, Y. Yoshimura, M. Horie, S. Izumi, T. Makino, H. Nakazawa : Measurement of 4-nonylphenol and 4-octylphenol in human urine by column-switching liquid chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 486, 41-50 (2003)



## 動物飼料中の植物エストロゲンの分析法(暫定)

### 【試験法の概要】

動物飼料から、80% メタノールを用いて抽出し、高速液体クロマトグラフ/質量分析計(LC/MS)で定性・定量する。

### 【試薬】

すべての試薬類は、クロマトグラム上で植物エストロゲンの分析に支障がないことを確認した後用いる。

- ① 標準品: Daidzein, Genistein, Glycitein 及びイソフラボン配糖体、Malonyl 体、Acetyl 体、計 12 成分を用いる。
- ② 標準溶液: 標準溶液は、各標準品 10mg を精秤し、メタノール 100mL に溶解して標準原液を調製し、適宜 80%メタノールに溶解して標準溶液とする。

その他の試薬はすべて特級品あるいは HPLC 用を用いる。

### 【装置及び測定条件】

測定には、高速液体クロマトグラフ/質量分析計を用い、下記に示す条件(代表例)で測定する。

#### 測定条件

分析用カラム: C18系カラム<sup>註1</sup>(内径 2.1 mm、長さ 150 mm、粒径 5 μm)

カラム温度: 40 °C

移動相: 0.003%酢酸-アセトニトリル系 (gradient)

流速: 0.2 mL/min

注入量: 5 μL

イオン化法: エレクトロスプレーイオン化(ESI)法 ネガティブモード

フラグメンター電圧: 120V

モニターイオン:  $m/z=253, 415, 457, 269, 431, 473, 283, 445, 487$

#### ○ gradient 条件

A= 10% アセトニトリル (0.003%酢酸含有)

B= 50% アセトニトリル (0.003%酢酸含有)

0 min A/B=100:0 → 20min A/B=25:75

### 【検量線】

各イソフラボン標準の濃度が 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1 及び 2 μg/mL となる標準溶液を調製し、その 5 μL を LC/MS に注入した。検出には SIM 法を採用し、得られた SIM クロマトグラムよりピーク面積を求め、絶対検量線法により検量線を作成する。

### 【試験溶液の調製】

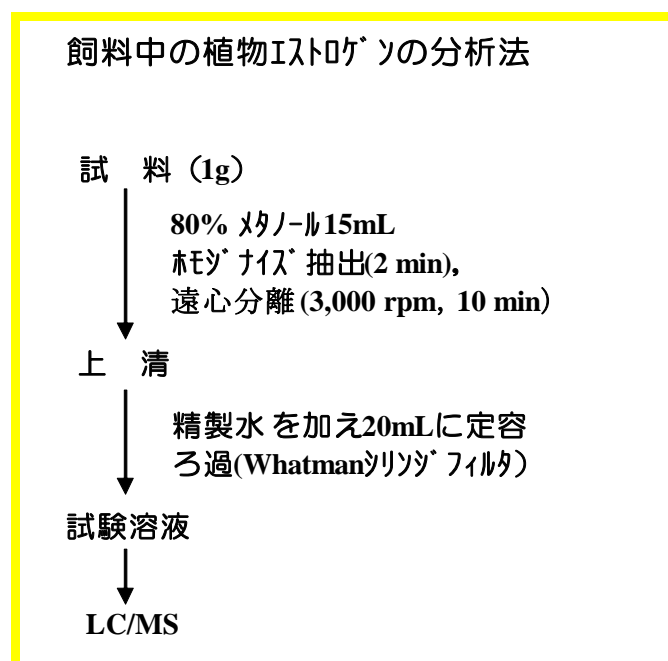
飼料 1 g を採り、80%メタノール 15mL を加えて 2 分間ホモジナイズ抽出する。抽出液を 3000rpm で遠心分離後、上清を分取する。精製水を加えて 20mL に定容した後、必要に応じて Whatman シリンジフィルター(0.45  $\mu$ m)でろ過し、試験溶液とする。

### 【検出下限・定量下限】

実試料を測定し、そのときの分析対象物質のクロマトグラムピーク高を標準物質のピーク高と比較し、試料中のピーク高が S/N=3 に相当する標準物質濃度と、採取試料量等から計算した値を実測定における検出下限値とする。

### 【注解】

注 1 Agilent Technologies 製の Zonbax XDB 等がある。



## 動物飼料中の 17 $\beta$ -エストラジオールの分析法(暫定)

### 【試験法の概要】

動物飼料に含まれる 17 $\beta$ -エストラジオール (エストラジオール; E<sub>2</sub>) をメタノールで抽出し、グラファイトカーボン/アミノプロピルシリカゲル固層抽出カラムによるクリーンアップを行った後、LC/MS/MS で定性・定量する。

### 【試薬】

すべての試薬類は、クロマトグラム上で E<sub>2</sub> の分析に支障のないことを確認した後に用いる。

- ① 標準品：E<sub>2</sub> 標準品 (97.0%以上) を用いる。
- ② 標準溶液の調製：E<sub>2</sub> 標準品 20 mg を 20 mL のメスフラスコに量りとり、メタノールを加えて 20 mL として 1000  $\mu$ g/mL 標準原液を調製する。適宜、メタノールで希釈して標準溶液を作製する。
- ③ 有機溶媒：残留農薬試験用、環境分析用、LC-MS 用を用いる。
- ④ グラファイトカーボン/アミノプロピルシリカゲル固層抽出カラム<sup>注1</sup> は、予め 20 mL のジクロロメタン/メタノール (50 : 50) 及び 20 mL のメタノールの順で洗浄したものを使用する。
- ⑤ 内部標準物質：17 $\beta$ -エストラジオール (16, 16, 17-d<sub>3</sub>) 標準品 (E<sub>2</sub>-d<sub>3</sub>) を内部標準物質として用いる。E<sub>2</sub>-d<sub>3</sub> 20 mg を 20 mL のメスフラスコに量りとり、メタノールを加えて 20 mL として 1000  $\mu$ g/mL 内部標準原液を調製する。適宜、メタノールで希釈して内部標準溶液を作製する。

### 【器具】

検体の調製に用いる器具は、E<sub>2</sub> の分析に支障のないことを確認する。通常、実験環境からの混入は、起こらないことから、十分に水洗したガラス器具を分析直前にアセトンで洗浄したものを使用すればよい。

### 【装置及び測定条件】

液体クロマトグラフ/タンデム質量分析計 (LC/MS/MS) によるマルチプル リアクション モニタリング (MRM) による分析を行う。測定条件の一例を以下に示す。

分析用カラム：C18 逆相系カラム<sup>注2</sup> (内径, 2.0 mm; 長さ, 50 mm; 粒径, 3  $\mu$ m)

カラム温度：50 $^{\circ}$ C

分析用移動相：(A) 0.02%アンモニア水; (B) アセトニトリル

グラジエント条件：(B), 20  $\rightarrow$  60% (10 min), リニア

分析用移動相の流速：0.2 mL/min

注入量：5  $\mu$ L

イオン化法：エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法; ネガティブモード  
モニターイオン (プレカーサーイオン/プロダクトイオン) :

$E_2$ , ( $m/z=271/m/z=145$ ) ;  $E_2-d_3$ , ( $m/z=274/m/z=145$ )

#### 【試験溶液の調製】

粉碎した飼料 10 g に  $E_2-d_3$  を 100 ng 添加する。メタノールを 50 mL 加えて室温で 1 時間静置した後、ホモジナイズ（2 分間）を行う。超音波照射（10 分間）後、遠心分離し、上清を回収する。残渣にメタノール 10 mL を加えて洗浄し、遠心分離後、上清を回収し、先の上清と併せて 50 mL に定容する。この抽出液 2.0 mL をグラフアイトカーボン/アミノプロピルシリカゲル固層抽出カラムに負荷する。メタノール 20 mL で洗浄後、ジクロロメタン/メタノール（50：50）10 mL で溶出させる。窒素気流下で乾固させ、LC の溶出開始液 0.20 mL に溶解して試験溶液とする。

#### 【検量線】

内部標準法により定量する。すなわち、 $E_2-d_3$  に対する  $E_2$  の面積比から検量線を作成し、定量値を求める。

#### 【検出下限値及び定量下限値】

操作ブランク値の標準偏差の 3 倍を検出下限値（LOD）とし、10 倍を定量下限値（LOQ）とする。

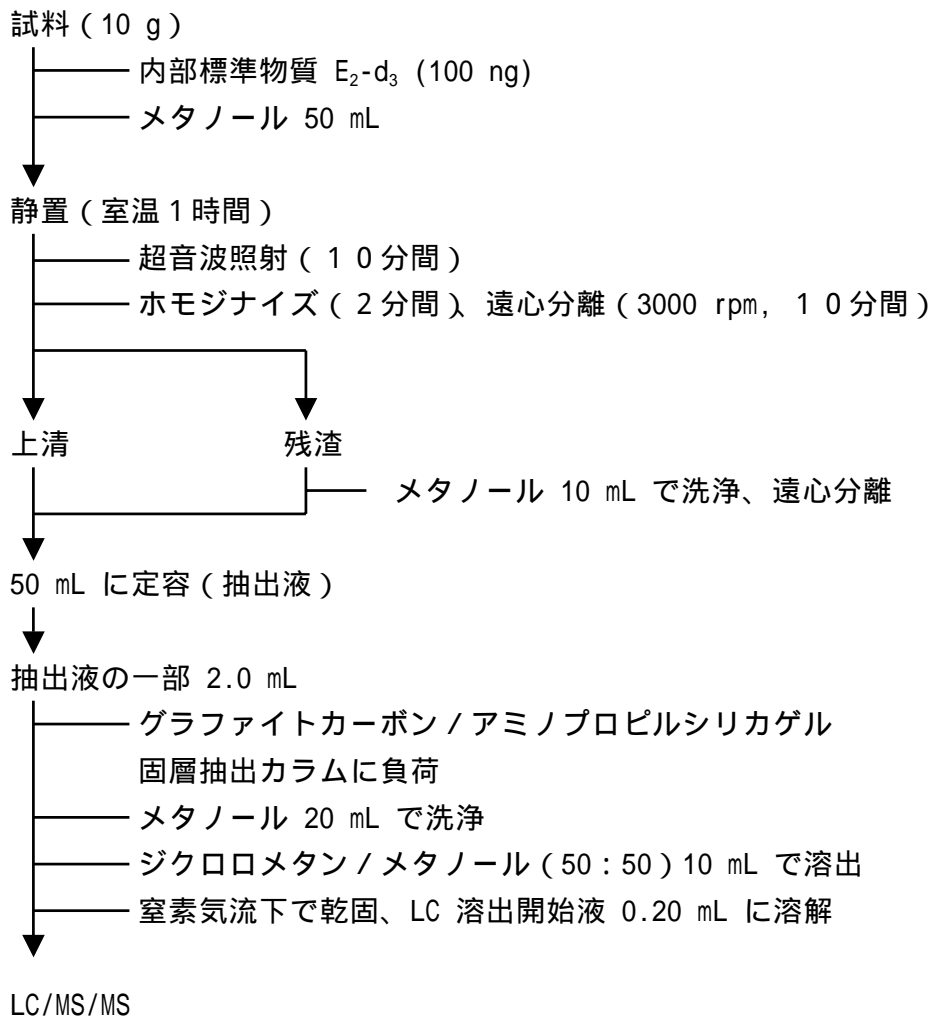
#### 【注解】

動物飼料の原料として魚粉が使用されることがあるため、飼料中の  $E_2$  の分析方法を構築したものである。

注1：スペルコ製、スペルクリン ENVI-Carb/LC-NH<sub>2</sub> (500mg/500mg) 等がある。

注2：インタクト製、カデンツァ CD-C18, 2.0 x 50 mm, 3 μm 等がある。

## 飼料中のエストラジオール分析法



## 5 分析値の信頼性確保について

Dr. W.Horwitz<sup>注1</sup>が指摘するように、試料中における測定対象化学物質の濃度が低いほど測定機関間での分析値のバラツキは大きくなる。この点、生体試料あるいは動物飼育飼料中のBPA、フタル酸エステル類、ノニルフェノールの存在量がppbレベルであることから、測定値の信頼性を確保する上でも克服すべき最重要課題である。

また、これらの化学物質は、測定環境から容易に汚染（コンタミネーション）をおこし、その結果は、分析値に大きく影響するので、コンタミネーションを極力排除する必要がある。

本節に示した分析ガイドラインは、以上のことに十分留意して作成したものである。

### （1）分析法の信頼性の確認

分析法の信頼性を確認するためには、中間報告書でも述べられているとおり、複数の試験機関で同一試料を分析した結果を評価することが不可欠である。

しかしながら、今回作成した分析ガイドラインについては、これまでのところ、微量な血液などの生体試料等における、また、先に述べたように容易にコンタミネーションをおこす化学物質の超微量測定を行うという要件のため、参加試験機関を募ることができなかったことから、分析ガイドラインを作成した機関間で一部の試料についてクロスチェックを行った。この点、今後、参加可能な複数の試験機関を得て、クロスチェックを行う必要性が残されている。

### （2）精度管理保証のための措置について

実試料の測定に際しては、実試料を分析する試験機関と参照試験機関（複数機関であれば、なお望ましい）で、事前に、同一サンプルについて分析ガイドラインに従った分析を行い、分析値を検証するクロスチェックを実施して、当該実試料を分析する試験機関が十分な感度と精度を有することを確認することが望ましい。

注1： *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 63, 1344(1980)

## 6 動物の飼育・実験環境からの化学物質暴露について

### (1) 飼育・実験環境の化学物質

#### ア 飼料・床敷等中のビスフェノール A

飼料中(n=40)に含まれる BPA は、検出限界未満(ND)~2.9ppb で、ほとんどの飼料が検出下限値レベル(1ng/g)であった。最も高濃度で検出された BPA 濃度(2.9ng/g)より、マウス及びラットが飼料から摂取する BPA を試算すると、マウスでは 17.4 ng/日(一日の飼料摂取量を 6 g とした時)、ラットでは 72.5 ng/日(一日の飼料摂取量を 25 g とした時)程度となる。

また、床敷中(n=14)からは最高で 704ppb 検出されたものも見られたが、給水中(n=3)からは BPA は検出(0.02ng/mL)されなかった。

#### イ 飼料・床敷等中のフタル酸エステル類

飼料中(n=12)からは DEHP が 116-511 ng/g、DBP が 25.1-944 ng/g、BBP が 22.2-157ng/g 検出され、総量(測定対象とした 5 種のフタル酸エステル類の合計値)は 141-1410 ng/g であった。検出されたフタル酸エステル類の濃度より、マウス及びラットが飼料から摂取するフタル酸エステル類の総量を試算すると、マウスでは 846-8460 ng/日(一日の飼料摂取量を 6 g とした時)、ラットでは 3525-35250 ng/日(一日の飼料摂取量を 25 g とした時)となる。

また、床敷(n=13)からは DEHP が 16.0-5070 ng/g、DBP が 19.6-1390 ng/g、BBP が 440-900 ng/g、DiNP が 198 ng/g、実験動物舎の室内空气中(n=4)からは DEHP が 27.6-32.1 ng/m<sup>3</sup>、DBP が 261-357 ng/m<sup>3</sup> 検出された。給水中(n=3)からは、フタル酸エステル類は検出されなかった。

#### ウ 飼料・床敷等中の 4-ノニルフェノール

飼料中(n=35)の 1 検体は不検出であったが、34 検体から NP が 4.9-117.0 ng/g 検出された。検出された NP の濃度より、マウス及びラットが飼料から摂取する NP を試算すると、マウスでは、29.4-702ng/日(一日の飼料摂取量を 6 g とした時)、ラットでは 122.5-2925 ng/日(一日の飼料摂取量を 25 g とした時)となる。

床敷(n=15)からはすべての検体から NP が検出された。特に古新聞再生紙を原料とする床敷きは、620-1020ng/g の範囲で検出された。その他の床敷きは 2.3-65.3ng/g の範囲で検出された。床敷きからの暴露量推定は困難であるため高濃度に汚染が認められる床敷きの使用は避けることが望ましい。

給水は、4 社の給水瓶の本体とキャップの組み合わせ(n=11)について行った。給水瓶の使用方法を考慮して、分析条件は超純水 200mL を入れた後、室温で 24hr 放置後、100mL を分析に供した場合と給水瓶に入れた超純水とともに給水瓶を 121°C、20min 加熱滅菌放冷後、100mL を分析した場合について検討した。室温放置の場合、5 検体から 0.03-0.11ng/mL の範囲で NP が認められた。加熱滅菌後では 1 検体を除くすべての検体から NP が 0.03-0.63ng/mL の範囲で認められた。検出された NP の濃度より、マウス及

びラットが給水から摂取する NP を試算すると、マウスでは、0.24-5.04ng/日（一日の給水摂取量を 8mL とした時）、ラットでは、1.35-28.35ng/日（一日の給水摂取量を 45mL とした時）となる。なお、オートクレーブ内の汚染の有無を確認するためビーカーに超純水を入れ、蓋をせずに滅菌前と滅菌後を分析したが NP は不検出であった（定量限界値は 0.02ng/mL）。

#### エ 飼料中の植物エストロゲン

測定に供したほとんどの飼料(37/40)から植物エストロゲンが検出された。最も高濃度で検出された植物エストロゲン濃度(569 $\mu$ g/g)より、マウス及びラットが飼料から摂取する植物エストロゲンを試算すると、マウスでは 3,414 $\mu$ g/日（一日の飼料摂取量を 6 g とした時）、ラットでは 14,225  $\mu$ g/日（一日の飼料摂取量を 25 g とした時）程度となる。なお、植物エストロゲンフリーとして注文販売されている飼料からは植物エストロゲンは検出(<0.2 $\mu$ g/g)されなかった。

#### オ 飼料中の 17 $\beta$ -エストラジオール

動物飼料中 (n = 20) に含まれる 17 $\beta$ -エストラジオール（エストラジオール; E<sub>2</sub>）は、一製品を除いて定量下限値（0.50 ng/g）未満であった。定量下限値を越えた一製品中の E<sub>2</sub> 濃度は、0.52  $\pm$  0.03 ng/g であった。当該飼料は、マウス又はラットに使用される。このケースでマウス又はラットが、飼料から摂取する E<sub>2</sub> を試算するとマウス（飼料摂取量：6 g/日）で 3.1 ng/日、ラット（飼料摂取量：25 g/日）で 13 ng/日程度となる。



## ( 2 ) 飼育・実験環境からの化学物質暴露への対応について

実験動物が、飼育・実験環境から化学物質の暴露を受けていることが予想されることから、内分泌かく乱化学物質問題に係る動物実験の信頼性を検証することを目的に、飼料、給水や床敷、空気中の化学物質濃度を測定した。

飼料、床敷等中から BPA、フタル酸エステル類、ノニルフェノール等が検出されたことから、実験動物は、飼育・実験環境から、さまざまな化学物質の暴露を受けていることが示唆される。

この結果を踏まえると、低用量作用の有無については、まさに議論が行われているところであるが、これに係る動物実験を行う際には、用いる飼料、床敷等について、対象の化学物質等をあらかじめ測定するなど、汚染のレベルを把握すること等が必要と思われる。

すなわち、飼育・実験環境は、化学物質に汚染されていない（コンタミナント・フリーである）ことが理想的ではあるが、現実の問題として、およそ化学物質のコンタミネーションをゼロにすることは不可能であり、現実的な対応としては、用いる飼料、床敷等のロット番号、入手可能な当該化学物質の分析データを明示するとともに、必要に応じて基礎暴露量を正確に把握するために飼料、床敷等中の化学物質濃度を測定して、論文、報告書等に記載するような配慮が必要であろう。

もとより、相当に汚染されている飼料、床敷等については、使用を避けることが望ましい。

床敷、空気、ケージについては、暴露量の推定は困難であろうが、飼料、給水については、濃度と摂取量から暴露量の推定が可能と思われるので、推定暴露量を動物実験の結果の考察に加えることも必要であろう。

なお、飼料中の植物エストロゲンは、栄養素としての側面もあるが、エストロゲン活性を指標にする等の動物実験では、その影響は無視できないと思われ、動物実験に先立ち、使用する飼料の組成及び植物エストロゲン量を把握しておくことが望ましい。

## 7 今後、必要な調査研究等の取組

今回作成した分析ガイドラインの測定対象である BPA、フタル酸エステル類、ノニルフェノールは、測定環境中での汚染が懸念され、微量分析を困難にしている分析化学的には測定難度の最も高い物質群である。提案した分析ガイドラインは、最新の分析法を参考に、公的試験研究機関を中心に現時点で使用しうる最新の分析機器(GC/MS、LC/MS、LC/MS/MSなど)を駆使した方法である。

内分泌かく乱化学物質の生体影響を把握するにはこれらの分析ガイドラインに従って多数の生体試料を分析し、データを蓄積する必要があるが、作成した分析ガイドラインによる分析を請負う測定機関は現状では限られている。

今後、更に効率の良い分析法やより精度、感度に優れた分析法が構築される可能性もあり、引き続き情報収集に努力して分析ガイドラインの充実を図る必要がある。

## 第3節 低用量問題

### 1 背景的事項

低用量問題についての背景的事項としては、世界保健機構の化学物質安全性計画による「内分泌かく乱化学物質に関する科学的最新知見の地球規模での評価(WHO/IPCS)<sup>1</sup>」(以下、グローバルアセスメント)の出版以降、内分泌かく乱化学物質(EDCs)問題への全般的な認識が進展した点をあげることができる。

グローバルアセスメントでは、野生生物に関しては、時間的・空間的に限定的ながら、環境中のホルモン類似作用をもつ化学物質の暴露によって障害を受けていると考えられる事象が種々の関連性で認められる旨の指摘になっている。

さらに、実験動物については、哺乳綱動物の体内には絶えず大量の内在性ホルモンがあり、体内はそうしたホルモンにさらされ、またそうした内在性ホルモンに対する防御機構も備わっているとされ、従って成体での長期試験で眼に見えた影響を認める報告は見られず、成体での影響はさしあたり障害性の焦点とはならないものと判断している。これは、いわゆるホルモン様作用物質の生体に対する低用量作用が通常の試験法では多くの場合検出されなかったという、2000年10月、米国ノースカロライナ州で開催された低用量問題についてのワークショップで確認されている認識を基礎においている<sup>2</sup>。

この内在性のホルモンは、そうした制御からはずれて障害を引き起こすことがあり、医療上の目的である程度リスクを前提とした投与も行われる<sup>3</sup>。また胚細胞期や胎児期・新生児期のような形態形成期にあたる機能が安定する前の時点では、その影響が無視できないとするデータが集積している。この点は、思春期における影響についても同様と考えられる<sup>4</sup>。

ヒトでの発がん性に予防効果が期待されているいわゆる植物ホルモン(phytoestrogens)については、そうした予防効果の反面、(日常用量との乖離は大きいものの)高用量では機構上はエピジェネティックな発がん促進効果を持つことを示唆する指摘も散見される。後者のエピジェネティックな発がん促進効果については不明の点が少なくないが、これらが

---

<sup>1</sup> WHO/International Programme on Chemical Safety; Eds, T. Damstra, S. Barlow, A. Bergman, R. Kavlock, G. van der Kraak., Global Assessment of the State-of-the-Science of Endocrine Disruptors. World Health Organization, 2002, pp. 180. (<http://www.ehp.niehs.nih.gov/who/>). 邦訳は、厚生労働省ホームページ参照 (<http://www.nihs.go.jp/edc/global-doc/index.html>)

<sup>2</sup> 2000年10月、米国環境保護庁(EPA)は、ノースカロライナ州で、従来求められてきた無作用量(NOEL)や無毒性量よりも低い用量域\*で、いま内分泌かく乱問題で対象となっているようなパラメータに該当する新たな影響が標準的な試験で用いられてきた用量よりも低い用量で観察されるものかの如何を問う「低用量問題に関するワークショップ」を開催した。そこでは、ビスフェノールA(BPA)の低用量データ報告の認否について、確認されたとする報告と認められなかったとする報告の双方に信頼性(credibility)を認めた上で、低用量作用を示す試験の再現性や、長期試験がジエチルstilbestrol(DES)にもBPAにも作用を示さなかった事実に言及し、現状に於ける低用量問題の不確実性を結論した。\*<http://nipserv.niehs.nih.gov/htdocs/liason/FinalRptLowDoseFR.html>

<sup>3</sup> 経口避妊薬や、閉経後のホルモン補充療法などが、患者の希望を尊重しつつ慎重に対処される所以でもある。

<sup>4</sup> EPAが思春期アッセイを取り上げていることから明らかなおりと、巻頭の要旨に組み込まれるべきであったと考えられる。

植物ホルモンの二面性の作用機構を意味するものか、それとも投与時期などによって変動する生体の側の生物学的な要素に起因するものか、乖離した二つの効果を説明する要因は現在明らかでなく、なお文献検索などの検討が必要である。

膜受容体の発見<sup>5</sup>は、オルファニデスらによって指摘されていた、核内受容体での説明が困難だった、遺伝子機能を介さないホルモン様作用<sup>6</sup>の理解を助ける役割を果たした。さらに細胞内小器官である小胞体の膜にも ER が局在し<sup>7</sup>、急峻な反応に対応することが明らかになってきた<sup>7</sup>。これらの発見は、内分泌かく乱問題における、現状で未知の要因の存在を念頭に置いた検討を進めることの意義を喚起した。

以上の背景的事項にも明らかとなっており、内分泌かく乱化学物質問題は、その基本的存在が確認され、メカニズムの面からもその基礎の一端が解き明かされるに伴って、低用量問題に関する研究の動向は、胚細胞期、胎児期・新生児期・思春期での影響を糸口にして、よりメカニズムを明らかにする中で解決を迫る方向に進んでいる。これらの認識にもとづいて、ここでは、内分泌かく乱化学物質問題の課題が集中しているいわゆる“高次生命系”、すなわち 内分泌系・免疫系・神経系など<sup>8</sup>での生体影響、もしくはその蓋然性に焦点をあてて、関連する新たな知見の概括を試みた。

## 2 低用量問題に関連する新たな知見

厚生労働省が2001年に発表した中間報告書の追補では、「現時点で、入手できる科学的知見からは、低用量域における内分泌かく乱作用を直ちに断定することには疑問がある」とまとめている。その後発表された結果からも、内分泌かく乱化学物質影響として危惧の指摘された既知の生体影響を、既知の試験法、もしくはその一部、観察の条件を強化した試験法で、確認した例は、調べられた限りでは認められない<sup>9</sup>。これは旧来より知られるホルモン影響試験法のひとつであった子宮腫大試験をこの期、経済開発協力機構(OECD)で新たにとりあげることになった経緯からしてもやむを得ない結果とも考えられ、この間とりわけ試験法の開発が強調されてきた所以でもある。また受容体レポーターアッセイなどによりホルモン様の影響の認められている物質で調べられた限りの結果で、全体に共通した低用量作用特有の指標ようなものも見出されておらず、内分泌かく乱化学物質として共通に概念づけ得る指標も見出されない。むしろ、様々な物質がそれぞれ別個の作用機構によって生体機構のかく乱に作用する可能性が窺われ、その中には、これまで知られていなかった様々な作用機構も報告されている<sup>10,11</sup>。このことは、そうした概念の化学物質を想定し

<sup>5</sup> Zhu H, Rice C, Pang Y, Pace M, Tomas P. Proc Nat'l Acad Sci USA. 100 : 2231-2236, 2003.

<sup>6</sup> ノンゲノミック(non-genomic)な機構(Moggs and Orphanides, EMBO Rep. 2: 775-781, 2001).

<sup>7</sup> Revankar CM, Cimino DF, Sklar LA, Arterburn JB, & Prossnitz ER. A transmembrane intracellular estrogen receptor mediates rapid cell signaling. Science 307: 1625-1630, 2005.

<sup>8</sup> 高次生命系は、発生・生殖面をはじめとした時間軸や、メモリー機構、多細胞間情報ネットワークを構成する機能軸などが特徴と考えられる。

<sup>9</sup> Aoyama H, Suzuki K. Enhanced one-generation reproductive toxicity study in rats for detecting endocrine-disrupting effects of chemicals. Pure Appl Chem 75 (11-12): 2497-2501, 2003.

<sup>10</sup> Inoue T. Hormonally active agents and plausible relationships to adverse effects on human health. Pure Appl. Chem., 75: 2555-2561, 2003.

<sup>11</sup> Honma S, Suzuki A, Buchanan DL, Katsu Y, Watanabe H, Iguchi T. Low dose effect of in utero exposure to bisphenol A and diethylstilbestrol on female mouse reproduction. Reprod Toxicol. 16: 117-122, 2002. /

たときの、一般性のある試験法の開発が困難であることを意味している。

### (1) 低用量問題の概括

低用量問題は、同時に取り上げられた、閾値の有無、相乗性・相加性有無、及び高用量から低用量への外挿の妥当性の如何、反応の線形—非線形用量相関問題などを構成要素とし、密接な関連をもったいわば“ひとつの問題”である。この点から、閾値問題や相乗・相加性、あるいは用量相関問題について概観すると以下のとおりである。

閾値の有無に関する証明は実質的には生物統計学的に用量相関のモデル型から導き出すことである。EPAのEarl Grayは、抗アンドロゲン作用を持つ物質の種々の雌化指標が同様のロジスティック・カーブもしくはS字状曲線をとっていて、調べた限りでベースラインレベルまで接近したと述べている<sup>12,13</sup>。体内環境のホメオステシスから切り離れた実験系<sup>14</sup>では、*in vivo* 試験でさえも極めて低い用量で様々の反応が生ずることが知られている<sup>15,16</sup>。生体は低用量ホルモン様物質を検知しないのではなく、検知した上でこれに対応する事実からして、このような有処置 *in vivo* 試験は、生体の低用量反応性の確認情報として有用であるが、有害性の判断の情報にはならない。

---

Palanza P, Howdeshell KL, Parmigiani S, vom Saal FS.: Exposure to a low dose of bisphenol A during fetal life or in adulthood alters maternal behavior in mice. *Environ Health Perspect* 110,Suppl.3:415-422, 2002. / Schonfelder G, Flick B, Mayr E, Talsness C, Paul M, Chahoud I.: In utero exposure to low doses of bisphenol A lead to long-term deleterious effects in the vagina. *Neoplasia* 4:98-102, 2002. / Schonfelder G, Wittfoht W, Hopp H, Talsness CE, Paul M, Chahoud I.: Parent bisphenol A accumulation in the human maternal-fetal-placental unit. *Environ Health Perspect* 110: A703-707, 2002. / Tinwell H, Haseman J, Lefevre PA, Wallis N, Ashby J.: Normal sexual development of two strains of rat exposed in utero to low doses of bisphenol A.: *Toxicol Sci* 68:339-348, 2002./ Wetherill YB, Petre CE, Monk KR, Puga A, Knudsen KE.: The xenoestrogen bisphenol A induces inappropriate androgen receptor activation and mitogenesis in prostatic adenocarcinoma cells. *Mol Cancer Ther* 1:515-524, 2002. / Ashby J.: Testing for endocrine disruption post-EDSTAC: extrapolation of low dose rodent effects to humans. *Toxicol Lett* 120:233-242, 2001. / Markey CM, Luque EH, Munoz De Toro M, Sonnenschein C, Soto AM.] In utero exposure to bisphenol A alters the development and tissue organization of the mouse mammary gland. *Bio Reprod* 65: 1215-1223, 2001. / Markey CM, Michaelson CL, Veson EC, Sonnenschein C, Soto AM.:The mouse uterotrophic assay: a reevaluation of its validity in assessing the estrogenicity of bisphenol A. *Environ Health Perspect* 109: 55-60, 2001. / Gupta C.: Reproductive malformation of the male offspring following maternal exposure to estrogenic chemicals. *Proc Soc Exptl Biol Med.* 224: 61-68, 2000. / Elswick BA, Welsch F, Janszen DB.: Effect of different sampling designs on outcome of endocrine disruptor studies. *Reprod Toxicol* 14:359-367, 2000./ Oehlmann J, Schulte-Oehlmann U, Tillmann M, Markert B.: Effect of endocrine disruptors on prosobranch snail (Mollusca: Gastropoda) in the laboratory. Part I: Bisphenol A and octylphenol as xeno-estrogen. *Ecotoxicol* 9: 383-397, 2000. / Tinwell H, Joiner R, Pate I, Soames A, Foster J, Ashby J.: Uterotrophic activity of bisphenol A in the immature mouse. *Regul Toxicol Pharmacol* 32:118-126, 2000. / Howdeshell KL, Hotchkiss AK, Thayer KA, Vandenberg JG, vom Saal FS.: Environmental toxins: Exposure to bisphenol A advances puberty. *Nature* 401: 763-764, 1999.

<sup>12</sup> Gray LE Jr, Ostby J, Monosson E, Kelce WR.: Environmental antiandrogens: Low doses of the fungicide vinclozolin alter sexual differentiation of the male rat. *Toxicol Ind Health* 15(1-2): 48-64, 1999.

<sup>13</sup> Gray LE, Ostby J, Furr J, Wolf CJ, Lambright C, Parks L, Veeramachaneni DN, Wilson V, Price M, Hotchkiss A, Orlando E, Guillette L: Effect of environmental antiandrogens on reproductive development in experimental animals. *Hum Reprod Update* 7(3): 248-264, 2001.

<sup>14</sup> たとえば子宮腫大試験(Uterotrophic bioassay)。

<sup>15</sup> Kanno J, Onyon L, Haseman J, Fenner-Crisp P, Ashby J, Owens W: *Environ Health Perspect* 109(8): 785-794, 2001.

<sup>16</sup> 他方、十分に低用量の領域での、リガンドの受容体との会合は当然確率的に低くはなるので、近年発がん性領域でも“practicalな”閾値はあるものとの考え方が散見され、内分泌かく乱問題領域でも同様と考えられる。

相乗性・相加性の有無の問題に該当するデータとしては、かつてSoto<sup>17</sup>が複合アッセイ系確立の可能性を論じた報告が原点になると思われるが、注目されるのは、ロンドン大学のKortenkampのグループによる相加性に関する報告である<sup>18,19,20</sup>。これによれば<sup>21</sup>、明らかな相加性(additives)を確認しており、ホルモン様作用のシグナル認識からそうした事柄もあり得ることは考えられ得るだけに結論の意味するところは重く、種々の角度からの検討が必要である。

反応の線形—非線形用量相関問題に関するデータは、従来のNOELやNOAELなどよりも低用量で何らかの変動パラメータが観察された、という形で結果が間接的に示されている。先のE. Greyは、vinclozolinで、このものの抗アンドロゲン作用が従来の無作用量レベル(数千mg/kg)より低いレベル(100~200mg/kg)で肛門・生殖突起間距離の短縮など様々の指標で雌化傾向を生ずると報告している<sup>22</sup>。

暴露される成体の組織ごとに、各種の作用物質の影響が機能的にも反応順位相関的にも異なるといった例も観察されている。エストロゲン様活性をもつことが知られるノニルフェノール(NP)による子宮と肝臓における遺伝子発現変化を比較解析した結果によれば、子宮においてはエストラジオールに較べて低発現で知られるNPによる遺伝子の発現が、肝においては、より強い遺伝子発現を生じていた、という。これは同等のエストロゲン活性を有する化学物質でも標的器官によって異なる影響を与えることがあり得ることを示唆しており、内分泌かく乱化学物質の標的器官や複合影響を検討する上で留意がもためられる<sup>23</sup>。また骨芽細胞も同様の意味でエストロゲンの重要な標的器官と考えられるが、ゲニシュタイン、ビスフェノールA(BPA)、ジエチルスティルベストール(DES)のヒト細胞(FOB株)に対する影響を見た結果では、BPAは、DESよりも強い増殖活性を促したという<sup>24</sup>。この結果の生物学的意味は定まっていない。

## (2) 作用機構上の新たな知見

作用機構上の新たな知見としては、例えば内分泌かく乱作用の危惧が指摘される物質の、高次生命系への多面的な影響に対するシステムズ・バイオロジー<sup>25</sup>の面からの検討が進んだ

<sup>17</sup> Soto AM, Fernandez MF, Luizzi MF, Oles Karasko AS, Sonnenschein C.: Developing a marker of exposure to xenoestrogen mixtures in human serum. *Environ Health Perspect* 105(3): 647-654, 1997.

<sup>18</sup> Rajapakse N, Silva E, Kortenkamp A: Combining xenoestrogens at levels below individual no-observed-effect concentrations dramatically enhances steroid hormone action. *Environ Health Perspect* 110(9): 917-921, 2002.

<sup>19</sup> Rajapakse N, Silva E, Kortenkamp A: Combining xenoestrogens at levels below individual no-observed-effect concentrations dramatically enhances steroid hormone action. *Environ Health Perspect* 110(9): 917-921, 2002.

<sup>20</sup> Silva E, Rajapakse N, Kortenkamp A.: Something from “nothing”—eight weak estrogenic chemicals combined at concentrations below NOECs produce significant mixture effects. *Environ Sci Technol* 36(8): 1751-1756, 2002.

<sup>21</sup> 報告者らの文中にあるような相乗性(synergy)は意味せず、相加性(additive)に相当すると思われる。

<sup>22</sup> Ostby J, Kelce WR, Lambright C, Wolf CJ, Mann P, Gray LE Jr.: The fungicide procymidone alters sexual differentiation in the male rat by acting as an androgen-receptor antagonist in vivo and in vitro. *Toxicol Ind Health* 15(1-2): 80-93, 1999.

<sup>23</sup> Watanabe H, Suzuki A, Goto M, Lubahn DB, Handa H, Iguchi T. Tissue-specific estrogenic and non-estrogenic effects of a xenoestrogen, nonylphenol. *J. Mol. Endocr.*, 33: 243-252, 2004.

<sup>24</sup> この背景機構については検討中という。

<sup>25</sup> 系統生物学。細胞の働き(時間変化や刺激に対する応答遺伝子の発現など)を現象としてとらえ、その現象を再現する仕組みには、どのような機構が考えられるかを調べることで生命現象の本質を探ろうとするアプローチ。化学反応論はその原型である。

ことである。注目すべき結果として、受容体試験で女性ホルモン受容体結合性が示されていて且つエストロゲンと異なった作用機序を持つ内分泌様作用活性化学物質の様々な性質、あるいは、アリアルカーボン受容体を介したダイオキシン類(TCDD)の作用とエストロゲン受容体(ER)シグナルの相互作用関係<sup>26,27</sup>などが明らかにされつつある。これらの結果は先に見た低用量効果、複合効果、作用機構にも関わる影響を持つものと考えられる。

### (3) 高次生命系の諸系列における知見

この項目に関わる知見を個別にみると、まず発生・生殖系列に関する知見では、BPAを妊娠マウスに投与し、生まれた雌の仔マウスにみられる影響を調べた報告では、膈の開口日が有意に早まっていた。このものの成熟後の交配結果では、少なくとも初産では、妊娠率、産仔数、性比に影響は見られていない<sup>28</sup>。BPAの出生直後ラットへの高用量投与では、成熟後に雌に無排卵が観察され、遅延性無排卵機構として注目される。

胚細胞期、胎児期、新生児期に生体が不可逆的な影響を受ける可能性を持つことはグローバルアセスメントの指摘にも見られるとおりであり、これに関連した知見が報告されている。ここでの論点は、胚細胞期、胎児期、新生児期でのホルモン受容体の発現の報告と、それらに関連する種差の問題と考えられる。前者については、エストロゲン受容体(ER)などのホルモン受容体の発現が、新生児雄ラットの発生段階でアンドロゲン受容体(AR)を発現している細胞はすべてERを発現し、またセルトリ細胞でERβはARよりより早く発現していること、胎児の生殖細胞を含むほとんどの芽細胞ではERβを発現しているがARは発現しておらず、これが外部からのEDCsへの応答を考える上で重要な意味をもつものと指摘がある<sup>29</sup>。そしてヒトにおける発現様式が実験動物と異なるという種差の面から、より高濃度の天然エストロゲンにさらされているヒトで、比較的弱い外界からのホルモン活性物質に関わるマウスやラットと同様の発現が見られるかについては、疑問が出されている<sup>30</sup>。しかしながら、他方、ヒトやウサギの核内受容体RXRに関する研究<sup>31</sup>によれば、

---

<sup>26</sup> ダイオキシン受容体(AhR)を介した内分泌かく乱は、エストロゲン非依存性のERへの結合・転写活性化と、エストロゲン依存性に活性化したERのコピキチン化の促進という二つの機構のバランス下で引き起こされるものと提唱されている。すなわち、リガンド活性化AhRは、エストロゲン非依存的にERを介した転写機能を活性化し、他方、エストロゲンによる活性化ERの転写機能は抑制されるという。この結果は、これまでの報告にも示唆されていたダイオキシン類の作用が内分泌かく乱に関連する可能性を裏付けている。いまだ実質的なデータは乏しいが、同様の変化は、他の核内受容体についても引き起こされる可能性が示唆されるの、今後の大きな課題となるものと考えられる。

<sup>27</sup> Ohtake F, Takeyama K, Matsumoto T, et al. Modulation of estrogen receptor signaling by an association with the activated dioxin receptor. *Nature* 423, 545-550, 2003.

<sup>28</sup> Honma S, Suzuki A, Buchanan DL, Katsu Y, Watanabe H, Iguchi T.: Low dose effect of in utero exposure to bisphenol A and diethylstilbestrol on female mouse reproduction. *Reprod. Toxicol.*, 16: 117-122, 2002.(多世代にわたる継世代影響を見る実験は行われていない。)

<sup>29</sup> Williams K, McKinnell C, Saunders PTK, Walker M, Fisher JS, Turner KJ, Atanassova N, Sharpe RM: Neonatal exposure to potent and environmental oestrogens and abnormalities of the male reproductive system in the rat: evidence for importance of the androgen-oestrogen balance and assessment of the relevance to man, *Human Reproduction Update* 7, 3 (2001) 236-247

<sup>30</sup> Witorsch RJ: Low-dose in utero effects of xenoestrogens in mice and their relevance to humans: an analytical review of the literature, *Food and Chemical Toxicology* 40(2002)905-912

ヒトとマウスの妊娠における内分泌学的な種差につき、性ホルモンの生成・変換臓器とその時期、および濃度と存在状況の違いが指摘され、その結果、マウスで観察された生殖系への影響がヒトでは、また、BPAなどでマウスについて見られた低用量影響はヒトでは見られないであろう

げっ歯類の RXR と分子種が異なり、BPA で現在マウスやラットで観察されている影響よりヒトへの影響が小さいとする根拠はないとする考え方もあり、認識の統一には、さらなる研究の蓄積が必要である。なお、雄性生殖器関連の情報としては、独自に確立されたマウス前立腺の無血清器官培養法によれば、 $10^{-9}$ M のエストラジオールが、TGF $\alpha$  強陽性の扁平上皮化生を誘導するとの観察が観察されている<sup>32</sup>。検討の結果、これは前立腺における ER $\alpha$  強を介して誘導される TGF $\alpha$  が、扁平上皮の化生を引き起こすものと考えられているが詳細は明らかでない。

グローバルアセスメントにも明らかのように、免疫・感染防御系に関する知見は乏しい。未発表データとして見出されるものとしては、① 成体マウスを使った *in vivo*<sup>33</sup> における DES の影響<sup>34</sup>、② 胎児胸腺器官培養による DES、エストラジオール、BPA、p-n-オクチルフェノール、ベンジルn-ブチルフタレートなどの化学物質のリンパ球の T 細胞増殖分化への影響<sup>35</sup>、③ 同じく 5 種類の化学物質の脾臓 T 細胞の増殖に及ぼす影響などについて検討した結果、T 細胞の早期の増殖・分化に抑制的な影響を与えるという。胎児系では、妊娠マウスに飲水投与で BPA (2.5ug/ml 及び 10.0ug/ml) を投与し、その胎児の免疫系への影響をみた実験によれば、免疫系の発育を遅延させていると考えられる変化が観察されるという<sup>36</sup>。またリンパ球の B 細胞系については、ノニルフェノール (NP)、BPA、フタル酸ブチルベンジル (BBP)、フタル酸ジブチル (DBP) といった物質の、マイトジェンの IL-2、IL-10、IFN- $\gamma$  などのサイトカイン産生に対する影響が、低用量域まで観察され、このとき BPA では、細胞内カルシウムイオン濃度が上昇し、タンパク質のチロシンリン酸化が併行して起こっていることが確認されている<sup>37</sup>。

神経系では、神経幹細胞に ER $\alpha$ 、ER $\beta$  などが発現していることが従前より報告されている。これを用いて、DES 暴露後のその分化・自己複製能が低下している旨の未発表データも見られる。前駆細胞にはオーファン受容体 RVR、TR4 などの発現が見出されているが生物学的背景は明らかでない。性分化に及ぼす神経内分泌学的な影響研究が進展しているが、

---

とし推論されている。すなわち、マウス・ラットはエストラジオールとエストロンを生産するがヒトはこれに加えてエストリオールを生産するという違いのみならず、ヒト母親の妊娠後期における血中エストラジオールは 15-20ng/mL でラット・マウスの妊娠後期の 30-60 pg/mL の数百倍である。胎児中濃度はヒト (5-10ng/mL)、マウス (100-150ng/mL) と 50-100 倍である。ヒト胎児血ではさらに妊娠後期にエストロン (10-15ng/mL)、エストリオール (50-100 ng/mL) 濃度も高い。ヒトでは性分化は 7-14 週 (胎児血中エストラジオールは 2-6ng/mL) と早期であるがマウスでは胎齢 15 日以降 (胎児血中エストラジオールは 100-150pg/mL) でずっと後になる。さらに胎児血漿中フリーフォーム・エストラジオールは 1-4.5% だが、マウス血漿中フリーフォーム・エストラジオールは 0.2% と推定される。

<sup>31</sup> Bruce Blumberg : 未発表データ。

<sup>32</sup> 厚生科学研究 (井上班) 報告・未発表データ。

<sup>33</sup> 生体個体レベルでの実験。

<sup>34</sup> Utsuyama M, Kanno J, Inoue T, Hirokawa K. Age/sex dependent and non-monotonous dose-response effect of diethylstilbestrol on the immune functions in mice. Toxicol Lett. 135: 145-153, 2002.

<sup>35</sup> T 細胞系機能については、高酸素下器官培養システムにおける、胎児胸腺細胞 (CD44<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>) から亜集団 (CD44<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>) への分化・増殖が、0.01-1nM 程度の低用量の DES や BPA の添加によって抑制されたとされている。

<sup>36</sup> 新規未発表データ。

<sup>37</sup> Yamazaki T, Ezaki O. Effect of endocrine disruptors on lymphocyte responses. Organohalogen Compounds. 56: 107-110, 2002. / Yamazaki T, Okada Y, Hisamatsu Y, Kubota S, Kayama F. Effects of endocrine disrupting chemicals on lymphocyte responses. Organohalogen Compounds. 49: 394-396, 2000.



用量との関係などはまだ見られない<sup>38</sup>。

行動に及ぼす影響が注目を集めているが、これらの報告はここ数年内にやっと出始めたところであり、知見は乏しい。Bisphenol A(BPA)に関連した行動関連のデータとしては、Wistar系の妊娠ラットへのBPA 1.5mg/kg (NOAELは50mg/kg<sup>39</sup>)の投与が、仔の成育後の行動様式と、脳の青斑核(locus ceruleus)の小型化などの雌化傾向を惹起したといい<sup>40</sup>、抗男性ホルモン様作用化学物質でも行動変化が見られたとされている<sup>41</sup>。BPA 0.1ppmを出産前1週間投与した妊娠Wistarラットから生まれた仔ラットでは、ストレス対処行動の性差の消失(雌化)が見出されている<sup>42</sup>。同様の変化は、嗅覚応答様式でも示唆されたという。

#### (4) 情報関連の成果とその知見

以上、高次生命系を中心とした事象の他には、リスク評価情報として、BPAの低用量影響についての文献調査が進行中である<sup>43</sup>。生体影響の蓋然性が境界領域に位置するものと考えられているBPAについて、2000年から2004年の5年間に報告の見られた168件の文献を対象に、邦文の信頼性を含む内容的検討を行った上で、これらをデータベース化する作業が進行中である。

食物や生体内には、アリアルヒドロカーボン受容体(AhR)<sup>44</sup>に対してリガンドとなり得る種々の物質が明らかになっており、その作用機構が注目されている<sup>45</sup>。これらの物質は低用量で作用すると考えられるが、詳細は明らかでない<sup>46</sup>。天然のAhRリガンドの存在量と作

<sup>38</sup> レーザー捕捉法による単一ニューロンを同定する方法によって、同定されたGnRHニューロンからtotal RNAを取り、GnRH1およびGnRH3におけるPXRやRXRなどの連絡の検討から、GnRH1およびGnRH3が、PXRによって制御されていることを意味すると考えられ、生殖原器の性分化が、GnRH1によって、生殖行動がGnRH3によって支配されているものと推定している。これらの発現に必要な用量関連のデータは得られていない。(Palhar IS. Gonadotropin-releasing hormone receptors: neuroendocrine regulators and neuromodulators. *Fish Physiol. Biochem.* in press).

<sup>39</sup> US-NTP(1982)ラット(F344)2年間経口投与慢性毒性・発がん性試験併用試験による。尚、別報、古川ら(1994)によれば、13週間反復投与毒性試験では、500mg/kg/day。

<sup>40</sup> 粟生(Aou)らによれば、Wistar系の妊娠ラットへのBisphenol A 1.5mg/kg (NOAELは50mg/kg)投与は、仔の成育後のオープン・フィールドテストにおける行動と、脳の青斑核(locus ceruleus)の小型化など雌化傾向を惹起したと報告している(Kubo K, Arai O, Ogata R, Omura M, Hori T, Aou S. Exposure to bisphenol A during the fetal and suckling periods disrupts dexual differentiation of the locus coeruleus and of behavior in the rat. *Neurosci Lett*, 304, 73-76, 2001. / Kubo K, Arai O, Omura M, Watanabe R, Ogata R, Aou S. Low dose effects of bisphenol A on sexual differentiation of the brain and behavior in rats. *Neurosci Res.* 45, 345-356, 2003)。

<sup>41</sup> Hotchkis AK, Ostby JS, Vandenberg JG, Gray LE Jr. Androgens and environmental anti-androgens affect reproductive development and play behavior in the Sprague-Dawley rat. *Environ Health Perspect*. 110(suppl 3): 435-439, 2002.

<sup>42</sup> Kawai K, Nozaki T, Nishikata H, Aou S, Takii M, Kubo C. Fetal exposure to bisphenol A induces aggressive behavior in pubescent male mice. *Environmental Health Perspective* 111, 175-178, 2003.

<sup>43</sup> 2000年から2004年の5年間に報告の見られた168件の文献について、低用量影響データの有無の確認の上、14名の専門家の協力を得て、レビューとデータベースの作成に着手した。調査に先立って、調査票を作成された調査項目は、著者名、論文原題名、出典、対象生物、影響標的臓器、影響レベル(細胞・組織・個体)、暴露方法、暴露時期(胎生期など)、暴露濃度と用量段階、試験記録信頼性保証、および、論文の概要などからなる。調査対象は、ラット88、マウス53、ヒト27、その他27からなり、標的臓器は、神経系16、免疫系8、生殖系91、その他42、影響生体レベルは、細胞56、組織52、個体63、その他24、暴露期は、胚・胎児期35、周産期22、出生後41、成熟期54、その他株細胞45、などとなっている(集計途中)。

<sup>44</sup> 脚注13, 15を参照。

<sup>45</sup> 脚注13, 15を参照。

<sup>46</sup> 各種のリガンドは、ダイオキシン型、ベンツピレン(B[a]P)型、インディルビン型に分類され、前二者は、特有の毒性を示し、インディルビン型の主として食品などに由来する生体内代謝産物

用メカニズムに関して行われた文献調査によれば、緑茶、ウーロン茶、コーヒー、リンゴジュース、トマトジュースからの抽出物でリガンド活性物質の存在が認められている。発がん一般に関する調査（低用量影響に関する検討を含む）によれば、ジエチルstilbestrol(DES)の雌雄性器腫瘍や種々の異常発生には閾値が確認できなかったとされているので、そうした機構が他の内分泌かく乱化学物質といわれる物質にも起こりえるものかどうか今後の調査の課題となる。

発がん性に関する知見に注目すると、低用量発がんに関する実験的検討では、ベンゼンヘキサクロリド( $\alpha$ BHC)の、ジエチルニトロソアミン(DEN)をイニシエーターとする発がん二段階法を用いた0.01ppmから500ppmまでの用量に対する検討が行われており、35週の実験結果で観察された腫瘍頻度は、0.1ppmに極小値を示す、非線形の、下に凸の頻度曲線が得られている<sup>47</sup>。他方、低用量域での高用量からの外挿を上回る発がん性を肯定する文献は見出されず、既存の発がん性に関する実験結果と符合している。またタモキシフェン(TXP)の高用量はE2アゴニストとして作用していることが知られているが、このことは、作用機作が用量によって異なることがあることを示唆している。周生期暴露の後期発がんに関する調査では、いずれについても、明らかな低用量作用は認められないと判断されている。男性性器がん、乳腺・女性性器癌に関する調査では、Ashbyらの追試によれば、von Saalらの観察した低用量作用の再現性は得られず、見解の統一に至っていない。この乖離について実験に与える影響因子としては、飼育条件、動物の遺伝背景、体重、飼料中の植物エストロゲン量などの要素が指摘されている。

### 3 今後、必要な調査研究等の課題の提言

本邦における内分泌かく乱化学物質の生体影響研究は、歴史が浅い。そうした相対的に短い研究期間ながら、この期、国際的に注目される知見が得られ、それらの研究が厚生労働科学研究として世界に発信されつつある点は評価されよう。他方、内分泌かく乱研究では、上記に通覧してきたとおり、その試験法の面からも、リスクアセスメントの面からも、それぞれに認識の進展は著しいにもかかわらず依然として不明の点が多い。その理由は、この問題の基盤となる知見で新たな知見が集積しつつも、根幹に関わっていて解明されていない事柄にもとづいているように考えられる。したがって、今後の課題としては、そうした基盤研究の引き続き重要性を強調せざるを得ない。

以上によりさしあたり以下のような個別的な諸課題が引き続き検討されるべきと考えられる。

#### (1) 高感受性期 - 胎生期・新生児期・思春期の問題

形態形成期、すなわち機能的安定性の成立する前の、胎生期での影響に関して、無視できない不可逆的な事象が指摘されている<sup>48,49</sup>。また、グローバルアセスメントでは触れられ

---

リガンドのそれは毒性は低いものと想定されている。

<sup>47</sup> 6週令の雄性F344ラットを用い、DENを週1回、3週にわたって投与し、 $\alpha$ BHCをプロモーターとして低用量(0.01ppm)から0.05、0.1、1.0、および高用量(50、500ppm)が混餌投与されている。

<sup>48</sup> 脚注1に同じ。

<sup>49</sup> Miyagawa S, Suzuki A, Katsu Y, Kobayashi M, Goto M, Handa H, Watanabe H, Iguchi T. Persistent gene

なかったが、性に関するホメオステシスの不安定な思春期についても、研究上、注目されるべきと考えられる<sup>4</sup>。臨界期への暴露が与える影響の評価基準は、いまだ定まっていない。例えば早発老化(premature ageing)を引き起こす可能性の指摘もあるが、その真偽もそれに対するリスク認識も定まってははいない。ただし、実験動物学的には、早発老化は、種々のエピジェネティックな発がん性の上昇や前倒しを引き起こすことが知られている。

## (2) 高感受性期と低用量問題

胎生期・新生児期・思春期問題には、低用量問題とのリンクを示すデータが少なからず見いだされている<sup>50</sup>。それらを、核内もしくは膜の受容体を介しての生体影響と考える考え方が示されている<sup>51</sup>。

これに対して、無処置の成体が検知できない用量オーダーにおける“新しい概念の影響”として、① 閾値問題、② 非線形の用量相関、あるいは ③ 相加反応などの問題を見直すことが必要との考え方もある。内分泌かく乱化学物質の危険の指摘された物質の生体影響研究では、影響メカニズムの解明が困難にもかかわらず、確認や追試の必要の生じることが少なくない。これに伴って、経過を追った系統的な情報収集の継続も必要である。

注) 米国医薬食品局(FDA)<sup>52,53</sup>や、同じく米国 EPA<sup>54</sup>の研究者らによって非線形反応性が確認されるとともに、英国の研究者らも低用量域に限局的ながら相加反応について一端の実験的事象を報告している<sup>55</sup>。これは、形態形成期である胎生期に特発的に影響する胎生期ウィンドウ現象とリンクするものと信じられている<sup>56</sup>。

## (3) 生体影響の焦点 - 高次生命系

EDCs が高次生命系に与える影響は、生体作用影響研究の焦点となりつつある<sup>57</sup>。生理学的な知見に関しても未知の点が多く、しかも断片的に明らかになっているこれまでに明ら

---

expression in mouse vagina exposed neonatally to diethylstilbestrol. J Mol Endocr 32: 663-677, 2004.

<sup>50</sup> Rajapakse N et al. Combining xenoestrogens at levels below individual no-observed-effect concentrations dramatically enhances steroid hormone action. Environ Health Perspect, 110: 917-921, 2002. グローバルアセスメントでも指摘されたとおり、新生児では系によって不可逆反応としての変化が観察されている。

<sup>51</sup> 厚生科学研究(井上班)報告参照

<sup>52</sup> Guo TL, White KL Jr, Brown RD, Delclos et al. Toxicol Appl Pharmacol. 181: 219227, 2002.

<sup>53</sup> 脚注 30 参照。

<sup>54</sup> G. Ankley: Personal communication.

<sup>55</sup> Rajapakse N et al. Environ Health Perspect 110: 917-921, 2002./ Silva E et al. Environ Sci Technol 36: 1751-1756, 2002.

<sup>56</sup> 脚注 47 参照。厚生科学研究(井上班)報告。新生児期マウスの膣のエストロゲン作用臨界期は生後3日にあり、この時点での DES 投与後の影響がマイクロアレイ法を用いて解析されている。DES の投与により、上皮組織でのエストロゲン応答遺伝子(ER) のリン酸化を介した EGF 様成長因子-erbB 受容体系の活性化、引き続く MAPK や Akt などの系のリン酸化とそれに伴う AF-1 領域のリン酸化に至るエストラジオール非依存性のアクチベーションループが形成されることが、受容体阻害剤などを用いて示されている。

<sup>57</sup> ホルモン概念は、すでに生物学的には細胞によって血中に放出されるサイトカインを含む生体内すべての細胞機能に拡張されており、その受容体を有する組織は、EDCs の対象となる蓋然性をもつ。高次生命系は総じて記憶の仕組みを含む情報伝達システムを保持しており、免疫系の影響、神経・行動系への影響が焦点となるものと認識される。異物代謝との複合影響なども、取り残された研究課題である。

かになりつつある EDCs 関連の知見から見ると、引き続き、免疫系、甲状腺-中枢神経系・行動などの領域についてのさらなる検討を進めることが必要と考えられる。

注) グローバルアセスメントの免疫系の記載は不十分であり、補充の必要がある。併せて、各種受容体結合域上流のスズやヒ素などによる xenobiotic element を介した免疫系シグナルへの修飾が、これらの複合作用の背景にあるものと考えられている。

#### (4) ゲノミクス手法による内分泌かく乱化学物質影響研究

バイオマーカーとなる遺伝子プロファイルの抽出の試みが進んでおり、これを更に進めてプロテオミクスを基礎としたバイオマーカーを同定することには、行政上のメリットが少なくない<sup>58</sup>。具体的手法としては、想定される EDCs で引き起こされ得る生体障害マーカーに特化したチップの構築<sup>59</sup>と、専ら遺伝子発現そのものを表現型として取り扱う(リバース・サイエンス法)方法<sup>60</sup>などが考えられる。

上記は、それぞれ用途に応じて有効性と考えられ、併せて以下の諸点の留意が必要である。

- ① 初期変化による長期変化の予測性の如何
- ② 用量相関に対する方法論と、用量特異的遺伝子プロファイリング
- ③ 複合効果の予測性(有力手段と考えられつつある)
- ④ 動物種間外挿性(相同表徴系に対応する遺伝子プロファイリング)
- ⑤ 試験管内細胞・組織と個体レベルでの遺伝子発現の相互相関性など<sup>61</sup>。

これらはとりもなおさず先の低用量問題であげた課題と重なり合う部分が少なくない。ゲノミクス手法とともに、インフォマティクスの果たす今後の役割の重要性が焦点になっている。これら Omics 手法の導入については、WHO/IPCS がすでにベルリンにて<sup>62</sup>、また OECD が京都にて<sup>63</sup>ワークショップを開催し、留意すべき諸点などをまとめつつある。

以上、引き続き、低用量問題を巡る(高)感受性問題の検討が必要である。特に低用量問題と関連した試験系については、ヒトの受精を人為的に抑制するような adverse effect を引き起こす用量での影響が、通常の実験動物の試験法で検知できないという、根本問題の解明が進んでいない。子宮腫大試験系が取り入れられた原点に立ち返って検討を進める必要がある。

第2に、マイクロアレイ法などを用いたゲノム発現解析による今後の内分泌かく乱化学物質試験法の解明が必要となっている。マイクロアレイなどを用いたゲノム発現解析は、多くのマイクロアレイが背景メカニズムの解析に用いられるのに対して、むしろ遺伝子発現パターンを表現型として取り扱う、いわば現象論的な試験系であるが、相乗効果や用量特異的遺伝子発現にリンクしたバイオマーカー解析の有力手段になるものと考えられてい

<sup>58</sup> Watanabe H, Suzuki A, Mizutani T, Kohno S, Lubahn DB, Handa H, Iguchi. Genome-wide analysis of changes in early gene expression induced by estrogen. *Genes Cells*, 7: 497-507, 2002.

<sup>59</sup> *ChineChip<sup>TR</sup> Probe Array Technology*, Copyright 2000, Affymetrix, Inc.

<sup>60</sup> T. Inoue & W.D. Pennie (eds) *Toxicogenomics*. Springer, Tokyo, Berlin 2003, pp.3-11.

<sup>61</sup> Inoue T, Igarashi K, Sekizawa J. *JMAJ (Japan Medical Association Journal)* 46: 97-102, 2003.

