

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——

のざわしあり いわもと てるあき
野澤資亜利 岩本 晃明

(受付：平成10年8月20日)

索引用語

精子数, 精子濃度, 男性生殖機能, 妊孕能, 内分泌かく乱化学物質

I. はじめに

最近、ヒトの精子数が減少傾向にあるという話題が一般の新聞や雑誌、テレビなどで頻繁にとりあげられるようになった。この問題は、専門家の間では20年以上前から静かな議論が続いていたのであるが、それが近年になって注目を浴びはじめたのは、過去50年間でヒトの精子が半減したという衝撃的な報告が内分泌かく乱化学物質の影響を示唆する仮説とともに発表されたためである。一般の人々の多くはこの問題を“内分泌かく乱化学物質の影響でヒトの精子が減り続けていて、このままいくと人類は子孫を残せなくなるのではないか”という危機的なストーリーとして捉えている。ところが、このストーリーを科学的な根拠に基づいて組み立てるのに必要な証拠は揃っていない。外因性の内分泌かく乱化学物質が男性生殖機能に重大な影響を及ぼしているのかどうか、ヒトの精子が本当に減り続けているのかどうか、精子が減っているとしてそれが何の原因によるのか、精子数の減少が実際に人類の生殖機能の低下につながるのかどうか、これらの質問に対する明快な解答は現在のところ得られ

ていない。しかしながら、不確定であることをいくら強調しても人々の不安を払拭することは不可能であり、また、十分確証の得られない状況下にあっても多くの研究者や専門家がこの問題を深刻に受け止め、危機感を募らせていることも事実である。

本稿では、内分泌かく乱化学物質の健康影響との関連において、ヒト精子問題を取り巻く現況について概説するとともに、これまでに行われてきた多くの研究や調査の問題点について整理してみたい。

II. ヒト精子数減少の可能性をめぐる議論

1974年、米国のNelson and Bunge¹⁾は避妊目的で精管結紮手術を受ける前の男性386人の平均精子数が、それ以前の報告例(多くの例で $100 \times 10^6/ml$ 以上)に比べて予想外の低値($48 \times 10^6/ml$)を示したことを発表し、あくまでも仮説であるとしながら、何らかの環境因子の関与を指摘した。それを米国コーネル大学の精子学の権威MacLeod²⁾が批判し、1979年の論文で、15,000人以上の男性を対象とした10年間の調査の結果、精子数に減少傾向はみられないと結論づけた。これにより論争は一旦静まり、その後もヒト

精液の質低下を示す論文³⁻⁶⁾は発表されたが、1990年代に入るまで議論が再燃することはなかった。

一方、精巣癌の研究を続けていたコペンハーゲン大学の Skakkebaek はこの数十年にデンマークでは精巣癌が3~4倍に急増し、英国、北欧、オセアニア、米国などでも同様の傾向がみられることを統計調査から知り、停留精巣、尿道下裂などの男性生殖器の異常が増加していることを示す報告との関連を重要視して、チームを組んでこの問題に本格的に取り組み始めた。ヒト精子の問題も男性不妊との関連から課題の1つと考え、過去の世界中の科学文献を調査し、健康男子の精子数のデータを洗い出すことを試みた。その結果は1992年に Carlsen et al.⁷⁾の論文として British Medical Journal に掲載されたが、その内容は最近50年間でヒトの精子数が半減しているという衝撃的なものだった。直後より、各国から精子数の減少や精液の質低下を示す報告⁸⁻¹⁰⁾が相次いだこともあって、この報告は専門雑誌ばかりでなく、一般マスメディアも競って取り上げる話題の1つとなった。しかし Carlsen et al. の論文は、大きな反響とともに厳しい批判にもさらされた。引用文献の選択基準や統計法などの欠点が指摘され¹¹⁻¹⁴⁾、他の研究者が行った実際の調査からも精液の質低下を否定する内容の報告¹⁵⁻¹⁸⁾が続いた。最近では、否定的な論文とともにヒト精液の質低下はやはり起こっているとする論文¹⁹⁻²³⁾も出始め、論争は依然として続いているが、同時に、問題を整理して再び検証に努めようとする動きも出始めている。

III. 精子数が減少しているとの結論を出している報告

最近の議論の発端となった Carlsen et al. の論文⁷⁾を最初に紹介する。デンマークの Skakkebaek らのグループは過去の文献に記載されたデータを分析することにより、過去50年間にヒト精液の質的变化に関する調査を試みた。彼らは1930年から1991年までに出版された文献をいくつかの医学文献データベースより検索し、条件に適合する論文を特定した。最終的に22ヵ国からの論文61件を対象とし、そこに記載されていた正常男性14,947人分の平均精子濃度お

