

〔生殖機能への影響〕

2-11. 精子数

〔要旨〕

内分泌かく乱化学物質等の化学物質（ダイオキシンを除く）の男性生殖器系への影響として精子数の低下等を扱った疫学研究について、平成13年度は2001年までに検索された断面研究6件、コホート研究1件、コホート内症例対照研究1件について文献的考察を行った。今回2001年以降の文献について更新作業を行い、2004年までの文献として新たに22文献を追加し合計30文献となった。それらの研究デザインは、断面研究15件、症例対照研究9件、その他6件と分類された。対象となった男性集団は、健常者5件(妊孕能あり2件、妊孕能不問3件)、男性不妊外来患者9件、職業性暴露集団13件、直接暴露集団2件(DES、油症各1件ずつ)、その他1件(疾病の死亡率、発生率からの統計)であった。暴露要因としては、農薬・殺虫剤13件、PCB等有機塩素系化合物6件、フタル酸2件、スチレン2件、その他の有機溶剤等2件、その他5件(DES、大気汚染、トリハロメタン、不特定環境汚染物質、不特定の因子、各1件ずつ)が挙げられた。これらの暴露要因の精子への影響については、30文献中、検討項目の少なくとも一部に有意な関連を示したものの22件、有意な関連なし6件、関連不明2件、という結果であった。そのうち、農薬・殺虫剤では13件中10件、有機塩素化合物では6件すべて、フタル酸では2件ともに精子への何らかの影響を示していた。精子への影響を評価する検討項目には、通常精液検査パラメータ(精液量、精子濃度、総精子数、精子運動率、精子正常形態率または異常形態率、精子生存率)の他に、コンピュータ自動精子分析機(CASA)による精子運動性パラメータ、FISH法で検出した精子核染色体異数性頻度、コメット法による精子核DNA断片化率等が含まれていた。

〔目的〕

内分泌かく乱化学物質の男性生殖器系への影響のひとつとして、近年におけるヒトの精子数減少など精液の質低下傾向が危惧されている。内分泌かく乱化学物質の精子への影響は、野生動物での事例や動物実験では確認されているが、人での影響についてはまだ確実な証拠が示されていない。ここでは内分泌かく乱作用を示す可能性のある化学物質（ダイオキシンを除く）の精子への影響を扱った疫学研究の現状を把握する目的で文献的考察を行った。

〔研究方法〕

米国立医学図書館の医学文献データベース(MEDLINE; PubMed)を用いて、検索式(Sperm Count OR Spermatozoa OR Semen) AND (Insecticides OR Pesticides OR Chlorinated Hydrocarbons OR PCBs OR Bisphenol OR Phenol OR Phthalate OR Styrene OR Furan OR Organotin OR Diethylstilbestrol OR Ethinyl Estradiol) で得られた1639件の文献のうちヒト集団を対象とした疫学研究145件を選択した。さらに精子の質を扱った原著論文に限定し、その他の総説及び原著論文等を参考に必要な論文を加え、最終的に30文献を抽出した。

〔結果〕

1. 農薬・殺虫剤

有機リン酸系農薬の暴露に関して、Padungtodら(1999)は中国 Anquin において精子染色体へ

の影響を調べる目的で行った横断研究の中で、農薬工場に勤務する暴露群の男性と、同じ地域の織物工場に勤める非暴露群の男性では、精子濃度と運動率の中央値は暴露群で低く、染色体異常の出現するリスクは暴露群が1.51倍高いと報告している。同じ集団について Padungtodら(2000)は、精液検査を行った暴露群と非暴露群の精液パラメータの数値を比較し、線形回帰分析の結果では精子濃度と運動率は暴露群において有意な低下を示し、エチルパラチオンとメタミドフォスの暴露が精液の質に中程度の影響を与える可能性があることを報告した。メキシコの農村地域の農業従事者を対象とした断面研究(Recio, 2001)では、有機リン系殺虫剤の暴露が精子の染色体異常に関連してターナー症候群などの遺伝的疾患のリスクを増加させる可能性を指摘した。また同じ研究グループによる農業従事者を対象とした断面研究(Sanchez-Pena, 2004)では、有機リン系農薬の暴露が精子核のDNA断片化率を高めることから妊孕能への影響を示唆している。有機リン系農薬の暴露に関しては日本からの報告(Kamijima, 2004)があり、農薬散布従事者の暴露群では非暴露群に比べて、通常の精液所見に差は認められなかったが、農薬散布時期である夏に運動性の低下した精子の割合が有意に増加することを示した。

中国の殺虫剤製造工場におけるフェンバシレート職業精暴露に関する症例対照研究(Tanら, 2002)、スペインにおけるコリンエステラーゼ阻害剤系殺虫剤の職業性暴露の症例対照研究(Marmol-Maneiroら, 2003)においては、いずれも農薬暴露が精子数と精子運動能に影響するという結果であった。Koifmanら(2002)による疫学的地域相関研究では、ブラジルの11州における1980年代の農薬暴露量(農薬販売量)と1990年代の生殖器系アウトカムについての集団データを調査し、農薬を暴露した集団での乳癌、卵巣がん、精子の質低下、前立腺癌、精巣主要等の生殖器系障害との関連を示した。Juhlerら(1999)は、「有機農法によって生産された農作物を摂取している農業従事者は、農薬の暴露が少ないために精液の質が高い」という仮説を検証する目的で、デンマークの農業従事者から食生活に関するデータと精液所見を得た。対象者を有機農作物の生産率に応じて3つのグループに分けて比較したところ、グループ間で40種類の農薬の使用量に差が認められたが、精子濃度に有意差はなかった。しかし、最も有機農産物の生産率の低いグループにおける精子正常形態率が有意に低いことが示された。

Swanら(2003)は、アメリカ合衆国のミズーリ、ミネソタ両州における疫学調査(Study for Future Families Research Group)参加者した妊婦の配偶者の男性を対象にした症例対照研究(精液の質の高い群と低い群を比較)において、精液パラメータと現在用いられている除草剤アラクロル、アトラジン及びダイアジノン系殺虫剤IMPYなどとの関連性について検討し、これらの農薬がミズーリ州中部の妊孕性のある男性における精液の質の低下に関連していることを示した。この研究は、人口ベースの研究としては、農薬の環境暴露の精子への影響を示した最初の研究である。暴露源については不明であるが、最も可能性が高い原因として生活用水を挙げている。

