

厚生労働科学研究費補助金
化学物質リスク研究事業

化学物質によるヒト生殖・次世代影響の解明と
内分泌かく乱作用検出のための
新たなバイオマーカーの開発
(研究課題番号 H14-食品・化学-018)

平成 15 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 那須 民江

平成 16 (2004) 年 3 月

主任研究者

那須 民江 名古屋大学大学院医学系研究科社会生命科学講座環境労働衛生学
教授

分担研究者 (順不同)

上島 通浩 名古屋大学大学院医学系研究科社会生命科学講座環境労働衛生学
講師

市原 学 名古屋大学大学院医学系研究科社会生命科学講座環境労働衛生学
助教授

柴田 英治 愛知医科大学医学部衛生学講座 助教授

山野 優子 昭和大学医学部衛生学講座 講師

日比 初紀 みなと医療生活協同組合協立総合病院泌尿器科 部長

研究協力者 (順不同)

上山 純 名古屋大学大学医学部保健学科検査技術科学専攻

王 海欄 日本学術振興会外国人特別研究員 (名古屋大学大学院医学系研究
科社会生命科学講座環境労働衛生学)

大谷勝己 産業医学総合研究所

岡村 愛 名古屋大学大学院医学系研究科社会生命科学講座環境労働衛生学

五藤雅博 旭労災病院

斎藤 勲 愛知県衛生研究所

高木健次 名古屋大学大学医学部保健学科検査技術科学専攻

内藤久雄 名古屋大学大学院医学系研究科社会生命科学講座環境労働衛生学

中館 俊夫 昭和大学医学部衛生学 教授

目次

I. 総括研究報告

化学物質によるヒト生殖・次世代影響の解明と内分泌かく乱作用検出のための
新たなバイオマーカーの開発

那須 民江 ----- 6

II. 分担研究報告

1. 臭化メチル曝露作業者の生殖機能評価・曝露量評価

山野 優子・上島 通浩・中館 俊夫 ----- 10

2. 臭化メチルの個人曝露量および環境中濃度の測定

酒井 潔・大野浩之 -----38

3. GC/MS によるヒト尿中ジアルキルリン酸濃度測定条件の検討

上山 純・高木 健次・斎藤 勲 ----- 49

4. 殺虫剤曝露集団の生殖影響のリスク評価としての有機リン系殺虫剤ジクロ ロボスの生殖毒性実験

岡村 愛・大谷 勝己・高木健次・上島 通浩・柴田 英治・市原 学 -- 63

5. 有機錫化合物中毒患者調査のための予備実験

宮田麻衣子・山ノ下 理・上島 通浩・那須 民江 ----- 73

6. 職域集団における生殖機能評価指標に関する検討

上島 通浩・日比初紀・柴田 英治・山野 優子・五藤雅博・内藤 久雄・
岡村 愛・大谷 勝己----- 84

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 103

IV. 研究成果の刊行物・別刷 ----- 105

I. 総括研究報告

主任研究者 那須 民江

(名古屋大学大学院医学系研究科

社会生命科学講座環境労働衛生学)

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）

総括研究報告書

化学物質によるヒト生殖・次世代影響の解明と内分泌かく乱作用検出のための
新たなバイオマーカーの開発

主任研究者 那須 民江

名古屋大学大学院医学系研究科社会生命科学講座環境労働衛生学 教授

分担研究者（順不同、敬称略）

上島通浩	名古屋大学大学院医学系研究科社会生命科学講座 環境労働衛生学 講師
市原 学	名古屋大学大学院医学系研究科社会生命科学講座 環境労働衛生学 助教授
柴田英治	名古屋大学医学部保健学科検査技術科学専攻 助教授
山野優子	昭和大学医学部衛生学 講師
日比初紀	みなと医療生活協同組合協立総合病院泌尿器科 部長

