

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 8 検体についての二重測定の結果.

北大ID	BPA濃度 (ng/mL)		差 (%)
	1回目	2回目	
232 (臍帯血)	0.057	0.069	20
224 (母体血)	0.024	0.027	11
369 (臍帯血)	0.066	0.054	20
511 (臍帯血)	0.094	0.077	19
230 (臍帯血)	0.042	0.044	5.5
302 (臍帯血)	0.057	0.051	11
76 (臍帯血)	0.082	0.086	5.3
129 (臍帯血)	0.027	0.023	17

【注釈】

差(%) = (2回の測定分析における BPA 濃度の差) / (2回の測定分析における BPA 濃度の平均) x 100
表 4 における BPA 濃度は、1 回目の結果を表記.

表 5 母体血及び臍帯血中の BPA 濃度に関する統計量.

統計量	BPA濃度 (ng/mL)		
	母体血 (n=44)	臍帯血 (n=57)	全体 (n=101)
最大	0.12	0.18	0.18
最小	0.016	0.021	0.016
平均値	0.052	0.065	0.059
標準偏差	0.029	0.036	0.034
中央値	0.053	0.064	0.059

【注釈】

濃度 ND については、対応する分析ロットにおける MDL の半値を用いて統計量を算出.

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 母体血及び臍帯血中の BPA 濃度及び各検体における回収率.

北大ID	母体血		臍帯血			
	分析 ロット No.	BPA濃度 (ng/mL)	回収率 (%)	分析 ロット No.	BPA濃度 (ng/mL)	回収率 (%)
	224	1	ND	91	1	0.071
232	1	0.092	82	1	0.057	66
221	1	ND	87	1	0.089	68
280	1	0.054	82	1	0.079	77
293	1	0.037	68	1	0.070	70
368	1	0.051	81	1	0.058	80
355	1	0.047	82	1	0.045	72
376	1	0.072	74	1	0.13	70
370	1	0.085	60	2	0.061	73
364	1	0.045	80	2	0.028	85
365	1	0.059	84	2	0.021	79
369	1	0.12	74	2	0.066	77
483	1	0.034	75	2	0.12	67
485	1	0.069	68	2	0.064	65
506	1	0.067	72	2	0.052	75
511	1	0.076	82	2	0.094	85
497	1	0.082	76	2	0.13	80
76	4	ND	73	4	0.082	80
49	4	0.057	80	4	ND	82
53	4	0.068	91	4	ND	83
56	4	0.061	75	4	ND	83
91	4	ND	80	4	ND	78
129	4	ND	74	4	ND	74
117	4	ND	87	4	ND	68
123	4	ND	91	4	0.058	66
139	4	ND	83	4	0.063	73
179	4	0.047	89	4	0.056	75
178	4	ND	82	4	0.068	69
160	4	ND	82	4	0.064	66
147	4	ND	79	4	ND	96
167	4	0.10	87	4	ND	73
438	3	ND	91	2	0.076	76
437	3	0.062	85	2	0.18	75
463	3	ND	89	2	0.078	73
469	3	0.11	90	2	0.056	83
458	3	ND	83	2	0.075	77
465	3	0.059	92	2	0.041	83
467	3	0.059	84	2	0.11	86
479	3	0.079	85	2	0.075	74
501	3	0.10	80	2	0.076	90
481	3	0.058	80	2	0.16	80
489	3	ND	82	2	0.084	89
504	3	ND	80	2	0.11	78
505	3	0.066	67	2	0.12	74
210				2	0.091	86
240				2	0.088	81
234				2	0.077	68
235				3	ND	85
225				3	0.077	77
249				3	ND	78
230				3	ND	76
284				3	ND	81
269				3	ND	74
277				3	0.070	78
283				3	ND	73
278				3	0.069	69
302				3	0.057	89

【注釈】

BPA 濃度は、対応するロットのブランク試験値を差し引いた値。

ブランク試験結果から求めた MDL(分析ロット 1:0.032ng/mL、分析ロット 2:0.015ng/mL、分析ロット 3:0.048ng/mL、分析ロット 4:0.045ng/mL)未満の試料については、『ND』で表記。

回収率は、クリーンアップスパイク内標準物質(BPA d-16)の応答/シリンジスパイク内標準物質(BPA d-4)の応答を用い、(試料液)/(標準液の平均) × 100 で算出した値。

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 6 分析ロットにおける装置の応答変動の確認.

