

# 論文の内容の要旨

## 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

## 第1章 緒言

近年、不妊治療を受けるカップルの増加が報告され、妊孕力（カップルの生物学的な生殖能力）の低下が懸念されている。妊孕力低下には、生理学的要因等さまざまな要因が関与していると考えられており、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。

パラベン類（パラヒドロキシ安息香酸エステル類）は、化粧品等のパーソナルケア製品（PCP）や医薬品、食品に防腐剤として使用される内分泌かく乱物質の一つである[1]。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の一つであるエストロゲン様作用があること[1]、雄ラットの精子数減少[2]といった報告がある。疫学調査では、パラベン類曝露と男性の精液指標との関連[3]および女性の卵子老化との関連[4]に関する報告があるのみであり、日本人を対象とした生殖機能との関連を見た調査は行われていない。主な曝露源としてPCPの使用が考えられているが、日本人を対象とした曝露源調査はない。

本研究では、パラベン類（メチル-（MP）、エチル-（EP）、プロピル-（PP）、ブチル-（BP））曝露による生殖可能年齢にある男女の生殖機能との関連を検討することを目的とした。その検討の結果、パラベン類曝露と女性生殖機能指標との間に有意な関連が見られたため、この知見を基に、パラベン類曝露によってヒトの妊孕力がどの程度低下するかを、受胎確率を用いて試算した。さらに、日本人のパラベン類曝露に関する知見を得るために、パラベン類の主要な曝露源とされるPCPの使用に関する調査も行った。

## 第2章 パラベン類曝露評価方法の検討

本章では、パラベン類の曝露指標として用いる尿中パラベン類濃度の測定方法（固相抽出法、LC-MS/MS法）を検討した。

分析条件の検討の結果、検出下限値は0.27（MP）、0.044（EP）、0.065（PP）、0.016（BP）ng/mLとなり、既往報告[3,4]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。また、尿試料前処理操作を含めた併行精度および再現性は 20%未満となり、許容範囲内であると判断した。外部分析機関とのクロスチェックも行い、結果に良い一致が見られたため、真度に関しても確認されたことから、本分析方法は尿中パラベン類濃度分析に適用可能であると判断した。

### 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

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」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、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。本章では、級内相関係数 (ICC) を用いて、スポット尿中パラベン類濃度が個人の長期曝露をどの程度反映しているかを検討することとした。

男性 10 人、女性 12 人を対象に、月に 1 回、計 5 回尿サンプリングを行い、尿中濃度を測定した。その結果、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” [5]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” [5]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、比較的長期の曝露を反映していると考えられた。

### 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

本章では、男性生殖機能指標として精液指標（精液量、精子濃度、精子運動率）を用いて、パラベン類曝露との関連を、共変量を考慮した重回帰分析を行い検討することとした。

一般男性 42 人（36.8±5.4 歳）の尿中パラベン類濃度の検出率は 88%以上であり、既往研究と同様の濃度レベルであった。統計解析の結果、精液指標との間には有意な負の関連は見られなかった（図 1）。動物実験[3]の結果と異なった原因として、動物実験での投与量よりもはるかに少なかったことが挙げられる。本研究の対象者の曝露レベルは、本対象者の精液指標には影響をおよぼさない程度であったと考えられる。

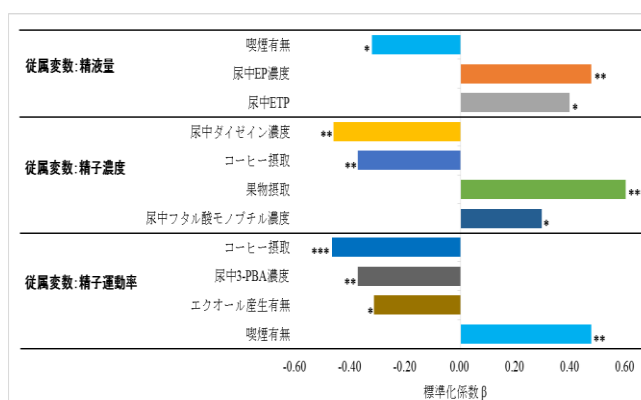


図 1 尿中パラベン類濃度と精液指標との関連に関する重回帰分析の結果

(\*: p< 0.05, \*\*: p< 0.01, \*\*\*: p< 0.001)

## 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

現在、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[6]を指標として用いる可能性を検討することを考えた。しかし、日本人女性の月経周期に関する基礎的情報は極めて限られている。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。

看護女子大学生 ( $20.4 \pm 0.9$  歳) 180 人の平均月経周期長は  $34.2 \pm 10.5$  日、周期の個人内変動の平均値は  $7.9 \pm 11.8$  日であり、日本人を対象とした既往報告値[7,8]よりも長かった。また、年齢が低い群は高い群に比べて周期長が有意に長く、個人内変動が大きかった。年齢幅が小さい集団にも関わらず、1 歳程度の差でも周期に変動をおよぼす可能性が考えられた。一方、月経痛が無いと答えた群はあると答えた群よりも個人内変動が大きかったが、この結果を説明するメカニズムは不明である。