近年、内分泌攪乱化学物質などの環境化学物質が生殖機能に与える影響について関心が高まっているが、実際にヒトに影響が生じているか判断に足る情報は、職域などにおけるごく限られた数の研究に限定され、国内のデータはほとんどないのが現状である。曝露量が少ない一般環境中では、生活習慣その他交絡要因の影響が大きく、特定の化学物質による影響を集団的に直接検出するのは容易でない。このため、曝露量が多く影響を観察しやすい職域や中毒集団において生殖及び次世代への影響を解析し、得られた情報を曝露量より少ない一般集団でのリスク評価に役立てること、また、職域や一般集団に適用可能な新たなバイオマーカー候補の有用性を評価することを目的に本研究を実施した。

第2年度にあたる平成15年度は、殺虫剤や有機溶剤などの化学物質に触れる機会のあるふたつの職域集団で曝露評価を含む疫学調査を行った。曝露と各種指標との関連については解析が現在も進行中であるが、これまでのところ、いずれの職域においても作業内容と明らかに関連のある集団としての妊娠への影響、生殖器系の疾病は観察されていない。ただし、健康作業効果や種々のバイアスが介在している可能性があり、今

後検討が必要である。また、性ホルモンのうち黄体形成ホルモン、卵胞刺激ホルモンは年齢の上昇に従って有意に上昇するために、職域で検診項目に取り入れる際は標準値の設定に年齢を考慮する必要がある。

この他、今年度は有機スズ化合物においては中毒患者の次世代影響調査のための予備実験を行った。有機リン殺虫剤については、初年度に検討した代謝物の分析法をさらに発展させ、実際に人尿を用いて尿中代謝物である4種類のジアルキルリン酸の測定条件の検討を行い、迅速、簡便かつ高感度な同時測定が可能となった。また、ヒトでの疫学調査結果をふまえて、精子運動性低下との関連が疑われる有機リン殺虫剤について、ラットを用いて精巣毒性をより詳細に検討した。

詳細については、各分担報告書を参照されたい。

倫理面での配慮

本研究課題への着手は、いずれも文部科学省及び厚生労働省の「疫学研究に関する倫理指針」が発表される以前で、名古屋大学医学部倫理委員会の承認（2000年12月）に基づいて実施しているが、現行の指針に沿った倫理委員会への承認申請手続き

を改めて行っている。

職域の調査で起きうる問題点に関する検討結果については、昨年の報告書を参照されたい。

II. 分担研究報告

1. 厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）

分担研究報告書

化学物質によるヒト生殖・次世代影響の解明と

内分泌かく乱作用検出のための

新たなバイオマーカーの開発

— 臭化メチル曝露作業者の生殖機能評価・曝露量評価 —

分担研究者

山野 優子 昭和大学医学部衛生学教室

上島 通浩 名古屋大学大学院医学系研究科

社会生命科学講座環境労働衛生学

研究協力者

中館俊夫 昭和大学医学部衛生学教室

1. 厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

化学物質によるヒト生殖・次世代影響の解明と内分泌かく乱作用
検出のための新たなバイオマーカーの開発

— 臭化メチル曝露作業者の生殖機能評価・曝露量評価 —

分担研究者

山野 優子 昭和大学医学部衛生学教室

上島 通浩 名古屋大学大学院医学系研究科社会生命科学講座環境労働衛生学

研究協力者

中館俊夫 昭和大学医学部衛生学教室

研究要旨

昨年より交渉を進めていた職域での生殖機能調査を含む横断的な調査を実施した。

対象は、臭化メチル生産工場に勤務する男性職員 70 名で、臭化メチルを取り扱った経験を持つ作業員 52 名 (Br 群) と、取り扱い経験がない作業員 18 名 (非 Br 群) である。

