

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 16 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 那須 民江

平成 17 (2005) 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。名前の後の記号は、参加した研究を示す。

A: ハロゲン化炭化水素殺虫剤 B: 有機リン C: 有機溶剤 D: 有機スズ E: バイオマーカー検討)

上島 通浩 ABCDE 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

市原 学 ABE 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 ABE 愛知医科大学医学部衛生学講座 助教授

山野 優子 AE 昭和大学医学部衛生学講座 講師

日比 初紀 ABE みなと医療生活協同組合協立総合病院泌尿器科 部長

高木 健次 BE 名古屋大学大学医学部保健学科検査技術科学専攻 助教授

研究協力者（順不同。名前の後の記号は、参加した研究を示す。

A: ハロゲン化炭化水素殺虫剤 B: 有機リン C: 有機溶剤 D: 有機スズ E: バイオマーカー検討)

上山 純 BE 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 DE 日本学術振興会外国人特別研究員 (H16. 4-8) ・
日本食品衛生協会リサーチ・レジデント (H16. 9-H17. 3)

岡村 愛 ABE 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 B 五藤労働衛生コンサルタント事務所

齋藤 勲	BE	東海コープ事業連合商品安全検査センター
鈴木 隆佳	BE	名古屋大学大学院医学系研究科医療技術学専攻
李チュルホ	BE	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
内藤 久雄	ABE	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
山ノ下 理	D	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	AE	昭和大学医学部衛生学 教授
酒井 潔	A	名古屋市衛生研究所
大野 浩之	A	名古屋市衛生研究所
滝 賢一	AB	愛知医科大学附属病院中央臨床検査部
深谷 幸生	B	愛知文教女子短期大学
大村 実	B	九州大学医学部衛生学
丁 訓誠	D	上海市計画生育科学研究所薬理毒理室
李 衛華	D	上海市計画生育科学研究所薬理毒理室
Kim, Heon	BE	Department of Preventive Medicine, College of Medicine, Chungbuk National University, Korea

目次

I. 総括研究報告	5
II. 分担研究報告	
II-1. ハロゲン化炭化水素殺虫剤	15
II-2. 有機リン殺虫剤	47
II-3. 有機溶剤	106
II-4. 有機スズ化合物	110
II-5. その他バイオマーカーに関する検討	128
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	144
IV. 研究成果の刊行物・別刷	145

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

研究要旨

最終年度にあたる平成 16 年度は、ハロゲン化炭化水素殺虫剤については、前年度に引き続き製造工場の職域集団で横断研究を実施した。有機リン殺虫剤については、暴露マーカーとして昨年度開発した 4 種類の尿中ジアルキルリン酸の高感度迅速同時測定法のさらなる改良とフィールド調査での応用を、また、性ホルモン等生殖系の影響バイオマーカーや感受性マーカー候補としてパラオキシナーゼ 1 (PON1) の遺伝子多型との関連を検討した。

有機溶剤については、不妊外来における職業歴の調査を継続した。

有機スズ化合物については、中国のある村で 6 年前に発生した塩化トリメチルスズの中毒集団の横断研究を行った。

新しいバイオマーカー候補に関しては、暴露、影響、感受性のマーカーそれぞれの視点で検討を行った。

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
助教授

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

高木健次 名古屋大学大学院医学部保健学科検査技術科学専攻 助教授

A. 研究目的

Carlsen ら (1992) が過去 50 年間でヒト精子数が半減した可能性について報告して以来、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国際的に関心が高まっている。日本においては、近年の国を挙げた取り組みにより、内分泌かく乱化学物質の環境中濃度や動物実験のデータはかなり充実してきたが、ヒトでの影響に関するデータは現状では大きく不足している。現実には、生殖機能や次世代の保護は特に暴露濃度が高い職域の健康管理で重要な課題となるが、現行の労働基準法では妊産婦の危険有害物業務への就業制限や生理休暇等の定めにとどまり、労働安全衛生法のもとでの特殊健康診断でも男性生殖機能に関する健診項目は存在しない。