<sup>62</sup> 2003年11月17-19日ドイツ連邦リスク評価研究所、ベルリン: *Proceedings* は印刷中。

<sup>63</sup> 2004年10月13-15日国立京都国際会館、京都: *Proceedings* は印刷中。

る<sup>64</sup>。

第3に、これらとの対比の中で、相対的に作用の弱い多くの一般化学物質での、実験報告に即したプライオリティ設定などによるプラクティカルな対応の可能性が伺われる。

---

<sup>64</sup> 脚注 61 参照。

## 第4節 暴露疫学調査

### 第4-1節 生体暴露量等

#### 1 はじめに

本作業班では、いわゆる内分泌かく乱化学物質の生体暴露量を測定すると共に、これら物質が生体内に実際に存在する暴露量の範囲で、どのような作用を発現するかを解明するために、生体内受容体の存在の有無、作用発現、さらに代謝・解毒などの検討を行った。

#### 2 測定法の確立

いわゆる内分泌かく乱化学物質のヒト健康への影響を研究する際にまず重要な点は、感度と特異性に優れた測定法の確立である。測定法に関連した事項として、試料の取扱いは看過出来ない。特に試料の採取から始まり、分離・保存の過程を経て、いかに背景因子の干渉及び夾雑物の混入を防ぎ、信頼しうる測定値を得るに至るかまでの各種操作法の確立は重要である。

これについては、既に厚生科学研究H11-13「高分子素材からなる生活関連製品由来の内分泌かく乱化学物質の分析及び動態解析（主任研究者：中澤裕之 星薬科大学教授）」において、検討が開始され、その後、H14-16「試料分析の信頼性確保と生体暴露量のモニタリングに関する研究」において引き続き検討がなされた。今般、採取・分析法作業班から、生体試料中のビスフェノール A（BPA）、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル（DEHP）などのフタル酸エステル類、4-ノニルフェノール（NP）について、分析ガイドラインが提示された（採取・分析法の項参照）ことから、今後、これら分析ガイドラインに従った測定をすることにより、信頼性の高い測定結果の蓄積が期待できるようになった。

#### 3 生体暴露量

測定法に次いで重要な点は、生体暴露量、すなわちこれら物質の生体中の存在量（体内負荷量）の解析である。

過去及び現在の我が国における工業生産量等からして黙視できない化学物質として、ビスフェノール A（BPA）<sup>1</sup>、クロロベンゼン類<sup>2</sup>、パラベン類、フタル酸エステル<sup>3</sup>、ベンゾピレン<sup>4</sup>、PCB<sup>5</sup>、クロールデン<sup>6</sup>、トリブチルスズ化合物<sup>7</sup>などが測定候補として検討され

---

<sup>1</sup> 樹脂原料などとして年間約 15.1 万トン（平成 10 年度）製造・輸入される

<sup>2</sup> 穀物種子や木材の防腐剤・防かび剤、色素合成の中間体として使用された。

ヘキサクロロベンゼンは、難分解性で、蓄積性、毒性があることから、「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（1973）（化審法）」の第一種特定化学物質\*に、1979 年に指定された

\* 化審法の第一種特定化学物質は、製造・輸入の禁止、使用の禁止、政令指定製品の輸入禁止等の規制措置が取られる。

<sup>3</sup> プラスチックなどの可塑剤として使用される

<sup>4</sup> 化石燃料の不完全燃焼などにより大気中に放出される

<sup>5</sup> 絶縁油等として用いられたが、1974 年に、化審法の第一種特定化学物質に指定された

<sup>6</sup> シロアリ駆除剤などとして使用されたが、1986 年に、化審法の第一種特定化学物質に指定された

た他、当作業班に属する主任研究者によって、各々独自の観点から検討がなされており、それらも含め、生体暴露量に関する主な知見は、以下のとおりである。

なお、研究の実施にあたっては、各研究機関の倫理委員会の審査・承認を受けるとともに、研究対象者に対して、人権及び個人情報の擁護、研究への参加による利益・不利益の説明を行いインフォームドコンセントを得ている。剖検にあたっては、研究対象者に対する人権擁護上の配慮および研究により研究対象者が受ける利益・不利益等の説明を遺族に対して行い、インフォームドコンセントが得られ、御遺族の同意の署名を剖検承諾書にいただいた症例のみを今回の検討解析に使用した。〔引用文献5〕参照〕

またヒトゲノム・遺伝子解析研究については、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成13年3月29日文科科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号）を遵守して実施した。

---

<sup>7</sup> 船底塗料や漁網防汚剤として用いられたが、1992年から国内造船所での塗布の完全自粛、1997年から国内塗料工場での製造中止等がなされている

### 3 - 1 ビスフェノール A

- (高感度なカラムスイッチング HPLC-蛍光定量法; 検出限界 血清及び腹水、0.04 ppb; 母乳、0.20 ppb)

BPA は、一固体から同時採取された、さい帯血、母体血、母乳及び腹水のいずれの試料においても検出され (n=9-21)、その濃度範囲は、0.21~0.79ppb であった。各試料中 BPA 濃度の相関性を調べた結果、妊婦母体血-さい帯血 ( $r=0.626$ )、妊婦さい帯血-母乳 ( $r=0.755$ )、不妊症患者血清-腹水 ( $r=0.785$ ) で比較的高い相関関係が得られた。

1)

- (分析ガイドラインによる方法、定量限界 0.5 ppb)

新たに採取されたさい帯血、母体血、母乳及び腹水の試料における、分析ガイドラインによる方法 (対象症例数 221 例) での検討では、血液中からの検出は 2 例のみで、最大 1.7 ppb、特に母体血とさい帯血においては検出されなかった。腹水中からの検出はなかった。2)

- (HPLC-クーロアレイ法)

不妊を主訴とする女性 80 人 (26 - 43 歳) の尿中のビスフェノール A (抱合体) を、HPLC-クーロアレイを用いて分析した。その中央値は、2.2  $\mu\text{mol/g}$  クレアチニンであった。尿中のビスフェノール A は、ほとんどが抱合体の形で存在し、かつ、LC-MS による分析値よりも若干高い値であるのは、分析法によるものと考えられた。3)

### 3 - 2 クロロベンゼン類

- ヘキサクロロベンゼンを分析したが、一般末梢血及び母体末梢血で 100%、さい帯血で 88% に検出され、その濃度範囲は、0.03~0.10ppb であった。また、同一固体から採取した試料中のヘキサクロロベンゼン濃度について、末梢血と腹水との間に有意な正の相関関係 (順位相関関係数=0.722、n=12、p=0.017) が認められた。1)

### 3 - 3 パラベン類

- メチルパラベンとして、さい帯血や母乳から検出され、妊婦が暴露を受けたパラベン類が、血液を介して母乳やさい帯血に移行したことが推定された。1)

### 3 - 4 フタル酸エステル類

- 抹消血中、腹水中に、フタル酸モノブチル (MBP)、フタル酸モノベンジル (MBzP)、フタル酸モノ-2-エチルヘキシル (MEHP) が、平均で 1~5ng/mL の濃度で検出された。1)

- DEHP (分析ガイドラインによる方法、定量限界 10.0 ppb)

新たに採取されたさい帯血、母体血、母乳及び腹水の試料における、分析ガイドラインによる方法 (対象症例数 221 例) での検討では、血液中からの検出は 12 例のみで、最大 32.0 ppb、特に母体血とさい帯血においては検出されなかった。腹水中からの検出は 4 例のみで、最大 35.0 ppb であった。2)

- 職域暴露集団での横断面研究で得られた尿サンプル (取り扱い作業員 94 名、対照者 102 名) について、尿中フタル酸エステル類代謝物 (フタル酸モノブチル、フタル酸モノエチルヘキシル) が分析されたが、取り扱い作業員では、フタル酸モノブチルが 12.4 - 22836.9  $\mu\text{g/g}$  クレアチニン、フタル酸モノエチルヘキシルが 1.1 - 9753.2  $\mu\text{g/g}$  クレアチニン、と高いレベルで代謝物が検出された。一般住民のフタル酸エステル類の暴露



レベルは、かなり低いことが報告されているが、職域ではかなりの暴露を受ける集団が存在することが確認された。3)

○ 《水道における研究》

水道水を通じた暴露量評価については、以前の調査結果で検出頻度が高かったフタル酸エステル類 (DEHP、フタル酸ジ-n-ブチル (DNBP)) について、詳細に調査された。全国 10 水道事業体の 11 浄水場 (急速ろ過方式 10 か所、緩速ろ過方式 1 か所) を対象に、各浄水場において各 1 回、原水 (河川水、湖沼水、ダム水、地下水) 及び浄水 (浄水場出口の水) の調査を行い、さらに上記の浄水場中の 4 浄水場 (急速ろ過方式) を対象に、月ごとの汚染状況の変動を把握するため、月 1 回、原水及び浄水の調査を行った。

全国調査の結果では、原水中の DEHP は、平均値が 0.18  $\mu\text{g/L}$  (範囲が $<0.05\sim 1.0$   $\mu\text{g/L}$ ) で、浄水中は、平均値が 0.02  $\mu\text{g/L}$  (範囲は $<0.05\sim 0.10$   $\mu\text{g/L}$ ) であった。DNBP については、原水中が、平均値は 0.05  $\mu\text{g/L}$  (範囲は $<0.05\sim 0.10$   $\mu\text{g/L}$ ) 浄水中は、すべて $<0.05$   $\mu\text{g/L}$  であった。また、4 浄水場すべてにおいて、調査期間における原水中の濃度変動は、それほど大きくなかった。ただし、ある浄水場については、原水より浄水で濃度が高くなる場合が多く、浄水の最大濃度は、DEHP、DNBP でそれぞれ 0.31 及び 0.27  $\mu\text{g/L}$  であった。この浄水中の最大濃度は、現在の TDI と比較した場合、非常に小さい値 (DEHP については 0.004~0.016%、DNBP については 0.008%) であることが判明した。4)

### 3 - 5 ベンゾ(a)ピレン

○ ベンゾ(a)ピレンは、モノヒドロキシベンゾ(a)ピレン(OH-BaP)として男子尿中から検出された。1)

### 3 - 6 PCB

○ 母体、母体末梢血、さい帯血中で 35 種の同族体及び異性体として検出され、その濃度範囲は脂肪当たり 60-99ng/g であった。1)

○ 剖検症例を用いた暴露状況は、以下のように要約される。剖検症例の肝 (57 検体)、腸間膜脂肪 (54 検体) 及び腹壁脂肪 (54 検体) において、脂肪重量当たりの mono-ortho PCB (8 種類) の平均値は、それぞれ 8.95、19.16 及び 20.59pg/g (TEQ 表記) で、肝はその約 1/2 であった。di-ortho PCB も、11.36、24.79 及び 20.59 (TEQ 表記) であり、肝はその約 1/2 であった。測定した 12 種類の PCB のそれぞれの相対比は、肝、腸間膜脂肪及び腹壁脂肪いずれも同じ傾向を示した。また、血液 (38 件) 及び胆汁 (42 件) では、血中 Mono-ortho-PCBs 濃度は、肝臓、脂肪組織中の Mono ortho-PCBs 濃度と同様に、2,3',4,4',5 PenCB (#118) の濃度が最も高く、平均 159 $\pm$ 156ppt であった。次に高かった 2,3,3',4,4',5-HexCB (#156) の濃度は、平均 74 $\pm$ 52ppt であった。胆汁中の Mono-ortho-PCBs 濃度も血液中と同様に、それぞれ#118 の濃度が平均 347 $\pm$ 194ppt で、#156 の濃度は平均 171 $\pm$ 99ppt で高かった。また、胆汁中の総 Mono-ortho-PCBs 濃度は、血液中の約 2 倍であった。5)

### 3 - 7 ダイオキシン類

○ 剖検症例を用いた暴露状況は、以下のように要約される。血液、胆汁 (57 検体) でのダイオキシン濃度は、それぞれ 42.6 $\pm$ 24.3 pg TEQ /gfat、43.4 $\pm$ 30.8 pg TEQ /gfat

であった。肝臓中は  $127.2 \pm 53.4$  pg TEQ /gfat であった。また、血液中と胆汁中の濃度がよく相関しており、肝では脂肪重量当たりの濃度が血液中、胆汁中濃度よりも高かった。胆汁からの排泄量は、ダイオキシンの異性体種類により差異が認められた。OCDD が一番高濃度であり PeCB、HxCB がそれに続く。それ以外では、1,2,3,6,7,8HxCDD、TeCB、2,3,4,7,8-PeCDD、1,2,3,4,6,7,8HpCDD、が高い傾向を示した。各異性体パターンは、ほぼ血液に似ているが HxCDF、HpCDF では血液の約  $1/2$  の濃度、HxCDD では血液の約  $2/3$  の濃度、HpCDD、OCDD で約  $1/2$  の濃度、TeCB では約  $1/2$  の濃度でその他の異性体はほぼ同等の濃度であった。肝臓では、PCDDs、コブラーナー PCBs とともに、全般的に濃度が高く濃度順には OCDD、PeCB、HxCB、1,2,3,4,6,7,8-HpCDD、1,2,3,6,7,8HxCDD、TeCB、2,3,4,7,8-PeCDD と続いた。1,2,3,4,6,7,8-HpCDF は、胆汁の約 20 倍、血液の 10 倍の濃度があり、1,2,3,4,7,8,9-HpCDF は胆汁の 10 倍、血液の 8 倍、OCDD に関しては血液の約 5 倍、胆汁の約 9 倍の濃度であった。

腎臓、脾臓、膵臓、肺では、それぞれ 138、113、163 及び 178 pg-TEQ/g 脂肪（平均値）の蓄積が認められ、同族体ごとの蓄積パターンは、他の臓器と同様であった。Whole ベースにすると平均総ダイオキシン類濃度は、膵臓中の濃度が他の 20~30 倍高濃度であるが、脂肪ベースで比較した場合、ほぼ同じ濃度レベルであった。各 7 症例であるが中枢神経及び乳腺中のダイオキシン類は、中枢神経では肝と同レベル、乳腺では脂肪組織と同レベルで蓄積していた。

年齢、性別と化学物質の蓄積の相関を検討したところ、年齢の増加に伴ってダイオキシン・PCB の蓄積が増加することが明らかとなった。臭素系ダイオキシン (polybrominated diphenyl ether (PBDE) の 25 の異性体 (BDE-#17, 25, 28, 30, 32, 33, 35, 37, 47, 49, 66, 71, 75, 77, 85, 99, 100, 116, 119, 126, 138, 153, 154, 155, 166)) は、血液、胆汁、肝臓、脂肪組織でそれぞれ、 $4,087 \pm 4,428$ 、 $2,953 \pm 2,916$ 、 $4,001 \pm 3,191$ 、 $5399 \pm 4826$  pg/g 脂肪であった。測定した 27 の異性体のうち、2,2',4,4'-tetraBDE (#47)、2,2',4,4',5,5'-hexaBDE (#153) の濃度が高く全体の 70% を占めた。心血と胆汁の濃度の相関及び心血と肝組織中の濃度の相関係数は、それぞれ 0.64、0.60 であり、ダイオキシン類と同様に胆汁からの排泄のあることが示された。5)

○ (高感度 CALUX ; 検出限界 4.0pg/mlTEQ/g blood)

若年男性 47 名 (平均年齢 20.0 歳) の血液中のダイオキシン (PCDDs/Fs 分画) 濃度を測定し、平均  $10.18(4-19)$  pg/TEQ の暴露が認められた。本測定におけるダイオキシンの濃度レベルは、CALUX による香山らの他の調査における測定レベルが 20pgTEQ/gfat 以上の検体が多かったことと比較して、全体に低いレベルであったと考えられる。CALUX 法は一般に HRGC/HRMS による分析値と比べて数値が 2 から 3 倍ほど高めに出る性質があるといわれているが、今回の生体試料での測定では約 1 倍と、HRGC/HRMS による分析値と大きく異なるという傾向が見られている。6)

### 3 - 8 クロロデン

- trans-ノナクロルが 63%(0.06~0.17ppb)に、cis-ノナクロルが 17%(0.03~0.05ppb)に検出されたが、ヘプタクロロエポキシド、オキシクロロデン、trans-クロロデン及び cis-クロロデンは、いずれの試料からも全く検出されなかった。1)

### 3 - 9 有機スズ化合物

- トリブチルスズは、測定法によって差があるものの、毛髪試料の 33~77%に検出(5~44ppb)され、同一家族から高濃度に検出(41~45ppb)された例を平成 11 年に報告している。1)
- 剖検症例を用いた暴露状況は、以下のように要約される。モノブチルスズ、ジブチルスズ及びトリブチルスズは、肝臓湿重量(27例)当たりそれぞれ6.0~28、6.5~71、検出限界以下・3.4 ng cation/gであった。また、胆汁(17例)では、それぞれ、6.0・21、1.0・13、検出限界以下・3.0 ng cation/gであった。5)

### 3 - 10 4-ノニルフェノール

- (分析ガイドラインによる方法、定量限界 5 ppb)

新たに採取されたさい帯血、母体血、母乳及び腹水の試料における、分析ガイドラインによる方法(対象症例数 221例)での検討では、血液中からの検出は17例で、最大25.0 ppb、特に母体血とさい帯血においては検出されなかった。腹水中からの検出は9例で、最大19.0ppbであった。2)

### 3 - 11 ハロゲン化炭化水素系殺虫剤

- (ヘッドスペースガスクロマトグラフ法(HS-GC法); 定量範囲: 0.5~500 µg/mL  
検出限界: 0.5 µg/ml)

生産工場の男性従業員(暴露作業員)及び非暴露対照者において、尿中又は血中の代謝物量測定による暴露量評価を行った。

生産工場の男性従業員の尿中臭化物イオン濃度測定結果は、原体取り扱い作業員(n=13)で $15.9 \pm 7.7 \mu\text{g}/\text{mgCRE}$ (範囲は5.7-35.0 µg/mgCRE)、充填作業員(n=22)で $15.6 \pm 6.2 \mu\text{g}/\text{mgCRE}$ (範囲は7.1-30.3 µg/mgCRE)と、非暴露者(n=96)  $8.9 \pm 3.5 \mu\text{g}/\text{mgCRE}$ に比べ高い結果が得られた。同様に、平均血清中臭化物イオン濃度は、原体取り扱い作業員で $12.9 \pm 4.7 \mu\text{g}/\text{mL}$ (範囲は6.3-21.2 µg/mL)、充填作業員で $12.2 \pm 5.0 \mu\text{g}/\text{mL}$ (範囲は5.0-25.3 µg/mL)と、非暴露者(n=97)の値 $5.2 \pm 1.6 \mu\text{g}/\text{mL}$ に比べ有意に高値を示した。測定された暴露レベルは、過去14年間ほぼ同様で、生産工場従業員は一般生活者集団に比べ代謝物量からみて暴露量が多いが、集団として有意な生殖次世代影響は見いだされなかった。7)

### 3 - 12 有機リン系殺虫剤

- ペンタフルオロベンジルプロマイド誘導体化によるガスクロマトグラフ質量分析計法(GC/MS法); 定量限界: DMP 1.0 µg/L、DEP 0.3 µg/L、DMTP 0.3 µg/L、DETP 0.3 µg/L (S/N ratio =10); 検出限界: DMP 0.3 µg/L、DEP 0.1 µg/L、DMTP 0.1 µg/L、DETP 0.1 µg/L (S/N ratio =3)

殺虫剤暴露職域集団及び非暴露対照集団において、代表的な代謝産物の4種類のジアルキルリン酸を対象に、尿中濃度を測定した。

暴露作業員(n=52)については DMP  $76.4 \pm 164.4 \mu\text{g}/\text{L}$ (範囲は定量下限値未満-880 µg/L、中央値17.2 µg/L); DEP  $3.7 \pm 15.7 \mu\text{g}/\text{L}$ (定量下限値未満-112 µg/L、中央値0.4 µg/L); DMTP  $21.8 \pm 47.5 \mu\text{g}/\text{L}$ (定量下限値未満-216 µg/L、中央値2.2 µg/L); DETP  $2.7 \pm 5.4 \mu\text{g}/\text{L}$ (定量下限値未満-22 µg/L、中央値0.2 µg/L)、

非暴露対照者 (n=18) ではDMP 35.4±37.7 µg/L (定量下限値未満-127 µg/L、中央値 20.1 µg/L); DEP 6.0±9.3 µg/L (定量下限値未満-31 µg/L、中央値 1.3 µg/L); DMTP 20.6±47.4 µg/L (定量下限値未満-191 µg/L、中央値 2.7 µg/L); DETP 4.3±7.8 µg/L (定量下限値未満-33 µg/L、中央値 1.4 µg/L) であった。すなわち、尿中の4種類のジアルキルリン酸濃度の中央値は、暴露群、非暴露対照群ともほぼ等しい値であったが、一部の暴露作業者にDMP濃度の高い者がみられた。また、非暴露集団について今回の測定対象者では、米国での測定結果に比べDMP濃度が高い傾向にあり、今後より大規模に暴露評価を行う必要があると考えられた。7)

### 3 - 1 3 有機塩素化合物 ( D D T、 P C B、ダイオキシン類等 )

- 有機塩素化合物の脂肪組織中 (45 例) の残留パターンは、DDTs>PCBs>HCHs<sup>1</sup>>CHLs<sup>2</sup>>HCB<sup>3</sup>>TCPMe<sup>4</sup>>TCPMOH<sup>5</sup>の順であった。脂肪組織中のTCPMeとTCPMOH濃度は、脂肪重量当たりでそれぞれ2.7・44 (平均18) ng/gと0.28-31 (平均12) ng/gであり、DDTs濃度よりほぼ2桁低値であった。肝臓のTCPMeとTCPMOH濃度は、1.1-20 (平均7.0) と<4.0-38 (平均19) ng/g lipid wt.であった。胆汁中のTCPMe濃度は、<5.0-62 (平均17) ng/g lipid wt.であり、肝臓よりいくぶん高値を示したが、TCPMOH濃度は検出限界以下であった。脂肪中DDTs濃度は、160-8100 (平均2300) ng/g lipid wt.であり、分析した有機塩素化合物の中で最も高いレベルであった。脂肪組織のHCHs、CHLs、そしてHCB濃度は、以前の報告と同レベルであった。脂肪組織のHCHs濃度は、47-3200 (平均680) ng/g lipid wt.であり、CHLs (平均310 ng/g lipid wt.) やHCB (平均60 ng/g lipid wt.) より高値を示した。5)
- さらに、生体における、PCB、ダイオキシン類の暴露状況については、まず児への影響を重視して、北海道地区において、胎内・乳児期暴露のバックグラウンドレベルの暴露量を測定する調査が進行しており、30歳未満の妊婦で、Non-ortho PCBs、Mono-ortho PCBs、Coplanar-PCBs、Totl-TEQが低く、初産の妊婦で、PCDDs-TEQ、PCDFs-TEQ、DDDF、Totl-TEQが高いという結果であった。これまでに行われた本邦一般環境地域における血液中ダイオキシン値に比べて低い傾向がみられた。8)
- さらに、不妊を主訴とする女性80人 (26 - 43歳) でのダイオキシン類、PCB類、有機塩素系農薬類の分析では、Total TEQの中央値は25.1 pg TEQ/g lipidであった。2,3,7,8-TCDDについては、9% (7/80) に検出され、検出された人での範囲は1.7 - 4.2 pg/g lipidであった (定量下限値は1.7 - 12.2 pg/g lipid)。血清中のダイオキシン類、PCB類、有機塩素系農薬類のレベルは、魚類の摂取頻度が多いほど高くなる傾向がみられた。他の食品ではこのような傾向はみられなかった。3)

---

<sup>1</sup> ヘキサクロロヘキサン

<sup>2</sup> クロルデン

<sup>3</sup> ヘキサクロロベンゼン

<sup>4</sup> tris (4-chlorophenyl) methane

<sup>5</sup> tris (4-chlorophenyl) methanol

### 3 - 1 4 有機フッ素系化合物 (PFOS<sup>6</sup>、PFOA<sup>7</sup>、PFOSA<sup>8</sup>)<sup>9</sup>

- 我が国の一般住民の暴露レベルを調べるために、10地域の272人(各地域23 - 33人)の地域住民(40 - 77歳)の血清を分析したところ、すべてのサンプルからPFOSを検出された。その中央値は、26.2 ng/ml (2.8 - 271.1 ng/ml)であった。また、年齢とともに上昇する傾向がみられた。PFOAは、91人のみで検出、PFOSAは、検出されなかった。地域によってそのレベルに差がみられたことから、生活習慣等の暴露源についての検討を行っている。PFOSについては、全員から一定以上のレベルで検出されたことから、その健康影響の有無についても検討する必要があると考えられた。3)

### 3 - 1 5 植物エストロゲン

- 不妊を主訴とする女性80人(26 - 43歳)での尿中のイソフラボノイドを、HPLC-クーロアレイを用いて、ダイゼイン、ゲニシュタイン、glyciteinについて分析した。それぞれの中央値は、4.0、3.2、0.6 μmol/g クレアチニンであった。エクオールは、21%の対象者で検出された。3)
- 妊婦配偶者(すなわち生殖能力が証明された男性、平均31.6歳)において、血清中の植物エストロゲン濃度の平均値(最低値-最高値)(μg/ml)は、エクオール:14.6(0.006-412.7)、ダイゼイン:67.0(2.7-445)、ゲニシュタイン:172.4(3.5-1516.3)で、男子大学生(平均20.4歳)では、エクオール:6.7(0.071-170.9)、ダイゼイン:46.5(1.8-305.9)、ゲニシュタイン:73.0(0.1-1007.8)であった。6)
- (HPLC-Couloarray; 検出限界 ダイゼイン:5ng/ml、ゲニシュタイン:15ng/ml、エクオール:2.5ng/ml)

植物エストロゲンは、食事摂取時間と試料採取時期とに強く影響することが知られているが、尿中、血中エクオールは直前食事の影響がなく比較的安定した結果を得るとされている。このエクオールは、ダイゼインが腸内細菌叢により変化を受けることにより産生されるので食生活や腸内細菌叢の状態を反映するもの考えられる。9)

### 3 - 1 6 重金属

- 剖検症例を用いた暴露状況は、以下のように要約される。肝臓(18例)における、水銀は0.08以下-1.49mg/g 乾燥重量、鉛は0.095-1.38mg/g 乾燥重量、カドミウムは1.05-22.6mg/g 乾燥重量であった。5)

### 3 - 1 7 揮発性有機化合物(トルエン、ベンゼン、キシレン、スチレン、パラジクロロベンゼンなど)

- その他の環境汚染化学物質の暴露状況と比較する意味で、測定を行った。抹消血、腹水中に0.6~4.0ppbの濃度で検出され、トルエンが80%に、パラジクロロベンゼンが49%に、o-キシレンが29%に、スチレンが26%に検出された。なお、ナフタレンは全く検出されなかった。1)

<sup>6</sup> Perfluorooctane sulfonate

<sup>7</sup> Perfluorooctanoate

<sup>8</sup> Perfluorooctane sulfonylamide

<sup>9</sup> 撥水剤、フッ素樹脂、界面活性剤等の原料として幅広く利用されている。

#### 4 生体暴露量の考え方

生体暴露量は、健康リスクを考える上で重要であるが、生体試料中の化学物質の測定値の解釈に当たっては、以下の点に留意する必要がある。

まず、当該化学物質の生体内、特に血中の半減期を勘案して測定値を評価せねばならない。例えば、BPAは、生体内から速やかに排泄されるので測定値が必ずしも最大暴露量を意味しない。

また、生体内での代謝も重要である。例えば、フタル酸は、体内で速やかにモノエチル、ジエチル体に代謝されるので、血中のフタル酸を測定するのではなく、その代表的な代謝産物の血中の値のほうが、より生体暴露量を正確に反映することがある。今後は、尿中代謝産物をマーカーとして逆に生体暴露量を推計する方法も検討すべきであろう。

次に、試料そのものの採取時の汚染の問題が挙げられる。生体暴露量の測定は、試料中の微量な化学物質を検出する必要があり、その精度を確保するためにも、この問題は避けて通れない。試料採取の器具の選択も重要であるが、案外見逃されているのは、試料を採取する場所・室の空気の汚染の問題である。この問題を解決するためには、同様な測定系を用いたブランク試料の測定値、いわゆるバックグラウンド値に常に注意を払う必要がある。

分析ガイドラインに沿った測定法を用いても、化学物質の測定に関してはその精度管理が欠かせない。このためには上述のバックグラウンド値、採取時の試料の汚染の問題のほか、同一試料のダブルチェック測定を適宜行う必要がある。

生体試料の測定値は、必ずしも真の生体内の物質濃度を意味しないことがある。例えば、測定物質に対してエピトープを有する抗体との抗原-抗体反応を応用する測定法であるELISA法やRIA法ではその絶対値が高値に測定されることがある。

#### 5 生体内での作用発現

生体暴露量の解析について重要な点は、ヒト生体内での作用機序の検討である。具体的には、(1) ヒト体内におけるこれら物質の受容体の有無、(2) ホルモン様作用発現の有無、(3) ヒト生体内での代謝・解毒のメカニズム、などの検討である。

##### (1) ヒト体内におけるこれら物質の受容体の有無

いわゆる内分泌かく乱化学物質のヒト生体内受容体については、ヒト副腎皮質由来(H295R細胞)、ヒト乳腺細胞(T47D)などに、生体内エストロゲンと同様の受容体が存在することを見出した。さらにヒト子宮内膜細胞(HHUA)、ヒト乳腺由来細胞(MCF-7)を用いて、受容体について更に詳細に検討すると、これらの物質はエストロゲンの $\alpha$ と $\beta$ の受容体と結合することが確かめられた。受容体については、さらに、既知の受容体の他に、未知のいわゆるオーファン受容体の存在の有無についても検討された結果、レチノイン酸関連の受容体も関与することが明らかになった。

##### (2) ホルモン様作用発現の有無

生体内での作用発現については、農薬である p,p' -DDT、p,p' -DDD、p,p' -DDE、 $\alpha$ ,p' -DDT、 $\alpha$ ,p' -DDD 及び dicofol、フラボノイドである 6-hydroxyflavone、apigenin、ダイゼイン、ゲニシュタイン、biochanin A 及び formononetin、有機スズである

bis(tributyltin) oxide (TBTO)、tributyltin chloride (TBT)、diphenyltin dichloride (DBT) 及び triphenyltin chloride (TPT) は、ヒト副腎皮質細胞に対して、そのコルチゾール産出を抑制することが判明した。また乳腺細胞、子宮内膜細胞の増殖を刺激することも確認された。さらにマウスでは、トリブチルスズが免疫系に作用して経口免疫寛容の誘導に影響を及ぼすことが示唆されること、及びベンゾ(a)ピレンはラットの栄養膜幹細胞株 (TS 細胞) の分化過程に影響を及ぼすことを見出した。またフタル酸エステルがゲノム DNA メチル化状態を変えることで広範にわたる遺伝子発現に影響を及ぼしている可能性が示された。

生体内に実際に存在するこれら化学物質の量 (体内負荷量) の範囲でどのような作用が発現するか否かの検討が進行中である。

### (3) ヒト生体内での代謝・解毒のメカニズム

代謝・解毒の検討は、まだ今後の研究に多くの余地が残されている。

BPA を例にとると、ラットではその大部分は消化管と肝臓でグルクロン酸抱合されることが判明した。一方、腎臓では代謝は行われず、ろ過・排泄されるのみであると推察された。グルクロン酸抱合体を分解してもとの化学物質に戻す酵素 ( $\beta$ -グルクロニダーゼ) の存在も見出し、新たな分子種の発見と共にさらにヒト生体内での作用を明らかとする知見が蓄積されつつある。

## 6 今後、必要な調査研究等の課題の提言

引き続き、内分泌かく乱作用が疑われるその他の環境汚染化学物質についても、同一母体の複数部位からの生体試料の採取及び濃度分析データの蓄積を行い、また当該母体の胎児からも同様に生体試料の採取及び濃度分析データの蓄積を行うことにより、母体からの暴露の実態を解明することが目標となる。

さらに、これらの物質が生体内に実際に存在する量 (体内負荷量) の範囲で、生体にどのような作用を発現するか否か、代謝・解毒の全容も含めて明らかにすることが求められる。

## 7 引用文献等

- 1) 厚生科学研究 H11-13 「内分泌かく乱化学物質に関する生体試料(さい帯血等)分析法の開発とその実試料分析結果に基づくヒト健康影響についての研究(主任研究者: 牧野恒久 東海大学医学部教授): 測定対象としたヒト生体試料は、主として(a)さい帯血、(b)母体血、(c)母乳、(d)腹水などで、可及的に一個体から(a)~(d)を同時採取し、同一個体内での臓器間の濃度勾配も検討した。
- 2) 今回、採取・分析法作業班により示された分析ガイドライン (BPA、DEHP 及び NP) に従って、これまでに、同一母体の複数部位からの生体試料を含む 416 検体について行われた分析データ (牧野班)
- 3) 厚生科学研究 H15 「内分泌かく乱化学物質の健康影響に関する疫学研究 (主任研究者: 津金昌一郎 国立がんセンター予防研究部長) (津金班)  
厚生科学研究 H14 「内分泌かく乱化学物質の健康影響に関する疫学研究(主任研究者: 津

金昌一郎 国立がんセンター臨床疫学研究部長)

Tsugane, S., et al.: Validity and reproducibility of the self-administered food frequency questionnaire in the JPHC study Cohort 1: Study design, conduct and participant profiles. *Journal of Epidemiology* 13 S2 - S12 (2003)

Ishihara, J., et al.: Validity and reproducibility of the self-administered food frequency questionnaire in the JPHC study Cohort 2: Study design, comparison with Cohort 1. *Journal of Epidemiology* 13 S134 - S147 (2003)

- 4) 国包章一ほか. 厚生科学研究費補助金(生活安全総合研究事業)「内分泌かく乱化学物質の水道水からの暴露等に関する調査研究」平成10年度研究報告書(主任研究者、国包章一); 1999.3. (国包班)
- 5) Polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans and non-ortho, mono-ortho chlorine substituted biphenyls in Japanese human liver and adipose tissue.  
Takenaka S, Todaka T, Nakamura M, Hori S, Iida T, Yamada T, Hata J  
*Chemosphere* 49(2):161-172, 2002  
Dioxins in bile in relation to those in the human liver and blood.  
Kitamura K, Nagao M, Yamada T, Sunaga M, Hata J, Watanabe S  
*J Toxicological Sciences* 26(5): 327-336, 2001  
Specific accumulation and elimination kinetics of tris(4-chlorophenyl) methane, tris(4-chlorophenyl)methanol and other persistent organochlorines in humans from Japan. Minh, T.B., Watanabe, M., Tanabe, S., Yamada, T., Hata, J. and Watanabe, S. *Environmental Health Perspectives* 109 (9): 927-935, 2001  
Occurrence of tris(4-chlorophenyl)methane, tris(4-chlorophenyl)methanol and some other persistent organochlorines in Japanese human adipose tissue. Minh, T.B., Watanabe, M., Tanabe, S., Yamada, T., Hata, J. and Watanabe, S. *Environmental Health Perspectives* 108(7): 599-603, 2000 (山田班)
- 6) 平成14年度厚生労働科学研究費補助金「男性生殖機能調査より得られた試料中の生体曝露量」(主任研究者 岩本晃明 聖マリアンナ医大泌尿器科教授)(岩本班)
- 7) 厚生労働科学研究 食品・化学物質安全総合研究事業「化学物質によるヒト生殖・次世代影響の解明と内分泌かく乱作用検出のための新たなバイオマーカーの開発」平成14年度研究報告書(主任研究者: 那須民江 名古屋大学大学院医学系研究科教授)  
厚生労働科学研究 食品・化学物質安全総合研究事業「化学物質によるヒト生殖・次世代影響の解明と内分泌かく乱作用検出のための新たなバイオマーカーの開発」平成15年度研究報告書(主任研究者: 那須民江 名古屋大学大学院医学系研究科教授)  
M. Kamijima, H. Hibi, M. Gotoh, K. Taki, I. Saito, H. Wang, S. Itohara, T. Yamada, G. Ichihara, E. Shibata, T. Nakajima, Y. Takeuchi: A survey of semen indices in insecticide sprayers. *J Occup Health* 46, 109-118 (2004) (那須班)
- 8) 平成14年度厚生労働科学研究費補助金、「内分泌分泌攪乱化学物質の次世代影響に関する前向きコホート研究でのPCB・ダイオキシン類曝露濃度測定について」(主任研究者 岸



玲子 北海道大学大学院医学研究科社会医学専攻公衆衛生学分野教授) (岸班)

- 9) 平成 14 年度厚生労働科学研究費補助金、食品・化学物質安全総合研究事業、「内分泌かく乱物質と大豆等既存食品の発育・癌化及び内分泌かく乱作用の比較」(主任研究者：螺良愛郎)

平成 15 年度厚生労働科学研究費補助金、化学物質リスク研究事業「内分泌かく乱物質と大豆等既存食品の発育・癌化及び内分泌かく乱作用の比較」(主任研究者 螺良愛郎) (螺良班)

## 第4 - 2節 疫学研究

### 1 はじめに

内分泌かく乱化学物質（以下、EDC）の人への健康影響評価は、主として動物やヒト細胞などを用いた実験室での研究に基づいて行われている。しかしながら、実際に人間社会に存在している量の EDC が、人に対して何らかの健康影響を及ぼしているか否かを直接評価するためには、人間集団を対象として行われる疫学研究からの証拠が重要であり、多くの公的機関による化学物質などのリスク評価においては、人への健康影響の存在を示すための必須の情報として位置づけられている。一方で、疫学研究は、自由に生活している人間集団の観察に基づくものなので、偶然・バイアス・交絡という三つの要因の影響を受け、必ずしも因果関係を正しく評価出来ないという限界もある。また、実際に EDC に暴露している集団の存在が必要であり、明らかな影響でない限り、大規模、あるいは長期の観察が必要となり容易には研究を行い得ないという問題もある。

本報告においては、EDC 暴露による健康影響としてその可能性が懸念されている、発がん、甲状腺機能、器官形成、小児神経発達、生殖機能、免疫機能などへの影響に関する疫学研究に基づいた刊行論文について、厚生労働省内分泌かく乱化学物質の健康影響に関する検討会中間報告書追補及びその別冊（平成 13 年 12 月 26 日、厚生労働省医薬局化学物質安全対策室）における暴露疫学等調査・疫学研究に関する記述のもととなった報告書「内分泌かく乱化学物質と人への健康影響との関連－疫学研究からの知見－（平成 13 年 12 月）」のアップデートを行い、現状の EDC の人への健康影響に関する問題の整理を行うと共に、現在、厚生労働科学研究費によってわが国で進行中の疫学研究の進捗状況をふまえて今後の研究の方向性についての提言を試みた。

### 2 各論 - 内分泌かく乱化学物質と健康影響に関する疫学研究の現状 -

#### [ 発がん影響 ]

#### 2 - 1 乳がん

##### [ 要旨 ]

内分泌かく乱化学物質（ダイオキシンを除く）と乳がんに関する疫学研究の現状について文献的考察を行った。米国立医学図書館の医学文献データベース PubMed を利用して選択した文献は 2000 年 12 月 31 日までに 48 件で、コホート研究 6 件、症例対照研究 34 件うちコホート内症例対照研究 10 件、断面研究 4 件、エコロジカル研究 3 件であった。2001 年 1 月 1 日以降はコホート研究 2 件、症例対照研究 18 件うちコホート内症例対照研究 4 件、症例のみ研究 1 件、断面研究 2 件、エコロジカル研究 3 件の報告があった。日本人を対象とした研究は 1 件もなかった。文献的に検討した結果、有機塩素系化合物に関しては明確なリスク上昇についての一貫した証拠は見出せなかった。Diethylstilbestrol については乳がんリスクを上昇させるという結果が複数の前向き研究で報告されており、経口暴露の場合にはリスクの上昇が起これると考えられた。Diethylstilbestrol と有機塩素系化合物以外の内分泌かく乱化学物質と乳がんの関連

に関する研究はきわめて乏しく、研究の必要がある。

#### 〔研究目的〕

有機塩素系化合物などの化学物質の中にはエストロゲン様作用があるものがあるため、これらの物質の暴露と内分泌関連がんである乳がん発生との関連が注目されてきた。動物実験では Diethylstilbestrol や Ethinylestradiol がマウスに乳腺腫瘍を発生させることが報告されている (2000)。これら化学物質と乳がんに関する疫学研究の現状を把握する目的で、文献レビューを行った。

#### 〔研究方法〕

米国立医学図書館の医学文献データベース PubMed

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>) を用いて、(Breast Neoplasms) AND (Insecticides OR Pesticides OR Chlorinated Hydrocarbons OR PCBs OR Bisphenol OR Phenol OR Phthalate OR Styrene OR Furan OR Organotin OR Diethylstilbestrol OR Ethinyl Estradiol) AND (human) のキーワードで文献を検索した。2004 年 10 月 31 日までに出版された候補文献 1317 件の中から、人集団を対象とする疫学研究の原著論文を選択した。さらに必要に応じて、これらの原著論文や、他の総説論文を参考にして論文を選択した。

#### 〔研究結果〕

##### 1. 有機塩素系化合物

PCB と有機塩素系農薬類について、乳がんとの関連を検討した疫学研究はこれまでに数多く報告されている。

##### 1) コホート研究

Saracci らに(1991)によるヨーロッパ 10 ヶ国のコホートを使用した大規模な後ろ向きコホート研究では、クロロフェノキシ除草剤の暴露による SMR の上昇はみられていない。ただし、この研究では罹患は調べられておらず、観察死亡数も少ない。Reynolds ら(2004)による米国カリフォルニアの女性教職員を対象にした前向きコホート研究では、居住地から推定した農薬暴露レベルと乳がんリスクの間には有意な関連は見られていない。

##### 2) コホート内症例対照研究

症例対照研究は多く、2000 年 12 月 31 日まではコホート内研究 10 件、後ろ向き研究 24 件 (人口ベースの研究 3 件、病院ベースの研究 21 件、病院ベースで人口対照を利用したものがそのうち 3 件) が報告されていた。2001 年 1 月 1 日から 2004 年 10 月 31 日の間に新たにコホート内研究 4 件、後ろ向き研究 14 件 (人口ベースの研究 5 件、病院ベースの研究 9 件、病院ベースで人口対照を利用したものがそのうち 1 件) の報告があった。

コホート内研究はいくつかの元になるコホート研究別に分類することができる。米国の Women's Health Study 対象者での研究では、Wolff ら(1993)が DDE と PCB について有意なリスクの上昇を報告している。量反応関係は PCB では明確ではなかった。しかし、Wolff ら(2000)の脂肪を調整した血清中濃度を利用した 2000 年の報告では有意なリスクの上昇はみられていない。米国の Nurse's Health Study 対象者での研究では、Hunter ら(1997)は DDE と PCB についてリスクの上昇を観察していない。また、Laden ら(2001)は、PCB 同族体についてもリスクの上昇を観察しなかった。さらに Laden ら(2002)は、CYP1A1-exon7 の変異型アレルをもつ閉経後女性において統計学的には境界域ながら、血漿 PCB レベルの高い群でのり

スク上昇を報告している。デンマークの Copenhagen City Heart Study 対象者での研究では、Hoyer ら(1998)が dieldrin で量反応関係がある有意なリスクの上昇を観察している。また、Hoyer ら(2000)は PCB138 についても有意なリスクの上昇を観察しているが、他の有機塩素化合物では有意なリスクの上昇はみられていない。さらに Hoyer ら(2001)は、血清 Dieldrin レベルがエストロゲンレセプター陰性乳がんのリスク上昇に有意に関連すること、2002 年には p53 の変異の有無と血清有機塩素系化合物レベルとの関連を検討したところ統計学的には有意ではないものの p53 の変異が有機塩素系化合物の乳がんリスクへの影響を修飾する可能性を報告している。米国コロビアの血清バンクドナーのコホート対象者での研究では、Dorgan ら(1999)が HCB で有意なリスクの上昇を観察したが、dieldrin など他の有機塩素化合物では有意なリスクの上昇はみられていない。米国の CLUE study 対象者での研究では、Helzlsouer ら(1999)は DDE と PCB についてリスクの上昇を観察しなかった。ノルウェーの血清バンクドナーのコホート対象者での研究では、Ward ら(2000)は PCB と有機塩素系農薬類でリスクの上昇を観察していない。米国ニューヨーク州在住者を対象としたコホート研究では、居住地、飲料水、周囲の廃棄物処理場などの環境からの殺虫剤暴露による乳がんリスク上昇を示唆する結果を O'Leary ら(2004)が報告している。

### 3) 後ろ向き症例対照研究

人口ベースの研究では、Millikan ら(2000)は黒人のみで PCB によるリスクの上昇を報告している。また、Romieu ら(2000)のメキシコでの研究では DDE によるリスクの上昇がみられている。カナダの Demers らの 2000 年の研究では、総 PCB とは関連を観察しなかったが、2002 年の詳細な解析の結果、血漿 PCB118、PCB156、また mono-ortho-PCB 同族体のレベルが高い群での有意なリスク上昇を観察している。一方、Pavuk ら(2003)は、Wolff 分類の第 1 グループ (PCB28、52、101) の血清レベルが高い群でのリスク低下を報告している。米国の Gammon ら(2002)は PCB と有機塩素系農薬類でリスクの上昇を観察していない。また有機塩素系化合物の暴露源として居住地や居住期間、魚摂取などを代理の暴露指標とした研究において、Brody ら(2004)は居住地区周辺で使用された農薬の暴露と乳がんリスクの間に有意な関連を観察していないが、McKelvey ら(2004)は居住期間が長いこと、McElroy ら(2004)は閉経前女性において米国 5 大湖で捕れた魚を摂取していることの間に有意な関連を観察している。

病院ベースの研究は 29 件と多いが、何らかの有意なリスクの上昇を観察した研究は半数程度である。Moysich ら(1998)は全 PCB、PCB ピーク数、中程度塩素化 PCB で、Liljegren ら(1998)は閉経後かつエストロゲンレセプター陽性症例において PCB77、HCB で、Olaya-Contreras ら(1998)は DDE で、Moysich ら(1999)は PCB 高濃度暴露群かつ CYP1A1-val キャリアーで、Stellman ら(2000)は PCB183 で、Aronson ら(2000)は閉経前症例において PCB105、PCB118 で、Wolff ら(2000)は DDT で、Woolcott ら(2001)はエストロゲンレセプター陰性症例において DDE で、Charlier ら(2002)は DDT と HCB で、Brophy ら(2002)は 55 歳以下の農業従事経験者で、Charlier ら(2004)は p,p'DDE と HCB で、各々有意なリスクの上昇を観察している。また Charles ら(2001)は DDE で、Mathur ら(2002)は HCH 類、Heptachlor、Aldrin、DDE、DDD、DDT など、各々症例の血中レベルが有意に高いことを報告している。一方 McMready ら(2004)は、PCB 類など 19 種類の有機塩素系化合物と CYP1A1 や GSTM1 など 7 種類の遺伝子多型について、乳がんリスクとの関連、さらにそれらの相互作用を検討し、PCB105、DDE で有意なリスクの上昇を観察し、GSTM1 と Oxychlorane、HCB、 $\beta$ -HCH の間に有意な相互作用を観察している。しかし最終的に対象者数が少ないこと(症例 70 人)と検定を多く繰り返しているため、遺伝子多型により有機塩素系化合物による乳がんリスクが修飾

を受けるとは結論できないと報告している。Holford ら(2000)は、PCB156 で有意なリスク低下を観察しているが、その他の研究、他の物質では乳がんリスクとの有意な関連はみられていない。

#### 4) 断面研究

2000年12月31日までに断面研究と考えられる文献は4件であった。その後2001年1月1日から2004年10月31日の間に新たに2件の報告があった。そのうち、Mussalo-Rauhamaa ら(1990)はHCHについて有意なリスクの上昇を観察している。また、Falck ら(1992)は脂肪組織中のDDEが症例で高いこと( $p=0.07$ )、Guttes ら(1998)はDDEとPCB118が乳房組織中で有意に高いことを報告している。さらにLucena ら(2001)は、乳房組織中のPCB28が症例で有意に高いこと、Ahmed ら(2002)は、健常者の血清DDEレベルが乳がん又は良性乳腺疾患患者に比べ有意に低いこと( $p=0.03$ )を報告している。

#### 5) エコロジカル研究

エコロジカル研究は2000年12月31日までに3件の報告があった。その後2001年1月1日から2004年10月31日の間に新たに3件の報告があった。Grimalt ら(1994)は有機塩素系化合物工場の近隣でHCB暴露を受けている住民のSIRを算出したが、有意なリスクの上昇はみられなかった(SIR: 1.3)。Kettles(1997)らのエコロジカル研究では、米国ケンタッキー州の120の郡について、農薬使用量などから計算した triazine 暴露の程度別にORを算出し、暴露が大きい地域で有意なリスクの上昇を観察している。しかしHopenhayn-Rich ら(2002)は、米国ケンタッキー州の120の郡について、水道水測定値、トウモロコシ作付面積、Atrazine 販売量から計算した Atrazine 暴露量と乳がん罹患率の間には有意な関連は観察されなかったと報告している。Schreinemacher ら(2000)のエコロジカル研究では、米国の3つの州の152の郡について、クロロフェノキシ除草剤で処理する麦の作付面積別にSRRを算出したが、リスクの上昇は観察しなかった。Janssens ら(2001)は、ベルギーの地方自治体別の乳がん死亡率とジャガイモ作付面積、枯葉剤使用量の間に関連を観察している。Koifman ら(2002)は、ブラジルの11州における殺虫剤売上高と乳がん死亡率の相関を検討し、40-69歳代の乳がん死亡率と有意な相関を報告している。

## 2. Diethylstilbestrol

Diethylstilbestrol (DES)と乳がんとの関連については、2000年12月31日までに米国でのコホート研究が5件報告されていたが、その後2001年1月1日から2004年10月31日の間に新たに1件の報告があった。Bibbo ら(1978)はRCTのデザインで1951-1952年にDES投与を受けた女性2162名を1976-1977年まで追跡したが罹患率の有意な増加は観察していない。Brian ら(1980)のMayo ClinicでDES投与を受けた女性408名を後ろ向きに追跡した研究においても罹患数の増加はみられていない。一方、Colton ら(1993)は1940-1960年にDES投与を受けた母親3029名と同数のそうでない母親を1989年に調査し有意な罹患の増加(RR: 1.29)を報告している。また、Calle ら(1996)の約50万人の妊婦を1982-1991年まで前向きに追跡した調査でも有意な死亡の増加(RR: 1.34)がみられている。Titus-Ernstoff ら(2001)も1950年代と1980年代の2つのコホートの7560名を1994年まで前向きに追跡して有意な死亡の増加(RR: 1.27)を報告している。しかしPalmer ら(2002)は、3つのコホートからなる6916人を平均19年追跡した研究では、有意な罹患率の増加(RR: 1.4)を観察していない。

### 3. その他の物質

有機塩素系農薬類以外については、Aschengra ら(1998)の人口ベースの症例対照研究1件のみで、アルキルフェノール類、ビスフェノールAなどについて調べているが、有意なリスクの上昇はみられていない。また、暴露された外来性のエストロゲン様物質の種類が増えてもリスクの上昇はみられなかった。この研究では暴露歴は職歴から評価している。

#### 〔考察〕

DESと乳がんの関連については、最近のコホート研究の結果は弱いリスクの上昇で一致している。DES暴露量との関係が不明確であるが、内服で投与されるような暴露量の場合は30%程度のリスクの上昇が起こると評価することができる。ただし、暴露からの期間が長くなるほどリスクが上昇するという傾向はみられていない。

有機塩素系化合物に関する症例対照研究は多かった。病院ベースの研究がもっとも多く、その中で何らかのリスクの上昇を観察した研究は半数程度であり、有意になった物質も一致していなかった。病院ベースの研究は研究の質にばらつきがあり、単純に研究の数だけでは評価できない。より信頼性の高いコホート内症例対照研究では、dieldrin、ある種のPCB同族体、HCBでリスク上昇が観察されている。ただし、コホート内研究間でも結果は一致していない。有機塩素系化合物については、リスクの上昇があったとしても小さく、バイアスによってリスクが容易に検出できなくなってしまうことも考えられる。PCBとDDEについては、Ladenら(2001)が北米での5つの症例対照研究(コホート内2、後ろ向き3)をプール分析しているが、有意なリスクはみられなかった。またLopez-Cervantesら(2004)は、p,p'DDEに関して検討した22件の研究(コホート内症例対照研究9件、人口ベースの研究5件、病院ベースの研究7件、病院ベースで人口対照を利用したものがそのうち1件)をメタ・アナリシスしたところ、有意なリスク上昇は見られなかったと報告している。しかし、代謝酵素遺伝子多型で層別解析した時に有意なリスクがみられた研究や症例のみ研究にてCYP1B1のValアレルを持つ女性では、特に環境からの有機塩素系化合物の暴露(農業上の暴露、廃棄物処理場周辺の居住による)による乳がんリスク上昇の影響を受けやすいことを示唆する結果を報告したSaintotら(2004)の研究もあり、今後は、さらに遺伝-環境相互作用を考慮した研究を行う必要もあるかもしれない。有機塩素系化合物については現状ではリスクの上昇があるとは判断できない。

DESと有機塩素系化合物以外の化学物質に関する研究は1件のみで、血清中濃度などバイオマーカーを利用した研究はなかった。

以上のように、化学物質と乳がんとの関連についての疫学研究の知見は、DESと有機塩素系化合物については多いが、それら以外の物質に関する研究は現状ではほとんどなく、因果関係を評価することは不可能であった。今後は、DDEと有機塩素系化合物以外の物質について研究を行う必要がある。また、日本人における研究は1件もなく、乳がんの罹患率が比較的低いイソフラボンなどの環境要因や遺伝的な差を考慮すると、日本人での研究が必要であると考えられる。

#### 〔結論〕

化学物質と乳がんについての疫学研究をレビューしたところ、現時点での知見では、有機塩素系化合物に関しては明確なリスクの上昇があるという証拠はなかった。DESについては乳がんリスクを上昇させるという結果が複数の前向き研究で報告されていた。DESと有機塩素系化合物以外の化学物質と乳がんの関連に関する研究はきわめて乏しく、両者の因果関係を適切に

評価することは不可能であった。この点については信頼性の高い研究デザインを用いた研究の必要性が示唆された。

〔参考文献〕

Ahmed MT, Loutfy N, El Shiekh E. Residue levels of DDE and PCBs in the blood serum of women in the Port Said region of Egypt. *J Hazard Mater*. 2002 Jan 4; 89(1): 41-8.

Alavanja MC, Samanic C, Dosemeci M, Lubin J, Tarone R, Lynch CF, Knott C, Thomas K, Hoppin JA, Barker J, Coble J, Sandler DP, Blair A. Use of agricultural pesticides and prostate cancer risk in the Agricultural Health Study cohort. *Am J Epidemiol*. 2003 May 1; 157(9): 800-14.

Aronson KJ, Miller AB, Woolcott CG, Sterns EE, McCready DR, Lickley LA, Fish EB, Hiraki GY, Holloway C, Ross T, Hanna WM, SenGupta SK, Weber JP. Breast adipose tissue concentrations of polychlorinated biphenyls and other organochlorines and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;9(1):55-63.

Aschengrau A, Coogan PF, Quinn M, Cashins LJ. Occupational exposure to estrogenic chemicals and the occurrence of breast cancer: an exploratory analysis. *Am J Ind Med* 1998;34(1):6-14.

Bagga D, Anders KH, Wang HJ, Roberts E, Glaspy JA. Organochlorine pesticide content of breast adipose tissue from women with breast cancer and control subjects. *J Natl Cancer Inst* 2000;92(9):750-3.

Bibbo M, Haenszel WM, Wied GL, Hubby M, Herbst AL. A twenty-five-year follow-up study of women exposed to diethylstilbestrol during pregnancy. *N Engl J Med* 1978;298(14):763-7.

Brian DD, Tilley BC, Labarthe DR, O'Fallon WM, Noller KL, Kurland LT. Breast cancer in DES-exposed mothers: absence of association. *Mayo Clin Proc* 1980;55(2):89-93.

Brody JG, Aschengrau A, McKelvey W, Rudel RA, Swartz CH, Kennedy T. Breast cancer risk and historical exposure to pesticides from wide-area applications assessed with GIS. *Environ Health Perspect* 2004;112(8):889-897.

Brophy JT, Keith MM, Gorey KM, Laukkanen E, Hellyer D, Watterson A, Reinhartz A, Gilberston M. Occupational histories of cancer patients in a Canadian cancer treatment center and the generated hypothesis regarding breast cancer and farming. *Int J Occup Environ Health*. 2002 Oct-Dec;8(4):346-53.

Calle EE, Mervis CA, Thun MJ, Rodriguez C, Wingo PA, Heath CW, Jr. Diethylstilbestrol and risk of fatal breast cancer in a prospective cohort of US women. *Am J Epidemiol* 1996;144(7):645-52.

Charles MJ, Schell MJ, Willman E, Gross HB, Lin Y, Sonnenberg S, Graham ML. Organochlorines and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) in cancerous and noncancerous breast tissue: do the data support the hypothesis that oxidative DNA damage caused by organochlorines affects breast cancer? *Arch Environ Contam*

Toxicol. 2001 Oct;41(3):386-95.

Charlier C, Albert A, Herman P, Hamoir E, Gaspard U, Meurisse M, Plomteux G. Breast cancer and serum organochlorine residues. *Occup Environ Med*. 2003 May; 60(5): 348-51.

Charlier C, Foidart JM, Pitance F, Herman P, Gaspard U, Meurisse M, Plomteux G. Environmental dichlorodiphenyltrichlorethane or hexachlorobenzene exposure and breast cancer: is there a risk? *Clin Chem Lab Med* 2004;42(2):222-227.

Colton T, Greenberg ER, Noller K, Resseguie L, Van Bennekom C, Heeren T, Zhang Y. Breast cancer in mothers prescribed diethylstilbestrol in pregnancy. Further follow-up. *Jama* 1993;269(16):2096-100.

Dello Iacovo R, Celentano E, Strollo AM, Iazzetta G, Capasso I, Randazzo G. Organochlorines and breast cancer. A study on Neapolitan women. *Adv Exp Med Biol* 1999;472:57-66.

Demers A, Ayotte P, Brisson J, Dodin S, Robert J, Dewailly E. Risk and aggressiveness of breast cancer in relation to plasma organochlorine concentrations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;9(2):161-6.

Demers A, Ayotte P, Brisson J, Dodin S, Robert J, Dewailly E. Plasma concentrations of polychlorinated biphenyls and the risk of breast cancer: a congener-specific analysis. *Am J Epidemiol*. 2002 Apr 1;155(7):629-35.

Dorgan JF, Brock JW, Rothman N, Needham LL, Miller R, Stephenson HE, Jr., Schussler N, Taylor PR. Serum organochlorine pesticides and PCBs and breast cancer risk: results from a prospective analysis (USA). *Cancer Causes Control* 1999;10(1):1-11.

Falck F, Jr., Ricci A, Jr., Wolff MS, Godbold J, Deckers P. Pesticides and polychlorinated biphenyl residues in human breast lipids and their relation to breast cancer. *Arch Environ Health* 1992;47(2):143-6.

Gammon MD, Wolff MS, Neugut AI, Eng SM, Teitelbaum SL, Britton JA, Terry MB, Levin B, Stellman SD, Kabat GC, Hatch M, Senie R, Berkowitz G, Bradlow HL, Garbowski G, Maffeo C, Montalvan P, Kemeny M, Citron M, Schnabel F, Schuss A, Hajdu S, Vinceguerra V, Niguidula N, Ireland K, Santella RM. Environmental toxins and breast cancer on Long Island. II. Organochlorine compound levels in blood. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2002 Aug;11(8):686-97.

Grimalt JO, Sunyer J, Moreno V, Amaral OC, Sala M, Rosell A, Anto JM, Albaiges J. Risk excess of soft-tissue sarcoma and thyroid cancer in a community exposed to airborne organochlorinated compound mixtures with a high hexachlorobenzene content. *Int J Cancer* 1994;56(2):200-3.

Guttes S, Failing K, Neumann K, Kleinstein J, Georgii S, Brunn H. Chlororganic pesticides and polychlorinated biphenyls in breast tissue of women with benign and malignant breast disease. *Arch Environ Contam Toxicol* 1998;35(1):140-7.



Hardell L, Lindstrom G, Liljegren G, Dahl P, Magnuson A. Increased concentrations of octachlorodibenzo-p-dioxin in cases with breast cancer--results from a case-control study. *Eur J Cancer Prev* 1996;5(5):351-7.

Helzlsouer KJ, Alberg AJ, Huang HY, Hoffman SC, Strickland PT, Brock JW, Burse VW, Needham LL, Bell DA, Lavigne JA, Yager JD, Comstock GW. Serum concentrations of organochlorine compounds and the subsequent development of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999;8(6):525-32.

Holford TR, Zheng T, Mayne ST, Zahm SH, Tessari JD, Boyle P. Joint effects of nine polychlorinated biphenyl (PCB) congeners on breast cancer risk. *Int J Epidemiol* 2000;29(6):975-82.

Hopenhayn-Rich C, Stump ML, Browning SR. Regional assessment of atrazine exposure and incidence of breast and ovarian cancers in Kentucky. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2002 Jan; 42(1): 127-36.

Hoyer AP, Gerdes AM, Jorgensen T, Rank F, Hartvig HB. Organochlorines, p53 mutations in relation to breast cancer risk and survival. A Danish cohort-nested case-controls study. *Breast Cancer Res Treat*. 2002 Jan;71(1):59-65.

Hoyer AP, Grandjean P, Jorgensen T, Brock JW, Hartvig HB. Organochlorine exposure and risk of breast cancer. *Lancet* 1998;352(9143):1816-20.

Hoyer AP, Jorgensen T, Brock JW, Grandjean P. Organochlorine exposure and breast cancer survival. *J Clin Epidemiol* 2000;53(3):323-30.

Hoyer AP, Jorgensen T, Grandjean P, Hartvig HB. Repeated measurements of organochlorine exposure and breast cancer risk (Denmark). *Cancer Causes Control* 2000;11(2):177-84.

Hoyer AP, Jorgensen T, Rank F, Grandjean P. Organochlorine exposures influence on breast cancer risk and survival according to estrogen receptor status: a Danish cohort-nested case-control study. *BMC Cancer*. 2001; 1(1): 8.

Hunter DJ, Hankinson SE, Laden F, Colditz GA, Manson JE, Willett WC, Speizer FE, Wolff MS. Plasma organochlorine levels and the risk of breast cancer. *N Engl J Med* 1997;337(18):1253-8.

Kettles MK, Browning SR, Prince TS, Horstman SW. Triazine herbicide exposure and breast cancer incidence: an ecologic study of Kentucky counties. *Environ Health Perspect* 1997;105(11):1222-7.

Koifman S, Koifman RJ, Meyer A. Human reproductive system disturbances and pesticide exposure in Brazil. *Cad Saude Publica*. 2002 Mar-Apr; 18(2): 435-45.

Krieger N, Wolff MS, Hiatt RA, Rivera M, Vogelmann J, Orentreich N. Breast cancer and serum

organochlorines: a prospective study among white, black, and Asian women. *J Natl Cancer Inst* 1994;86(8):589-99.

Laden F, Collman G, Iwamoto K, Alberg AJ, Berkowitz GS, Freudenheim JL, Hankinson SE, Helzlsouer KJ, Holford TR, Huang HY, Moysich KB, Tessari JD, Wolff MS, Zheng T, Hunter DJ. 1,1-Dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene and polychlorinated biphenyls and breast cancer: combined analysis of five U.S. studies. *J Natl Cancer Inst* 2001;93(10):768-76.

Laden F, Hankinson SE, Wolff MS, Colditz GA, Willett WC, Speizer FE, Hunter DJ. Plasma organochlorine levels and the risk of breast cancer: an extended follow-up in the Nurses' Health Study. *Int J Cancer* 2001;91(4):568-74.

Laden F, Ishibe N, Hankinson SE, Wolff MS, Gertig DM, Hunter DJ, Kelsey KT. Polychlorinated biphenyls, cytochrome P450 1A1, and breast cancer risk in the Nurses' Health Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2002 Dec;11(12):1560-5.

Liljegren G, Hardell L, Lindstrom G, Dahl P, Magnuson A. Case-control study on breast cancer and adipose tissue concentrations of congener specific polychlorinated biphenyls, DDE and hexachlorobenzene. *Eur J Cancer Prev* 1998;7(2):135-40.

Lopez Cervantes M, Torres Sanchez L, Tobias A, Lopez Carrillo L. Dichlorodiphenyldichloroethane burden and breast cancer risk: a meta-analysis of the epidemiologic evidence. *Environ Health Perspect* 2004;112(2):207-214.

Lopez-Carrillo L, Blair A, Lopez-Cervantes M, Cebrian M, Rueda C, Reyes R, Mohar A, Bravo J. Dichlorodiphenyltrichloroethane serum levels and breast cancer risk: a case-control study from Mexico. *Cancer Res* 1997;57(17):3728-32.

Lopez-Carrillo L, Lopez-Cervantes M, Torres-Sanchez L, Blair A, Cebrian ME, Garcia RM. Serum levels of beta-hexachlorocyclohexane, hexachlorobenzene and polychlorinated biphenyls and breast cancer in Mexican women. *Eur J Cancer Prev*. 2002 Apr;11(2):129-35.

Lucena RA, Allam MF, Costabeber IH, Villarejo ML, Navajas RF. Breast cancer risk factors: PCB congeners. *Eur J Cancer Prev*. 2001 Feb; 10(1): 117-9.

Mathur V, Bhatnagar P, Sharma RG, Acharya V, Sexana R. Breast cancer incidence and exposure to pesticides among women originating from Jaipur. *Environ Int*. 2002 Nov;28(5):331-6.

McCready D, Aronson KJ, Chu W, Fan W, Vesprini D, Narod SA. Breast tissue organochlorine levels and metabolic genotypes in relation to breast cancer risk Canada. *Cancer Causes Control* 2004;15(4):399-418.

McElroy JA, Kanarek MS, Trentham Dietz A, Robert SA, Hampton JM, Newcomb PA, Anderson HA,

Remington PL. Potential exposure to PCBs, DDT, and PBDEs from sport-caught fish consumption in relation to breast cancer risk in Wisconsin. *Environ Health Perspect* 2004;112(2):156-162.

McKelvey W, Brody JG, Aschengrau A, Swartz CH. Association between residence on Cape Cod, Massachusetts, and breast cancer. *Ann Epidemiol* 2004;14(2):89-94.

Mendonca GA, Eluf-Neto J, Andrada-Serpa MJ, Carmo PA, Barreto HH, Inomata ON, Kussumi TA. Organochlorines and breast cancer: a case-control study in Brazil. *Int J Cancer* 1999;83(5):596-600.

Millikan R, DeVoto E, Duell EJ, Tse CK, Savitz DA, Beach J, Edmiston S, Jackson S, Newman B. Dichlorodiphenyldichloroethene, polychlorinated biphenyls, and breast cancer among African-American and white women in North Carolina. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;9(11):1233-40.

Moysich KB, Ambrosone CB, Vena JE, Shields PG, Mendola P, Kostyniak P, Greizerstein H, Graham S, Marshall JR, Schisterman EF, Freudenheim JL. Environmental organochlorine exposure and postmenopausal breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998;7(3):181-8.

Moysich KB, Shields PG, Freudenheim JL, Schisterman EF, Vena JE, Kostyniak P, Greizerstein H, Marshall JR, Graham S, Ambrosone CB. Polychlorinated biphenyls, cytochrome P4501A1 polymorphism, and postmenopausal breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999;8(1):41-4.

Mussalo-Rauhamaa H, Hasanen E, Pyysalo H, Antervo K, Kauppila R, Pantzar P. Occurrence of beta-hexachlorocyclohexane in breast cancer patients. *Cancer* 1990;66(10):2124-8.

Olaya-Contreras P, Rodriguez-Villamil J, Posso-Valencia HJ, Cortez JE. Organochlorine exposure and breast cancer risk in Colombian women. *Cad Saude Publica* 1998;14(Suppl 3):125-32.

O'Leary ES, Vena JE, Freudenheim JL, Brasure J. Pesticide exposure and risk of breast cancer: a nested case-control study of residentially stable women living on Long Island. *Environ Res* 2004;94(2):134-144.

Palmer JR, Hatch EE, Rosenberg CL, Hartge P, Kaufman RH, Titus-Ernstoff L, Noller KL, Herbst AL, Rao RS, Troisi R, Colton T, Hoover RN. Risk of breast cancer in women exposed to diethylstilbestrol in utero: preliminary results (United States). *Cancer Causes Control*. 2002 Oct;13(8):753-8.

Pavuk M, Cerhan JR, Lynch CF, Kocan A, Petrik J, Chovancova J. Case-control study of PCBs, other organochlorines and breast cancer in Eastern Slovakia. *J Expo Anal Environ Epidemiol*. 2003 Jul; 13(4): 267-75.

Reynolds P, Hurley SE, Goldberg DE, Yerabati S, Gunier RB, Hertz A, Anton Culver H, Bernstein L, Deapen D, Horn Ross PL, Peel D, Pinder R, Ross RK, West D, Wright WE, Ziogas A. Residential proximity to agricultural pesticide use and incidence of breast cancer in the California Teachers Study cohort. *Environ Res* 2004;96(2):206-218.

Romieu I, Hernandez-Avila M, Lazcano-Ponce E, Weber JP, Dewailly E. Breast cancer, lactation history, and serum organochlorines. *Am J Epidemiol* 2000;152(4):363-70.

Saintot M, Malaveille C, Hautefeuille A, Gerber M. Interaction between genetic polymorphism of cytochrome P450-1B1 and environmental pollutants in breast cancer risk. *Eur J Cancer Prev* 2004;13(1):83-86.

Saracci R, Kogevinas M, Bertazzi PA, Bueno de Mesquita BH, Coggon D, Green LM, Kauppinen T, L'Abbe KA, Littorin M, Lynge E, et al. Cancer mortality in workers exposed to chlorophenoxy herbicides and chlorophenols. *Lancet* 1991;338(8774):1027-32.

Schechter A, Toniolo P, Dai LC, Thuy LT, Wolff MS. Blood levels of DDT and breast cancer risk among women living in the north of Vietnam. *Arch Environ Contam Toxicol* 1997;33(4):453-6.

Schreinemachers DM. Cancer mortality in four northern wheat-producing states. *Environ Health Perspect* 2000;108(9):873-81.

Stellman SD, Djordjevic MV, Britton JA, Muscat JE, Citron ML, Kemeny M, Busch E, Gong L. Breast cancer risk in relation to adipose concentrations of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in Long Island, New York. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;9(11):1241-9.

Titus-Ernstoff L, Hatch EE, Hoover RN, Palmer J, Greenberg ER, Ricker W, Kaufman R, Noller K, Herbst AL, Colton T, Hartge P. Long-term cancer risk in women given diethylstilbestrol (DES) during pregnancy. *Br J Cancer* 2001;84(1):126-33.

Unger M, Kiaer H, Blichert-Toft M, Olsen J, Clausen J. Organochlorine compounds in human breast fat from deceased with and without breast cancer and in a biopsy material from newly diagnosed patients undergoing breast surgery. *Environ Res* 1984;34(1):24-8.

van't Veer P, Lobbezoo IE, Martin-Moreno JM, Guallar E, Gomez-Aracena J, Kardinaal AF, Kohlmeier L, Martin BC, Strain JJ, Thamm M, van Zoonen P, Baumann BA, Huttunen JK, Kok FJ. DDT (dicophane) and postmenopausal breast cancer in Europe: case-control study. *Bmj* 1997;315(7100):81-5.

Ward EM, Schulte P, Grajewski B, Andersen A, Patterson DG, Jr., Turner W, Jellum E, Deddens JA, Friedland J, Roeleveld N, Waters M, Butler MA, DiPietro E, Needham LL. Serum organochlorine levels and breast cancer: a nested case-control study of Norwegian women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;9(12):1357-67.

Wolff MS, Berkowitz GS, Brower S, Senie R, Bleiweiss IJ, Tartter P, Pace B, Roy N, Wallenstein S, Weston A. Organochlorine exposures and breast cancer risk in New York City women. *Environ Res* 2000;84(2):151-61.

Wolff MS, Toniolo PG, Lee EW, Rivera M, Dubin N. Blood levels of organochlorine residues and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1993;85(8):648-52.

Wolff MS, Zeleniuch-Jacquotte A, Dubin N, Toniolo P. Risk of breast cancer and organochlorine exposure. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;9(3):271-7.

Woolcott CG, Aronson KJ, Hanna WM, SenGupta SK, McCready DR, Sterns EE, Miller AB. Organochlorines and breast cancer risk by receptor status, tumor size, and grade (Canada). *Cancer Causes Control*. 2001 Jun;12(5):395-404.

Zheng T, Holford TR, Mayne ST, Owens PH, Ward B, Carter D, Dubrow R, Zahm SH, Boyle P, Tessari J. Beta-benzene hexachloride in breast adipose tissue and risk of breast carcinoma. *Cancer* 1999;85(10):2212-8.

Zheng T, Holford TR, Mayne ST, Tessari J, Owens PH, Zahm SH, Zhang B, Dubrow R, Ward B, Carter D, Boyle P. Environmental exposure to hexachlorobenzene (HCB) and risk of female breast cancer in Connecticut. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999;8(5):407-11.

Zheng T, Holford TR, Mayne ST, Tessari J, Ward B, Carter D, Owens PH, Boyle P, Dubrow R, Archibeque-Engle S, Dawood O, Zahm SH. Risk of female breast cancer associated with serum polychlorinated biphenyls and 1,1-dichloro-2,2'-bis(p-chlorophenyl)ethylene. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;9(2):167-74.

Zheng T, Holford TR, Mayne ST, Ward B, Carter D, Owens PH, Dubrow R, Zahm SH, Boyle P, Archibeque S, Tessari J. DDE and DDT in breast adipose tissue and risk of female breast cancer. *Am J Epidemiol* 1999;150(5):453-8.

Zheng T, Holford TR, Tessari J, Mayne ST, Owens PH, Ward B, Carter D, Boyle P, Dubrow R, Archibeque-Engle S, Zahm SH. Breast cancer risk associated with congeners of polychlorinated biphenyls. *Am J Epidemiol* 2000;152(1):50-8.

Zheng T, Holford TR, Tessari J, Mayne ST, Zahm SH, Owens PH, Zhang B, Ward B, Carter D, Zhang Y, Zhang W, Dubrow R, Boyle P. Oxychlorane and trans-nonachlor in breast adipose tissue and risk of female breast cancer. *J Epidemiol Biostat* 2000;5(3):153-60.

今井田克己, 白井智之. 内分泌攪乱化学物質と発癌. *日本臨床* 2000;58(12):2527-2532.

