

## 博士論文（要約）

論文題目      パラベン類曝露とヒト生殖機能との関連

氏      名      西浜   柚季子

# 目次

## 第1章 序論

1.1 はじめに.....	6
1.1.1 ヒト妊孕力の低下.....	6
1.1.2 内分泌かく乱物質曝露と妊孕力の低下.....	7
1.2 パラヒドロキシ安息香酸エステル類（パラベン類）	
1.2.1 用途.....	9
1.2.2 日本内外における規制.....	9
1.2.3 物理的・化学的性質.....	11
1.2.4 曝露量、曝露源.....	11
1.2.5 代謝、生物学的半減期.....	12
1.2.6 毒性	
1.2.6.1 一般毒性.....	13
1.2.6.2 生殖毒性.....	13
1.2.6.2.1 エストロゲン活性.....	14
1.2.6.2.2 パラベン類曝露による雄性生殖機能への影響.....	14
1.2.6.3 パラベン類曝露に関する既往報告.....	14
1.3 目的.....	15
1.4 本研究の構成.....	15
1.5 略語.....	19

## 第2章 パラベン類曝露評価方法の検討

2.1 はじめに.....	21
2.2 尿サンプル.....	21
2.3 尿中パラベン類濃度測定方法の検討.....	21
2.3.1 分析対象物質.....	21
2.3.2 使用試薬および器具.....	21
2.3.3 尿サンプルの前処理方法.....	22
2.3.4 測定機器と分析条件.....	23
2.3.5 ブランクの確認、精度管理.....	27
2.3.5.1 ブランクの確認.....	27
2.3.5.2 精度管理.....	28
2.3.6 比重補正.....	32
2.4 まとめ.....	32

第3章	パラベン類曝露指標としての尿中パラベン類濃度の適切性の検討	
3.1	はじめに.....	34
3.2	方法	
3.2.1	対象者.....	35
3.2.2	尿試料サンプリング.....	35
3.2.3	尿中パラベン類濃度測定.....	35
3.2.4	統計解析.....	35
3.3	結果と考察	
3.3.1	対象者の属性.....	36
3.3.2	尿中パラベン類濃度.....	36
3.3.3	長期曝露指標としての尿中パラベン類濃度の適切性の検討.....	42
3.4	まとめ.....	43
第4章	パラベン類曝露と男性生殖機能指標としての精液指標との関連	
4.1	はじめに.....	50
4.1.1	男性の生殖機能指標.....	50
4.1.2	精液指標に影響をおよぼす要因.....	50
4.2	方法	
4.2.1	対象者.....	52
4.2.2	サンプリングおよび質問票調査.....	52
4.2.3	統計解析.....	53
4.3	結果と考察	
4.3.1	尿中パラベン類濃度.....	54
4.3.2	パラベン類曝露と精液指標との関係.....	58
4.4	まとめ.....	62
第5章	女性生殖機能指標としての月経周期に関する基礎的調査	
5.1	はじめに.....	64
5.1.1	月経周期の定義およびメカニズム.....	65
5.1.2	日本人女性の月経周期.....	67
5.1.3	月経周期に影響をおよぼす要因.....	67
5.2	方法	
5.2.1	対象者.....	70
5.2.2	月経周期調査および生活習慣に関する調査.....	70
5.2.3	統計解析.....	74

5.3 結果と考察	
5.3.1 対象者.....	74
5.3.2 月経周期に関する基礎的調査.....	76
5.3.3 生物学的・生活習慣要因との関連.....	80
5.4 まとめ.....	84
第6章 パラベン類曝露と女性生殖機能指標としての月経周期との関連	
6.1 はじめに.....	86
6.2 方法	
6.2.1 対象者.....	86
6.2.2 採尿および質問票調査.....	86
6.2.3 統計解析.....	87
6.3 結果と考察	
6.3.1 対象者.....	87
6.3.2 尿中パラベン類濃度.....	88
6.3.3 パラベン類曝露と月経周期との関連.....	93
6.4 まとめ.....	102
第7章 パラベン類曝露による妊孕力への影響評価	
7.1 はじめに.....	104
7.2 方法.....	104
7.3 結果と考察.....	105
7.4 まとめ.....	108
第8章 パーソナルケア製品（PCP）の使用に関する調査および尿中パラベン類濃度との関係	
8.1 はじめに.....	110
8.2 方法	
8.2.1 PCP 使用に関する質問票調査.....	110
8.2.2 統計解析.....	111
8.3 結果と考察	
8.3.1 対象者の PCP 使用.....	111
8.3.2 男性 PCP 使用品目数の個人内・個人間変動.....	114
8.3.3 PCP 使用品目数と尿中パラベン類濃度との関係.....	114
8.4 まとめ.....	120
第9章 結論および今後の展望.....	122

謝辞.....	124
---------	-----

引用文献.....	125
-----------	-----

## Appendix

Appendix 1.....	142
Appendix 2.....	146
Appendix 3.....	149
Appendix 4.....	159
Appendix 5.....	162
Appendix 6.....	170

業績リスト.....	177
------------	-----

# 第 1 章

## 序論

## 第1章 序論

### 1.1 はじめに

#### 1.1.1 ヒト妊孕力の低下

近年、日本において、出生数の低下による少子化の問題が顕著となっている。厚生労働省発表のデータによると、平成27年度の合計特殊出生率（概算値）は、人口再生産に必要な値2.08を大きく下回る1.46にとどまっている。出生数低下の原因としては、女性の社会進出、未婚化・晩婚化といった経済・社会的な要因が主であると考えられる一方、生物学的な要因の関与も懸念される。国立社会保障・人口問題研究所（2015）によると、不妊検査・治療を受ける夫婦は、初婚どうしの夫婦（20歳以上）の約6組に1組（18%）にのぼると報告されている。また、このようなカップルは2002年から2015年までの13年間で約40%の増加をみている（図1.1.1.1）。これはすなわち、“産みたいけれども産めない”という妊孕力の低下（カップルの生物学的な生殖能力の低下）を窺わせる。

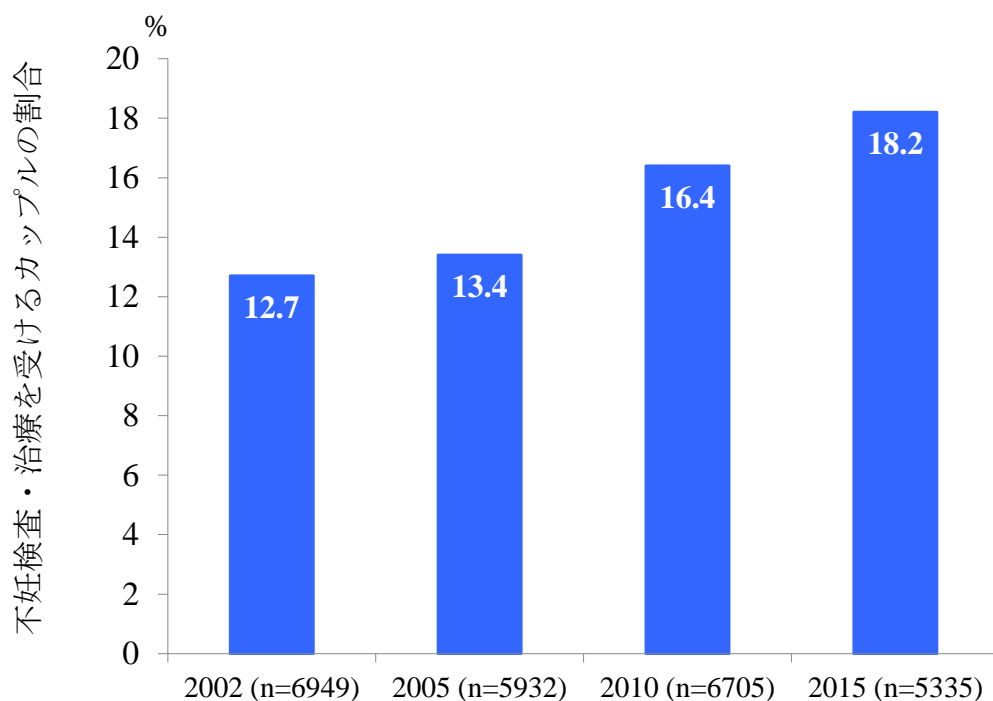


図 1.1.1.1 不妊検査・治療を受ける初婚カップルの割合  
(国立社会保障・人口問題研究所, 2015)

妊孕力の低下には、加齢による生殖機能そのものの低下（Spinelli et al., 1997）などの生理学的要因、がんや性感染症（STD）などの病理学的要因、喫煙（Baird et al., 1985; Windham et al., 2005）、カフェイン摂取（Hatch et al., 1993）などの生活習慣といった要因が挙げられるが、これら以外にも他の要因の関与が考えられている（図 1.1.1.2）。その一つに化学物質曝露といった環境要因が挙げられる。これまで、職業保健において、鉛などの重金属曝露（Bonde, 1990; Apostoli et al., 2000）、農薬曝露（de Cock et al., 1994; Bretveld et al., 2008）、スチレン（Kolstad et al., 2000）、フタル酸エステル類（Buck Louis et al., 2014）などの有機汚染物質曝露により、妊孕力の指標である受胎待ち時間（避妊をやめてから妊娠するまでの時間）が延長すると報告されてきており、近年、一般大衆の曝露レベルでも化学物質曝露によって妊孕力が低下する可能性が懸念されている（Buck Louis et al., 2016）。妊孕力の低下には、これらの要因が複合的に関与していると考えられるが、各々の要因の寄与の大きさなど詳細は明らかになっていない。

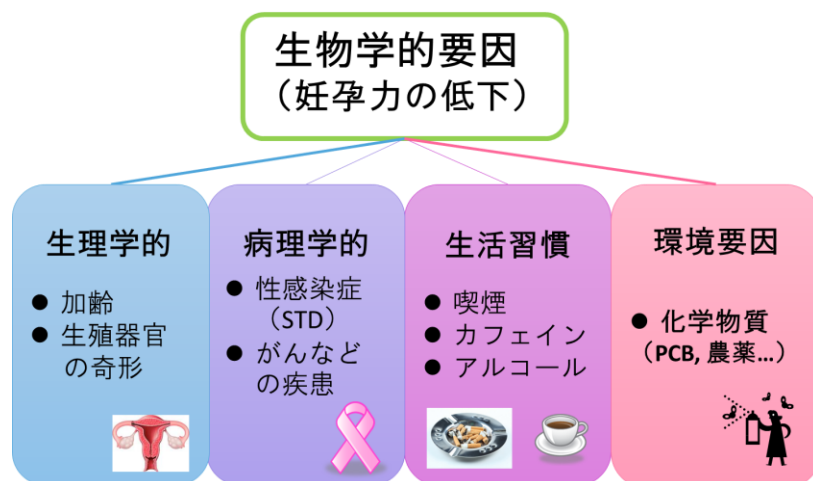


図 1.1.1.2 妊孕力の低下要因

#### 1.1.2 内分泌かく乱物質曝露と妊孕力の低下

環境要因の一つである化学物質曝露の中でも、ヒト生殖能力に影響を与え得る化学物質として、強く懸念されているのが内分泌かく乱物質（Endocrine disrupting chemicals: EDC）である。EDC について、WHO は「内分泌の機能に変化を与え、それによって個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あるいは混合物」と定義している（WHO, 2002）。ヒトの内分泌系は、ホルモン産生のおおもとである脳の視床下部、ホルモンを産生する臓器をコントロールする下垂体、実際にホルモンを産生する臓器（甲状腺、精巣、卵巣など）から構成される。ホルモンは、対となる受容体と結合すると必要な遺伝子情報を発現する。しかし、EDC はあるホルモンに構造が類似しているため、体内に存在する受容体に結合することがある。その結果、余分な遺伝子の発現（アゴニスト作用）あるいは発現の制限（アンタゴニスト作用）が生じる。



精子と卵子が受精し、妊娠に至るためには、正常な性ホルモンの分泌サイクルが必要となるが、体内の性ホルモン濃度はかなり低いことが知られている（ppt オーダー：pg/mL）。一方、化粧品等のパーソナルケア製品（PCP）などの日常的に使用する製品中の EDC 濃度は、多くが ppb オーダー以上であることが報告されている（Den Hond et al., 2015; Ejaredar et al., 2015）。この体内性ホルモン濃度の 1000 倍以上の EDC 曝露により、男女の生殖機能の低下が引き起こされる可能性がある。

パラベン類（パラヒドロキシ安息香酸エステル類）は、PCP や医薬品、食品に保存料として用いられている EDC の一つである（Soni et al., 2005; Błędzka et al., 2014）。急性毒性やがん等の慢性毒性との関連が確認されていないため、比較的な安全な化学物質として広く製品に添加されている。しかし、細胞実験や動物実験の結果から、パラベン類には女性ホルモンであるエストロゲンに似た作用があることが知られている（Nishihara et al., 2000; Lemini et al., 2003）。また、パラベン類曝露により雄ラットの精子数減少、および男性ホルモンであるテストステロン濃度の低下が報告されている（Oishi, 2001; 2002a; 2002b）。疫学調査ではパラベン類曝露とヒト妊孕力指標である受胎待ち時間との関連（Smarr et al., 2016）についての報告があり、女性の尿中 MP 濃度が高い群では受胎確率が 34%低かったことを報告している。一方、男性の精液指標との関連（Meeker et al., 2011）、女性の卵子の老化との関連（Smith et al., 2013）、および胎児期曝露と男児の肛門性器間距離（生殖影響指標）（Shirai et al., 2013）との関連に関する報告があるが、いずれも有意な関連は見られていない。

パラベン類の主な曝露源として、PCP の使用が考えられているが、これは、欧米での既往研究（Soni et al., 2005）を基にしたものである。PCP の使用は、個人の嗜好に大きく左右されると考えられる。そのため、日本人の主なパラベン類曝露源が PCP なのかを知るためには、日本人の PCP の使用状況を調査する必要があるが、これまで日本人を対象とした調査は行われていない。

本研究では、パラベン類曝露と生殖可能年齢にある男女の生殖機能との関連を調査することを目的とする。まず、パラベン類曝露と男女の生殖機能指標との関連を調査する。本研究では、既往研究に基づいて、女性の生殖機能指標として月経周期を用いることとする（Kolstad et al., 1999; Axmon et al., 2006; Small et al., 2006; Wise et al., 2011; Mutsaerts et al., 2012; Wesselink et al., 2016）。しかし、日本人女性の月経周期に関する基礎的情報がほとんどないことが判明したため、平均周期長といった基礎的調査も含めて解析を進めていくこととする。パラベン類曝露と男性生殖機能指標（精液指標）および女性生殖機能指標（月経周期）との関連が見られれば、この知見をもとに、パラベン類曝露によりヒト妊孕力がどの程度低下するかを、ヒト妊孕力の指標として用いられている受胎確率を用いて試算することとする。さらに、既往研究で主なパラベン類曝露源と報告されている PCP の使用に関する調査も行い、日本人のパラベン類曝露と影響の双方に関して調査を行うこととする。本調査の結果を通じて、パラベン類曝露による妊孕力への影響の度合いに関する知見を得ることができ、曝露源調査からパラベン類曝露の低減につながる知見を得ることで、日本

人の妊孕力低下要因を解明する一助となるものと期待される。

1.2 節以降において、本研究の背景に関する詳細を述べる。

## 1.2 パラヒドロキシ安息香酸エステル類（パラベン類）

### 1.2.1 用途

パラヒドロキシ安息香酸エステル類のうち添加物として使用されているのは、パラヒドロキシ安息香酸メチル（メチルパラベン: MP）、パラヒドロキシ安息香酸エチル（エチルパラベン: EP）、パラヒドロキシ安息香酸プロピル（プロピルパラベン: PP）、パラヒドロキシ安息香酸イソプロピル（イソプロピルパラベン: i-PP）、パラヒドロキシ安息香酸ブチル（ブチルパラベン: BP）、パラヒドロキシ安息香酸イソブチル（イソブチルパラベン: i-BP）、パラヒドロキシ安息香酸ベンジル（ベンジルパラベン: BnP）である。中でも国内・外で多く流通している物質としては、MP、EP、PP、BP の 4 種である（図 1.2.1）。これらのパラベン類は、比較的安価である、幅広い pH 領域で安定している、細菌のミトコンドリア機能を抑制する働きをもつといった利点がある。そのため、抗菌剤や防腐剤、保存料として、化粧品や石鹸、ボディークリーム等のパーソナルケア製品（Personal Care Products; PCPs）や食品、医薬品など幅広い分野で使用されている。

### 1.2.2 日本内外における規制

#### 日本国内

日本国内では、パラベン類は 1930 年代から用いられている (Castelain and Castelain, 2012)。日本では、厚生労働省が化粧品に添加するパラベン類濃度について、1%まで（化粧品 100 g 中に最大 1 g まで）という基準値を設けている（厚生労働省告示 331 号化粧品基準, 2000）。雌ラットへの経口投与における子宮重量増加試験より、MP は 800 mg/kg/day でも子宮重量の増加は認められなかった。一方、BP は 1200 mg/kg/day で子宮重量が 70%増加し、600-800 mg/kg/day でも 30-40%増加した (Routledge et al., 1998)。雄ラットへの経口投与による生殖影響試験も行われており、MP および EP を 1000 mg/kg/day 投与しても、性ホルモンや男性生殖機能は低下しなかった。この結果から、MP と EP の無毒性量 (NOAEL) は、1000 mg/kg/day としている。また PP に関しては、低用量曝露によって、雄ラットのテストステロンレベルの減少、精子数減少、精子形成の障害が確認されたため、最小作用量 (LOAEL) として 10 mg/kg/day としている (Cowan-Ellsberry et al., 2009)。

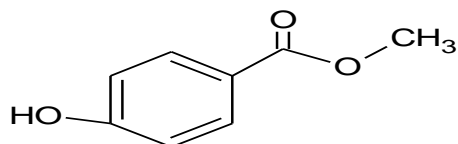
日本では、醤油、酢、果実ソース、清涼飲料水及びシロップといった食品を対象に、食品安全委員会が使用基準値を設けている。また、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会合 (JECFA) は、1974 年、MP、EP、PP の一日摂取許容量 (An acceptable Daily Intake: ADI) を、10 mg/kg-bw/day 未満と定めた。これは 3 種を合わせた摂取許容量である。しかし、2006 年、PP は低用量域における生殖影響が確認されたため、ADI の算出対象から外されている。

## ヨーロッパ

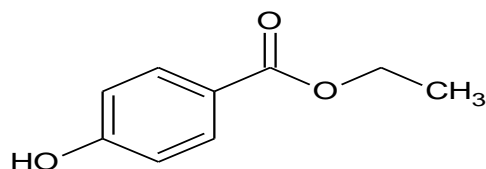
欧米では、EU において化粧品規制が存在する。パラベン類は、MP、EP、PP、BP が単体で 0.4% まで、合計値で 0.8% までの使用が認められている (The European Commission, 2014)。2014 年に、欧州委員会の組織である、消費者安全科学委員会 (SCCS) がパラベン類の安全性の再評価を行った。その結果、2014 年より、イソプロピル、イソブチル、フェニル、ベンジル、ペンチルパラベンの化粧品への使用禁止が決定した。また、PP と BP は、商品への含有濃度の上限値が決まっているが、従来の 0.4% から 0.14% 未満に削減されることとなった (日本は、MP、EP、PP、BP の合計値で 1% まで) (The European Commission, 2014)。

## アメリカ

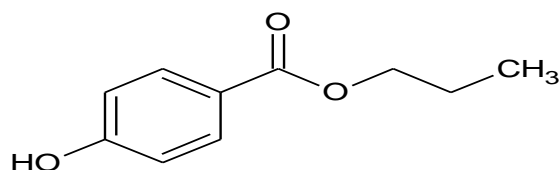
アメリカには、化粧品規制が存在していないため、製品中のパラベン類の使用量等に関しては、特に制限は示されていない。



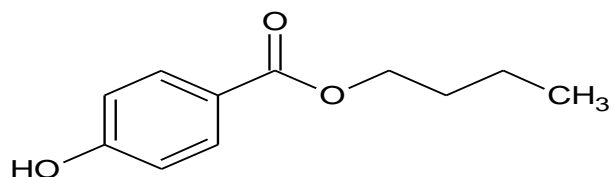
Methyl paraben (MP)



Ethyl paraben (EP)



Propyl paraben (PP)



Butyl paraben (BP)

図 1.2.1 パラベン類の構造

### 1.2.3 物理的・化学的性質

パラベン類は、安息香酸エステルのパラ位にフェノール性のヒドロキシ基をもつエステル類の総称である。無色または白色、無味無臭の粉状であり、アルコールやグリセリンに溶解しやすいという性質をもつ。融点はアルキル基が長くなるにつれ低くなる（表 1.2.3）。

表 1.2.3 パラベン類の物理的・化学的性質（Wang et al., 2013）

	MP	EP	PP	BP
CAS No.	99-76-3	120-47-8	94-13-3	94-26-8
分子量	152.16	166.18	180.21	194.23
溶解度 <sup>a</sup>	5981	1894	529.3	159
Log K <sub>ow</sub> <sup>b</sup>	1.96	2.49	2.98	3.42

<sup>a</sup> 25°C の水に対する溶解度（mg/L）の予測値は chemspider.com より引用

<sup>b</sup> オクタノール／水分配係数（chemspider.com より引用）

### 1.2.4 曝露量、曝露源

Masunaga et al. (2008) は、日本国内における一般公衆のパラベン類摂取量は、尿中濃度から MP が 0.046、EP が 0.002、PP が 0.001、BP が 0.0004 mg/kg/day と報告している。

一方、製品別のパラベン類の摂取量は、PCPs からの摂取量が 0.833、食品からは 0.017、医薬品からは 0.417 mg/kg/day と報告されている（Soni et al., 2005）。このことから、パラベン類の主な曝露源は PCPs であると考えられている。Edru et al. (2013) は、PCPs 製品別パラベン類使用頻度を表 1.2.4 のように報告しており、MP や PP の摂取頻度が多いと考えられる。一般に、防腐力を高めるために、1 つの製品に対して複数のパラベン類を使用することが多く、特に MP と PP を組み合わせることが多い（Soni et al., 2005）。

表 1.2.4 PCP 中のパラベン類検出数および検出濃度（Edru et al., 2013）

PCPs（測定品目数）	MP		EP		PP		BP	
	検出数	% <sup>a</sup>	検出数	% <sup>a</sup>	検出数	% <sup>a</sup>	検出数	% <sup>a</sup>
保湿剤 (1200)	533	0.07-0.4	403	0.05-0.35	181	0.001-0.3	195	0.06-0.2
シャンプー (1022)	381	0.1-0.4	227	0.04-0.4	108	0.03-0.2	108	0.01-0.25
口紅 (1681)	286	0.15-1	520	0.1-0.62	72	0.0002-0.2	218	0.0008-0.1
アイシャドウ (1061)	613	0.15-0.5	541	0.1-0.5	295	0.06-0.49	199	0.05-0.3

<sup>a</sup> 製品中のパラベン類濃度

### 1.2.5 代謝、生物学的半減期

パラベン類の曝露経路として経口・経皮・経気道曝露の 3 経路全てが考えられる。一方で、生物学的半減期が短く、体内に侵入したパラベンの 86%が 24 時間以内に尿中に排泄されるため、体内蓄積性はないと考えられている (Soni et al., 2005; Błędzka et al., 2014)。

Soni et al. (2005) らは、経口摂取および経皮曝露によるパラベン類の代謝について報告している。経口摂取により体内に取り込まれたパラベン類は、肝臓においてカルボキシエステラーゼあるいは肝臓エステラーゼによって PHBA に加水分解されたのち尿中に排泄されるか、あるいはグルクロン酸や硫酸の抱合体として尿中に排泄される。一方、経皮曝露によって体内に取り込まれたパラベン類は、PHBA や抱合体として尿中に排泄されるほか、薬物代謝反応を受けずに free 体として尿中に排泄されることがあることも報告している (図 1.2.5)。摂取したパラベン類は、抱合体として 55%、PHBA として 17%の割合で尿中に排泄されたと報告されている (Soni et al. 2005)。

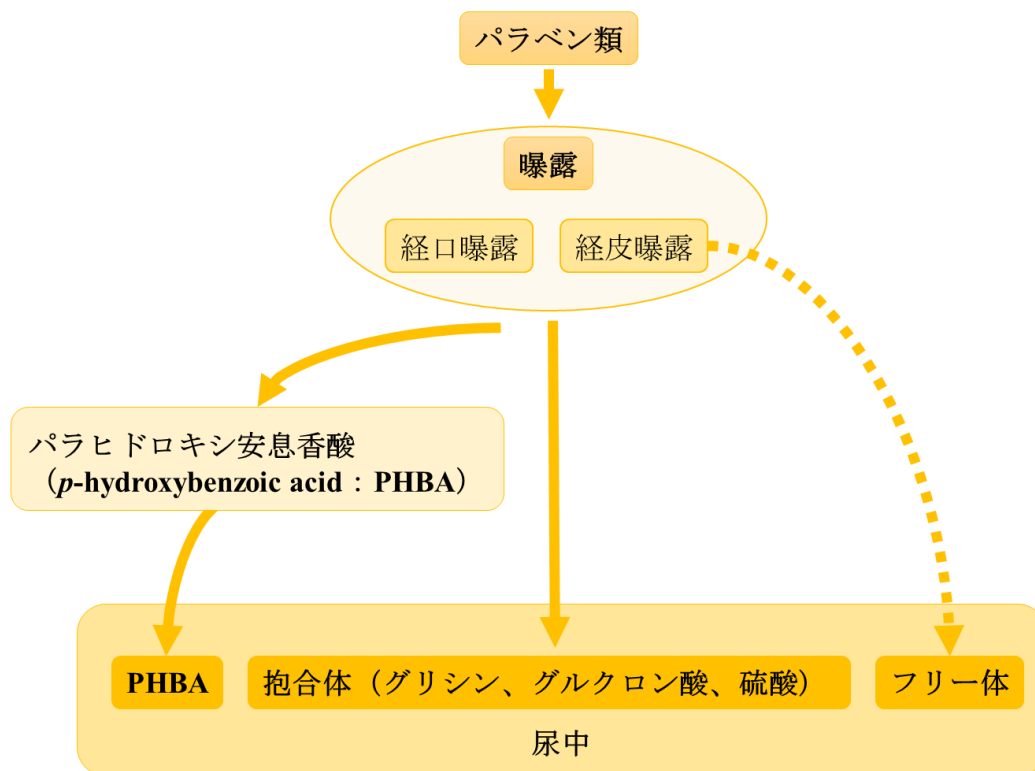


図 1.2.5 パラベン類の代謝機構 (Soni et al., 2005)

### 1.2.6 毒性

種々の動物実験（経口／経皮投与）から、パラベン類の毒性試験が行われてきた。本節では、主な毒性試験の結果について、The Cosmetic Ingredient Review Expert Panel で取り上げられているものを中心にまとめる。

#### 1.2.6.1 一般毒性

##### 皮膚への影響

パラベン類の皮膚への影響に関して、初めて接触性アレルギーが報告されたのは 1940 年である。現在、パラベン類の感作性を評価した試験で、MP および PP には感作性がないと示唆されている (Basketter et al., 1994)。一方、BP には感作性があると示唆されている (Soni et al., 2005)。

近年行われたヒトを対象とした皮膚パッチテストによると、パラベン類に対する皮膚アレルギーを示す人が激減しているという (表 1.2.6.1, Castelain and Castelain, 2012)。

表 1.2.6.1 パラベン類の感作試験 (経皮曝露)

調査年度	対象者 (人)	反応あり (人)	%
2002-2004	768	24	3.12
2005-2009	2075	30	1.45
2010-2011	531	1	0.19

(Castelain and Castelain, 2012)

##### 慢性毒性

一般的に、パラベン類の慢性毒性はないことが示唆されている。米国トイレ化粧品・香料工業協会 (CTFA) の調査によると、1 ヶ月間 0.2% の MP 及び PP を経口投与させたラットに、体重や食欲、血中化学物質組成に変化はみられなかった。また、0.1% の BP を経口投与させた実験においても、これらに変化はみられなかった (Soni et al., 2005)。

##### 乳がん

乳がんは、エストロゲン依存性のがんである。そこで近年、乳がんと環境中エストロゲン様化学物質との関連が懸念されるようになった。パラベン類を含む制汗剤やボディークリームを乳房付近で使用することが多くあること、パラベン類にエストロゲン様作用があることから、乳がんとの関連が指摘されるようになった (Darbre et al., 2004; Barr et al., 2012)。

Barr et al. (2012) によると、40 人の乳がん患者から採取した 160 の乳がん細胞から、PP が 16.8 ng/g、MP が 16.6 ng/g、BP が 5.8 ng/g、EP が 3.4 ng/g 検出された。しかし、パラベン曝露による乳がん発症の詳細なメカニズムは明らかになっていない。

#### 1.2.6.2 生殖毒性

既往研究では、in vitro 及び in vivo 試験によって、パラベン類のエストロゲン様作用が報告されている。以下にその報告をまとめる。

#### 1.2.6.2.1 エストロゲン活性

エストロゲン活性とは、エストロゲンの中でも最も生理活性の高い  $17\beta$ -エストラジオール (E2) の活性値と比較した際に、化学物質が示す E2 活性のことを指す。複数の *in vitro* 試験において、パラベン類がエストロゲン活性を有することが報告されている。Nishihara et al. (2000) は、環境中化学物質評価手法であるバイオアッセイの一種、酵母ツーハイブリッド・アッセイ法を用いて、MP、EP、PP、BP のエストロゲン様活性測定を行い、4 種全てに活性があったことを報告している。一方、代謝産物の PHBA は、ヒト乳がん細胞 (Pugazhendhi et al., 2005) およびラット (Lemini et al., 1997) を用いた試験でエストロゲン作用が認められたという報告されているが、活性が見られなかったという報告 (Hossani et al., 2000; Andersen, 2008) もあり、結果に一致が見られていない。

パラベン類のもつエストロゲン活性の強さは、内因性女性ホルモンである  $17\beta$ -エストラジオール (E2) のもつ、ER 結合能力を示すエストロゲン活性を 1 とすると、MP 及び EP が  $3.0 \times 10^{-6}$ 、PP が  $3.0 \times 10^{-5}$ 、BP が  $1.0 \times 10^{-4}$  の活性と報告されている (Nishihara et al., 2000)。これは、エストロゲン活性を持つことが知られているビスフェノール A と同等の活性量である (Nishihara et al., 2000)。また、ヒト乳がん細胞やラットの子宮内における ER 結合試験においても、上記 4 種のパラベン類のエストロゲン活性が示されている (Routledge et al., 1998; Okubo et al., 2001; Pugazhendhi et al., 2005; Kawaguchi et al., 2009a; 2009b)。さらに、*in vivo* 試験においても、ラット及びマウスにおける子宮重量試験において MP、EP、PP、BP のエストロゲン活性が報告されている (表 1.2.6.2.1)。

#### 1.2.6.2.2 パラベン類曝露による雄性生殖機能への影響

パラベン類曝露による男性の生殖機能への影響に関する動物実験において、いくつかの報告がある。Oishi (2001; 2002a; 2002b) は、ラットおよびマウスの PP および BP 曝露により、精子数の減少、および血中テストステロン濃度の 20-70% の減少が見られたことを報告している。また Park et al. (2012) は、ラットの BP 曝露により、精子中 DNA のメチル化が引き起こされたと報告している。DNA のメチル化が過剰に進むと、異なる情報が伝達され、正常な働きを持つ精子が減少する恐れがある。さらに、Kang et al. (2002) や Zhang et al. (2014) によって、BP 曝露による次世代の雄ラットの精子数の減少、精子運動率の低下、血中テストステロン濃度の低下も報告されている。この報告は、胎児期の BP 曝露が、成長した仔の雄性生殖機能にも負の影響をおよぼす可能性があることを示唆するものである。表 1.2.6.2.2 に雄性生殖機能への影響に関する動物実験の結果をまとめる。

#### 1.2.6.3 パラベン類曝露に関する既往報告

本研究では、パラベン類曝露の指標として、尿中濃度を用いることとした。パラベン類は、摂取した 86% が 24 時間以内に尿中に排泄されることから (Soni et al., 2005)、ヒトの曝露量の推定には尿中濃度が適するとされている (Ye et al., 2006; Janjua et al., 2008; Masunaga

et al., 2008; Calafat et al., 2010)。曝露評価を行った結果を表 1.2.6.3 にまとめる。日本人を対象とした調査は、2 件の報告のみである (Shirai et al., 2013; 環境省, 2015)。

尿中パラベン類濃度を測定し、曝露－影響評価を行った疫学研究は、アメリカ在住のカップルの受胎待ち時間との関連 (Smarr et al., 2016)、アメリカ在住の男性の精液指標と精子 DNA との関連 (Meeker et al., 2011)、オランダ在住の女性の初経年齢との関連 (Buttke et al., 2012) およびアメリカ在住の女性の血中卵胞刺激ホルモン (FSH) 濃度・胞状卵胞数 (成熟した卵胞数)・卵巣重量との関連 (Smith et al., 2013) についての報告がある。Smarr et al. (2016) は、カップルの女性の尿中 MP 濃度と受胎待ち時間との間に有意な正の関連が見られたことを報告しており、パラベン類曝露が妊孕力に負の影響を与えている可能性が示唆されている。しかし、男女それぞれの生殖機能指標との関連を見た研究において、有意な関連は見られていないため、パラベン類曝露が男女どちらの生殖機能に影響を与えているか (あるいはどちらにも影響を与えているか) は不明である。Shirai et al. (2013) は、日本人の妊婦の尿中パラベン類濃度と生まれた男児の肛門性器間距離との関連を検討したが、有意な関連は見られなかった。

### 1.3 目的

動物実験等の結果で、パラベン類曝露による生殖機能への負の影響が報告されていること、また、欧米の調査から、パラベン類の主な曝露源は PCP であること、現代人は日常的にパラベン類に曝露していることについてこれまで述べた。しかし、パラベン類曝露によるヒト妊孕力への影響に関する疫学調査は極めて少なく、特に日本人を対象にした調査は存在しない。

以上の背景を踏まえ、本研究では、男性は精液指標を、女性は月経周期を生殖機能指標として用いて、パラベン類曝露による男女の生殖機能への影響の有無を知ることを目的に、共変量を考慮した多変量解析を行うこととする。その結果、女性の月経周期とパラベン類曝露との間に有意な負の関連が示されれば、一般公衆レベルのパラベン類曝露によってどの程度、ヒト妊孕力が低下する可能性があるかという点について、新たに指標を用いて定量的な評価を行う。また、多変量解析の結果から、リスク管理を視野に入れた曝露源調査が必要となれば、PCP の使用実態に関する調査も行い、曝露量 (尿中濃度) との相関検定から、PCP 使用による曝露量の変動についても調査を行う。

### 1.4 本研究の構成

第 1 章では、本研究の目的、パラベン類曝露によるヒト妊孕力影響調査の必要性およびパラベン類の性質、用途等について述べる。

第 2 章では、尿中パラベン類濃度を用いた、パラベン類曝露評価方法について述べる。

第 3 章では、スポット尿中パラベン類濃度の適切性の検討を行う。

第 4 章では、男性の精液指標と尿中パラベン類濃度との関連について調査を行う。



第 5 章では、女性の生殖機能指標として用いた月経周期に関する基礎的調査を行う。

第 6 章では、女性の月経周期と尿中パラベン類濃度との関連について調査を行う。

第 7 章では、パラベン類曝露による妊孕力への影響評価を行う。

第 8 章では、PCP がパラベン類の主な曝露源であるかを、PCP 使用状況に関する調査および尿中パラベン類濃度との相関分析から検討する。

第 9 章では、以上の結果を総括し、今後の展望を述べる。

表 1.2.6.2.1 パラベン類曝露による子宮重量の変化を評価している既往研究（Andersen, 2008）

	雌ラット (曝露経路および 投与量 (mg/kg))	雌マウス (曝露経路および 投与量 (mg/kg))	17 $\beta$ -estradiol/ paraben potency ratio	引用文献
	× oral; ~800			Routeledge et al. (1998)
	× s.c.; ~80			
MP	○ s.c.; 16.5	× oral; ~1000		Hossaini et al. (2000)
		× s.c.; ~100		
	○ s.c.; 16.5		1041	
		○ s.c.; 55	3448	Lemini et al. (2003)
		○ s.c.; 55	5000	
		○ s.c.; 165	20000	Lemini et al. (2004)
EP		× oral; ~1000		Hossaini et al. (2000)
		× s.c.; ~100		
	○ s.c.; 6		346	
		○ s.c.; 180	12500	Lemini et al. (2003)
		○ s.c.; 60	3333	
		○ s.c.; 180	25000	Lemini et al. (2004)
PP		× oral; ~100		Hossaini et al. (2000)
		× s.c.; ~100		
	○ s.c.; 20		1612-1851	
		○ s.c.; 65	5263	Lemini et al. (2003)
		○ s.c.; 65	3333	
		○ s.c.; 195	20000	Lemini et al. (2004)
BP	× oral; ~1200			Routeledge et al. (1998)
	○ s.c.; 600		15000	
	○ s.c.; 600	× s.c.; ~100	6000	Hossaini et al. (2000)
	○ s.c.; 7		436	
		○ s.c.; 210	16666	Lemini et al. (2003)
		○ s.c.; 70	5000	
		○ s.c.; 210	11111	Lemini et al. (2004)

\* oral; 経口曝露、\*\* s.c.; 経皮曝露（subcutaneously）

○：子宮重量が有意に増加（子宮重量試験：エストロゲン濃度が上昇すると子宮が肥大することを利用した試験法）

表 1.2.6.2.2 パラベン曝露による雄性生殖機能への影響に関する動物実験の結果

	対象物質	対象 <sup>a</sup>	投与量	減少率	引用文献
			(mg/kg/day)		
血中テスト	BP	R	1,000	66%	Oishi (2001)
ステロン濃度			100	33%	
	BP	M	1,500	46%	Oishi (2002a)
	PP	R	1,300	35%	Oishi (2002b)
	BP	R <sup>b</sup>	400	21%	Zhang et al. (2014)
			1,000	56%	
精液指標等	BP	R	10-1,000	精子産生：17-39%	Oishi (2001)
				精巣上体精子 <sup>c</sup> 量：26-42%	
	BP	M	14-1,500	伸長精細胞数 <sup>d</sup> ：23-45%	Oishi (2002a)
	PP	R	125-1,300	精巣上体尾部(重量) <sup>e</sup> ：42-48%	Oishi (2002b)
	BP	R <sup>b</sup>	100-200	精子数：50%	Kang et al. (2002)
				精子運動率：30%	

<sup>a</sup> R: ラット, M: マウス

<sup>b</sup> 母ラットに曝露させ、雄仔ラットへの影響を評価

<sup>c</sup> 精管に移動する前の精子

<sup>d</sup> 後期精細胞（精子になる前の細胞）

<sup>e</sup> 精巣の一部（精子の成熟に必要な器官）

表 1.2.6.3 既往研究による尿中パラベン類濃度（中央値）

	n	MP	EP	PP	BP	参考文献
男性	190	35.5	-	4.52	< LOD	Meeker et al. (2011) *
	593 <sup>a</sup>	33.0	-	3.82	0.350	Smith et al. (2012) *
	48	9.81	-	0.474	< LOD	Engel et al. (2014) <sup>b*</sup>
女性	1278	147	2.09	34.9	0.750	Calafat et al. (2010) **
	2128 <sup>c</sup>	137	-	27.5	1.48	Smith et al. (2012) *
	279 <sup>d</sup>	140	-	30.0	1.00	Meeker et al. (2013) *
	111	83.6	7.31	25.8	1.16	Shirai et al. (2013) *
	46	237	53.9	9.4	< LOD	Kang et al. (2013) **
	145	16	0.91	1.8	-	Frederiksen et al. (2013) **
	49	31.6	-	3.79	< LOD	Engel et al. (2014) <sup>b*</sup>
	135	1759	-	46	8.9	Guidry et al. (2015) <sup>b*</sup>

\* 尿比重補正值（単位は ng/mL）

\*\* クレアチニン補正值（単位は  $\mu\text{g/g-cre}$ ）

<sup>a</sup> 3 回の尿サンプリングから得られたアメリカ在住の男性 245 人の尿中濃度（ $36.5 \pm 5.5$  歳）

<sup>b</sup> 幾何平均値

<sup>c</sup> 3 回の尿サンプリングから得られたアメリカ在住の女性 408 人の尿中濃度（ $35.7 \pm 4.2$  歳）

<sup>d</sup> 3 回の尿サンプリングから得られたプエルトリコ在住の妊婦 105 人の尿中濃度（ $27.1 \pm 4.8$  歳）

## 1.5 略語

本論文全体で用いる略語を、以下の表 1.5 にまとめる。

表 1.5 本論文で用いる略語

略語	名称	用語
BMI	Body Mass Index	体格指数
BP	Butyl paraben	ブチルパラベン
CTFA	Cosmetic, Toiletry, and Fragrance Association	トイレ化粧品・香料工業協会（米）
DNA	Deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
E2	17 $\beta$ -estradiol	17 $\beta$ -エストラジオール
EDC	Endocrine disrupting chemicals	内分泌かく乱物質
EP	Ethyl paraben	エチルパラベン
ER	Estrogen receptor	エストロゲン受容体
FSH	Follicle stimulation hormone	卵胞刺激ホルモン
FR	Fecundability ratio	受胎確率比
GnRH	Gonadotropin-releasing hormone	性腺刺激ホルモン放出ホルモン
IS	Internal standard	内標準物質
LC-MS/MS	Liquid chromatograph tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフ質量分析法
LH	Luteotrophic hormone	黄体ホルモン
MP	Methyl paraben	メチルパラベン
PCBs	Polychlorinated biphenyls	ポリ塩化ビフェニル
PCP	Personal care products	パーソナルケア製品
PHBA	Para-hydroxy benzoic acid	パラヒドロキシ安息香酸
PP	Propyl paraben	プロピルパラベン
SHBG	Sex hormone-binding globulin	性ホルモン結合グロブリン
TS	Testosterone	テストステロン
TTP	Time to pregnancy	受胎待ち時間
WHO	World Health Organization	世界保健機関

## 第 2 章

### パラベン類曝露評価方法の検討

## 第2章 パラベン類曝露評価方法の検討

### 2.1 はじめに

バイオマーカーは、「曝露、健康影響、あるいは感受性の細胞学的または分子学的指標（日本疫学会, 2000）と定義される指標であり、近年の化学物質曝露に関する疫学調査において、曝露量や影響を評価する方法として多くの研究で用いられている。

本研究では、パラベン類曝露のバイオマーカーとして、尿中パラベン類濃度を用いることとした。パラベン類に曝露して体内に吸収された後、代謝され、24 時間以内に 86% が尿中に排出されるとされており（Soni et al., 2005）、パラベン類曝露量をよく反映する指標と考えられている。尿中濃度の分析には、固相抽出および液体クロマトグラフ-質量分析装置（LC-MS/MS）による方法を用いた。次節以降、尿サンプル前処理方法および LC-MS/MS の分析条件についての検討結果を示す。

### 2.2 尿サンプル

本章における検討に使用した尿サンプルは、3 人の成人から採取した尿を混合、分注し、測定まで -25°C で冷凍保存したものである。なお、本章以下、全ての関係機関の倫理審査の承認を得ている。

### 2.3 尿中パラベン類濃度測定方法の検討

尿サンプル中のパラベン類濃度測定は、超微量の定量分析が求められる。そのため、尿サンプル中に含まれる目的物質以外の物質（マトリックス）をできる限り除去する必要がある。本章では、Shirai et al. (2013) の測定方法を参考にして、尿サンプルの前処理方法および分析装置の最適化を行った。さらに、ブランクチェックおよび精度管理を行い、測定方法の妥当性も検討した。

#### 2.3.1 分析対象物質

パラベン類は、メチル（MP）、エチル（EP）、プロピル（PP）、イソプロピル、ブチル（BP）、イソブチル、ベンジルパラベンが防腐剤として使用されている。今回は、その中でも日本国内で広く流通する製品に含まれており、エストロゲン様作用を有することが報告されている MP、EP、PP、BP の 4 種を対象とした。

#### 2.3.2 使用試薬および器具

##### 【試薬】

- MeOH：メタノール 5,000 残留農薬 PCB 試験用（Wako）
- $\beta$ -Glucuronidase/Arylsulfatase *Helix pomatia* 由来、 $\beta$ -D-Glucuronide glucuronosohydrolase / aryl-sulphate sulphohydrolase（glucuronidase activity; >100,000 Fishman units/mL, sulfatase activity; >800,000 Roy units/mL, Roche）

- ・ギ酸：ギ酸（約 99%） LC/MS 用（Wako）
  - ・酢酸アンモニウム：酢酸アンモニウム 分子生物学用（ナカライテスク）
  - ・パラベン類標準品（Native standard）
    - p*-ヒドロキシ安息香酸メチル標準品 食品分析用（関東化学）
    - p*-ヒドロキシ安息香酸エチル標準品 食品分析用（関東化学）
    - p*-ヒドロキシ安息香酸 *n*-プロピル標準品 食品分析用（関東化学）
    - p*-ヒドロキシ安息香酸 *n*-ブチル標準品 食品分析用（関東化学）
  - ・パラベン類内標準物質（IS: internal standard）
    - p*-ヒドロキシ安息香酸メチル-2,3,5,6-*d*4（関東化学）
    - Ethyl *p*-hydroxybenzoate-2,3,5,6-*d*4（Orchid Cellmark）
    - n*-propyl *p*-hydroxybenzoate-2,3,5,6-*d*4（Orchid Cellmark）
    - n*-butyl *p*-hydroxybenzoate-2,3,5,6-*d*4（Orchid Cellmark）
- ※各標準品および内標準物質は、MeOH および超純水（MQ）：MeOH=1:1 溶液を溶媒として各濃度レベルに希釈した

#### 【器具】

- ・固相抽出用カラム：Sep-Pak Vac tC18 500 mg/6 cc（Waters）
- ※ホールピペット、メスフラスコ、ビーカー、三角フラスコ、溶媒ビンなどのガラス器具は、洗剤で洗浄後、超音波洗浄し、超純水、メタノールで洗浄、乾燥したものを使用

#### 2.3.3 尿サンプル前処理方法

尿前処理方法の最適化は、既往研究（Shirai et al., 2013）を参考に行った。その方法を下記に示す（図 2.3.3）。次に、精度管理として、検出下限値（感度）、併行精度および再現性（精度）、内標準物質回収率および外部測定機関とのクロスチェック（真度）について検討を行った。

- ① 尿サンプル 1 mL をガラス遠沈管に採取し、 $\beta$ -glucuronidase/sulfatase を 50  $\mu$ L、*d*<sub>4</sub>-methyl paraben 300 ppb、*d*<sub>4</sub>-ethyl/propyl/butyl paraben 30 ppb の混合液 1 mL を順次添加し、38°C に設定した恒温槽で 4 時間インキュベーションを行い、硫酸およびグルクロン酸抱合体の脱抱合を行った。脱抱合後、pH 調整のためギ酸 0.1 M を 850  $\mu$ L 添加し、遠心分離機（2500 rpm）にて 10 分間遠心分離を行った。
- ② Sep-Pak Vac tC18 の固相抽出カラムを MeOH 5 mL および超純水 5 mL にてコンディショニングを行い、①で調製したサンプル溶液を通液後、MeOH 5 mL でパラベン類を溶離させ、新たな遠沈管に溶離液を受けた。

- ③ 溶離液を窒素気流下で 55℃程度に加熱し、溶媒を蒸発・乾固させた。その後、MeOH 1 mL にて再溶解し、2500 rpm、10 分間遠心分離を行い、検液として分析に用いた。

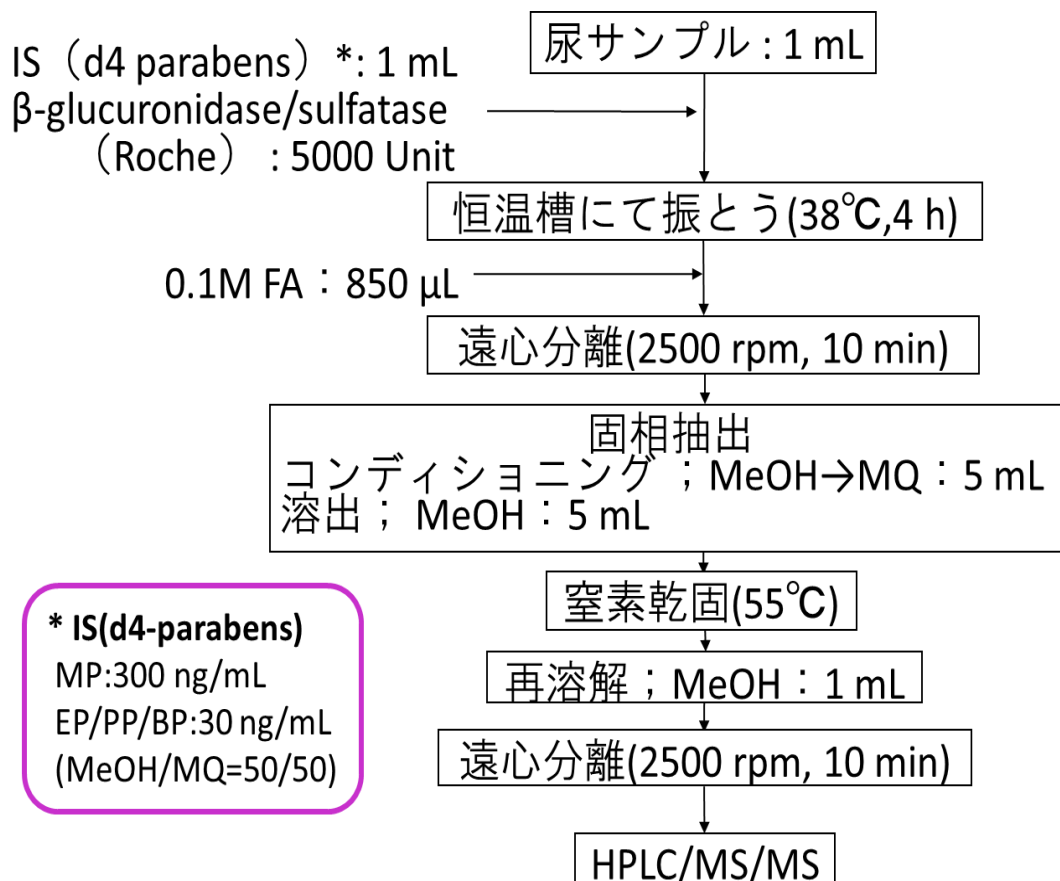


図 2.3.3 尿前処理方法 (Nishihama et al., 2016)

#### 2.3.4 測定機器と分析条件

各パラベン類濃度測定に適した各種測定条件を表 2.3.4.1-2.3.4.4 に示す。以降の測定には、この条件を採用するものとする。

##### 検量線測定

事前に作製したパラベン類標準液を用いて、7 段階の濃度段階別検量線溶液を作成した。その濃度範囲を表 2.3.4.1 にまとめる。

各濃度点 3 回の測定結果の平均値から検量線を作成した。その結果、すべてのパラベン類について検量線の直線性 ( $R^2$ ) が 0.999 以上と良好であり、検量線には問題がないと判断した (図 2.3.4.1-2.3.4.4)。



表 2.3.4.1 検量線の濃度範囲 (ng/mL)


	 濃度高						
MP	0	2	20	40	100	200	400
EP, PP, BP	0	0.5	5	10	25	50	100
d-MP	300						
d-EP, PP, BP	30						

表 2.3.4.2 パラベン類測定条件

高速液体クロマトグラフ	Agilent 1200 series (Agilent Technology)
質量分析計	Agilent 6460 Triple Quad LC/MS (Agilent Technology)
使用カラム	本カラム : Agilent Eclipse XDB-C18 (3.5 $\mu$ m, 2.1 $\times$ 150 mm) サブカラム : Agilent ZORBAX Poroshell 120 EC-C18 (2.7 $\mu$ m, 2.1 $\times$ 50 mm)
試料注入量	10 $\mu$ L
流量	0.2 mL/ min
圧力	Min: 10 bar, Max: 600 bar
カラム温度	Right; 30°C, Left; 30 °C
測定時間	30 min

表 2.3.4.3 HPLC Gradient 条件

Time (min)	A(%) : ギ酸 0.1%含有 5mM 酢酸アンモニウム(MQ)	B(%) : MeOH
0.00	70	30
1.00	70	30
10.00	0	100
20.00	0	100
20.10	70	30
30.00	70	30

表 2.3.4.4 MS/MS 測定条件

	Native standard				Internal standard (IS)			
	MP	EP	PP	BP	d-MP	d-EP	d-PP	d-BP
Precursor Ion	150.8	164.8	178.9	192.8	154.9	168.9	182.9	196.9
Product Ion		91.8				95.8		
MS1 Resolution	Wide	Wide	Unit	Wide	Wide	Wide	Unit	Wide
MS2 Resolution	Wide	Wide	Unit	Wide	Wide	Wide	Unit	Wide
Dwell time (sec)		200				200		
Fragmentor (V)	70	70	70	80	70	70	70	80
Collision Energy (eV)	15	17	20	24	15	17	20	24
Capillary (V)		2800				2800		
Polarity		Negative				Negative		
Dry gas flow (L/min)		9				9		
Dry gas temp (°C)		310				310		
Nebulizer (psi)		50				50		
Sheath gas Temp (°C)		400				400		
Sheath gas flow (L/min)		9				9		

