

胎児期ビスフェノール A 曝露による臍帯血中性ホルモン濃度への影響

研究分担者 佐々木 成子 北海道大学大学院医学研究科予防医学講座公衆衛生学分野助教

研究分担者 松村 徹 いであ株式会社環境創造研究所取締役・環境創造研究所副所長

研究分担者 荒木 敦子 北海道大学環境健康科学研究教育センター特任講師

研究分担者 野々村 克也 北海道大学大学院医学研究科外科治療学講座腎泌尿器外科学分野教授

研究代表者 岸 玲子 北海道大学環境健康科学研究教育センター特任教授

研究要旨

ビスフェノール A (BPA) はポリカーボネートやエポキシ樹脂などの原料として使用されている化学物質で、ヒトは主に経口摂取によって曝露される。エストロゲン類似作用やアンドロゲン阻害作用を表すことが示唆されているが、ヒトでのデータはまだ少ないことから、微量試料中 BPA の高精度測定法を開発して、胎児期 BPA 曝露による性ホルモン濃度への影響を検討した。男児の BPA 濃度は 0.056 ng/mL (中央値)、女児は 0.048 ng/mL (中央値) であった。男児では、BPA 濃度が上昇すると総テストステロン濃度が有意に上昇したが ($p=0.042$)、女児では関連がみられなかった。

研究協力者

山本 潤

(いであ株式会社環境創造研究所)

伊藤 佐智子

(北海道大学環境健康科学研究教育センター)

三井 貴彦

(北海道大学病院泌尿器科)

長 和俊

(北海道大学病院産科・周産母子センター)

A . 研究目的

ビスフェノール A (BPA) は食器や容器、おもちゃなどプラスチック製品となるポリカーボネートや食品缶詰の内面塗装となるエポキシ樹脂などの原料として使用されている化学物質である。ヒトは BPA を原料とする樹脂で製造された容器等からの溶出により、主に経口的に曝露される。

動物実験による急性毒性、慢性毒性、生殖発生毒性、発達毒性、遺伝毒性、発がん性などの試験結果から、現在、欧米諸国およびわが国においては最小毒性量 (LOAEL) 50mg/kg 体重/日、最大無毒性量 (NOAEL) 5mg/kg 体重/日が用いられ、ヒトに対する耐容一日摂取量 (TDI)

は 0.05mg/kg 体重/日に設定されている。

BPA 曝露によりエストロゲン受容体が活性化され、エストロゲン類似作用やアンドロゲン阻害作用を表すことが示唆されている。近年、げっ歯類の動物実験で、従来の毒性試験で NOAEL とされた用量より低い用量の BPA 胎児期曝露で、仔の思春期早発や神経発達への影響などが報告されたが (Dell Seta et al., 2006; Tan et al., 2003; Markey et al., 2003; Adrinani et al., 2003; Palanza et al., 2002)、ヒトでのデータはまだ少ない。

本研究では、開発した微量試料中 BPA 高精度測定法を用いて臍帯血中の BPA 濃度を測定し、胎児期 BPA 曝露による性ホルモン濃度への影響を検討する。

B . 研究方法

札幌市内 1 産院コーホートに登録した母児 514 名について、自記式質問票で母親と配偶者の妊娠中の喫煙・飲酒状況、食生活や教育歴、世帯収入などを調査し、医療診療録から産科既往歴や分娩時所見などに関する情報を入手した。

臍帯血中の BPA 濃度は、同位体希釈 LC-MS/MS 法（検出下限値 0.048 ng/mL）で測定した。性ホルモンのうち、エストラジオール（E2）、総テストステロン（T）、プロゲステロン（P4）濃度は LC-MS/MS 法で、また黄体形成ホルモン（LH）、卵胞刺激ホルモン（FSH）、性ホルモン結合グロブリン（SHGB）プロラクチン（PRL）濃度は免疫放射定量（IRMA）法で、さらに Inhibin B 濃度は ELISA 法、Insulin-like factor3（INSL3）濃度は EIA 法を用いて（株）あすか製薬メディカルで測定した。

すべての測定において検出下限値（LOD）以下の場合には半値を代入し、BPA 濃度と性ホルモン濃度のデータがある 278 名（男児 124 名、女児 154 名）を解析対象者とした。INSL3 は、過去の報告から女児では低値であるとされているので、ランダム抽出した 20 名を測定したところ、有意に低値であったので（ $p < 0.0001$ ）、男児のみを測定した。