したがって、1) 内分泌かく乱作用や生殖毒性が疑われる化学物質のヒトの生殖機能及び次世代に与える影響について、影響を観察しやすい職業的暴露集団や中毒集団における解析を実施し、職場や生活環境における化学物質のリスク評価に資すること、2) 従来の生殖・次世代影響の指標に加え、職域や一般集団でも検査可能な新たなバイオマーカーの確立をめざすことを目的に、平成 14

年度から 3 年間の計画で研究を実施した。最終年度にあたる平成 16 年度は、前年度に引き続き研究を実施するとともに 3 年間のまとめを行った。

B. 研究方法

倫理面での配慮

本研究課題のうち、ヒトを対象とした研究については、それぞれ名古屋大学医学部倫理委員会の承認に基づいて実施した。また、動物実験については、名古屋大学医学部動物実験指針に準拠し、実験計画書を動物実験施設に提出し審査を受けた上で、動物が受ける苦痛を最小限とするよう、飼育管理、取り扱いに留意しつつ実施した。

1. 殺虫剤

平成 16 年度は、ハロゲン化炭化水素殺虫剤の製造工場従業員女性 22 人 (参加率 88%)、男性 16 人 (参加率 22.9%) を対象に、生殖器系の健康状態の評価とともに腓骨神経の神経伝導速度測定など神経系の評価をあわせて実施し、低濃度暴露下において生殖次世代影響を神経系影響と同様に健康管理上留意すべきかについて検証した。

また、国内農薬売上高の約三分の一を占める有機リン系殺虫剤につい

て、暴露マーカーとして昨年度開発した4種類の尿中ジアルキルリン酸の高感度迅速同時測定法をさらに改良し、実際に職域集団および非暴露集団で測定した。また、生殖系の影響バイオマーカーとしての性ホルモン等や感受性マーカー候補としてのパラオキシナーゼ1 (PON1)の遺伝子多型との関連についても検討した。さらに、暴露マーカーと精巣、精子の各マーカーおよび両者の関係については、予備的に動物実験でも検討を行った。

2. 有機スズ化合物

平成16年度は高暴露集団を対象に疫学調査を実施した。ラードに混入したトリメチル塩化スズにより集団食中毒がおきた中国の事例について、事件当時、重症患者11人、軽症患者34人が発生した一つの村において現在の健康状態に関する横断的な調査を行い、死亡・転居などした者を除く29人の元患者全員および、性を調整した同じ村に住む、年齢の近い26人の村民が対照者として参加した。

3. 有機溶剤

有機溶剤は不可欠な産業化学物質であるが、グリコールエーテル類やプロモプロパン類等による生殖腺への生殖毒性が知られている他に、中

枢神経系を介した生殖内分泌かく乱作用による生殖機能影響がいくつかの報告で示唆されている。平成16年度は、昨年度までに引き続き不妊患者の有機溶剤職歴についての症例対照研究を継続した。

C. 研究結果

1. 殺虫剤

ハロゲン化炭化水素殺虫剤生産工場従業員を対象とした調査では、暴露量に関しては、暴露群と非暴露群との差が有意でなく、実質的には過去の（あるいは累積）暴露量の差による生殖内分泌系バイオマーカーへの影響の有無の検証であったが、群間に有意な差は見られなかった。一方、腓骨神経の運動神経伝導速度は累積暴露量が多くなると正常範囲内で低下傾向を呈した。

生殖影響のバイオマーカーとして、精子原液の塗抹標本に精子クレアチンキナーゼ免疫染色を行った結果、形態異常精子、未熟な精子が染色された。

有機リン系殺虫剤については、改良した方法を用い、暴露のバイオマーカーとして尿中ジアルキルリン酸を測定したところ、暴露作業員(n=52)についてはジメチルリン酸(DMP) $76.4 \pm 164.4 \mu\text{g/L}$ (範囲は定量下限値未満~ $880 \mu\text{g/L}$ 、中央値 $17.2 \mu\text{g/L}$); ジ

