

# 胎児期フタル酸エステル類曝露による男児生殖系への影響に関する研究

東京大学大学院 新領域創成科学研究科 環境システム学専攻  
環境健康システム学分野 076762 鈴木弥生 (2008年3月修了)  
指導教員 吉永淳 准教授

キーワード：フタル酸エステル類、内分泌かく乱化学物質、男児生殖系、肛門性器間距離、健康リスク評価

## 1. はじめに

1940年代以降急速に世界産業が発展するにつれ、農薬、殺虫剤、工業化学薬品等、多種多量の化学物質が環境中に放出されてきた。なかでも生物の内分泌系をかく乱し、野生生物やヒトの生殖系、神経系に影響を及ぼす可能性のある、内分泌かく乱化学物質に対する懸念が世界的にひろがっている<sup>(1)</sup>。諸外国では内分泌かく乱化学物質に関する詳細リスク評価が実施され、一部の化学物質については、胎児や小児に対する健康リスクが指摘されている<sup>(2)(3)</sup>。しかしながら、実際の内分泌かく乱化学物質によるヒトへの影響に関する調査は少なく、健康影響についてはまだよく分かっていない。そのため、ヒト健康影響を評価するうえで、疫学的調査に基づくデータの必要性はきわめて高い。

代表的な内分泌かく乱化学物質の一つに、フタル酸エステル類がある。フタル酸エステル類はプラスチックの可塑剤、保留剤、溶剤として、建材、雑貨、医療器具、日用品、化粧品などあらゆる製品に含まれ、一般公衆は日常的に多種類のフタル酸エステル類に曝露している。動物実験において、フタル酸エステル類は抗アンドロゲン作用を呈することがよく知られており、特に胎児期曝露が最も感受性が高く、結果としてオス生殖系発育不全を引き起こすことが分かっている<sup>(4)</sup>。ヒトに対する影響は未解明であるものの、近年欧州をはじめとして急速に増加している精巣ガンなどの精巣性発育不全症候群 (TDS) の一因としてフタル酸エステル類をはじめとした、内分泌かく乱化学物質の胎児期曝露が指摘されている<sup>(5)</sup>。このような懸念は動物実験の結果に基づくものであり、フタル酸エステル類曝露によって胎児期男性生殖系発達が影響を受ける可能性について調査した研究はきわめて限られている。

以上から、本研究では胎児期のフタル酸エステル類曝露レベルと胎児期男性生殖系発達との関連を調査することを目的とし、これらの関連から量 影響関係の解明を試みることにした。さらに最終的には、本結果をもとに、フタル酸エステル類曝露による健康リスク評価を行うこととした。

## 2. 方法

### 2-1. 対象者

2007年9月から2008年3月の間、都内のJ産婦人科を定期検診で訪れ、研究内容に同意の得られた妊婦99名、およびその出生児99名(うち男児53名、女児46名)とした。

### 2-2. 曝露評価

胎児期フタル酸エステル類曝露の指標として、母親の妊娠期曝露レベルを調査した。対象の母親から妊娠期間中スポット尿を一回サンプリングし、尿試料をグルクロン酸脱抱合、固相抽出による前処理の後、高速液体クロマトグラフタンデム質量分析計を用いて7種のフタル酸ジエステルの代謝産物である、9種のフタル酸モノエステルを分析した(表1)。

なお、スポット尿中水分量補正のため、日本人の標準的な尿比重 1.020 により代謝産物濃度を補正した。また、尿中代謝産物濃度から一日推定摂取量を算出するため、尿中クレアチニンの測定を行った。

表 1 対象フタル酸エステル類一覧

親化合物	代謝産物
フタル酸ジメチル (DMP)	フタル酸モノメチル (MMP)
フタル酸ジエチル (DEP)	フタル酸モノエチル (MEP)
フタル酸ジ-n-ブチル (DnBP)	フタル酸モノ-n-ブチル(MnBP)
フタル酸ブチルベンジル (BBzP)	フタル酸モノベンジル(MBzP)
フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)(DEHP)	フタル酸モノ(2-エチルヘキシル)(MEHP) フタル酸モノ(2-エチル-5-ヒドロキシヘキシル)(MEHHP) フタル酸モノ(2-エチル-5-オクソヘキシル)(MEOHP)
フタル酸ジイソノニル (DINP)	フタル酸モノイソノニル(MINP)
フタル酸ジオクチル (DnOP)	フタル酸モノ-n-オクチル(MnOP)