（倫理面への配慮）

本研究は、北海道大学環境健康科学研究教育センターおよび北海道大学大学院医学研究科・医の倫理委員会の承認を得た。個人名及び個人データの漏洩については、データの管理保管に適切な保管場所を確保するなどの方法により行うとともに、研究者の道義的責任に基づいて個人データをいかなる形でも本研究の研究者以外の外部の者に触れられないように厳重に保管し、取り扱った。

C . 研究結果

男児 124 名の BPA 濃度は 0.056 ng/mL（中央値）、女児 154 名の BPA 濃度は 0.048 ng/mL（中央値）であった。LOD（0.048 ng/mL）以下は、男児で 32 名（25.8%）、女児で 43 名（27.9%）であっ

た。母児の属性による濃度に差はみられなかった（表 1）。

性ホルモン濃度は、T（ $p < 0.001$ ）と Inhibin B（ $p < 0.001$ ）の濃度が男児で女児よりも有意に高かった。性腺刺激ホルモンである LH（ $p < 0.001$ ）および FSH（ $p < 0.001$ ）の濃度も男児で高かったが、検出率がそれぞれ 35.6%、47.2%と低かったことから、高感度測定法による再測定が必要である（表 2）。

胎児期 BPA 曝露による性ホルモン濃度への影響を Spearman's の相関係数（ ρ ）でみると、男児では、臍帯血中 BPA 濃度の上昇により PRL 濃度が低下し（ $\rho = -0.180$; $p = 0.046$ ）、E 濃度は上昇する傾向がみられた（ $\rho = 0.176$; $p = 0.051$ ）。一方、女児では、Inhibin B 濃度が有意に上昇した（ $\rho = 0.175$; $p = 0.030$ ）（表 3）。

さらに、それぞれの濃度を \log_{10} 変換して、母の年齢、喫煙と飲酒量、世帯収入、在胎週数で調整した重回帰分析を行ったところ、男児では、BPA 濃度が上昇すると T 濃度が有意に上昇したが（ $p = 0.042$ ）、女児では、関連がみられなかった（表 4）。

D . 考察

疫学研究で男児を対象に BPA 曝露による性ホルモン濃度への影響を検討した先行研究は 1 編しかなく、停留精巣をアウトカムとした症例対照研究のみである。胎児期 BPA 曝露による先天異常への影響は認められなかったが、対照群の健常男児 106 名では、臍帯血中 BPA 濃度が上昇すると、T および Inhibin B の濃度が上昇した（Fenichel et al., 2012）。また、成人男性で検討した先行研究では、24 時間尿中 BPA 濃度が高くなると、血清中 T 濃度が上昇したことから、BPA 曝露によりアロマターゼ活性が低下して、T から E2 への変換が減少することが示唆された（Galloway et al.,

2010)。しかし、逆に T 濃度が減少したという報告もあり、精巣内ライディッヒ細胞が阻害されたことによるホルモン産生の減少が考えられるとしている (Mendiola et al., 2010)。

動物実験でも結果は一致しておらず、妊娠中～生後まで観察した実験では、BPA 曝露による雄仔ラットの T 濃度に変化はないという報告がある一方で (Gamez et al., in press [BPA 濃度 3µg/kg/day]; Nanjappa et al., 2012 [BPA 濃度 2.5, 25µg/kg/bw]; Thuillier et al., 2009 [BPA 濃度 1-200mg/kg/day]) 減少したという報告もある (Cardoso et al., 2011 [BPA 濃度 2.5mg/kg/bw/day])。また、雄仔マウスでも、BPA 曝露による T 濃度の上昇 (Kendig et al., 2012 [BPA 濃度 0~300ppm]) と減少 (Xi et al., 2011 [BPA 濃度 12,25,50mg/kg/day]) の相反する報告がされている。さらに、生後の雄ラットに 8 週間、経口曝露 (BPA 濃度 0.0005-5mg/kg/bw) した実験では、T 生合成に關与する酵素である StAR、CYP450scc の発現が増加し、アロマターゼ活性に關与する CYP450arom の発現が低下したことにより、精巣 T 濃度が上昇したと報告されており (Qiu et al., 2013) 遺伝的要因の検討も必要である。