農薬暴露と精子の質との間に関連を認めなかった文献が3件あった。Tomensonら(1999)は、稲作の除草剤モリネート(thiocarbamate herbicide)の男性生殖機能への影響を評価する目的で、アメリカ合衆国3か所のモリネート生産加工プラントに勤務する男性を対象に断面研究として精液検査及び血清中のホルモン検査を行ったが、精子及び内分泌ホルモンのレベルがモリネートの暴露レベルと相関して変化する傾向は見られなかった。農薬使用の有無によって集団を2群に分けて精子染色体の異数性頻度を比較したアメリカ合衆国の断面研究(Smith, 2004)では、両群間で差を認めず、農薬散布が精子染色体の数の異常のリスクを増大させないと結論している。また、南アフリカ Malaria Control Center 近隣在住の労働者を対象とした DDT の環境暴露に関する断面研究(Dalvie, 2004)では、血中の DDT 濃度は精液量、精子濃度、総精子数、精子運動率、精子正常形態率のいずれのパラメータとも有意な関連を認めなかったとしている。

2. 有機塩素系化合物

PCB等の有機塩素系化合物の暴露に関しては、男子不妊症の外来患者を対象とした研究が4件あり、血清中(Rozatiら、2002; Hauserら、2002; Hauserら、2003あるいは血清及び精漿中(Dallingaら、2002)の有機塩素化合物濃度と精液所見との関連を検討しているが、いずれもそれらの暴露と精液の質低下の関連性を示していた。スウェーデンの一般若年男性集団を対象とした断面研究(Richthofら、2003)では、PCB及びその代謝物と、精子数及び精子運動性との間に負の相関を認めている。また、PCB/PCDF類を直接暴露した油症患者の男性を対象とした台湾の症例対照研究(Hsuら、2003)では、暴露男性における精子数減少と形態異常との関連を示した。

3. フタル酸類

フタル酸暴露についてはアメリカ合衆国で行われた研究が2件検索された。1件は男性不妊外来患者で尿中のフタル酸代謝産物濃度の精子への影響を検討した断面研究(Dutyら、2003-1)で、コメット法で検出した精子DNA損傷パラメータと尿中モノエチルフタル酸濃度と関連性を示したが、他のフタル酸代謝物との関連は認められなかった。もう1件(Dutyら、2003-2)の男性不妊外来患者を対象とした症例対照研究では、尿中のモノブチルフタル酸及びモノベンジルフタル酸と精子濃度及び精子運動率との間に用量反応相関性が認められた。

4. スチレン

スチレン暴露に関する文献も2件あり、どちらも同じ研究グループによるイタリアの繊維強化プラスチック工場の労働者を対象にした症例対照研究である。一方の研究(Miglioreら、2002)では、暴露群と近隣在住の非暴露群との間で通常の精液検査結果に有意差を認めなかったが、コメット法による精子核DNA断片化率は暴露群において有意に高かったことから、コメット法による精子核DNAの評価は通常の精液検査より、スチレン暴露による精子への影響をより高感度に検出できるとしている。もうひとつの研究(Naccarati、2003)では、FISH法による精子染色体検査で両群間の精子染色体の異数性及び二倍性の頻度を比較したが、有意差は認められず、精子染色体の数的異常には年齢や喫煙などの因子が関連していると結論していた。

5. その他の有機溶剤等

KurinczukとClarke(2001)は、不妊外来診療を受けた男性を対象としたイングランドのコホート内症例対照研究において、有機溶媒を大量に使用する皮革業に従事する群とそれ以外の業種で有機溶媒を使用する業种群と使用しない業种群に分けて精子パラメータの数値及び精液所見に異常のある症例の比率を比較した。不妊男性の中で皮革業の男性はそれ以外より1.10倍、有機溶媒使用者はそれ以外より1.73倍割合が高かった。しかし、精子パラメータの数値及び乏精子症、精子無力症など比率は対象群と皮革業群及び有機溶媒使用群との間に有意差は認められなかった。Wangら(2000)は中国南東の揚子江近郊地域において、暴露群と石油化学工業従事者と非暴露群(繊維工業従事者)を対象とした横断研究で、石油化学物質の職業性暴露と喫煙の精液の質への影響をみた。暴露群はその製造工程及び環境モニタリングのデータから、低レベルのガソリン、スチレン、ベンゼン、トルエン、キシレン、酢酸、アセトアルデヒド他に暴露されていた。対照群に比べて、暴露/非喫煙群は精子運動性が有意に低く、暴露/喫煙群は精子濃度、総精子数、精子運動率のすべてが有意に低下していた。さらに精子濃度と暴露及び喫煙の期間との間に負の相関が認められた。

6. その他

Learyら(1984)は、米国 Mayo Clinic の医療記録にある DES に胎内暴露した男性を対象にその後の生殖異常の発症に関するコホート研究を実施した。精液検査を実施した暴露群と非暴露群間で、精子数、他の精子パラメータの異常及び他の生殖異常(理学的所見の異常、生殖器の奇形)に有意差を認めなかった。

Selevanら(2000)は、大気汚染と生殖機能との関連を調べる目的で、チェコの高度に工業化が進んで季節によって大気汚染度合いが変動する地区と、比較的空気が清浄な地区にそれぞれ6ヶ月以上住む18歳の男性を対象に生殖機能調査を行った。両地区に住む男性の精子濃度に有意差は認められなかったが、大気汚染の程度の高い地区での居住期間が長くなると、精子の形態と運動性に関して劣化が進む傾向が認められた。

アメリカ合衆国の不妊の要因を認めない健康な男性を対象とした断面研究(Fenster, 2003)では、トリハロメタンの暴露量(水道水中の総トリハロメタン濃度×飲水量)で集団を3群の層別化すると、最高レベルの群では最低レベルの群と比較して精子の正常形態率が有意に低下していた。個々のトリハロメタンとしてはプロモジクロロメタンが精子の直進性と逆相関を示した。

Younglaiら(2002)は、カナダで体外受精を行った夫婦の卵胞液、血清、精漿中の環境汚染物質の濃度を測定し、p,p'-DDE、ミレックス、ヘキサクロロエタン、1,2,4-トリクロロベンゼン、PCB-49、PCB-153 お、PCB-180、カドミウム、エンドスルファンI、等を検出した。精漿サンプル中に最も高頻度に検出された汚染物質はミレックスであったが、受精率との関連は認められなかった。精液所見との関連は検討していない。