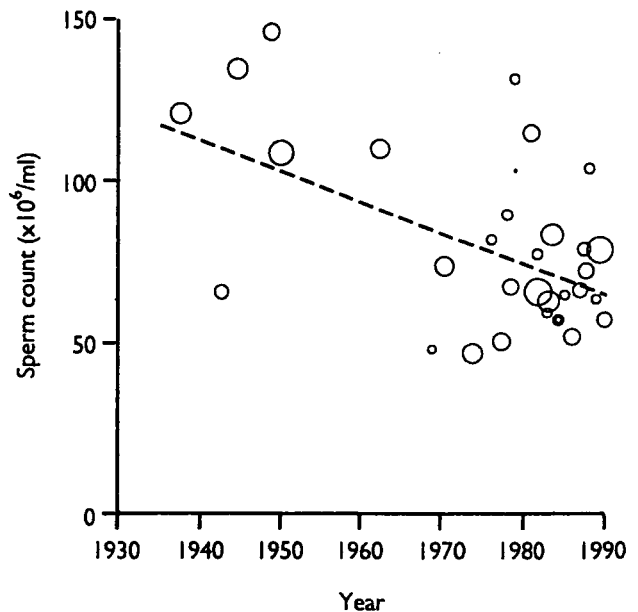


Fig. 1 1938年から1990年までに発表された61件の文献に記載された平均精子濃度の線型回帰分析。グラフ上の円の大きさは各データにおけるサンプル数の対数に比例している。[Carlsen et al.⁷⁾より]

よび精液量のデータを検討した。さらに線型回帰分析によって50年間の変化を調べた (Fig. 1)。その結果、1940年から1990年の間に平均精子濃度は $113 \times 10^6/\text{ml}$ から $66 \times 10^6/\text{ml}$ へと42%減少し、平均精液量は 3.40 ml から 2.75 ml と有意に減少していることが示された。これらの結果から彼らは、過去50年間を通じてヒト精液の質は低下傾向にあると結論し、欧米諸国における精巣腫瘍、停留精巣、尿道下裂などの泌尿生殖器系疾患の増加と関連づけて、男性生殖機能への深刻な影響が増大していると警告している。そして、このような比較的短期間における変化は、遺伝的要素であるよりはむしろ環境的要因によるものであらうと述べている。

Auger et al.¹⁰⁾によると、1973年から1992年にかけてパリにある精液銀行に精子を提供した19歳から59歳までの男性1,351人を調査した結果、平均精子濃度は1973年の $89 \times 10^6/\text{ml}$ から1992年の $60 \times 10^6/\text{ml}$ へと年間2.1%ずつ低下し、運動精子数および正常形態精子数もそれぞれ有意に減少し、誕生年上がるにつれて、つまり若い世代ほど、精子濃度、運動率、正常精子形態率は有意に低下していた。また、年齢を限定した28歳から38歳までの男性382人で

は、精子濃度が1973年では $101 \times 10^6/\text{ml}$ であったものが1992年では $50 \times 10^6/\text{ml}$ と50%有意に減少し、正常精子形態率も有意に減少していた。このことより、彼らはパリの生殖能力のある男性の精液の質低下を認めたと結論している。

Van Waeleghem et al.²⁰⁾のベルギーからの報告では、20歳から40歳までの精液提供者416人の精液を過去19年間にわたって検査したところ、精子濃度は $12.6 \times 10^6/\text{ml}$ 減少したが1回の射精あたりの精子数は変化なかったと報告している。さらに1977年～1980年と1990年～1995年の期間を比較すると精子正常形態率は39.2%から26.6%に、前進精子運動率は52.7%から31.7%にそれぞれ低下していた。

Irvine et al.¹⁹⁾はスコットランドにおいて1959年以前と1970年以降に生まれた577人について比較し、精子濃度の平均値が50年代の $98 \times 10^6/\text{ml}$ から70年代の $78 \times 10^6/\text{ml}$ に減少していることを示した。またGinsburg et al.⁹⁾はロンドン居住者において不妊女性の配偶者の精液の質を1978年～1983年と1984年～1989年の期間で比較したところ、平均精子濃度は $101 \times 10^6/\text{ml}$ から $96 \times 10^6/\text{ml}$ に減少し、精子運動率50%以下の男性の割合は20.7%から34.4%に増加していると報告した。