ただ、BPA はマウス、ラット、ヒトでは経口曝露後、その大部分が消化管から速やかに吸収されて肝臓で主に BPA-グルクロニド (BPAG) に代謝されるが、生物活性を有するのは、代謝前の非抱合型 (遊離型) BPA のみで、ヒトでは BPAG は肝臓から全身循環されて速やかに尿中に排泄されるのに対し、げっ歯類では胆汁中に排泄されて腸管に存在するグルクロニダーゼにより BPA とグルクロン酸に解離され、遊離型 BPA は再び血液中に吸収されるため、BPA の排泄を遅滞させるとされている。

また、げっ歯類はエストロゲン様活性をもつ遊離型 BPA がヒトに比べて多いため、遊離型 BPA による曝露を長く受けるとされている。さらに、マウスはヒトよりもエストロゲン感受性が高く、弱いエストロゲン様物質にも感応し得るという報告もあり、ヒトとげっ歯類における BPA の体内動態の相違によって感受性が違うことが考えられることから (Tominaga et al., 2006; Witorsch et al., 2002; Snyder et al., 2000) BPA 曝露によるヒトへの影響を解明するには、ヒトでのデータをさらに蓄積する必要がある。

本研究では、臍帯血中 BPA 濃度が高くなると男児の T 濃度は上昇したが、E2/T 比の減少は有意ではなく、さらに、アロマターゼ活性に關与する酵素の遺伝子発現を測定していないため、BPA によりアロマターゼ活性が阻害されて T 濃度上昇したのかについては明らかにできなかった。

一方、女児では、胎児期 BPA 曝露により Inhibin B 濃度が上昇する傾向がみられたが、性ホルモン濃度の検出率が低い (27.3%) 結果の解釈には注意が必要である。

E . 結論

微量試料中 BPA の高精度測定法を開発して胎児期 BPA 曝露による性ホルモン濃度への影響を検討したところ、男児では、BPA 濃度が上昇すると T 濃度が有意に上昇したが、女児では関連がみられなかった。

今後は性ホルモンが關与する生後の健康影響との関連を検討する。

F . 研究発表

- 1) 論文発表
なし

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

2) 学会発表
なし

G . 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

参考文献

- 1) Adriani W, Seta DD, Dessi-Fulgheri F, Farabollini F, Laviola G. Altered profiles of spontaneous novelty seeking, impulsive behavior, and response to D-amphetamine in rats perinatally exposed to bisphenol A. *Environ Health Perspect.* 2003;111:395-401.
- 2) Cardoso N, Pandolfi M, Lavalle J, Carbone S, Ponzio O, Scacchi P et al. Probable gamma-aminobutyric acid and involvement in bisphenol A effect at the hypothalamic level in adult male rats. *J Physiol Biochem.* 2011;67(4):559-567.
- 3) Dell Seta D, Minder I, Belloni V, Aloisi AM, Dessi-Fulgheri F, Farabollini F. Pubertal exposure to estrogenic chemicals affects behavior in juvenile and adult male rats. *Horn Behav.* 2006;50:301-307.
- 4) Dell Seta D, Minder I, Belloni V, Aloisi AM, Dessi-Fulgheri F, Farabollini F. Pubertal exposure to estrogenic chemicals affects behavior in juvenile and adult male rats. *Horn Behav.* 2006;50:301-307.
- 5) Dell Seta D, Minder I, Belloni V, Aloisi AM, Dessi-Fulgheri F, Farabollini F. Pubertal exposure to estrogenic chemicals affects behavior in juvenile and adult male rats. *Horn Behav.* 2006;50:301-307.
- 6) Galloway T, Cipelli R, Guralnik J, Ferrucci L, Bandinelli S, Corsi AM et al. Daily bisphenol A excretion and associations with sex hormone concentrations: results from the InCHIANTI adult population study. *Environ Health Perspect.* 2010;118(11):1603-1608.
- 7) Gamez JM, Penalba R, Cardoso N, Ponzio O, Carbone S, Pandolfi M et al. Low dose of bisphenol A impairs the reproductive axis of prepubertal male rats. *J Physiol Biochem.* In press.
- 8) Kendig EL, Buesing DR, Christie SM, Cookman CJ, Gear RB, Hugo ER et al. *Int J Toxicol.* 2012;31(6):537-550.
- 9) Markey CM, Coombs MA, Sonnenschein C, Sato AM. Mammalian development in a changing environment: exposure to endocrine disruptors reveals the developmental plasticity of steroid-hormone target organs. *Evol Dev.* 2003;5:67-75.
- 10) Mendiola J, Jorgensen N, Andersson AM, Calafat AM, Ye X, Redmon JB et al. Are environmental levels of bisphenol a associated with reproductive function in fertile men? *Environ Health Perspect.* 2010;118(9):1286-1291.
- 11) Nanjappa MK, Simon L, Akingbemi BT. The industrial chemical bisphenol A (BPA) interferes with proliferative activity and development of

