

# 女子大学生のピレスロイド曝露と Anti-Müllerian hormone (AMH) との関係

2016年9月修了  
環境システム学専攻  
吉田好邦教授  
学生証番号：47-146797  
氏名：金子瑞穂

キーワード：ピレスロイド、Anti-Müllerian hormone、3 フェノキシ安息香酸

## 1. 研究背景

ピレスロイドは、除虫菊に含まれる有効成分の総称である除虫菊に含まれるピレトリン I と II を主成分とする殺虫成分及び関連する物質の総称である (Sun et al., 2007)。今日までに様々な各種誘導体が合成され、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。ピレスロイド類は昆虫類・両生類・爬虫類の神経細胞上の受容体に作用し、ナトリウムチャンネルを持続的に開くことにより脱分極を生じさせる神経毒であると報告されている。しかし、哺乳類・鳥類の受容体に対する作用は弱いことから、安全性の高い農薬、殺虫剤であると考えられ使用されてきた。

日常生活の中で、ピレスロイドを曝露していると考えられている。環境省環境保健部環境リスク評価室が行った、日本人における化学物質の曝露量についての調査でピレスロイドの代謝産物である 3PBA (3 フェノキシ安息香酸) の尿中濃度を測定した結果、中央値は  $0.24 \mu\text{g/g Cr}$  (クレアチニン補正) であった。

ピレスロイドの曝露経路については、経皮・経口・経気道曝露に可能性があることが報告されている。経皮曝露については、ピレスロイドの経皮曝露と尿中ピレスロイド代謝産物の関係の報告はない。しかし、皮膚に付いたピフェトリン、デルタメトリン、ペルメトリンの皮膚からの吸収率は 1-2% であると報告されている (Michael et al., 2010)。経口曝露については曝露経路を証明する報告はないが成人女性 347 人を

対象とした調査で、トマトの摂取頻度は尿中ピレスロイド代謝産物の変動要因となっていることがわかっている (Kimata et al., 2009)。また、経気道曝露については、3-11 歳の子供について調査したところ、殺虫剤使用は尿中ピレスロイド代謝産物の変動要因となっていることがわかっている (Lu et al., 2006)。

神奈川県衛生研究所が行った、シックハウス症候群原因物質としての農薬成分による室内環境汚染調査では、様々な化合物が検出され、シロアリ駆除剤、殺虫剤、防虫剤として用いられている 13 種のピレスロイド系化学物質が検出された (神奈川県衛生研究所, 2007)。比較的毒性といわれているものの、同時に多種類の化合物が使用された場合、健康への影響が懸念される。

安全性が高いと考えられてきたピレスロイドだが、近年発達や生殖に関する問題点が報告されている。とくに男性の生殖影響に関するものが多く、その一例として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、ヒトにおいても血中ホルモンレベルに影響があることが挙げられる (Meeker et al., 2008; 2009)。一方、女性の生殖への影響について示唆する疫学調査の報告がある。ピレスロイドと女性の生殖に関する先行研究として、2010-2011 年に南アフリカ リンポポ州の女性 442 人 (22~26 歳) を対象に行われた疫学調査がある (Whitworth et al., 2015)。この調査では、血漿中抗ミューラー管ホルモン (AMH) 濃度が測定されている。また、筆者らは質問票での調査を行い、年齢、BMI、収入、教育レベル、出産暦、コーヒーの摂取、アルコール

ルの摂取など、生活スタイルについて聞いている。筆者らは、その中の質問の一つで、Indoor Residual Spraying (IRS) と呼ばれる蚊対策のために壁にピレスロイド系殺虫剤を塗る方法を行っているのかを調査した。その結果ピレスロイドを使用している対象者の血中 AMH 値は、IRS を行っていない対象者に比べて 25% 低いことを報告している。それ以外の質問項目と血中 AMH 値との間の有意な関連は見いだされていないことから、筆者らは血中 AMH 値とピレスロイド曝露との間に関係があるのではないかと推測している。