表 2-1-1 内分泌かく乱化学物質と乳癌に関するコホート研究

地域・対象者	対象者数	追跡期間	化合物	検討された交絡要因	カテゴリー毎の相対危険度、SMR/SIRなど				
					1	2	3	4	P trend
Bibbo, 1978 米国 RCT 1951-1952年にDESの投与を受けた群と受けなかった群	2162名。 曝露群840、 非曝露群806名。 (インタビューできたのは、曝露群693、 非曝露群668名)	1976-77まで追跡	DES	初潮年齢、妊娠回数、 出産回数、閉経年齢、 レセルピン服用歴、 経口避妊薬使用、 エストロゲン療法、 子宮摘出、家族歴、 身長 (曝露非曝露で差なし)	罹患率； 曝露群32 (4.6%)、非曝露群21 (3.1%)、P=0.16				
Brian, 1980 米国 Mayo ClinicでDESを投与された女性 対照者は一般人口 調査期間1974-1978年 後向き研究	408名		DES		DES投与群の乳癌罹患数：8 一般集団の乳癌期待罹患数：9.4 (経産婦のみでは8.1)				
Saracci R, 1991 オーストラリア、オーストリア、カナダ、 デンマーク、フィンランド、イタリア、 オランダ、ニュージーランド、 スウェーデン、英国の複数の コホートを使用。 後向き研究	18390名 (16863男性、 1527女性) 曝露群13482、 たぶん曝露群416、 非曝露群3951、 不明群541名	1955-1988 (各コホートにより 異なる)	クロロフェノキシ 除草剤 (2,4-T、 2,4,5-T、 2,4,5-TCP、 2,4,6-TCP、 2,4-DCP、 2,4-DP、2,4-DB、 2,3,4,6-TeCP、 MCPA、MCPB、 MCPP、PCP、 PBA)		SMR (95%CI) (観察死亡数) 曝露群：30 (1-166) (1) たぶん曝露群：なし 非曝露群：114 (31-293) (4) 不明群：0 (0-1537) (0)				
Colton, 1993 米国 1940-1960年の間にDESの投与 を受けた母親とそうでない母親。 1989年に調査 後向き研究	曝露群：3029、 非曝露群：3029		DES	初潮年齢、 最初の出産以前の 流産数、最初の 出産年齢、最初の 出産児体重、 BMI、乳癌検診頻度、 乳癌自己検査、 マンモグラフィー歴 (流産のみ曝露群でやや多い)	罹患相対危険度 (95%CI) 1.29 (1.03-1.60) 曝露からの期間が長くなるほどDESの効果は 増加するという事はなかった。				
Calle, 1996 米国 Cancer Prevention Study 2 がんの既往のない妊婦	501,536人	1982-1991年	DES	インタビュー時年齢、 人種、家族歴、 BMI、教育、喫煙歴、 アルコール摂取頻度、 BMI、乳腺のう胞、 初潮年齢、 最初の出産年齢、 閉経年齢、	死亡相対危険度 (95%CI) 1.34 (1.06-1.69) 35年以上前の曝露：1.35 (0.97-1.87) 35年以内の曝露：1.39 (1.01-1.93)				

地域・対象者	対象者数	追跡期間	化合物	検討された交絡要因	カテゴリー毎の相対危険度、SMR/SIRなど					
					1	2	3	4	P trend	
Titus-Ernstoff, 2001 米国、ボストン Mothers Study cohort (80年代) & Dieckmann Study cohort (50年代)	7560人 (曝露群3844, 非曝露群3716)	1994 までfollow-up	DES	経口避妊薬、 エストロゲン療法、 自然流産 (調整)  年齢、暦年、 年齢×暦年 (調整)  調査参加時年齢、 年齢、暦年、 BMI、教育、家族歴、 初潮年齢、 経口避妊薬、流産、 最初の出産年齢、 妊娠、閉経年齢、 ホルモン療法、 子宮摘出、喫煙歴 (流産が曝露群で多いなど)	死亡相対危険度 (95%CI) 1.27 (1.07-1.52)					
Palmer JR, 2002 米国、ボストン the National Cooperative Diethylstilbestrol Adenosis Project (DESAD) Dieckmann Study cohort (50年代) Women's Health Study	6916人 (曝露群4821, 非曝露群2095)	1997 までfollow-up	DES	(調整)  出生年 初潮年齢、 初産年齢、 出産数  (調整)	罹患相対危険度 (95%CI) 1.4 (0.7-2.6)					
Reynolds P, 2004  米国、カリフォルニア  the California Teachers Study cohort 1995年にベースライン調査 1993年から95年の間の各対象者の住居から半径0.5 マイル以内の農薬使用量について推定	114835人 1552人の初発乳がん 罹患	1996-1999まで follow-up	probable or likely human carcinogens possible or suggestive human carcinogens mammary carcinogens endocrine disruptors  anticholinesterases organochlorines simazine diuron oryzalin propargite methyl bromide	年齢  人種  社会経済指標 都市化率	<1 lb/mi2 1.00 1.00 1.00 1.00  1.00 1.00 1.00 1.00 1.00 1.00 1.00	1st-49th percentiles 0.95 (0.81-1.10) 0.96 (0.84-1.11) 0.82 (0.67-1.00) 0.97 (0.84-1.11)  1.04 (0.90-1.19) 1.06 (0.79-1.43) 0.91 (0.71-1.15) 0.91 (0.65-1.28) 1.11 (0.81-1.50) 0.77 (0.57-1.03) 0.65 (0.48-0.86) 0.84 (0.65-1.09) 1.09 (0.91-1.31)	50th-74th percentiles 0.93 (0.75-1.15) 0.82 (0.67-1.01) 0.86 (0.65-1.13) 0.87 (0.71-1.05)  0.83 (0.68-1.03) 0.82 (0.52-1.32) 0.91 (0.65-1.28) 1.01 (0.69-1.47) 0.96 (0.68-1.35) 1.00 (0.71-1.41) 1.08 (0.83-1.40)	>=75th percentile 1.07 (0.86-1.32) 1.06 (0.87-1.29) 1.15 (0.90-1.48) 1.03 (0.86-1.25)  1.09 (0.89-1.33) 0.99 (0.63-1.55) 1.11 (0.81-1.50) 1.04 (0.73-1.49) 0.95 (0.67-1.35) 1.03 (0.74-1.45) 0.98 (0.74-1.28)		





地域・対象者数 (症例/対照)	化合物	血清レベルの比較			カテゴリー毎のオッズ比					
		症例	対照	P値	1	2	3	4	5	P trend
CLUE 1 (25,802名) : 1974年サンプリング。	全DDE	1698.9	1920.3	0.20	1.00	1.24 (0.72-2.13)	0.96 (0.55-1.67)	0.86 (0.49-1.51)	0.73 (0.40-1.32)	0.13
	全PCB	735.3	663.6	0.48	1.00	1.41 (0.79-2.50)	0.94 (0.49-1.77)	1.08 (0.59-2.01)	1.12 (0.59-2.15)	0.44
CLUE 2 (32892) : 1989年サンプリング。	CLUE2									
1994年まで追跡。	全DDE	1311.9	1586.3	0.56	1.00	1.18 (0.65-2.13)	0.58 (0.29-1.17)			0.15
コホート内	全PCB	327.7	332.9	0.58	1.00	0.78 (0.41-1.47)	0.76 (0.38-1.51)			0.6
CLUE 1 : 235/235										
CLUE 2 : 105/105										
Ward, 2000		脂肪調整血清平均濃度 (ng/g)								
ノルウェー	beta-HCH	60	63.4	0.45	1.00	1	0.7	0.7		
血清バンクドナー	heptachlor epoxide	7.1	8.5	0.10	1.00	1.5	1.8	1		
コホート内	oxychlorane	10	10.9	0.23	1.00	1	1	0.9		
150/150	trans-nonachlor	10.4	11.7	0.10	1.00	1	0	1		
	DDE	1230	1260	0.84	1.00	0.7	1	1.2		
	DDT	119.5	137.7	0.27	1.00	0.2	0.5	0.3		
	PCBgroup1B (1)	62.6	65	0.56	1.00	0.6	0.6	0.5		
	PCBgroup2A	116.3	120	0.50	1.00	0.8	0.6	0.6		
	PCBgroup2B	49.2	52	0.32	1.00	0.4	1	0.5		
	全PCBgroup2	165.2	169.8	0.59	1.00	0.9	0.8	0.8		
	PCBgroup3	398.7	427.1	0.18	1.00	0.7	0.8	0.6		
	全PCBs	776.1	806.6	0.47	1.00	0.6	0.8	0.5		
Wolff, 2000		血清中幾何平均濃度 (ng/g脂肪)								
米国										
ニューヨーク	DDE	977	1097	有意差なし	1.00	0.81 (0.35-1.87)	0.60 (0.26-1.38)	1.30 (0.51-3.35)		0.99
Women's Health Study	PCBs	683	663	有意差なし	1.00	1.55 (0.59-4.12)	1.23 (0.49-3.08)	2.02 (0.76-5.37)		0.23
14,275 healthy women										
1985-1991										
コホート内										
148/295										
Hoyer, 2000		脂肪調整血清濃度								
デンマーク	β-HCH				1.00	1.3 (0.6-2.9)	1.2 (0.5-2.9)	1.2 (0.5-3.0)		>0.30
Copenhagen City Heart Study	total PCB				1.00	0.8 (0.4-1.5)	0.8 (0.4-1.7)	1.6 (0.8-3.3)		>0.30
(10317人、1976年-)	Congener118				1.00	0.9 (0.4-1.9)	1.1 (0.5-2.4)	1.9 (0.9-3.9)		0.17
コホート内	Congener138				1.00	0.9 (0.4-1.9)	1.0 (0.5-2.1)	2.1 (1.0-4.4)		0.07
ランダムサンプル	Congener153				1.00	0.7 (0.3-1.4)	0.8 (0.4-1.8)	1.3 (0.6-2.6)		>0.30
25-80歳	Congener180				1.00	1.2 (0.6-2.5)	1.1 (0.5-2.2)	0.9 (0.4-2.2)		>0.30
	total DDT				1.00	1.1 (0.3-3.8)	1.4 (0.4-4.3)	2.4 (0.7-7.8)		0.12
	p,p'-DDT				1.00	1.3 (0.4-4.5)	2.1 (0.6-7.0)	3.6 (1.1-12.2)		0.02
	p,p'-DDE				1.00	1.0 (0.5-2.0)	0.8 (0.4-1.6)	1.4 (0.7-2.8)		>0.30
Laden, 2001		血漿平均値(脂肪調整、ug/g) (n=370/370)								
米国	DDE	0.768	0.817	0.28	1.00	0.95 (0.59-1.53)	0.51 (0.31-0.86)	0.91 (0.57-1.47)	0.82 (0.49-1.37)	0.15
カリフォルニア州	全PCBs	0.544	0.543	0.92	1.00	0.73 (0.44-1.21)	0.75 (0.44-1.28)	0.85 (0.49-1.47)	0.84 (0.47-1.52)	0.56
Nuses' Health Study	PCB118	0.067	0.068	0.66	1.00	0.68 (0.39-1.17)	0.62 (0.36-1.06)	1.02 (0.59-1.77)	0.69 (0.39-1.22)	0.67
コホート内	PCB138	0.095	0.097	0.82	1.00	0.82 (0.49-1.37)	0.90 (0.53-1.50)	0.71 (0.41-1.20)	0.87 (0.50-1.50)	0.21
381/381	PCB153	0.107	0.106	0.45	1.00	0.67 (0.39-1.14)	0.69 (0.41-1.15)	0.77 (0.45-1.31)	0.83 (0.47-1.48)	0.26
	PCB180	0.074	0.075	0.56	1.00	0.70 (0.41-1.20)	0.65 (0.37-1.11)	0.70 (0.41-1.19)	0.98 (0.55-1.75)	0.67
Hoyer AP, 2001	Estrogen receptor positive (n=116)									
デンマーク	Hexachlorobenzene (HCB)				1.00	1.1 (0.6-1.8)	1.0 (0.6-1.7)	1.2 (0.7-2.1)		>0.20

地域・対象者数 (症例/対照)	化合物	血清レベルの比較			カテゴリー毎のオッズ比					
		症例	対照	P値	1	2	3	4	5	P trend
Copenhagen City Heart Study (10317人をランダムサンプル) 1976年- コホート内 161/318 25-80歳	Dieldrin			1.00		1.3 (0.7-2.2)	1.5 (0.8-2.7)	1.4 (0.8-2.5)		>0.20
	Total PCBs			1.00		1.1 (0.6-1.7)	0.7 (0.4-1.2)	1.3 (0.8-2.2)		>0.20
	p,p'-DDE			1.00		0.7 (0.4-1.29)	0.8 (0.4-1.2)	0.9 (0.6-1.5)		>0.20
	Estrogen receptor negative (n=45)									
	Hexachlorobenzene (HCB)			1.00		0.5 (0.2-1.4)	0.8 (0.3-2.2)	0.4 (0.1-1.4)		>0.20
	Dieldrin			1.00		1.2 (0.3-5.4)	4.9 (0.9-28.3)	7.6 (1.3-46.1)		0.01
Hoyer AP, 2002 デンマーク Copenhagen City Heart Study (7712人、1976年-) コホート内 162/316 25-75歳	Total PCBs			1.00		1.0 (0.4-2.7)	1.3 (0.4-3.9)	0.8 (0.3-2.6)		>0.20
	p,p'-DDE			1.00		0.9 (0.3-2.5)	0.7 (0.2-2.0)	0.6 (0.2-1.7)		>0.20
	Wild type p53									
	Dieldrin			1.00		1.00 (0.49-2.04)	1.15 (0.53-2.47)	1.20 (0.56-2.58)		0.60
	Total PCBs			1.00		0.53 (0.28-1.04)	0.52 (0.26-1.05)	0.96 (0.50-1.83)		0.87
	p,p'-DDT			1.00		1.54 (0.81-2.92)	0.83 (0.41-1.68)	1.32 (0.68-2.59)		0.85
Laden F, 2002 米国 Nurse's Health Study 1989-1992 コホート内 367/367	p,p'-DDE			1.00		0.83 (0.45-1.51)	0.69 (0.36-1.33)	0.86 (0.46-1.61)		0.38
	Total DDT			1.00		0.78 (0.36-1.66)	0.63 (0.29-1.41)	0.70 (0.32-1.55)		0.98
	p53 mutation									
	Dieldrin			1.00		2.07 (0.48-8.88)	4.57 (0.94-22.24)	3.53 (0.79-15.79)		0.12
	Total PCBs			1.00		1.78 (0.43-7.41)	3.82 (0.85-17.41)	3.00 (0.66-13.62)		0.13
	p,p'-DDT			1.00		0.75 (0.22-2.59)	0.92 (0.29-2.94)	0.95 (0.30-2.98)		0.98
	p,p'-DDE			1.00		1.59 (0.50-5.05)	1.09 (0.34-3.52)	0.81 (0.23-2.84)		0.61
	Total DDT			1.00		2.05 (0.48-8.66)	1.71 (0.44-6.73)	0.88 (0.19-4.17)		0.78
	All women (CYP1A1-exon7)									
	PCBs	Wild type			1.00		0.93 (0.60-1.43)	0.89 (0.55-1.45)		
Variants				0.54 (0.24-1.22)		0.76 (0.35-1.63)	1.36 (0.60-3.12)			(P for interaction)
閉経後女性 (293ペア) (CYP1A1-exon7)	Wild type			1.00		1.00 (0.63-1.60)	0.97 (0.57-1.36)			0.05
	Variants			0.52 (0.20-1.36)		1.29 (0.51-3.21)	2.78 (0.99-7.82)			(P for interaction)
All women (CYP1A1-Mspl)	Wild type			1.00		0.84 (0.54-1.30)	1.00 (0.62-1.63)			0.21
	Variants			0.63 (0.31-1.28)		1.24 (0.66-2.339)	0.94 (0.44-2.01)			(P for interaction)
閉経後女性 (293ペア) (CYP1A1-Mspl)	Wild type			1.00		1.00 (0.62-1.60)	1.18 (0.69-2.01)			0.22
	Variants			0.53 (0.27-1.23)		1.37 (0.67-2.79)	1.08 (0.47-2.48)			(P for interaction)
O'Leary ES, 2004 米国, Long Island, New York  人口ベース 1980-1992 コホート内 105/210	対象者の居住地区が農業用地であったかどうか				住居または農業用地 以外	農業用地				
	飲料水中に殺虫剤が検出された いずれかが検出された			1.0		1.5 (0.8-2.9)				
	2,4-D			1.0 (0.6-1.7)						
	δ-BHC			1.2 (0.6-2.1)						
	Chlordane			1.1 (0.6-2.1)						
	Dieldrin			1.4 (0.6-3.5)						
	Heptachlor epoxide			1.1 (0.6-2.0)						
	Heptachlor			1.0 (0.4-2.7)						
	1,2-Dichloropropane			1.1 (0.6-1.9)						
				1.1 (0.4-2.6)						

地域・対象者数 (症例/対照)	化合物	血清レベルの比較			カテゴリ毎のオッズ比						
		症例	対照	P値	1	2	3	4	5	P trend	
	居住地区から1マイル以内に殺虫剤で汚染された有害廃棄物の処理場があるかどうか				なし	あり					
					1.0	2.9 (1.1-7.2)					

1) PCB同族体はWolffらの分類による

表 2-1-3 内分泌かく乱化学物質と乳癌に関する症例対照研究（後向き研究）

地域・対象者数（症例/対照）	化合物	血清レベルの比較			カテゴリ毎のオッズ比						
		症例	対照	P値	1	2	3	4	5	P trend	
Lopez-Carrillo, 1997 メキシコ 病院ベース	DDE	血清中幾何平均濃度 (ng/g脂肪)									
		閉経前	20.92	20.46	0.71						
	DDT	閉経後				1.00	0.67 (0.24-1.90)	0.64 (0.22-1.90)			
		血清中算術平均濃度 (ng/g脂肪)	61.45	84.53	0.23	1.00	0.82 (0.24-2.82)	0.79 (0.27-2.28)			
Schechter, 1997 ベトナム、ハノイ 病院ベース 21/21	DDE	血清濃度平均値 (ng/mL)									
	DDT	12.17	16.67	1.00		0.45 (0.10-2.00)	1.14 (0.23-5.68)				
	Total DDT	2.33	2.37	1.00		2.23 (0.40-12.60)	1.21 (0.15-9.65)				
van't Veer, 1997 EURAMIC乳癌研究 ヨーロッパ5ヶ国 (Germany, the Netherlands, Northern Ireland, Switzerland, Spain) 閉経後女性 病院ベース 対照は、病院対照 か人口対照で 50-74歳の 健康な閉経後女性。 265/341	DDE	脂肪組織中DDE平均値 (μg/g)									
		1.35	1.51	1.00		1.14 (0.62-2.21)	0.71 (0.38-1.34)	0.48 (0.25-0.95)			
Aschengra, 1998 米国、マサチューセッツ 人口ベース 5つのCape Cod Town 1983-1986年に 診断された乳癌。 261/753 曝露物質は職種から。	外來性エストロゲン1種類のみ 外來性エストロゲン2種類 外來性エストロゲン3種類 外來性エストロゲン4種類以上  methoxychlor endosulfan PCB 4-sec-butylphenol 4-tert-butylphenol 4-hydroxybiphenyl nonylphenol 4-octylphenol butyl benzyl phthalate BHA bisphenolA					曝露歴あり					
							1.1 (0.8-1.7)				
							0.6 (0.3-1.2)				
							0.9 (0.5-1.9)				
							0.9 (0.5-1.9)				
							曝露歴あり				
							0.8 (0.2-3.0)				
							0.8 (0.2-3.2)				
							3.2 (0.8-12.2)				
							(症例3例以下のため計算しなかった)				
							0.5 (0.2-1.2)				
							(症例3例以下のため計算しなかった)				
							1.0 (0.7-1.5)				
					2.9 (0.8-10.8)						
					0.7 (0.4-1.2)						
					0.8 (0.5-1.5)						
					0.8 (0.5-1.4)						
Moysich, 1998 米国 Western NY 1986-1991年 閉経後 病院ベース 154/192	授乳経験なし (症例46/対照61)				年齢脂肪調整血清濃度 (ng/g、ピーク数は数)						
	DDE	13.16	10.82	1.00		1.95 (0.58-6.67)	1.83 (0.63-5.33)		0.24		
	HCB	0.45	0.39	1.00		1.26 (0.40-3.97)	1.79 (0.59-5.40)		0.22		
	mirex	0.083	0.046	1.00		2.42 (0.98-4.32)					
	全PCBs	4.63	4	1.00		1.71 (0.55-5.35)	2.87 (1.01-7.29)		0.07		
	PCBピーク数	18.68	17.93	1.00		1.61 (0.41-3.56)	3.31 (1.04-11.3)		0.1		
	中程度塩素化PCBs	3.43	2.9	1.00		0.73 (0.22-2.63)	3.57 (1.10-8.60)		0.08		
高度塩素化PCB	0.5	0.4	1.00		0.51 (0.15-1.69)	1.53 (0.47-4.95)		0.12			

地域・対象者数 (症例/対照)	化合物	血清レベルの比較			カテゴリー毎のオッズ比					
		症例	対照	P値	1	2	3	4	5	P trend
授乳経験あり (症例85/対照106)										
	DDE	10.36	10.44		1.00	0.76 (0.35-1.63)	1.28 (0.54-3.05)			0.44
	HCB	0.39	0.44		1.00	0.32 (0.14-0.71)	0.46 (0.20-1.08)			0.11
	mirex	0.029	0.036		1.00	1.08 (0.52-2.25)				
	全PCBs	4.27	4.3		1.00	0.38 (0.17-1.03)	0.71 (0.31-1.61)			0.72
	PCBピーク数	18.49	18.35		1.00	0.63 (0.29-1.40)	0.82 (0.37-1.83)			0.85
	中程度塩素化PCBs	3.1	3.2		1.00	0.48 (0.23-1.07)	0.85 (0.37-1.95)			0.44
	高度塩素化PCB	0.41	0.4		1.00	0.96 (0.41-2.23)	1.00 (0.40-2.49)			0.94
全体 (n=346)、低度塩素化PCBs: 検出下限未満に対して1.66 (1.07-2.88)										
Olaya-Contreras, 1998		血清中濃度の平均値 (ng/mL)								
コロンビア	DDE									
病院ベース		全体:	3.3	2.5	0.03	1.00	1.20 (0.64-2.25)	1.95 (1.10-3.52)		0.09
1995-1996年		閉経前:	3.02	2.1	0.04	1.00	1.40 (0.55-3.43)	2.46 (0.96-6.30)		0.08
対照は年齢をマッチさせた他の病院の乳癌以外の患者。153/153		閉経後:	3.45	3	0.22	1.00	1.14 (0.50-2.75)	1.85 (0.84-4.05)		0.24
Liljegren, 1998		脂肪組織中濃度								
スウェーデン	全非コプラナーPCB (ng/g脂肪)	1205	1149		0.7 (0.1-2.4)					
病院ベース	PCB77 (pg/g脂肪)	5.2	4.9		2.9 (0.5-15)					
ひとつの病院	PCB126 (pg/g脂肪)	206	141		0.8 (0.1-5.5)					
1993-1995年	PCB169 (pg/g脂肪)	118	105		3.2 (0.5-18)					
浸潤乳癌43/	DDE (ng/g脂肪)	767	1026		0.4 (0.1-1.2)					
良性疾患35	HCB (ng/g脂肪)	72.6	48.1		1.3 (0.3-4.5)					
					閉経後かつエストロゲンレセプター陽性の症例のみで PCB77 3.3 (1.8-588) HCB 7.1 (1.1-45)					
Mendonca, 1999		血清中レベル								
ブラジル	DDE				1.00	0.95 (0.49-1.8)	1.34 (0.68-2.6)	1.12 (0.58-2.1)	0.83 (0.40-1.6)	0.79
病院ベース 117/350										
Zheng, 1999		脂肪組織中濃度の調整幾何平均 (ppb)								
米国	DDE	784.1	736.5	0.41	1.00	1.3 (0.7-2.2)	0.9 (0.5-1.6)	0.9 (0.5-1.5)		0.46
コネクチカット 40-79歳 病院ベース 304/186	DDT	55.6	51.8	0.22	1.00	0.8 (0.5-1.4)	0.6 (0.4-1.1)	0.8 (0.5-1.5)		0.38
Zheng, 1999		脂肪組織中平均濃度 (脂肪調整ppb)								
米国	HCB									
病院ベース		閉経前:	18.3	17.3	0.65	1.00	0.8 (0.3-2.0)	0.4 (0.2-1.1)	0.8 (0.3-2.0)	0.49
1994-1997年 40-79歳 304/186		閉経後:	22.1	20.2	0.37	1.00	0.9 (0.4-1.7)	0.9 (0.4-1.8)	0.8 (0.4-1.8)	0.29
Dello Iacovo, 1999		血清中平均値 (ng/mL) (検出した人数)								
イタリア	beta-HCH	1.76 (37)	1.49 (16)							
症例: 1997-1998	Heptachlor	2.86 (9)	1.16 (19)							
ある病院の手術症例	DDE	9.55 (170)	8.98 (195)		1.00	0.84 (0.47-1.51)	1.24 (0.70-2.20)			
対照: 健康者。	DDT	2.47 (12)	1.77 (11)							
あるコホート研究 (1993-) の対象者。 170/195	Endrin aldeide	4.73 (29)	3.78 (22)							

地域・対象者数 (症例/対照)	化合物	血清レベルの比較			カテゴリー毎のオッズ比					
		症例	対照	P値	1	2	3	4	5	P trend
Zheng, 1999		脂肪組織中年齢調整幾何平均値 (ppb、脂肪調整)								
米国、コネチカット 病院ベース 手術かバイオペシー を受けた患者。 40-70歳 対照は良性乳房疾患 304/186	beta-HCH	27.1	26.3	0.61	1.00	0.7 (0.4-1.2)	0.8 (0.5-1.5)	0.6 (0.3-1.1)		
Moysich, 1999						血清濃度 (ng/g) 高濃度群 1.27 (0.76-2.14)				
米国、西ニューヨーク 閉経後白人の 症例対照研究 (933名) の対象者の一部。 病院ベース 154/191	PCB s				1.00		血清濃度 (ng/g) とCYP1A1遺伝子多型 (exon7) (低濃度かつIle/Ileがreference category)			
					1.00		低濃度群かつIle/Val+Va/Val; 0.88 (0.29-2.70)			
					1.00		高濃度群かつIle/Ile; 1.08 (0.62-1.89)			
					1.00		高濃度群かつIle/Val+Va/Val; 2.9 (1.18-7.45)			
Millikan, 2000		血漿平均値 (脂肪調整、ug/g)								
米国 ノースカロライナ州 人口ベース 黒人 292/270 白人 456/389	DDE	黒人 1.96 白人 0.66	黒人 1.69 白人 0.76	0.29 0.18	1.00 1.00	1.12 (0.70-1.77) 0.97 (0.68-1.40)	1.41 (0.87-2.29) 0.98 (0.67-1.43)			
	PCB	黒人 0.56 白人 0.38	黒人 0.51 白人 0.38	0.08 0.42	1.00 1.00	1.35 (0.84-2.16) 1.32 (0.92-1.90)	1.74 (1.00-3.01) 1.03 (0.68-1.56)			
Stellman, 2000		脂肪中濃度中央値 (ng/g)								
米国。Long Island 病院ベース 232/323	HCB	17.8	16.3	0.50						
	beta-HCH	19.8	15.8	0.40						
	oxychlordan	46.4	38.9	0.06						
	trans-nonachlor	51	39.6	0.90						
	DDE	419.2	374.1	0.20	1.00	1.14 (0.71-1.81)	0.74 (0.44-1.25)			0.3
	DDD	16.4	13.3	0.90						
	DDT	12.3	12.1	0.04						
	全有機塩素系農薬	628.6	546.9	0.10	1.00	1.29 (0.80-2.08)	0.66 (0.38-1.17)			0.1
	全PCB	294.7	257.1	0.90	1.00	1.06 (0.67-1.69)	1.01 (0.60-1.69)			0.9
	PCB74	29.6	26.7	<0.01						
	PCB99	19.3	13.9	0.20						
	PCB118	30.4	24	0.90						
	PCB138	28.7	21.7	0.08						
	PCB146	9.2	6.9	0.80						
	PCB153	76.1	63.1	0.60						
	PCB156	11.2	9.1	0.80						
	PCB167	1.7	1.3	0.70						
	PCB170	13.5	11.2	0.80						
	PCB172	2.4	1.6	0.70						
	PCB178	3.9	3	0.90						
	PCB180	42.4	33.7	0.90						
	PCB183	5.8	4	0.02	1.00	1.3 (0.8-2.1)	2.0 (1.2-3.4)			有意
	PCB187	16.2	12.8	0.50						
						他のPCB同族体では有意な量依存的なリスクの上昇はなし。				
Bagga, 2000		脂肪組織中平均濃度 (ng/g脂肪)								
米国 カリフォルニア州 病院ベース 73/73	DDT	267.3	261.6	0.23	1.052 (0.930-1.191)					
	DDE	709.1	800	0.01	1.126 (0.792-1.603)					
	DDD	24	9.8	0.79						
	DDT+DDE+DDD	1000.4	1071.4	0.04	0.904 (0.712-1.148)					

地域・対象者数 (症例/対照)	化合物	血清レベルの比較			カテゴリー毎のオッズ比					
		症例	対照	P値	1	2	3	4	5	P trend
Zheng, 2000		血清中幾何平均濃度 (ppb, 年齢、脂肪調整)								
米国	DDE	460.1	456.2	0.89	1.00	1.05 (0.76-1.47)	0.96 (0.67-1.36)			0.58
コネクチカット 病院ベース 475/502 30-80歳	PCBs	733.1	747.6	0.46	1.00	1.04 (0.76-1.45)	0.95 (0.68-1.32)			0.41
Demers, 2000		血清中濃度中央値 (ug/kg脂肪)								
カナダ	beta-HCH	15.5	病院15.3	0.54	1.00	0.71 (0.38-1.33)	0.85 (0.44-1.62)	0.71 (0.38-1.32)	0.83 (0.43-1.61)	
病院ベース & 人口対照	DDE	386	病院337.0	0.39	1.00	0.60 (0.35-1.01)	0.62 (0.37-1.04)	0.86 (0.50-1.49)	0.80 (0.47-1.35)	
315/ 219 hospital based, 307 population based	DDT	9.1	病院8.8	0.70	1.00	0.85 (0.45-1.59)	0.66 (0.37-1.19)	1.54 (0.81-2.95)	1.36 (0.71-2.63)	
	oxychlordan	11.9	病院11.8	0.88	1.00	0.75 (0.45-1.25)	1.06 (0.62-1.79)	0.86 (0.52-1.42)	1.00 (0.60-1.67)	
	trans-nonachlor	15.2	病院11.5	0.27	1.00	0.85 (0.47-1.54)	1.06 (0.57-1.98)	1.07 (0.59-1.94)	1.37 (0.73-2.56)	
	PCB153	55	病院9.0	0.87	1.00	0.57 (0.34-0.95)	0.50 (0.30-0.84)	0.71 (0.43-1.19)	0.81 (0.48-1.37)	
			病院11.8	0.08	1.00	1.10 (0.58-2.09)	0.96 (0.49-1.88)	0.81 (0.41-1.61)	0.55 (0.27-1.13)	
			人口11.5	0.27	1.00	1.09 (0.65-1.82)	1.00 (0.59-1.69)	1.26 (0.74-2.16)	1.47 (0.83-2.62)	
			病院14.7	0.10	1.00	1.25 (0.64-2.42)	1.46 (0.77-2.76)	0.59 (0.29-1.20)	0.74 (0.38-1.47)	
			人口14.9	0.68	1.00	0.82 (0.49-1.40)	1.53 (0.91-2.59)	0.69 (0.39-1.23)	1.20 (0.68-2.13)	
			病院50.4	0.85	1.00	1.02 (0.54-1.94)	0.99 (0.50-1.93)	0.64 (0.33-1.23)	1.07 (0.54-2.12)	
			人口51.1	0.53	1.00	1.12 (0.66-1.88)	0.94 (0.55-1.62)	1.18 (0.68-2.05)	1.28 (0.74-2.19)	
Aronson, 2000		脂肪組織中濃度幾何平均値 (%CI) (ug/kg脂肪, Aroclor1260のみmg/kg脂肪)								
カナダ、オンタリオ 病院ベース 217/213	PCB 99	19.5 (17.9-21.2)	41.5 (36.1-47.6)		1.00	0.95 (0.42-2.16)	Q3+4; 1.63 (0.71-3.72)			
	PCB 105	7.1 (6.4-7.8)	6.3 (5.7-7.0)		1.00	2.20 (0.87-5.52)	Q3+4; 1.70 (0.74-3.91)			
	PCB 118	30.3 (27.7-33.2)	24.7 (22.4-27.3)		1.00	1.29 (0.52-3.20)	Q3+4; 3.91 (1.73-8.86)			
	PCB 138	73.8 (68.9-79.1)	66.8 (62.1-71.9)		1.00	0.89 (0.38-2.06)	Q3+4; 1.49 (0.70-3.16)			
	PCB 153	105.2 (98.5-112.3)	98.3 (91.8-105.3)		1.00	1.04 (0.46-2.35)	Q3+4; 2.85 (1.24-6.52)			
	PCB 156	18.6 (17.5-19.9)	17.2 (16.0-18.5)		1.00	1.39 (0.57-3.41)	Q3+4; 1.58 (0.70-3.58)			
	PCB 170	34.3 (32.1-36.6)	32.0 (29.7-34.4)		1.00	1.19 (0.56-2.54)	Q3+4; 1.52 (0.69-3.35)			
	PCB 180	71.9 (67.5-76.5)	65.7 (61.5-70.2)		1.00	1.65 (0.71-3.83)	Q3+4; 1.69 (0.79-3.60)			
	PCB 183	10.3 (9.6-11.1)	9.5 (8.8-10.2)		1.00	0.88 (0.40-1.93)	Q3+4; 1.06 (0.48-2.34)			
	PCB 187	25.7 (23.9-27.7)	24.2 (22.6-26.0)		1.00	2.01 (0.84-4.79)	Q3+4; 1.61 (0.72-3.63)			
	Arochlor1260	0.94 (0.88-1.00)	0.87 (0.81-0.92)		1.00	1.90 (0.87-4.13)	Q3+4; 1.35 (0.61-2.98)			
	p,p'-DDE	693 (615-780)	596 (530-670)		1.00	2.09 (0.90-4.86)	Q3+4; 1.41 (0.65-3.06)			
					1.00	0.83 (0.39-1.78)	Q3+4; 0.89 (0.41-1.91)			
					1.00	3.27 (1.44-7.44)	Q3+4; 1.63 (0.77-3.45)			
					1.00	1.07 (0.51-2.27)	Q3+4; 0.89 (0.42-1.91)			
					1.00	2.43 (1.09-5.43)	Q3+4; 1.77 (0.85-3.69)			
					1.00	0.99 (0.44-2.22)	Q3+4; 1.37 (0.63-2.96)			
					1.00	0.94 (0.42-2.10)	Q3+4; 1.16 (0.58-2.33)			
					1.00	0.75 (0.35-1.64)	Q3+4; 0.86 (0.41-1.83)			
					1.00	0.82 (0.36-1.85)	Q3+4; 1.08 (0.52-2.28)			
					1.00	0.86 (0.40-1.87)	Q3+4; 1.24 (0.58-2.66)			
					1.00	1.52 (0.66-3.49)	Q3+4; 1.53 (0.71-3.30)			
					1.00	0.75 (0.34-1.62)	Q3+4; 1.52 (0.70-3.33)			
					1.00	1.15 (0.50-2.63)	Q3+4; 1.05 (0.50-2.19)			

地域・対象者数 (症例/対照)	化合物	血清レベルの比較			カテゴリ毎のオッズ比						
		症例	対照	P値	1	2	3	4	5	P trend	
	p,p'-DDT	閉経前	22.0 (19.6-24.7)	19.3 (17.3-21.6)							
		閉経後			1.00	0.54 (0.24-1.21)	Q3+4; 1.09 (0.49-2.40)				
	cis-nonachlor	閉経前	6.0 (5.5-6.5)	6.0 (5.6-6.5)							
		閉経後			1.00	1.20 (0.55-2.63)	Q3+4; 1.05 (0.53-2.06)				
	trans-nonachlor	閉経前	40.4 (37.4-43.6)	41.1 (38.7-43.6)							
		閉経後			1.00	0.74 (0.33-1.70)	Q3+4; 0.67 (0.31-1.44)				
	Oxychlorthane	閉経前	30.4 (28.6-32.3)	30.5 (28.8-32.2)							
		閉経後			1.00	0.81 (0.39-1.68)	Q3+4; 0.54 (0.27-1.08)				
	HCB	閉経前	32.0 (29.3-34.8)	30.1 (27.8-32.5)							
		閉経後			1.00	0.93 (0.45-1.93)	Q3+4; 0.73 (0.33-1.63)				
	Mirex	閉経前	9.0 (8.1-10.0)	9.9 (8.8-11.2)							
		閉経後			1.00	0.93 (0.41-2.08)	Q3+4; 0.72 (0.34-1.49)				
β-HCH	閉経前	43.1 (38.0-48.9)	41.5 (36.1-47.6)								
	閉経後			1.00	0.46 (0.21-0.97)	Q3+4; 0.78 (0.37-1.67)					
Zheng, 2000 米国 コネクチカット 1994-1997年 病院ベース 304/186	PCB	脂肪組織中濃度の調整幾何平均 (ppb)									
		478.6	494.1	0.46	1.00	0.6 (0.4-1.0)	0.7 (0.4-1.1)			0.64	
			授乳歴のある者にかぎる		1.00	0.5 (0.2-1.2)	0.7 (0.3-1.7)				0.76
			授乳歴のない者にかぎる		1.00	0.5 (0.3-1.1)	0.6 (0.3-1.2)				0.83
同族体 (187, 74, 118, 138, 156, 170, 153, 180, 183) 別でも有意なリスクの上昇はみられなかった。											
Holford, 2000 米国 コネクチカット 病院ベース 304/186 *上記Zheng, 2000と同じ対象者	PCB	血中濃度が10-ppm上がる毎の相対危険度									
		PCB 74			0.96 (0.90-1.03)						
		PCB118			1.00 (0.97-1.04)						
		PCB138			1.00 (0.97-1.02)						
		PCB153			0.98 (0.96-1.01)						
		PCB156			0.87 (0.78-0.99)						
		PCB170			0.99 (0.90-1.08)						
		PCB180			1.02 (0.99-1.05)						
		PCB183			1.23 (0.98-1.54)						
		PCB187			1.05 (0.96-1.15)						
	PCBリスクスコア (1)			1.00	1.45 (0.69-3.04)	1.71 (0.83-3.55)	1.61 (0.78-3.33)	3.57 (1.78-7.17)			
Wolff, 2000 米国 病院ベース 175/355		血清中濃度幾何平均値 (μg/g脂肪)									
		DDE	0.61	0.66	1.00	0.80 (0.49-1.3)	0.93 (0.56-1.5)			0.499	
		DDT	0.03	0.028	1.00	1.19 (0.73-2.0)	1.34 (0.82-2.2)			0.241	
		DDT (脂肪調整なし)	0.2	0.19	1.00	1.7 (1.06-2.9)	1.7 (1.004-3.0)			0.233	
		HPCB	0.6	0.62	1.00	0.88 (0.52-1.5)	0.78 (0.45-1.3)			0.22	
		LPCB	0.11	0.11	1.00	1.47 (0.84-2.6)	0.96 (0.53-1.7)			0.758	
		trans-nonachlor	0.035	0.036	1.00	0.99 (0.61-1.6)	0.73 (0.43-1.2)			0.354	
Zheng, 2000 米国 病院ベース 40-79歳 304/186	Oxychlorthane	脂肪組織中濃度平均値 (ppb)									
		36.4	38	0.38	1.00	0.7 (0.4-1.2)	0.7 (0.4-1.2)	0.7 (0.4-1.3)		0.29	
		trans-nonachlor	55.5	58.1	0.33	1.00	1.2 (0.7-2.1)	0.7 (0.4-1.3)	1.1 (0.6-1.9)		0.44
Romieu, 2000		血清中濃度の平均 (ug/g脂肪)									



地域・対象者数 (症例/対照)	化合物	血清レベルの比較			カテゴリー毎のオッズ比					
		症例	対照	P値	1	2	3	4	5	P trend
メキシコ 経産婦 人口ベース 120/126	全体									
	DDE	3.84	2.5	>0.05	1.00	1.24 (0.50-3.06)	2.31 (0.92-5.86)	3.81 (1.14-12.80)		0.02
	DDT	0.15	0.23	<0.05						
	閉経前									
	DDE	2.4	1.93	>0.05	1.00	1.38 (0.46-4.17)	2.53 (0.75-8.49)	2.41 (0.37-15.81)		0.16
	DDT	0.22	0.13	<0.05						
閉経後	DDE	5.1	3.12	>0.05	1.00	1.06 (0.15-7.27)	2.40 (0.44-12.98)	5.26 (0.80-34.30)		0.03
	DDT	0.25	0.18	<0.05						
Charles MJ, 2001		乳腺組織中脂肪調整濃度幾何中央値 (ng/g lipid)								
米国	PCB49	0.5	1.0	N.S.						
病院ベース 1987-1989 44/21	PCB52	2.9	2.0	N.S.						
	PCB70	3.7	2.7	N.S.						
	PCB101	4.6	3.8	N.S.						
	PCB105	17.7	19.6	N.S.						
	PCB110	3.2	2.9	N.S.						
	PCB118	55.1	46.5	N.S.						
	PCB137	8.0	8.0	N.S.						
	PCB138	94.8	84.7	N.S.						
	PCB153	129.2	110.7	N.S.						
	PCB156	2.2	17.6	N.S.						
	PCB169	0.6	0.7	N.S.						
	PCB170	27.3	22.5	N.S.						
	PCB177	7.5	6.7	N.S.						
	PCB180	77.6	65.1	N.S.						
	PCB183	13.8	10.7	N.S.						
	PCB187	29.4	24.7	N.S.						
	PCB189	1.9	1.8	N.S.						
	o,p'-DDE	1.4	0.5	0.0009						
	p,p'-DDE	1472.3	1387.7	N.S.						
	o,p'-DDT	15.9	10.4	N.S.						
	p,p'-DDT	102.0	77.8	N.S.						
Woolcott CG, 2001	ER negative	脂肪組織中濃度幾何平均値 (μg/kg)								
カナダ 病院ベース 症例平均年齢53.9歳 1995-1997 217/213	P C B 28	30%以上の対象者が検出下限値以下			-					
	P C B 52	30%以上の対象者が検出下限値以下			-					
	P C B 99	21.9	17.7		1.00	0.9 (0.4-2.3)	2.1 (0.9-5.0)			
	P C B 101	30%以上の対象者が検出下限値以下			-					
	P C B 105	-	-		-					
	P C B 118	-	-		-					
	P C B 128	30%以上の対象者が検出下限値以下			-					
	P C B 138	81.8	66.8		-					
	P C B 153	114.6	98.3		1.00	1.0 (0.4-2.3)	1.7 (0.7-3.9)			
	P C B 156	20.1	17.2		1.00	3.9 (1.5-10.2)	2.5 (0.9-6.7)			
	P C B 170	36.1	32		1.00	1.4 (0.6-3.1)	1.5 (0.7-3.3)			
	P C B 180	75	65.7		-					
	P C B 183	11.8	9.5		-					
	P C B 187	27.1	24.2		-					
	p,p'-DDE	906	596		1.00	0.8 (0.3-2.1)	2.4 (1.0-5.4)			
	p,p'-DDT	23.5	19.3		-					
	cis-nonachlor	6.2	6		1.00	0.5 (0.2-1.1)	0.5 (0.2-1.2)			
	trans-nonachlor	43.3	41.1		1.00	1.0 (0.5-2.3)	1.1 (0.5-2.4)			
	oxychlordane	-	-		-					
	HCB	34.9	30.1		-					
β-HCH	56.2	41.5		1.00	0.8 (0.3-1.9)	1.4 (0.6-3.2)				
α-chlordane	30%以上の対象者が検出下限値以下			-						
γ-chlordane	30%以上の対象者が検出下限値以下			-						

地域・対象者数 (症例/対照)	化合物	血清レベルの比較			カテゴリー毎のオッズ比					
		症例	対照	P値	1	2	3	4	5	P trend
	Total PCB	1.02	0.87		1.00	1.1 (0.5-2.7)	1.7 (0.8-3.9)			
	ER positive									
	P C B 28	30%以上の対象者が検出下限値以下		-						
	P C B 52	30%以上の対象者が検出下限値以下		-						
	P C B 99	18.9	17.7	1.00		1.7 (0.9-3.2)	1.8 (0.9-3.6)			
	P C B 101	30%以上の対象者が検出下限値以下		-						
	P C B 105	-	-	-						
	P C B 118	-	-	-						
	P C B 128	30%以上の対象者が検出下限値以下		-						
	P C B 138	71.7	66.8	-						
	P C B 153	102.8	98.3	1.00		1.1 (0.6-2.0)	1.0 (0.5-1.8)			
	P C B 156	18.3	17.2	1.00		1.7 (0.9-3.1)	1.2 (0.6-2.2)			
	P C B 170	33.8	32	1.00		1.7 (1.0-3.0)	0.9 (0.5-1.6)			
	P C B 180	71.4	65.7	-						
	P C B 183	9.9	9.5	-						
	P C B 187	25.3	24.2	-						
	p,p'-DDE	638	596	1.00		0.9 (0.5-1.6)	1.1 (0.6-1.9)			
	p,p'-DDT	21.3	19.3	-						
	cis-nonachlor	5.9	6	1.00		0.9 (0.5-1.7)	0.7 (0.4-1.2)			
	trans-nonachlor	39.1	41.1	1.00		0.8 (0.5-1.4)	0.5 (0.3-0.9)			
	oxychlordane	-	-	-						
	HCB	31	30.1	-						
	$\beta$ -HCH	39.3	41.5	1.00		0.8 (0.4-1.4)	0.7 (0.4-1.3)			
	$\alpha$ -chlordane	30%以上の対象者が検出下限値以下		-						
	$\gamma$ -chlordane	30%以上の対象者が検出下限値以下		-						
	Total PCB	0.92	0.87		1.00	1.3 (0.8-2.4)	1.3 (0.7-2.3)			
Brophy JT, 2002										
カナダ	農業従事経験ありvs.なし				年齢と収入で調整					
病院ベース	全年齢				1.00	1.36 (0.74-2.51)				
1995-1998	55歳以下				1.00	2.81 (0.94-8.40)				
299/237	56歳以上				1.00	1.14 (0.57-2.28)				
					年齢と学歴で調整					
	全年齢				1.00	1.38 (0.67-2.83)				
	55歳以下				1.00	9.05 (1.06-77.43)				
	56歳以上				1.00	0.88 (0.44-1.92)				
Charlier C, 2002										
ベルギー		血清中濃度平均値 (ppb)			under 0.5 ppb	above 0.5 ppb				
病院ベース	Total DDT	3.94	1.83	<0.0001	1.00	5.64 (1.81-17.65)				
平均年齢54.2/53.3	HCB	0.79	0.09	0.0005	1.00	9.14 (2.84-29.41)				
1999-2000										
159/250										
Demers A, 2002										
カナダ		血漿脂質中濃度幾何平均値 ( $\mu$ g/kg)								
病院+人口ベース	P C B 28	4.4	5.1							
30-70歳	P C B 52	3.8	3.4							
1994-1997	P C B 99	10.8	9.6	0.02	1.00	1.20 (0.79-1.82)	1.27 (0.83-1.96)	1.33 (0.86-2.07)		
314/523	P C B 101	3.3	2.7							
	P C B 105	4.7	4.2							
	P C B 118	17.7	15.7	0.03	1.00	0.90 (0.58-1.39)	1.12 (0.73-1.74)	1.60 (1.01-2.53)		
	P C B 128									
	P C B 138	38.1	35.47	0.21	1.00	1.06 (0.69-1.62)	1.17 (0.76-1.80)	1.18 (0.75-1.85)		
	P C B 153	54.1	51	0.53	1.00	0.97 (0.63-1.50)	1.16 (0.75-1.79)	1.22 (0.78-1.92)		
	P C B 156	8.5	7.7	0.006	1.00	1.44 (0.91-2.26)	1.44 (0.90-2.31)	1.80 (1.11-2.94)		
	P C B 170	13.3	12.5	0.27	1.00	1.35 (0.86-2.12)	1.13 (0.71-1.82)	1.46 (0.90-2.37)		
	P C B 180	32.9	31.1	0.44	1.00	1.20 (0.76-1.90)	1.37 (0.86-2.19)	1.17 (0.70-1.93)		
	P C B 183	4.8	4.7	0.28	1.00	1.29 (0.82-2.01)	1.41 (0.89-2.24)	1.35 (0.84-2.16)		

地域・対象者数 (症例/対照)	化合物	血清レベルの比較			カテゴリー毎のオッズ比					
		症例	対照	P値	1	2	3	4	5	P trend
	P C B 187	10.5	9.9	0.55	1.00	1.35 (0.87-2.09)	1.34 (0.85-2.12)	1.33 (0.83-2.13)		
	mono-ortho-PCBs congeners	6.4	5.8	0.005	1.00	1.63 (1.04-2.55)	1.45 (0.90-2.32)	2.02 (1.24-3.28)		
	閉経状態別の解析あり、閉経前女性でより関連が強い傾向が見られた。									
Gammon MD, 2002		血清中脂肪調整濃度幾何平均値 (μg/g)								
米国	DDE	671.96	645.74	0.52	1.00	0.88 (0.58-1.32)	0.94 (0.63-1.43)	0.92 (0.60-1.42)	1.20 (0.76-1.90)	
人口ベース	DDT	68.98	69.32	0.89	1.00	0.69 (0.44-1.07)	1.04 (0.66-1.63)	1.16 (0.75-1.80)	1.15 (0.74-1.79)	
20歳以上	Peak-4PCBs	386.72	391.74	0.70	1.00	0.76 (0.51-1.15)	0.90 (0.60-1.35)	0.82 (0.54-1.24)	0.83 (0.54-1.29)	
1996-1997	BZ118	55.13	56.47	0.59	1.00	0.96 (0.64-1.42)	0.77 (0.52-1.16)	0.82 (0.54-1.24)	0.93 (0.60-1.43)	
646/429	BZ138	82.08	84.92	0.56	1.00	1.26 (0.85-1.88)	1.04 (0.69-1.55)	0.80 (0.52-1.21)	0.96 (0.63-1.48)	
	BZ153	151.68	153.20	0.76	1.00	0.75 (0.50-1.13)	0.85 (0.57-1.27)	0.68 (0.45-1.03)	0.86 (0.56-1.32)	
	BZ180	79.66	78.63	0.70	1.00	0.87 (0.58-1.31)	0.81 (0.54-1.23)	0.89 (0.58-1.34)	0.95 (0.62-1.46)	
	Chlordane	94.58	95.90	0.77	1.00	0.88 (0.57-1.35)	0.97 (0.64-1.49)	1.20 (0.78-1.84)	0.98 (0.62-1.55)	
	Dieldrin	20.40	21.29	0.64	1.00	1.19 (0.59-2.41)	0.91 (0.45-1.84)	0.64 (0.30-1.35)	1.37 (0.69-2.72)	
Lopez-Carrillo L, 2002		血清中濃度中央値 (ng/g) (ppb lipid weight= ng/g)								
メキシコ	β-HCH	104.16	92.98	0.41	1.00	0.65 (0.28-1.51)	1.05 (0.46-2.40)			
病院ベース	HCB	27.69	27.69	0.24	1.00	0.58 (0.24-1.39)	0.46 (0.20-1.07)			
20-79歳	PCBs	833	833	0.27	1.00	0.63 (0.23-1.76)	1.31 (0.33-5.21)			
1994-1996										
95/95										
Mathur V, 2002		血中濃度平均値 (mg/l)								
インド	α-HCH	0.609	0.156	<0.05						
病院ベース	β-HCH	0.310	0.088	<0.05						
135/50	γ-HCH	0.466	0.080	<0.05						
詳細について記載なし	Heptachlor	0.574	0.084	<0.05						
	Aldrin	1.997	0.115	<0.05						
	DDE	0.862	0.047	<0.05						
	DDD	0.569	0.249	<0.05						
	DDT	2.254	1.034	<0.05						
	Total HCH	1.468	0.325	<0.05						
	Total DDT	3.623	1.332	<0.05						
	Total pesticides	7.468	1.857	<0.05						
Pavuk M, 2003		血清中濃度幾何平均値 (ng/g of lipid)								
東スロバキア	Group 1 PCBs (28, 52, 101)	37.2	59.8	0.004	1.00	0.34 (0.08-1.51)	0.22 (0.05-0.99)			0.02
人口ベース	Group 2 PCBs (105, 114, 118, 123, 156, 157, 167, 189)	333.7	340.7	0.46	1.00	0.78 (0.18-3.29)	0.32 (0.07-1.56)			0.60
18-78歳	Group 3 PCBs (138, 153, 170, 180)	2829	2446.1	0.67	1.00	0.91 (0.22-3.73)	0.49 (0.12-2.04)			0.51
1997-1999	Total PCBs	3228.2	2885.8	0.82	1.00	0.99 (0.25-4.00)	0.42 (0.10-1.82)			0.31
24/88	DDE	4912.1	3129.1	0.04	1.00	0.53 (0.08-3.27)	3.04 (0.65-14.3)			0.10
	DDT	163.8	107.6	0.03	1.00	0.33 (0.06-1.70)	1.19 (0.27-5.23)			0.68
	HCB	2158.3	1628.4	0.53	1.00	0.15 (0.02-1.05)	0.45 (0.06-3.19)			0.67
Brody JG, 2004		Relative exposure intensity								
米国	Persistent pesticides at application	曝露なし								
Cape Cod town, Massachusetts	Aerial application	曝露なし	<0.001	0.001 to <0.01	0.01 to <0.1	>=0.1				P trend
人口ベース	cranberry bogs	1.00	0.8 (0.4-1.6)	1.2 (0.7-2.1)	1.4 (0.7-2.5)	1.8 (0.7-4.5)				0.69
1988-1995		曝露なし	<18	>=18	P trend					
1165/1006	tree pests	1.00	1.3 (0.8-2.0)	1.2 (0.7-1.8)	0.91					
	Ground application	曝露なし								
	other agriculture	1.00	0.9 (0.6-1.4)	0.6 (0.3-1.4)	0.5 (0.2-1.4)	0.8 (0.3-2.3)				0.50
		曝露なし	<0.01	0.01 to <0.1	>=0.1					P trend
	mosquito control in wetlands	1.00	0.8 (0.4-1.6)	1.6 (0.7-3.7)	0.4 (0.1-1.5)	0.83				
	Residues from persistent pesticides	曝露なし								
	Aerial application	曝露なし	<0.01	0.01 to <0.1	0.1 to <1	1 to <10	10 to <100	>=100		P trend

地域・対象者数 (症例/対照)	化合物	血清レベルの比較			カテゴリー毎のオッズ比							
		症例	対照	P値	1	2	3	4	5	P trend		
McCreedy D, 2004 カナダ 病院ベース 1995-97 70/69	Ground application	cranberry bogs	1.00	0.7 (0.4-1.2)	0.8 (0.5-1.2)	1.1 (0.7-1.6)	0.9 (0.5-1.7)	0.4 (0.1-1.2)	0.6 (0.2-2.5)	0.26	P trend	
		曝露なし	<0.001	0.001 to <0.01	0.01 to <0.1	0.1 to <1	1 to <10	10 to <100	>=100			
		other agriculture	1.00	0.9 (0.6-1.3)	1.0 (0.7-1.3)	1.1 (0.8-1.5)	1.0 (0.6-1.7)	0.5 (0.2-1.2)	0.7 (0.4-1.4)	0.8 (0.4-1.3)	0.55	
		曝露なし	<0.1	0.1 to <1	1 to <10	10 to <100	>=100	P trend				
	mosquito control in wetlands	1.00	1.1 (0.7-1.9)	0.7 (0.5-1.2)	1.1 (0.4-3.0)	1.7 (0.6-5.5)	1.1 (0.5-6.8)	0.43				
	Less persistent pesticides											
	Aerial application	曝露なし	<0.001	0.001 to <0.01	0.01 to <0.1	>=0.1	P trend					
		cranberry bogs	1.00	1.1 (0.6-2.0)	0.8 (0.5-1.3)	1.1 (0.6-1.8)	1.2 (0.6-2.8)	0.24				
	Ground application	曝露なし	<1	>=1	P trend							
		tree pests	1.00	1.7 (0.8-3.7)	1.6 (0.6-4.0)	0.26						
		曝露なし	<0.001	0.001 to <0.01	>=0.01	P trend						
	other agriculture	1.00	1.5 (1.1-1.9)	1.8 (0.9-3.7)	0.9 (0.3-3.0)	0.63						
	乳腺組織中脂肪調整濃度幾何中央値 (ng/g lipid)											
		PCB28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		PCB52	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	PCB99	21.92	18.09	1.00	2.40 (0.95-6.04)							
	PCB101	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	PCB105	8.01	7.08	1.00	2.50 (1.02-6.13)							
	PCB118	34.64	22.13	1.00	1.71 (0.69-4.21)							
	PCB128	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	PCB138	84.9	71.07	1.00	1.07 (0.48-2.38)							
	PCB153	120.14	105.98	1.00	1.03 (0.44-2.38)							
	PCB156	20.15	18.75	1.00	1.17 (0.53-2.58)							
	PCB170	40.66	39.63	1.00	0.86 (0.38-1.91)							
	PCB180	85.43	74.31	1.00	0.77 (0.35-1.70)							
	PCB183	12.75	10.48	1.00	1.48 (0.65-3.33)							
	PCB187	31.31	27.02	1.00	1.09 (0.50-2.38)							
	Total PCB	1.07	0.92	1.00	1.06 (0.48-2.37)							
	p,p'-DDE	1241.75	616.13	1.00	2.48 (1.08-5.71)							
	p,p'-DDT	47.31	19.49	1.00	2.33 (0.97-5.61)							
	cis-nonachlor	8.01	6.42	1.00	1.04 (0.46-2.36)							
	trans-nonachlor	47.29	41.19	1.00	0.97 (0.44-2.18)							
	oxychlordane	35.09	31.08	1.00	0.99 (0.44-2.21)							
	HCB	57.85	27.99	1.00	1.24 (0.53-2.90)							
	Mirex	10.09	10.61	1.00	1.17 (0.54-2.55)							
	β-HCH	116.9	46.55	1.00	0.85 (0.36-2.02)							
	α-chlordane	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	γ-chlordane	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	GSTM1											
	Wild-type/heterozygous			1.00								
	Null deletion			2.20 (1.09-4.42)								
	GSTT1											
	Wild-type/heterozygous			1.00								
	Null deletion			1.59 (0.63-4.04)								
	CYP1A1-M2											
	Wild-type			1.00								
	Variant			0.26 (0.07-1.01)								
	CYP1A1-M4											
	Wild-type			1.00								
	Heterozygous			0.64 (0.17-2.36)								
	CYP1A1-M1											
	Wild-type			1.00								
	Variant			0.65 (0.27-1.59)								
	CYP1A2											
	Wild-type			1.00								
	Heterozygous			0.66 (0.11-4.06)								

地域・対象者数 (症例/対照)	化合物	血清レベルの比較			カテゴリー毎のオッズ比					
		症例	対照	P値	1	2	3	4	5	P trend
	CYP3A4									
	Wild-type				1.00					
	Variant heterozygous				0.74 (0.26-2.11)					
	oxychlorane	GSTM1								
		Wild-type/heterozygous			1.00	0.38 (0.11-1.33)				0.03
		Null deletion			1.00	2.30 (0.75-7.01)				(P for interaction)
	HCB	GSTM1								
		Wild-type/heterozygous			1.00	0.46 (0.13-1.58)				0.03
		Null deletion			1.00	2.85 (0.89-9.06)				(P for interaction)
	β-HCH	GSTM1								
		Wild-type/heterozygous			1.00	0.21 (0.05-0.91)				0.04
		Null deletion			1.00	1.35 (0.42-4.40)				(P for interaction)
	PCB180	CYP1A1-M1								
		Wild-type			1.00	1.05 (0.43-2.59)				0.03
		Variant			1.00	0.06 (0.01-0.67)				(P for interaction)
	PCB187	CYP1A1-M1								
		Wild-type			1.00	1.75 (0.73-4.22)				0.01
		Variant			1.00	0.12 (0.02-0.81)				(P for interaction)
Charlier C, 2004		血清中平均値 (μg/g lipid)								
ベルギー	p,p'-DDE	0.58	0.31	<0.0001	<0.5 ppb	>0.5 ppb				
病院ベース	p,p'-DDT	0.02	0.02	NS	1.00	2.21 (1.41-3.48)				
2001-2002	o,p'-DDE	-	-	-	-	-				
231/290	o,p'-DDT	-	-	-	-	-				
	HCB	0.11	0.03	<0.0001	1.00	4.99 (2.95-8.43)				
Mckelvey W, 2004	1948年以降のCape Cod townの居住期間									
米国					半年以上5年未満	1.00				
Cape Cod town, Massachusetts					5年以上10年未満	1.18 (0.87-1.61)				
人口ベース					10年以上15年未満	1.28 (0.93-1.77)				
1988-1995					15年以上20年未満	1.18 (0.85-1.64)				
1165/1006					20年以上25年未満	1.57 (1.11-2.23)				
					25年以上30年未満	1.72 (1.12-2.64)				
					30年以上35年未満	1.11 (0.69-1.79)				
					35年以上40年未満	1.33 (0.80-2.22)				
					40年以上47年	1.54 (1.07-2.22)				
McElroy JA, 2004										
米国, Wisconsin	最近のスポーツフィッシングで捕った魚の摂取の有無				なし	あり				
人口ベース					1.00	1.00 (0.86-1.17)				
1998-200	最近のスポーツフィッシングで捕った魚の摂取量 (食事数/年)				なし	1-3回/年	4-23回/年	24回以上/年		
1481/1301					1.00	1.05 (0.85-1.30)	1.01 (0.82-1.26)	0.94 (0.75-1.18)		0.38
	最近の5大湖の魚の摂取の有無				なし	あり				
					1.00	1.06 (0.84-1.339)				
	最近の5大湖のますまたはさけの摂取の有無				なし	あり				
					1.00	1.00 (0.78-1.28)				
	最近の5大湖のますまたはさけの摂取量 (食事数/年)				なし	1-2回/年	3-6回/年	7回以上/年		
					1.00	1.19 (0.85-1.66)	0.71 (0.44-1.15)	0.98 (0.62-1.54)		0.92
	閉経前									
	最近のスポーツフィッシングで捕った魚の摂取の有無				なし	あり				
					1.00	1.24 (0.96-1.59)				
	最近の5大湖の魚の摂取の有無				なし	あり				
					1.00	1.70 (1.16-2.50)				
	閉経後									
	最近のスポーツフィッシングで捕った魚の摂取の有無				なし	あり				
					1.00	0.91 (0.74-1.11)				
	最近の5大湖の魚の摂取の有無				なし	あり				
					1.00	0.78 (0.57-1.07)				

1) (各同族体のレベル×各リスクの回帰係数) の総和



表 2-1-5 内分泌かく乱化学物質と乳癌に関する断面研究

地域・対象者数 (症例/対照)	化合物	血清レベルの比較			カテゴリ毎のオッズ比				
		症例	対照	P値	1	2	3	4	P trend
Unqer, 1984									
デンマーク		乳房脂肪組織中の平均濃度 (ppm)							
32 (うち生検14例、 剖検18例) /35 (うち生検21例、 剖検14例)	剖検データ	PCB	6.47 (n=18)	5.12 (n=35)	有意差なし				
		DDT	no estimation	1.97 (n=35)					
	生検データ	PCB	3.89 (n=14)	3.93 (n=21)	有意差なし				
		DDT	1.23 (n=14)	1.25 (n=21)	有意差なし				
Mussalo-Rauhamaa, 1990									
フィンランド		乳房組織中の平均濃度 (mg/kg fat)							
手術を受けた患者 対照は事故死 44/33	pp'-DDT		29	20	0.57				
	op'-DDD		9	9	0.40				
	pp'-DDE		41	33	0.87				
	PCB		41	33	0.17				
	HCB :		41	33	0.48				
	Beta-HCH		24	16	0.03	1.00 0.1 mg/kg fat以上10.51 (2.00-55.26)			
	Hepatoclor epoxide		12	12	0.63				
Falck, 1992									
米国、コネチカット 白人 1987年 マンモグラフィーで 異常のあったもの 50名中、 乳癌23/良性27		脂肪組織中の平均値 (範囲) (ng/g湿重量)							
	HCB		28 (16-61)	26 (14-60)	0.54				
	Heptachlorepoixide+qxychlordane		136 (66-243)	121 (33-278)	0.36				
	trans-nonachlor		103 (38-197)	118 (53-439)	0.49				
	DDE		2200 (425-6398)	1487 (308-3674)	0.07				
	DDT		216 (72-881)	148 (42-405)	0.12				
	PCBs		1965 (827-4562)	1395 (823-2875)	0.54				
	(ng/g脂肪)								
	HCB		28 (16-61)	26 (14-60)	0.54				
	Heptachlorepoixide+qxychlordane		136 (66-243)	121 (33-278)	0.36				
	trans-nonachlor		103 (38-197)	118 (53-439)	0.49				
	DDE		2200 (425-6398)	1487 (308-3674)	0.07				
	DDT		216 (72-881)	148 (42-405)	0.12				
	PCBs		1965 (827-4562)	1395 (823-2875)	0.54				
	DDE					脂肪組織中濃度 (ppb) 当りの調整OR 1.001 (P<0.05)			
	PCBs					1.002 (P<0.05)			
Guttes, 1998									
ドイツ		乳房組織中レベル平均値 (μg/kg脂肪)							
2つの病院 乳房組織摘出者 22-92歳 対照は良性疾患 1993-1994年 45/20	beta-HCH		79	93	0.36				
	HCB		309	261	0.404				
	p, p'-DDE		805	496	0.017				
	p,p'-DDT		30	28	0.714				
	PCB118		81	65	0.042				
	PCB138		228	194	0.185				
	PCB153		624	505	0.083				
	PCB156		61	76	0.206				
	PCB170		245	267	0.634				
	PCB180		375	301	0.103				
Lucena RA, 2001									
スペイン		乳房組織中濃度当りの調整OR							
Reina Sofia大学病院 乳房組織摘出者 平均51.3歳 対照は良性病変 1997年 65/69	PCB28					9.597 (p=0.0001)			
	PCB52					PCB28以外は関連なく、値の記載なし。			
	PCB101								
	PCB118								
	PCB138								
	PCB153								
	PCB170								

地域・対象者数 (症例/対照)	化合物	血清レベルの比較			カテゴリー毎のオッズ比					
		症例	対照	P値	1	2	3	4	P trend	
	PCB180 PCB183 PCB187 PCB188									
Ahmed MT, 2002 エジプト the health insurance outpatient clinic 平均45歳 1999-2000年 43/21/11	p, p'-DDE PCBs	血清残留量 (ng/g) 乳がん患者群 41 54.9	良性乳腺疾患患者群 48 59.2	対照群 31 61.9	P値 0.03 N.S.					



表2-1-6 内分泌かく乱化学物質と乳癌に関するエコロジカル研究

地域・対象者数	化合物	血清レベルの比較			カテゴリ毎のオッズ比					
		症例	対照	P値	1(低)	2	3	4(高)	P trend	
Grimalt, 1994 スペイン、カタロニア 有機塩素化合物工場の近隣住民 1980-1989年 5003名(男性2531) 大気中HCB濃度は対照地域より約100倍高い	HCB	平均血清HCB濃度 (non-random sample) 曝露地域26 µg/L (7.5-69) 対照地域4.8 µg/L (1.5-15)			SIR (95%CI) 1.3 (0.84-2.1)					
Kettles, 1997 米国 ケンタッキー州の120の郡 人口370万人 白人92% 1991-1992および 1993-1994年のデータ。 エコロジカル研究	triazine 曝露指標は、地下水および地表水中の濃度、小麦収穫量、農薬使用量から計算したsummary index。	1991-1992年 1993-1994年			曝露カテゴリ別罹患調整OR (95%CI) (reference categoryはlow群) medium high 1.00 1.09 (1.04-1.14) 1.07 (1.01-1.14) 1.00 1.14 (1.08-1.19) 1.20 (1.13-1.28)					
Schreinemacher, 2000 米国 白人 chlorophenoxy除草剤で処理する spring wheat/durum wheatを生産 するミネソタ、ノースダコタ、 サースダコタ、モンタナ州。 計152の郡 1980-1989 エコロジカル研究	クロロフェノキシ除草剤				SRR(95%CI) (郡の小麦作付け面積<23000エーカーに対して) 23000-110999エーカー; 0.98 (0.90-1.08) 111000エーカー以上; 0.98 (0.89-1.08)					
Janssens JP, 2001 ベルギー ベルギーの589の地方自治体 1998年の相対的な作付面積 1997-98年の単位作付面積あたりの農薬使用量 1985-94年の乳がん死亡率 エコロジカル研究	1998年の相対的な作付面積、ジャガイモ栽培 1997-98年の単位作付面積あたりの農薬使用量、枯葉剤			<0.0001 <0.0001						
Koifman S, 2002 ブラジル ブラジルの11の州 1985年の殺虫剤の売上 1995-97年の乳がん死亡率 エコロジカル研究	1985年の殺虫剤の売上				相関係数 20-39歳 0.39 40-49歳 0.66 50-69歳 0.81 全年齢 0.80					
Hopenhayn-Rich C, 2002 米国 ケンタッキー州の120の郡 人口370万人 atrazine曝露 1993-97年の乳がん罹患率 エコロジカル研究	atrazine 水道水測定値、トウモロコシ作付面積、atrazineの売上量から計算した曝露量				曝露量スコア 0-3 1.00 3-4 1.03 (0.96-1.11) 4-6 0.97 (0.92-1.02) 6-9 0.98 (0.93-1.04)					

表 2-1-7 内分泌かく乱化学物質と乳癌に関する症例のみ研究 (Case-only study)

地域・対象者数 (症例/対照)	化合物	血清レベルの比較			カテゴリー毎のオッズ比					
		症例	対照	P値	1	2	3	4	5	P trend
Saintot M, 2004					曝露なし	10年未満	10年以上			
フランス	廃棄物焼却炉の周辺に居住している期間			1.00*	1.72 (0.45-6.65)	3.26 (1.20-8.84)				
1998-2001					曝露なし	20年未満	20年以上			
282症例	農業に関連した曝露を受けた期間			1.00*	1.25 (0.60-2.61)	2.18 (1.10-4.32)				
CYP1B1遺伝子多型との交互作用の検討 (Leu/Leu vs. Any Val)					*Leu/Leuアレルをもつ曝露なしの者					

## 2 - 2 子宮体がん

### [要旨]

内分泌かく乱化学物質（ダイオキシンを除く）と、子宮体がんに関する疫学研究の現状について、文献調査を行った。国立医学図書館の医学文献データベース PubMed を利用して選択した文献は 2000 年 12 月 31 日までに、人口ベースの報告されていた。2001 年 1 月 1 日以降は報告が 1 件もなかった。二つの症例対照研究では DDT や PCB 等の血清レベルによる明らかなリスク上昇を認めなかった。現状では、疫学的知見はきわめて乏しく、これら化学物質と子宮体がんとの因果関係を適切に判断することは困難と思われた。子宮体がんに関するコホート内症例対照研究の必要性が示唆された。

### [研究目的]

有機塩素系化合物等の化学物質の一部には、エストロゲン様作用があると考えられている。そのため、これらの物質が、女性の内分泌関連がん（乳がん・子宮体がん）の発生に関与する可能性が指摘されてきた。これら化学物質と女性のがんについてのこれまでの疫学研究は、乳がんに関する報告が大半である。しかし、1995 年の総説の中で Adami ら（1995）は、エストロゲンに対する感受性は乳房よりも子宮内膜の方が高いので、内分泌かく乱化学物質によるヒト発がんリスクを評価するためには、乳がんではなく子宮体がんに関する研究を行うことの重要性を指摘している。

今回、我々は、有機塩素系化合物などの化学物質（ダイオキシンを除く）と、子宮体がんに関する疫学研究の現状を把握する目的で、文献レビューを行った。

### [研究方法]

米国立医学図書館の医学文献データベース PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>) を用いて、”endometrial cancer AND ( Insecticides OR Pesticides OR Chlorinated Hydrocarbons OR PCBs OR Bisphenol OR Phenol OR Phthalate OR Styrene OR Furan OR Organotin OR Diethylstilbestrol OR Ethinyl Estradioldioxins) のキーワードで文献を検索した。候補文献の中から、ヒト集団を対象とする疫学研究の原著論文を同定した。さらに、これらの原著論文に言及されている論文を選択した。

### [研究結果]

子宮体がんと有機塩素系化合物等との関連を検討した人口ベースの症例対照研究が、二つ報告されていた（Sturgeon, 1998, Weiderpass, 2000）（表 1）。1998 年の Sturgeon らによる報告は、米国 5 地域の子宮体がん症例 90 例と、住民対照 90 例を対象に行われた。血清レベルの上昇につれてオッズ比が有意に高くなる化合物はなかった。2000 年の Weiderpass らによる報告は、症例 154 例と、住民対照 205 例を用いて、スウェーデンで行われた。血清レベルの上昇につれてオッズ比が有意に高くなる化合物はなかった。二つの研究では、化合物を、エストロゲン作用を持つグループ、抗エストロゲン作用を持つグループなどにまとめて分析を行ったが、いずれも有意なリスク上昇を認めなかった。

日本人を対象に、内分泌かく乱化学物質と子宮体がんとの関連を検討した疫学研究はなかった。

#### [考察]

内分泌かく乱化学物質と、子宮体がんについての疫学研究をレビューしたところ、1998年以降に報告された、少数の研究が存在するのみであることが明らかになった。二つの症例対照研究は、DDT や PCB 等の血清レベルによる明らかなリスク上昇を認めない点で共通していた。より方法論的に信頼性の高い、コホート内症例対照研究の報告はなかった。

このように、内分泌かく乱化学物質と子宮体がんとの関連についての疫学研究の知見は、現状ではきわめて少なく、両者の因果関係を適切に評価するには不十分である。今後は、子宮体がんに関するコホート内症例対照研究を行う必要がある。

#### [結論]

内分泌かく乱化学物質と、子宮体がんについての疫学研究をレビューしたところ、現時点での実証的知見はきわめて乏しく、両者の因果関係を適切に評価することは困難であった。より大規模で、信頼性の高い研究デザインを用いた研究の必要性が示唆された。

#### [参考文献]

Adami HO, Lipworth L, Titus-Ernstoff L, et al. Organochlorine compounds and estrogen-related cancers in women. *Cancer Causes Control* 1995;6:551-6.