エチルリン酸(DEP) $3.7 \pm 15.7 \mu\text{g/L}$ (定量下限値未満 $\sim 112 \mu\text{g/L}$ 、中央値 $0.4 \mu\text{g/L}$) ; ジメチルチオリン酸(DMTP) $21.8 \pm 47.5 \mu\text{g/L}$ (定量下限値未満 $\sim 216 \mu\text{g/L}$ 、中央値 $2.2 \mu\text{g/L}$) ; ジエチルチオリン酸(DETP) $2.7 \pm 5.4 \mu\text{g/L}$ (定量下限値未満 $\sim 22 \mu\text{g/L}$ 、中央値 $0.2 \mu\text{g/L}$)、非暴露対照者 (n=18) では DMP $35.4 \pm 37.7 \mu\text{g/L}$ (定量下限値未満 $\sim 127 \mu\text{g/L}$ 、中央値 $20.1 \mu\text{g/L}$) ; DEP $6.0 \pm 9.3 \mu\text{g/L}$ (定量下限値未満 $\sim 31 \mu\text{g/L}$ 、中央値 $1.3 \mu\text{g/L}$) ; DMTP $20.6 \pm 47.4 \mu\text{g/L}$ (定量下限値未満 $\sim 191 \mu\text{g/L}$ 、中央値 $2.7 \mu\text{g/L}$) ; DETP $4.3 \pm 7.8 \mu\text{g/L}$ (定量下限値未満 $\sim 33 \mu\text{g/L}$ 、中央値 $1.4 \mu\text{g/L}$) であった。

健康指標として、血中性ホルモン濃度、前立腺体積及び PSA 値、精巣容積、不妊の訴えなどについて明らかに生殖機能障害と考えられる所見は集団としてみられなかった。

新たな感受性バイオマーカー候補として殺虫剤作業員、非作業員各 18 人を対象に *PONI* 遺伝子多型を解析し、Q/Q、Q/R、R/R の保有者はそれぞれ 17、39、44%であった。*PONI* の多型は尿及び白血球 8-ヒドロキシデオキシグアノシン (8-OHdG) と関連がなかったが、夏には Q アレルの数が減少するにつれ尿中 DMP、DAP 濃度の減少傾向がみられた。

また、ジクロロボスをラットに 9

週間皮下投与した実験では、運動精子率が赤血球アセチルコリンエステラーゼ活性及び尿中 DMP 濃度に有意に回帰し暴露とともに減少した。

2. 有機スズ化合物

生殖内分泌系および甲状腺機能に関しては元中毒患者群と対照群との間、あるいは重症者と軽症者の間に有意な差を認めなかったが、神経系の自覚症状や腱反射には差を認めた。

3. 有機溶剤

症例群 (排卵障害の存在が確認、あるいは強く予想される者)、対照群 (排卵障害がおそらくないといえる症例および排卵障害の有無について決めがたい不妊症と考えられる者) 292 人のうち、有機溶剤職歴を有する者は 23 人であった。

D. 考察

1. 殺虫剤

昨年の調査結果とあわせ、ハロゲン化炭化水素殺虫剤に関して、労働衛生管理の行き届いた製造工場の暴露レベルでは、神経系への影響が生じないように労働衛生管理を行うことにより集団としての顕性の生殖次世代影響は生じないと考えられる。

精子クレアチンキナーゼ免疫染色は、異常精子を鋭敏かつ正確に検出

するバイオマーカーとしての利用可能性が示された。ただし、現段階では定性的評価にとどまっており、新たなバイオマーカーとして用いることができるかについて今後定量的な評価が必要である。

