

Environment Research and Technology Development Fund

環境研究総合推進費 終了研究成果報告書

乳幼児のアレルギー症に対するパラベン・トリクロサン等の

抗菌性物質の曝露・影響評価

(5-1654)

平成28年度～平成30年度

Assessment of the Exposure and Effects of Antibacterial Substances such as Paraben and Triclosan on Allergy in Infants

〈研究代表機関〉

金沢大学

〈研究分担機関〉

国立研究開発法人 国立成育医療研究センター
株式会社新日本科学 薬物代謝分析センター
松本大学

〈研究協力機関〉

独立行政法人国立病院機構 相模原病院

2019年5月

目次

I. 成果の概要	1
1. はじめに（研究背景等）	
2. 研究開発目的	
3. 研究開発の方法	
4. 結果及び考察	
5. 本研究により得られた主な成果	
6. 研究成果の主な発表状況	
7. 研究者略歴	
II. 成果の詳細	
II-1 アレルギー疾患に関するパラベン・トリクロサン等の抗菌性化学物質の住民疫学 （国立大学法人 金沢大学）	9
要旨	
1. はじめに	
2. 研究開発目的	
3. 研究開発方法	
4. 結果及び考察	
5. 本研究により得られた成果	
6. 国際共同研究等の状況	
7. 研究成果の発表状況	
8. 引用文献	
II-2 アレルギー疾患に関するパラベン・トリクロサン等の抗菌性化学物質の臨床疫学 （実施機関：国立研究開発法人 国立成育医療研究センター）	23
要旨	
1. はじめに	
2. 研究開発目的	
3. 研究開発方法	
4. 結果及び考察	
5. 本研究により得られた成果	
6. 国際共同研究等の状況	
7. 研究成果の発表状況	
8. 引用文献	
II-3 尿中パラベン、トリクロサン濃度測定とその妥当性の検証に関する研究 （株式会社新日本科学 薬物代謝分析センター）	37
要旨	
1. はじめに	
2. 研究開発目的	
3. 研究開発方法	

4. 結果及び考察
5. 本研究により得られた成果
6. 国際共同研究等の状況
7. 研究成果の発表状況
8. 引用文献

II-4 動物実験によるパラベン・トリクロサン等の抗菌性物質のアレルギー発症に
おける病理免疫学的機序解明 (学校法人松商学園 松本大学)

..... 41

要旨

1. はじめに
2. 研究開発目的
3. 研究開発方法
4. 結果及び考察
5. 本研究により得られた成果
6. 国際共同研究等の状況
7. 研究成果の発表状況
8. 引用文献

III. 英文Abstract

..... 51

I. 成果の概要

課題名 5-1654 乳幼児のアレルギー症に対するパラベン・トリクロサン等の抗菌性物質の
曝露・影響評価
課題代表者名 中村 裕之(金沢大学医薬保健研究域医学系環境生態医学・公衆衛生学分野 教授)
研究実施期間 平成28～30年度
累計予算額 125,835千円
(うち平成28年度:42,065千円、平成29年度:42,965千円、平成30年度:40,805千円)
累計予算額は、間接経費を含む。

本研究のキーワード アレルギー、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、気管支喘息、抗菌性物質、防腐剤、パラベン、トリクロサン、疫学

研究体制

- (1)アレルギー疾患に関するパラベン・トリクロサン等の抗菌性化学物質の住民疫学
(国立大学法人 金沢大学)
- (2)アレルギー疾患に関するパラベン・トリクロサン等の抗菌性化学物質の臨床疫学
(国立成育医療研究センター)
- (3)尿中パラベン、トリクロサン濃度測定とその妥当性の検証に関する研究
(株式会社新日本科学 薬物代謝分析センター)
- (4)動物実験によるパラベン・トリクロサン等の抗菌性物質のアレルギー発症における病理免疫学的機序解明(学校法人松商学園 松本大学)

研究協力機関

独立行政法人国立病院機構 相模原病院

1. はじめに(研究背景等)

日用品に頻用される防腐剤としてのパラベンや抗菌剤としてのトリクロサンは歯磨き粉や石鹸、化粧品、シャンプーなどで使用される化学物質で、以前よりその環境への影響や内分泌攪乱作用によるヒトへの影響が懸念されてきたが、それらを検証した研究はこれまで充分には存在しなかった。最近になって、これらの物質への曝露がアレルギー疾患の危険因子である可能性を示す研究報告が欧米から散見されるようになってきている。米国、ノルウェーの一般の小児を対象にした複数の疫学研究で、トリクロサン・パラベンの尿中濃度と、吸入性アレルギー感作、食物アレルギー感作、アレルギー性鼻炎との関係が示された。米国の研究では男児における尿中のパラベンの濃度と吸入性アレルギー感作が関連することも示されている。さらに、喘息のマウスモデルでトリクロサンがアレルギー感作におけるアジュバント作用を示すことも報告されている。また、米国の喘息患者を対象にした調査では、尿中のトリクロサン濃度が高いほど、喘息発作が多かったという報告がある。これらの殺菌剤や防腐剤への慢性的な曝露が、皮膚、腸管の細菌叢に影響を与えることによって、アレルギー性疾患リスクに関与しているのではないかと推測されている。しかしながら、これらの研究においては曝露経路や曝露量との関係が示されていないばかりか、曝露指標となるトリクロサン・パラベンの尿中濃度の測定法の妥当性にも大きな問題があることも指摘されており、曝露とアレルギー疾患との因果関係には不明な点が多々ある。本邦でもトリクロサンは一部の市販のハンドソープや歯磨き粉などに、パラベンは化粧品やシャンプーなど幅広い日用品に使用されているため、トリクロサンやパラベンといった化学物質曝露がアレルギー疾患発症と増悪に関連する可能性があるかどうかを明らかにすることは環境からの健康への影響を考える上での喫緊の課題である。

2. 研究開発目的

多くの国でこの半世紀で、アレルギー性疾患の有病率の経年的な増加を認めている。この増加の原因として、以前より衛生仮説という考え方が提唱されている。すなわち環境が綺麗になりすぎたためにアレルギー性疾患が増えているという仮説である。その仮説の根拠となる研究報告として、従来から、兄弟が少なく感染症に罹患する機会が少ないこと、環境からのエンドトキシン(細菌の細胞壁に存在するリポ多糖)曝露が少ないこととアレルギー疾患リスクの増加との関係などが示されてきた。一方、近年の遺伝子工学技術の進歩により、環境や生体常在菌の細菌環境が比較的容易に調べられる(マイクロバイーム解析)ようになり、環境や生体常在菌の細菌環境の変容とアレルギー疾患リスクの関係が指摘されるようになってきた。環境や腸内の細菌学的多様性の消失とアレルギー疾患リスクの関係が報告されている。最近になってこの衛生仮説が、新たな側面からも解釈されるようになりつつある。

乳幼児・小児を対象にした複数の疫学研究により、日用品に頻用される防腐剤としてのパラベン類や抗菌剤としてのトリクロサンの使用はアレルギー性疾患の増加と関係することが指摘されているが、明確な因果関係はまだ不明である。トリクロサンについては、平成28年9月2日に米国食品医薬品局(FDA)が、トリクロサン等19成分を含有する抗菌石けんの販売停止措置を受け、本邦においても厚生労働省が同様の措置を実施したため、トリクロサンに関しては一応の解決をみた。そのため本研究の目的は、住民疫学および病院疫学を通して、パラベン類を中心として使用実態を調査し、さらにパラベンの曝露を、これまで以上に妥当性、信頼性の高い尿中化学物質濃度の測定などによって評価する。一方、健康影響としてのアレルギー疾患の有症、発症、増悪を評価するによってアレルギー症のリスクを疫学的に評価することである。また動物実験を通してその影響における病理・免疫学的機序を解明することも実施する。以上のリスク評価を通してパラベン類の曝露指標あるいは影響指標を同定し、新しい予防法を開発することが本研究の目的である。

3. 研究開発の方法

(1)アレルギー疾患に関するパラベン・トリクロサン等の抗菌性化学物質の住民疫学

1) 乳幼児疫学研究

①対象

対象は石川県志賀町(人口約、20,000人)で実施する毎月の4か月児健診、1歳6か月児健診、3歳児健診の受診者のうち、本研究に対する同意の得られた児で、その対象数は236人であった。医師による症状と所見からアトピー性皮膚炎、食物アレルギー、気管支喘息、アレルギー性鼻炎、アレルギー性結膜炎を診断した。

②方法

パラベン含有の外用薬やパラベン類やトリクロサン含有の日用品の使用実態についての調査は、次の方法によった。受診登録時に受診者の保護者に調査票を配布する。受診者の保護者は質問票を自宅に持ち帰り、自宅にて外用薬や日用品使用状況を詳細に調査票に記入する。記入日は尿試料を採取する前日とする。受診者の保護者は健診受診会場への尿試料とともに調査票を持参する。参加者の尿中パラベン類・トリクロサン濃度を測定については次の手続きによった。早朝尿2mL以上(解析に必要な最小尿量100-200 μ L)を採尿コップあるいは尿バックで採取したのち、ポリプロピレン製チューブに入れて、常温のまま採尿後12時間以内に健診会場に検体を持参する。尿試料は、ラボ(SRL)にてパラベン類・トリクロサン測定用の尿試料(1ml)とクレアチニン測定用(1ml)に分注する。パラベン類・トリクロサン測定用の尿試料は-20 $^{\circ}$ Cで保存し、株式会社新日本科学へ検体を凍結輸送する。株式会社新日本科学が輸送された尿試料を用いて、尿中パラベン類・トリクロサン濃度を測定する。SRLは尿中クレアチニンを測定する。パラベン類・トリクロサンの尿中濃度は、尿中クレアチニン濃度で補正する。

③倫理

本研究は、金沢大学医学倫理委員会において承認を受け実施された。

2) 成人疫学研究

①対象と方法

対象は石川県志賀町のモデル地区の志賀町のモデル地区(土田、富来)における40歳以上の全住民を2801人に対して、記式質問紙法を用いて調査した。調査票が回収でき、さらにその回答が有効と認められたのは

2014人であり(有効回答;回答率, 71.9%; 平均年齢±標準偏差、64.7±12.9才)、これを調査対象とした。調査項目は、パラベン含有の外用薬やパラベン類やトリクロサン含有の日用品の使用実態、アレルギー疾患(アトピー性皮膚炎、食物アレルギー、気管支喘息、アレルギー性鼻炎、アレルギー性結膜炎)、生活習慣(喫煙、飲酒、運動や一般的な食習慣)とし、さらにBDHQによる栄養調査を実施した。

②倫理

本研究は、金沢大学医学倫理委員会において承認を受け実施された。

(2)アレルギー疾患に関するパラベン・トリクロサン等の抗菌性化学物質の臨床疫学

1) パラベン類・トリクロサン曝露とアレルギー疾患に関する実態調査パイロット研究

国立成育医療研究センターのアレルギー科に通院中であるアレルギー疾患患者とその家族、当院職員等とその家族、合計240名を研究対象とした。アレルギー疾患群は、アトピー性皮膚炎、食物アレルギー、気管支喘息、アレルギー性鼻炎、アレルギー性結膜炎の明らかな既往が1年以内にあるものとした。年齢構成は、2歳未満の乳児、未就学児、小学生、中学生から19歳、20歳以上の年齢カテゴリーに分け、19歳以下まではカテゴリー毎にアレルギーあり20名/なし20名、20歳以上は各々40名を目標に登録した。登録時に年齢に応じた調査票を配布し、参加者は3日間使用した外用薬や日用品使用状況を調査票に記入し、翌日の早朝尿を採取し持参する。その尿検体を新日本科学に郵送し、尿中パラベン類・トリクロサン濃度の分布を測定した。調査票は、使用した外用剤や日用品をリスト化し記述統計を行った。

2) 中学生とその母親におけるパラベン類・トリクロサン曝露とアレルギー疾患・アレルギー検査値との関連

成育コホート研究(成育医療の長期追跡データの構築と活用に関する研究「成育コホート研究における9歳健診での血液検査・13歳健診」)に参加する児と、その母親、計約500名を対象とした。

登録時に年齢に応じた調査票を配布し、参加者は3日間使用した外用薬や日用品使用状況を調査票に記入し、翌日の早朝尿を採取し持参する。その尿検体を新日本科学に郵送し、尿中パラベン類・トリクロサン濃度の分布を測定した。測定された数値は尿中クレアチニン濃度で補正した。また成育コホート研究で得られた血液検査やFeNO検査の結果を利用し、その関連について解析した。

3) 妊婦と出生児のパラベン類・トリクロサンを含有する日用品の使用実態と曝露評価

本人もしくは配偶者もしくは児にアトピー性皮膚炎の既往をもつ者が1人以上いる妊婦、計120名を研究対象とした。妊娠時の登録時に調査票を配布し、参加者は3日間使用した外用薬や日用品使用状況を調査票に記入し、翌日の早朝尿を採取し持参する。その尿検体を新日本科学に郵送し、尿中パラベン類・トリクロサン濃度の分布を測定した。測定された数値は尿中クレアチニン濃度で補正した。また、出産後6か月後に出生児に関する調査票を配布し、アレルギー疾患について調査した。