## 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

本章では、パラベン類曝露と女性の生殖機能との関連を検討することを目的とした。女性の生殖機能指標には、第5章で検討した月経周期を用いることとした。

解析対象者は、看護女子大学生 128 人であった。群分けした月経周期長と尿中パラベン類濃度との関連を、共変量を考慮した順序ロジスティック回帰分析から検討したところ、尿中 BP 濃度およびエストロゲン等量 (ETP: パラベン類のエストロゲン活性量で重みづけした4種のパラベン類濃度の合計値) との間に有意な負

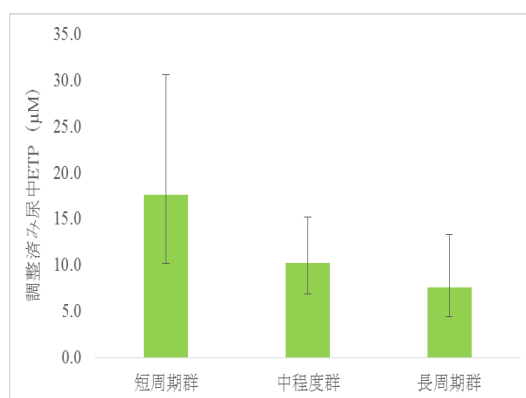


図2 対象者 128 名の月経周期群別調整済み尿中 ETP (幾何平均値)

の関連が見られた (図 2)。二項ロジスティック回帰分析の結果、群分けした周期と個人内変動と尿中パラベン類濃度との間には有意な関連は見られなかった。

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。一つの仮説として、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、月経周期が短くなったと考えられる。

## 第7章 パラベン類曝露による妊孕力への影響評価

本章では、第6章で得られた結果を基に、パラベン類曝露によって妊孕力がどの程度低下するのかを知るために、受胎確率 (FR) を用いて概算することとした。

まず、1) Wise et al. (2011)[6]の月経周期長および FR に関する報告から、回帰式を求め

た。次に、2) 第 6 章の結果に基づき、月経周期長の短周期群と中程度群の周期長の中央値 (27 日および 32 日) をそれぞれ 1) で求めた回帰式に代入して群ごとの FR を求め、中程度群の FR に対する短周期群の FR の割合から、FR の低下率を求めた。その結果、パラベン類曝露によって月経周期長が 5 日短縮すると、FR が 14% 低下すると見積もられた。

この結果は、市販の BP 含有日焼け止めを、指定された量だけ追加して使用すると、受胎待ち時間 (カップルが避妊をやめてから妊娠するまでの期間) が 11 カ月だった人が 12 カ月以上に延長し、「不妊」と診断される可能性を示すものである。

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

本章では、1) パラベンの主な曝露源と考えられている PCP の使用に関する調査を行い、2) 曝露指標である尿中濃度との関連を検討することを目的とした。

質問票調査から得られた PCP 使用品目数は、男性 (中央値 6 品目) よりも女性 (19 品目) の方が有意に多かった。PCP 使用品目数と尿中パラベン類濃度との関係について、Spearman の順位相関分析を行った結果、男女とも有意な関係は見られず、PCP が主要なパラベン類の曝露源であるという結論は得られなかった。この理由として、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が考えられた。日本人のパラベン類の曝露源に関する知見を得るために、PCP 以外の製品の使用も含む製品使用の定量的な調査を行うことが望まれる。

## 第 9 章 結言および今後の展望

パラベン類曝露と女性の生殖機能指標として用いた月経周期との間に有意な負の関連が見られた。この結果からパラベン類曝露によって妊孕力がどの程度低下するかを概算した。この結果は、パラベン類曝露がヒトに対する健康ハザードであることを示唆するものと考えられたため、リスクの大きさを FR の低下率として定量的に評価した。この知見は、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ものである。

将来的に、現在主要なパラベン類曝露源と考えられている PCP 使用に関する定量的な調査および PCP 以外のパラベン含有製品の使用実態調査を行い、日本人の曝露状況を反映した曝露源調査を行う必要である。得られた知見は将来行われるであろうリスク管理に役立つことが期待される。

## 引用文献

- [1] Soni et al. (2005) Food Chem. Toxicol. 43: 985-1015. [2] Oishi. (2001) Toxicol. Ind Health. 17(1): 31-9. [3] Meeker et al. (2013) Environ. Sci. Technol. 47(7): 3439-47. [4] Smith et al. (2013) Environ. Health Perspect. 121: 1299-305. [5] Rosner. (2010) Fundamentals of biostatistics (7th Ed). Boston, Thomson-Brooks/Cole. [6] Wise et al. (2011) Am. J. Epidemiol. 174(6): 701-9. [7] Matsumoto et al. (1962) Gunma J. Med. Sci. 11: 294-318. [8] 矢野ら (2005) 母性衛生. 45(4): 496-502.