

表4 (つづき) 血清中の有機塩素系農薬量 (血清総脂肪量当り)

op-DDT (ppb)

| | Selected percentiles | | | | | | Sample size |
|-----------|----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------|
| | 10th | 25th | 50th | 75th | 90th | 95th | |
| Total | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | 137 |
| Age group | | | | | | | |
| ~29 | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | 28 |
| 30~34 | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | 71 |
| 35~ | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | 39 |

LOD : 検出下限値

pp'-DDT (ppb)

| | Selected percentiles | | | | | | Sample size |
|-----------|----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------|
| | 10th | 25th | 50th | 75th | 90th | 95th | |
| Total | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | 17.2 | 137 |
| Age group | | | | | | | |
| ~29 | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | 28 |
| 30~34 | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | 16.2 | 71 |
| 35~ | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | 18.6 | 21.1 | 39 |

LOD : 検出下限値

マイレックス (ppb)

| | Selected percentiles | | | | | | Sample size |
|-----------|----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------|
| | 10th | 25th | 50th | 75th | 90th | 95th | |
| Total | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | 137 |
| Age group | | | | | | | |
| ~29 | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | 28 |
| 30~34 | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | 71 |
| 35~ | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD | 1.8 | 39 |

LOD : 検出下限値

平成15年3月10日

国立がんセンター総長 殿

所 属 国立がんセンター研究所支所
 申請者 職 名 臨床疫学研究部長
 氏 名 津金 昌一郎

※受付番号

| | | | |
|---|--|--|---|
| 1 審査対象 | <input checked="" type="checkbox"/> 研究計画 | <input type="checkbox"/> 出版公表原稿 | <input type="checkbox"/> 報告書 |
| 2 課題名 | 「多目的コホートにおける血液を用いた乳がんのコホート内症例・対照研究」 研究計画書 | | |
| 3 当センターの 研究代表者 | 所属 研究所支所 | 職名 臨床疫学研究部長 | 氏名 津金 昌一郎 |
| 4 当センターの 研究協力者 | 所属 研究所支所 研究所 | 職名 臨床疫学研究部室長 臨床疫学研究部主任研究官 臨床疫学研究部サチレジデント 臨床疫学研究部サチレジデント がん情報研究部部長 がん情報研究部研究員 | 氏名 花岡 知之 井上 真奈美 岩崎 基 三浦 努 祖父江 友孝 山本 精一郎 |
| <p>* 添付すべき書類</p> <p>(1) 審査対象が研究計画の場合、倫理審査委員会細則に定められた基準チェック項目に従って作成されたプロトコール、説明文書、説明と同意書、記録表などを必要部数添付すること。</p> <p>(2) 審査対象が出版公表原稿の場合、原稿のコピーを必要部数添付すること。</p> <p>(3) 審査対象が報告書の場合は所定の様式に必要事項を記入したものを添付すること。</p> | | | |

注意事項 1 審査対象欄は、当該欄□にレ印を記載すること。また、報告書とは倫理審査委員会で承認された計画について終了、中止、延長時の結果報告書をいう。

2 ※印は、記入しないこと。

5 研究の概要

乳がんのリスク要因として、早期の初潮、閉経の遅延、高齢出産、未経産、高身長、肥満など、エストロゲンなどのホルモンの体内レベルに影響を与える要因が知られている。しかし血中エストロゲンレベルを直接測定した前向き研究は少なく、日本人を対象とした研究はわずか1つである。一方、乳がんの抑制要因として野菜・果物の摂取が多いことが示唆されているが、栄養素として何が関連しているかは不明である。また大豆製品中に多く含まれる植物エストロゲンの乳がん発症抑制作用についても結論は出ていない。これまでに食物要因と乳がんの関連について摂取量ではなく血中レベルで検討した前向き研究は皆無に等しいのが現状である。エストロゲンレセプターに結合して内分泌系への影響を及ぼすことが危惧されている、いわゆる内分泌かく乱化学物質の暴露と乳がん発症との関連を検討した疫学研究についても、これまでにわが国では報告がない。

そこで多目的コホート研究(国立がんセンター倫理審査委員会平成13年10月承認)の一環として、すでに採取・保存されている血液試料を匿名化した上で用いて(今回申請部分)、その後に発症した乳がん種々の検査項目との関連をコホート内症例・対照研究の手法により検討する。血液検査項目としては、1) 内因性ホルモン関連: estradiol, sex hormone-binding globulinなど、2) 外因性ホルモン類似物質関連: イソフラボノイド、ビスフェノールA、フタル酸エステル類など、3) 抗酸化物質: ポリフェノール類、カロテノイド、ビタミンCなどを予定している。

6 研究対象および実施場所

岩手県二戸、秋田県横手、長野県佐久、沖縄県石川(以上、平成2年開始のコホートI)、茨城県水戸、新潟県柏崎、高知県中央東、長崎県上五島、沖縄県宮古、大阪府吹田市(以上、平成5年開始のコホートII)の10保健所管内に、研究開始時点で居住していた地域住民約67000人の女性対象者のうち、研究開始時に生活習慣質問票への回答および血液の提供のある者。研究は主として、これら11保健所管内およびがんセンター内で実施される。

7 研究における医学倫理的配慮について (A)、(B)は必ず記載すること。)

(A) 研究の対象とする個人の人権の擁護

対象者から得られたいかなる個人情報も保護される。個人情報保護安全管理措置マニュアルに従って、研究対象者に危険・不利益が及ばないように厳格に管理される。本人に対して、血液の採取・保存の際に次の内容を配布文書あるいは掲示文書に基づいて説明し、対象者の人権を擁護している。