Sturgeon SR, Brock JW, Potishman N, Needham LL, Rothman N, Brinton LA, Hoover RN. Serum concentrations of organochlorine compounds and endometrial cancer risk (United States). *Cancer Causes Control* 1998;9:417-24.

Weiderpass E, Adami HO, Baron JA, Wicklund-Glynn A, Aune M, Atuma S, Persson I. Organochlorines and endometrial cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarker Prev* 2000;9:487-93.

Bertazzi PA, Consonni D, Bachetti S, et al. Health effects of dioxin exposure: a 20-year mortality study. *Am J Epidemiol*. 2001;153:1031-44.

表 2-2 内分泌かく乱化学物質と子宮体がんに関する症例対照研究

地域・対象者数	化合物	血清レベルの比較			カテゴリー毎のオッズ比				
		症例	対照	P値	1(低)	2	3	4(高)	P trend
Sturgeon, 1998		中央値 ( ng/g lipid )							
米国5地域	p,p'-DDE	1417	1358	0.58	1.0	0.5(0.2-1.2)	1.0(0.4-2.5)	0.7(0.2-2.0)	
症例90	o,p'-DDT	11	19	0.09	1.0	0.9(0.4-2.1)	0.5(0.1-1.9)		
住民対照90	p,p'-DDT	69	0	0.03	1.0	0.6(0.2-1.6)	1.8(0.7-4.4)		
	Tatal PCBs	302	350	0.48	1.0	1.1(0.4-3.0)	0.7(0.3-2.0)	0.9(0.4-2.5)	
	Estrogenic PCB <sup>1)</sup>	1	1	0.84	1.0	1.1(0.5-2.4)	1.3(0.5-3.2)		
	Antiestrogenic PCB <sup>2)</sup>	166	176	0.86	1.0	1.2(0.5-3.2)	1.2(0.4-3.0)	1.1(0.4-3.1)	
	Enzyme-inducing PCB <sup>3)</sup>	81	102	0.08	1.0	0.6(0.2-1.5)	0.7(0.3-1.8)	0.6(0.2-1.6)	
	Beta-HCH	38	35	0.37	1.0	0.8(0.3-2.3)	0.5(0.1-1.4)	0.9(0.3-2.6)	
	Dieldrin	8	0	0.03	1.0	2.1(0.9-4.2)	1.9(0.7-4.8)		
	HCB	43	45	0.32	1.0	0.6(0.2-1.8)	0.5(0.2-1.7)	0.8(0.2-2.6)	
	Heptachlor epoxide	0	0	0.08	1.0	0.6(0.3-4.6)	1.2(0.5-3.0)		
	Oxychlorane	0	1	0.56	1.0	0.6(0.2-1.5)	0.7(0.3-1.9)		
	Trans-nonachlor	2	10	0.54	1.0	0.6(0.2-2.0)	1.0(0.4-2.7)		
Weiderpass, 2000		中央値 ( ng/g lipid )							
スエーデン	p,p'-DDT	17.8	13.9	0.01	1.0	1.1(0.6-2.2)	0.8(0.4-1.6)	1.1(0.5-2.1)	0.95
症例154	o,p'-DDT	2	2	0.37					
住民対照205	p,p'-DDE	582.5	497	0.04	1.0	0.9(0.5-1.8)	1.1(0.6-2.0)	1.0(0.6-2.0)	0.78
	p,p'-DDD	2	2	0.84					
	HCB	66.8	64.9	0.08	1.0	1.2(0.6-2.2)	1.0(0.5-1.9)	1.0(0.5-1.9)	0.76
	Alfa-HCH	1	1	0.81					
	Beta-HCH	57.8	51.1	0.02	1.0	0.8(0.4-1.5)	1.0(0.5-2.0)	0.9(0.5-1.9)	0.87
	Gamma-HCH	1	1	0.17					
	Oxychlorane	14.4	12.8	0.01	1.0	1.1(0.6-2.2)	1.0(0.5-2.0)	1.4(0.7-2.8)	0.33
	Trans-nonachlor	25.0	22.5	0.06	1.0	1.2(0.6-2.3)	1.3(0.7-2.7)	1.2(0.6-2.5)	0.56
	PCB28	3.8	3.0	0.02					
	PCB52	1	1	0.45					
	PCB101	1	1	0.10					
	PCB105	6.1	5.6	0.14	1.0	1.2(0.6-2.3)	1.0(0.5-1.8)	0.8(0.4-1.6)	0.42
	PCB118	50.2	43.0	0.01	1.0	0.6(0.8-3.0)	1.2(0.6-2.4)	1.4(0.7-2.8)	0.58
	PCB138	107.5	101	0.30	1.0	0.8(0.4-1.6)	1.2(0.6-2.2)	0.9(0.5-1.7)	0.95
	PCB153	226.5	223	0.74	1.0	0.9(0.5-1.7)	1.2(0.6-2.2)	0.9(0.5-1.7)	0.94

PCB156	17.4	18.1	0.75	1.0	1.6(0.8-2.9)	1.4(0.7-2.6)	1.0(0.5-2.0)	0.90
PCB167	9.3	8.7	0.06	1.0	2.0(1.0-3.9)	1.4(0.7-2.9)	1.9(0.9-3.9)	0.24
PCB180	147	152	0.80	1.0	1.1(0.6-2.0)	1.1(0.6-2.2)	1.2(0.6-2.2)	0.67
All PCBs <sup>4)</sup>				1.0	1.1(0.6-2.2)	1.1(0.6-2.2)	1.2(0.6-2.2)	0.72
Estrogenic compounds <sup>5)</sup>				1.0	1.1(0.6-2.1)	0.9(0.4-1.7)	1.1(0.6-2.2)	0.90
Antiestrogenic compounds <sup>6)</sup>				1.0	1.7(0.9-3.3)	1.4(0.7-2.8)	1.5(0.7-3.0)	0.48
Compounds with no known hormonal effect <sup>7)</sup>				1.0	1.2(0.6-2.2)	1.4(0.7-2.7)	1.3(0.7-2.4)	0.39

---

1) PCB 52, 101, 187, 177, 201.

2) PCB 66, 74, 105, 118, 156, 138.

3) PCB 99, 153, 203, 183.

4) PCB 28, 52, 101, 105, 118, 138, 153, 156, 167, 180.

5) o,p'-DDT, p,p'-DDT, p,p'-DDD, beta-HCH, gamma-HCH, trans-nonachlor, oxychlorane, PCB 28, 52, 101, 153.

6) PCB 105, 118, 156, 167.

7) p,p'-DDE, alfa-HCH, HCB, PCB 138, 180.

## 2 - 3 卵巣がん

### 〔要旨〕

内分泌かく乱化学物質（ダイオキシンを除く）と卵巣がんに関する疫学研究の現状について文献的考察を行った。国立医学図書館の医学文献データベース PubMed を利用して選択した文献は 2000 年 12 月 31 日までにコホート研究 2 件、症例対照研究 2 件、エコロジカル研究 2 件であった。2001 年 1 月 1 日以降はコホート研究 1 件、エコロジカル研究 2 件、症例報告 1 件が報告されていた。日本人を対象とした研究は 1 件もなかった。文献的に検討した結果、Diethylstilbestrol については卵巣がんのリスクである可能性は低いと考えられた。Diethylstilbestrol 以外の化学物質と卵巣がんの関連に関する研究はきわめて乏しく、研究の必要がある。

### 〔研究目的〕

有機塩素系化合物などの化学物質の中にはエストロゲン様作用があるものがあるため、これらの物質の暴露と内分泌関連がんの発生との関連が注目されてきた(2000)。内分泌関連腫瘍である卵巣がんと化学物質に関する疫学研究の現状を把握する目的で、文献レビューを行った。

### 〔研究方法〕

米国立医学図書館の医学文献データベース PubMed

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>) を用いて、(Ovarian Neoplasms) AND (Insecticides OR Pesticides OR Chlorinated Hydrocarbons OR PCBs OR Bisphenol OR Phenol OR Phthalate OR Styrene OR Furan OR Organotin OR Diethylstilbestrol OR Ethinyl Estradiol) AND (human)のキーワードで文献を検索した。候補文献 104 件の中から、ヒト集団を対象とする疫学研究の原著論文を選択した。さらに必要に応じて、これらの原著論文や、他の総説論文を参考にして論文を選択した。

### 〔研究結果〕

#### 1. 有機塩素系化合物

PCB や有機塩素系農薬類などの有機塩素系化合物について卵巣がんとの関連を検討した疫学研究は非常に少なかった。

##### 1) 前向きコホート研究

該当する文献はなかった。

##### 2) 症例対照研究

Donna ら(1989)は病院の患者と人口対照を利用した症例対照研究で、農業労働者の triazine 確実暴露群で有意なリスクの上昇 (OR: 3.0) を観察している。また、Donna ら(1984)は病院ベースの症例対照研究で農薬暴露と卵巣中皮腫の関係を調べたところ、確実暴露を含む暴露の可能性のある群で有意なリスクの上昇 (OR: 4.38) を観察している。ただし、農薬の種類は不明である。

##### 3) 横断面研究（エコロジカル研究を含む）

横断面研究は 4 件であった。Schreinemacher ら(1999)は米国、ミネソタ州の 4 つの地域で、都市・森林地域に対して除草剤の使用が多い農業地域の SRR を算出したが、リスクの上昇はみられなかった。Schreinemacher ら(2000)のエコロジカル研究では、米国の 3 つの州の 152 の郡につ

いて、クロロフェノキシ除草剤で処理する麦の作付け面積別に SRR を算出したが、有意なリスクの上昇は観察しなかった。Hopenhayn-Rich(2002)らのエコロジカル研究では、米国ケンタッキー州の 120 の郡について、トウモロコシ栽培面積や atrazine 販売量などから計算した atrazine 暴露の程度別に OR を算出し、暴露が大きい地域で有意なリスクの低下を観察している。Koifman(2002)らのエコロジカル研究では、ブラジルの 11 州における 1980 年代の農薬販売量と 1990 年代の卵巣がん死亡率の間には有意な相関性 ( $r=0.71$ ) を認めている。

## 2. Diethylstilbestrol

Diethylstilbestrol (DES)と卵巣がんとの関連については、米国でのコホート研究が 3 件報告されていた。Hoover ら(1977)は、一つの病院で結合型エストロゲンの Premarin と DES の併用投与経験のある女性 21 名を後ろ向き研究で調べたところで有意なリスクの上昇 (SIR: 30) がみられたことを報告している。ただし、観察数は 3 例と少なかった。Bibbo ら(1978)は RCT のデザインで 1951-1952 年に DES 投与を受けた女性 2162 名を 1976-1977 年まで追跡したところ、暴露群の罹患率は 0.6%、非暴露群は 0.2%であり、統計的には有意な増加ではなかった。Titus-Ernstoff ら(2001)は 1950 年代と 1980 年代の 2 つのコホートの 7560 名を 1994 年まで追跡したが死亡の増加 (RR: 0.71) は観察しなかった。Blatt ら (2003) が 1 件の症例報告をしていた。15 歳で卵巣小細胞がんと診断された女性で、本症例の母親は祖母が DES による治療下での妊娠例であり、DES の経世代的暴露が指摘された。

## 3. その他の物質

有機塩素系化合物以外の化学物質については報告はみられなかった。

### 〔考察〕

DES についてはコホート研究が 3 件報告されているが、結果は一致しておらず、もっとも大規模な最近の研究ではリスクの上昇がみられていないことから、DES が卵巣がんのリスクである可能性は低いと考えられる。

DES 以外の化学物質と卵巣がんの関連を調べた疫学研究は極めて少なかった。研究の種類別ではコホート研究が 1 件もなく、残留有機塩素系化合物として無視できない PCB、DDT、HCH、HCB などの物質に関する研究は皆無で、因果関係を評価することは不可能であった。農業や農薬暴露を受ける職業との関連を調べた研究も文献検索からはほとんどなかったが、これについては結果が陰性的のために出版されないバイアスも考えられた。

以上のように、DES 以外の化学物質と卵巣がんとの関連についての疫学研究の知見は現状では極めて少なかった。しかし、数少ない報告の中で、イタリアでの症例対照研究が農薬やある種の除草剤と卵巣がんリスクとの関連を示唆しており、有機塩素系化合物やその他の化学物質について研究の余地がある。また、日本人における研究は 1 件もなく、イソフラボンなどの環境要因や遺伝的な差を考慮すると、日本人での研究が必要であると考えられる。

### 〔結論〕

内分泌かく乱化学物質と卵巣がんについての疫学研究をレビューしたところ、現時点での知見はほとんどなかった。DES については複数のコホート研究の結果が一致しておらず、卵巣がんのリスクである可能性は低いと考えられた。DES 以外の有機塩素系化合物などの化学物質と卵巣がんの関連に関する研究はほとんどなく、両者の因果関係を評価することは不可能であっ



た。この点については信頼性の高い研究デザインを用いた研究の必要性が示唆された。

〔参考文献〕

Bibbo M, Haenszel WM, Wied GL, Hubby M, Herbst AL. A twenty-five-year follow-up study of women exposed to diethylstilbestrol during pregnancy. *N Engl J Med* 1978;298(14):763-7.

Cohen I, Altaras M, Jaffe R, Markov S, Corduba M, Ben Aderet N. Ovarian cancer in women given diethylstilboestrol in pregnancy: two case reports. *J Pathol* 1987;152(2):95-7.

Donna A, Betta PG, Robutti F, Crosignani P, Berrino F, Bellingeri D. Ovarian mesothelial tumors and herbicides: a case-control study. *Carcinogenesis* 1984;5(7):941-2.

Donna A, Crosignani P, Robutti F, Betta PG, Bocca R, Mariani N, Ferrario F, Fissi R, Berrino F. Triazine herbicides and ovarian epithelial neoplasms. *Scand J Work Environ Health* 1989;15(1):47-53.

Hoover R, Gray LA, Sr., Fraumeni JF, Jr. Stilboestrol (diethylstilbestrol) and the risk of ovarian cancer. *Lancet* 1977;2(8037):533-4.

Lazarus KH. Maternal diethylstilboestrol and ovarian malignancy in offspring. *Lancet* 1984;1(8367):53.

Schmidt G, Fowler WC, Jr. Ovarian cystadenofibromas in three women with antenatal exposure to diethylstilbestrol. *Gynecol Oncol* 1982;14(2):175-84.

Schreinemachers DM. Cancer mortality in four northern wheat-producing states. *Environ Health Perspect* 2000;108(9):873-81.

Schreinemachers DM, Creason JP, Garry VF. Cancer mortality in agricultural regions of Minnesota. *Environ Health Perspect* 1999;107(3):205-11.

Titus-Ernstoff L, Hatch EE, Hoover RN, Palmer J, Greenberg ER, Ricker W, Kaufman R, Noller K, Herbst AL, Colton T, Hartge P. Long-term cancer risk in women given diethylstilbestrol (DES) during pregnancy. *Br J Cancer* 2001;84(1):126-33.

今井田克己, 白井智之. 内分泌攪乱化学物質と発癌. *日本臨床* 2000;58(12):2527-2532

Blatt J, Van Le L, Weiner T, Sailer S. Ovarian carcinoma in an adolescent with transgenerational exposure to diethylstilbestrol. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2003 Aug; 25(8): 635-6.

Koifman S, Koifman RJ, Meyer A. Human reproductive system disturbances and pesticide exposure in Brazil. *Cad Saude Publica*. 2002 Mar-Apr; 18(2): 435-45. Epub 2002

Hopenhayn-Rich C, Stump ML, Browning SR. Regional assessment of atrazine exposure and incidence of breast and ovarian cancers in Kentucky. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2002 Jan; 42(1): 127-36.

表 2-3-1 内分泌かく乱化学物質と卵巣癌に関するコホート研究

地域・対象者	対象者数	追跡期間	化合物	検討された交絡要因	カテゴリー毎の相対危険度、SMR/SIRなど			
					1	2	3	P trend
Hoover, 1977 米国、ケンタッキー州 あるひとつの私立病院で 合成エストロゲンPremarinの経口投与 の経験ある白人女性。 後ろ向き研究	908名 うちDES と併用していた者 は21名。	1939-1969年	DES (Premarinと併用)		O/E=3/0.1, SIR 30 (95%CI: 6.2-87.7)			
Bibbo, 1978 米国 RCT 1951-1952年にDESの投与を 受けた群と受けなかった群	2162名。 暴露群840、 非暴露群806名。 (インタビューできた のは、暴露群693、 非暴露群668名)	1976-77まで追跡	DES	初潮年齢、妊娠回数、 出産回数、閉経年齢、 レセルピン服用歴、 経口避妊薬使用、 エストロゲン療法、 子宮摘出、家族歴、 身長 (暴露非暴露で差なし)	罹患率； 暴露群4 (0.6%)、非暴露群1 (0.2%)			
Titus-Ernstoff, 2001 米国、ボストン Mothers Study cohort (80年代) & Dieckmann Study cohort (50年代)	7560人 (暴露群3844、 非暴露群3716)	1994 までfollow-up	DES	年齢、暦年、 年齢×暦年 (調整) 調査参加時年齢、 年齢、暦年、 BMI、教育、家族歴、 初潮年齢、 経口避妊薬、流産、 最初の出産年齢、 妊娠、閉経年齢、 ホルモン療法、 子宮摘出、喫煙歴 (流産が暴露群で多いなど)	死亡相対危険度 (95%CI) 0.71 (0.28-1.75)			

表 2-3-2 内分泌かく乱化学物質と卵巣癌に関する症例対照研究

地域・対象者数 (症例/ 対照)	化合物	血清レベルの比較			カテゴリー毎のオッズ比				
		症例	対照	P値	1.00	2	3	4	P trend
Donna, 1984 イタリア アレッサンドリア 病院ベース 60/127	農業				卵巣中皮腫				
					1.00	暴露確実+可能性あり; 4.38 (1.90-16.07)			
					1.00	暴露可能性あり; 2.20 (0.77-6.32)			
Donna, 1989 イタリア アレッサンドリア省 20-69歳女性 病院患者 対照は人口対照 65/137	triazine	全対象者 農業労働者に限定				たぶん暴露	確実暴露		
					1.00	1.6 (0.8-3.0)	2.3 (0.9-5.7)		
					1.00	2.1 (0.8-5.2)	3.0 (1.1-8.5)		
Glinda S, 2004 米国 匹・アソ・エルス 18-74歳女性 Cancer Surveillance Program登録者  対照は20%HCF (Health Care Financing Administration)80%地域 人口ベース  356/424	phenolphthalein	含有緩下剤服用				上皮性卵巣がん 暴露なし			
					1.00	1.1 (0.75-1.5)			0.9

表 2-3-3 内分泌かく乱化学物質と卵巣癌に関するエコロジカル研究

地域・対象者数	化合物	血清レベルの比較			カテゴリー毎のオッズ比				
		症例	対照	P値	1(低)	2	3	4(高)	P trend
Schreinemacher, 1999 米国 ミネソタミ州の4地域 1980-1989 白人	ethylenebisdithiocarbamates などの除草剤(?)				SRR(95%CI)(都市、森林地域と比較) 第一地域:(とうもろこし、大豆地域) 0.84(0.76-0.92) 第二地域:(小麦、とうもろこし、大豆地域) 0.65(0.52-0.82) 第三地域:(ポテト、小麦、テンサイ地域。除草剤使用が多い) 0.89(0.72-1.10)				
Schreinemacher, 2000 米国 白人 クロロフェノキシ除草剤で処理する spring wheat/durum wheatを生産 するミネソタ、ノースダコタ、 サースダコタ、モンタナ州。 計152の郡 1980-1989 エコロジカル研究	クロロフェノキシ除草剤				SRR(95%CI)(郡の小麦作付け面積<23000エーカーに対して) 23000-110999エーカー; 0.91(0.78-1.07) 111000エーカー以上; 1.06(0.90-1.25)				
Hopenhayn-Rich,2002 米国 ケンタッキー州の120の群 人口370万人 白人95% 1993-1997年のデータ。 エコロジカル研究	atrazine 暴露指標は公共水道水測定値、トウモロコシ栽培面積、アトラジン販売量から計算したscore。				暴露カテゴリー別罹患調整OR(95%CI)(reference categoryはlow群) Total score 1.00 1.01(0.83-1.21) 0.77(0.66-0.90) 0.76(0.65-0.88) アトラジン販売量score 1.00 1.06(0.92-1.22) 0.86(0.73-1.01) 0.80(0.67-0.96) トウモロコシ栽培面積 1.00 0.95(0.82-1.10) 0.83(0.71-0.97) 0.76(0.64-0.90) 公共水道水測定値 1.00 0.98(0.85-1.14) 0.90(0.78-1.04) 0.85(0.73-0.98)				
Koifman,2002 ブラジル ブラジルの11州 1996 - 1998年のデータ エコロジカル研究	農薬				相関係数(95%CI)(1985年の農薬販売量と1990年代の卵巣癌死亡率) 0.71(-0.14-0.85)				

## 2 - 4 前立腺がん

### 〔要旨〕

内分泌かく乱化学物質（ダイオキシンを除く）と前立腺がんに関する疫学研究の現状について文献的考察を行った。米国立医学図書館の医学文献データベース PubMed を利用して選択した文献は2000年12月31日までに13件で、コホート研究7件、症例対照研究3件、エコロジカル研究3件であった。2001年1月1日以降はコホート研究3件、コホート内症例対照研究3件、症例対照研究3件、エコロジカル研究2件が報告されていた。日本人を対象とした研究は1件もなかった。文献的に検討した結果、アトラジンとの関連は2つのコホート研究の結果が一致しておらず、関連性について判断できなかった。有機塩素系化合物と前立腺がんとの関連に関する疫学研究が報告されていたが、数は少なく両者の因果関係を現時点で評価することは不可能であった。農薬暴露による前立腺がんリスクの増加が示唆されたが、有機塩素系農薬など特定の物質に関しての評価は不可能であった。有機塩素系化合物以外の内分泌かく乱化学物質と前立腺がんの関連に関する研究もきわめて乏しく、内分泌かく乱科学物質と前立腺がんに関する疫学研究の必要がある。

### 〔研究目的〕

有機塩素系化合物などの化学物質の中にはエストロゲン受容体、アンドロゲン受容体に親和性が認められるものがあるため、これらの物質の暴露と内分泌関連がんとの関連が注目されてきた。動物実験ではラットでテストステロンによる前立腺がんの発生が報告されている。これら化学物質と前立腺がんに関する疫学研究の現状を把握する目的で、文献レビューを行った。

### 〔研究方法〕

米国立医学図書館の医学文献データベース PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>) を用いて、(Prostatic Neoplasms) AND (Insecticides OR Pesticides OR Chlorinated Hydrocarbons OR PCBs OR Bisphenol OR Phenol OR Phthalate OR Styrene OR Furan OR Organotin OR Diethylstilbestrol OR Ethinyl Estradiol) AND (human)のキーワードで、2004年10月31日までの文献を検索した。候補文献1347件の中から、人集団を対象とする疫学研究の原著論文を選択した。さらに必要に応じて、これらの原著論文や、他の総説論文を参考にして論文を選択した。

### 〔研究結果〕

#### 1. 有機塩素系化合物

有機塩素系化合物について前立腺がんとの関連を検討した研究は、2000年12月31日まではクロロフェノキシ除草剤に関する2件のみであったが、2001年1月1日から2004年10月31日までの間に新たに8件の報告があった（ただし、同じ研究調査対象者での重複あり）。

##### 1) コホート研究

Saracci ら(1991)による10ヶ国約18000人のコホートを利用した後ろ向きコホート研究では、2,4-Tなどのクロロフェノキシ除草剤暴露者で有意なSMRの上昇はみられなかった(SMR:111, 95%CI: 75-158)。

McLennan ら(2002)による米国ルイジアナ州のアトラジン及びトリアジン系除草剤製造工場従業員2045名の後ろ向きコホート研究では、現在従事者で有意なSIRの上昇がみられた(SIR: 300,

95%CI: 110-652)。

Alavanja ら(2003)による米国ノースカロライナ州及びアイオワ州の AHS(農業健康調査)における男性農薬散布者 55332 名のコホート研究では、アトラジンを含めて有機塩素系化合物暴露による有意な SIR の上昇はみられなかった。

Rusiecki ら(2004)による AHS(農業健康調査)における男性農薬散布者 55942 名のコホート研究では、アトラジン暴露による有意な SIR の上昇はみられなかった。

## 2) コホート内症例対照研究

Charles ら(2003)による米国の 5 つの電気事業会社の従業員のコホート内症例対照研究では、PCB 暴露 (2128 時間以上) によるリスクの上昇はみられなかった (OR:1.47, 95%CI: 0.97-2.24)。

Mills ら(2003)による米国カリフォルニア州の農業労働組合員のコホート内症例対照研究では、Heptachlor 暴露 (OR: 2.37, 95%CI: 1.22-4.61) と Lindane 暴露 (OR: 2.01, 95%CI: 1.12-3.60) でリスクの上昇がみられた。量反応関係もみられた。他の有機塩素系化合物暴露による有意な OR の上昇はみられなかった。

Hessel ら(2004)による米国ルイジアナのアトラジン製造工場のコホート内症例対照研究では、PSA テストを 1 回以上受けた者では、暴露による OR の上昇はみられなかった。

## 3) 症例対照研究

Settimi ら(2001)によるイタリアの 5 カ所の農村地域での病院ベースの研究では、有機塩素系農薬暴露 (OR: 2.5, 95%CI: 1.4-4.2)、DDT 暴露 (OR: 2.1, 95%CI: 1.4-4.2)、Dicofol+Tetradifon 暴露 (OR: 2.1, 95%CI: 1.2-3.8) で OR の上昇がみられた。

Ritchie ら(2003)による米国アイオワでの病院ベースの症例対照研究では、PCB、DDE などの有機塩素系化合物の暴露による OR の上昇はみられなかった。

## 4) 横断面研究 (エコロジカル研究を含む)

Schreinemacher ら(1999)のエコロジカル研究ではクロロフェノキシ除草剤を使用する小麦の作付け面積が大きい地域で有意な SRR の上昇がみられている (SRR: 1.24, 95%CI: 1.14-1.36)。

## 2. Diethylstilbestrol

Diethylstilbestrol (DES)暴露と前立腺がんとの関連についての文献はなかった。

## 3. 農薬暴露者、農業従事者

農薬の種類を特定しない農薬暴露、あるいは職業としての農業と前立腺がんに関する疫学研究の文献は 2000 年 12 月 31 日までは 11 件 (コホート研究 6 件、症例対照研究 3 件) であった。2001 年 1 月 1 日から 2004 年 10 月 31 日までの間に新たにコホート研究 1 件、症例対照研究 2 件、横断面研究 2 件、メタ分析 2 件の報告があった。

### 1) コホート研究

Morrison ら(1993)のカナダでの農場経営者約 14 万人を対象とした後ろ向きコホート研究では除草剤を散布する者の死亡率比は 1.19 (95%CI: 0.98-1.45) であった。

Dich ら(1998)のスウェーデンでの農薬散布者約 2 万人を対象とした後ろ向きコホート研究では SIR は 1.13 (95%CI: 1.02-1.24) であった。この研究の農薬は主に DDT、lindane などであると記載されている。

Fleming ら(1999)の米国での農場経営者約 3.3 万人を対象とした前向きコホート研究では SIR は 2.48 (95%CI: 1.57-3.72) であった。

Sharma-Wagner ら(2000)はスウェーデンのがん環境登録 (Cancer-Environment Registry) を利用

して同国の産業及び職業別の SIR を求めている。その結果、前立腺がんの SIR は、農業及び家畜育成業では 1.07 (95%CI: 1.02-1.08)、農夫・森林官・庭師では 1.07 (95%CI: 1.04-1.10) といずれも小さいが有意な増加がであったと報告されている。

Alavanja ら(2003)による米国ノースカロライナ州及びアイオワ州の AHS(農業健康調査)における男性農薬散布者 55332 名のコホート研究では、農薬散布者の SIR の上昇がみられた (SIR: 1.14, 95%CI: 1.05-1.24)。

## 2) 症例対照研究

van der Gulden ら(1995)のオランダでの研究では、農薬使用で有意なリスクの増加はみられていない (OR: 1.47)。

Krstev ら(1998)の米国での研究では農夫で有意なリスクの上昇がみられている (OR: 2.17)。

Settimiv ら(2001)によるイタリアの 5 カ所の農村地域での病院ベースでの研究では、農業従事 (OR: 1.4, 95%CI: 1.0-2.1) と農薬使用 (OR: 1.7, 95%CI: 1.2-2.6) で有意なリスクの上昇がみられている。Settimi ら(2003)による別の報告では、農業従事の OR は 1.4 (95%CI: 0.9-2.0)となっている。

このような農業あるいは農薬使用と前立腺がんに関する研究では農薬の種類や暴露量、他の暴露物質などについては詳しくは調べられていないものがほとんどである。

## 3) 横断面研究 (エコロジカル研究を含む)

Wilkinson ら(1997)が英国の農薬工場の周辺の住民の O/E 比が有意に高いことを報告している (1.10, 95%CI: 1.02-1.18)。

Koifman ら(2002)は、ブラジルの 11 州について、1985 年の農薬販売量と 1996-1998 年の前立腺がん死亡率の相関をみたが、関連はなかった ( $r=0.67$ , 95%CI: -0.20-0.83)。

ただし、いずれも暴露物質や暴露の程度ははっきりしていない。

## 4) メタ分析

Van Maele-Fabry ら(2003)は、農業従事者に関する 22 の研究 (コホート研究 11、PMR 研究 4、症例対照研究 7) の 25 の推定値を利用して、農業従事者の meta-rate ratio 推定値を算出したところ、1.13 (1.04-1.22)と有意にリスクの上昇がみられた。

## 4. その他の物質

有機塩素系農薬類以外については、Schreinemacher ら(1999)が米国において、都市・森林地区と比較して ethylenebisdithiocarbamates などの除草剤の使用が多い農業地域の SRR が有意に高いことを報告している (1.12, 95%CI: 1.00-1.26)。ただし、暴露物質や暴露状況ははっきりしていない。

Janssens ら(2001)は、ベルギーの地方自治体 589 カ所について、1998 年の作物栽培及び殺虫剤使用量と 1985-1994 年の死亡率統計の相関をみたところ、枯草剤使用量と死亡率 ( $P=0.01$ )、成長調整剤使用量と死亡率 ( $P=0.02$ ) に関連がみられた。他の種類の殺虫剤については、関連はなかった。

アルキルフェノール類、ビスフェノール A などについての報告はなかった。

### 〔考察〕

有機塩素系化合物についての研究については、2001 年 1 月 1 日以降に報告がみられた。アトラジンについては、農業従事者のコホート研究でリスクの上昇がみられていない。工場労働者についてのコホート研究ではリスクの上昇が観察されたが、その後、PSA テスト受診を考慮す

ると有意なリスクの上昇はみられていない。PCBについては、コホート内症例対照研究と症例対照研究で有意なリスクの上昇はみられていない。コホート内症例対照研究と症例対照研究で Heptachlor, Lindane, DDE などの有意なリスクの上昇がみられているが、報告は少なく、暴露との関連は判断できない。残留有機塩素系化合物について物質を特定した研究の必要性がある。

農業や農薬暴露と前立腺がんの関連に関しては、2000年12月31日以前の文献では、5つの前向きコホート研究（2つの文献は同じコホート）のうち、3つで有意なリスクの上昇、1つの研究では95%信頼区間下限がほとんど1.00、残りの1つの研究では統計的な解析が行われていなかった。SIRの大きさは、およそ1.1-2.5程度と大きくはないが、農薬散布者では一貫してリスクの上昇が観察されている。2001年1月1日以降の文献でも、症例対照研究が1件（文献は2つ）あり、同様の結果であった。ただし、農薬の種類などは不明であり、暴露評価も不明な点が多い。Keller-Byrneら(1997)の農業と前立腺がんに関する研究のメタ分析では、24の研究から評価した相対危険度は1.12 (95%CI: 1.01-1.24)、13の後ろ向き研究を総合すると1.29

(1.10-1.51)、11のSMRを報告している研究を総合すると0.93 (0.77-1.11)と報告されている。Van Maele-Fabryらによるメタ分析の結果も同様であった。農業従事者における暴露は農薬散布者における暴露よりも小さいことが考えられるため、これらの結果を考慮すると、農薬を暴露する職種のリスクは小さいが上昇している可能性が高い。ただし、他の要因の関与も否定できず、特定の農薬についてのリスクも判断できない。

また、有機塩素系化合物以外の物質についての報告はなかったが、そのような物質の中にはビスフェノールAなどのようにアンドロゲン様の作用を持つものもあり、前立腺がんリスクとの関連の評価が必要である。

子宮内でのDES暴露と前立腺がんに関する文献は1件もなかった。DES暴露とがん罹患について男児を追跡した研究は精巣がんについてはあるが、前立腺がんについては発症年齢が高いために報告されていないことも考えられた。

以上のように、内分泌かく乱化学物質と前立腺がんとの関連についての疫学研究的知見は増えているが、結果は一致しておらず、因果関係を評価することは不可能であった。また、日本人での研究はなかった。今後、化学物質と前立腺がんとの関連についてわが国でも研究を行う必要がある。

#### 〔結論〕

内分泌かく乱化学物質と前立腺がんについての疫学研究的知見を2004年10月31日までレビューしたところ、アトラジンとの関連は2つのコホート研究の結果が一致しておらず、関連性について判断できなかった。有機塩素系化合物と前立腺がんとの関連に関する疫学研究的知見が報告されていたが、数は少なく両者の因果関係を現時点で評価することは不可能であった。有機塩素系化合物以外の化学物質についての報告はなかった。また、日本人での研究はなかった。この点について信頼性の高い研究デザインを用いた研究の必要性が示唆された。

#### 〔参考文献〕

Alavanja MC, Samanic C, Dosemeci M, Lubin J, Tarone R, Lynch CF, Knott C, Thomas K, Hoppin JA, Barker J, Coble J, Sandler DP, Blair A. Use of agricultural pesticides and prostate cancer risk in the Agricultural Health Study cohort. *Am J Epidemiol* 2003;157:800-14.

Charles LE, Loomis D, Shy CM, Newman B, Millikan R, Nylander-French LA, Couper D.



Electromagnetic fields, polychlorinated biphenyls, and prostate cancer mortality in electric utility workers. *Am J Epidemiol* 2003;157:683-91.

Checkoway H, DiFerdinando G, Hulka BS, Mickey DD. Medical, life-style, and occupational risk factors for prostate cancer. *Prostate* 1987;10(1):79-88.

Dich J, Wiklund K. Prostate cancer in pesticide applicators in Swedish agriculture. *Prostate* 1998;34(2):100-12.

Fleming LE, Bean JA, Rudolph M, Hamilton K. Cancer incidence in a cohort of licensed pesticide applicators in Florida. *J Occup Environ Med* 1999;41(4):279-88.

Fleming LE, Bean JA, Rudolph M, Hamilton K. Mortality in a cohort of licensed pesticide applicators in Florida. *Occup Environ Med* 1999;56(1):14-21.

Hessel PA, Kalmes R, Smith TJ, Lau E, Mink PJ, Mandel J. A nested case-control study of prostate cancer and atrazine exposure. *J Occup Environ Med*. 2004;46:379-85.

Janssens JP, Van Hecke E, Geys H, Bruckers L, Renard D, Molenberghs G. Pesticides and mortality from hormone-dependent cancers. *Eur J Cancer Prev*. 2001;10:459-67.

Keller-Byrne JE, Khuder SA, Schaub EA. Meta-analyses of prostate cancer and farming. *Am J Ind Med* 1997;31(5):580-6.

Koifman S, Koifman RJ, Meyer A. Human reproductive system disturbances and pesticide exposure in Brazil. *Cad Saude Publica*. 2002;18:435-45.

Krstevic S, Baris D, Stewart P, Dosemeci M, Swanson GM, Greenberg RS, Schoenberg JB, Schwartz AG, Liff JM, Hayes RB. Occupational risk factors and prostate cancer in U.S. blacks and whites. *Am J Ind Med* 1998;34(5):421-30.

MacLennan PA, Delzell E, Sathiakumar N, Myers SL, Cheng H, Grizzle W, Chen VW, Wu XC. Cancer incidence among triazine herbicide manufacturing workers. *J Occup Environ Med*. 2002;44:1048-58.

Mills PK, Yang R. Prostate cancer risk in California farm workers. *J Occup Environ Med* 2003 ;45:249-58.

Morrison H, Savitz D, Semenciw R, Hulka B, Mao Y, Morison D, Wigle D. Farming and prostate cancer mortality. *Am J Epidemiol* 1993;137(3):270-80.

Ritchie JM, Vial SL, Fuortes LJ, Guo H, Reedy VE, Smith EM. Organochlorines and risk of prostate cancer. *J Occup Environ Med* 2003;45:692-702.

Rusiecki JA, De Roos A, Lee WJ, Dosemeci M, Lubin JH, Hoppin JA, Blair A, Alavanja MC. Cancer incidence among pesticide applicators exposed to atrazine in the Agricultural Health Study. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:1375-82.

Saracci R, Kogevinas M, Bertazzi PA, Bueno de Mesquita BH, Coggon D, Green LM, Kauppinen T, L'Abbe KA, Littorin M, Lynge E, et al. Cancer mortality in workers exposed to chlorophenoxy herbicides and chlorophenols. *Lancet* 1991;338(8774):1027-32.

Settimi L, Comba P, Bosia S, Ciapini C, Desideri E, Fedi A, Perazzo PL, Axelson O. Cancer risk among male farmers: a multi-site case-control study. *Int J Occup Med Environ Health*. 2001;14:339-47.

Settimi L, Masina A, Andrion A, Axelson O. Prostate cancer and exposure to pesticides in agricultural settings. *Int J Cancer*. 2003;104:458-61.

Schreinemachers DM, Creason JP, Garry VF. Cancer mortality in agricultural regions of Minnesota. *Environ Health Perspect* 1999;107(3):205-11.

Sharma-Wagner S, Chokkalingam AP, Malker HS, Stone BJ, McLaughlin JK, Hsing AW. Occupation and prostate cancer risk in Sweden. *J Occup Environ Med* 2000;42(5):517-25.

van der Gulden JW, Kolk JJ, Verbeek AL. Work environment and prostate cancer risk. *Prostate* 1995;27(5):250-7.

Van Maele-Fabry G, Willems JL. Occupation related pesticide exposure and cancer of the prostate: a meta-analysis. *Occup Environ Med* 2003;63:4-42.

Wiklund K, Holm LE. Trends in cancer risks among Swedish agricultural workers. *J Natl Cancer Inst* 1986;77(3):657-64.

Wilkinson P, Thakrar B, Shaddick G, Stevenson S, Pattenden S, Landon M, Grundy C, Elliott P. Cancer incidence and mortality around the Pan Britannica Industries pesticide factory, Waltham Abbey. *Occup Environ Med* 1997;54(2):101-7.

今井田克己, 白井智之. 内分泌攪乱化学物質と発癌. *日本臨床* 2000;58(12):2527-2532.

表 2-4-1 内分泌かく乱化学物質と前立腺癌に関するコホート研究

地域・対象者	対象者数	追跡期間	化合物	検討された交絡要因	カテゴリー毎の相対危険度、SMR/SIRなど						
					1	2	3	4	5	6	P trend
Wiklund, 1986 スウェーデン 農業従事者 1981-1940年に生まれた者	農業従事者254417 対照コホート1725845名 1725845名	1961-1979年	農業従事者		0.90 (1961-1967) 0.93 (1967-1973) 1.01 (1974-1979) 経年変化傾向有意 (P<0.01)。						
Saracci R, 1991 オーストラリア、オーストリア、カナダ、 デンマーク、フィンランド、イタリア、 オランダ、ニュージーランド、 スウェーデン、英国の複数の コホートを使用。 後ろ向き研究	18390名 (16863男性、 1527女性) 暴露群13482、 たぶん暴露群416、 非暴露群3951、 不明群541名	1955-1988 (各コホートにより 異なる)	クロロフェノキシ 除草剤 (2,4-T、 2,4,5-T、 2,4,5-TCP、 2,4,6-TCP、 2,4-DCP、 2,4-DP、2,4-DB、 2,3,4,6-TeCP、 MCPA、MCPB、 MCCP、PCP、 PBA)		SMR (95%CI) (観察死亡数) 暴露群: 111 (75-158) (30) たぶん暴露群: 0 (0-671) (0) 非暴露群: 40 (5-143) (2) 不明群: 217 (6-1211) (1)						
Morrison, 1993 カナダ 45歳以上農場経営者 後ろ向き研究	145383名	1971-1987年	除草剤	年齢、暦年(調整)	除草剤散布面積(250エーカー以上対0エーカー)死亡率RR: 1.19 (0.98-1.45)						
Dich, 1998 スウェーデン 1965-1976年に資格をとった 資格をもつ農薬散布者 後ろ向き研究	20025名。	1991年まで	農薬 (主にDDT、 lindane、 pentachloropheno) phenoxy酢酸除草剤	資格をとった年、 誕生日、地域 (以上を考慮)	SIR 1.13 (1.02-1.24)						
Fleming, 1999 米国、フロリダ 資格をもつ農薬散布者	33658名 (男性30155、 女性3503)	1975-1993年	農薬散布者	年齢、暦年(調整)	SIR (95%CI) 全体: 2.48 (1.57-3.72)(観察数; 23) 私用散布者: 2.37 (1.33-3.91)(観察数; 15) 商用公用散布者: 2.72 (1.17-5.36) (観察数; 8)						
Fleming, 1999 米国、フロリダ 資格をもつ農薬散布者	33658名 (男性30155)	1975-1990年	農薬散布者	年齢、暦年(調整)	SMR (95%CI) 2.38 (1.83-3.04)(観察数; 64)						
Sharma-Wagner, 2000 スウェーデン Swedish Cancer-Environment Registry 全国内		1961-1979年	農薬	年齢、地域(調整)	SIR (95%CI) 農業および家畜育成業1.07 (1.02-1.08) (n=6080) 農夫、森林官、庭師1.07 (1.04-1.10) (n=5219)						
MacLennan, 2002 米国、ルイジアナ州 アトラジンおよびトリアジン系除草剤 製造工場従業員。 平均勤務期間10.6年 後ろ向き研究	2045名	1985-1997年	除草剤 (アトラジンおよび トリアジン系)	なし	I/E 11/6.3 SIR (95%CI) 100 175 (87-312) 現在従事者 100 300 (110-652) 契約従業員または休業中 100 116 (38-271)						

カテゴリー毎の相対危険度、SMR/SIRなど

地域・対象者	対象者数	追跡期間	化合物	検討された交絡要因	カテゴリー毎の相対危険度、SMR/SIRなど						P trend
					1	2	3	4	5	6	
Alavanja, 2003					SIR (95%CI)						
米国、ノースカロライナ州、アイオワ州	55332名	登録時	農薬散布者	年齢、家族歴	1.14 (1.05-1.24)						
AHS(農業健康調査)コホート研究		(1993-1997年)	Alachlor		1 0.91 (0.70-1.18)	1.11 (0.85-1.45)	1.35 (0.95-1.92)	0.70 (0.44-1.12)	0.77 (0.48-1.26)	0.52	
男性農薬散布者55332名		-1999年	Atrazine		1 1.02 (0.79-1.31)	0.91 (0.71-1.18)	0.89 (0.65-1.23)	0.82 (0.54-1.25)	0.97 (0.63-1.48)	0.34	
			Carbofuran		1 1.29 (0.95-1.74)	1.93 (1.42-2.62)	1.00 (0.66-1.51)	0.68 (0.38-1.23)	1.01 (0.58-1.77)	0.23	
			Chlorpyrifos		1 0.95 (0.70-1.30)	1.04 (0.75-1.42)	0.89 (0.58-1.36)	0.64 (0.35-1.18)	0.73 (0.41-1.31)	0.23	
			Permethrin		1 1.30 (0.76-2.24)	2.31 (1.38-3.87)	1.11 (0.54-2.25)	1.73 (0.63-4.75)	0.74 (0.24-2.33)	0.63	
			Aldrin		1 1.44 (0.98-2.11)	1.12 (0.76-1.66)	1.56 (0.92-2.64)	0.87 (0.38-1.99)	1.38 (0.60-3.19)	0.7	
			DD		1 1.18 (0.84-1.66)	1.17 (0.81-1.69)	0.76 (0.46-1.27)	1.38 (0.71-2.68)	1.14 (0.59-2.21)	0.89	
			Heptachlor		1 1.08 (0.67-1.74)	0.86 (0.53-1.41)	1.00 (0.51-1.98)	0.64 (0.20-2.03)	0.66 (0.21-2.09)	0.41	
			臭化メチル		1 1.01 (0.66-1.56)	0.76 (0.47-1.25)	0.70 (0.38-1.28)	2.73 (1.18-6.33)	3.47 (1.37-8.76)	0.004	
			Captan		1 1.07 (0.50-2.30)	1.09 (0.48-2.48)	1.89 (0.58-6.12)	0.95 (0.23-3.93)	2.79 (0.35-22.1)	0.11	
Rusiecki, 2004					SIR (95%CI)						
米国、アイオワ州とノースカロライナ州	53943名	1993-1997	アトラジン	年齢、性別、飲酒、	暴露期間での暴露評価						
農薬散布者コホート(53943名)		(質問票調査)		農場の場所、喫煙、	1 0.89 (0.66-1.21)	0.75 (0.56-1.03)	0.88 (0.63-1.23)				0.26
68% (36513名)がアトラジン暴露歴有り		-2001		教育歴、家族歴、州、	暴露強度を考慮した暴露期間での暴露評価						
				アトラジンと関連する	1 1.03 (0.76-1.41)	0.86 (0.62-1.20)	0.89 (0.63-1.25)				0.35
				10種の農薬の使用							

表 2 - 4 - 2 内分泌かく乱化学物質と前立腺癌に関するコホート内症例対照研究

地域・対象者数 (症例/対照)	化合物	血清での検出率		血清レベルの比較			カテゴリー毎のオッズ比							
		症例	対照	P値	症例	対照	P値	1.00	2	3	4	P trend		
Charles, 2003 米国 5つの電気事業会社 1987～1994年時点の 現従業員と元従業員。 1988年以降フォロー 症例387 対照1935 44～92歳 白人91% 上層ブルーカラー階級44.5%	PCB (2821時間以上の暴露)							1.47 (0.97-2.24)						
Mills, 2003 米国カリフォルニア州 農業労働組合員 ヒスパニック系 1987-1999年に 診断された症例222 (平均年齢70歳) 対照1110	Chlorothalonil Diazinon Dichlorvos Dichloropropene Dicofol Heptachlor Lindane Malathion Mancozeb Maneb 臭化メチル Propagiarite Propoxur Propyzamide Simazine Trifluralin							1.00	1.04 (0.69-1.56)	1.11 (0.65-1.89)	1.12 (0.58-2.15)	0.71		
								1.00	0.89 (0.58-1.36)	0.51 (0.29-0.91)	0.64 (0.33-1.26)	0.56		
								1.00	1.38 (0.91-2.10)	1.15 (0.71-1.87)	1.64 (0.97-2.78)	0.21		
								1.00	1.08 (0.72-1.62)	0.85 (0.51-1.42)	0.73 (0.39-1.35)	0.67		
								1.00	0.86 (0.57-1.29)	1.04 (0.64-1.67)	1.09 (0.65-1.83)	0.84		
								1.00	1.13 (0.73-1.73)	2.07 (1.21-3.54)	2.01 (1.12-3.60)	0.003		
								1.00	1.14 (0.45-1.77)	1.86 (1.10-3.17)	2.37 (1.22-4.61)	0.003		
								1.00	0.93 (0.62-1.39)	1.01 (0.61-1.67)	1.04 (0.59-1.85)	0.89		
								1.00	0.91 (0.60-1.38)	0.92 (0.54-1.55)	1.10 (0.62-1.97)	0.89		
								1.00	1.03 (0.68-1.55)	1.01 (0.61-1.68)	0.77 (0.41-1.42)	0.58		
								1.00	1.17 (0.77-1.79)	1.20 (0.66-2.18)	1.59 (0.77-3.30)	0.25		
								1.00	0.79 (0.52-1.21)	0.92 (0.56-1.49)	1.14 (0.71-1.83)	0.68		
								1.00	1.01 (0.66-1.53)	0.99 (0.60-1.64)	1.49 (0.88-2.52)	0.15		
								1.00	0.73 (0.49-1.09)	0.69 (0.43-1.12)	0.54 (0.30-0.97)	0.07		
								1.00	1.52 (1.00-2.34)	1.56 (0.92-2.66)	1.81 (0.93-3.53)	0.03		
								1.00	0.98 (0.66-1.46)	0.93 (0.59-1.48)	0.77 (0.43-1.37)	0.36		
Hessel, 2004 米国 オリジナルコホートは、 ルイジアナの アトランティック製造工場の コホート (2045名) 本研究は、そのうち 医療記録がある company workerに限った。 症例12 対照130	atrazine								全員 (症例12、対照130) のOR					
									1.00	平均暴露 (連続量) : 0.87 (0.46-1.30)				
									1.00	暴露期間 (連続量) : 1.30 (1.06-1.66)				
									1.00	累積暴露 (連続量) : 1.01 (0.95-1.07)				
										1回以上PSAテストを受けた者 (症例10、対照48) のOR				
									1.00	平均暴露 (連続量) : 0.82 (0.36-1.47)				
									1.00	暴露期間 (連続量) : 0.96 (0.71-1.30)				
									1.00	累積暴露 (連続量) : 0.98 (0.91-1.05)				

表 2-4-3 内分泌かく乱化学物質と前立腺癌に関する症例対照研究

地域・対象者数 (症例/対照)	化合物	血清での検出率			血清レベルの比較			カテゴリ毎のオッズ比										
		症例	対照	P値	症例	対照	P値	1.00	2	3	4	5	P trend					
Checkoway, 1987 米国、ノースカロライナ 白人、黒人 対照は 良性前立腺肥大。 病院ベース 40/64	農薬、除草剤																	
								農薬暴露：症例12.5%、対照7.8% 除草剤暴露：症例10.0%、対照6.3% 農業職業歴：症例75.0%、対照37.5% (統計学的検定されていない)										
van der Gulden, 1995 オランダ 人口ベース 345/1346	農薬				平均農薬使用 (日/年) 11.400 7.500 0.03			1.00	1.00	1.00	1.00	1.00						
								農薬：0.85 (0.57-1.25) 農夫：0.78 (0.51-1.18) 農場労働者：2.74 (0.94-7.98) 農薬：0.84 (0.63-1.13) (時々および頻繁使用)、1.47 (0.88-2.46) (頻繁使用)										
Krstev, 1998 米国 アトランタ、ジョージア、 デトロイト、ミシガン、 ニュージャージー 白人、黒人 人口ベース 症例981 (黒人479、白人502) 対照1315 (黒人594、白人721)	農業																	
								農夫： 全体；2.17 (1.18-3.98) 黒人；1.97 (0.91-4.25)、白人；2.71 (1.00-7.38) 農場経営者： 全体；1.63 (1.04-2.54) 黒人；1.59 (0.90-2.80)、白人；1.90 (0.91-3.95)										
Settimi, 2001 イタリア 5カ所の農村地域 病院ベース 1990-1992年 症例140 対照897	農業従事  農薬																	
								非農業 1.00 1.4 (1.0-2.1) 1.00 1.4 (0.4-4.9) 1.3 (0.6-2.5) 1.5 (1.0-2.1) (農業従事期間別) 非農業 農薬使用 1.00 1.7 (1.2-2.6) 非農業 農薬非使用 1.00 1.1 (0.5-2.2) 1.3 (0.5-2.9) 1.9 (1.2-2.9) (農業使用期間別)										
Settimi, 2003 イタリア 5カ所の農村地域 病院ベース 1990-1992年 症例124(平均66.1歳) 対照659(平均64.1歳)	農業従事  Carbamates 有機塩素系農薬 DDT Dicofol & Tetradifon Dithiocarbamates Ziram																	
								1.00 1.4 (0.9-2.0) 1.00 1.2 (0.4-2.4) 1.00 2.5 (1.4-4.2) 1.00 2.1 (1.2-3.8) 1.00 2.8 (1.5-5.0) 1.00 1.0 (0.6-1.7) 1.00 1.2 (0.5-3.0)										

地域・対象者数 (症例/対照)	化合物	血清での検出率			血清レベルの比較			カテゴリ毎のオッズ比					
		症例 (%)	対照 (%)	P値	症例	対照	P値	1.00	2	3	4	5	P trend
Ritchie, 2003					血清中中央値 (µg/g脂肪)								
米国、アイオワ	-HCH	14	15	0.82									
白人98-99%	p,p'-DDE	100	99	0.99	0.290	0.270	0.68	1.00	0.72 (0.31-1.71)	1.08 (0.47-2.50)			
病院ベース	p,p'-DDT	0	2	0.53									
症例58(47~85歳)	dieldrin	29	38	0.25				1.00	0.97 (0.40-2.36)	0.28 (0.09-0.88)			
対照99(44~85歳)	heptachlor epoxide	24	34	0.18				1.00	0.58 (0.21-1.64)	0.33 (0.10-1.03)			
	HCB	5	4	0.71									
	trans-nonachlor	98	88	0.03	0.033	0.033	0.38	1.00	1.96 (0.83-4.66)	1.18 (0.45-3.08)			
	oxychlorane	91	82	0.10	0.027	0.026	0.58	1.00	3.11 (1.27-7.63)	1.23 (0.42-3.55)			
	PCB18	2	0	0.37									
	PCB28	2	1	0.99									
	PCB99	12	11	0.86									
	PCB118	7	6	0.99									
	PCB138	0	1	0.99									
	PCB146	0	1	0.99									
	PCB153	88	84	0.48	0.040	0.033	0.41	1.00	1.76 (0.76-4.07)	0.98 (0.37-2.59)			
	PCB170	4	5	0.99									
	PCB180	54	38	0.07	0.022	0.009	0.10	1.00	3.13 (1.33-7.34)	1.47 (0.58-3.73)			
	PCB187	10	7	0.55									
	PCB194	5	7	0.75									
	PCB201	0	1	0.99									
	総PCB				0.055	0.042	0.18	1.00	1.36 (0.56-3.32)	1.67 (0.66-4.22)			

表 2 - 4 - 4 内分泌かく乱化学物質と前立腺癌に関するエコロジカル研究

地域・対象者数	化合物	血清レベルの比較			カテゴリー毎のオッズ比					
		症例	対照	P値	1(低)	2	3	4(高)	P trend	
Wilkinson, 1997 英国 農業工場の周りの住民 地域のがん罹患数・死亡数	農薬						O/E 1.37 (95%CI: 0.89-2.02) (0-1km圏) O/E 1.10 (95%CI: 1.02-1.18) (0-7.5km圏)			
Schreinemacher, 1999 米国 ミネソタミ州の4地域 1980-1989 白人	ethylenebisdithiocarbamates などの除草剤(?)						SRR (95%CI) (都市、森林地域と比較) 第一地域: (とうもろこし、大豆地域) 1.00 (0.94-1.06) 第二地域: (小麦、とうもろこし、大豆地域) 0.99 (0.89-1.11) 第三地域: (ポテト、小麦、テンサイ地域。除草剤使用が多い) 1.12 (1.00-1.26)			
Schreinemacher, 2000 米国 白人 クロロフェノキシ除草剤で処理する spring wheat/durum wheatを生産 するミネソタ、ノースダコタ、 サースダコタ、モンタナ州。 計152の郡 1980-1989 エコロジカル研究	クロロフェノキシ除草剤						SRR(95%CI) (郡の小麦作付け面積<23000エーカーに対して) 23000-110999エーカー; 1.10 (1.01-1.20) 111000エーカー以上; 1.24 (1.14-1.36)			
Janssens, 2001 ベルギー 地方自治体(589カ所) 1998年の作物栽培、殺虫剤使用量 1985-1994年の死亡率統計	農薬						枯草剤使用量と死亡率に関連あり ( P = 0.01 ) 成長調整剤使用量と死亡率に関連あり ( P = 0.02 ) 他の種類については関連なし			
Koifman, 2002 ブラジルの11州	農薬						1985年の農薬販売量と1996-1998年の前立腺癌死亡率の相関r=0.67 (95%CI: -0.20-0.83)			



表 2 - 4 - 5 内分泌かく乱化学物質と前立腺癌に関するメタ分析

地域・対象者数 (症例/対照)	化合物 / 要因	meta-rate ratio推定値
Van Maele-Fabry, 2003 農業従事者	農薬?	1.13 (1.04-1.22)
22の研究からの25の推定値を利用 (コホート研究11、PMR研究4、症例対照研究7)		
PMR: proportional mortality ratios		

## 2 - 5 精巣がん

### 〔要旨〕

内分泌かく乱化学物質（ダイオキシンを除く）と精巣がんに関する疫学研究の現状について文献的考察を行った。米国立医学図書館の医学文献データベース PubMed を利用して選択した文献は 2000 年 12 月 31 日までに 16 件で、コホート研究 7 件、症例対照研究 7 件、エコロジカル研究 2 件であった。2001 年 1 月 1 日以降は症例対照研究 2 件（研究としては 1 つ）、エコロジカル研究 1 件が報告されていた。日本人を対象とした研究は 1 件もなかった。文献的に検討した結果、有機塩素系化合物に関する研究は極めて少なかった。症例対照研究で症例の母親の暴露との関連が報告されており、胎児期の胎内暴露が関与するかどうかについては検討が必要である。Diethylstilbestrol の胎内暴露と精巣がんリスクとの関連については最近の前向き研究の結果では有意な関連はみられていない。その他の内分泌かく乱化学物質についての研究はなかった。有機塩素系化合物などの内分泌かく乱化学物質と精巣がんの関連に関する研究はきわめて乏しく、研究の必要がある。

### 〔研究目的〕

有機塩素系化合物などの化学物質の中にはエストロゲン様作用あるいはアンドロゲン様作用があるものがあるため、これらの物質の暴露と内分泌関連がんとの関連が注目されてきた。これら化学物質と精巣がんに関する疫学研究の現状を把握する目的で、文献レビューを行った。

### 〔研究方法〕

米国立医学図書館の医学文献データベース PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>) を用いて、(Testicular Neoplasms) AND (Insecticides OR Pesticides OR Chlorinated Hydrocarbons OR PCBs OR Bisphenol OR Phenol OR Phthalate OR Styrene OR Furan OR Organotin OR Diethylstilbestrol OR Ethinyl Estradiol) AND (human) のキーワードで文献を検索した。候補文献 71 件の中から、人集団を対象とする疫学研究の原著論文を選択した。さらに必要に応じて、これらの原著論文や、他の総説論文を参考にして論文を選択した。

### 〔研究結果〕

#### 1. 有機塩素系化合物

##### 1) コホート研究

Saracci ら(1991)による 10ヶ国約 18000 人のコホートを利用した後ろ向きコホート研究では、2,4-T などのクロロフェノキシ除草剤暴露者で有意な SMR の上昇はみられていない (SMR: 225, 95%CI: 90-464)。

##### 2) 症例対照研究

Hardell ら(2003)によるスウェーデンでの研究では、症例では cis-nonachlordane 暴露のリスクが有意に上昇していた (OR: 2.6, 95%CI: 1.2-5.7)。一方、症例の母親では総 PCB (OR: 3.8, 95%CI: 1.4-10)、HCB (OR: 4.4, 95%CI: 1.7-12)、trans-nonachlordane (OR: 4.1, 95%CI: 1.5-11)、cis-nonachlordane (OR: 3.1, 95%CI: 1.2-7.8) の暴露のリスクが有意に上昇していた。Hardell ら(2004)はさらに PCB 同族体について詳細に分析している。症例と対照ではリスクとの有意な関連はみられなかったが、母親の暴露については、Oestrogenic PCBs (OR 2.4, 95%CI:

0.95-6.0)、Enzyme-inducing PCBs (OR2.6, 95%CI: 1.03-6.5)、TEQ (OR3.3, 95%CI: 1.3-8.4)の暴露のリスクが有意に上昇していた。

### 3) エコロジカル研究

Ekobom ら(1996)は 1996 年に、北欧 4 ヶ国の母乳中の DDE 濃度と精巣がんの罹患率に同じ傾向があることを生態学的に指摘している。

## 2. Diethylstilbestrol

妊娠中の母親の子宮内での Diethylstilbestrol (DES)暴露と精巣との関連については、米国でのコホート研究 2 件、症例対照研究 3 件が報告されていた。Leary ら(1984)は 1939-1962 年に Mayor Clinic で生まれた男児を後ろ向きコホート研究で調べているが、暴露群からの発症数は 1 例のみであった(非暴露群からは 0)。Strohsnitter ら(2001)は 4 つのコホートで 3613 名を 1979-1994 年の間追跡し、有意なリスクの上昇を観察していない(RR: 3.05, 95%CI: 0.65-22.0, SIR: 2.04, 95%CI: 0.82-4.20)。症例対照研究では人口ベースの研究が 2 件、病院ベースの研究が 1 件あるが、いずれも有意なリスクの上昇はみられなかった。

### 3. 農薬散布者、農業従事者

農薬散布者や農業従事者と精巣がんに関する疫学研究的文献は、2000 年 12 月 31 日までは 7 件(前向きコホート研究 4、症例対照研究 3)であった。2001 年 1 月 1 日から 2004 年 10 月 31 日までの間に新たにエコロジカル研究が 1 件報告されていた。

#### 1) コホート研究

前向きコホート研究は、2 つの集団に関する報告が 2 件ずつあった。Wiklund ら(1986)はスウェーデンで農薬散布者を 1965-1976 年の間追跡し、相対危険度が 1.55 (95%CI: 0.92-2.45)であったことを報告している。Dich ら(1996)は同じ集団を 1991 年まで追跡し、SIR が上昇しなかったことを報告している(SIR: 1.01, 95%CI: 0.68-1.67)。Fleming ら(1999)は米国の農薬散布者のコホートで、SIR が有意に高かったことを報告している(2.48, 95%CI: 1.57-3.72)。

#### 2) 症例対照研究

症例対照研究では、人口ベースの研究が 2 件あった。McDowall ら(1984)は農夫について OR: 1.89 (0.99-3.60)、Sewell ら(1986)は農業従事者について OR: 0.56 (0.21-1.47) を報告している。病院ベースの症例対照研究は 1 件で、Mills ら(1984)は農業従事者について有意なリスクの上昇(OR: 6.27)を報告している。このような職業としての農業とがんに関する研究では原因となる要因については詳しくは調べられていない。

#### 3) エコロジカル研究

Koifman,ら(2002)は、ブラジルの 11 州について、1985 年の農薬販売量と 1996-1998 年の精巣腫瘍死亡率の相関をみたが、関連はみられていない( $r=0.53$ , 95%CI: -0.39-0.75)。

## 4. その他の物質

有機塩素系農薬類以外については、Ohlason ら(2000)がスウェーデンでの人口ベースの症例対照研究で、塩化ビニル暴露群で有意なリスクの上昇を観察している。塩化ビニルプラスチック中の可塑剤である ethylhexylphthalate が原因ではないかと考察しているが、暴露状況等については不明である。

Schreinemacher ら(1999)は米国、ミネソタ州の 4 つの地域で、都市・森林地域に対して除草剤の使用が多い農業地域の SRR を算出したが、リスクの上昇はみられなかった。(SRR: 1.54)。

暴露物質の詳細は不明である。

アルキルフェノール類、ビスフェノール A などについての報告はなかった。

#### 〔考察〕

DES と精巣がんの関連については、最近の前向き研究の結果では統計的に有意なリスクの上昇はみられていない。症例対照研究でも一致した結果は得られていない。これらの文献からは DES 暴露が精巣がんのリスク要因になると評価することは困難である。

有機塩素系化合物に関する分析疫学研究としては、症例対照研究で症例の母親の暴露との関連が報告されており、胎児期の胎内暴露が関与するかどうかについて検討が必要である。

農業従事者や農薬散布者と精巣がんについては、前向きコホート研究では農薬散布者の相対危険度が 1.1-1.6 の範囲であり、いずれも有意ではなかった。職業とがん罹患全般に関する研究は本報告で取り上げた文献以外にも数多く存在すると考えられるが、それらが今回の文献検索で挙がってこなかったことは精巣がんに関する結果が陰性であるためと考えられる。このことを考慮すると、農薬の暴露と精巣がんの関連は小さいと考えられた。しかし、残留有機塩素系化合物として無視できない PCB、DDT、HCH、HCB などの物質を特定した研究は皆無であり、これらの研究の必要性がある。

また、有機塩素系化合物以外の物質についての報告もほとんどなかったが、そのような物質の中にはビスフェノール A などのようにアンドロゲン様の作用を持つものもあり、精巣がんリスクとの関連を評価する研究が必要である。

以上のように、DES 以外の化学物質と精巣がんとの関連についての疫学研究の知見は現状ではほとんどなく、因果関係を評価することは不可能であった。今後、化学物質と精巣がんとの関連について研究を行う必要がある。

#### 〔結論〕

内分泌かく乱化学物質と精巣がんについての疫学研究をレビューしたところ、有機塩素系化合物の胎内暴露に関する研究が 1 件あり、有意な関連がみられていた。DES については、有意に精巣がんリスクを上昇させるという結果を示した研究はなかった。DES 以外の化学物質と精巣がんの関連に関する研究はきわめて乏しく、両者の因果関係を現時点で評価することは不可能であった。この点については信頼性の高い研究デザインを用いた研究の必要性が示唆された。

#### 〔参考文献〕

Conley GR, Sant GR, Ucci AA, Mitcheson HD. Seminoma and epididymal cysts in a young man with known diethylstilbestrol exposure in utero. *Jama* 1983;249(10):1325-6.

Dich J, Wiklund K, Holm LE. Testicular cancer in pesticide applicators in Swedish agriculture. *Scand J Work Environ Health* 1996;22(1):66.

Ekbom A, Wicklund-Glynn A, Adami HO. DDT and testicular cancer. *Lancet* 1996;347(9000):553-4.

Fleming LE, Bean JA, Rudolph M, Hamilton K. Cancer incidence in a cohort of licensed pesticide applicators in Florida. *J Occup Environ Med* 1999;41(4):279-88.

Fleming LE, Bean JA, Rudolph M, Hamilton K. Mortality in a cohort of licensed pesticide applicators in Florida. *Occup Environ Med* 1999;56(1):14-21.

Gershman ST, Stolley PD. A case-control study of testicular cancer using Connecticut tumour registry data. *Int J Epidemiol* 1988;17(4):738-42.

Hardell L, van Bavel B, Lindstrom G, Carlberg M, Dreifaldt AC, Wijkstrom H, Starkhammar H, Eriksson M, Hallquist A, Kolmert T. Increased concentrations of polychlorinated biphenyls, hexachlorobenzene, and chlordanes in mothers of men with testicular cancer. *Environ Health Perspect* 2003;111:930-4.

Hardell L, Van Bavel B, Lindstrom G, Carlberg M, Eriksson M, Dreifaldt AC, Wijkstrom H, Starkhammar H, Hallquist A, Kolmert T. Concentrations of polychlorinated biphenyls in blood and the risk for testicular cancer. *Int J Androl* 2004;27:282-90.

Kinlen LJ, Badaracco MA, Moffett J, Vessey MP. A survey of the use of oestrogens during pregnancy in the United Kingdom and of the genito-urinary cancer mortality and incidence rates in young people in England and Wales. *J Obstet Gynaecol Br Commonw* 1974;81(11):849-55.

Koifman S, Koifman RJ, Meyer A. Human reproductive system disturbances and pesticide exposure in Brazil. *Cad Saude Publica*. 2002;18:435-45.

Leary FJ, Resseguie LJ, Kurland LT, O'Brien PC, Emslander RF, Noller KL. Males exposed in utero to diethylstilbestrol. *Jama* 1984;252(21):2984-9.

McDowall M, Balarajan R. Testicular cancer and employment in agriculture. *Lancet* 1984;1(8375):510-1.

Mills PK, Newell GR, Johnson DE. Testicular cancer associated with employment in agriculture and oil and natural gas extraction. *Lancet* 1984;1(8370):207-10.

Moss AR, Osmond D, Bacchetti P, Torti FM, Gurgin V. Hormonal risk factors in testicular cancer. A case-control study. *Am J Epidemiol* 1986;124(1):39-52.

