

厚生科学研究費補助金(生活安全総合研究事業)

平成 10 年度研究報告書

内分泌かく乱物質等の生活環境中の化学物質による健康影響  
—日本人正常男性の生殖機能に関する総合的研究—  
(H10-生活-017)

平成 11 年 3 月

主任研究者 岩本 晃明

(聖マリアンナ医科大学)

内分泌かく乱物質等の生活環境中の化学物質による健康影響  
—日本人正常男性の生殖機能に関する総合的研究—

主任研究者 岩本 晃明 聖マリアンナ医科大学 教授

**研究要旨** 主任研究者のグループにおいてヨーロッパで実施している“妊娠女性のパートナーを対象とした正常男性生殖機能の国際調査”に参加し、聖マリアンナ医科大学を拠点に川崎・横浜地区での調査を実施する一方、分担研究として、上記調査の全国4地域における実施に向けての予備的検討、生殖機能調査における疫学的検討とデータ解析、精液検査の標準化と精度管理、コンピュータ画像解析による精子形態および運動性の解析、非配偶者間人工授精ドナー（AID）における過去28年間の精液所見の解析、ビスフェノールAによる精巣内ホルモン環境、精子形成能、受精能に関する研究の基礎的検討を行った。

**分担研究者**

奥山明彦（大阪大学医学部教授）  
伊津野孝（東邦大学医学部講師）  
兼子 智（東京歯科大学市川総合病院講師）  
石島純夫（東京工業大学生命理工学部助手）  
末岡 浩（慶應義塾大学医学部講師）  
小林真一（聖マリアンナ医科大学教授）

同様の調査を平成11年度から全国複数箇所で行うにあたり、各分担研究者の協力の下に、調査地域の選定、調査方法の検討、各地域のデータ比較を可能にするための精液検査技術の標準化と精度管理を実施した。また疫学調査に適したの精液検査技術の自動化を目指して、血球計算盤を用いた目視法との比較において、再現性のある精度の高い方法の開発を行った。さらに二重焦点ビデオ顕微鏡による精子運動性の詳細な解析、精子画像解析自動分析装置の精度評価を行った。

慶應義塾大学病院に記録されている非配偶者間人工受精ドナー精液所見の1970年から1998年までのデータについて解析した。

妊娠中のマウスにビスフェノールAを0.2および20 $\mu$ g/mlで飲水投与し、その子孫（雄）への影響（ステロイド代謝酵素、ゴナドトロピン受容体等へ影響、精子濃度、精子運動率など）を調べた。

**A. 研究目的**

本研究は妊孕能を有する男性を対象とした生殖機能調査に基づき、健康な日本人男性の生殖機能について詳細に解析するとともに、内分泌かく乱物質との関連において日本人男性の生殖機能の健康状態を明らかにするための標準的な調査法、検査法ならびに解析方法を確立することを目的とする。

**B. 研究方法**

聖マリアンナ医科大学本院と関連病院ならびに協力病院の産婦人科において妊娠が判明した女性のパートナー（配偶者）の男性に協力を求め、精液検査、男性生殖器の診察を行うとともに、質問票により、カップルと男性の母親のライフスタイルや健康に関する情報を得た。調査にあたっては倫理上の配慮として、同意を得ること、秘密厳守、結果の告知をすることが確認等が義務づけられ、本調査は聖マリアンナ医科大学倫理委員会の承認のもとに行われた。

**C. 研究結果**

1. 聖マリアンナ医科大学を拠点とした川崎・横浜地区での調査が終了し、一般精液所見および理学所見のデータの一部を解析した。
2. 地域差を検討する全国調査を実施するため、札幌医大、大阪大学医学部、金沢大学医学部、原三信病院（福岡）の各