分析ロット No.1	RRF	相対比(%)
検量線作成時	0.98	98
Check(1回目)	1.01	101
Check(2回目)	0.99	98
Check(3回目)	0.96	95
Check(4回目)	0.95	95
Check(5回目)	0.99	98
平均値	0.98	98
最大値	1.01	101
最小値	0.95	95

分析ロット No.2	RRF	相対比(%)
検量線作成時	1.01	100
Check(1回目)	1.01	100
Check(2回目)	0.95	94
Check(3回目)	1.02	101
Check(4回目)	0.97	96
平均値	0.99	98
最大値	1.02	101
最小値	0.95	94

分析ロット No.3	RRF	相対比(%)
検量線作成時	0.97	92
Check(1回目)	0.94	89
Check(2回目)	0.98	93
Check(3回目)	0.98	93
Check(4回目)	1.01	96
Check(5回目)	1.00	95
平均値	0.98	93
最大値	1.01	96
最小値	0.94	89

分析ロット No.4	RRF	相対比(%)
検量線作成時	0.93	92
Check(1回目)	0.96	96
Check(2回目)	1.00	100
Check(3回目)	0.99	99
Check(4回目)	1.00	100
平均値	0.98	97
最大値	1.00	100
最小値	0.93	92

【注釈】

相対比(%) = RRF(Check で測定した標準液の値)/RRF(検量線の平均値).

母体血と臍帯血中のビスフェノール A (BPA) 濃度の相関

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副所長
研究分担者 宮下ちひろ 北海道大学環境健康科学研究教育センター学術研究員
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) の生殖系、内分泌系への健康リスクについて次世代影響を含めた疫学研究を行うために、微量試料中 BPA を迅速処理、高精度で測定する生体試料分析法（同位体希釈 LC/MS/MS 法）を開発し、一部測定を行った。母児の濃度相関を検討したところ、臍帯血の BPA 濃度は 0.055 ng/mL（幾何平均） [0.024-0.217ng/mL] で、母と同程度であったことから胎児への移行が示唆された。しかし、母・胎児の相関係数は $r=0.11$ ($p=0.414$) で有意な関連は認められなかった。

研究協力者

山本 潤
（いであ株式会社環境創造研究所）
樫野 いく子、岡田 恵美子、小林 澄貴、
伊藤 久美子
（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）

血液試料に適用した。母児 BPA 濃度の関連を検討するため、出産時に母体血と臍帯血を採取して、同位体希釈 LC-MS/MS 法（検出下限値 0.048 ng/mL）で血中 BPA 濃度を測定した。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。

（倫理面への配慮）

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および研究協力施設の研究倫理委員会に諮り、承認を得たうえで実施した。

A. 研究目的

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ある。ヒトは主に経口摂取によって曝露されるが、エストロゲン受容体が活性化することにより、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、実験的に思春期早発や神経発達への影響が示唆されたが、生体試料中の BPA 濃度は極めて低いため、リスク評価の際は正確さの高いデータを用いる必要がある。本研究では、開発した微量試料中 BPA の高精度測定法を用いて母体血および臍帯血中の BPA 濃度を測定し、次世代影響を検討する。

B. 研究方法

同位体希釈-液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計 (ID-LC-MS/MS) をヒト

C. 研究結果

母児の母体血中 BPA 濃度は 0.047 ng/mL（幾何平均） [0.024-0.419ng/mL]、また、臍帯血中 BPA 濃度は 0.055 ng/mL（幾何平均） [0.024-0.217ng/mL] で、母と同程度であったことから胎児への移行が示唆された（表 1、図 1）。濃度に関係する要因を検討すると、世帯収入が年間 500 万円未満では、臍帯血中 BPA 濃度が有意に高かった ($p=0.021$)（表 2）。しかし、母・

胎児の相関係数は $r=0.11$ ($p=0.414$) で有意な関連は認められなかった（図 2）。

D. 考察

血液中の BPA は、妊娠中の母親血液と臍帯血の相関は認められなかったが、胎児も成人と同レベルの曝露であることから、今後は、発達などへの影響を検証する必要がある。

E. 結論

微量試料中 BPA を迅速処理、高精度で測定する生体試料分析法を開発し、母児の濃度相関を検討したところ、臍帯血の BPA 濃度は母と同程度であったことから胎児への移行が示唆された。

F. 研究発表

1) 論文発表

なし

2) 学会発表

1. 佐々木成子, 宮下ちひろ, 松村徹, 山本潤, 檜野いく子, 岡田恵美子, 小林澄貴, 伊藤久美子, 岸玲子. 「妊娠期のビスフェノール A 曝露による母体血、臍帯血中濃度の検討」第 83 回日本衛生学会学術総会. 金沢市; 2013 3/ 24-26.

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

表 1. 母体血および臍帯血中 BPA 濃度 (n=59, ng/mL)

	Geometric Mean	Min	25th	50th	75th	Max
母体血	0.047	0.024	0.024	0.058	0.073	0.419
臍帯血	0.055	0.024	0.024	0.061	0.079	0.217

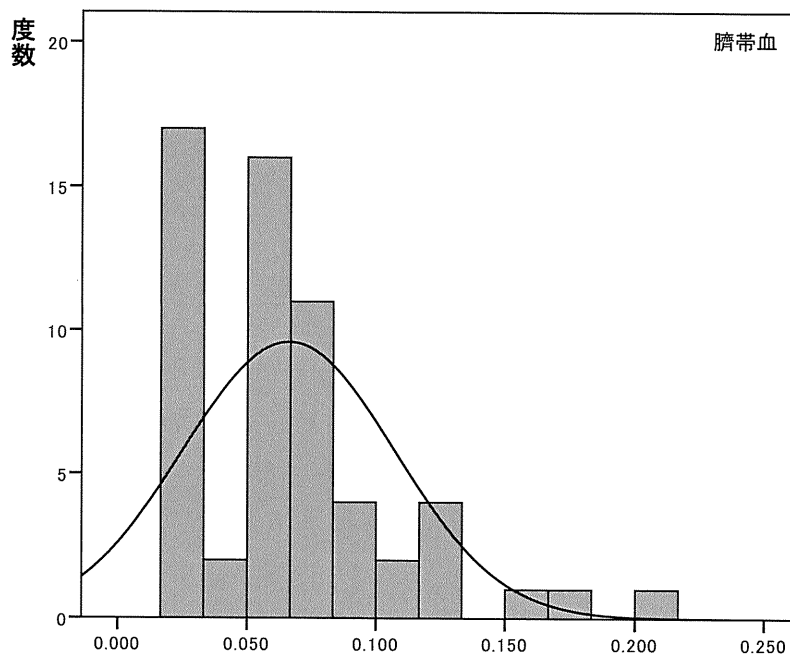
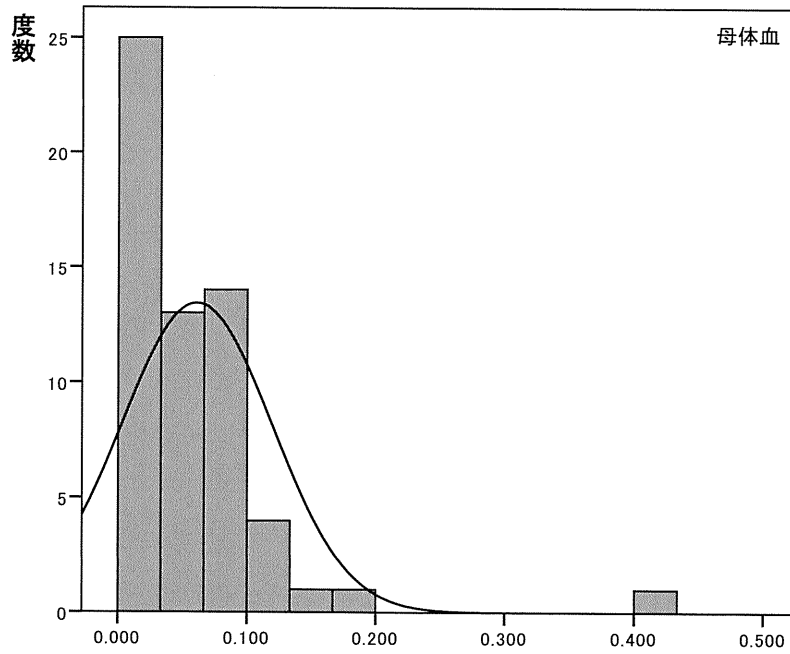