Ohlson CG, Hardell L. Testicular cancer and occupational exposures with a focus on xenoestrogens in polyvinyl chloride plastics. *Chemosphere* 2000;40(9-11):1277-82.

Saracci R, Kogevinas M, Bertazzi PA, Bueno de Mesquita BH, Coggon D, Green LM, Kauppinen T, L'Abbe KA, Littorin M, Lyng E, et al. Cancer mortality in workers exposed to chlorophenoxy herbicides and chlorophenols. *Lancet* 1991;338(8774):1027-32.

Schottenfeld D, Warshauer ME, Sherlock S, Zauber AG, Leder M, Payne R. The epidemiology of testicular cancer in young adults. *Am J Epidemiol* 1980;112(2):232-46.

Schreinemachers DM, Creason JP, Garry VF. Cancer mortality in agricultural regions of Minnesota. *Environ Health Perspect* 1999;107(3):205-11.

Sewell CM, Castle SP, Hull HF, Wiggins C. Testicular cancer and employment in agriculture and oil and natural gas extraction. *Lancet* 1986;1(8480):553.

Strohsnitter WC, Noller KL, Hoover RN, Robboy SJ, Palmer JR, Titus-Ernstoff L, Kaufman RH, Adam E, Herbst AL, Hatch EE. Cancer risk in men exposed in utero to diethylstilbestrol. *J Natl Cancer Inst* 2001;93(7):545-51.

Wiklund K, Dich J, Holm LE. Testicular cancer among agricultural workers and licensed pesticide applicators in Sweden. *Scand J Work Environ Health* 1986;12(6):630-1.

今井田克己, 白井智之. 内分泌攪乱化学物質と発癌. *日本臨床* 2000;58(12):2527-2532.

表 2-5-1 内分泌かく乱化学物質と精巣癌に関するコホート研究

地域・対象者	対象者数	追跡期間	化合物	検討された交絡要因	カテゴリー毎の相対危険度、SMR/SIRなど				
					1	2	3	4	P trend
Leary, 1984 米国、ロチェスター 1939-1962にMayor Clinicで出産した 母親の子供で、ロチェスターから 100マイル以内に居住している男児 後ろ向き研究	暴露群828/ 非暴露群676		DES		暴露群（1年以上生存した781名）から1例発症。 非暴露群からは0。				
Wiklund, 1986 スウェーデン 農業従事者。資格をもった農薬散布者。	農業従事者：254417 うち農薬散布者： 20245 他の産業従事者： 1725845	農業従事者： 1961-1979 農薬散布者： 1965-1976	農業従事者   農薬散布者		対照コホートに対するRR： 0.83（37例、0.59-1.18）（1961-1966年） 0.94（42例、0.67-1.32）（1967-1973年） 1.35（38例、0.94-1.93）（1974-1979年）  1.55（18例、0.92-2.45）（1965-1976年）				
Saracci R, 1991 オーストラリア、オーストリア、カナダ、 デンマーク、フィンランド、イタリア、 オランダ、ニュージーランド、 スウェーデン、英国の複数 のコホートを使用。 後ろ向き研究	18390名 （16863男性、 1527女性） 暴露群13482、 たぶん暴露群416、 非暴露群3951、 不明群541名	1955-1988 （各コホートにより 異なる）	クロロフェノキシ 除草剤 （2,4-T、 2,4,5-T、 2,4,5-TCP、 2,4,6-TCP、 2,4-DCP、 2,4-DP、2,4-DB、 2,3,4,6-TeCP、 MCPA、MCPB、 MCPB、PCP、 PBA）		SMR (95%CI) (観察死亡数) 暴露群：225 (90-464) (7) たぶん暴露群：0 (0-5270) (0) 非暴露群：0 (0-444) (0) 不明群：0 (0-3074) (0)				
Dich, 1996 スウェーデン 資格をもった農薬散布者。 Wiklund K.ら（1986）の集団	20025名	死亡 もしくは1991年 まで追跡	農薬散布者		SIR： 1.099 (0.68-1.67, O/E=21/19.2)				
Fleming, 1999 米国、フロリダ 資格をもつ農薬散布者	33658名 (男性30155、 女性3503)	1975-1993年	農薬散布者	年齢、暦年(調整)	SIR (95%C) 全体：2.48 (1.57-3.72)(観察数; 23) 私用散布者：2.37 (1.33-3.91)(観察数; 15) 商用公用散布者：2.72 (1.17-5.36) (観察数; 8)				
Fleming, 1999 米国、フロリダ 資格をもつ農薬散布者	33658名 (男性30155、 女性3503)	1975-1993年	農薬散布者	年齢、暦年(調整)	SMR (95%C) 1.05 (0.01-5.81)(観察数; 1)				

地域・対象者	対象者数	追跡期間	化合物	検討された交絡要因	カテゴリー毎の相対危険度、SMR/SIRなど					
					1	2	3	4	P trend	
Strohsnitter, 2001 米国の4つのコホート ( Mayo Clinic cohort, Dieckmann cohort, Women's Health Study cohort, Horne cohort )	3613名 ( 暴露1709、 非暴露1904 )	1978-1994年	DES	フォローアップ期間、 フォロー開始時年齢、 出生時の母親年齢、 死亡率、人種、教育、 母親乳癌歴、 停留睾丸、 出生順序、 出生時体重、 母親の出産前の出血、 喫煙、飲酒 ( 以上を考慮 )			RR 3.05 (0.65-22.0)	暴露群のSIR 2.04 (0.82-4.20)		



表 2 - 5 - 2 内分泌かく乱化学物質と精巣癌に関する症例対照研究

地域・対象者数 (症例/ 対照)	化合物	血清レベルの比較			カテゴリー毎のオッズ比					
		症例	対照	P値	1.00	2	3	4	P trend	
Schottenfeld, 1980 米国 白人 病院ベース 症例/隣人対照/病院対照 190/141/163	DESとその他のホルモン剤 (母親の暴露)			1.00	1.00	2.83 (P=0.17) (隣人対照) (1)				
				1.00	1.00	2.44 (P=0.18) (病院対照)				
McDowall, 1984 英国England, Wales 人口ベース 1384/1384	農業 農夫 農場作業			1.00	1.00	1.57 (症例42/対照27、0.94-2.64)				
				1.00	1.00	1.89 (症例30/対照16、0.99-3.60)				症例12/対照11
Mills, 1984 全米 全人種 病院ベース 347/347	農業			1.00	1.00	6.27 (95%CI: 1.83-21.49)				
Moss, 1986 米国 北カリフォルニア 人口ベース 1976-1981に診断 された40歳以下 の症例。 マッチドペア273	DES (妊娠中の暴露)			1.00	1.00	2.0 (症例4/対照2、有意差なし)				
Sewell, 1986 米国、ニューメキシコ 白人 人口ベース 81/311	農業			1.00	1.00	0.56 (0.21-1.47)				
Gershman, 1988 米国。コネクチカット 人口ベース 173/173 うち質問票に回答は 79/79。	DES (子宮内暴露)			1.00	1.00	1.0 (症例1/対照1)				
Ohlson, 2000 スウェーデン 人口ベース 148/314	塩化ビニル中の プラスチックの可塑剤としての ethylhexylphthalate ( ? )			1.00	1.00	5.6 (1.1-196) (暴露群/対照群=6/2)				

地域・対象者数 (症例/ 対照)	化合物	血清レベルの比較			カテゴリー毎のオッズ比				
		症例	対照	P値	1.00	2	3	4	P trend
Hardell, 2003		血清中中央値 ( ng/g脂肪)			中央値以下 中央値より高				
スウェーデン 病院ベース 症例58(18~45歳) (セミノーマ22、 非セミノーマ36)	子供 総PCB HCB p,p'-DDE heptachlordane	357.0 24.0 117.0 1.2	364.0 22.0 98.0 1.0	0.91 0.33 0.27 0.30	1.00 1.00 1.00 1.00	1.1 (0.5-2.6) 1.7 (0.8-3.6) 1.7 (0.8-3.7) 1.6 (0.8-3.4)			
対照61(19~47歳) 症例母44 (セミノーマ14、 非セミノーマ30)	chlordane oxychlordane MC6 trans-nonachlordane	0.8 6.9 2.0 7.5	0.9 6.5 1.9 7.9	0.71 0.61 0.97 0.87	1.00 1.00 1.00 1.00	1.2 (0.6-2.6) 1.4 (0.7-2.9) 1.3 (0.6-2.9) 1.0 (0.4-2.1)			
対照母45	cis-nonachlordane 総chlordane	1.5 21.0	1.1 21.0	0.04 0.41	1.00 1.00	2.6 (1.2-5.7) 1.3 (0.6-2.8)			
	母親 総PCB HCB p,p'-DDE heptachlordane chlordane oxychlordane MC6 trans-nonachlordane cis-nonachlordane 総chlordane	792.0 39.0 315.0 1.0 0.7 10.0 4.2 17.0 1.3 34.0	563.0 31.0 324.0 0.8 0.7 9.4 3.8 13.0 1.0 31.0	0.0006 0.005 0.48 0.12 0.24 0.24 0.09 0.02 0.008 0.04	1.00 1.00 1.00 1.00 1.00 1.00 1.00 1.00 1.00 1.00	3.8 (1.4-10) 4.4 (1.7-12) 1.3 (0.5-3.0) 2.1 (0.8-5.0) 2.5 (0.99-6.1) 2.6 (0.9-7.1) 1.3 (0.5-3.2) 4.1 (1.5-11) 3.1 (1.2-7.8) 1.9 (0.7-5.0)			

1) P値はデータより担当者が計算

表 2-5-3 内分泌かく乱化学物質と精巣癌に関するエコロジカル研究

地域・対象者数	化合物	血清レベルの比較			カテゴリー毎のオッズ比				
		症例	対照	P値	1(低)	2	3	4(高)	P trend
Ekbohm, 1996 デンマーク、ノルウェー、 スウェーデン、フィンランド 生態学的横断面研究	DDE	4国の母乳中DDE濃度と罹患率が同じ傾向							
Schreinemacher, 1999 米国 ミネソタミ州の4地域 1980-1989 白人	ethylenebisdithiocarbamates などの除草剤(?)				SRR (95%CI) (都市、森林地域と比較) 第一地域：(とうもろこし、大豆地域) 1.54 (0.94-2.52)				
Koifman, 2002 ブラジルの11州	農薬	1985年の農薬販売量と1996-1998年の精巣腫瘍死亡率の相関 $r=0.53$ (95%CI: -0.39-0.75)							

## 2 - 6 甲状腺がん

### 〔要旨〕

内分泌かく乱化学物質（ダイオキシンを除く）と甲状腺がんに関する疫学研究の現状について文献的考察を行った。米国立医学図書館の医学文献データベース PubMed を利用して選択した文献は2000年12月31日までに6件で、コホート研究1件、症例対照研究0件、エコロジカル研究3件であった。2001年1月1日以降にはDESについてのコホート研究2件であった。日本人を対象とした研究はこれまでに1件もない。文献的に検討した結果、有機塩素系化合物に関する研究はほとんどなく、クロロフェノキシ除草剤でリスクの上昇がみられた研究1件のみであった。Diethylstilbestrol については複数の前向き研究の結果で有意なリスクの上昇がみられていなかった。その他の内分泌かく乱化学物質についての分析疫学研究はなかった。有機塩素系化合物などと甲状腺がんの関連に関する研究はきわめて乏しく、研究の必要がある。

### 〔研究目的〕

有機塩素系化合物などの化学物質の中にはホルモンレセプターとのアゴニスト作用あるいはアンタゴニスト様作用があるものがあるため、これらの物質の暴露と内分泌関連がんとの関連が注目されてきた。これら化学物質のなかにはダイオキシンや HCB のように動物実験において甲状腺に腫瘍を発生することが報告されている物質もある。化学物質と甲状腺がんに関する疫学研究の現状を把握する目的で、文献レビューを行った。

### 〔研究方法〕

米国立医学図書館の医学文献データベース PubMed

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>) を用いて、(Thyroid) AND (Insecticides OR Pesticides OR Chlorinated Hydrocarbons OR PCBs OR Bisphenol OR Phenol OR Phthalate OR Styrene OR Furan OR Organotin OR Diethylstilbestrol OR Ethinyl Estradiol) AND (human) のキーワードで、2004年10月31日までの文献を検索した。候補文献610件の中から、人集団を対象とする疫学研究の原著論文を選択した。さらに必要に応じて、これらの原著論文や、他の総説論文を参考にして論文を選択した。

### 〔研究結果〕

#### 1. 有機塩素系化合物

##### 1) コホート研究

2001年1月1日以降の報告はなかった。

有機塩素系化合物について甲状腺がんとの関連を検討した研究は、クロロフェノキシ除草剤に関する1件のみであった。Saracci ら(1991)による10ヶ国約18000人のコホートを利用した後ろ向きコホート研究では、2,4-T などのクロロフェノキシ除草剤暴露者で有意な SMR の上昇が観察されている (SMR:367, 95%CI: 100-940)。

##### 2) 症例対照研究

該当する文献はなかった。

##### 3) 横断面研究（エコロジカル研究を含む）

2001年1月1日以降の報告はなかった。

Grimalt ら(1994)はスペインにおいて、大気中 HCB 濃度が対照地域よりも約100倍高い有機

塩素化合物工場周辺地域の SIR を求めたところ、男性で SIR が有意に高かった (6.7, 95%CI: 1.6-28)。ただし、女性では有意な増加はみられなかった (SIR: 1.0)。

Schreinemacher ら(2000)の米国の 152 の郡でのエコロジカル研究では、クロロフェノキシ除草剤を使用する小麦の作付け面積が大きい地域では有意な SRR の上昇はみられなかった。

## 2. Diethylstilbestrol

Diethylstilbestrol (DES)暴露と甲状腺との関連については、米国での前向きコホート研究が 2 件報告されていた。Strohsnitter ら(2001)は米国の 4 つのコホートで 3613 名を 1979-1994 年の間追跡したが、暴露群で有意なリスクの上昇を観察していない (SIR: 2.27, 95%CI: 0.27-8.18、非暴露群の SIR: 4.39, 95%CI: 0.89-12.83)。

Titus-Ernstoff ら(2001)は米国で 1950 年代と 1980 年代の 2 つのコホートの 7560 名を 1994 年まで追跡したが死亡の増加はみられなかったことを報告している (RR: 0.92, 95%CI: 0.60-1.39)。

## 3. その他の物質

2001 年 1 月 1 日以降の報告はなかった。

有機塩素系化合物以外については、Schreinemacher ら(1999)が米国、ミネソタ州の 4 つの地域でのエコロジカル研究で農業地域の SRR を算出している。Ethylenebisdithiocarbamate などの除草剤の使用が多い農業地域について SRR を都市・森林地域と比較したところ、男性で有意な増加がみられた (SRR: 2.95, 95%CI: 1.35-6.44)。女性では有意な増加はみられなかった。ただし、詳細な暴露物質、暴露状況は不明である。

アルキルフェノール類、ビスフェノール A などについての報告はなかった。

### 〔考察〕

2000 年 12 月 31 日以前の文献では、DES に関する複数の前向き研究の結果 DES 暴露が甲状腺がんのリスク要因であるとは評価できないこと、クロロフェノキシ除草剤に関連する分析疫学研究で有意なリスクの上昇がみられていること、エコロジカル研究で HCB によってリスクの上昇が示唆されていること、が示されているが、これら以外の分析疫学研究はなかった。2001 年 1 月 1 日以降は DES についてのコホート研究 2 件のみであった。残留有機塩素系化合物として無視できない PCB、DDT、HCH、HCB などの物質を特定した分析疫学研究はこれまでに 1 件もない。また、有機塩素系化合物以外の化学物質についての報告もほとんどなく、甲状腺がんリスクとの関連の評価が必要である。

以上のように、DES 以外の化学物質と甲状腺がんとの関連についての疫学研究の知見は現状ではほとんどなく、因果関係を評価することは不可能である。今後は、甲状腺がんのリスクがあるとするならばその発症の機序が内分泌系のかく乱によるものかどうかの検討を含めながら、有機塩素系化合物などと甲状腺がんとの関連について研究を行う必要がある。

### 〔結論〕

内分泌かく乱化学物質と甲状腺がんについての疫学研究を 2004 年 10 月 31 日までレビューしたところ、有機塩素系化合物に関する分析疫学の研究は 1 件のみであった。DES については有意に甲状腺がんリスクを上昇させるという結果を示した研究はなかった。化学物質と甲状腺の関連に関する研究はきわめて乏しく、両者の因果関係を現時点で評価することは不可能であった。この点については信頼性の高い研究デザインを用いた研究の必要性が示唆された。

〔参考文献〕

Cabral JR, Shubik P, Mollner T, Raitano F. Carcinogenic activity of hexachlorobenzene in hamsters. *Nature* 1977;269(5628):510-11.

Grimalt JO, Sunyer J, Moreno V, Amaral OC, Sala M, Rosell A, Anto JM, Albaiges J. Risk excess of soft-tissue sarcoma and thyroid cancer in a community exposed to airborne organochlorinated compound mixtures with a high hexachlorobenzene content. *Int J Cancer* 1994;56(2):200-3.

Saracci R, Kogevinas M, Bertazzi PA, Bueno de Mesquita BH, Coggon D, Green LM, Kauppinen T, L'Abbe KA, Littorin M, Lyng E, et al. Cancer mortality in workers exposed to chlorophenoxy herbicides and chlorophenols. *Lancet* 1991;338(8774):1027-32.

Schreinemachers DM. Cancer mortality in four northern wheat-producing states. *Environ Health Perspect* 2000;108(9):873-81.

Schreinemachers DM, Creason JP, Garry VF. Cancer mortality in agricultural regions of Minnesota. *Environ Health Perspect* 1999;107(3):205-11.

Smith AG, Cabral JR. Liver-cell tumours in rats fed hexachlorobenzene. *Cancer Lett* 1980;11(2):169-72.

Strohsnitter WC, Noller KL, Hoover RN, Robboy SJ, Palmer JR, Titus-Ernstoff L, Kaufman RH, Adam E, Herbst AL, Hatch EE. Cancer risk in men exposed in utero to diethylstilbestrol. *J Natl Cancer Inst* 2001;93(7):545-51.

Titus-Ernstoff L, Hatch EE, Hoover RN, Palmer J, Greenberg ER, Ricker W, Kaufman R, Noller K, Herbst AL, Colton T, Hartge P. Long-term cancer risk in women given diethylstilbestrol (DES) during pregnancy. *Br J Cancer* 2001;84(1):126-33.

今井田克己, 白井智之. 内分泌攪乱化学物質と発癌. *日本臨床* 2000;58(12):2527-2532.

表 2 - 6 - 1 内分泌かく乱化学物質と甲状腺癌に関するコホート研究

地域・対象者	対象者数	追跡期間	化合物	検討された交絡要因	カテゴリー毎の相対危険度、SMR/SIRなど					
					1	2	3	4	P trend	
Saracci R, 1991 オーストラリア、オーストリア、カナダ、 デンマーク、フィンランド、イタリア、 オランダ、ニュージーランド、 スウェーデン、英国の複数 のコホートを使用。 後ろ向き研究	18390名 (16863男性、 1527女性) 暴露群13482、 たぶん暴露群416、 非暴露群3951、 不明群541名	1955-1988 (各コホートにより 異なる)	クロロフェノキシ 除草剤 (2,4-T、 2,4,5-T、 2,4,5-TCP、 2,4,6-TCP、 2,4-DCP、 2,4-DP、2,4-DB、 2,3,4,6-TeCP、 MCPA、MCPB、 MCPB、PCP、 PBA)		SMR (95%CI) (観察死亡数) 暴露群：367 (100-940) (4) たぶん暴露群：0 (0-12296) (0) 非暴露群：0 (0-1230) (0) 不明群：0 (0-18444) (0)					
Strohsnitter, 2001 米国の4つのコホート (Mayo Clinic cohort, Dieckmann cohort, Women's Health Study cohort, Home cohort)	3613名 (暴露群1709、 非暴露群1904)	1978-1994年	DES	フォローアップ期間、 フォロー開始時年齢、 出生時の母親年齢、 死亡率、人種、教育、 母親乳癌歴、 停留嚢丸、 出生順序、 出生時体重、 母親の出産前の出血、 喫煙、飲酒 (以上を考慮)		SIR 暴露群2.27 (0.27-8.18) 非暴露群4.39 (0.89-12.83)				
Titus-Ernstoff, 2001 米国、ボストン Mothers Study cohort (80年代) & Dieckmann Study cohort (50年代)	7560人 (暴露群3844、 非暴露群3716)	1994 までfollow-up	DES	年齢、暦年、 年齢×暦年 (調整) 調査参加時年齢、 年齢、暦年、 BMI、教育、家族歴、 初潮年齢、 経口避妊薬、流産、 最初の出産年齢、 妊娠、閉経年齢、 ホルモン療法、 子宮摘出、喫煙歴 (流産が暴露群で多いなど)	死亡相対危険度 (95%CI) 0.92 (0.60 -1.39)					

表 2 - 6 - 2 内分泌かく乱化学物質と甲状腺癌に関する症例対照研究

地域・対象者数 (症例/対照)	化合物	血清レベルの比較			カテゴリ毎のオッズ比				
		症例	対照	P値	1.00	2	3	4	P trend

該当文献なし



表 2 - 6 - 3 内分泌かく乱化学物質と甲状腺癌に関するエコロジカル研究

地域・対象者数	化合物	血清レベルの比較			カテゴリー毎のオッズ比					
		症例	対照	P値	1(低)	2	3	4(高)	P trend	
Grimalt, 1994 スペイン、カタロニア 有機塩素化合物工場の近隣住民 1980-1989年 5003名(男性2531) 大気中HCB濃度は対照地域より約100倍高い	HCB	平均血清HCB濃度 ( non-random sample ) 暴露地域26 µg/L ( 7.5-69 ) 対照地域4.8 µg/L ( 1.5-15 )				SIR (95%CI) 男性6.7 (1.6-28) 女性1.0 (0.14-7.4)				
Schreinemacher, 1999 米国 ミネソタミ州の4地域 1980-1989 白人	ethylenebisdithiocarbamates などの除草剤( ? )					SRR (95%CI) ( 都市、森林地域と比較 ) 男性 第一地域：( とうもろこし、大豆地域 ) 0.60 (0.29-1.22) 第二地域：( 小麦、とうもろこし、大豆地域 ) 1.88 (0.69-5.10) 第三地域：( ポテト、小麦、テンサイ地域。除草剤使用が多い ) 2.95 (1.35-6.44) 女性 第一地域： 0.94 (0.61-1.45) 第二地域： 0.44 (0.17-1.15) 第三地域： 1.18 (0.54-2.62)				
Schreinemacher, 2000 米国 白人 クロロフェノキシ除草剤で処理する spring wheat/durum wheatを生産 するミネソタ、ノースダコタ、 サースダコタ、モンタナ州。 計152の郡 1980-1989	クロロフェノキシ除草剤					SRR(95%CI) ( 郡の小麦作付け面積<23000エーカーに対して ) 男性： 23000-110999エーカー; 1.34 (0.58-3.63) 111000エーカー以上; 1.88 (0.76-4.62) 女性： 23000-110999エーカー; 0.78 (0.38-1.62) 111000エーカー以上; 0.93 (0.45-1.90)				

## [ 甲状腺機能への影響 ]

### 2 - 7 甲状腺機能への影響

#### 〔要旨〕

内分泌かく乱化学物質（ダイオキシンを除く）の甲状腺機能への影響に関する疫学研究の現状について文献的考察を行った。米国立医学図書館の医学文献データベース PubMed を用いて、(Thyroid) AND (Insecticides OR Pesticides OR Chlorinated Hydrocarbons OR PCBs OR Bisphenol OR Phenol OR Phthalate OR Styrene OR Furan OR Organotin OR Diethylstilbestrol OR Ethinyl Estradiol) AND (human)のキーワードで文献を検索した。候補文献 607 件中、2000 年から 2004 年 10 月 31 日までに報告された甲状腺機能に関する疫学研究 15 件（コホート研究 2 件、症例対照研究 1 件、断面研究 10 件、介入研究 1 件、地域相関研究 1 件）であった。日本人を対象とした研究は PCB について、2 件のみであった。文献的に検討した結果、PCB については甲状腺機能への影響が複数の高濃度暴露集団での研究で報告されており、一般人口での研究の必要がある。その他の内分泌かく乱化学物質と甲状腺機能の関連に関する研究はきわめて乏しい。動物実験では甲状腺への影響が多数報告されているので、さらに疫学研究を継続する必要がある。特に研究報告の少ない日本での疫学研究を行う必要がある。

#### 〔研究目的〕

ダイオキシンの暴露された人に甲状腺機能の異常(1994)が起こることを示唆する報告があり、PCB などダイオキシン以外の化学物質暴露と甲状腺機能との関連が注目されてきた。化学物質と甲状腺機能に関する疫学研究の現状を把握する目的で、文献レビューを行った。

#### 〔研究方法〕

米国立医学図書館の医学文献データベース PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>) を用いて、(Thyroid) AND (Insecticides OR Pesticides OR Chlorinated Hydrocarbons OR PCBs OR Bisphenol OR Phenol OR Phthalate OR Styrene OR Furan OR Organotin OR Diethylstilbestrol OR Ethinyl Estradiol) AND (human)のキーワードで文献を検索した。候補文献 607 件の中から、人集団を対象とする疫学研究の原著論文を選択した。さらに必要に応じて、これらの原著論文や、他の総説論文を参考にして論文を選択した。

#### 〔研究結果〕

##### 1. PCB

##### 1) コホート研究

Persky ら（2001）は五大湖の魚類摂食が PCB 暴露と生殖機能に及ぼす影響についての大規模調査に付随して、原コホート群から選択した被験者を対象に甲状腺ホルモンと PCB、DDE との関連性、ステロイドホルモンと PCB、DDE との関連性について検討した。

1993 年秋季に行われた原コホート研究から、男性 179 例、女性 51 例を選択し、PCB、DDE、魚類摂食と甲状腺ホルモン、ステロイドホルモンとの関連性を調べた。男性 117 例、女性 38 例が船員、男性 34 例、女性 4 例が漁師で、男性 28 例、女性 9 例を参照群として含めた。

血清中 PCB 値と五大湖の魚類摂食は女性のサイロキシン(T4)と遊離サイロキシン指数(FTI)の低値、男性の T4 の低値と有意に関連していた。魚類摂食は男性におけるトリヨードサイロニン(T3)値と有意な逆相関性を示した。甲状腺刺激ホルモン(TSH)についての結果は一貫していなかった。男性では性ホルモン結合グロブリン(SHBG)と結合したテストステロンと PCB 値、魚類摂食との間にはともに有意な逆相関性がみられたが、SHBG 又は遊離テストステロン値との間に関連性はみられなかった。硫酸エストロン、卵胞刺激ホルモン、黄体形成ホルモン、硫酸デヒドロエピアンドロステロンと PCB、DDE、魚類摂食との間には全般に有意な関連性はみられなかった。

Matsuura ら(2001)は甲状腺ホルモンと類似した構造を有するダイオキシン類(PCDD/Fs)と PCB の乳児への影響の研究を 1997 年から 3 年間、東京都、埼玉県、石川県、大阪府で行った。1999~2000 年にさらに 20 都道府県を追加し、甲状腺と免疫機能について検討した。

分娩後 30 日目の母乳を 415 名から採取した。また甲状腺と免疫機能を評価するため、1 歳時における母乳哺育児 337 例と対照群として人工乳哺育児 53 例の血液サンプルを採取し、血清中の T4、T3、FT4、TSH 値を測定した。

母乳哺育児と人工乳哺育児の血漿中 T4、T3、FT4 と TSH 濃度は正常範囲内にあり、両群に有意差はみられなかった。分娩後 30 日目の母乳中のダイオキシンと PCB 濃度には有意な地域差がみられ、ダイオキシン+co-PCB 濃度は最低値 29.5pgTEQ/g 脂肪から最高値 13.1pgTEQ/g 脂肪まで約 2 倍の差がみられた。一方、一歳児の TSH 濃度等に地域差はみられず、また血清中 TSH 値と母乳中の TEQ 値との間に有意な関連性はみられなかった。1 歳児において血清中 TSH と生後 5 日目の乾燥ろ紙血液中 TSH 値には有意な相関性がみられた。

## 2) 症例対照研究

Sukdolova ら(2000)は、PCB に暴露された米国のモホークインディアンの 30 歳以上の女性を対象に、甲状腺機能低下症の症例対照研究を行っている。ほとんどの PCB 同族体の血清レベルが症例の方で低かったが、PCB156 と PCB118 については症例で高かった。ただし、統計的に有意かどうかは不明である。

Langer ら(2003)はスロバキアにおいて、化学工場勤務者と化学工場付近の環境汚染地域の住民に対して PCB と他の有機塩素系化合物濃度を測定し、有機塩素系化合物が甲状腺機能に及ぼす影響について検討した。

PCB 製造化学工場の長期間勤務者と工場付近住民 101 例(男 59 例、女 42 例：23~73 歳)の汚染地域群、Stropkov の PCB 低暴露地域住民 360 例(男 180 例、女 180 例：21~74 歳)の対照地域群における甲状腺容積、(超音波による)甲状腺の低エコー域及び結節、抗甲状腺性ペルオキシダーゼ(抗 TPO)抗体及び RIA で測定した血清中甲状腺刺激ホルモン(TSH)異常値の存在を調べた。PCB、HCB、 $\gamma$ -HCH、p,p'-DDT、p,p'-DDE の血清中濃度を高分解ガスクロマトグラフィーにより測定した。

対照群(2045 $\pm$ 147ng/g 脂質)と比較して、暴露群では血清中 PCB 値(7300 $\pm$ 871ng/g 脂質)が非常に高値であった。HCH を除いて、すべての有機塩素系化合物とその総計の値には正の相関性(P<0.001)が認められた。汚染地域群では、PCB 値最高濃度群 (PCB10000~58667ng/g 脂質)に分類された 23 例(男 17 例、女 6 例)で甲状腺容積が最も大きく、他の 438 例では甲状腺容積は 14.2 $\pm$ 0.29mL であった。これらのデータから、甲状腺容積に影響を及ぼす可能性がある血清中 PCB 濃度の閾値は約 10000ng/g 脂質であることが示唆された。二元 ANOVA 分析では、汚染地域群では全例甲状腺容積が対照地域群よりも有意に大きいことが示された(P<0.001)。汚染地域群の男性では、甲状腺の低エコー域、甲状腺結節、抗 TPO 抗体陽性、TSH 値異常の

頻度が対照地域群の男性よりも高かったが、女性には相違はみられなかった。

### 3) 断面研究

Murai ら(1987)の油症患者 124 名を 16 年後に調査した結果では、血清 T3、T4 は対照群より有意に高く、TSH は対照群と差がなかった。血清 PCB レベルと T3、T4、TSH の間に相関はみられなかった。甲状腺腫の頻度は女性で 11/74 (15%) であった。さらに、辻ら(1997)による油症患者の 28 年後の調査では、油症認定患者 81 例中 8 例に油症発症以後の甲状腺疾患(バセドウ病 3 例、慢性甲状腺炎 2 例、甲状腺癌 2 例、甲状腺腫瘍 1 例)がみられた。これらの甲状腺疾患有病者は血中 PCB 濃度が高値である者に多い傾向があった。これらの甲状腺疾患患者以外に、甲状腺検査のみで異常を示した者は 6 例で、4 例は TSH 軽度上昇、2 例は軽度低下を示した。TSH 上昇例の 4 例中 3 例は抗甲状腺抗体が陽性であり、慢性甲状腺炎による潜在性甲状腺機能低下症を疑わせる所見であった。TSH 低値を示したものについては、バセドウ病ほど低下の程度が著しくなく病態は不明である。T4、T3、TSH については、対照群と差がなく、高度暴露群と低暴露群の間でも差がなかった。血清 PCB レベルが高い群で抗サイログロブリン抗体陽性の頻度が高く (19.5% 対 2.5%)、抗ミクロソーム抗体も 17% と高頻度であった。Guo ら(1999)は台湾の油症患者の 13 年後の調査で甲状腺腫の頻度が高い (20%) ことを報告している。

Langer ら(1996)は大規模な PCB 環境汚染が約 40 年間続いていたスロバキアの PCB 製造工場の労働者とその周辺の住民を調べた。PCB 濃度は、脂肪組織中で対照地区の約 6 倍、人母乳中で約 2 倍であった。労働者 (大部分が女性) 245 名と対照地区の被験者 572 名とを比較すると、甲状腺容積が工場労働者で有意に大きかった。また、甲状腺腫大 (20%、対照群 9.4%)、抗サイロイドペロキシダーゼ抗体 28.4%、対照群 19%)、抗サイログロブリン抗体 41.3%、対照群 21%)、TSH 受容体抗体 (10.4%、対照群 1.3%) がいずれも女性労働者で高頻度であった。血中 T4、T3、TSH 等については有意な差がなかった。また、Langer ら(1998)は汚染されている都市と対照地域の 17 歳の青年 (汚染都市 454 名、対照 965 名) について調べたところ、甲状腺容積が汚染されている都市の青年で有意に大きかったことを報告している。Emmett ら(1988)は、アメリカの変圧器修理工で PCB 暴露者 55 名 (現在暴露者 38 名、過去暴露者 17 名) を、PCB に暴露されたことのない労働者 56 名と比較したところ、暴露者で血中 T4 が有意に低かった。T4 と RT3U の積から free T4 index を計算すると暴露者で有意に低かった。ただし PCB 濃度との相関はなかった。Bahn ら(1980)は、PCB の類似化合物である PBB を取り扱う工場労働者 35 人について甲状腺機能検査を行ったところ、4 名に TSH の明らかな上昇がみられ甲状腺機能低下症と診断された。ただし、うち 1 名には家族歴があった。対照群 89 名には甲状腺機能低下症はみられなかった。PBB 群に TSH が上昇している者が多かった。

Mazhitova ら(1998)は、PCB 類の汚染が広がっているカザフスタン共和国のアラル海周辺地域の 7.5 才から 15 才までの入院学童 12 人の甲状腺検査結果を対照のストックホルム市の学童と比較したところ、甲状腺ホルモンと TSH 濃度には有意な差を観察しなかった。

Koopman-Esseboom ら(1994)は、オランダで 105 組の新生児と母親のペアについて、甲状腺ホルモン (TT4、TT3、FT4、TSH) を測定し、また血液と母乳について PCB とダイオキシンを測定した。PCB の濃度の高い乳汁を出す母親の T4、T3 が低く、ペアをなす子供の生後 2 週間の TSH 濃度が高かったことを観察している。Nagayama ら(1998)は、乳汁中の PCDD、PCDF、Co-PCB を測定し、1 歳児 36 人の甲状腺機能との相関を見たところ、これらの物質の毒性指数 (TEQ) と T4、T3 が逆相関することを報告している。

Tsuji and Ito (2003) は油症患者に甲状腺機能検査を行い、油症原因物質の甲状腺機能に対

する慢性的影響について検討した。油症認定患者 115 例(男 48 例、女 67 例：平均年齢 63.3 歳)に対して福岡県油症一斉検診を行った。甲状腺機能検査としては甲状腺刺激ホルモン(TSH)、トリヨードサイロニン(T3)、サイロキシン(T4)を電気化学発光測定法により測定した。血中 PCB 濃度が 2.3ppb 未満の 58 例(低濃度群)と 2.3ppb 以上の 57 例(高濃度群)に分けて、両群間の甲状腺機能検査異常の出現頻度を検討した。

115 例中、TSH 値、T3 値、T4 値のいずれか 1 項目以上に異常を認めた患者は 20 例(17.4%)であった。TSH 値の低下を 6 例(5.2%)、上昇を 13 例(11.3%)、T4 値の上昇を 1 例(0.9%)に認めたが、T3 値の異常を示した例はなかった。T3 値の上昇を認めた 13 例では、全例 T3 値、T4 値は正常であり、潜在性甲状腺機能低下状態と考えられた。血中 PCB 濃度と TSH 値、T3 値、T4 値の間に相関はみられず、低濃度群と高濃度群間で TSH 値異常出現率に差をみなかった。

## 2. HCB

### 1) コホート研究

Gocmen ら(1989)は、トルコのある地域において過去に HCB に暴露した集団のうち、その暴露が原因でポルフィリア症になった病歴がある者を対象として、約 20-30 年後に後向きの調査を行った。その結果、甲状腺肥大が 34.9%にみられた。ただし、この研究では対照群等との比較は行われていない。

### 2) 症例対照研究

該当する文献はなかった。

### 3) 断面研究

Sala ら(1999)は、スペインの電気化学工場近隣の大気中 HCB 濃度が高い地域の住民を調べた。無作為に抽出した対象者での平均血清中 HCB 濃度は、男性では、その工場でも働いたことのない者 9.0 ng/mL、過去作業員 27.1 ng/mL、現在作業員 54.6 ng/mL、女性では、一度も働いたことのない者 14.9 ng/mL、過去作業員 22.2 ng/mL、現在作業員 13.5 ng/mL であった。男女とも、その工場これまで働いたことがある者と一度も働いたことがない者の間で甲状腺機能低下症の罹患率に有意な差はみられなかった。

Bloom ら (2001) は New York State Angler Cohort Study(ニューヨーク州の釣り師コホート研究)の登録者から選択したスポーツマン 66 例のサンプルについて、環境中の有機塩素系化合物と甲状腺機能との関連性を検討した。本分析は断面研究を用いて行った。被験者の血液を採取し、総 T4、トリグリセリド、コレステロール、HDL、LDL 値を測定した。演繹的に甲状腺破壊作用を示すと思われる化合物(HCB、PCB-19、PCB-28、PCB-47、PCB-99、PCB-118、PCB-153、PCB-169、PCB-180、PCB-183、PCB-187)の血中濃度を電子捕獲検出器を備えたガスクロマトグラフィーを用いて測定した。総 T4 の平均値は 7.78  $\mu$ g/dL、被験者の平均年齢は 31.81 歳であった。各被験者について試料採取時間、血清トリグリセリド、コレステロール、HDL、LDL、年齢、BMI、喫煙の有無を考慮し、可能性のある交絡因子に対する調整後、有機塩素系化合物と血清中総サイロキシンとの関連性を多変量回帰モデルを用いて検討した。各ステップに最大の偏相関の基準を用いて、入力されているすべての変量(“完全”モデル、 $R^2=0.380$ 、 $p=0.136$ )と変量の階段的選択(“縮小”モデル、 $\alpha=0.15$ )を用いるモデルを構築した。縮小モデルでは、選択した予測因子を変化させずに検出限界値以下の汚染物質データを明らかにするため、いくつかの処置を行った。

ヘキサクロロベンゼン( $\beta=-0.113$ )と年齢( $\beta=0.007$ )は、縮小モデル( $R^2=0.083$ 、 $P=0.065$ )に

において血清 T4 の予測因子として選択された。効力分析では、サンプルが倍増すると既存結果の I 型エラーは 0.05、効力は 0.80 となり統計学的に有意となった。

Sala ら (2001) はスペイン、カタロニア、Flix の HCB に高濃度暴露した農村地域に居住する一般住民を対象に血清中 PCB、HCB 濃度と甲状腺ホルモン状態、肝酵素値との関連性について検討した。14 歳以上の計 608 例(男 249 例、女 359 例：年齢中央値 48.8 歳)から血清、24 時間尿を採取した。採血は空腹時に行った。甲状腺刺激ホルモン(TSH)、総及び遊離サイロキシン(T4)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、 $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ(GGT)を測定した(TSH は 608 例、他は 192 例について)。また血清中 HCB 濃度は電子捕獲検出器を備えたガスクロマトグラフィーを用いて測定した。男性の 66.7%(166 例)、女性の 5.8%(21 例)がかつて電子化学工場に勤務しており、工場勤務歴のない被験者においても HCB 濃度は平均 16.8ng/mL と他の研究における一般群よりも高値であった。性、年齢、BMI、飲酒などの交絡変数で補正後、HCB、PCB 濃度と血清中 TSH、遊離 T4、AST、ALT とに有意な関連性はみられなかった。一方、血清中 HCB 濃度には総 T4 値とは有意な負の相関性、GGT とは有意な正の相関性がみられ、HCB(ng/mL)が自然対数関数で 1 単位増加すると総 T4 は 0.32  $\mu$ g/dL 減少( $p < 0.05$ )し、HCB(ng/mL)が自然対数関数で 1 単位増加すると GGT は相対的に 10%増加した( $p < 0.05$ )。これらの関連性は総脂質含量又は他の有機塩素系化合物による補正後においても変わらなかった。また PCB と T4、GGT との関連性も小さいものの有意であった。しかしほとんどの被験者(92%)で T4 と GGT は正常値内であった。他の生化学的マーカーとの関連性は認められなかった。

本結果から、これら地域住民の体内 HCB 量は甲状腺機能、酵素誘導活性にわずかな代謝的影響を及ぼしている可能性が示唆された。今後、幼児など比較的感受性群に対するこれら物質の健康への影響を検討する必要がある。

Hagmar ら (2001) は成人男性において、有機ハロゲン化合物(OHS)の高濃度食事性暴露がホルモン値に影響するかを検討した。1991 年にスウェーデン南東部 Riga 湾付近の 5 カ所の漁村に居住する漁師(スウェーデン群)男性 43 例(23~69 歳)、1993 年に Riga 市及び内陸部の小農村 4 カ所からの一般住民(ラトビア群)男性 67 例(24~79 歳)について調査を行った。魚類摂取量はスウェーデン群で月平均 4 食(0~20)、ラトビア群で月平均 6 食(0~32)であったがいずれも差が大きかった。血漿サンプル中の CB-153 を含む PCB コンジェナー 18 種、4-OH-CB107 を含むヒドロキシ PCB5 種、p,p'-DDT、p,p'-DDE、ヘキサクロロベンゼン、ペンタクロロフェノール(PCP)、BDE-47(2,2',4,4'-テトラプロモジフェニルエーテル)を測定した。また卵胞刺激ホルモン、黄体形成ホルモン(LH)、プロラクチン、甲状腺刺激ホルモン、遊離総 T3、遊離総 T4、遊離テストステロンの血漿中濃度を分析した。

年齢による補正後、BDE-47 と血漿中甲状腺刺激ホルモン( $p < .001$ )、PCP と卵胞刺激ホルモン( $p = .04$ )の間にもみ有意な負の相関性が示された。遊離テストステロンと p,p'-DDE、総 PCB、総ヒドロキシ PCB、HCB との間にも弱い負の相関性がみられたが、年齢による補正後、相関性は有意ではなかった。OHS は LH、プロラクチン、TT3、FT3、TT4、FT4 の血漿中濃度のいずれとも有意な相関性を示さなかった。

Hagmer ら (2001) は成人女性における PCB 値と甲状腺刺激ホルモン(TSH)、甲状腺ホルモンの血漿中濃度との関連性についても調べた。1973~1991 年に出産したスウェーデン東沿岸における漁師の妻 182 例を対象とした。年齢中央値 42 歳(23~62 歳)で、月に 2 食(0~12)はバルト海からの汚染された脂肪魚を摂取していた。免疫蛍光法により、TSH、遊離(FT3)、総(TT3)トリヨードサイロニン、遊離(FT4)、総(TT4)サイロキシンの血漿中濃度を測定した。

また電気捕獲検出器を備えたガスクロマトグラフィーにより 2,2', 4,4', 5,5'-ヘキサクロロビフェニル(CB-153)の血漿中濃度を測定した。さらに CB-153 値の最高濃度群 16 例(275~776ng/g 脂質)と最低濃度群 16 例(16~103ng/g 脂質)については他の 20 種の PCB コンジェナーと 2 種のヒドロキシ PCB についても測定した。

CB-153 の血漿中濃度(16~776ng/g 脂質)は TT3 濃度(1.0~3.0nmol/L)と負に相関した(rs=-0.29, P<0.001)。多変量解析において、年齢に対して補正後においても CB-153 と TT3 の間にはわずかな負の関連性が認められた(p=0.03)。CB-153 と TT4 濃度との関連性は弱く、有意ではなかった(rs=-0.13, p=0.07)。CB-153 は他のいずれのホルモンパラメータとも相関しなかった。

Rathore ら (2002) は有機塩素系殺虫剤の負荷量と甲状腺機能に及ぼす影響について検討した。1997~1998 年にインド、Sawai Man Singh 医科大学病院外来を受診した Jaipur 市に居住する女性 123 例について血清中甲状腺ホルモン値を測定した。100 例は T4、TSH 値が正常(甲状腺機能正常群)、23 例が血清中 T4 値低下と TSH 値上昇を示した(甲状腺機能低下群)。ガスクロマトグラフィーを用いて、2 群間における有機塩素系殺虫剤の質的、量的評価を行った。

検出された殺虫剤のうち、総 DDT(p,p'-DDD、p,p'-DDE、p,p'-DDT)は両群とも高く(甲状腺機能正常群 6.91±0.55ppm、甲状腺機能低下群 8.43±1.15ppm)、次いで総 HCH(各 3.86±0.35ppm、3.82±0.68ppm)であった。ジエルドリンは甲状腺機能正常群では 2.5±0.31ppm であったが、甲状腺機能低下群では 5.38±1.23ppm と有意に高かった(p<0.05)。ヘプタクロルは甲状腺機能正常群で 1.41±0.15ppm、甲状腺機能低下群で 1.18±0.24ppm であった。被験者の大半が高年齢であったが(31~40 歳:44 例、41~50 歳:32 例)、農薬残流量は 11~20 歳(25.18±1.8ppm)、21~30 歳(23.38±6.06ppm)の甲状腺機能低下群でより多かった。

Garry ら (2003) は慢性疾患のない農薬散布者 144 例と都市住民対照群 49 例において、農薬散布と甲状腺機能との関連性を検討した。農薬使用状況により、除草剤散布のみ(24 例)、殺菌剤と殺虫剤(42 例:殺菌剤の空中散布 17 例、地上散布 25 例)、当散布期間中に農薬使用なし(52 例)、対照群(49 例)に分けて、夏季と秋季の 2 回採血し、血中ホルモン濃度を測定した。除草剤散布のみの群では、夏季に比べて秋季でテストステロン値の有意な上昇がみられ、また秋季には卵胞刺激ホルモン(FSH)、黄体形成ホルモン(LH)値の上昇も認められた。殺菌剤使用についての初期断面疫学研究では、過去の殺菌剤使用歴は散布者間で出生した児の性別比の有意な変化に関連していることが明らかとなっているが、本研究被験者間でも過去の殺菌剤使用歴は女児の出生数の増加に関連していた。また 4 分位した平均総テストステロン濃度が平均値より低い群では、女児の出生数の増加が認められた。農薬散布者間では甲状腺刺激ホルモン(TSH)濃度の夏季から秋季にかけての低下がみられ、特に当シーズン中に殺菌剤の空中散布を行った群では、TSH 値(1.75~1.11mU/L)に有意な変化が示されたが、対照群にはみられなかった。無症候性甲状腺機能低下症は、対照都市住民被験者間では少なかったが、散布者間では 144 例中 5 例(TSH 値>4.5 mU/L)に認められた。

Ribas-Fito ら (2003) はヘキサクロロベンゼン(HCB)の高濃度地域で出生した新生児における甲状腺状態と有機塩素系化合物の出生前暴露との関連性について調べた。

スペイン、Flix の電気化学工場付近の HCB に汚染された農村地域から 1997~1999 年に出生した新生児とその母親 98 組を登録し、新生児 70 例におけるさい帯血中の有機塩素系化合物(HCB、p,p'-DDE、β-HCH、PCB)濃度を電子捕獲検出器を備えたガスクロマトグラフィーにより測定した。誕生から 3 日後にすべての新生児血漿中の甲状腺刺激ホルモン(TSH)濃度を測定した。新生児の TSH 濃度は全例正常値内(<25mU/L)であり、TSH<10mU/L が 60 例、TSH

≥10mU/L が 10 例であった。p,p'-DDE、β-HCH、PCB-138、PCB-118 が TSH 高値と関連していたが、妊娠齢による補正後の多変量回帰分析では、β-HCH のみが有意であり、TSH ≥ 10mU/L に対するβ-HCH のオッズ比は 1.81(95%信頼区間：1.06～3.11、p=0.03)であった。一方、HCB 値は TSH 値と関連していなかった。

#### 4) 介入研究

Pelletier ら (2002) は有機塩素系化合物は減量中に体脂肪から血流に放出され、安静時代謝率(RMR)の制御に關与する甲状腺の状態を障害する可能性があることに着目し、体重減少に反応した血漿中有機塩素系化合物濃度の上昇が血清中 T3 濃度と RMR の低下に關連するかどうか検討した。

16 例の肥満男性に対して、三大栄養素以外の特殊エネルギー制限食で 15 週間フォローした。減量前後に血漿中有機塩素系化合物濃度、血清中 T3 濃度、RMR を測定した。減量プログラム後に、血清中 T3 濃度と RMR の有意な低下が認められた。17 種の有機塩素系化合物(β-HCH、p,p'-DDT、p,p'-DDE、HCB、ミレックス、オキシクロルデン、trans-ノナクロル、アロクロル-1260、PCB-28、PCB-99、PCB-118、PCB-138、PCB-153、PCB-156、PCB-170、PCB-180、PCB-187)が血漿中から検出されたが、減量中に 13 種の有機塩素系化合物濃度が有意に上昇した。有機塩素系化合物濃度の変化は減量に対して補正後の血清中 T3 濃度(p,p'-DDT、HCB、アロクロル-1260、PCB-28、PCB-99、PCB-118、PCB-170 について有意)と RMR(HCB と PCB-156 について有意)の変化と負の關連性を示した。

### 3. その他の物質

#### 1) コホート研究

なし。

#### 2) 症例-対照研究

なし

#### 3) 断面研究

Nagayama ら (2001) は油症事件発生約 30 年後の油症患者 16 例に対してポリクロロジベンゾ-p-ダイオキシン(PCDD)、ポリクロロジベンゾフラン(PCDF)、コプラナーポリ塩化ビフェニル(co-PCB)の甲状腺ホルモンと免疫応答系への影響を調べた。

1996～1997 年に、油症患者 16 名(男 3 名、女 13 名：28～75 歳)と 83 例の対照被験者の血液を採取して、血清サンプル中の T3、T4、TSH 値を測定した。また間接免疫蛍光法、ラテックス凝集光学的免疫測定法(LPIA)などを用いて、血液中のリンパ球サブセット、自己抗体、免疫グロブリン値を測定した。

油症患者における血液中の毒性当量(TEQ)レベルは 27.8～1048.5pg/g 脂肪、中央値は 222.4pg/g 脂肪で、対照健常群よりも約 7 倍高かった。1 例で血清中 T4 値が 15.5 μg/dL と正常範囲(4.6～12.6 μg/dL)から若干逸脱していたが、全例血清中 T3、T4、遊離 T4、TSH 値は正常値であった。また血液中の免疫グロブリン(IgA、IgG、IgM)、自己抗体(抗核抗体、リウマチ様因子、LE 因子)、リンパ球サブセットに影響はみられなかった。一方、リウマチ様因子の陽性率は血中 TEQ 高値群で増加していた。

Pavuk ら (2003) は 2,3,7,8-テトラクロロジベンゾ-p-ダイオキシン(TCDD)血清中濃度が甲状腺機能に及ぼす健康への影響の可能性を、1962 年～1971 年のベトナム戦争中に使用された TCDD に汚染された枯れ葉剤を含む除草剤空中散布作戦(Operation Ranch Hand)に携わった経験のある退役軍人(暴露群)と散布作戦には関わらなかった退役軍人(比較群)を比較して検討



した。

血清中 TCDD 値に対するサイロキシン(総 T4)、甲状腺刺激ホルモン(TSH)、トリヨードサイロニン取込み率(T3 取込%)、遊離サイロキシン指数(FTI)及び甲状腺疾患について分析した。1982年、1985年、1987年、1992年、1997年の5回の検査のうちいずれかに登録された暴露群 1009例、比較群 1429例からデータを入手した。各被験者は血清 TCDD 値に基づいて、比較群、Ranch Hand バックグラウンド群、Ranch Hand 低上昇群、Ranch Hand 高上昇群の4暴露濃度カテゴリーに分類した。

平均血清中 TCDD 値は比較群 4.6ppt、バックグラウンド群 5.8ppt、低上昇群 15.6ppt、高上昇群 69.4ppt であった。断面分析では、1985年と1987年の検査時に Ranch Hand 高上昇群において TSH 値の統計学的に有意な上昇、1982年、1985年、1987年、1992年検査時における Ranch Hand の3群にわたる TSH 平均値の統計学的に有意な上昇傾向が示された。反復測定分析では、Ranch Hand 高上昇群における TSH 平均値の有意な上昇が認められた。血清中 TCDD 値の濃度による甲状腺疾患の発生率に有意な関連性はみられなかった。

#### 4) 地域相関研究

Sandau ら (2002) は 1993~1996年にカナダケベックの3カ所の地域から得たさい帯血サンプル中の PCB、PCB の水酸化代謝産物(4-HO-HpCS)、ペンタクロロフェノール(PCP)濃度を測定した。海産物を中心とした食事のため PCB 暴露が高い2カ所の地域 Nunavik(イヌイト系人種)と St. Lawrence 湾の Lower North Shore(生活権漁業)と PCB 暴露がバックグラウンド濃度である南部ケベックの都心(ケベック市)の3カ所の地域における新生児さい帯血中の PCB、4-HO-HpCS、PCP 濃度を測定した。

すべての地域において主な塩素化フェノール化合物は PCP であった。血漿中の平均 PCP 濃度は 1670pg/g(628~7680pg/g 湿重量)で有意な地域差はなかった。PCP と CB-153 の濃度比は 0.72~42.3 の範囲であった。血漿中の平均総 HO-PCB 濃度は Lower North Shore 群で 553(238~1750)pg/g 湿重量、Nunavik 群で 286(103~788)pg/g 湿重量、南部ケベック群で 234(147~464)pg/g 湿重量の順であった。Lower North Shore 群では、血漿中総 PCB(49 コンジエナーの合計)濃度の平均値は 2710(525~7720)pg/g 湿重量で、Nunavik 群(1510pg/g 湿重量)、南部ケベック群(843pg/g 湿重量)に比べて最も高かった。総 HO-PCB と総 PCB 濃度(対数変換)は有意に相関していた( $r=0.69$ ,  $p<0.001$ )。Nunavik 群と Lower North Shore 群では、遊離サイロキシン(T4)濃度(対数変換)は総塩素化フェノール化合物濃度と負に相関したが(総 PCP、総 HO-PCB;  $r=-0.47$ ,  $p=0.01$ ,  $n=20$ )、各 PCB コンジエナー又は総 PCB とは関連しなかった。

#### 〔考察〕

PCB と甲状腺機能に関しては、油症や職業性暴露など比較的高濃度暴露を受けた集団での研究があり、PCB が甲状腺機能に何らかの影響を及ぼしていることを示唆する報告が多い。ただし、コホート研究、コホート内症例対照研究など良くデザインされた疫学研究は少なく、このために観察された変化が真に臨床的に有意なものであるのかどうかの判断は困難である。観察された甲状腺への影響の機序として、ホルモンレセプターへの結合を介してのいわゆる内分泌系のかく乱以外に、(a) 潜在的な甲状腺自己免疫異常を顕在化する、(b) 甲状腺に対する作用(例えばラットでは甲状腺に組織学的な肥大を起こすことが知られている)、特に、甲状腺上皮細胞の肥大などを通じて、抗原の提示が起こり、新たに甲状腺自己免疫異常が生ずる、の二つも考慮しておく必要がある。また、子供や授乳期の母親における研究以外に、一般人口において PCB の影響を調べた研究はなく、一般人口においても体内の残留が無視できないため研究

が必要である。

PCB 以外にも有機塩素系化合物の HCB についての報告があったが、ほとんどが断面研究であり、甲状腺機能に影響があるかどうかは現状の文献のみでは判断できなかった。

以上のように、化学物質と甲状腺機能との関連についての疫学研究の知見は、PCB についてはいくつか報告があった。しかし、それら以外の物質に関する研究は現状ではほとんどなく、因果関係を評価することは不可能である。有機塩素系化合物の HCB で甲状腺機能への影響が疑われていることを考慮すると、今後は、PCB 以外の有機塩素系化合物の物質についても研究を行う必要がある。

#### 〔結論〕

内分泌かく乱化学物質暴露と甲状腺機能についての疫学研究をレビューしたところ、PCB については甲状腺機能に何らかの影響を及ぼしているという結果が複数の研究で報告されていた。他の有機塩素系化合物に関しては HCB についてのみ研究されていたが、現時点での知見では、甲状腺機能に影響を及ぼすかどうかは判断できない。その他の化学物質、特に有機塩素系化合物と甲状腺機能の関連に関する研究がなく、両者の因果関係を適切に評価することは不可能であった。この点については信頼性の高い研究デザインを用いた研究の必要性が示唆された。

#### 〔参考文献〕

Bloom MS, Weiner JM, Vena JE, Beehler GP. Exploring associations between serum levels of select organochlorines and thyroxine in a sample of New York state sportsmen: the New York State Angler Cohort Study. *Environ Res.* 2003 Sep; 93(1): 52-66.

Bahn AK, Mills JL, Synder PJ, Gann PH, Houten L, Bialik O, Hollmann L, Utiger RD. Hypothyroidism in workers exposed to polybrominated biphenyls. *N Engl J Med* 1980;302(1):31-3.

Emmett EA, Maroni M, Jefferys J, Schmith J, Levin BK, Alvares A. Studies of transformer repair workers exposed to PCBs: II. Results of clinical laboratory investigations. *Am J Ind Med* 1988;14(1):47-62.

Garry VF, Holland SE, Erickson LL, Burroughs BL. Male reproductive hormones and thyroid function in pesticide applicators in the Red River Valley of Minnesota. *J Toxicol Environ Health A.* 2003 Jun 13; 66(11): 965-86.

Gocmen A, Peters HA, Cripps DJ, Bryan GT, Morris CR. Hexachlorobenzene episode in Turkey. *Biomed Environ Sci* 1989;2(1):36-43.

Guo YL, Yu ML, Hsu CC, Rogan WJ. Chloracne, goiter, arthritis, and anemia after polychlorinated biphenyl poisoning: 14-year follow-Up of the Taiwan Yucheng cohort. *Environ Health Perspect* 1999;107(9):715-9.

Hagmar L, Bjork J, Sjodin A, Bergman A, Erfurth EM. Plasma levels of persistent organohalogenes and hormone levels in adult male humans. *Arch Environ Health.* 2001 Mar-Apr; 56(2): 138-43.

Hagmar L, Rylander L, Dyremark E, Klasson-Wehler E, Erfurth EM. Plasma concentrations of persistent organochlorines in relation to thyrotropin and thyroid hormone levels in women. *Int Arch Occup Environ Health*. 2001 Apr; 74(3): 184-8.

Koopman-Esseboom C, Morse DC, Weisglas-Kuperus N, Lutkeschipholt IJ, Van der Paauw CG, Tuinstra LG, Brouwer A, Sauer PJ. Effects of dioxins and polychlorinated biphenyls on thyroid hormone status of pregnant women and their infants. *Pediatr Res* 1994;36(4):468-73.

Langer P, Tajtakova M. [Organic chlorinated pollutants and the thyroid gland]. *Vnitr Lek* 1996;42(9):615-9.

Langer P, Tajtakova M, Fodor G, Kocan A, Bohov P, Michalek J, Kreze A. Increased thyroid volume and prevalence of thyroid disorders in an area heavily polluted by polychlorinated biphenyls. *Eur J Endocrinol* 1998;139(4):402-9.

Matsuura N, Uchiyama T, Tada H, Nakamura Y, Kondo N, Morita M, Fukushi M. Effects of dioxins and polychlorinated biphenyls (PCBs) on thyroid function in infants born in Japan--the second report from research on environmental health. *Chemosphere*. 2001 Dec; 45(8): 1167-71.

Mazhitova Z, Jensen S, Ritzen M, Zetterstrom R. Chlorinated contaminants, growth and thyroid function in schoolchildren from the Aral Sea region in Kazakhstan. *Acta Paediatr* 1998;87(9):991-5.

Murai K, Okamura K, Tsuji H, Kajiwara E, Watanabe H, Akagi K, Fujishima M. Thyroid function in "yusho" patients exposed to polychlorinated biphenyls (PCB). *Environ Res* 1987;44(2):179-87.

Nagayama J, Okamura K, Iida T, Hirakawa H, Matsueda T, Tsuji H, Hasegawa M, Sato K, Ma HY, Yanagawa T, Igarashi H, Fukushige J, Watanabe T. Postnatal exposure to chlorinated dioxins and related chemicals on thyroid hormone status in Japanese breast-fed infants. *Chemosphere* 1998;37(9-12):1789-93.

Nagayama J, Tsuji H, Iida T, Hirakawa H, Matsueda T, Ohki M. Effects of contamination level of dioxins and related chemicals on thyroid hormone and immune response systems in patients with "Yusho". *Chemosphere*. 2001 May-Jun; 43(4-7): 1005-10.

Persky V, Turyk M, Anderson HA, Hanrahan LP, Falk C, Steenport DN, Chatterton R Jr, Freels S; Great Lakes Consortium. The effects of PCB exposure and fish consumption on endogenous hormones. *Environ Health Perspect*. 2001 Dec; 109(12): 1275-83.

Pavuk M, Schechter AJ, Akhtar FZ, Michalek JE. Serum 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) levels and thyroid function in Air Force veterans of the Vietnam War. *Ann Epidemiol*. 2003 May; 13(5): 335-43.

Pelletier C, Doucet E, Imbeault P, Tremblay A. Associations between weight loss-induced changes in plasma organochlorine concentrations, serum T(3) concentration, and resting metabolic rate. *Toxicol Sci.* 2002 May; 67(1): 46-51.

Rathore M, Bhatnagar P, Mathur D, Saxena GN. Burden of organochlorine pesticides in blood and its effect on thyroid hormones in women. *Sci Total Environ.* 2002 Aug 5; 295(1-3): 207-15.

Ribas-Fito N, Sala M, Cardo E, Mazon C, De Muga ME, Verdu A, Marco E, Grimalt JO, Sunyer J. Organochlorine compounds and concentrations of thyroid stimulating hormone in newborns. *Occup Environ Med.* 2003 Apr; 60(4): 301-3.

Sala M, Sunyer J, Herrero C, To-Figueras J, Grimalt J. Association between serum concentrations of hexachlorobenzene and polychlorobiphenyls with thyroid hormone and liver enzymes in a sample of the general population. *Occup Environ Med.* 2001 Mar; 58(3): 172-7.

Sala M, Sunyer J, Otero R, Santiago-Silva M, Ozalla D, Herrero C, To-Figueras J, Kogevinas M, Anto JM, Camps C, Grimalt J. Health effects of chronic high exposure to hexachlorobenzene in a general population sample. *Arch Environ Health* 1999;54(2):102-9.

Sandau CD, Ayotte P, Dewailly E, Duffe J, Norstrom RJ. Pentachlorophenol and hydroxylated polychlorinated biphenyl metabolites in umbilical cord plasma of neonates from coastal populations in Quebec. *Environ Health Perspect.* 2002 Apr; 110(4): 411-7.

Sukdolova V, Negoita S, Hubicki L, DeCaprio A, Carpenter DO. The assessment of risk to acquired hypothyroidism from exposure to PCBs: a study among Akwesasne Mohawk women. *Cent Eur J Public Health* 2000;8(3):167-8.

Tsuji H, Ito Y. Thyroid function in patients with Yusho. *Fukuoka Igaku Zasshi.* 2003 May; 94(5): 103-7. Japanese.

Zober A, Ott MG, Messerer P. Morbidity follow up study of BASF employees exposed to 2,3,7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) after a 1953 chemical reactor incident. *Occup Environ Med* 1994;51(7):479-86.

辻博, 他. 油症患者における甲状腺機能 : 油症発生 28 年後の検討. *福岡医誌* 1997;88:231.