有機リン系殺虫剤に関して、生体暴露量調査においては、尿中の4種類のジアルキルリン酸濃度の中央値は暴露群、非暴露対照群ともほぼ等しい値であったが、一部の暴露作業者にDMP濃度の高い者がみられた。非暴露集団について今回の測定対象者では米国での測定結果に比べジメチルリン酸濃度が高い傾向にあり、今後より大規模に暴露評価を行う必要があると考えられる。

ジクロロボスを投与したラットでは精子運動性の低下が認められ、職域集団で観察された、運動精子率が変わらずに動きの遅い精子が増えた現象の原因がジクロロボスにある可能性を否定するものではないが、ジクロロボス単独の精子運動性への影響は、暴露がきわめて多くアセチルコリンエステラーゼ活性が低下する特殊な状況を除き事実上問題にならず、一般生活環境の暴露レベルではリスクを無視して問題ないと考えられる。

PONI 遺伝子型に関しては、調査数が少ないこと、最終暴露作業から

採血、採尿までの時間を統一していないことより、有機リン殺虫剤の感受性マーカーとして使用できる可能性があるものの、現時点では結論を保留したい。今後より詳細の検討が必要である。

2. 有機スズ化合物

内分泌かく乱作用に関するヒトへの影響については、トリメチルスズの急性中毒からの快復後長期間経た後の影響としては、生殖、次世代影響の存在を完全には否定できないものの少なくとも生殖内分泌および甲状腺機能においては明確な影響はみられず、むしろ神経系の残存影響が問題になると考えられた。

3. 有機溶剤

有機溶剤作業における妊孕性の低下を示唆する報告は欧米でなされているが、排卵障害に特化したリスクの上昇はみられないものの、重症度の高い不妊患者の暴露との関係について今後さらに検討が必要であると考えられる。

E. 結論

これまでの本研究の範囲では、一般集団に比較し高い暴露を受けている職域集団において、調査した範囲での暴露量では顕性の生殖次世代影

響を見いだしていない。しかし、横断研究の一部では対照群との有意な差が検出されている項目があり、これが不顕性の影響であるか交絡要因によるものか、今後明らかにする必要はある。縦断研究の実施が望ましいが、詳細な生殖機能調査に関する縦断研究を職域で実施するのは実際には不可能に近いとため、経時的に横断研究を繰り返す、被験者の数および参加率をふやす、異なる種類の影響のバイオマーカー測定を併用する、同一物質を扱う異なる職域で横断研究を実施する、動物実験を併用し実験事実との整合性を確認するなどして、暴露と指標の変動との関連の強さ、用量反応関係、関連の一貫性を確認することが必要である。

新しいバイオマーカー候補としては、暴露、影響、感受性のマーカーそれぞれの視点で検討を行った。その中でも精子クレアチンキナーゼ免疫染色は、染まった精子が視覚的に容易に判別できるという点で、検査者により評価基準のばらつきの大きい精子形態にかわる、あるいは補完するバイオマーカーとなる可能性がある。本研究では定性的な評価にとどまっているが、将来の利用可能性に道を開く結果と考えている。

職場の労働衛生の向上を反映して職域での暴露量が一般集団に近い水

準まで下がりつつある現状をふまえると、職域及び一般集団両方で適用可能な暴露のバイオマーカー測定によるリスク評価の重要性が高まっている。特に、食品中からの残留農薬の経口摂取や室内空気環境からの経気道暴露により多種類の微量混合暴露を受けうる農薬類については、職域に加え一般集団も含むより大規模な生物学的暴露モニタリングが望ましいと考えられる。

最後に、研究成果の発表については現在、複数の論文を投稿中、あるいは投稿準備中であるが、研究期間終了後も論文化の努力を続けていきたい。

F. 研究発表

1. 論文発表

Okamura A, Kamijima M, Shibata E, Ohtani K, Takagi K, Ueyama J, Watanabe Y, Omura M, Wang H, Ichihara G, Kondo T, Nakajima T. A comprehensive evaluation of the testicular toxicity of dichlorvos in Wistar rats. Toxicology. (in press)

上島通浩. 職域集団における精液指標調査研究の実際と課題. 日本衛生学雑誌 (in press)

Wang RS, Suda M, Gao X, Wang B,

Nakajima T, Honma T. Health effects of exposure to ethylene glycol monoethyl ether in female workers. *Ind Health* 42, 447-451, 2004

Kishi R, Sata F, Katakura Y, Wang RS, Nakajima T. Effect of pregnancy, age and sex in the metabolism of styrene in rat liver in relation to the regulation of cytochrome P450 enzymes. *J Occup Health* 47, 49-55, 2005.