IV. 精子濃度は低下していないあるいはむしろ増加しているとの論文

MacLeod et al.²⁾は1979年、1966年から1977年の間に不妊相談に訪れた9,000人と同じ期間に他病院から紹介されてきた5,470人について検査を行い、経時的变化を検討しているが、この期間に両グループとも精子濃度、精液量の減少傾向がみられなかったことから、彼らが最初に報告した1951年以来精子濃度は減少していないと結論している。これが、20年前の論争に対して一応の決着をつけた論文である。

Brake and Krause¹¹⁾はCarlsen et al.⁷⁾の収集した文献のデータから1970年以後に発表された48件について解析しおしている。その結果、わずかではあるが有意に精子濃度の増加がみられたと報告し、Carlsen et al.の示した減少傾向は、最初の30年間のデータが少なすぎることに起因していると推察した。

Olsen et al.¹⁴⁾はCarlsen et al.が文献調査した61件の論文の同じデータを、4種類の分析モデルで解析し、1940年から一貫して精子濃度が減少しているとする仮説を導くのは直線回帰法のみで、それ以外の方法によると精子濃度は横ばいまたは増加傾向を示すことを報告した。また、Carlsen et al.が解析に使ったデータはサンプル数が最近の20年分だけが多く、1940年から1970年までが極端に少ないため、精子濃度が減少しているという仮説を統計的に採択することも棄却することもできないと述べている。

Fisch et al.¹⁵⁾は米国内3ヵ所の精子銀行について、1970年から1994年までの期間に精管結紮術前に精液を提供した平均年齢34歳の男性1,283人をすべて解析し、過去25年間の変化について検討した。3地域の比較では精子濃度と運動率においてカリフォルニアがそれぞれ $72.7 \times 10^6/\text{ml}$ 、51.4%と最も低値、次いでミネソタが $100.8 \times 10^6/\text{ml}$ 、56%で、最高値はニューヨークの $131.5 \times 10^6/\text{ml}$ 、58.2%であった。彼らは調査の結果が3つの地域で有意に異なっていたことを示し、米国の3つの地域では過去25年間に精子数は減少していなかったと結論した。Paulsen et al.¹⁶⁾が1972年から1993年までの21年間にシアトルを中心に行った、18歳から52歳までの健康男性510人を対象とした調査でも、精子数の減少は認められなかった。

一方、Bujan et al.¹⁷⁾の報告では、フランスのトゥールーズ地方においては1972年から1992年の20年間で精液提供者の精子濃度の減少は示されていなかった。また、1997年のイスラエルからの報告²²⁾では、1980年から1995年までの間に人工授精のためのボランティアとなった188名の医学生(20～30歳)の最初に提供した精液を調べたところ、期間を通じて精子濃度、運動性ともに変動は無かったと結論している。

V. 本邦での報告

1982年に吉田²⁴⁾は、1976年から1978年の2年間に調査した22歳から29歳までの医学生126人の精液所見を報告している。3日以上禁欲期間をおき、極端に精子濃度が低いものは5日以上禁欲期間をおいて再検し、所見の良好なデータを用いた。その結果

は、精液量が $3.0 \pm 0.9 \text{ ml}$ 、無精子症の1例を除いた平均精子濃度が $106 \pm 50 \times 10^6/\text{ml}$ 、総精子数は $313 \pm 65 \times 10^6$ であった。1984年、生垣ら²⁵⁾は1975年から1980年までの5年間に自衛官254人を対象に実施した精液検査の結果を報告している。無精子症の1例を除いた、年齢18歳から36歳まで、3日以上禁欲期間をおいた253例の平均精子濃度は $70.9 \pm 47.3 \times 10^6/\text{ml}$ で年齢による差は認められなかった。WHO基準 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 未満の男性が17例(6.7%)認められたが、そのうち4例はすでに子を有していた。精液量の平均は $2.8 \pm 1.2 \text{ ml}$ で1回の射精あたりの総精子数は $192.7 \pm 154.6 \times 10^6$ であった。また、7日間連日射精による精液量、精子濃度および総精子数は4日目まで漸減し、その後はほぼ一定の値を保った。

日本人の精液所見に関する研究は、正常成人男性を対象とした上記2件以外は、不妊症患者や不妊外来の受診者を対象としたもの²⁶⁾²⁷⁾、あるいは不妊症例との比較のために加えられた少数の正常男性のデータ²⁸⁾が示されているにすぎず、精液所見の経年変化をみた報告もみられない。妊娠能が明らかである男性の精子濃度についての報告は男子不妊症の臨床統計の中にわずかに記載されているのみである。したがって本邦での精子減少に関して証拠となる論文はない。

最近、若い世代の日本人男性の精子が減少していることを示唆する例や、世代間の差は認められないとする例などが関連の学会などで報告され始めたが、本稿執筆時点では、論文としての報告はみつからなかった。