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

- steroidogenic capacity in rat Leydig cells. *Biol Reprod.* 2012;86(5):135, 1-12.
- 12) Palanza PL, Howdeshell KL, Parmigiani S, vom Saal FS. Exposure to a low dose of bisphenol A during fetal life or in adulthood alters maternal behavior in mice. *Environ Health Perspect.* 2002;110 Suppl3:415-422.
- 13) Qiu LL, Wang X, Zhang XH, Zhang Z, Gu J, Liu L et al. Decreased androgen receptor expression may contribute to spermatogenesis failure in rats exposed to low concentration of bisphenol A. *Toxicol Lett.* 2013;219(2):116-124.
- 14) Snyder RW, Maness SC, Gaido KW, Wellsch F, Summer SC, Fennell TR. Metabolism and disposition of bisphenol A in female rats. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2000;168:225-234.
- 15) Tan BL, Kassim NM, Mohd MA. Assessment of pubertal development in juvenile male rats after sub-acute exposure to bisphenol A and nonylphenol. *Toxicol Lett.* 2003;143:261-270.
- 16) Tominaga T, Negishi T, Hirooka H, Miyachi A, Inoue A, Hayasaka I et al. Toxicokinetics of bisphenol A in rats, monkeys and chimpanzees by the LC-MS/MS method. *Toxicology.* 2006;226:208-217.
- 17) Witorsch RJ. Low-dose in utero effects of xenoestrogens in mice and their relevance to humans: an analytical review of the literature. *Food Chem. Toxicol.* 2002;40:905-912.
- 18) Xi W, Lee CK, Yeung WS, Giesy JP, Wong MH, Zhang X et al. Effect of perinatal and postnatal bisphenol A exposure to the regulatory circuits at the hypothalamus-pituitary-gonadal axis of CD-1 mice. *Reprod Toxicol.* 2011;31(4):409-417.

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

表 1 . 臍帯血中 BPA 濃度と母児属性との関連 (n=278)

	n (%)	Mean (SD)	BPA (ng/mL)		
			GM	Med (25 th-75 th)	p-value
母属性					
年齢 (歳)		30.4 (5.0)		Spearman's ρ = -0.076	0.207
出産前BMI (kg/m ²)		20.9 (3.0)		Spearman's ρ = -0.015	0.803
妊娠中喫煙歴	非喫煙者	223 (80.2)	0.048	0.052 (<LOD-0.076)	0.827 ^b
	喫煙者	55 (19.8)	0.049	0.051 (0.029-0.072)	
妊娠中飲酒歴	非飲酒者	181 (65.1)	0.049	0.052 (<LOD-0.075)	0.924 ^b
	飲酒者	97 (34.9)	0.048	0.050 (<LOD-0.077)	
飲酒者飲酒量 (g/day)		1.52 (0.36-152.0) ^a		Spearman's ρ = -0.007	0.948
世帯収入 (百万円)	<5	199 (71.6)	0.049	0.055 (<LOD-0.076)	0.328 ^b
	≥5	79 (28.4)	0.046	0.048 (<LOD-0.075)	
児属性					
性別	男児	124 (44.6)	0.049	0.056 (<LOD-0.075)	0.532 ^b
	女児	154 (55.4)	0.048	0.048 (<LOD-0.076)	
在胎週数 (週)		39.3 (1.1)		Spearman's ρ = -0.042	0.486
出生時体重 (g)		3129 (333)		Spearman's ρ = 0.031	0.605

^a Median (min-max)