### 2-3. 胎児期発育状態調査

基本的な胎児期発育の指標として、出生体重、身長、頭囲を測定した。さらに胎児期の生殖系発達指標として、肛門性器間距離(Anogenital Distance; AGD)を用いることとした。具体的には出生時の肛門中心部から外生殖器の上端までの距離 (AGD1) および、肛門中心部から外生殖器の下端までの距離 (AGD2) を測定した。なお、AGD は、胎児期男性ホルモンレベルに比例して伸長することが知られ、動物実験において敏感な生殖毒性指標として用いられてきたエンドポイントである。

### 2-4. 統計解析

母親の妊娠期尿中フタル酸エステル類比重補正濃度 (ng/mL) は、対数正規分布をしいたため、対数変換した値を統計解析に用いた。また、AGD は、体の大きさによって左右されるため体重で補正した値を Anogenital Index (AGI, mm/kg) として解析に用いた。

胎児期のフタル酸エステル類曝露と、男児の生殖系発達 (AGI) との関連を解析するにあたり、相関分析 重回帰分析 カテゴリー分析 (Kruskal Wallis) を行った。統計解析には SPSS for Windows ver.12.0 を使用した。

## 3. 結果および考察

### 3-1. 胎児期フタル酸エステル類曝露評価

対象者 99 名 (出生児性別: 男児 53 名、女児 46 名) の尿中フタル酸エステル類代謝産物比重補正濃度(ng/mL、中央値)は、MMP (7.06)、MEP (6.46)、MnBP (50.7)、MBzP (4.27)、MEHP (6.29)、MEHHP (9.97)、MEOHP (10.0) であった (表 2)。この値は日本人妊婦の既往データとほぼ同じであったことから、一般的な日本人妊婦の曝露レベルであると考えられた。

### 3-2. 生殖系発達調査結果

男児の AGI<sub>1</sub>、AGI<sub>2</sub> はそれぞれ  $14.4 \pm 2.5$  および  $6.6 \pm 1.9$  mm/kg、女児の AGI<sub>1</sub>、AGI<sub>2</sub> はそれぞれ  $10.7 \pm 2.1$  および  $4.0 \pm 1.1$  mm/kg であった。既往報告<sup>(6)</sup>と同様に、男女の AGI には有意な差がみられた ( $p < 0.0001$ )。実験動物では AGD が男性ホルモンレベルに影響を受けることや、オスの AGD はメスの 2 倍であることが報告されていること<sup>(6)</sup>から、この差は生物学的蓋然性のある結果であると考えられた。

表2 尿中フタル酸エステル類代謝産物濃度（比重補正值、ng/mL、n=99）

	MMP	MEP	MnBP	MBzP	MEHP	MEHHP	MEOHP	MINP	MnOP
Min	1.69	0.469	16.2	0.0473	1.17	0.738	1.50	0.0112	0.0112
25%tile	4.93	3.56	34.2	2.49	3.44	6.53	6.76	0.0161	0.0161
50%tile	7.06	6.46	50.7	4.27	6.29	9.97	10.0	0.0204	0.0206
75%tile	11.8	19.6	91.3	10.9	8.57	14.3	14.9	0.0349	0.0358
Max	235	2020	271	732	38.5	46.5	53.9	38.8	2.44