(3)尿中パラベン、トリクロサン濃度測定とその妥当性の検証に関する研究

標準品を用いて尿中パラベン・トリクロサン濃度測定に関してLC-MS/MS法を確立した。測定には島津製作所製HPLC Shimadzu20A及びAB Sciex社製質量分析装置API5000を用いた。検量線資料には超純水用いて、ヒト尿に関しては超純水にて10倍希釈して測定を行った。HPLC分析カラムはShimpack XR-ODS II(2.0 mm I.D. × 75 mm, 2.2 μm, Shimadzu GLC Ltd.)を、ガードカラムにはSecurityGuard Ultra C18(2.1 mm I.D., Shimadzu GLC Ltd.)を用いた。移動相A(0.1%ギ酸溶液)及び移動相B(0.1%ギ酸含有アセトニトリル)のグラジエント法を用いた。MS条件としてはパラベン類はPositive modeで、トリクロサンはNegative modeで測定した。モニタイオンはメチルパラベン(Q1:153, Q3:121)、エチルパラベン(Q1:167, Q3:139)、イソプロピルパラベン、プロピルパラベン(Q1:181, Q3:139)イソブチルパラベン及びブチルパラベン(Q1:195, Q3:139)ベンジルパラベン(Q1:229, Q3:91)トリクロサン(Q1:287, Q3:35)とした。

また、上記条件にて、事務系職成人14人(平均年齢±標準偏差、40.6 ± 9.71, 男7名、女7名)に対し、7日間のランダムな6ポイントでの採尿を実施した。尿中クレアチニンgあたりの絶対値で評価し、個人差を考慮した2元配置分散分析による日内変動を解析した。

(4)動物実験によるパラベン・トリクロサン等の抗菌性物質のアレルギー発症における病理免疫学的機序解明

BALB/c 5週齢 オスに対してダニ抗原感作期間中(気管内投与8回、4週間)、一日あたり0.1~50ミリグラムのトリクロサン含有エサを給餌後(パラベンでは4-Hydroxybenzoateを0.01-0.3ミリグラム)、気道抵抗性、ダニ抗原(Der f)特異的IgE (Derf-IgE)、肺包洗浄液中(BALF)の炎症細胞数やサイトカイン濃度測定(IL-4、IL-13)、肺病理標本観察をおこなった。また、盲腸内容物を採取し腸内細菌叢および腐敗物・有機酸濃度の解析をおこなった。データ解析は抗菌剤非投与群との比較をOne-way ANOVAで行った。

4. 結果及び考察

(1) アレルギー疾患に関するパラベン・トリクロサン等の抗菌性化学物質の住民疫学

石川県志賀町における2017年1月-2019年3月までの0歳4ヶ月健診(77人)、1歳児半健診(60人)、3歳児健診(99人)受診者、計236人(男、122人;女、114人)を対象にパラベン曝露とアレルギー症との関係について解析した。パラベン曝露は尿中パラベン濃度を指標とした。食物アレルギー4人、気管支喘息21人、アトピー性皮膚炎31人、鼻アレルギー4人であった。またトリクロサンの使用者は8人(3.4%)、パラベンの使用者は82人(34.7%)であった。尿中パラベン濃度が100 pmol/Cr以上を有する児を高パラベン濃度児としたとき、61人が高パラベン濃度児に該当し、175人が低パラベン濃度児であった。高パラベン濃度児でアトピー性皮膚炎を示した児は18人(29.5%)で低パラベン濃度児でのアトピー性皮膚炎を示した児13人(7.4%)に比べて、有意に高い有病率を示した(χ^2 検定、 $p<0.001$)。気管支喘息における有病率には有意な差はなかった。また食物アレルギー、気管支喘息、アトピー性皮膚炎、鼻アレルギー、アレルギー性眼結膜炎のいずれかのアレルギーを有する人については、高パラベン濃度児の22人(36.1%)は低パラベン濃度児の36人(20.6%)に比べ、有意に高かった(同、 $p=0.016$)。以上の結果から、パラベン類の使用とアレルギー疾患、特にアトピー性皮膚炎との有意な関係が窺い知れた。また0歳4ヶ月健診(77人)受診児のうち、アレルギー症を有していなかった61人を14か月、追跡調査した結果、0歳4ヶ月健診での高パラベン濃度児12人のうち、4人(33.3%;アトピー性皮膚炎、2人;喘息、2人)が発症し、低パラベン濃度児49人から4人(8.2%;アトピー性皮膚炎、2人;喘息、2人)が発症した。この関係は χ^2 検定にて有意であった($p=0.021$)ことから、パラベン曝露とアレルギー症発症には因果関係の存在が疑われた。

また成人疫学研究では、トリクロサンの使用者は9人(0.4%)、パラベンの使用者は564人(28.0%)であった。パラベン類の使用の有無により、気管支喘息、アトピー性皮膚炎、鼻アレルギーおよびアレルギー全体を比較したところ、パラベン類を使用する鼻アレルギーの女性の有症率22.8%は使用しないその12.8%に比べ、有意に高かった($p<0.001$, χ^2 検定)が、男性においては有意な差は認められなかった。男女全体での鼻アレルギーでの有症率においてもパラベンの使用の有無によって有意な差が確認できた($p<0.001$, χ^2 検定)。また同様の結果はアレルギー全体で見た場合においても認められた。女性のパラベン類の使用者がより高い鼻アレルギーの有症率を示していたという成人の疫学研究と乳幼児疫学を考え合わせると、概して小児ではアレルギー疾患は男児に多いが、成人では女性の方が有病率が高く、また重症であることは、成人では化粧品やローションなどの日用品、乳幼児では保湿剤などの外用剤に含まれる抗菌剤・防腐剤成分であるパラベン類に対する曝露は、アレルギー症におけるリスクであることが窺い知れた。

(2) アレルギー疾患に関するパラベン・トリクロサン等の抗菌性化学物質の臨床疫学

パラベン類・トリクロサン含有日用品の使用実態とパラベン類・TCS曝露とアレルギー疾患・FeNO値・IgE抗体価との関連について検証した。対象と方法は、国立成育医療研究センターに通院中の患者、職員、その家族、成育コホートに参加している中学生やその母親、妊娠中の妊婦およびその生まれてくる生後6か月の乳児を対象とした。尿中パラベン類・トリクロサン濃度を測定し、採尿日から過去3日間に使用したパラベン類・TCS含有品について質問票で調査した。アレルギー疾患の評価はISAACを使用した。成育コホート参加中の中学生に対しては、FeNO測定、IgE感作を評価した。調査結果は、パラベン類を含む日用品の使用率は小児で84.8%だった。パラベン類の使用率は、1年以内のアトピー性皮膚炎と正の関連があった。(調整オッズ比、4.61; 95%信頼区間、1.23-17.3)。尿中パラベン類濃度は、1年以内のアトピー性皮膚炎患者で有意に増加していた($p<0.0001$)。15歳以下では、尿中トリクロサン濃度はすべての小児で検出限界以下だった。成育コホートの中学生においては、パラベン類・トリクロサン曝露と呼気NO濃度上昇(NO20以上)とIgE感作には明らかな関連は認

められなかった。また、生後6か月時までに喘鳴の既往がある乳児は既往のない乳児と比較して、妊娠中の母親の尿中パラベン濃度が有意に高かった。尿中パラベン類濃度は小児アトピー性皮膚炎と関連を認め、妊娠中にパラベン濃度が高いと生まれてくる乳児の喘鳴に影響する可能性が示唆された。パラベン類曝露について注意を払う必要があると考えられた。一方、トリクロサンは小児においては尿中から検出されず、トリクロサン曝露がほとんどないと示唆された。

(3) 尿中パラベン、トリクロサン濃度測定とその妥当性の検証に関する研究

各化合物(エチルパラベン、メチルパラベン、ベンジルパラベン、イソブチルパラベン、ブチルパラベン、イソプロピルパラベン、プロピルパラベン、トリクロサン)で5ng/mL~5000ng/mLの範囲において良好な直線性・再現性が得られた。検量線はピーク面積を用いた最小二乗法(重み付け:1/X²)にて算出した。またマウスに経口投与した際の尿中濃度を測定し、投与サンプルに於いて濃度が検出し、分析法に関してその妥当性が検証された。その結果、MS/MSシステムとHPLCシステムを用い、パラベン及びパラベン類の高感度測定のための測定条件が確立された。すべての被検者の尿においてトリクロサンは検出されなかった。尿中パラベンでは被験者内の有意な日内変動が認められた。特に、昼食前には最大値を記録し、有意な上昇であった。しかし、午後になると低下することが認められた。女性の方が有意に尿中パラベン濃度が高いことが認められたが、特にピーク時である昼食前の女性の値64.7 ±91.4 pmol/Crは男性の6.54 ±7.21 pmol/Crに比べ、約10倍の値を呈した。就業前の化粧品等の外用品あるいは石鹸、シャンプーの使用などからの曝露が疑われ、尿中排泄は数時間単位で起こっている可能性が高いことが窺い知れた。摂食の影響は少ないと考えられた。パラベン類の内訳はメチルパラベン、プロピルパラベンであり、若干エチルが見られた。文献上細胞毒性が強いとされているブチルパラベンは全ての試料で定量下限以下であった。以上より、尿中パラベン類の評価には日内変動を考慮する必要があることがわかった。

(4) 動物実験によるパラベン・トリクロサン等の抗菌性物質のアレルギー発症における病理免疫学的機序解明

ダニアレルゲン吸入かつトリクロサン投与した群では、明らかに喘息の特徴である、気道抵抗性、ダニ抗原特異的IgE抗体の上昇、BALF好酸球数の増加、肺組織のPAS陽性細胞数増加や線維化、好酸球浸潤がダニアレルゲン吸入のみ群と比較して顕著に認められた。したがってアレルゲン感作マウスでは、トリクロサンの曝露によりアレルギー性喘息様反応を呈することが判明した。腸内細菌叢や腐敗物・有機酸の変化では、ダニ抗原とトリクロサンの両方を与えたマウスではデルタプロテオバクテリア綱、クロストリジウム綱およびエリユシペロトリクス綱の細菌がトリクロサン用量依存的に増加したのに対し、バクテロイデス綱は減少した。さらにToll Like Receptor (TLR)2 ノックアウトマウスではトリクロサン曝露下においてはダニ抗原とトリクロサンの両方を与えても喘息用免疫反応は認められなかった。パラベンについても結果はトリクロサンとほぼ同様な結果であった。

以上より、本実験は動物実験であるので、この結果をそのまま人間に当てはめることはできないが、アレルゲン感作状態の人(アレルギーに罹りやすい人)が抗菌剤や防腐剤を使い続けると、日常的に吸入しているダニやハウスダストなどとの組み合わせにより、アレルギー症状がより悪化するだろうという可能性が示された。その理由として、抗菌剤による腸内細菌のバランスの乱れからくるアレルギー抑制する免疫細胞の減少が可能性として考えられた。

5. 本研究により得られた主な成果

(1) 科学的意義

1)これまでパラベンに対する曝露指標に対する十分な検証が行われてこなかったが、尿を用いたMS/MSシステムとHPLCシステムによって、パラベン及びパラベン類の高感度測定のための測定条件を確立し、パラベン類としての曝露指標を開発した。

2)これまで尿中パラベン類の日内変動にはほとんど言及されてこなかったが、本研究により、尿中パラベンでは被験者内の有意な日内変動が認められ、特、昼食前には最大値を記録し、有意な上昇であることを認め、今後、尿中パラベン類の評価には日内変動を考慮する必要があることがわかった。

3) 乳幼児におけるパラベン類とアレルギー症との関係では、保湿剤などの外用剤に含まれる抗菌剤・防腐剤成分であるパラベン類の使用とアレルギー疾患、特にアトピー性皮膚炎との有意な関係が横断的な研究だけでなく、縦断的な研究でも世界で初めて確認され、パラベン類曝露とアレルギー症との因果関係を示唆するものであった。

4) 成人におけるパラベン類とアレルギー症との関係を示した疫学研究は、国内外では初めてであり、化粧品やローションなどの日用品に含まれるパラベン類の曝露が、鼻アレルギー症を発症することが示唆された。

5) 生後6か月時までに喘鳴の既往がある乳児は既往のない乳児と比較して、妊娠中の母親の尿中パラベン濃度が有意に高かったという本結果は、妊娠を通して評価した世界で初めての縦断的な結果であり、パラベン類曝露とアレルギー症との因果関係を示したものであった。

6) トリクロサン摂取マウスの腸内細菌はclostridiaの割合がトリクロサンの濃度依存的に増えており、トリクロサン投与により腸内細菌バランスが崩れ腸内の制御性T細胞数増加が抑制された可能性を動物実験で初めて証明した。パラベン類においてもほぼ同様の結果を得ており、腸内細菌叢を通じてのパラベン類とトリクロサンによるアレルギー発症のメカニズムの解明は国内外で初めてである。

7) 以上より、アレルギー発症に対するハイリスク指標としては、パラベン使用歴、特に石鹼、シャンプー、化粧品、保湿剤(外用剤)の使用と尿中パラベン濃度を併せて評価することが提言される。

8) 以上より、石鹼、シャンプー、化粧品、保湿剤(外用剤)などのパラベンを含有する日用品に含まれるパラベン類の曝露とアレルギー症との因果関係はほぼ確立された。

(2) 環境政策への貢献

1) 成人における住民疫学研究において、パラベンの使用とアレルギー症との関係を示唆する所見が得られた。石鹼、シャンプー、化粧品、保湿剤(外用剤)などのパラベンを含有する日用品を使用するに際してはその頻度を低減することによるアレルギー症発症を抑制する必要があると考えられた。

2) 乳幼児における疫学研究では、パラベンの使用とアトピー性皮膚炎あるいは喘鳴との関係が横断的な研究だけでなく、縦断的な研究によっても証明され、パラベン類とアレルギー症との因果関係はほぼ確定されたため、パラベン類の使用を最小限に留めるための環境政策を実施する必要があると考えられた。

3) 2016年9月以降、トリクロサン含有商品の販売が差し控えられたにも関わらず、トリクロサン含有の薬用石鹼などが使用されていた。動物実験や諸疫学研究によりトリクロサンは明らかにアレルギーを引き起こすことが明確であることから、トリクロサンの使用を差し控えることが必要である。

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

<行政が活用することが見込まれる成果>

疫学研究によって、パラベン類とアレルギー症との因果関係はほぼ確定されたため、パラベン類の使用を最小限に留めるための環境政策を実施する必要があることを、今後、NGO/NPO・企業環境政策としての提言や、化学物質評価専門委員会に対する提言としたい。

6. 研究成果の主な発表状況

(1) 主な誌上発表

<査読付き論文>

- 1) Mitsui-Iwama M, Yamamoto-Hanada K, Fukutomi Y, Hirota R, Muto G, Nakamura T, Yoshikawa T, Nakamura H, Mikami M, Morioka I, Ohya Y.
Exposure to paraben and triclosan and allergic diseases in Tokyo: A pilot cross-sectional study.
Asia Pacific Allergy. 2019 Jan 21;9(1):e5.