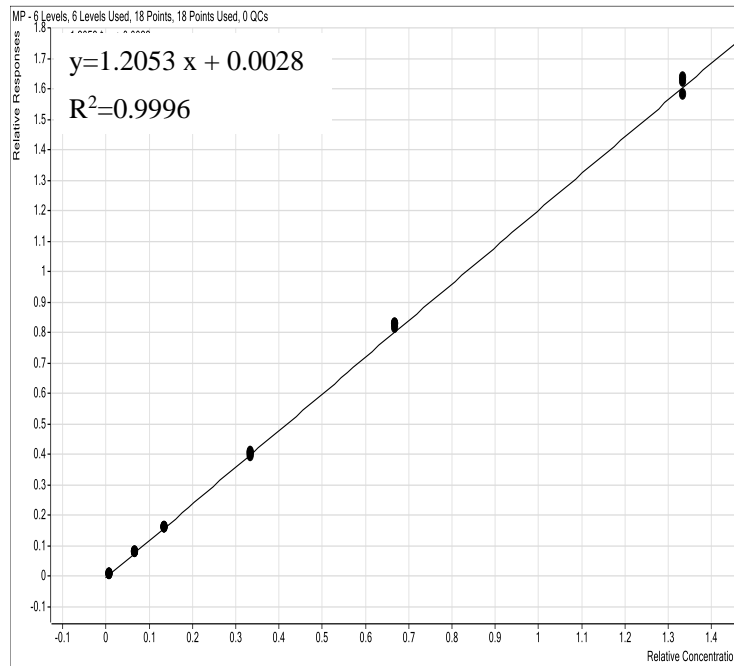


図 2.3.4.1 MP の検量線（縦軸が面積の Native/IS 比、横軸が濃度の Native/IS 比）

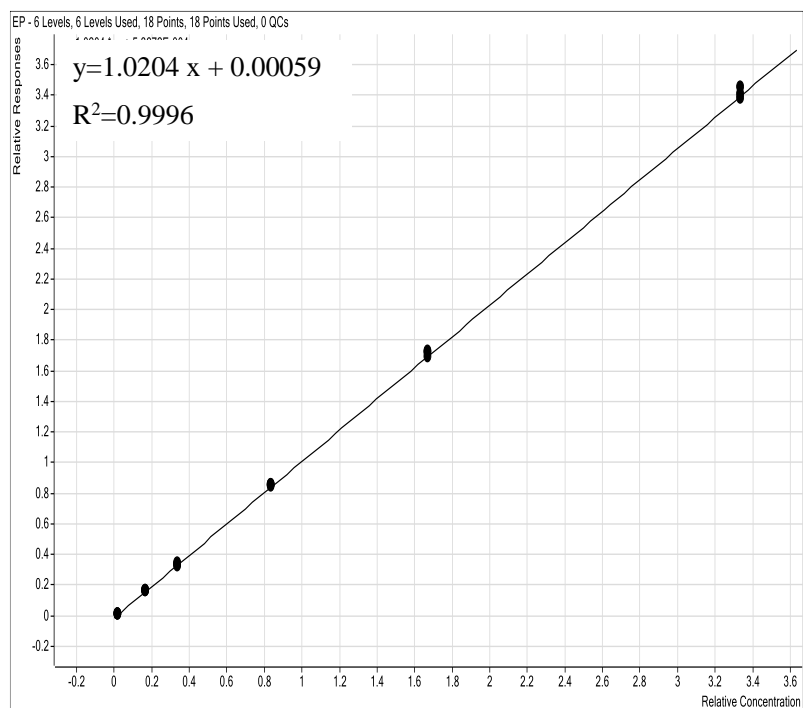


図 2.3.4.2 EP の検量線（縦軸が面積の Native/IS 比、横軸が濃度の Native/IS 比）

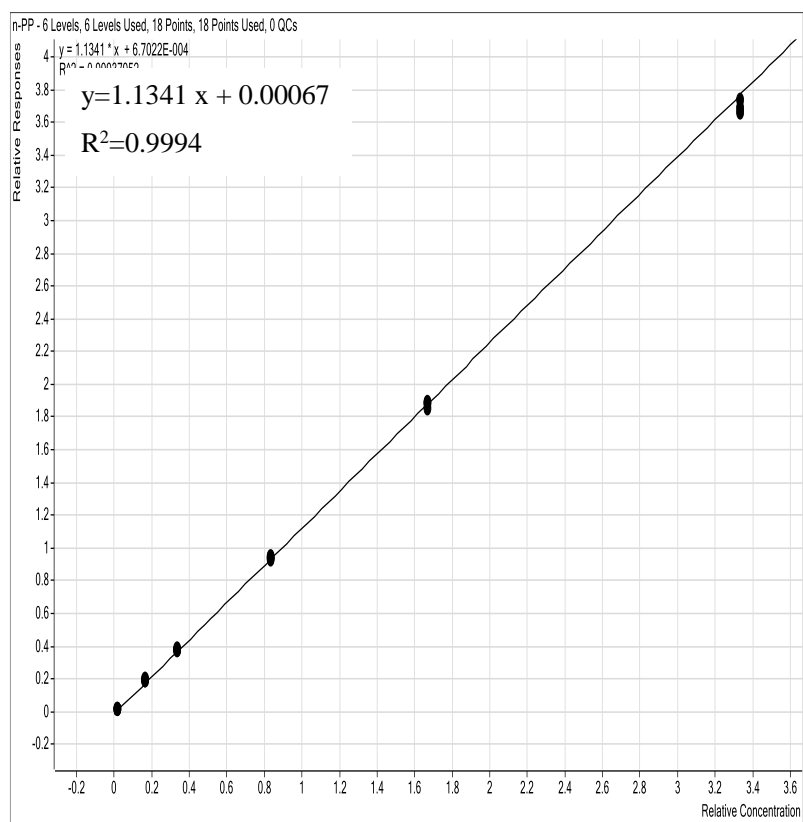


図 2.3.4.3 PP の検量線（縦軸が面積の Native/IS 比、横軸が濃度の Native/IS 比）

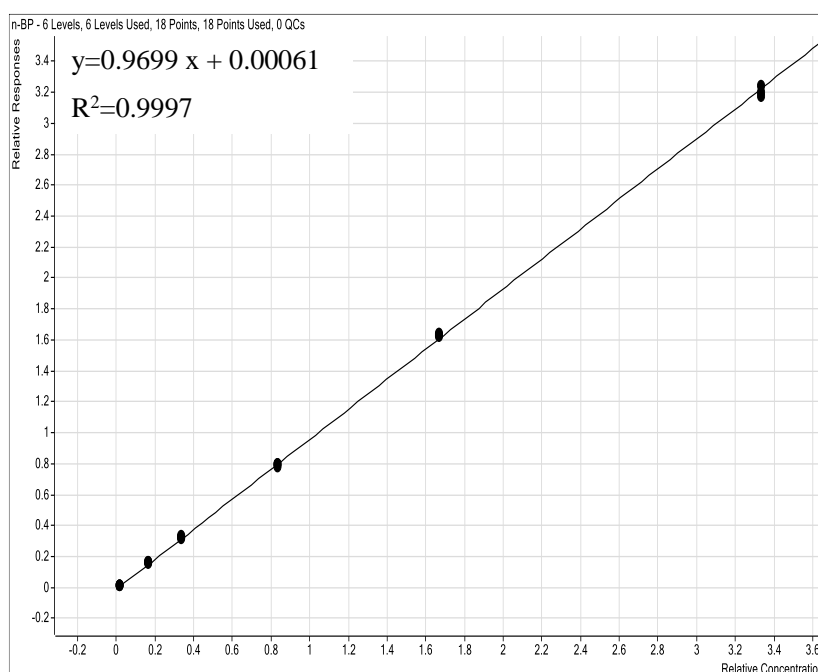


図 2.3.4.4 BP の検量線（縦軸が面積の Native/IS 比、横軸が濃度の Native/IS 比）

検出下限値（Limit of Detection: LOD）は、MP : 2 ng/mL、EP/PP/BP : 0.5 ng/mL 混合溶液を 7 回繰り返し測定して得られたピーク面積の平均 S/N 比（Signal/Noise 比）が 3 に相当するときの濃度を LOD とした（式 2.3.4）。その結果を、表 2.3.4.5 に示す。測定の結果、各パラベン類の LOD は、既往研究（Calafat et al., 2010）よりも低いレベルであったため、十分な感度が得られたと判断した。

LOD = 測定濃度（2 or 0.5 ng/mL）× S/N 比（3） / 7 回測定から得られたピーク面積の平均 S/N 比  
 ……（式 2.3.4）

表 2.3.4.5 尿中パラベン類濃度測定時の装置の LOD (ng/mL)

	MP	EP	PP	BP
LOD	0.27	0.044	0.065	0.016

## 2.3.5 ブランクの確認、精度管理

### 2.3.5.1 ブランクの確認

容器中、サンプリング時、輸送中および前処理作業中に汚染が無いかを確認するために、超純水をサンプルとして操作ブランク（n=3）、トラベルブランク（n=3）を実サンプルのサンプリング時に作製した。トラベルブランク用のサンプルは、まず、超音波洗浄後、超純水ですすいだポリプロピレン製ボトルに実験室内で超純水を入れ、そのボトルをサンプリング時に持参し、サンプリング現場で尿サンプル採取と同様の動作を行い、尿保存用チュ

ープに分注した。この移動先での超純水サンプル中のパラベン類濃度から実験室内で保存した超純水中のパラベン類濃度を引いた値が、トラベルブランクとなる。

以上のように採取したサンプルを、実サンプルと同様に前処理を行った後、測定した。その結果、各パラベン類濃度は LOD 未満であり、今回のサンプリング及び前処理操作において検出可能なレベルの汚染は起こっていないものと判断した。

#### 2.3.5.2 精度管理

尿中パラベン類濃度測定の精度管理を行うため、精度管理用の尿サンプル (Quality control sample、以下 QC 尿サンプルとする) を作製した。尿サンプルは、研究室内の女性 3 名に提供してもらった。この 3 名の尿サンプルを混合したものを QC 尿サンプルとして、以下に示す x-R 精度管理図の作成および、精度および真度の検討を行った。

##### ● x-R 精度管理

本研究では、x-R 管理図法を用いて、測定工程の安定性を検討した。x-R 管理図とは、一連の検体の測定と同時に全く同様の操作で分析した精度管理用サンプル (本研究では尿サンプル) の測定値の平均値とその差を時系列的にプロットとしたものである。平均値 (x) の変動は、標準液の変化、器具や試薬の汚染、測定器の感度の変化、測定技術の更新などの因子が反映され、差 (R) の変動はその日のピペッティングなど分析操作の精密さや分析装置の安定度などを反映している。平均値を中心として標準偏差の $\pm 2$  倍の濃度を管理限界値、 $\pm 3$  倍の濃度を警告限界値として 2 本の管理検体線を引き、この測定系の安定状態を管理する。警告限界値以内に測定値が得られるとき、その測定系は安定状態にあると考え、その範囲から逸脱した数値が得られた場合には測定系に何らかの異常があると考えて対策を講じる必要が生じる (環境省, 2005)。

2.3.5.2 章で作製した QC 尿サンプル (n=3) を一連の検体の分析開始前に測定日を変えて 5 回測定し、その平均値および標準偏差から本研究における管理検体線を作成した (表 2.3.5.2)。本章以降の実サンプル測定時にはこの QC 尿サンプル測定も測定し (n=2)、管理検体線に平均値 (x) および値の差 (R) をプロットして本測定の x-R 管理図を作成し、本測定系の安定性を確認した。

表 2.3.5.2 x-R 管理図における QC 尿サンプルのパラベン類管理濃度範囲 (ng/mL)

	平均値	管理限界		警告限界	
		上部	下部	上部	下部
MP	132	151	112	145	119
EP	3.75	5.18	2.33	4.70	2.80
PP	50.7	61.3	40.1	57.7	43.6
BP	8.16	9.98	6.33	9.37	6.94

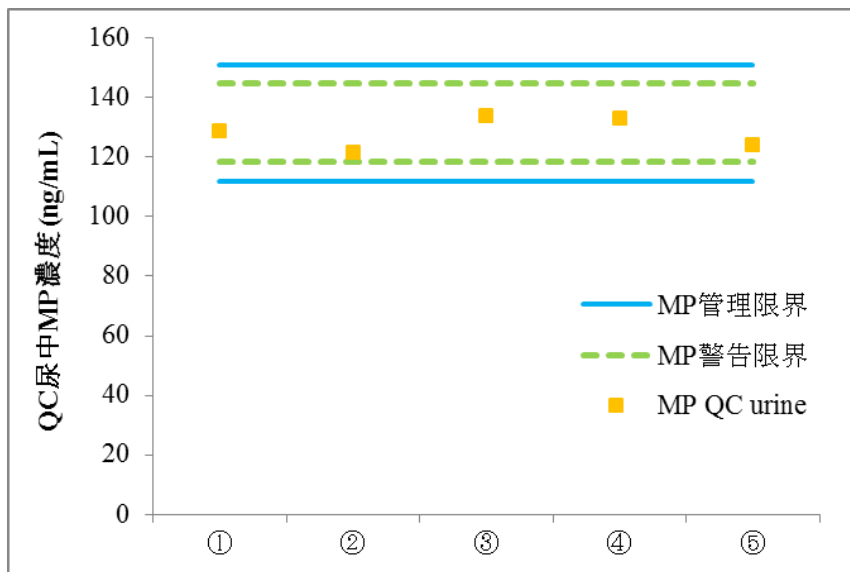


図 2.3.5.2.1 尿中 MP 濃度測定における  $\bar{x}$  管理図 (例)

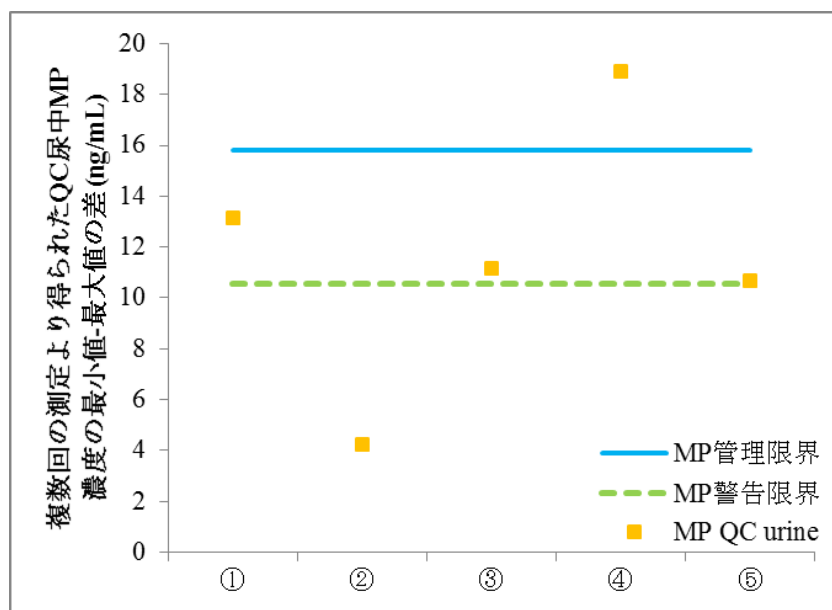


図 2.3.5.2.2 MP 測定における R 管理図 (例)

## ● 精度

### 併行精度

$\bar{x}$ -R 管理図によると、QC 尿サンプル中のパラベン類濃度測定値の日内変動を RSD として表すと、4.2-17%であった。Shah et al. (2000) は、生体試料の測定精度は 20%以内であるべきであると述べており、本測定方法の併行精度は許容範囲内であると判断した。

## 再現性

x-R 管理図によると、QC 尿サンプル中のパラベン類濃度測定値の日間変動を RSD として表すと、15-20%であった。本測定方法の再現性も許容範囲内であると判断した (Shah et al., 2000)。

## ● 真度

本研究では、真度の検討として、①内標準物質の回収率の検討と、②外部機関との分析方法のクロスチェックを行った。①は、検液中に所定量の内標準物質 (IS: internal standard) を添加し、分析方法と同じ前処理、試料液の調製、測定を行い、添加量と分析値から回収率を算出して検討を行う。なお、IS の回収率は、50-120%が目標とされている (環境省, 2005)。x-R 管理図作成時の QC 尿サンプル中の IS 回収率の平均値は、MP: 38±6%、EP: 37±6%、PP: 39±8%、BP: 46±8%となり、いずれのパラベンも IS の回収率が許容範囲より下回っていた。

この原因を検討するために、a) 超純水に前処理開始時に IS を添加したもの (ブランクサンプル)、b) 固相抽出後の QC 尿サンプルに IS 添加したサンプルを新たに用意し、回収率を検討した。その結果、a のブランクサンプルの回収率に b サンプルの回収率をかけると、通常の前処理 (前処理開始時に IS 添加、図 2.3.3) を行った QC 尿サンプルの回収率とほぼ同様の結果が得られた (表 2.3.5.2.4)。この結果より、QC 尿サンプルの IS 回収率の低さは質量分析時のイオン化の抑制による影響が考えられた。一方、この検討より、QC 尿サンプルの Native 回収率が環境省の許容範囲を下回っていても、IS で補正可能であると判断した。

表 2.3.5.2.4 ブランクサンプルおよび QC 尿サンプルの IS 回収率 (%)

	MP	EP	PP	BP
前処理開始時に IS を添加したブランクサンプル	73	84	87	92
固相抽出後に IS を添加した QC 尿サンプル	75	71	70	73
前処理開始時に IS を添加した QC 尿サンプル (通常の前処理方法)	53	50	63	68

\* 各サンプルは n=1 ずつ

②の分析方法のクロスチェックは、同じサンプルを用いて、外部機関が測定したサンプル中の濃度と本学で測定した濃度とを比較するというものである。同一の尿サンプル

(n=10) を本学および某分析機関で独立に分析した。測定の結果、MP、EP とともに回帰式の傾きが 1、相関係数が 0.97 以上となり、良好な結果が得られたことから、どちらの分析方法も信頼性のある方法であると考えられる。しかし、今回のクロスチェック測定において、PP と BP に関しては検出率が低く、検討できるほどの測定結果を確保できなかったため、

濃度比較はできなかった。PP と BP は、MP や EP と大きく化学的性質等是不わらないと考えられるため、同様の結果が得られる（回帰直線の傾きが 1 に近い結果が得られる）と予想されるが、比較サンプルを変えて再度、濃度比較を行って確認する必要があると考える。

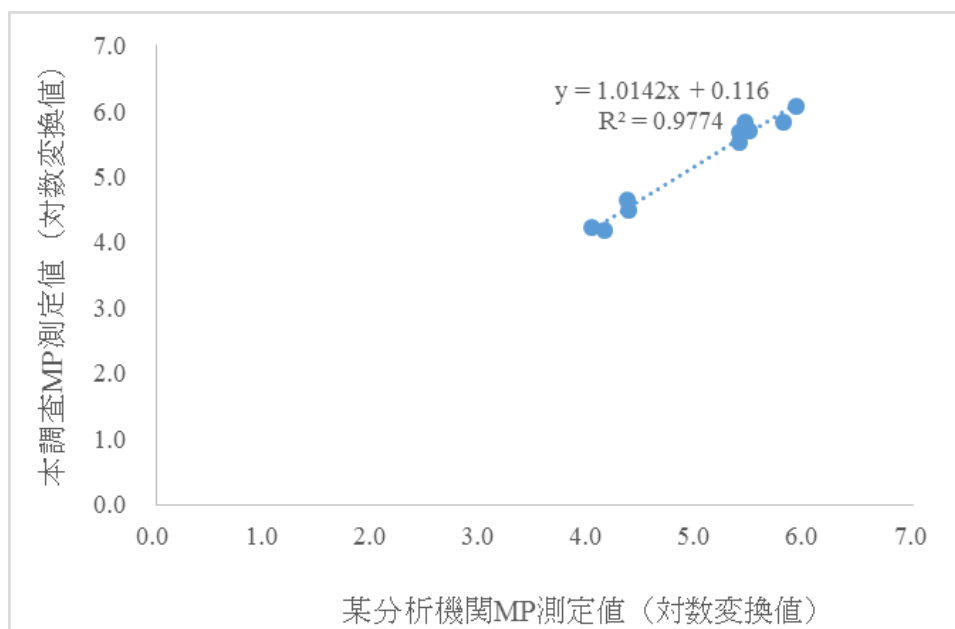


図 2.3.5.2.3 分析機関の違いによる同一尿サンプル中の MP 濃度の比較

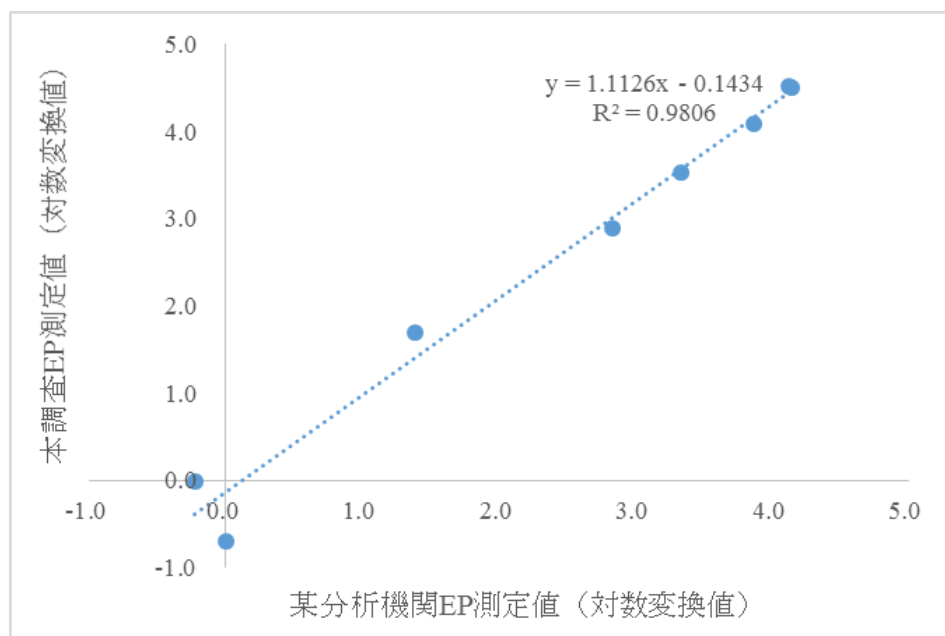


図 2.3.5.2.4 分析機関の違いによる同一尿サンプル中の EP 濃度の比較



## 本節のまとめ

事前に作製した QC 尿サンプルの繰り返し測定の結果、尿中濃度の併行精度および再現性は許容範囲であった。また、某分析機関とのクロスチェックの結果は良い一致を示した。これらの結果より、本測定方法は尿中パラベン類濃度分析に適応可能であると判断した。

### 2.3.6 比重補正

本研究では、パラベン曝露のバイオマーカーとして 1 回のサンプリングで得られた尿中濃度（スポット尿中濃度）を用いている。しかし、対象者の水分摂取量や発汗量の違いによる尿量の変動によって、尿中濃度は変化すると考えられる。この尿中濃度の日内変動を補正する方法として、尿比重を用いて単位体積当たりの濃度を算出する方法と、日内の尿排泄量がほぼ一定であり、かつ尿量によって対象物質と同様の変動が見られるクレアチニンによる補正方法がある。尿中クレアチニン濃度は、人種や性別、年齢によって排泄量が異なるという報告があるため、本研究では、尿比重によって尿量補正した（比重=1.020 に規格化）パラベン類濃度を統計解析に使用した。尿比重の測定には、エルマ臨床屈折計（エルマ社製）を用いた。対象者の尿サンプル測定ごとに超純水でレンズを洗浄し、基準線を合わせた。尿比重の補正式は、以下に示す式 2.3.6 を用いた（緒方, 1992）。式 2.3.6 中の 1.020 は、日本人の標準尿比重濃度を示す。

$$\text{尿比重補正濃度} = \frac{1.020 - 1.000}{\text{個人の尿比重値} - 1.000} \times \text{測定で得られた尿中濃度} \quad \dots (\text{式 2.3.6})$$

## 2.4 まとめ

本章では、尿中パラベン類濃度の測定方法を、既往研究を参考にして検討した。また、測定方法の精度管理を、検出下限値（感度）、尿サンプルの繰り返し測定による併行精度・再現性（精度）、クロスチェックの実施（真度）の観点から行った。

精度管理の結果、本測定方法は、既往研究よりも低いレベルの LOD を得られたことから十分な感度が得られたこと、繰り返し測定から得られた同一尿サンプルの濃度変動が許容範囲内であったこと、外部分析機関との測定結果がよく一致したことから、信頼性の高い測定方法であると判断した。

## 第 3 章

# パラベン類曝露指標としての 尿中パラベン類濃度の適切性の検討

### 第3章 パラベン類曝露指標としての尿中パラベン類濃度の適切性の検討

#### 3.1 はじめに

一般集団を対象にした疫学調査において、パラベン類の尿中濃度の検出率が高いことが報告されている (Calafat et al., 2010)。Smith et al. (2012) は、アメリカ在住の男女 2721 人を対象にした大規模な疫学調査において、MP と PP の検出率が 96% 以上であったことを報告した。この結果は、パラベン類曝露が一般大衆に広がっていることを示唆している。パラベン類曝露と生殖機能との関連に関する疫学調査も何報かある。Meeker et al. (2011) らは、尿中パラベン類濃度が高い人ほど、精子 DNA の損傷が多かったことを報告した。また、Smith et al. (2012) は、尿中 PP 濃度が高い人は、胞状卵胞数が少ない傾向にあったことを報告した。このように、パラベン類曝露による生殖機能への負の影響が一般大衆の曝露レベルで生じている可能性が懸念されており、さらなる疫学研究が求められている。

パラベン類曝露の健康影響に関する疫学研究において、曝露レベルの推定には尿中パラベン類濃度が用いられることは、第 1 章でも述べた。これまでの研究では、対象者から採尿時刻を定めずに 1 回だけ採尿した「スポット尿」サンプルが用いられているが、摂取してから体外に排出されるまでの時間が短いパラベン類のスポット尿中濃度は、曝露や採尿のタイミングによって、個人内変動が大きくなる可能性がある。一方、PCP の使用には個人の嗜好が反映されることから、パラベン類曝露は個人間でも差が生じるかもしれない。それゆえ、生殖機能など、長期的な（慢性的な）曝露によって惹起される可能性がある健康事象との関連の有無を調べるには、長期の曝露レベルを知る必要がある。そこで、1 回のサンプリングで得られたスポット尿中濃度が、個人の長期曝露をどの程度反映しているかを、事前に評価する必要があると考えられる。

級内相関係数 (Intra-class correlation coefficient: ICC) は、パラベン類のような生物学的半減期が短い化学物質の曝露評価に使われる、スポット尿中濃度の代表性を評価するために用いられる指標であり、尿中濃度などのバイオマーカー測定値における、個人間および個人内変動の合計値に対する個人間変動の大きさを比で表した値である。尿中パラベン類濃度の ICC については、アメリカの一般男性 (Smith et al., 2012)、上海在住の男女 (Engel et al., 2014)、プエルトリコ在住の妊婦 (Meeker et al., 2013) などを対象とした報告が数件ある。これらの報告から、1 回の測定で算出され得られた尿中パラベン類濃度は、男女ともに、スポット尿中濃度がおおよそ対象者の長期曝露を反映している (ICC >0.4: “fair to good reproducibility” (Rosner, 2010)) という結果に一致を見ている。今のところ、日本人を対象とした ICC の報告はない。PCP が主な曝露源であるとする、尿中パラベン類濃度の個人内変動や個人間変動の大きさは、対象者の嗜好によって変化すると考えられるため、スポット尿中パラベン類濃度を曝露のバイオマーカーとして日本人を対象とした疫学調査を行うにあたり、日本人の尿中パラベン類濃度の ICC 調査が求められる。

本章では、日本人男女の尿中パラベン類濃度の ICC を用いて、スポット尿中パラベン類

濃度が、どの程度、生殖年齢にある日本人男女の長期曝露レベルを反映しているかを調べることを目的とした。

## 3.2 方法

### 3.2.1 対象者

男女ともに、調査開始前に、本章の研究に関する説明を書面にて伝え、同意を得たものを対象者とした。男性は、会社員や大学事務職に従事する 10 名の成人を調査対象とした。女性は、東京都内の某看護大学生 12 名を対象とした。女性対象者は、第 5 および 6 章の調査対象者の一部である。

### 3.2.2 尿試料サンプリング

採尿時期は、男性は 2015 年 5 月から 9 月、女性は 2014 年 2 月から 7 月であった。採尿は、月に 1 回、計 5 回行われた。採尿の間隔は平均値で、男性は  $29.8 \pm 2.0$  日（4 対象者分の何回かの採尿日時に関するデータが不明）、女性は  $36.9 \pm 0.7$  日であった。採尿は、対象者自身の手で行ってもらった。自宅あるいは職場あるいは大学のトイレで尿を紙コップに採り、その一部をポリプロピレン製のボトルに保管するよう依頼した。採尿の時間は、特に定めなかった。採尿後、尿サンプルは冷蔵下で 2 日以内に研究室に移送され、尿中濃度分析まで  $-20^{\circ}\text{C}$  で保管された。

### 3.2.3 尿中パラベン類濃度測定

尿中パラベン類濃度の測定方法、および精度管理の結果は、第 2 章に示した通りである。

### 3.2.4 統計解析

ICC の算出には、Rosner のランダムモデル (Rosner, 2010) を用いた (式 3.2.4)。Rosner (2010) は ICC 評価の前提として、対象者は無作為に抽出されていること、解析データが正規分布に従うこと、要因の等分散性が保証されていることを挙げている。3.2.3 で得られた対象者の尿中パラベン類濃度の分布が大きく歪んでいたことから、尿中濃度は尿比重補正および対数変換した値を用いることとした。また測定の結果、パラベン類濃度が LOD を下回っていた場合は、LOD の 1/2 にあたる値を代入して解析を行った。このモデル式に必要な個人間・個人内分散値は、一元配置分散分析 (ANOVA) の結果から算出した。統計解析には、SPSS ver 12.0J (IBM, 東京) を用いた。

$$ICC = \frac{\text{個人間分散値} - \text{個人内分散値}}{\text{個人間分散値} + (k - 1) \times \text{個人内分散値}} \quad \dots\dots (式 3.2.4)$$

(k: 測定回数)

なお、Rosner (2010) は ICC の評価基準について、表 3.2.4 のようにまとめている。本章における ICC の評価も、Rosner の評価方法を参考にすることとした。

表 3.2.4 ICC の評価基準 (Rosner, 2010)

ICC	評価
ICC < 0.4	低い再現性 (Poor reproducibility)
0.4 ≤ ICC < 0.75	中程度の再現性 (Fair to good reproducibility)
0.75 ≤ ICC	高い再現性 (Excellent reproducibility)

### 3.3 結果と考察

#### 3.3.1 対象者の属性

本章の研究対象となった男性 10 名の平均年齢及び BMI は、35.9±6.8 歳、22.3±1.3 kg/m<sup>2</sup> であった。女性 12 名の平均年齢および BMI は、21.1±0.4 歳、21.7±2.6 kg/m<sup>2</sup> であった。

#### 3.3.2 尿中パラベン類濃度

本対象者の、尿比重補正した尿中パラベン類濃度の 5 か月間の平均値、幾何平均値、中央値を表 3.3.2.1 に示す。また、男性の各尿中パラベン類濃度のヒストグラムを図 3.3.2.1-3.3.2.4 に、女性の各尿中パラベン類濃度のヒストグラムを図 3.3.2.5-3.3.2.8 に示す。男性対象者 (n=10) の尿中濃度の検出率は、MP が 100%、EP が 96%、PP が 92%、BP が 54% であった。尿中パラベン類濃度の中央値は、39.7 (MP)、1.69 (EP)、0.569 (PP)、0.0264 (BP) ng/mL であった。一方、女性対象者 (n=12) の尿中濃度検出率は、MP が 100%、EP が 100%、PP が 98%、BP が 75% であった。尿中濃度の中央値は、283 (MP)、9.30 (EP)、22.9 (PP)、0.574 (BP) ng/mL であった。

本対象者の男女の尿中濃度を、中央値で比較したところ、いずれのパラベン類も女性の方が有意に高かった (Mann-Whitney の U 検定、 $p < 0.05$ 、表 3.3.2.1)。男性と比べて女性の尿中濃度が高いという結果は、表 3.3.2.2 にまとめたように、既往研究の報告と一致する (Meeker et al., 2010; Smith et al., 2011)。これは、男性に比べて女性の方が、主な曝露源とされる PCP を多く使うため、尿中濃度も女性の方が高い濃度が検出されたと考えられる。PCP の使用に関しては、第 8 章で詳しく触れる。

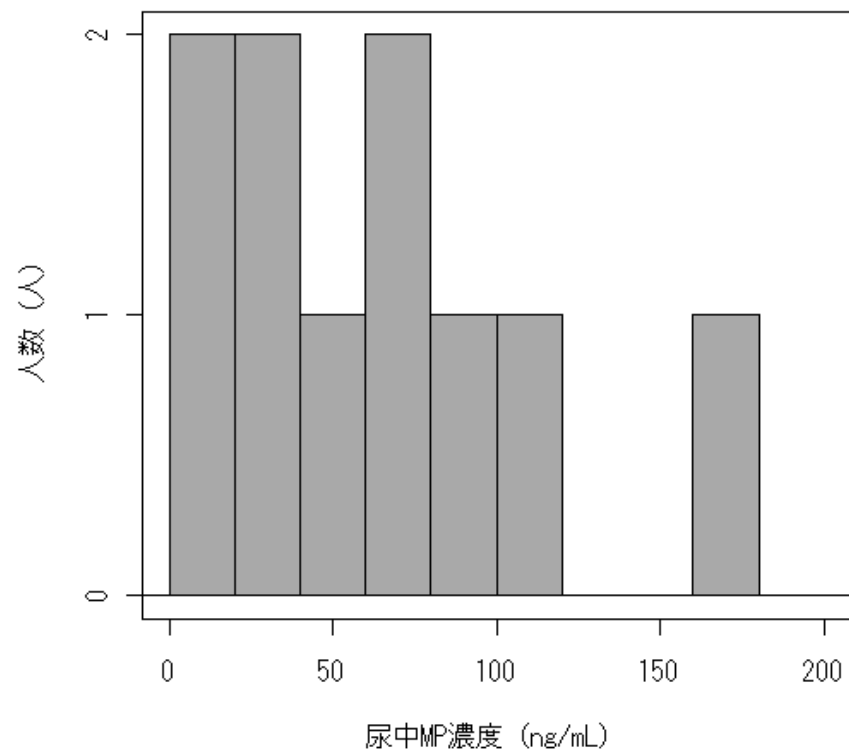


図 3.3.2.1 男性対象者 10 人の 5 カ月間の平均尿中 MP 濃度のヒストグラム

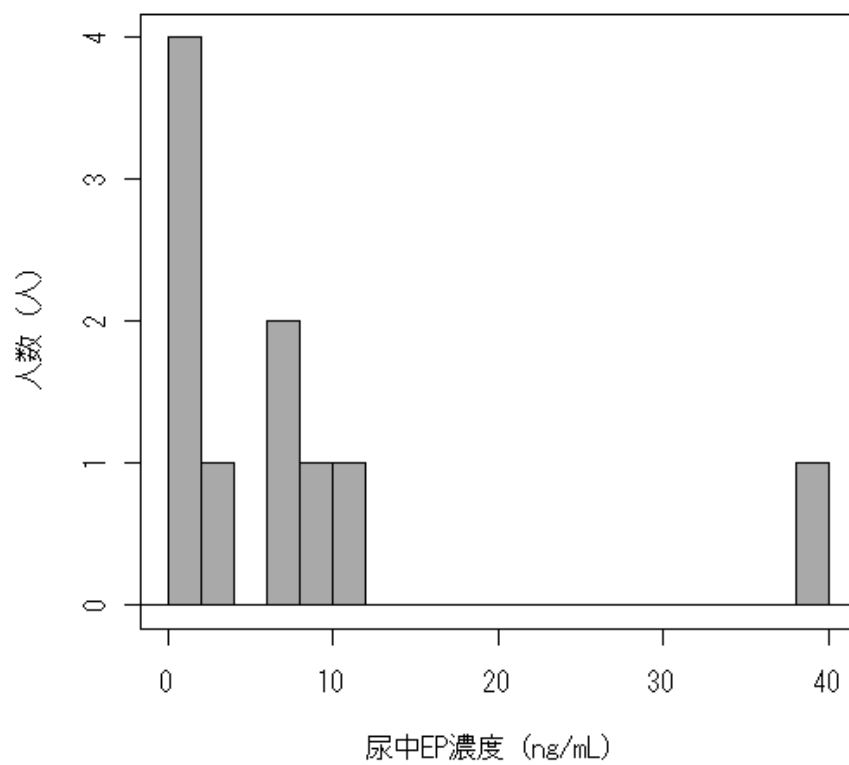


図 3.3.2.2 男性対象者 10 人の 5 カ月間の平均尿中 EP 濃度のヒストグラム

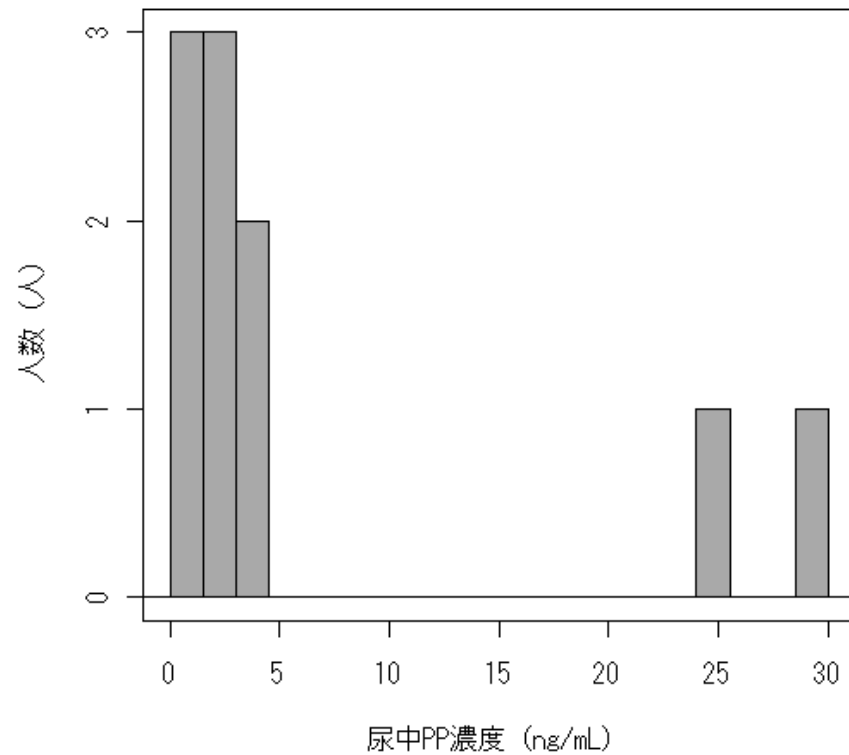


図 3.3.2.3 男性対象者 10 人の 5 カ月間の平均尿中 PP 濃度のヒストグラム

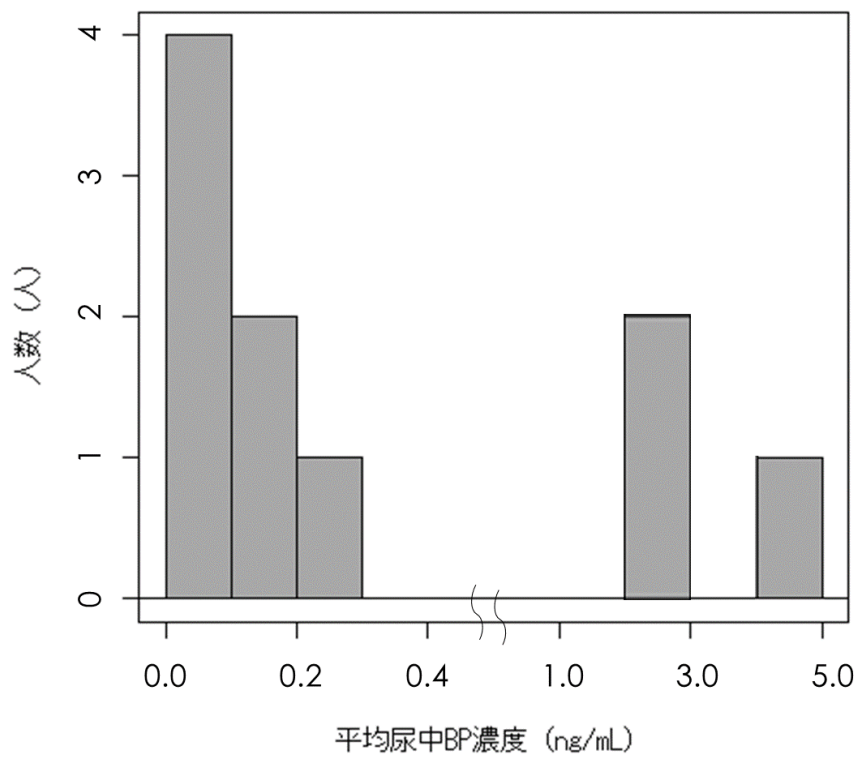


図 3.3.2.4 男性対象者 10 人の 5 カ月間の平均尿中 BP 濃度のヒストグラム

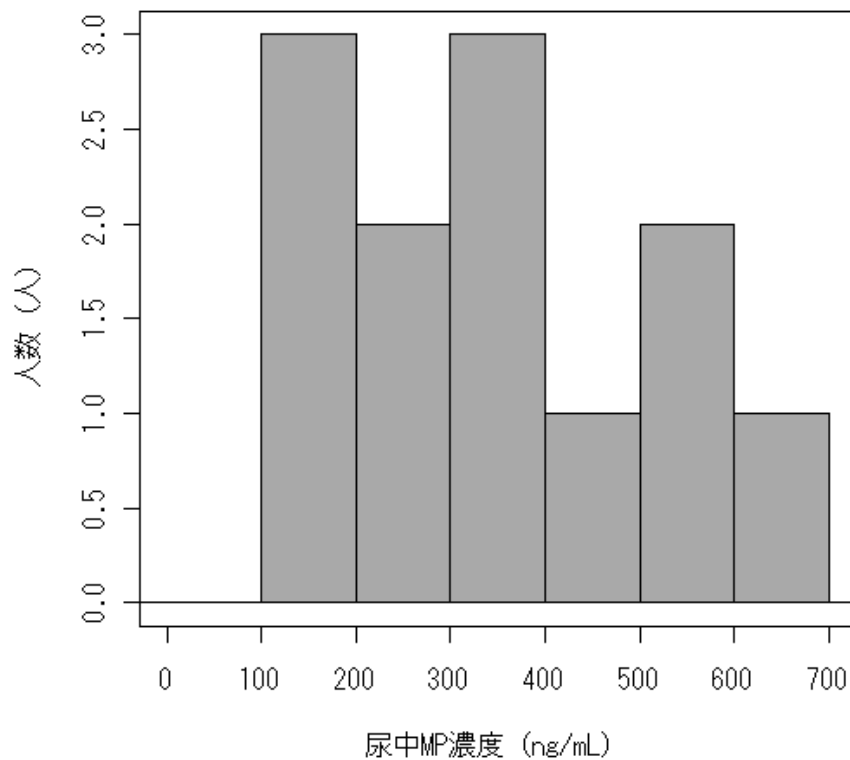


図 3.3.2.5 女性対象者 12 人の 5 カ月間の平均尿中 MP 濃度のヒストグラム

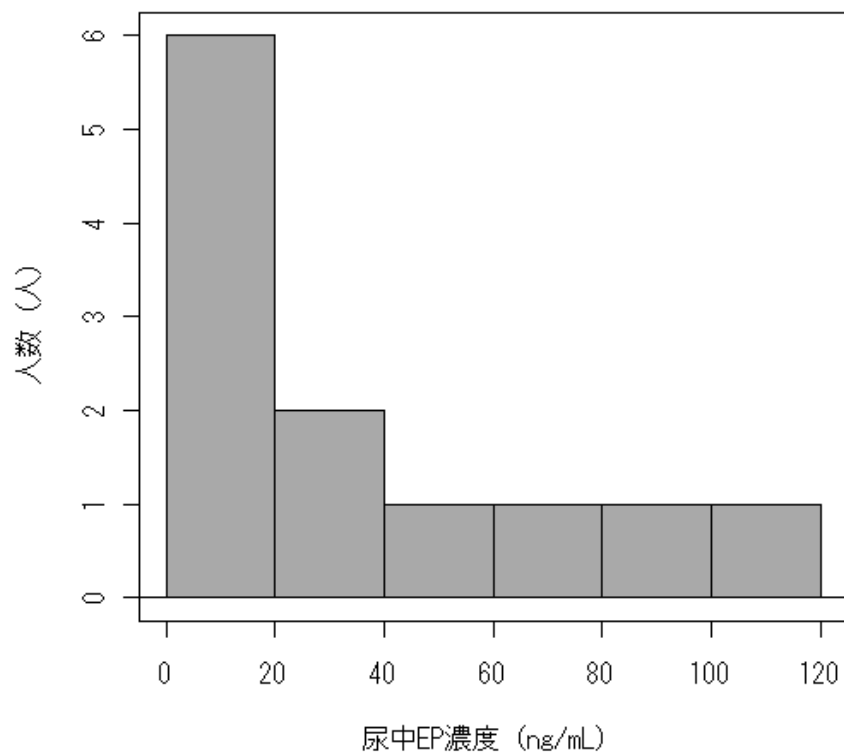


図 3.3.2.6 女性対象者 12 人の 5 カ月間の平均尿中 EP 濃度のヒストグラム



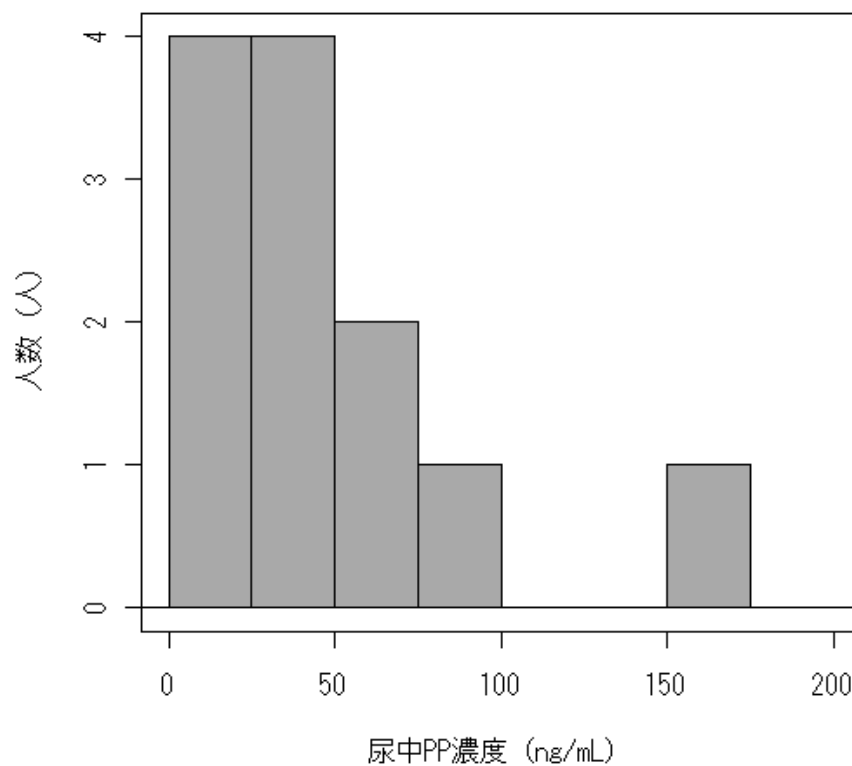


図 3.3.2.7 女性対象者 12 人の 5 カ月間の平均尿中 PP 濃度のヒストグラム

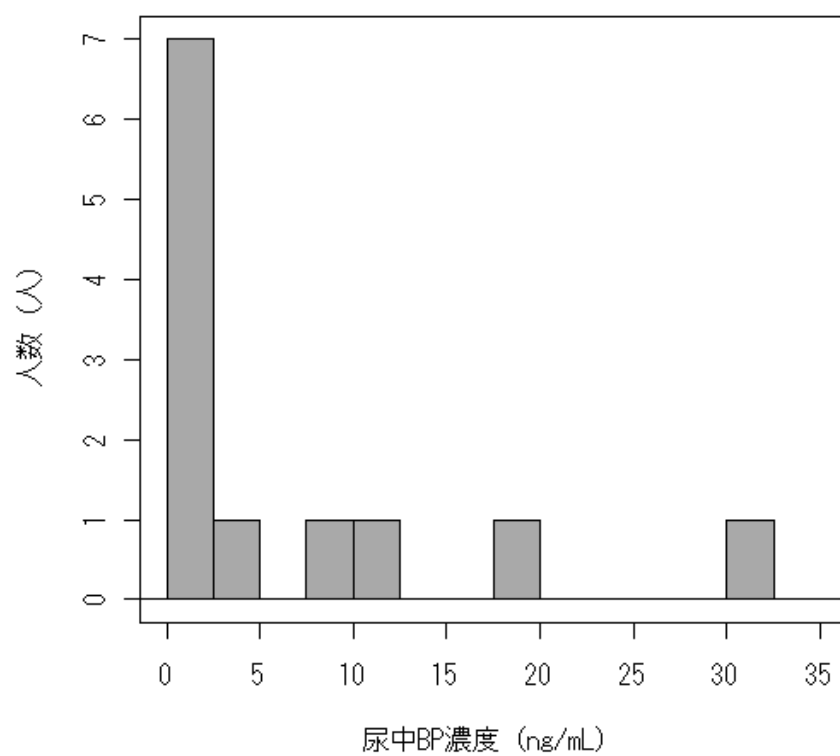


図 3.3.2.8 女性対象者 12 人の 5 カ月間の平均尿中 BP 濃度のヒストグラム

表 3.3.2.1 対象者の尿中パラベン類濃度<sup>a</sup>

	MP (ng/mL)		EP (ng/mL)		PP (ng/mL)		BP (ng/mL)	
	男性	女性	男性	女性	男性	女性	男性	女性
n	10	12	10	12	10	12	10	12
検出率 (%)	100	100	96	100	92	98	54	75
幾何平均値	31.3	246	2.07	11.9	0.716	15.1	0.0457	0.475
最小値	4.64	51.8	0.245	3.10	< LOD	0.922	< LOD	< LOD
25th	17.7	198	0.641	4.28	0.301	7.09	< LOD	0.120
50th	36.7	318	1.87	12.4	0.634	12.8	0.0427	0.517
75th	64.2	378	5.91	29.5	1.55	38.9	0.120	1.77
最大値	155	596	31.2	487	19.2	1147	0.281	14.9
LOD	0.48		0.045		0.11		0.020	
p <sup>b</sup>	< 0.010		0.033		< 0.010		0.015	

<sup>a</sup> 男性 10 人、女性 12 人から得られた 5 サンプルの平均値から幾何平均値等をそれぞれ算出<sup>b</sup> Mann-Whitney U 検定（男女の尿中パラベン類濃度を比較）

表 3.3.2.2 既往文献中の尿中パラベン類濃度との比較

	n	MP	EP	PP	BP	参考文献
男性	10	31.3	2.07	0.716	0.0457	This study (2016) <sup>a</sup>
	190	35.5	-	4.52	< 0.2	Meeker et al. (2010)
	245	33.0	-	3.82	0.350	Smith et al. (2011) <sup>b</sup>
女性	12	246	11.9	15.1	0.475	This study (2016) <sup>c</sup>
	105	140	-	30.0	1.00	Meeker et al. (2010) <sup>d</sup>
	408	137	-	27.5	1.48	Smith et al. (2011) <sup>e</sup>
	111	83.6	7.31	25.8	1.16	Shirai et al. (2012)

\* 表中の尿中濃度は尿比重補正值（単位は ng/mL）

<sup>a</sup> 10 名の対象者から 5 サンプルずつサンプリング（35.9±6.8 歳）<sup>b</sup> 245 名の対象者から中央値で 3 サンプルずつサンプリング（36.5±5.5 歳）<sup>c</sup> 12 名の対象者から 5 サンプルずつサンプリング（21.1±0.4 歳）<sup>d</sup> 105 名の対象者から 3 サンプルずつサンプリング（27.1±4.8 歳）<sup>e</sup> 408 名の対象者から中央値で 3 サンプルずつサンプリング（35.7±4.2 歳）