図 1. 母体血および臍帯血中 BPA 濃度分布 (n=59, ng/mL)

表 2. 母体血および臍帯血中 BPA 濃度との母児属性との関連 (n=59)

	Mean(SD) /numbers(%)	母体血BPA Geometric mean (ng/mL) /correlation coefficient	<i>p</i> -value	臍帯血BPA Geometric mean (ng/mL) /correlation coefficient	<i>p</i> -value
母属性					
年齢(歳)	30.3 (5.0)	$r=-0.223$	0.089 ^a	$r=-0.195$	0.139 ^a
身長(cm)	157.7 (6.1)	$r=-0.219$	0.096 ^a	$r=-0.216$	0.101 ^a
体重(kg)	50.9 (6.8)	$r=-0.177$	0.179 ^a	$r=-0.179$	0.175 ^a
教育歴(年)					
≤12	28 (47.5)	0.049	0.844 ^b	0.054	0.806 ^b
>12	31 (52.5)	0.046		0.056	
世帯収入(百万円)					
<5	40 (67.8)	0.050	0.755 ^b	0.061	0.021 ^b
≥5	19 (32.2)	0.044		0.046	
出産歴(回)					
0	28 (47.5)	0.053	0.099 ^b	0.054	0.753 ^b
≥1	31 (52.5)	0.043		0.056	
妊娠中喫煙歴					
非喫煙	44 (74.5)	0.047	0.168 ^c	0.051	0.180 ^c
禁煙	6 (10.2)	0.068		0.068	
喫煙	9 (15.3)	0.041		0.071	
飲酒量(g/day)	0.86 (2.16)	$r=-0.068$	0.607 ^a	$r=-0.010$	0.942 ^a
児属性					
在胎週数(週)	39.0 (1.1)	$r=0.039$	0.771 ^a	$r=0.038$	0.777 ^a
出生時体重(g)	3086 (336)	$r=0.163$	0.216 ^a	$r=0.084$	0.525 ^a
性別					
男児	26 (44.1)	0.050	0.302 ^b	0.057	0.688 ^b
女児	33 (55.9)	0.046		0.054	