(2) 主な口頭発表(学会等)

- 1) 山本貴和子、大矢幸弘
小児におけるパラベン類とアレルギーに関する病院疫学研究.
シンポジウム「生活用品中のパラベン類によるアレルギー性疾患発症に関する総合的研」
第88回日本衛生学会学術総会 2018. 3.22 東京
- 2) 中村 剛
尿中パラベン、トリクロサン濃度測定とその妥当性の検証に関する研究.
シンポジウム「生活用品中のパラベン類によるアレルギー性疾患発症に関する総合的研究」
第88回日本衛生学会学術総会 2018. 3.22 東京
- 3) 中村裕之
パラベン類使用とアレルギー性疾患の関係に関する成人の疫学.
シンポジウム「生活用品中のパラベン類によるアレルギー性疾患発症に関する総合的研究」
第88回日本衛生学会学術総会 2018. 3.22 東京
- 4) 弘田量二
アレルギー感受したモデルマウスにおいて、トリクロサンやパラベンを曝露するとアレルギー反応が増強されるだろうか？
シンポジウム「生活用品中のパラベン類によるアレルギー性疾患発症に関する総合的研究」
第88回日本衛生学会学術総会 2018. 3.22 東京
- 5) Nakamura Hiroyuki
Exposure to antibacterial agents affecting allergy and child development including ASD.
Symposium “Environment and Health: New Technologies to Old Dilemmas Scientific Summit Italy-Japan”
March 24th, 2017, Trento University, Italy.

7. 研究者略歴

研究代表者：中村 裕之

1985年3月 金沢大学医学部医学科卒業、1988年5月-89年2月 ドイツ連邦共和国マインツ大学に留学、
1989年3月 金沢大学大学院医学研究科(社会医学系公衆衛生学専攻)修了(医学博士)、1990年10月 金沢大学助手(医学部公衆衛生学)、1992年7月 同講師、1993年1月 同助教授、2003年4月 高知医科大学教授(医学部医学科環境医学)、2007年1月 金沢大学教授(大学院医学系研究科環境生態医学・公衆衛生学)、金沢大学環境保全センター長、金沢大学学長補佐を歴任後、2016年4月より金沢大学大学院先進予防医学研究科長、同先進予防医学研究センター長、千葉大学・金沢大学・長崎大学先進予防共同大学院連絡協議会議長、2018年4月より金沢大学医薬保健研究域長・学域長

研究分担者：

1) 大矢 幸弘

1985年名古屋大学医学部卒業、1985年半田市立半田病院研修医、1986年名古屋大学医学部付属病院小児科医員、1991年国立名古屋病院小児科医員、1995年国立小児病院アレルギー科医員、1997年～2001年ロンドン大学聖ジョージ医学校公衆衛生科学部研究員併任、2002年国立成育医療センターアレルギー科医長に就任、現在、国立研究開発法人国立成育医療研究センター生体防御系内科部アレルギー科

2) 中村 剛

1997年株式会社新日本科学入社後、薬物濃度分析、薬物動態業務に従事、2006年高知大学大学院医学系研究科修士課程修了、2016年金沢大学大学院医学系研究科博士課程修了、現在(株)新日本科学 営業統括部 第二営業部次長 兼 薬物代謝分析センター

3) 弘田 量二

1990年東京農業大学大学院農学専攻修了(農学修士)、2004年博士(医学)取得、株式会社エスアールエルなどを経て2005年高知大学医学部助手、2013年高知大学医学部講師、2018年より松本大学大学院

健康科学研究科教授

研究協力者：

1) 福富 友馬

2004年3月 広島大学医学部医学科卒業、2004年5月 初期臨床研修(沖縄県立北部病院)、2006年4月 国立病院機構相模原病院アレルギー科 後期研修医、2009年5月 国立病院機構相模原病院臨床研究センター 研究員、2012年7月より国立病院機構相模原病院臨床研究センター 診断・治療薬開発研究室室長、2012年9月金沢大学大学院医学系研究科博士課程修了、2014年より順天堂大学連携大学院 客員准教授 併任

II. 成果の詳細

II-1. アレルギー疾患に関するパラベン・トリクロサン等の抗菌性化学物質の住民疫学

研究代表者 国立大学法人 金沢大学医薬保健研究域医学系環境生態医学・公衆衛生学 中村裕之
研究分担者 同 神林康弘

平成28～30年度累計予算額：81,713千円

(うち平成28年度：27,091千円、平成29年度：28,014千円、平成30年度：26,606千円)

累計予算額は、間接経費を含む。

[要旨]

乳幼児・小児を対象にした複数の疫学研究により、日用品に頻用される防腐剤としてのパラベン類や抗菌剤としてのトリクロサンの使用はアレルギー性疾患の増加と関係することが指摘されているが、明確な因果関係はまだ不明である。トリクロサンについては、平成28年9月2日に米国食品医薬品局（FDA）が、トリクロサン等19成分を含有する抗菌石けんの販売停止措置を受け、本邦においても厚生労働省が同様の措置を実施したため、トリクロサンに関しては一応の解決をみた。そのため、本研究の目的は、住民疫学および病院疫学を通して、パラベン類を中心として使用実態を調査し、さらにパラベンの曝露を、これまで以上に妥当性、信頼性の高い尿中化学物質濃度の測定などにより、評価する。一方、健康影響としてのアレルギー疾患の有症、発症、増悪を評価するによってアレルギー症のリスクを疫学的に評価することである。石川県志賀町における2017年1月-2019年3月までの0歳4ヶ月健診(77人)、1歳児半健診(60人)、3歳児健診(99人)受診者、計236人(男、122人；女、114人)を対象にパラベン曝露とアレルギー症との関係について解析した。パラベン曝露は尿中パラベン濃度を指標とした。食物アレルギー4人、気管支喘息21人、アトピー性皮膚炎31人、鼻アレルギー4人であった。またトリクロサンの使用者は8人(3.4%)、パラベンの使用者は82人(34.7%)であった。尿中パラベン濃度が100 pmol/Cr以上を有する児を高パラベン濃度児としたとき、61人が高パラベン濃度児に該当し、175人が低パラベン濃度児であった。高パラベン濃度児でアトピー性皮膚炎を示した児は18人(29.5%)で低パラベン濃度児でのアトピー性皮膚炎を示した児13人(7.4%)に比べて、有意に高い有病率を示した(χ^2 検定、 $p<0.001$)。気管支喘息における有病率には有意な差はなかった。また食物アレルギー、気管支喘息、アトピー性皮膚炎、鼻アレルギー、アレルギー性眼結膜炎のいずれかのアレルギーを有する人については、高パラベン濃度児の22人(36.1%)は低パラベン濃度児の36人(20.6%)に比べ、有意に高かった(同、 $p=0.016$)。以上の結果から、パラベン類の使用とアレルギー疾患、特にアトピー性皮膚炎との有意な関係が窺い知れた。

また0歳4ヶ月健診(77人)受診児のうち、アレルギー症を有していなかった61人を14か月、追跡調査した結果、0歳4ヶ月健診での高パラベン濃度児12人のうち4人(33.3%)；アトピー性皮膚炎、2人；喘息、2人が発症し、低パラベン濃度児49人から4人(8.2%)；アトピー性皮膚炎、2人；喘息、2人が発症した。この関係は χ^2 検定にて有意であった($p=0.021$)ことから、パラベン曝露とアレルギー症発症には因果関係の存在が疑われた。

また成人疫学研究では、トリクロサンの使用者は9人(0.4%)、パラベンの使用者は564人(28.0%)であった。パラベン類の使用の有無により、気管支喘息、アトピー性皮膚炎、鼻アレルギーおよびアレルギー全体を比較したところ、パラベン類を使用する鼻アレルギーの女性の有症率22.8%は使用しないその12.8%に比べ、有意に高かった($p<0.001$, χ^2 検定)が、男性においては有意な差は認められなかった。男女全体での鼻アレルギーでの有症率においてもパラベンの使用の有無によって有意な差が確認できた($p<0.001$, χ^2 検定)。また同様の結果はアレルギー全体で見た場合においても認められた。女性のパラベン類の使用者がより高い鼻アレルギーの有症率を示していたという成人の疫学研究と乳幼児疫学を考え合わせると、概して小児ではアレルギー疾患は男児に多いが、成人では女性の方が有病率

が高く、また重症であることは、成人では化粧品やローションなどの日用品、乳幼児では保湿剤などの外用剤に含まれる抗菌剤・防腐剤成分であるパラベン類に対する曝露は、アレルギー症におけるリスクであることが窺い知れた。

以上より、アレルギー発症に対するハイリスク指標としては、パラベン使用歴、特に石鹸、シャンプー、化粧品、保湿剤（外用剤）の使用と尿中パラベン濃度を併せて評価することが提言された。また石鹸、シャンプー、化粧品、保湿剤（外用剤）などのパラベンを含有する日常品に含まれるパラベン類の曝露とアレルギー症との因果関係の存在が想定された。

【キーワード】 アレルギー、パラベン、疫学、アトピー性皮膚炎、鼻アレルギー

1. はじめに

日用品に頻用される防腐剤としてのパラベンや抗菌剤としてのトリクロサンは歯磨き粉や石鹸、化粧品、シャンプーなどで使用される化学物質で、以前よりその環境への影響や内分泌攪乱作用によるヒトへの影響が懸念されてきた¹⁾が、それらを検証した研究はこれまで充分には存在しなかった。最近になって、これらの物質への曝露がアレルギー疾患の危険因子である可能性を示す研究報告が欧米から散見されるようになってきている²⁻⁴⁾。ノルウェー²⁾、米国³⁾の一般の小児を対象にした複数の疫学研究で、トリクロサン・パラベンの尿中濃度と、吸入性アレルギー感作、食物アレルギー感作、アレルギー性鼻炎との関係が示された。米国の研究³⁾では男児における尿中のパラベンの濃度と吸入性アレルギー感作が関連することも示されている。さらに、喘息のマウスモデル⁵⁾でトリクロサンがアレルギー感作におけるアジュバント作用を示すことも報告されている。また、米国の喘息患者を対象にした調査⁶⁾では、尿中のトリクロサン濃度が高いほど、喘息発作が多かったという報告がある。これらの殺菌剤や防腐剤への慢性的な曝露が、皮膚、腸管の細菌叢に影響を与えることによって、アレルギー性疾患リスクに関与しているのではないかと推測されている。しかしながら、これらの研究においては曝露経路や曝露量との関係が示されていないばかりか、曝露指標となるトリクロサン・パラベンの尿中濃度の測定法の妥当性にも大きな問題があることも指摘されており⁷⁾、曝露とアレルギー疾患との因果関係には不明な点が多々ある。本邦でもトリクロサンは一部の市販のハンドソープや歯磨き粉などに、パラベンは化粧品やシャンプーなど幅広い日用品に使用されているため、トリクロサンやパラベンといった化学物質曝露がアレルギー疾患発症と増悪に関連する可能性があるかどうかを明らかにすることは環境からの健康への影響を考える上での喫緊の課題である。トリクロサンについては、平成28年9月2日に米国食品医薬品局（FDA）が、トリクロサン等19成分を含有する抗菌石けんの販売停止措置を受け、本邦においても厚生労働省が同様の措置を実施したため、トリクロサンに関しては一応の解決をみた。

2. 研究開発目的

乳幼児・小児を対象にした複数の疫学研究により、トリクロサン・パラベンの尿中濃度高値とアレルギー性疾患の増加と関係することが指摘されているが⁴⁻⁶⁾、明確な因果関係はまだ不明である。本研究の目的は、住民疫学および病院疫学を通して、パラベン類の使用実態を調査し、さらに、これらの化学物質の曝露を、これまで以上に妥当性、信頼性の高い尿中化学物質濃度の測定などにより、評価する。一方、健康影響としてのアレルギー疾患の有症、発症、増悪を評価するによってアレルギー症のリスクを疫学的に評価することである。リスク評価を通してパラベンやトリクロサンの曝露指標あるいは影響指標を同定し、新しい予防法を開発することが本研究の目的である。

3. 研究開発方法

1) 乳幼児疫学研究

①対象

対象は石川県志賀町（人口約、20,000人）で実施する毎月の0歳児4カ月児健診、1歳児半健診、3歳児健診の受診者のうち、本研究に対する同意の得られた児で、その対象数は236人であった。内訳は0

歳4ヶ月健診(77人)、1歳児半健診(60人)、3歳児健診(99人で男、122人、女、114人であった。パラベン曝露は尿中パラベン濃度を指標とした。医師による症状と所見からアトピー性皮膚炎、食物アレルギー、気管支喘息、アレルギー性鼻炎、アレルギー性結膜炎を診断した。