### 3.3.3 長期曝露指標としての尿中パラベン類濃度の適切性の検討

本研究の男性対象者 10 名と女性対象者 12 名の尿中パラベン類濃度の採尿回ごとの傾向を図 3.3.3.1-3.3.3.8 に示す。各人 5 サンプルの尿中濃度と標準偏差から個人内変動を変動係数として求めたところ、その中央値は、男性が 68% (MP)、74% (EP)、122% (PP)、91% (BP)、女性が 52% (MP)、89% (EP)、77% (PP)、125% (BP) であった。一方、個人間変動は、男性が 101% (MP)、150% (EP)、183% (PP)、286% (BP)、女性が 72% (MP)、158% (EP)、114% (PP)、159% (BP) であった。

男性 10 名の尿中 PP および BP 濃度の採尿回ごとの傾向 (図 3.3.3.3, 3.3.3.4) を見ると、PP と BP は、全体的に濃度が低いレベルで推移しているが、1 点のみ高濃度が検出されるなど、個人内変動が大きい様子が読み取れた。女性は、EP や BP は個人内変動が大きい様子が読み取れた (図 3.3.3.6, 3.3.3.8)。

表 3.3.3.1 に、5 回のサンプリングから得られた、男性対象者の尿中パラベン類濃度の個人間・個人内分散値およびこの分散値を用いて算出した ICC の結果を示す。男性の尿中パラベン類濃度の ICC は、MP が 0.56、EP が 0.58、PP が 0.39、BP が 0.28 となり、BP を除いたパラベン類の ICC は “Fair to good reproducibility” (Rosner, 2010) に該当した。一方、女性の尿中パラベン類濃度の ICC は、MP が 0.40、EP が 0.43、PP が 0.41、BP が 0.37 となり、“Fair to good reproducibility” (Rosner, 2010) の下限値付近に該当した。この結果から、1 回のサンプリングで得られた尿中パラベン類濃度は、パラベン類の長期曝露をおおむね反映していると考えられた。しかし、より正確に尿中濃度から個人の曝露レベルを調べるためには、複数回の尿サンプリングから得られた尿サンプル中のパラベン類濃度が必要だと考えられた。

男性の尿中 MP、EP、PP 濃度の ICC は、既往報告値よりも高いレベルか同程度の値であった (既往報告値 ICC=0.18-0.71、図 3.3.3.9) (Smith et al., 2012; Meeker et al., 2011; Engel et al., 2014; Dewalque et al., 2015)。尿中 BP 濃度の ICC は、1 件の既往報告がある (ICC=0.29) (Dewalque et al., 2015) が、本研究と同程度の値であった。一方、女性の尿中パラベン類濃度の ICC は、いずれのパラベン類も既往報告値とほぼ同程度の値であった (図 3.3.3.10) (Smith et al., 2012; Meeker et al., 2013; Philippat et al., 2013; Engel et al., 2014; Dewalque et al., 2015; Guidry et al., 2015)。

パラベン類は、摂取から排泄までの時間が短い (24 時間で摂取した 86% が排出される) (Soni et al., 2005) ことが知られている。しかし、尿中濃度が比較的長期の曝露を反映できないという ICC の結果が得られたのは、主なパラベン類の曝露源が PCP であることが理由として考えられる。PCP は、個人ごとの嗜好によって商品選択が異なる可能性が高い一方、習慣的に使用するものであるから、個人内での使用状況は比較的一定しているものと推測される。そのため、PCP 使用の個人間変動が個人内変動に比べて大きくなり、ICC が比較的高い値になったと考えられる。

しかしながら、尿中 BP 濃度の ICC は他のパラベン類の結果と比べて低い値となった。5

回のサンプリング中 1 回のみ高い尿中濃度が検出された対象者がいたため（図 3.3.3.4 および 3.3.3.8）、この個人内変動によって ICC が低くなった可能性がある。日本では、栄養ドリンクといった医薬部外品やしょうゆなどの調味料に、保存料として EP や PP、BP が使われている（厚生労働省, 1996）。実際、日本で市販されている栄養ドリンク中のパラベン類を測定したところ、BP が最も多くの製品から検出され、1 本あたり 40ppm 程度であった（牧野ら, 1999）。これは、PCP 中濃度と同様の濃度レベルであり、曝露源として無視できない存在であると考えられる。本調査では、栄養ドリンクや調味料などの摂取に関する調査を行っていないため、本章の結果に見られた 1 回の尿中濃度の変動（図 3.3.3.4 および 3.3.3.8）が、PCP 使用に由来するものなのか、医薬品等の PCP 以外の製品の使用からなのかを判断することは、今回の調査から不可能である。そのため、尿中パラベン類濃度の個人内・個人間変動に関してより詳細な考察を行うためには、栄養ドリンクや調味料等の PCP 以外のパラベン類含有製品の摂取に関する調査も行う必要がある。

### 3.4 まとめ

本章では、スポット尿中パラベン類濃度が、どの程度長期曝露レベルを反映しているかを調べるために、個人の男性 10 名、女性 12 名から繰り返し 5 回サンプリングした尿中パラベン類濃度（MP、EP、PP、BP）の個人内・個人間変動について ICC を用いて評価を行った。その結果、4 種の尿中パラベン濃度の ICC は 0.3-0.6 と算出され、スポット尿中のパラベン類濃度は比較的長期の曝露を反映していると考えられた。しかし、より正確にパラベン類への長期的な曝露を個人の曝露レベルで調査するためには、複数回の尿サンプリングから得られた尿中濃度を用いる必要があると考えられた。

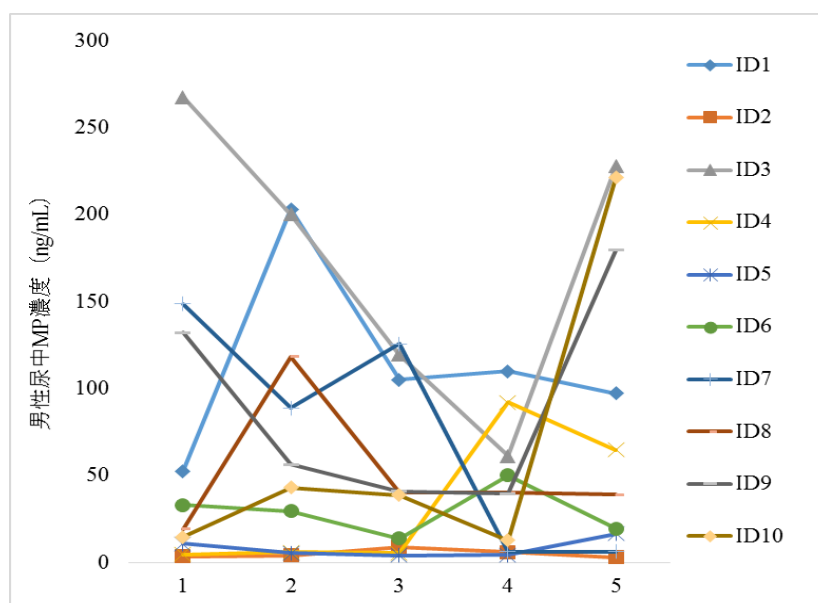


図 3.3.3.1 男性対象者の尿中 MP 濃度の変動

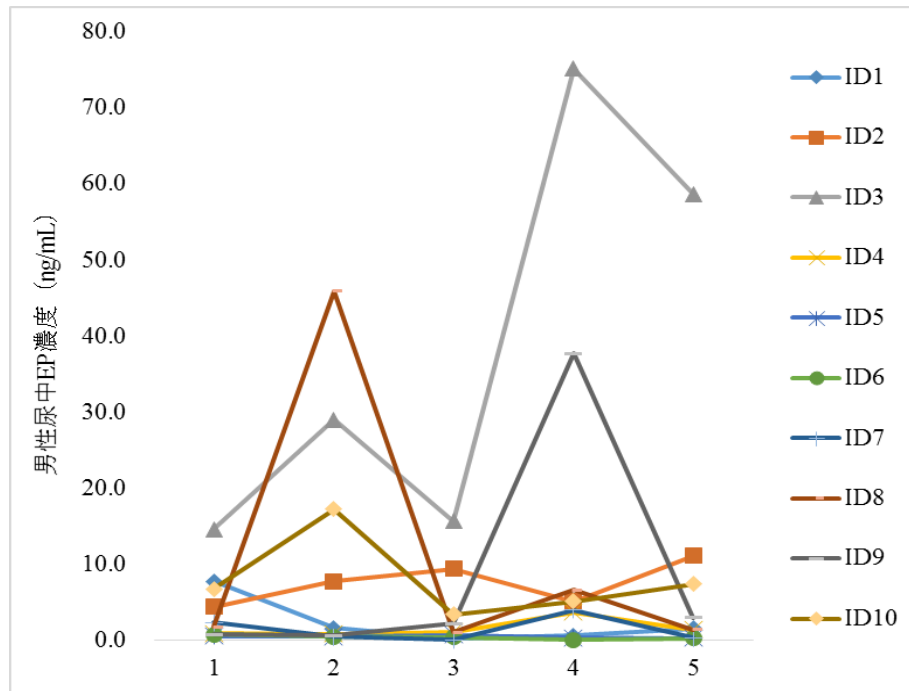


図 3.3.3.2 男性対象者の尿中 EP 濃度の変動

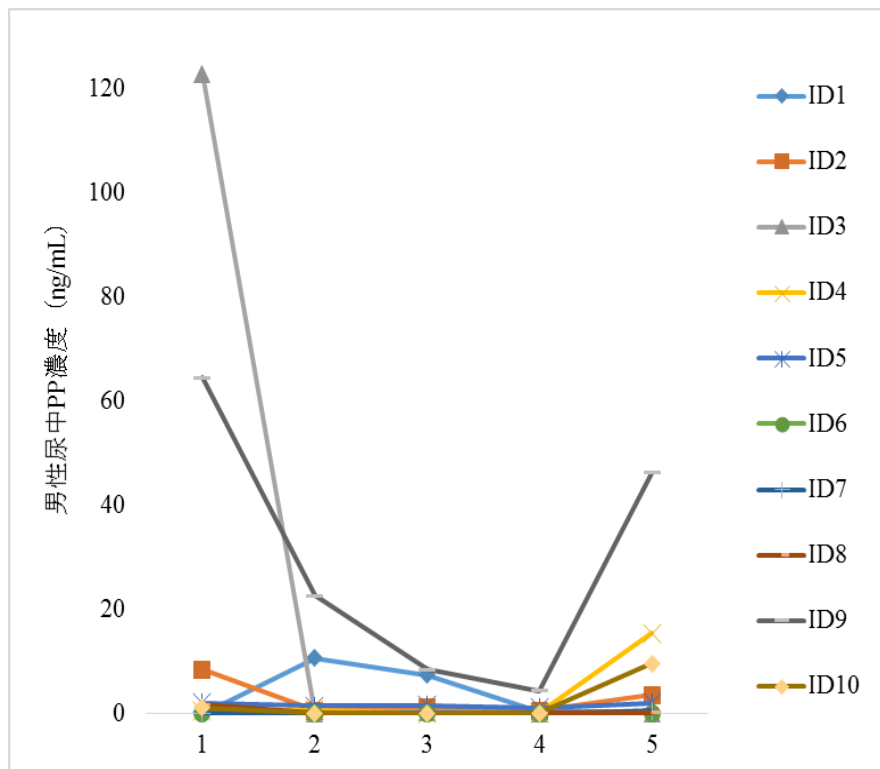


図 3.3.3.3 男性対象者の尿中 PP 濃度の変動

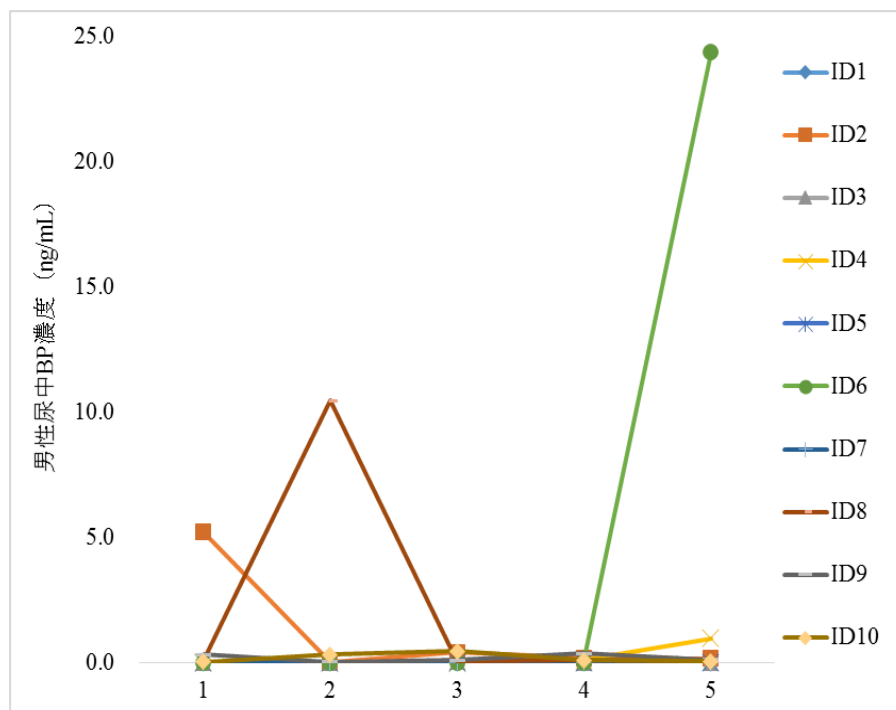


図 3.3.3.4 男性対象者の尿中 BP 濃度の変動

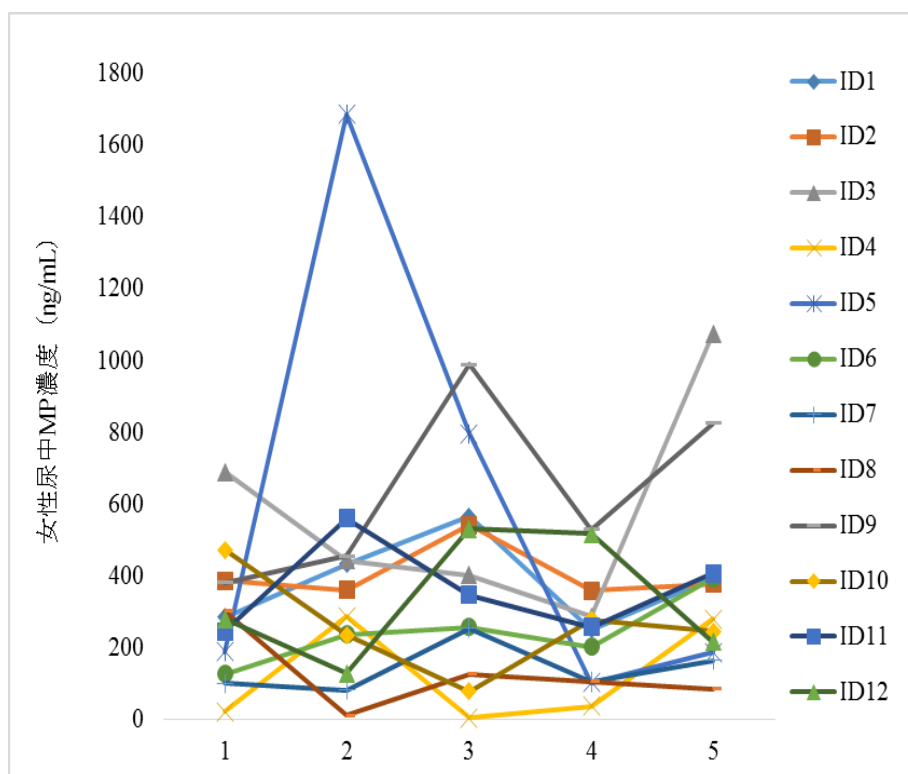


図 3.3.3.5 女性対象者の尿中 MP 濃度の変動

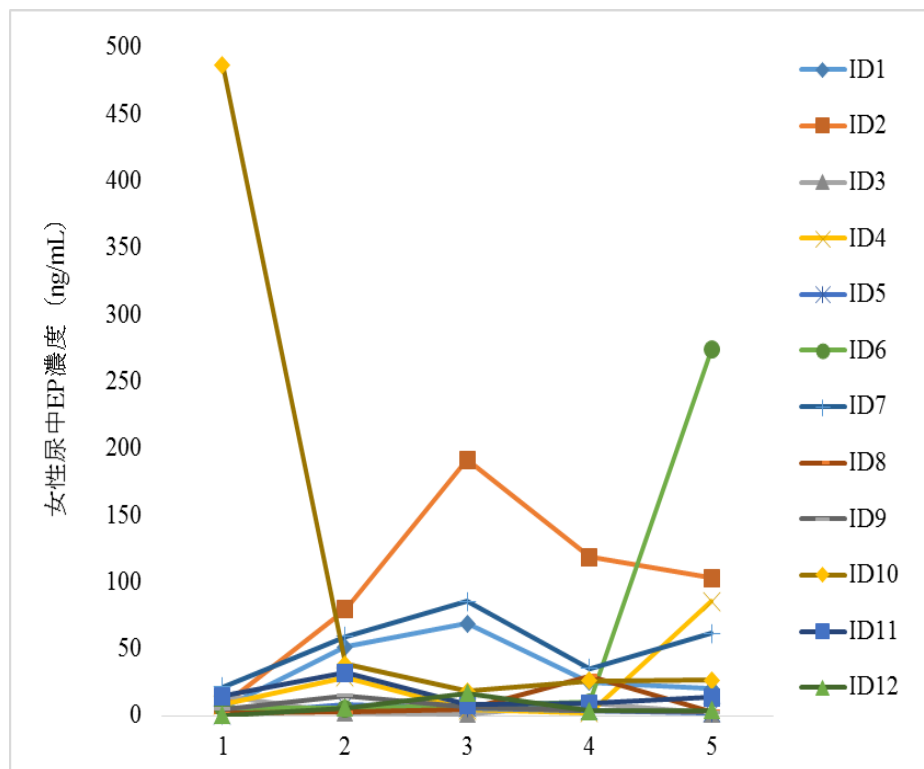


図 3.3.3.6 女性対象者の尿中 EP 濃度の変動

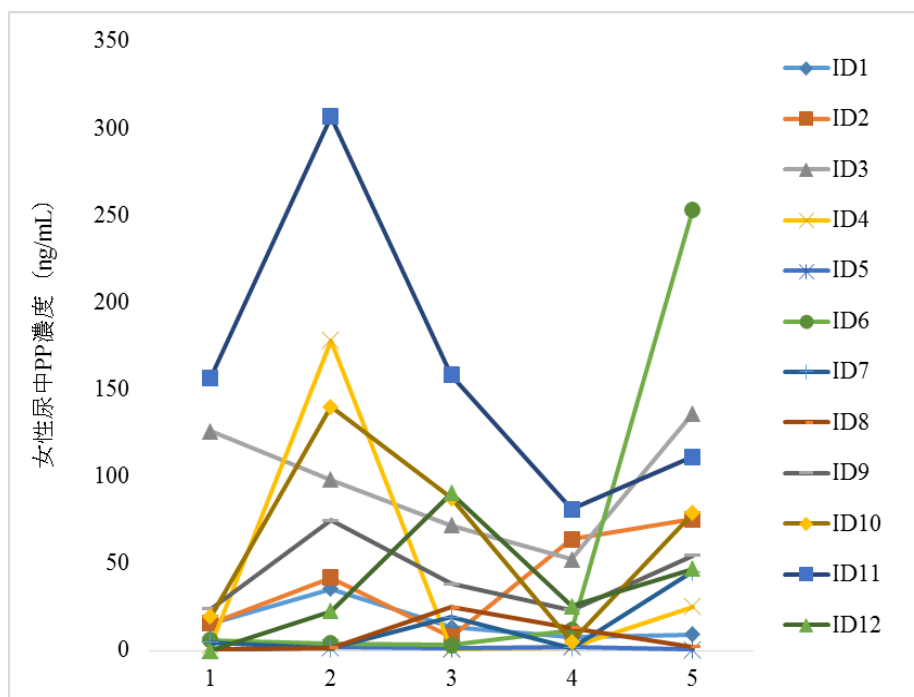


図 3.3.3.7 女性対象者の尿中 PP 濃度の変動

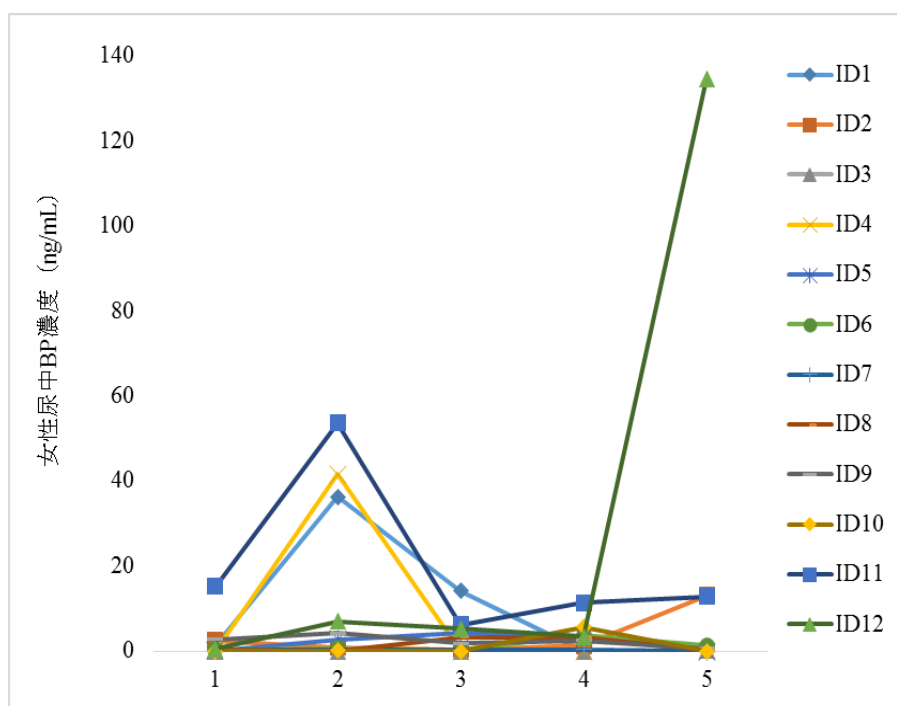


図 3.3.3.8 女性対象者の尿中 BP 濃度の変動

表 3.3.3.1 5 回採尿のサンプル測定から得られた尿中パラベン類濃度の ICC

		MP	EP <sup>b</sup>	PP <sup>b</sup>	BP <sup>b</sup>
男性 (n=10)	個人内分散 <sup>a</sup>	0.845	1.42	2.73	2.77
	個人間分散 <sup>a</sup>	6.27	11.1	11.6	8.06
	ICC	0.56	0.58	0.39	0.28
	ICC の 95%信頼区間	下限	0.29	0.31	0.13
		上限	0.83	0.84	0.74
				0.65	0.65
女性 (n=12)	個人内分散 <sup>a</sup>	0.621	1.33	2.28	5.35
	個人間分散 <sup>a</sup>	2.72	6.29	10.1	21.0
	ICC	0.40	0.43	0.41	0.37
	ICC の 95%信頼区間	下限	0.16	0.18	0.16
		上限	0.71	0.73	0.71
				0.69	0.69

\* 尿中濃度は尿比重で補正した値を使用

<sup>a</sup> 個人内・個人間分散値は、尿中濃度を対数変換した後、一元配置分散分析（ANOVA）を実施した際に得られた値

<sup>b</sup> 測定値が LOD を下回っていた場合、LOD の 1/2 の値を代入して分析



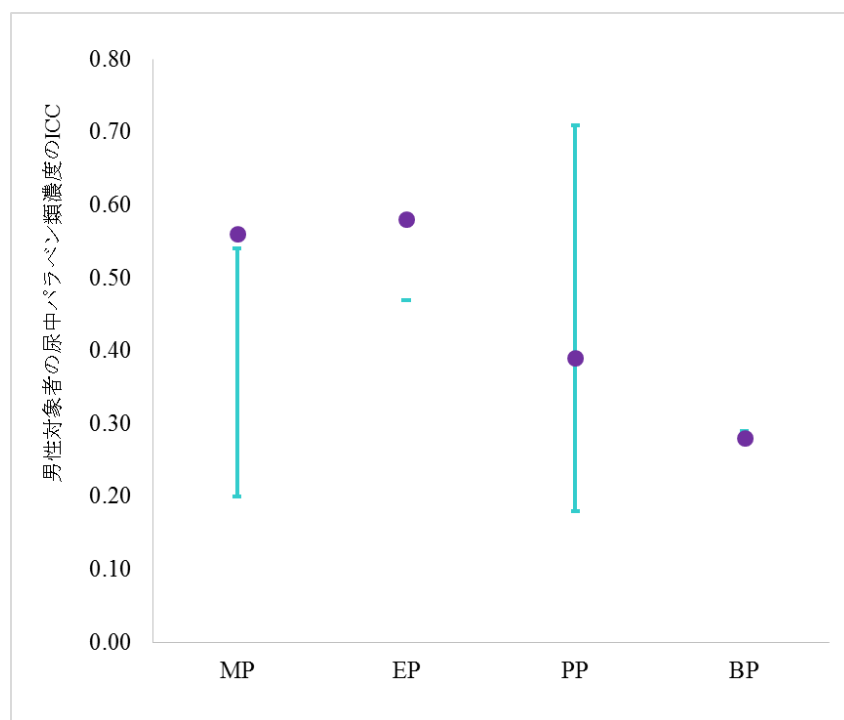


図 3.3.3.9 男性尿中パラベン類濃度の ICC の既往報告値との比較  
(●は本調査測定値、バーは既往文献値)

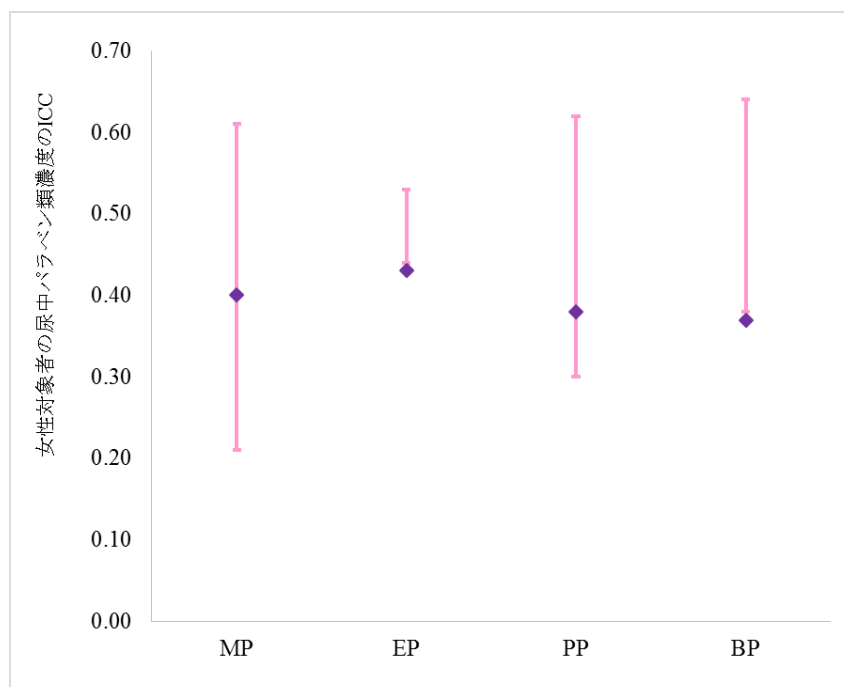


図 3.3.3.10 女性尿中パラベン類濃度の ICC の既往報告値との比較  
(◆は本調査測定値、バーは既往文献値)

## 第 4 章

# パラベン類曝露と男性生殖機能指標と しての精液指標との関連

#### 第4章 パラベン類曝露と男性生殖機能指標としての精液指標との関連 (以下、本文については5年以内に掲載予定)



























## 第 5 章

### 女性生殖機能指標としての 月経周期に関する基礎的調査



## 第5章 女性生殖機能指標としての月経周期に関する基礎的調査

### 5.1 はじめに

本章では、女性生殖機能指標として、月経周期を取り上げ、その基礎的調査を行った。不妊治療の現場において、男性の生殖機能の検査項目として精液指標が用いられていることは第4章で述べた。一方、女性の生殖機能指標として確立したものは未だ見出されていない。そこで本章では、月経周期を指標として用いる可能性を検討することを考えた。ヒト妊孕力の指標として、一般的に受胎待ち時間（Time to pregnancy : TTP）が用いられる。また、TTPの逆数をとった値は受胎確率（fecundability）として用いられ、対照群の受胎確率と曝露群の受胎確率の比をとったものを受胎確率比（fecundability ratio: FR）という。FR<1である時、対照群と比べて曝露群のTTPが長い、すなわち妊孕力が低いと考える指標であり、疫学研究における影響評価指標としてはFRが用いられることが多い。このFRを用いて月経周期との関係を検討した報告から、月経周期が短い女性は、周期が27-29日の女性と比較して受胎待ち時間（TTP）が長いという結果が多かったため、指標としての月経周期の利用を考えた。以下、月経周期長と受胎待ち時間に関する指標との関連を検討した報告結果をまとめる。

#### ✓ スウェーデン（Axmon et al., 2006）

スウェーデン在住の女性2860人を対象に、質問票を用いて受胎待ち時間および月経周期、生活習慣等に関する調査を行った。その結果、周期が1日長くなるとFRが4%低くなったことを報告した。本調査では、妊娠前の月経周期長を用いており、著者らは周期長が長い女性は月単位のTTPを実際よりも過大評価している可能性があると考えしている。

#### ✓ アメリカ（Small et al., 2006）

アメリカ在住の女性470人を対象に、月経周期、受胎待ち時間、生活習慣等について記録するよう依頼した。また妊娠は、対象者の血中ヒト絨毛性ゴナドトロピン（hCG）濃度の測定結果によって判断された。その結果、30-31日を対照群とした時、29日以下の群のFRは最大で50%低かったことを報告した。

#### ✓ オランダ（Mutsaerts et al., 2012）

オランダ在住の1924カップルを対象とした調査で、受胎待ち時間や生活習慣のほか、女性には月経周期長を週単位で調査した。その結果、周期が4週間（対照群と定義）の群に比べて、4-6週間の群のハザード比（ここでは、対照群と比較した時の受胎確率の変動と定義）は0.77であった。しかし著者らは、周期長を週単位で調査したために、正確な周期長を反映できていない可能性を指摘している。

✓ デンマーク (Wise et al., 2011)

デンマーク在住の妊娠を計画していた女性 2653 人を対象に、質問票を用いて月経周期および生活習慣等に関する調査を行った。その結果、周期が 27-29 日（対照群と定義）の群に比べて、25 日未満の群に属する人の受胎確率比は 36% 低かった。

✓ アメリカとカナダ (Wesselink et al., 2016)

アメリカとカナダ在住の妊娠を計画していた女性 1260 人を対象に、8 週間ごとに 1 年間、あるいは妊娠するまで、オンライン上で月経周期に関する質問項目に回答するよう指示した。その結果、周期が 28 日未満になると、受胎確率比が下がる傾向が見られたことを報告した。

月経周期は、5.1.3 節に挙げるような様々な要因によって変動することが報告されている。これらの要因は、欧米での調査から得られた知見であるが、日本人の月経周期に関しては、平均的な周期長や周期の個人内変動といった最も基本的な情報に関する報告すら極めて限られている (Matsumoto et al., 1962; 矢野ら, 2005)。また、欧米とは異なる生活習慣を持つ日本人の周期の変動要因に関する検討も不十分であるため、詳細な検討が必要だと考える。

本章では、健康な日本人女性を対象として、1) 月経周期を記録してもらい、2) 月経周期の変動要因に関する質問票調査を通じて、周期の変動要因も含めた月経周期の基礎的情報を得ることを目的とした。本章で月経周期と有意な関係が見られた要因は、次章においてパラベン類曝露と月経周期との関連を調査する際、共変量として多変量解析に用いられることとなる。

### 5.1.1 月経周期の定義およびメカニズム

月経周期に関する用語について、日本産科婦人科学会による定義を表 5.1.1.1 にまとめる。現在の月経周期に関する定義は、Matsumoto et al. (1962) の報告に基づくと考えられる。

表 5.1.1.1 月経周期に関する用語の定義 (産科婦人科用語集, 第 4 版)

月経	通常、約 1 カ月の間隔で起こり、限られた日数で自然に止まる子宮内膜からの周期的出血
月経周期日数	月経開始日より起算して、次回月経開始前日までの日数 正常範囲は周期日数が 25-38 日の間にあり、その変動が 6 日以内
出血日数	正常な出血期間は 3-7 日
頻発月経	月経周期が短縮し、24 日以内で発来した月経
希発月経	月経周期が延長し、39 日以上で発来した月経

月経は、視床下部－下垂体－卵巣軸のホルモン分泌システムに支配されているといわれている（Hawkins and Matzuk, 2008）。月経が起こるメカニズムを以下にまとめる（図 5.1.1.1 および図 5.1.1.2）。

- ① 視床下部から性腺刺激ホルモン放出ホルモン（GnRH）が放出される
- ② 下垂体前葉が卵胞刺激ホルモン（FSH）と黄体刺激ホルモン（LH）を放出する
- ③ この指令を受け取った卵巣が、卵胞ホルモンであるエストロゲン（E2）と黄体ホルモンであるプロゲステロンを子宮内膜に出して排卵・着床の準備を進める
- ④ ③で着床が起こらなければ、受精卵を守るべく厚くなっていた子宮内膜がはがれおちて体外へ排出される

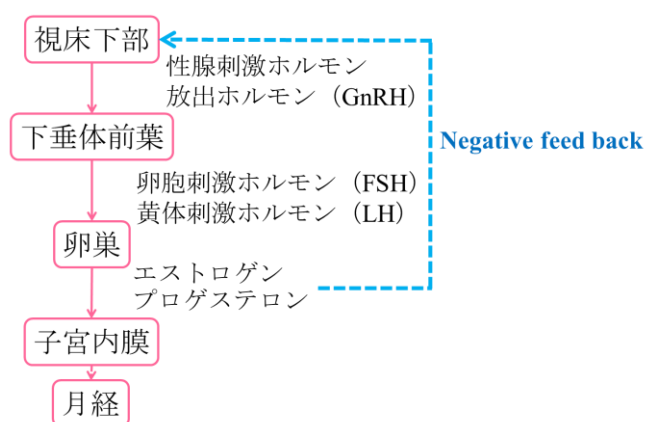


図 5.1.1.1 月経の発生と性ホルモン分泌メカニズム（Hawkins and Matzuk, 2008）

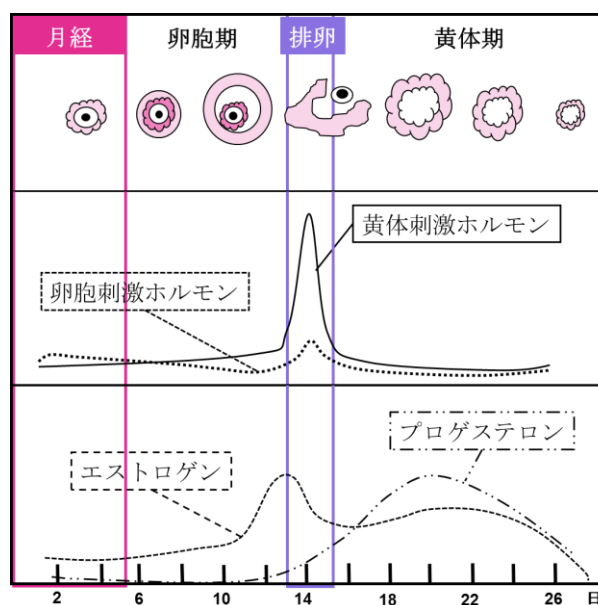


図 5.1.1.2 月経発生に関与する性ホルモンの分泌サイクル（Rebar, 1982）

### 5.1.2 日本人女性の月経周期

前節でも触れたが、日本人女性の月経周期に関する既往報告は2件のみである(Matsumoto et al., 1962; 矢野ら, 2005)。この2件の月経周期日数および周期変動の既往報告値を表 5.1.2 にまとめる。

表 5.1.2 既往研究で報告された日本人女性の月経周期

	人数(周期数)	月経周期日数 <sup>b</sup>	周期変動 <sup>b</sup>
Matsumoto et al. (1962)	- <sup>a</sup> (350 周期)	30.4±6.4	8.2±6.0
矢野ら (2005)	56 (277 周期)	31.3±5.8	5.1±5.8

<sup>a</sup> 本文中に記載がないため不明

<sup>b</sup> 平均日数±標準偏差

この2件の報告値について、データの解析方法にいくつかの疑問点がある(5.3 節で詳しく触れる)。そのため、本研究では、これらのデータは、日本人の既往データとして、あくまで参考値として扱うこととする。

### 5.1.3 月経周期に影響をおよぼす要因

欧米における既往研究によると、月経周期の影響要因として、年齢、BMI、初経年齢、カフェイン・アルコール摂取、運動、化学物質曝露に関して検討が行われている。以下に、その詳細をまとめる。

#### ✓ 結果に一致を見ている要因

##### 年齢

卵母細胞の数は生まれつき決まっており、年齢を経るごとに減少する。エストロゲンは、女性体内では主に卵胞から分泌されるため、加齢によって卵母細胞の数が減少するほど、エストロゲン分泌の反応が鈍くなる。性ホルモン濃度は、体内のフィードバック機能によって維持されているため、エストロゲン濃度の減少を感知すると分泌する方向に働く。その結果、卵胞の成長に必要な FSH が大量に分泌され、急激に卵胞が大きくなって排卵が早まるため、月経周期が短くなると考えられる。

既往研究でも、年齢が高くなるほど短周期になる傾向に一致を見ている (Chiazze et al., 1968; Rowland et al., 2002)。

##### BMI

肥満および急激な体重減少により、エストロゲンやテストステロンと結合してこれらの濃度調節に重要な役割を果たしている性ホルモン結合グロブリン (SHBG) が増加する。その結果、フリー体のアンドロゲンが減少し、インスリン反応が低下すると考えられている。

エストロゲンはテストステロンに FSH が結合して分泌されるため、アンドロゲンの一つであるテストステロンが減少すると、その後のエストロゲン合成量が減少する（図 5.1.3）。すると排卵が起こりにくくなり、結果、月経周期は長くなると考えられる。

既往研究でも、BMI が高くなるほど周期が長周期になる傾向に一致を見ている（Bullen et al., 1985; Harlow et al., 1991; Rowland et al., 2002; Santoro et al., 2004）。

### アルコール

アルコールを多く飲む者は、周期が短周期になる傾向に一致を見ている（Mendelson et al., 1988; Reichman et al., 1993; Gill, 1997）。Schliep et al. (2015) は、アルコールを摂取する女性は、摂取しない女性に比べて体内のエストロゲン濃度レベルが高いことを報告している。エストロゲン濃度が高い女性は、周期長が短い傾向にあることが報告されていることから（Windham et al., 2002）、アルコール摂取によってエストロゲン濃度が上昇し、周期が短くなったと考えられる。

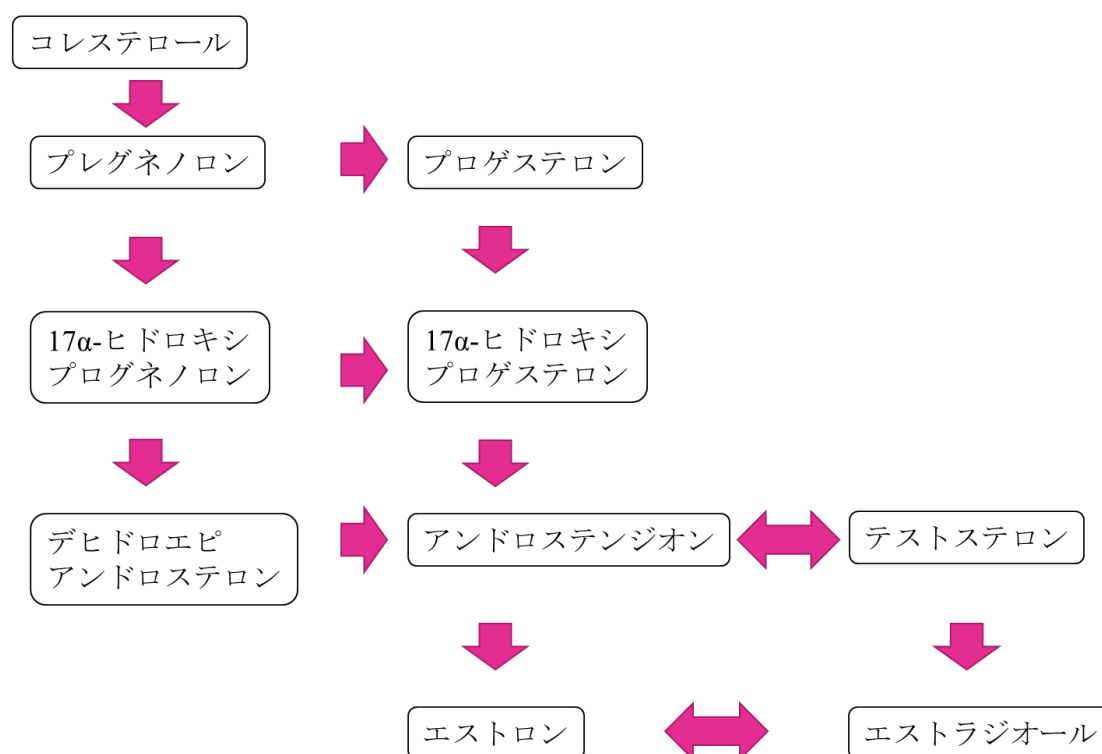


図 5.1.3 女性体内の性ホルモン分泌メカニズム（経済産業省, 2005）

### 運動

強度の高い運動を行う女性は、通常の強度の運動を行う女性に比べて、周期が長周期になる傾向に一致を見ている（Ellison et al., 1986; Harlow et al., 1991）。詳細な影響メカニズムは明らかになっていないが、強度の高い運動によって、性腺刺激ホルモン（FSH、LH の総

称) 放出ホルモンおよび性腺刺激ホルモンの働きが阻害されるためにエストロゲン分泌が抑制され (Nagata et al., 2012)、その結果、周期が長くなると考えられる。

### PCB 曝露

ポリ塩化ビフェニル (PCB) は、電気製品の絶縁体等に使われていた化学物質である。日本では 1975 年に製造および輸入が原則禁止されているが、75 年以前に製造された電気製品には含まれたままであり、現在でも曝露する可能性は依然として残っている。PCB は脂肪細胞に蓄積しやすいため、食物連鎖で上位となる大型の魚からは高濃度の PCB が検出される。そのため、マグロ等を多く摂取する日本人にとって、魚摂取は重要な PCB 曝露源として考えられている (Nakai et al., 2004)。

PCB はエストロゲン様作用が認められた環境化学物質である (Nishihara et al., 2000)。また、PCB 汚染地域の魚の摂取量が多い女性は、少ない女性に比べて月経周期が短いことが報告されている (Mendola et al., 1997)。PCB 曝露による影響メカニズムは不明だが、女性体内のエストロゲン濃度レベルが上昇することで、周期の卵胞期が短縮し、結果、周期そのものが短くなると考えられる (Chiu-Yuen et al., 2005)。

### ✓ 結果に一致を見ていない要因

#### 初経年齢

日本産科婦人科学会は、日本人の初経年齢の正常範囲を 10-15 歳と定義している (日本産科婦人科学会, 1995)。

Rowland et al. (2002) によると、アメリカ在住の 21-40 歳の女性において、初経が 13 歳以前にきた群は周期長が短く、15 歳以降にきた群は長い傾向が見られたことを報告しているが、影響メカニズムは不明である。

#### 喫煙

Liu et al. (2004) は、喫煙する女性は、喫煙しない女性に比べて周期長が短いことを報告した。一方、関連は見られなかったという報告もあり (Cooper et al., 1996; Hornsby et al., 1998)、喫煙による月経周期への影響は結果に一致を見ていない。

#### カフェイン

Schliep et al. (2012) が行った疫学調査によると、1 日に 200 mg 以上カフェインを摂取する群は、それ未満に比べて、白人ではエストロゲン濃度が低く、アジア系では多いことを報告した。カフェインがエストロゲン合成に関わるアロマターゼの阻害を示すことが知られており (Kotosopoulos et al., 2009)、その結果エストロゲン濃度が減少したと考えられる。一方、カフェイン摂取が多い女性ほど、長周期になるという報告もあり (Wilcox et al., 1988)、結果に一致は見られていない。

## イソフラボン

イソフラボンはフラボノイドの一つであり、大豆などのマメ科の植物に多く含まれる。イソフラボンの主な曝露源は大豆製品（豆腐等）の摂取と考えられている。イソフラボンにはエストロゲン様作用が認められている（Nishihara et al., 2000）。日本人は大豆を摂取する習慣があるため、他の国と比べるとイソフラボンの曝露量が多いことが知られている。

Nagata et al. (1998) が行った日本人 60 人を対象とした疫学調査で、毎日 70 mg 以上のイソフラボン含有の大豆製品を摂取する人は、月経周期が延長し、血中エストロゲン濃度が減少する傾向が見られたことが報告された。一方、Duncan et al. (1999) は、アメリカ在住の女性 14 人を対象に、最大 128mg/日のイソフラボン含有の大豆たんぱく粉を 3 月経周期+9 日間摂取させたが、周期長の変動は見られなかったという報告しており、結果に一致は見えない。また、長周期化する影響メカニズムも不明である。

## 5.2 方法

### 5.2.1 対象者

対象者は、東京都内の某大学看護学部 に在籍する学生のうち、同学で行われている臨床化学実習を受講した女子大生に対し、同演習のオリエンテーション時に、研究の目的および方法などを口頭で説明し、書面で研究への協力の同意を得られた学生を対象とした。説明にあたっては、協力への同意がなくとも、成績評価などに一切の影響がないことを強調した。調査は、2012 年 11 月から 2014 年 1 月までの同時期に計 3 回行われた。第 1 期（2012 年 11 月）は 3 年生 88 人、第 2 期（2013 年 5 月）は 2 年生 90 人、第 3 期（2014 年 1 月）は 3 年生 109 人の計 287 人から同意書を得た。

### 5.2.2 月経周期調査および生活習慣に関する調査

本研究では、月経周期および生活習慣に関する 3 種類の自記式質問票を作成し、対象者に配布した。

#### 月経周期調査票（Appendix 2 参照）

月経周期に関する調査票は、月経を記録するカレンダー（以下、月経カレンダー）と月経に関する質問票の 2 種類を作成した。

月経カレンダーは、研究協力の同意を得た日の月から 5 か月間のカレンダーを作成した。研究協力の同意を得た日に月経カレンダーを配布し、その日より 5 ヶ月間、出血日に●を記入するように依頼した。配布から 5 か月後、同学内に設置した回収箱に記入済み月経カレンダーを提出してもらった（図 5.2.2）。月経周期を 5 か月分調査することとしたのは、月経周期の評価には最低でも 3 周期が必要である（Matsumoto et al., 1962）という報告を考慮したためである。

月	火	水	木	金	土	日
12/3 ●	4	5	6	7	8	9
12/10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23
24	25	26	27	28	29 ●	30 ●
31 ●	1/1 ●	2 ●	3	4	5	6
7	8	9	10	11	12	13
14	15	16	17	18	19	20
21	22 ●	23 ●	24 ●	25 ●	26 ●	27
28	29	30	31	2/1	2	3

図 5.2.2 月経カレンダー

月経周期は、表 5.1.1 にまとめた通り、連続 3 日以上出血を月経とみなし、前回の月経開始日を第 1 日として、次の月経初日の前日までの日数とした。また、月経周期の個人内変動も算出することとし、各対象者の調査期間中の月経周期の最大値から最小値を引いた値（以下、月経周期の「範囲」）および個人ごとに記録された複数の周期の標準偏差（以下、月経周期の「標準偏差」）と定義した。2 日以下の出血は『不正出血』と見なすこととした。

月経周期日数の計算の際、今回の調査は 5 か月間と限定しているため、カレンダーの初月と最終月にデータの打ち切りが発生する。データの打ち切りについては、実測データの周期がその個人の周期の平均値より大きい場合は周期として含めて平均値を求め、平均値より小さい場合はそのデータは含めずに平均値を求めた。なお、月経カレンダー開始日に既に出血が記録されている場合、月経開始日が特定できないので、その後 3 日以上連続して出血が続いた場合でも月経とはカウントしなかった。また、カレンダー最終日前日および最終日に出血が記録されている場合、『不正出血』と区別ができないため、月経とはカウントしなかった。

図 5.2.2 は、打ち切り部分を考慮した場合の月経カレンダーの記入例である。この場合の周期は、12 月 29 日から 1 月 21 日までの 24 日である。データ打ち切り部分は、12 月 3 日から 12 月 28 日の 26 日間と 1 月 22 日から 2 月 3 日の 13 日間である。この個人の実測周期の平均値が 24 日であるとする、周期の平均値より小さい 13 日という打ち切り部分は計算に含めないが、26 日は平均値より大きいため周期として計算に含める。

月経に関する質問票には、初経年齢、調査期間中の月経痛の程度（「ほとんどない」、「痛



みはあるが日常生活は営める」、「外出はできるが運動するのは辛い」、「起き上がれないほど痛い」の4段階)、経口避妊薬の有無についての質問項目を用意した。経口避妊薬使用有りの対象者について、最後に使用した日付も質問した。回収は月経カレンダーと同様の方法で同時期に行った。なお、経口避妊薬使用者について、調査時から過去6カ月以内に利用したと回答した者は、解析から除外することとした。

### 生活習慣調査 (Appendix 3 参照)

生活習慣に関する質問項目は、属性(年齢、身長、体重)、生活習慣(喫煙、受動喫煙、アルコール飲料(ビール、日本酒、焼酎、ワイン、カクテル類、ウイスキー)およびカフェイン飲料(コーヒー、ノンカフェインコーヒー、紅茶、緑茶、カフェイン入炭酸飲料、カフェイン入栄養ドリンク)の摂取)、運動(現在の運動の有無と、有りの場合、その種目、週あたりの回数、1回あたりの時間)とした。

BMI (Body Mass Index) は、体重 kg / 身長  $m^2$  の式から算出した。喫煙習慣に関しては、現在および過去の能動喫煙の有無、現在の受動喫煙の有無を質問した。アルコール飲料摂取に関しては、摂取頻度(7段階)および各酒類の1回の摂取量を質問した。また、カフェイン飲料摂取に関しては、各飲料について1週間に摂取する量(例: コーヒー、週10杯)を質問した。食生活に関しては、食品からの外因性エストロゲン、およびエストロゲン様化学物質(PCB、大豆イソフラボン)曝露を考慮するため、肉、牛乳、乳製品、卵について摂取頻度を7段階で、魚類(マグロ、スズキ、ブリ、サバ、マアジ)(飯田, 2003)、大豆製品(豆腐、納豆、油揚げ、味噌汁、豆乳、大豆を使用した栄養補助食品)(食品安全委員会, 2006)についてそれぞれの摂取頻度を、各々1(全く食べない)から6(毎食)の6段階で質問した。記入済みの生活習慣・食生活等に関する質問票は、月経カレンダー記入期間中に行われた臨床化学演習の際に回収した。

アルコール摂取量、カフェイン摂取量、運動量については、質問票の回答を基にして以下の方法で推定した。アルコール摂取量は、アルコール飲料の摂取頻度と1回の摂取量および各飲料のアルコール含有量から、週単位のアルコール摂取量を算出した。なお、アルコール飲料中のアルコール量は、ビール大: 22 g; 中: 12 g; 缶: 13 g、日本酒1合: 22 g、焼酎1杯: 18 g、ワイン グラス1杯: 11 g、カクテル類 180 mL: 7 g、ウイスキー30 mL: 10 g とした(文部科学省, 2010)。カフェイン摂取量は、1週間当たりのカフェイン含有飲料の摂取量と各飲料のカフェイン含有量から算出した。カフェイン含有量は、コーヒー1杯: 90 mg、ノンカフェインコーヒー1杯: 3.2 mg、紅茶1杯: 30 mg、緑茶1杯: 50 mg、カフェイン入りの炭酸飲料 500 mL: 50 mg、カフェイン入りの栄養ドリンク1本: 80 mg とした(文部科学省, 2010)。運動は、得られた回答から、1週間あたりの運動量 METs・時(METs・h/week)を算出した。METs (Metabolic equivalents) は、表 5.2.2 に示した質問票の回答に挙げられた競技などについて、国立健康・栄養研究所が作成した METs 表(国立健康・栄養研究所, 2012) から引用したものを計算に用いた。

肉類、牛乳、乳製品の摂取を取り上げた理由は、肉、魚、牛乳、卵、野菜中のエストロゲンの1日摂取量を推定した研究で、牛乳が約60-70%を占めているという報告(Hartmann et al., 1998)があったためである。特に市販の牛乳にはエストロゲン濃度がより高く含まれており、これは妊娠牛から搾取されるためであると考えられる(Ganmaa et al., 2001)。日本で行われた研究によれば、妊娠牛から搾取された牛乳は市販される牛乳全体の80%にのぼると報告している(Maruyama et al., 2010)。また、肉牛には短期間で肥育させる成長促進剤として性ホルモン剤が投与されているために、エストロゲンが牛肉に含まれているとされる(Maruyama et al., 2010)。