### 3-3. 母親の尿中フタル酸エステル類代謝産物濃度と新生児 AGI との関連

本研究はフタル酸エステル類の抗アンドロジェン作用を調べることを目的としているため、以下では男児についての結果を述べる。女兒の統計解析結果は本論文付録に記した。

#### 【相関分析】

母親の妊娠期尿中フタル酸エステル類代謝産物濃度と新生児 AGI との関連について、単相関分析を行った。その結果、母親の妊娠期尿中 MnBP、MEHP 濃度と男児の AGI\_1 との間に負の相関関係がみられ、スピアマンの順位相関係数は、それぞれ-0.286 ( $p=0.038$ )、-0.261 ( $p=0.059$ )であった。散布図(図1)からは、母親の妊娠期尿中 MEHP 濃度と出生男児の AGI\_1 と間の関連は、負の傾向にあることが示唆された。

#### 【重回帰分析】

単相関の分析でみられた MnBP や MEHP 等の尿中代謝産物濃度と出生男児の AGI との間の負の関連について、さらに交絡因子を考慮した重回帰分析を行った。従属変数を AGI、独立変数として尿中フタル酸エステル類濃度、交絡因子として、母親の年齢、出生順位、在胎週数、妊娠期母親の喫煙有無(ダミー変数)、妊娠期の母親および父親の喫煙有無とし、全変数の強制投入法により重回帰分析を行った。有意な独立変数として選択された変数はなかったが、MnBP、MEHP 標準化係数は負の値であった。

MEHP に関しては、スピアマンの相関関係では有意であったにもかかわらず、重回帰分析では有意な独立変数として選択されなかった。この結果は、図1でみられる外れ値の存在による影響が大きかった可能性が考えられた。このはずれ値を除いた重回帰分析の結果では、は大きくなり、 $p<0.1$  となった。このように、一点のはずれ値によって結果が変化する要因としては、本研究のサンプルサイズが比較的小さいことが考えられた。

以上のように、本研究では、単相関、重回帰の結果、母親の尿中 MEHP 濃度や MnBP 濃度と男児の AGI\_1 との間に負の関連がみいだされたことから、胎児期の DEHP や DnBP 曝露によって、胎児期男性ホルモンレベルが変動することが示唆された。この結果は、Swanらの結果<sup>(7)</sup>と一部は類似し、一部は異なっていた。今回検討できなかった交絡因子の存在により、母親のフタル酸エステル類曝露と男児 AGI との間の関連性が修飾された可能性も考えられた。

出生男児の AGD の短縮は、胎児期のテストステロン低下によって引き起こされるものであり、これは、TDS 様症状の初期的な形態であると考えられる<sup>(8)</sup>。ごく最近の研究<sup>(8)</sup>では、停留精巣や尿道下裂の症状を持つ男児の AGD が短縮傾向にあることが示唆されており、AGD の短縮を、成人後の TDS 様症状を反映するエンドポイントとして考慮する必要

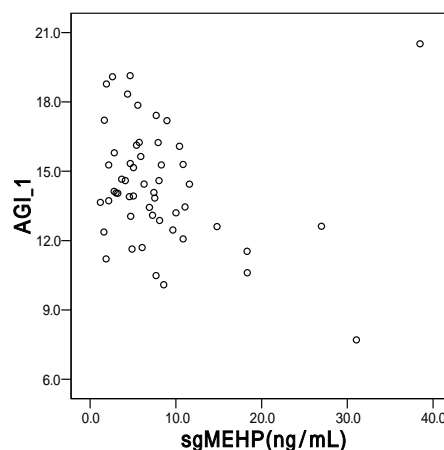


図1 母親尿中 MEHP 濃度と男児 AGI\_1 の散布図

があると考えられた。よって次に、本結果に基づく健康リスク評価を行うこととした。

### 3-4. 胎児期フタル酸エステル類曝露による健康リスク

#### 【カテゴリーによる比較】

母親の妊娠期尿中 MEHP 濃度の四分位ごとにカテゴリー1 から 4 までの群にそれぞれ分類し、そのカテゴリーごとに出生男児の AGI を、Kruskal Wallis により比較した。この結果、妊娠期間中の DEHP 曝露レベルの高い母親(カテゴリー4)から出生した男児では、AGI が短い傾向にあった(図2)。多重比較検定の結果、カテゴリー2 と 4 の男児 AGI<sub>1</sub> の間には有意差が見られた ( $p = 0.033$ )。