VI. ヒト精子問題をめぐる問題点

Carlsen et al.⁷⁾は最終的に61件の文献を対象としたが、その中にはサンプル数が少なすぎる研究が多く含まれていた。最大規模の研究はサンプル数4,435人であるのに対し、最も少ないサンプル数はわずか7人であった。サンプル数の大きなばらつきへの対策として、彼らはサンプル数で加重平均したデータを用いて解析を行ったため、サンプルの小さい研究に実際以上の大きな重みを与える結果となった。一定の条件に基づいて文献を選択しようとしても、発表された時代も場所も異なる複数のデータをまとめて解析することに

はやはり限界がある。

初期の頃の論文には対象の選択方法がまちまちなものが多く、正常男性の定義も一定していない。精液サンプルを提供している男性には、精子銀行への提供者、精管結紮術前、特に選別していない健康な男性などが考えられるが、それらに加えて妊娠能が明らかでない人、不明な人の別もあり、さらに不妊相談に参加している人、不妊治療を受けていてその後妊娠した人なども含まれていたりする。生理的には年齢の上昇とともに精子濃度が減少するとされているので、提供者の年齢も考慮されなければならない²⁹⁾³⁰⁾。

精液所見はさまざまな因子によって病的にも生理的にも変動しうる³¹⁻³³⁾。禁欲期間による変動も大きい³⁴⁾が、過去の多くの論文において禁欲期間が一定していない。マスターベーションによる精液の採取では慣れの問題も影響する。複数回にわたって精液を提供している例では、初回のみ検査結果あるいは数回の検査中最も良い結果を採用している論文もある。検査を実施する技術者によっても結果は変わることがある³⁵⁾³⁶⁾。自動精子分析器は機械ごとに計測値にばらつきが生じやすく、精液所見の相対的な変化を知るには問題ないが、異なる機械を用いて得られたデータは、厳密には比較できない。

WHOは精液所見の正常の下限を示す基準値を、精液量 2 ml 、精子濃度 $20 \times 10^6/\text{ml}$ 、総精子数 40×10^6 、直進性精子運動率50%と定めている³⁷⁾。人工授精などの精液提供者の選定に際しては、精液検査を行う機関ごとにWHO基準よりさらに高めの基準値が設定され、それを下回る場合は切り捨てられるので、精液提供者のサンプルはきわめて選択的な集団といえる。過去の論文には、当時その検査機関で使われていた精液提供者の選定基準値が記載されていないことが多く、調査の実施期間中に選定基準値が変わっている可能性もある。 $20 \times 10^6/\text{ml}$ という精子濃度が、これ以下になると妊娠能に問題が生じる可能性が増すという、統計的に意味のある限界値として受け入れられるようになったのは1951年のMacLeod and Goldの報告³⁸⁾以降のことである。初期の頃の基準値は現在より高く、正常な男性の精子濃度は $100 \times 10^6/\text{ml}$ 程度で、 $60 \times 10^6/\text{ml}$ 以下では妊娠が成立することは稀だと考えられていた³⁹⁾⁴⁰⁾。

Fisch et al.¹⁵⁾は1996年、Carlsen et al.⁷⁾のデータ

の地域的多様性について再分析し、世界の地域ごとに平均精子濃度はかなり異なること、および初期に行われた研究の大部分に平均精子濃度の高いニューヨークからのデータが多く含まれていることを指摘し、データの地域的な偏りが早い時期におけるデータの数値を人為的に引き上げている可能性を示唆した。ニューヨークのデータが高い精子濃度を示すことは度々報告されている¹⁵⁾¹⁶⁾が、その理由はわかっていない。精子数の変化に関しては地球規模での全般的な減少が起こっているか否かを問題にする前に、特定の地域での変化に注目する必要がある。精液の質の低下はある地域では起こっていて、ある地域では起こっていないことも考えられるからである。例えば、精子数の減少が認められるヨーロッパ諸国の中にあつて、フィンランドは例外的だとする報告がある⁴¹⁾⁴²⁾。フィンランドは他のヨーロッパ諸国に比較して、精巣癌などの発生率が低く、平均精子濃度は他の約2倍の値を示し、TTP（妊娠に到るまでの日数）で判定した妊孕能も有意に高かったが、その理由として女性の喫煙率の低さなど生活様式の違いを挙げている²¹⁾⁴¹⁾。地域差の問題は分析の結果を歪める要因として扱われることが多いが、精液の質に地域差が認められることは、それ自体、非常に興味深い現象といえる。地域差の問題は遺伝的要因、環境的要因の両面から検討すべきである。