表 2 - 7 - 1 内分泌かく乱化学物質と甲状腺機能への影響に関するコホート研究

地域・対象者	対象者数	追跡期間	化合物	影響の指標	所見	P値
Gocmen, 1989 トルコ、Southeast Anatolia 1955-1959年に約4000人が HCBに暴露(摂取)。 その集団において、 ポルフィリア症既往のある者を 1977-1987に調査。 平均年齢35.7歳。平均発症年齢7.6歳。 後ろ向き研究	252名 (男性162、 女性90)	約20-30年	HCB	症状の頻度(%) (症状あり/検査総数) 甲状腺腫大 その他	34.9 (88/252) 顔面、手の癬痕 83.7 (211/252) 色素過剰沈着 65 (164/252) 多毛症 60.6 (131/216) 筋緊張症 37.9 (82/216) cogwheeling 41.9 (70/167) 肝臓腫大 4.8 (12/252)	(比較なし)

表 2-7-2 内分泌かく乱化学物質と甲状腺機能への影響に関する症例対照研究

地域・対象者数 (症例/対照)	化合物	血清レベルの比較		P値
		症例	対照	
Sukdolova, 2000		血清中濃度 (ppb) (1)		
米国	総PCB	4.8	4.7	有意差なし
モホーク族インディアン	PCB8	0.015	0.03	<0.05
30歳以上の女性	PCB31	0.025	0.045	<0.05
甲状腺機能低下症46、 対照75	PCB28	0.04	0.08	<0.05
	PCB49	0.015	0.035	<0.05
	PCB47+59	0.05	0.035	<0.05
	PCB71	0.005	0.025	<0.05
	PCB70	0.02	0.03	<0.05
	PCB84	0.02	0.02	<0.05
	PCB90+101	0.065	0.085	<0.05
	PCB156	症例 > 対照		?
	PCB118	症例 > 対照		?
	PCB153	症例 = 対照		?
	PCB28	症例 < 対照		?
	(参考)			
	甲状腺中毒等価値 (thyroid TEQ) (2)			
	PCB156; 0.03			
	PCB118; 0.02			
	PCB153; 0.001			
	PCB28; 0.0006			

1) 担当者が図より読み取り

2) 他の文献から算出

表 2 - 7 - 3 内分泌かく乱化学物質と甲状腺機能への影響に関する断面研究

地域・対象者数	化合物	影響の指標	所見	P値
Bahn, 1980 PBBを取り扱う工場労働者35人 対照群89名	PBB	甲状腺機能低下症	曝露者4名/対照者0	
Murai, 1987 日本 油症患者124名を16年後に調査	PCB	T3 T4 TSH  甲状腺腫	患者で有意に高い 患者で有意に高い 対照群と差なし 血清PCBレベルとT3、T4、TSHの間に相関なし 女性で11/74 (15%)	
Emmet, 1988 米国 変圧器修理工 PCB曝露者55名 (現在曝露者38名、 過去曝露者17名) 対照はPCBに曝露されたことの ない労働者56名		T4 free T4 index	曝露者8.24 µg/dL / 対照者8.84 µg/dL 曝露者226 / 対照者248	有意 有意
Koopman-Esseboom, 1994 オランダ 105組の新生児と母親のペア	PCB ダイオキシン	甲状腺ホルモン (TT4、TT3、FT4、TSH)	PCBの濃度の高い乳汁を出す母親のT4、T3が低く、 ペアをなす子供の生後2週間のTSH濃度が高い	
辻, 1997 日本 油症患者の28年後の調査 油症認定患者81例	PCB	甲状腺疾患  甲状腺検査のみで異常 T4、T3、TSH 抗サイログロブリン抗体陽性 抗マイクロソーム抗体	バセドウ病3 慢性甲状腺炎2 甲状腺腫2 甲状腺腫瘍1 6例 (TSH軽度上昇4例、軽度低下2例) 対照群と差なし 血清PCBレベルが高い群で頻度が多い 血清PCBレベルが高い群で頻度が多い	
Langer, 1998 (1996年の報告も同様) スロバキア PCB製造工場の労働者と その周辺地域の住民。 PCB製造工場労働者238名、 低汚染地域対照者572。 甲状腺容積評価のため、 17歳青年1419名 (最も汚染されている都市454名、 対照965名)	PCB	甲状腺容積 (mL)  甲状腺抗体 (%) (PCB製造工場労働者 / 低汚染地域対照者) : TPO Ab (全員) 26.0/20.7 TPO Ab (女性) 28.4/20.5 Tg Ab (31-60歳女性) 21.3/14.6 TSHR Ab (マッチした238名) 10.5/2.5  T4レベル (nmol/L) (PCB製造工場労働者 / 低汚染地域対照者) : 116.1/112.2	PCB製造工場労働者17.3、低汚染地域対照者11.3 汚染されている都市17歳青年9.0、対照青年7.7	P<0.001 P<0.001  P>0.05 P<0.05 P<0.05 P<0.001  有意差なし

地域・対象者数	化合物	影響の指標	所見	P値
		正常な甲状腺の頻度 (%) :	製造工場労働者で勤務21-35年; 33.6、 製造工場労働者で勤務21-35年; 33.6、	製造工場労働者で勤務11-20年; 49.3 マッチした対照者; 46.1 P<0.05 P<0.025
Mazhitova, 1998 カザフスタン共和国 アラル海周辺地域 入院学童12人 7.5才から15才 対照はストックホルム市の学童	PCB	甲状腺ホルモン TSH		有意差なし 有意差なし
Nagayama, 1998 日本 1歳児36人	PCDD、 PCDF、 Co-PCB	甲状腺機能	乳汁中の物質の毒性指数 (TEQ) とT4、T3が逆相関	
Sala, 1999 スペイン、カタロニア 大気中HCB濃度が高い地域 電気化学工場の近隣の村の住人 その工場での雇用経験者を含む 1800名 住民608名の 平均血清HCB濃度 (ng/mL) は、 男性現在作業員54.6、 男性過去作業員27.1、 男性で働いたことなし9.0、 女性現在作業員14.9、 女性過去作業員22.2、 女性で働いたことなし13.5	HCB	甲状腺機能低下症  その他	女性 工場で働いたことがある1/62、一度もない17/952、OR0.8 (95%CI: 0.1-8.1) 男性 工場で働いたことがある1/445、一度もない10/341  自然流産 工場で働いたことがある8/60、一度もない143/936、OR0.8 (95%CI: 0.3-1.7) 低出生体重児 工場で働いたことがある2/46、一度もない151/719、OR0.6 (95%CI: 0.1-6.0) 先天異常 工場で働いたことがある1/46、一度もない126/719、OR1.7 (95%CI: 0.2-13.5)	
Guo, 1999 台湾 油症患者の13年後の調査		甲状腺腫	頻度高い (20%)	



表 2 - 7 - 4 内分泌かく乱化学物質と甲状腺機能への影響に関する地域相関研究

地域・対象者数	化合物	影響の指標	所見	P値
Sandauら、2002				
カナダ、ケベック 1993年から1996年に3地域から得た臍帯血 PCB暴露が高いNunavik(イヌイット系人)、と Lower North Shore (生活権漁業)とPCB暴露が高い Nunavik(イヌイット系人)、と暴露がバックグラウンド濃度 である南部ケベックの都心(ケベック市)	PBB PCP 4-HO-HpCS OH-PCB	FT4	<p>主な化合物はPCPで、濃度の地域差はない(628 ~ 7680pg/g湿重量)</p> <p>OH-PCB濃度は、</p> <p>Lower North Shore群で553(238 ~ 1750)pg/g湿重量、Nunavik群で286(103 ~ 788)pg/g湿重量、南部ケベック群で234(147 ~ 464)pg/g湿重量</p> <p>血漿中総PCB(49コンジェナーの合計)濃度の平均値</p> <p>Lower North Shore群では2710(525 ~ 7720)pg/g湿重量で、Nunavik群(1510pg/g湿重量)、南部ケベック群(843pg/g湿重量)</p> <p>総HO-PCBと総PCB濃度(対数変換)は有意に相関(<math>r=0.69</math>、<math>p&lt;0.001</math>)</p> <p>Nunavik群とLower North Shore群では、FT4濃度(対数変換)は総塩素化フェノール化合物濃度と負に相関</p>	

表 2 - 7 - 5 内分泌かく乱化学物質と甲状腺機能への影響に関する介入研究

地域・対象者数	化合物	影響の指標	所見	P値
Pelletierら、2002				
カナダ、ケベック	b-HCH	T3	減量プログラム後に、T3濃度とRMRの有意な低下が認められた	
16例の肥満男性	DDT	安静時代謝率RMR	減量中に13種の有機塩素系化合物濃度が有意に上昇した	
三大栄養素以外の得ずエネルギー制限を15週間	HCB		有機塩素系化合物濃度の変化は減量に対して補正後の	
	mirex		血清中T3濃度(p,p'-DDT、HCB、アロクロル-1260、PCB-28、PCB-99、	
	oxychlordane		PCB-118、PCB-170について有意)とRMR(HCBとPCB-156について有意)	
	trans-nonachlor		の変化と負の関連性を示した	
	alroclor-1260			
	PCBs			

## [ 器官形成への影響 ]

### 2 - 8 尿道下裂

#### [要旨]

内分泌かく乱物質と尿道下裂に関する疫学研究の現状について、文献的考察を行った。米国立医学図書館の医学文献データベース PubMed を利用して選択した文献は2000年12月31日までに5件で、コホート研究1件、症例対照研究4件であった。2001年1月1日以降は3件で、コホート研究1件、症例対照研究2件であった。日本人を対象にした研究は1件もなかった。子宮内 DES 暴露によるリスクの増加を報告しているコホート研究が1件あった。生体試料を用いたコホート内症例対照研究が1件あり、母親の血清中 1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene (p,p'-DDE)との有意な関連はみられなかった。有機塩素系化合物などの内分泌攪乱物質と尿道下裂との関連に関する研究はきわめて乏しく、今後も研究の必要がある。

#### [研究目的]

尿道下裂は、比較的頻度の高い先天異常の一つであり、胎児精巣が分泌するテストステロンにより尿道が形成されることから、胎児期の内外のエストロゲン暴露による内分泌環境の変化がリスク要因の一つであると指摘されている。有機塩素化合物などの化学物質にはエストロゲン作用がある物質もあり、その関連を探ることを目的として、疫学研究に関する文献レビューを行った。

#### [研究方法]

米国立医学図書館の医学文献データベース PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>)を用いて、hypospadias AND (insecticides OR pesticides OR chlorinated hydrocarbons OR pesticides OR chlorinated hydrocarbons OR pcbs OR bisphenol OR phenol OR phthalate OR styrene OR furan OR organotin OR diethylstilbestrol OR ethinyl estradiol) AND (human) のキーワードで、2004年10月31日までの文献を検索した。で文献を検索した。その中から、人集団を対象とする疫学研究の原著論文と選択した。さらに必要に応じて、これらの原著論文や、他の総説論文を参考にして、論文を選択した。

#### [研究結果]

##### 1. Diethylstilbestrol (DES)

オランダのコホート研究では、母親が子宮内 DES 暴露を報告した205例のうち4例が、DES 非暴露群 8729 例のうち8例が尿道下裂であり、有病率比は 21.3(95%CI=6.5-70.1)と、子宮内で DES に暴露された男児における尿道下裂のリスク増加が示唆された(Klip 2002)。

##### 2. エストロゲン製剤

Aarskog (1970) によって妊娠中のプロゲステロン製剤使用が尿道下裂発生のリスクを増すこと指摘されてきた。複数の報告で妊娠中のプロゲステロン製剤使用と尿道下裂発生のリスクが検討されてきたが、1980年代までは有意な関連を示す報告はなかった。

Czeizel ら(1988)によると、流産防止薬として使用されていたプロゲステロン製剤のアリルエストレノールによって尿道下裂のリスクが増した。ハンガリーの先天奇形登録を用いた症例対

照研究（尿道下裂 207、対照 162）において、尿道下裂児妊娠中のアリルエストレノール内服率は対照に較べ有意に高かった（ $p < 0.05$ ）。

オーストラリアの妊娠・出産を追跡したコホート研究（対象 56,037、尿道下裂 77）では、経口避妊薬と有意な関連が認められたのは凹足奇形のみであり、尿道下裂は関連の認められた奇形として挙げられてはいない（Correy, 1991）。

ICBDMS メンバーの7つのシステムで行なわれた症例対照研究によると、妊娠 8-16 週のホルモン製剤の使用が尿道下裂のリスクを増すと報告されている（OR; 2.3 (95%CI; 1.2-4.4)）（K\_ll\_n, 1992）。

### 3. 1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene (p,p'-DDE)

Longnecker(2002)らは、1959-66 年における Collaborative Perinatal Project からコホート内症例対照研究において、停留精巣 219 例、尿道下裂 199 例、多乳頭症 167 例を症例群として、対照群 552 例と比較した。ガスクロマトグラフィーの回収率で補正した母親の血清中 DDE 濃度を 4 分位し、濃度が最も低い群(<21.4  $\mu\text{g/l}$ )を基準(reference)とした場合、最も高い群( $\geq 85.6 \mu\text{g/l}$ )における、停留精巣、尿道下裂、多乳頭症の、人種・トリグリセリド値・コレステロール値で補正したオッズ比は、各 1.3(95%CI=0.7-2.4)、1.2(95%CI=0.6-2.4)、1.9(95%CI=0.9-4.0)となり、有意な関連が見られなかった。

### 4. 農業従事

農作業によって尿道下裂のリスクが増す（Krintensen, 1997）という報告とそれを否定するもの（Weidner, 1998）がある。

Weidner ら(1998)はデンマークの人口登録、患者登録、不妊症データベースのリンクによって、両親の農業従事と尿道下裂・停留精巣の発生の関連をみる症例対象研究（尿道下裂 1,345、対照：23,273）を行なった。1983 から 1992 年に生まれた児において、母親の農業従事、農業と園芸業従事で停留精巣児が出生するリスクの増加が認められたが、尿道下裂では両親の農業・園芸業のいずれでも有意なリスク上昇を認めなかった（母親の農業・園芸業: OR; 1.27 (95%CI; 0.81-1.99)、父親の農業・園芸業: OR; 1.1927(95%CI; 0.96-1.49)）。

Krintensen ら(1997)は、ノルウェイの出生登録、人口登録、農業登録のリンクから症例対照研究（先天奇形 5,607、尿道下裂 270、対照 253,768）を行い、農業・畜産業従事者に種々先天奇形が生まれるリスクを報告した。この研究においても、1967・1991 に生まれた児で、農業・畜産業従事では尿道下裂のリスクの上昇は認められなかった（OR; 1.00(95%CI; 0.75-1.34)。しかし、トラクターでの農薬散布、トラクターでの農薬散布+穀類生産で尿道下裂児出生の OR 上昇が認められ、農薬暴露との関連が認められた。（それぞれの OR は、1.38(95%CI; 0.95-1.99)、1.51(95%CI; 1.00-2.26)）。この他に、停留精巣でも農薬との関連を認められた。

### 5. 廃棄物処分場

Dolk ら(1998)は、ヨーロッパ5カ国 21 廃棄物埋め立て施設周辺に居住する母親を対象として、症例対象研究を行い、先天奇形と廃棄物埋め立て施設との関連について報告している（全先天奇形 1,089、尿道下裂 45、対照 2,366）。処分場から 3km 以内に住居する母親からの先天奇形出生リスクは、処分場から 3-7km に居住する母親からのリスクより高く、尿道下裂についても上昇傾向が認められた（OR (95%CI) : 1.96(0.98-3.92)）。

### 6. 環境汚染

イタリアのシチリア島の産業都市で、精油所・石油副産物の化学製品工場が多く Hydrocarbon 暴露の可能性の高い Augusta、農業都市であり温室栽培が盛んで Pesticide 暴露の可能性の高い Vittoria で出生した尿道下裂児と、比較的暴露が少ないと考えられる商業都市 Catania で出生し

た尿道下裂児について、症例対照研究を行った。それによると、Augusta の発生率は、12.1 人／1000 男児出生、Vittoria の発生率は、7.4 人／1000 男児出生であり、イタリア・シチリア島の有病率から計算された期待有病率を基に比較すると、各々RR=3.8 (95%CI=2.16-6.14)、RR=2.3 (95%CI=1.48-3.43)であった。Catania の発生率は 1.7 人／1000 男児出生であった。Augusta、Vittoria における、ポアソン分布に基づき全出生を対象とした予測値からの差は、統計学的に有意であった(Augusta:P=0.00003, Vittoria:P=0.04)。さらに、父親の職業性暴露についてオッズ比の上昇がみられ、Augusta (精油所での労働)では OR=5.5 (95%CI=1.22-24.7)、Vittoria (温室での労働)では OR=2.9 (95%CI=1.01-8.55)であった(Bianca 2003)。

#### [考察]

胎生第4週初期に生殖結節が形成され男では陰茎のもととなる。同時期に尿生殖ヒダが発生し、近位から遠位へ正中癒合し尿道を形成する。このように会陰、陰嚢、陰茎振子部と順次先端方向へ向かい、胎生15・16週には尿道が完成する。この過程は胎児の精巣から分泌されるアンドロゲン依存性だと考えられており、この時期の内分泌作用が不十分であったり、外的要因によって作用が阻害されたりすると尿道が完成せず、尿道下裂を発症する。

有機塩素化合物のいくつかは、エストロゲンレセプターアゴニストとして作動し、外因性エストロゲンとしてホルモンを変動させることが知られており、2000年12月31日までの疫学研究では、母親の農薬使用によるオッズ比の上昇(Kristensen 1997, Weidner 1998)や、産業廃棄物処理所の距離が近い人でオッズ比の上昇(Dolk 1998)が報告されていたが、今回、最近の知見について文献検索を行ったところ、コホート研究でDESとの関連や、農業都市や産業都市で尿道下裂発生率の上昇、父親の職業性暴露との関連が報告された。しかし、尿道下裂患児の内分泌攪乱物質への暴露を、生体試料を用いて定量的に評価した報告では関連が認められず、現時点では、内分泌攪乱物質と尿道下裂との関連について、一定した評価をするには、未だ研究が乏しい状況である。今後、信頼性の高い研究デザインと用いた研究の必要性が示唆された。

#### [結論]

尿道下裂と内分泌攪乱物質について2004年10月31日までの疫学研究をレビューしたところ、コホート研究において子宮内DES暴露によるリスクの増加が報告されていた。尿道下裂患者の母親の妊娠中の血清DDE濃度と尿道下裂には関連がない、という知見1件があった。尿道下裂と内分泌攪乱物質との関連に関する研究はきわめて乏しく、両者の因果関係を適切に評価することは困難であった。今後、信頼性の高い研究デザインを用いた研究の必要性が示唆された。

#### [参考文献]

Aarskog D. Clinical and cytogenetic studies in hypospadias. Acta paediatr Scand suppl 1970; 203: 7-62.

Angerpointner TA. Hypospadias--genetics, epidemiology and other possible aetiological influences. Z Kinderchir 1984; 39: 112-118.

Bianca S, Li Volti G, Caruso-Nicoletti M, Ettore G, Barone P, Lupo L, Li Volti S. Elevated incidence of hypospadias in two sicilian towns where exposure to industrial and agricultural pollutants is high. Reprod Toxicol 2003;17:539-545.

- Bjerkedal T, et al. Surveillance of congenital malformations and other condition of the newborn. *Int J Epidemiol* 1975; 4: 31-36.
- Calzolari E, et al. Aetiological factors in hypospadias *J Med Genet* 1986; 23: 333-337.
- Correy JF, Newman NM, Collins JA, Burrows EA, Burrows RF, Curran JT. Use of prescription drugs in the first trimester and congenital malformations. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 1991 Nov;31(4):340-344.
- Czeizel A, Huiskes N. A case-control study to evaluate the risk of congenital anomalies as a result of allylestrenol therapy during pregnancy. *Clin ther* 1988; 10(6):725-739.
- Dolk H, Vrijheid M, Armstrong B, Abramsky L, Bianchi F, Garne E, Nelen V, Robert E, Scott JE, Stone D, Tenconi R. Risk of congenital anomalies near hazardous-waste landfill sites in Europe: the EUROHAZCON study. *Lancet*. 1998;352:423-427.
- Kaellen B, et al. Dealing with suspicious of malformation frequency increase. Experiments with the Swedish Register fo Congenital Malformations. *Acta Paediatr Scand Suppl* 1979; 275: 66-74.
- Källén BAJ, Martinez-Fias ML, Castilla EE, et al. Hormone therapy during pregnancy and isolated hypospadias: an international case-control study. *Int J Risk Safety Med* 1992; 3: 183-198.
- Klip H, Verloop J, van Gool JD, Koster ME, Burger CW, van Leeuwen FE. Hypospadias in sons of women exposed to diethylstilbestrol in utero:a cohort study. *Lancet* 2002;359:1102-1107.
- Kristensen P, Irgens LN, Andersen A et al. Birth defects among offspring of Norwegian Farmers,1967-1991. *Epidemiology*.1997 Sep;8(5):537-44
- Longnecker MP, Klebanoff MA, Brock JW, Zhou H, Gray KA, Needham LL, Wilcox AJ. Maternal serum level of 1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene and risk of cryptorchidism, hypospadias, and polythelia among male offspring. *Am J Epidemiol* 2002;155:313-322.
- Louik C, et al. Maternal exposure to spermicide in relation to certain birth defects. *N Engl J Med* 1987; 317: 474-478.
- Mau G. Progestins during pregnancy and hypospadias. *Teratology* 1981;24:285-287.
- North K, Goleing J, the ALSPAC study team. A maternal vegetarian diet in pregnancy is associated with hypospadias. *Brit J Urol* 2000;85:107-113.
- Shapiro S, et al. Birth defects and vaginal spermicides. *JAMA* 1982; 247: 2381-2384.
- Stroll CS, et al. Genetic and environmental factors in hypospadias. *J Med Genet* 1990; 27: 559-563.

Weidner IS, Moller H, Jensen TK et al. Cryptorchidism and hypospadias in sons of gardeners and farmers. Environ Health Perspect. 1998 Dec;106(12):793-6.

表 2 - 8 - 1 内分泌かく乱物質と尿道下裂に関するコホート研究

地域・対象者	対象者数	追跡期間	化合物	相対危険度	検討された交絡要因
Mau, 1981 独 Course of Pregnancy and Child Development 1965-1972のプロゲステロン製剤の使用妊婦と非使用妊婦	7525例 暴露群：559例 非暴露群：3043例	出産まで	妊娠中ホルモン剤使用 (流産防止薬、妊娠検査薬)	1.75 (0.5-4.4)	薬剤使用、病歴、喫煙、飲酒、コーヒーの摂取など病歴、喫煙、飲酒、カフェイン摂取、化学物質暴露
Shapiro, 1982 米国 Collaborative Perinatal Project 1958-65の経膈避妊薬の使用妊婦と非使用妊婦	50282例 暴露群：462例 非暴露群：49820例	出産まで	nonoxynol octoxynol	0.6(0-3.4)	出産後訪問回数、母年齢、妊娠週数、出生時体重、妊娠回数、母病歴(糖尿病など)、子癇、喫煙、同胞の奇形
Correy, 1991 豪 tasmania 1982-89の妊娠中の薬剤暴露の有無	56027例		アスピリン	3.5(1.4-8.8)	飲酒、喫煙、薬剤使用の詳細
North, 2000 英 Avon Longitudal Study of Pregnancy and Childhood 1991-1992に出産予定の妊婦	7928例	出産まで	菜食(対雑食) OR: 3.88(1.69-8.92) 菜食(対雑食 + 鉄剤) 4.99 ( 2.10-11.88 )		飲酒・喫煙、妊娠回数、流早産回数、避妊薬、妊娠年齢、初経年齢、食餌内容、妊娠中の感染症
Klip, 2002 オランダ OMEGA project に参加した妊婦	8934例男児 暴露群：205 非暴露群：8729	出産まで		DES 有病率比(PR)：21.3%(95%CI=6.5-70.1)	



表 2 - 8 - 2 内分泌かく乱物質と尿道下裂に関するコホート内症例対照研究

地域・対象者 (症例/対照)	化合物・暴露	オッズ比 (95%信頼区間)
Longnecker, 2002 米 Collaborative Perinatal Projectコホート内症例対照研究 尿道下裂 / 対照 = 166 / 552	母親の血清中DDE濃度4分位の最も高い群 (最も低い群をreference)	1.2(0.6-2.4)

表 2-8-3 内分泌かく乱物質と尿道下裂に関する症例対照研究

地域・対象者 (症例/対照)	化合物・暴露	オッズ比 (95%信頼区間)
<p>Bjerkedal, 1975</p> <p>ノルウェイ (出生年: 1967-74)</p> <p>人口ベース</p> <p>全奇形/尿道下裂/対照=265/10/265</p>	<p>ピルの使用 関連なし</p>	<p>(数値記載なし)</p>
<p>Källén, 1979</p> <p>スウェーデン 出生年 (1965-77)</p> <p>人口ベース (先天奇形登録・出生登録)</p> <p>尿道下裂/対照 (全奇形・出生年月・出生地・母年齢×ツナ) -48/48</p>	<p>妊娠中のホルモン製剤使用 関連なし</p>	<p>(数値記載なし)</p>
<p>Angerpointner, 1984</p> <p>独 ババリア 出生年 (1970-79)</p> <p>病院ベース</p> <p>尿道下裂/対照=515/515</p>	<p>農村に居住とscrotal typeの関連 p&lt;0.05</p> <p>農夫の妻scrotal typeの関連 p&lt;0.05</p>	
<p>Calzolari, 1986</p> <p>伊 エミリア・ロマーニャ (出生年: 1978-83)</p> <p>人口ベース(先天奇形登録)</p> <p>症例/対照 (出生時期をマッチ) =167/378</p>	<p>妊娠中のプロゲステロン製剤 1.65 (p&lt;0.05)</p> <p>経口避妊薬 関連なし</p>	<p>(数値記載なし)</p>
<p>Louik, 1987</p> <p>米国 (出生年: 1983-86)</p> <p>病院ベース</p> <p>尿道下裂/対照 (他奇形) =396/3442</p>	<p>時期を限定しない経膾避妊薬使用 1.2(1.0-1.6)</p> <p>受胎期の経膾避妊薬使用 1.2(0.8-1.7)</p> <p>第1三半期の経膾避妊薬使用 1.1(0.7-1.7)</p>	

地域・対象者 (症例/対照)	化合物・暴露	オッズ比 (95%信頼区間)
Czeizel, 1988 ハンガリー 人口ベース (ハンガリー先天奇形登録(HCMR)、先天奇形のためのハンガリー症例対照研究サーベイランスシステム(HCCSSCA)) 尿道下裂/対照=877/10962	妊娠中のallylesterenol 使用	p < 0.05
Stroll, 1990 仏 アルザス (出生年: 1979-87) 人口ベース (先天奇形登録) 尿道下裂/対照 (出生時期・病院マッチ) =176/176	経口避妊薬	0.49(0.20-1.20)
Källén, 1992 ICBDMS デンマーク・ハンガリー・スウェーデン: 人口ベース イタリア・メキシコ・南米・スペイン: 病院ベース 尿道下裂/対照(先天奇形のない女性に産まれた児)=846/846 (出生年: 1986-89)	妊娠8-16週のホルモン剤使用 妊娠8-16週のプロゲステロン・その誘導体の使用 妊娠8-16週のホルモン剤使用 (切迫流早産、流産・死産既往、不妊症、喫煙を調整)	2.3 (1.2-4.4) 2.3 (1.01-5.15) 2.8 (1.2-6.9)
Kristensen, 1997 ノルウェイ ノルウェイ (出生年: 1967-91) 人口ベース (農業センサス、人口統計、出生登録) 先天奇形/尿道下裂/対照=4565/270/188085	農業・畜産業従事 トラクターでの農薬撒布 トラクターでの農薬散布 + 穀類生産	1.00(0.75-1.34) 1.38(0.95-1.99) 1.51(1.00-2.26)
Weidner, 1998 デンマーク (出生年: 1983-92) 人口ベース (人口登録、患者登録、奇形登録) 尿道下裂/対照 (無作為抽出) =1345/23273	母親の農業・園芸業 母親の農業 母親の園芸業 父親の農業・園芸業 父親の農業 父親の園芸業	1.27 (0.81-1.99) 1.26 (0.68-2.33) 0.85 (0.34-2.11) 1.19 (0.96-1.49) 1.16 (0.88-1.53) 1.47 (0.63-3.39)

地域・対象者（症例/対照）	化合物・暴露	オッズ比（95%信頼区間）
Dolk, 1998		
EUROHAZACON study	廃棄物埋立処分場からの母親住所の距離 全研究区域	3km以内
人口ベース（廃棄物埋め立て処分場周辺）	1.00	1.96（0.98-3.92）
全奇形/尿道下裂/対照=806/45/2366		
Bianca, 2003		
伊	父親の精油所での労働(Hydrocarbon暴露)	5.5(1.22-24.7)
人口ベース(奇形登録)	父親の温室での労働(Pesticide暴露)	2.9(1.01-8.55)
尿道下裂 / 対照(神経管欠損、心奇形、口蓋裂、腎泌尿器奇形を除く全奇形) = 68/211		

## 2 - 9 停留精巣

### [要旨]

内分泌攪乱物質と停留精巣に関する疫学研究の現状について、文献的考察を行った。米国立医学図書館の医学文献データベース PubMed を利用して選択した文献は、2000年12月31日までに10件で、介入研究1件、症例対照研究9件であった。2001年1月1日以降は3件で、症例対照研究2件、コホート研究1件であった。日本人を対象にした研究は1件もなかった。Heptachlore-epoxide(HCE)、Hexachlorobenzene(HCB)との関連があるという報告が1件あった。生体試料を用いた内分泌攪乱物質についての報告が2件あり、それぞれ、polychlorinated biphenyls (PCB)、1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene (p,p'-DDE)との有意な関連はみられなかった。有機塩素系化合物などの内分泌攪乱物質と停留精巣との関連に関する研究はきわめて乏しく、今後も研究の必要がある。

### [研究目的]

停留精巣は、比較的頻度の高い先天異常の一つであり、精巣の下降はアンドロゲン依存性に起こることから、胎児期の内外のエストロゲン暴露が、リスク要因の一つであると指摘されている。有機塩素化合物などの化学物質にはエストロゲン作用がある物質もあり、その関連を探ることを目的として、疫学研究に関する文献レビューを行った。

### [研究方法]

米国立医学図書館の医学文献データベース PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>) を用いて、cryptorchidism AND (insecticides OR pesticides OR chlorinated hydrocarbons OR pesticides OR chlorinated hydrocarbons OR pcbs OR bisphenol OR phenol OR phthalate OR styrene OR furan OR organotin OR diethylstilbestrol OR ethinyl estradiol) AND (human) で文献を検索した。その中から、人集団を対象とする疫学研究の原著論文と選択した。さらに必要に応じて、これらの原著論文や、他の総説論文を参考にして、論文を選択した。

### [研究結果]

#### 1. Polichlorinated biphenyls (PCB)

Mol(2002)らは、出生前 PCB 暴露と男児の性分化への影響を検討した。1986年3月から21ヶ月間にデンマークにおける3カ所のフェローの病院で出生したコホート群からの196例の男児に対して、14歳時における青少年期発達を調べた。朝採取した尿サンプル中の精子(精液尿)の存在と、二次性徴(ターナー指数)、精巣サイズ、性ホルモン濃度、さい帯血中のPCB濃度を分析したところ、精液尿は思春期発達に対するマーカーと関連を示したが、出生前PCB暴露との関連はみられなかった。また、196例中、20例に精巣発達の異常(停留精巣19例、精巣回転症1例)が認められたが、さい帯血中のPCB濃度は、異常の認められた20例(平均1.99ng/g)と異常のない176例(平均1.85ng/g)で有意な差は見られなかった。

#### 2. 1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene (p,p'-DDE)

Longnecker(2002)らは、1959-66年におけるCollaborative Perinatal Projectからコホート内症例対照研究において、停留精巣219例、尿道下裂199例、多乳頭症167例を症例群として、対照群552例と比較した。ガスクロマトグラフィー回収率で補正した母親の血清中DDE濃度を4

分位し、濃度が最も低い群(<21.4  $\mu\text{g/l}$ )を基準(reference)とした場合、最も高い群( $\geq 85.6 \mu\text{g/l}$ )における、停留精巣、尿道下裂、多乳頭症の、人種・トリグリセリド値・コレステロール値で補正したオッズ比は、各 1.3(95%CI=0.7-2.4)、1.2(95%CI=0.6-2.4)、1.9(95%CI=0.9-4.0)となり、有意な関連が見られなかった。

### 3. その他の有機塩素化合物

Hosie(2000)らは、ドイツにおいて、脂肪中における有機塩素化合物 26 種類の蓄積量を、停留精巣患者 18 人(平均年齢 4.2 歳)とコントロール 30 人(平均年齢 3.5 歳)で計測し、比較した。その結果、停留精巣患者において Heptachlore-epoxide (HCE)( $P=0.009$ )、Hexachlorobenzene (HCB)( $P=0.012$ )が高濃度に蓄積されていた。その他の物質に関しては、有意な関連が認められなかった。

### 4. ホルモン製剤

DES による子宮内暴露を受けた男児における症例対照研究においては、尿路生殖器系に悪影響を及ぼすことが指摘されている。Gill (1979) らは、妊娠中の DES の影響を調べるために、妊婦に対して DES とプラセボによる二重盲検無作為抽出法を行った。その結果、DES 投与群の妊婦から出生した男児で、停留精巣、精巣上体嚢胞、精巣低形成、尿管狭窄等がプラセボ投与群より多くみられたことを指摘している。Whitehead (1981) らは、DES 暴露歴のある 48 人の男性について、尿路生殖器の異常を調べたところ、主に停留精巣、精巣静脈瘤、精巣上体嚢胞、精巣低形成、尿管狭窄などを指摘している。Cosgrove (1977) らは、DES 暴露歴のある男性の健康状況(先天奇形、手術歴、泌尿生殖器系の問題、癌)を質問したところ、尿路生殖器系では、主に停留精巣、尿管狭窄、精巣静脈瘤を指摘している。

また、停留精巣のリスク要因に関する症例対照研究において、妊娠中の母親の DES 以外のホルモン製剤服用も尿路生殖器系に影響を与えることが、報告されている。Depue(1984)らの、米国での registrar-based study では、停留精巣の白人男児 300 人とコントロール 599 人に対して症例対照研究を行った結果、妊娠中のエストロゲン剤服用による悪影響( $RR=2.8$  95%CI=0.9-8.8)が報告されている。一方、Beard (1984) らの、米国ミネソタ州での、停留精巣男児 113 人と、診療録より選ばれた対照 226 人(コントロール I)、出生記録より選ばれた対照 226 人(コントロール II)による研究では、エストロゲン剤服用(コントロール I :  $RR=1.3$  95%CI=0.5-3.1 コントロール II :  $RR=1.1$  95%CI=0.5-2.6)、プロゲステロン剤服用(コントロール I :  $RR=1.0$  95%CI=0.3-2.9 コントロール II :  $RR=0.8$  95%CI=0.3-2.1)で有意な差が認められなかった。

### 5. 農薬

農業に従事する母親から出生した男児に停留精巣のリスクが増加する、という報告がある。Weidner(1998)らは、デンマークの人口登録、患者登録、不妊症データベースを用いて、両親の農業、造園業への従事と、停留精巣・尿道下裂の発生との関連を検討した(停留精巣男児 6177 人、対照 23,273 人)。その結果、母親の造園業従事では有意なリスクの上昇が認められた( $RR=1.67$  95%CI=1.14-2.47)。農業従事では有意ではないがリスクの上昇が認められた( $RR=1.28$  95%CI=0.94-1.73)。父親の農業・造園業従事では、関連がみられなかった。(農業 :  $RR=1.08$  95%CI=0.93-1.24 造園業 :  $RR=1.28$  95%CI=0.80-2.04) 一方、Kristensen(1997)らの、ノルウェイの出生登録、人工登録、農業登録により、家庭の農業・造園業・畜産業と、先天奇形の発生との関連を調べた報告によると、停留精巣に関しては、有意なリスクの上昇がみられなかった( $OR=0.77$  95%CI=0.58-1.03)。しかし、殺虫剤の暴露によりリスクの上昇がみられる、としている(殺虫剤の購入 :  $OR=1.70$  95%CI=1.16-2.50 殺虫剤の購入と野菜の栽培 :  $OR=2.32$  95%CI=1.34-4.01)。

Wang(2002)らは、停留精巣患児 99 例（年齢 1-14 歳：左側 30 例、右側 27 例、両側 42 例）を症例とし、1 症例当たり対照例 2 例をマッチさせて、同一質問票を用いて面談でのアンケート調査で症例対照研究を行ったところ、父親の職業的農薬暴露で有意なオッズ比の上昇が認められた(OR=12.79、95%CI=2.90-56.43)。

#### [考察]

精巣下降は機械的因子とホルモン因子の複雑な相互作用によって生じる結果と考えられ、第 1 相の腹腔内下降 transabdominal phase と第 2 相の鼠径陰嚢部下降 inguinoscrotal phase の 2 段階に分かれていると考えられている。精巣下降の第 1 相は、アンドロゲンの関与は少なく非アンドロゲンのホルモンや、胎児の精巣から分泌されるミューラー管発育阻止物質 (MIS) が腹腔内精巣下降をコントロールしていると考えられており、第 2 相は、胎児精巣 Leydig 細胞から分泌されるアンドロゲン依存性だと考えられている。

過去の疫学研究においては、母親の妊娠中のエストロゲン製剤暴露や DES 暴露がリスク要因として報告されている(Gill 1979, Whitehead 1981, Cosgrove 1977, Depue 1984)。エストロゲン暴露により、精巣下降第 1 相において関係するといわれる MIS の作用を阻害し、また、胎児の Leydig 細胞の前駆細胞を抑制することで、第 2 相に関係するといわれるテストステロンの分泌を阻害し、停留精巣の発生に関連すると考えられている。内分泌攪乱物質である有機塩素化合物のいくつかは、エストロゲンレセプターアゴニストとして作動し、外因性エストロゲンとしてホルモンを変動させることが知られており、過去の疫学研究では、母親の農薬使用によるオッズ比の上昇(Kristensen 1997, Weidner 1998)や、停留精巣患児の脂肪中の有機塩素化合物濃度（ヘプタクロロエポキシド、ヘキサクロロベンゼン）が健常児と比較して高濃度であったこと(Hosie 2000)、が報告されていた。今回、最近の知見について文献検索を行ったところ、症例対照研究で農薬との関連を示した論文が新たに報告されたが、停留精巣患児の内分泌攪乱物質への暴露を、生体試料を用いて定量的に評価した報告では関連が認められず、現時点では、内分泌攪乱物質と停留精巣との関連について、一定した評価をするには、未だ研究が乏しい状況である。今後、信頼性の高い研究デザインと用いた研究の必要性が示唆された。

#### [結論]

停留精巣と有機塩素化合物について 2004 年 10 月 31 日までの疫学研究をレビューしたところ、停留精巣患者のさい帯血 PCB 濃度との関連はないという報告、母親の妊娠中の血清 DDE 濃度と停留精巣には関連がないという報告、HCE、HCB との関連があるという報告、があった。その他、農薬やホルモン製剤との関連ありとする論文と、有意な関連はないとする論文があった。停留精巣と有機塩素化合物との関連に関する研究はきわめて乏しく、両者の因果関係を適切に評価することは困難であった。今後、信頼性の高い研究デザインを用いた研究の必要性が示唆された。

#### [参考文献]

Beard CM, Melton LJ, Fallon WMO, et al. Cryptorchidism and maternal estrogen exposure. *Am J Epidemiology* 1984;120(5):707-716.

Cosgrove MD, Benton B, Henderson BE. Male genitourinary abnormalities and maternal diethylstilbestrol. *J Urol*. 1977;117:220-222.

Depue RH. Maternal and gestational factors affecting the risk of cryptorchidism and inguinal hernia. *Int J Epidemiol* 1984;13:311-318.

Gill WB, Schumacher GF, Bibbo M, Straus FH 2nd, Schoenberg HW. Association of diethylstilbestrol exposure in utero with cryptorchidism, testicular hypoplasia and semen abnormalities. *J Urol*. 1979;122:36-9.

Hosie S, Loff S, Witt K, Niessen K, Waag KL. Is there a correlation between organochlorine compounds and undescended testes? *Eur J Pediatr Surg* 2000;10:304-309.

Kristensen P, Irgens LM, Andersen A, Bye AS, Sundheim L. Birth defects among offspring of Norwegian farmers, 1967-1991. *Epidemiology* 1997;8:537-544.

Longnecker MP, Klebanoff MA, Brock JW, Zhou H, Gray KA, Needham LL, Wilcox AJ. Maternal serum level of 1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene and risk of cryptorchidism, hypospadias, and polythelia among male offspring. *Am J Epidemiol* 2002;155:313-322.

Mol NM, Sorensen N, Weihe P, Andersson AM, Jorgensen N, Skakkebaek NE, Keiding N, Grandjean P. Spermaturia and serum hormone concentrations at the age of puberty in boys prenatally exposed to polychlorinated biphenyls. *Eur J Endocrinol*. 2002;146:357-63.

Wang J, Wang B. Study on risk factors of cryptorchidism. *Zhonghua Liu Xing Bing Za Zhi* 2002;23:190-193.

Weidner IS, Moller H, Jensen TK, Skakkebaek NE. Cryptorchidism and hypospadias in sons of gardeners and farmers. *Environ Health Perspect* 1998;106:793-796.

Whitehead ED, Leiter E. Genital abnormalities and abnormal semen analyses in male patients exposed to diethylstilbestrol in utero. *J Urol*. 1981;125:47-50.



表 2-9-1 内分泌かく物質と停留精巣に関する介入研究

地域・対象者		結果		
Gill, 1979	米国		(placebo人 vs DES人)	
	Prospective double-blind randomized study	精巣上体嚢胞	15 : 64	P<0.005
	DES暴露男児: 307	精巣低形成を有する停留精巣	1 : 17	P<0.005
	placebo暴露男児: 308			

表 2-9-2 内分泌かく物質と停留精巣に関するコホート内症例対照研究

地域・対象者		結果
Mol, 2002	デンマーク フェロー諸島の出生コホート 精巣発達異常児 20 例 (停留精巣 : 19例、精巣回 転症 1例) 精巣発達異常のない 1176例	臍帯血中のPCB濃度 (異常のある群 vs 異常のない群) 1.99ng/g : 1.85ng/g 有意な関連無し
Longnecker, 2002	アメリカ Collaborative Perinatal Projectコホート内症例対照研 究 症例 : 219人 対照 : 552人	母親の血清中DDE濃度 4 分位の最も高い群 (最も低い 群をreference) : OR=1.3 95%CI=0.7-2.4

表 2-9-3 内分泌かく物質と停留精巣に関する症例対照研究

研究デザイン・対象者		結果
Cosgrove, 1977		
米国		産科記録(DESexposed vs control)
		出生時体重の低下：3165g vs 3396g
産科記録		妊娠期間の短縮：36.7週vs 38.3週
症例：500人		プロゲステロン剤併用：54.2% vs 9.1%
対照：389人		他のエストロゲン剤併用：13.8% vs 0.9%
質問紙法		
症例：225人		泌尿器科的問題：RR=7.2
対照：111人		陰茎異常：RR=10/0
		他の泌尿器科的異常：RR=1.3
		泌尿器科的問題の内容
		停留精巣：3/11 vs 1/4
		尿管狭窄：4/11 vs 0/4
Depue, 1984		
米国		停留精巣
		母親のエストロゲン摂取
症例：停留精巣300人		: RR=2.8 95%CI=0.9-8.8
鼠径ヘルニア547人		
対照：停留精巣599人		
鼠径ヘルニア1094人		
BEARD, 1984		
米国		第1トリメスター期エストロゲン曝露～
		: RR=2.2 95%CI=0.7-7.2
症例：113人		: RR=1.7 95%CI=0.6-4.9
対照：226人 (hospital based control)		第1トリメスター期プロゲステロン曝露～
対照：226人 (population based control)		: RR=1.0 95%CI=0.3-2.9

---

---

研究デザイン・対象者

結果

: RR=0.8 95%CI=0.3-2.1

Kristensen, 1997

ノルウェー  
register-based case-control study  
農業従事家庭  
先天奇形 / 出生数 = 4189/192417  
非農業従事家庭  
先天奇形 / 出生数 = 1418/61351

停留精巣  
OR=0.77 95%CI=0.58-1.03  
殺虫剤購入 : OR=1.70 95%CI=1.16-2.50  
殺虫剤購入 + 野菜の栽培  
: OR=2.32 95%CI=1.34-4.01

Weidner, 1998

デンマーク  
register-based case-control study  
症例 : 停留精巣6177人  
対照 : 23273人

母親が農業、造園業のいずれかに就業  
: OR=1.38 95%CI=1.10-1.73  
母親が造園業に就業  
: OR=1.67 95%CI=1.14-2.47

Wang, 2002

中国  
病院ベース  
症例 : 99人  
対照 : 198人

父親の職業性農薬曝露  
: OR=12.79 95%CI=2.90-56.43

---

表 2-9-4 内分泌かく物質と停留精巣に関する横断面研究

研究デザイン・対象者		結果
Whitehead, 1981		
米国 case-study 48人	泌尿器科的疾患の有無 精液解析 -fetoprotein, -subunit human chorionic gonadotropinのRIA	泌尿器科的疾患 ( 4 8 人中 ) 精策静脈瘤 : 2 9 % 精巣上体膿胞 : 1 3 % 精巣低形成 : 1 0 % 停留精巣 : 8 %  精液解析 ( 2 0 人中 ) 正常精子細胞 6 0 % 以下 : 4 5 % 20*10 <sup>6</sup> /mlの精子量 : 2 5 % 精子の運動能力が40%以下 : 2 0 %  RIA 全ての患者において陰性
S.Hosie, 2000		
ドイツ  症例 : 1 8 人 対照 : 3 0 人	脂肪中に蓄積された有機塩素化合物の量の評価	o,p'-DDE : NS p,p'-DDE : NS o,p'-DDD : NS p,p'-DDD : NS o,p'-DDT : NS p,p'-DDT : NS DDD sum : NS PCB28 : NS PCB52 : NS PCB101 : NS PCB138 : NS PCB153 : NS PCB180 : NS

PCB sum : NS  
Palar26 : NS  
Parlor50 : NS  
Toxaphens sum : NS  
HCH- : NS  
HCH- : NS  
HCH- : NS  
HCH sum : NS  
cis-Nonachlore : NS  
trans-Nonachlore : NS  
cis-Chlordane : NS  
trans-Chlordane : NS  
Heptachlore : NS  
Heptachlore-epoxide : cont/case=2.43/5.2(P=0.009)  
Pentachlorobenzene : NS  
Pentachloroanisole : NS  
Hexachlorobenzene : cont/case=20.08/61.15(P=0.012)

---

## [ 小児神経発達への影響 ]

### 2 - 1 0 小児神経発達への影響

#### 〔要旨〕

内分泌かく乱化学物質と小児神経発達に関する疫学研究の現状について文献的考察を行った。米国立医学図書館の医学文献データベース PubMed を利用して選択した文献は、2000年12月31日までに22件、そのうち日本人を対象とした研究は油症に関する1件のみであった。2001年1月1日から2004年10月31日までの文献は17件で、コホート研究が14件、断面研究が1件、症例対照研究が1件、地域相関研究が1件であったが、日本人を対象とした研究はなかった。海外の文献では出生前のPCB・ダイオキシン暴露は乳児期及び幼児期の神経発達へ影響を及ぼしているとする研究が多かった。しかし学齢期に達すると、母乳中の栄養、母乳保育による知的な刺激、良好な家庭環境がその影響を修飾している可能性もあることが示唆された。農薬などの化学物質による出生前暴露も児の身体発育や神経発達、認知機能に対して負の影響を及ぼしていることが示唆された。しかし、測定された暴露濃度や神経発達の指標、双方ともに測定時期や方法が多様であるため、明確な用量反応関係や因果関係は評価することはできなかった。今後は、我が国でも、神経発達への影響を総合的に検討できる前向きな研究デザインで、胎児期から学齢期まで長期的に追跡し、PCB・ダイオキシン類との関連のみならず児の神経発達に影響を与える可能性のある様々な環境化学物質や、児を取り巻く生活環境要因について考慮してリスク評価を行う必要がある。

#### 〔研究目的〕

PCB、ダイオキシン等の有機塩素系化合物は脳血液関門の未成熟な胎児期から乳児期の脳神経発達に影響を及ぼすことが示唆されている。それにより、児の認知、運動、行動面への影響が考えられ、ひいては注意欠陥多動症(AD/HD)や学習障害(LD)の発症を増加させている可能性も指摘されているが、未だ因果関係は明らかでない。そこで、PCB等の有機塩素系化合物をはじめ種々の化学物質と小児神経発達の影響に関する疫学研究の現状を把握する目的で、文献レビューを行った。

#### 〔研究方法〕

米国立医学図書館の医学文献データベース PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>)をもちいて検索を行った。child AND (behavior OR development OR neurology) AND (insecticides OR pesticides OR chlorinated hydrocarbons OR pcbs OR phenol OR phthalate OR styrene OR furan OR organotin OR diethylstilbestrol OR ethinyl estradiol) AND (human)のキーワードで、2004年10月31日までの期間に出版された文献を検索した。さらに必要に応じて、これらの原著論文や、他の総説論文を参考にして論文を選択した。

#### 〔研究結果〕

##### 1. 有機塩素系化合物

有機塩素系化合物と小児神経発達との関連を検討した研究は、2000年12月31日までは22件であったが、2001年1月1日から2004年10月31日までの間に新たに14件の報告があった。14件のうち以前に報告された研究の年長児での追跡調査が11件、新たにコホートを立ち上げ

た国・地域における報告が3件であった。

#### 1) コホート研究

コホート研究では、対象は①事故による高濃度暴露集団及び汚染地域、②湖などで蓄積暴露した魚を摂取した妊婦集団、③一般人口集団の妊婦の児の大きく3種類に分けられる。

##### ①高濃度暴露集団及び汚染地域

1968年に九州を中心に起こった油症で、Haradaら(1976)は、7年間に13人の患児において感情表出の欠落、筋緊張の低下、知能指数の低下が認められたと報告している。

1978～79に起こった台湾油症研究では、Roganら(1988)、Chenら(1992, 1994)は油症患者の母親から生まれた児について2歳から12歳まで追跡調査し、その結果、成長遅延、運動機能の発達遅延、認知機能の低下がみられたと報告している。Laiら(2001)は追跡調査として、2歳から12歳のYucheng児(暴露群)118名と地域が一致する対照群118例について検討し、PCBとそれらの誘導体の出生前暴露は、人における認知発達に対して長期的に有害な作用を及ぼすことが示唆された。さらにLaiら(2002)は、同じ対象に対しウエスカラー知能検査及び、CBCL(Achenbachの行動チェックリスト)とRutterの小児行動尺度Aを用い児の行動評価を行った。その結果、暴露群は対照群に比べIQが3ポイント低く( $p=.05$ )、CBCLが3ポイント高かった( $p=.002$ )。Rutterの行動尺度も暴露群で6ポイント高かった( $p<.001$ )。影響の性差はなかった。暴露による影響が年齢につれて回復するか否かについて検討したが、Rutterの行動尺度のみ有意に回復し暴露による差が認められなくなった。すなわちPCB出生前暴露は持続的な認知及び行動の問題を誘発するが、加齢により回復が一部認められたと報告している。

スペイン・電気化学工場近隣に住む92名の母子を対象に、Ribas-Fito Nら(2003)は、1997年～1999年に1歳児の神経発達と有機塩素化合物(OCs)及び母乳養育との関連を調査した。神経発達評価は13ヶ月でBSID-II(ベイリースケール)とGriffiths Scalesを実施し、暴露評価はHCB(ヘキサクロロベンゼン)、p,p'DDE、(ジクロロ・ジフェニル・ジクロロ・エチレン)PCBs(28,52,101,118,138,153)をさい帯血の血清より測定した。その結果、p,p'DDEの出生前暴露は13ヶ月における精神発達、運動発達の遅れと関連があった。HCBでは関連がなかった。またp,p'DDE濃度が比較的高く、母乳期間の短い乳児では、精神、運動発達の得点が低かった。したがって長期間の母乳養育は化学物質暴露による負の影響にむしろ拮抗し、影響を緩和する可能性があるとして報告している。

##### ②湖などで蓄積暴露した魚を摂取した妊婦集団での児の調査

米国の五大湖オンタリオ湖やミシガン湖周辺で、PCB類が食物連鎖で蓄積された魚を摂取する妊婦を対象とした研究が行われた。Feinら(1984)により出生時の体重、頭囲等への影響に始まり、Jacobsonら(1985,1990,1996)は5ヶ月から11歳までの神経発達について、出生前PCB暴露及び母乳期間との関連を調査した。Jacobsonら(2002)は、4歳、及び11歳時に認知発達の評価を行い、出生前PCB暴露の影響について、母乳期間、母親のIQ、HOME(家庭養育環境評価)、性差を交絡調整因子として検討した。その結果、母乳期間6週未満(56例)と6週以上(122例)の比較では、6週未満群でのみ各年齢とも認知発達と出生前PCB暴露に有意な関連性が認められた。一方、機能検査の中でmental rotation(心的回転)の処理速度は母乳が6週以上の群においてのみ出生前PCB暴露との関連性が見られた。また出生前PCB暴露と認知発達について、得点が低くなるパターンに性別による明らかな相違は認められなかった。さらにJacobsonら(2003)は、出生前PCB暴露と学齢での注意機能について4歳(154例)、及び11歳(148例)時に評価検討している。その結果、母乳で育てられなかった(主に人工乳の)子どもたちで



は出生前 PCB 暴露濃度と負の関連性が見られた。これらの子供では、出生前の PCB 暴露は、より重度の衝動性、集中力低下、未熟な言語、視覚性・聴覚性ワーキングメモリーと有意の関連が認められた。なお両研究とも、母乳による（PCB 暴露による神経学的有害作用の）低減作用が、母乳中の栄養素によるものか、母乳哺育中の母親の行動による適切な知的刺激によるものか、その機序を区別し明らかにするのは困難であったと考察している。

New York 州 Oswego では食物連鎖で PCB 類が蓄積された魚を摂取する女性を対象とした研究が行われ、Lonky ら(1996)、Stewart ら(2000)が暴露と新生児の行動観察との関連を調査している。その結果、高濃度暴露児で自律神経系の未熟性が認められた。Stewart ら(2003)は、Oswego 研究の 212 例に対し、38 ヶ月、54 ヶ月で McCarthy 検査を用い認知発達の評価を行い、出生前 PCB 暴露（さい帯血 PCB）、及びメチル水銀（MeHg）との関連性について検討した。その結果、交絡要因調整後、38 ヶ月においては、McCarthy 検査の GCI（全般認知指標）とさい帯血中の高塩素化 PCB に有意な関連性を認めた（ $P=0.012$ ）。しかし 54 ヶ月時には関連性は認められなかったことから比較的高濃度で暴露した児においても、54 ヶ月までにはキャッチアップがなされることが明らかになったとされた。また、Stewart ら(2003)は、4.5 歳児 189 例に対し、CPT（連続遂行課題）検査を行い、出生前 PCB 暴露が反応制御を障害、特に誤反応(error of commission)を増加させるかを検討した。また、MRI 検査を行い、後部脳梁の形態学的変化にどのように関連しているかを調査した。その結果、脳梁が小さいほど、PCB と誤反応の関連性が大きく、脳梁の発達が最適とは言えない小児では、特に PCB の影響を受けやすいとしている。

### ③低濃度暴露である一般人口集団での妊婦から出生した児の調査

ノースカロライナでの一般人口集団における研究において、Rogan ら(1985,1986,1991)、Gladen ら(1988,1991,2000)は生下時から思春期までの追跡調査を行っている。神経発達評価では、ベイリースケール BSID との関連では暴露濃度が高くなると PDI（運動発達）の得点が低くなる傾向にあった。しかし、神経発達の評価時期やその内容により暴露指標との間に一貫した結果は認められなかった。

オランダ・ロッテルダム研究では半数が母乳栄養児で、さい帯血、母体血、母乳で暴露評価を行った。Patandin ら(1999)は生下時から 42 ヶ月までの身体発育との関連について、一般環境レベルの PCB などによる子宮内暴露では生下児体重及び、生後 3 ヶ月までの発達に負の関連性があったと報告している。また、新生児の神経学的評価（Huisman ら,1995）、3、7、18 ヶ月児の神経発達評価（Huisman, 1995）、Koopman-Esseboom ら,1996）を実施し、さらに 42 ヶ月時の神経行動学的評価等を行った（Lanting ら、1998、Patandin ら、1999）が、その結果、3、7、18 ヶ月では暴露と運動発達とに負の関連性が見られる傾向にあった。その後の追跡調査として、Vreugdenhil ら(2002)は 372 組の母子を追跡し 6 歳から 7 歳時で認知機能、運動能力の評価を行い PCB・ダイオキシン暴露の影響が就学時年齢まで持続するかどうかを検討した。出生前暴露は母体とさい帯血中の PCB-118、-138、-153、-180 の総計と定義した。さらに母乳については 17 種類のダイオキシン、6 種類のダイオキシン様 PCB、20 の非ダイオキシン様 PCB の測定も追加した。その結果、親及び家庭環境が最適ではなかった場合、認知及び運動能力には出生前 PCB とダイオキシン暴露による負の影響が認められた。よって、出生前 PCB とダイオキシン暴露の神経発達への影響は就学年齢まで持続すること、また適切な家庭環境や親による知的刺激が、認知、運動能力に及ぼす出生前暴露の影響に拮抗し、影響を緩和する可能性が示唆された。

さらに Vreugdenhil ら(2002)は 7.5 歳児 158 例について PSAI（Pre-School Activity Inventory）で児の遊び行動を評価し、PCB とダイオキシン類の出生前暴露の検討を行った。その結果、母体

血、さい帯血中で測定した出生前 PCB 暴露の男性的、男女両性的尺度に及ぼす影響は男児と女児で有意に異なっていた( $p < .05$ )。高濃度の出生前ダイオキシン類の値は女性的尺度評価を行うと、男女ともより女性的な遊び行動の多さと関連していた。このことから、環境レベルでの PCB、ダイオキシン類、その他の関連有機塩素系化合物の出生前暴露によって、出生前ステロイドホルモンの不均衡が誘発されることが示唆された。Vreugdenhil ら(2004)は、さらに9歳時点で、母乳群と人工乳群から暴露の高い児と低い児計83名に対し、さまざまな神経心理学的評価を実施し周産期暴露の影響を検討している。その結果、出生前の PCB レベルが高いことは反応時間の遅れに関連し、また反応時間のバラツキが多くなり、神経心理学的評価の1つである Tower of London (TOL) の得点が低くなることと関連していた。また、Vreugdenhil ら(2004)は、同じ対象83名に対し、中枢神経系機能の直接的な評価法である ERP s (事象関連電位) の P300 を用い、PCB による周産期暴露の神経毒性メカニズムを検討している。その結果、出生前暴露が高濃度であった児は、低濃度であった児よりも、P300 の潜時が長かった。母乳哺育による PCBs 暴露は P300 の潜時と関連がなかった。P300 の潜時は6~16週間母乳哺育された子ども及び人工乳で育てられた子どもよりも、16週間以上母乳哺育された子どもで短かった。また P300 の振幅は周産期における PCB 暴露や母乳哺育と関連がなかった。したがって母乳哺育が中枢神経系の適切に刺激を認識し処理する ERP s (事象関連電位) を促進するのに対して、PCB や関連した化合物によるオランダの環境暴露レベルの出生前暴露は、中枢神経系のメカニズムの成熟を遅延させると示唆している。

ドイツ・デュッセルドルフでの前向きコホート研究では、171名の健康母児ペアに対して、7ヶ月時に BISD と Fagan Test を実施し、認知及び神経発達評価を実施した(Walkowiak ら、1998)。さらにその追跡調査として7ヶ月時、18ヶ月時、30ヶ月時、42ヶ月時における幼児の精神・運動発達を BSID-II、Kaufman 評価尺度を用いて評価した。18ヶ月時には家庭養育環境の質を「HOME (標準化された家庭環境指標)」を用いて評価し、PCB 暴露が幼児における精神・運動発達に及ぼす影響について総合的に検討している(Walkowiak ら、2002)。なお、出生前及び周産期 PCB 暴露については新生児さい帯血と母乳中の PCB-138, PCB-153, PCB-180 濃度から推測した。その結果、30ヶ月時、42ヶ月時において母乳中の PCB と精神・運動発達には有意の負の関連性が認められた。42ヶ月時では、母乳哺育による出生後 PCB 暴露の影響が認められたが、一方で、良好な家庭環境は30ヶ月以降の発達に正の影響を示した。このことから、バックグラウンドレベルでの出生前 PCB 暴露は42ヶ月時までの精神・運動発達を阻害するが、良好な家庭環境はこれらの影響とは拮抗し、発達にプラスの作用を示すことが示唆された。

1959年~1965年にかけて米国12の地域から登録された妊婦とその子ども1207名を対象としたマルチ・センター研究で、Daniels らは児の神経発達評価として、生後8ヶ月で BSID を実施した。暴露評価は母親から妊娠中8週ごとと産後6週目で採血し、11種類の PCB 同族体(PCB28, 52, 74, 105, 118, 138, 153, 170, 180, 194, 203) を total PCB として分析した。母親の血清中の PCB レベルと児の精神発達(MDI)、運動発達(PDI) の得点との関連は見られなかった(Daniels ら、2003)。PCB 暴露と MDI (精神発達面) との関連は見られないという本研究の結果は、それ以前に報告されている多くの先行研究と一致していた。PDI (運動発達面) との関連については、検査の時期、PCB の定量化の分析的方法を研究機関間で統一したにもかかわらず、12の研究機関によって相反する結果が見られた。研究センターによって結果が違ふのは、食物、水銀・鉛の暴露など、今回測定していない特性に関連している可能性があるかもしれないと考察している

ミラノとその周辺地域で誕生し、少なくとも4ヶ月まで母乳哺育された25名の児について、

Riva ら(2004)は、初乳中の PCB と 12 ヶ月での視覚機能の関連について調査した。生体資料は出産後2日目の初乳、1 ヶ月と3ヶ月の母乳。サンプルは PCB 105、118、138、153、156、180、及び DDT と DDE を測定した。同時にすべての児において長鎖多価不飽和脂肪酸(LC-PUFAs)、C18:2 n-6、C18:3 n-3、C20:4 n-6、C20:5 n-3、及び C22:6 n-3 の血漿レベルを出生後3日以内に分析した。血漿中の LC-PUFAs だけでなく初乳の PCB レベルは、周産期の供給を反映すると考えられた。また視覚機能は 12 ヶ月で視覚誘発電位 (VEPs) P100 を用い評価した。その結果、視角 60 分の大きさでの提示刺激 P100 の潜時は DDT 濃度( $r = 0.513$ )及び PCB 180( $r = 0.504$ )濃度と関連があり、視角 15 分の VEP 潜時は PCB 105 を除く、DDT、DDE、及びすべての初乳の PCB レベルと関連があった(相関係数  $r = 0.401 \sim 0.618$ )。また児の血漿レベルにおける C22:6 n-3 は視角 60 分( $r = -0.418$ )、1Hz-2J( $r = -0.466$ )での P100 の潜時と負の関連があった。C22:6 n-3 をコントロールした後に、初乳中 PCB 180 と視角 15 分の P100 潜時の部分相関係数は 0.403 ( $p = 0.07$ )であった。このように、12 ヶ月の健康乳児の視覚機能と初乳中の PCBs、DDT、及び DDE の間で弱い関連が認められた。しかし影響は、出生数日後の児血漿中長鎖多価不飽和脂肪酸 LC-PUFAs をコントロールした後は明らかではなくなったと報告している。

## 2. 農薬

農薬と小児神経発達との関連を検討した研究は、2001 年 1 月 1 日から 2004 年 10 月 31 日までの間に 3 件の報告があり、断面研究、症例対象研究、地域相関研究が各 1 件ずつであった。

### 1) 断面研究

Perera ら(2003)は、アフリカ系アメリカ人 116 例、ドミニカ人 146 例を対象に、環境喫煙(ETS)、多環式芳香族炭化水素 (PHA) と有機リン酸系殺虫剤による出生前暴露が児の出生児の体重、頭囲、身長などの基本的なアウトカムに及ぼす影響について検討した。PHA は各被験者の室内サンプリングによる室内 PHA をモニタリングし、ETS は血漿中コチニン濃度を測定し、有機リン酸系殺虫剤は血漿中のクロルピリホス値より推定した。交絡因子で調整後、アフリカ系アメリカ人では、多環式芳香族炭化水素 (PHA) の高濃度出生前暴露は出生時低体重( $p = .003$ )、頭周囲低値( $p = .01$ )に有意に関連していた。クロルピリホスは被験者全体における出生児体重と出生児体長( $p = .01, p = .003$ )、アフリカ系アメリカ人における出生児体重( $p = .04$ )、ドミニカ人における出生児体長( $p < .001$ )の低下に関連した。PHA とクロルピリホスは出生児のアウトカムに対する有意な独立した決定因子であると考えられた。

### 2) 症例対照研究

Ruckart PZ ら(2004)は、ミシシッピ州とオハイオ州の住居で害虫駆除のために違法で使用されていた有機リン殺虫剤であるメチル・パラチオン(MP)と子どもの神経行動学的発達との関連を評価した。1994年にオハイオの1郡、1996年から1997年にミシシッピの29郡において、住居にMPが撒かれたときに6歳以下であった子供251名を暴露群とし、同じ地域の児401名を対照群とし、Pediatric Environmental Neurobehavioral Test Battery (PENTB)を実施した。その結果、暴露されていた子ども達は短期記憶や注意に関するテストの成績が有意に低下していた。さらに暴露されていた子ども達の親は、暴露されていない子ども達の親に比較して、自分の子ども達がより行動や運動機能の問題があると報告していた。しかし、これらの結果は両地域で一貫してみられたわけではなかった。また一般的な知能、視覚と運動機能の統合、多段階の処理では両者の違いは全く見られなかった。以上のことから、MPが子供の短期記憶と注意の微妙な変化と関連し、また運動機能といくつかの行動についての問題に寄与する可能性を示唆するが、この結果は決定的ではないと報告している。

### 3) 地域相関研究

「PISA（生徒の学習到達度）研究」の加盟11カ国において、Dorner Gら(2002)は、出生年1984～1985年中における母乳中ジクロロ・ジフェニル・トリクロロエタン(DDT)濃度とPISA2000研究における生徒から得られた精神判断能力の評価との関連性を検討した。また同様に1994～1995年のドイツにおける知的発達遅滞児の比率についても調査した。その結果、15歳の生徒の精神判断能力と母乳中総DDT濃度には有意な逆相関が見られた( $p=.001$ )。さらに三大大陸中の10カ国とドイツにおける14の連邦州においても、PISA InternationalとPISA National(2000)における15歳の生徒の精神判断能力は母乳中の総DDTと有意な逆相関性を来した( $P<.001$ )。さらにドイツにおける知的発達遅滞児の比率と1984～1985年の母乳中総DDT値には有意な正の相関が見られた( $p<.001$ )。以上の結果から、DDTは子供の脳の発達とその後の生活における精神判断能力に有害な作用を誘発することが示唆された。

#### 〔考察・結論〕

以上、世界5か国でコホート研究での追跡調査が行われており、生後数ヶ月から学齢期まで、注意機能や反応時間などの神経心理学的評価指標を使用し化学物質暴露との関連を検討し報告されていた。また、新たに3か国の地域においてコホート研究が開始されていた。

高濃度暴露集団における研究では、出生前暴露が児の神経発達等に負の影響を与えていたが、Laiら(2002)は暴露の負の影響が年齢とともに一部回復を認めた報告している。また、アジアにおけるコホート研究は台湾における「油症」研究の追跡調査しか行われていなかった。

暴露した魚を摂取した妊婦集団、一般人口集団については、Lake Michigan、オランダ、スペインの研究では、出生前暴露が児の神経発達等との間に負の関連性が見られるが、母乳は、化学物質の悪い影響に対してむしろ拮抗する作用がみられるとされている。また、オランダやドイツの研究においては、出生前暴露が児の神経発達等との間に負の関連性が見られるが、良好な家庭環境がその負の影響に拮抗する可能性があるとして報告されている。また、Danielsら(2003)の研究においては、研究センターによって結果が違っており、これは食物、水銀・鉛の暴露などの今回測定していない特性に関連している可能性があるかもしれないと報告している。また、Rivaらは(2004)は調整後、初乳中のPCBsと12ヶ月での視覚機能に関連がなかったとしている。このように、暴露した魚を摂取した妊婦集団、一般人口集団における追跡結果、ともに出生前暴露と児の神経発達等との間には負の関連性が見られる報告が多いが、必ずしも一致した見解が得られていない。また、乳幼児期に負の関連性が認められていても、学齢期にはその影響が改善する傾向が認められ、母乳保育や家庭環境が化学物質による負の影響を改善する要因と推定されるが、何がどのように改善するかは明確にはなっていない。

環境喫煙(ETS)、多環式芳香族炭化水素(PHA)や有機リン酸系殺虫剤による出生前暴露の影響について、児の出生児体重、身長、頭囲、及び児の注意機能に関して断面研究、症例対象研究がおこなわれている。また、母乳中ジクロロジフェニルトリクロロエタン(DDT)濃度と生徒から得た精神判断能力との関連では、有意な負の関連性が認められ、知的発達遅滞児の比率と正の相関が認められている。その結果、いずれも研究においても、児の発達に負の影響を示していた。

以上のように、PCB類や農薬など化学物質と小児神経発達との関連についてはコホート研究の追跡が進み、新たな疫学研究的知見が増えている。しかし、暴露指標としての測定物質は、研究間で相当異なっており、また児の神経発達指標などアウトカムも研究によりそれぞれ違いがあり、暴露濃度と影響の関係について、明確な因果関係は評価することは現時点では

できなかった。また、日本人集団での研究報告はいまだ全くなかった。したがって一般日本人妊婦集団を対象に妊娠中からたちあげ、乳児期から学齢まで縦断的に行う調査を早急に進めるとともに、胎児期、出生後のPCB・ダイオキシン類暴露との関連を検討すること、加えて児の神経発達に影響を与えそうな多くの環境化学物質、また児を取り巻く生活環境について総合的に神経精神発達との関連を検討できる前向きコホート研究デザインで実施する必要がある。

〔参考文献〕

Blanck HM, Marcus M, Tolbert PE, Rubin C, Henderson AK, Hertzberg VS, Zhang RH, Cameron L. Age at menarche and tanner stage in girls exposed in utero and postnatally to polybrominated biphenyl. *Epidemiology*. 2000 ;11:641-7.

Chen YC, Guo YL, Hsu CC, Rogan WJ. Cognitive development of Yu-Cheng ("oil disease") children prenatally exposed to heat-degraded PCBs. *JAMA*. 1992;268:3213-8.

Chen YC, Yu ML, Rogan WJ, Gladen BC, Hsu CC. A 6-year follow-up of behavior and activity disorders in the Taiwan Yu-cheng children. *Am J Public Health*. 1994;84:415-21.

Daniels JL, Longnecker MP, Klebanoff MA, Gray KA, Brock JW, Zhou H, Chen Z, Needham LL. Prenatal exposure to low-level polychlorinated biphenyls in relation to mental and motor development at 8 months. *Am J Epidemiol*. 2003;157(6):485-92.

Dorner G, Plagemann A. DDT in human milk and mental capacities in children at school age: an additional view on PISA 2000. *Neuroendocrinol Lett*. 2002;23(5-6):427-31.

Fein GG, Jacobson JL, Jacobson SW, Schwartz PM, Dowler JK. Prenatal exposure to polychlorinated biphenyls: effects on birth size and gestational age. *J Pediatr*. 1984 ;105:315-20.

Gladen BC, Ragan NB, Rogan WJ. Pubertal growth and development and prenatal and lactational exposure to polychlorinated biphenyls and dichlorodiphenyl dichloroethene. *J Pediatr*. 2000 ;136:490-6.

Gladen BC, Rogan WJ, Hardy P, Thullen J, Tingelstad J, Tully M. Development after exposure to polychlorinated biphenyls and dichlorodiphenyl dichloroethene transplacentally and through human milk. *J Pediatr*. 1988 ;113:991-5.

Gladen BC, Rogan WJ. Effects of perinatal polychlorinated biphenyls and dichlorodiphenyl dichloroethene on later development. *J Pediatr*. 1991 Jul;119(1 ( Pt 1)):58-63.

Harada M Intrauterine poisoning: clinical and epidemiological studies and significance of problem. *Bull Inst Constitute Med, Kumamoto Univ* 1976;25(suppl):1-60

Huisman M, Koopman-Esseboom C, Fidler V, Hadders-Algra M, van der Paauw CG, Tuinstra LG, Weisglas-Kuperus N, Sauer PJ, Touwen BC, Boersma ER. Perinatal exposure to polychlorinated

biphenyls and dioxins and its effect on neonatal neurological development. *Early Hum Dev.* 1995 ;41:111-27.

Huisman M, Koopman-Esseboom C, Lanting CI, van der Paauw CG, Tuinstra LG, Fidler V, Weisglas-Kuperus N, Sauer PJ, Boersma ER, Touwen BC. Neurological condition in 18-month-old children perinatally exposed to polychlorinated biphenyls and dioxins. *Early Hum Dev.* 1995 ;43:165-76.

Jacobson JL, Jacobson SW, Humphrey HE. Effects of exposure to PCBs and related compounds on growth and activity in children. *Neurotoxicol Teratol.* 1990;12:319-26.

Jacobson JL, Jacobson SW, Humphrey HE. Effects of in utero exposure to polychlorinated biphenyls and related contaminants on cognitive functioning in young children. *J Pediatr.* 1990;116:38-45.

Jacobson JL, Jacobson SW. Breast-feeding and gender as moderators of teratogenic effects on cognitive development. *Neurotoxicol Teratol.* 2002;24(3):349-58.

Jacobson JL, Jacobson SW. Intellectual impairment in children exposed to polychlorinated biphenyls in utero. *N Engl J Med.* 1996;335:783-9.

Jacobson JL, Jacobson SW. Prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and attention at school age. *Pediatr.* 2003;143(6):780-8.

Jacobson SW, Fein GG, Jacobson JL, Schwartz PM, Dowler JK. The effect of intrauterine PCB exposure on visual recognition memory. *Child Dev.* 1985 ;56:853-60.

Koopman-Esseboom C, Weisglas-Kuperus N, de Ridder MA, Van der Paauw CG, Tuinstra LG, Sauer PJ. Effects of polychlorinated biphenyl/dioxin exposure and feeding type on infants' mental and psychomotor development. *Pediatrics.* 1996 ;97:700-6.

Lai TJ, Guo YL, Guo NW, Hsu CC. Effect of prenatal exposure to polychlorinated biphenyls on cognitive development in children: a longitudinal study in Taiwan. *Br J Psychiatry Suppl.* 2001;40 s49-52.

Lai TJ, Liu X, Guo YL, Guo NW, Yu ML, Hsu CC, Rogan WJ. A cohort study of behavioral problems and intelligence in children with high prenatal polychlorinated biphenyl exposure. *Arch Gen Psychiatry.* 2002;59(11):1061-6.

Lanting CI, Patandin S, Fidler V, Weisglas-Kuperus N, Sauer PJ, Boersma ER, Touwen BC. Neurological condition in 42-month-old children in relation to pre- and postnatal exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins. *Early Hum Dev.* 1998 ;50:283-92.

Lonely E, Reihman J, Darvill T, Mather J, Daly H. Neonatal Behavioral Assessment Scale Performance In humans Influenced by maternal consumption of environmentally contaminated Lake Ontario fish,

Great Lake Res 22.

Patandin S, Lanting CI, Mulder PG, Boersma ER, Sauer PJ, Weisglas-Kuperus N. Effects of environmental exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins on cognitive abilities in Dutch children at 42 months of age. *J Pediatr.* 1999 ;134:33-41.

Prera FP, Rauh V, Tsai WY, Kinney P, Camann D, Barr D, Bernert T, Garfinkel R, Tu YH, Diaz D, Dietrich J, Whyatt RM. Effects of transplacental exposure to environmental pollutants on birth outcomes in a multiethnic population. *Environ Health Perspect.* 2003;111(2):201-5.