1. 研究の目的と方法。
2. 研究へ参加する場合にもたらされる個人の利益と公共の利益。
3. 研究への参加に同意しない場合でも不利益を受けないこと。
4. 研究への参加に同意した後でも随時これを撤回できること。
5. その他研究参加者の人権保護に関し必要な事項。

(B) 被験者に理解を求め同意を得る方法

血液利用を含めた研究全体についてはパンフレットやニュース・レター、インターネット・ホームページを通じて、具体的方法などについて研究対象者個人および広く社会に広報している。血液検体については対象者に対してすべての地域で説明文書の個別配布、保健所職員による口頭説明、あるいは説明文書の掲示によって説明を行った。

一部地域(秋田横手、沖縄石川、大阪府吹田市)のみ同意書を用いて被験者本人の署名を得た。他の地域でも口頭による同意は受けている。すべての対象者で文書に基づく同意が受けられたわけではないが、同意を受けていないと仮定した場合でも血液試料を匿名化して利用することから、「疫学研究に関する倫理指針」10. 資料の保存および利用(2) 人体から採取された試料の利用①当該試料が匿名化されていることが適用されるものとする。

(C) 研究によって生じる個人への不利益と医学上の利益又は貢献の予測

血液試料の提供は健康診断の場を利用しており、研究のために別個に時間や労力を強いるものではなかった。血液試料の提供の可否も十分な説明を受けた上での対象者の自由意志に基づいていた。同時に個人への利益になることを意図した研究成果や健康情報がニュースレターにより継続的に配布される。また、研究から得られた個人情報、外部に漏れた場合には、就職や生命保険加入の際の障害など、社会における不当な差別などにつながる可能性が考えられるが、本研究計画の測定項目の範囲内においては、その可能性はない。また、個人識別情報を別個に管理するなど、個人情報保護安全管理措置マニュアルに従って、研究対象者に危険・不利益が及ばないように厳格に管理される。

研究により、乳がんの予防につながる科学的根拠が得られる。そして、それを保健行政の施策に反映させることにより、多くの日本国民や世界の人々の乳がんの発症を未然に防ぐことが期待される。

(D) 研究期間

平成2年（コホートⅠ）および平成5年（コホートⅡ）より追跡中のデータ（③）と研究開始時に採取・保存されている血液試料（②）および生活習慣質問票（①）を用いて、倫理審査委員会の承認が得られた後1年ほどの予定で血液試料の分析とその結果に基づく解析を行う。

① 生活習慣質問票の回答時期

コホートⅠ 平成2年2月 ～ 平成3年5月
コホートⅡ 平成5年2月 ～ 平成7年5月

② 血液の採取時期

コホートⅠ 平成2年4月 ～ 平成4年10月
コホートⅡ 平成5年4月 ～ 平成6年11月

③ 実質追跡期間

コホートⅠ 平成2年1月1日 ～ 平成14年12月31日
コホートⅡ 平成5年1月1日 ～ 平成14年12月31日

(E) その他

コホート研究全体に関しては国立がんセンター倫理審査委員会にて平成13年10月承認を受けた。しかしながら、その中で血液試料の利用に関しては別途計画書を作成し、審査申請を行う旨が明記されているので、本申請を行った。血液が採取された当時（コホートⅠは平成2年、コホートⅡは平成5年）は対象者に対して何ら介入を行わない観察型の疫学研究参加に際しての説明と同意が現在ほど重要視されていなかったが、可能な限りの説明（全地域）と同意（一部は口頭による）が備わっている。さらに、データは個人識別を行わないいわば匿名化した状態で扱うことを鉄則としている。また、研究を推進する上で個人情報の保護、安全管理には厳重に対処している。

胃がんに関して同様の研究計画を平成14年8月9日に国立がんセンター倫理審査委員会に申請し、平成14年11月27日に承認を受けている。

多目的コホートにおける
血液を用いた乳がんのコホート内症例・対照研究
研究計画書

厚生労働省がん研究助成金による指定研究班
「多目的コホートによるがん・循環器疾患の疫学研究」班

国立がんセンター、国立循環器病センター、
岩手県二戸保健所、秋田県横手保健所、長野県佐久保健所、沖縄県石川保健所、
茨城県水戸保健所、新潟県柏崎保健所、高知県中央東保健所、
長崎県上五島保健所、沖縄県宮古保健所、大阪府吹田保健所・他

目次

| | |
|------------------|---|
| 1. 研究の概要 | 3 |
| 2. 背景 | 3 |
| 3. 目的 | 3 |
| 4. 研究デザイン | 3 |
| 5. 測定予定血液検査項目 | 3 |
| 6. 対象者 | 4 |
| 7. 予定対象者数 | 4 |
| 8. 研究方法 | 5 |
| 9. 説明と同意 | 6 |
| 10. 個人情報保護安全管理措置 | 7 |
| 11. データ解析と結果の公表 | 7 |
| 12. 研究組織 | 7 |

1. 研究の概要

多目的コホート研究 (JPHC Study) の対象者について、ベースライン時 (コホート I は 1990 年、コホート II は 1993 年) に採取・保存されている血液試料を用いて、その後に発症した乳がんと血液を利用して測定した暴露要因との関連を、コホート内症例・対照研究の手法により検討する。