②方法

パラベン含有の外用薬やパラベン類やトリクロサン含有の日用品の使用実態についての調査は、次の方法によった。受診登録時に受診者の保護者に調査票を配布する。受診者の保護者は質問票を自宅に持ち帰り、自宅にて外用薬や日用品使用状況を詳細に調査票に記入する。記入日は尿試料を採取する前日とする。受診者の保護者は健診受診会場への尿試料とともに調査票を持参する。参加者の尿中パラベン類・トリクロサン濃度を測定については次の手続きによった。早朝尿2mL以上(解析に必要な最小尿量100-200 μ L)を採尿カップあるいは尿バックで採取したのち、ポリプロピレン製チューブに入れて、常温のまま採尿後12時間以内に健診会場に検体を持参する。尿試料は、ラボ(SRL)にてパラベン類・トリクロサン測定用の尿試料(1ml)とクレアチニン測定用(1ml)に分注する。パラベン類・トリクロサン測定用の尿試料は-20 $^{\circ}$ Cで保存し、株式会社新日本科学へ検体を凍結輸送する。株式会社新日本科学が輸送された尿試料を用いて、尿中パラベン類・トリクロサン濃度を測定する。SRLは尿中クレアチニンを測定する。パラベン類・トリクロサンの尿中濃度は、尿中クレアチニン濃度で補正する。

③倫理

本研究は、金沢大学医学倫理委員会において承認を受け実施された。

2) 成人疫学研究

①対象と方法

対象は石川県志賀町のモデル地区の志賀町のモデル地区(土田、富来)における40歳以上の全住民を2801人に対して、記式質問紙法を用いて調査した。調査票が回収でき、さらにその回答が有効と認められたのは2014人であり(有効回答;回答率, 71.9%;平均年齢 \pm 標準偏差, 64.7 \pm 12.9才)、これを調査対象とした。調査項目は、パラベン含有の外用薬やパラベン類やトリクロサン含有の日用品の使用実態である。その方法は、上記の乳幼児疫学研究と同様である。アレルギー疾患(アトピー性皮膚炎、食物アレルギー、気管支喘息、アレルギー性鼻炎、アレルギー性結膜炎)、生活習慣(喫煙、飲酒、運動や一般的な食習慣)とし、さらにBDHQによる栄養調査を実施した。

②倫理

本研究は、金沢大学医学倫理委員会において承認を受け実施された。

4. 結果及び考察

1) 乳幼児疫学研究

志賀町研究における236人の乳幼児のうち、食物アレルギー4人、気管支喘息21人、アトピー性皮膚炎31人、鼻アレルギー4人であった。またトリクロサンの使用者は8人(3.4%)、パラベンの使用者は82人(34.7%)であった。

乳幼児の健診区分別のアレルギーの有病率を表(1)-1に示した。236人の乳幼児のパラベン使用とアレルギーとの関係を表(1)-2に示した。

表（１）－１ 健診区分別のアレルギーの有病率（志賀町研究、236人）

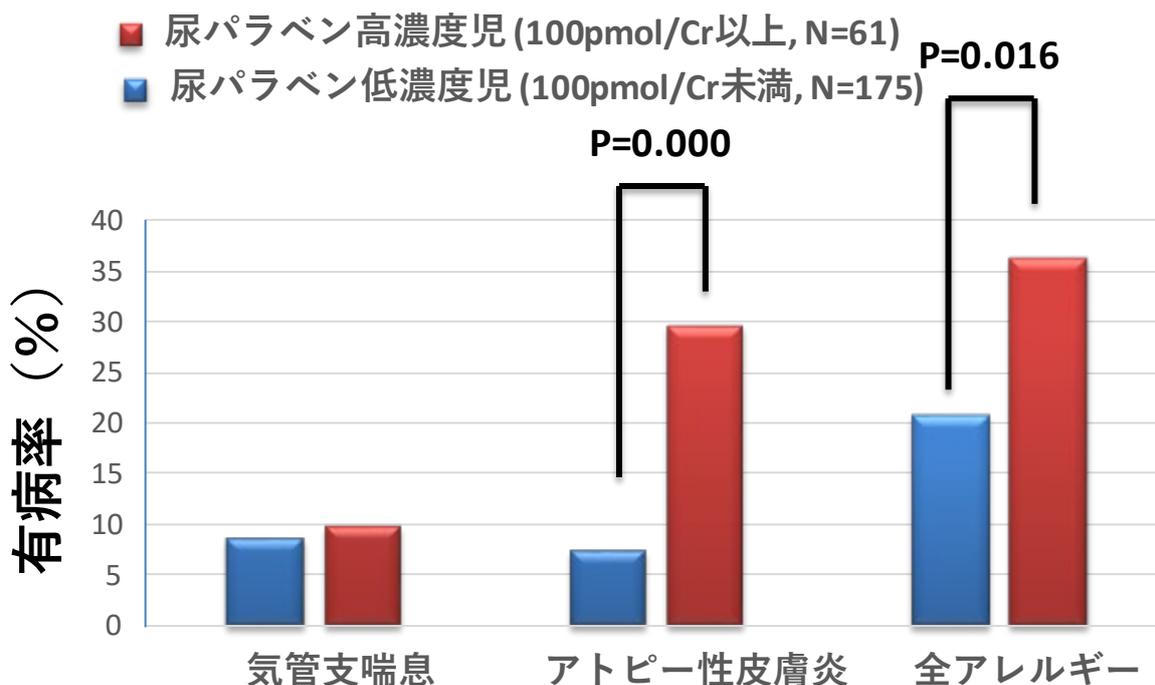
健診区分	総数 (%)			計
	4ヶ月健診 (77人)	1歳児半健診 (60人)	3歳児健診 (99人)	
男児	45 (58.4)	36 (60)	41 (41.4)	122 (51.7)
食物アレルギー	1 (1.3)	6 (10)	4 (4)	11 (4.7)
気管支喘息	0 (0)	6 (10)	15 (15.2)	21 (8.9)
鼻アレルギー	0 (0)	0 (0)	4 (4)	4 (1.7)
アトピー性皮膚炎	15 (19.5)	4 (6.7)	12 (12.1)	31 (13.1)
全アレルギー(いずれか)	16 (20.8)	11 (18.3)	31 (31.3)	58 (24.6)
パラベン使用	11 (14.3)	20 (33.3)	51 (51.5)	82 (34.7)
尿中パラベン高濃度児	23 (29.9)	17 (28.3)	21 (21.2)	61 (25.8)

表（１）－２ パラベン使用とアレルギーとの関係（志賀町研究、236人）

パラベン使用	総数 (有病率)		p 値
	(+) (N=82)	(-) (N=154)	
食物アレルギー	2 (2.4)	9 (5.8)	0.237
気管支喘息	10 (12.2)	11 (7.1)	0.194
鼻アレルギー	1 (1.2)	3 (1.9)	-
アトピー性皮膚炎	18 (22)	13 (8.4)	0.003
全アレルギー	26 (31.7)	32 (20.8)	0.063

パラベン使用とアレルギーとの関係（表（１）－２）では、パラベン使用者82人のうち、18人（22%）がアトピー性皮膚炎を有し、パラベンを使用しない者154人からの13人（8.4%）と比べ、有意な高値を示した（ χ^2 検定、 $p=0.003$ ）。

また、尿中パラベン濃度が100 pmol/Cr以上を有する児を高パラベン濃度児としたとき、61人が高パラベン濃度児に該当し、175人が低パラベン濃度児であった。尿中パラベン濃度の高低とアレルギーとの関係を図（１）－１に示した。高パラベン濃度児でアトピー性皮膚炎を示した児は18人（29.5%）で低パラベン濃度児でのアトピー性皮膚炎を示した児13人（7.4%）に比べて、有意に高い有病率を示した（ χ^2 検定、 $p<0.001$ ）。気管支喘息における有病率には有意な差はなかった。また食物アレルギー、気管支喘息、アトピー性皮膚炎、鼻アレルギー、アレルギー性眼結膜炎のいずれかのアレルギーを有する人については、高パラベン濃度児の22人（36.1%）は36人（20.6%）に比べ、有意に高かった（同、 $p=0.016$ ）。以上の結果から、パラベン類の曝露とアレルギー疾患、特にアトピー性皮膚炎との有意な関係が窺い知れた。



図（１）－１ 乳幼児における尿中パラベン濃度とアレルギー有病率の比較（志賀町研究、236人）

表（１）－３ パラベン曝露とアレルギーとの関係に関する縦断的検討（61人）

		1年半:アレルギー(-)	1年半:アレルギー(+)
4ヶ月:アレルギー(-)		53	8(皮膚炎、4人；喘息、4人)
4ヶ月:アレルギー(+)		6	10
曝露	疾患	1年半:アレルギー(-)	1年半:アレルギー(+)
	4ヶ月:パラベン(-)	45 (83.7%)	4 (8.2%)(皮膚炎、2人；喘息、2人)
	4ヶ月:パラベン(+)	8 (66.6%)	4 (33.3%)(皮膚炎、2人；喘息、2人)

パラベン曝露は尿中パラベン濃度にて評価： $\chi^2=5.36$ (P=0.021)

また0歳4ヶ月健診(77人)受診児のうち、アレルギー症を有していなかった61人を14か月、追跡調査した結果(表(1)-3)、0歳4ヶ月健診での高パラベン濃度児12人のうち、4人(33.3%；アトピー性皮膚炎、2人；喘息、2人)が発症し、低パラベン濃度児49人から4人(8.2%；アトピー性皮膚炎、2人；喘息、2人)が発症した。この関係は χ^2 検定にて有意であった(p=0.021)ことから、パラベン曝露とアレルギー症発症には因果関係の存在が疑われた。

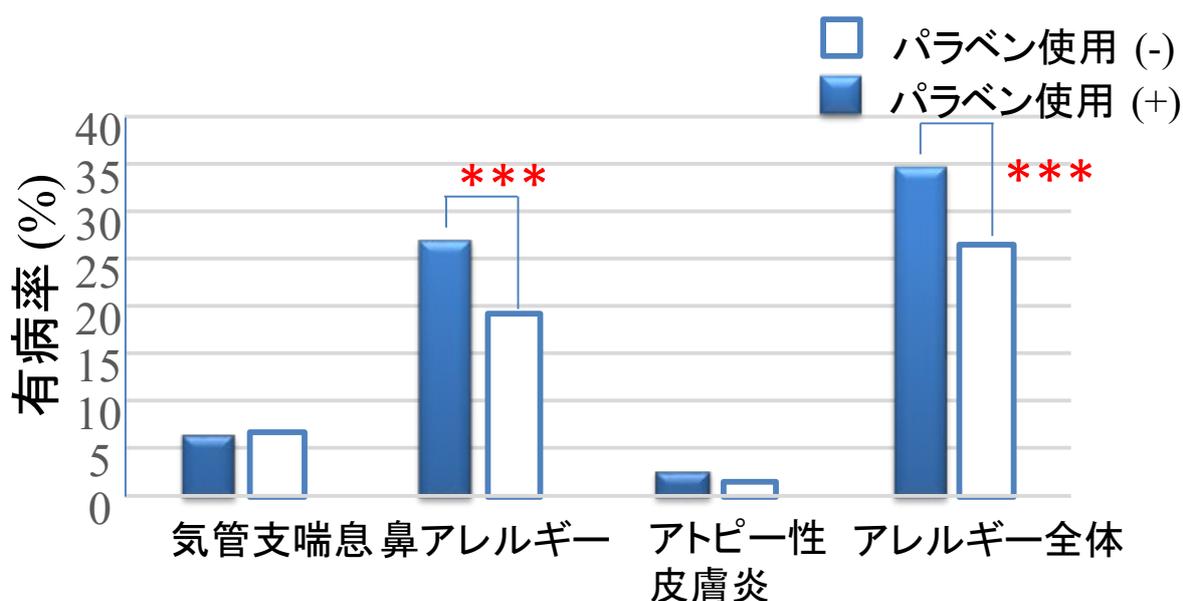
2)成人疫学研究

40歳以上の住民2014人のうち、トリクロサンの使用者は9人(0.4%)、パラベンの使用者は564人(28.0%)であった。またパラベンの使用者の内訳を表(1)-4に示した。女においては若い年代の方が使用率は有意に高かった(p<0.001, χ^2 検定)。

表（1）－4 成人疫学の男女のパラベン使用者の割合（志賀町研究、2014人）

年齢	男	(%)	女	(%)
40-64	73	17.30%	213	41.90%
65-74	65	22.40%	119	37.50%
75-	28	15.60%	66	22.30%
全体	166	18.60%	398	35.50%

パラベン類の使用の有無により、気管支喘息、アトピー性皮膚炎、鼻アレルギーおよびアレルギー全体を比較した（表（1）－5）。パラベン類を使用する鼻アレルギーの女性の有病率22.8%は使用しないその12.8%に比べ、有意に高かった（ $p < 0.001$, χ^2 検定）が、男性においては有意な差は認められなかった。男女全体での鼻アレルギーでの有病率においてもパラベンの使用の有無によって有意な差が確認できた（ $p < 0.001$, χ^2 検定）。また同様の結果はアレルギー全体で見した場合においても認められた（図（1）－2）。年齢、BMI、喫煙歴、アルコール摂取頻度、運動習慣、睡眠時間、収入、教育歴、婚姻状況で補正したロジスティック回帰分析を行なった結果も同様であった（表（1）－5）。トリクロサンとアレルギー疾患の関係については、トリクロサンの使用者が少ないため、その関係は解析できなかった。



図（1）－2 パラベン使用とアレルギー疾患の関係（志賀町研究、2014人）

女性のパラベン類の使用者がより高い鼻アレルギーの有病率を示していたことを示した成人の疫学研究と乳幼児疫学を考え合わせると、概して小児ではアレルギー疾患は男児に多いが、成人では女性の方が有病率が高く、また重症であることは、成人では化粧品やローションなどの日用品、乳幼児では保湿剤などの外用剤に含まれる抗菌剤・防腐剤成分であるパラベン類に対する曝露は、アレルギー症におけるリスクであることが窺い知れた。