Ribas-Fito N, Cardo E, Sala M, Eulalia de Muga M, Mazon C, Verdu A, Kogevinas M, Grimalt JO, Sunyer J. Breastfeeding, exposure to organochlorine compounds, and neurodevelopment in infants. 2003;111(5 Pt 1):e580-5.

Ribas-Fito N, Sala M, Kogevinas M, Sunyer J. Polychlorinated biphenyls (PCBs) and neurological development in children: a systematic review. *J Epidemiol Community Health.* 2001;55(8):537-46.Review.

Riva E, Grandi F, Massetto N, Radaelli G, Giovannini M, Zetterstrom R, Agostoni C. Polychlorinated biphenyls in colostrum milk and visual function at 12 months of life. *Acta Paediatr.* 2004;93(8):1103-7.

Rogan WJ, Gladen BC, Hung KL, Koong SL, Shih LY, Taylor JS, Wu YC, Yang D, Ragan NB, Hsu CC. Congenital poisoning by polychlorinated biphenyls and their contaminants in Taiwan. *Science.* 1988 ;241:334-6.

Rogan WJ, Gladen BC, McKinney JD, Carreras N, Hardy P, Thullen J, Tinglestad J, Tully M. Neonatal effects of transplacental exposure to PCBs and DDE. *J Pediatr.* 1986 ;109(2):335-41.

Rogan WJ, Gladen BC. PCBs, DDE, and child development at 18 and 24 months. *Ann Epidemiol.* 1991;1:407-13.

Ruckart PZ, Kakolewski K, Bove FJ, Kaye WE. Long-term neurobehavioral health effects of methyl parathion exposure in children in Mississippi and Ohio. *Environ Health Perspect.* 2004;112(1):46-51.

Stewart P, Fitzgerald S, Reihman J, Gump B, Lonky E, Darvill T, Pagano J, Hauser P. Prenatal PCB exposure, the corpus callosum, and response inhibition. *Environ Health Perspect.* 2003;111(13):1670-7.

Stewart P, Reihman J, Lonky E, Darvill T, Pagano J. Prenatal PCB exposure and neonatal behavioral assessment scale (NBAS) performance. *Neurotoxicol Teratol.* 2000 ;22:21-9.

Stewart PW, Reihman J, Lonky EL, Darvill TJ, Pagano J. Cognitive development in preschool children prenatally exposed to PCBs and MeHg. *Neurotoxicol Teratol.*2003;25(1):11-22.

Vreugdenhil HJ, Lanting CI, Mulder PG, Boersma ER, Weisglas-Kuperus N. Effects of prenatal PCB and dioxin background exposure on cognitive and motor abilities in Dutch children at school age. *J Pediatr*. 2002;140(1):48-56.

Vreugdenhil HJ, Mulder PG, Emmen HH, Weisglas-Kuperus N. Effects of perinatal exposure to PCBs on neuropsychological functions in the Rotterdam cohort at 9 years of age. *Neuropsychology*. 2004;18(1):185-93.

Vreugdenhil HJ, Slijper FM, Lanting CI, Mulder PG, Weisglas-Kuperus N. Effects of perinatal exposure to PCB and dioxin on play behavior in Dutch children at school age. *Environ Health Perspect*. 2002;110(10):A593-8.

Vreugdenhil HJ, Van Zanten GA, Brocaar MP, Mulder PG, Weisglas-Kuperus N. Prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and breastfeeding: opposing effects on auditory P300 latencies in 9-year-old Dutch children. *Dev Med Child Neurol*. 2004 ;46(6):398-405.

Walkowiak J, Wiener JA, Fastabend A, Heinzow B, Kramer U, Schmidt E, Steingruber HJ, Wundram S, Winneke G. Environmental exposure to polychlorinated biphenyls and quality of the home environment: effects on psychodevelopment in early childhood. *Lancet*. 2001;358(9293):1602-7.

Winneke G, Bucholski A, Heinzow B, Kramer U, Schmidt E, Walkowiak J, Wiener JA, Steingruber HJ. Developmental neurotoxicity of polychlorinated biphenyls (PCBS): cognitive and psychomotor functions in 7-month old children. *Toxicol Lett*. 1998 ;102-103:



表2 - 10 - 1 内分泌かく乱化学物質と小児神経発達に関するコホート研究

地域・対象者	対象者数	追跡	化合物	暴露経路	暴露指標・濃度	測定項目	年齢	調査結果
<b>高濃度暴露集団および汚染地域</b>								
<b>日本</b> Harada, 1976		1968	PCBs	汚染食用油	なし	記述なし	記述なし	出生前暴露児は感覚が鈍く、無感情で、筋緊張の低下があり知能低下があった
<b>Yucheng (台湾)</b> Rogan, 1988 Chen, 1992, 1994		1979	PCBs,PCDFs	汚染食用油	母子血清	認知発達	4-7歳	一貫してIQが5point差がある 量依存性なし
Lai TJ ,2001	236名  暴露群：118名  対照群：118名					Bayley Scale of Infant Development(BSID) ; 6-30ヶ月 ビネーIQテスト; 30ヶ月 - 6歳 レーブン色彩マトリックス検査(CPM); 5-9 レーブン漸進性マトリックス検査(SPM): 9歳 以降	6ヶ月-15歳	2歳から12歳までにおいて、暴露群では対照群に比べ認知発達検査の得点が低かった
Lai TJ ,2002	236名  暴露群：118名  対照群：118名					WISC-R Achenbach Child Behavior Checklist(CBCL) Rutter Child Behavior Scale A		暴露群は対照群に比べIQが3ポイント(p=.05)低かった。 暴露群は対照群に比べCBCLが3ポイント(p=.002)高かったが、性差による影響はなかった 暴露群は対照群に比べRutterの行動尺度が6ポイント(p<.001)高かった 暴露児の加齢による影響の改善については、Rutterの行動尺度のみ有意であった
<b>Michigan food chain (米国)</b> Blank, 2000	327名	1973 ~	PBBs	混入事故				高濃度暴露例(11.6歳)で初潮の発来が早かった organohalogenの経胎盤、母乳性暴露は思春期の発来にも影響している可能性がある
<b>スペイン</b> Ribas-Fito,2003	92名	1997 ~ 1999	PCBs(28,52,101,118,138,15 HCB p,p'DDE	電気化学工場近隣	臍帯血清	BSID- , Griffuths Scales	13ヶ月	p,p'DDE の出生前暴露は13ヶ月における精神発達、運動発達の遅れと関連があった p,p'DDE の量が倍増する毎に精神発達で3.5ポイント、運動発達で4.01ポイントの減少が見られた p,p'DDE 濃度が比較的高く、母乳期間の短い乳児では、精神、運動発達の得点が両方とも低かった
<b>暴露した魚を摂取した妊婦集団</b>								
<b>Lake Michigan (米国)</b> 魚を食べる妊婦のから生まれた新生児 魚を食べない妊婦から生まれた新生児	242名  71名	1980 ~ 81年	PCBs	汚染魚	母体血清、臍帯血清、母乳			
Fein, 1984	242名				平均濃度	生下時体重、頭囲	新生児	在胎週数に比して生下時体重、頭囲が不釣合いに小さい
Jacobson, 1985	123名 white male 69 female 54				PCE 母体血清 6±4 ng/mL 臍帯血清 3±2 ng/mL 母乳 841±38 ng/g PBE 母体血清 0±1 ng/mL 臍帯血清 3±4 ng/mL	視覚認知 Fagan Test	7ヶ月	出生前暴露乳児において暴露量(臍帯血PCB濃度)に依存して刺激に対する反応低下と関連がある  出生後暴露は影響がない

地域・対象者	対象者数	追跡	化合物	暴露経路	暴露指標・濃度	測定項目	年齢	調査結果
Jacobson, 1990	236名				母乳 218±325 ng/g	認知発達, 処理 McCarthy scales of Children's Abilities	4歳	出生前暴露幼児において暴露量に依存して言語尺度, 数量尺度の両方で短期記名力の低下が認められる 出生後暴露は影響がない
					4歳児の血清 PCE 2±3 ng/ml PBB 0±1 ng/ml DDT 3±4 ng/ml		4歳	出生前暴露は知覚・遂行尺度および短期記憶低下と関連がある 出生後暴露は影響がない
Jacobson, 1996	212名				11歳児の血清 PCE 1±1ng/ml PBB 0±0 ng/ml DDE 1±1ng/ml	W ISC-R	11歳	出生前暴露は全検査及び言語性知能指数の有意な低下と 関連している 出生後暴露は影響がない
Jacobson, 2002	母乳期間6周末 満: 56名 母乳期間6周以 上: 122名				PCE 臍帯血清 2.6± 2.0ng/mL(N=144) 母体血清 5.7± 3.6ng/mL(N=158) 母乳 829.7±384.3ng/g of fat(N=124)	McCarthy scales of Children's Abilities W ISC-R	4歳, 11歳	4歳時, 11歳時ともに6週未満群でのみ認知発達と出生前PCB暴露 に有意な関連あった 11歳時での処理速度(mental rotation)で, 6週以上群においてのみ 出生前PCB暴露と有意な関連があった 11歳時では, 母親のPeabody語彙とHOMEでの調整後, 母乳と認知 発達には有意な関連はなかった
Jacobson, 2003	4歳: 154名  11歳: 148名				PCE 臍帯血清 2.7± 2.1ng/mL(N=117)  母体血清 5.9± 3.8ng/mL(N=128)  母乳 859.3±388.2ng/g of fat(N=107)	4歳: 持続的注意, ワーキングメモリー 11歳: 持続的注意, 集中的注意, 実行機 能, ワーキングメモ リー, Seashore Rhythm, Mental	4歳, 11歳	主に母乳で育てられたなかった子どもたちで負の影響が見られた。  母乳で育てられたなかった子どもたちで, 出生前のPCB暴露は, よ り重度の衝動性, 貧しい集中力, 未熟な言語, 視覚的・聴覚的ワー キングメモリーと関連があった。  視空間の障害や多動性の増加は見られなかった。
<b>Oswego, New York (米国)</b> オンタリオ湖の魚を食べない妊 婦 152名から生まれた乳児 オンタリオ湖の魚を食べる妊婦 141名から生まれた乳児		1991-94年						
Lonky, 1998			PCBs, HCB PCDDs dieldrin, lindane chlordane cadmium mercury mirex	汚染魚	なし	神経行動発達	12-48hr	高度暴露新生児では反射が弱く, 自律神経系の未熟性が強かった
Stewart, 2000						(NBAS)	25-48hr	高度塩化PCB濃度と慣れ現象, 自律系の安定性の 減弱の間に有意な関連がある
Stewart, 2003	212名  (38ヶ月: 194 名) (54ヶ月: 197 名)		PCBs, MeHg		臍帯血中PCBs  毛髪MeHg	McCarthy scales of Children's Abilities	38, 54ヶ月	交絡要因調整後, 38ヶ月においては, McCarthy検査のGCI (General Cognitive Index)と臍帯血中の高塩素化PCBに有意な関 連性が見られた (P=.012, 脂質調整後P=.008)。 54ヶ月時には関連性は認められなかった

地域・対象者	対象者数	追跡	化合物	暴露経路	暴露指標・濃度	測定項目	年齢	調査結果
Stewart, 2003	189名		PCBs,		臍帯血中PCBs	continuous performance test(CPT) Michigan Catch the Cat test MRIスキャン	4.5歳	臍帯血中PCBsとCPTコミッションエラー数との間には量依存関係を示した  他の脳領域ではなく脳梁の大きさとコミッションエラーと関連を示し( $r^2=0.20$ ), 脳梁が小さいほど, PCBとコミッションエラー間の関連性が大きかった
<b>一般人口集団</b>								
<b>North Carolina (米国)</b>								
Rogan, 1986	912/930名	1978~82年	PCBs,DDE		母体血清, 臍帯血, 母乳、胎盤	行動発達 (NBSA)	新生児	高PCB経胎盤暴露が有意に筋緊張および反射低下と関連している 高DDE経胎盤暴露は反射低下と関連がある
Gladden, 1988	802名					精神運動発達 Bayley Scale of Infant Development(BSID)	6,12ヶ月	PCBの経胎盤高濃度暴露は6,12ヶ月時の精神運動スコアの  低値と関連があったが知能スコアとは関連がなかった 出生後(経母乳)暴露はBayleyスコアに関連がなかった DDE経胎盤暴露は一貫した影響はなかった
Rogan&Gladden, 1991						精神運動発達 Bayley Scale of Infant Development(BSID)	18,24ヶ月	PCBsの出生前暴露は24ヶ月までの運動発達遅滞と関連がある  出生後(母乳)暴露は両テストのスコアに関連がなかった DDE暴露は一貫した影響はなかった
Rogan&Gladden, 1991	506名					精神運動発達 McCarthy scales of Children's Abilities	3,4,5歳	出生前暴露を受けた乳幼児にみられた  発達上の変化は幼児期には認めなかった
Gladden, 2000	594名							高DDE経胎盤暴露群男児で思春期の身長, 体重が大きい
<b>Rotterdam, Groningen (オランダ)</b>								
Huisman, 1995	418名		PCBs,PCDDs PCDFs	汚染産物 汚染油	母体血, 臍帯血, 母乳	神経行動発達 Prechtl	10-21日	母体血, 臍帯血中のPCB濃度は神経学的機能不全と 関連はなかった 母乳のPCBs, PCDDsPCDFs高濃度暴露は筋緊張低下と関連ある 強い神経学的影響は認めなかった
Huisman, 1995						神経行動発達 Bayley Scale of Infant Development(BSID)	18ヶ月	出生前暴露児は神経機能の有意な減弱が認められた  母乳暴露とは弱い相関があった
Koopman-Esseboom, 1996						精神運動発達 Bayley Scale of Infant Development(BSID)	3,7,18ヶ月	出生前PCB暴露は3ヶ月児の神経運動スコアに若干の  負の影響を与える 経母乳PCB,dioxin暴露は7ヶ月児の神経運動発達には 負の影響があった 母乳は知的面では7ヶ月児に正の影響をあたえる, 出生前のPCBs,Dioxin高濃度暴露は負の影響をあたえる 18ヶ月では運動発達に若干の負の影響があった
Lanting, 1998	394名					神経行動発達 Touwen/Hempel法	42ヶ月	出生前, 出生後, 及び最近の暴露は影響はなかった

地域・対象者	対象者数	追跡	化合物	暴露経路	暴露指標・濃度	測定項目	年齢	調査結果
Patandin, 1999	395名					認知発達 Kaufman Assessment Battery for Children	42ヶ月	P C B s の出生前暴露は認知スコア低値と有意の関連がある 出生後及び最近の暴露は4 2 ヶ月時には関連が認められない
Vreugdenhil, 2003	372名		母体血, 臍帯 血: PCB118, 138, 153, 180 母乳: 17種 dioxin, 6種の dioxin様PCB, 20の非ダイオ キシン様PCB			McCarthy scales of Children's Abilities	6-7歳	親および家庭環境が最適以下であった場合、認知および運動能力において出生前PCBとダイオキシン暴露による負の影響が認められた。
	母乳群: 194名							
	人工乳群: 178 名							
Vreugdenhil, 2003	158名					Pre-School Activity Inventory(PSAI): 遊び 行動評価	7.5歳	母体血、臍帯血中で測定した出生前PCB暴露の男性的、男女両性的 尺度に及ぼす影響は男児と女児で有意に異なっていた(p<.05) 男児では、男性的尺度(母体血中濃度p=.042; 臍帯血中濃度 p=.001)と男女両性的尺度(臍帯血中濃度p=.011)において、高 濃度の出生前PCB値は男性的遊び行動の有意な低下と関連してい た。 女児では、男女両性的尺度(母乳中PCB濃度p=.028)で高濃度出生 前`CB値は有意に男性的な遊び行動の多さに関連していた。 高濃度の出生前ダイオキシン値は女性的尺度(p=.048)で、男女とも より女性的な遊び行動の多さに関連していた
	母乳群: 85名 (男53,女32)							
	人工乳群: 73名 (男35,女38)							
Vreugdenhil, 2004	83名					神経心理学的検査 ( Rey Complex Figure Test , SRTT , Auditory-Verbal Learning Test , Tower of London )	9 歳	出生前のPCBレベルが高いことは反応時間が遅れることが関連し、 反応時間のバラツキも多くなる。またTower of London ( TOL ) の 得点が低くなることと関連していた。  長期に母乳で育てられた児はTOLの得点が低いが、空間構成能力が 良かった。
	低暴露群: 42名							
	高暴露群: 41名							
Vreugdenhil, 2004	83名					ERP s ( P300 )		出生前暴露が高濃度であった児は、低濃度であった児よりも、 P300の潜時が長かった。  母乳哺育によるPCBsの授乳暴露はP300の潜時と関連がなかった。 P300の潜時は6 ~ 16週間母乳哺育された子どもと人工乳で育てられ た子どもにおいてよりも、少なくとも16週間母乳哺育された子 どもで短かった。 P300の振幅は周産期におけるPCB暴露や母乳哺育と関連がなかつ た
<b>ドイツ</b>								
Winneke, 1998	171名		P C B s		臍帯血平均 0.55ng/ml 母乳中平均 427ng/gfat	神経学的最適性  認知運動発達	10-20日  7ヶ月	神経発達に影響はなかった  有意な影響はなかった
Winneke, 2002	171名		PCB(138,153, 180)		臍帯血, 母乳, 児の血液 (42ヶ月)	BSID- . Kaufman評 価尺度, HOME ( 18ヶ月)	7,18,30,42 ヶ月	30,42ヶ月時において母乳中のPCBと精神・運動発達には有意の負 の関連性が認められた。  42ヶ月時では、母乳保育による出生後PCB暴露の影響が認められ た。 家庭環境は30ヶ月以降に正の影響を示した。

地域・対象者	対象者数	追跡	化合物	暴露経路	暴露指標・濃度	測定項目	年齢	調査結果
<b>米国</b>								
Daniels JL,2003	1207名	1959～1965	PCB s (28,52,74,10 5,118,138,153, 170,180,194,2 03)		母体血血清：平均3.1 μg/liter	BSID	8ヶ月	血清中のPCBレベルと児の精神発達 (MDI),運動発達 (PDI) との 関連は見られなかった。(MDI: = 0.1, p= 0.71, PDI: = 0.5, p=0.14) .
<b>イタリア</b>								
Riva E,2004	25名	2000	PCB( 105, 118、138、 153、156、 180)  DDT  DDE	母乳 ( 出産後 2 日目 , 1 ケ 月 , 3 ケ月 )		視覚誘発電位 (VEPs) P100	12ヶ月	視角60分の大きさの提示刺激P100の潜時がDDT(r = 0.513)とPCB 180(r = 0.504)と関連があった .  視角15分のVEP潜時はPCB 105を除く、DDT、DDE、およびすべ てのPCBsの初乳のレベルと関連があった(相関係数r = 0.401から 0.618) . C22:6 n-3をコントロールした後に、初乳中PCB 180と視角15分の P100の潜時の部分相関係数は0.403(p = 0.07)であった。 よって12ヶ月の健康な乳児の視覚機能の問題と初乳中のPCBs、 DDT、およびDDEの間で弱い関連であった .

表2 - 10 - 2 内分泌かく乱化学物質と小児神経発達に関する断面研究

地域・対象者	対象者数	化合物	暴露経路	暴露指標・濃度	測定項目	年齢	調査結果
Perera,2003 (米国)							
アフリカ系アメリカ人	116名	多環式芳香族炭化水素 (PHA)	室内PHA	アフリカ系アメリカ人:0.6ng/mL	出生時のoutcome	出生時	交絡因子で調整後、PHAの高濃度出生前暴露は出生時低体重(p=.003)、頭周囲低値(p=.01)に有意に関連。CPFは被験者全体における出生児体重と出生児体長(p=.01,p=.003)、アフリカ系アメリカ人における出生児体重(p=.04)、ドミニカ人における出生児体長(p<.001)の低下に関連した。調整後も変化なし。
ドミニカ人	146名	環境喫煙 (ETS) : コチニン濃度 有機リン酸系殺虫剤: クロルピリホス(CPF)	母体血血漿中コチニン濃度 血漿中CPF	ドミニカ人 : 0.5ng/mL アフリカ系アメリカ人:3.5ng/m3 ドミニカ人:3.9ng/m3 アフリカ系アメリカ人:8.0pg/g 人:7.1pg/g	出生時体重、身長、頭囲		

表2 - 10 - 3 内分泌かく乱化学物質と小児神経発達に関する症例対象研究

地域・対象者	対象者数	化合物	暴露経路	暴露指標・濃度	測定項目	年齢	調査結果
Ruckart,2004 (米国)							
ミシシッピ, オハイオの地域に住むMP暴露児と非暴露児	暴露群 132名  非暴露群 147名	メチル・パラチオン(MP)	害虫駆除のための有機リン酸殺虫剤の違法使用  尿中PNP	住居から得たMP  尿中PNP	Pediatric Enviromental Neurobehavioral Test Battery  Performance-based tests  Informant-based tests	7歳以降	暴露されていた子ども達は短期記憶や注意に関するテストでより困難さを示した。  暴露されていた子ども達の親は、暴露されていない子ども達の親よりも、自分の子ども達がより行動や運動機能の問題があると報告していた。
				ミシシッピ暴露群：MP 150 μg / cm2,もしくは PNP 100ppb オハイオ暴露群：MP 132.9 μg / cm2,もしくは PNP 100ppb ミシシッピ非暴露群：MP < 25 μg / cm2 オハイオ非暴露群：MP 35 μg / cm2,もしくは：MP=0, PNP > 25ppb 高暴露群：MP 1000 μg / cm2,もしくは PNP 300ppb			

表2 - 10 - 4 内分泌かく乱化学物質と小児神経発達に関する地域相関研究

地域・対象者	対象者数	化合物	暴露経路	暴露指標・濃度	測定項目	年齢	調査結果
Dorner G,2002 ( PISA研究加盟 11 力国 ) 1984-85年に出生した15歳 の生徒		DDT	母乳中総 DDT		精神判断能力 ( 読み 書き , 数学 , 理科 )	15歳	PISA Internationalでの精神判断能力と母乳中総 DDT値には有意な負の相関があった(p<0.001) 三大陸中の10力国とドイツにおける14の連邦 州においても、PISA InternationalとPISA National(2000)における15歳の生徒の精神判断能 力は母乳中の総DDTと有意な負の相関があった ( P<.001 ) ドイツ連邦州の知的発達遅滞児の比率と1984-85 年の母乳中総DDT値には有意な正の相関があった (p<0.001)



## [ 生殖機能への影響 ]

### 2 - 1 1 精子数

#### [要旨]

内分泌かく乱化学物質等の化学物質（ダイオキシンを除く）の男性生殖器系への影響として精子数の低下等を扱った疫学研究について、平成 13 年度は 2001 年までに検索された断面研究 6 件、コホート研究 1 件、コホート内症例対照研究 1 件について文献的考察を行った。今回 2001 年以降の文献について更新作業を行い、2004 年までの文献として新たに 22 文献を追加し合計 30 文献となった。それらの研究デザインは、断面研究 15 件、症例対照研究 9 件、その他 6 件と分類された。対象となった男性集団は、健常者 5 件(妊孕能あり 2 件、妊孕能不問 3 件)、男性不妊外来患者 9 件、職業性暴露集団 13 件、直接暴露集団 2 件(DES、油症各 1 件ずつ)、その他 1 件(疾病の死亡率、発生率からの統計)であった。暴露要因としては、農薬・殺虫剤 13 件、PCB 等有機塩素系化合物 6 件、フタル酸 2 件、スチレン 2 件、その他の有機溶剤等 2 件、その他 5 件(DES、大気汚染、トリハロメタン、不特定環境汚染物質、不特定の因子、各 1 件ずつ)が挙げられた。これらの暴露要因の精子への影響については、30 文献中、検討項目の少なくとも一部に有意な関連を示したものの 22 件、有意な関連なし 6 件、関連不明 2 件、という結果であった。そのうち、農薬・殺虫剤では 13 件中 10 件、有機塩素化合物では 6 件すべて、フタル酸では 2 件ともに精子への何らかの影響を示していた。精子への影響を評価する検討項目には、通常の前立腺検査パラメータ(精液量、精子濃度、総精子数、精子運動率、精子正常形態率又は異常形態率、精子生存率)の他に、コンピュータ自動精子分析機(CASA)による精子運動性パラメータ、FISH 法で検出した精子核染色体異数性頻度、コメット法による精子核 DNA 断片化率等が含まれていた。

#### [目的]

内分泌かく乱化学物質の男性生殖器系への影響のひとつとして、近年におけるヒトの精子数減少など精液の質低下傾向が危惧されている。内分泌かく乱化学物質の精子への影響は、野生動物での事例や動物実験では確認されているが、人での影響についてはまだ確実な証拠が示されていない。ここでは内分泌かく乱作用を示す可能性のある化学物質（ダイオキシンを除く）の精子への影響を扱った疫学研究の現状を把握する目的で文献的考察を行った。

#### [研究方法]

米国立医学図書館の医学文献データベース (MEDLINE ; PubMed) を用いて、検索式 (Sperm Count OR Spermatozoa OR Semen) AND (Insecticides OR Pesticides OR Chlorinated Hydrocarbons OR PCBs OR Bisphenol OR Phenol OR Phthalate OR Styrene OR Furan OR Organotin OR Diethylstilbestrol OR Ethinyl Estradiol) で得られた 1639 件の文献のうちヒト集団を対象とした疫学研究 145 件を選択した。さらに精子の質を扱った原著論文に限定し、その他の総説及び原著論文等を参考に必要な論文を加え、最終的に 30 文献を抽出した。

#### [結果]

##### 1. 農薬・殺虫剤

有機リン酸系農薬の暴露に関して、Padungtod ら(1999)は中国 Anquin において精子染色体へ

の影響を調べる目的で行った横断研究の中で、農薬工場に勤務する暴露群の男性と、同じ地域の織物工場に勤める非暴露群の男性では、精子濃度と運動率の中央値は暴露群で低く、染色体異常の出現するリスクは暴露群が 1.51 倍高いと報告している。同じ集団について Padungtod ら (2000) は、精液検査を行った暴露群と非暴露群の精液パラメータの数値を比較し、線形回帰分析の結果では精子濃度と運動率は暴露群において有意な低下を示し、エチルパラチオンとメタミドフォスの暴露が精液の質に中程度の影響を与える可能性があることを報告した。メキシコの農村地域の農業従事者を対象とした断面研究 (Recio, 2001) では、有機リン系殺虫剤の暴露が精子の染色体異常に関連してターナー症候群などの遺伝的疾患のリスクを増加させる可能性を指摘した。また同じ研究グループによる農業従事者を対象とした断面研究 (Sanchez-Pena, 2004) では、有機リン系農薬の暴露が精子核の DNA 断片化率を高めることから妊孕能への影響を示唆している。有機リン系農薬の暴露に関しては日本からの報告 (Kamijima, 2004) があり、農薬散布従事者の暴露群では非暴露群に比べて、通常の精液所見に差は認められなかったが、農薬散布時期である夏に運動性の低下した精子の割合が有意に増加することを示した。

中国の殺虫剤製造工場におけるフェンバレレート職業精暴露に関する症例対照研究 (Tan ら, 2002)、スペインにおけるコリンエステラーゼ阻害剤系殺虫剤の職業性暴露の症例対照研究 (Marmol-Maneiro ら, 2003) においては、いずれも農薬暴露が精子数と精子運動能に影響するという結果であった。Koifman ら (2002) による疫学的地域相関研究では、ブラジルの 11 州における 1980 年代の農薬暴露量 (農薬販売量) と 1990 年代の生殖器系アウトカムについての集団データを調査し、農薬を暴露した集団での乳癌、卵巣がん、精子の質低下、前立腺癌、精巣主要等の生殖器系障害との関連を示した。Juhler ら (1999) は、「有機農法によって生産された農作物を摂取している農業従事者は、農薬の暴露が少ないために精液の質が高い」という仮説を検証する目的で、デンマークの農業従事者から食生活に関するデータと精液所見を得た。対象者を有機農作物の生産率に応じて 3 つのグループに分けて比較したところ、グループ間で 40 種類の農薬の使用量に差が認められたが、精子濃度に有意差はなかった。しかし、最も有機農産物の生産率の低いグループにおける精子正常形態率が有意に低いことが示された。

Swan ら (2003) は、アメリカ合衆国のミズーリ、ミネソタ両州における疫学調査 (Study for Future Families Research Group) 参加者した妊婦の配偶者の男性を対象にした症例対照研究 (精液の質の高い群と低い群を比較) において、精液パラメータと現在用いられている除草剤アラクロル、アトラジン及びダイアジノン系殺虫剤 IMPY などとの関連性について検討し、これらの農薬がミズーリ州中部の妊孕性のある男性における精液の質の低下に関連していることを示した。この研究は、人口ベースの研究としては、農薬の環境暴露の精子への影響を示した最初の研究である。暴露源については不明であるが、最も可能性が高い原因として生活用水を挙げている。

農薬暴露と精子の質との間に関連を認めなかった文献が 3 件あった。Tomenson ら (1999) は、稲作の除草剤モリネート (thiocarbamate herbicide) の男性生殖機能への影響を評価する目的で、アメリカ合衆国 3 か所のモリネート生産加工プラントに勤務する男性を対象に断面研究として精液検査及び血清中のホルモン検査を行ったが、精子及び内分泌ホルモンのレベルがモリネートの暴露レベルと相関して変化する傾向は見られなかった。農薬使用の有無によって集団を 2 群に分けて精子染色体の異数性頻度を比較したアメリカ合衆国の断面研究 (Smith, 2004) では、両群間で差を認めず、農薬散布が精子染色体の数の異常のリスクを増大させないと結論している。また、南アフリカ Malaria Control Center 近隣在住の労働者を対象とした DDT の環境暴露に関する断面研究 (Dalvie, 2004) では、血中の DDT 濃度は精液量、精子濃度、総精子数、精子運動率、精子正常形態率のいずれのパラメータとも有意な関連を認めなかったとしている。

## 2. 有機塩素系化合物

PCB等の有機塩素系化合物の暴露に関しては、男子不妊症の外来患者を対象とした研究が4件あり、血清中(Rozatiら、2002; Hauserら、2002; Hauserら、2003あるいは血清及び精漿中(Dallingaら、2002)の有機塩素化合物濃度と精液所見との関連を検討しているが、いずれもそれらの暴露と精液の質低下の関連性を示していた。スウェーデンの一般若年男性集団を対象とした断面研究(Richthofら、2003)では、PCB及びその代謝物と、精子数及び精子運動性との間に負の相関を認めている。また、PCB/PCDF類を直接暴露した油症患者の男性を対象とした台湾の症例対照研究(Hsuら、2003)では、暴露男性における精子数減少と形態異常との関連を示した。

## 3. フタル酸類

フタル酸暴露についてはアメリカ合衆国で行われた研究が2件検索された。1件は男性不妊外来患者で尿中のフタル酸代謝産物濃度の精子への影響を検討した断面研究(Dutyら、2003-1)で、コメント法で検出した精子DNA損傷パラメータと尿中モノエチルフタル酸濃度と関連性を示したが、他のフタル酸代謝物との関連は認められなかった。もう1件(Dutyら、2003-2)の男性不妊外来患者を対象とした症例対照研究では、尿中のモノブチルフタル酸及びモノベンジルフタル酸と精子濃度及び精子運動率との間に用量反応相関性が認められた。

## 4. スチレン

スチレン暴露に関する文献も2件あり、どちらも同じ研究グループによるイタリアの繊維強化プラスチック工場の労働者を対象にした症例対照研究である。一方の研究(Miglioreら、2002)では、暴露群と近隣在住の非暴露群との間で通常の精液検査結果に有意差を認めなかったが、コメント法による精子核DNA断片化率は暴露群において有意に高かったことから、コメント法による精子核DNAの評価は通常の精液検査より、スチレン暴露による精子への影響をより高感度に検出できるとしている。もうひとつの研究(Naccarati、2003)では、FISH法による精子染色体検査で両群間の精子染色体の異数性及び二倍性の頻度を比較したが、有意差は認められず、精子染色体の数的異常には年齢や喫煙などの因子が関連していると結論していた。

## 5. その他の有機溶剤等

KurinczukとClarke(2001)は、不妊外来診療を受けた男性を対象としたイングランドのコホート内症例対照研究において、有機溶媒を大量に使用する皮革業に従事する群とそれ以外の業種で有機溶媒を使用する業种群と使用しない業种群に分けて精子パラメータの数値及び精液所見に異常のある症例の比率を比較した。不妊男性の中で皮革業の男性はそれ以外より1.10倍、有機溶媒使用者はそれ以外より1.73倍割合が高かった。しかし、精子パラメータの数値及び乏精子症、精子無力症など比率は対象群と皮革業群及び有機溶媒使用群との間に有意差は認められなかった。Wangら(2000)は中国南東の揚子江近郊地域において、暴露群と石油化学工業従事者と非暴露群(繊維工業従事者)を対象とした横断研究で、石油化学物質の職業性暴露と喫煙の精液の質への影響をみた。暴露群はその製造工程及び環境モニタリングのデータから、低レベルのガソリン、スチレン、ベンゼン、トルエン、キシレン、酢酸、アセトアルデヒド他に暴露されていた。対照群に比べて、暴露/非喫煙群は精子運動性が有意に低く、暴露/喫煙群は精子濃度、総精子数、精子運動率のすべてが有意に低下していた。さらに精子濃度と暴露及び喫煙の期間との間に負の相関が認められた。

## 6. その他

Leary ら (1984) は、米国 Mayo Clinic の医療記録にある DES に胎内暴露した男性を対象にその後の生殖異常の発症に関するコホート研究を実施した。精液検査を実施した暴露群と非暴露群間で、精子数、他の精子パラメータの異常及び他の生殖異常（理学的所見の異常、生殖器の奇形）に有意差を認めなかった。

Selevan ら(2000)は、大気汚染と生殖機能との関連を調べる目的で、チェコの高度に工業化が進んで季節によって大気汚染度合いが変動する地区と、比較的空気が清浄な地区にそれぞれ6ヶ月以上住む18歳の男性を対象に生殖機能調査を行った。両地区に住む男性の精子濃度に有意差は認められなかったが、大気汚染の程度の高い地区での居住期間が長くなると、精子の形態と運動性に関して劣化が進む傾向が認められた。

アメリカ合衆国の不妊の要因を認めない健康な男性を対象とした断面研究(Fenster, 2003)では、トリハロメタンの暴露量(水道水中の総トリハロメタン濃度×飲水量)で集団を3群の層別化すると、最高レベルの群では最低レベルの群と比較して精子の正常形態率が有意に低下していた。個々のトリハロメタンとしてはブロモジクロロメタンが精子の直進性と逆相関を示した。

Younglai ら(2002)は、カナダで体外受精を行った夫婦の卵胞液、血清、精漿中の環境汚染物質の濃度を測定し、p,p'-DDE、ミレックス、ヘキサクロロエタン、1,2,4-トリクロロベンゼン、PCB-49、PCB-153 および PCB-180、カドミウム、エンドスルファンI、等を検出した。精漿サンプル中に最も高頻度に出検された汚染物質はミレックスであったが、受精率との関連は認められなかった。精液所見との関連は検討していない。

オランダの妊孕能のある男性(妊婦の配偶者)と不妊男性を対象とした症例対象研究(Wong, 2003)では、職業と住環境、生活様式、食生活、病歴、家族の生殖に関する情報等の項目を含むアンケートの回帰分析により、各種暴露因子と精子数との関連を検討した結果、精子減少のリスク因子として、農業及び溶接業への従事、抗生物質の使用、おたふく風邪、胃腸疾患、果物・野菜の摂取不足、家族因子としての女性の生殖系疾患を挙げた。

### 〔考察〕

今回レビューで取りあげた文献30件中22件(73%)が何らかの精子への影響を示していた。農業では13件中10件で関連を示していたが、その多くが暴露レベルの高い職業性の集団を対象としたものであった。有機塩素系化合物では6件すべてで何らかの関連(有意差検定なしも含む)を認めていた。これらの対象集団は、高レベルの暴露を受けた油症の1例を除くと、顕著な暴露要因を認めない集団(健常若年男性と男性不妊関連)であることから、有機塩素系化合物の暴露については一般環境下で男性生殖機能への影響が既に顕在化している可能性が示唆された。一般環境における化学物質等の暴露の程度を知るには、高レベルの暴露を受けた特殊な集団ではなく、健康な一般集団あるいは明確に定義された種々の男性集団を対象とした調査研究が今後さらに重要性を増すと考えられる。最近の研究では、精子への影響を評価する指標として、精子の数に関するパラメータ(精子濃度、総精子数)以外に精子の運動率や正常形態率、CASAによる精子運動性パラメータ、FISH法で検出した精子核染色体異常性頻度、コメット法による精子核DNA断片化率等が加わるようになり、その多くは精子数よりも感受性の高い指標である可能性が示唆されている。今後は、より詳細な精子パラメータの分析に加え、精子形成に関連した新たなバイオマーカーの開発とこの分野の研究への応用が期待される。

〔結論〕

内分泌かく乱化学物質等の化学物質と精子との関連を扱った疫学研究について文献的考察を行った。2004年までの文献が考察の対象となったが、2000年までに比べて、検索されてきた文献そのものが増加したことから、前回は関連なしという研究が多かったのに比べ、今回は化学物質と精子の質の低下との間に関連を認める文献が多数検索されたことが異なる点であった。しかしながら、農薬にしても有機塩素系化合物にしても、単なる精巣毒性と内分泌かく乱作用との違いをこれらの文献から区別することは、困難である。内分泌かく乱化学物質の影響評価のための方法論の整備と目的の明確な研究デザインによる疫学調査の必要性が示唆された。

〔参考文献〕

Dallinga JW, Moonen EJ, Dumoulin JC, Evers JL, Geraedts JP, Kleinjans JC: Decreased human semen quality and organochlorine compounds in blood. *Hum Reprod.* 2002 Aug;17(8):1973-9.

Dalvie MA, Myers JE, Thompson ML, Robins TG, Dyer S, Riebow J, Molekwa J, Jeebhay M, Millar R, Kruger P.: The long-term effects of DDT exposure on semen, fertility, and sexual function of malaria vector-control workers in Limpopo Province, South Africa. *Environ Res.* 2004 Sep;96(1):1-8.

Duty SM, Silva MJ, Barr DB, Brock JW, Ryan L, Chen Z, Herrick RF, Christiani DC, Hauser R: Phthalate exposure and human semen parameters. *Epidemiology.* 2003 May;14(3):269-77.

Duty SM, Singh NP, Silva MJ, Barr DB, Brock JW, Ryan L, Herrick RF, Christiani DC, Hauser R: The relationship between environmental exposures to phthalates and DNA damage in human sperm using the neutral comet assay. *Environ Health Perspect.* 2003 Jul;111(9):1164-9.

Fenster L, Waller K, Windham G, Henneman T, Anderson M, Mendola P, Overstreet J, Swan SH: Trihalomethane levels in home tap water and semen quality. *Epidemiology* 2003 14(6):650-658

Hauser R, Chen Z, Pothier L, Ryan L: The relationship between human semen parameters and environmental exposure to polychlorinated biphenyls and p,p'-DDE. *Environ Health Perspect.* 2003 Sep;111(12):1505-11.

Hauser R, Singh NP, Chen Z, Pothier L, Altshul L: Lack of an association between environmental exposure to polychlorinated biphenyls and p,p'-DDE and DNA damage in human sperm measured using the neutral comet assay. *Hum Reprod.* 2003 Dec;18(12):2525-33.

Hsu PC, Huang W, Yao WJ, Wu MH, Guo YL, Lambert GH: Sperm changes in men exposed to polychlorinated biphenyls and dibenzofurans *JAMA.* 2003 Jun 11;289(22):2943-4.

Juhler RD, Larsen SB, Meyer O, Jensen ND, Spano M, Giwercman A, Bonde JP: Human semen quality in relation to dietary pesticide exposure and organic diet. *Arch Environ Contam Toxicol* 37: 415-423, 1999

Kamijima M, Hibi H, Gotoh M, Taki K, Saito I, Wang H, Itohara S, Yamada T, Ichihara G, Shibata E, Nakajima T, Takeuchi Y: A survey of semen indices in insecticide sprayers. *J Occup Health*. 2004 Mar;46(2):109-18.

Koifman S, Koifman RJ, Meyer A: Human reproductive system disturbances and pesticide exposure in Brazil. *Cad Saude Publica*. 2002 Mar-Apr;18(2):435-45. Epub 2002 Aug 16.

Kurinczuk, JJ Clarke M: Case-control study of leatherwork and male infertility. *Occup Environ Med* 58: 230-238, 2001

Leary FJ, Ressegueie LJ, Kuriland LT, O'Brien PC, Emslander RF, Noller KL: Males exposed in utero to diethylstilbestrol. *JAMA* 7: 2984-2989, 1984

Marmol-Maneiro L, Fernandez-D'Pool J, Sanchez BJ, Sirit Y: [Seminal profile in workers exposed to cholinesterase inhibitor insecticides] *Invest Clin*. 2003 Jun;44(2):105-17. Spanish.

Migliore L, Naccarati A, Zanello A, Scarpato R, Bramanti L, Mariani M: Assessment of sperm DNA integrity in workers exposed to styrene. *Hum Reprod*. 2002 Nov;17(11):2912-8.

Naccarati A, Zanello A, Landi S, Consigli R, Migliore L: Sperm-FISH analysis and human monitoring: a study on workers occupationally exposed to styrene. *Mutat Res*. 2003 Jun 6;537(2):131-40.

Padungtod C, Hassold TJ, Millie E, Ryan LM, Savits DA, Christiani DC, Xu X: Sperm aneuploidy among Chinese pesticide factory workers: scoring by the FISH method. *Am J Ind Med* 36: 230-238,1999

Padungtod C, Savits DA, Overstreet JW, Christiani DC, Ryan LM, Xu X: Occupational pesticide exposure and semen quality among Chinese workers. *J Occup Environ Med* 42: 982-992, 2000

Recio R, Robbins WA, Borja-Aburto V, Moran-Martinez J, Froines JR, Hernandez RM, Cebrian ME: Organophosphorous pesticide exposure increases the frequency of sperm sex null aneuploidy. *Environ Health Perspect*. 2001 Dec;109(12):1237-40.

Richthoff J, Rylander L, Jonsson BA, Akesson H, Hagmar L, Nilsson-Ehle P, Stridsberg M, Giwercman A: Serum levels of 2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (CB-153) in relation to markers of reproductive function in young males from the general Swedish population. *Environ Health Perspect*. 2003 Apr;111(4):409-13.

Rozati R, Reddy PP, Reddanna P, Mujtaba R: Role of environmental estrogens in the deterioration of male factor fertility. *Fertil Steril*. 2002 Dec;78(6):1187-94.

Sanchez-Pena LC, Reyes BE, Lopez-Carrillo L, Recio R, Moran-Martinez J, Cebrian ME, Quintanilla-Vega B: Organophosphorous pesticide exposure alters sperm chromatin structure in Mexican

agricultural workers. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2004 Apr 1;196(1):108-13.

Selevan SG, Bordovec L, Slott VL, Zudova Z, Rubes J, Evenson DP, Perreault SD: Semen quality and reproductive health of young Czech men exposed to seasonal air pollution. *Environ Health Perspect* 108: 887-894, 2000

Smith JL, Garry VF, Rademaker AW, Martin RH: Human sperm aneuploidy after exposure to pesticides. *Mol Reprod Dev.* 2004 Mar;67(3):353-9.

Swan SH, Kruse RL, Liu F, Barr DB, Drobnis EZ, Redmon JB, Wang C, Brazil C, Overstreet JW; Study for Future Families Research Group: Semen quality in relation to biomarkers of pesticide exposure. *Environ Health Perspect.* 2003 Sep;111(12):1478-84.

Tan LF, Wang SL, Sun XZ, Li YN, Wang QL, Ji JM, Chen LS, Wang XR: [Effects of fenvalerate exposure on the semen quality of occupational workers] *Zhonghua Nan Ke Xue.* 2002;8(4):273-6.

Tomenson JA, Taves DR, Cocett ATK, McCusker J, Barraj L, Francis M, Pastoor TP, Wickramaratne GSD, Northrop HL: An assessment of fertility in male workers exposed to Molinate. *J Occup Environ Med* 41: 771-787, 1999

Wang SL, Wang XR, Chia SE, Shen HM, Song L, Xing HX, Chen HY, Ong CN: A study on occupational exposure to petrochemicals and smoking on seminal quality. *J Androl* 22, 73-78, 2001

Wong WY, Zielhuis GA, Thomas CM, Merkus HM, Steegers-Theunissen RP: New evidence of the influence of exogenous and endogenous factors on sperm count in man. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2003 Sep 10;110(1):49-54.

Younglai EV, Foster WG, Hughes EG, Trim K, Jarrell JF: Levels of environmental contaminants in human follicular fluid, serum, and seminal plasma of couples undergoing in vitro fertilization. *Arch Environ Contam Toxicol.* 2002 Jul;43(1):121-6.

表 2 - 1 1 - 1 内分泌かく乱化学物質と精子数に関するコホート研

著者・年	調査地域・対象	化学物質等	結果
Leary, 1984	米国 暴露群/非暴露群 = 828/676 ( 精液検査実施群 : 110/95 )	DES	精子濃度対数平均値 ( $\times 10^6$ /ml ) 暴露/非暴露 = 3.788/3.759



表 2 - 1 1 - 2 内分泌かく乱化学物質と精子数に関するコホート内

著者・年	調査地域・対象	化学物質等	結果
Kurinczuk, 2001	イングランド 症例（不妊症）/対象 = 1606/1013	有機溶媒 非特定	症例における比率 皮革業：1.10 (p=0.99) 有機溶媒使用：1.73 (p<0.001) 皮革業従事者における比率 乏精子症：1.20(p=0.73) 精子奇形症：1.65(p=0.51)

表 2 - 1 1 - 3 内分泌かく乱化学物質と精子数に関する症例対照研究

著者・年	調査地域・対象	化学物質等	結果
Migliore, 2002	イタリア 暴露群 <sup>*</sup> /非暴露群 <sup>**</sup> = 46/27 <sup>*</sup> 強化プラスチック加工工場従事 <sup>**</sup> 近隣在住の健康なボランティア男性	スチレン	両群間で通常の精液検査結果の有意差なし コメット法による精子核DNA断片化の度合い： 暴露群/非暴露群=10.9/7.4 ( p<0.001 )
Tan, 2003	中国 暴露群 <sup>*</sup> /非暴露群 <sup>**</sup> = 32/46+22 <sup>*</sup> 殺虫剤工場に勤務する職業性暴露群 <sup>**</sup> 内部対照群46、外部対照群22	フェンバレレート	精子数平均値 ( ×10 <sup>6</sup> /ml ) に有意差あり： 暴露/非暴露 ( 内部/外部 ) = 53.96 / (89.45/113.24) ( 内外両対照に対して有意差あり、p<0.05 ) その他に暴露群では： 精子の粘性、凝固、濃度の異常率が内外両対照に比べて有意に増加 ( p<0.05 )
Naccarati, 2003	イタリア ( Tuscany ) 暴露群 <sup>*</sup> /非暴露群 <sup>**</sup> = 18/13 <sup>*</sup> 繊維強化プラスチック製造従事者 <sup>**</sup> 同地域に住む非暴露男性 ( 精液所見は両群ともに正常 )	スチレン	FISH法による精子染色体検査において、暴露群と非暴露群間で、異数性および二倍性の頻度に有意差なし  精子核染色体の数的異常に関してはスチレン暴露以外の因子 ( 年齢、喫煙 ) が関連
Hsu, 2003	台湾 暴露群/非暴露群 = 40/28 暴露群：油症登録者 非暴露群：近隣住民	PCB/PCDF	精子正常形態率： 暴露/非暴露 = 27.5/23.3、 p=0.04 精子減少症率： 暴露/非暴露 = 9/1、 p=0.04 精子卵母細胞貫通率： 暴露/非暴露 = 16.2/32.4、 p<0.01 ムスタ-卵母細胞結合率： 暴露/非暴露 = 1.6./2.7、 p<0.01

著者・年	調査地域・対象	化学物質等	結果
Marmol-maneiro, 2003	スペイン 暴露群 <sup>a</sup> /非暴露群 <sup>ab</sup> = 29/30 <sup>a</sup> 殺虫剤職業性 露した男性29例(20-54歳) <sup>ab</sup> 年齢を揃えた非暴露男性	コリンエステラーゼ阻害剤 系殺虫剤	暴露群と非暴露群間で精子濃度、運動性、生存率の平均値に有意差あり (p=<0.05)
Duty, 2003-2	アメリカ合衆国 男性不妊外来を受診した168名 症例/対照 <sup>a</sup> = 91/77 <sup>a</sup> 精子濃度、運動率、形態のいずれか1つでも基準値未満 <sup>ab</sup> 上記パラメータが全て基準値以上	尿中フタル酸代謝産物： MEP, MMP, MEHP, MBP, MB <sub>2</sub> P, MOP, MINP, MCHP,	用量反応性の関連あり： 尿中暴露レベルによって3群に分け、最も低い濃度群におけるリスクを1.0とした時のオッズ比 MBPと精子運動能 (1.0, 1.8, 3.0, p=0.02) MBPと精子濃度 (1.0, 1.4, 3.3, p=0.07) MB <sub>2</sub> Pと精子濃度 (1.0, 1.4, 5.5, p=0.02)
Swan, 2003	アメリカ合衆国 (ミズーリ州、ミネソタ州) 妊娠女性の配偶者 症例/対照 <sup>a</sup> = 34 <sup>a</sup> /52 <sup>b</sup> <sup>a</sup> 精子濃度、運動率、形態の全てが基準値未満 <sup>ab</sup> 上記パラメータが全て基準値以上 <sup>a</sup> 34 = 25(ミズーリ) + 9(ミネソタ) <sup>b</sup> 52 = 25(ミズーリ) + 27(ミネソタ)	農薬： アラクロル、IMPY、アトジン メトアラクロル、アラクロル、IMPY 2,4-ジクロロフェニ酢酸 (2,4-D)、アトジン、DEET アセトクロル	農薬と精液の質との間に関連あり ミズーリ州男性の症例は対照に比べて： アラクロル、アトジン、IMPYの濃度平均値が有意に高かった (p値はそれぞれ、0.0007, 0.012, 0.0004) 上記農薬が高濃度である頻度が有意に高かった (オッズ比はそれぞれ、30.0, 11.3, 16.7) ミズーリ州の男性はミネソタ州の男性に比べて： アラクロル、IMPY、アトジン、メトアラクロル濃度が検出限界値を越える頻度が有意に高かった (p値はそれぞれ、<0.0001, 0.001, 0.004, <0.0001) ミネソタ州の男性では： 症例と対照の間に農薬濃度の有意差なし

著者・年	調査地域・対象	化学物質等	結果
Hauser, 2003	アメリカ合衆国 男性不妊外来を受診した212名 症例/対照** = 114/98 *精子濃度、運動率、形態のいずれか1つでも基準値未満 **上記パラメータが全て基準値以上	PCB、DDE	用量反応性の関連あり： 血清中の暴露レベルによって3群化し、最も低い濃度群におけるリスクを1.0とした時のオッズ比 PCB-138と運動能 ( 1.0, 1.68, 2.35、p=0.03) PCB-138と精子形態 ( 1.0, 1.36, 2.53、p=0.04)
Wong, 2003	オランダ 症例/対照** = 73/92 *不妊男性、精子濃度5-20million/ml **妊孕能の確認された男性	多数の因子 ( 職業、環境、生活様式等 )	精子減少症のリスクとなる暴露因子： 農薬(OR : 8.4、CI:1.3-52.1 )、溶接業(OR : 2.8、CI:0.9-8.7 )、抗生物質の使用 : (OR : 15.4、CI:1.4-163 ) おたふく風邪(OR : 2.9、CI:1.3-6.7 )、胃腸症状(OR : 6.2 CI:1.4-26.8 )、果物摂取不足(OR : 2.3、CI:1.0-5.1 ) 野菜の摂取不足(OR : 1.9、CI:0.7-5.0 )、家族因子としての女性の生殖疾患(OR : 8.4、CI:1.7-41.9 )

表 2 - 1 1 - 4 内分泌かく乱化学物質と精子数に関する横断面研究

著者・年	調査地域・対象	化学物質等	結果
Padungtod, 1999	中国 暴露群/非暴露群 = 32/43 (染色体、精液検査実施群 : 13/16)	有機リン酸系農薬 ethylparathion methamidophos	精子濃度中央値 : 52.8/53.1 ( $\times 10^6/ml$ ) 精子運動率 : 50.5/61.3(%) 異常形態精子率 : 59/61.5(%) 精子染色体異常の出現率が暴露群で1.51倍
Tomenson , 1999	米国 農薬生産加工に携わる272人 高暴露レベル : 生産加工実施期間 低暴露レベル : 非実施期間	農薬 モリネート S-ethyl hexahydro- 1H-asepene-1- carbothioate	精液所見、内分泌ホルモン値が暴露レベルと 関連して変動する傾向なし
Juhler, 1999	デンマーク 農業従事者256 (従来農法171、有機農法85)	農薬40種	精子濃度中央値 ( $\times 10^6/ml$ ) N/M/H : 62/44/75 p=0.40
Padungtod, 2000	中国 暴露群/非暴露群 = 32/43 (精液検査実施群 : 20/32)	有機リン酸系農薬 ethylparathion methamidophos	線形回帰分析 精子濃度 : 35.9/62.8 ( $\times 10^6/ml$ ) p<0.01 運動率 : 47/57(%) p=0.03
Selevan, 2000	チェコ 暴露群/非暴露群 = 215/193 (精液検査実施群 : 154/118)	大気汚染の影響 PM10, PM-TSP, SO2, NOx, CO	精子濃度平均値 (中央値) 61.7(49.5)/60.6(39.0) ( $\times 10^6/ml$ )

著者・年	調査地域・対象	化学物質等	結果
Wang, 2001	中国 暴露群/非暴露群 = 68/130 対照（非暴露・非喫煙）：49 非暴露・喫煙：81 暴露・非喫煙：23 暴露・喫煙：45	石油化学物質 gasoline, styrene benzene, toluene xylene, acetic acid 他 および喫煙	精子濃度平均値（ $\times 10^6/ml$ ） 対照（非暴露・非喫煙）：60.07 非暴露・喫煙：55.32 暴露・非喫煙：52.52 暴露・喫煙：41.49* ( $p < 0.05$ 対照に対して)
Recio, 2001	メキシコ 農業従事者の健常男性9名	有機リン系農薬 （有機リン系代謝物： DMTP、DMDTP、DEP）	精子核染色体の異数性と有機リン系農薬暴露との関連： 又ル異数性頻度と尿中DEP濃度* 農薬散布前 =0.13、RR=1.28 農薬散布中 =0.53、RR=2.59 *（年齢、飲酒、精子濃度で調整後のホアリソ回帰分析による）
Hauser, 2002	アメリカ合衆国 男性不妊外来を受診した男性29名 精液所見：不良群/正常群 = 11/18 （精子濃度2000万/ml未満：3例 運動率50%未満：7例、未満：9 正常形態率4% 上記パラメータ2つ以上正常値未満：6）	PCB s	総PCB濃度： 運動率50%未満/正常群=242±34.0/202±16.6 ng/g fat p,p'-DDE濃度： 運動率50%未満/正常群=354±120/240±31.1 ng/g fat （少数例のため有意差検定なし）

著者・年	調査地域・対象	化学物質等	結果
Younglai, 2002	カナダ 体外受精を行った夫婦21組	女性の血液・卵胞液、男性の 精漿中の汚染物質	精漿中の汚染物質は比較的少く、最も高頻度に検出されたのは マイレックスで、7/21例で検出（256-1455pg/ml）。 妊娠例で全て検出されているので、関連は不明 （イントルファン、p,p'-DDE、PCB-99、PCB-138、PCB-153 PCB-138 以上、女性の血清中から検出） （ヘキサコヒタ、1,2,4-トリカヒタ、カドミウム、マイレックス マシ、p,p'-DDE、PCB-49、PCB-153、PCB-180 PCB-138 以上、女性の卵胞液中から検出）
Dallinga, 2002	オランダ 不妊症夫婦の男性配偶者65名 MFS*/FFS** = 34/31 *精液所見不良群 **精液所見正常群（女性因子不妊）	血中・精漿中の有機塩素化 合物： HCB、p,p'-DDT、PCB-118 PCB-153、PCB-138 PCB-180、総PCB PCB代謝物	両群間で有機塩素化合物濃度に有意差なし 年齢と血清中有機塩素系代謝物との間に正の相関 （ $r^2=-0.29$ 、 $p=0.001$ ） FFS群における血中有機塩素代謝物との相関関係 精子数（ $r^2=-0.14$ 、 $p=0.04$ ） 前進性運動率（ $r^2=-0.17$ 、 $p=0.02$ ）
Rozati, 2002	インド 症例*/対照** = 21/32 *男性不妊外来受診者 **妊孕能の確認された男性	精漿中の有機塩素化合物 PCBs フタル酸エステル（PEs）	PCB濃度：症例/対照 = 0/7.63 PE濃度：症例/対照 = 0.06/2.03、 $p < 0.05$ PCB濃度との相関関係（症例）： 精液量（ $r=-0.682$ 、 $p < 0.001$ ） 前進製精子運動率（ $r=-0.477$ 、 $p < 0.05$ ） 精子生存率（ $r=-0.791$ 、 $p < 0.001$ ） PE濃度との相関関係（症例） 精子正常形態率（ $r=-0.7692$ 、 $p < 0.001$ ） 精子の単鎖DNA比率（ $r=-0.855$ 、 $p < 0.001$ ）

著者・年	調査地域・対象	化学物質等	結果
Richthoff, 2003	スウェーデン 一般若年男性305名 <sup>*</sup> (18-21歳) <sup>*</sup> 徴兵前の健康調査対象者から募集	残存有機塩素化合物の 指標物質： 2,2',4,4',5,5'-ヘキサクロロ ジベンゾ-p-ダイオキシン (CB-153)	CB-153暴露は、CASAで評価した精子運動性と血中の テストステロン/SHBG比に対して弱い逆相関あり (それぞれ、 $r = -0.13$ , $p = 0.02$ 、 $r = -0.25$ , $p < 0.001$ )
Duty, 2003-1	アメリカ合衆国 男性不妊外来を受診した141名	尿中フタル酸代謝産物： MEP, MMP, MEHP, MBP, MB <sub>2</sub> P, MOP, MINP, MCHP,	線形回帰分析の結果、MEP濃度とコメット法で検出した 精子核DNA損傷パラメータとの間に関連あり： MEP濃度によって4分した場合、濃度増加分ごとに コメットが3.61 $\mu\text{m}$ 有意に進展し (95%CI, 0.74 ~ 6.47、 $p = 0.015$ )、コメット尾の分布モーメントが1.2 $\mu\text{m}$ 増 加した (95%CI, 0.05 ~ 2.387、境界有意) 他のフタル酸分解物濃度とコメットパラメータ間に 関連なし
Fenster, 2003	アメリカ合衆国 妊娠女性の配偶者164名	トリハロメタン (THM): 総THM (TTHM)として クロロホルム、ブロモホルム、 ブロメジクロロメタン、 ジブロモクロロメタンを含む	トリハロメタン摂取量と精液所見との間の関連： 摂取量で3群化し、最も高いレベルと低いレベルを 比較すると、精子正常形態率の差が-7.1 (95%CI, -12.7 ~-1.6)
Smith, 2004	アメリカ合衆国 健康な男性40名 当該シーズンの農薬使用予定の有無に よって2群化 暴露群/非暴露群 = 20/20	農薬： 除草剤、殺虫剤、防カビ剤 (実際の職業性農薬暴露 の有無をアンケートで確認)	精子染色体の異数性出現率： 2群間に有意差なし



著者・年	調査地域・対象	化学物質等	結果
Dalvie, 2004	南アフリカ共和国 Malaria Control Center 近隣在住の ベディ語を話す労働者60名（精液検査 を受けた人数は48名）	DDT	精液量、精子濃度、総精子数、運動率、正常形態率 と血中のDDT濃度との間に有意な関連なし (平均総精子数：74.6±85.1million/ml 平均精子濃度:93.8±130.3milliom)
Sanchez-Pena, 2004	メキシコ 農業共同体に属する男性33名 疫学調査参加者227名から無作為に 選別	有機リン系農薬 尿中ジアルキルチオリン酸 (DMDTP、DMTP、DEDTP、 DETP、DMP、DEP)	精子核DNA断片化率 (DFI)との関連： 尿中のDETP濃度との間に有意な相関 =0.477、p=0.026) 対象者の平均DFI%は58.48% (同地域の非暴露者では約9%) 対象者の45%が妊孕能低下とみなされるDFI30%以上
Kamijima, 2004	日本 暴露群 <sup>*</sup> /非暴露群 <sup>**</sup> = 18/18 <sup>*</sup> 室内農薬散布従事者 <sup>**</sup> 学生または医師ボランティア	有機リン系農薬	暴露群と非暴露群間で有意差のある生殖機能の指標： 冬のテストステロン値 (689/470ng/dl、p=<0.05) 夏の遅い直進性運動率 (15.6/8.8%、p<0.05) 夏の非直進性運動率 (5.9/2.5%、p<0.05)。 その他の精液所見 (精液量、精子濃度、総精子数、精子生存 率、精子運動率) および血清中のFSH、LH濃度に有意差なし

表 2 - 1 1 - 5 内分泌かく乱化学物質と精子数に関するエコロジカ

著者・年	調査地域・対象	化学物質等	結果
Koifman, 2002	ブラジル（11都市） Brazilian National Health Data System のデータから抽出（年齢20-59歳）	農薬： 殺虫剤、除草剤 防カビ剤、防ダニ剤 その他	1985年の農業売上高と1990年にのける生殖系疾患との間に関連あり： 不妊の疑いで精液検査を受けた比率と農業売上高との間に有意な正の相関 $r=0.6(-0.01-0.88)$

## 2 - 1 2 子宮内膜症

### 〔要旨〕

内分泌かく乱化学物質（ダイオキシンを除く）と、子宮内膜症に関する疫学研究の現状について、文献調査を行った。国立医学図書館の医学文献データベース PubMed を利用して選択した文献は 2000 年 12 月 31 日までに症例対照研究 3 件、横断面研究 1 件であった。2001 年 1 月 1 日以降は症例対照研究 1 件、横断面研究 1 件が報告されていた。日本人を対象とした研究は 1 件もなかった。胎児期の DES 暴露に関する断面研究が 2 件報告されており、暴露群は非暴露群よりも子宮内膜症の有病率が高い傾向にあった。DES 以外の化合物に関して、病院ベースの小規模な症例対照研究が 5 件報告されていた。内膜症症例で、血清 PCB レベルの上昇を認めるものと認めないものがあり、結果は不一致だった。現状では、疫学的知見はきわめて乏しく、化学物質と子宮内膜症との因果関係を適切に判断することは困難と思われた。

### 〔研究目的〕

PCB 等の有機塩素系化合物の一部には、エストロゲン様作用があると考えられている。そのため、これらの物質が、女性の内分泌関連がん（乳がん・子宮体がん）や子宮内膜症の発生に関与する可能性が指摘されてきた。なかでも、ダイオキシンを混入させた食事をアカゲザルに与えたところ、用量反的に子宮内膜症の発生率が上昇したことを、1993 年に Rier らが報告して以来（Rier, 1993）、ダイオキシン等の化学物質とヒト子宮内膜症との関連が疑われてきた（Zeyneloglu, 1997）。有機塩素系化合物などの化学物質（ダイオキシンを除く）と、子宮内膜症に関する疫学研究の現状を把握する目的で、文献レビューを行った。

### 〔研究方法〕

米国立医学図書館の医学文献データベース PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>) を用いて、”endometriosis AND ( Insecticides OR Pesticides OR Chlorinated Hydrocarbons OR PCBs OR Bisphenol OR Phenol OR Phthalate OR Styrene OR Furan OR Organotin OR Diethylstilbestrol OR Ethinyl Estradioldioxins)のキーワードで、2004 年 10 月 31 日までの文献を検索した。候補文献 172 件の中から、ヒト集団を対象とする疫学研究の原著論文を同定した。さらに、これらの原著論文や既存の総説に言及されている論文を選択した。

### 〔研究結果〕

#### 1. 有機塩素系化合物

Gerhard ら（1992）による報告は、症例 28 例と、病院対照 441 例を用いて、ドイツで行われた。PCB138、153、180 の血清レベルが、対照より症例で有意に高かった。

Boyd ら（1995）の報告は、症例 15 例と対照 15 例を用いて米国で行われ、症例と対照で、ダイオキシン類、フラン類、PCB 類のレベルに差を認めなかった。

Lebel ら（1998）の報告は、症例 86 例と、腹腔鏡検査を行った病院対照 70 例を用いて、カナダで行われた。症例と対照で、各種化合物の血漿濃度にはすべて有意差がなく、オッズ比にもすべて有意差がなかった。

Pauwels ら（2001）によるベルギーでの、不妊症のため来院した女性での症例対照研究では、腹腔鏡で確診した症例と内膜症以外の原因での不妊症女性とにおいて血清中 PCB のレベルに

差はみられなかった。

Heilier ら (2004) によるベルギーでの横断面研究では、血清中 PCB レベルは、子宮腺筋症で高く、内膜症と対照で同程度のレベルであった。

## 2. Diethylstilbestrol

米国の不妊女性 397 例を対象とした Stillman らの報告では、胎児期の DES 暴露歴がある女性における子宮内膜症の有病率は 50% (10/20) で、暴露歴がない女性の有病率 39% (146/377) よりも高かったが、有意差はなかった ( $P>0.05$ )。

一方、米国の不妊女性 100 例を対象とした Berger らの報告では、胎児期の DES 暴露歴がある女性における子宮内膜症の有病率は 64% (32/50) で、年齢をマッチさせた、暴露歴がない女性の有病率 40% (20/50) よりも有意に高かった ( $P<0.01$ )。

## 3. 農薬

Garry ら (2002) による米国の有資格農薬散布者での横断面研究では、その配偶者の有病率が都市居住者に比べて地方居住者で高いことが示されているが、農薬暴露との関連は不明である。

### 〔考察〕

内分泌かく乱化学物質と子宮内膜症についての疫学研究をレビューしたところ、比較的少数の研究が存在するのみであることが明らかになった。

胎児期の DES 暴露に関する二つの断面研究では、非暴露群よりも暴露群で子宮内膜症の有病率が高い点で共通していたが、一方には統計的有意差がなかった。

DES 以外の化学物質に関する研究は、2000 年 12 月 31 日以前の文献では、症例で PCB レベルの上昇を認めるものと認めないものがあり不一致であった。2001 年 1 月 1 日以降の文献では血清中 PCB レベルは症例と対照で差がないという報告が 1 件あった。

以上のように、EDC と子宮内膜症との関連についての疫学研究の知見は、現状ではきわめて少なく、両者の因果関係を適切に評価するには不十分である。また、日本人での研究はなかった。この点について信頼性の高い研究デザインを用いた研究の必要性が示唆された。

### 〔結論〕

内分泌かく乱化学物質と、子宮内膜症についての疫学研究をレビューしたところ、現時点での実証的知見はきわめて乏しく、両者の因果関係を適切に評価することは困難であった。また、日本人での研究はなく、この点について信頼性の高い研究デザインを用いた研究の必要性が示唆された。

### 〔参考文献〕

Berger MJ, Alper MM. Intractable primary infertility in women exposed to diethylstilbestrol in utero. *J Repro Med* 1986;31:231-5.

Boyd J, Clark G, Walmer D, Patterson D, Needham L, Lucier G. Endometriosis and the environment: biomarkers of toxin exposure. *Endometriosis 2000*, Bethesda, MD, 1995.

Garry VF, Harkins M, Lyubimov A, Erickson L, Long L. Reproductive outcomes in the women of the Red River Valley of the north. I. The spouses of pesticide applicators: pregnancy loss, age at menarche, and exposures to pesticides. *J Toxicol Environ Health A*. 2002;65:769-86.

Gerhard I, Runnebaum G. [The limits of hormone substitution in pollutant exposure and fertility disorders]. *Zentralbl Gynakol* 1992;114:593-602. (in German)

Lebel G, Dobin S, Ayotte P, Marcoux S, Ferron LA, Dewailly É. Organochlorine exposure and the risk of endometriosis. *Fertil Steril* 1998;69:221-8.

Pauwels A, Schepens PJ, D'Hooghe T, Delbeke L, Dhont M, Brouwer A, Weyler J. The risk of endometriosis and exposure to dioxins and polychlorinated biphenyls: a case-control study of infertile women. *Hum Reprod*. 2001;16:2050-5.

Rier SE, Martin DC, Bowman RE, Dmowski WP, Becker JL. Endometriosis in rhesus monkey (*Macaca mulatta*) following chronic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-dioxin. *Fundam Appl Toxicol* 1993;21:433-41.

Stillman RJ, Miller LRC. Diethylstilbestrol exposure in utero and endometriosis in infertile females. *Fertil Steril* 1984;41:369-72.

Zeyneloglu HB, Arici A, Olive DL. Environmental toxins and endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 1997;24:307-29.