2. 背景

乳がんのリスク要因として、早期の初潮、閉経の遅延、高齢出産、未経産、高身長、肥満など、エストロゲンなどのホルモンの体内レベルに影響を与える要因が知られている。しかし血中エストロゲンレベルを直接測定した前向き研究は少なく、日本人を対象とした研究はわずか 1 つである。一方、乳がんの抑制要因として野菜・果物の摂取が多いことが示唆されているが、栄養素として何が関連しているかは不明である。また大豆製品中に多く含まれる植物エストロゲンの乳がん発症抑制作用についても結論は出ていない。これまでに食物要因と乳がんの関連について摂取量ではなく血中レベルで検討した前向き研究は皆無に等しいのが現状である。エストロゲンレセプターに結合して内分泌系への影響を及ぼすことが危惧されている、いわゆる内分泌かく乱化学物質の暴露と乳がん発症との関連を検討した疫学研究についても、これまでにわが国では報告がない。

3. 目的

乳がんの発症に関連する要因をベースライン時に得られた血液を利用して検討する。

4. 研究デザイン

コホート内症例・対照研究

5. 測定予定血液検査項目 (すべて血漿を用いる)

1) 内因性ホルモン関連:

estradiol、sex hormone-binding globulin など。

生体内でのエストロゲンなどのホルモンレベルは、乳がんそれ自体によって、また治療によって変化するため、コホート内症例・対照研究のような前向きデザインでの検討が必須である。

2) 外因性ホルモン類似物質関連:

イソフラボノイド、ビスフェノール A、フタル酸エステル類など。

大豆製品の摂取量が多い日本人に乳がんが少ないことから、大豆製品中に多く含まれる植物エストロゲン（イソフラボノイドなど）が生体内のエストロゲン作用に拮抗することにより、乳がんの発症を抑制するのではないかという仮説が想定されているが、血中レベルでの検討は皆無である。またエストロゲン類似作用が示唆されているビスフェノール A、フタル酸エステル類などの内分泌かく乱化学物質と乳がん発症の関連を検討した研究も皆無である。

3) 抗酸化物質：

ポリフェノール類（カテキン類、フラボノイド類、その他のポリフェノール類など）、カロテノイド（ α -カロテン、 β -カロテン、リコペン、キサントフェン類など）、ビタミン C など。

野菜・果物に含まれる栄養素のうち、DNA の酸化的損傷に対する抑制作用から、抗酸化物質（抗酸化ビタミン類、ポリフェノール類）の乳がん発症に対する抑制効果が期待される。しかしながら、多くの研究は抗酸化物質の摂取量と乳がんとの関連を検討するにとどまり、血液を用いた検討は非常に少なく、血液データを用いてより詳細な検討を行う価値は高い。

6. 対象者

6-1 適格条件

- 1) 岩手県二戸、秋田県横手、長野県佐久、沖縄県石川（以上、1990 年開始のコホート I）、茨城県水戸、新潟県柏崎、高知県中央東、長崎県上五島、沖縄県宮古、大阪府吹田市（以上、1993 年開始のコホート II）の 10 保健所管内に、研究開始時点で居住していた女性の地域住民約 67000 人
- 2) 研究開始時に血液の提供のある者
- 3) 研究開始時に質問票への回答のある者

6-2 除外条件

- 1) 乳がんの既往者
- 2) 追跡開始後不適格者（外国人、対象地域外に居住、年齢不適判明者）

7. 予定対象者数

7-1 症例

研究期間内に組織学的に診断された乳がん患者でベースライン時に質問票への回答および血液の提供のある者（コホート I：94 名、コホート II：50

名、計 144 名)。

症例と対照を 1:2 でマッチし、暴露要因を対照群の分布に基づき 4 分位に分けたときの最下位群に対する最上位群のオッズ比を 2.0 とした場合、この症例数での検出力は 90% である。逆に、暴露要因を対照群の分布に基づき 4 分位に分け、最下位群に対する最上位群のオッズ比を 2.0 とすると検出力 80% および 90% において有意水準 5% のもとで必要なサンプル数はそれぞれ 108 および 146 である。

7-2 対照

症例の乳がん発症日(診断日)に乳がんにかかっていない対象者のうち、ベースライン時に質問票への回答および血液の提供のある者で、症例と年齢(±3 歳)、地域(市町村レベル)、採血年月日(±60 日)、採血時刻(±2 時間)を 1:2 でマッチングした者(計 288 名)。

8. 研究方法

8-1 ベースライン調査およびフォローアップ調査

「厚生省コホート研究班コホート I 実施要綱」(資料 1)「厚生省コホート研究班コホート II 実施要綱」(資料 2)に基づいてベースライン調査(生活習慣アンケート調査、血液の採取・保存)、フォローアップ調査(異動、死亡、疾病罹患の把握)そして「多目的コホートによるがん・循環器疾患の疫学研究研究計画書—平成 13 年度改訂版—」(国立がんセンター倫理審査委員会平成 13 年 10 月承認)(資料 3)にもとづいてフォローアップ調査を実施してきた。

8-2 血液の採取・保存

血液の採取・保存の方法については添付資料のマニュアルに従って実施した(資料 4)。血液検体は Box No. と通算 No. によって匿名化され、地域別に保存されている。コホート対象者個人を特定する情報は個人情報保護・安全管理マニュアル(資料 3: 添付資料 4)に基づいて別途厳重に保管されている。

8-3 検体の測定方法

1) 内因性ホルモン関連

estradiol、sex hormone-binding globulin など:
RIA により測定する。

2) 外因性ホルモン関連

イソフラボノイド:

電気化学検出器(ESA Model 5500)を用いて高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により測定する。