2. 学会発表

山野優子、上島通浩、日比初紀、酒井 潔、柴田英治、大谷勝己、中館俊夫、那須民江. 臭化メチル取り扱い作業者の健康状態に関する調査研究—生殖次世代影響を中心に—. 第77回日本産業衛生学会 名古屋国際会議場 2004年4月13-16日

岡村愛、上島通浩、大谷勝己、高木健次、柴田英治、市原学、王海蘭、近藤高明、那須民江. 雄性ラットにおける有機リン系殺虫剤ジクロルボスの生殖器に及ぼす影響. 第77回日本産業衛生学会 名古屋国際会議場 2004年4月13-16日

Okamura A, Kamijima M, Ohtani K, Watanabe Y, Takagi K, Shibata E,

Ichihara G, Wang H, Kondo T, Nakajima T. Male reproductive toxicity assessment of dichlorvos. 第10回国際毒科学会タンペレ 2004年7月

Hibi H, Ohori T, Taki K, Yamada Y, Honda N, Nakajima T, Kamijima M. A survey of semen quality in indoor pesticide sprayers. 第27回世界泌尿器科学会議 ハワイコンベンションセンター 2004年10月3-7日

Okamura A, Kamijima M, Shibata E, Ohtani K, Takagi K, Ueyama J, Watanabe Y, Omura M, Wang H, Ichihara G, Kondo T, Nakajima T. Effect of dichlorvos, an organophosphorus insecticide, on rat sperm motility. 第7回日本内分泌かく乱化学物質学会研究発表会 名古屋国際会議場 2004年12月14-15日

李チュルホ、上島通浩、柴田英治、上山純、高木健次、斎藤勲、五藤雅博、日比初紀、内藤久雄、那須民江. 有機リン系殺虫剤暴露とPON1遺伝子型がヒト白血球と尿中の8-hydroxydeoxyguanosineレベルに及ぼす影響. 第78回日本産業衛生学会 東京プリンスホテル 2005年4月20-23日

岡村愛、上島通浩、柴田英治、大谷勝己、高木健次、上山純、大村実、王海蘭、市原学、那須民江。有機リン殺虫剤ジクロルボスによるラット精子運動の持続性障害の検討。第78回日本産業衛生学会 東京プリンスホテル 2005年4月20-23日

山野優子、足立知永子、中館俊夫。職業的に暴露された重症臭化メチル中毒の3例。第78回日本産業衛生学会 東京プリンスホテル 2005年4月20-23日

G. 健康危険情報

なし

H. 研究成果による特許権等の知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

II. 分担研究報告

II-1. ハロゲン化炭化水素殺虫剤

山野優子、上島通浩、中館俊夫、柴田英治、日比初紀、
滝 賢一、市原 学、酒井 潔、大野浩之、内藤久雄、岡村 愛

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

昨年度に引き続き、男性作業員 70 名、女性作業員 25 名が勤務する臭化メチル生産工場で、生殖機能調査を含む横断的な調査を実施した。本年度の調査での参加率は、女性 22 名 (88%) : 臭化メチル取り扱い経験が無いもの (以下、非 Br 群)、男性 16 名 (22.9%) : 臭化メチル取り扱い経験のあるもの (以下、Br 群) 8 名と非 Br 群 8 名である。