尿中平均ブロム濃度は、Br 群で $12.6 \pm 5.3 \mu\text{g}/\text{mgCRE}$ 、非 Br 群で $8.1 \pm 5.6 \mu\text{g}/\text{mg CRE}$ で、Br 群が有意に高値を示した。累積曝露濃度 (環境 MeBr 濃度 ppm* 月) は、Br 群で $217.9 \pm 212.1 (1.9-751.4)$ で、かなりの幅があることがわかった。子供のいる作業員は、Br 群で既婚者 37 名中 25 名 (67.6%)、非 Br 群で 17 名中 12 名 (70.6%) であった。子供の男女性比は、臭化メチル曝露開始後に妊娠した子供でほぼ 1:1 で、他のブロム含有化学物質曝露者で報告されているような子供の男性比の低下は認められなかった。血中性ホルモン濃度は、標準値の範囲内ではあったが、LH が Br 群で有意に高値となった。また、Br の取り扱いに関係なく FSH は年齢と有意な正の相関 ($r=0.5933$) が見られた。精液指標では明らかな異常値を示すものはみられなかったが、参加率が Br 群で 11.5% と低く、母集団を代表していない可能性があった。その他一般血液生化学検査結果で曝露と関連していると考えられる項目はみられなかった。自覚症状については Br 群に有意に多く、特に、気持ち落ち込む事がある、物忘れをする、歯肉から出血するなどの訴えが目立った。

今回の調査の範囲においては、明確な生殖影響は集団としてみとめられなかったが、健康作業員効果の関与も考えられた。

A. 研究目的

本研究の目的は、内分泌系に直接または間接的に作用すると考えられる燻蒸剤である臭化メチルによるヒト男性生殖機能または次世代への影響の有無を、職域集団あるいは高濃度曝露を受けた地域集団において疫学的に明らかにし、職場や生活環境における生殖・次世代影響のリスク評価に役立てることである。

平成 14 年度は、まず臭化メチル製造業作業員に対して、血液中および尿中代謝物を用いた曝露評価を行う一方で、生殖機能調査実施のための準備として、調査対象企業との交渉を進めてきた。

平成 15 年度は、その対象企業において、横断的に調査が可能になったので、その結果について、以下に報告する。

B. 研究方法及び倫理面への配慮

(1) 対象者 (表 1)

東京近郊にある主に臭化メチルを

製造している工場の作業員を対象とした。

本工場では、臭化メチル缶およびボンベを製造しており、また、有機溶剤の製造も行っている。

作業員は、男性作業員 $n = 70$ 、女性作業員 $n = 25$ の合計 $n = 95$ 名である。男性作業員については、臭化メチルを取り扱った経験を持つ作業員 52 名 (以下、Br 群と略す) と、取り扱い経験がない作業員 18 名 (以下、非 Br 群と略す) であり、うち、有機溶剤も取り扱っている作業員は、Br 群 21 名、非 Br 群 10 名である。女性作業員 $n = 25$ については、全て臭化メチルは取り扱いしていない。なお、本報告書においては、ヒト男性生殖機能への影響という点に注目して検討するために、以後、解析等は男性作業員のみで行うこととした。男性作業員のうち、採血等同意の得られた 34 名 {Br 群 22 名 : 平均年齢 42.7 歳 (28-59 歳) ・平均曝露期間 6.5 年 (0.1-35 年)、非 Br 群 12 名 : 平均年齢 44.0 歳 (24-63 歳)} について、詳細な調査実施の対象とした。

なお、各群における年齢には有意差はみられなかった。

(2) 調査概要

a. インフォームドコンセント (資料 1-4)

企業に対しては、安全衛生委員会時に複数回説明を行った。また、各作業者に対しては、説明事前に、工場の衛生管理者を通して資料を配布してもらい、説明当日は、作業部署別に時間を十分に設けてもらい、資料を元に詳細に説明し同意を得た。