以上より、アレルギー発症に対するハイリスク指標としては、パラベン使用歴、特に石鹸、シャンプー、化粧品、保湿剤（外用剤）の使用と尿中パラベン濃度を併せて評価することが提言された。また石鹸、シャンプー、化粧品、保湿剤（外用剤）などのパラベンを含有する日用品に含まれるパラベン類の曝露とアレルギー症との因果関係の存在が想定された。

表（1）－5 女性におけるパラベン使用を含む説明変数を用いたアレルギー性疾患のロジスティック回帰分析

変数	喘息			鼻アレルギー			アトピー性皮膚炎					
	オッズ比 exp(β)	信頼区間	p 値	オッズ比 exp(β)	信頼区間	p 値	オッズ比 exp(β)	信頼区間	p 値			
年齢	0.994	0.962	1.027	0.714	1.036	1.013	1.059	0.002	1.018	0.96	1.08	0.548
BMI	0.925	0.858	0.998	0.044	0.991	0.937	1.048	0.75	0.99	0.834	1.174	0.908
喫煙	2.926	1.106	7.743	0.031	1.257	0.581	2.717	0.561	0	0	0	0.995
飲酒	1	0.788	1.269	0.999	0.847	0.713	1.006	0.058	0.894	0.643	1.243	0.505
運動	0.802	0.617	1.041	0.098	1.059	0.912	1.231	0.452	0.495	0.246	0.996	0.049
睡眠	0.92	0.707	1.197	0.534	1.057	0.873	1.28	0.571	1.191	0.759	1.869	0.446
収入	1.068	0.861	1.324	0.551	0.996	0.866	1.147	0.96	1.076	0.717	1.615	0.723
教育	1.002	0.867	1.159	0.974	0.934	0.849	1.027	0.158	0.873	0.709	1.074	0.198
配偶者	0.589	0.071	4.87	0.624	1.57	0.57	4.319	0.383	0	0	0	0.997
パラベン	1.985	1.057	3.727	0.033	2.069	1.368	3.128	0.001	1.153	0.297	4.476	0.837

変数	アトピー性結膜炎			総アレルギー				
	オッズ比 exp(β)	信頼区間	p 値	オッズ比 exp(β)	信頼区間	p 値		
年齢	1.018	0.985	1.053	0.29	1.022	1.002	1.042	0.027
BMI	1.076	0.971	1.192	0.162	0.987	0.938	1.038	0.613
喫煙	0.891	0.248	3.206	0.86	1.54	0.775	3.059	0.218
飲酒	0.946	0.738	1.213	0.662	0.935	0.81	1.078	0.355
運動	0.98	0.776	1.236	0.863	0.999	0.876	1.138	0.983
睡眠	1.269	0.944	1.707	0.115	1.054	0.897	1.239	0.52
収入	0.886	0.721	1.088	0.247	0.979	0.866	1.108	0.741
教育	1.073	0.933	1.233	0.326	0.978	0.901	1.062	0.6
配偶者	1.249	0.252	6.193	0.785	1.129	0.427	2.989	0.806
パラベン	2.748	1.428	5.285	0.002	2.558	1.782	3.673	0

3) 考察

多くの国でこの半世紀で、アレルギー性疾患の有病率の経年的な増加を認めている。この増加の原因として、以前より衛生仮説という考え方が提唱されている。すなわち環境が綺麗になりすぎたためにアレルギー性疾患が増えているという仮説である。その仮説の根拠となる研究報告として、従来から、兄弟が少なく感染症に罹患する機会が少ないこと、環境からのエンドトキシン（細菌の細胞壁に存在するリポ多糖）曝露が少ないこととアレルギー疾患リスクの増加との関係などが示されてきた。一方、近年の遺伝子工学技術の進歩により、環境や生体常在菌の細菌環境が比較的容易に調べられる（マイクロバイーム解析）ようになり、環境や生体常在菌の細菌環境の変容とアレルギー疾患リスクの関係が指摘されるようになってきた。環境や腸内の細菌学的多様性の消失とアレルギー疾患リスクの関係が報告されている。最近になってこの衛生仮説が、新たな側面からも解釈されるようになりつつある。米国、ノルウェーの一般の小児を対象にした複数の疫学研究で、歯磨き粉や石鹸に殺菌剤として使用されているトリクロサンの尿中濃度が高いものほど、吸入性アレルギー感作、食物アレルギー感作、アレルギー性鼻炎の頻度が高いという結果が示された。米国の研究では男児における尿中のパラベン類（日用品に頻用される防腐剤）の濃度と吸入性アレルギー感作との間の関係も示された。石鹸や歯磨き粉、化粧品などの日用品に含まれている殺菌剤や防腐剤への曝露が、皮膚、腸管の細菌叢に影響を与えることによ

て、アレルギー性疾患の増加に寄与しているのではないかと推定されている。これらの日用品は、特に思春期になって使用頻度が増えるため、小児期のみならず思春期以降でのアレルギー疾患の発症にも大いに関わっている可能性が懸念されている。本研究では、これらの日用品に含有されている防腐性化学物質であるパラベン類の曝露とアレルギー疾患との因果関係について解明し、的確な予防法を提示するものである。

志賀町における乳幼児および成人の疫学研究の結果から、乳幼児は成人とほぼ同等の確率（35でパラベンに曝露されているという実態が明らかにされた。

乳幼児における住民疫学研究によって、パラベン類の使用とアトピー性皮膚炎の正の関係を示唆する所見が得られた。パラベン類は化粧品やシャンプーなど幅広い日用品に防腐作用を期待して添加されている化学物質で、世界中で最も頻用されている防腐性化学物質の一つである。しかしながら、トリクロサンとアレルギー疾患に関わる研究報告は多く存在するが、パラベンとアレルギー疾患リスクの増加に関して検討した報告は極めて限られている。唯一、パラベン曝露によるアレルギー疾患増加の可能性を示しているのは、Savageらの2005年NHANES調査のみである。この報告では米国の860名の小児（6-18歳）を対象にした横断的調査で、尿中プロピルパラベン・ブチルパラベンと、吸入アレルゲン感作との有意な関係が示されている。しかしながら、本結果の如く、アトピー性皮膚炎との関係を示す報告はなく縦断的な検討を含め因果関係の解明に迫った本研究は、国内外初と思われる。

成人における疫学研究では、女性のパラベン類の使用率がより高い鼻アレルギーの有症率を示していた。概して小児ではアレルギー疾患は男児に多いが、成人では女性の方が有病率が高く、また重症であることはよく知られている。このようなアレルギー疾患頻度・重症度における男女差には、女性ホルモン以外にも、食習慣や運動習慣などが指摘されているが、化粧品やその他の日用品を使用する頻度、すなわち日用品中の抗菌剤・防腐剤成分に曝露されることが大きく影響するというリスクが本結果から窺い知れた。

4) 参考

(参考) 本調査(乳幼児疫学研究)によって使用が確認されたパラベン・トリクロサン含有商品

① パラベン類

軟膏：ヒルドイドソフト軟膏0.3%(マルホ株式会社)、ヒルドイドローション0.3%(マルホ株式会社)、ロコイド軟膏0.1%(鳥居薬品株式会社)

湿布：赤ちゃんおしりふきW(水99%super)(株)赤ちゃん本舗)

ボディケア用品：キュレルジェルローション(花王)、ジョンソン・ベビー スージングナチュラルズ(ジョンソン・エンド・ジョンソン株式会社)

ハンドケア用品：アトリックスハンドジェル(花王株式会社)

ヘアケア用品：ビオレU泡で出てくる！ボディウォッシュ(花王株式会社)、ジョンソンすやすやタイムベビー全身シャンプー泡タイプ(ジョンソン・エンド・ジョンソン株式会社)、ステイブンノルシャインリペア シャンプー リッチモイスト(株式会社コーセー)、バンダイリンズインシャンプー(バンダイ)

体石鹸：ミルキィボディソープ(牛乳石鹸共進社株式会社)、ビオレUボディウォッシュ(花王株式会社)

歯磨き粉：薬用Doクリアこどもハミガキ(イチゴ)(サンスター株式会社)、MERSSAGE Cleargel(株式会社松風)

入浴剤：キュレル 入浴剤 M(花王株式会社)、スキナベープ(持田ヘルスケア株式会社)

② トリクロサン

体石鹸：ビオレボディソープ(花王株式会社)

手石鹸：ビオレハンドソープ(花王株式会社)、ビオレU泡で出てくるハンドソープ(花王株式会社)

(参考) 本調査(成人疫学研究)によって使用が確認されたパラベン・トリクロサン含有商品
ファンデーション・おしろい・化粧下地:

Q10 ファンデーション、アザレファンデーション、エクスポーテ ビジョン ファンデーションリキッド モイストタイプ、エスプリーク ファンデーション、エタリテ フレディアス パウダーファンデーション、エリクシール スキンアップパクト オークル10、カネボウ UVファンデーション、カネボウ サマーリクイドファンデーション、カネボウ ホワイトニングパクト、キスミーフェルム ウォータリングファンデ、キスミーフェルム パウダーファンデ、キュレル パウダーファンデーション、コフレドール グラン カバーフィットパクトUV、資生堂 ピュアホワイトファンデーション、資生堂YS、セルフイット ピュアホワイトファンデーション、ソフィーナファンデーション、ゾンケリキッドファンデーション、ちふれ UVパイケーキ、ちふれ UVリキッドファンデーションN、ちふれ メーキャップファンデーション、トワニー フロスティホワイト リクイド、トワニー フロスティホワイトファンデーション、ノエビア エクセレント ツーウェイファンデーション、プリマヴィスタ パウダーファンデーション、ホワイトトリリー アンジェラケーキ、メディア クリームファンデーション、メディア ファンデーション ホワイトニングパクトAIII、メディア モイストフィットパクト、雪肌精 ホワイトBBクリームエッセンスファンデーション、リサーチ ホワイトパウダーファンデーション、ルナソル シャイニングパウダーN、エクスポーテ エアーラスティングパウダー、カネボウ フェースアップパウダー、カネボウ フェースアップパウダー ミラノコレクション、フレッシュェル BBミネラルパウダー、イオナエフ UVベース、オルビス ファンデーション下地、カネボウ フレッシュェル、キュレル BBクリーム、資生堂 YSトリートメントベース、ちふれ 下地クリーム、トワニー フラットフィックス、ノエビア トリートメントプレメイクモイスチャー、メディア UVプロクベース

アイシャドウ・アイライナー・マスカラ:

ACきらきらアイシャドウ、KATE カラーシャスダイヤモンド、KATE ゴールディッシュアイズ、KATE ブラウンシェードアイズ、KATE ラインスパイシー、SK-IIクリアビューティアイシャドウ、インテグレート スイートトリックアイズ、エルベナ ディ&メイク グラデーションアイシャドウ、花王ソフィーナ オーブクチュール デザイニングインプレッションアイズ、キスミー フェルム アイカラー、キスミー フェルム グラデーションアイカラー、コーセー エルシア アイカラー、コーセー セルフルエルシア リュクスシャイン アイカラー、コフレドール アイカラー、コフレドール ソフトグラマラスアイズ、コフレドール ビューティフェイスシャドウ、ディオール オーブクチュール、ディシラ アイズインパクト VI1 BE3、ノエビア アクトリース アイカラー、ノエビア ナチュラルコード アイカラー、ポーラ ミュゼル、マキアージュ トゥルーパーアイシャドウ、マックスファクター アイグラデーションカラース、無印良品 アイカラー、リサーチ ニュアンスフィットアイズ、花王ソフィーナ オーブクチュール ブライトアップアイズ、K-Palette リアルラスティングアイライナー、インテグレート キャットルック リキッドライナー、コージー ドーリーウインク リキッドアイライナー、ちふれアイライナーペンシル、トワニーセンチュリー、ノエビア オートアイライナーN、ノエビア リキッドフィルム アイライナー、マックスファクター アイライナー、リサーチ スリムフィットリクイドアイライナー、ノエビア ライナー、一セー エスプリークフルインプレッションマスカラ、ホワイトトリリー化粧品 マスカラ

アイブロウ:

AC アイブロウパウダー、ノエビア アイブロウコンパクトN、

チーク:

KATE プレストチークカラー、エスプリーク ブロウチーク、コフレドール スマイルアップチークス、ソフィーナ オーブクチュールブラシチーク、ノエビア アクトリース チーク、メディア ブライトアップチークN、リサーチ チーク、レブロン パーフェクトリー ナチュラルブラッシュ346

口紅:

CHANEL、SK-IIクリアビューティモイスチュアリップスティック、コープ リップスティック、マッ

クスファクター クリアビューティモイスチュアシアーリップスティック

メイク落とし：

LR ウォッシュャブルコールドクリーム、SK-II クレンザー、ウテナ モイスチャーコールドクリーム、キュレル クレンジングジェル、キュレル ジェルメイク落とし、コーセー コットンメイク落とし、ホワイトクレンジングウォッシュ、コープ クレンジングオイル、コープ ハーブのメイク落とし、コープ メイク落としシート、サキナ クレンジング、資生堂 アクテアハート マッサージクレンジング、ジュビラン、専科 パーフェクトホイップ、ソフティモ Wヒアルロン酸配合クレンジングウォッシュ、ソフティモ スーパークレンジングウォッシュ メイク落とし+洗顔、ソフティモ ホワイトクレンジングジェル、ソフティモスーパーポイントメイクアップリムーバー、ソフティモホワイトメイク落としシート、ちふれ ふきとり水、ディシラ SP メイククレンジングジェル、ディブ オリーブ&アルガン クレンジングオイル、ノエビア 80 クレンジングマッサージクリーム、ノエビア ポイントメイクアップ リムーバー、肌ラボ 極潤ヒアルロン泡洗顔、ビオレ しっとりクリアジェル、プレディア スパ・エ・メール ファンゴ W クレンジング、ホワイトトリリー オスカークレンジング、ポンズ エイジビューティクレンジング、ロゼット洗顔パスタ