泌尿器科を拠点とすることが決定し、倫理委員会への申請、調査組織の結成、調査スタッフ（検査技師、疫学調査コーディネーター）の教育研修などの準備を行った。

3. 地域差を検討する全国調査を実施するに当たり、調査地点の選出方法、対象者の募集方法について疫学的観点から検討した。さらに、先行の川崎・横浜地区における調査の生活様式に関するアンケートの結果を一部解析した。
4. 精液検査法の標準プロトコールを作成し、プロトコールに従った精度管理プログラムにより全国 4 拠点施設における技術者の教育訓練を実施した。また、精液検査の画像解析装置による自動化に向けて、精子濃度、運動率、奇形率の各項目について標準品を設定するとともに、それらを用いて検量線を作成した。
5. 疫学調査に適したコンピュータ画像解析による精子形態の解析法を確立した。また二重焦点ビデオ顕微鏡を用いて精子運動の詳細な解析を行った。また精子自動解析装置の精度評価に関する基礎的検討を行った。
6. 慶應大学医学部家族計画相談所に登録された AID ドナーの過去 28 年間(1970 年から 1998 年)の記録に基づき、本邦の健常者精液の精子濃度と運動率をならびに精子濃度・運動率について一部を解析し、1970～1989 年群と、1990～1998 年群での比較を行った。
7. 妊娠および授乳中のマウスに 0.2 および 20  $\mu$ g/ml で飲水投与したビスフェノール A の、子孫(雄)のステロイド代謝酵素、ゴナドトロピン受容体等ならびに精子濃度、精子運動率への影響は認められなかった。

#### D. 考察

男性生殖機能の指標として精液所見を用いるためには、精液量、精子濃度、総精子数、運動率、奇形率などのパラメータが正常な状態においてどのような範囲の数値を示し、病的な状態ではどのように変化するかが明らかになっていなければならない。また精子数や濃度は個体内ならびに個体間、季節や地域差等の生理的変動が大きいので、

その変動の幅や、変動をもたらす要因についても詳しい検討を要する。今回の調査ならびに研究により、妊孕能を有する日本人男性の生殖機能に関する標準値が示されるとともに、それらの詳細な解析ならびに関連の基礎研究により、今後重要性の増すと考えられる男性生殖機能の疫学調査に用いる標準法の確立が期待できる。さらに、生殖機能の指標としての精液所見がより正確に捉えられるようになれば、男性不妊症の詳細な鑑別・診断につながる。

平成 10 年度に完了した妊娠女性のパートナーを対象とした正常男性生殖機能の調査結果は日本人男性の生殖機能の、現時点で示し得るのひとりの標準値であるとともに、11 年度より開始する全国 4 地域での調査結果、および国際調査の参加各国のデータとの比較が可能になるという意味でも貴重な情報といえる。本調査はまた、生殖機能の疫学調査に関する問題を具体的に考える非常に良いケーススタディとなった。生殖機能調査においては精子濃度の分布が極めて広い範囲にわたること、特に WHO 基準を大幅に下回る所見においても挙児を得ていることなどは、一定の条件のもとに実施された大規模な調査の結果を解析することによって始めて明らかになったことである。また、ヒト精子の問題がなぜ混乱を招くのかを、さまざまなケースを通じて実感することが出来たことも大きな成果だった。この経験に基づいて問題点を整理し、基礎研究の結果と合わせて次年度以降の研究計画に生かすことにより、内分泌かく乱化学物質との関連において男性生殖機能を評価できる方法の確立を目指したい。

#### E. 結論

“妊娠女性のパートナーを対象とした正常男性生殖機能の国際調査”に参加し、聖マリアンナ医科大学を拠点に川崎・横浜地区での調査を実施する一方、全国 4 地域における調査の実施に向けた予備的検討、生殖機能調査の疫学的検討とデータ解析、精液検査の標準化と精度管理、コンピュータ画像解析による精子形態および運動性の解析、非配偶者間人工授精ドナー (AID) の精液所見の解析、実験動物へのビスフェノール A 投与による精巣内ホルモン環境、精子形成能、受精能に関する研究の基礎的検討を行った。これにより現

時点における日本人正常男性の標準値を知ろうえでの有用な情報が得られるとともに、生殖機能の評価に関する問題点がかなり整理され、疫学調査に適した方法論の確立に役立つ具体的な技術的改良がなされた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

岩本晃明, 星野孝夫, 野澤資亜利, 馬場克幸, 松下智彦, 西田智保: 環境ホルモンはヒト男性の内分泌・生殖系の健康障害を起こしているか. 日本医師会雑誌 121(5), 675-680, 1999.