ビスフェノール A、フタル酸エステル類:

質量分析器を用いて高速液体クロマトグラフィー (HPLC) またはガスクロマトグラフィー (GC) により測定する。

3) 抗酸化物質

ポリフェノール：

電気化学検出器 (ESA Model 5500) を用いて高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により測定する。

カロテノイド：

UV 検出器を用いて高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により測定する。

ビタミンC：

比色法により測定する。

9. 説明と同意

9-1 説明

血液利用を含めた研究全体についてはパンフレット (資料3: 添付資料1) やニュース・レター (資料3: 添付資料3)、インターネット・ホームページ (資料3: 添付資料2) を通じて、具体的方法などについて研究対象者個人および広く社会に広報している。血液検体については対象者に対してすべての地域で説明文書の個別配布 (資料5)、保健所職員による口頭説明、あるいは説明文書の掲示によって説明を行った。

9-2 同意

一部地域 (秋田横手、沖縄石川、大阪吹田) のみ同意書を用いて被験者本人の署名を得た (資料6)。他の地域でも口頭による同意は受けている。すべての対象者で文書に基づく同意が受けられたわけではないが、同意を受けていないと仮定した場合でも血液試料を匿名化して利用することから、「疫学研究に関する倫理指針」10. 資料の保存および利用 (2) 人体から採取された試料の利用①当該試料が匿名化されていることが適用されると考える。

10. 個人情報保護安全管理措置

追跡調査によって収集される死亡・住所異動・疾病罹患などの個人情報や既に収集されている生活習慣・健康診査・血液などの個人情報については、厚生労働省多目的コホート研究班・個人情報保護安全管理措置マニュアル (資料3: 添付資料4) に従って、コホート研究対象者に危険・不利益が及ばないように厳格に管理する。

11. データ解析と結果の公表

個人識別情報を外したデータを用いて集団として統計的な解析を行う。

具体的解析内容

- 1) 各血液検査項目と乳がん罹患との関連を Conditional logistic model を用いて検討する。
- 2) 必要に応じて多変量解析を行い、交絡要因を調整する。
- 3) 期間(採血時期から乳がん発症まで)で層別化した解析を行う。

研究の成果は、専門家による審査システムのある学術誌に公表すると共に、研究対象者個人に対してはニューレターを通じて、また、社会に対してはホームページ (<http://www.east.ncc.go.jp/epi/jphc>) を通じて還元する予定である。

12. 研究組織

12-1 本研究計画の研究組織

担当研究者

岩崎 基

共同研究者

井上 真奈美、花岡 知之、三浦 努、祖父江 友孝、山本 精一郎

12-2 多目的コホート研究班の研究組織

厚生労働省がん研究助成金による指定研究班「多目的コホートによるがん・循環器疾患の疫学研究」(13指-2)(主任研究者：国立がんセンター研究所支所臨床疫学部長・津金昌一郎)において、国立がんセンター、国立循環器病センター、全国11の保健所などとの共同研究として実施している。

平成14年度の研究班の構成：

国立がんセンター・国立循環器病センター研究者

津金昌一郎(国立がんセンター・部長、主任研究者)、万波俊文(国立循環器病センター・集団健診部)、花岡知之(国立がんセンター・室長)、井上真奈美(国立がんセンター、主任研究官)、祖父江友孝(国立がんセンター・部長)、渡辺昌(東京農業大学・教授)、小西正光(愛媛大学・医学部長)、佐藤真一(大阪府立健康科学センター・部長)、夏川周介(日本農村医学研究所・部長)、磯博康(筑波大学・教授)、梶村春彦(浜松医科大学・教授)、坪野吉孝(東北大学・助教授)、佐々木敏(国立健康栄養研究所)

協力保健所長

佐野譲（岩手県二戸保健所・所長）、古杉譲（秋田県横手保健所・所長）、伊藤史子（東京都葛飾保健所・所長）、渡辺庸子（長野県佐久保健所・所長）、金城マサ子（沖縄県中部福祉保健所・所長）、藤枝隆（茨城県水戸保健所・所長）、阿部俊幸（新潟県柏崎保健所・所長）、圓山誓信（大阪府吹田保健所・所長）、石川善紀（高知県中央東保健所・所長）、浦田実（長崎県上五島保健所・所長）、高江洲均（沖縄県宮古保健所・所長）

班長協力者

鈴木一夫（秋田県立脳血管研究センター・部長）、味木和喜子（大阪府立成人病センター・課長補佐）、高島豊（杏林大学・教授）、安田誠史（高知医科大学、助教授）、本田靖（筑波大学・助教授）、丸山英二（神戸大学大学院・教授）古野純典（九州大学大学院・教授）、野田光彦（朝日生命糖尿病研究所・主任研究員）

倫理・法律面担当

丸山英二（神戸大学・教授）

研究事務局

国立がんセンター研究所支所 臨床疫学研究部内

〒277-8577 千葉県柏市柏の葉6-5-1

TEL 04-7134-6935, FAX 04-7134-6862、e-mail:jphcadmin@east.ncc.go.jp

添付資料一覧

- 資料1 厚生省コホート研究班コホートI実施要綱 (抜粋)
- 資料2 厚生省コホート研究班コホートII実施要綱 (抜粋)
- 資料3 多目的コホートによるがん・循環器疾患の疫学研究研究計画書—平成13年度改訂版—
- 資料4 厚生省コホート研究班血液採取保存のためのマニュアル
- 資料5 血液採取にあたっての説明文書
- 資料6 血液採取にあたっての(説明と)同意文書