表 5.2.2 質問票の回答に挙げられた運動種目の METs

種目	METs		
楽器の演奏	2.0	バスケットボール	6.5
ヨガ (ハタ)	2.5	サッカー	7.0
ストレッチ (腹筋)	2.8	フットサル	7.0
バレーボール	3.0	ジョギング	7.0
コンサート鑑賞	3.3	テニス	7.3
散歩	3.5	ラクロス	8.0
卓球	4.0	ランニング	8.0
弓道	4.3	駅伝	8.0
器械体操	4.5	陸上 (400m)	8.0
ゴルフ	4.8	陸上 (長距離)	8.0
ソフトボール	5.0	筋トレ	8.0
バレエ、ダンス	5.0	アルティメットフリスビー	8.0
野球	5.0	水泳	9.8
新体操	5.0	剣道	10.0
スキー、スノボ	5.3	水球	10.0
バドミントン	5.5	陸上 (ハードル)	10.0
和太鼓	5.5	柔道	10.3
水泳 (アクアトレーニング)	5.8	テコンドー	10.3
陸上	6.0	殺陣	10.3
チアリーディング	6.0	ハンドボール	12.0
ラグビー	6.3	マラソン	13.3

\* 表中の METs は国立健康・栄養研究所 (2012) より引用

### 5.2.3 統計解析

平均月経周期と各要因との関連を検討するために、各人の平均月経周期を、日本産科婦人科学会（JSOG）が定めた正常範囲で対象者を3群（平均月経周期 $\leq 24$ 日、25-38日、39日 $\leq$ ）に分類した（日本産科婦人科学会, 1995）。個人内変動についても同様に、JSOGが定めた正常値6日以下（日本産科婦人科学会, 1995）で対象者を2群（個人内変動 $\leq 6$ 日、7日 $\leq$ ）に分類して統計解析を行った。食生活については、得られた摂食頻度の回答から、頻度の大小で対象者を2群に分類した。対象者の年齢の外れ値の判定には Smirnov-Grubbs の検定を使用した。頻度等の選択式のカテゴリーデータにはカイ二乗検定を、連続変数には Mann-Whitney の U 検定、Kruskal-Wallis 検定、Steel-Dwass 検定を用いて群間の比較を行った。統計解析には SPSS ver. 12.0J、EZR on R Commander ver. 1.25（Kanda, 2012）を使用した。

## 5.3 結果と考察

### 5.3.1 対象者

質問票は、第1期88人、第2期90人、第3期109人の計287人に配布され、月経カレンダーおよび月経に関する質問に対する回答は、それぞれ75人（85%）、72人（80%）、60人（55%）の計207人（72%）から得られた。ここから、過去6カ月以内に経口避妊薬を使用した者25人（第1期7人、第2期8人、第3期10人）を除外した。さらに対象者の年齢分布から見て、2名の年齢（25、36歳）が Smirnov-Grubbs 検定で外れ値と判断された。そのため、この2人を除いた180人（第1期68人、第2期64人、第3期48人）を、以降の解析対象者とした。

調査時期の違う3群で、生物学的属性等について差があるかを、Kruskal-Wallis 検定を用いて検討した。その結果、年齢、個人内変動、アルコール飲料摂取量、カフェイン飲料摂取量に有意な変動があり、多重比較によりいくつかのペアに有意差が見られた（表 5.3.1.1）。第1期と第3期は3年生、第2期は2年生が対象であったため、年齢、アルコール摂取量等に差が見られたと考えられる。第3期のみ回収率が低かった（55%）のは、質問票の回収時期が対象者の学外実習時期と重なっていたことが主要な原因であると考えられる。本研究では、3期分を合計して統計を行うこととしたが、第3期を含めることで個人内変動の記述統計結果は、実際よりも小さく偏っている可能性がある。

対象者の生物学的属性を表 5.3.1.2 に示す。対象者の平均年齢は  $20.4 \pm 0.9$  歳、平均 BMI は  $20.9 \pm 2.2 \text{ kg/m}^2$ 、平均初経年齢は  $12.2 \pm 0.9$  歳であった。月経痛“有り”と答えた者は全体の80%以上（147人）にのぼった。不正出血（2日以下の出血）が記録された者は、20人（11%）であった。

表 5.3.1.1 調査期間別の平均月経周期長、属性、生活習慣の比較

	第 1 期	第 2 期	第 3 期	Kruscal-Wallis 検定
対象者数	68	64	48	-
平均月経周期 (日)	32 (24-98)	32 (21-72)	31 (21-57)	p=0.16
個人内変動 (日)	10 <sup>a</sup>	12 <sup>ab</sup>	6.0 <sup>c</sup>	p<0.01 <sup>†</sup>
(周期の「範囲」)	(2.0-36)	(1.0-53)	(1.0-28)	
個人内変動 (日)	5.3 <sup>d</sup>	6.5 <sup>de</sup>	1.2 <sup>f</sup>	p<0.01 <sup>†</sup>
(周期の「標準偏差」)	(1.3-30)	(0.7-70)	(0.2-7.0)	
出血期間 (日)	4.8 <sup>g</sup> (2.0-6.8)	5.0 <sup>h</sup> (3.0-7.3)	6.0 <sup>i</sup> (4.0-8.0)	p<0.01 <sup>†</sup>
年齢 (歳)	21 <sup>j</sup> (20-22)	19 <sup>k</sup> (19-22)	21 <sup>jl</sup> (20-22)	p<0.01 <sup>†</sup>
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	20.4 (16.6-26.1)	21.1 (16.9-27.2)	20.3 (17.3-28.5)	p=0.20
初経年齢 (歳)	12 (10-16)	12 (10-16)	12 (10-15)	p=0.66
アルコール摂取 (g/week)	21 <sup>m</sup> (0-244)	0 <sup>n</sup> (0-165)	15 <sup>mo</sup> (0-665)	p<0.01 <sup>†</sup>
カフェイン摂取 (mg/week)	653 <sup>p</sup> (0-2630)	270 <sup>qr</sup> (0-1220)	285 <sup>r</sup> (0-1025)	p<0.01 <sup>†</sup>

\* 第 1 期は 3 年生、第 2 期は 2 年生、第 3 期は 3 年生を対象 (調査時)

\*\* 表中数値は中央値、() 内は最小値-最大値

† 異なるアルファベットを持つ値との間に有意差あり (Steel-Dwass 検定、p&lt;0.05)

表 5.3.1.2 対象者の属性および生活習慣 (n=180)

	平均値±SD (中央値)	有り (%)	無し (%)
年齢 (歳)	20.4±0.9 (21)	147 (84)	28 (16)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	20.9±2.2 (20.6)	20 (11)	159 (89)
初経年齢 (歳)	12.2±0.9 (12)		

### 5.3.2 月経周期に関する基礎的調査

対象者の平均月経周期の平均値±標準偏差は、 $34.2 \pm 10.5$  日、中央値は 31.5 日、最小—最大値は 21-98 日であった。なお、対象者 180 人の総月経周期数は 660 周期で、5 カ月間の一人あたりの周期数は 1-6 周期であった。対象者の回答に基づく平均月経周期の分布を図 5.3.2.1 に示す。平均月経周期の分布は、正規分布あるいは対数正規分布とは認められなかった（いずれも Shapiro-Wilk 検定、 $p < 0.05$ ）。JSOG が定めた月経周期の正常範囲（25-38 日）で対象者を 3 群に分類すると、平均月経周期が 24 日以下の短周期群が 10 人（6%）、25-38 日の正常群が 141 人（78%）、39 日以上の中周期群が 29 人（16%）であった（表 5.3.2.1）。

本研究では、打ち切り部分も対象者の周期とみなして対象者の平均月経周期を求めた。この算出方法では、ある対象者について、実測された周期長の平均値よりも打ち切り部分が長い時のみ、打ち切り部分を算入してその対象者の平均値を算出しないため、算出した平均月経周期は全体的に大きく偏ることになる。打ち切り部分を一切考慮せず求めた平均月経周期の平均値±標準偏差は  $33.7 \pm 9.6$  日、中央値は 31.3 日となり、考慮した時よりも平均値は短くなった。そのため、本研究で求めた対象者の平均月経周期は、この算出方法を採用したことによってわずかながら大きい値に偏っていることを念頭に置く必要がある。

日本人を対象とした月経周期についての報告は、Matsumoto et al. (1962) と矢野ら (2005) らの 2 報である。これら 2 報と本研究の結果を表 5.3.2.2 に示す。既往報告の平均値より、本研究対象者の平均月経周期の平均値は大きかったが、中央値で比較すると矢野らと本研究の結果はほぼ同等であった（Matsumoto et al. (1962) は中央値を報告していないため比較できない）。すなわち、本研究の対象者には、既往研究の対象者と比べて、平均月経周期が長い方に大きく外れる者がいたと考えられる。これら 3 件の調査は、月経周期の調査方法が記録法であり、年齢、BMI、初経年齢等も類似した集団である。矢野らの文献では、打ち切り部分の扱いについては触れられていないが、上記のように打ち切りを含むか含まないか、ではわずかな平均値の差にしかならないと考えられるので、本研究と矢野らの周期の平均値（約 3 日）の差を説明するには不十分である。一方、矢野らは「調査期間中、1 周期でも月経周期が不確実であった者は除外」していた。この算出方法によって、周期が長い方に大きく外れた者は、除外対象になった可能性があり、平均値が小さい値に収束した可能性も否定できない。一方、欧米人の 20-30 代の月経周期の平均値は 25 日（Lyngsø et al., 2014）と報告されており、本研究対象者の平均値よりも小さかった。月経周期長に関しては、人種差があることが報告されており（Harlow et al., 1997）、日本人を対象とした既往報告値を併せて考えると、日本人は欧米人よりも平均周期長が長い可能性があるが、そのメカニズムは不明である。今後、日本人の月経周期の平均像を明らかにするために、さらなるデータの蓄積が必要である。

周期の個人内変動に関して、JSOG は正常値（6 日）を設けているが、その変動の数え方は不明である。本研究では個人内変動を、1) 各対象者内で、記録された周期の最大値と最

小値の差の「範囲」として表す方法（以下、周期の「範囲」）、2) 記録された周期の「標準偏差」として表す方法（以下、周期の「標準偏差」）、の二通りの方法で定義した。

対象者の周期の「範囲」は、177 人について算出可能であった。その平均値±標準偏差は  $11.4 \pm 10.3$  日、中央値は 8.0 日、最小-最大値は 1-53 日であった。この回答に基づく「範囲」の分布は、対数正規分布を示した（図 5.3.2.2、Shapiro-Wilk 検定、 $p \geq 0.05$ ）。周期の「範囲」について、JSOG が示す個人内変動の正常値（6 日）で対象者を 2 群に分けると、6 日以下の正常群が 73 人（41%）、7 日以上の非正常群が 104 人（59%）であった（表 5.3.2.1）。一方、対象者の周期の「標準偏差」は、177 人について算出可能であり、平均±標準偏差は  $7.9 \pm 11.8$  日、中央値は 6.2 日、最小-最大値は 0-70 日であった。周期の「標準偏差」の分布も、対数正規分布を示した（図 5.3.2.2 および 5.3.2.3、Shapiro-Wilk 検定、 $p \geq 0.05$ ）。周期の「標準偏差」について、JSOG が示す個人内変動の正常値（6 日）で対象者を 2 群に分けると、6 日以下の正常群が 109 人（62%）、7 日以上の非正常群が 68 人（38%）であった（表 5.3.2.1）。

周期の個人内変動の算出方法の定義がないために単純な比較はできないが、表 5.3.2.2 には本研究の対象者と、Matsumoto et al. (1962)、矢野ら (2005) の個人内変動を比較した結果を示す。これら 2 件の報告では、個人内変動を「連続する 2 周期の差」をとって算出したと報告した。しかし、2 周期の差の平均値を用いたのか、中央値を用いたのかといった周期の扱い方の詳細が不明であったため、本研究では、方法の章で示した 2 つの方法で個人内変動を算出した。

2 報の既往報告値よりも、本研究対象者の周期の「範囲」および「標準偏差」の中央値は大きくなった。本研究では、月経周期の記録を集計する際に、打ち切り部分を考慮しており、周期が大きい値に偏っているため、特に本研究対象者の「範囲」は大きい値に偏ると考えられる。また前述のように、矢野らは月経周期の不確実な一部の対象者を除外して平均値や変動を算出していることも、本研究の中央値が大きく算出された原因である可能性がある。しかし、平均周期長同様、算出方法の違いだけで矢野らの報告値との違いが説明できるかは不明である。一方、Matsumoto et al. (1962) が報告した個人内変動の平均値と、本研究対象者の周期の「標準偏差」の平均値は 8 日とおおよそ一致した。この結果から、矢野らの対象者の個人内変動が、算出方法を含む何らかの理由で小さく算出された可能性がある。今後、個人内変動（月経周期の変動）に関しては、統一した算出方法でデータの蓄積を図り検討する必要がある。

表 5.3.2.1 対象者の群別平均月経周期長および個人内変動

		人数	%	平均±SD (中央値)
平均月経周期	全体	180	-	34.2±10.5 (31.5)
	短周期群 (≤24 日)	10	6	23.3±1.4 (24.0)
	正常群 (25-38 日)	141	78	31.3±2.8 (31.0)
	長周期群 (39 日≤)	29	16	51.9±15.7 (44.0)
個人内変動 (周期の「範囲」)	全体	177	-	11.4±10.3 (8.0)
	正常群 (≤6 日)	73	41	3.8±1.5 (4.0)
	非正常群 (7 日≤)	104	59	16.7±10.5 (13.0)
個人内変動 (周期の「標準偏差」)	全体	177	-	7.9±11.8 (6.2)
	正常群 (≤6 日)	109	62	2.5±1.5 (2.3)
	非正常群 (7 日≤)	68	38	16.6±15.4 (10.3)

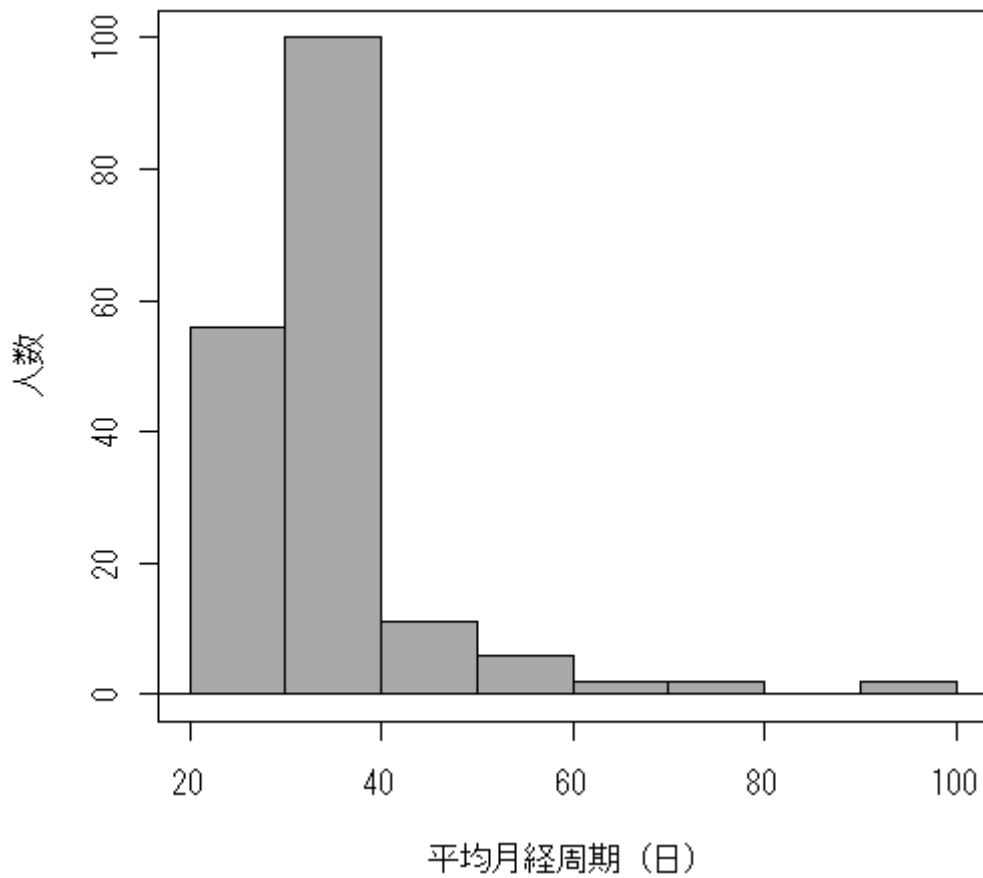


図 5.3.2.1 本研究対象者の平均月経周期長の分布 (n=180)

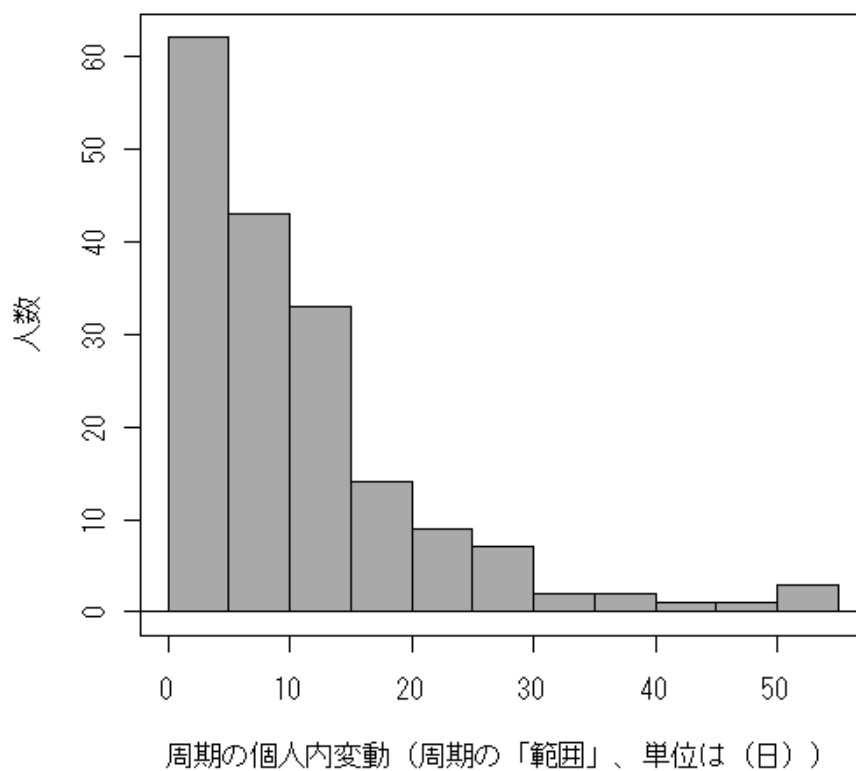


図 5.3.2.2 本研究対象者の周期の個人内変動（周期の「範囲」）の分布（n=177）

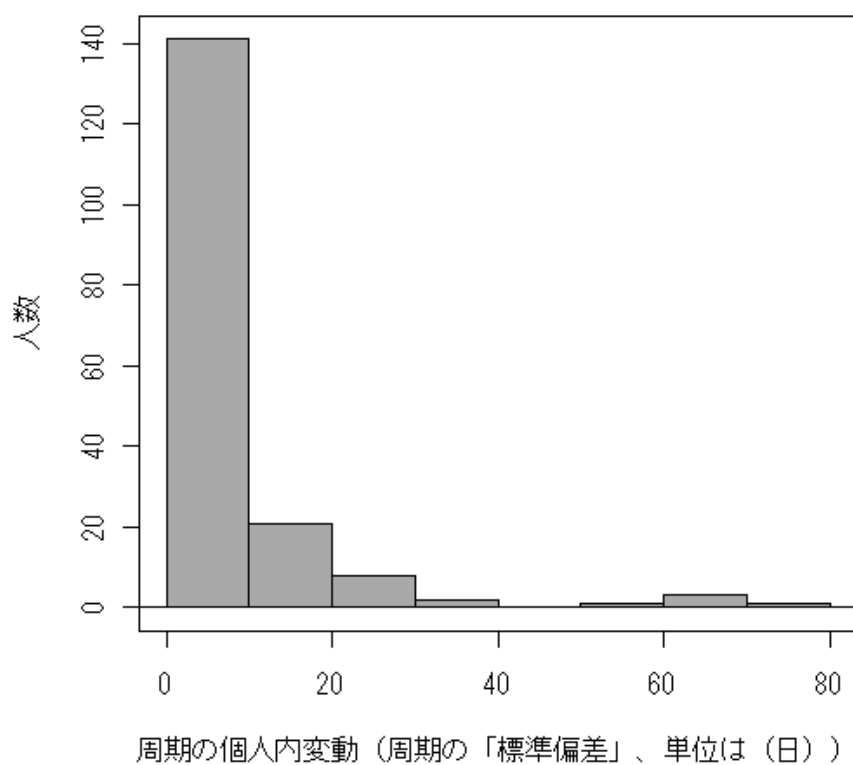


図 5.3.2.3 本研究対象者の周期の個人内変動（周期の「標準偏差」）の分布（n=177）



表 5.3.2.2 既往研究における属性と月経周期に関する比較

		本研究 (2015)	矢野ら (2005)	Matsumoto et al. (1962)
対象者数 (人)		180	56	-
年齢 (歳)		20.4±0.9	20.3±1.8	(20-24) <sup>a</sup>
BMI (kg/m <sup>2</sup> )		20.9±2.2	20.1±1.9	-
初経年齢 (歳)		12.2±0.9	12.1±1.3	-
月経周期数 (周期)		660	277	350
平均月経周期 (日)	平均±SD	34.2±10.5	31.3±5.8	31.0±5.7
	中央値	31.5 (27-42)	31 (25-38)	(26-38)
個人内変動 (日)	平均±SD	11.4±10.3	5.1±5.8	8.2±6.0
		7.9±11.8		
	中央値	8.0 (3-24) 6.2 (1-18)	3 (1-12) <sup>b</sup>	(4-15) <sup>b</sup>

\* 月経周期および個人内変動欄の ( ) 内は 10-90 パーセンタイル値

\*\* 個人内変動の上段は周期の「範囲」、下段は周期の「標準偏差」

<sup>a</sup> Matsumoto et al. (1962) の個人内変動のデータにおける対象年齢は不明

<sup>b</sup> Matsumoto et al. (1962) および矢野ら (2005) の個人内変動は、得られた月経周期の「連続する 2 周期の差」によって算出

### 5.3.3 生物学的・生活習慣要因との関連

平均月経周期と生物学的属性との関連について、周期が短周期・正常・長周期群に属する対象者において、正常群よりも長周期群に属する対象者の方が、有意に年齢が低かった (Steel-Dwass 検定、 $p < 0.01$ ) (表 5.3.3.1)。BMI、初経年齢には有意な変動は見られず、月経痛の有無、不正出血の有無との間にも有意な関連は見られなかった (カイ二乗検定、表 5.3.3.1)。

平均月経周期によって 3 群に分けた対象者の喫煙、受動喫煙、アルコール摂取量、カフェイン摂取量、現在の運動量との間には、有意な関連は見られなかった。また、対象者の食物摂取頻度 (肉類、牛乳、乳製品、卵、PCB 濃度が高いと考えられる魚類、大豆製品) との間にも、有意な関連は見られなかった。

JSOG が定める月経周期の正常範囲で対象者を 3 群に分けたところ、正常の対象者に比べて長周期の対象者の平均年齢が有意に低かった (表 5.3.3.1)。欧米での既往研究では、年齢の高い対象者の月経周期は短周期になる傾向に一致を見ている。Rowland et al. (2002) は、ノースカロライナ州およびアイオワ州の農家の女性を対象とした研究で、年齢が 21 歳から 40 歳の対象者の月経周期は、年齢が高いほど周期が短い傾向を示したことを報告している。この例のように、多くの既往研究では年齢幅の広い対象者の中で年齢との関連が見られている。しかし、本研究の対象者の年齢幅は 19-22 歳と小さいにもかかわらず (表 5.3.1.1)、同様の傾向が見られた。この結果より、年齢は 2 歳程度の差でも月経周期に影響を与える可能性が示唆された。BMI と月経周期との関連を報告した既往研究は多いが、本研究では

関連が見られなかった（表 5.3.3.1）。Rowland et al. (2002) は、BMI が 22-23 kg/m<sup>2</sup> の者と比較して、24 kg/m<sup>2</sup> 以上の者が 36 日以上 of 長周期になるリスクは 2 倍以上になると報告した。これ以外にも BMI と月経周期長との同様の関連を報告した研究はあるが（Symons et al., 1997; Xu et al., 2012）、これらの研究では、対象者の平均 BMI が 25.0 kg/m<sup>2</sup>、26.8 kg/m<sup>2</sup> と、本研究対象者（20.9±2.2 kg/m<sup>2</sup>）と比べると、BMI が大きい対象者の多い研究での知見であり、このことが本研究では同様の関連が見られなかった原因の一つである可能性が考えられる。

表 5.3.3.1 平均月経周期 3 群別の生物学的属性

		全体	平均月経周期			有意確率 (p)
			短周期群	正常群	長周期群	
年齢 (歳)		21	21 <sup>ab</sup>	21 <sup>a</sup>	20 <sup>b</sup>	0.041 <sup>†#</sup>
		(19-22)	(19-21)	(19-22)	(19-22)	
BMI (kg/m <sup>2</sup> )		20.6	20.0	20.6	20.2	0.54 <sup>†</sup>
		(16.6-28.5)	(16.9-22.4)	(16.6-28.5)	(17.0-27.2)	
初経年齢 (歳)		12	12	12	12	0.65 <sup>†</sup>
		(10-16)	(11-14)	(10-16)	(10-15)	
月経痛 (人)	有り		2	19	7	0.32 <sup>‡</sup>
	無し	-	8	118	21	
不正出血 (人)	有り		2	13	5	0.27 <sup>‡</sup>
	無し	-	8	128	23	

\* 年齢、BMI、初経年齢の数値は中央値（カッコ内は最小-最大値）

† Kruskal-Wallis 検定

‡ カイ二乗検定

# 異なるアルファベットを持つ値との間に有意差有り（正常群と長周期群に有意差あり、Steel-Dwass 検定、p<0.05）

既往研究で関連が検討されていた、喫煙、カフェイン摂取、アルコール摂取、運動と、本研究対象者の平均月経周期長との間には有意な関連は見られなかった。喫煙に関して、Rowland et al. (2002) は、1 日に 11 本以上吸う対象者は非喫煙者に比べて月経周期長が短い傾向を示すことを報告している。本研究では、現在喫煙をしている対象者は 4 人（2%）であったことが喫煙と月経周期長の間に関連が見られなかった理由かもしれない。カフェインが月経周期長に与える影響メカニズムは明らかにされていない。しかし Isshiki et al. (2013) は、コーヒー摂取によりエストロゲンを分解する硫酸転移酵素の働きが減少すると報告している。E2 濃度レベルが高い人は、月経周期長が短い傾向が見られたという報告（Mumford et al., 2012）と併せて考えると、カフェイン摂取によってエストロゲン分解が阻害され、結果、体内のエストロゲン濃度レベルが高くなることで月経周期長が短くなる可能性がある。

Fenster et al. (1999) によると、カフェインを摂取しない対象者に比べ、カフェインを 300 mg/day (2100mg/week) より多く摂取する対象者は短周期の傾向を示すという報告がある。この報告では、300 mg/day より多くカフェインを摂取する対象者が全体の 13% (51 人) を占めたことに対し、本研究対象者における該当者が全体の 2% (3 人) であったことが、カフェインと月経周期長の間に関連が見られなかった理由とも考えられる。既往研究では、アルコール摂取量と月経周期長の短周期化に関連があるという傾向に一致をみている。Liu et al. (2004) は、アルコールを週に全く飲まない人に比べて、飲む人の月経周期長が約 1 日短くなる傾向を示したことを報告している。アルコール摂取による周期長への影響メカニズムに関する報告はないが、間接的な説明として、エストロゲンとアルコール摂取の関連について、Maskarinec et al. (2006) によると、アルコール摂取量が 1 日約 16 g (ビール 340 mL 程度) 以上である者は、摂取しない者に比べて、エストラジオール (エストロゲン) 濃度が約 20% 高かったことを報告している。このことから、体内のエストロゲン濃度レベルが上昇した結果、周期長が短くなると考えられる。一方、矢野ら (2005) の報告において、本研究同様、飲酒の有無と月経周期長との間に関連は見られなかった。これは、本研究や矢野らの研究における対象者が、未成年から成人になってすぐの学生であり、飲酒者が少なかったために、統計学的な検出力が弱くなった可能性が考えられる。運動については、Harlow et al. (1991) が中央値 18 (最小-最大: 0-128) METs\*h/week の対象者 (n=166) において、調査時の運動量が、75 パーセンタイル値にあたる 44 METs\*h/week 以上の者は、周期が 44 日以上の上長周期になるリスクが 1.2 倍になると報告している。本研究対象者の METs\*h/week の中央値および 75 パーセンタイル値は 0 (最大: 55) であり、既往研究よりも大幅に運動量の少ない集団であった。このことが、運動と月経周期長との関連が見えなかった原因の一つかもしれない。

周期の個人内変動と生物学的属性との関連について、周期の「範囲」および「標準偏差」の正常群に属する対象者の年齢は、非正常群に属する対象者より有意に高かった (表 5.3.3.2)。月経周期の「範囲」および「標準偏差」と BMI、初経年齢、不正出血の有無との間には有意な関係は見られなかった。一方、月経痛の有無については、周期の「標準偏差」において、正常群に属する対象者は月経痛ありと答える者が有意に多かった (表 5.3.3.2)。

月経周期の「範囲」および「標準偏差」の正常群・非正常群と、喫煙、受動喫煙、アルコール摂取量、カフェイン摂取量、運動量および食品摂取頻度 (肉類、牛乳、乳製品、卵、PCB 濃度の高い魚類、大豆製品) との間には有意な関連は見られなかった。

JSOG が定める正常値で個人内変動 (「範囲」および「標準偏差」) を 2 群に分けた場合、「範囲」、「標準偏差」いずれの場合も非正常に属する対象者の平均年齢が有意に低かった (表 5.3.3.2)。Matsumoto et al. (1962) は、13 歳から 52 歳の対象者を年齢で 7 群に分けて、各群の月経周期の平均±標準偏差を表にしている。統計的な検定は行われていないが、高齢になるにつれ、標準偏差が小さくなる傾向が見られた。本研究の対象者においても、個人内変動の正常群、非正常の年齢差は、中央値で 1 歳と小さいながら (表 5.3.3.2)、この傾

向は一致している。月経周期同様、1 歳程度の年齢差が個人内変動に影響を与えている可能性を示す結果である。周期の「標準偏差」が JSOG の正常範囲に入る対象者は、入らない者に比べて「月経痛有り」と答える者が有意に多かった（表 5.3.3.2）。森ら（1998）は、月経周期は初経後 7 年程度でおおむね成熟に達するとしており、本研究の対象者の初経年齢の中央値は 12 歳であったことから、調査時の年齢（19-22 歳）はちょうどその成熟を迎える時期ということになる。松本・北村（2004）は、月経が安定し始める時期は月経痛を感じやすくなるとしており、周期の「標準偏差」が小さい、月経周期が安定し始めた対象者の方がより月経痛を訴える、という本研究の結果と符合する。

表 5.3.3.2 周期の個人内変動 2 群別の生物学的属性

		個人内変動		有意確率 (p)
		小群	大群	
年齢（歳）	21	21	20	<0.01 <sup>§</sup>
	(19-22)	(19-22)	(19-22)	
		21	20	<0.01 <sup>§</sup>
		(19-22)	(19-22)	
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	21.0	20.7	20.5	0.37 <sup>§</sup>
	(16.6-28.5)	(17.3-27.7)	(16.6-28.5)	
		20.7	20.4	0.25 <sup>§</sup>
		(16.6-28.5)	(16.9-27.2)	
初経年齢（歳）	12	12	12	0.13 <sup>§</sup>
	(10-16)	(10-16)	(10-16)	
		12	12	0.86 <sup>§</sup>
		(10-16)	(10-16)	
月経痛（人）	173	有り	7	0.11 <sup>‡</sup>
		無し	65	
		有り	96	0.025 <sup>‡</sup>
		無し	11	
不正出血（人）	176	有り	7	0.85 <sup>‡</sup>
		無し	66	
		有り	10	0.53 <sup>‡</sup>
		無し	99	

\* 年齢、BMI、初経年齢の数値は中央値（カッコ内は最小-最大値）

\*\* 上段は周期の「範囲」、下段は周期の「標準偏差」

§ Mann-Whitney の U 検定

‡ カイ二乗検定

個人内変動と、喫煙、カフェイン摂取、アルコール摂取、運動、食品摂取頻度との間には有意な関連は見られなかった。個人内変動と生活習慣および食生活要因との関連を検討した研究は少ない。自己申告に基づく、不規則周期 (Irregular cycle) と、喫煙習慣との関連を検討した研究 (Rowland et al., 2002) では、1 日 20 本以上喫煙する者は、しない者に比べて不規則な周期であると回答する割合が有意に多かった。本研究の対象者には、個人内変動と喫煙との間に関連は見られなかったが、これには喫煙者が少なかったことが関与しているかもしれない。本調査では、食生活 (肉類、牛乳、乳製品、卵、魚類、大豆製品) と月経周期・個人内変動との間の関連についても検討したが、いずれも有意な関連は見られなかった。肉類、牛乳、乳製品、卵は外因性エストロゲン、魚類はエストロゲン様化学物質である PCB、大豆製品は天然エストロゲン様物質であるイソフラボン曝露との関連を見るために調査を行った (Mendola et al., 1997; Hartmann et al., 1998)。しかし、今回調査したのはこれらの食品の摂取頻度のみであり、摂取量を把握することができなかったため、関連が見えづらくなった可能性がある。対象者の外因性エストロゲンおよびエストロゲン様化学物質の曝露量をより正確に把握するためには、血液や尿中の代謝産物等のバイオマーカーを用いた調査が必要である。

#### 5.4 まとめ

本章では、看護大学生を対象に、5 カ月間の出血の有無をカレンダーに記録してもらい、月経および生活習慣等に関する質問票との関連の検討を含んだ、月経周期に関する基礎的調査を行った。

その結果、平均月経周期長および周期の個人内変動は、 $34.2 \pm 10.5$  日および  $7.9 \pm 11.8$  日で、日本人を対象とした既往の報告値よりも長かった。また、年齢と周期長および個人内変動との間に、月経痛の有無と個人内変動との間に有意な関係が見られたが、BMI や初経年齢、生活習慣や嗜好に関する要因などとの間に有意な関連は見られなかった。

今回得られた知見は、日本人の月経周期に関する基礎的な情報として重要であると考えられる。しかし、対象者は看護学生のみで、人数は 180 人 (660 周期) と必ずしも多くないことから、月経周期長や個人内変動の代表性には制限がある。また、学生に限られていることから、年齢など様々な要因の個人間の変動幅が狭い傾向があり、年齢以外の要因による月経周期や個人内変動への影響が見えづらかった可能性がある。この調査で月経周期や個人内変動に影響が見られなかった要因については、このような対象者の属性の幅の狭さによる制限がある可能性があることを念頭に置いて解釈する必要がある。

## 第 6 章

### パラベン類曝露と女性生殖機能指標 としての月経周期との関連

## 第 6 章 パラベン類曝露と女性生殖機能指標としての月経周期との関連

### 6.1 はじめに

1 章において、細胞実験の結果 (Nishihara et al., 2000)、およびパラベン類投与が雌ラットの子宮重量を増加させる (Lemini et al., 2003) といった動物実験等の結果からパラベン類にはエストロゲン活性があり、生殖機能に負の影響を与え得ること、また、パラベン類は一般大衆に広く曝露されていること (Calafat et al., 2010) を述べた。しかし、パラベン類曝露と女性生殖機能指標との関連を検討した疫学報告は限られている。Buttke et al. (2012) は、12-16 歳の女性 287 人を対象に、パラベン類曝露と初経年齢との関連を検討したが、有意な関連は見られなかった。Smith et al. (2013) は、不妊治療を必要としている 21.0-46.7 歳の女性 192 人を対象に、パラベン類曝露と卵巣予備能 (月経 3 日目の血中 FSH 濃度、胞状卵胞数、卵巣容積) との関連を検討した。その結果、PP 高曝露群は、低曝露群に比べて胞状卵胞数が低下する傾向が見られたことを報告した。in vitro および in vivo 試験の結果を考慮すると、パラベン類曝露による女性生殖機能への影響に関する更なる疫学調査が求められるが、パラベン類曝露に関する疫学調査は極めて少なく、調査の積み重ねが求められている。

そこで本章では、パラベン類曝露と女性生殖機能指標との関連を検討することとした。女性生殖機能指標には、第 5 章で検討した月経周期を用いることとした。

### 6.2 方法

#### 6.2.1 対象者

対象者は、第 5 章で解析対象となった対象者のうち、2012 年および 2013 年に本調査に関する説明を受けた者 (第 1 期および第 2 期) とした (n=128)。インフォームドコンセント等の方法は、第 5 章と同様のためここでは省略する。

#### 6.2.2 採尿および質問票調査

スポット尿サンプルは、調査説明会のおよそ 1-2 か月後に行われた臨床化学実習において採尿された。学生には、尿サンプルを自身で紙コップに採尿するよう指示し、採尿後すぐに回収した。回収後、ポリプロピレン製チューブに分注し、分析まで -20°C の冷凍庫に保管した。すべてのポリプロピレン製チューブは、超純水およびメタノールで洗浄したものを用いた。

尿中パラベン類濃度の前処理および測定方法は、第 2 章と同様である。本調査においてもトラベルブランクを測定し、その結果、各パラベン濃度は検出下限値以下であることを確認した。

質問票調査に関しては、第 5 章で行った質問票調査結果のうち、第 1 期および第 2 期の対象者の結果を本章で使用した。

### 6.2.3 統計解析

解析にあたり、尿中パラベン類濃度は尿比重（1.020）で補正した濃度を用いた。各尿中パラベン濃度の分布が大きく歪んでいたため（図 6.2.3.1-6.2.3.5）、濃度を対数変換した値を解析に用いた。尿中濃度が検出下限値を下回った場合には、検出下限値の 1/2 の値を代入して解析を行った。また第 4 章と同様に、尿中パラベン類曝露指標として、エストロゲン等量（estrogen-equivalent total paraben: ETP）を算出した（算出方法は第 4 章参照）。

対象者は、得られた月経周期長の四分位値（<25 パーセンタイル値（30 日）：“短周期群”（1）、25-75 パーセンタイル値：“中程度群”（2）、75 パーセンタイル値（36 日）>：“長周期群”（3））で 3 群に分類した。周期長を 3 群に分類した理由は、周期長の分布が大きく歪んでおり統計解析を行う際に連続変数として扱えず、名義変数化する必要があったため、また、周期が短周期になるメカニズムと長周期になるメカニズムは異なると考えられたためである。周期の個人内変動について、ここでは周期の「標準偏差」を用いることとし、対象者はこの中央値で 2 群（“変動小群”  $\leq 6.1$  日（0）、 $6.1$  日 < “変動大群”（1））に分類した。月経痛に関して、対象者は、“月経痛無し”（“ほとんどない”（0））、“月経痛有り”（1）の 2 群に分類した。生活習慣等に関する項目は、第 5 章に示した通り、対象者を頻度の大小で 2 群に分類した。

3 群に分類した月経周期長および 2 群に分類した周期の個人内変動と、生物学的および生活習慣等との関連を検討するために、カイ二乗検定、Kruskal-Wallis 検定、Mann-Whitney の U 検定を実施した。これは、月経周期と尿中パラベン類濃度との関連を検討する際に共変量となる要因を探すためである。次に、3 群に分類した月経周期長と尿中パラベン類濃度との関連を検討するために、順序ロジスティック回帰分析を行った。また、2 群に分類した周期の個人内変動との関連を検討するために、二項ロジスティック回帰分析を行った。両ロジスティック回帰分析において、従属変数には名義変数化した月経周期長（1：短周期群、2：中程度群、3：長周期群）および個人内変動（1：変動小群、2：変動大群）、独立変数は、各尿中パラベン濃度および ETP、共変量として、基本的な生物学的属性（年齢、BMI、初経年齢）に加えて、前述した単変量解析によって有意確率  $p < 0.10$  となった変数を用いた。変数の投入方法は、いずれのロジスティック回帰分析においても強制投入法で行った。

以上の統計解析は、SPSS ver 12.0J、R Commander、EZR を用いて行った。統計解析の結果、有意確率が  $p < 0.05$  となった場合に、統計的に有意差ありと判断することとした。

## 6.3 結果と考察

### 6.3.1 対象者

本研究への参加の同意を得た 178 人中、145 人（81%）が月経カレンダーおよび生活習慣等の質問票に回答した。このうち、15 人は調査前 6 カ月以内に経口避妊薬を使用していたため除外した。また、Smirnov-Grubbs 検定により、2 人の年齢（25 歳、36 歳）が外れ値と判断されたので、この 2 人も解析から除外した。よって、本章の解析対象者は 128 名とな



った。調査期間中、対象者の中に妊娠した者はいなかった。

128 人の属性を表 6.3.1 に示す。年齢および BMI の平均値±標準偏差は、それぞれ  $20.2\pm0.9$  歳、 $20.8\pm2.0$  kg/m<sup>2</sup> であった。周期の標準偏差で表された個人内変動は、 $10\pm13$  日であり、中央値（最小－最大）は、6.1 日（0.66-70 日）であった。1 人当たりの周期数の平均値±標準偏差は、 $4\pm1$  周期であった。

月経周期および個人内変動と生物学的属性や生活習慣要因との関連を検討した単変量解析の結果、月経周期と肉類摂取頻度（週 6 回未満：0/6 回以上：1）との間に、また、周期の個人内変動と月経痛の有無との間に、有意確率  $p<0.10$  の関連が見られた。これらの要因を共変量として、6.3.3 で行うロジスティック回帰分析に投入した。

### 6.3.2 尿中パラベン類濃度

表 6.3.2.1 に、対象者の尿中各パラベン類濃度の未補正值と尿比重補正值を示す。また、各尿中パラベン濃度のヒストグラムを、図 6.3.2.1-6.3.2.5 に示す。各パラベンの尿中濃度検出率は、100%（MP）、97%（EP）、98%（PP）、78%（BP）であった。検出下限値未満の濃度については、検出下限値の 1/2 の濃度（0.13（EP）、0.075（PP）、0.032（BP）ng/mL）を代入して平均値などの算出や統計解析を行った。対象者の尿比重補正後の尿中パラベン類濃度および ETP の中央値は、285（MP）、3.45（EP）、7.38（PP）、0.690（BP）ng/mL、12.3 μM であった。尿中各パラベン濃度の ETP への寄与率は、PP が最も高く 46.1%、ついで MP（21.7%）、BP（19.9%）、EP（12.3%）であった。

本対象者の尿中パラベン類濃度の中央値は、妊娠中の日本人女性を対象とした既往研究（Shirai et al., 2013）および Calafat et al. (2010) がアメリカで行った大規模調査の結果と比較しても同様の濃度レベルであり、本対象者の濃度レベルは、既往研究で報告された濃度レベルから大きく離れてはいなかった（表 1.2.6.4）。

各尿中パラベン濃度間の相関を検討するために、Spearman の順位相関係数を用いて相関検定を行った。その結果、全ての尿中パラベン類濃度間に、中程度の有意な相関があることがわかった（順位相関係数  $\rho=0.26-0.48$ ,  $p<0.01$ 、表 6.3.2.2）。

この結果は、防腐効果を高めるために多くの PCP に 1 種以上のパラベン類が添加されているためと考えられる（Soni et al., 2005）。これは、PCP の使用によって、パラベン類の複合曝露が起こっていることを意味する。本章では、一般にエストロゲン活性を有することが知られている 4 種を測定対象としたが、複合曝露によって、相加的にエストロゲン様作用が強まる可能性がある。この可能性を考慮するために、本章でも ETP を検討した。ETP への寄与率が一番大きいのは PP であり、検出濃度が一番小さかった BP は MP とほぼ同様の寄与率であったことから、本対象者において、PP 曝露がエストロゲン様作用による生殖毒性の最大のリスクファクターであるかもしれない。また BP は、曝露量は小さいが、エストロゲン様作用による生殖毒性を考えると、無視できない曝露レベルであったと考えられる。

表 6.3.1 対象者の属性 (n=128)

	n	平均値±標準偏差	中央値 (最小-最大)
年齢 (歳)	127	20.2±0.9	20 (19-22)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	111	20.8±2.0	20.6 (16.6-27.2)
初経年齢 (歳)	120	12.2±1.4	12 (10-16)
月経周期 (日)		35±12	32 (21-98)
< 25 パーセンタイル値	31		
25 – 75 パーセンタイル値 (30-36 日)	66		
75 パーセンタイル値 <	31		
周期の個人内変動 (日)		10±13	6.1 (0.7-70)
≤ 50% (≤ 6.1 日)	60		
50% <	65		
1 人当たりの月経周期数 (周期) <sup>a</sup>	128	4±1	4 (1-7)
月経痛			
無し	23		
有り	101		
喫煙			
非喫煙者	124		
喫煙者	2		
運動			
していない	104		
している	23		
アルコール摂取量 (g/week)	128	29.6±52.4	8.13 (0.0-245)
カフェイン摂取量 (mg/week)	128	556±494	490 (175-740)

表 6.3.2.1 対象者の尿中パラベン類濃度 (n=128)

	検出率 (%)	算術平均±SD <sup>a</sup>	幾何平均 (SD)	中央値 (最小-最大)
MP	100	369±532	206 (3.28)	273 (2.97-4107)
		340±366	205 (3.28)	285 (2.48-2738)
EP	97	16.1±25.5	4.80 (5.47)	4.04 (< 0.26-166)
		18.2±36.4	4.77 (5.54)	3.45 (< 0.26-288)
PP	98	31.2±55.9	7.73 (6.91)	8.39 (< 0.15-441)
		29.7±45.8	7.69 (6.89)	7.38 (< 0.15-245)
BP	70	5.00±12.0	0.565 (10.7)	0.634 (< 0.064-73.7)
		4.58±10.6	0.562 (10.6)	0.690 (< 0.064-67.0)
ETP	NA <sup>b</sup>	24.9±35.7	10.4 (4.33)	12.0 (0.234-224)
		23.7±30.1	10.4 (4.28)	12.3 (0.226-168)

\* 各パラベン類の上段が未補正值、下段が尿比重補正值

<sup>a</sup> 標準偏差 (standard deviation: SD)<sup>b</sup> Not applicable

表 6.3.2.2 各尿中パラベン濃度の相関 (n=128)

	MP	EP	PP	BP
MP	-			
EP	0.36	-		
PP	0.48	0.37	-	
BP	0.31	0.26	0.46	-

\* 表中の数値は、各尿中パラベン類濃度間の相関係数

(相関係数は Spearman の順位相関係数 ρ、全ての組み合わせで有意 (p&lt;0.01))

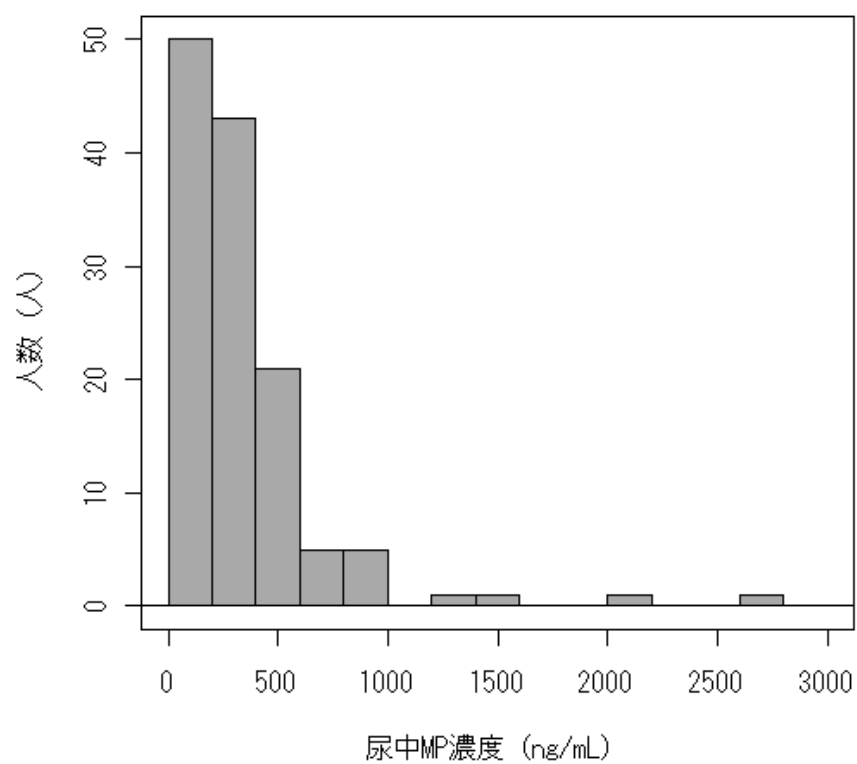


図 6.3.2.1 対象者 128 人の尿中 MP 濃度のヒストグラム

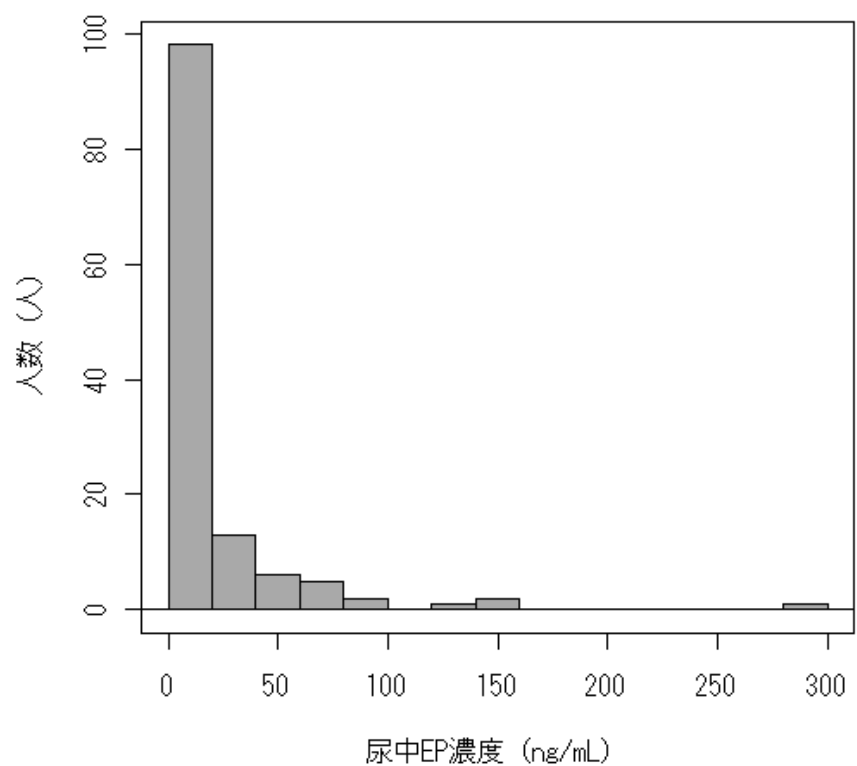


図 6.3.2.2 対象者 128 人の尿中 EP 濃度のヒストグラム

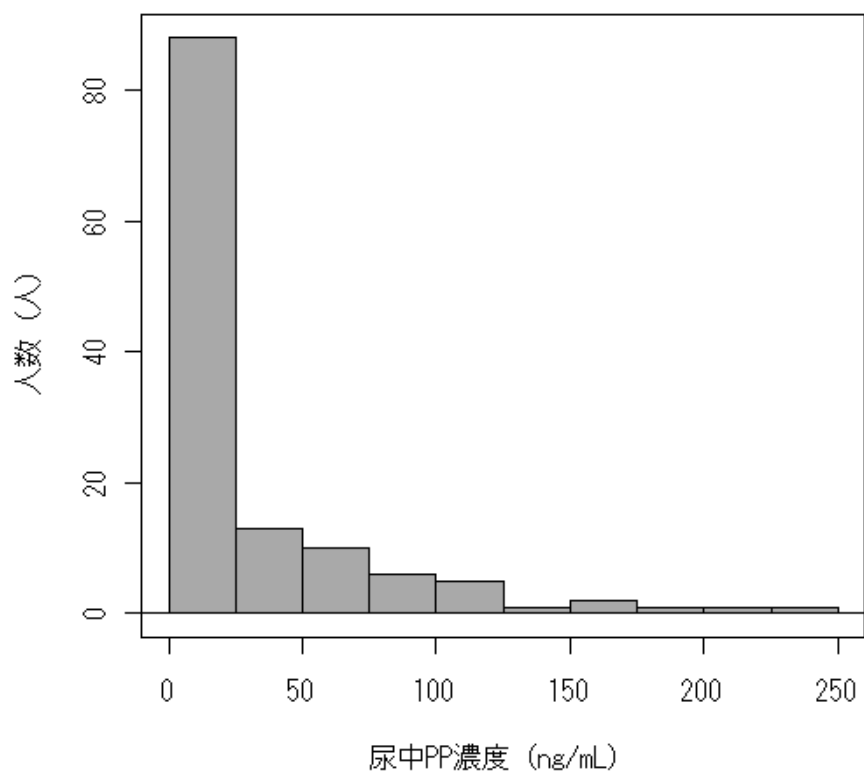


図 6.3.2.3 対象者 128 人の尿中 PP 濃度のヒストグラム

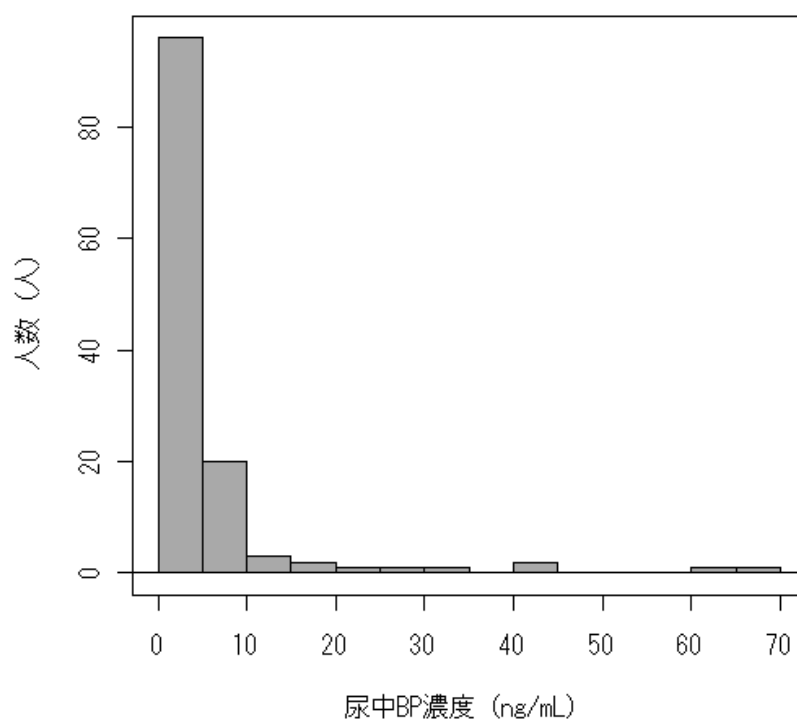


図 6.3.2.4 対象者 128 人の尿中 BP 濃度のヒストグラム

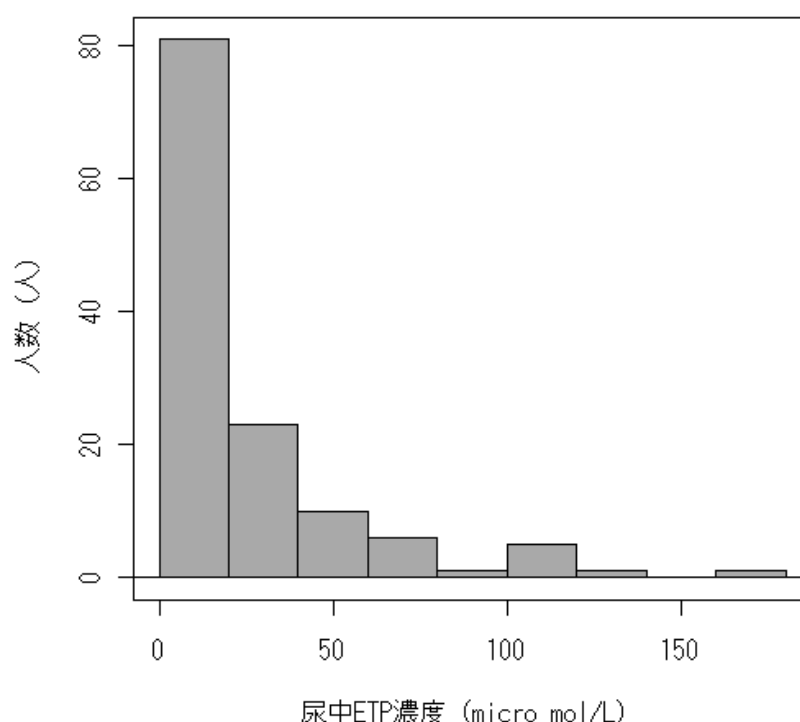


図 6.3.2.5 対象者 128 人の尿中 ETP のヒストグラム

### 6.3.3 パラベン類曝露と月経周期との関連（多変量解析の結果の詳細は Appendix 5 参照）

まず、各尿中パラベン類濃度と月経周期長との相関関係を検討するために、Spearman の順位相関係数 ( $\rho$ ) を用いて相関検定を行った。その結果を図 6.3.3.1-6.3.3.5 に示す。有意な相関が見られたのは、尿中 ETP と月経周期長との間のみであった ( $\rho = -0.176$ ,  $p = 0.047$ )。また、周期の個人内変動との相関関係についても同様に Spearman の順位相関係数 ( $\rho$ ) を用いて検定を行ったが、有意な相関は見られなかった。