この文献で測定された AMH とは、発育過程にある卵胞から分泌されるホルモンである。血中 AMH 値が原始卵胞から発育する前卵状卵胞数を反映すると考えられている (岩瀬ら, 日本婦誌)。不妊医療の現場では、AMH は卵巣内残る卵の数 (卵巣予備能、Ovarian reserve) を反映するものと考えられている。これまで不妊医療においては、FSH (卵胞刺激ホルモン) が用いられてきたが、感度が高くないことから、近年 AMH がより良い指標として注目されている。不妊治療の臨床以外でも AMH は婦人科の臨床で検査項目として測定されている。しかし場がら、近年使われ始めた指標でありデータは少なく、今後のデータ蓄積が非常に重要である。

## 2. 本研究の目的

日本人一般公衆が日常的に曝露している殺虫剤が、ヒト女性の生殖能力に何らかの影響を及ぼしている可能性を探ることは重要だと考える。本研究では、日本人の女子大学生を対象に、尿中代謝産物排泄レベルをピレスロイド曝露の指標として、血中 AMH 濃度との間の関連を解析することを目的とした。解析にあたり、食生活や嗜好等に関する質問票データを考慮することで、曝露と AMH 濃度との関連をより明確にしようと試みた。

## 3. 研究内容

研究室の先輩方が行ったサンプリングの尿と血液のうち、AMH の測定が行われてい

て、経口避妊薬を用いていない 57 サンプル使う。血液サンプルは外注で血中 AMH 値を測定した。ピレスロイド曝露を測定するために、前処理を行った後、ピレスロイド代謝産物の一つである尿中 3 フェノキシ安息香酸 (3PBA) を、高速液体クロマトグラフィー (LC/MS/MS) を用いて測定する。それらのデータから、ピレスロイド曝露による AMH への影響評価を行う予定である。

## 4. 結果と考察

### ▶ 検量線作成

ピレスロイド代謝産物を測定する高速液体クロマトグラフィー (LC/MS/MS) の諸条件を決定後、測定に向け検量線の作成を行った。検量線は二本作製し、高濃度範囲を含むもの (0, 10, 20, 30, 40, 50ppb (IS : 5ppb)) と低濃度範囲のもの (0, 2, 4, 6, 8, 10ppb (IS : 5ppb)) で測定を行った。どちらの検量線も、 $R^2 > 0.99$  となり直線性が優れていると判断した。また、検出下限値は 0.007 ng/mL であり、既往研究における日本の一般成人の尿中 3PBA 濃度幾何平均値が 0.63 ng/mL だったことを考慮し、この検出下限値は測定可能であると考えた。

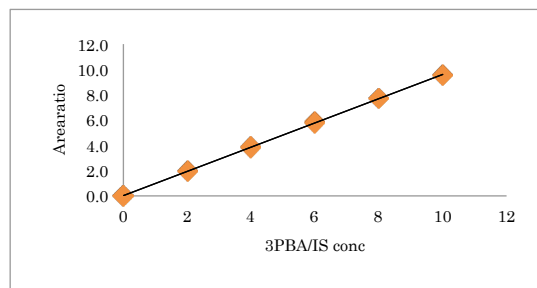


Fig. 1) 3PBA 検量線 (高濃度範囲)

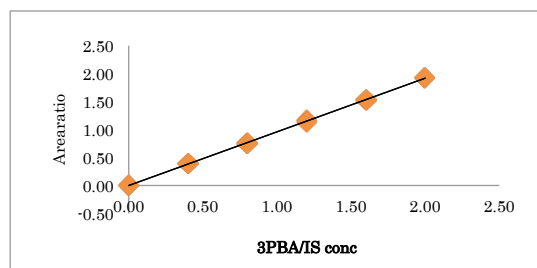


Fig. 2) 3PBA 検量線 (低濃度範囲)