^a Spearman's correlation test, ^b Mann-Whitney test, ^c Kruskal-Wallis test

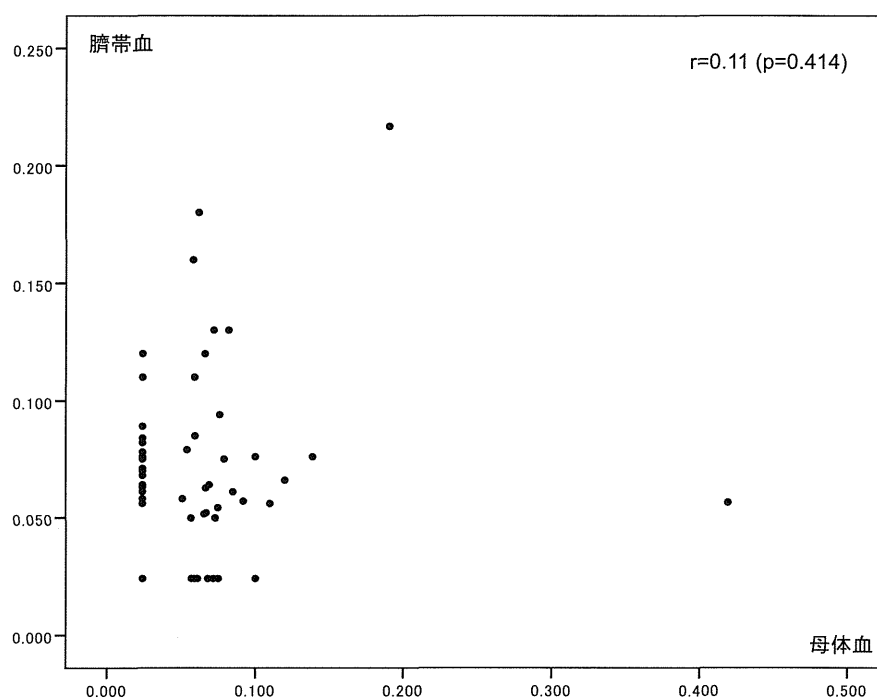


図 2. 母体血および臍帯血中 BPA 濃度の相関 (n=59, ng/mL)

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)

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。

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)

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 ）で見ると、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 合成に関与する酵素である StAR、CYP450sc の発現が増加し、アロマターゼ活性に関与する 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関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関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

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, Lavallo J, Carbone S, Ponzo 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, Ponzo 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

- 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 (25th-75th)	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)	
	喫煙者	55 (19.8)		0.049	0.051 (0.029-0.072)	0.827 ^b
妊娠中飲酒歴	非飲酒者	181 (65.1)		0.049	0.052 (<LOD-0.075)	
	飲酒者	97 (34.9)		0.048	0.050 (<LOD-0.077)	0.924 ^b
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)	
	≥5	79 (28.4)		0.046	0.048 (<LOD-0.075)	0.328 ^b
児属性						
性別	男児	124 (44.6)		0.049	0.056 (<LOD-0.075)	
	女児	154 (55.4)		0.048	0.048 (<LOD-0.076)	0.532 ^b
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

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

^a Spearman'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

メチル水銀の胎児期曝露による出生時体格への影響

研究分担者 宮下ちひろ 北海道大学環境健康科学研究教育センター学術研究員
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 池野多美子 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

妊婦の魚介類摂取は胎児発育を促進させると共に、環境化学物質であるメチル水銀の主な曝露源である。一般環境で生活する集団について、メチル水銀の胎児期曝露が出生時体格に与える影響は明確になっていない。本研究はメチル水銀の胎児期曝露による出生時体格への影響を、母親の魚摂取による影響を考慮した上で検討することを目的とした。本研究の対象者は2002年から2005年の間で「環境と子どもの健康に関する北海道スタディ」に参加登録した母児514組である。妊娠中の自記式調査票から両親の属性、既往歴、喫煙や飲酒状況を、また分娩出生時の医療診療記録から出生時体格や在胎週数などを得た。母親の出産後5日以内に得られた食事摂取頻度調査票から妊娠中の魚摂取量を算出した。母親の毛髪を出産後5日以内に採取し、メチル水銀の曝露指標として毛髪中の総水銀濃度を酸化燃焼金アマルガム法で測定した。毛髪中の総水銀濃度と出生時体格との関連について、魚摂取量を含めた交絡要因を調整した多変量解析で検討した。毛髪中の総水銀濃度と出生体重、身長、頭囲、胸囲との有意な関連は認められなかった。しかし、毛髪中の総水銀濃度が増加するほど、SGAリスクの有意な低下が認められた。本研究から、一般環境レベルでのメチル水銀の胎児期曝露は出生時体格に悪影響を及ぼさない可能性が示唆された。胎児発育を促進させるEPAやDHAなどの栄養素はFFQから推定された魚摂取量よりも、毛髪水銀濃度に正の相関を示した可能と考えられる。したがって本研究は1つの可能性として、母親の毛髪水銀の濃度増加に伴うSGAリスク低下は、胎児発育を促進させる栄養摂取のベネフィットな効果を反映することが推定された。