精子濃度の変化について時系列的分析を行う際に、統計の解析法によって結論が変わりうることは、前述の Carlsen et al.⁷⁾ のデータを解析し直した Olsen et al.¹⁴⁾ の報告に示す通りである。分析方法の厳格な適用が求められることはいうまでもないが、統計的に示された有意性が果たして生物学的な意味を持つか否かはまた別問題である。不妊傾向のない健康な男性の集団でも、その精子濃度は1ミリリットルあたり数千万から数億までと極めて広範囲に分布する⁴³⁻⁴⁵⁾。そのため、非常に精子濃度の高いサンプルがあると、たとえ少数例含まれただけでも全体の平均値を引き上げる結果となる。したがって平均値はその集団の標準的な値（精子濃度分布のピーク）より常に高い値となる⁴⁴⁾。精子濃度の標準値を示すには平均値より中間値（メジアン）の方が適しているともいわれる⁴⁴⁾。

精子の減少傾向があつたとして、問題となるのは男性生殖機能の低下を反映しているのかどうかという点である。ところが、精子の数をもって男性の生殖機能

の健康状態を評価できるほど、両者間の相関は強くない⁴⁵⁾。精子濃度が低ければ不妊になる確率は高くなるが、精子濃度がかなり低くても生殖能力に支障がない場合もある一方で、精子濃度が十分に高い不妊症患者もある⁴³⁾⁴⁵⁾。精子数の生理的な変動幅は個体内、個体間ともに大きく、変動をもたらす要因も単純ではない。精液検査においては精子の数や精液量よりも、運動率や形態に関する情報の方がより生殖機能の指標として優れているという報告がある⁴⁶⁾⁴⁷⁾。また、血液中の内分泌ホルモンや精漿中のタンパク質、精子由来のDNA分解産物なども不妊症の診断や生殖機能のパラメータとして利用できる可能性がある⁴⁸⁻⁵¹⁾。現在のところ、どの方法も単独では評価の指標として不十分なので、複数のパラメータを用いての多面的かつ総合的な評価が必要となる。

VII. 内分泌かく乱化学物質の男性生殖機能への影響

Sharpe and Skakkebaek⁵²⁾ は1993年、環境中のエストロゲンとの関連で、精子数の減少や精巣癌、尿道下裂、前立腺癌、男性不妊症などといった生殖異常が増加しているという仮説を The Lancet に発表した。エストロゲン作用のような内分泌かく乱作用を持つとされる化学物質は Colborn et al. の論文では63物質が取り上げられている⁵³⁾⁵⁴⁾が、その数は増え続けている。代表的なものに、DDTやPCB、合成洗剤などに使われるノニルフェノール、プラスチックの原料および可塑性に使用されるビスフェノールAやフタル酸エステル、発泡スチロールに含まれるスチレン、工業製品の生成過程やゴミの焼却の際に発生するダイオキシン類などがある⁵⁵⁾。医薬品として使用されるステロイドホルモン類や天然の植物エストロゲンも内分泌かく乱作用を生じると考えられる化学物質としてリストアップされている⁵⁵⁾。これらの影響が野生生物において観察される例として、米国フロリダ州アポポカ湖での化学物質流出の影響による雄ワニの生殖器の発育不全と個体数の低下、フロリダヒヨウの生殖異常、英国における雄のニジマスの雌性化など各国から多数の報告がある⁵⁴⁾⁵⁵⁾。ヒトへの影響については、胎児期の暴露による生殖異常の顕著な例として、流産防止の目

的でジエチルスチルベストール (DES) を服用した女性の女兒に起こった膣がんの報告などがある⁵⁵⁾⁵⁶⁾。精子への影響では、胎児期の DES 暴露によって、あるいは農薬などの職業暴露やベトナム退役軍人のダイオキシン暴露によって精子数が低下したとの論文があるが、否定的な報告もある⁵⁵⁾⁵⁷⁾。これまでに因果関係が示されている内分泌かく乱物質のヒトへの影響はこうした事故による偶然の暴露例のみである。現在のところ、一般生活環境において内分泌かく乱物質の影響でヒト精子数の減少や精液の質低下、生殖器の異常などが生じたことを確認した報告例は見当たらない。

VIII. おわりに

ヒト精子に関する問題は、方法論的にも、基礎的な知見の蓄積においても、とにかく情報が不足しているというのが現状である。年齢や時系列による比較、地域差などを検討する必要が生じているにもかかわらず、我々は健康な日本人男性の精液所見がどのような標準値を示すのかすら正確には把握できていないのである。