➤ 前処理の検討

また前処理は以下 Fig. 3 のように行った。検討の結果、LC/MS/MS の溶離液と同じ 50% メタノールで再溶解した方が測定結果のピーク形状が良かったため、引用論文で用いているアセトニトリルからメタノールに変更することにした。

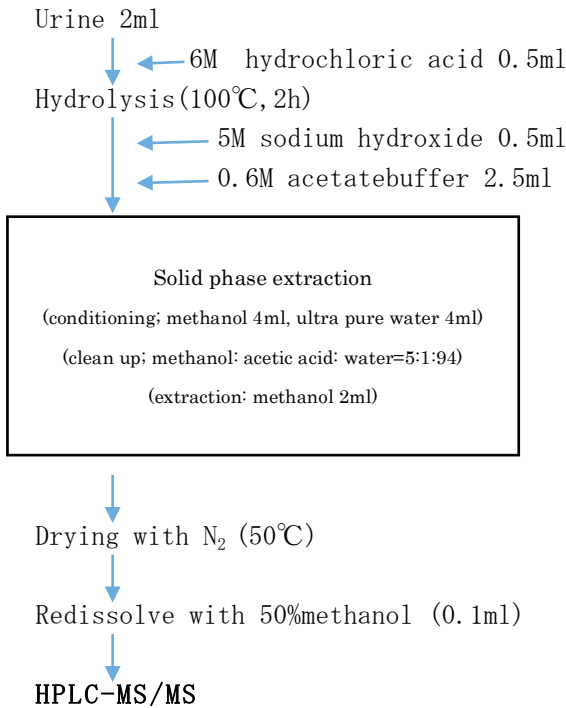


Fig. 3) 尿前処理フローチャート (3PBA 分析)

➤ 対象者の生物学的属性に

57 人の対象者の生物学的属性は以下のようであった

年齢

min : 20 max : 22 median : 21

身長

min : 147 max : 170 median : 159

体重

min : 42 max : 61 median : 52

BMI

min : 16.59 max : 26.06 median : 20.57

➤ AMH 測定結果

AMH の外注のデータをまとめると以下のようになった。

最低値 : 1.14 (ng/mL)

最高値 : 13.5 (ng/mL)

中央値 : 5.06 平均値 : 5.60

一般的に、AMH 値が 1ng/ml 以下の場合、早発閉経の可能性があり、4.0~5.0 (ng/mL) の場合は多嚢胞性卵巣症候群 (PCOS) の疑いがある。今回は対象者が女子大学生だったため、予想されるよりも高い血中 AMH 値であったと考えられる。

また、正規性の検討をした結果から、AMH は正規分布であることが確認できた。

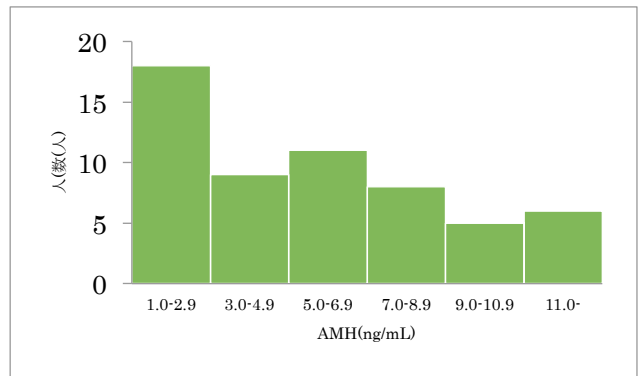


Fig. 4) ヒストグラム : AMH

➤ ピレスロイド代謝産物 3PBA 測定結果

ピレスロイド代謝産物 3PBA を測定するにあたり、ブランクテストを行った。その結果、ブランクテストの平均値は検量線中に換算したした場合 1.02 ng/mL、標準偏差は 0.27 となった。ブランクテストの結果から、検出下限値は 1.83 ng/mL (平均 ± 3SD) となり、全てのサンプルが検出下限値を超えた。今回、サンプルの測定結果からブランクテストの平均値を用いたものを結果に用いた。その後、尿中 3PBA 濃度を比重補正した後のデータを統計に用いた。また、尿中 3PBA の測定結果については、対数を取り正規性を確認することができた。これらの結果から、関連の解析を行った。