研究協力者

檜野 いく子、岡田 恵美子、小林 澄貴、
伊藤 久美子
（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）
蜂谷 紀之
（環境省国立水俣病総合研究センター）
安武 章
（熊本大学大学院自然科学研究科）

後早期の発育成長、生存率、疾病罹患などに関連する重要な指標である（Bassler et al. 2009; Koo et al. 2010）。妊娠中の魚介類摂取は多価不飽和脂肪酸（PUFA）のような重要な栄養源であるため、出生体重の増加（Grandjean et al. 2001; Olsen et al. 1990）、および子宮内発育遅延のリスク低下（Olsen and Secher 2002）に関連することが報告されている。しかし一方で、魚介類摂取は、メチル水銀の主要な曝露源であると報告された（Xue et al. 2007）。メチル水銀は主に魚類の筋肉中に存在し生物

A. 研究目的

出生時体格（体重、身長、頭囲および胸囲）は、子宮内の胎児成長を反映し、出生

濃縮されて大型の捕魚類に蓄積する（Albert et al. 2010）。動物実験や中毒事故のような高レベル曝露を受けた集団を対象にした研究では、メチル水銀は胎盤関門と脳—血液関門を通過し、胎児の脳発達および成長を抑制することが実証されている（National Research Council 2000; Wigle et al. 2008）。一般環境で生活する集団は、比較的低レベルのメチル水銀曝露を受ける。この一般環境レベルにおけるメチル水銀の胎児期曝露が出生時体格に与える影響に関して明確になっていない（Zahir et al. 2005）。この理由の一つとして、一般環境におけるメチル水銀の主な曝露源は魚介類であり、妊娠中の魚介類摂取による胎児発育促進が交絡として影響する可能性が報告されている（Grandjean et al. 2001）。本研究は、一般環境レベルにおけるメチル水銀の胎児期曝露が出生時体格に与える影響を、魚介類の摂取量を考慮した上で評価することを目的とした。

B. 研究方法

対象者は2002年7月から2005年10月の期間に札幌市の一産科医療機関を受診した妊娠23週～35週の妊婦で、インフォームドコンセントが得られ、前向き出生コホート研究「環境と子どもの健康に関する北海道スタディ」に参加登録した母児514組である。自記式調査票により妊婦とその配偶者から、既往歴、教育歴、世帯収入、ライフスタイルなどを、医療診療録から母児の分娩情報、児の出生時所見、出生時体格（体重、身長、頭囲、胸囲）や在胎週数などを得た。分娩後5日以内に、母親430名から各魚類の1回摂取量と摂取頻度を食事摂取頻度調査票（FFQ）から得て、妊娠中の1日魚摂取量を算出した。また同時に母親のパーマ歴の情報を得た。分娩後5日以内に母親430名から頭皮に近接する1cm

の毛髪（総重量0.7-1.2mg）を得た。毛髪中の総水銀濃度を国立水俣病総合研究センターで原子吸光検知器MD-1（Nippon Institute Co. Ltd. Osaka）を用いて、酸化燃焼金アマルガム法（AAS法）で測定した（Yasutake et al. 2003）。

対象者20名（母親の妊娠高血圧症（n=11）、糖尿病（n=1）、胎児の心不全（n=1）および多胎（n=7））を解析から除外した。このうち調査票と水銀の両方のデータが得られた母児367名について、毛髪中の総水銀濃度と出生時体格の関連を検討した。