次に、従属変数として 3 群に分類した月経周期を用いた順序ロジスティック回帰分析を行ったところ、月経周期と尿中 ETP（調整済みオッズ比=0.73（95%信頼区間 0.56-0.96）、 $p = 0.027$ ）、尿中 BP（調整済みオッズ比=0.83（95%信頼区間 0.70-0.99）、 $p = 0.037$ ）との間に有意な関連が見られた（表 6.3.3.1）。また、短周期群の尿中 ETP および BP 濃度は、他の群に比べて高い傾向が見られた（図 6.3.3.6、6.3.3.7）。尿中 MP、EP、PP と月経周期との間には、有意な関連は見られなかった。共変量としてロジスティック式に投入した年齢、BMI、初経年齢、肉類摂取頻度と月経周期の間には有意な関連は見られなかった。また、2 群に分類した個人内変動を従属変数に用いた二項ロジスティック回帰分析の結果からは、有意な関連は見られなかった。しかし、尿中 PP 濃度（調整済みオッズ比=0.83（95%信頼区間 0.67-1.0）、 $p = 0.087$ ）および ETP（調整済みオッズ比=0.77（95%信頼区間 0.57-1.0）、 $p = 0.093$ ）は、個人内変動が大きい群に比べて小さい群の方が高い傾向が見られた（図 6.3.3.8、6.3.3.9）。

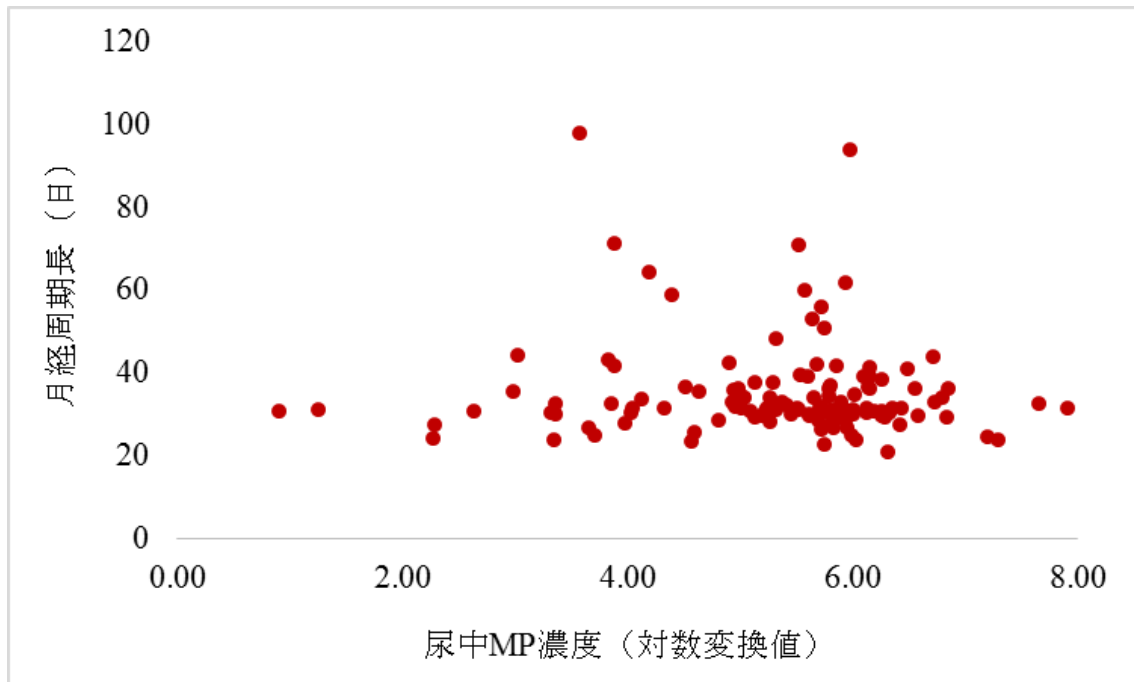


図 6.3.3.1 尿中 MP 濃度と月経周期長 (n=128)  
(横軸は対数変換した尿中 MP 濃度、縦軸は月経周期長 (日))

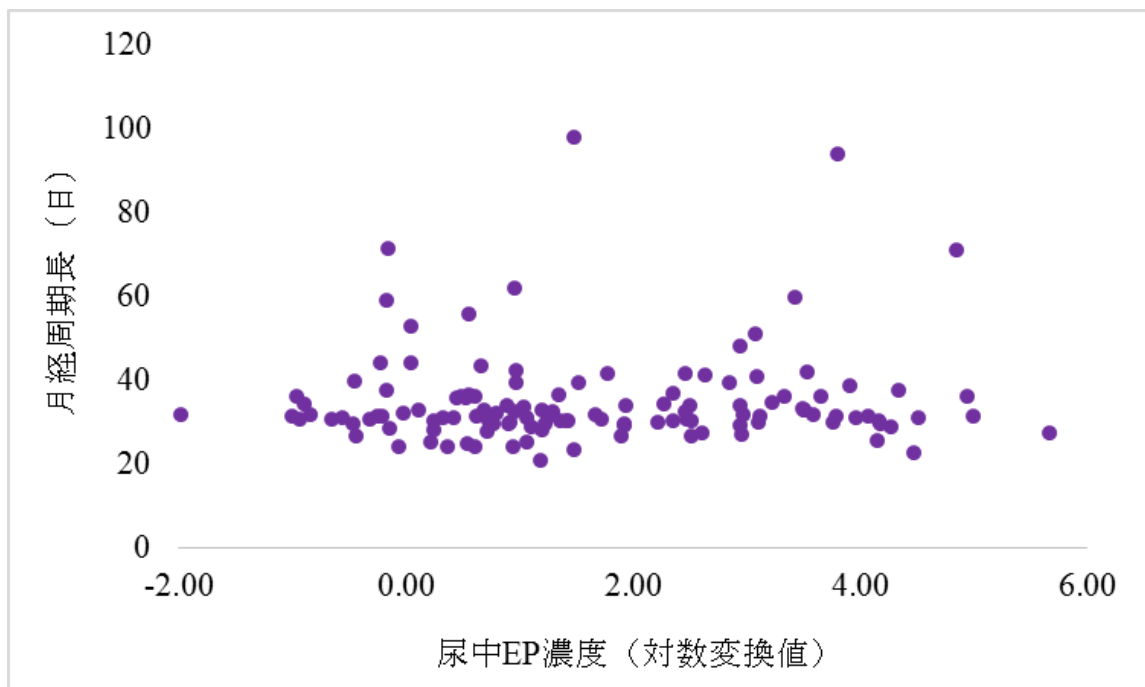


図 6.3.3.2 尿中 EP 濃度と月経周期長 (n=128)  
(横軸は対数変換した尿中 EP 濃度、縦軸は月経周期長 (日))

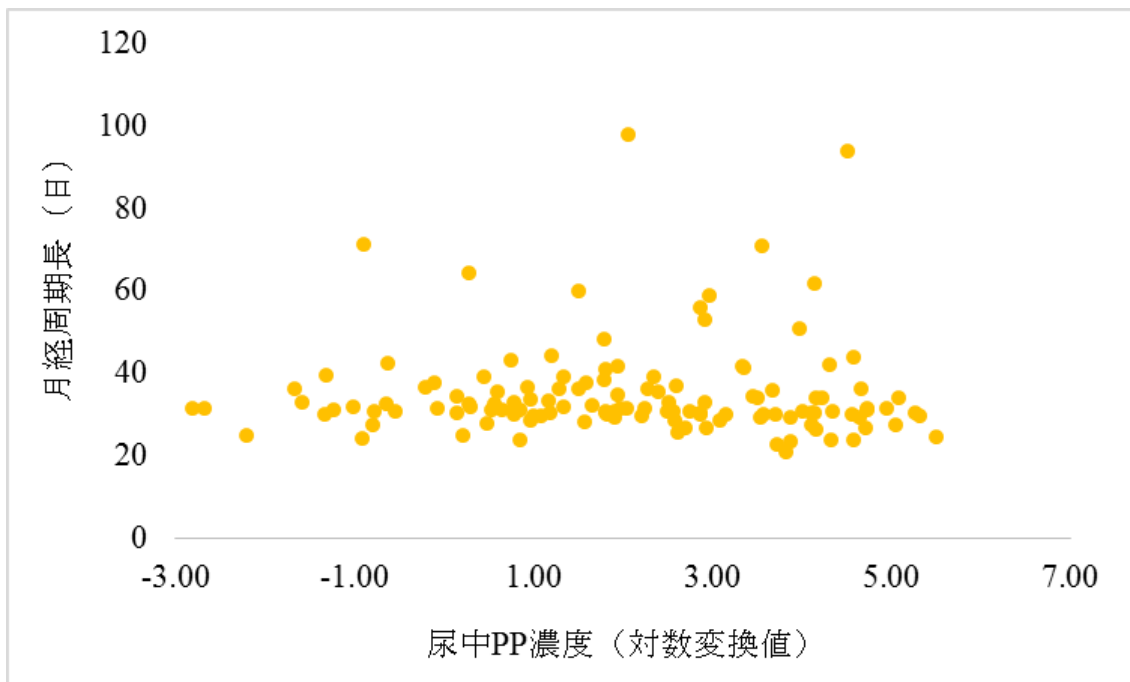


図 6.3.3.3 尿中 PP 濃度と月経周期長 (n=128)  
(横軸は対数変換した尿中 PP 濃度、縦軸は月経周期長 (日))

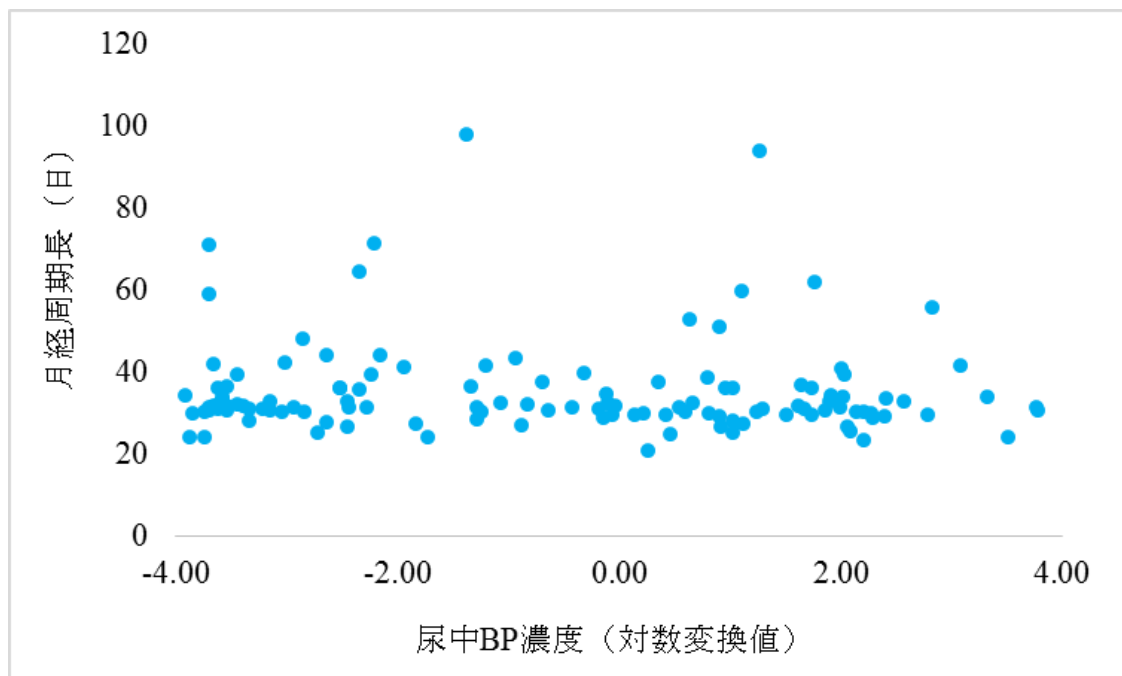


図 6.3.3.4 尿中 BP 濃度と月経周期長 (n=128)  
(横軸は対数変換した尿中 BP 濃度、縦軸は月経周期長 (日))



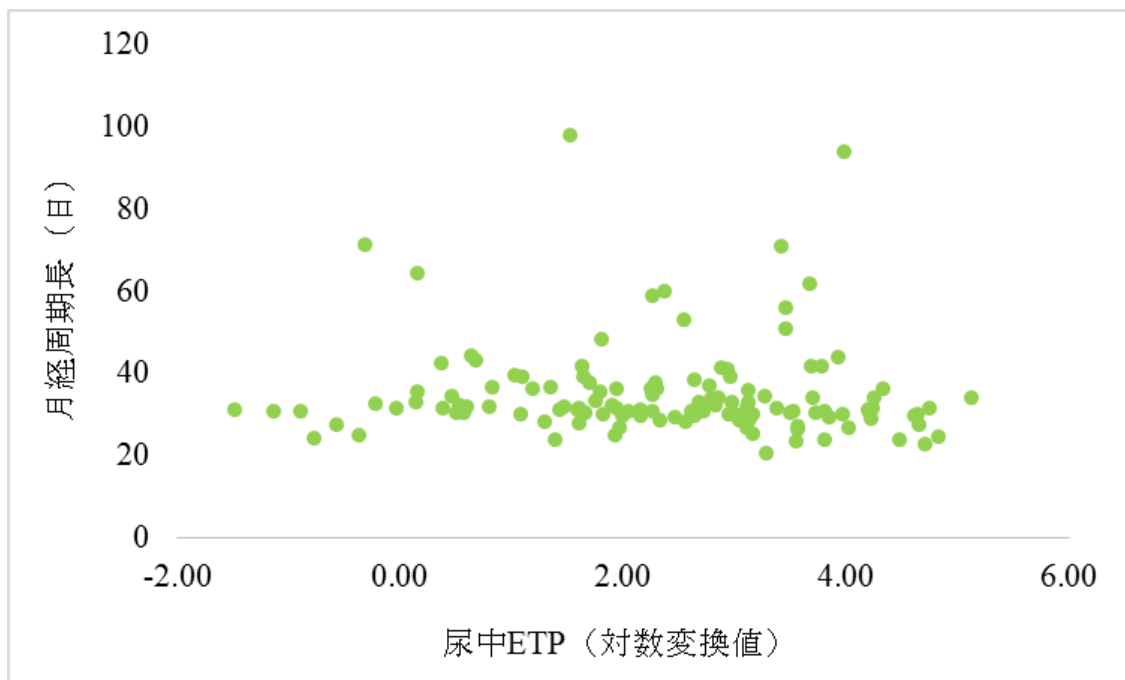


図 6.3.3.5 尿中 ETP と月経周期長 (n=128)  
(横軸は対数変換した尿中 ETP、縦軸は月経周期長 (日))

表 6.3.3.1 月経周期と尿中パラベン類濃度との関連 (n=128) <sup>a</sup>

	粗オッズ				調整済みオッズ <sup>b</sup>			
	オッズ比	95%信頼区間		p	オッズ比	95%信頼区間		p
		下限	上限			下限	上限	
尿中 MP 濃度 <sup>c</sup>	0.98	0.74	1.3	0.86	0.88	0.62	1.3	0.49
尿中 EP 濃度 <sup>c</sup>	1.0	0.82	1.2	0.98	1.0	0.82	1.3	0.86
尿中 PP 濃度 <sup>c</sup>	0.88	0.74	1.1	0.16	0.85	0.70	1.0	0.10
尿中 BP 濃度 <sup>c</sup>	0.89	0.77	1.0	0.11	0.83	0.70	0.99	0.037
尿中 ETP <sup>c</sup>	0.83	0.66	1.0	0.10	0.73	0.56	0.96	0.027

<sup>a</sup> 順序ロジスティック回帰分析 (各分析の詳細な結果は、Appendix 6 参照)

<sup>b</sup> 共変量として年齢、BMI、初経年齢、肉類摂取頻度 (週 6 回未満 : 0 / 6 回以上 : 1) を投入  
(各分析において、これらの説明変数と月経周期との間に有意な関連は見られなかった)

<sup>c</sup> 尿比重補正後、対数変換した値を用いて解析

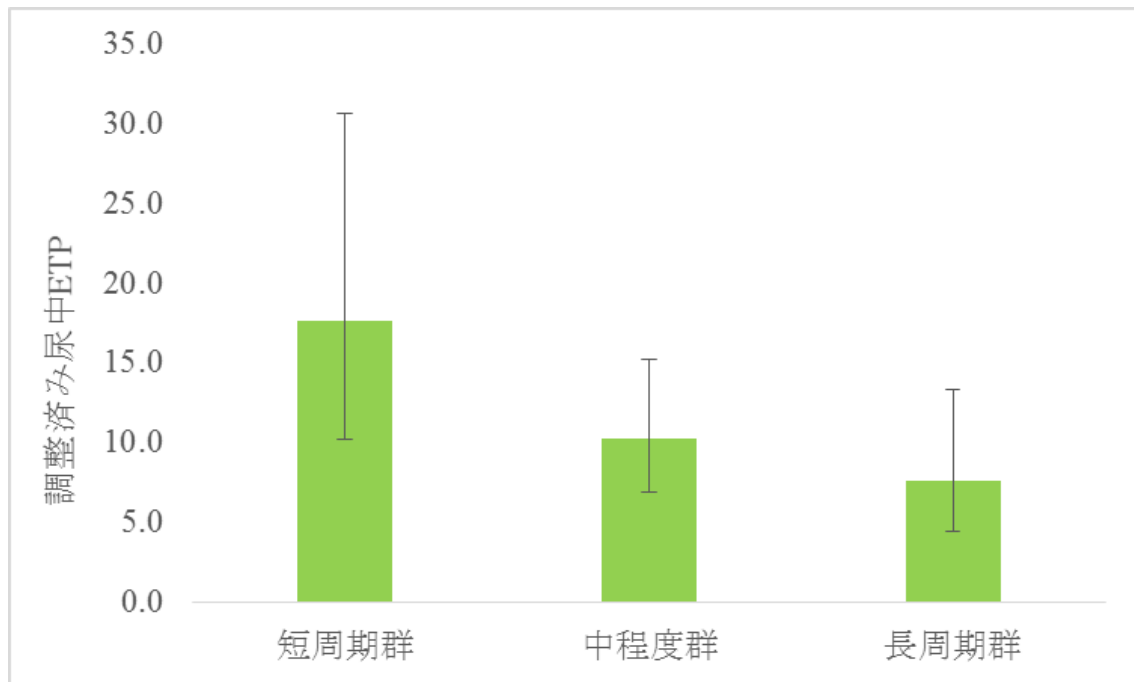


図 6.3.3.6 対象者 128 名の月経周期群別調整済み尿中 ETP (幾何平均値)  
(尿中 ETP を年齢、BMI、初経年齢、肉類摂取頻度で調整、バーは 95%信頼区間)

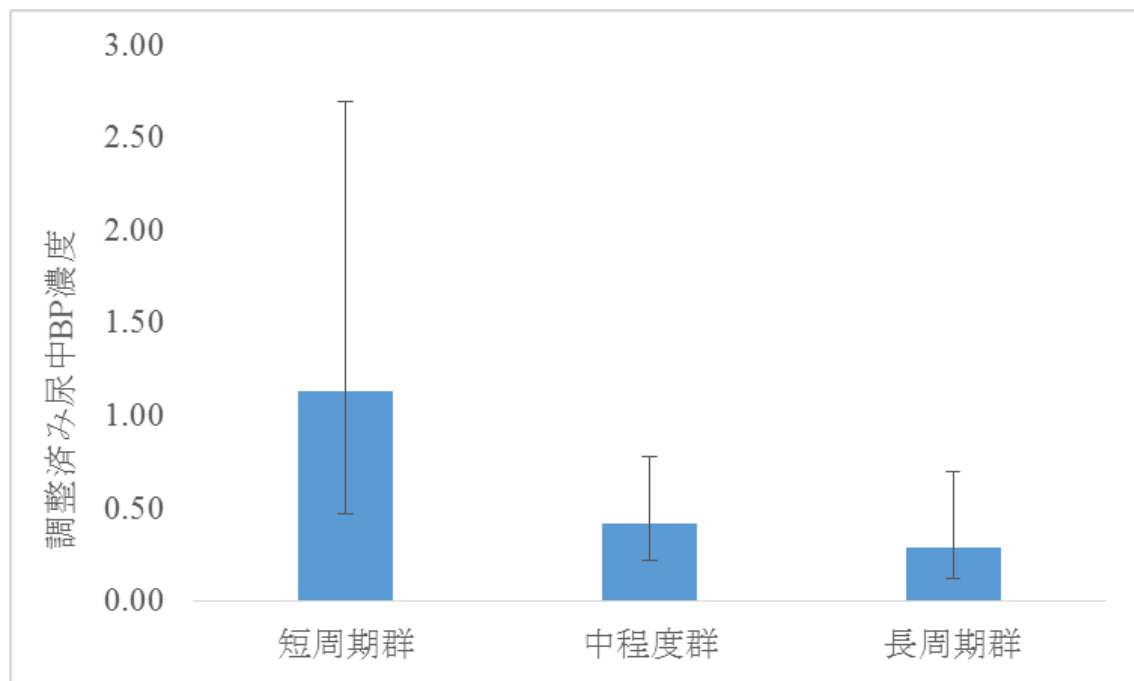


図 6.3.3.7 対象者 128 名の月経周期分別調整済み尿中 BP 濃度 (幾何平均値)  
(尿中 BP を年齢、BMI、初経年齢、肉類摂取頻度で調整、バーは 95%信頼区間)

表 6.3.3.2 月経周期の個人内変動と尿中パラベン類濃度との関連 (n=125) <sup>a</sup>

	粗オッズ				調整済みオッズ <sup>b</sup>			
	オッズ比	95%信頼区間		p	オッズ比	95%信頼区間		p
		下限	上限			下限	上限	
尿中 MP 濃度 <sup>c</sup>	0.95	0.70	1.3	0.72	0.79	0.53	1.2	0.24
尿中 EP 濃度 <sup>c</sup>	0.91	0.74	1.1	0.39	0.83	0.64	1.1	0.17
尿中 PP 濃度 <sup>c</sup>	0.86	0.72	1.0	0.12	0.83	0.67	1.0	0.087
尿中 BP 濃度 <sup>c</sup>	0.98	0.84	1.1	0.77	0.92	0.77	1.1	0.38
尿中 ETP <sup>c</sup>	0.87	0.68	1.1	0.26	0.77	0.57	1.0	0.093

<sup>a</sup> 二項ロジスティック回帰分析（強制投入法）

<sup>b</sup> 共変量として年齢、BMI、初経年齢、月経痛の有無（無：0、有：1）を投入

<sup>c</sup> 尿比重補正後、対数変換した値を用いて解析

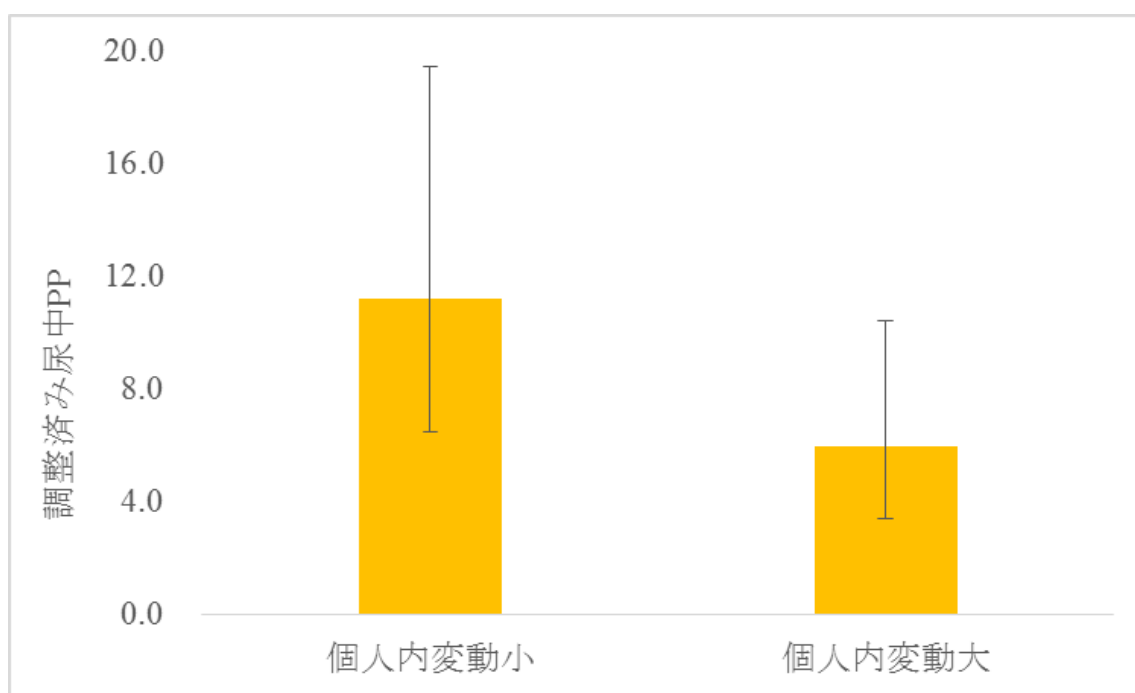


図 6.3.3.8 対象者 125 名の周期の個人内変動別調整済み尿中 PP 濃度（幾何平均値）  
（尿中 PP 濃度を年齢、BMI、初経年齢、月経痛の有無で調整、バーは 95%信頼区間）

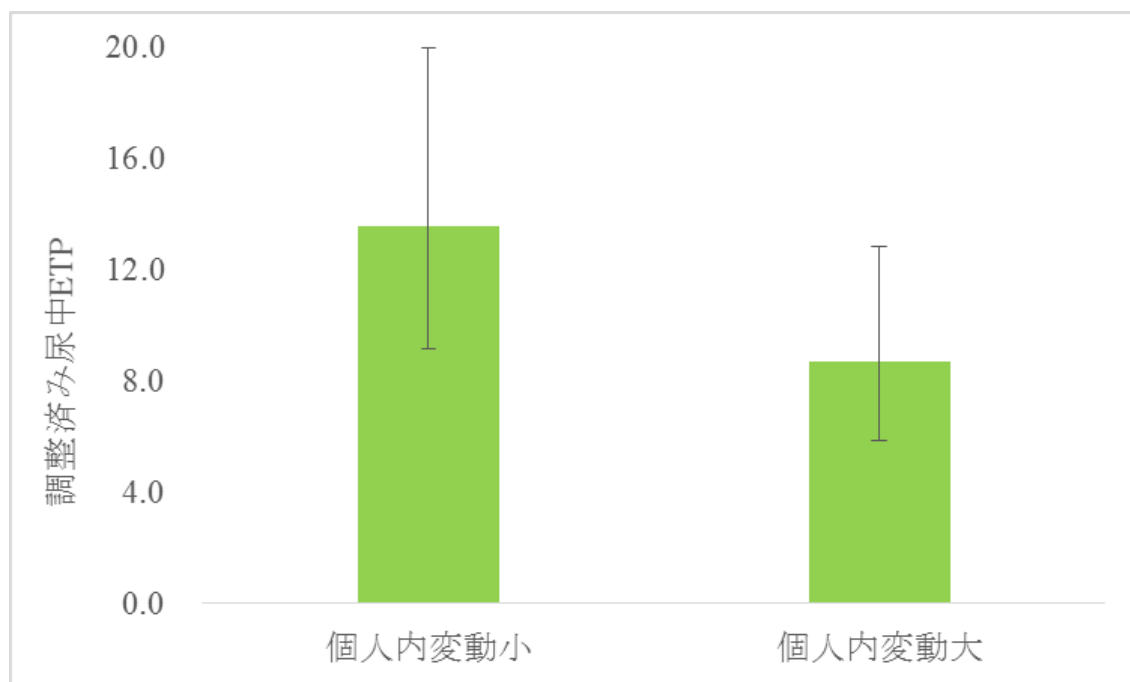


図 6.3.3.9 対象者 125 名の周期の個人内変動別調整済み尿中 ETP (幾何平均値)  
(尿中 ETP を年齢、BMI、初経年齢、月経痛の有無で調整、バーは 95%信頼区間)

パラベン類曝露による月経周期への影響メカニズムは明らかではない。体内でエストロゲン濃度レベルが上昇すると、性ホルモン分泌のネガティブフィードバック機能が働き、FSH 分泌が減少する。その結果、LH サージやこれに続く排卵が起こる (Marshall, 2006)。月経周期が短い人は、卵胞期が短いことが知られており (Waller et al., 1998)、周期が短い女性はエストロゲン濃度が高いことも知られている (Windham et al., 2002)。これらの報告から、1 つの仮説として、パラベン類曝露によってエストロゲン様活性レベルが上昇し、卵胞期から黄体期への移行が早まった結果、月経周期が短くなるというメカニズムが考えられる。

周期の個人内変動と尿中 PP 濃度および ETP との間には、個人内変動が小さい人ほど尿中濃度が高い傾向が見られた (表 6.3.3.2)。このメカニズムも明らかではないが、本調査の対象者においては、月経周期が長い人ほど個人内変動も大きい傾向がある (Spearman の順位相関係数  $\rho=0.54$ ,  $p<0.001$ 、図 6.3.3.10)。この月経周期と個人内変動との正の相関関係を考慮すると、パラベン類曝露によって月経が短くなるならば、得られた結果のように、パラベン類に多く曝露する人は個人内変動が小さくなるように見えると考えられる。あるいは、パラベン類曝露によって個人内変動が小さくなった結果、月経周期が短くなるように見えるとも考えられる。後者に関しては、有意な結果が得られていないため、十分な説明とは言えないが、パラベン類曝露による影響メカニズムが明らかではない今、どちらが正しいかという結論はつけられない。

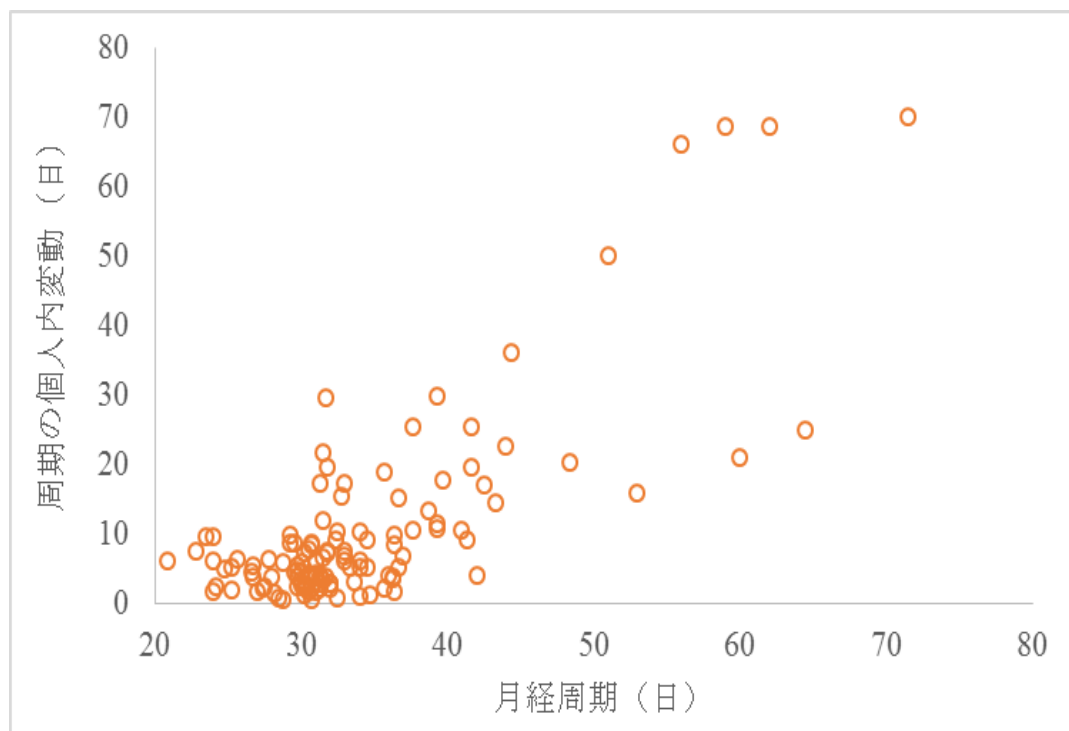


図 6.3.3.10 対象者の月経周期と周期の個人内変動 (n=128)

パラベン類曝露による女性生殖機能への影響に関する研究は、2件報告がある。Buttke et al. (2012) は、12-16 歳の女性を対象として、尿中 MP および PP 濃度と初経年齢との関連を検討したが、有意な関連は見られなかったと報告している。一方、Smith et al. (2012) は、21.0-46.7 歳の女性を対象として、卵巣予備能（月経 3 日目の血中 FSH 濃度、胞状卵胞数、卵巣容量）と尿中 MP、PP、BP との関連を検討した。その結果、有意ではないが、尿中 PP 濃度と胞状卵胞数との間に負の関連が見られたことを報告している ( $p=0.07$ )。Smith et al. (2012) の結果と本章で得られた結果を併せて考えると、パラベン類が女性の生殖機能に対してハザードとなっている可能性が示唆された。

一方、統計解析の方法を変更して、月経周期長および周期の個人内変動を連続変数として用いた重回帰分析（強制投入法）、および、周期長を日本産科婦人科学会（JSOG）が定める正常値（25-38 日）で 3 群分けした順序ロジスティック回帰分析を行った。重回帰分析の結果、尿中パラベン類濃度と有意な負の関連は見られなかった。その原因として、月経周期の分布が大きく歪んでいたために、分析に影響を与えてしまった可能性が考えられる。また、影響メカニズムの観点から、パラベン類曝露と月経周期との関連が直線関係にあるものとして説明できない可能性も考えられる。また、JSOG が定義した月経周期長の正常値で 3 群に群分けして行った順序ロジスティック回帰分析の結果も有意な負の関連は見られなかった。群別の尿中濃度を見ると、短周期群の濃度が高い傾向にあることは変わらなか

った（図 6.3.3.11 および 6.3.3.12）。しかし、短周期群が 8 人と他の群に比べて極端に少なかったこともあり（正常群は 94 人、長周期群は 26 人）、統計学的な検出率が低下し、有意な差が見られなかった可能性がある（Peduzzi et al., 1996）。しかし、いずれの解析方法においても有意な負の関連は見られなかったことから、解析結果の頑健性を確認することはできなかった。パラベン類曝露と月経周期との関連について結論づけるためには、さらなる調査の積み重ねによって議論されることが望まれる。

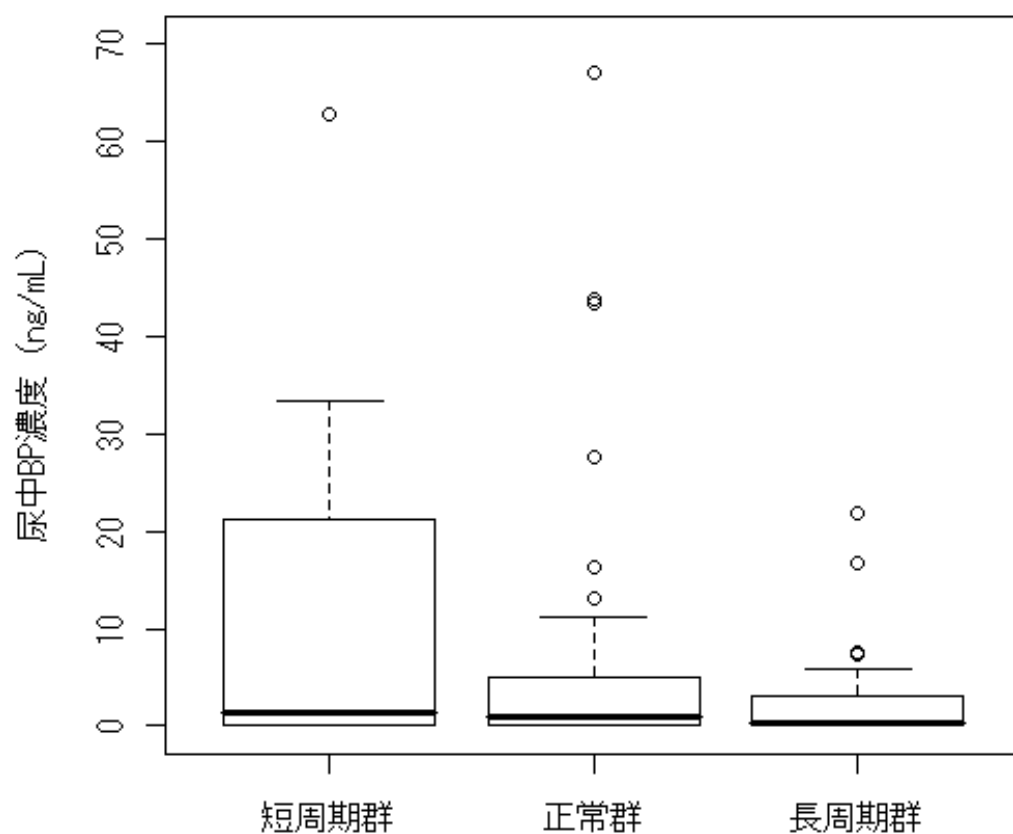


図 6.3.3.11 日本産科婦人科学会が定義する周期長の正常値で 3 群分けした群別尿中 BP 濃度（箱の上端は第 3 四分位数、箱の下端は第 1 四分位数、ひげの上端は、「第 3 四分位数 + 1.5 × (第 3 四分位数 - 第 1 四分位数)」、ひげの下端は、「第 1 四分位数 - 1.5 × (第 3 四分位数 - 第 1 四分位数)」)

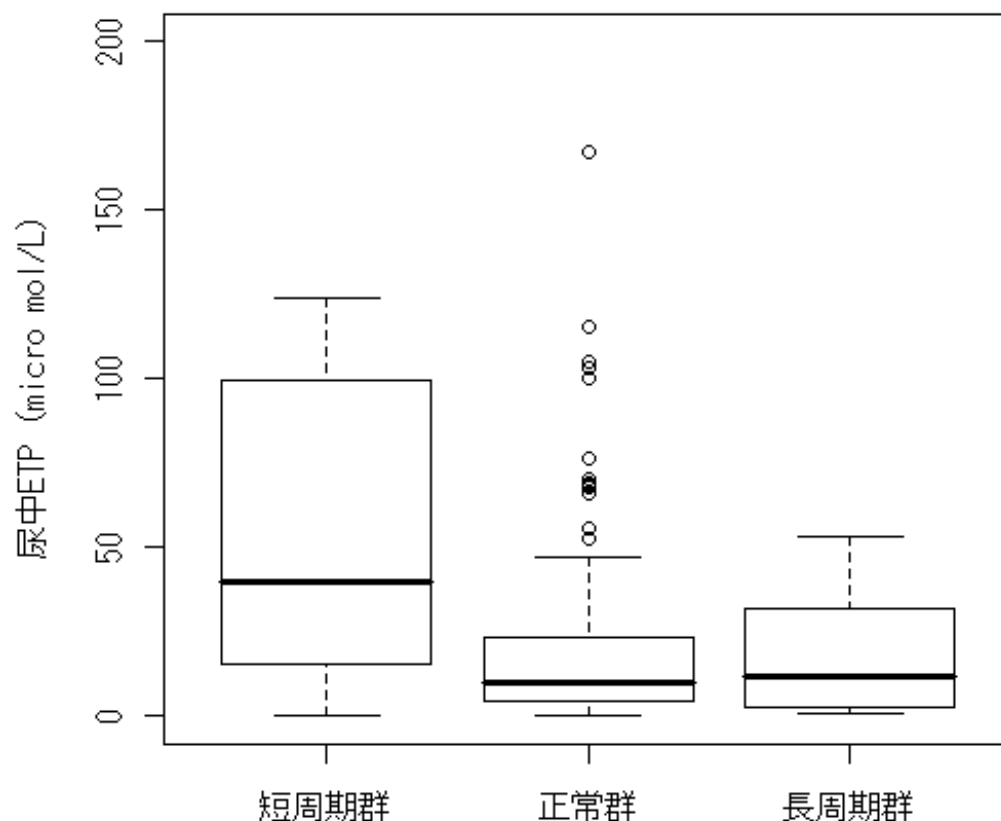


図 6.3.3.12 日本産科婦人科学会が定義する周期長の正常値で 3 群分けした群別尿中 ETP (箱の上端は第 3 四分位数、箱の下端は第 1 四分位数、ひげの上端は、「第 3 四分位数+1.5× (第 3 四分位数-第 1 四分位数)」、ひげの下端は、「第 1 四分位数-1.5× (第 3 四分位数-第 1 四分位数)」)

#### 6.4 まとめ

本章では、5 章の対象者の一部 (128 人) を解析対象者とし、尿中パラベン類濃度と月経周期長および個人内変動との関連を、ロジスティック回帰分析により検討した。尿中パラベン類濃度測定の結果、対象者の各パラベン類の尿中濃度検出率は、100% (MP)、97% (EP)、98% (PP)、78% (BP) であった。また、対象者の尿比重補正後の尿中パラベン類濃度および ETP の中央値は、285 (MP)、3.45 (EP)、7.38 (PP)、0.690 (BP) ng/mL および 12.3  $\mu$ M であった。順序ロジスティック回帰分析の結果、短周期群に属する人の尿中 ETP および BP 濃度が高い傾向が見られた。

今後さらに調査を積み重ねたうえで、パラベン類曝露による女性生殖機能への最終的な影響評価を行うべきではあるが、本研究の結果から、パラベン類がヒトの妊孕力に対してハザードとなる可能性を示唆する重要な知見が得られたと考えられる。

## 第 7 章

### パラベン類曝露による 妊孕力への影響評価



## 第7章 パラベン類曝露による妊孕力への影響評価

### 7.1 はじめに

ヒトの妊孕力を測る指標として、主に受胎待ち時間（time to pregnancy: TTP）が使われていることは第5章で述べた。TTPは、男女それぞれの生殖能力に関わる指標であり、そこには様々な要因が関与し得る。例えば、男性であれば第4章で取り上げた精液の質が代表的なものである。女性の月経周期もその一つであり、月経周期長が正常範囲にない人、とくに短周期の人はTTPが長いという傾向が見られている。Wise et al. (2011) は、妊娠を希望する2653人のデンマーク人女性を対象として、妊娠前の月経周期長によって6群に分類し、受胎確率比（FR）と月経周期長との関連について検討している。解析の結果、該当する対象者がもっとも多かった周期（27-29日）群を対照群としたとき、短周期群のFRが最大で36%低かったという（詳細は次節以降で述べる）。何かしらの要因（例えばパラベン曝露など）によって変動した月経周期の日数がわかれば、Wise et al. (2011) のデータを用いることでFRの変動の大きさを概算できると考えた。6章において、周期長が短周期群に属する人の尿中ETPおよびBP濃度が、他の群に比べて高い傾向が見られたことを報告した。この結果にWise et al. (2011) の報告値を当てはめて、この対象者のパラベン曝露レベルによって短縮した月経周期長は、どの程度の妊孕力の低下に相当するかを検討することとした。

本章の調査を通じて、わが国の一般公衆のパラベン曝露レベルで、どの程度妊孕力が低下し得るかを定量的に評価することは、パラベン類のリスク評価において重要な意義があると考ええる。

### 7.2 方法

本章では、第5章で挙げた月経周期長とFRとの関連を検討した報告のうち、Wise et al. (2011) の対象者から得られた月経周期長とFRのデータを用いて、パラベン類曝露によるFR低下率を見積もることとした。Wise et al. (2011) のデータを用いた理由として、調査デザインが前向き調査であること（思い出し法と比べて記録の誤りが少ない）、月経周期長とFRとの関係を検討するにあたり、周期長を詳細に分類し、かつ短周期、長周期いずれもバランスよく分類していること、統計的に有意なFRの点が多かったことが挙げられる。現時点では、日本人の周期長とFRとの関係を検討した報告が存在しないため、本章ではこの関係性が日本人に適用できるものと仮定し以降の推計を行った。

まず、Wise et al. (2011) の報告値から、月経周期長と調整済みFRの相関図を描き、近似の曲線回帰式（二次関数）を算出した。次に、月経周期の短縮によってどの程度FRが減少するかを知るために、Wise et al. (2011) の報告値から求めた回帰式を用いて、第6章の対象者の周期長中程度群（32日）のFRに対する短周期群（27日）のFRをそれぞれ算出し、中程度群のFRに対する短周期群のFR低下率を算出した。中程度群のFRと比較したのは、作成した近似式（係数が負の二次関数）から、中程度群（30-36日）のFRがほぼ1.0以上

となることが推定されたためである。

### 7.3 結果と考察

Wise et al. (2011) の報告値（表 7.3.1）から、月経周期長と調整済み FR の回帰式を、FR の上下限值を含めて算出した（表 7.3.2、図 7.3.1）。回帰式の決定係数  $R^2$  は 0.70 以上と、当てはまりの良い回帰式が得られた。

表 7.3.1 月経周期長と受胎確率比（FR）との関係（n=2653）

月経周期長（日）	受胎確率比（FR）	受胎確率比（FR）の 95%信頼区間（CI）	
		下限値	上限値
18-25	0.64	0.49	0.84
25-26	0.94	0.77	1.13
27-29	1.00	reference	
30-31	1.10	0.97	1.25
32-33	1.35	1.06	1.73
34-55	1.17	0.91	1.49

（Wise et al. (2011) を基に作成）

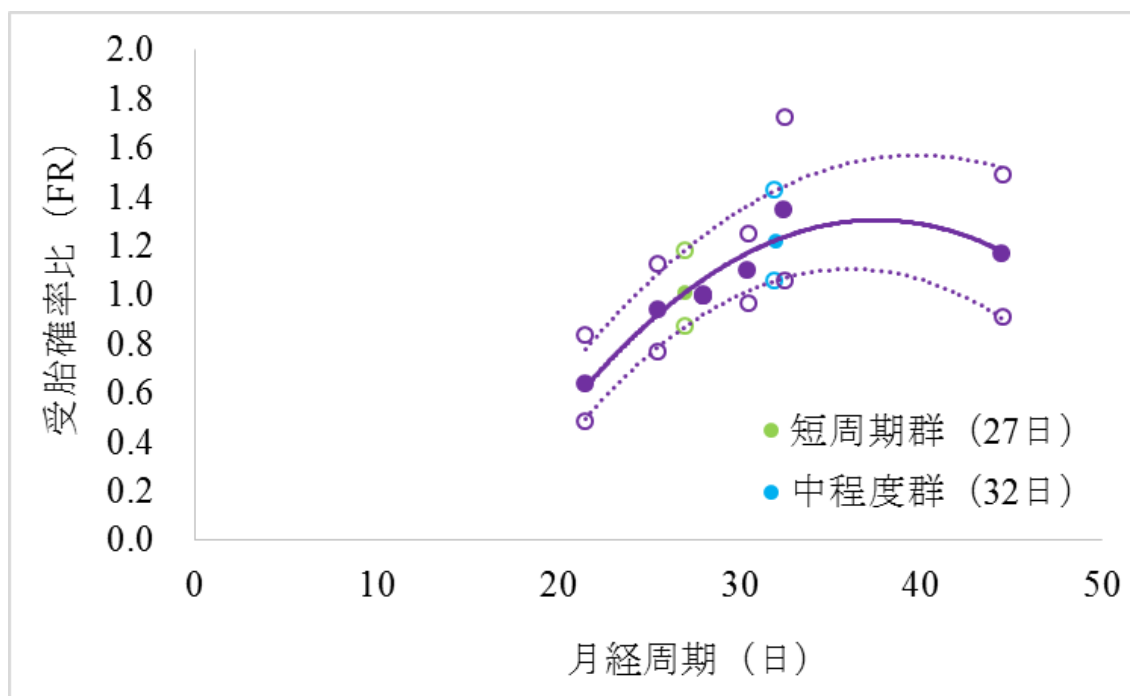


図 7.3.1 Wise et al. (2011) が報告した FR と月経周期長の相関図（○は FR の 95%信頼区間の下限および上限値、点線は FR 95%信頼区間の上下限值を用いた際の二次回帰式）

表 7.3.2 FR と月経周期長との回帰式

	回帰式 (決定係数 R <sup>2</sup> )
FR (y) と月経周期長 (x)	y= -0.0026x <sup>2</sup> +0.20x-2.4 (0.92)
FR 95%CI の下限値と月経周期長	y= -0.0028x <sup>2</sup> +0.21x-2.6 (0.96)
FR 95%CI の上限値と月経周期長	y= -0.0024x <sup>2</sup> +0.19x-2.2 (0.70)