オランダの妊孕能のある男性(妊婦の配偶者)と不妊男性を対象とした症例対象研究(Wong, 2003)では、職業と住環境、生活様式、食生活、病歴、家族の生殖に関する情報等の項目を含むアンケートの回帰分析により、各種暴露因子と精子数との関連を検討した結果、精子減少のリスク因子として、農業及び溶接業への従事、抗生物質の使用、おたふく風邪、胃腸疾患、果物・野菜の摂取不足、家族因子としての女性の生殖系疾患を挙げた。

〔考察〕

今回レビューで取りあげた文献30件中22件(73%)が何らかの精子への影響を示していた。農業では13件中10件で関連を示していたが、その多くが暴露レベルの高い職業性の集団を対象としたものであった。有機塩素系化合物では6件すべてで何らかの関連(有意差検定なしも含む)を認めていた。これらの対象集団は、高レベルの暴露を受けた油症の1例を除くと、顕著な暴露要因を認めない集団(健康若年男性と男性不妊関連)であることから、有機塩素系化合物の暴露については一般環境下で男性生殖機能への影響が既に顕在化している可能性が示唆された。一般環境における化学物質等の暴露の程度を知るには、高レベルの暴露を受けた特殊な集団ではなく、健康な一般集団あるいは明確に定義された種々の男性集団を対象とした調査研究が今後さらに重要性を増すと考えられる。最近の研究では、精子への影響を評価する指標として、精子の数に関するパラメータ(精子濃度、総精子数)以外に精子の運動率や正常形態率、CASAによる精子運動性パラメータ、FISH法で検出した精子核染色体異数性頻度、コメット法による精子核DNA断片化率等が加わるようになり、その多くは精子数よりも感受性の高い指標である可能性が示唆されている。今後は、より詳細な精子パラメータの分析に加え、精子形成に関連した新たなバイオマーカーの開発とこの分野の研究への応用が期待される。

〔結論〕

内分泌かく乱化学物質等の化学物質と精子との関連を扱った疫学研究について文献的考察を行った。2004年までの文献が考察の対象となったが、2000年までに比べて、検索されてきた文献そのものが増加したことで、前回は関連なしという研究が多かったのに比べ、今回は化学物質と精子の質の低下との間に関連を認める文献が多数検索されたことが異なる点であった。しかしながら、農薬にしても有機塩素系化合物にしても、単なる精巣毒性と内分泌かく乱作用との違いをこれらの文献から区別することは、困難である。内分泌かく乱化学物質の影響評価のための方法論の整備と目的の明確な研究デザインによる疫学調査の必要性が示唆された。

〔参考文献〕

Dallinga JW, Moonen EJ, Dumoulin JC, Evers JL, Geraedts JP, Kleinjans JC: Decreased human semen quality and organochlorine compounds in blood. *Hum Reprod.* 2002 Aug;17(8):1973-9.

Dalvie MA, Myers JE, Thompson ML, Robins TG, Dyer S, Riebow J, Molekwa J, Jeebhay M, Millar R, Kruger P: The long-term effects of DDT exposure on semen, fertility, and sexual function of malaria vector-control workers in Limpopo Province, South Africa. *Environ Res.* 2004 Sep;96(1):1-8.

Duty SM, Silva MJ, Barr DB, Brock JW, Ryan L, Chen Z, Herrick RF, Christiani DC, Hauser R: Phthalate exposure and human semen parameters. *Epidemiology.* 2003 May;14(3):269-77.

Duty SM, Singh NP, Silva MJ, Barr DB, Brock JW, Ryan L, Herrick RF, Christiani DC, Hauser R: The relationship between environmental exposures to phthalates and DNA damage in human sperm using the neutral comet assay. *Environ Health Perspect.* 2003 Jul;111(9):1164-9.

Fenster L, Waller K, Windham G, Henneman T, Anderson M, Mendola P, Overstreet J, Swan SH: Trihalomethane levels in home tap water and semen quality. *Epidemiology* 2003 14(6):650-658

Hauser R, Chen Z, Pothier L, Ryan L: The relationship between human semen parameters and environmental exposure to polychlorinated biphenyls and p,p'-DDE. *Environ Health Perspect.* 2003 Sep;111(12):1505-11.

Hauser R, Singh NP, Chen Z, Pothier L, Altshul L: Lack of an association between environmental exposure to polychlorinated biphenyls and p,p'-DDE and DNA damage in human sperm measured using the neutral comet assay. *Hum Reprod.* 2003 Dec;18(12):2525-33.

Hsu PC, Huang W, Yao WJ, Wu MH, Guo YL, Lambert GH: Sperm changes in men exposed to polychlorinated biphenyls and dibenzofurans *JAMA.* 2003 Jun 11;289(22):2943-4.

Juhler RD, Larsen SB, Meyer O, Jensen ND, SpanoM, Giwercman A, Bonde JP: Human semen quality in relation to dietary pesticide exposure and organic diet. *Arch Environ Contam Toxicol* 37: 415-423, 1999