Small-for-gestational-age（SGA）は、日本で2002年から2005年の間に出生した新生児143,370名の各妊娠週数別の体重と身長10%未満として定義した（Kato et al. 2012）。毛髪中の総水銀濃度と魚摂取量はLog₁₀変換し重回帰分析で使用した。毛髪中の総水銀濃度と出生体重、身長、頭囲、胸囲との関連性は、交絡因子で調整された重回帰解析によって評価した。毛髪中の総水銀濃度とSGAとの関連性は、交絡因子で調整したロジスティックス回帰分析によって評価した。出生体格に影響すると報告された魚摂取量とPCBs・ダイオキシン類の影響を検討するため、多変量解析モデル1、2、3で検討した。モデル1の交絡変数は母親の年齢、母親の身長、前妊娠体重、妊娠中の母親の喫煙、妊娠中の母親の飲酒、世帯収入、出産歴（SGAは除く）、児の性別（SGAは除く）、および在胎週数（SGAは除く）である。モデル2はモデル1に加えて妊娠中の魚摂取で調整した。モデル3はモデル2に加えて採血時期およびPCBs・ダイオキシン類で調整した。

（倫理面への配慮）

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

倫理委員会および研究協力施設の研究倫理委員会に諮り、承認を得たうえで実施した。

C. 研究結果

毛髪中の総水銀濃度は中央値 1.41ug/g であった（表 1）。毛髪中の総水銀濃度は、妊娠の魚摂取量と共に有意に増加した。所得が高い、遠洋魚および牛肉の摂取が多い（週に 1 回以上摂取する）対象者は、低所得、遠洋魚、牛肉の摂取が少ない対象者と比較しそれぞれ毛髪中の水銀濃度は有意に高かった（表 2）。出生体格の平均値±SD はそれぞれ体重 3077±372 (g)、身長 48.1±1.93 (cm)、胸囲 31.5±1.55 (cm) および頭囲 33.3±1.33 (cm) であった。出生時体格は、母親の非妊娠時体重、身長および在胎週数と共に増加し、普通分娩での出生、および男児で増加した。解析モデル 1、2、3 の交絡要因を調整した重回帰分析において、毛髪中の総水銀濃度と出生時体格（体重、身長、頭囲、胸囲）では有意な関連が認められなかった（model3: 出生体重: $\beta = 154$ 、95%CI=-11.5、320）（表 3）。魚摂取量および PCBs・dioxins で調整した model 3 でも有意な関連は認められなかった。

SGA の発生率は 4.9%（18 名）で、母親の非妊娠中体重の増加と共に SGA リスクは低下した（オッズ比（OR）=0.89、95%信頼区間（CI）=0.81、0.97）。解析モデル 1、2、3 の交絡要因を調整したロジスティック回帰分析において、毛髪中の総水銀濃度の増加と共に SGA リスクは有意に低下した（model3: OR=0.32、95%CI=0.11、0.88）（表 4）。魚摂取量および PCBs・dioxins で調整した model 3 でも SGA リスクが低下した。

D. 考察

本研究より、一般環境レベルにおけるメ

チル水銀の胎児期曝露は出生時体格に悪影響を及ぼさない可能性が示唆された。しかし、総水銀濃度の増加は SGA リスクを低下させる可能性が示された。毛髪中の総水銀の 90%以上がシステイン基とタンパク結合したメチル水銀であり、総水銀濃度はメチル水銀曝露の生体指標として最も頻繁に用いられる（National Research Council 2000）。本研究の毛髪総水銀濃度（中央値 1.4ug/g）は臍帯血中の 9.3ug/L に換算することができる（Zahir et al. 2005）。本研究より曝露レベルが低いと推定されるオーストリアの研究（臍帯血中央値 1.1ug/L）（Gundacker et al. 2010）、フランスの研究（毛髪中中央値 0.52ug/g）（Drouillet-Pinard et al. 2010）などの結果と本研究の結果と一致した。しかし、本研究より曝露レベルが高いと推定されるグリーンランド（臍帯血平均値 21ug/L）（Foldspang and Hansen 1990）の結果とは一致しなかった。よって、我々のメチル水銀曝露レベルは出生時体格へ負の影響を与えるに十分なレベルにない可能性が示された。