洗顔フォーム：

コープ ハーブの洗顔フォーム、サキナ 洗顔フォーム、ノエビア 80 Pure クレンジングフォーム、豊凜化粧品 リフレッシュメントクレンジングフォーム

化粧水：

AXI リフレッシュローション、COOP 薬用ホワイトニングローション、pdcピュアナチュラルエッセンスローション、アクルエッセンス、エファージュ モイストチャージローション、エリクシール エンリッチドセラム、エリクシール リフティングウォータEx II、菊正宗 日本酒の化粧水、キュレル 保湿化粧水、グレイスワン 薬用美白保湿液、米ぬか美人 化粧水、資生堂 オードルックス、資生堂 肌水、ジュジュ アクアモイスト保湿化粧水、ソフィーナ 土台美容液、ちふれ 化粧水 さっぱりタイプ、ちふれ 化粧水 しっとりタイプ、ドモホルンリンクル 保湿液、ドルックス オードュベールN、ノエビア99 プラス スキンローション、ノエビア99 モイストローション、パールクイーン スキンコンディショナー、箔座 TGローション、肌極 化粧液、肌ラボ 極潤ヒアルロン液ライトタイプ、肌ラボ 極潤ヒアルロン液、肌ラボ 白潤 薬用美白化粧水 しっとりタイプ、ハトムギ化粧水、ヘチマコロンの化粧水、ホワイトトリリー BIHADAローションリッチ、ホワイトトリリー オスカーリンクル、リサーチ ディープクリーンローション、肌ラボ 極潤αハリ化粧水、SK-II フェイシャルクリアエッセンス

乳液：

50の恵 オイルin養潤液、50の恵 コラーゲン養潤液、AXI トリートメント エマルジョン、EBM ES スキンクリーム、pdcナチュリナ 乳液、SK-II フェイシャルトリートメントミルク、アスタブラン モイスチュアライザー、ウテナ モイスチャーミルク、エファージュ ディープアクトエッセンス、エリクシール リフティングエマルジョンEx II、カネボウ エッセンスうるり、キュレル ジェルローション、クラシエ モイスタージュ エッセンスミルク、ケシミン密封乳液、コーセー コラーゲン濃潤液、コーセー 雪肌精エンリッチ、コープ ソフトケアミルクローション、資生堂 YSシリーズ、シャルレ エタリテ ローションII、ソフィーナ ボーテ 高保湿乳液、ダダB15 ソフトバランスミルク、ちふれ オールインワン、ちふれ 乳液 さっぱりタイプ、ちふれ 乳液 しっとりタイプ、ドルックス フレーシュボーテN、ナガセ エコルフィー3、ナチュリエ スキンコンディショニングジェル、ニュースキンジャパン、ノエビア 99 モイストミルク、ノエビア 99+ミルクローション(リッチ)、ノエビア トウブラン薬用ホワイトニングシルクローション、ノエビア ホワイトニング、パールクイーン スキンミルク、肌極クリーム、肌ラボ 極潤3D、肌ラボ 白潤 薬用美白乳液、ビオレ うるおいジェリー、プレシャス ガーデンボディミルク、マダムジュジュE乳液、マックスファクター エッセンスミルク、ムーンパール モイスチャーリッチ、リポビューテ ミルク

クリーム：

HSC COLLAGEN Platinum CCクリーム、アクアレーベル スペシャルジェルクリーム、アクアレーベル
 スペシャルジェルクリーム、アザレクリーム、エファージュ シナジーベルクリーム、大高酵素、キ
 ュレル潤浸保湿フェイスクリーム、コープ スキンケアBBクリーム、資生堂 ブラバス スキンクリ
 ーム、シャルレ エタリテ オーラマージュクリーム、ちふれ BBクリーム、ちふれ オールインワン
 ジェル、ちふれ 保湿クリーム、ちふれ 保湿クリーム しっとりタイプ、メディア BBクリームN、モ
 イストラボ BBエッセンスクリーム

日焼け止め：

クオレAXI ブライトニングミルクUV、ゾンケ UVホワイト、ノブ UVローション、ホワイトリリー U
 VシールドEX

シェービングクリーム：

資生堂エムジー5

シャンプー：

MOA ナチュラルトリートメントシャンプー、アザレシャンプー、アヘロバター プレミアムスカル
 プクリアシャンプー、ヴィーナヴィータ、エフキュア、エンリッチ インテンス モイスチャライジ
 ング シャンプー、オーガニックフォーム、オブ コスメティックソープ オブ ヘア、カネボウ
 SALA、クオレ ランポス プロスキュール、クオレ ランポスシャンプー、グッドフィールシャンプ
 ー、クラシエ SILKモイストエッセンスシャンプー、コーサー アミノ酸系ノンシリコン、コーサー
 サロンスタイル、コーサー ジュレームシャンプー、サキナ コンディショニングシャンプー、サク
 セス 薬用シャンプーWリンスCOOL、サローネ スーパーブラウンシャンプー、サンスター トニック
 シャンプー、サンスター トニックリンスインシャンプー、シャルレ シャルエーゼ シャンプー、シ
 ュンインターナショナル グッドフィールシャンプー、セグレタ ふっくらボリュームシャンプー、
 ソフティモ スーパートニック リンスインシャンプー、ダヴモイスチャーバランスケアシャンプ
 ー、デラクシオ プロCMCシャンプー、トレハイン シャンプー、ナノアミノプレミアム シャンプ
 ー、ナリス エクメールヘアシャンプー、ノエビア トカラの海のシャンプー、パシフィックプロダ
 クツ マッドセラピーシャンプー、フェリネージュ ベリリケアシャンプー、フォード ピュアファク
 ターシャンプー、プリグリオD ナチュラルハーブシャンプー、プレリアップスカルプシャンプー、
 プロ&プロ スーパーソリューションヘアソープ、プロアクションfor C、ベネッコシャンプー、ミ
 キモト モイストプラス ヘアシャンプー、ミノン 薬用ヘアシャンプー、メリット リンスのいらな
 いシャンプー、ヤクルト ナビアンマイルドシャンプー、リガオス、リラベールCMCシャンプー、レ
 ヴール R&Rシャンプー、レラ ヘアソープ105、漢芳シャンプー、玉理化学 ボルデュシャンプー
 レッド、資生堂 スリークライナーシャンプー、大島椿 オイルシャンプー、薬用スカルプタイム、
 旅美人 オレンジシャンプー

リンス・コンディショナー：

アザレリンス、エンリッチ インテンス モイスチャライジング リンス、オクトリンスMa、クラシエ
 SILKモイストエッセンスコンディショナー、スーパーダメージコンディショナー、ダブ モイスチャ
 ーケアトリートメント入りコンディショナー、トワニーディープコンディショナー、ブリリアント
 コンディショナー、ベーネプレミアムルージュリアデリシャスリンス、ヤクルト ナビアンマイルド
 リンス、リサージ ヴォーニュ モイストコンディショナー、リラベールCMCリンス

トリートメント：

AXI トリートメント03、COTA i CARE トリートメント、R 2 1、アミグレーヌ トリートメント、ア
 ミノフォルムW、イオ クリームメルトリペア、コーサー ジュレームトリートメント、コーサー ジ
 ュレームヘアパック、サローネ スーパーブラウントリートメント、サロンリンク エクストラトリ
 ートメント、シュンインターナショナル グッドフィールトリートメント、スティブソール プレ
 ミアムスリークシャインリペアヘアパック リッチモイスト、スリークライナー トリートメント、
 セクルーデ トリートメント、ノエビア トカラの海のヘアパック、パシフィックプロダクツ マッ
 ドセラピートリートメント、フォード ピュアファクターウォータートリートメント、プロセニア

ヘアトリートメントM、ラ ヴィスイ ミネラルモイストアクアシャイン、リサーチ パーフェクトヘアチェンジ、リラベール CMCヘアマスク、レヴール R&Rトリートメント、レヴール フレッシュュール生トリートメント、

石鹸・ボディソープ：

SILKボディソープ、アルチャーム ボディソープ、かさ肌かゆ肌ボディシャンプー、キュレル ボディソープ、資生堂 パーフェクトホイップフォーボディ、ニベア クリームソープ、ニベア バスソープ、バウンシア ボディソープ、ビオレU泡ボディ、ポッシュママ ボディシャンプー、マツモトキヨシ NMDボディソープ、ミルキィ ボディソープ、ルシード 薬用デオドラントボディウォッシュ

石鹸・ハンドソープ：

アララ 泡ハンドソープ、ウインズ 薬用ハンドソープ、セディア 薬用ハンドソープ、ナイーブ 薬用ハンドソープ、ノエビア リキッドソープN、ポッシュママ ハンドソープ

歯磨き粉：

DENT check-up standard、LION エチケットライオン、LION キシリデントライオン、LION ザクトクルライオン、LION ザクトライオン、LION デンタークリアMAX、LION デンター塩つぶと生薬ライオン、LION デントヘルス薬用ハミガキ、LION ホワイト&ホワイト、エスエス製薬 薬用ラカルトニュー5、花王 ディープクリーン、小林製薬 生薬EX、小林製薬 生薬、コンクール ジェルコートF、佐藤製薬 アセスL、サンスター薬用塩ハミガキ、歯科用ライオンKK、システム ホワイトニング、第一三共 クリーンデンタルマイルド、ナチュラルガーデン ナタデフレッシュ、三宝はぐきみがき、小林製薬 スミガキ、第一三共 薬用トータルケアクリーンデンタル

マウスウォッシュ：

サンスター GUM ナイトケア、シュミテクト

② トリクロサン

石鹸、ハンドソープ：セディア 薬用ハンドソープ、ポッシュママ ハンドソープ、花王 薬用ハンドソープ、メディッシュ薬用ハンドソープ

シャンプー：ルシード 薬用スカルプデオシャンプー

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

乳幼児におけるパラベン類とアレルギー症との関係では、保湿剤などの外用剤に含まれる抗菌剤・防腐剤成分であるパラベン類の使用とアレルギー疾患、特にアトピー性皮膚炎との有意な関係が横断的な研究だけでなく、縦断的な研究でも世界で初めて確認され、パラベン類曝露とアレルギー症との因果関係を示唆するものであった。

成人におけるパラベン類とアレルギー症との関係を示した疫学研究は、国内外では初めてであり、化粧品やローションなどの日用品に含まれるパラベン類の曝露が、鼻アレルギー症を発症することが示唆された。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

<行政が活用することが見込まれる成果>

疫学研究によって、パラベン類とアレルギー症との因果関係はほぼ確定されたため、パラベン類の使用を最小限に留めるための環境政策を実施する必要があることを、今後、NGO/NPO・企業環境政策としての提言や、化学物質評価専門委員会に対する提言としたい。

6. 国際共同研究等の状況

イタリアトレント大学との「パラベン、トリクロサン等の防腐剤・抗菌剤の小児アレルギー性疾患への影響に関する国際共同疫学研究共同研究」をGianluca Esposito氏 (Department of Cognitive Science and Education, University of Trento, Italy) と行っている。この共同研究は、長崎大学、千葉大学と金沢大学とのコンソーシアムと、先方のトレント大学と、その関連大学とのコンソーシアム同士の共同研究であり、その疫学フィールドの規模をさらに拡張し、よりエヴィデンスの高い研究成果が見込まれる。

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文(査読あり)>

- 1) Shimizu Y, Kambayashi Y, Tsujiguchi H, Hara A, Hori D, Nguyen TTT, Suzuki F, Hamagishi T, Yamada Y, Nakamura H, Yoshikawa T, Hayashi K, Hibino Y, Shibata A, Fukutomi Y, Ohya Y, Yamamoto-Hanada K, Muto G, Hirota R, Konoshita T, Nakamura H. Relationship between the use of parabens and allergic diseases in Japanese adults -A cross sectional study. J-Multidisciplinary Scientific Journal. 2018 1(1),148-155.

<その他誌上発表(査読なし)>

- 1) 弘田量二、中村裕之：呼吸器内科、2019;35(4).
「アレルギー性気管支喘息とマイクバイオーム」
- 2) 弘田量二、中村裕之：アレルギーの臨床。2019;2月号。
「呼吸器系アレルギーとマイクロバイオーム」
- 3) 福富友馬：思春期学。2017;35(1),128-132.
「日用品に含有されている抗菌性・防腐性化学物質と思春期のアレルギー疾患」

(2) 口頭発表(学会等)

- 1) 中村裕之
パラベン類使用とアレルギー性疾患の関係に関する成人の疫学。
シンポジウム「生活用品中のパラベン類によるアレルギー性疾患発症に関する総合的研究」
第88回日本衛生学会学術総会 2018. 3. 22 東京
- 2) Nakamura H.
Exposure to antibacterial agents affecting allergy and child development including ASD.
Symposium “Environment and Health: New Technologies to Old Dilemmas Scientific Summit Italy-Japan” March 24th, 2017, Trento University, Italy

(3) 知的財産権

特に記載すべき事項はない。

(4) 「国民との科学・技術対話」の実施

- 1) 市民公開シンポジウム「生活用品中のパラベン類によるアレルギー性疾患発症に関する総合的研究」(主催：第88回日本衛生学会学術総会、2018年3月22日、東京工科大学、観客約300名)にて講演

8. 引用文献

- 1) Dodson RE, Nishioka M, Standley LJ, Perovich LJ, Brody JG, Rudel RA. Endocrine disruptors and asthma-associated chemicals in consumer products. *Environmental health perspectives*. 2012;120(7):935-43.
- 2) Bertelsen RJ, Longnecker MP, Lovik M, Calafat AM, Carlsen KH, London SJ, et al. Triclosan exposure and allergic sensitization in Norwegian children. *Allergy* 2013; 68:84-91.
- 3) Savage JH, Matsui EC, Wood RA, Keet CA. Urinary levels of triclosan and parabens are associated with aeroallergen and food sensitization. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 130:453-60 e7.
- 4) Clayton EM, Todd M, Dowd JB, Aiello AE. The impact of bisphenol A and triclosan on immune parameters in the U.S. population, NHANES 2003-2006. *Environ Health Perspect* 2011; 119:390-6.
- 5) Anderson SE, Franko J, Kashon ML, Anderson KL, Hubbs AF, Lukomska E, et al. Exposure to triclosan augments the allergic response to ovalbumin in a mouse model of asthma. *Toxicological sciences: an official journal of the Society of Toxicology*. 2013;132(1):96-106.
- 6) Spanier AJ, Fausnight T, Camacho TF, Braun JM. The associations of triclosan and paraben exposure with allergen sensitization and wheeze in children. *Allergy and asthma proceedings*. 2014;35(6):475-81.
- 7) Larsson K, Ljung Bjorklund K, Palm B, Wennberg M, Kaj L, Lindh CH, et al. Exposure determinants of phthalates, parabens, bisphenol A and triclosan in Swedish mothers and their children. *Environment international*. 2014;73:323-33.

II-2. アレルギー疾患に関するパラベン・トリクロサン等の抗菌性化学物質の臨床疫学

<研究分担者>

国立成育医療研究センターアレルギーセンター センター長 大矢幸弘

<研究協力者>

国立成育医療研究センターエコチル研究部（アレルギーセンター） チームリーダー 山本貴和子
国立成育医療研究センターアレルギーセンター 非常勤医師 三井元子

平成28～30年度累計予算額：29,479千円

（うち平成28年度：9,979千円、平成29年度：10,000千円、平成30年度：9,499千円）

累計予算額は、間接経費を含む。

[要旨]

パラベン類・トリクロサン含有日用品の使用実態とパラベン類・TCS曝露とアレルギー疾患・FeNO値・IgE抗体価との関連について検証した。対象と方法は、国立成育医療研究センターに通院中の患者、職員、その家族、成育コホートに参加している中学生やその母親、妊娠中の妊婦およびその生まれてくる生後6か月の乳児を対象とした。尿中パラベン類・トリクロサン濃度を測定し、採尿日から過去3日間に使用したパラベン類・TCS含有品について質問票で調査した。アレルギー疾患の評価はISAACを使用した。成育コホート参加中の中学生に対しては、FeNO測定、IgE感作を評価した。調査結果は、パラベン類を含む日用品の使用率は小児で84.8%だった。パラベン類の使用率は、1年以内のアトピー性皮膚炎と正の関連があった。（調整オッズ比、4.61；95%信頼区間、1.23-17.3）。尿中パラベン類濃度は、1年以内のアトピー性皮膚炎患者で有意に増加していた（ $p < 0.0001$ ）。15歳以下では、尿中トリクロサン濃度はすべての小児で検出限界以下だった。成育コホートの中学生においては、パラベン類・トリクロサン曝露と呼気NO濃度上昇（NO20以上）とIgE感作には明らかな関連は認められなかった。また、生後6か月時までに喘鳴の既往がある乳児は既往のない乳児と比較して、妊娠中の母親の尿中パラベン濃度が有意に高かった。尿中パラベン類濃度は小児喘鳴と関連を認め、妊娠中にパラベン濃度が高いと生まれてくる乳児の喘鳴に影響する可能性が示唆された。パラベン類曝露について注意を払う必要があると考えられた。一方、トリクロサンは小児においては尿中から検出されず、トリクロサン曝露がほとんどないと示唆された。

[キーワード]

パラベン、トリクロサン、アトピー性皮膚炎、気管支喘息、小児

1. はじめに

先進国諸国においてアレルギー性疾患の有病率の経年的な増加が指摘されており、この増加の原因として、以前より衛生仮説という考え方が提唱されている。兄弟が少なく感染症に罹患する機会が少ないとアレルギー疾患を発症するリスクが上がるという知見、環境からのエンドトキシン（細菌の細胞壁に存在するリポ多糖）曝露が多い非都市部の住環境に住む児ではアレルギー疾患は少ないという疫学的な知見などが、その仮説の根拠となっている。しかし、近年この衛生仮説に、生活環境からの抗菌剤、防腐剤曝露という新たな側面からの解釈が加えられ始めている。[1]

米国、ノルウェーの一般の小児を対象にした複数の疫学研究で、歯磨き粉や石鹸に殺菌剤として使用されているトリクロサンの尿中濃度が高いものほど、吸入性アレルギー感作、食物アレルギー感作、アレルギー性鼻炎の頻度が高いという結果が示されている。[2, 3]米国の研究では男児における尿中のパラベン（日用品に頻用される防腐剤）の濃度と吸入性アレルギー感作が関連することも示されてい

る。[3]さらに、喘息のマウスモデルでトリクロサンがアレルギー感作における気道炎症反応を惹起しアジュバント作用を示すことも報告されている。[4]また、米国の喘息患者を対象にした調査では、尿中のトリクロサン濃度が高いほど、喘息発作が多かったという報告がある。[5]これらの殺菌剤や防腐剤への慢性的な曝露が、皮膚、腸管の細菌叢に影響を与えることによって、アレルギー性疾患リスクに関与しているのではないかと推測されている。本邦でもトリクロサンは一部の市販のハンドソープや歯磨き粉などに、パラベン化粧料やシャンプーなど幅広い日用品に使用されている。したがって、本邦においてもトリクロサンやパラベンといった化学物質曝露がアレルギー疾患発症と増悪に関連する可能性が疑われるが、これまで我が国でこのことを検証した研究報告はない。

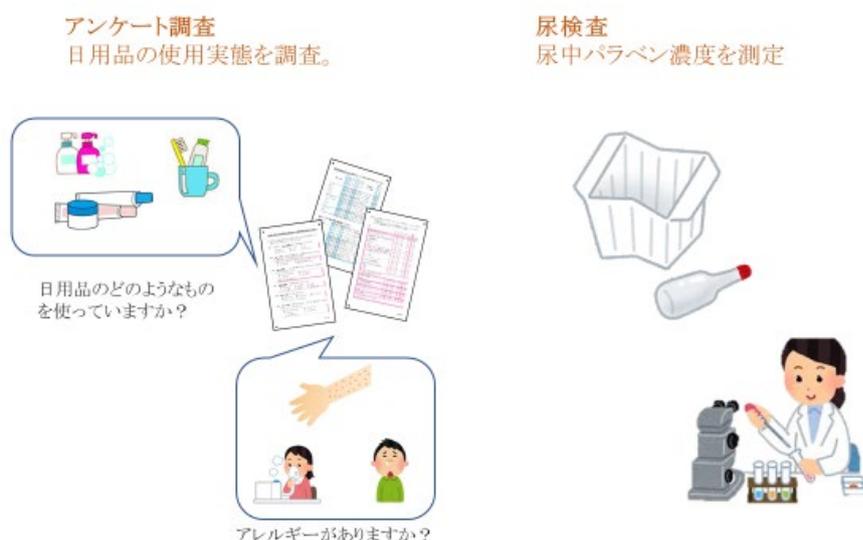
2. 研究開発目的

本研究は、パラベン類・トリクロサン曝露が、アレルギー疾患に関連するという仮説のもと、パラベン類・トリクロサンを含有する外用薬や日用品の使用実態とパラベン類・トリクロサン曝露およびアレルギー疾患やアレルギー検査値との関連について評価することを目的とする。

3. 研究開発方法

<パラベン類・トリクロサン曝露とアレルギー疾患に関する実態調査パイロット研究>

国立成育医療研究センターのアレルギー科に通院中であるアレルギー疾患患者とその家族、当院職員等とその家族、合計240名を研究対象とした。アレルギー疾患群は、アトピー性皮膚炎、食物アレルギー、気管支喘息、アレルギー性鼻炎、アレルギー性結膜炎の明らかな既往が1年以内にあるものとした。年齢構成は、2歳未満の乳児、未就学児、小学生、中学生から19歳、20歳以上の年齢カテゴリーに分け、19歳以下まではカテゴリー毎にアレルギーあり20名/なし20名、20歳以上は各々40名を目標に登録した。登録時に年齢に応じた調査票を配布し、アレルギー疾患の既往については、国際的な疫学調査で用いられているThe *International Society for Augmentative and Alternative Communication* (ISAAC) 質問票[6]を使用した。参加者は3日間使用した外用薬や日用品使用状況を調査票に記入し、翌日の早朝尿を採取し持参してもらった。その尿検体を新日本科学に郵送し、尿中パラベン類・トリクロサン濃度の分布を測定した。調査票は、使用した外用剤や日用品をリスト化し記述統計を行った。



尿試料採取方法

- ① 参加登録時に尿試料を採取する物品（採尿コップあるいは尿バック、ポリプロピレン製チューブ）を手渡しする。
- ② 来院時当日、家庭で早朝尿 2mL 以上（解析に必要な最小尿量 100-200 μ L）を採尿コップあるいは尿バックで採取したのち、ポリプロピレン製チューブに入れて採尿後 12 時間以内に国立成育医療研究センターに検体を持参する。常温で持参可とする。
- ③ 尿試料は、院内ラボ（SRL）にてパラベン類・トリクロサン測定用の尿試料（1ml）とクレアチニン測定用（1ml）に分注する。
- ④ パラベン類・トリクロサン測定用の尿試料は-20℃で保存し、株式会社新日本科学へ検体を凍結輸送する。

尿試料測定・解析方法

- ① 株式会社新日本科学が輸送された尿試料を用いて、尿中パラベン類・トリクロサン濃度を測定する。
- ② SRL は尿中クレアチニンを測定する。
- ③ パラベン類・トリクロサンの尿中濃度は、尿中クレアチニン濃度で補正する。

<中学生とその母親におけるパラベン類・トリクロサン曝露とアレルギー疾患・アレルギー検査値との関連>

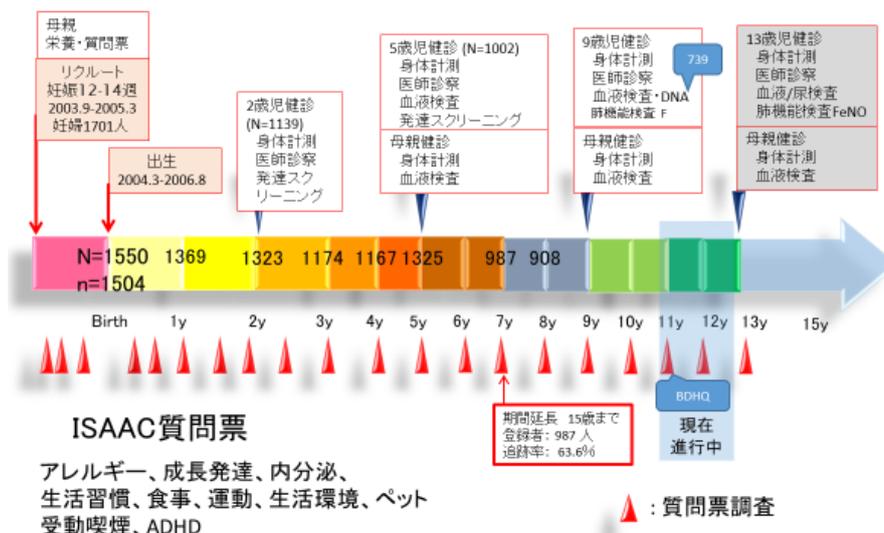
成育コホート研究[7-11]（成育医療の長期追跡データの構築と活用に関する研究「成育コホート研究における9歳健診での血液検査・13歳健診」）に参加する児と、その母親、計約500名を対象とした[図（2）-1]。

成育コホート研究は、成育医療研究センターで出産予定となっている妊婦を2003年から2005年までにリクルートし、前方視的に追跡調査をしている一般集団を対象とした出生コホート研究である。現在、13歳の参加者をフォローしている。本研究では、成育コホートに参加している対象者の中から、本研究に参加希望するものを追加調査するものとした。成育コホートの参加者は、質問票調査に加えて、血液検査による特異的IgE抗体価（コンポーネント）測定を行い、アレルギー感作評価を行った。IgE抗体価については、図（2）-2の通りImmunoCAP ISAC法を採用し、微量の血液で多くのコンポーネントへの感作が測定できる測定法を採用した。また、肺機能検査（スパイロメトリ）や気道炎症を評価する呼気一酸化窒素濃度（FENO値）を測定した。FENOについては、NIOX VEROを使用し、簡便に気道炎症の測定を行った。アレルギー疾患の既往については、国際的な疫学調査で用いられているISAAC質問票[6]を使用した。

研究参加、登録時に年齢に応じた調査票を配布し、参加者は3日間使用した外用薬や日用品使用状況を調査票に記入し、翌日の早朝尿を採取し持参する。その尿検体を新日本科学に郵送し、尿中パラベン類・トリクロサン濃度の分布を測定した。測定された数値は尿中クレアチニン濃度で補正した。また成育コホート研究で得られた血液検査やFeNO検査の結果を利用し、その関連について解析した。

成育コホート研究

Tokyo Children's Health, Illness and Development; T-CHILD



図(2) - 1 成育コホート研究の概要



図(2) - 2 成育コホート研究における特異的IgE抗体価 (コンポーネント測定)