- Kamijima M, Hibi H, Gotoh M, Taki K, Saito I, Wang H, Itohara S, Yamada T, Ichihara G, Shibata E, Nakajima T, Takeuchi Y: A survey of semen indices in insecticide sprayers. *J Occup Health*. 2004 Mar;46(2):109-18.
- Koifman S, Koifman RJ, Meyer A: Human reproductive system disturbances and pesticide exposure in Brazil. *Cad Saude Publica*. 2002 Mar-Apr;18(2):435-45. Epub 2002 Aug 16.
- Kurinczuk, JJ Clarke M: Case-control study of leatherwork and male infertility. *Occup Environ Med* 58: 230-238, 2001
- Leary FJ, Resseguie LJ, Kuriland LT, O'Brien PC, Emslander RF, Noller KL: Males exposed in utero to diethylstilbestrol. *JAMA* 7: 2984-2989, 1984
- Marmol-Maneiro L, Fernandez-D'Pool J, Sanchez BJ, Sirit Y: [Seminal profile in workers exposed to cholinesterase inhibitor insecticides] *Invest Clin*. 2003 Jun;44(2):105-17. Spanish.
- Migliore L, Naccarati A, Zanello A, Scarpato R, Bramanti L, Mariani M: Assessment of sperm DNA integrity in workers exposed to styrene. *Hum Reprod*. 2002 Nov;17(11):2912-8.
- Naccarati A, Zanello A, Landi S, Consigli R, Migliore L: Sperm-FISH analysis and human monitoring: a study on workers occupationally exposed to styrene. *Mutat Res*. 2003 Jun 6;537(2):131-40.
- Padungtod C, Hassold TJ, Millie E, Ryan LM, Savits DA, Christiani DC, Xu X: Sperm aneuploidy among Chinese pesticide factory workers: scoring by the FISH method. *Am J Ind Med* 36: 230-238,1999
- Padungtod C, Savits DA, Overstreet JW, Christiani DC, Ryan LM, Xu X: Occupational pesticide exposure and semen quality among Chinese workers. *J Occup Environ Med* 42: 982-992, 2000
- Recio R, Robbins WA, Borja-Aburto V, Moran-Martinez J, Froines JR, Hernandez RM, Cebrian ME: Organophosphorous pesticide exposure increases the frequency of sperm sex null aneuploidy. *Environ Health Perspect*. 2001 Dec;109(12):1237-40.
- Richthoff J, Rylander L, Jonsson BA, Akesson H, Hagmar L, Nilsson-Ehle P, Stridsberg M, Giwercman A: Serum levels of 2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (CB-153) in relation to markers of reproductive function in young males from the general Swedish population. *Environ Health Perspect*. 2003 Apr;111(4):409-13.
- Rozati R, Reddy PP, Reddanna P, Mujtaba R: Role of environmental estrogens in the deterioration of male factor fertility. *Fertil Steril*. 2002 Dec;78(6):1187-94.
- Sanchez-Pena LC, Reyes BE, Lopez-Carrillo L, Recio R, Moran-Martinez J, Cebrian ME, Quintanilla-Vega B: Organophosphorous pesticide exposure alters sperm chromatin structure in Mexican

agricultural workers. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2004 Apr 1;196(1):108-13.

Selevan SG, Bordovec L, Slott VL, Zudova Z, Rubes J, Evenson DP, Perreault SD: Semen quality and reproductive health of young Czech men exposed to seasonal air pollution. *Environ Health Perspect* 108: 887-894, 2000

Smith JL, Garry VF, Rademaker AW, Martin RH: Human sperm aneuploidy after exposure to pesticides. *Mol Reprod Dev.* 2004 Mar;67(3):353-9.

Swan SH, Kruse RL, Liu F, Barr DB, Drobnis EZ, Redmon JB, Wang C, Brazil C, Overstreet JW; Study for Future Families Research Group: Semen quality in relation to biomarkers of pesticide exposure. *Environ Health Perspect.* 2003 Sep;111(12):1478-84.

Tan LF, Wang SL, Sun XZ, Li YN, Wang QL, Ji JM, Chen LS, Wang XR: [Effects of fenvalerate exposure on the semen quality of occupational workers] *Zhonghua Nan Ke Xue.* 2002;8(4):273-6.

Tomenson JA, Taves DR, Cocett ATK, McCusker J, Barraj L, Francis M, Pastoor TP, Wickramaratne GSD, Northrop HL: An assessment of fertility in male workers exposed to Molinate. *J Occup Environ Med* 41: 771-787, 1999

Wang SL, Wang XR, Chia SE, Shen HM, Song L, Xing HX, Chen HY, Ong CN: A study on occupational exposure to petrochemicals and smoking on seminal quality. *J Androl* 22, 73-78, 2001

Wong WY, Zielhuis GA, Thomas CM, Merkus HM, Steegers-Theunissen RP: New evidence of the influence of exogenous and endogenous factors on sperm count in man. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2003 Sep 10;110(1):49-54.

Younglai EV, Foster WG, Hughes EG, Trim K, Jarrell JF: Levels of environmental contaminants in human follicular fluid, serum, and seminal plasma of couples undergoing in vitro fertilization. *Arch Environ Contam Toxicol.* 2002 Jul;43(1):121-6.

表 2-1 1-1 内分泌かく乱化学物質と精子数に関するコホート研究

著者・年	調査地域・対象	化学物質等	結果
Leary, 1984	米国 暴露群/非暴露群=828/676 (精液検査実施群: 110/95)	DES	精子濃度対数平均値 ($\times 10^6/\text{ml}$) 暴露/非暴露=3.788/3.759

表 2-1 1-2 内分泌かく乱化学物質と精子数に関するコホート内症例対照研究

著者・年	調査地域・対象	化学物質等	結果
Kurinczuk, 2001	イングランド 症例（不妊症）/対象＝1606/1013	有機溶媒 非特定	症例における比率 皮革業：1.10 (p=0.99) 有機溶媒使用：1.73 (p<0.001) 皮革業従事者における比率 乏精子症：1.20(p=0.73) 精子奇形症：1.65(p=0.51)

表 2-1 1-3 内分泌かく乱化学物質と精子数に関する症例対照研究

著者・年	調査地域・対象	化学物質等	結果
Migliore, 2002	イタリア 暴露群/非暴露群=46/27 強化プラスチック加工工場従事 近隣在住の健康なボランティア男性	ステレン	両群間で通常の精液検査結果の有意差なし comet法による精子核DNA断片化の度合い： 暴露群/非暴露群=10.9/7.4 (p<0.001)
Tan, 2003	中国 暴露群/非暴露群=32/46+22 殺虫剤工場に勤務する職業性暴露群 内部対照群46、外部対照群22	フェンバレート	精子数平均値 ($\times 10^6/ml$) に有意差あり： 暴露/非暴露 (内部/外部) =53.96*/(89.45/113.24) (*内外両対照に対して有意差あり、p<0.05) その他に暴露群では： 精子の粘性、凝固、濃度の異常率が内外両対照に比べて有意に増加 (p<0.05)
Naccarati, 2003	イタリア (Tuscany) 暴露群/非暴露群=18/13 繊維強化プラスチック製造従事者 同地域に住む非暴露男性 (※精液所見は両群ともに正常)	ステレン	FISH法による精子染色体検査において、暴露群と非暴露群間で、異数性および二倍性の頻度に有意差なし 精子核染色体の数的異常に関してはステレン暴露以外の因子 (年齢、喫煙) が関連
Hsu, 2003	台湾 暴露群/非暴露群=40/28 暴露群：油症登録者 非暴露群：近隣住民	PCB/PCDF	精子正常形態率： 暴露/非暴露=27.5/23.3、p=0.04 精子減少症率： 暴露/非暴露=9/1、p=0.04 精子卵母細胞貫通率： 暴露/非暴露=16.2/32.4、p<0.01 hamster-卵母細胞結合率： 暴露/非暴露=1.6/2.7、p<0.01
Marmol-maneiro,			