^b Mann-Whitney test

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

表 2 . 臍帯血中性ホルモン濃度分布 (n=278)

	男児 (n=124)					女児 (n=154)					p-value ^a
	n	GM	Med	(25th-75th)	>LOD (%)	n	GM	Med	(25th-75th)	>LOD (%)	
E2 (ng/mL)	124	5.38	4.90	(3.41-7.60)	100	154	4.68	4.66	(3.11-6.52)	100	0.128
T (pg/mL)	124	98.2	98.3	(77.7-122.5)	100	154	71.0	69.0	(51.8-94.9)	100	<0.001
P4 (ng/mL)	124	213.9	228.8	(185.6-298.7)	100	154	178.8	209.0	(165.1-276.1)	100	0.086
LH (mIU/mL)	123	0.43	<LOD	(<LOD-0.85)	36.6	150	<LOD	<LOD	(<LOD-<LOD)	0.7	<0.001
FSH (mIU/mL)	123	0.41	<LOD	(<LOD-0.67)	47.2	149	<LOD	<LOD	(<LOD-<LOD)	0.0	<0.001
SHBG (nmol/mL)	124	16.5	16.6	(13.9-19.3)	100	154	15.7	15.5	(12.8-18.4)	99.4	0.060
PRL (ng/mL)	123	86.2	85.8	(65.1-117.0)	100	152	82.6	86.0	(60.9-118.5)	99.3	0.773
Inhibin B (pg/mL)	124	43.6	44.4	(35.0-58.5)	99.2	154	8.40	<LOD	(<LOD-12.7)	27.3	<0.001
INSL3 (ng/mL)	123	0.29	0.29	(0.25-0.34)	100			n.d.			
E2/T	124	0.05	0.05	(0.04-0.07)	n.d.	154	0.07	0.06	(0.05-0.08)	n.d.	0.003

^a Mann-Whitney test

n.d.: not determined

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

表3 . 臍帯血中 BPA 濃度と性ホルモン濃度との相関 (n=278)

	男児 (n=124)		女児 (n=154)	
	ρ	p-value ^a	ρ	p-value ^a
E2 (ng/mL)	0.176	0.051	0.114	0.158
T (pg/mL)	0.112	0.214	0.059	0.468
P4 (ng/mL)	0.139	0.124	0.152	0.061
LH (mIU/mL)	0.011	0.903	n.d.	
FSH (mIU/mL)	0.047	0.603	n.d.	
SHBG (nmol/mL)	0.062	0.492	0.061	0.450
PRL (ng/mL)	-0.180	0.046	0.124	0.129
Inhibin B (pg/mL)	0.006	0.949	0.175	0.030
INSL3 (ng/mL)	0.036	0.689	n.d.	
E2/T	0.097	0.282	0.094	0.244

^aSpeaman's correlation

n.d.: not determined

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

表 4 . 臍帯血中 BPA 濃度と性ホルモン濃度との関連 (n=278)

	男児 (n=124)			女児 (n=154)		
	β	95%CI	p-value ^a	β	95%CI	p-value ^a
E2 (ng/mL)	0.185	-0.021 0.392	0.078	0.071	-0.080 0.223	0.354
T (pg/mL)	0.201	0.007 0.395	0.042	0.051	-0.141 0.243	0.598
P4 (ng/mL)	0.176	-0.011 0.363	0.065	0.144	-0.084 0.373	0.214
LH (mIU/mL)	0.054	-0.205 0.313	0.681		n.d.	
FSH (mIU/mL)	0.031	-0.155 0.218	0.741		n.d.	
SHBG (nmol/mL)	0.024	-0.053 0.101	0.541	0.059	-0.074 0.192	0.380
PRL (ng/mL)	-0.106	-0.251 0.040	0.153	0.104	-0.059 0.266	0.210
Inhibin B (pg/mL)	0.077	-0.068 0.222	0.294	0.191	-0.009 0.392	0.061
INSL3 (ng/mL)	0.054	-0.045 0.154	0.283		n.d.	
E2/T	-0.016	-0.181 0.149	0.850	0.020	-0.141 0.181	0.807

^a重回帰分析: Log10変換後, 母年齢, 喫煙歴, 飲酒量, 世帯収入, 在胎週数で調整

n.d.: not determined