野澤資亜利, 岩本晃明: (総説) 内分泌かく乱化学物質の男性生殖機能への影響—ヒト精子は減少しているのか—. 聖マリアンナ医科大学雑誌 26, 223-231, 1998.

Kaneko, S., Nozawa, A., Kuroda, Y., Oda, T., Takeuchi, K., Yoshimura, Y., Nozawa, S. Simultaneous determination of human sperm adenyl purine nucleotides and nucleoside by means of high performance liquid chromatography-prelabel fluorescent detection system. *Advances in Reproduction* 1, 29-39, 1998.

Katayama, M., Taniguchi, H., Matsuda Y., Akihama, S., Kaneko, S., Ishikawa, H., Aikawa, A. Determination of cyclosporine A by high-performance liquid chromatography with aryl ozalate chemiluminescence detection. *Anal. Letters* 31, 621-629, 1998.

Katayama, M., Nakane, R., Mastuda, Y., Kaneko, S., Hara, I., Sato, H. Determination of cyclosporine A by high-performance liquid chromatography with aryl ozalate chemiluminescence detection. *Analyst* 123, 2339-2342, 1998.

兼子智: ヒト精子の凍結保存, 日本アンドロロジー学会総会記事 17, 48-50, 1998.

兼子智: ヒト精液検査の標準化-国際比較に向けて. 日本アンドロロジー学会総会記事 18, 86-88, 1999.

Ishijima, S., Ishijima, S. A., and Afzelius, B.

A. Movement of *Turritella* spermatozoa: direction of propagation and chirality of flagellar bends. *Cell Motil. Cytoskeleton* In press.

Ishijima, S., Hara, M., and Okiyama, M. Comparative studies on the spermatozoan motility of Japanese fishes. *Bull. Ocean Res. Inst., Univ. Tokyo*, 33, 139-152, 1998

石島純夫: 鞭毛、鞭毛運動、フラジェリン. 生化学辞典 第3版、東京化学同人、1998

Ishijima, S. Mechanisms of flagellar movement of spermatozoa: conversion of sliding into bending. *J. Reprod. Develop.* 44, Suppl., 41, 1998

Ishijima, S., Hamaguchi, Y., and Iwamoto, T. Characteristics of motor apparatus of human spermatozoa that lack central pair microtubules. *Comp. Physiol. Biochem.* 15, 265, 1998

Ishijima, S. Mechanisms of flagellar movement underlying chirality and propagation direction of bending waves. Abstracts of 8th International Symposium on Spermatology, 37, 1998

Ishijima, S., Ishijima, S. A., and Afzelius, B. A. Movement of *Turritella* Spermatozoa: direction of propagation and chirality of flagellar bends. Abstracts of 8th International Symposium on Spermatology, 81, 1998.

末岡 浩: 精子減少と環境有機物. 産婦人科の世界 51, 103-109, 1999.

### 2. 学会発表

馬場克幸, 岩本晃明, 星野孝夫, 松下智彦, 石塚文平, 大塚博光, 星野真也子: 日本における正常男性の生殖機能について (予報) —妊娠した女性のパートナーの調査—. 日本アンドロロジー学会台7回学術大会. 平成10年7月19-20日、神戸市.

馬場克幸, 西田智保, 松下智彦, 星野孝夫, 岩本晃明: 本邦における妊婦のパートナー

の生殖機能について. 日本内分泌攪乱化学物質学会第1回研究発表会. 平成10年12月11・12日, 京都市.

岩本 晃明: 日本人の精子・精液の状態について. 第2回環境ホルモン学会講演会. 平成11年2月15日, 東京.

篠原雅美, 末岡 浩, 土屋慎一, 小林紀子, 松田紀子, 吉村泰典: 本邦における健常男性の精液所見—28年の変化. 日本受精着床学会. 平成10年7月11日.

末岡 浩: 本邦における精子数減少と環境有機物の影響. (招請講演) ART FORUM '98".

平成10年11月13日. 鹿児島.

末岡 浩: 日本人の精子・精液の状態について (招請講演) 内分泌攪乱化学物質学会第2回環境ホルモン学会講演会. 平成11年2月15日. 東京.

#### G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし