

不妊相談受診男性の精液所見とピレスロイド曝露の関連

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 096677 登島 弘基 (2011年3月修了)
指導教員 吉永淳 准教授

キーワード：ピレスロイド、精液所見、イソフラボン、尿中代謝産物

1. はじめに

「ピレスロイド」とは除虫菊に含まれる殺虫成分に類似した構造をもついくつかの物質のグループの総称である。昆虫のイオンチャネルのピレスロイド感受性が高いこと、ピレスロイドの作用は低温ほど高いこと、哺乳類の代謝活性が高いことから、ピレスロイドの哺乳類に対する毒性は昆虫と比較して低いことが知られている[1]。このように殺虫剤として適した特性を持つことから、1970年頃から有機リン系・有機塩素系殺虫剤等に代わって、農業用から家庭用まで殺虫剤として幅広く用いられるようになった。そのためヒトは経皮、経口、経気道と様々な経路から、日常的に曝露していると考えられる。

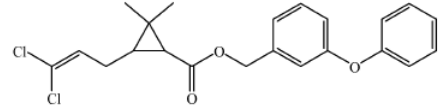


図1. ペルメトリンの構造式

体内に取り込まれたピレスロイドは、エステル部分が加水分解され、3-フェノキシベンジルアルコール(3-PBALC)、3-フェノキシベンズアルデヒド(3-PBALD)が生じる。その後酸化酵素によって、3-フェノキシ安息香酸(3-PBA)が生成する[2]。代謝過程で生成する3-PBALC、3-PBALDはエストロゲン活性を有し、その内分泌かく乱作用による影響が懸念されている[3]。例えば、動物実験においてピレスロイドの経口投与による精子の質の低下、テストステロンの減少などが報告されている[4]。ヒトにおいても職業曝露による血中ホルモンレベルへの影響、精液パラメータの低下が数件報告されているが、一般公衆レベルでのピレスロイド曝露と精液所見に関する報告はまだ限られている[5][6]。

疫学調査による要因と影響の間の因果関係の検証には、関連の一致性(集団や場所を変えても同じ結果が得られるか)、関連の妥当性(細胞毒性実験や動物実験などにより解明された結果と一致するか)、量-影響関係の確認などが重要であると考えられている。したがって、ピレスロイド曝露による精液所見への影響について更に調査を行う必要がある。

そこで本研究では、不妊相談で産婦人科を受診した日本人カップルの男性を対象とし、ピレスロイド曝露と精液検査データとの関連を、食生活や嗜好等に関する質問票データとあわせて解析し、ピレスロイド曝露による精液所見への影響を検討することを目的とする。

2. 方法

2-1. 対象者とサンプリング

2010年2月から2010年8月の間、都内の某産婦人科に不妊相談に訪れたカップルの、男性を対象とした不妊検査(精液、血中ホルモン、生殖器検査)を行った男性のうち、本調査への協力の同意を得られた42名を対象者とした。対象者からスポット尿を採取したほか、体重や年齢、食習慣について質問票による回答を得ている。なお本研究は東京大学倫理審査委員会にて承認を得た。

2-2. 精液所見に影響するその他の要因

精液所見に影響する要因として、年齢、BMI、禁欲期間、ビタミンC、E、カフェイン、植物性エストロゲン摂取等が報告されている。日常生活での食事摂取の傾向や、嗜好品、職業や居住地の環境、禁欲期間などに関するアンケートを精液検査時に尿サンプリング容

器と併せて配布し、尿サンプルと同時に回収した。

また、大豆製品に含まれるイソフラボンはエストロゲン作用があり、エストロゲン作用によって精液所見に影響を与える可能性が示唆されている。本研究はイソフラボンの中でも特にエストロゲン活性の高い Equol (EQ) に焦点を絞り共変量として検討した。

2-3. 尿中化学物質分析

各化学物質の曝露指標として、ピレスロイドはその主要代謝産物である尿中 3-PBA、イソフラボンは尿中に排泄される EQ を用いることとした。3-PBA は塩酸による脱抱合一固相抽出-LC/MS/MS で、EQ は酵素（グルクロニダーゼ/アシルサルファターゼ）による脱抱合一固相抽出-誘導体化-GC/MS でそれぞれ測定した。なお、サンプルにはスポット尿を用いているためクレアチニンによる濃度補正を行った。

2-4. 精液検査

診断の一環として行われた精液検査の結果を担当医師（共同研究者）から提供してもらった。検査項目は精液量、精子濃度、精子運動率、高速前進運動率、精子正常形態率であった。対象者の精液検査は精液量のみ、WHO と日本泌尿器科学会のガイドラインに準じた方法、その他の項目は Makler Chamber 法にて測定した。

2-5. 統計解析

対象者の尿中ピレスロイド代謝産物濃度(ng/mg cre)は、対数正規分布であったため対数変換した値を統計解析に用いた。2 群間の差の検定には t 検定、複数の群間変動については一元配置分散分析 (ANOVA)、二変量の関連性については Pearson の相関分析、多変量の関連性解析には重回帰分析を用いた。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. 尿中化学物質分析結果