表 2-1 2-1 内分泌かく乱化学物質と子宮内膜症に関する症例対照研究

地域・対象者数	化合物等	血清での検出率		レベルの比較		P値	カテゴリー毎のオッズ比					
		症例	対照	症例	対照		1.00	2	3	4	5	P trend
Gerhard, 1992 ドイツ 症例28 対照441	PCB s Chlorinated pesticides			PCB 138, 153, 180の血清レベル が、症例で有意に高い。								
Boyd, 1995 米国 症例15 対照15	Dioxins Furans PCBs			関連なし								
Lebel, 1998 カナダ 症例86 対照70				漿幾何平均値 ( mcg/g lipid )								
	PCB28			2.2	2.2	NS						
	PCB52			2.3	2.1	NS						
	PCB99			8.3	7.5	NS						
	PCB101			2.7	2.5	NS						
	PCB105			2.0	1.9	NS						
	PCB118			8.3	8.5	NS						
	PCB138			23.0	22.1	NS						
	PCB153			30.7	29.7	NS						
	PCB156			4.2	4.3	NS						
	PCB170			6.4	6.3	NS						
	PCB170			18.3	17.8	NS						
	PCB183			2.3	2.1	NS						
	PCB187			6.5	6.4	NS						
	Beta-HCH			13.4	11.6	NS						
	HCB			16.9	16.9	NS						
	Mirex			3.4	3.1	NS						
	Oxychlordane			6.7	6.9	NS						
	Trans-nonachlor			9.9	9.9	NS						
	p,p'-DDE			227.4	218.2	NS						
	p,p'-DDT			9.2	9.1	NS						
	Total PCB <sup>3)</sup>			123.5	119.3	NS						
	Total chlordane <sup>4)</sup>			22.4	22.3	NS						
	Total DDT <sup>5)</sup>			238.2	229.0	NS						
Pauwels, 2001 ベルギー 1996-1998 病院ベース 不妊症のため来院した女性 症例42(25~42歳) (腹腔鏡で確診) 対照27(24~41歳)	TEQ <sup>6)</sup> PCB118 PCB138 PCB153 PCB180	34/42 40/42 40/42 40/42 39/42	24/27 25/27 24/27 25/27 25/27	血清中央値 ( pg TEQ/g脂 )								
				29	27	NS						
				26	21	NS						
				69	59	NS						
				89	78	NS						
				68	55	NS						

1) オッズ比 ( 95%信頼区間 ) =7.6(0.87-169.7)。

2) 多変量オッズ比はすべて有意差なし。

3) PCB 28, 52, 99, 101, 105, 118, 128, 138, 153, 156, 170, 180, 183, 187 の合計。

4) alfa-chlordane, gamma-chlordane, trans-nonachlor, oxychlordane, cis-nonachlor の合計。

5) p,p'-DDE, p,p'-DDTの合計。

6) CALUXバイオアッセイによる。

表 2-1 2-2 内分泌かく乱化学物質と子宮内膜症に関する横断面研究

地域・対象者数	化合物等	暴露等	有病率	P値
Garry, 2002 米国 Red River Valleyの5地域 有資格農業散布者3000名 から無作為抽出した1340名 のうち1070名の男性。 既婚者851名のうちの 802名の配偶者(女性)。	農業	居住地 地方 都市	32/332 (9.6%) 記載なし) 9/125 (7.2%)	
Heilier, 2004 ベルギー ひとつの病院? 腺筋症10名 内膜症(中程度以下)7名 対照10名 11種の血清PCBを分析	PCB11種	血清中レベル(ng/g脂肪)1) 腺筋症:約325 内膜症(中程度以下):約200 対照:約200		

1) グラフより読み取った値。

## [ 免疫機能への影響 ]

### 2 - 1 3 免疫機能 (アレルギー) への影響

#### [ 要旨 ]

内分泌かく乱物質とアレルギーに関する疫学研究の現状について文献的考察を行った。米国立医学図書館の医学文献データベース PubMed を利用して選択した文献は2004年10月31日までに5件で、コホート研究3件、症例対照研究1件、横断研究1件であった。日本人を対象とした研究は1件もなかった。文献的に考察した結果、バックグランドレベルのPCB・ダイオキシン暴露がアレルギーを減少するとのコホート研究が3件あり、逆にさい帯血のIgEを検討した横断研究や、高濃度暴露群での症例対照研究ではアレルギーを促進する方向に関連していた。現時点では、成人期の大量のPCB暴露はアレルギーを増加し、胎児期、乳幼児期のバックグランドレベルのPCB・ダイオキシン暴露はアレルギー減少する方向に働くことが考えられるが、報告が少なく、結論は得られない。アレルギーへの影響については研究に乏しく、今後、日本でも前向きな疫学研究で検証する必要がある。

#### [ 研究目的 ]

PCB、ダイオキシン等の有機塩素系化合物の中には免疫系に影響を与え、ひいては近年のアレルギー性疾患の罹患率の上昇に影響を与えることが示唆されているものがある。PCB等の有機塩素系化合物などの化学物質とアレルギーへの影響に関する疫学研究の現状を把握する目的で、文献レビューを行った。

#### [ 研究方法 ]

米国立医学図書館の医学文献データベース PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>)をもちいて(allergy OR atopy) AND (insecticides OR pesticides OR chlorinated hydrocarbons OR PCBs OR phenol OR phthalate OR styrene OR furan OR organotin OR diethylstilbestrol OR ethinyl estradiol) AND (human)のキーワードで文献を検索した。候補論文のなかからヒト集団を対象とする疫学研究の原著論文を同定した。さらに、これらの原著論文や、他の総説論文に言及されている論文を選択した。台湾油症の研究では、PCBの大量暴露が皮膚アレルギー性疾患の罹患率の増加に関連し、スロバキアの研究でもPCB暴露がさい帯血IgE濃度の上昇に関連し、PCB暴露がアレルギー性疾患へ関連することが示唆されていた。しかし、オランダの2つのコホート(3論文)では、バックグランドレベルのPCB・ダイオキシン暴露がアレルギーを減少させるとしている。今後、さらにアレルギー性疾患への影響を検討する必要がある。

#### [ 研究結果 ]

##### 1. PCB・ダイオキシン

###### 1) コホート研究

Weisglas-Kuperus ら (2000) は、オランダのPCB/ダイオキシン研究において、就学前までのフォローアップを行い、ロッテルダム地区で1990年6月～1992年2月に登録された207組の健常白人系親子からなるコホート群の免疫系への影響を評価した。PCB暴露は、母体血とさい帯血中、母乳中、児の42ヶ月時のPCB-118, -138, -153, -180の総計と定義した。母乳について



は17種類のダイオキシン類も測定した。193人が解析対象となった。周産期のPCB暴露は喘鳴を伴う息切れの率の低下と関連していた( $\Sigma$ PCB(母体血) OR=0.44, P=0.05)。最近のPCB暴露は再発性の中耳炎の増加( $\Sigma$ PCB(児血) OR=3.06, P=0.02)、水痘の増加( $\Sigma$ PCB(児血) OR=7.63, P=0.03)、喘息/気管支炎の減少( $\Sigma$ PCB(児血) OR=0.01, P=0.01)と関連していた。また、母乳のmono-orthoとplanner PCBのTEQが再発性の中耳炎の増加に関連し

(mono-ortho PCB TEQ OR1.17, P=0.01; planner PCB TEQ OR 1.10, p=0.04)、dioxin TEQは咳、胸部うっ血、喀痰に関連していた(OR=1.06, P=0.04)。以上によりPCB暴露は感染症への罹患を増やし、それがアレルギー罹患の低下につながる可能性があると考えられている。

しかし、同じ研究で学童期までフォローアップを続けた結果では(Weisglas-Kuperusら、2004)、167人が解析対象となった。周産期のPCB暴露は3から7歳の水痘の罹患率低下に関連していた( $\Sigma$ PCB(母体血) OR=0.53, P=0.03;  $\Sigma$ PCB(さい帯血) OR=0.04, P=0.02)。喘鳴を伴う息切れの率も低下した。( $\Sigma$ PCB(母体血) OR=0.59, P=0.04)。出生後のPCB暴露は再発性の中耳炎に関連していた( $\Sigma$ PCB(母乳)\*母乳期間 OR=1.19, P=0.04)。ここでは、感染症の増加と一貫した関連は認めず(水痘は減少、中耳炎は増加)、バックグラウンドレベルのPCB暴露は免疫系に影響を与える可能性があるとの考察になっている。

Tusscherら(2003)はオランダ35組の健常白人系親子からなるコホート群において血液・免疫系への影響を評価している。ダイオキシン暴露は、母乳中のdioxin-like PCBを除いたダイオキシンのTEQで評価した。そのため、総ダイオキシン(dioxin+dioxin-like PCB)はdioxin-like PCBを除いたダイオキシンのTEQを2倍した。初期の、母乳中のダイオキシンTEQを周産期の暴露指標、母乳期間を加味して出生後の暴露指標とした。

27人が解析対象となった。周産期のダイオキシン暴露はアレルギーの減少と関連していた(P=0.023)。また、出生後のダイオキシン暴露もアレルギーの減少に関連していた(P=0.03)。

## 2) 症例対照研究

Guoら(1999)は、油症患者のうち30歳以上の1144人、コントロールは1135人を対象とし、インタビューで病院の治療歴を調査した。暴露群795人、コントロール693人が解析対象となった。暴露群で皮膚アレルギーのオッズ比が、男性がOR 2.1、女性がOR 2.6であった。

## 3) 断面研究

Reichrtovaら(1999)は、スロバキアの2地域(industrial and rural)の満期産2050からランダムに120を選択した。暴露は胎盤中の塩素化ベンゼン、有機農薬、PCBを測定した。また、さい帯血のIgEを測定した。120人が解析対象となった。さい帯血のIgEはp,p'-DDE( $r=0.3294$ , P=0.01)とPCB118( $r=0.3824$ , P=0.006)と有意に関連していた。

## 2. その他の物質

先の、Reichrtovaら(1999)のさい帯血のIgEとp,p'-DDE( $r=0.3294$ , P=0.01)の関連の報告以外にはみられなかった。

### 〔考察・結論〕

台湾油症の研究では、PCBの大量暴露が皮膚アレルギー性疾患の罹患率の増加に関連し、スロバキアの研究でもPCB暴露がさい帯血IgE濃度の上昇に関連し、PCB暴露がアレルギー性疾患へ関連することが示唆されていた。しかし、オランダの2つのコホート(3論文)では、バックグラウンドレベルのPCB・ダイオキシン暴露がアレルギーを減少させるとしている。現時点では、成人期の大量のPCB暴露はアレルギーの罹患を増加し、胎児期、乳幼児期のバックグ

ランドレベルのPCB・ダイオキシン暴露はアレルギーの罹患を減少させる方向に働くことが考えられるが、報告が少なく、結論は得られない。アレルギーへの影響については研究に乏しく、今後、日本でも前向き疫学研究で検証する必要がある。

〔参考文献〕

Guo YL, Yu ML, Hsu CC, Rogan WJ: Chloracne, goiter, arthritis, and anemia after polychlorinated biphenyl poisoning: 14-year follow-up of the Taiwan Yucheng cohort. *Environ Health Perspect.* 1999 ;107:715-9

Reichrtova E, Ciznar P, Prachar V, Palkovicova L, Veningerova M. Cord serum immunoglobulin E related to the environmental contamination of human placentas with organochlorine compounds. *Environ Health Perspect.* 1999; 107: 895-9

ten Tusscher GW, Steerenberg PA, van Loveren H, Vos JG, von dem Borne AE, Westra M, van der Slikke JW, Olie K, Pluim HJ, Koppe JG. Persistent hematologic and immunologic disturbances in 8-year-old Dutch children associated with perinatal dioxin exposure. *Environ Health Perspect.* 2003;111:1519-23.

Weisglas-Kuperus N, Patandin S, Berbers GA, Sas TC, Mulder PG, Sauer PJ, Hooijkaas H: Immunologic effects of background exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins in Dutch preschool children. *Environ Health Perspect.* 2000; 108: 1203-7

Weisglas-Kuperus N, Vreugdenhil HJ, Mulder PG. Immunological effects of environmental exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins in Dutch school children. *Toxicol Lett.* 2004 ;149:281-5.

表 2-1 3-1 内分泌かく乱物質とアレルギーに関するコホート研究

地域・対象者	対象者数	追跡期間	化合物	検討された交絡要因	オッズ比等
Weisglas-Kuperus, 2000 オランダ	193人	1990～1992 から42月	PCB-118 PCB-128 PCB-153 PCB-180 (以上、母体血、臍帯血、 母乳、幼児血 - 42ヶ月時) dioxin(母乳のみ)	性 初期の栄養(母乳か人工か) 母乳の期間 第1子か否か 両親の教育歴 両親の喫煙 両親のアトピー 保育所	喘鳴を伴う息切( PCB(母体血) OR = 0.44, P=0.05) 再発性の中耳炎( PCB(幼児血) OR = 3.06, P=0.02) 水痘( PCB(幼児血) OR = 7.63, P=0.03) 喘息/気管支炎( PCB(児血) OR = 0.01, P=0.01) 再発性の中耳炎 (mono-ortho PCB TEQ(母乳) OR1.17, P=0.01; planner PCB TEQ(母乳) OR 1.10, p=0.04) 咳、胸部うっ血、喀痰 (dioxin TEQ(母乳) OR=1.06, P=0.04)
Tusscher, 2003 オランダ	27人	1994～ 8年間	dioxin (dioxin-like PCBを除く) 母乳	なし	周産期のダイオキシン暴露はアレルギーの減少と関連 (slope=-0.414, P=0.023) 出生後のダイオキシン暴露もアレルギーの減少に関連 (slope=-0.06, P=0.03)
Weisglas-Kuperus, 2003 オランダ	167人	1990～1992 から7年	PCB-118 PCB-128 PCB-153 PCB-180 (以上、母体血、臍帯血、 母乳、幼児血 - 42ヶ月時) dioxin(母乳のみ)	性 初期の栄養(母乳か人工か) 母乳の期間 第1子か否か 両親の教育歴 両親の喫煙 両親のアトピー 保育所	水痘( PCB(母体血) OR = 0.53, P=0.03; PCB(臍帯血) OR=0.04, P=0.02) 喘鳴を伴う息切れ( PCB(母体血) OR = 0.59, P=0.04) 再発性の中耳炎 ( PCB(母乳)*母乳期間OR = 1.19, P=0.04)

表 2 - 1 3 - 2 内分泌かく乱物質とアレルギーに関する症例対照研究

地域・対象者	症例	対象	化合物	オッズ比等
Guo 1999 台湾	795人 (台湾油症)	693人	PCB、 PCDF	皮膚アレルギー 男性 OR 2.1 (95%CI 1.3-3.4) 女性 OR 2.6 (95%CI 1.8-4.0)

表 2 - 1 3 - 3 内分泌かく乱物質とアレルギーに関する断面研究

地域・対象者	対象者数	化合物	検討された交絡要因	オッズ比等
Reichrtova, 1999 スロバキア	120人	塩素化ベンゼン、有機農薬 PCB ( 28, 52, 101, 118, 138, 153, 180 ) (胎盤中)	なし	臍帯血IgEとp,p'-DDE (r=0.3294, P=0.01) 臍帯血IgEとPCB118 ( r = 0.3824, P=0.006)

### 3 まとめ

(下線部が 2001 年以降の新たな知見)

#### [ 発がん影響 ]

- 日本人でのエビデンスはない。
- 複数のコホート内症例対照研究の成績より、有機塩素系化合物（PCB や主な有機塩素系農薬）と乳がんとの関連がないことを支持する十分な知見がある。しかしながら、層別解析（閉経前か閉経後か、遺伝子多型など）で関連が強く出る可能性を示唆する報告があり、影響を受けやすいサブグループの存在が今後の検討課題である。
- 複数のコホート研究の成績より、DES の経口投与による 20～30%程度の乳がんリスクの上昇と関連があることを支持する十分な知見がある。
- その他の化学物質と乳がんとの関連については、疫学研究の成績は少なく、関連について言及するには知見が不十分である。
- DES と卵巣がんとの関連については、複数のコホート研究の結果が一致しておらず、関連があることを支持するには知見が不十分である。
- その他の化学物質と卵巣がんとの関連については、疫学研究の成績はほとんど存在せず、関連について言及するには知見が不十分である。
- 有機塩素系化合物アトラジンと前立腺がんとの関連は 2 つのコホート研究の結果が一致しておらず、関連について言及するには知見が不十分である。
- その他の化学物質と前立腺がんとの関連については、疫学研究の成績は少なく、関連について言及するには知見が不十分である。
- その他の内分泌系の影響を受ける部位のがん（子宮体部、精巣、甲状腺）との関連については、疫学研究の成績はほとんど存在せず、関連について言及するには知見が不十分である。

#### [ 甲状腺機能への影響 ]

- 複数の横断面研究の成績からは、高濃度の PCB 暴露において甲状腺機能の低下をもたらす可能性が示唆されているが、関連があることを支持するには、知見は不十分であり、より質の高い疫学研究による検証が必要である。
- 比較的 low 濃度の PCB 暴露による乳児の甲状腺機能の低下を示唆する報告があるが、否定するものもあり、関連について言及するには知見が不十分である。
- HCB との関連については複数の報告があるが、多くが横断面研究であり、関連について言及するには知見が不十分である。
- その他の化学物質との関連については、疫学研究の成績は少なく、関連について言及するには知見が不十分である。

#### [ 器官形成への影響 ]

- 子宮内 DES 暴露と尿道下裂との関連が、最近のオランダのコホート研究で示されているが、その他の報告はなく、関連について言及するには知見が不十分である。
- 最近の 1 件のコホート内症例対照研究の成績からは、母親の血清中 DDE と尿道下裂・停留精巣との関連は否定的であるが、他のデータがなく、関連について言及するには知

見が不十分である。

- さい帯血 PCB 濃度と停留精巣との関連がみられなかったという最近のコホート研究からの報告があるが、他にデータがなく、関連について言及するには知見が不十分である。
- その他の化学物質との関連については、疫学研究の成績はほとんど存在せず、関連について言及するには知見が不十分である。

#### [ 小児神経発達への影響 ]

- 有機塩素化合物に関するコホート研究の追跡結果では、出生前暴露と児の神経発達等との間には負の関連性が見られる報告が多いが、他の要因による影響や、暴露・神経発達双方の評価指標や評価時期などが多様であり、関連があることを支持するには知見は不十分である。
- アジアにおけるコホート研究は台湾における「油症」研究の追跡調査しか行われておらず、日本人でのデータはない。

#### [ 生殖機能への影響 ]

- 精子数低下については、化学物質の高濃度暴露群で精子の質の低下があるとする報告が増えているが、精巣毒性による影響である可能性があり、内分泌かく乱作用によることの関連を支持するには知見は不十分である。一般集団での報告は少ない。
- 子宮内膜症との関連については、少数の疫学研究はあるものの成績は一致しておらず、関連について言及するには知見が不十分である。

#### [ 免疫機能への影響 ]

- PCB 暴露とアレルギー性疾患との関連については、成人期の高濃度 PCB 暴露がアレルギーのリスクを増加させるという報告や、胎児期乳幼児期の一般環境レベルの暴露がアレルギーのリスクを減少させるという報告があり、結果が一致せず、関連について言及するには、知見は不十分である。

#### 4 必要な研究の提言

有機塩素系化合物など内分泌系に作用することが試験管内実験などで示されている化学物質による人への健康影響を知る上で、疫学研究からの知見は極めて乏しいのが現状であったのに加え、日本人を対象とした研究はほとんど存在しなかった。しかしながら、欧米においては、PCB や残留有機塩素系農薬の健康影響に対する強い関心から、特に、乳がんを対象として、コホート研究内で保存されている血清を用いた症例対照研究や生体試料測定を含めた大規模な症例対照研究などが複数行われており、重要な科学的根拠を示している。有機塩素系化合物などの化学物質の暴露状況、健康影響が懸念されている疾病の罹患状況、あるいは、エストロゲンなどの内因性ホルモンのレベル、経口避妊薬などの合成ホルモンの使用状況、大豆など植物由来のエストロゲンの摂取量など、交絡要因となり得る要因が大きく異なり、更には、遺伝的素因も異なる可能性のある日本人において、このような化学物質の暴露による健康影響が存在するか否かを検証する事は、極めて重要と考える。現在、厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）による研究班において、乳がん・子宮体がん・尿道下裂・停留精巣・子宮内膜症などの症例対照研究や精子数に関する断面研究、そして、比較的高濃度の化学物質暴露を受けている職域集団における内分泌系への影響を検討する断面研究などが進行中であり、今後その成果が発表されるものと期待されるが、研究デザイン（症例対照研究や断面研究である）や研究数（各疾病1つ程度）を考えると、それらの結果のみでは、このような化学物質の暴露による健康影響についての十分な証拠を得ることは出来ない。

このような状況を脱し、我々人間社会に現実存在し得るレベルでのこのような化学物質による人への健康影響に関して、より質の高い科学的根拠を得るために、以下の様な疫学研究を推進する事を提言する。

##### （1）化学物質暴露と疾病の現状把握とモニタリング

有機塩素系化合物などの化学物質の人への暴露状況について現状を把握するために、日本国民を代表し得る対象者を設定し、生体試料中の化学物質濃度を測定する。また、今後、定期的実施し、このような化学物質の暴露状況を継続的に監視することが望まれる。例えば、国民栄養調査の調査項目を拡大し、国民の健康を脅かす可能性のある化学物質の血中濃度などの測定を含めて行く事が考えられる。

\*米国 CDC 傘下の National Center for Health Statistics が定期的実施する National Health and Nutrition Examination Survey の 1999-2001 実施の調査 NHANES 1999-2001 においては、Environmental Health Profile として、血清や尿中の残留農薬、PCB、ダイオキシン類、植物エストロゲン、フタル酸、多環芳香族炭化水素などの測定を含めている。

化学物質暴露のモニタリングと同時に、その影響として懸念されている疾病のモニタリングも必要になる。国レベルの統計としては、人口動態死亡統計が最も信頼性の高いものであるが、EDC 関連で注目されている乳房、子宮、前立腺、精巣、甲状腺などの部位のがんについては、5年生存率が高く、死亡統計では不十分である。現在、有志地域によるがん登録が行われており、ある程度の罹患の現状と動向については、把握が可能であるが、人口動態統計と同様、国レベルでの実態把握と継続監視が必要である。幸いにも、地域がん登録は、厚生労働省の第3



次対がん10か年総合戦略において重点課題に掲げられており、今後、地域がん登録の精度向上と全国的な標準化が積極的に進められる予定になっている。また、子宮内膜症や精子数、あるいは、器官形成の異常などについても、国レベルでのモニタリング・システムの確立が望まれる。

## (2) 症例対照研究やコホート研究などの疫学を方法論の基盤とした、人を対象とした研究の推進

ある疾病の発生に有機塩素系化合物などの化学物質の暴露が関係しているか否かを実証するためには、疾病を保有している患者さんについてのみ暴露量を測定しても解決しない。また、職業的に化学物質に高度に暴露した人から、化学物質との関連が懸念されている疾病が発生したからといって、それが化学物質暴露に関係しているとは言えない。疫学研究の方法論を用いて、可能な限り偶然・バイアス・交絡による誤りを最小限にする努力をした上で、両者の関連を客観的かつ定量的に表現して初めて科学的根拠となる。本報告書では、それらの科学論文を系統的にレビューすることにより有機塩素系化合物などの化学物質といくつかの疾病との因果関係についての結論を導こうと試みた。残留農薬の乳がん罹患に及ぼす影響については、欧米からは数多くの証拠が提示された結果、因果関係を肯定するに至らないという現状が示されたが、生活習慣や遺伝的素因などが異なる日本人に関するデータは皆無であるが故、日本人に対する影響については未知である。また、他の疾病や化学物質については、研究の数自体限られており、今後、大規模かつ質の高い疫学研究の方法論に基づいた研究の推進が望まれる。

具体的な推進が望まれる研究の例を以下に記す。

### ・各種生体試料を保存しているコホート研究における症例対照研究

有機塩素系化合物などの化学物質を用いた無作為割付臨床試験の実施は、倫理的に許されないう以上、このような化学物質の人への健康影響に関して、最も質の高い証拠を呈示するのは、前向きコホート研究において収集された保存生体試料を用いたコホート内症例対照研究である。コホート集団について、がんや子宮内膜症の罹患を把握する事により、複数の疾病について、様々な化学物質との関連を検証する事が可能となる。血清や尿など生体試料中濃度が、化学物質暴露をどの程度反映するものなのか、測定機器の精度が、保存している検体量で検出可能であるか、など解決すべき問題はあつものの、化学物質の暴露量が多い程、その疾病に罹りやすいか否かについてのデータを得る事が出来る。

現在国内で進行中の大規模コホート研究の中で、血液が保存されている二つの研究（文部科学省研究班によるがんコホート研究 [JACC Study]、及び、厚生労働省研究班による多目的コホート研究 [JPHC Study]）が進行中である。共に、がんについての把握は行われているので、このような化学物質の発がん影響に関する情報を提供する基盤になり得るものであり、実際、厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）による研究班において、多目的コホート研究の保存血漿を用いた乳がんの症例対照研究の分析が行われている。しかしながら、これらの研究において保存されている血液の量は、化学物質を測定するのに十分とは言えない事、採取されたのが主として1990年前後である事などより、将来的にはこのような化学物質の健康影響を目的に含めた新たな大規模コホート研究の開始が望まれる。

### ・妊婦や乳幼児を対象としたコホート研究及び先天異常に対する症例対照研究

母乳のダイオキシンレベル等の化学物質と甲状腺機能の関連や PCB レベルが高い魚を食し

た母の児は神経発達や認知能力の低下、神経機能の障害についての報告があるが、一般人が暴露しているバックグラウンドレベルの低い濃度での影響と機序についてはいまだ説明されていない。特に神経発達への影響の程度、持続性、さらには認知障害のみならず、ADHD（注意欠陥・多動障害）などの行動障害にも関与しているのか、脳の性分化の異常や障害などが引き起こされるのか、などはほとんど未解明である。さらにダイオキシン類の摂取による乳児の末梢血 CD8 陽性細胞割合の減少など、免疫系に影響をあたえる可能性が示唆されるが、実際にアトピー、喘息など小児期の免疫系疾患との関連も十分解明されていない。

多くの化学物質の暴露で神経発達など次世代影響がもっとも鋭敏であることは多くの動物実験でも指摘されているので、妊婦や乳幼児を対象とした人集団での研究、特に胎児期の暴露にも焦点をあてた長期的なコホート研究が望まれる。わが国では、母子手帳の交付をはじめ、数多くの新生児期のスクリーニングなど、すぐれた母子保健の制度がすでに全国的に確立されているので、それらを積極的に活用した大規模な長期的な縦断研究がなされれば諸外国をリードする数多くの知見がえられる可能性がある。胎児期の正確な暴露評価をおこなうこと、生後の発達データとのリンク、など倫理面に配慮した組織だった疫学研究が重要である。

一方、尿道下裂や停留精巣などについては、十分な対象数を確保した上で、前述のコホート研究のエンドポイントの一つとして検討することが望まれるが、コホート研究では十分な症例数を得られない事が予想される。したがって、これらの疾患については、症例対照研究による対応も必要である。北欧諸国では分娩時の段階で、症例とその前後に生まれた新生児（対照群）に対し、同じ調査表で環境要因をはじめとするリスク要因について、生下時の登録と原因究明の体制が整っている。特に、児が大きくなってからの両親への調査では、記憶のバイアスなど、原因の解明には多くの難しい問題が生ずる。

現在、厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）による一つの研究班において、母が妊娠中から立ち上げる前向きコホート研究が開始されているが、本問題の重要性をかんがみて、器官形成期の化学物質の暴露濃度測定を含めた新たなコホート研究を、小児神経発達の評価を含めた長期的な展望にて開始することが望まれる。

#### ・男性生殖機能への影響に関する疫学研究

化学工場の爆発事故や労働作業場での突発事故等による高濃度の化学物質暴露に伴う生殖機能障害の事例については、いくつかの文献が認められた。しかしながら、通常的生活環境において、有機塩素系化合物などの化学物質が生殖機能へ影響を及ぼしているのか否かについては、ほとんど検討されていない。特に、精液所見などの男性生殖機能への影響については、その手技が統一されていない事に加えて、個人内での変動も大きいため、時代間の推移や地域間の差異などの基本的情報について際も、信頼出来るデータが存在しない。今後、地球規模での統一したプロトコールに則った継時的なデータの集積が必要である。現在、Skakkebeakらを中心とした国際共同研究に、日本も参加し、厳密な精度管理の下に、精子濃度や精子運動率の比較調査が実施されているが、更に、化学物質暴露との関連を検証するための断面研究や地域相関研究などの疫学研究に発展させて行く事が望まれる。一方で、精液検査は手間と人手を多く必要としており、生殖機能低下の指標としては必ずしも適切ではない。したがって、疫学研究を推進するためにも、新たな生殖機能をあらわすバイオマーカーの開発が極めて重要である。

現在、厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）による研究班において、生殖機能への影響に関する断面研究やバイオマーカーの開発が開始されているが、さらなる研究が実施されることが望まれる。

#### ・ 職域集団を対象とした疫学研究

比較的高濃度の化学物質に暴露されている職域集団を対象とした観察型の疫学研究が、これまでに化学物質のハザード評価及びリスク評価において果たした役割は大きい。日本は職域集団が比較的固定しており、作業環境測定や健康診査などの制度に基づく情報が比較的豊富に存在するため、職域コホートを利用した疫学研究からの成果が期待出来るものと考えられる。研究デザインとしては、有機塩素系化合物などの化学物質に暴露された者を対象とした後ろ向きコホート研究が一般的にはもっとも効率が良いと考えられるが、過去には使用されていなかった化学物質に対しては前向き調査を行う必要がある。いずれの場合も研究の精度を高めるために、複数の職域にまたがった大規模なコホートを作ることが望ましい。今後、新たに内分泌かく乱作用が明らかになる物質が出現し、その健康影響が問題となる可能性もあるため、すべての職域における個々人の暴露情報を登録するシステムを確立しておくことも有意義であると考えられる。エンドポイントが疾患ではない場合についてはエンドポイント評価に適切なバイオマーカーを利用する必要があり、その開発、及び指標としての妥当性の検討も急がれる。

現在、厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）による研究班において、職域集団を対象とした疫学研究が開始されているが、さらなる研究が実施されることが望まれる。

#### （３）EDCの人への健康影響に関する研究の継続的な総括とその情報公開

有機塩素系化合物などの化学物質の人への健康影響に関する疫学研究は、国際的な関心を反映して急速に発展し、論文報告の数も増加している。国際的な研究の進展に迅速に対応するために、本報告書で今回試みた、刊行論文のレビューと更新を引き続き継続的に実施することが重要である。そして、このような最新の研究状況に関する総括の成果については、インターネット等を用いて広く国民に周知広報する必要がある。そうした措置を通じて、国民と行政が十分な科学的根拠に基づく情報を共有した上で、EDC問題の理解と対策が促進されるよう努力すべきである。

## 第5節 リスクコミュニケーション

### 1 はじめに

化学物質に関わる問題の中でも、内分泌かく乱化学物質問題については、科学的に未解明な点が多いことなどの特徴があることからリスクコミュニケーションの実施を困難にしている可能性がある。

今般、厚生労働科学研究「内分泌かく乱物質のリスクコミュニケーションに関する研究」の成果を踏まえ、内分泌かく乱化学物質問題の特徴を整理した上で、ガイドラインを作成した。

また、リスクコミュニケーションに資するため、本書の概要（リスクコミュニケーションと行動計画は除く。）の解説を試みた。

### 2 内分泌かく乱化学物質問題とリスクコミュニケーション

#### 2 - 1 リスクコミュニケーションの必要性について（目的）

近年、化学物質の特に安全性に着目した管理に際して、利害関係者間の意思疎通や情報の共有に対する重要性が認められつつある。

なかでも、行政から発信される情報伝達に関しては、

- ・ 行政施策の実施に当たって、根拠となる科学的情報をもとにした説明責任を果たすことが求められていること
- ・ 適切な情報伝達によって政策への理解を深めることに基づき、社会全体として政策決定についての合意形成が達成されることが重要であること
- ・ 立場の違いや考え方の多様化などから、必ずしもリスクコミュニケーションの実施が短期的に政策に対する社会的受容や合意形成に結び付かない場合も想定されるが、その場合であっても、化学物質のリスクに対する理解の深まりが個別の問題発生時の理解の手助けとなることや、情報発信者たる行政への信頼性の向上に寄与するなど長期的な視野からの効果が期待できること

などから、適切な実施が必要と考えられる。

内分泌かく乱化学物質問題については、多くの人々が関心を抱いていること、多様な調査研究結果、科学技術の進歩等を背景に、多くの認識の不一致が生じていると考えられることから、特にリスクコミュニケーションの実施が必要な分野の一つと考えられる。

内分泌かく乱化学物質問題の特徴としては、

- ・ 提出された仮説が従来の化学物質の有害性発現の概念を超えるものであったこと
- ・ 事実ならば大変な問題であるが、その検証が容易ではない仮説であること
- ・ 実際に仮説検証作業が始まってからも、研究者の間で意見が分かれるほど相反する結果が報告されていること
- ・ 従来の科学的（毒性学的）手法では予測できない結果（逆U字現象など）が報告されていること

などがあることから、従来の毒性学により有害性の機序がほぼ解明されている化学物質などは、大きく事情が異なり、その理解が困難であると同時に、化学物質のリスクコミュニケーションについての既存のガイドラインをそのまま適用することが難しい。

また、内分泌かく乱化学物質問題については、現在までに合成ホルモン剤の薬理効果のような例を除けば、ヒトに対して内分泌かく乱作用が確認された事例が認められていない点が、有害性の内容や対象となる化合物があらかじめ判明している従来の化学物質管理とは大きく異なり点も、既存のガイドライン適用を困難にしている一因と考えられる。内分泌かく乱化学物質問題に関するリスクコミュニケーションの実施に当たっては、これら点に配慮する必要がある。

## 2 - 2 リスクコミュニケーションに係る関係者

リスクコミュニケーションに係る関係者として、行政（特に厚生労働省）と国民<sup>1</sup>、企業、専門家・研究者、報道関係者が挙げられる。

なお、専門家・研究者は、情報の作成者として、主たる役割を担っている。

---

<sup>1</sup> ここでは、一般消費者を指す。

### 3 内分泌かく乱化学物質問題のリスクコミュニケーションガイドライン

本ガイドラインは、内分泌かく乱化学物質ホームページをはじめ、公報のためのリーフレット、パンフレット、小冊子などの作成、また、今般取りまとめられる「内分泌かく乱化学物質の健康影響に関する検討会中間報告書追補その2」を含む研究成果の公表に当たって留意すべきものである。

#### (1) 情報(コンテンツ)の内容について

国民に対し、伝えられるべき情報の内容を考えるに当たっては、対象となる国民には、

- ・年齢
- ・既に持っている知識
- ・情報に対する欲求度合い

などに多様性があることに留意する必要がある。

その上で、以下の項目が挙げられる。

##### [内分泌かく乱化学物質問題に関する基礎的情報]

- ・問題の背景
- ・科学的知見の内容
- ・汎用される用語の説明

##### [リスク(の予想)に関する情報]

- ・有害性の程度、暴露の有無や程度(高リスク集団があればその情報も含む)、といったリスク評価に関連する科学的情報
- ・リスク低減のための行動といったリスク管理についての情報

この場合、一般の人々にリスクの概念が浸透していない現状では、リスク、ハザード、リスク同定などの、リスク評価に関する基本的な概念の説明を、まず行うことが必要である。さらに、専門家から見れば誤りであると判断される知識が、一般の人々に広まっている場合には、その誤解を解くための説明が必要である。

##### [政策への理解や合意形成を目的とした情報]

- ・行政における施策の説明や行政施策の結果についての情報

##### [情報の受け手が必要としている情報]

例えば、一般消費者は、日常生活における行動や、日常生活に用いられる製品について、リスク削減の情報を求めることが多い。これらの情報が提供できる場合は可能な限り内容に盛り込むことが望ましい。たとえ、具体的な情報が提供できない場合であっても、自らの判断で行動することを助ける何らかの指針やヒントを提示することが望ましい。

#### (2) 情報(コンテンツ)の作成

情報は、科学的根拠に基づいているべきことにかんがみれば、情報の作成者としての専門家、研究者の役割は、強調される必要がある。専門家、研究者は、研究成果の公表に当たっては、

自ら生成した情報（研究成果）を、正確性を損なわず、分かりやすく解釈・加工する役割も果たす必要がある。また、専門分野が細分化している今日にあっては、研究成果が問題全体の中でどのような位置付けを占めるのかといった点を明らかにすることも重要である。

情報の作成（加工）に当たっての具体的な留意点としては、簡潔かつ平易な文章とすること、専門用語には注釈等の解釈を付すことがある。

### （３）情報伝達手段とそこに含まれるべき情報の種類

以下のものが挙げられる。なお、これらの他、対話型の手法<sup>2</sup>がある。

なお、情報は受け手に応じた２種類が必要であろう。すなわち、情報の受け手は、情報に対する欲求度合いの観点から、大きく、

- ・ 学びたい人（知りたい人）
- ・ 与えられた情報をもとに行動したい人

に分けることができ、特に後者は、より詳細なあるいは難しい情報を求めようとはしないことに留意する必要がある。

#### ア ウェブサイト（いわゆるホームページ）<sup>3</sup>

ウェブサイト<sup>4</sup>には、大人向け情報・子どもやその教師向け情報、Q&A、パブリック・コメント（国民の意見や情報）を述べる手段が含まれるべきである。

その設計にあたっては、

- ・ 一見して目的の情報に到達できるような構成となっていること
- ・ 比較的知識の少ない国民と、ある程度専門的な知識も持つ国民とのどちらにも対応できるよう、例えば、基礎的な情報から専門的な知識をもとに理解可能な情報までを盛り込んだうえで、情報ごとに難易度を示すなどの工夫をすることが望ましい。

#### イ 窓口配布

窓口配布では、広範かつ容易に入手できるよう、効率的に行うことが必要である。同じ内容のものをWEBページに掲載することも有効であろう。

#### I 簡単なリーフレット

配布用の1枚のリーフレットは、直接に国民に対応する窓口においてニーズの高いものと考えられる。

比較的知識の少ない国民に対して、一度に詳細を伝えることは困難であるので、まず、内分泌かく乱化学物質や内分泌系といった用語の解説、の仕組みの解説、科学的な研究の進展状況などの初歩的な知識を理解してもらうためのリーフレットの作成が望ましい。ただし、簡潔に過

---

<sup>2</sup> 別冊参照

<sup>3</sup> 別冊、内分泌かく乱化学物質ホームページ参照。

<sup>4</sup> 2002年総務省調査によれば、インターネット接続をしている国民は6,942万人と推測され、人口普及率では54.5%となっている。

したがって、ウェブサイト（ホームページとその他のウェブページ）の整備は情報発信手段としては有用である。

ウェブサイトには、掲載できる情報量がほぼ無制限であるという利点もある。

ぎて、不安をあおることのないように注意する必要がある。

さらに、その知識を前提として、次の段階の詳細な情報伝達を行うためのリーフレットの作成が想定される。

このように段階的な情報伝達が円滑な情報伝達に当たって肝要である。

## II 詳しく知りたい国民向けパンフレット

上記 I のリーフレットの内容を理解した国民が、さらに詳しい情報を知りたくなったときに利用可能な十数ページ程度のパンフレットの作成が望ましい。

ここには、リーフレットに記載された初歩的知識についても、より詳しく説明し、また、内分泌かく乱化学物質について、現状での研究成果を掲載する。

### (4) 継続対応

情報伝達（問い合わせに対する対応も含まれる）を行った時は、波及の程度と結果・効果を調べ（サーベイ(survey)）、受け手のニーズを再確認する必要がある。

また、情報伝達は、単回で終わらせることなく、サーベイの結果や受け手のニーズを踏まえて情報の更新を行い、発信を継続的に行っていくことが必要である。

### (5) 参考文献

- 1) 厚生労働科学研究費補助金平成 14 年度報告書 内分泌かく乱物質のリスクコミュニケーションに関する研究
- 2) Frewer, L., J, Miles, S. & Marsh, R. 2002 The media and genetically modified foods: Evidence in support of social amplification of risk. Risk Analysis, 22(4), 701-711.
- 3) Rowe, G.&Frewer, L.J. 2000 Public participation methods: A framework for evaluation. Science, Technology, and Human Values, 25, 1, 3-29.
- 4) Renn, O. & Kastenholz, H. 2000 Risk communication for chemical risk management: An OECD background paper. Berlin.



#### 4 今後、必要な調査研究等の取組

コンテンツを作成しつつ、リスクコミュニケーションを継続的に実施し、その結果（受け手からの反応（response））を改善に生かすことが重要であり、この過程で生じた課題については、その解決のための調査研究が実施されるべきである。

まずは、事例研究(case study)と追跡調査(follow-up)を実施してみるべきである。

## 5 中間報告書追補その2の概要の解説について

ここでは、リスクコミュニケーションに資するため、本書の概要（リスクコミュニケーションと行動計画は除く。）の解説を試みた。

### 中間報告書追補その2の概要の解説

内分泌かく乱化学物質問題の把握と今後の取組について検討するために設置された「内分泌かく乱化学物質の健康影響に関する検討会」では、これまでに、

- 中間報告書（平成10年11月）<sup>1</sup>と
- 中間報告書追補（平成13年12月）

を取りまとめている。

中間報告書追補は、中間報告書以降の取組から明らかになった7つの重点項目（逆U字効果の判明（低用量問題）、HTPS（超高速自動分析装置）を用いた対象物質の選定、ほ乳動物を用いたスクリーニング試験法の検討、内分泌かく乱作用の同定・確認のための詳細試験方法、試料の採取・分析方法の確立、暴露・疫学的情報等の収集及び解析、リスクコミュニケーションの充実）について、5つの作業班（試験スキーム、採取・分析法、低用量問題、暴露疫学等調査、リスクコミュニケーション）が設置され、検討成果及び行動計画が取りまとめられたものである。

この度、取りまとめた中間報告書追補その2は、いわば中間報告書追補のアップデート（最新版）であり、5つの重点課題（試験スキーム、採取・分析法、低用量問題、暴露疫学等調査、リスクコミュニケーション）についての報告書である。

内分泌かく乱化学物質問題のリスクコミュニケーションに当たって、大変重要な用語の一つである「ホルモン」について説明したい。本書を含め、内分泌かく乱化学物質問題を語る際には、「ホルモン様作用」、「ホルモン活性」といった言葉がたびたび登場し、「ホルモン」が、ともすれば悪いイメージで捉えられている傾向が見受けられる。しかしながら、そもそもホルモンは、生き物が生殖、成長、生命の維持等のために自ら作り出し、体内で作用を発揮するもので、生物にとって、正に不可欠なものである。米国で内分泌学の父と敬愛されているDr.Roy.O.Greepは、かつて、”ホルモンは天が我々生きとし生けるものに与えたギフト（贈り物）で、ホルモン無くして、生物は次代の生命を創り出すことが出来ず、人の間に愛情も生じない。ホルモンこそはすべての社会の根幹をつかさどるものだ”と述べている。このことは、誤解なく理解いただきたい。

内分泌かく乱化学物質とは、内分泌系の機能に変化を与える外因性化学物質のうち生体に障害や有害な影響を起こすものを指すが、現時点では、合成ホルモン剤の薬理効果のような例を除けば、ヒトに対して内分泌かく乱作用が確認された事例はない。この点については、平成13年に中間報告書追補を取りまとめた時点と大きく変わっていない。

中間報告書追補において提示された行動計画について、これまでの取組の成果と、今後、更に進めるべき具体的課題の概要は、以下のとおりである。

---

<sup>1</sup> 本書の付録参照

## (1) 試験スキーム（健康影響についての試験と評価の体系）

〔これまでの取組の成果〕

- 1) スクリーニングについては、①*In silico* スクリーニング（電算機内予測）、②細胞系、無細胞系を用いた *in vitro* スクリーニング試験、及び③卵巣摘出動物又は幼若動物、あるいは去勢動物等を用いた *in vivo* 試験が実施され、データの蓄積が進んだ。
- 2) 確定試験（詳細試験）については、生体の成長過程（胎児期・新生児期・思春期）や生体反応（神経系、内分泌系、免疫系などの高次生命系に及ぼす変化）を包括的に検討する試験法の開発を進めている。

〔今後の取組〕

- 1) 試験系を構成する各試験についてガイドライン及び評価基準を整備する。
- 2) 精度及び網羅性の高いスクリーニング手法の開発整備を行って、ホルモン様作用（低用量域の作用を含む）を有することが生物学的に説明可能な物質の順位付け、リスト化を継続かつ高度化する。
- 3) そのためにスクリーニング試験に関しては、エストロゲン受容体に加え、アンドロゲン受容体、甲状腺受容体系等に加え、強化スキームを検討する。
- 4) マイクロアレイ技術を用いたパスウェー・スクリーニングを第4の項目として追加することを検討する。
- 5) 詳細試験に関しては、神経・内分泌・免疫ネットワークの発生・発達・成熟・老化を考慮した「げっ歯類一生涯試験法」を開発する。
- 6) リスク評価を行い、ヒトに対する内分泌かく乱作用の可能性があると判断された物質に関して、暴露の実態も踏まえた上で、用途制限や監視等必要な法的措置又は行政措置を講ずる。

## (2) 採取・分析法

〔これまでに分かったこと〕

ビスフェノール A、フタル酸エステル類、アルキルフェノール類は、高分子素材由来の化学物質として暴露量も多いと想定され、社会的にも注目される化学物質である。そのリスク評価を実施するには、生体影響評価に加えて、ヒト暴露量の評価が必要である。暴露量の評価を行うためには、ヒト生体試料の信頼性の高い高感度測定法の構築やサンプリング・保存方法の基礎的検討が求められている。

しかし、これら化学物質の微量分析を実施するに当たっての共通の課題は、試料採取から分析に供するまでの測定環境における汚染（コンタミネーション）が懸念され、分析値に影響を及ぼすことが危惧されることである。

そこで、上記3種の化学物質を測定対象物質として、生体試料を視野に入れた分析精度の高い測定法を構築し、分析ガイドラインの作成を行った。

その際、高感度測定法を構築する観点から次の点を考慮した。

- ① 化学物質の生体試料中の濃度は、一般に極微量(ppb レベル)である上、分析に供される血液等の検体量は極少量である。そのため、超高感度な分析法が要求されること。また、少ない検体量から多くの情報を取得するには、分離分析法であるクロマトグラフィーによる多成分同時分析手法を導入する必要があること。

この分析上必要な要素に加えて、

- ② 分析値の信頼性が要求される内分泌かく乱化学物質を測定する場合、クロマトグラム

上のピークを確実に同定する必要があり、微量でこの目的を達成できる質量分析法を適用せざるを得ないこと。

その結果、①及び②の両分析法を融合させた、GC/MS、LC/MS の導入は、不可欠であった。

質量分析法の目覚ましい技術革新が前述の要求を満たす測定法を具現化しており、最近のタンデム質量分析法を LC と接続した LC/MS/MS 等の登場は、さらに高感度かつ高精度な分析を可能にするものである。高感度で信頼性の高い分析法を構築するため、積極的にこれら最新機器を駆使することとした。

次に、コンタミネーションの懸念に対しては、ブランク試験を実施するとともに、使用器具の洗浄、ガラス器具の焼成、試料前処理操作における閉鎖系のカラムスイッチ方式の導入、精油定量装置の採用など、測定対象化合物の物性に依りて様々なバックグラウンドレベルの軽減化を施すこととし、精度の高い分析が可能になった。

さらに、生体試料を採取するに際し、塩化ビニル製医療用手袋や保存用容器などにも測定対象化学物質が含まれていないか、事前に材質試験等を実施してバックグラウンドレベルを掌握するような慎重な姿勢が重要である旨、明記した。得られた測定値に対して有意に高い数値などが検出された場合には、クロスチェックを実施するなど緻密な測定を実施するよう配慮する必要がある。

内分泌かく乱化学物質の生体影響評価を実施する際、実験動物を用いた *in vivo* 系試験が広く行われている。しかし、低用量域における生体影響を評価するための動物実験の信頼性を確保するためには、飼育・実験環境（飼料、床敷、給水瓶、空気等）における化学物質暴露の影響を明らかにする必要性が指摘されている。

そこで、上記3種の化学物質の他、植物エストロゲン等について飼料等の測定法を構築し、実試料への応用を試みた。

その結果、飼料中には、対象化合物が微量含有され、その量はロットによってばらつく傾向があった。なお、飼料については、バックグラウンドが低減化された製品も利用できる。

床敷に含まれる化学物質が、どの程度動物実験に影響を及ぼすのか明らかではないものの、有意に高い濃度で化学物質を含有する製品も流通していた。

動物実験を行う時には、飼育・実験環境における水(容器)、飼料、床敷、空気等に含まれる化学物質に留意する必要があると言える。

〔今後の取組〕

- 1) 効率の良い分析法やより精度、感度に優れた分析法の構築に関して情報収集を行い、分析ガイドラインの充実を図る。

### (3) 低用量問題

〔これまでに分かったこと〕

- 1) もとより生体内の内在性ホルモン量は、極微量のレベルで調節され、かつ変動しており、低用量で生体作用を示し高用量では作用することなく処理・排泄される。したがって、内分泌様の活性をもつ化学物質も低用量で作用を示すが、その内分泌かく乱作用については、成体では内在性ホルモンへの適応があることやこれまでの調査研究結果から、さしあたり障害性の焦点にはならないものと判断される。
- 2) 一方で、胚細胞期・胎生期・新生児期・思春期といった形態形成期、機能が安定する前の時点における影響を糸口にした作用機構の解明が研究の焦点となりつつある。

- 3) 低用量問題は、同時に取り上げられた閾値問題、相乗・相加性、用量相関問題などを構成要素とし、相互に密接な関連をもつ。
- 4) 内分泌様活性をもつ化学物質の作用機構の解明や、アリールカーボン受容体とエストロゲン受容体シグナルの相互作用関係の認識などから、作用機構の多様性が判明しつつあり、このことが低用量問題や複合効果の解明にも影響をもつと考えられる。
- 5) 内分泌かく乱作用として、生殖系、免疫系、神経系など、いわゆる高次生命系への影響が焦点となっており、種々の試験結果が明らかになりつつあるが、未だ不明な点が多く、さらに作用機構を解明するための取組が求められる状況にある。
- 6) なお、問題の解明の中で、膜受容体が発見され、遺伝子機能を介さないホルモン様作用について理解が進むとともに、現状では未知の要因が介在していることを念頭において検討を進めることの意義も喚起された。

〔今後の取組〕

- 1) 低用量問題を解明するため、以下の調査研究を進める。
  - ・低用量域のホルモン様作用を検出する実験結果の再現性に関する問題を克服するための調査研究
  - ・高感受性期としての胎生期・新生児期・思春期における暴露による内分泌かく乱作用について、作用機構の解明や評価基準決定のための調査研究
  - ・高感受性期において低用量で作用が発現したとの試験結果に関して、継続的及び系統的な情報収集、並びに①閾値問題、②非線形の用量相関、③相加反応などの問題を踏まえた、試験結果の解釈のための調査研究
  - ・免疫系、甲状腺—中枢神経系・行動などの高次生命系に与える影響を検討するための調査研究
  - ・ゲノミクス手法を利用した知見の調査研究
- 2) 内分泌かく乱性に関する試験の評価に関する包括的なガイドラインを策定する。

(4) 暴露疫学等調査

(4-1) 生体暴露量等

〔これまでに分かったこと〕

- 1) 以下の物質について、生体試料（血液、尿、毛髪等）中の濃度を測定した。

ビスフェノールA、クロロベンゼン類、パラベン類、フタル酸エステル類、ベンゾ(a)ピレン、PCB、ダイオキシン類、クロルデン、有機スズ化合物、4-ノニルフェノール、ハロゲン化炭化水素系殺虫剤、有機リン系殺虫剤、有機塩素系殺虫剤、有機フッ素系化合物、植物エストロゲン、重金属、揮発性有機化合物

(なお、物質ごとに研究対象者、測定に用いた生体試料等が異なっている。)

クロルデン以外の上記物質は、いずれかの生体試料中に含まれており、環境中暴露の点から問題となりうる。
- 2) 生体暴露量を検討していく過程で、ビスフェノールAは代謝されて血中から速やかに消失すること、また、フタル酸エステル類は体内でモノエステル又はジエステル型に代謝されることが明確になった。

〔今後の取組〕

- 1) 引き続き、内分泌かく乱作用が疑われる環境汚染化学物質について、同一母体の複数部位からの生体試料（さい帯血等を含む）の採取及び濃度分析データの蓄積を行うことにより、

母体からの暴露の実態を解明する。

- 2) これらの物質の生体内に存在する量（体内負荷量）の範囲で、生体にどのような作用を発現するのか否か、代謝・解毒の全容も含めて明らかにする。
- 3) 今後、生体試料中の分析を進めると同時に環境中の値（バックグラウンド値）を経時的に観測することによって生体暴露の影響を評価する。

#### (4-2) 疫学研究

〔これまでに分かったこと〕

- 1) 2001 年以降、有機塩素系化合物などの化学物質と乳がんについては 2 つのコホート研究と 4 つのコホート内症例対照研究が、前立腺がんについては 1 つのコホート研究と 1 つのコホート内症例対照研究が報告されていたが、関連があることを支持する一致した知見は得られていない。DES についてのコホート研究が、卵巣がんについて 1 件、精巣がんについて 1 件、甲状腺がんについて 2 件報告されていたが、関連があることを支持する知見は得られていない。子宮体がんについてはコホート研究からの報告はない。日本人についての報告はない。

2001 年以前の報告を含め、有機塩素系化合物などの化学物質と、乳がん、子宮体がん、卵巣がん、前立腺がん、精巣がん、甲状腺がんについての疫学研究からの報告が複数あったが、関連があることを支持するには、依然として知見は不十分である。

- 2) 2001 年以降、甲状腺機能についてのコホート研究からの報告はない。

2001 年以前の報告を含め、高濃度の PCB 暴露が、甲状腺機能に何らかの影響を及ぼしているという複数の研究があるものの信頼性の高い報告はなく、関連があることを支持するには、依然として知見は不十分である。一般環境レベルでの PCB 暴露やその他の有機塩素系化合物との関連について言及するには、依然として知見は不十分である。

- 3) 器官形成にかかわる問題のうち、尿道下裂については、2001 年以降、DES に関するコホート研究 1 件が報告され有意なリスクの上昇が示されていた。DDE に関するコホート内症例対照研究 1 件が報告されていたが、関連があることを支持する知見は得られていない。これまでに、日本における発生率の動向について一致した結論が得られていない。また、最近の分子生物学的研究から影響を受けやすいサブグループの存在が示唆される。停留精巣については、DES に関する介入研究 1 件が報告され有意なリスクの上昇が示されていた。有機塩素系化合物に関するコホート内症例対照研究 2 件が報告されていたが、関連があることを支持する知見は得られていない。日本においてはこれまで先天異常モニタリング項目に含まれていないためデータがなく、今後の研究が必要である。

2001 年以前の報告を含め、DES については、器官形成への影響があるとする限定的な報告があるが、関連があることを支持するには依然として知見は不十分である。その他の化学物質については、疫学研究はほとんど存在せず、関連について言及するには、依然として知見は不十分である。

- 4) 小児神経発達への影響については、2001 年以降、8 つのコホート研究からの報告があるが、有機塩素系化合物による影響に関しては、一致した結論が得られていない。また、環境（受動）喫煙、多環式芳香族炭化水素や有機リン酸系殺虫剤による出生前暴露が影響を及ぼすとの研究結果がある。

2001 年以前の報告を含め、有機塩素系化合物による小児神経発達への影響については、複数の地域でのコホート研究からの報告があるが、他の要因による影響や、暴露・神経発達

双方の評価指標や評価時期などが多様であり、関連があることを支持するには、依然として知見は不十分である。

5) 精子数低下については、2001 年以降、有機溶剤と不妊症についてのコホート内症例対照研究が 1 件あった。

2001 年以前の報告を含め、精子数低下については、化学物質の高濃度暴露群での質の低下について複数の報告があったが、精巣毒性による影響である可能性があり、内分泌かく乱作用によることとの関連を支持するには、依然として知見は不十分である。

6) 免疫機能への影響についての検討を今回追加したが、コホート研究が 3 件あった。成人期の高濃度 PCB 暴露がアレルギーのリスクを増加させるという報告や、胎児期乳幼児期の一般環境レベルの暴露がアレルギーのリスクを減少させるという報告があり、結果が一致せず、関連について言及するには、知見は不十分である。

〔今後の取組〕

1) 日本国民の代表となりうる対象者を設定し、

- ・ 内分泌かく乱作用が疑われる化学物質の暴露
- ・ その影響が懸念される疾病

についての現状把握と継続的な監視を行う。

2) 主として日本人を対象とした、生体試料の収集と利用を含めた、疫学の方法論に基づく相当規模の研究を進める。

3) いわゆる内分泌かく乱作用が疑われる化学物質のヒト健康影響に関する研究を継続的に総括（刊行論文のレビュー及び更新）し、その成果を継続して広く国民に周知する。

## 第2章 まとめ及び行動計画

内分泌かく乱化学物質に関するこれまでの研究成果から、現時点では、合成ホルモン剤の薬理効果のような例を除けば、ヒトに対して内分泌かく乱作用が確認された事例はない現状に変化がなかったことが確認された。また、ヒトに対する化学物質の暴露による内分泌かく乱作用の懸念が完全に払拭されたわけではないが、暴露により障害を受けると想定される時期はライフサイクルの中でも胎児期や思春期にほぼ絞られ、また、有害性の発現機序についての知見も蓄積されてきた。

これらの成果を踏まえ、中間報告書追補で取りまとめられた行動計画を見直し、引き続き必要な調査研究を進めるための指針とした。



## 行動計画

行動	目標
スクリーニング試験に関しては、エストロゲン受容体に加え、アンドロゲン受容体、甲状腺受容体等を対象とし、また、マイクロアレイ技術を用いたパスウェー・スクリーニングを加えた強化スキームを検討し、精度及び網羅性の高いスクリーニング手法を開発する。	～2007 年度
スクリーニング試験系を構成する各試験についてガイドライン及び評価基準を整備する。	～2007 年度
スクリーニング試験を行い、ホルモン様作用（低用量域の作用を含む）を有することが生物学的に説明可能な物質を順位付けし、リスト化を継続かつ高度化する。	2002 年度～
低用量問題を解明するため、以下の調査研究を進める。 <ul style="list-style-type: none"> <li>・低用量域のホルモン様作用を検出する実験結果の再現性に関する問題を克服するための調査研究</li> <li>・高感受性期としての胎生期・新生児期・思春期における暴露による内分泌かく乱作用について、作用機構の解明や評価基準決定のための調査研究</li> <li>・高感受性期において低用量で作用が発現したとの試験結果に関して、継続的及び系統的な情報収集、及び①閾値問題、②非線形の用量相関、③相加反応などの問題を踏まえ、試験結果の解釈のための調査研究</li> <li>・免疫系、甲状腺－中枢神経系・行動などの高次生命系に与える影響を検討するための調査研究</li> <li>・ゲノミクス手法を利用した知見の調査研究</li> </ul>	～2007 年度
確定試験（詳細試験）に関しては、神経・内分泌・免疫ネットワークの発生・発達・成熟・老化を考慮した「げっ歯類一生涯試験法」を開発する。	2003 年度～
内分泌かく乱性の試験平面に関する包括的ガイドライン（仮称）を策定する。	2005 年度～
リストされた物質の詳細試験を行い、ヒトに対して内分泌かく乱作用を有するかどうかを予測する。	2005 年度～
詳細試験の結果及び暴露の実態を踏まえ、リスク評価を行い必要な化学物質について監視の対象とする等の措置を講じる。	2005 年度～
効率の良い分析法やより精度、感度に優れた分析法の構築に関して情報収集を行い、ガイドラインの充実を図る。	2005 年度～
いわゆる内分泌かく乱化学物質の暴露と疾病についての現状把握と継続的な監視を行う。	2002 年度～
主として日本人を対象とした、疫学の方法論に基づく相当規模の研究を進め、あわせて生体試料の保存を継続的に行う。	2002 年度～
疫学研究を継続的に総括し（刊行論文のレビューと更新）、その成果を広く国民に周知する。	2002 年度～
同一母体の複数部位からの生体試料（さい帯血等を含む）について、いわゆる内分泌かく乱化学物質の濃度分析データを蓄積する。	2002 年度～
いわゆる内分泌かく乱化学物質が生体内に実際に存在する暴露量の範囲で、どのような作用が発現するかを解明するための研究を進める。	～2007 年度
リスクコミュニケーションを継続的に実施し、その結果を改善に生かす。	2002 年度～

## 作業班、参考資料・文献等

### 第1節 試験スキーム

#### 作業班（〇は作業班長）

班員：

- 菅野 純（国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター毒性部）
- 小野 宏（（財）食品薬品安全センター秦野研究所）
- 下東 康幸（九州大学大学院理学研究院）
- 井上 達（国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター）
- 名和田 新（九州大学大学院医学研究院）
- 船江 良彦（大阪市立大学大学院医学研究科・生体機能解析学）

#### 参考資料・文献等

平成14年度厚生労働科学研究費補助金、内分泌かく乱化学物質の作用機構に焦点を当てたハイ・スルー・プット・スクリーニング法による内分泌攪乱性の優先順位付けに関する研究、総括研究報告書（主任研究者・菅野 純）

平成15年度厚生労働科学研究費補助金、内分泌かく乱化学物質の作用機構に焦点を当てたハイ・スルー・プット・スクリーニング法による内分泌攪乱性の優先順位付けに関する研究、総括研究報告書（主任研究者・菅野 純）

平成14年度厚生労働科学研究費補助金、化学物質の内分泌かく乱性を確認する試験法の確立に関する研究、総括・分担研究報告書（主任研究者・今井 清）

平成15年度厚生労働科学研究費補助金、化学物質の内分泌かく乱性を確認する試験法の確立に関する研究、総括・分担研究報告書（主任研究者・今井 清）

平成13年度～15年度厚生労働科学研究費補助金、化学物質の内分泌かく乱性を確認する試験法の確立に関する研究、総合研究報告書（主任研究者・今井 清）

### 第2節 採取・分析法

#### 作業班（〇は作業班長）

班員：

- 中澤 裕之（星薬科大学薬品分析化学教室）
- 青山 博昭（残留農薬研究所毒性部）
- 菅野 純（国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター毒性部）
- 牧野 恒久（東海大学医学部専門診療学系産婦人科）

作業協力者：

- 斎藤 貢一（星薬科大学薬品分析化学教室）

井之上 浩一（星薬科大学薬品分析化学教室）  
伊藤 里恵（星薬科大学薬品分析化学教室）  
川口 研（星薬科大学薬品分析化学教室）  
和泉 俊一郎（東海大学医学部専門診療学系産婦人科）  
堀江 正一（埼玉県衛生研究所）  
竹上 晴美（埼玉県衛生研究所）  
石井 里枝（埼玉県衛生研究所）  
月岡 忠（長野県衛生公害研究所）  
寺澤 潤一（長野県衛生公害研究所）  
堀 伸二郎（大阪府公衆衛生研究所）  
高取 聡（大阪府公衆衛生研究所）  
岡 尚男（愛知県衛生研究所）  
近藤 文雄（愛知県衛生研究所）  
藤巻 照久（神奈川県衛生研究所）  
平山 クニ（神奈川県衛生研究所）

### 第3節 低用量問題

#### 作業班（〇は作業班長）

班員：

○井上 達（国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター）  
関澤 純（徳島大学総合科学部）  
小野 宏（（財）食品薬品安全センター秦野研究所）  
菅野 純（国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター毒性部）

### 第4 - 1節 生体暴露量等

#### 作業班（〇は作業班長）

班員：

○牧野 恒久（東海大学医学部専門診療学系産婦人科）  
国包 章一（国立保健医療科学院水道工学部）  
山田 健人（慶應義塾大学医学部病理学教室）  
津金 昌一郎（国立がんセンター がん予防・検診研究センター 予防研究部）  
螺良 愛郎（関西医科大学病理学第二講座）  
岸 玲子（北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野）  
岩本 晃明（聖マリアンナ医科大学泌尿器科学教室）  
那須 民江（名古屋大学大学院医学系研究科）

## 第4 - 2節 疫学研究

### 作業班 (○は作業班長)

班員：

- 「内分泌かく乱化学物質の健康影響に関する疫学研究」班（主任研究者・津金昌一郎）
- 「前向きコホート研究による先天異常モニタリング、特に尿道下裂、停留精巣のリスク要因と内分泌かく乱物質に対する感受性の解明」班（主任研究者・岸玲子）
- 「日本人男性の生殖機能に関する疫学的調査研究」班（主任研究者・岩本晃明）
- 「内分泌かく乱化学物質 PCB と子宮体がん発生リスクに関する症例対照研究」班（主任研究者・八重樫伸生）
- 「化学物質によるヒト生殖・次世代影響の解明と内分泌かく乱作用検出のための新たなバイオマーカーの開発」班（主任研究者・那須民江）

分担執筆者：

- 津金 昌一郎（国立がんセンターがん予防検診・研究センター予防研究部）
- 花岡 知之（国立がんセンターがん予防検診・研究センター予防研究部）
- 岩崎 基（国立がんセンターがん予防検診・研究センター予防研究部）
- 坪野 吉孝（東北大学公共政策大学院）
- 岸 玲子（北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野）
- 佐田 文宏（北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野）
- 西條 泰明（北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野）
- 倉橋 典絵（北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野）
- 中島 そのみ（北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野）
- 岩本 晃明（聖マリアンナ医大泌尿器科）
- 野澤 資亜利（聖マリアンナ医大泌尿器科）
- 八重樫 伸生（東北大学医学部附属病院産婦人科）
- 岡村 智佳子（東北大学医学部附属病院産婦人科）
- 藤田 愛（東北大学医学部附属病院産婦人科）
- 那須 民江（名古屋大学大学院医学系研究科環境労働衛生学）
- 上島 通浩（名古屋大学大学院医学系研究科環境労働衛生学）

## 第5節 リスクコミュニケーション

### 作業班 (○は作業班長)

班員：

- 内山 充（(財)日本公定書協会）
- 井上 達（国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター）
- 菅野 純（国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター毒性部）
- 吉川 肇子（慶応義塾大学商学部）
- 津金 昌一郎（国立がんセンターがん予防・検診研究センター 予防研究部）
- 中澤 裕之（星薬科大学薬品分析化学教室）

藤原 房子（(財)日本女性学習財団）  
牧野 恒久（東海大学医学部専門診療学系産婦人科）  
和田 正江（主婦連合）

## 付録

### 内分泌かく乱化学物質の健康影響に関する検討会中間報告書の概要(平成10年12月)

生活衛生局食品化学課

#### 1 検討経過

内分泌かく乱化学物質問題の把握と今後の取組について検討するため、平成10年4月に厚生省生活衛生局長のもとに「内分泌かく乱化学物質の健康影響に関する検討会(座長:伊東信行 名古屋市立大学学長)」が設置された。

同検討会では、人の健康への影響に関するレビュー、国際機関や諸外国の担当者等を招いてそれら機関等における本問題に対する取組状況の紹介を行うなど、計6回の審議を重ね、平成10年11月9日開催の検討会で中間報告書が取りまとめられた。

#### 2 報告書の概要

本報告書は「はじめに」、「内分泌かく乱化学物質を考える」、「内分泌かく乱化学物質問題を解決するために」、「おわりに」の4項目と付録とから構成されている。

##### (1) はじめに

近年、一部の化学物質が極微量で内分泌かく乱作用を引き起こし、人の健康に影響を与えるおそれがあるとの指摘があること、内分泌かく乱化学物質問題は現時点では科学的に未解明な点が多く残されているため、緊急性の高いものから段階的な計画を立てて対策を進めていくことが必要等、内分泌かく乱化学物質問題の背景と問題の所在を示し、報告書が取りまとめられるに至った経緯が示されている。

##### (2) 内分泌かく乱化学物質を考える

内分泌かく乱化学物質の人への健康影響を理解するために、ホルモンの人体における作用を詳述するとともに本報告書で取り扱う内分泌かく乱化学物質を「内分泌系の機能に変化を与え、それによって人体やその子孫あるいは集団(一部の亜集団)に有害な影響を引き起こす外因性の化学物質又は混合物(世界保健機関・国際化学物質安全性計画[WHO/IPCS])」と定義している。

ここで定義した内分泌かく乱化学物質について、考えられる作用メカニズムを示すとともに、国内外の文献報告等に基づき、子宮がん、子宮内膜症や乳がん等の女性生殖系及び乳腺への影響、精子数の低下、前立腺がん、精巣がんや尿道下裂等の男性生殖系への影響、甲状腺系への影響などの人への健康影響に関するデータが紹介され、以下のように現時点での科学的な評価が示されている。

1) 内分泌系への薬理作用を期待して使用されたDESのような例を除き、内分泌かく乱化学物質が与え得る人への健康影響について確たる因果関係を示す報告は見られない。

2) 個々の物質の正確なリスク評価や暴露評価がなされれば、日常的な暴露レベルに対してはさしあたり必要な対応を取り得るものと考えられる。

ただし、

- ① 胎生期などホルモン制御のかく乱を生じやすい状態がないこと。
- ② 複数の化学物質による予想外の相乗効果がないこと。
- ③ 低用量での反応性に未知の反応形態がないこと。

が問題解決のための前提条件とされている。

(3) 内分泌かく乱化学物質問題を解決するために

現時点の国内外における内分泌かく乱化学物質対策の現状を紹介し、問題解決のための対策として化学物質の安全性の考え方、情報管理・情報提供システムの整備、国際協力の推進、統合的な調査研究の推進等基本方針を示すとともに人の健康を確保するための具体的な調査研究内容について、①データが不十分なために必要な調査研究が期待されている課題、と②先端的な科学的研究の推進によって解決が期待される部分に分けて取りまとめている。

(4) おわりに

報告書のまとめとして内分泌かく乱化学物質問題の解決のための対策を実施するに当たって念頭に置く必要がある3つの事項が示されている。

- 1) 内分泌かく乱化学物質問題は、多くの検討すべき問題が存在している。
- 2) 内分泌かく乱化学物質は、国境を越えた問題である。
- 3) 内分泌かく乱化学物質問題は、世代を超えた問題になり得る。

(5) 付録

食品用プラスチック容器の原材料として使用されている以下の物質について、これまでの知見をもとに検討され、現時点で直ちに使用禁止等の措置を講じる必要はないものとされている。ただし、今後とも調査研究を実施することが重要とされ、その方針が述べられている。

- 1) ポリカーボネート（ビスフェノールA）
- 2) ポリスチレン（ステレンモノマー、ダイマー、トリマー）
- 3) ポリ塩化ビニル（フタル酸エステル）