こうした状況の中で、1997年、Skakkebaek らを中心とする正常男性の生殖機能に関する国際共同研究が発足した。現在、デンマーク、フィンランド、スコットランド、フランス、日本などで調査が行われており、今秋より米国も開始する予定である。調査は妊娠中の女性の配偶者を対象に行われ、男性生殖器の診察と精液検査および血液検査の他に、妊婦と配偶者双方に対するアンケート調査が含まれる。日本では筆者の岩本が中心となって1997年11月より、聖マリアンナ医科大学泌尿器科、産婦人科を拠点として関連病院の協力のもとに川崎・横浜地域での調査を進めている。また筆者らは今年度より、厚生省厚生科学研究費の補助を得て、本邦における正常男性生殖機能実態調査とその解析ならびに関連の基礎研究から成るプロジェクト研究を立ち上げたところである。妊婦の配偶者を対象とした調査は、今年度末から全国数カ所に拠点を置いた調査に発展させ、平行して非選択的健康男性を対象とした調査も開始する計画である。

生殖機能は、ヒトに限らず全ての生物にとって、種存続の鍵となるメカニズムである。生殖機能への影響

の可能性は、それが想定される以上、証拠があっても無くても、また原因が何であれ、最優先課題の1つとして扱われるべき問題である。重要なことは、各界、各分野の専門家が集中してこの問題の検証に努め、現状を可能なかぎり正確に把握することと、それに基づいて、最善と思われる対策を講じることである。そして、そのことをきわめて短期間のうちに行うことである。

文 献

- 1) Nelson, C. M. K. and Bunge, R. G.: Semen analysis: evidence for changing parameters of male fertility potential. *Fertil. Steril.*, **25**: 503-507, 1974.
- 2) MacLeod, J. and Wang, Y.: Male fertility potential in terms of semen quality: a review of the past, a study of the present. *Fertil. Steril.*, **31**: 103-116, 1979.
- 3) Bostofte, E., Serup J., and Rebbe, H.: Has the fertility of Danish men declined through the years in terms of semen quality? *Int. J. Fertil.*, **28**: 91-95, 1983.
- 4) Sheriff, D. S.: Setting standards of male fertility. Semen analysis in 1500 patients—a report. *Andrologia*, **15**: 687-692, 1983.
- 5) Menkveld, R., Van Zyl, J. A., Kotze T. J. W., and Joubert, T. G.: Possible changes in male fertility over a 15-year period. *Arch. Androl.*, **17**: 143-144, 1986.
- 6) Osegbe, D. N., Amaku, E. O., and Nnatu, S.: Are changing semen parameters a universal phenomenon? *Eur. Urol.*, **12**: 164-168, 1986.
- 7) Carlsen, E., Giwercman, A., Keiding, N., and Skakkebaek, N. E.: Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *BMJ*, **305**: 609-613, 1992.
- 8) Van Waelegheem, K., De Clercq, N., Vermeulen, L., Schoonjans, F., and Comhaire, F.: Deterioration of sperm quality in young Belgian men during recent decades. *Hum. Reprod.*, **9**: 73, 1994.
- 9) Ginsburg, J., Okola, S., Prelevic, G., and Hardiman, P.: Residence in the London area and sperm density. *Lancet*, **343**: 230, 1994.
- 10) Auger, J., Kunsmann, J. M., Czyglik, F., and