最低値 : 0.099 (ng/mL)

最高値 : 5.024 (ng/mL)

中央値 : 0.453 平均値 : 0.562

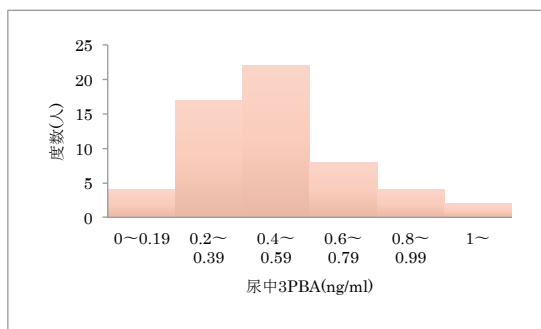


Fig. 5) ヒストグラム：比重補正後尿中 3PBA

➤ 血中 AMH 値と変動要因の検討

既往研究から、出産人数、アルコール摂取、コーヒー摂取、喫煙などを考慮する必要があると考えられた。これらのうち、質問表から結果が得られた受動喫煙、飲酒摂取頻度、コーヒー摂取を変動要因として考えた。しかし、これらの要因と血中 AMH 値との関連は見られなかった。

➤ 尿中代謝産物 3PBA と変動要因の検討

既往研究から、食生活(主に野菜)について検討する必要があると考えた。しかしながら、今回の質問表には野菜に関する質問は含まなかったため、その他の考えられる要因、受動喫煙、飲酒摂取頻度、肉摂取頻度、牛乳摂取頻度、乳製品摂取頻度、魚摂取頻度を要因として考えた。しかしながら、これらの要因と尿中 3PBA 値との関連は見られなかった。

➤ 重回帰分析の結果

本研究では、従属係数を血中 AMH 値とし、従属変数は尿中 3PBA 濃度、年齢、BMI、月経周期とし重回帰分析を行った。その結果、尿中 3PBA 濃度と血中 AMH 値の間に関係が見られなかった。

5. 結論

今回の研究では、尿中 3PBA 濃度と血中 AMH 値の間に関係が見られなかった。その理由としては、対象者のばら

つきが小さかったことや、尿中 PBA 濃度や血中 AMH 値の変動要因となっている原因などのさらなる検討が必要だった事が考えられる。しかしながら、ピレスロイド曝露と女性の生殖機能に関する報告は少ないことから、本研究のデータは重要であると言える。

6. 参考文献

H. Sun et al., Antiandrogenic Activity of Pyrethroid Pesticides and Their

Metabolite in Reporter Gene Assay., *Chemosphere.*, 66, 474-479, 2007

F.Michel et al., In vitro dermal absorption of pyrethroid pesticides in human and rat skin., *Toxicology and Applied Pharmacology*, 246, 29, 2010

J.Ueyama et al., urinary excretion of 3-phenoxybenzoic acid in middle-aged and elderly general population of Japan., *Environmental Research*, 109, 175-180, 2009

C. Lu et al., A longitude approach to assessing urban and suburban children's exposure to pyrethroid pesticides., *Environmental Health Perspectives*, 114, 1419, 2006

J.Meeker et al., Human Semen Quality and Sperm DNA Damage in Relation to Urinary Metabolites of Pyrethroid Insecticides., *Human Reproduction*, 23(8), 1932-40, 2008

J.Meeker et al., Pyrethroid insect metabolites are associated with serum hormone levels in adult men., *Reproductive Toxicology.*, 27, 155, 2009

K. Whitworth et al., Anti-Müllerian hormone and lifestyle, reproductive, and environmental factors among women in rural South Africa., *Epidemiology*, 26(3), 429-35, 2015

辻 清美、シックハウス症候群原因物質としての農薬成分による室内環境汚染に関する研究、神奈川県衛生研究所、2005