血中 Br 濃度は、両群とも 5-9 $\mu\text{g/ml}$ 範囲内で同程度であった。尿中 Br 濃度は、非 Br 群 $8.2 \pm 3.75 \mu\text{g/mgCRE}$ に対して、Br 群では、 $9.7 \pm 4.40 \mu\text{g/mgCRE}$ で、Br 群でやや高値 (5.1-18.8 $\mu\text{g/mgCRE}$) の傾向はあったが、有意差はみられず、またこれらは正常範囲内であった。血中性ホルモン濃度 (LH, FSH, テストステロン) は標準値の範囲内で、両群に有意差はなかった。

慢性および急性として考えられる神経系への影響を把握すべく神経伝導速度を測定したが、群間で有意差は認められなかった。

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。

近年、生産量の大幅削減や環境改善等により、個人曝露量が低下した。よって、本職域での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、生殖内分泌系に直接または間接的に作用する可能性の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者に対して、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、横断的な調査が可能になったので、曝露評価を尿・血液中の代謝物濃度の測定及びサンプラーバッジによる個人曝露量測定により行った。また、血液中性ホルモンの分析や、詳細な精子運動性解析、尿中クレアチン濃度、精巣容積、前立腺サイズ、血中前立腺特異抗原などの測定を実施した。

平成 16 年度は、同対象企業において、血液、尿、精液を採取し、前年度と同様の調査を実施するとともに、末梢神経伝導速度検査など神経内科的評価も取り入れ、低曝露量で最初にみられる生体影響を明らかにする

視点で総合的に解析する。

B. 研究方法

(1) 対象者 (資料 1、表 1)

・平成 14 年度から継続して調査を実施している、臭化メチル製造工場の作業者を対象とした。

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、有機溶剤を使用する。従業員数は、全部で男性作業者 n=70、女性作業者 n=25 の合計 95 名である。

なお、本調査は、事前に調査実施のためのアンケート調査を行ってから開始した。すなわち、例年に引き続き健康調査に参加してもよいか否かの調査である。(資料-1-a, b) さらに、参加してもよいのであれば、どのような内容のものを希望するかというものである。回収は、工場入口に回収箱を設置し、各自アンケート用紙を入れてもらうという方式をとった。

その結果、90 名中 33 名 (34.7%) から回収した。アンケート調査結果のうちわけは以下のとおりである。

健康調査：必要なし (24.2%)

参加したい (51.5%)

参加してもよい (24.2%)

内容：問診票記入(63.2%)
個人曝露濃度測定(51.5%)
健康相談(42.4%)
血液、尿、前立腺検査(69.7%)
神経機能検査(51.5%)
精液検査(9.1%)

上記の結果を受けて、企業側とも相談の結果、本年度も調査を実施することが可能となった。なお、同意書は全員に取り直しをした結果、主だった調査項目への同意は、男性作業員については16名、女性作業員については22名から得られた。なお、精液検査で同意が得られたものは、3名であった。同意が得られたもののうちわけは、表1に示す如く、男性同意者16名では、臭化メチルを取り扱った経験を持つ作業員8名(以下、Br群と略す)と、取り扱い経験がない作業員8名(以下、非Br群と略す)であった。女性同意者22名は、全て臭化メチルは取り扱っていない。曝露歴等については、男性作業員Br群8名の平均年齢は、49.1歳(39-59歳)、平均曝露期間は7.5年(2.3-23.4年)、平均就業年数は23.9年(14-35年)であった。また、非Br群8名の平均年齢は、44.8歳(26-64歳)、平均就業年数は9.5年(3-22年)であり、各群においての年齢には有意差はみられなかったが、就業年数は、Br群で有意に長かった。女性作業員非Br

群22名の平均年齢は、52.9歳(33-59歳)であった。

(2) 調査概要

a. インフォームドコンセント

今回は、平成15年度に引き続きということで、企業に対しては、衛生管理者と工場長および産業医に対しての詳細な説明のみで、安全衛生委員会時には、工場長から説明をしてもらった。また、各作業員に対しては、衛生管理者を通して資料を配布してもらい、同意を得た。事前調査の後、同意書は、全員に再度取り直しをした。

b. 調査内容および方法

イ) 健康状態に関する質問(資料2)