厚生労働科学研究費補助金(生活安全総合研究事業)
分担研究報告書

職業性曝露による健康影響に関する疫学研究

分担研究者 高橋 謙 産業医科大学産業生態科学研究所 環境疫学 教授

研究要旨 化学物質の職業性曝露による成人男性の生殖系への影響に関連する約200文献を総説し、内分泌かく乱化学物質(EDC)の職業性曝露による成人男性の生殖系への影響に関する知見を総括した。いくつかのEDCが存在する可能性は示されたが、合理的に一定の結論を導くだけのエビデンスは不足していることが明らかとなった。職業性曝露によるヒト(特に成人男性)生殖系への影響に関する研究は、90年代初頭以降にEDCの概念が導入されたことにより、既知の単一化学物質への比較的大量曝露による生殖毒性研究という枠組みが変更され、内分泌かく乱作用の可能性のある化学物質の探索、さらに微量複合曝露の影響評価へと研究目的がシフトしてきた。標準化された男性生殖機能評価法の導入や鋭敏な研究デザイン等が徐々に浸透しているものの、職業性曝露集団の同定やヒトでの曝露評価の困難さゆえに、知見は限られ、いくつかの化学物質についてEDCによる健康影響の可能性が指摘される現状にとどまっている。職業性曝露が疑われる集団を対象に、より広範囲の探索と精緻な疫学研究を行う必要がある。ビスフェノールAとフタル酸エステル類の男性内分泌系への影響を検証するために、職域曝露集団の協力を得て横断面研究を計画し、プロトコールを作成し倫理審査委員会に申請した。

研究協力者

花岡知之・国立がんセンター研究所
支所臨床疫学研究部室長

A. 研究目的

「内分泌攪乱化学物質の職業性曝露による成人男性の生殖系への影響に関する研究」論文を総説し、関連知見を総括することを目的として文献レビューを行う。また、ビスフェノールAとフタル酸エステル類の男性内分泌系への影響を検証するために、中国遼寧省疾病予防管理センターと職域曝露集団の協力を得て横断面研究を行う。

B. 研究方法

1. EDCの職業性曝露による成人男性の生

殖系への影響に関する総説研究

(1) 検索方法

米国立医学図書館医学文献データベースPUBMED (MEDLINE)を利用。検索方法は、フリーキーワード入力方式よりも感度・特異度の両面で優れるMeSHキーワード入力方式によった。初めに、標記テーマに関わりの深い既知の総説および原著論文の書誌事項を参考に最も適切と考えられるMeSHキーワードを抽出し、検索式を立て、以下のとおり実施した。

①職業性曝露等に関連するキーワード

| Search | MeSH Terms | N of hits |
|--------|-----------------------------|-----------|
| 1 | occupational exposure | 24,904 |
| 2 | occupational diseases/blood | 1,284 |

| | | |
|---|----------------------------|---------|
| | 1 OR 2 | 25,990 |
| 3 | environmental exposure | 64,244 |
| 4 | environmental pollutants | 74,061 |
| | 3 OR 4 | 120,874 |
| 5 | pesticides/adverse effects | 21,023 |
| | 1 OR 2 OR 3 OR 4 OR 5 | 138,551 |

②性ホルモン・性腺刺激ホルモン等に関連するキーワード

| Search | MeSH Terms | N of hits |
|--------|------------------------------------|-----------|
| 1 | Androgens | 58,472 |
| 2 | Estrogens | 87,813 |
| 1 OR 2 | | 128,828 |
| 3 | Luteinizing hormone/blood | 20,313 |
| 4 | follicle stimulating hormone/blood | 14,122 |
| 3 OR 4 | | 22,158 |
| 5 | Gonadotropins, pituitary | 72,551 |
| | 1 OR 2 OR 3 OR 4 | 138,064* |

*6,530 [1995-, English, male, human]

③生殖機能等に関連するキーワード

| Search | MeSH Terms | N of hits |
|--------|-------------------|-----------|
| 1 | Sperm motility | 8,364 |
| 2 | Spermatogenesis | 9,599 |
| 3 | Infertility, male | 13,614 |
| 4 | Sperm count | 5,175 |
| | 1 OR 2 OR 3 OR 4 | 28,813* |

*5,082 [1995-, English, human]

*7621 [1990-, English, human]

④がんを含む生殖器疾患等に関連するキーワード

| Search | MeSH Terms | N of hits |
|--------|-------------------------|-----------|
| 1 | Genital neoplasms, male | 54,315 |

| | | |
|---|------------------------|---------|
| 2 | Genital diseases, male | 114,375 |
| 3 | Testis | 50,470 |
| | 1 OR 2 OR 3 | 154,893 |

(2) 検索結果

- (1) 初期文献集合として ① AND (② OR ③ OR ④) の検索条件により 2,443 文献を抽出
- (2) 初期文献集合に English, Male, Human, 1990 年以降の条件付加 → 548 文献を抽出 → タイトルの検討により 222 文献を抽出 → 抄録等の検討により 201 文献を採用
- (3) 初期文献集合に Japanese, Male, Human, (出版年指定なし) の条件付加 → 10 文献を抽出 → 全 10 文献採用
- (4) 初期文献集合に English, Male, Human, Publication type=Review, (出版年指定なし) の条件付加 → 168 文献を抽出 → 全 168 文献採用;ただし(2)と重複あり
- (5) 内分泌攪乱という範疇が除外されない出版年の範囲として 1990 年以降という検索条件は概ね妥当と考えられた。すなわち、抽出された文献リストの初期的検討からは化学物質の内分泌攪乱作用という考え方は 1990 年以前には存在せず、1993 年頃に導入され、それ以後急速に普及したと考えられる。