これらの回帰式に、第 6 章で得られた月経周期長の中程度群（周期長の中央値 32 日）および短周期群（27 日）（表 7.3.3）を代入して、それぞれの FR を求めた。求めた両群の FR を用いて、中程度群の FR に対する短周期群の FR の割合を、FR 低下率として算出した。その結果、月経周期長中程度群に対して、短周期群の FR は約 18%低下すると概算された（表 7.3.4）。つまり、周期長の短周期群と中程度群の区間において、周期 5 日の短縮は、FR 18%低下に相当すると求められた。

表 7.3.3 対象者の月経周期長群別調整済み尿中 ETP および BP 濃度 (n=128)

	月経周期長 (中央値 (日))	
	短周期群 (27)	中程度群 (32)
調整済み幾何平均尿中 ETP (μM)	17.7	10.3
(95%信頼区間) <sup>a</sup>	(10.2-30.6)	(6.92-15.3)
調整済み幾何平均尿中 BP 濃度 (ng/mL)	1.13	0.419
(95%信頼区間) <sup>a</sup>	(0.473-2.69)	(0.224-0.783)

<sup>a</sup> 年齢、BMI、初経年齢、肉類摂取頻度で調整（一般線型モデル（一変量）に各変数を投入して算出された推定周辺平均値）

表 7.3.4 月経周期群別の FR と FR 低下率

	FR		FR 低下率 (%) <sup>a</sup>
	月経周期長短周期群 (27 日)	中程度群 (32 日)	
FR (y)			
と月経周期長 (x)	1.01	1.22	17
FR 95%CI の下限値			
と月経周期長	0.87	1.06	18
FR 95%CI の上限値			
と月経周期長	1.18	1.43	18

<sup>a</sup> FR 低下率 (%) = {(月経周期長中程度群の FR - 短周期群の FR) / 中程度群の FR} × 100 (%)

ここで、PCP をどの程度使用すると FR の 18%低下に相当する尿中濃度の変化がみられるかを、PCP の皮膚塗布試験の結果から推計した。日本人を対象とした PCP 塗布試験の報告は 1 件のみ（白井, 2010）であったため、本章の推計にはこの報告値を用いることとした。

白井 (2010) は、3 人の女性（23-33 歳）にボディークリーム（BP 濃度は検出下限値未満（ $<0.005$  g/kg））を 20 g、日焼け止め（BP 濃度 0.4 g/kg）を 2 g 皮膚に塗布するよう依頼し、塗布前後に採尿した尿中パラベン類濃度を測定した。その結果、日焼け止め使用によると考えられる BP 曝露量が 0.8 mg 増加すると、尿中濃度が約 10 ng/mL 上昇した（表 7.3.5）。表 7.3.5 の PCP 塗布試験の結果から、BP 曝露量が 0.08 mg 増加が尿中 BP 濃度 1 ng/mL の上昇に相当すると仮定できる。第 6 章の周期長の短周期群と中程度群の尿中 BP 濃度の差は 0.71 ng/mL であったことから、BP 曝露量が 0.057 mg ( $=0.08 \times 0.71$ ) 増加すると、中程度群の曝露レベルが短周期群の曝露レベルまで増加することとなる。表 7.3.3 の算出結果より、周期長中程度群（32 日）から短周期群（27 日）への短縮が 18%の FR の低下に相当すると仮定すると、日焼け止め由来の BP 曝露量 0.057 mg の増加で FR の 18%低下に相当すると計算された。つまり、中程度群の人が、白井 (2010) の調査で使用された日焼け止めを 0.14 g ( $=0.057$  mg / 0.4 g/kg) 多く使用したときに、18%の FR 低下に相当する尿中濃度の変動が起こると推定された。例えば、日焼け止めの使用基準量（2 mg/cm<sup>2</sup>）（日本化粧品工業連合会, 1995）の 1/4 量（0.5 mg/cm<sup>2</sup>）を、20 代の日本人女性の顔面部の表面積（318 cm<sup>2</sup>）（藤本ら, 1968; 富田ら, 1999）に塗布すると仮定して計算すると約 0.16 g となる。この計算結果から、顔面部に使用基準量の 1/4 量分追加して使い続けると FR が 18%低下する可能性がある」と推計された。

本推計には、日本人を対象とした唯一の PCP 塗布試験である白井 (2010) の報告値を用いているが、対象者の肌質や温度、塗布部位によって皮膚吸収率が異なることも知られており（WHO, 2006）、既往報告値から求めた BP 曝露量と尿中濃度との関係式は、第 6 章の対象者に当てはまらない可能性も考えられる。今後、より確度の高い推計を行うためには、吸収率の変動要因を制御した皮膚塗布試験結果を用いる必要がある。

表 7.3.5 PCP 塗布試験の結果（白井 (2010) から作成）

	“日焼け止め” による BP 曝露量 (mg)	尿中 BP 濃度 (ng/mL) <sup>a</sup>
塗布前	0	0.398
塗布後	0.8	10.4

<sup>a</sup> 4 サンプルの平均値

また、日本人の受胎待ち時間に関する既往報告値（荒川ら, 2003）を用いて試算したところ、FR が 18%低下するということはすなわち、受胎待ち時間（TTP）が 10 カ月だった人が、現在の日本の「不妊」の基準である 12 カ月（日本産科婦人科学会, 1995）以上に延長する可能性がある」と推定された（式 7.3）。つまり、市販の BP 含有日焼け止めを、使用基準量の

1/4 量分、顔面部に追加して使用することに伴う周期長の短縮によって、周期長が 30-36 日（中程度群に属している人）に属する人で TTP が 10 カ月だった人が、「不妊」という診断が下される程度まで TTP が延長する可能性があると考えられる結果である。

$$\frac{\frac{1}{10} \times \frac{82}{100}}{\frac{2}{3}} \left( \frac{\text{TTP10カ月の受胎確率} \times \text{パラベン類曝露による FR低下率}}{\text{日本人の TTPの最頻値 (1.5カ月) の受胎確率 (荒川ら, 2003)}} \right) = 0.123 < \text{TTP12カ月の FR (0.125)} \quad \dots\dots (\text{式 7.3})$$

Smarr et al. (2016) は、501 カップルを対象として、男女それぞれの尿中パラベン類濃度と FR との関連を検討した。その結果、尿中 MP 濃度の中央値が 60.0 µg/g-cre の女性 470 人において、尿中 MP 濃度の第 1 四分位 (< 12.0 µg/g-cre) 群を基準とした時に、第 4 四分位 (≥ 104 µg/g-cre) 群で FR が約 34% 低下したことを報告した（調整済み FR オッズ比 0.66, p=0.020）。また、尿中 BP 濃度においても、統計学的に有意ではなかったものの、尿中濃度が高くなるほど FR が低下する傾向が見られた。第 6 章の対象者においては、月経周期長と尿中 MP 濃度との間に有意な関連は見られなかったが、尿中 BP 濃度が高い人は FR が低いという傾向は一致している。本研究結果と Smarr et al. (2016) の結果は、調査方法が異なるため単純な比較はできない。しかし、本研究結果と Smarr et al. (2016) の結果から、パラベン類曝露が妊孕力、特に女性の生殖機能に負の影響をおよぼす可能性が示唆され、パラベン類曝露が健康ハザードであり、一般公衆の曝露レベルにおけるリスクは無視できるほど小さいものではない可能性が指摘された。今後、パラベン類のリスク評価に必要となる、動物実験を含めたパラベン類曝露が女性の生殖機能に負の影響をおよぼすメカニズムの解明に向けた調査が行われることが望まれる。

## 7.4 まとめ

本章では、月経周期と FR との関連を検討した既往報告を用いて月経周期長と FR の回帰式を求め、第 6 章における月経周期の中程度群の FR に対する短周期群の FR の割合から、FR の低下率を推計した。その結果、一般に流通する日焼け止めを顔面部に使用基準量の 1/4 量を追加して使用し続けることで毎月の受胎確率が 18% 程度低下する可能性が見出された。

本章では、第 6 章で考えられたパラベン類の持つ健康ハザードの大きさを定量的に評価できた。今後、パラベン類曝露による女性の生殖機能への影響メカニズムの解明に向けた調査が行われることが望まれる。

## 第 8 章

パーソナルケア製品（PCP）使用に関する  
調査および尿中パラベン類濃度との関係

## 第8章 パーソナルケア製品（PCP）の使用に関する調査および尿中パラベン類濃度との関係

### 8.1 はじめに

Soni et al. (2005) は、ヒトのパラベン類への主な曝露源は化粧品等の PCP であり、ついで医薬品、食品であることを報告している。異なる国の対象者や属性の違う対象者の尿中濃度を比較すると、必ずしも濃度レベルが一致しているわけでは無い（表 1.2.6.4）。これは、PCP や他のパラベン類含有製品の使用状況が国や属性によって異なるためと考えられる。また、パラベン類の製品への使用量の規制は各国で異なる。アメリカでは、特に使用量に規制が無い一方、日本では化粧品に対してパラベン類の合計値で 1% までと使用量の制限が設けられている（厚生労働省, 2000）。EU では、MP、EP、PP、BP が単体で 0.4% まで、合計値で 0.8% までの使用制限が設けられており、2014 年には、PP と BP は従来の 0.4% から 0.14% 未満に規制が強化されている（The European Commission, 2014）。そのため、国によって流通する製品の違いから、PCP 由来の曝露量が異なる可能性も考えられる。

日本において、森ら (2007) は、国内で流通する PCP 651 検体中の濃度を測定した結果、69% 以上の製品から MP が検出されたことを報告している。こうした情報に加え、PCP を人々がどう選択して、それぞれをどの程度の量、どういう頻度で使用しているか、という使用実態に関する情報は、PCP 使用によるパラベン類曝露の評価を行うにあたり必須の情報であるが、いまだそうした情報は皆無である。第 7 章の結果より、パラベン類曝露低減に向けたリスク管理の必要性が示唆されたことから、今後のリスク管理の基礎として曝露源に関する情報は重要な知見となるため、調査が必要である。

そこで本章では、第 3 章で行った尿中パラベン類濃度の ICC に関する検討の際に調査した質問票データを解析して、曝露指標である尿中濃度との相関分析を行うことを目的とした。これまで、PCP の使用調査と尿中濃度との関係を検討した既往研究は、国内外通しても報告されていない。

### 8.2 方法

本章で解析するデータは、第 3 章で男性 10 人および女性 12 人を対象に行った、PCP 使用実態に関する質問票調査および尿中パラベン類濃度測定結果である。

#### 8.2.1 PCP 使用に関する質問票調査（Appendix 3 および 4 参照）

対象者には、年齢、身長、体重および日常的に使用している PCP の商品名を以下のカテゴリー別に記入してもらった（表 8.2.1）。本質問票調査は、男性に対しては毎尿サンプリング時に調査を実施し、女性に対しては、初回の尿サンプリング時のみ実施した。

表 8.2.1 PCPs 使用調査の調査品目カテゴリー

カテゴリー名	調査対象
バス用品	洗顔料、ボディーソープ、シャンプー、リンス、ハンドソープ
口腔ケア	歯みがき粉、マウスウォッシュ
保湿剤	ハンドクリーム、ボディークリーム、リップクリーム
スキンケア	男性：アフターシェーブローション、シェービング用品 女性：クレンジング、化粧水、乳液
メイク用品	ファンデーション、メイク下地、チーク、アイブロウ、アイライン、アイシャドウ、マスカラ、マニキュア
整髪料、医薬部外品、制汗剤、日焼け止め、香水	

### 8.2.2 統計解析

PCP の使用に関する質問票データから、女性の対象者においては、PCP の使用品目数の合計値を“PCP 使用品目数”とした。男性の対象者においては、まず 1 カ月ごとの PCP 使用品目数を合計し、その 5 回の平均値を“PCP 使用品目数”として算出した。なお、対象者の男女それぞれの PCP 使用品目数の分布は、いずれも正規分布型であると判断した (Shapiro-Wilk 検定、 $p > 0.05$ )。

男性の PCP 使用品目数については、5 カ月間の PCP 使用品目数の個人内・個人間変動を評価するために、ICC を算出した。ICC の算出および評価方法は、3 章で示した方法と同様であるため、詳細はここでは省略する。

また、本章で算出した PCP 使用品目数と、第 3 章で測定した尿中パラベン類濃度との関係を検討するために、Spearman の順位相関検定を行った。この検定を行う際、対象者の尿中パラベン類濃度は、5 カ月間の平均値を各人の尿中濃度として用いた。

## 8.3 結果と考察

### 8.3.1 対象者の PCP 使用

男性および女性対象者の PCP 使用品目数を表 8.3.1 に、また、そのヒストグラムを図 8.3.1.1 および 8.3.1.2 に示す。PCP 使用品目数の中央値は、男性が 6 品目、女性が 19 品目となり、女性の方が有意に多く使用していた (Mann-Whitney の U 検定、 $p < 0.01$ )。また、PCP のカテゴリー別に見ると、使用品目数に有意な違いが見られたカテゴリーは、保湿剤、スキンケア、日焼け止め、メイクアップ、香水であった。一方、バス用品や口腔ケアなどの衛生用品の使用品目数に差は見られなかった。

保湿剤やスキンケアが有意に女性の方が多かった理由として、本調査の実施時期が、男性は夏場 (5-9 月) だったが、女性は冬から夏 (2-6 月) と、夏に比べて乾燥する季節を含んでいたために、使用する製品が増えたことも考えられる。しかしながら、この品目数は、



男性は5カ月間の平均値（n=10）、女性は1回の質問票調査から得られた使用品目数のデータ（n=9）であり、単純な比較はできないことに注意が必要である。

表 8.3.1 PCP 使用品目数（単位は“品目”）

		中央値	最小値	最大値	p*
PCP 使用品目数	男性	6	3	11	< 0.01
	女性	19	9	25	
ーバス用品	男性	4	2	5	0.24
	女性	5	0	5	
ー口腔ケア	男性	1	1	2	0.14
	女性	1	0	2	
ー整髪料	男性	0.2	0	1	0.27
	女性	0	0	1	
ー医薬部外品	男性	0	0	0.2	0.23
	女性	0	0	1	
ー保湿剤	男性	0	0	1	< 0.01
	女性	2	0	3	
ースキンケア	男性	0	0	2	0.025
	女性	2	0	3	
ー制汗剤	男性	0	0	1	1.0
	女性	0	0	1	
ー日焼け止め	男性	0	0	0.2	0.013
	女性	1	0	1	
ーメイクアップ	男性	0	0	0	< 0.01
	女性	6	0	7	
ー香水	男性	0	0	0	< 0.01
	女性	1	0	1	

\* Mann-Whitney U 検定（男女の使用品目数を比較、p<0.05 で有意差有り）

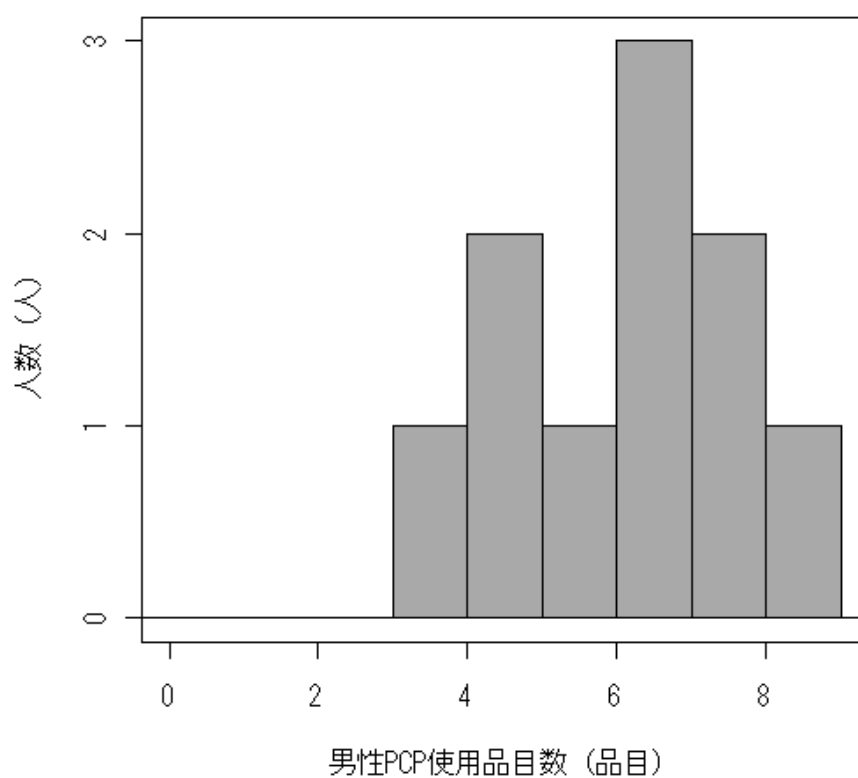


図 8.3.1.1 男性 PCP 使用品目数のヒストグラム (n=10)

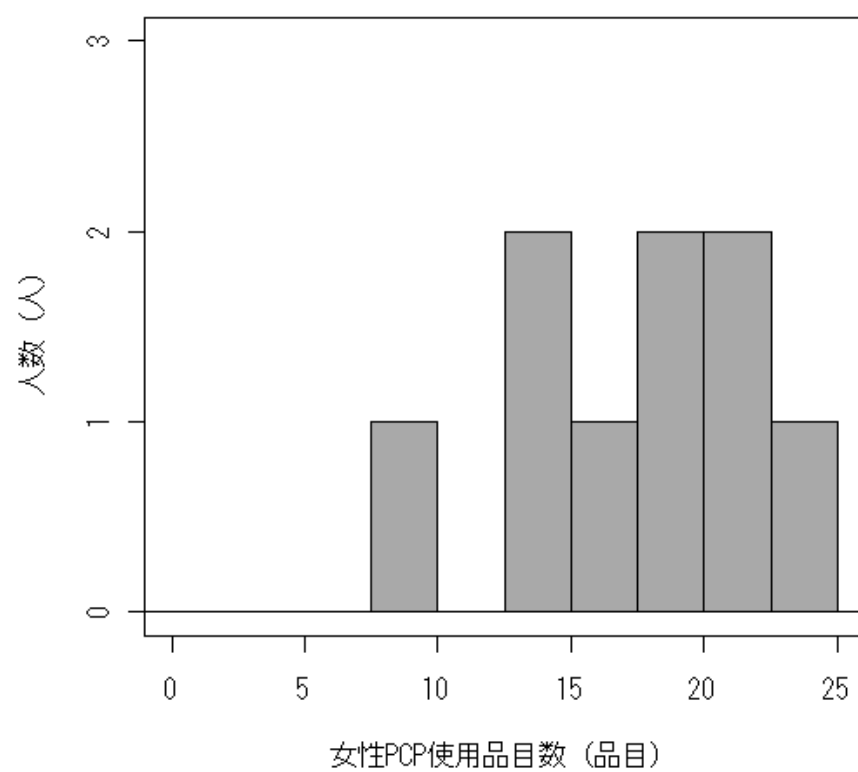


図 8.3.1.2 女性 PCP 使用品目数のヒストグラム (n=9)

### 8.3.2 男性 PCP 使用品目数の個人内・個人間変動

10名の個人ごとのPCP使用品目数の平均値と標準偏差から、個人内変動を変動係数として求めたところ、平均値は7.3%であった。一方、個人間変動を変動係数として求めたところ、平均値は30%であった。また、一元配置分散分析より得られた個人内・個人間分散値より求めたICCは、0.87(95%信頼区間0.73-0.96)と算出された。この結果は、Rosner(2010)の評価基準に従うと、“Excellent reproducibility”(ICC  $\geq 0.75$ )に該当し、PCP使用品目数は個人内変動よりも個人間変動の方が大きいことが定量的に示された。

図8.3.2に、月別の各個人のPCP使用品目数の推移を示す。この図を見ても、個人内では使用品目数がほとんど変化していない様子を読み取れる。PCPの使用は、個人の習慣や嗜好が大きく影響すると推測され、そのために個人ごとに使用品目数が異なること、また、個人内では比較的固定していることが、大きな値のICCからも確認できた。

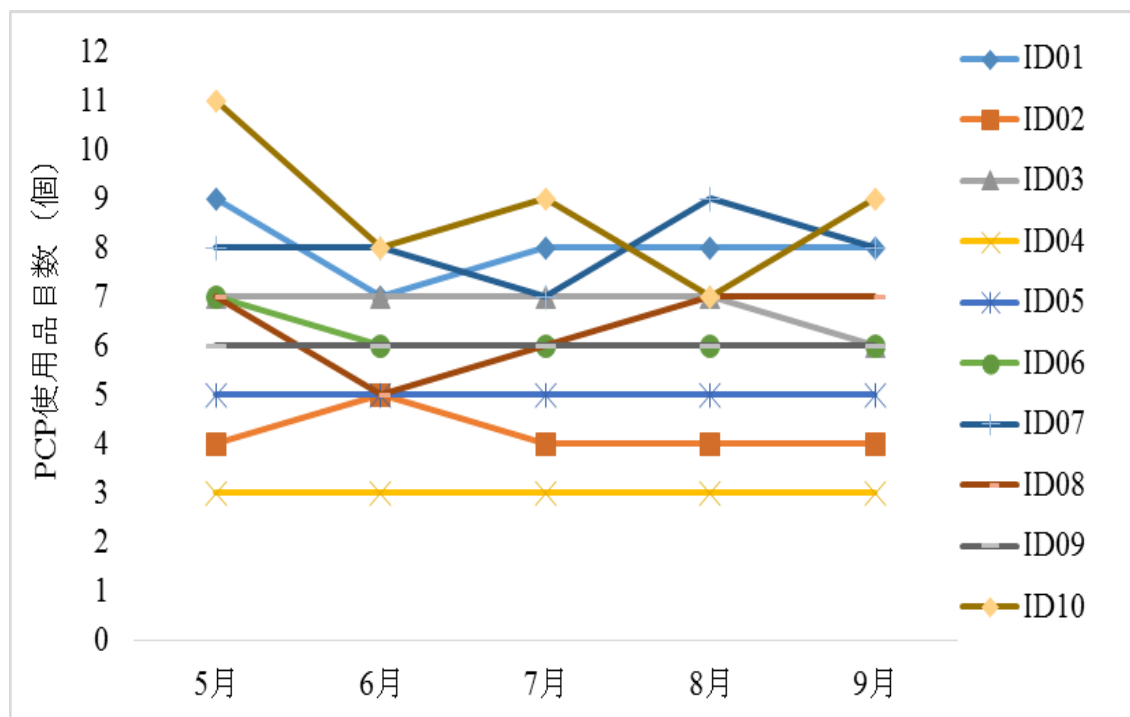


図 8.3.2 男性対象者の PCP 使用品目数の推移

### 8.3.3 PCP 使用品目数と尿中パラベン類濃度との関係

対象者のPCP使用品目数と尿中パラベン類濃度との関係を検討するために、男性は5カ月間の平均PCP使用品目数と平均尿中パラベン類濃度、女性は1回の調査から得られたPCP使用品目数と5カ月間の平均尿中濃度を用いて、Spearmanの順位相関検定を行った。その結果、男女のPCP使用品目数といずれの尿中パラベン類濃度との間にも有意な関係は見られなかった(表8.3.3.1、図8.3.3.1-8.3.3.8)。

表 8.3.3.1 男女の PCP 使用品目数と尿中パラベン類濃度との関係

	尿中 MP 濃度	尿中 EP 濃度	尿中 PP 濃度	尿中 BP 濃度
男性 PCP 使用品目数 (n=10)	0.63	0.085	-0.49	-0.23
女性 PCP 使用品目数 (n=9)	-0.033	0.33	0.017	0.45

\* 表中の数値は Spearman の順位相関係数

もし PCP がパラベン類の主要な曝露源であるとすれば、PCP の使用品目数と尿中パラベン類濃度との間には、有意な正の相関が見られると予想したが、今回得られた結果は予想とは異なった。この原因として、今回の調査において曝露指標に用いた PCP 使用品目数は、単純に対象者が使用した PCP の品目数をそのまま使用したパラメータであり、実際の PCP 使用量を反映できていないこと、また使用製品にパラベン類が含まれているか否かは考慮していないことを指摘しなければならない。後者は、パラベン類の製品表示義務が存在しないので、製品表示の有無でパラベン類の含有の有無を分類することは不可能であったためである。このように本調査で用いた曝露指標が、実際のパラベン類曝露量を反映していないことを、尿中パラベン類排泄濃度と曝露指標との間に関連が見られなかった原因の一つとして考慮しなければならない。また本研究では、測定方法の困難さからパラベン類の代謝産物であるパラヒドロキシ安息香酸 (PHBA) を測定していない。本研究で示した尿中排泄濃度は、PHBA 濃度を加味できていないため、実際の曝露量を反映しきれていないことも考慮する必要がある。

しかし、Soni et al. (2005) の見解と異なり、PCP 以外のパラベン類含有製品が曝露源として占める割合が大きい可能性があることも考える必要があるのかもしれない。パラベン類は PCP 以外にも、医薬品（栄養ドリンクのような医薬部外品も含む）や食品（調味料）にも添加されていることが知られている (Soni et al., 2005)。Ishiwata et al. (2001) は、日本に流通する調味料中のパラベン類濃度を測定した結果、パラベン類の使用が許可されている調味料中 50% の製品からパラベン類が検出されたと報告した。また、牧野ら (1997) は、国内に流通する栄養ドリンク 19 製品中のパラベン類の濃度を測定した結果、BP の検出率が 95% と最も高かったことを報告している。平均濃度も 0.0042% (42 ppm) と、PCP 中のパラベン類濃度 (Jan-ES et al., 2016) に匹敵する濃度であった。本調査の男性対象者において、8.3.2 節で示したように、5 カ月間の PCP 使用品目数は安定的であるにもかかわらず、尿中 BP 濃度の上昇が散発的に見られた (図 3.3.3.3、3.3.3.4)。このことは、尿中 BP 濃度の月別推移 (図 3.3.3.4) と PCP 使用品目数の月別推移 (図 8.3.2) のグラフを照らし合わせると、尿中 BP 濃度の上昇と PCP 使用品目数の推移が一致していないことから読み取れる (濃度上昇が散発的に見られた 3 人の対象者のうち、1 名は尿中濃度が上昇した月と隣接する月

で製造会社が異なった PCP を使用していたが、残る 2 名は濃度上昇が見られた月の前後で使用する PCP に変化は見られなかった)。これは、尿中 BP 濃度の上昇について、PCP 由来ではなく他の曝露源からの一時的な曝露が反映された可能性が考えられる。

今後、パラベン類曝露源に関する知見（どの製品がパラベン類の曝露源であるか、パラベン類塗布量（使用量）がどの程度、尿中濃度の変動を説明できるか）を得るために、詳細なパラベン類含有製品（食品）に関する調査が求められる。例えば、既往報告（Soni et al., 2005）に基づき、曝露源を PCP、医薬（部外）品および食品と仮定し、1) PCP、医薬（部外）品（点眼剤、軟膏、栄養ドリンクなど）およびパラベン類の使用が認められている食品（しょうゆ、果実ソース、酢、清涼飲料水およびシロップ、果実及び果菜の表皮）の使用量に関する質問票調査および製品中濃度の測定から、使用 PCP、医薬（部外）品および摂取した食品中のパラベン類濃度を算出し、2) 1)の濃度測定結果に基づく 1 日のパラベン類曝露総量を算出し、3) 1 日のパラベン類曝露総量と代謝産物である PHBA を含めた尿中排泄量（尿中濃度）との相関関係を検討した結果から、使用した PCP、医薬品および摂取した食品中のパラベン類濃度と尿中排泄量との間には高度に有意な相関関係が見られれば、その製品（食品）が曝露源として考えられる。以上のような調査から得られた知見は、パラベン類のリスク管理の一助となると考える。

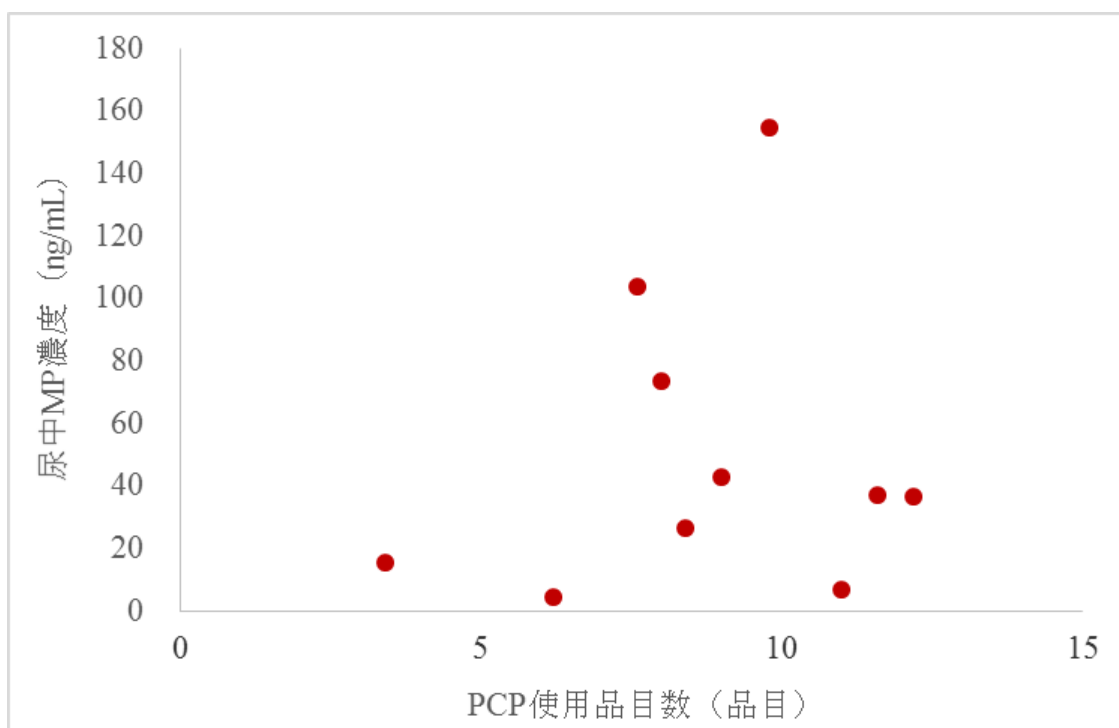


図 8.3.3.1 男性 PCP 使用品目数と尿中 MP 濃度（尿中濃度は尿比重補正值、n=10）

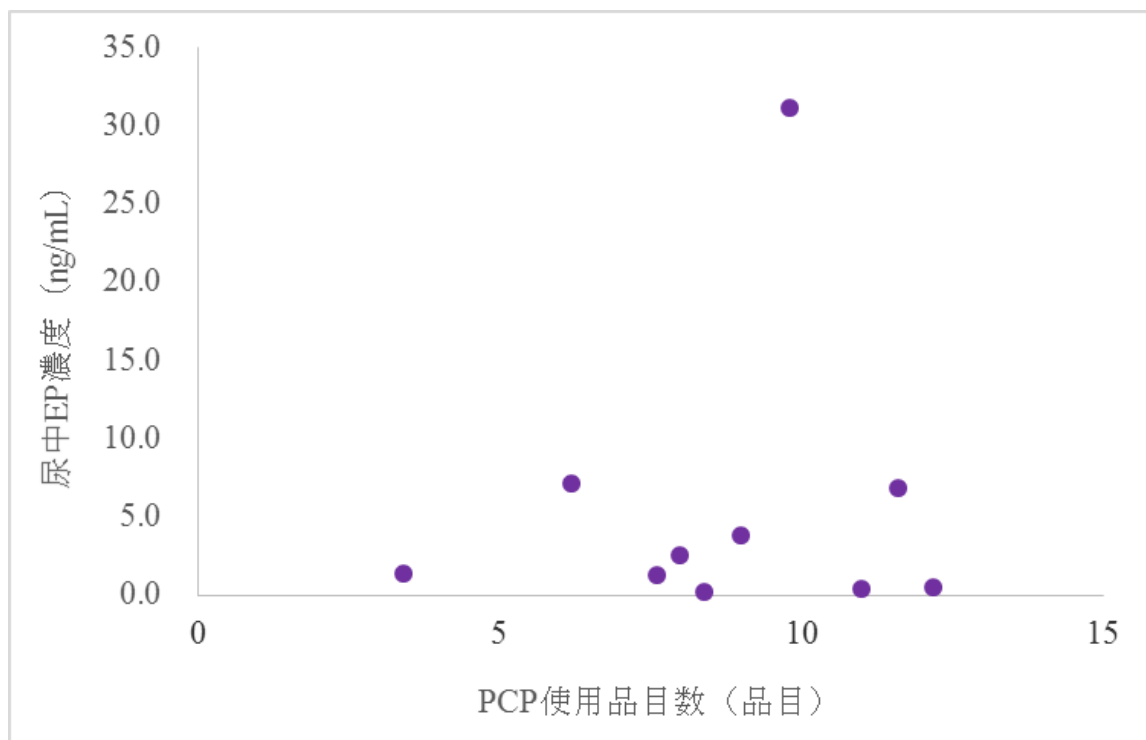


図 8.3.3.2 男性 PCP 使用品目数と尿中 EP 濃度（尿中濃度は尿比重補正值、n=10）

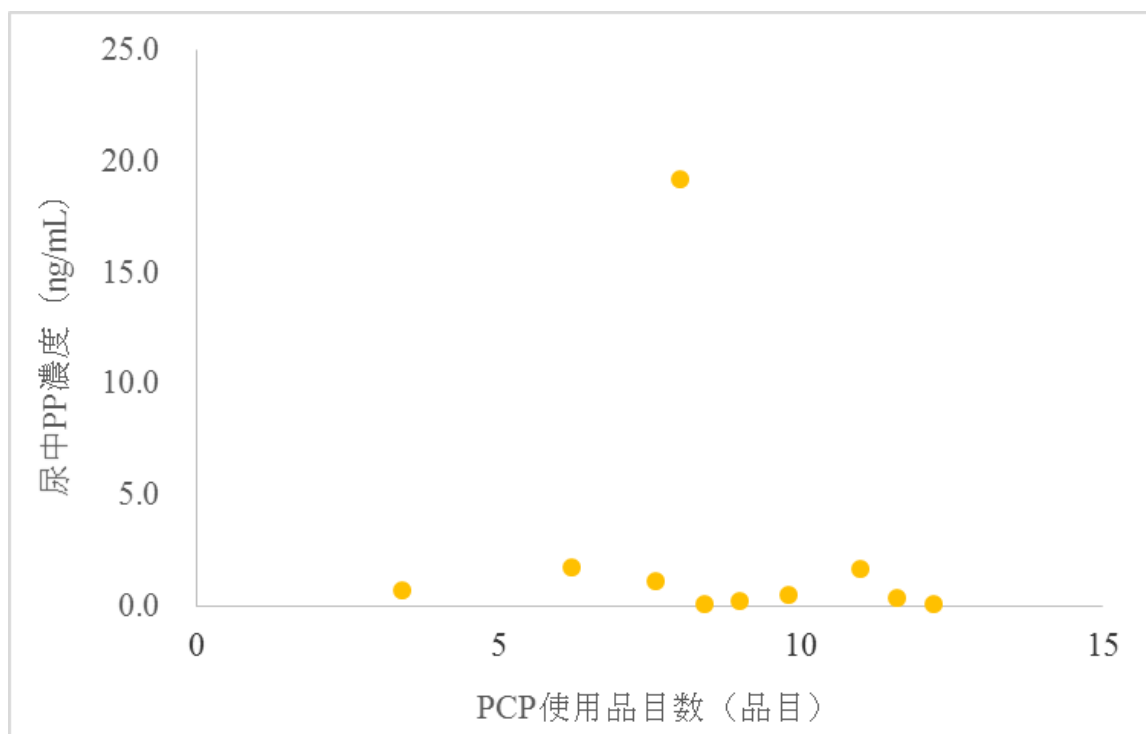


図 8.3.3.3 男性 PCP 使用品目数と尿中 PP 濃度（尿中濃度は尿比重補正值、n=10）

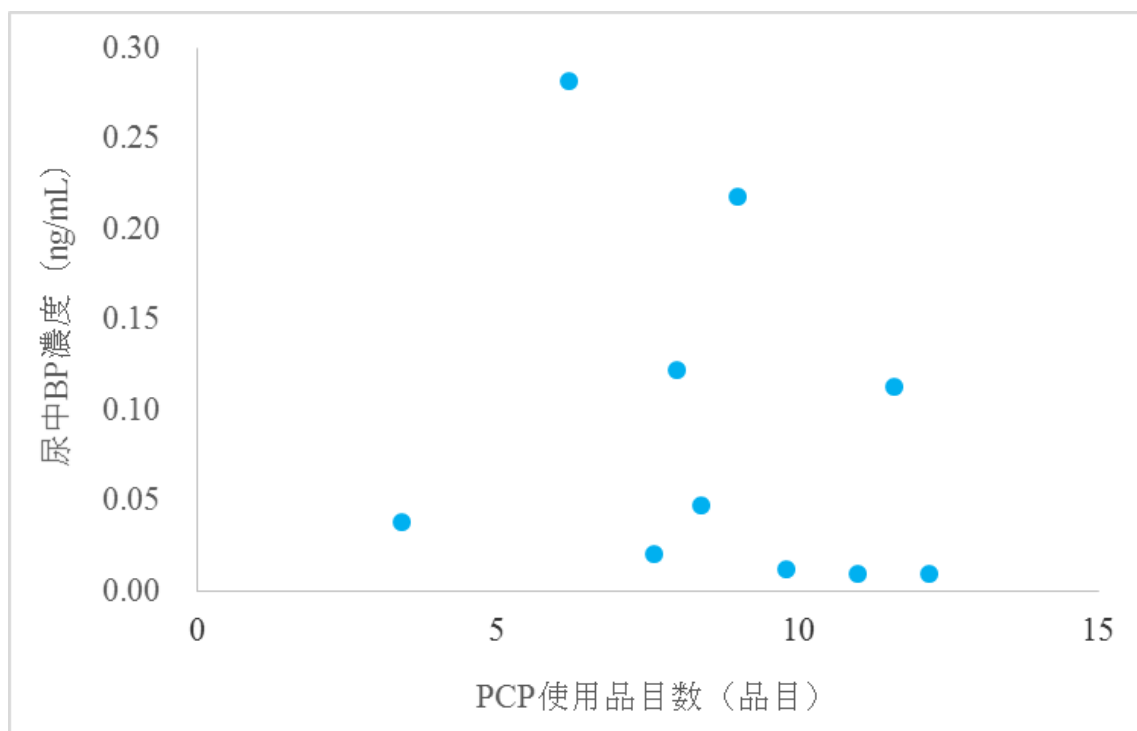


図 8.3.3.4 男性 PCP 使用品目数と尿中 BP 濃度（尿中濃度は尿比重補正值、n=10）

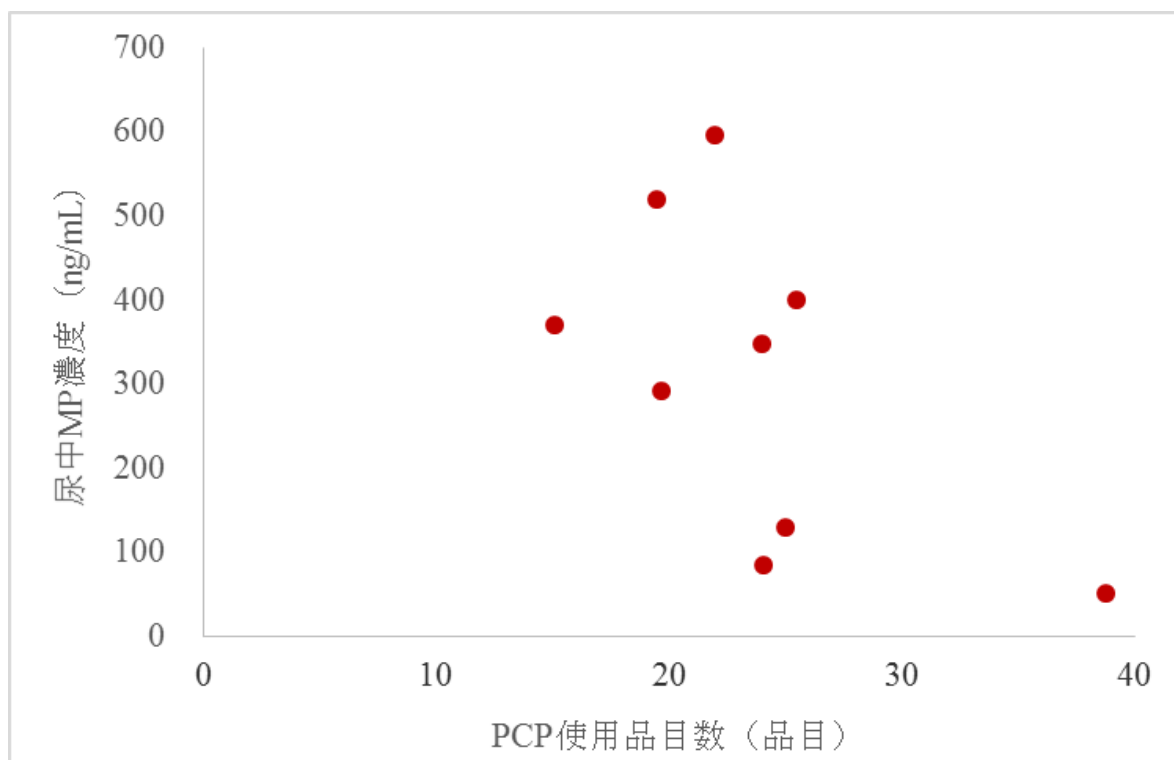


図 8.3.3.5 女性 PCP 使用品目数と尿中 MP 濃度（尿中濃度は尿比重補正值、n=9）

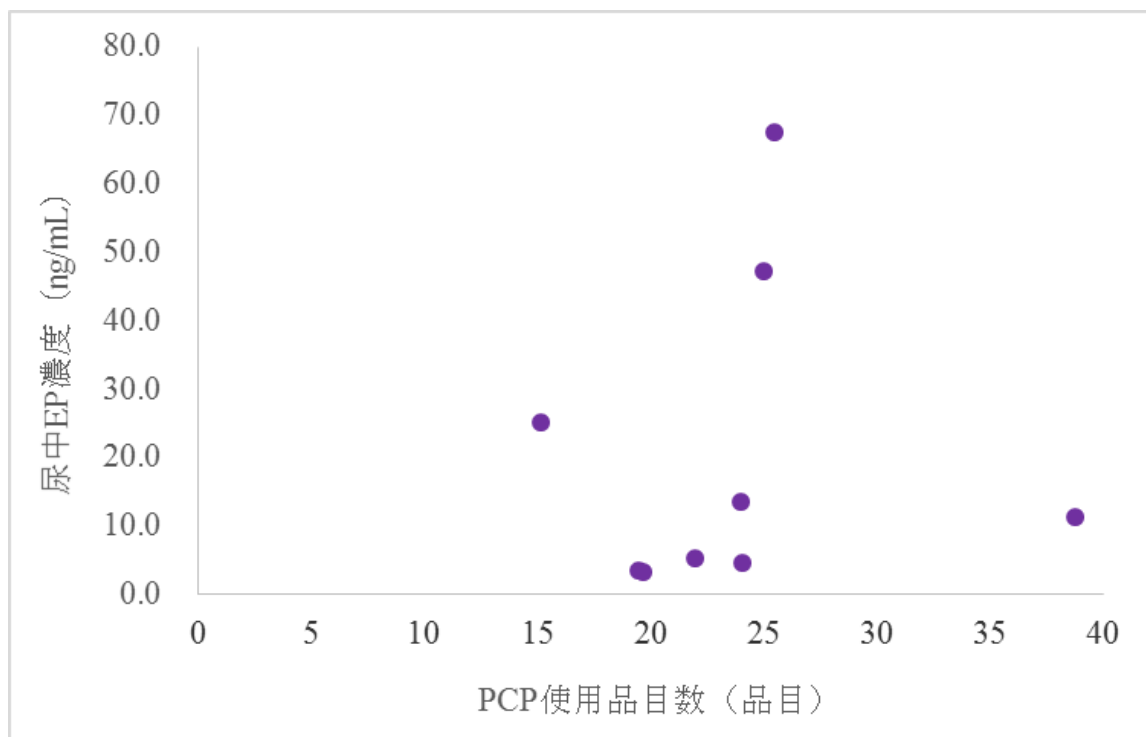


図 8.3.3.6 女性 PCP 使用品目数と尿中 EP 濃度 (尿中濃度は尿比重補正值、n=9)

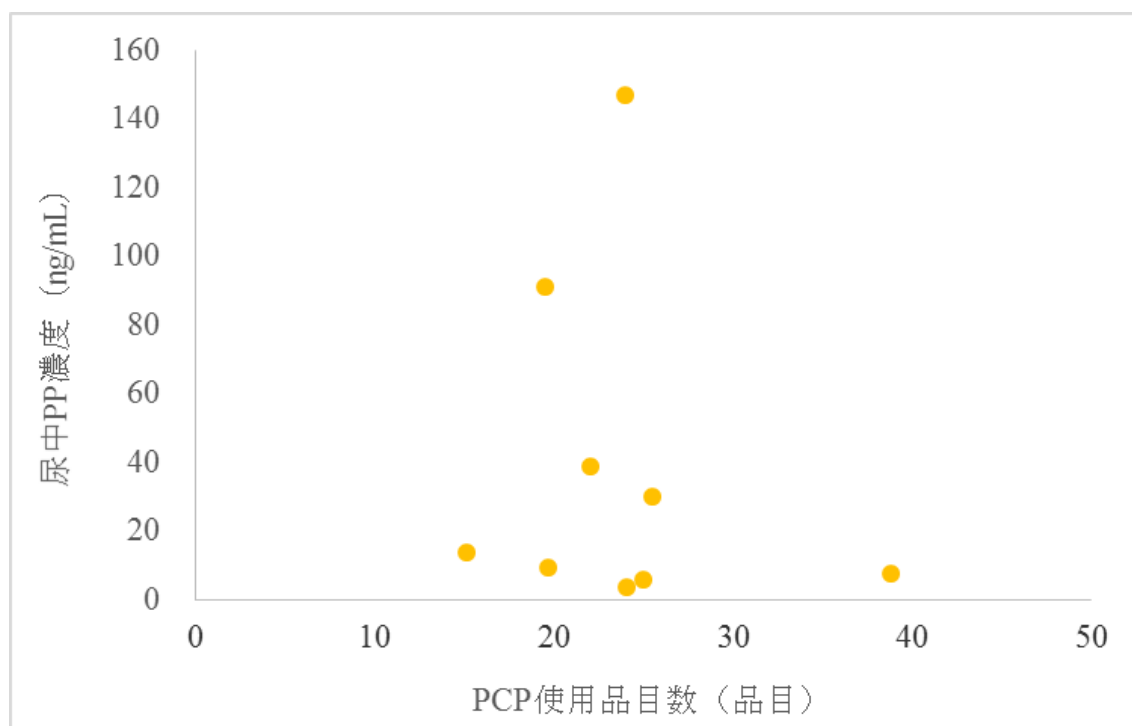


図 8.3.3.7 女性 PCP 使用品目数と尿中 PP 濃度 (尿中濃度は尿比重補正值、n=9)



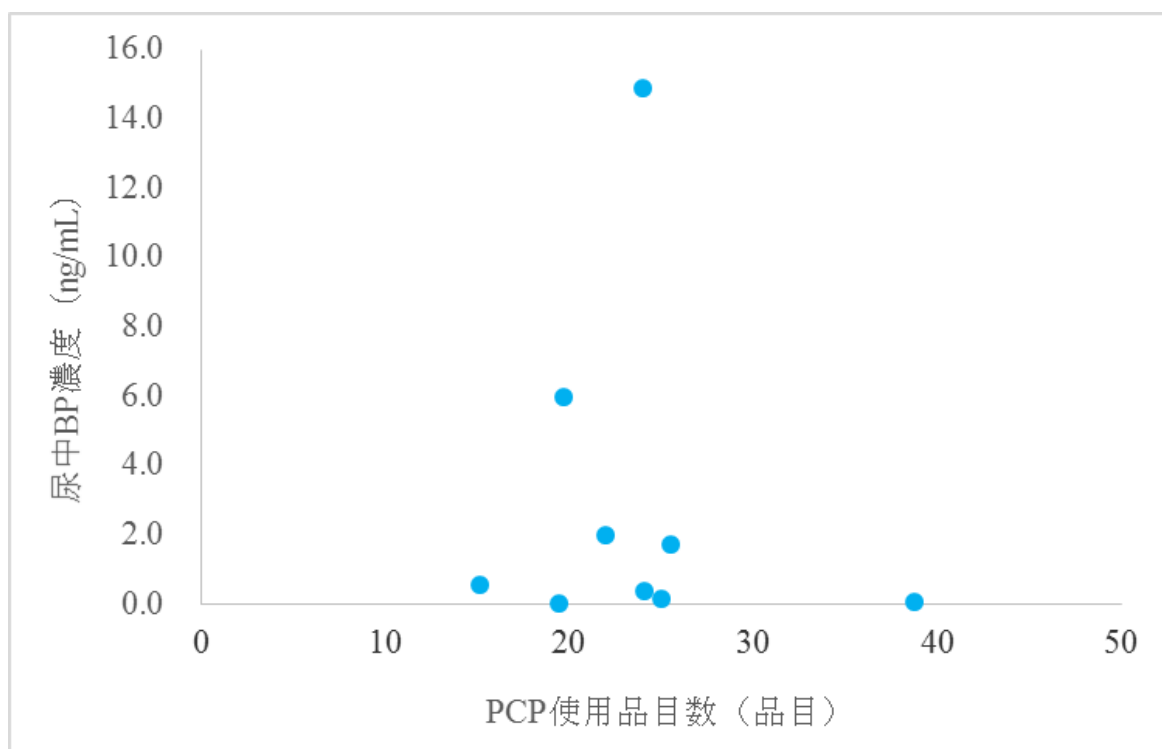


図 8.3.3.8 女性 PCP 使用品目数と尿中 BP 濃度（尿中濃度は尿比重補正值、n=9）

#### 8.4 まとめ

本章では、3 章の対象者に行った PCP 使用状況に関する質問票調査、および PCP 使用品目数と尿中パラベン類濃度との関係について、統計解析を行って検討した。その結果、PCP の使用品目数は、男性で 6 品目、女性で 19 品目であり、男性に比べて女性の方が多くの種類の PCP を使用していた。PCP 使用品目数と尿中濃度との間には、男女ともに有意な相関関係は見られず、パラベン類の主要な曝露源が PCP であるという結論は得られなかった。

今後、パラベン類曝露のリスク管理を行う上で必要な曝露源に関する知見を得るために、PCP や食品摂取からの曝露量を定量的に評価し、代謝産物である PHBA を含めた尿中排泄量との関係を検討することが求められる。

## 第 9 章

### 結論および今後の展望

## 第9章 結論および今後の展望

本研究では、パラベン類曝露と生殖可能年齢にある男女の生殖機能との関連を調査することを目的とした。この調査の結果、女性の生殖機能指標として用いた月経周期と尿中パラベン類濃度との間に負の関連が見られたので、この知見をもとに、パラベン類曝露によりヒト妊孕力がどの程度低下するかを定量的に評価した。さらに、既往研究で主なパラベン類の曝露源と報告されている PCP の使用に関する調査も行い、日本人のパラベン類曝露と影響の双方に関して調査を行った。

パラベン類曝露とヒト生殖機能との関連を検討する前に、パラベン類の曝露指標として用いるスポット尿中濃度の適切性を検討した。その結果、男女ともに、スポット尿中パラベン類濃度は、個人の長期曝露をおおむね反映していると考えられたが、より正確に尿中濃度から個人の曝露を知るためには複数回のサンプリングから得られた尿中濃度を用いる必要があると考えられた。

動物実験の結果からパラベン類曝露による男性生殖機能への影響が懸念されているが、疫学調査の報告数は極めて少ない。本研究では、42 人の不妊検査に訪れた男性の精液指標と尿中パラベン類濃度との関連を検討したが、有意な負の関連は見られなかった。この結果から、本研究対象者のパラベン類曝露レベルでは精液指標に影響がないと考えられる。しかし今回は予備的調査であり、サンプルサイズが小さいことから統計学的な検出力が弱かったために検出できなかった可能性も考えられる。今後さらに調査を積み重ねたうえで、パラベン類曝露と男性生殖機能との関連に関する議論が望まれる。

次に、尿中パラベン類濃度と女性生殖機能指標との関連を検討することとした。女性生殖機能指標として月経周期を用いることとしたが、日本人の月経周期に関する情報が十分ではなかったため、先に月経周期に関する基礎的調査を行った。その結果、180 人の女子大学生の平均月経周期長は  $34.2 \pm 10.5$  日であった（5 カ月間の調査結果）。また、月経周期の変動要因として、年齢および月経痛の有無があるという結果が得られた。しかし、月経周期に関するデータの算出方法の定義が曖昧であるなど、日本人の月経周期に関する情報はまだ十分とは言えない。月経周期に関する定義を明確にしたうえで、大規模調査等を通じて生殖可能年齢にある女性の月経周期長に関する情報を収集することが求められる。