なお、説明資料に関しては、以下に示すとおりで、資料-1は健康調査への協力をお願い、資料-2には調査の概要、資料-3には本健康調査の学術的な意味（健康管理を充実させるための基礎データ取得、現時点における職場で行う生殖機能検査の性格、検査のメリット・デメリット、検査結果の持つ意味）、資料-4には、健康調査への参加同意書である。

b. 調査内容および方法

イ) 健康状態に関する質問 (資料5) 質問票 (資料-5) を用いて、自記入式で行った。また必要な場合は調査当日、説明しながら記入してもらった。

ロ) 診察 (資料-6)

あらかじめ、注意事項を明記した用紙を配布 (資料-6) しておき、腹部超音波検査により、前立腺体積、推定重量、腫大、輪郭不整、左右非対称、内部エコー不均一、結石の有無等の所見を観察した。また、精巣容積、精巣上体、精系についても観察した。

ハ) 採血、採尿

血液サンプルに関しては、定期に実施している検診項目 (一般生化学等) に加え、黄体形成ホルモン (LH)、卵胞刺激ホルモン (FSH)、血中テストステロン、前立腺腫瘍マーカー (PSA)、クレアチンキナーゼ (CK)、またそのアイソザイム (BB、MB、MM型)、臭素イオン濃度の測定を行った。

尿サンプルについては、臭素イオン濃度および、主な有機溶剤の代謝産物について測定を行い、クレアチニンで補正した。

ニ) 空気中の化学物質濃度の測定 (資料-7)

パッシブサンプラーを襟元に装着してもらい、時間加重平均個人曝露量の測定を行った。

ホ) 精液検査 (資料-6)

あらかじめ、精液検査に関する注意事項を明記した用紙を配布し、WHOマニュアルに則って行った。外観、精液量、pH、粘度、運動性、高速

前進運動精子・緩徐なあるいは不活発な前進運動精子・非前進運動精子・不動精子の割合を算出し、精子生存率、および精子濃度、死滅精子濃度を算出した。

(3) 倫理面への配慮

本研究で行う生殖機能検診は、生体侵襲という点では、静脈からの採血以外は基本的に非侵襲的であり、受診による健康へのリスクはごく小さいものと思われる。

研究の趣旨と内容については被験者に文書および口頭で説明を行い、測定した指標に関する被験者のデータは、プライバシー確保に関する十分な配慮のもと本人に郵送（希望にあった返却法）で返すことを説明している。

結果によっては労災問題の発生する可能性があるため、異常値が疑われる場合は被験者をいたずらに不安に陥れないよう十分に説明を行うとともに、調査場所に比較的近い場所に位置する医療機関の不妊専門医と連携をとり、相談体制の確保に十分配慮を行うこととした。

なお、本調査は、大学の倫理審査委員会の承認を得ている。

(4) 解析

本報告書に示す解析結果等は、すべて男性に対するもののみとする。調査は、男女とも全職員に対して実施したが、当初の主な目的は男性生殖機能への影響を明らかにするという主旨であり、また、本工場の女性作業者は全て非Br群であり、臭化メチル取扱いは行っていないという理由から、この解析からは女性ははずした。

表1. 調查對象者

全對象者n	n	%	群	n	年齡(歲)	曝露期間(年)	累積曝露期間(環境 MeBrppm*月)	
男性70	同意	34	48.6	Br群	22	42.7(28-59)	6.5(0.1-35.0)	196.2(1.9-751.4)
				非Br群	12	44.0(24-63)	0	0
	非同意	36	51.4	Br群	30	44.8(22-63)	2.7(0.1-12.0)	63.3(0.5-315.6)
				非Br群	6	46.0(37-59)	0	0
女性25	同意	20	80.0	非Br群	20	51.1(31-58)	0	0
	非同意	5	20.0	非Br群	5	47.8(33-55)	0	0

健康調査への協力をお願い

昭和大学医学部衛生学教室 山野 優子
名古屋大学大学院医学系研究科環境労働衛生学教室
上島 通浩

拝啓 時下ますます御清栄のこととお慶び申し上げます。

職場における従来の健康管理は、疾病の早期発見と治療に重点をおいている傾向がありますが、今後は、健康診断を通じて人の健康と環境や作業とのかかわり合いを見出し、健康障害を未然に防止できるような積極的な内容に変化させていく必要があると思います。