ここで、男児 AGI<sub>1</sub> との間に負の関連がみられた、母親の尿中 MEHP カテゴリー4 の対象者において、尿中代謝産物濃度から一日摂取量を推定すると、 $3.12 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  となった。この摂取量は、ラットの胎児期曝露によりオス AGI が短縮したレベルの  $750 \text{ mg}/\text{kg bw}/\text{day}$  を著しく下回る値であり、実験動物よりもヒトのほうがフタル酸エステル類に対する感受性が高い可能性が考えられた。

さらに、MEHP カテゴリー間で男児の AGI に有意差が見られたカテゴリー4 の母親の推定一日摂取量をヒトにおけるフタル酸エステル類曝露の最小毒性量 (LOAEL) として仮定し、不確実係数 10 (LOAEL から NOAEL への外挿に係る不確実係数 3 と、個人の感受性に関係するトキシコダイナミクスの不確実係数 3.2 を乗じておよそ 10 とした) で除して  $3.12/10 = 0.3 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  と耐容一日摂取量 (TDI) を推定した。この値と動物実験のデータに基づき算出された EFSA の TDI ( $50 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ ) と比較すると 200 倍もの開きがあった。日本人妊婦の DEHP 摂取量分布を参照すると、99% が本研究推定 TDI を超過したことから、今後より厳しいリスク管理を行う必要があると考えられた。

#### 4. 結論

本研究対象者のフタル酸エステル類曝露レベルは、一般的な日本人妊婦と同様のオーダーであった。しかしながら、母親の妊娠期尿中 MnBP や DEHP 代謝産物と男児の AGI との間に負の関連が見られたことから、日常的な曝露によっても男児の胎児期男性ホルモンレベルに影響が与えられることが示唆された。本研究をもとに推定した DEHP の TDI と現行 TDI との間には 200 倍の開きがあった。今後ヒトのフタル酸エステル類に対する感受性をさらに考慮したリスク評価が必要である。

#### 5. 展望

今後は胎児期フタル酸エステル類曝露と男児の胎児期男性ホルモンレベルとの関連についてより大規模な調査を行い、知見を蓄積するとともに、ヒト AGI と胎児期テストステロンレベルとの関連の調査や、リスク管理を視野に入れて、フタル酸エステル類の主要な曝露源を明らかにする必要があると考える。

#### 【参考文献】

- (1) Colborn et al., EP Dutton(1996), (2) US CERHR, <http://cerhr.niehs.nih.gov/chemicals/dehp/DEHP-final.pdf> (2006), (3) Health Canada, [http://www.chemicalsubstanceschimiques.gc.ca/challenge-defi/bisphenol-a\\_e.html](http://www.chemicalsubstanceschimiques.gc.ca/challenge-defi/bisphenol-a_e.html) (2008), (4) Gray et al., *Toxicol Sci*, 58:350-365 (2000), (5) Skakkebaek et al., *Hum Reprod*, 16:972-978 (2001), (6) Salazar-Martinez et al. *Environ Health* 3:8.doi:10.1186/1476-069x-3-8 (2004), (7) Swan SH et al., *Environ. Health. Perspect.* 113:1056-1061 (2005), (8) Hsieh et al. *Curr Urol Rep*, 9:137-142 (2008)

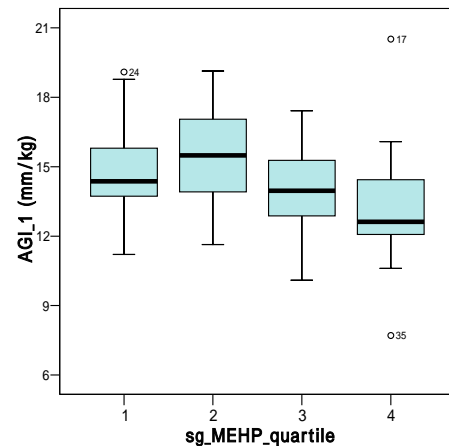


図2 母親尿中MEHP濃度カテゴリー毎の出生男児AGI<sub>1</sub>の分布