月経周期に関する検討を踏まえて、女子大学生 128 人を対象に、女性生殖機能指標である月経周期と尿中パラベン類濃度との関連について、ロジスティック回帰分析を用いて検討した。その結果、本対象者において、月経周期長と尿中 BP 濃度および ETP との間には有意な負の関連が見られた。月経周期とパラベン類曝露との関連を検討した研究は、本研究が初めてであり、本結果はパラベン類曝露のヒトに対する健康ハザードを示唆するものと考えられた。今後、月経周期との関連を検討する研究を積み重ねるとともに、パラベン類曝露による月経周期の変動メカニズムの解明につながる動物実験等の調査が求められる。

パラベン類曝露と月経周期長との間に負の関連が見られたことから、月経周期長と FR と

の関連を検討した既往報告を用いて月経周期長と FR の回帰式を求め、第 6 章における月経周期の中程度群の FR に対する短周期群の FR の割合から、FR の低下率を推計した。その結果、毎月の受胎確率が約 18%低下する可能性が見出され、パラベン類の持つ健康ハザードの大きさを定量的に評価できた。今後、パラベン類曝露による女性生殖機能への影響メカニズムの解明に向けた調査が行われることが望まれる。また以上の結果は、日本人の一般的なパラベン類曝露レベルでもパラベン類曝露低減の必要性を示唆する重要な知見である。

最後に、パラベン類曝露源に関する知見を得ることを目的に、主要な曝露源とされるパーソナルケア製品 (PCP) の使用調査、および尿中パラベン類濃度と使用との関係に関する調査を行った。その結果、男性より女性の方が、有意に PCP 使用品目数が多かった。また、尿中パラベン類濃度と PCP 使用品目数との関係について相関検定を行ったところ有意な正の関連は見られず、PCP が主要な曝露源であるという結論は得られなかった。今後、パラベン類の曝露低減に向けた曝露源に関する知見を得るために、PCP 使用および食品摂取由来の曝露量とパラベン類の代謝産物を含めた尿中排泄量との関係を検討することが求められる。

環境化学物質曝露とヒト生殖機能との関連に関する研究は、急務とされながらも少ないのが現状である。研究が少ない要因は様々あるが、その一つに女性側の影響指標が定まらない点が挙げられる。本研究では、月経周期を女性の生殖機能指標 (影響指標) として用いたが、女性には男性生殖指標である精液指標のように確立した指標はない。既往研究では、卵巣予備能 (月経 3 日目の血中 FSH 濃度、胞状卵胞数、卵巣容積) や、新たな指標として抗ミュラー管ホルモン (AMH) 濃度の利用も考えられている。現在進められている本研究対象者の追跡調査から、これらの指標と受胎待ち時間との関連を検討することで、適切な女性生殖機能指標の提案につながり、今後の環境化学物質曝露による女性生殖機能への影響評価に必ずや役立つと考える。

本研究では、細胞実験や動物実験の結果から、ヒト生殖機能への影響が懸念されるパラベン類曝露を研究テーマに取り上げた。しかし PCP を例に挙げても、ベンゾフェノンなど、妊孕力への影響評価が不十分なエストロゲン様物質は多数使用されている。本研究で得られた結果は、PCP 中の他のエストロゲン様物質曝露による影響、あるいはそれらの複合的な曝露による影響が反映された可能性も考えられる。現在研究が進められているヒト生体試料の一斉分析法を用いることで、包括的なエストロゲン様物質曝露によるヒト生殖機能への影響評価が可能になると考えられる。

本研究全体を通して得られた結果は、日本人の一般的なパラベン類曝露レベルでも、生殖機能に対してハザードとなる可能性があり、パラベン類曝露低減の必要性を示唆するものである。本研究で提案した曝露源に関する調査の結果は、将来行われるであろうリスク管理に役立つと期待される。

## 謝辞

はじめに、5年間研究というものを一から熱心にご指導頂いた東洋大学生命科学部の吉永淳先生に深謝いたします。また、指導教員としてお忙しい中お時間を割いて頂き、研究生活に至るまでご助言を下さった環境システム学専攻の吉田好邦先生、副査として貴重なご意見を頂きました、環境システム学専攻の多部田茂先生、布浦鉄兵先生、東京大学大学院医学系研究科人類生態学教室の梅崎昌裕先生に厚く御礼申し上げます。

東京医療保健大学東が丘・立川看護学部の今井秀樹先生には、月経周期や尿などのサンプリング、対象者のリクルートにご協力頂き、大変感謝しております。ありがとうございました。研究参加者の方々、本研究のサンプリング時にご協力頂いた、同大学の小宇田智子先生にも御礼申し上げます。サンプリングから月経周期の解析方法を含む統計解析について、幅広くご指導くださいました東京大学大学院医学系研究科人類生態学教室の小西祥子先生に深く御礼申し上げます。

また、精液指標や生活習慣に関するデータ、および尿サンプル使用を許可して下さり、投稿論文等の作成の際には貴重なご助言を下さったみずもとレディースクリニックの水本賀文先生、とくおかレディースクリニックの徳岡晋先生、環境健康システム学分野研究室卒業生の登島弘基さんに御礼申し上げます。

スポット尿中パラベン類濃度の適切性の検討において、サンプリングにご協力頂いた研究参加者の皆さまから、複数回にわたるご協力を賜りました。ありがとうございました。

尿中パラベン類濃度の測定にあたり、測定のいろはを教えて下さった、いであ(株)の吉兼光葉さん、測定に関する器具や装置を貸して下さり、分析方法の検討から測定結果の解釈まで指導して下さった、国立環境研究所の中島大介先生、米山美幸さん、曝露影響計測研究室の皆さま、白石寛明先生には大変お世話になりました。厚く御礼申し上げます。

最後に、節目の発表の場で貴重なアドバイスを下さった環境システム学専攻の先生方、ゼミにおいて多くのアドバイスやご指摘を下さった環境健康システム学分野研究室の皆さま、医学統計や研究生活に関して貴重なご助言を下さった群馬大学健康支援総合センター副センター長の竹内一夫先生、日本体育大学体育学部健康学科の野井真吾先生、研究生活をより充実したものにさせて下さった大島・大友研究室の皆さま、環境システム学専攻の皆さま、同期の仲間、そして、これまでの研究生活を支えてくれた家族に、心より感謝の意を表します。

本研究は、以上の皆さまのご協力によって完成いたしました。ありがとうございました。

2017年3月 西浜 柚季子

## 引用文献

- Andersen FA. Final amended report on the safety assessment of methylparaben, ethylparaben, propylparaben, isopropylparaben, butylparaben, isobutylparaben, and benzylparaben as used in cosmetic products. *International Journal of Toxicology*. 2008; 27: 1–82.
- Apostoli P, Bellini A, Porru S, Bisanti L. The effect of lead on male fertility: a time to pregnancy (TTP) study. *American Journal of Industrial Medicine*. 2000; 38(3): 310-5.
- Axmon A, Rylander L, Albin M, Hagmar L. Factors affecting time to pregnancy. *Human Reproduction*. 2006; 21(5): 1279-84.
- Baird DD, Wilcox AJ. Cigarette smoking associated with delayed conception. *JAMA*. 1985; 253(20): 2979-83.
- Barr L, Metaxas G, Harbach CA, Savoy LA, Darbre PD. Measurement of paraben concentrations in human breast tissue at serial locations across the breast from axilla to sternum. *Journal of Applied Toxicology*. 2012; 32(3): 219-32.
- Basketter DA, Scholes EW, Kimber I. The performance of the local lymph node assay with chemicals identified as contact allergens in the human maximization test. *Food and Chemical Toxicology*. 1994; 32(6): 543-7.
- Błądzka D, Gromadzińska J, Wąsowicz W. 2014. Parabens. From environmental studies to human health. *Environment International* 2014; 67: 27-42.
- Bonde JP, Hansen KS, Levine RJ. Fertility among Danish male welders. *Scandinavian Journal of Work, Environmental and Health*. 1990; 16(5): 315-22.
- Bretveld R, Kik S, Hooiveld M, van Rooij I, Zielhuis G, Roeleveld N. Time-to-pregnancy among male greenhouse workers. *Occupational Environmental and Medicine*. 2008; 65(3): 185-90.
- Buck Louis GM, Barr DB, Kannan K, Chen Z, Kim S, Sundaram R. Paternal exposures to environmental chemicals and time-to-pregnancy: overview of results from the LIFE study. *Andrology*. 2016; 4(4): 639-47.

- Buck Louis GM, Sundaram R, Sweeney AM, Schisterman EF, Maisog J, Kannan K. Urinary bisphenol A, phthalates, and couple fecundity: the Longitudinal Investigation of Fertility and the Environment (LIFE) Study. *Fertility and Sterility*. 2014; 101(5):1359-66.
- Bullen BA, Skrinar GS, Beitins IZ, von Mering G, Turnbull BA, McArthur JW. Induction of menstrual disorders by strenuous exercise in untrained women. *New England Journal of Medicine*. 1985; 312(21): 1349-53.
- Buttke DE, Sircar K, Martin C. Exposures to endocrine-disrupting chemicals and age of menarche in adolescent girls in NHANES (2003-2008). *Environmental Health Perspectives* 2012; 120: 1613-18.
- Calafat AM, Ye X, Wong LY, Bishop AM, Needham LL. Urinary concentrations of four parabens in the U.S. population: NHANES 2005-2006. *Environmental Health Perspectives*. 2010; 118: 679-85.
- Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek NE. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *BMJ*. 1992; 305(6854): 609-13.
- Castelain F, Castelain M. Parabens: a real hazard or a scare story? *European Journal of Dermatology*. 2012; 22(6): 723-7.
- Chiazze L Jr, Brayer FT, Macisco JJ Jr, Parker MP, Duffy BJ. The length and variability of the human menstrual cycle. *JAMA*. 1968; 203(6): 377-80.
- Chieh-Yuan T, C. -C. C, J. -S. Chen. A case-based reasoning system for PCB defect prediction. *Expert Systems with Applications*. 2005; 28(4): 813-22.
- Cooper GS, Sandler DP, Whelan EA, Smith KR. Association of physical and behavioral characteristics with menstrual cycle patterns in women age 29-31 years. *Epidemiology*. 1996; 7(6): 624-8.
- Cowan-Ellsberry C.E., Robison S.H. Refining aggregate exposure: example using parabens. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2009; 55(3): 321-9.

- Darbre PD, Aljarrah A, Miller WR, Coldham NG, Sauer MJ, Pope GS. Concentrations of parabens in human breast tumours. *Journal of Applied Toxicology*. 2004; 24(1): 5-13.
- de Cock J, Westveer K, Heederik D, te Velde E, van Kooij R. Time to pregnancy and occupational exposure to pesticides in fruit growers in The Netherlands. *Occupational and Environmental Medicine*. 1994; 51(10): 693-9.
- Den Hond E, Tournaye H, De Sutter P, Ombelet W, Baeyens W, Covaci A, Cox B, Nawrot TS, Van Larebeke N, D'Hooghe T. Human exposure to endocrine disrupting chemicals and fertility: A case-control study in male subfertility patients. *Environment International*. 2015; 84: 154-60.
- Dewalque L, Pirard C, Vandepaer S, Charlier C. Temporal variability of urinary concentrations of phthalate metabolites, parabens and benzophenone-3 in a Belgian adult population. *Environmental Research*. 2015; 142: 414-23.
- Duncan AM, Merz BE, Xu X, Nagel TC, Phipps WR, Kurzer MS. Soy isoflavones exert modest hormonal effects in premenopausal women. *Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*. 1999; 84(1): 192-7.
- Edru K., Steven D.H., Robert M.G. Jr. *Journal of toxicology and environmental health, part B: critical reviews*. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 2013; 16(5): 321-35.
- Ejaredar M, Nyanza EC, Ten Eycke K, Dewey D. Phthalate exposure and childrens neurodevelopment: A systematic review. *Environmental Research*. 2015; 142: 51-60.
- Ellison PT, Peacock NR, Lager C. Salivary progesterone and luteal function in two low-fertility populations of Northeast Zaire. *Human Biology*. 1986; 58(4): 473-83.
- Engel LS, Buckley JP, Yang G, Liao LM, Satagopan J, Calafat AM, Matthews CE, Cai Q, Ji BT, Cai H, Engel SM, Wolff MS, Rothman N, Zheng W, Xiang YB, Shu XO, Gao YT, Chow WH. Predictors and variability of repeat measurements of urinary phenols and parabens in a cohort of Shanghai women and men. *Environmental Health Perspectives*. 2014; 122(7): 733-40.
- Eskenazi B, Kidd SA, Marks AR, Slotter E, Block G, Wyrobek AJ. Antioxidant intake is associated with semen quality in healthy men. *Human Reproduction*. 2005; 20(4): 1006-12.



- Fenster L, Quale C, Waller K, Windham GC, Elkin EP, Benowitz N, et al. Caffeine consumption and menstrual function. *American Journal of Epidemiology*. 1999; 149(6): 550-7.
- Frederiksen H, Nielsen JK, Mørck TA, Hansen PW, Jensen JF, Nielsen O, Andersson AM, Knudsen LE. Urinary excretion of phthalate metabolites, phenols and parabens in rural and urban Danish mother-child pairs. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2013; 216(6): 772-83.
- Ganmaa D, Wang PY, Qin LQ, Hoshi K, Sato A. Is milk responsible for male reproductive disorders? *Medical Hypotheses*. 2001; 57(4): 510-4.
- Gill J. Women, alcohol and the menstrual cycle. *Alcohol*. 1997; 32(4): 435-41.
- Guidry VT, Longnecker MP, Aase H, Eggesbø M, Zeiner P, Reichborn-Kjennerud T, Knudsen GP, Bertelsen RJ, Ye X, Calafat AM, Engel SM. Measurement of Total and Free Urinary Phenol and Paraben Concentrations over the Course of Pregnancy: Assessing Reliability and Contamination of Specimens in the Norwegian Mother and Child Cohort Study. *Environmental Health Perspectives*. 2015; 123(7): 705-11.
- Habito RC, Montalto J, Leslie E, Ball MJ. Effects of replacing meat with soyabean in the diet on sex hormone concentrations in healthy adult males. *British Journal of Nutrition*. 2000; 84: 557-63.
- Harlow SD, Campbell B, Lin X, Raz J. Ethnic differences in the length of the menstrual cycle during the postmenarcheal period. *American Journal of Epidemiology*. 1997; 146(7): 572-80.
- Harlow SD, Matanoski GM. The association between weight, physical activity, and stress and variation in the length of the menstrual cycle. *American Journal of Epidemiology*. 1991; 133(1): 38-49.
- Hartmann S, Lacorn M, Steinhart H. Natural occurrence of steroid hormones in food. *Food Chemistry*. 1998; 62: 7-20.
- Hatch EE, Bracken MB. Association of delayed conception with caffeine consumption. *American Journal of Epidemiology*. 1993; 138(12): 1082-92.

Hawkins SM, Matzuk MM. The menstrual cycle: basic biology. *Annals of the New York Academy Sciences*. 2008; 1135: 10-8.

Hornsby PP, Wilcox AJ, Weinberg CR. Cigarette smoking and disturbance of menstrual function. *Epidemiology*. 1998; 9(2): 193-8.

Hossaini A, Larsen JJ, Larsen JC. Lack of oestrogenic effects of food preservatives (parabens) in uterotrophic assays. *Food and Chemical Toxicology*. 2000; 38(4): 319-23.

IARC, Working group on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Tobacco smoke and involuntary smoking, 83, Lyon, France: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 83, 2004.  
<http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol83/mono83.pdf>

Imai K, Yoshinaga J, Yoshikane M, Shiraishi H, Mieno MN, Yoshiike M et al., Pyrethroid insecticide exposure and semen quality of young Japanese men, *Reproductive Toxicology*. 2014; 43: 38-44.

Ishiwata H, Nishijima M, Fukasawa Y. Estimation of preservative concentrations in foods and their daily intake based on official inspection results in Japan in fiscal year 1998. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*. 2001; 42(6): 404-12.

Isshiki M, Ohta H, Tamura H. Coffee reduces SULT1E1 expression in human colon carcinoma Caco-2 cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2013; 36(2): 299-304.

Iwamoto T, Nozawa S, Yoshiike M, Namiki M, Koh E, Kanaya J et al., Semen quality of fertile Japanese men: a cross-sectional population-based study of 792 men, *BMJ Open*. 2013; 3 (doi: 10.1136/bmjopen-2012-002223).

Jan-ES, Santaladchaiyakit Y, Burakham R. Ultrasound-Assisted Surfactant-Enhanced Emulsification Micro-Extraction Followed by HPLC for Determination of Preservatives in Water, Beverages and Personal Care Products. *Journal of Chromatographic Science*. 2016. [Epub ahead of print]

Janjua NR, Frederiksen H, Skakkebaek N, Wulf HC, Andersson AM. Urinary excretion of phthalates and paraben after repeated whole-body topical application in humans. *International Journal of Andrology*. 2008; 31: 118-30.

- Jensen TK, Swan SH, Skakkebaek NE, Rasmussen S, Jørgensen N. Caffeine intake and semen quality in a population of 2,554 young Danish men. *American Journal of Epidemiology*. 2010; 171(8): 883-91.
- Kanda Y. Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZR' for medical statistics. *Bone Marrow Transplant* (Epub: 2012.12.3), doi: 10.1038/bmt.2012.244.
- Kang KS, Che JH, Ryu DY, Kim TW, Li GX, Lee YS, Decreased sperm number and motile activity on the F1 offspring maternally exposed to butyl p-hydroxybenzoic acid (butyl paraben), *Journal of Veterinary Medical Science*. 2002; 64: 227-35.
- Kang S, Kim S, Park J, Kim HJ, Lee J, Choi G, Choi S, Kim S, Kim SY, Moon HB, Kim S, Kho YL, Choi K. Urinary paraben concentrations among pregnant women and their matching newborn infants of Korea, and the association with oxidative stress biomarkers. *Science of the Total Environment*. 2013; 461-462: 214-21.
- Kawaguchi M, Irie K, Morohoshi K, Watanabe G, Taya K, Morita M, Kondo Y, Imai H, Himi T. Maternal isobutyl-paraben exposure alters anxiety and passive avoidance test performance in adult male rats. *Neuroscience Research*. 2009a; 65(2): 136-40.
- Kawaguchi M, Morohoshi K, Masuda J, Watanabe G, Morita M, Imai H, Taya K, Himi T. Maternal isobutyl-paraben exposure decreases the plasma corticosterone level in dams and sensitivity to estrogen in female offspring rats. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2009b; 71(8): 1027-33.
- Kidd SA, Eskenazi B, Wyrobek AJ. Effects of male age on semen quality and fertility: a review of the literature. *Fertility and Sterility*. 2001; 75(2): 237-48.
- Kolstad HA, Bisanti L, Roeleveld N, Baldi R, Bonde JP, Joffe M. Time to pregnancy among male workers of the reinforced plastics industry in Denmark, Italy and The Netherlands. *ASCLEPIOS. Scandinavian Journal of Work, Environmental and Health*. 2000; 26(4): 353-8.
- Kolstad HA, Bonde JP, Hjøllund NH, Jensen TK, Henriksen TB, Ernst E, Giwercman A, Skakkebaek NE, Olsen J. Menstrual cycle pattern and fertility: a prospective follow-up study of pregnancy and early embryonal loss in 295 couples who were planning their first pregnancy. *Fertility and Sterility*. 1999; 71(3): 490-6.

- Kotsopoulos J, Vitonis AF, Terry KL, De Vivo I, Cramer DW, Hankinson SE, Tworoger SS. Coffee intake, variants in genes involved in caffeine metabolism, and the risk of epithelial ovarian cancer. *Cancer Causes and Control*. 2009; 20(3): 335-44.
- Lemini C, Jaimez R, Avila ME, Franco Y, Larrea F, Lemus AE. In vivo and in vitro estrogen bioactivities of alkyl parabens. *Toxicology and Industrial Health*. 2003; 19(2-6): 69-79.
- Li Y, Lin H, Li Y, Cao J. Association between socio-psycho-behavioral factors and male semen quality: systematic review and meta-analyses. *Fertility and Sterility*. 2011; 95(1): 116-23.
- Liu Y, Gold EB, Lasley BL, Johnson WO. Factors affecting menstrual cycle characteristics. *American Journal of Epidemiology*. 2004; 160(2): 131-40.
- Lotti F, Corona G, Vitale P, Maseroli E, Rossi M, Fino MG, Maggi M. Current smoking is associated with lower seminal vesicles and ejaculate volume, despite higher testosterone levels, in male subjects of infertile couples. *Human Reproduction*. 2015; 30(3): 590-602.
- Lyngsø J, Ramlau-Hansen CH, Høyer BB, Støvring H, Bonde JP, Jönsson BA, Lindh CH, Pedersen HS, Ludwicki JK, Zvezdai V, Toft G. Menstrual cycle characteristics in fertile women from Greenland, Poland and Ukraine exposed to perfluorinated chemicals: a cross-sectional study. *Human Reproduction*. 2014; 29: 359-67.
- Ma WL, Wang L, Guo Y, Liu LY, Qi H, Zhu NZ, Gao CJ, Li YF, Kannan K. Urinary concentrations of parabens in Chinese young adults: implications for human exposure. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 2013; 65: 611-8.
- Marshall JC. Regulation of gonadotropin synthesis and secretion, in: L.J. DeGroot, J.L. Jameson (Eds.), *Endocrinology*, fifth ed., Elsevier, Philadelphia, PA, 2006, pp. 2687-91.
- Maruyama K, Oshima T, Ohyama K. Exposure to exogenous estrogen through intake of commercial milk produced from pregnant cows. *Pediatrics International*. 2010; 52(1): 33-8.
- Maskarinec G, Morimoto Y, Takata Y, Murphy SP, Stanczyk FZ. Alcohol and dietary fibre intakes affect circulating sex hormones among premenopausal women. *Public Health Nutrition*. 2006; 9(7): 875-81.

Masunaga S., Koga R., Nakai S. Exposure assessment of para-hydroxybenzoic acid esters (parabens) using their urinary metabolites as biomarkers. 5th SETAC World Congress (3-7, 8, 2008, Sydney Convention and Exhibition Centre, Sydney, Australia) 学会要旨

Matsumoto S, Nogami Y, Ohkuri S. Statistical studies on menstruation; a criticism on the definition of normal menstruation. *Gunma Journal of Medical Sciences*. 1962; 11: 294-318.

Meeker JD, Cantonwine DE, Rivera-González LO, Ferguson KK, Mukherjee B, Calafat AM, Ye X, Anzalota Del Toro LV, Crespo-Hernández N, Jiménez-Vélez B, Alshawabkeh AN, Cordero JF. Distribution, variability, and predictors of urinary concentrations of phenols and parabens among pregnant women in Puerto Rico. *Environmental Science and Technology*. 2013; 47(7): 3439-47.

Meeker JD, Yang T, Ye X, Calafat AM, Hauser R. Urinary concentrations of parabens and serum hormone levels, semen quality parameters, and sperm DNA damage. *Environmental Health Perspectives*. 2011; 119(2): 252-7.

Mendelson JH, Mello NK. Chronic alcohol effects on anterior pituitary and ovarian hormones in healthy women. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1988; 245(2): 407-12.

Mendola P, Buck GM, Sever LE, Zielezny M, Vena JE. 1997. Consumption of PCB-contaminated freshwater fish and shortened menstrual cycle length. *American Journal of Epidemiology* 1997; 146: 955-60.

Mumford SL, Steiner AZ, Pollack AZ, Perkins NJ, Filiberto AC, Albert PS, Mattison DR, Wactawski-Wende J, Schisterman EF. The utility of menstrual cycle length as an indicator of cumulative hormonal exposure. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. (Epub: 2012.7.26), doi: 10.1210/jc.2012-1350.

Mutsaerts MA, Groen H, Huiting HG, Kuchenbecker WK, Sauer PJ, Land JA, Stolk RP, Hoek A. The influence of maternal and paternal factors on time to pregnancy-a Dutch population-based birth-cohort study: the GECKO Drenthe study. *Human Reproduction*. 2012; 27(2): 583-93.

Nagata C, Inaba S, Kawakami N, Kakizoe T, Shimizu H. Inverse association of soyproduct intake with serum androgen and estrogen concentrations in Japanese men. *Nutrition and Cancer*. 2000; 36: 14-8.

- Nagata C, Takatsuka N, Inaba S, Kawakami N, Shimizu H. Effect of soymilk consumption on serum estrogen concentrations in premenopausal Japanese women. *Journal of the National Cancer Institute*. 1998; 90(23): 1830-5.
- Nagata C, Wada K, Nakamura K, Tamai Y, Tsuji M, Shimizu H. Associations of physical activity and diet with the onset of menopause in Japanese women. *Menopause*. 2012; 19(1): 75-81.
- Nakai K, Suzuki K, Oka T, Murata K, Sakamoto M, Okamura K, Hosokawa T, Sakai T, Nakamura T, Saito Y, Kurokawa N, Kameo S, Satoh H. The Tohoku Study of Child Development: A cohort study of effects of perinatal exposures to methylmercury and environmentally persistent organic pollutants on neurobehavioral development in Japanese children. *Tohoku Journal of Experimental Medicine*. 2004; 202(3): 227-37.
- Nishihama Y, Yoshinaga J, Iida A, Konishi S, Imai H, Yoneyama M, Nakajima D, Shiraishi H. Association between paraben exposure and menstrual cycle in female university students in Japan. *Reproductive Toxicology*. 2016; 63: 107-113.
- Nishihara T, Nishikawa J, Kanayama T, Dakeyama F, Saito K, Imagawa M, Takatori S, Kitagawa Y, Hori S, Utsumi H. Estrogenic Activities of 517 Chemicals by Yeast Two-Hybrid Assay. *Journal of Health Science* 2000; 46: 282-98.
- Oishi S. Effects of butyl paraben on the male reproductive system in mice. *Archives of Toxicology*. 2002a; 76(7): 423-9.
- Oishi S. Effects of butylparaben on the male reproductive system in rats. *Toxicology and Industrial Health*. 2001; 17(1): 31-9.
- Oishi S. Effects of propyl paraben on the male reproductive system. *Food and Chemical Toxicology*. 2002b; 40(12): 1807-13.
- Okubo T, Yokoyama Y, Kano K, Kano I. ER-dependent estrogenic activity of parabens assessed by proliferation of human breast cancer MCF-7 cells and expression of ER alpha and PR. *Food Chemical and Toxicology*. 2001; 39(12): 1225-32.

- Park CJ, Nah WH, Lee JE, Oh YS, Gye MC, Butyl paraben-induced changes in DNA methylation in rat epididymal spermatozoa, *Andrologia*. 2012; 44: 187-93.
- Peduzzi P, Concato J, Kemper E, Holford TR, Feinstein AR. A simulation study of the number of events per variable in logistic regression analysis. *Journal of Clinical Epidemiology*. 1996; 49(12): 1373-9.
- Philippat C, Wolff MS, Calafat AM, Ye X, Bausell R, Meadows M, Stone J, Slama R, Engel SM. Prenatal exposure to environmental phenols: concentrations in amniotic fluid and variability in urinary concentrations during pregnancy. *Environmental Health Perspectives*. 2013; 121(10): 1225-31.
- Pugazhendhi D, Pope GS, Darbre PD. Oestrogenic activity of p-hydroxybenzoic acid (common metabolite of paraben esters) and methylparaben in human breast cancer cell lines. *Journal of Applied Toxicology*. 2005; 25(4): 301-9.
- Rebar RW. "Normal physiology of the reproductive system." In *Endocrinology and Metabolism Continuing Education Program*, Washington, DC, American Association of Clinical Chemistry, 1982.
- Reichman ME, Judd JT, Longcope C, Schatzkin A, Clevidence BA, Nair PP, Campbell WS, Taylor PR. Effects of alcohol consumption on plasma and urinary hormone concentrations in premenopausal women. *Journal of the National Cancer Institute*. 1993; 85(9): 722-7.
- Rosner B. *Fundamentals of biostatistics* (7th Ed). Boston, Thomson-Brooks/Cole, 2010.
- Routledge EJ, Parker J, Odum J, Ashby J, Sumpter JP. Some alkyl hydroxy benzoate preservatives (parabens) are estrogenic. *Toxicology and Applied Pharmacology* 1998; 153: 12-9.
- Rowland AS, Baird DD, Long S, Wegienka G, Harlow SD, Alavanja M, Sandler DP. Influence of medical conditions and lifestyle factors on the menstrual cycle. *Epidemiology*. 2002; 13(6): 668-74.

- Santoro N, Lasley B, McConnell D, Allsworth J, Crawford S, Gold EB, Finkelstein JS, Greendale GA, Kelsey J, Korenman S, Luborsky JL, Matthews K, Midgley R, Powell L, Sabatine J, Schocken M, Sowers MF, Weiss G. Body size and ethnicity are associated with menstrual cycle alterations in women in the early menopausal transition: The Study of Women's Health across the Nation (SWAN) Daily Hormone Study. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2004; 89(6): 2622-31.
- Sarkaria JN, Busby EC, Tibbetts RS, Roos P, Taya Y, Karnitz LM, Abraham RT. Inhibition of ATM and ATR kinase activities by the radiosensitizing agent, caffeine. *Cancer Research*. 1999; 59(17): 4375-82.
- Schliep KC, Schisterman EF, Mumford SL, Pollack AZ, Zhang C, Ye A, Stanford JB, Hammoud AO, Porucznik CA, Wactawski-Wende J. Caffeinated beverage intake and reproductive hormones among premenopausal women in the BioCycle Study. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2012; 95(2): 488-97.
- Schliep KC, Zarek SM, Schisterman EF, Wactawski-Wende J, Trevisan M, Sjaarda LA, Perkins NJ, Mumford SL. Alcohol intake, reproductive hormones, and menstrual cycle function: a prospective cohort study. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2015; 102(4): 933-42.
- Sekhavat L, Moein MR. The effect of male body mass index on sperm parameters. *Aging Male*. 2010; 13(3): 155-8.
- Shah VP, Midha KK, Findlay JW, Hill HM, Hulse JD, McGilveray IJ, McKay G, Miller KJ, Patnaik RN, Powell ML, Tonelli A, Viswanathan CT, Yacobi A. Bioanalytical method validation--a revisit with a decade of progress. *Pharmaceutical Research*. 2000; 17: 1551-7.
- Sharma R, Harlev A, Agarwal A, Esteves SC. Cigarette Smoking and Semen Quality: A New Meta-analysis Examining the Effect of the 2010 World Health Organization Laboratory Methods for the Examination of Human Semen. *European Urology*. 2016 Apr 21. pii: S0302-2838(16)30069-0. doi: 10.1016/j.eururo.2016.04.010. [Epub ahead of print]
- Shirai S, Suzuki Y, Yoshinaga J, Shiraishi H, Mizumoto Y. Urinary excretion of parabens in pregnant Japanese women. *Reproductive Toxicology*. 2013; 35: 96-101.



- Small CM, Manatunga AK, Klein M, Feigelson HS, Dominguez CE, McChesney R, Marcus M. Menstrual cycle characteristics: associations with fertility and spontaneous abortion. *Epidemiology*. 2006; 17(1): 52-60.
- Smarr MM, Sundaram R, Honda M, Kannan K, Buck Louis GM. Urinary Concentrations of Parabens and Other Antimicrobial Chemicals and Their Association with Couples' Fecundity. *Environmental Health Perspectives*. 2016. [Epub ahead of print]
- Smith KW, Braun JM, Williams PL, Ehrlich S, Correia KF, Calafat AM, Ye X, Ford J, Keller M, Meeker JD, Hauser R. Predictors and variability of urinary paraben concentrations in men and women, including before and during pregnancy. *Environmental Health Perspectives*. 2012; 120(11): 1538-43.
- Smith KW, Souter I, Dimitriadis I, Ehrlich S, Williams PL, Calafat AM, Hauser R. Urinary paraben concentrations and ovarian aging among women from a fertility center. *Environmental Health Perspectives* 2013; 121: 1299-305.
- Soni MG, Carabin IG, Burdock GA. Safety assessment of esters of p-hydroxybenzoic acid (parabens). *Food and Chemical Toxicology* 2005; 43: 985-1015.
- Spinelli A, Figà-Talamanca I, Osborn J. Time to pregnancy and occupation in a group of Italian women. *International Journal of Epidemiology*. 1997; 26(3): 601-9.
- Symons JP, Sowers MF, Harlow SD. Relationship of body composition measures and menstrual cycle length. *Annals of Human Biology*. 1997; 24(2): 107-16.
- The European Commission, Annexes II of the EU cosmetics Regulation (EC) No 1223/2009, 2014. [http://ec.europa.eu/health/endocrine\\_disruptors/docs/cosmetic\\_1223\\_2009\\_regulation\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/health/endocrine_disruptors/docs/cosmetic_1223_2009_regulation_en.pdf)
- Toppari J, Larsen JC, Christiansen P, Giwercman A, Grandjean P, Guillette LJ Jr et al., Male reproductive health and environmental xenoestrogens, *Environmental Health Perspectives*. 1996; 104: 741-803.
- Toshima H, Suzuki Y, Imai K, Yoshinaga J, Shiraishi H, Mizumoto Y, Hatakeyama S, Onohara C, Tokuoka S. Endocrine disrupting chemicals in urine of Japanese male partners of subfertile couples: a pilot study on exposure and semen quality, *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2012; 215(5): 502-6.

- Waller K, Swan SH, Windham GC, Fenster L, Elkin EP, Lasley BL. Use of urine biomarkers to evaluate menstrual function in healthy premenopausal women. *American Journal of Epidemiology* 1998; 147: 1071-80.
- Wang L, Wu Y, Zhang W, Kannan K. Characteristic profiles of urinary p-hydroxybenzoic acid and its esters (parabens) in children and adults from the United States and China. *Environmental Science and Technology*. 2013; 47(4): 2069-76.
- Wesselink AK, Wise LA, Hatch EE, Rothman KJ, Mikkelsen EM, Stanford JB, McKinnon CJ, Mahalingaiah S. Menstrual cycle characteristics and fecundability in a North American preconception cohort. *Annals of Epidemiology*. 2016; 26(7): 482-7.e1.
- WHO (World Health Organization)/International Programme on Chemical Safety (IPCS), Global Assessment of the State-of-the-science of Endocrine Disruptors. 2002.  
<http://www.who.int/ipcs/publications/en/toc.pdf?ua=1>
- WHO (World Health Organization), International Programme on Chemical Safety, Dermal absorption, Environmental Health Criteria 235. 2006.  
<http://www.who.int/ipcs/publications/ehc/ehc235.pdf>
- WHO (World Health Organization), WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen, fifth ed., World Health Organization, Geneva, 2010.
- Wilcox A, Weinberg C, Baird D. Caffeinated beverages and decreased fertility. *Lancet*. 1988; 2(8626-8627): 1453-6.
- Windham GC, Elkin E, Fenster L, Waller K, Anderson M, Mitchell PR, et al. Ovarian hormones in premenopausal women: variation by demographic, reproductive and menstrual cycle characteristics. *Epidemiology*. 2002; 13: 675-84.
- Windham GC, Mitchell P, Anderson M, Lasley BL. Cigarette smoking and effects on hormone function in premenopausal women. *Environmental Health Perspectives*. 2005; 113(10): 1285-90.
- Wise LA, Mikkelsen EM, Rothman KJ, Riis AH, Sørensen HT, Huybrechts KF, Hatch EE. A prospective cohort study of menstrual characteristics and time to pregnancy. *American Journal of Epidemiology*. 2011; 174(6): 701-9.

Working Group for Standardized Guideline for Semen Examination, Standardized Guideline for Semen Examination, Kinbara Publishing, Tokyo, 2003.

Xu X, Shi Y, Cui Y, Ma J, Che L, Chen ZJ. Endocrine and metabolic characteristics of polycystic ovary syndrome in Chinese women with different phenotypes. *Clinical Endocrinology*. 2012; 76(3): 425-430.

Ye X, Bishop AM, Reidy JA, Needham LL, Calafat AM. Parabens as urinary biomarkers of exposure in humans. *Environmental Health Perspectives*. 2006; 114: 1843-46.

Zhang L, Dong L, Ding S, Qiao P, Wang C, Zhang M, Zhang L, Du Q, Li Y, Tang N, Chang B. Effects of n-butylparaben on steroidogenesis and spermatogenesis through changed E<sub>2</sub> levels in male rat offspring. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2014; 37(2): 705-17.

飯田隆雄. ダイオキシン類の個別食品の汚染実態調査. 平成15年度厚生労働科学研究(食品安全確保研究事業)分担研究報告書 ダイオキシンの汚染実態把握及び摂取低減化に関する研究報告書. 2003; 17-23.

緒方正名. 生物学的モニタリング:理論と実際. 東京:篠原出版. 1991.

環境省. 日本人における化学物質のばく露量について—化学物質の人へのばく露量モニタリング調査(2011～)—. 2015.  
[https://www.env.go.jp/chemi/dioxin/pamph/cd/2015ja\\_full.pdf](https://www.env.go.jp/chemi/dioxin/pamph/cd/2015ja_full.pdf)

環境省. 平成16年度(2004年度)版「化学物質と環境」. 2005.  
<https://www.env.go.jp/chemi/kurohon/http2004/>

経済産業省. 化学物質審議会管理部会・審査部会 内分泌かく乱作用検討小委員会中間報告書. 2005.  
[http://www.meti.go.jp/policy/chemical\\_management/other/files/naibunpitu\\_houkokusyo\\_set.pdf](http://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/other/files/naibunpitu_houkokusyo_set.pdf)

厚生労働省. 告示第331号 化粧品基準. 2000.  
<http://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-11120000-Iyakushokuhinkyoku/keshouhin-standard.pdf>

厚生労働省. 告示第370号 食品、添加物等の規格基準. 1996.

[http://www.ffcr.or.jp/zaidan/MHWinfo.nsf/a11c0985ea3cb14b492567ec002041df/980837ba5d9b0d28492575d6000785e6/\\$FILE/%E4%BD%BF%E7%94%A8%E5%9F%BA%E6%BA%96%EF%BC%88H28.10.06%EF%BC%89.pdf](http://www.ffcr.or.jp/zaidan/MHWinfo.nsf/a11c0985ea3cb14b492567ec002041df/980837ba5d9b0d28492575d6000785e6/$FILE/%E4%BD%BF%E7%94%A8%E5%9F%BA%E6%BA%96%EF%BC%88H28.10.06%EF%BC%89.pdf)

国立健康・栄養研究所. 改訂版『身体活動のメッツ (METs) 表』. 2012.

国立社会保障・人口問題研究所. 第15回出生動向基本調査 結婚と出産に関する全国調査 夫婦調査の結果概要. 2015.

白井さやか. パラベン類—パーソナルケア製品からの経皮吸収と妊娠期曝露による男児生殖影響. 東京大学大学院新領域創成科学研究科修士論文. 2010.

食品安全委員会. 大豆イソフラボンを含む特定保健用食品の安全性評価の基本的な考え方. 2006.

富田明美, 宮本征一, 堀越哲美. 日本人青年男女の体表面積に関する研究. 日本生気象学会雑誌, 1999; 36(1): 43-51.

西浜柚季子. パラベン類曝露による月経周期への影響. 東京大学大学院新領域創成科学研究科修士論文. 2014.

日本疫学会. 疫学辞典 (John M. Last 編) 第3版. 日本公衆衛生協会. 2000.

日本化粧品工業連合会. UVA防止効果測定法基準. 1995.

[http://www.jcia.org/n/all\\_pdf/gul/pa.pdf](http://www.jcia.org/n/all_pdf/gul/pa.pdf)

日本産科婦人科学会編. 産科婦人科用語集(第4版). 東京: 金原出版. 1995; 38-9.

平山和宏. 大豆イソフラボン類の代謝と腸内フローラ. 腸内細菌学会誌. 2005; 19: 17-23.

藤本薫喜, 渡辺孟, 坂本淳, 湯川幸一, 森本和枝. 日本人の体表面積に関する研究 第18期にまとめた算出式. 日本衛生学雑誌. 1968; 23(5): 7-14.

牧野恒久, 織田肇, 藤島弘道, 月岡忠, 寺澤潤一. 平成11年度厚生科学研究費補助金(生活安全総合事業)分担研究報告書 「内分泌かく乱化学物質に関する生体試料(臍帯血等)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」クロロベンゼン類及びパラベン類の分析法開発と実試料の分析. 1997.

松本清一, 北村邦夫. 思春期婦人科外来 第2版 - 診断・ケアの基本から実際まで -. 文光堂. 2004.

森和代, 川瀬良美, 高村寿子, 松本清一. 月経周期の発達からみた女性の性成熟 (その1) : 基礎体温による分類. 思春期学. 1998; 16(2): 173-81.

文部科学省. 日本食品標準成分表. 2010.

矢野知佐子, 富安俊子, 穴井孝信. 正常月経周期日数とその変動範囲に関する調査. 母性衛生. 2005; 45(4): 496-502.

# Appendix

## Appendix. 1

病院記載欄：

### 質問票

#### 「環境化学物質による男性生殖能力への影響調査」

このアンケートは、尿の分析結果をより適切に解釈する上で必要なものです。  
差し支えのない範囲で質問にお答え下さい。ご協力宜しくお願い致します。

[記入年月日]

平成\_\_\_\_\_年 \_\_\_\_\_月 \_\_\_\_\_日

○ 本人に関する質問

あなた（ご本人）の現況等についておたずねします。

a) 年齢 \_\_\_\_\_歳

b) 身長 \_\_\_\_\_cm

c) 体重 \_\_\_\_\_kg

d) 今回の検査にあたり、禁欲期間（射精していない日数）は何日でしたか？：

① 1日 ② 2日 ③ 3日 ④ 4日 ⑤ 5日 ⑥ 6日 ⑦ 1週間以上

○生活状況等に関する質問

あなた（ご本人）の生活状況等についておたずねします。

1. 居住歴について

現在あなたが住んでいる場所はどのような地域ですか？

① 農山村 ② 漁村 ③ 商業地 ④ 工業地 ⑤ ベッドタウン

⑥ その他（\_\_\_\_\_）

次のページにつづきます

## 2. 殺虫剤の使用状況について

### 殺虫剤の定義

エアゾール剤・・・スプレー型の殺虫剤。ハエ、蚊、蛾等の室内害虫やアオムシ、アブラムシ、ケムシなどの室外害虫などに幅広く用いられる。

蚊取線香・・・蚊を駆除させる目的で使用する。コンセントに差し込むタイプを含む

燻煙剤・・・殺虫成分を含む煙や霧を発生させ部屋のダニ、ノミ、ゴキブリなどを駆除するもの。

液剤・・・霧吹きなどを用いて液体を噴射するもの。家庭菜園などで室外害虫に対して用いる。

粉剤・・・カーペットなどに散布した後掃除機で吸い取る。主にダニ、ノミ駆除に使用する。

a) あなたの身近で最近殺虫剤を使用しましたか？（「殺虫剤の定義」を参照）

① はい ② いいえ ③ わからない

b)①の場合どのような目的で使用しましたか？

①農業などの仕事で ②家庭の害虫駆除 ③その他（\_\_\_\_\_）

c)使用した殺虫剤の製品名をわかるだけ記入して下さい。

（複数回答可）【例：バルサンなど】

①（\_\_\_\_\_）

② わからない

## 3. 現在の職業について

現在のあなたのお仕事について下の表の「職種」で該当する番号に○をつけ、在職年数を記入して下さい。

職種	職業の例	在職年数
1. 農業	農業作業員、養畜作業員等	
2. 林業	林業作業員、育林作業員等	
3. 会社員	会社役員、団体役員	
4. その他の職種	具体的にご記入下さい。 （_____）	
5. 無職	専業主婦、学生等	

次のページにつづきます



特に薬品や農薬に触れる職業についていた場合、扱っていた物質名等わかる範囲で具体的に記入ください。【例：スミチオン】

#### 4. 喫煙歴・受動喫煙について

- a) あなたはタバコを習慣的に吸われますか？
- ① 習慣的な喫煙はしたことがない。  
② 現在喫煙している。（\_\_\_\_\_歳から一日約\_\_\_\_\_本）  
③ 以前は喫煙していた。（\_\_\_\_\_歳から\_\_\_\_\_歳まで、一日約\_\_\_\_\_本）
- b) (a)で①、③と答えた方の方に伺います。あなたの同居者もしくは職場（同じ室内）で喫煙する人はいますか？
- ① いる          ② いない
- c) (b)で①の場合、あなたの前（タバコの煙が届く範囲）でタバコを吸うひとはいますか？
- また、その場合一日に何本くらいあなたの前で吸っていましたか？
- ① いる      （同居者\_\_\_\_\_本／日、職場\_\_\_\_\_本／日）      ② いない
- d) あなたの飲酒頻度はどのくらいですか？
- ① 飲まない    ② 月1回程度    ③ 月2～3回    ④ 週1回    ⑤ 週2～3回  
⑥ 週4～5回    ⑦ 毎日
- e) あなたは一週間にどれくらいのお酒を飲みますか？複数種類飲まれる方は、種類ごとに記入してください。全く飲まない方はゼロと記入してください。
- 一週間に
- ビール（\_\_\_\_\_）本      （瓶ビール換算）      日本酒      （\_\_\_\_\_）合  
焼酎      （\_\_\_\_\_）本      ワイン      グラス（\_\_\_\_\_）杯  
その他（以下にお酒の名前と量を同様に記入してください）
- （ \_\_\_\_\_ ）

#### 5. 食生活について

- (a) 日頃の食事以下の食材を食べたり飲んだり、調理に使用する頻度はどのくらいですか？

該当する欄に○をつけてください。また、特によく食べる食材がありましたら、その食品名をご記入下さい。

次のページにつづきます

	毎食	毎日	週に4,5回	週に2,3回	週に1回以下	月に1,2回	全く食べない	特によく食べる食品名
(1) 生野菜								
(2) 生野菜以外の野菜 (茹で野菜、焼き野菜等)								
(3) 果物								
(4) 魚肉加工品 (練り物等)								
(5) コーヒー								
(6) お茶								
(7) チョコレート								
(8) 栄養ドリンク								
(9) 大豆製品 (豆腐、豆乳、納豆等)								

(b) 日頃の食生活で以下に該当する部分がありますか？○をつけください。

加工食品をよく食べますか？ ①はい ②いいえ

(缶詰やレトルト食品等)

①の場合 → その頻度は？ ①毎日 ②週に数回 ③月に数回

コンビニなどでお惣菜・おにぎり・お弁当などの食品を購入しますか？ ①はい ②いいえ

①の場合 → その頻度は？ ①毎食 ②毎日 ③週に数回 ④月に数回

主に購入する食品があればご記入下さい。 \_\_\_\_\_

アンケートは以上です。ご協力ありがとうございました。

## Appendix 2

ID: \_\_\_\_\_

### Ⅱ. 月経カレンダー

氏名 \_\_\_\_\_

- ◆ あなたの今後5か月分（2012年11月、12月、2013年1月、2月、3月）の月経について、毎回の開始日から終了日までを以下のカレンダーに○で記入して下さい（少しでも出血のあった日には全て○をして下さい）。

（記入例）11/8 から 11/12 まで出血があった場合

月	火	水	木	金	土	日
		2012/11/7	8 ○	9 ○	10 ○	11 ○
12 ○	13	14	15	16	17	18

月	火	水	木	金	土	日
		2012/11/7	8	9	10	11
12	13	14	15	16	17	18
19	20	21	22	23	24	25
26	27	28	29	30	12/1	2
3	4	5	6	7	8	9
10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23
24	25	26	27	28	29	30
31	2013/1/1	2	3	4	5	6
7	8	9	10	11	12	13
14	15	16	17	18	19	20
21	22	23	24	25	26	27
28	29	30	31	2/1	2	3
4	5	6	7	8	9	10
11	12	13	14	15	16	17
18	19	20	21	22	23	24

うらに続きます



※以下の問いには、番号に丸を付けてください※

- ◆ あなたはこの調査で月経カレンダーをつける以前（2012 年 11 月よりも前）に、ご自分で手帳やアプリなどを利用して月経を記録していましたか？

①していた ・ ②していなかった

- ◆ あなたは、ご自分の月経開始日を予想できますか？

①できる ・ ②できない

（①できる と答えた方に伺います）

2011 年 11 月～2012 年 11 月の月経において、月経の開始日が、開始予定日から ±7日以上ずれたことがありましたか？

①よくあった ・ ②ときどきあった ・ ③ほとんどなかった

- ◆ 2011 年 11 月～2012 年 11 月の月経時に、月経痛はありましたか？あれば、その程度はどのくらいでしたか？ 一番症状が強かった時に当てはまるものを選んでください。

①ほとんどない

②痛みはあるが日常生活は営める

③外出はできるが運動するのは辛い ④起き上がれないほど辛い

- ◆ 2011 年 11 月～2012 年 11 月の間に、ピル（経口避妊薬）を利用したことはありますか？（月経困難症治療も含みます）

①ない ・ ②2012 年 11 月よりも前 → 最後に使用した日： 年 月 頃

・ ③現在服用中

（②、③と答えた方に伺います）

差し支えなければ薬品名を教えてください

薬品名：

アンケートは以上です。ご協力頂き、ありがとうございました。

（本アンケートを提出し、謝礼をお受け取り下さい）

[ID 記載欄 ]

「環境化学物質がヒトの生殖能に与える影響に関する研究」  
質問票

このアンケートは、尿と血液の分析結果をより適切に解釈する上で必要なものです。差し支えのない範囲で質問にお答え下さい。ご協力宜しくお願い致します。

【記入年月日：平成 年 月 日】

【学籍番号： 】

【氏名： 】

## 質問票

### 「環境化学物質がヒトの生殖能に与える影響に関する研究」

#### ○ 本人に関する質問

あなた（ご本人）の現況等についておたずねします。

a) 年齢 \_\_\_\_\_ 歳

b) 身長 \_\_\_\_\_ cm

c) 体重 \_\_\_\_\_ kg

d) 性別 男・女

（女性のみに伺います）あなたは現在、妊娠していますか？ ①はい ②いいえ

あなたは現在、授乳していますか？ ①はい ②いいえ

e) この3カ月で、体重が10%以上減少しましたか ①はい ②いいえ

f) 高校入学から現在までの最高体重と最低体重とその時点の年齢を教えてください

（妊娠時を除く）

最高体重 \_\_\_\_\_ kg（\_\_\_\_\_ 歳） 最低体重 \_\_\_\_\_ kg（\_\_\_\_\_ 歳）

#### ○生活状況等に関する質問

あなた（ご本人）の生活状況等についておたずねします。

##### 1. 喫煙歴・受動喫煙について

あなたはタバコを習慣的に吸いますか？

① 習慣的な喫煙はしたことがない

② 以前は喫煙していたが今は喫煙していない

（\_\_\_\_\_ 歳から \_\_\_\_\_ 歳まで、一日約 \_\_\_\_\_ 本）

③ 現在喫煙している（\_\_\_\_\_ 歳から 一日約 \_\_\_\_\_ 本）

（①、②と答えた方のみに伺います。）

あなたの前（タバコの煙が届く範囲）でタバコを吸うひとはいますか？

また、その場合一日に何本くらいあなたの前で吸っていましたか？

① いる （同居者 \_\_\_\_\_ 本／日、職場 \_\_\_\_\_ 本／日） ② いない

次のページにつづきます

## 2. 飲酒について

a) あなたの飲酒頻度はどのぐらいですか？

- ①飲まない ②月1回程度 ③月2～3回 ④週1回 ⑤週2～3回 ⑥週4～5回  
⑦ほぼ毎日

b) あなたはお酒を飲む際、一度にどれくらいの量を飲みますか？複数種飲まれる方は、種類ごとに記入してください。全く飲まない方はゼロと記入してください。

### 一度に

ビール（大ジョッキ 本、中ジョッキ 本、缶(350ml) 本）

日本酒（ ）合 \*目安…とっくり1本：1合

焼酎 ストレート（ ）杯 \*目安…水割り1杯=ストレート1/2杯

ワイン グラス(120ml)（ ）杯 カクテル類 コップ(180ml)（ ）杯

ウイスキー シングル水割り(30ml)（ ）杯 \*目安…ハイボール1杯=シングル水割り1杯

その他（以下にお酒の名前と量を同様に記入してください）

（ ）

## 3. カフェインについて

あなたは一週間に以下の飲料をどれくらい飲みますか？複数種飲まれる方は、種類ごとに記入してください。全く飲まない方はゼロと記入してください。

### 一週間に

コーヒー（ ）杯（コーヒーカップ(約150ml)換算）

ノンカフェインコーヒー（ ）杯（コーヒーカップ(約150ml)換算）

紅茶（ ）杯（ティーカップ(約250ml)換算）

緑茶（ ）杯（ティーカップ(約250ml)換算）

カフェイン入りの炭酸飲料（コカコーラ、ペプシ等のコーラ類など）

（商品名：\_\_\_\_\_ 本数：ペットボトル(500ml)\_\_\_\_\_本）

カフェイン入り栄養ドリンク（種類：\_\_\_\_\_ 本数：\_\_\_\_\_本）

次のページにつづきます



## 5. 食生活について

(a) 日頃の食事で以下の食材を食べたり飲んだり、調理に使用する頻度はどのくらいですか？

該当する欄に○をつけてください。また、特によく食べる食材がありましたら、その食品名をご記入下さい。

	毎食	ほぼ 毎日	週に 4, 5 回	週に 2, 3 回	週に 1 回以下	月に 1, 2 回	全く 食べない	特によく食べる 食品名
(1) 肉類 (ハム・ソーセージ等を含む)								
(2) 牛乳								
(3) 乳製品 (チーズ・ヨーグルト・バター等)								
(4) たまご								
(5) 魚								
(6) きのこ類								
(7) 葉物野菜 (キャベツ、レタス、ホウレン草など)								
(8) 根野菜 (大根、ニンジン、ゴボウなど)								
(9) その他野菜 (トマト、キュウリ、ナスなど)								
(10) 果物 (リンゴ、ミカンなど)								
(11) 海藻 (昆布、ワカメなど)								
(12) 穀物 (ご飯、パン、麺類など)								