(倫理面への配慮)

本研究は総説研究であるため該当しない。

2. EDCの男性内分泌系への影響に関する横断面研究

暴露状況と暴露者について対象工場の予備調査を行った後、以下の調査を行う。

(1) 対象者

エポキシ樹脂製造工場では原料であるビスフェノールAを取り扱う作業員約100名および対照者、フタル酸エステル類の製造

に従事する作業員約100名および対照者、を対象とする。対照者については、性、年齢、喫煙歴の頻度マッチングを行う。研究への参加については、書面または口頭でインフォームドコンセントを得る。(添付資料)

(2) 調査項目

(1) 質問票調査: 職歴や作業年数などに関する事項、生活環境の情報、喫煙など生活習慣、生殖歴などを含む聞き取りによる質問票調査(添付資料)

(2) 採尿: 一作業シフトの最終作業終了後に45 mL採取する。

(3) 測定項目

(1) 作業終了時(1シフトの初日以外の日)の尿中ビスフェノールA、フタル酸エステル類、およびそれらの代謝物の分析(LC-MS法および電気化学検出器HPLC法)

(2) 早朝空腹時(1シフトの初日以外の日)の血清中ゴナドトロピン類およびテストステロン分析(RIA法)

(4) 解析方法

暴露者と対照者について、暴露指標と交絡要因を考慮して、血清ホルモンレベルを比較する。

(倫理面への配慮)

産業医科大学倫理審査委員会に審査を申請した(15年1月22日)。研究への参加については、原則として書面でインフォームドコンセントを得る。本研究には生殖細胞系列の遺伝子多型の調査は含まれない。生体試料の分析は、全データ収集後、匿名化されて行われるため、分析担当者が個人を特定する事はできない。本研究の協力者である中国遼寧省疾病予防管理センター医師(フィールド調査総括者)が個人を特定できるリストを責任を持って厳重に管理する。他の研究者が個人を特定する事はできない。本研究で得られた全てのデータは集団として解析するため、

個人のデータが公表されプライバシーが侵害されることはない。

C. 研究結果

1. EDCの職業性曝露による成人男性の生殖系への影響に関する総説研究

職業性曝露のヒト生殖機能への影響は、男女各性について、内分泌系を介する経路かつ/または介さない経路で生殖機能、妊娠・出産の転帰、次世代影響という多段階で単独および複合的に発現し得る。成人男性の生殖機能に焦点を絞った場合、特に精子能評価が重要な目標すなわちend-pointとなり、数・濃度・形態・運動能・異常精子割合、acrosin activity, 染色体異常, 精液の量・liquefaction time, 等をメルクマールとして、検査手法や診断基準が標準化されている(WHO)。また配偶者間との妊娠成功率, 妊娠までの時間 Time To Pregnancy (TTP), 流産リスク等について、女性側要因を排除した後に男性側生殖能として評価することもある。

男性生殖系影響に関連し、同時に評価されることの多い内分泌系影響の指標としては、血清中(稀に尿中)FSH, LH, testosteroneがある。一般には精巣毒性が顕在化した場合、ネガティブ・フィードバック機序を介した血清FSHおよびLH値の上昇として捉えられる。また生殖系臓器の発癌影響は、精巣がん(seminoma, non-seminomaとも)および前立腺がんに関する研究が多く存在する。いずれのがんも前記機序に関連しまたは独立に生じ得るが、多くの研究では発癌研究として独立に扱われている。次世代影響としては、父親の職業性曝露による男児の停留辜丸、尿道下裂のリスクを評価した研究(結果は両方向)(*1)が多く存在する。しかし、これらの研究は厳密な意味での経時的追跡が困難なため、特定集団の経時的観察など生態学的研究の域を出ないものが多い。

EDCの疑いがある物質への職業性曝露の経路として、主に製造業現場で働く労働者に

における重金属を含む各種化学物質、および農業等従事者(農薬散布専従者を含む)における農薬・枯草/除草剤・殺菌剤等への曝露に関する二つのルートについて、男性生殖能、生殖器系がんリスクおよび次世代影響との関連が検討されている。なお、農薬製造従事者は曝露の特徴および予防的見地からも、製造業に含めて検討することが妥当と考えられる。

前者経路による職業性曝露による男性生殖系影響が検討された物質(EDC候補物質)としては、ビスフェノールA(樹脂原料)、フタル酸類(可塑剤)、有機リン系農薬(パラチオン等製造時の曝露)および線虫剤としての1,2-dibromo 3-chloropropane (DBCP)、ベンゼン・トルエン・キシレン等の有機溶剤、鉛・カドミウム等の重金属(*2)など、広範に渡る。DBCP,有機溶剤・重金属については、生殖毒性を含む既知の中毒学的知見に立脚し、新たにEDCの枠組みで再検討を加えた研究が多い。結果は陽性・陰性両方向で、確実と言えるものはなく、研究が緒についた段階と言ってよい。

後者経路については農業従事者の前立腺がんリスクに関するメタアナリシス研究による要約指標の検討結果も含め、有機リン系農薬のエストロゲン攪乱作用を介した男性生殖能への影響は現時点で除外し得ず、さらなる知見の集積が必要である。

以上のようにED作用の可能性のある化学物質と精子性状を含む男性生殖能との関連を評価した研究は、総体として、関連の可能性を示唆する研究が多い。しかし、これらの研究は、ヒトが曝露する可能性のある多くの化学物質のごく一部について、少数の対象者で断面的に行われている場合が多く、知見の相互比較や総合的な解釈が困難となっている。このため他の集団で確実な量-反応関係をもって結果を再現し得るかどうかは不明である。つまり、合理的に一定の結論を導くだけのエビデンスが不足している。このため、

動物実験の知見や既存知見からの外挿に基づく推論が重要な意義をもつと考えられる。

EDCはホルモンの生成、放出、体内移動、代謝に作用するほか、レセプター結合を阻害またはレセプター機能に影響を与えるなど様々な機序を通じて血中ホルモン値を変化させると考えられている。ここで成人男性の生殖系影響はあくまで研究上のend-pointであり、EDCが受精前精子、また母親を介して受精卵や胎児期に影響を与える場合、あるいは新生児期にホルモン調節機能を乱した場合でも、成人男性の生殖機能に悪影響が及ぶことに留意する必要がある。このことは、疫学研究のバイアスや交絡因子になり得る。

合成エストロゲン様化学物質あるいは内分泌系に作用する化学物質による影響を想定した人口集団における影響指標を経時的に観察した場合、EDCを想定機序とする男性生殖器影響が集団の中に発現している可能性に言及している論文は少なくないが、この種の研究単独ではエビデンス提示力が弱い。一方、ヒト集団での化学物質曝露に関する疫学的研究は、総体として、内分泌攪乱作用を通じた生殖系影響の可能性、すなわち、いくつかのEDCが存在する可能性を示している。今後はED作用の可能性のある化学物質の探索範囲を広げるとともに、関連の知見を十分に活用しながら、職業性曝露が疑われる集団を対象に、より精緻な疫学研究を行う必要がある。

*1 次世代影響として動物実験ではエストロゲンの胎性曝露による停留睾丸や尿道下裂が示されているが、ヒトでは農業・園芸業従事者に関する大規模疫学調査で、曝露母親から出生した男児では停留睾丸リスクが増大したが尿道下裂リスクは不変かつ曝露父親から出生した男児では停留睾丸・尿道下裂リスクとも不変であった、という研究例がある。

*2 鉛(Pb)やカドミウム(Cd)の重金属の職業性曝露影響を評価した研究では、血中

Pb<400 μ /Lや血中Cd<10 μ /Lの中等度曝露量で、内分泌機能の明らかな低下を伴わない状況で、精子数・運動能・異常率など男性性機能への影響を認めた、という研究例がある。

2. EDCの男性内分泌系への影響に関する横断面研究

対象となる工場の曝露状況と曝露集団について予備調査を行い、研究プロトコール(添付資料)を作成し、産業医科大学倫理審査委員会に審査を申請した。15年3月の時点で承認される見込みとなったため、調査の準備を開始し、さらに詳細な曝露状況調査を年度内に開始した。本調査は15年3月から4月にかけて行われる予定である。

D. 考察

文献レビュー作業では、「内分泌攪乱(ED)」作用の概念に必ずしも立脚していないが、その可能性がわずかでも検討されている論文が除外されないよう、検索段階では、広く「化学物質の職業性曝露による成人男性の生殖系への影響」を抽出することとした。概略的検討の結果、本文献集合のうち、特に最新の研究の中に「内分泌攪乱」の範疇で検討されているものが含まれていることがわかった。この検索方法によれば、「内分泌攪乱化学物質(EDC)」を除外してしまう可能性はほとんどないと考えられた。

労働者の職業性曝露の特徴として複合微量曝露という実態があり、一意関係を前提にした疫学研究手法には困難を伴う。つまり、研究デザインに欠点があるためというより、制御できない因子の存在が制約条件となる場合が多い。それだけに、標準化された男性生殖機能評価法の導入や、より鋭敏な研究デザインを取り入れていく必要があるのはもちろんのこと、データの論理的解釈や動物実験を含めた関連知見との整合性について、妥当かつ慎重な検討が求められる。

EDCのヒトへの影響について、今後に残された課題として、慢性かつ複合微量曝露による影響評価がほとんど手つかずの状況にあるほか、広範な化学物質の中からED作用の可能性のある物質を効率よく探索するための方法、さらに毒性機序の詳細な解明など、EDC全般の研究の方向性は必ずしも定まっていない。しかし、動物実験や生態系への評価を行った研究に比べ、特に良質の疫学研究から得られたヒトの知見の価値は高い。

広義の男性生殖系影響に関する課題としては、精巣がん、停留睪丸、尿道下裂等を中心とした男性生殖系影響の定量的評価、生殖毒性をもつ物質の曝露マーカーおよび研究・臨床に適用可能な影響マーカーの開発、学際的研究の促進、生化学検査手法の標準化、および標本のアーカイブ(長期保管庫)構築等が挙げられる。

特に労働者の個人別あるいは作業単位別の経時的曝露データなどを活用し、前向きな追跡研究を行う余地は大きい、と言える。

なお、本総説に基づく検討結果については、平成15年度中に英文論文として投稿・発行予定である。

EDCの男性生殖系への影響に関する横断面研究を開始した。化学物質の職業性曝露は、通常、一般環境よりも曝露レベルが高く、化学物質の健康影響を観察しやすい。しかし、レビュー作業で明らかとなったように、職域においてEDC、とくにビスフェノールAやフタル酸エステル類に曝露されている集団における研究は国内外を問わずこれまでほとんどない。本研究の職域での観察研究からは重要な知見が得られるものと考えられる。

E. 結論

EDCの職業性曝露による成人男性の生殖系への影響に関する知見を総括したところ、いくつかのEDCによる健康影響が存在する可能性は示されたが、合理的に一定の結論を導くだけのエビデンスは不足していること

が明らかとなった。EDCの男性生殖系への影響に関する横断面研究を開始した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Hanaoka T, Yamano Y, Pan G, Hara K, Ichiba M, Zhang J, Zhang S, Liu T, Li L, Takahashi K, Kagawa J, Tsugane S. Cytochrome P450 1B1 mRNA levels in peripheral blood cells and exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in Chinese coke oven workers. Science Total Environ 2002; 296: 27-33.