2003	<p>スペイン</p> <p>暴露群/非暴露群^a=29/30</p> <p>殺虫剤職業性</p> <p>露した男性29例(20-54歳)</p> <p>^a年齢を揃えた非暴露男性</p>	<p>コリンエステラーゼ阻害剤</p> <p>系殺虫剤</p>	<p>暴露群と非暴露群間で精子濃度、運動性、生存率の平均値に有意差あり (p=<0.05)</p>
Duty, 2003-2	<p>アメリカ合衆国</p> <p>男性不妊外来を受診した168名</p> <p>症例/対照^a=91/77</p> <p>精子濃度、運動率、形態のいずれか1つでも基準値未満</p> <p>^a上記パラメータが全て基準値以上</p>	<p>尿中フタル酸代謝産物:</p> <p>MEP, MMP, MEHP, MBP, MB₂P, MOP, MINP, MCHP,</p>	<p>用量反応性の関連あり:</p> <p>尿中暴露レベルによって3群に分け、最も低い濃度群におけるリスクを1.0とした時のオッズ比</p> <p>MBPと精子運動能 (1.0, 1.8, 3.0, p=0.02)</p> <p>MBPと精子濃度 (1.0, 1.4, 3.3, p=0.07)</p> <p>MB₂Pと精子濃度 (1.0, 1.4, 5.5, p=0.02)</p>
Swan, 2003	<p>アメリカ合衆国 (ミズーリ州、ミネソタ州)</p> <p>妊娠女性の配偶者</p> <p>症例/対照^a=34/52^b</p> <p>精子濃度、運動率、形態の全てが基準値未満</p> <p>^a上記パラメータが全て基準値以上</p> <p>^a34=25(ミズーリ) +9 (ミネソタ)</p> <p>^b52=25(ミズーリ) +27 (ミネソタ)</p>	<p>農薬:</p> <p>アザラコル、IMPY、アトラジン</p> <p>トラコル、アザラコル、IMPY</p> <p>2,4-ジクロロフェノキシ酢酸</p> <p>DEET</p> <p>アセトコル</p>	<p>農薬と精液の質との間に関連あり</p> <p>ミズーリ州男性の症例は対照に比べて:</p> <p>アザラコル、アトラジン、IMPYの濃度平均値が有意に高かった (p値はそれぞれ、0.0007, 0.012, 0.0004)</p> <p>上記農薬が高濃度である頻度が有意に高かった (オッズ比はそれぞれ、30.0, 11.3, 16.7)</p> <p>ミズーリ州の男性はミネソタ州の男性に比べて:</p> <p>アザラコル、IMPY、アトラジン、トラコル濃度が検出限界値を超える頻度が有意に高かった (p値はそれぞれ、<0.0001, 0.001, 0.004, <0.0001)</p> <p>ミネソタ州の男性では:</p> <p>症例と対照の間に農薬濃度の有意差なし</p>
Hauser, 2003	<p>アメリカ合衆国</p> <p>男性不妊外来を受診した212名</p> <p>症例/対照^a=114/98</p> <p>精子濃度、運動率、形態のいずれか1つでも基準値未満</p> <p>^a上記パラメータが全て基準値以上</p>	<p>PCB、DDE</p>	<p>用量反応性の関連あり:</p> <p>血清中の暴露レベルによって3群化し、最も低い濃度群におけるリスクを1.0とした時のオッズ比</p> <p>PCB-138と運動能 (1.0, 1.68, 2.35, p=0.03)</p> <p>PCB-138と精子形態 (1.0, 1.36, 2.53, p=0.04)</p>

Wong, 2003

オランダ

症例/対照=73/92

不妊男性、精子濃度5-20million/ml

妊孕能の確認された男性

多数の因子（職業、環境、
生活様式等）

精子減少症のリスクとなる暴露因子：

農薬(OR : 8.4、CI:1.3-52.1) 、溶接業(OR : 2.8、CI:0.9-8.7) 、抗生物質の使用 : (OR : 15.4、CI:1.4-163)

おたふく風邪(OR : 2.9、CI:1.3-6.7) 、胃腸症状(OR : 6.2 CI:1.4-26.8) 、果物摂取不足(OR : 2.3、CI:1.0-5.1)

野菜の摂取不足(OR : 1.9、CI:0.7-5.0) 、家族因子としての女性の生殖疾患(OR : 8.4、CI:1.7-41.9)

表 2-1 1-4 内分泌かく乱化学物質と精子数に関する横断面研究

著者・年	調査地域・対象	化学物質等	結果
Padungtod, 1999	中国 暴露群/非暴露群=32/43 (染色体、精液検査実施群：13/16)	有機リン酸系農薬 ethylparathion methamidophos	精子濃度中央値：52.8/53.1 ($\times 10^6/ml$) 精子運動率：50.5/61.3(%) 異常形態精子率：59/61.5(%) 精子染色体異常の出現リスク暴露群で1.51倍
Tomenson, 1999	米国 農薬生産加工に携わる272人 高暴露レベル：生産加工実施期間 低暴露レベル：非実施期間	農薬 モリネート S-ethyl hexahydro- 1H-asepene-1- carbothioate	精液所見、内分泌ホルモン値が暴露レベルと 関連して変動する傾向なし
Juhler, 1999	デンマーク 農業従事者256 (従来農法171、有機農法85)	農薬40種	精子濃度中央値 ($\times 10^6/ml$) N/M/H： 62/44/75 p=0.40
Padungtod, 2000	中国 暴露群/非暴露群=32/43 (精液検査実施群：20/32)	有機リン酸系農薬 ethylparathion methamidophos	線形回帰分析 精子濃度：35.9/62.8 ($\times 10^6/ml$) p<0.01 運動率：47/57(%) p=0.03
Selevan, 2000	チェコ 暴露群/非暴露群=215/193 (精液検査実施群：154/118)	大気汚染の影響 PM10, PM-TSP, SO ₂ , NO _x , CO	精子濃度平均値 (中央値) 61.7(49.5)/60.6(39.0) ($\times 10^6/ml$)

著者・年	調査地域・対象	化学物質等	結果
Wang, 2001	中国 暴露群/非暴露群=68/130 対照（非暴露・非喫煙）：49 非暴露・喫煙：81 暴露・非喫煙：23 暴露・喫煙：45	石油化学物質 gasoline, styrene benzene, toluene xylene, acetic acid 他 および喫煙	精子濃度平均値（ $\times 10^6/ml$ ） 対照（非暴露・非喫煙）：60.07 非暴露・喫煙：55.32 暴露・非喫煙：52.52 暴露・喫煙：41.49* ($p<0.05$ 対照に対して)
Recio, 2001	メキシコ 農業従事者の健常男性9名	有機リン系農薬 （有機リン系代謝物： DMTP、DMDTP、DEP）	精子核染色体の異数性と有機リン系農薬暴露との関連： ヌル異数性頻度と尿中DEP濃度 農薬散布前 $\beta=0.13$, RR=1.28 農薬散布中 $\beta=0.53$, RR=2.59 *（年齢、飲酒、精子濃度で調整後のポアソン回帰分析による）
Hauser, 2002	アメリカ合衆国 男性不妊外来を受診した男性29名 精液所見：不良群/正常群=11/18 （精子濃度2000万/ml未満：3例 運動率50%未満：7例、未満：9 正常形態率4% 上記パラメータ2つ以上正常値未満：6）	PCBs	総PCB濃度： 運動率50%未満/正常群=242 \pm 34.0/202 \pm 16.6 ng/g fat p,p'-DDE濃度： 運動率50%未満/正常群=354 \pm 120/240 \pm 31.1 ng/g fat （少数例のため有意差検定なし）
Younglai, 2002	カナダ 体外受精を行った夫婦21組	女性の血液・卵胞液、男性の 精漿中の汚染物質	精漿中の汚染物質は比較的少く、最も高頻度に検出されたのは マイレックスで、7/21例で検出（256-1455pg/ml）。 妊娠例で全て検出されているので、関連は不明 （エンドスルホン、p,p'-DDE、PCB-99、PCB-138、PCB-153）

著者・年	調査地域・対象	化学物質等	結果
			PCB-138 以上、女性の血清中から検出) (ヘキサクロロ、1,2,4-トリクロロベンゼン、カドミウム、マイレックス ジエン、p,p'-DDE、PCB-49、PCB-153、PCB-180 PCB-138 以上、女性の卵胞液中から検出)
Dallinga, 2002	オランダ 不妊症夫婦の男性配偶者65名 MFS/FFS ¹ = 34/31 ¹ 精液所見不良群 ² 精液所見正常群 (女性因子不妊)	血中・精漿中の有機塩素化 合物： HCB、p,p'-DDT、PCB-118 PCB-153、PCB-138 PCB-180、総PCB PCB代謝物	両群間で有機塩素化合物濃度に有意差なし 年齢と血清中有機塩素系代謝物との間に正の相関 ($r^2 = -0.29$, $p = 0.001$) FFS群における血中有機塩素代謝物との相関関係 精子数 ($r^2 = -0.14$, $p = 0.04$) 前進性運動率 ($r^2 = -0.17$, $p = 0.02$)
Rozati, 2002	インド 症例/対照 ¹ = 21/32 ¹ 男性不妊外来受診者 ² 妊孕能の確認された男性	精漿中の有機塩素化合物 PCBs フタル酸エステル (PEs)	PCB濃度：症例/対照 = 0/7.63 PE濃度：症例/対照 = 0.06/2.03、 $p < 0.05$ PCB濃度との相関関係 (症例)： 精液量 ($r = -0.682$, $p < 0.001$) 前進製精子運動率 ($r = -0.477$, $p < 0.05$) 精子生存率 ($r = -0.791$, $p < 0.001$) PE濃度との相関関係 (症例) 精子正常形態率 ($r = -0.7692$, $p < 0.001$) 精子の単鎖DNA比率 ($r = -0.855$, $p < 0.001$)
Richthoff, 2003	スウェーデン 一般若年男性305名 ¹ (18-21歳) ¹ 徴兵前の健康調査対象者から募集	残存有機塩素化合物の 指標物質： 2,2',4,4',5,5'-ヘキサクロロビフェニル (CB-153)	CB-153暴露は、CASAで評価した精子運動性と血中の テストステロンSHBG比に対して弱い逆相関あり (それぞれ、 $r = -0.13$, $p = 0.02$, $r = -0.25$, $p < 0.001$)

著者・年	調査地域・対象	化学物質等	結果
Duty, 2003-1	アメリカ合衆国 男性不妊外来を受診した141名	尿中フタル酸代謝産物： MEP, MMP, MEHP, MBP, MB ₂ P, MOP, MINP, MCHP,	線形回帰分析の結果、MEP濃度とコメット法で検出した精子核DNA損傷パラメータとの間に関連あり： MEP濃度によって4分した場合、濃度増加分ごとにコメットが3.61 μm有意に進展し（95%CI, 0.74~6.47、p=0.015）、コメット尾の分布モーメントが1.2 μm増加した（95%CI, 0.05~2.387、境界有意） 他のフタル酸分解物濃度とコメットパラメータ間に関連なし
Fenster, 2003	アメリカ合衆国 妊娠女性の配偶者164名	トリハロメタン（THM）： 総THM（TTHM）として クロロホルム、ブロモホルム、 ブromoクロロメタン、 ジブromoクロロメタンを含む	トリハロメタン摂取量と精液所見との間の関連： 摂取量で3群化し、最も高いレベルと低いレベルを比較すると、精子正常形態率の差が-7.1（95%CI, -12.7~-1.6）
Smith, 2004	アメリカ合衆国 健康な男性40名 当該シーズンの農薬使用予定の有無によって2群化 暴露群/非暴露群=20/20	農薬： 除草剤、殺虫剤、防カビ剤 （実際の職業性農薬暴露の有無をアンケートで確認）	精子染色体の異数性出現率： 2群間に有意差なし
Dalvie, 2004	南アフリカ共和国 Malaria Control Center 近隣在住の ベディ語を話す労働者60名（精液検査を受けた人数は48名）	DDT	精液量、精子濃度、総精子数、運動率、正常形態率と血中のDDT濃度との間に有意な関連なし （平均総精子数：74.6±85.1million/ml 平均精子濃度：93.8±130.3million/ml）

著者・年	調査地域・対象	化学物質等	結果
Sanchez-Pena, 2004	メキシコ 農業共同体に属する男性33名 疫学調査参加者227名から無作為に 選別	有機リン系農薬 尿中ジアルキルチオリン酸 (DMDTP、DMTP、DEDTP、 DETP、DMP、DEP)	精子核DNA断片化率 (DFI)との関連： 尿中のDETP濃度との間に有意な相関 $\beta=0.477$ 、 $p=0.026$) 対象者の平均DFI%は58.48% (同地域の非暴露者では約9%) 対象者の45%が妊孕能低下とみなされるDFI30%以上
Kamijima, 2004	日本 暴露群/非暴露群=18/18 室内農薬散布従事者 学生または医師ボランティア	有機リン系農薬	暴露群と非暴露群間で有意差のある生殖機能の指標： 冬のテストステロン値 (689/470ng/dl、 $p<0.05$) 夏の遅い直進性運動率 (15.6/8.8%、 $p<0.05$) 夏の前直進性運動率 (5.9/2.5%、 $p<0.05$)。 その他の精液所見 (精液量、精子濃度、総精子数、精子生存 率、精子運動率) および血清中のFSH、LH濃度に有意差なし

表 2-1 1-5 内分泌かく乱化学物質と精子数に関するエコロジカル研究

著者・年	調査地域・対象	化学物質等	結果
Koifman, 2002	ブラジル (11都市) Brazilian National Health Data System のデータから抽出 (年齢20-59歳)	農薬： 殺虫剤、除草剤 防カビ剤、防ダニ剤 その他	1985年の農薬売上高と1990年代における生殖系疾患との間に関連あり： 不妊の疑いで精液検査を受けた比率と農薬売上高との間に有意な正の相関 $r=0.6(-0.01-0.88)$

2-12. 子宮内膜症

〔要旨〕

内分泌かく乱化学物質（ダイオキシンを除く）と、子宮内膜症に関する疫学研究の現状について、文献調査を行った。国立医学図書館の医学文献データベース PubMed を利用して選択した文献は2000年12月31日までに症例対照研究3件、横断面研究1件であった。2001年1月1日以降は症例対照研究1件、横断面研究研究1件が報告されていた。日本人を対象とした研究は1件もなかった。胎児期のDES暴露に関する断面研究が2件報告されており、暴露群は非暴露群よりも子宮内膜症の有病率が高い傾向にあった。DES以外の化合物に関して、病院ベースの小規模な症例対照研究が5件報告されていた。内膜症症例で、血清PCBレベルの上昇を認めるものと認めないものがあり、結果は不一致だった。現状では、疫学的知見はきわめて乏しく、化学物質と子宮内膜症との因果関係を適切に判断することは困難と思われた。

〔研究目的〕

PCB等の有機塩素系化合物の一部には、エストロゲン様作用があると考えられている。そのため、これらの物質が、女性の内分泌関連がん（乳がん・子宮体がん）や子宮内膜症の発生に関与する可能性が指摘されてきた。なかでも、ダイオキシンを混入させた食事をアカゲザルに与えたところ、用量反的に子宮内膜症の発生率が上昇したことを、1993年にRierらが報告して以来（Rier, 1993）、ダイオキシン等の化学物質とヒト子宮内膜症との関連が疑われてきた（Zeyneloglu, 1997）。有機塩素系化合物などの化学物質（ダイオキシンを除く）と、子宮内膜症に関する疫学研究の現状を把握する目的で、文献レビューを行った。

〔研究方法〕

米国立医学図書館の医学文献データベース PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi>) を用いて、"endometriosis AND (Insecticides OR Pesticides OR Chlorinated Hydrocarbons OR PCBs OR Bisphenol OR Phenol OR Phthalate OR Styrene OR Furan OR Organotin OR Diethylstilbestrol OR Ethinyl Estradioldioxins)のキーワードで、2004年10月31日までの文献を検索した。候補文献172件の中から、ヒト集団を対象とする疫学研究の原著論文を同定した。さらに、これらの原著論文や既存の総説に言及されている論文を選択した。

〔研究結果〕

1. 有機塩素系化合物

Gerhardら（1992）による報告は、症例28例と、病院対照441例を用いて、ドイツで行われた。PCB138、153、180の血清レベルが、対照より症例で有意に高かった。

Boydら（1995）の報告は、症例15例と対照15例を用いて米国で行われ、症例と対照で、ダイオキシン類、フラン類、PCB類のレベルに差を認めなかった。

Lebelら（1998）の報告は、症例86例と、腹腔鏡検査を行った病院対照70例を用いて、カナダで行われた。症例と対照で、各種化合物の血漿濃度にはすべて有意差がなく、オッズ比にもすべて有意差がなかった。

Pauwelsら（2001）によるベルギーでの、不妊症のため来院した女性での症例対照研究では、腹腔鏡で確診した症例と内膜症以外の原因での不妊症女性とにおいて血清中PCBのレベルに

差はみられなかった。

Heilierら(2004)によるベルギーでの横断面研究では、血清中PCBレベルは、腺筋症で高く、内膜症と対照で同程度のレベルであった。

2. Diethylstilbestrol

米国の不妊女性397例を対象としたStillmanらの報告では、胎児期のDES暴露歴がある女性における子宮内膜症の有病率は50% (10/20)で、暴露歴がない女性の有病率39% (146/377)よりも高かったが、有意差はなかった ($P>0.05$)。

一方、米国の不妊女性100例を対象としたBergerらの報告では、胎児期のDES暴露歴がある女性における子宮内膜症の有病率は64% (32/50)で、年齢をマッチさせた、暴露歴がない女性の有病率40% (20/50)よりも有意に高かった ($P<0.01$)。

3. 農薬

Garryら(2002)による米国の有資格農薬散布者での横断面研究では、その配偶者の有病率が都市居住者に比べて地方居住者で高いことが示されているが、農薬暴露との関連は不明である。

〔考察〕

内分泌かく乱化学物質と子宮内膜症についての疫学研究をレビューしたところ、比較的少数の研究が存在するのみであることが明らかになった。

胎児期のDES暴露に関する二つの断面研究では、非暴露群よりも暴露群で子宮内膜症の有病率が高い点で共通していたが、一方には統計的有意差がなかった。

DES以外の化学物質に関する研究は、2000年12月31日以前の文献では、症例でPCBレベルの上昇を認めるものと認めないものがあり不一致であった。2001年1月1日以降の文献では血清中PCBレベルは症例と対照で差がないという報告が1件あった。

以上のように、EDCと子宮内膜症との関連についての疫学研究の知見は、現状ではきわめて少なく、両者の因果関係を適切に評価するには不十分である。また、日本人での研究はなかった。この点について信頼性の高い研究デザインを用いた研究の必要性が示唆された。

〔結論〕

内分泌かく乱化学物質と、子宮内膜症についての疫学研究をレビューしたところ、現時点での実証的知見はきわめて乏しく、両者の因果関係を適切に評価することは困難であった。また、日本人での研究はなく、この点について信頼性の高い研究デザインを用いた研究の必要性が示唆された。

〔参考文献〕

Berger MJ, Alper MM. Intractable primary infertility in women exposed to diethylstilbestrol in utero. *J Repro Med* 1986;31:231-5.

Boyd J, Clark G, Walmer D, Patterson D, Needham L, Lucier G. Endometriosis and the environment: biomarkers of toxin exposure. *Endometriosis 2000*, Bethesda, MD, 1995.

Garry VF, Harkins M, Lyubimov A, Erickson L, Long L. Reproductive outcomes in the women of the Red River Valley of the north. I. The spouses of pesticide applicators: pregnancy loss, age at menarche, and exposures to pesticides. *J Toxicol Environ Health A*. 2002;65:769-86.

Gerhard I, Runnebaum G [The limits of hormone substitution in pollutant exposure and fertility disorders]. *Zentralbl Gynakol* 1992;114:593-602. (in German)

Lebel G, Dobin S, Ayotte P, Marcoux S, Ferron LA, Dewailly É. Organochlorine exposure and the risk of endometriosis. *Fertil Steril* 1998;69:221-8.

Pauwels A, Schepens PJ, D'Hooghe T, Delbeke L, Dhont M, Brouwer A, Weyler J. The risk of endometriosis and exposure to dioxins and polychlorinated biphenyls: a case-control study of infertile women. *Hum Reprod*. 2001;16:2050-5.

Rier SE, Martin DC, Bowman RE, Dmowski WP, Becker JL. Endometriosis in rhesus monkey (*Macaca mulatta*) following chronic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-dioxin. *Fundam Appl Toxicol* 1993;21:433-41.

Stillman RJ, Miller LRC. Diethylstilbestrol exposure in utero and endometriosis in infertile females. *Fertil Steril* 1984;41:369-72.

Zeyneloglu HB, Arici A, Olive DL. Environmental toxins and endometriosis. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 1997;24:307-29.

表 2-1 2-1 内分泌かく乱化学物質と子宮内膜症に関する症例対照研究

地域・対象者数	化合物等	血清での検出率		レベルの比較		P値	カテゴリ毎のオッズ比					P trend
		症例	対照	症例	対照		1.00	2	3	4	5	
Gerhard, 1992 ドイツ 症例28 対照441	PCBs Chlorinated pesticides			PCB 138, 153, 180の血清レベルが、症例で有意に高い。								
Boyd, 1995 米国 症例15 対照15	Dioxins Furans PCBs			関連なし								
Lebel, 1998 カナダ 症例86 対照70				血清平均値 (mcg/g lipid) ²⁾								
	PCB28			2.2	2.2	NS						
	PCB52			2.3	2.1	NS						
	PCB99			8.3	7.5	NS						
	PCB101			2.7	2.5	NS						
	PCB105			2.0	1.9	NS						
	PCB118			8.3	8.5	NS						
	PCB138			23.0	22.1	NS						
	PCB153			30.7	29.7	NS						
	PCB156			4.2	4.3	NS						
	PCB170			6.4	6.3	NS						
	PCB170			18.3	17.8	NS						
	PCB183			2.3	2.1	NS						
	PCB187			6.5	6.4	NS						
	Beta-HCH			13.4	11.6	NS						
	HCB			16.9	16.9	NS						
	Mirex			3.4	3.1	NS						
	Oxychlordane			6.7	6.9	NS						
	Trans-nonachlor			9.9	9.9	NS						
	p,p'-DDE			227.4	218.2	NS						
	p,p'-DDT			9.2	9.1	NS						
	Total PCB ³⁾			123.5	119.3	NS						
	Total chlordane ⁴⁾			22.4	22.3	NS						
	Total DDT ⁵⁾			238.2	229.0	NS						
Pauwels, 2001 ベルギー 1996-1998 病院ベース 不妊症のため来院した女性 症例42(25~42歳) (腹腔鏡で確診) 対照27(24~41歳)	TEQ ⁶⁾ PCB118 PCB138 PCB153 PCB180	34/42 40/42 40/42 40/42 39/42	24/27 25/27 24/27 25/27 25/27	血清中央値 (pg TEQ/g脂肪)								
				29	27	NS						
				26	21	NS						
				69	59	NS						
				89	78	NS						
				68	55	NS						

1) オッズ比 (95%信頼区間) =7.6(0.87-169.7)。

2) 多変量オッズ比はすべて有意差なし。

3) PCB 28, 52, 99, 101, 105, 118, 128, 138, 153, 156, 170, 180, 183, 187の合計。

4) alfa-chlordane, gamma-chlordane, trans-nonachlor, oxychlordane, cis-nonachlorの合計。

5) p,p'-DDE, p,p'-DDTの合計。

6) CALUXバイオアッセイによる。

表2-1 2-2 内分泌かく乱化学物質と子宮内膜症に関する横断面研究

地域・対象者数	化合物等	曝露等	有病率	P値
Garry, 2002 米國 Red River Valleyの5地域 有資格農薬散布者3000名 から無作為抽出した1340名 のうち1070名の男性。 既婚者851名のうちの 802名の配偶者(女性)。	農薬	居住地 地方 都市	32/332 (9.6%) 9/125 (7.2%)	(記載なし)
Heilier, 2004 ベルギー ひとつの病院? 腺筋症10名 内膜症(中程度以下)7名 対照10名 11種の血清PCBを分析	PCB11種	血清中レベル (ng/g脂肪) 1) 腺筋症: 約325 内膜症(中程度以下): 約200 対照: 約200		

1) グラフより読み取った値。