- Jouannet, P.: Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. *N. Eng. J. Med.*, **332**: 281-285, 1995.
- 11) Brake, A. and Krause, W.: Decreasing quality of sperm [letter]. *Br. Med. J.*, **305**: 1498, 1992.
- 12) Bromwich, P., Cohen, J., Stewart, I., and Walker, A.: Decline in sperm count: an artifact of changed reference range of normal? *Br. Med. J.*, **309**: 19-22, 1994.
- 13) Farrow, S.: Falling sperm quality: fact or fiction? *BMJ*, **309**: 1-2, 1994.
- 14) Olsen, G. W., Ross, C. E., Bodner, K. M., and Lipshultz, L. I.: Sperm decline—Real or artifact? A reply of the authors. *Fertil. Steril.*, **65**: 451-453, 1996.
- 15) Fisch, H., Feldshuh, J., Goluboff, E., Broder, S., Olson, J., and Barad, D.: Semen analysis in 1283 men from the United States over a 25-year period: no decline in quality. *Fertil. Steril.*, **65**: 1009-1014, 1996.
- 16) Paulsen, C. A., Berman, N. G., and Wang, C.: Data from men in greater Seattle area reveals no downward trend in semen quality: further evidence that deterioration of semen quality is not geographically uniform. *Fertil. Steril.*, **65**: 1015-1020, 1996.
- 17) Bujan L., Mansat A., Pontonnier, F., and Mieuisset, R.: Time series analysis of sperm concentration in fertile men in Toulouse, France between 1977 and 1992. *BMJ*, **312**: 471-472, 1996.
- 18) Beerling, S. and Wolner-Hanssen, P.: No evidence of deteriorating semen quality among men in infertile relationships during the last decade: a study of males from Southern Sweden. *Hum. Reprod.*, **12**: 1002-1005, 1997.
- 19) Irvine, S., Cawood, E., Richardson, D., Macdonald, E., and Aitken, J.: Evidence of deteriorating semen quality in the United Kingdom: birth cohort study in 577 men in Scotland over 11 years. *BMJ*, **312**: 467-471, 1996.
- 20) Van Waelegem, K., De Clecq, N., Vermeulen, L., Schoonjans, F., and Comhaire, F.: Deterioration of sperm quality in young healthy Belgian men. *Hum. Reprod.*, **11**: 325-329, 1996.
- 21) Joffe, M.: Decreased fertility in Britain compared with Finland. *Lancet*, **347**: 1519-1522, 1996.
- 22) Benshushan, A., Shoshani, O., Paltiel, O., Schenker, J. G., and Lewin, A.: Is there a decrease in sperm parameters among healthy young men? A survey of sperm donations during 15 years. *J. Assist. Reprod. Genet.*, **14**: 347-353, 1997.
- 23) Younglai, E. V., Collins J. A., and Foster, W. G.: Canadian semen quality: an analysis of sperm density among eleven academic fertility centers. *Fertil. Steril.*, **70**: 76-80, 1998.
- 24) 吉田英機: 健常医学生における精液所見とその季節的変動。日泌尿会誌, **73**: 1416-1421, 1982.
- 25) 生垣舜二, 丸田 浩, 大野一典, 熊本悦明: 健康成人男子 254 人の精液所見および頻回射精による精液所見変動に関する検討。日本不妊学会雑誌, **29**: 20-36, 1984.
- 26) 高橋達夫, 村山 茂, 飯塚理八: 不妊男子の精液所見。産婦人科の世界, **5**: 45-50, 1953.
- 27) 清水博宣: 男子不妊因子の研究。日本不妊学会雑誌, **2**: 29-38, 1957.
- 28) 新田俊一, 熊本悦明, 伊藤直樹, 塚本泰司, 丹田 均: 加齢に伴う精子発生能の変化に関する研究。札幌医誌, **64**: 77-85, 1995.
- 29) Schwartz, D., Mayaux, M-J., Spira, A., Moscato, M. L., Jouannet, P., and Czyglik, F.: Semen characteristics as a function of age in 833 fertile men. *Fertil. Steril.*, **39**: 530-535, 1983.
- 30) MacLeod, J. and Gold, R. Z.: The male factor in fertility and infertility. VII. Semen quality in relation to age and sexual activity. *Fertil. Steril.*, **4**: 194-209, 1953.
- 31) Levine, R. J., Brown, M. H., Bell, M., Shue, F., Greenberg, G. N., and Bordson, B. L.: Air-conditioned environments do not prevent deterioration of human semen quality during the summer. *Fertil. Steril.*, **57**: 1075-1083, 1992.
- 32) Giblin, P. T., Poland, M. L., Moghissi, K. S., Ager, J. W., and Olson, J. M.: Effects of stress and characteristic adaptability on semen quality in healthy men. *Fertil. Steril.*, **49**: 127-132, 1988.