臭化メチル及び有機溶剤取り扱い作業者に関しては、入社時の検診および、特定化学物質障害予防規則・有機溶剤中毒予防規則により年2回の検診が既に行われていますが、今回、昭和大学と名古屋大学は、厚生労働省から委託補助を受け、仕事上化学物質に触れる機会が多い事業所で働く健康な方々を対象に、さらに詳しい健康調査（調査概要参照）を実施することとなりました。

もちろん、この調査は、ボランティアとして参加していただくことが前提で、参加を承諾された方々に問診・診察を行うとともに、生体試料をご提供いただき、研究的な視点から結果を解析致します。詳細は調査概要のとおりですが、本研究は労働基準監督署などの監督行政とは全く独立に行われ、個人のプライバシー情報の保護については十分配慮し、個人の結果は受診者ご本人にのみ報告致します。但し、会社の健康管理充実のために必要な情報（従来実施されてきた特殊健康診断項目の部署毎のデータ）については、会社に報告されるほか、会社名および個人名等を一切伏せた厚生労働省宛の研究報告書及び学術報告という形でのみ、公表される場合があります。

本調査にご協力いただくことにより、通常健康診断では検査しない項目の健康状態を知ることができることに加え、貴重な情報を提供することで、医学の発展に貢献されることとなります。是非ご協力いただきますようお願い申し上げます。

敬具

資料-2

調査の概要

1. 期日 平成15年〇月×日
場所

2. 内容

- イ) 健康状態に関する質問（問診票への記入）
- ロ) 診察（男性のみ。腹部超音波検査による前立腺がん等の検査も含む）
- ハ) 採血、採尿（定期に実施している検診項目に加え、性ホルモン、前立腺ガン検診を兼ねた血中 PSA（男性のみ）、卵巣および子宮癌の腫瘍マーカー（女性のみ）等の検査）。
- ニ) 空気中の化学物質濃度の測定
バッジを装着し、環境中の化学物質の濃度を測定します。
- ホ) 精液検査（男性のみ）。希望者を募って実施します。精液の採取は、容器をあらかじめお渡しし、プライバシーの保たれた個室でおひとりでご自分で行っていただきます。苦痛を伴う器具などの使用は一切ありませんが、検査をより正確に行うため、あらかじめ定めた禁欲期間（48時間以上5日以内）を守って下さるようお願いいたします。採取に要する時間は通常45分以内です。泌尿器科・生殖医学の専門医と直接話をすることができます。

3. 健康調査結果の取り扱いに関して

検査結果は受診されたご本人にお知らせし、希望がある場合は個別の健康相談に応じます。個人の結果については集団として統計処理しますが、プライバシーが保持されるよう厳重に注意を払い、個人の特定が可能な情報を公表したり目的外で使用することは一切ありません。

4. この健康調査に関するお問い合わせ先

昭和大学医学部衛生学教室 山野優子 ☎ 03-3784-8137

名古屋大学大学院医学系研究科環境労働衛生学教室 上島通浩 ☎ 052-744-2124

本健康調査の学術的な意味

1. 健康管理を充実させるための基礎データ取得

現行法に基づいた職場健康管理において、生殖機能やこれから生まれる次世代の保護は、女性に対する危険有害物業務への就労制限のみが規定され、男性生殖機能保護の視点は存在しません。現在、特定化学物質及び有機溶剤の検診項目の見直しを行う動きがありますが、生殖機能保護に関しては人体でのデータがほとんどないため、各事業所の現場にまかされる状況は当分の間変化がないと思われまます。現状は、職域における基礎データを収集する段階といえます。