(b) 日頃の食生活で以下に該当する部分がありますか？○をつけください。

- 加工食品を食べますか？（缶詰やレトルト食品等）

①毎日 ②週に数回 ③月に数回 ④食べない

- 外食はしますか？

①毎日 ②週に数回 ③月に数回 ④しない

- コンビニなどでお惣菜・おにぎり・お弁当などの食品を購入しますか？

①毎食 ②毎日 ③週に数回 ④月に数回 ⑤購入しない

①－④の場合 → 主に購入する食品があればご記入下さい。

● サプリメントや漢方等使用しているものはありますか？ ① はい ② いいえ

①の場合 → 主に使用しているものがあればご記入ください。

また、主な成分がわかる場合はご記入ください。

(例：〇〇サプリメント→ビタミンC)

## 6. 魚類の摂取について

あなたは一週間に、次の魚類をどのくらい食べますか？該当する欄に○を付けて下さい。

また、一度に食べる量の目安は下のイラストを普通量としてお答えください。

“少し”は普通量の1/2、“たっぷり”は普通量の1.5倍とします。全く食べない方は空欄で構いません。



中1尾 (80g)



さしみ5枚 (80g)



干物1枚 (80g)

	毎食	ほぼ 毎日	週に 4, 5回	週に 2, 3回	週に 1回以下	全く 食べない	<u>一食に</u> 食べる量
マグロ							少し・普通・たっぷり
スズキ							少し・普通・たっぷり
ブリ							少し・普通・たっぷり
サバ							少し・普通・たっぷり
マアジ							少し・普通・たっぷり

上に挙げた以外に、よく食べる魚類がありましたら、頻度、量とともにご記入ください。

## 7. 大豆製品の摂取について

あなたは一週間に、次の大豆製品をどのくらい食べますか？該当する欄に○を付けて下さい。

また、一度に食べる量の目安は下のイラストを普通量としてお答えください。

“少し”は普通量の1/2、“たっぷり”は普通量の1.5倍とします。全く食べない方は空欄で構いません。



豆腐なら 1/4 丁(75g)



納豆なら小パック(30g)



油揚げなら半分

	毎食	ほぼ 毎日	週に 4, 5 回	週に 2, 3 回	週に 1 回以下	全く 食べない	一食に食べる量
豆腐							少し・普通・たっぷり
納豆							少し・普通・たっぷり
油揚げ							少し・普通・たっぷり
味噌汁							杯
豆乳							200ml パック 本
ソイジョイ							本

上に挙げた以外に、よく食べる大豆製品がありましたら、頻度、量とともにご記入ください。

( )

## 8. 運動について

- あなたは中学・高校時代において、部活動（運動部）あるいはその他に運動をしていましたか？ ① はい ② いいえ

①の場合 → どのような種目の運動をしていましたか？また、一週間に何回運動をしていましたか？部活動とその他の運動と分けて、種目・回数・1 回あたりの時間をご記入ください。

例) 中学時代…部活：テニス部 回数：週 5 日 時間：1 回あたり 3 時間  
その他の運動：新体操 回数：週 2 回 時間：1 回あたり 2 時間

### 中学時代

部活（種目）：\_\_\_\_\_ 回数：週 \_\_\_\_\_ 回 時間：1 回あたり \_\_\_\_\_ 時間

その他の運動（種目）：\_\_\_\_\_ 回数：週 \_\_\_\_\_ 回 時間：1 回あたり \_\_\_\_\_ 時間

### 高校時代

部活（種目）：\_\_\_\_\_ 回数：週 \_\_\_\_\_ 回 時間：1 回あたり \_\_\_\_\_ 時間

その他の運動（種目）：\_\_\_\_\_ 回数：週 \_\_\_\_\_ 回 時間：1 回あたり \_\_\_\_\_ 時間

- あなたは現在、運動を行っていますか？ ① はい ② いいえ

①の場合 → どのような種目の運動をしていますか？また、一週間に何回運動をしていますか？種目・回数・1 回あたりの時間をご記入ください。

例) 種目：ヨガ 回数：週 1 回 時間：1 回あたり 2 時間

種目：\_\_\_\_\_ 回数：週 \_\_\_\_\_ 回 時間：1 回あたり \_\_\_\_\_ 時間

次のページにつづきます

## 9. 屋外で過ごす時間について

- あなたはこの3か月の間、平均して1日あたり何時間くらい屋外で過ごしましたか？  
通学や通勤、また運動のためなどのために屋外で過ごしたすべての時間を合わせてお答えください。

1日あたり \_\_\_\_\_ 時間

- あなたはこの3か月の間、日焼け止めを使いましたか？      ① はい ② いいえ

①の場合 → 体のどの部位に使っていますか？当てはまるものすべてに○を付けてください。

また、3か月間の平均の使用頻度について最も近いものを選択してください。

体の部位 ① 顔と首 ② 腕 ③ 足

使用頻度 ① ほぼ毎日 ② 週に4-5回 ③ 週に2-3回 ④ 週に1回 ⑤ ほとんど使わなかった

## 10. 結婚と子どもについて

- あなたは現在、結婚していますか？

① はい ② いいえ

②の場合 → 自分の一生を通じて考えた場合、あなたの結婚に対するお考えは、次のうちどれに当てはまりますか？当てはまるものに○を付けてください。

- ① ある程度の年齢までには結婚するつもり
- ② いずれ結婚するつもりだが、理想的な相手が見つかるまでは結婚しなくても構わない
- ③ 一生結婚するつもりはない

- あなたは、子どもは何人くらいほしいですか？

① 子どもはいらない ② 子どもは欲しい ( \_\_\_\_\_ 人)

②の場合 → 最初の(次の)お子さんを持ちたいと思う年齢は何歳ですか？

あなたが ( \_\_\_\_\_ ) 歳くらいのとき

## 11. ストレスについて

- あなたの現在の健康状態はいかがですか？

1. よい 2. まあよい 3. あまりよくない 4. よくない

- あなたはふだんストレスを感じますか？

1. 感じる 2. ある程度感じる 3. あまり感じない 4. 感じない

- あなたの睡眠時間は平均何時間ですか？ 平日： \_\_\_\_\_ 時間 休日： \_\_\_\_\_ 時間

次のページにつづきます

12. 化粧品等のパーソナルケア製品（Personal Care Products: PCPs）の使用について  
あなたが日常使用しているパーソナルケア製品と使用頻度を教えてください

PCPs		製品名	使用頻度
例	ボディーソープ	ジョンソンボディケアフレッシュ ボディウォッシュ	① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度
バス用品	洗顔料		① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度
	ボディーソープ		① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度
	シャンプー		① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度
	リンス		① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度
	ハンドソープ		① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度
口内ケア	歯みがき粉		① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度
	マウスウォッシュ		① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度
	うがい薬		① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度
整髪料 (ワックス・ムース・スプレー)			① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度
医薬部外品 (軟膏等の薬剤)			① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度
洗剤 (食器洗い洗剤)			① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度
保湿剤	ハンドクリーム		① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度
	ボディークリーム		① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度
	リップクリーム		① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度

次のページにつづきます

スキンケア	クレンジング		① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度
	化粧水		① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度
	乳液		① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度
制汗剤 (スプレー・固形・リキッド)			① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度
日焼け止め (BB クリーム含)			① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度
メイクアップ	ファンデーション		① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度
	化粧下地		① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度
	チーク		① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度
	アイブロウ		① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度
	アイライナー		① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度
	アイシャドウ		① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度
	マスカラ		① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度
ネイル (マニキュア、除光液)			① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度
香水			① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度
その他			① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度
			① 1日2回以上 ② 1日1回 ③ 週に2～3回 ④ 週に1回程度

次のページにつづきます

13. 月経について（女性の方のみお答え下さい）

- もっとも最近の月経が開始した日にちを教えてください      年      月      日
  
- 次回の月経が開始する予定日を予想できますか？    ① はい    ② いいえ  
①の場合 → 次回の月経開始予定日      年      月      日  
②の場合 → それはなぜですか？  
                    ① 月経周期の長さが一定でないから  
                    ② その他（                      ）
  
- この半年間、25-40 日ごとに月経がきていましたか？      ① はい    ② いいえ

アンケート調査は以上です。ご協力ありがとうございました。

[ID 記載欄]

「尿中環境化学物質濃度の曝露の指標としての妥当性評価に関する研究」  
質問票

このアンケートは、尿の分析結果をより適切に解釈する上で必要なものです。  
差し支えない範囲で質問にお答え下さい。ご協力宜しくお願い致します。

【記入年月日：平成      年      月      日】

【氏名： \_\_\_\_\_】



## 質問票

### A 本人に関する質問

あなた（ご本人）の現況についておたずねします。

a) 年齢	_____歳
b) 身長	_____cm
c) 体重	_____kg

### B 化粧品等のパーソナルケア製品（Personal Care Products: PCPs）の使用について

あなたが前日に使用したパーソナルケア製品と使用頻度を教えて下さい。

2 製品以上、使用している際は、「その他」欄にご記入下さい。使用していないものは空欄で構いません。

※パーソナルケア製品（PCPs）…日常的に皮膚に塗布および付着する製品  
例）化粧品、石鹸、歯みがき製品など

PCPs	製品名	使用頻度
例) ボディーソープ	ジョンソンボディケアフレッシュ ボディウォッシュ	① 1日4回以上 ② 1日3回 ③ 1日2回 ④ 1日1回
バス用品	洗顔料	① 1日4回以上 ② 1日3回 ③ 1日2回 ④ 1日1回
	ボディーソープ	① 1日4回以上 ② 1日3回 ③ 1日2回 ④ 1日1回
	シャンプー	① 1日4回以上 ② 1日3回 ③ 1日2回 ④ 1日1回
	リンス	① 1日4回以上 ② 1日3回 ③ 1日2回 ④ 1日1回
	ハンドソープ	① 1日4回以上 ② 1日3回 ③ 1日2回 ④ 1日1回
口内ケア	歯みがき粉	① 1日4回以上 ② 1日3回 ③ 1日2回 ④ 1日1回

	マウスウォッシュ		① 1日4回以上 ② 1日3回 ③ 1日2回 ④ 1日1回
	うがい薬		① 1日4回以上 ② 1日3回 ③ 1日2回 ④ 1日1回
整髪料 (ワックス・ムース・スプレー)			① 1日4回以上 ② 1日3回 ③ 1日2回 ④ 1日1回
医薬部外品 (軟膏等の薬剤)			① 1日4回以上 ② 1日3回 ③ 1日2回 ④ 1日1回
保湿剤	ハンドクリーム		① 1日4回以上 ② 1日3回 ③ 1日2回 ④ 1日1回
	ボディークリーム		① 1日4回以上 ② 1日3回 ③ 1日2回 ④ 1日1回
	リップクリーム		① 1日4回以上 ② 1日3回 ③ 1日2回 ④ 1日1回
スキンケア	アフターシェーブ ローション		① 1日4回以上 ② 1日3回 ③ 1日2回 ④ 1日1回
	シェービング製品 (ジェル、クリーム)		① 1日4回以上 ② 1日3回 ③ 1日2回 ④ 1日1回
デオドラント製品			① 1日4回以上 ② 1日3回 ③ 1日2回 ④ 1日1回
日焼け止め			① 1日4回以上 ② 1日3回 ③ 1日2回 ④ 1日1回
メイクアップ (アイライン、マスカラなど)			① 1日4回以上 ② 1日3回 ③ 1日2回 ④ 1日1回
香水			① 1日4回以上 ② 1日3回 ③ 1日2回 ④ 1日1回
その他			① 1日4回以上 ② 1日3回 ③ 1日2回 ④ 1日1回
			① 1日4回以上 ② 1日3回 ③ 1日2回 ④ 1日1回
			① 1日4回以上 ② 1日3回 ③ 1日2回 ④ 1日1回

アンケート調査は以上です。ご協力ありがとうございました。

## 第4章 パラベン類曝露と男性生殖機能指標としての精液指標との関連

## ◆ 重回帰分析の結果（精液量と尿中パラベン類濃度との関連）

Table. a4-1 精液量と尿中 MP 濃度との関連 (n=42)

	t	標準化係数 $\beta$	p
年齢	1.3	0.29	0.20
BMI	-0.55	-0.13	0.59
サンプリング時期 <sup>a</sup>	-0.85	-0.25	0.40
尿中 3-PBA 濃度	-0.99	-0.24	0.33
尿中ダイゼイン濃度	0.29	0.062	0.78
エクオール産生 <sup>b</sup>	-1.8	-0.40	0.079
尿中 MnBP 濃度	1.5	0.33	0.15
禁欲期間	0.11	0.021	0.91
喫煙 <sup>c</sup>	0.040	0.010	0.97
果物摂取 <sup>d</sup>	-0.78	-0.16	0.44
コーヒー摂取 <sup>e</sup>	-0.48	-0.091	0.63
尿中 MP 濃度	0.18	0.039	0.86

\* 調整済み R<sup>2</sup> 値 0.13

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

<sup>a</sup> サンプリング時期（2-3 月：0／5-7 月：1）<sup>b</sup> エクオール産生（検出下限値以上：1／検出下限値未満：0）<sup>c</sup> 喫煙（有：1／無：0）<sup>d</sup> 果物摂取（1 週間に 1 回以上摂取：1／摂取しない：2）<sup>e</sup> コーヒー摂取（1 日 1 杯以上：1／飲まない：2）

Table. a4-2 精液量と尿中 EP 濃度との関連 (n=42)

	t	標準化係数 $\beta$	p
年齢	0.92	0.18	0.37
BMI	-0.82	-0.17	0.42
サンプリング時期 <sup>a</sup>	-1.1	-0.25	0.27
尿中 3-PBA 濃度	-0.85	-0.18	0.40
尿中ダイゼイン濃度	0.48	0.092	0.64
エクオール産生 <sup>b</sup>	-1.5	-0.28	0.16
尿中 MnBP 濃度	1.4	0.26	0.19
禁欲期間	1.2	0.22	0.23
喫煙 <sup>c</sup>	-0.60	-0.13	0.55
果物摂取 <sup>d</sup>	-1.3	-0.24	0.20
コーヒー摂取 <sup>e</sup>	-0.62	-0.10	0.54
尿中 EP 濃度	2.7	0.50	0.013

\* 調整済み R<sup>2</sup> 値 0.11

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

<sup>a</sup> サンプリング時期（2-3 月：0／5-7 月：1）<sup>b</sup> エクオール産生（検出下限値以上：1／検出下限値未満：0）<sup>c</sup> 喫煙（有：1／無：0）<sup>d</sup> 果物摂取（1 週間に 1 回以上摂取：1／摂取しない：2）<sup>e</sup> コーヒー摂取（1 日 1 杯以上：1／飲まない：2）

Table. a4-3 精液量と尿中 PP 濃度との関連 (n=42)

	t	標準化係数 $\beta$	p
年齢	1.2	0.27	0.23
BMI	-0.57	-0.13	0.57
サンプリング時期 <sup>a</sup>	-0.67	-0.18	0.51
尿中 3-PBA 濃度	-0.84	-0.21	0.41
尿中ダイゼイン濃度	0.20	0.044	0.84
エクオール産生 <sup>b</sup>	-1.7	-0.36	0.11
尿中 MnBP 濃度	1.3	0.28	0.21
禁欲期間	0.12	0.021	0.91
喫煙 <sup>c</sup>	-0.057	-0.014	0.96
果物摂取 <sup>d</sup>	-0.93	-0.19	0.36
コーヒー摂取 <sup>e</sup>	-0.22	-0.043	0.83
尿中 PP 濃度	0.87	0.18	0.40

\* 調整済み R<sup>2</sup> 値-0.095

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

a サンプリング時期 (2-3 月 : 0 / 5-7 月 : 1)

b エクオール産生 (検出下限値以上 : 1 / 検出下限値未満 : 0)

c 喫煙 (有 : 1 / 無 : 0)

d 果物摂取 (1 週間に 1 回以上摂取 : 1 / 摂取しない : 2)

e コーヒー摂取 (1 日 1 杯以上 : 1 / 飲まない : 2)

Table. a4-4 精液量と尿中 BP 濃度との関連 (n=42)

	t	標準化係数 $\beta$	p
年齢	1.1	0.25	0.27
BMI	-0.58	-0.13	0.57
サンプリング時期 <sup>a</sup>	-0.75	-0.20	0.46
尿中 3-PBA 濃度	-1.0	-0.25	0.31
尿中ダイゼイン濃度	0.24	0.051	0.82
エクオール産生 <sup>b</sup>	-1.5	-0.34	0.15
尿中 MnBP 濃度	1.5	0.31	0.16
禁欲期間	0.26	0.048	0.80
喫煙 <sup>c</sup>	-0.14	-0.035	0.89
果物摂取 <sup>d</sup>	-0.81	-0.17	0.42
コーヒー摂取 <sup>e</sup>	-0.47	-0.086	0.64
尿中 BP 濃度	0.75	0.16	0.46

\* 調整済み R<sup>2</sup> 値-0.10

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

a サンプリング時期 (2-3 月 : 0 / 5-7 月 : 1)

b エクオール産生 (検出下限値以上 : 1 / 検出下限値未満 : 0)

c 喫煙 (有 : 1 / 無 : 0)

d 果物摂取 (1 週間に 1 回以上摂取 : 1 / 摂取しない : 2)

e コーヒー摂取 (1 日 1 杯以上 : 1 / 飲まない : 2)

Table. a4-5 精液量と尿中 ETP との関連 (n=42)

	t	標準化係数 $\beta$	p
年齢	1.0	0.22	0.31
BMI	-0.48	-0.10	0.64
サンプリング時期 <sup>a</sup>	0.045	0.013	0.96
尿中 3-PBA 濃度	-0.52	-0.12	0.61
尿中ダイゼイン濃度	0.13	0.027	0.90
エクオール産生 <sup>b</sup>	-0.94	-0.21	0.36
尿中 MnBP 濃度	0.66	0.15	0.51
禁欲期間	0.31	0.054	0.76
喫煙 <sup>c</sup>	-0.52	-0.12	0.61
果物摂取 <sup>d</sup>	-1.1	-0.22	0.27
コーヒー摂取 <sup>e</sup>	0.012	0.002	0.99
尿中 ETP	1.9	0.43	0.063

\* 調整済み R<sup>2</sup> 値 0.016

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

<sup>a</sup> サンプリング時期 (2-3 月 : 0 / 5-7 月 : 1)<sup>b</sup> エクオール産生 (検出下限値以上 : 1 / 検出下限値未満 : 0)<sup>c</sup> 喫煙 (有 : 1 / 無 : 0)<sup>d</sup> 果物摂取 (1 週間に 1 回以上摂取 : 1 / 摂取しない : 2)<sup>e</sup> コーヒー摂取 (1 日 1 杯以上 : 1 / 飲まない : 2)

## ◆ 重回帰分析の結果 (精子濃度と尿中パラベン類濃度との関連)

Table. a4-6 精子濃度と尿中 MP 濃度との関連 (n=42)

	t	標準化係数 $\beta$	p
年齢	-1.3	-0.17	0.22
BMI	1.9	0.27	0.075
サンプリング時期 <sup>a</sup>	0.90	0.17	0.38
尿中 3-PBA 濃度	1.3	0.21	0.19
尿中ダイゼイン濃度	-4.0	-0.56	< 0.010
エクオール産生 <sup>b</sup>	-0.15	-0.022	0.88
尿中 MnBP 濃度	2.0	0.28	0.062
禁欲期間	0.27	0.032	0.79
喫煙 <sup>c</sup>	-1.7	-0.26	0.099
果物摂取 <sup>d</sup>	5.7	0.75	< 0.010
コーヒー摂取 <sup>e</sup>	-3.0	-0.36	< 0.010
尿中 MP 濃度	-1.0	-0.14	0.33

\* 調整済み R<sup>2</sup> 値 0.55

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

<sup>a</sup> サンプリング時期 (2-3 月 : 0 / 5-7 月 : 1)<sup>b</sup> エクオール産生 (検出下限値以上 : 1 / 検出下限値未満 : 0)<sup>c</sup> 喫煙 (有 : 1 / 無 : 0)<sup>d</sup> 果物摂取 (1 週間に 1 回以上摂取 : 1 / 摂取しない : 2)<sup>e</sup> コーヒー摂取 (1 日 1 杯以上 : 1 / 飲まない : 2)

Table. a4-7 精子濃度と尿中 EP 濃度との関連 (n=42)

	t	標準化係数 $\beta$	p
年齢	-1.2	-0.17	0.26
BMI	2.0	0.29	0.059
サンプリング時期 <sup>a</sup>	1.6	0.26	0.12
尿中 3-PBA 濃度	1.5	0.23	0.15
尿中ダイゼイン濃度	-4.1	-0.57	< 0.010
エクオール産生 <sup>b</sup>	0.087	0.012	0.93
尿中 MnBP 濃度	1.7	0.23	0.099
禁欲期間	0.054	0.0071	0.96
喫煙 <sup>c</sup>	-1.6	-0.26	0.12
果物摂取 <sup>d</sup>	5.5	0.74	< 0.010
コーヒー摂取 <sup>e</sup>	-2.8	-0.34	< 0.010
尿中 EP 濃度	-0.35	-0.048	0.73

\* 調整済み R<sup>2</sup> 値 0.53

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

a サンプリング時期 (2-3 月 : 0 / 5-7 月 : 1)

b エクオール産生 (検出下限値以上 : 1 / 検出下限値未満 : 0)

c 喫煙 (有 : 1 / 無 : 0)

d 果物摂取 (1 週間に 1 回以上摂取 : 1 / 摂取しない : 2)

e コーヒー摂取 (1 日 1 杯以上 : 1 / 飲まない : 2)

Table. a4-8 精子濃度と尿中 PP 濃度との関連 (n=42)

	t	標準化係数 $\beta$	p
年齢	-1.2	-0.18	0.22
BMI	2.0	0.29	0.062
サンプリング時期 <sup>a</sup>	1.5	0.26	0.16
尿中 3-PBA 濃度	1.5	0.24	0.15
尿中ダイゼイン濃度	-4.0	-0.57	< 0.010
エクオール産生 <sup>b</sup>	0.16	0.023	0.87
尿中 MnBP 濃度	1.6	0.23	0.13
禁欲期間	0.22	0.026	0.83
喫煙 <sup>c</sup>	-1.7	-0.27	0.095
果物摂取 <sup>d</sup>	5.4	0.73	< 0.010
コーヒー摂取 <sup>e</sup>	-2.7	-0.34	0.013
尿中 PP 濃度	-0.050	-0.0067	0.96

\* 調整済み R<sup>2</sup> 値 0.53

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

a サンプリング時期 (2-3 月 : 0 / 5-7 月 : 1)

b エクオール産生 (検出下限値以上 : 1 / 検出下限値未満 : 0)

c 喫煙 (有 : 1 / 無 : 0)

d 果物摂取 (1 週間に 1 回以上摂取 : 1 / 摂取しない : 2)

e コーヒー摂取 (1 日 1 杯以上 : 1 / 飲まない : 2)

Table. a4-9 精子濃度と尿中 BP 濃度との関連 (n=42)

	t	標準化係数 $\beta$	p
年齢	-1.1	-0.16	0.28
BMI	2.0	0.29	0.061
サンプリング時期 <sup>a</sup>	1.3	0.23	0.20
尿中 3-PBA 濃度	1.5	0.24	0.14
尿中ダイゼイン濃度	-4.0	-0.56	< 0.010
エクオール産生 <sup>b</sup>	-0.071	-0.011	0.94
尿中 MnBP 濃度	1.8	0.24	0.089
禁欲期間	0.12	0.015	0.91
喫煙 <sup>c</sup>	-1.6	-0.25	0.13
果物摂取 <sup>d</sup>	5.6	0.73	< 0.010
コーヒー摂取 <sup>e</sup>	-2.9	-0.34	< 0.010
尿中 BP 濃度	-0.54	-0.073	0.59

\* 調整済み R<sup>2</sup> 値 0.54

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

a サンプリング時期 (2-3 月 : 0 / 5-7 月 : 1)

b エクオール産生 (検出下限値以上 : 1 / 検出下限値未満 : 0)

c 喫煙 (有 : 1 / 無 : 0)

d 果物摂取 (1 週間に 1 回以上摂取 : 1 / 摂取しない : 2)

e コーヒー摂取 (1 日 1 杯以上 : 1 / 飲まない : 2)

Table. a4-10 精子濃度と尿中 ETP との関連 (n=42)

	t	標準化係数 $\beta$	p
年齢	-1.2	-0.17	0.25
BMI	2.0	0.28	0.065
サンプリング時期 <sup>a</sup>	1.2	0.23	0.25
尿中 3-PBA 濃度	1.4	0.23	0.18
尿中ダイゼイン濃度	-4.0	-0.56	< 0.010
エクオール産生 <sup>b</sup>	-0.0054	-0.00083	1.0
尿中 MnBP 濃度	1.6	0.25	0.11
禁欲期間	0.19	0.022	0.85
喫煙 <sup>c</sup>	-1.6	-0.26	0.13
果物摂取 <sup>d</sup>	5.5	0.74	< 0.010
コーヒー摂取 <sup>e</sup>	-2.8	-0.35	0.010
尿中 ETP	-0.35	-0.053	0.73

\* 調整済み R<sup>2</sup> 値 0.53

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

a サンプリング時期 (2-3 月 : 0 / 5-7 月 : 1)

b エクオール産生 (検出下限値以上 : 1 / 検出下限値未満 : 0)

c 喫煙 (有 : 1 / 無 : 0)

d 果物摂取 (1 週間に 1 回以上摂取 : 1 / 摂取しない : 2)

e コーヒー摂取 (1 日 1 杯以上 : 1 / 飲まない : 2)

◆ 重回帰分析の結果（精子運動率と尿中パラベン類濃度との関連）

Table. a4-11 精子運動率と尿中 MP 濃度との関連 (n=42)

	t	標準化係数 $\beta$	p
年齢	-0.24	-0.035	0.81
BMI	1.3	0.21	0.20
サンプリング時期 <sup>a</sup>	0.32	0.062	0.75
尿中 3-PBA 濃度	-2.0	-0.34	0.054
尿中ダイゼイン濃度	0.91	0.13	0.37
エクオール産生 <sup>b</sup>	-2.5	-0.37	0.020
尿中 MnBP 濃度	0.52	0.078	0.61
禁欲期間	-1.1	-0.14	0.29
喫煙 <sup>c</sup>	2.1	0.34	0.050
果物摂取 <sup>d</sup>	1.1	0.15	0.28
コーヒー摂取 <sup>e</sup>	-3.6	-0.45	< 0.010
尿中 MP 濃度	-0.54	-0.080	0.59

\* 調整済み  $R^2$  値 0.49

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

<sup>a</sup> サンプリング時期（2-3 月：0／5-7 月：1）

<sup>b</sup> エクオール産生（検出下限値以上：1／検出下限値未満：0）

<sup>c</sup> 喫煙（有：1／無：0）

<sup>d</sup> 果物摂取（1 週間に 1 回以上摂取：1／摂取しない：2）

<sup>e</sup> コーヒー摂取（1 日 1 杯以上：1／飲まない：2）

Table. a4-12 精子運動率と尿中 EP 濃度との関連 (n=42)

	t	標準化係数 $\beta$	p
年齢	-0.11	-0.016	0.91
BMI	1.4	0.22	0.16
サンプリング時期 <sup>a</sup>	0.67	0.11	0.51
尿中 3-PBA 濃度	-2.0	-0.33	0.053
尿中ダイゼイン濃度	0.85	0.12	0.40
エクオール産生 <sup>b</sup>	-2.5	-0.37	0.018
尿中 MnBP 濃度	0.46	0.065	0.65
禁欲期間	-1.3	-0.18	0.21
喫煙 <sup>c</sup>	2.1	0.36	0.043
果物摂取 <sup>d</sup>	1.1	0.16	0.26
コーヒー摂取 <sup>e</sup>	-3.5	-0.44	< 0.010
尿中 EP 濃度	-0.68	-0.096	0.51

\* 調整済み  $R^2$  値 0.49

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

<sup>a</sup> サンプリング時期（2-3 月：0／5-7 月：1）

<sup>b</sup> エクオール産生（検出下限値以上：1／検出下限値未満：0）

<sup>c</sup> 喫煙（有：1／無：0）

<sup>d</sup> 果物摂取（1 週間に 1 回以上摂取：1／摂取しない：2）

<sup>e</sup> コーヒー摂取（1 日 1 杯以上：1／飲まない：2）



Table. a4-13 精子運動率と尿中 PP 濃度との関連 (n=42)

	t	標準化係数 $\beta$	p
年齢	-0.20	-0.030	0.84
BMI	1.4	0.21	0.18
サンプリング時期 <sup>a</sup>	0.46	0.086	0.65
尿中 3-PBA 濃度	-2.0	-0.33	0.057
尿中ダイゼイン濃度	0.92	0.14	0.36
エクオール産生 <sup>b</sup>	-2.4	-0.36	0.022
尿中 MnBP 濃度	0.47	0.070	0.65
禁欲期間	-1.1	-0.14	0.29
喫煙 <sup>c</sup>	2.1	0.34	0.050
果物摂取 <sup>d</sup>	1.1	0.15	0.28
コーヒー摂取 <sup>e</sup>	-3.5	-0.46	< 0.010
尿中 PP 濃度	-0.42	-0.059	0.68

\* 調整済み R<sup>2</sup> 値 0.49

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

<sup>a</sup> サンプリング時期 (2-3 月 : 0 / 5-7 月 : 1)<sup>b</sup> エクオール産生 (検出下限値以上 : 1 / 検出下限値未満 : 0)<sup>c</sup> 喫煙 (有 : 1 / 無 : 0)<sup>d</sup> 果物摂取 (1 週間に 1 回以上摂取 : 1 / 摂取しない : 2)<sup>e</sup> コーヒー摂取 (1 日 1 杯以上 : 1 / 飲まない : 2)

Table. a4-14 精子運動率と尿中 BP 濃度との関連 (n=42)

	t	標準化係数 $\beta$	p
年齢	-0.10	-0.015	0.92
BMI	1.4	0.21	0.17
サンプリング時期 <sup>a</sup>	0.41	0.074	0.69
尿中 3-PBA 濃度	-2.0	-0.32	0.060
尿中ダイゼイン濃度	0.93	0.14	0.36
エクオール産生 <sup>b</sup>	-2.5	-0.38	0.021
尿中 MnBP 濃度	0.49	0.070	0.63
禁欲期間	-1.2	-0.15	0.24
喫煙 <sup>c</sup>	2.1	0.36	0.044
果物摂取 <sup>d</sup>	11	0.15	0.30
コーヒー摂取 <sup>e</sup>	-3.6	-0.45	< 0.010
尿中 BP 濃度	-0.62	-0.087	0.54

\* 調整済み R<sup>2</sup> 値 0.49

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

<sup>a</sup> サンプリング時期 (2-3 月 : 0 / 5-7 月 : 1)<sup>b</sup> エクオール産生 (検出下限値以上 : 1 / 検出下限値未満 : 0)<sup>c</sup> 喫煙 (有 : 1 / 無 : 0)<sup>d</sup> 果物摂取 (1 週間に 1 回以上摂取 : 1 / 摂取しない : 2)<sup>e</sup> コーヒー摂取 (1 日 1 杯以上 : 1 / 飲まない : 2)

Table. a4-15 精子運動率と尿中 ETP との関連 (n=42)

	t	標準化係数 $\beta$	p
年齢	-0.065	-0.010	0.95
BMI	1.3	0.20	0.19
サンプリング時期 <sup>a</sup>	0.050	0.010	0.96
尿中 3-PBA 濃度	-2.2	-0.37	0.038
尿中ダイゼイン濃度	0.99	0.14	0.33
エクオール産生 <sup>b</sup>	-2.7	-0.42	0.013
尿中 MnBP 濃度	0.78	0.12	0.44
禁欲期間	-1.2	-0.15	0.24
喫煙 <sup>c</sup>	2.3	0.38	0.033
果物摂取 <sup>d</sup>	1.3	0.17	0.24
コーヒー摂取 <sup>e</sup>	-3.7	-0.48	< 0.010
尿中 ETP	-1.0	-0.16	0.32

\* 調整済み  $R^2$  値 0.50

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

<sup>a</sup> サンプリング時期 (2-3 月 : 0 / 5-7 月 : 1)

<sup>b</sup> エクオール産生 (検出下限値以上 : 1 / 検出下限値未満 : 0)

<sup>c</sup> 喫煙 (有 : 1 / 無 : 0)

<sup>d</sup> 果物摂取 (1 週間に 1 回以上摂取 : 1 / 摂取しない : 2)

<sup>e</sup> コーヒー摂取 (1 日 1 杯以上 : 1 / 飲まない : 2)

## Appendix 6

### 第6章 パラベン類曝露と女性生殖機能指標としての月経周期との関連

#### ● 順序ロジスティック回帰分析の結果（月経周期長と尿中パラベン類濃度との関連）

Table. a6-1 月経周期長<sup>a</sup>と尿中 MP 濃度との関連 (n=128)

	Odds	Odds 95%信頼区間		p
		下限値	上限値	
年齢	1.0	0.68	1.6	0.89
BMI	1.0	0.86	1.2	0.71
初経年齢	1.2	0.90	1.6	0.20
肉類摂取頻度 <sup>b</sup>	0.73	0.34	1.6	0.41
尿中 MP 濃度	0.88	0.62	1.3	0.49

\* カイ二乗値 2.9 (p=0.72)、R<sup>2</sup> 値 0.028 (Cox と Snell)

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

<sup>a</sup> 月経周期長は短周期群 (29 日以下)、中程度群 (30-36 日)、長周期群 (37 日以上) に 3 群分け

<sup>b</sup> 肉類摂取頻度は週 6 回未満/週 6 回以上 (基準) に 2 群分け

Table. a6-2 月経周期長<sup>a</sup>と尿中 EP 濃度との関連 (n=128)

	Odds	Odds 95%信頼区間		p
		下限値	上限値	
年齢	1.0	0.67	1.5	0.96
BMI	1.1	0.88	1.3	0.56
初経年齢	1.2	0.89	1.6	0.24
肉類摂取頻度 <sup>b</sup>	0.74	0.35	1.6	0.45
尿中 EP 濃度	1.0	0.82	1.3	0.86

\* カイ二乗値 2.5 (p=0.78)、R<sup>2</sup> 値 0.024 (Cox と Snell)

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

<sup>a</sup> 月経周期長は短周期群 (29 日以下)、中程度群 (30-36 日)、長周期群 (37 日以上) に 3 群分け

<sup>b</sup> 肉類摂取頻度は週 6 回未満/週 6 回以上 (基準) に 2 群分け

Table. a6-3 月経周期長<sup>a</sup>と尿中 PP 濃度との関連 (n=128)

	Odds	Odds 95%信頼区間		p
		下限値	上限値	
年齢	0.97	0.64	1.5	0.88
BMI	1.0	0.86	1.2	0.76
初経年齢	1.2	0.91	1.6	0.18
肉類摂取頻度 <sup>b</sup>	0.76	0.35	1.6	0.47
尿中 PP 濃度	0.85	0.70	1.0	0.10

\* カイ二乗値 5.1 (p=0.40)、R<sup>2</sup> 値 0.048 (Cox と Snell)

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

<sup>a</sup> 月経周期長は短周期群 (29 日以下)、中程度群 (30-36 日)、長周期群 (37 日以上) に 3 群分け

<sup>b</sup> 肉類摂取頻度は週 6 回未満/週 6 回以上 (基準) に 2 群分け

Table. a6-4 月経周期長<sup>a</sup>と尿中 BP 濃度との関連 (n=128)

	Odds	Odds 95%信頼区間		p
		下限値	上限値	
年齢	1.1	0.70	1.6	0.75
BMI	1.0	0.83	1.2	1.0
初経年齢	1.2	0.91	1.6	0.19
肉類摂取頻度 <sup>b</sup>	0.67	0.31	1.5	0.31
尿中 BP 濃度	0.83	0.70	0.99	0.037

\* カイ二乗値 7.1 (p=0.21)、R<sup>2</sup> 値 0.067 (Cox と Snell)

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

<sup>a</sup> 月経周期長は短周期群 (29 日以下)、中程度群 (30-36 日)、長周期群 (37 日以上) に 3 群分け

<sup>b</sup> 肉類摂取頻度は週 6 回未満/週 6 回以上 (基準) に 2 群分け

Table. a6-5 月経周期長<sup>a</sup>と尿中 ETP との関連 (n=128)

	Odds	Odds 95%信頼区間		p
		下限値	上限値	
年齢	1.0	0.67	1.6	0.94
BMI	1.0	0.83	1.2	0.98
初経年齢	1.3	0.94	1.7	0.13
肉類摂取頻度 <sup>b</sup>	0.72	0.34	1.6	0.41
尿中 ETP	0.73	0.56	0.96	0.027

\* カイ二乗値 7.2 (p=0.20)、R<sup>2</sup> 値 0.068 (Cox と Snell)

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

<sup>a</sup> 月経周期長は短周期群 (29 日以下)、中程度群 (30-36 日)、長周期群 (37 日以上) に 3 群分け

<sup>b</sup> 肉類摂取頻度は週 6 回未満/週 6 回以上 (基準) に 2 群分け

#### ◆ 重回帰分析の結果 (月経周期長と尿中パラベン類濃度との関連)

Table. a6-6 月経周期長と尿中 MP 濃度との関連 (n=128)

	t	標準化係数 $\beta$	p
年齢	-0.32	-0.032	0.75
BMI	0.73	0.074	0.47
初経年齢	1.9	0.19	0.060
肉類摂取頻度 <sup>a</sup>	1.4	0.14	0.18
尿中 MP 濃度	-1.5	-0.15	0.14

\* 調整済み R<sup>2</sup> 値 0.036

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

<sup>a</sup> 肉類摂取頻度は週 6 回未満/週 6 回以上 (基準) に 2 群分け

Table. a6-7 月経周期長と尿中 EP 濃度との関連 (n=128)

	t	標準化係数 $\beta$	p
年齢	-0.55	-0.056	0.58
BMI	1.2	0.12	0.25
初経年齢	1.6	0.16	0.11
肉類摂取頻度 <sup>a</sup>	1.2	0.12	0.23
尿中 EP 濃度	0.67	0.068	0.51

\* 調整済み R<sup>2</sup> 値 0.018

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

<sup>a</sup> 肉類摂取頻度は週 6 回未満／週 6 回以上（基準）に 2 群分け

Table. a6-8 月経周期長と尿中 PP 濃度との関連 (n=128)

	t	標準化係数 $\beta$	p
年齢	-0.54	-0.055	0.59
BMI	1.0	0.10	0.31
初経年齢	1.7	0.17	0.095
肉類摂取頻度 <sup>a</sup>	1.1	0.11	0.26
尿中 PP 濃度	-0.16	-0.015	0.88

\* 調整済み R<sup>2</sup> 値 0.014

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

<sup>a</sup> 肉類摂取頻度は週 6 回未満／週 6 回以上（基準）に 2 群分け

Table. a6-9 月経周期長と尿中 BP 濃度との関連 (n=128)

	t	標準化係数 $\beta$	p
年齢	-0.41	-0.042	0.68
BMI	0.77	0.079	0.44
初経年齢	1.7	0.17	0.089
肉類摂取頻度 <sup>a</sup>	1.2	0.13	0.22
尿中 BP 濃度	-0.95	-0.098	0.34

\* 調整済み R<sup>2</sup> 値 0.023

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

<sup>a</sup> 肉類摂取頻度は週 6 回未満／週 6 回以上（基準）に 2 群分け

Table. a6-10 月経周期長と尿中 ETP との関連 (n=128)

	t	標準化係数 $\beta$	p
年齢	-0.48	-0.049	0.63
BMI	0.85	0.086	0.40
初経年齢	1.8	0.18	0.072
肉類摂取頻度 <sup>a</sup>	1.2	0.12	0.25
尿中 ETP	-0.99	-0.10	0.33

\* 調整済み R<sup>2</sup> 値 0.023

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

<sup>a</sup> 肉類摂取頻度は週 6 回未満／週 6 回以上（基準）に 2 群分け

◆ 順序ロジスティック回帰分析の結果（月経周期長と尿中パラベン類濃度との関連）

Table. a6-11 月経周期長<sup>a</sup>と尿中 MP 濃度との関連（n=128）

	Odds	Odds 95%信頼区間		p
		下限値	上限値	
年齢	0.93	0.57	1.5	0.78
BMI	1.1	0.86	1.3	0.57
初経年齢	1.2	0.85	1.6	0.33
肉類摂取頻度 <sup>b</sup>	0.54	0.22	1.3	0.18
尿中 MP 濃度	0.84	0.56	1.3	0.39

\* カイ二乗値 4.3（p=0.51）、R<sup>2</sup> 値 0.041（Cox と Snell）

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

<sup>a</sup> 月経周期長は短周期群（24 日以下）、中程度群（25-38 日）、長周期群（39 日以上）（日本産科婦人科学会，1995）に 3 群分け

<sup>b</sup> 肉類摂取頻度は週 6 回未満／週 6 回以上（基準）に 2 群分け

Table. a6-12 月経周期長<sup>a</sup>と尿中 EP 濃度との関連（n=128）

	Odds	Odds 95%信頼区間		p
		下限値	上限値	
年齢	0.90	0.55	1.5	0.68
BMI	1.1	0.90	1.4	0.33
初経年齢	1.1	0.82	1.6	0.43
肉類摂取頻度 <sup>b</sup>	0.54	0.22	1.3	0.18
尿中 EP 濃度	1.1	0.86	1.5	0.39

\* カイ二乗値 4.3（p=0.50）、R<sup>2</sup> 値 0.041（Cox と Snell）

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

<sup>a</sup> 月経周期長は短周期群（24 日以下）、中程度群（25-38 日）、長周期群（39 日以上）（日本産科婦人科学会，1995）に 3 群分け

<sup>b</sup> 肉類摂取頻度は週 6 回未満／週 6 回以上（基準）に 2 群分け

Table. a6-13 月経周期長<sup>a</sup>と尿中 PP 濃度との関連（n=128）

	Odds	Odds 95%信頼区間		p
		下限値	上限値	
年齢	0.88	0.54	1.4	0.62
BMI	1.1	0.87	1.3	0.51
初経年齢	1.2	0.84	1.6	0.35
肉類摂取頻度 <sup>b</sup>	0.57	0.23	1.4	0.22
尿中 PP 濃度	0.91	0.73	1.1	0.39

\* カイ二乗値 4.3（p=0.50）、R<sup>2</sup> 値 0.041（Cox と Snell）

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

<sup>a</sup> 月経周期長は短周期群（24 日以下）、中程度群（25-38 日）、長周期群（39 日以上）（日本産科婦人科学会，1995）に 3 群分け

<sup>b</sup> 肉類摂取頻度は週 6 回未満／週 6 回以上（基準）に 2 群分け

Table. a6-14 月経周期長<sup>a</sup>と尿中 BP 濃度との関連 (n=128)

	Odds	Odds 95%信頼区間		p
		下限値	上限値	
年齢	0.95	0.58	1.6	0.84
BMI	1.0	0.84	1.3	0.72
初経年齢	1.2	0.84	1.6	0.36
肉類摂取頻度 <sup>b</sup>	0.51	0.21	1.3	0.14
尿中 BP 濃度	0.85	0.69	1.0	0.11

\* カイ二乗値 6.2 (p=0.29)、R<sup>2</sup> 値 0.059 (Cox と Snell)

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

<sup>a</sup> 月経周期長は短周期群 (24 日以下)、中程度群 (25-38 日)、長周期群 (39 日以上) (日本産科婦人科学会, 1995) に 3 群分け

<sup>b</sup> 肉類摂取頻度は週 6 回未満/週 6 回以上 (基準) に 2 群分け

Table. a6-15 月経周期長<sup>a</sup>と尿中 ETP との関連 (n=128)

	Odds	Odds 95%信頼区間		p
		下限値	上限値	
年齢	0.91	0.56	1.5	0.71
BMI	1.1	0.84	1.3	0.68
初経年齢	1.2	0.86	1.7	0.28
肉類摂取頻度 <sup>b</sup>	0.55	0.22	1.4	0.19
尿中 ETP	0.77	0.56	1.1	0.11

\* カイ二乗値 6.1 (p=0.30)、R<sup>2</sup> 値 0.057 (Cox と Snell)

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

<sup>a</sup> 月経周期長は短周期群 (24 日以下)、中程度群 (25-38 日)、長周期群 (39 日以上) (日本産科婦人科学会, 1995) に 3 群分け

<sup>b</sup> 肉類摂取頻度は週 6 回未満/週 6 回以上 (基準) に 2 群分け

## ● 二項ロジスティック回帰分析の結果 (月経周期の個人内変動と尿中パラベン類濃度との関連)

Table. a6-16 月経周期の個人内変動<sup>a</sup>と尿中 MP 濃度との関連 (n=125)

	Odds	Odds 95%信頼区間		p
		下限値	上限値	
年齢	0.74	0.47	1.2	0.20
BMI	0.90	0.73	1.1	0.37
初経年齢	1.1	0.75	1.5	0.78
月経痛の有無 <sup>b</sup>	2.8	0.84	9.0	0.094
尿中 MP 濃度	0.79	0.53	1.2	0.24

\* カイ二乗値 14.821 (p=0.063)、R<sup>2</sup> 値 0.065 (Cox & Snell)

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

<sup>a</sup> 周期の個人内変動は変動小群 (6.1 日以下)、変動大群 (6.2 日以上) に 2 群分け

<sup>b</sup> 月経痛の有無はほとんど無し/あり (基準) に 2 群分け

Table. a6-17 月経周期の個人内変動<sup>a</sup>と尿中 EP 濃度との関連 (n=125)

	Odds	Odds 95%信頼区間		p
		下限値	上限値	
年齢	0.74	0.47	1.2	0.19
BMI	0.89	0.71	1.1	0.30
初経年齢	1.0	0.74	1.4	0.90
月経痛の有無 <sup>b</sup>	2.9	0.88	9.5	0.080
尿中 EP 濃度	0.83	0.64	1.1	0.17

\* カイ二乗値 5.878 (p=0.66)、R<sup>2</sup> 値 0.070 (Cox & Snell)

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

<sup>a</sup> 周期の個人内変動は変動小群 (6.1 日以下)、変動大群 (6.2 日以上) に 2 群分け

<sup>b</sup> 月経痛の有無はほとんど無し／あり (基準) に 2 群分け

Table. a6-18 月経周期の個人内変動<sup>a</sup>と尿中 PP 濃度との関連 (n=125)

	Odds	Odds 95%信頼区間		p
		下限値	上限値	
年齢	0.69	0.44	1.1	0.12
BMI	0.90	0.73	1.1	0.36
初経年齢	1.0	0.74	1.4	0.88
月経痛の有無 <sup>b</sup>	3.0	0.89	10	0.076
尿中 PP 濃度	0.83	0.67	1.0	0.087

\* カイ二乗値 8.036 (p=0.43)、R<sup>2</sup> 値 0.079 (Cox & Snell)

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

<sup>a</sup> 周期の個人内変動は変動小群 (6.1 日以下)、変動大群 (6.2 日以上) に 2 群分け

<sup>b</sup> 月経痛の有無はほとんど無し／あり (基準) に 2 群分け

Table. a6-19 月経周期の個人内変動<sup>a</sup>と尿中 BP 濃度との関連 (n=125)

	Odds	Odds 95%信頼区間		p
		下限値	上限値	
年齢	0.73	0.46	1.2	0.18
BMI	0.91	0.73	1.1	0.40
初経年齢	1.0	0.73	1.4	0.94
月経痛の有無 <sup>b</sup>	2.7	0.84	8.9	0.094
尿中 BP 濃度	0.92	0.77	1.1	0.38

\* カイ二乗値 4.364 (p=0.82)、R<sup>2</sup> 値 0.058 (Cox & Snell)

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

<sup>a</sup> 周期の個人内変動は変動小群 (6.1 日以下)、変動大群 (6.2 日以上) に 2 群分け

<sup>b</sup> 月経痛の有無はほとんど無し／あり (基準) に 2 群分け



Table. a6-20 月経周期の個人内変動<sup>a</sup>と尿中 ETP との関連 (n=125)

	Odds	Odds 95%信頼区間		p
		下限値	上限値	
年齢	0.73	0.46	1.2	0.18
BMI	0.89	0.72	1.1	0.30
初経年齢	1.1	0.75	1.5	0.79
月経痛の有無 <sup>b</sup>	2.9	0.88	9.7	0.081
尿中 ETP	0.77	0.57	1.0	0.093

\* カイ二乗値 3.975 (p=0.86)、R<sup>2</sup> 値 0.078 (Cox & Snell)

\*\* 変数は強制投入法を用いて回帰モデルに投入

<sup>a</sup> 周期の個人内変動は変動小群 (6.1 日以下)、変動大群 (6.2 日以上) に 2 群分け

<sup>b</sup> 月経痛の有無はほとんど無し／あり (基準) に 2 群分け

## 業績リスト

### 【原著論文】

- (1) 西浜柚季子・吉永淳・飯田彩花・小西祥子・今井秀樹, 看護女子大学生の月経周期とその変動要因. 日本衛生学会誌, 70 ; 139-48, 2015.
- (2) Shoko Konishi, Yukiko Nishihama, Ayaka Iida, Jun Yoshinaga, Hideki Imai. The association of antimüllerian hormone levels with menstrual-cycle type and dysmenorrhea in young asymptomatic women. Fertility and Sterility, 102; 1439-43, 2014.
- (3) Yukiko Nishihama, Jun Yoshinaga, Ayaka Iida, Shoko Konishi, Hideki Imai, Miyuki Yoneyama, Daisuke Nakajima, Hiroaki Shiraishi. Association between paraben exposure and menstrual cycle in female university students in Japan. Reproductive Toxicology, 63; 107-13, 2016.
- (4) Yukiko Nishihama, Hiroki Toshima, Jun Yoshinaga, Yoshifumi Mizumoto, Miyuki Yoneyama, Daisuke Nakajima, Hiroaki Shiraishi, Susumu Tokuoka. Paraben exposure and semen quality of Japanese male partners of subfertile couples. Environmental Health and Preventive Medicine, 2017 (in press).

### 【学会発表】

#### 【口頭発表：5 件】

- (5) 西浜柚季子・飯田彩花・小西祥子・今井秀樹・吉永淳, 女性生殖能力の影響指標としての月経周期, 第 16 回環境ホルモン学会研究発表会, 2-E-10, 東京, 2013 年 12 月
- (6) 西浜柚季子・飯田彩花・吉永淳・今井秀樹・小西祥子・中島大介・米山美幸・白石寛明, パラベン類曝露による月経周期への影響, 日本人口学会第 66 回大会, テーマセッション『妊孕力と人口』(4), 東京, 2014 年 6 月
- (7) 西浜柚季子・飴田玲伽・吉永淳・小西祥子・中島大介・米山美幸・白石寛明・今井秀樹, 看護女子大学生における尿中パラベン類濃度の個人内・個人間変動, 第 85 回日本衛生学会学術総会, 10133, 和歌山, 2015 年 3 月

(8) 西浜柚季子・吉永淳・飯田彩花・中島大介・米山美幸・白石寛明・今井秀樹・小西祥子,  
女子大学生の血清中抗ミューラー管ホルモン (AMH) 濃度とパラベン類曝露との関係, 第  
86 回日本衛生学会学術総会, 10107, 旭川, 2016 年 5 月

(9) 西浜柚季子, パラベン曝露と月経周期との関連, 第 19 回環境ホルモン学会研究発表会,  
セッション 4「エストロゲン様物質の曝露と影響の包括的把握にむけた最新研究: 国立環  
境研究所の研究紹介」, 茨城, 2016 年 12 月

【ポスター発表: 2 件】

(10) 西浜柚季子・吉永淳・飯田彩花・小西祥子・今井秀樹・中島大介・米山美幸・白石寛  
明, 女子大学生のパラベン類曝露と月経周期, 第 17 回環境ホルモン学会研究発表会, P-04,  
東京, 2014 年 12 月 (優秀ポスター賞受賞)

(11) 西浜柚季子・登島弘基・吉永淳・水本賀文・米山美幸・中島大介・白石寛明・徳岡晋,  
男性の精液指標とパラベン類曝露との関係, 第 18 回環境ホルモン学会研究発表会, PE-5,  
栃木, 2015 年 12 月