- 33) Hotchkiss, R. S.: Factors in stability and variability of semen specimens. *J. Urol.*, **45**: 875-888, 1941.
- 34) Levin, R. M., Latimore, J., Wein, A. J., and Van Arsdalen, K. N.: Correlation of sperm count with frequency of ejaculation. *Fertil. Steril.*, **45**: 732-734, 1986.
- 35) Cooper, T. G., Neuwinger, J., Bahrs, S., and Nieschlag, E.: Internal quality control of semen analysis. *Fertil. Steril.*, **58**: 172-178, 1992.
- 36) Jorgensen, N., Auger, A., Giwercman, D. S., Irvine, T. K., Jensen, P., Jouannet, N., Keiding, N., Le Bon, C., Macdonald, E., Pekuri, A.-M., Scheike, T., Simonsen, J., Suominen, J., and Skakkebaek, N. E.: Semen analysis performed by different laboratory teams: an intervariation study. *Int. J. Androl.*, **20**: 201-208, 1997.
- 37) WHO: WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction, 3rd edn., pp. 43-44, 1992, Cambridge University Press, Cambridge.
- 38) MacLeod, J. and Gold R. Z.: The male factor in fertility and infertility II. Spermatozoon counts in 1000 men of known fertility and in 1000 cases of infertile marriage. *J. Urol.*, **66**: 436-449, 1951.
- 39) Macomber, D. and Sanders, M. B.: The spermatozoa count. *N. Eng. J. Med.*, **200**: 981-984, 1929.
- 40) Weisman, A. I.: Spermatozoal counts in fertile males. *Urologic and Cutaneous Review*, **47**: 166-168, 1943.
- 41) Vierula, M., Keiski, A., Saaranen, M., and Souminen, J.: High and unchanged sperm counts of Finnish men. *Int. J. Androl.*, **19**: 11-17, 1996.
- 42) Souminen, J. and Vierula, M.: Semen quality of Finnish men. *BMJ*, **306**: 1579, 1993.
- 43) Barratt, C. L. R., Dunphy, B. C., Thomas, E. J., and Cooke, I. D.: Semen characteristics of 49 fertile males. *Andrologia*, **20**: 264-269, 1988.
- 44) Nagma-E-Rehan, Sobrero, A. J., and Fertig, J. W.: The semen of fertile men: statistical analysis of 1300 men. *Fertil. Steril.*, **26**: 492-502, 1975.
- 45) Badenoch, D. F., Evans, S. J. W., and McCloskey, D. J.: Sperm density measurement: should this be abandoned? *Br. J. Urol.*, **64**: 521-523, 1989.
- 46) Leto, S. and Frensilli, F. J.: Changing parameters of donor semen. *Fertil. Steril.*, **36**: 766-770, 1981.
- 47) Omblet, W., Bosmans, E., Janssen M., Cox, A., Vlasselaer, J., Guselaers, W., Vandeput, H., Geielen, J., Pollet, H., Maes, M., Steeno, O., and Kruger, T.: Semen parameters in a fertile versus subfertile population: a need for change in the interpretation of semen testing. *Hum. Reprod.*, **12**: 987-993, 1997.
- 48) Buckett, W. M., Luckas, M. J. M., Gazvani, I. R., Aird, I. A., and Lewis-Jones, E. I.: Seminal plasma lactoferrin concentrations in normal and abnormal semen samples. *J. Androl.*, **18**: 302-303, 1997.
- 49) Khara, K. K., Vlad, M., Griffiths, M., and Kennedy, C. R.: Human protamines and male infertility. *J. Assist. Reprod. Genet.*, **14**: 282-290, 1997.
- 50) Lopes, S., Sun J.-G., Jurisicova, A., Meriano, J., and Cassper, R. F.: Sperm deoxyribonucleic acid fragmentation is increased in poor-quality semen samples and correlates with failed fertilization in intracytoplasmic sperm injection. *Fertil. Steril.*, **69**: 528-532, 1998.
- 51) Ibrahim, M. E., Moussa, M. A. A., and Pedersen, H.: Sperm chromatin heterogeneity as an infertility factor. *Arch. Androl.*, **21**: 129-133, 1988.
- 52) Sharpe, R. and Skakkebaek, N. E.: Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? *Lancet*, **341**: 1392-1395, 1993.
- 53) Colborn, T., Clement, C., eds.: Chemically-induced alterations in sexual and functional development: the wildlife/human connection. 1992, Princeton: Princeton Scientific Publishing.
- 54) Colborn, T., vom Saal, F. S. and Soto, A. M.: Developmental effects of endocrine-disrupting

- chemicals in wildlife and human. *Environ. Health Perspect.*, **101**: 378-384, 1993.
- 55) Toppari, J., Larsen, J. C., Christiansen, P., Giwercman, A., Grandjean, P., Guillette, L. J., Jegou, B., Jensen, T. K., Jouannet, P., Keiding, N., Leffers, H., McLachlan, J. A., Meys, O., Mueller, J., Meyts, E. R-D., Scheike, T., Sharpe, R., Sumpter, J., and Skakkebaek, N. E.: Male reproductive health and environmental xenoestrogens. *Environ. Health Perspect.*, **104** (Suppl. 4): 741-803, 1996.
- 56) Stillman, R. J.: In utero exposure to diethylstilbestrol: adverse effects on the reproductive tract and reproductive performance in male and female offspring. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **142**: 905-921, 1982.
- 57) Wilcox, A. J. D. D., Weinberg, C. R., Hornsby, P. P., and Herbst, A. L.: Fertility men exposed prenatally to diethylstilvestrol. *N. Engl. J. Med.*, **332**: 1411-1416, 1995.