2. 現時点における職場で行う生殖機能検査の性格

一般の健康診断項目のうち、たとえば肝機能検査においては標準値（正常値）が定められています。しかし、生殖機能に関しては、血液中の性ホルモン値や不妊外来における精子数の標準値は定まっていますが、職場における正常値は存在しません。したがって、参加される個々の方にとっては、男性では、前立腺ガン検診としてのメリットはありますが、生殖機能評価としては研究的視点でのデータ提供の意味が強くなります。

3. 検査のメリット・デメリット、検査結果の持つ意味

1) メリット

男性では前立腺ガン検診として結果を役立てることができます。また、男女ともに、ふだん測定することのない項目（性ホルモン値、男性は精子数や精子運動率など、女性は腫瘍マーカーなど）について、自らの値を知ることができます。2で述べたように職場検診としての正常値はありませんが、参考値として不妊外来や婦人科外来等で用いられる基準値との比較は可能ですので、健康度のひとつのバロメーターとしてとらえることはできるでしょう。

また、生殖機能や泌尿器に関する健康相談を希望される場合は、専門医に直接たずねることができます。ご希望があれば〇〇〇県内の専門医に紹介いたします。検査に苦痛を伴う処置や危険はなく、デメリットは特にありません。検査結果について、集団としての解析結果は学術的な発表が行われますが、参加者のプライバシー及び御社の名前などについての情報が外部に知られることはありません。

2) 検査結果の持つ意味

性ホルモン値や精子数など生殖機能検査結果は個人差が大きく、また、同一の方でも検査を受ける日や体調によって結果は大きく変動する点が、他の検査と異なる特徴です。さらに、現在存在する基準値は、子供ができるかできないかを区別する数字ではありません。したがって、検査結果が仮に基準値を下まわっても、生殖機能が低下していることをただちに意味するわけではなく、複数回の検査の必要性を示すにすぎません。

健康なカップルの10組に1組は子供に恵まれず、不妊治療に公的な助成が行われることが決定したことからもわかるように、生殖機能の低下はだれでも悩みうる頻度の高い問題です。また、その原因が明らかなものは一部にすぎません。したがって、慎重な医学的判断のもとに仮に生殖機能低下と診断されても、一部の不妊症を除けば個人レベルで原因を決めることはできません。生殖機能は、仕事、飲酒、喫煙を含めた生活習慣・行動、年齢、禁欲期間、季節、居住地域等による個人差が大きく、本健康調査により明らかになった数値は、これら各要因を総合した中での現在の健康度として判断する必要があります。

また、卵巣および子宮の腫瘍マーカー検査に関しては、比較的有効性の高いマーカーについて測定いたしますが、正常値であったとしても、癌ではないという指標にはなりません。ただし、異常値が出た場合は、精密検査を受けられる事をお勧めします。

これらの点に関して、検査を受けられる方にはあらかじめご理解いただきますようお願いいたします。

健康調査への参加同意書

昭和大学医学部衛生学教室 山野優子 殿

名古屋大学大学院医学系研究科環境労働衛生学教室 上島通浩 殿

私は、昭和大学、名古屋大学が実施する職場健康調査について、別紙による説明を受け、

調査の概要

私の個人情報などのプライバシーが十分に保護されること

を十分に理解しました。(□の中にご自分でレ印を入れて下さい)

したがって、

① 採血、採尿、前立腺超音波検査（男性のみ）を行う本健康調査（説明書イ、ロ、ハ、ニの項目）に、
自発的に 参加します・参加しません。
(どちらかを○で囲んで、署名してください)

②（男性のみ）上記の項目に加え、精液指標の測定評価（ホ）に
自発的に 参加します・参加しません。
(どちらかを○で囲んで、署名してください)

ご署名；

平成15年 月 日

本健康調査は、いったん同意されても、いつでも参加を撤回することが可能です。また、健康調査結果は、封書にてお返ししますが、他の方法がよい方は、具体的にご記入ください。なお、結果に関してはお電話でのお問い合わせにはお答えできません。