一方で、本研究と曝露レベルが匹敵するスペインの研究（臍帯血中の幾何平均 9.4ug/L）において、総水銀濃度の第 4 四分位は第 1 四分位に比較し、出生体重が 143.7g 減少し、SGA リスクが 5.3 倍に増加した（Ramon et al. 2009）。しかし、この研究では量-反応関係は認められず、結果が不十分であったため、Ramon らは結果の妥当性を検証するための追加研究が必要であると記述した。本研究は上記の結果とは異なり、母親の毛髪水銀濃度が増加するほど SGA リスクが低下した。また、本研究で、ほとんどの対象者（93.5%）の毛髪水銀濃度は、次世代影響が認められる可能性がある下限値：2.75ug/g 未満であった。この下限値は日本の妊婦に対する暫定的耐

容量（PTWI: 1.6ug/kg）を元に推定された（厚生労働省 2005）。したがって、本研究のような一般環境における曝露レベルにおいては、メチル水銀の胎児期曝露は出生体格に対して明確な悪影響与えるには十分なレベルにない可能性が示唆された。

本研究では、母親の毛髪水銀の濃度増加に伴う SGA リスク低下が認められたが、先行研究で水銀曝露が胎児発育を直接促進させるという報告はなく、また作用機序としても裏付けが困難である。FFQ から推定された魚摂取量は実際の摂取量を 40%としか反映しないとの報告がある（Wakai 2009）。さらに EPA や DHA などの栄養素の摂取量が FFQ による魚摂取量推定より、毛髪水銀濃度に正の相関を示した可能性が考えられる。したがって本研究は 1 つの可能性として、母親の毛髪水銀の濃度増加に伴う SGA リスク低下は、胎児発育を促進させる栄養摂取のベネフィットな効果を反映することが推定された。

E. 結論

本研究は、一般環境におけるメチル水銀の胎児期曝露は出生体格への悪影響を引き起こすには不十分な曝露レベルである可能性を示した。本研究は 1 つの可能性として、母親の毛髪水銀の濃度増加に伴う SGA リスク低下は、胎児発育を測定させる栄養摂取のベネフィットな効果を反映することが推定された。

F. 研究発表

1) 論文発表
作成中

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. Albert I, Villeret G, Paris A, Verger P. 2010. Integrating variability in half-lives and dietary intakes to predict mercury concentration in hair. *Regulatory toxicology and pharmacology* : RTP 58:482-489.
2. Bassler D, Stoll BJ, Schmidt B, Asztalos EV, Roberts RS, Robertson CMT, et al. 2009. Using a count of neonatal morbidities to predict poor outcome in extremely low birth weight infants: Added role of neonatal infection. *Pediatrics* 123:313-318.
3. Drouillet-Pinard P, Huel G, Slama R, Forhan A, Sahuquillo J, Goua V, et al. 2010. Prenatal mercury contamination: Relationship with maternal seafood consumption during pregnancy and fetal growth in the 'eden mother-child' cohort. *Br J Nutr* 104:1096-1100.
4. Foldspang A, Hansen JC. 1990. Dietary-intake of methylmercury as a correlate of gestational length and birth-weight among newborns in greenland. *American Journal of Epidemiology* 132:310-317.
5. Grandjean P, Bjerve KS, Weihe P, Steuerwald U. 2001. Birthweight in a fishing community: Significance of essential fatty acids and marine food contaminants. *Int J Epidemiol* 30:1272-1278.
6. Gundacker C, Frohlich S, Graf-Rohrmeister K, Eibenberger B, Jessenig V, Gicic D, et al. 2010. Perinatal lead and mercury exposure in austria. *The Science of the total*