2. 学会発表

Takahashi K. Silica and lung cancer risk among silicotics in Japan. The 27th International Congress on Occupational Health, Iguassu Falls, Brazil, Feb 23-28, 2003.

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当せず

(様式第1号)

倫理審査申請書

平成 15 年 1 月 22 日

産業医科大学学長 殿

所 属 環境疫学研究室
 職 名 教授
 申請者名 高橋 謙
 所属長名 高橋 謙



※受付番号 第 号

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|-----------------------|---------|---------|--------------------|----|------|-----------------------|-------|------|---------------------------|-------|------|-----------------------|----|-------|
| 1 課題名 「内分泌攪乱化学物質の職業性曝露による成人男性の内分泌系への影響に関する研究」 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 実施責任者 所属 環境疫学研究室 職名 教授 氏名 高橋 謙 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 実施分担者 <table border="0"> <tr> <td>所属 遼寧省疾病予防管理センター-疫学部門</td> <td>職名 部門長</td> <td>氏名 潘 国偉</td> </tr> <tr> <td>遼寧省疾病予防管理センター-疫学部門</td> <td>医員</td> <td>張 久松</td> </tr> <tr> <td>国立がんセンター-研究所支所臨床疫学研究部</td> <td>主任研究者</td> <td>花岡知之</td> </tr> <tr> <td>労働科学研究所環境リスクマネージメント研究グループ</td> <td>主任研究者</td> <td>原 邦夫</td> </tr> <tr> <td>国立がんセンター-研究所支所臨床疫学研究部</td> <td>部長</td> <td>津金昌一郎</td> </tr> </table> | 所属 遼寧省疾病予防管理センター-疫学部門 | 職名 部門長 | 氏名 潘 国偉 | 遼寧省疾病予防管理センター-疫学部門 | 医員 | 張 久松 | 国立がんセンター-研究所支所臨床疫学研究部 | 主任研究者 | 花岡知之 | 労働科学研究所環境リスクマネージメント研究グループ | 主任研究者 | 原 邦夫 | 国立がんセンター-研究所支所臨床疫学研究部 | 部長 | 津金昌一郎 |
| 所属 遼寧省疾病予防管理センター-疫学部門 | 職名 部門長 | 氏名 潘 国偉 | | | | | | | | | | | | | |
| 遼寧省疾病予防管理センター-疫学部門 | 医員 | 張 久松 | | | | | | | | | | | | | |
| 国立がんセンター-研究所支所臨床疫学研究部 | 主任研究者 | 花岡知之 | | | | | | | | | | | | | |
| 労働科学研究所環境リスクマネージメント研究グループ | 主任研究者 | 原 邦夫 | | | | | | | | | | | | | |
| 国立がんセンター-研究所支所臨床疫学研究部 | 部長 | 津金昌一郎 | | | | | | | | | | | | | |
| 4 実施事項等の概要 <p>化学物質の職業性曝露は、通常、一般環境よりも曝露レベルが高く、化学物質の健康影響の観察を行いやすい。しかし、職域において内分泌攪乱物質（以下 EDC）、特にビスフェノール A やフタル酸エステル類に曝露されている集団を対象とする研究は国内外を問わずほとんどない。そこでビスフェノール A およびフタル酸エステル類の男性体内ホルモン環境への影響を、工業材料として大量に使用されている中国の工場で EDC に曝露されている作業員集団について横断研究で検証することを目的として、日中共同での横断面研究を行う。</p> | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5 実施計画（対象、期間、場所） <p>場所：中国遼寧省のエポキシ樹脂製造工場およびフタル酸エステル類製造工場 対象：中国のエポキシ樹脂製造工場では原料のビスフェノール A を取り扱う作業員約 100 名および同数の対照者、フタル酸エステル類の製造に従事する作業員約 60 名および同数の対照者を対象とする。対照者については、性・年齢・喫煙歴の頻度マッチングを行う。 期間：2003 年 2 月 1 日から 2006 年 1 月 31 日</p> | | | | | | | | | | | | | | | |
| 6 実施事項等における倫理的配慮について <p>(1) 被験者の自由な選択の保障 口頭または書面（拒否可能を明示した事項を含む）を用いて調査への参加を依頼するので、いずれの場合でも拒否することができる。また、いったん同意した後でも、いつでも同意を撤回できる旨明示し、参加の自由な選択を保証している。</p> <p>(2) 被験者のプライバシー確保に関する対策 生体試料の分析は、全データ収集後、匿名化（連絡不可能）されて行われるため、分析担当者が個人を特定する事はできない。フィールド調査総括者（中国側共同研究者）が個人を特定できるリストを責任を持って厳重に管理する。他の研究者が個人を特定する事はできない。本研究で得られた全てのデータは集団として解析するため、個人のデータが公表されプライバシーが侵害されることはない。</p> | | | | | | | | | | | | | | | |