対象者の尿中バイオマーカー濃度について表 1 に示す。尿中 3-PBA 幾何平均濃度は日本人男性の既往報告値 (0.32 ng/mg-cre) と同程度であったことから、日本人一般公衆の曝露レベルであると考えられる。また、EQ が検出された対象者 (EQ 産生能あり) は 42 名中 21 名中 (50%) であった。EQ は腸内細菌によって代表的なイソフラボンであるダイゼインから産生されるが、人により細菌叢が異なるので産生できる者とできない者がある。既往研究では、約 20~60%程度が産生者であると報告されている。

3-2. 尿中 3-PBA 濃度の変動要因

各食品の摂取頻度と尿中 3-PBA 濃度との関連について検討した。既往研究において、トマトの摂取頻度と尿中 3-PBA 濃度との間に関連がある事が報告されているが、本研究では、生野菜の摂取頻度との間に有意な関連は見られなかった。また生野菜以外の野菜、果物等その他の食品の摂取頻度と尿中 3-PBA との間にも有意な関連が見られなかった。食品の摂取頻度以外では、喫煙者の尿中 3-PBA 濃度は非喫煙者に比べ有意に高い結果となった。

3-3. 精液検査結果

対象者の各精液所見の平均値を表 1 に示す。日本泌尿器科学会の精液検査ガイドラインで定められている各検査項目の基準値を全項目について満たしている「正常精液」を持つ対象者は 42 名中 14 名 (33%) であった。

試料		GM	min	max
尿試料	3-PBA (ng/mg cre)	0.42	0.1	8.03
精液試料	精液量(mL)	3.3	1.1	7.1
	精子濃度(10^6 /mL)	62.5	0.8	236
	精子運動率(%)	34.8	6.8	85
	精子高速前進運動率(%)	13.2	1.4	57.5
	精子正常形態率(%)	32	12	56

3-4. 精液所見とピレスロイド曝露との関連

【正常精液群との比較】

尿中 3-PBA 濃度の幾何平均濃度は「正常精液」と診断された対象者は 0.33 ng/mg cre, GSD 1.81 (n=14)、そうでない対象者は 0.48 ng/mg cre, GSD 6.88 (n=28) となり、正常精液であった対象者の方が低い傾向が見られたが、有意ではなかった(図 2、t-test, p=0.146)。

【相関分析】

ピレスロイド曝露と連続変量としての精液所見との量 - 影響関係を検討するため、全対象者についてピアソンの相関分析をおこなった。尿中 3-PBA 濃度と高速前進運動率との間に有意な負の関係がみられた(図 3、 $r=-0.335$, $p=0.03$)。また、尿中 3-PBA 濃度と精子運動率にも有意ではないが、負の関係が見られた($r=-0.279$, $p=0.07$)。この結果から、一般公衆の曝露レベルにおいてもピレスロイド曝露と精子の運動率に関連がある可能性が示唆された。

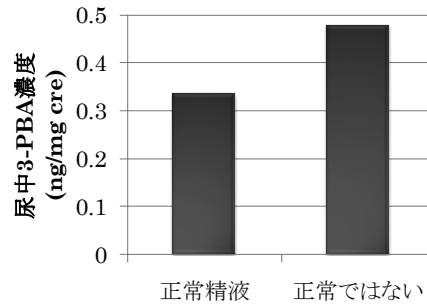


図 2. 尿中 3-PBA 濃度と精液所見

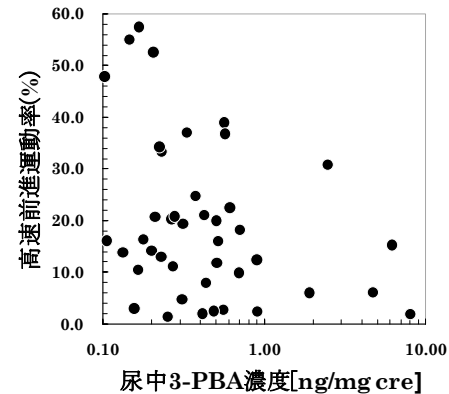


図 3. 尿中 3-PBA 濃度と高速運動率

3-5. 精液所見に変動を及ぼす可能性のある要因との関連

EQ 産生能と精液所見との関連

EQ 産生者は非産生者と比較して精子運動率(産生者平均: $32.5 \pm 16.8\%$ 、非産生者: $49.4 \pm 21.2\%$)、精子高速前進運動率(産生者平均: $13.1 \pm 8.1\%$ 、非産生者: $25.7 \pm 18.0\%$)が有意に低い結果となった。EQ は親化合物であるダイゼインに比べ強いエストロゲン活性をもち、またダイゼインよりも長い生物学的半減期をもつため、長期にわたり高い体内濃度を維持する。そのため、EQ 産生者は非産生者と比較してイソフラボン摂取によるエストロゲン作用の影響を強く受け、精液所見との間に関連が見られた可能性が示唆される。