自記式質問票を用いて行った。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) 研究参加率をあげるための工夫(資料3)

対象作業員の参加率をあげるために、事前調査時に希望が多かった骨粗しょう症、糖尿病、睡眠時無呼吸症候群、肝疾患、歯周病、仕事のス

トレスなど健康についての自記式質問票を作成し、判定結果を健診結果とともに返却した。また同様に、超音波装置（ALOKA 超音波骨密度測定装置、AOS-100）を用いて骨密度の測定を行い、間接的に骨年齢も算出した。

ハ) 採血、採尿

血液サンプルに関しては、臭素イオン、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、エストラジオール、前立腺特異抗原(PSA)を一般生化学項目とともに測定した。

尿サンプルについては、臭素イオン濃度の測定を行い、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4)

臭化メチル用及び有機溶剤用に2種類のパッシブサンプラー(活性炭チューブ)を襟元に装着してもらい、溶剤抽出・ガスクロマトグラフ質量分析法により時間加重平均個人曝露量を測定した。臭化メチル標準ガスは、パーミエーターによる動的標準ガス発生法によって調製し、検量線を作成した。有機溶剤についてはメーカーによるサンプリングプレートを用いて濃度計算を行った。

ホ) 神経機能評価(資料5)

腓骨神経の運動および感覚神経伝導速度、F波伝導速度、遠位潜時を測定した。皮膚温を測定し、伝導速度を補正した。また、神経内科専門医により、神経学的所見を評価した。表在および深部感覚、振動覚については振動を感知する秒数、深部腱反射および各種異常反射の有無をスクリーニング的に評価し、異常が認められる場合にさらに詳細に評価することとした。

ヘ) 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、大学の倫理委員会での承認手続きを経て実施した。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。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。専門医による健康相談の機会を設けるとともに、結果は、異常値が疑われる場合は被験者に十分な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とした。

（４） 解析

個人曝露濃度や気中濃度等は、男女ともすべての対象者で解析するが、血液サンプルの生化学的なマーカーおよび性ホルモン等については、男性作業者のみを対象として、臭化メチル取り扱いの有無で解析した。

C. 研究結果および考察

（１） 回収率

上記対象者の項にも示したが、血液、尿等の検査、その他の診察等に

同意が得られたものは全男性作業者 70 名中 16 名（Br 群 8 名、非 Br 群 8 名）で、回収率は 22.9%であった。女性作業者は 25 名中 22 名（非 Br 群 22 名）で、回収率は 88.0%であった。精液検査については、3 名（4.3%）と非常に低く、うち Br 群 2 名、非 Br 群 1 名であった。

男性作業者における参加率の低さは、精液検査を含む生殖機能評価研究に対するとまどいがあったものと考えられ、職域集団を対象とした研究のむずかしさを改めて示すものとなった。

（２） 臭化メチル取扱作業者集団における曝露量評価（図 1、図 2、図 3）

調査時の血中 Br イオン濃度を図 1 に示した。非 Br 群 $5.9 \pm 1.10 \mu\text{g/ml}$ ($n=30$: 男性 $n=8$ 女性 $n=22$) に対して、Br 群では、 $5.5 \pm 1.29 \mu\text{g/ml}$ ($n=8$) で両群とも同程度であった。

尿中 Br イオン濃度を図 2 に示した。非 Br 群 $8.2 \pm 3.75 \mu\text{g/mgCRE}$ ($n=30$) に対して、Br 群では、 $9.7 \pm 4.40 \mu\text{g/mgCRE}$ ($n=8$) で、Br 群で高値 ($5.1 \sim 18.8 \mu\text{g/mgCRE}$) ではあったが、有意差はみられなかった。

これらの値は、血液・尿ともに、一般健常者の範囲にとどまった。

なお、初年度に報告したが、同工