この結果より、EQ 産生能は精液所見を調査する上で考慮すべき共変量であると考えられたため、ピレスロイド曝露と精液所見との関連について検討する為の重回帰分析を行う際に、独立変数として投入する事とした。

各食品の摂取頻度と精液所見との関連

各食品の摂食頻度と精液所見との関連について、t 検定、一元配置分散分析を行った。その結果、生野菜や果物の摂食頻度が高いほうが、精子濃度が有意に高かった。精液所見不良例に精液中に活性酸素が多いことが指摘されており、ビタミン E、ビタミン C には抗酸化作用があることから、野菜や果物の摂取頻度が多い対象者はビタミン C、E 等の摂取量が多いため、このような結果が得られた可能性がある。さらに、コーヒーを毎日飲む対象者はそうでない対象者に比べ精子運動率、精子高速運動率、正常形態率が有意に低い結果とな

った (図 4)。カフェイン摂取による精液パラメータの低下が既往研究で報告されており、コーヒー等からのカフェイン摂取が精液所見に影響を与えた可能性が示唆された。

3-6. 共変量を考慮した精液所見とピレスロイド曝露の関連【重回帰分析】

精液所見の変動については、上記のように複数の要因が考えられるため、ピレスロイド曝露との関連を重回帰分析によってさらに解析した。従属変数を精液量、精子濃度、精子運動率、高速前進運動率、精子正常形態率とし、独立変数には尿中 3-PBA 濃度、年齢、BMI、サンプリング時の禁欲期間、更に単変量分析で精液所見と関連がみられた EQ 産生能、野菜、果物、コーヒー摂取頻度を投入し、ステップワイズ法にて解析した。すると従属変数が精子運動率と高速前進運動率の場合に、尿中 3-PBA ($\beta=-0.40, p<0.01/\beta=-0.42, p<0.01$) が有意な負の関連を持つ変数として回帰モデルに選択された (表 2)。これらの結果から、食生活等を考慮しても、ピレスロイド曝露は精子の運動率を減ずる方向に寄与していることが示唆された。既往研究において、Zhang らは、実験動物へのピレスロイド曝露による精子運動率の低下、テストステロンや LH 等の血中ホルモンへの影響、ステロイド産生急性調節 (StAR) たんぱく質の減少を報告している [4]。この結果から、Zhang らはピレスロイド曝露により StAR たんぱく質によるコレステロールのライディッヒ細胞ミトコンドリア内膜への運搬が減じるため、コレステロールから生合成されるテストステロンが減少する可能性を示唆している。テストステロンは精子成熟に必要な不可欠なホルモンであり、テストステロン分泌が不十分であると、未熟で運動性に乏しい精子となる可能性がある。ピレスロイド曝露による精液所見への詳細な影響メカニズムは未だに明らかではないが、本研究で見られた精子運動率の低下は上に述べたように、ホルモンレベルの低下に伴う影響の可能性が示唆される。

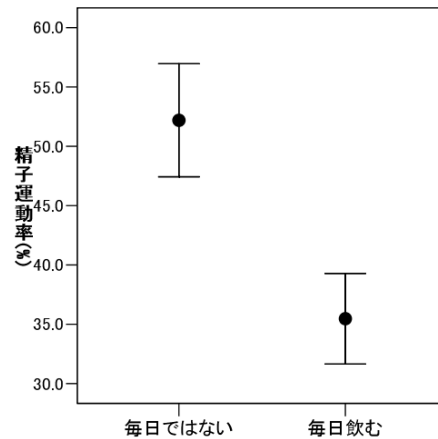


図 4. コーヒー摂取頻度と高速運動率

表2. 重回帰分析結果 (高速運動率)			
	標準化係数	有意確率	説明率
3PBA	-0.420	<0.01	0.483
EQ産生能	-0.393	<0.01	
喫煙	0.374	<0.01	
コーヒー	-0.308	<0.05	

3-7. 結論

本研究対象者のピレスロイド曝露は、日本人一般公衆と同レベルであった。しかしながら、尿中ピレスロイド代謝産物濃度は「正常精液」でない対象者が、有意ではないが「正常精液」対象者よりも高い結果となった。また、高速前進運動率、運動率との間に有意な負の関連が見られた。このことから、日常的なピレスロイド曝露によっても精液所見に影響がみられる可能性が示唆された。今後は遺伝要因など、精液所見不良の原因が明確な者を除き、同様の調査を行うなど、ピレスロイド曝露と精液所見の関連をより詳細に調査する必要がある。

参考文献

- [1] Elliot et al., *Pestic. Sci.*, **1989**, 27, 337. [2] Tyler et al., *Environ. Toxicol. Chem.*, **2000**, 19, 801. [3] McCarthy et al., *J. Environ. Monit.*, **2006**, 8, 197. [4] Zhang et al., *Endocrinology*, **2007**, 148(8), 3941. [5] Meeker et al., *Reprod Toxicol.*, **2009**, 27, 155. [6] Meeker et al., *Hum Reprod.*, **2008**, 89, 1743.