<妊婦と出生児のパラベン類・トリクロサンを含有する日用品の使用実態と曝露評価>

本人もしくは配偶者もしくは児にアトピー性皮膚炎の既往をもつ者が1人以上いる妊婦、計120名を研究対象とした。妊娠時の登録時に調査票を配布し、参加者は3日間使用した外用薬や日用品使用状況を調査票に記入し、翌日の早朝尿を採取し持参する。その尿検体を新日本科学に郵送し、尿中パラベン類・トリクロサン濃度の分布を測定した。測定された数値は尿中クレアチニン濃度で補正した。また、出産後6か月後に出生児に関する調査票を配布し、アレルギー疾患について調査した。

<研究実施に関する倫理的事項>

すべての研究は、国立成育医療研究センター倫理委員会の承認のもとで実施した。

図（２）－３ 研究の情報の流れ図

４．結果及び考察

＜パラベン類・トリクロサン曝露とアレルギー疾患に関する実態調査パイロット研究＞

パラベン類を含む日用品の使用率は小児で84.8%だった[表（２）－１]。パラベン含有日用品の種類については、処方された軟膏が33.9%と最も高く、次に多かったのがヘアウォッシュ&ケア用品が25%、化粧品が20.5%であった[図（２）－４]。パラベン類の使用率は、1年以内のアトピー性皮膚炎と正の関連があった。（調整オッズ比、4.61；95%信頼区間、1.23-17.3）[表（２）－２]。パラベン含有日用品を使用している群が、使用していない群と比較して優位に尿中パラベン濃度が高かった[図（２）－５]。1年以内のアレルギー疾患の有無と尿中パラベン濃度は有意な差が認められなかったが[図（２）－６]、尿中パラベン類濃度は、1年以内のアトピー性皮膚炎患者で有意に増加し（ $p < 0.0001$ ）、1年以内の喘鳴患者は増加傾向を示した（ $p = 0.0535$ ）[図（２）－７]。15歳以下では、尿中トリクロサン濃度はすべての小児で検出限界以下だった。尿中パラベン類濃度は小児アトピー性皮膚炎Aと関連を認め、パラベン類について注意を払う必要がある。一方、トリクロサンは小児においては尿中から検出されず、トリクロサン曝露がほとんどないと考えられる。

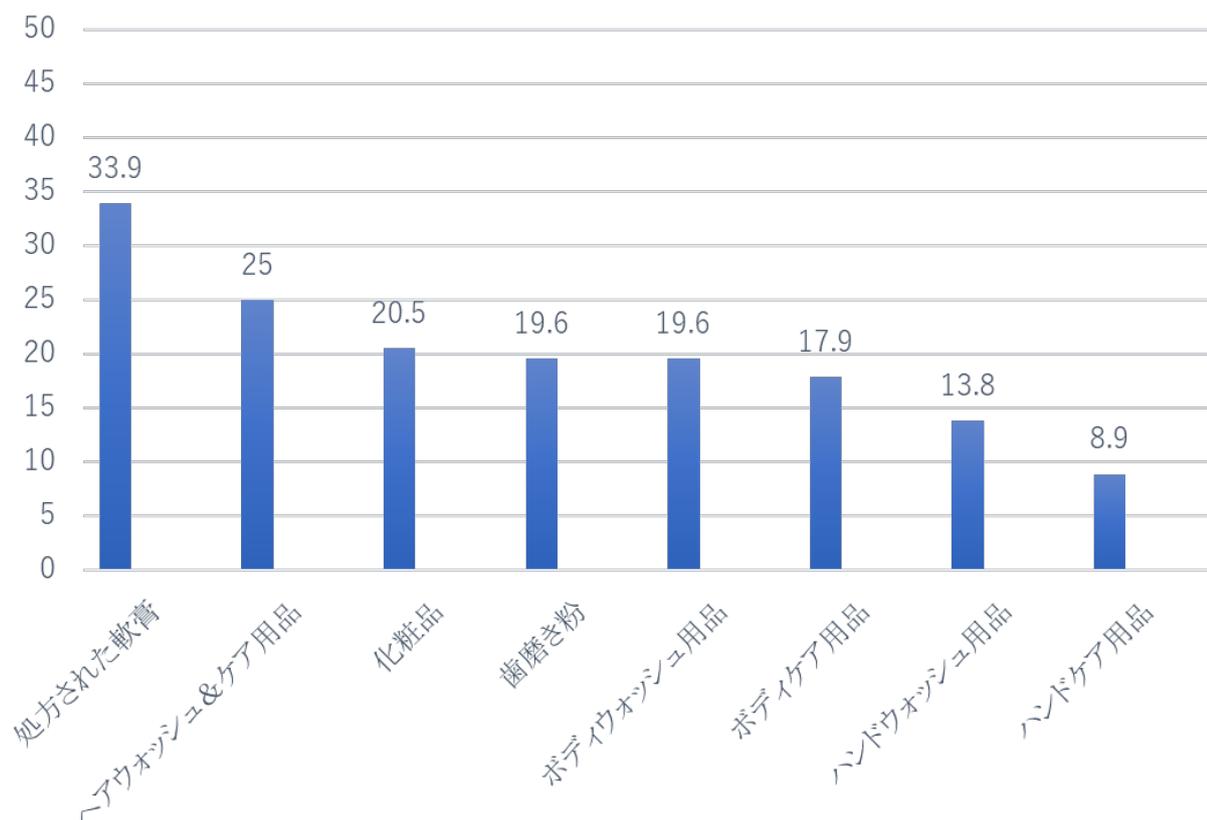
表（２）－１ 参加者の属性

Table 1. Clinical characteristics of the study population

Variable	All (n = 223)	≤15 years (n = 138)	≥16 years (n = 85)
Male sex	113 (50.7)	79 (57.2)	34 (40)
Age of year, median (IQR)	13 (0-68)	7 (0-15)	34 (16-68)
Current AD, yes	63 (28.3)	49 (35.5)	14 (16.5)
Current BA, yes	20 (9.0)	16 (11.6)	4 (4.7)
Current AR, yes	83 (37.2)	59 (42.8)	24 (28.2)
Current wheezing, yes	37 (16.6)	30 (21.7)	7 (8.2)
Current any allergy ≥ 1, yes	121 (54.3)	88 (63.8)	33 (38.8)
Active or passive smoking, yes	27 (12.1)	13 (9.4)	14 (16.5)
Users of daily commodities containing Pb, yes	187 (83.9)	117 (84.8)	70 (82.4)
Users of daily commodities containing TCS, yes	20 (9.0)	14 (10.1)	6 (7.1)
Urinary Pb concentration (pmol/Cr), 0th:25th:median:75th:100th	0:0:0:39.7:41,150.9	0:0:8.3:94.85:41,150.9	0:0:0:6.80:86.4
Urinary TCS concentration (nmol/mL)	<LOD	<LOD	<LOD

Values are presented as number (%) or median (interquartile range) unless otherwise indicated.

IQR, interquartile range; AD, atopic dermatitis; BA, asthma; AR, allergic rhinitis; LOD, limits of detection; Pb, paraben; TCS, triclosan.



図（２）－４ パラベン含有日用品の使用頻度

表（２）－２ パラベン類およびトリクロサン使用とアレルギー疾患に対するロジスティック解析

Table 2. Logistic regression analysis of allergic diseases and Pb and TCS user ≤15 years

Variable	Crude OR	95% CI	Adjusted OR	95% CI
Pb user				
Current AD	3.887	1.084–13.944	4.610	1.230–17.300
Current BA	NA	NA	NA	NA
Current AR	1.010	0.395–2.584	0.953	0.352–2.580
Current wheeze	2.990	0.655–13.600	3.160	0.683–14.600
TCS user				
Current AD	0.273	0.059–1.274	0.268	0.055–1.310
Current BA	0.559	0.068–4.585	0.571	0.0694–4.70
Current AR	1.365	0.451–4.131	1.300	0.403–4.210
Current wheeze	0.252	0.032–2.010	0.258	0.032–2.080

Pb, paraben; TCS, triclosan; OR, odds ratio; CI, confidence interval; AD, atopic dermatitis; BA, asthma; AR, allergic rhinitis; NA, not applicable.

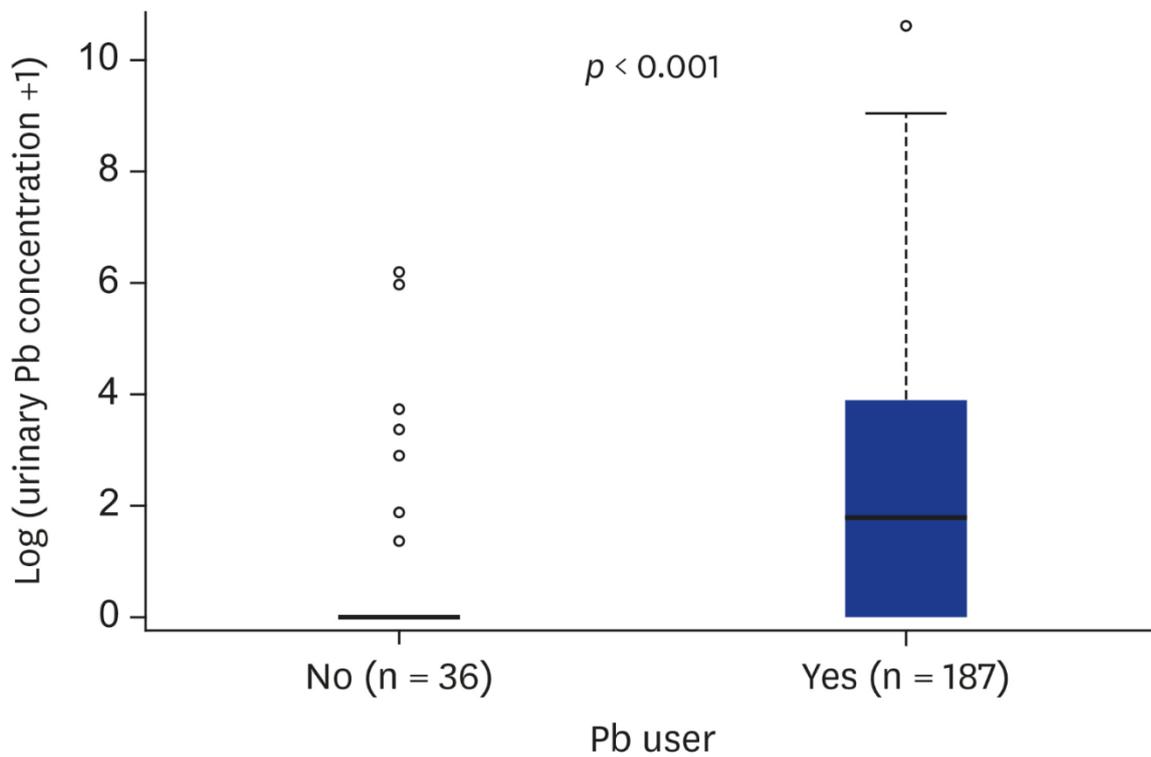


図 (2) - 5 パラベン含有日用品の有無とパラベン濃度の関連

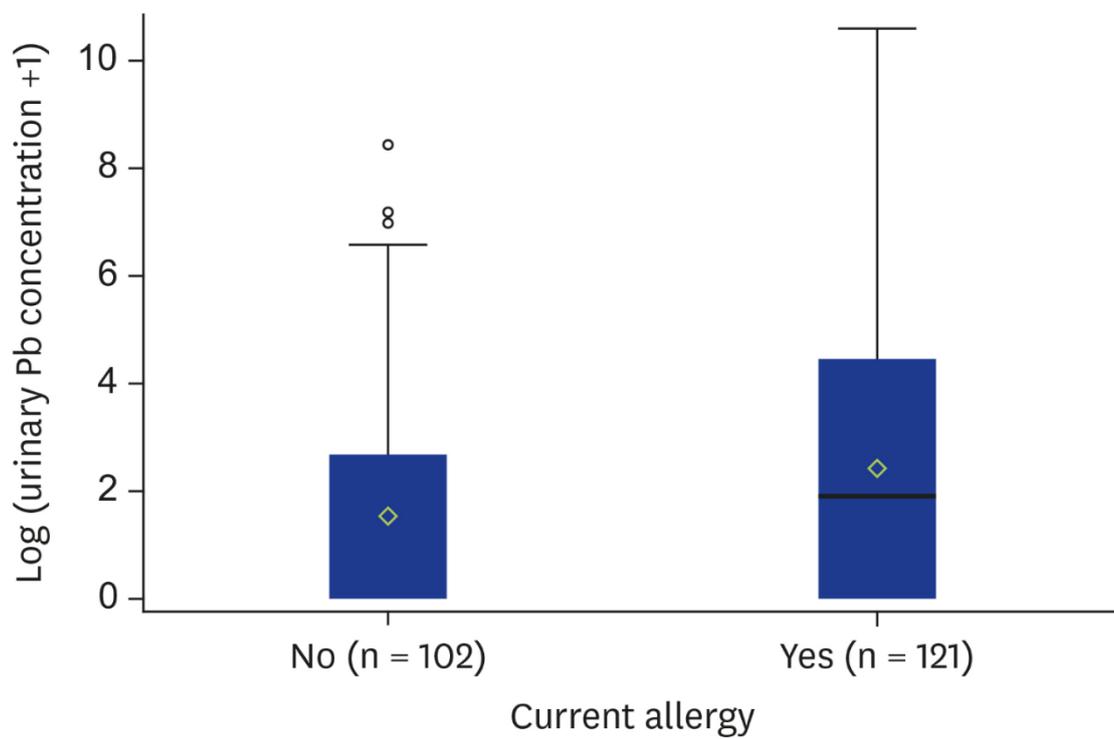
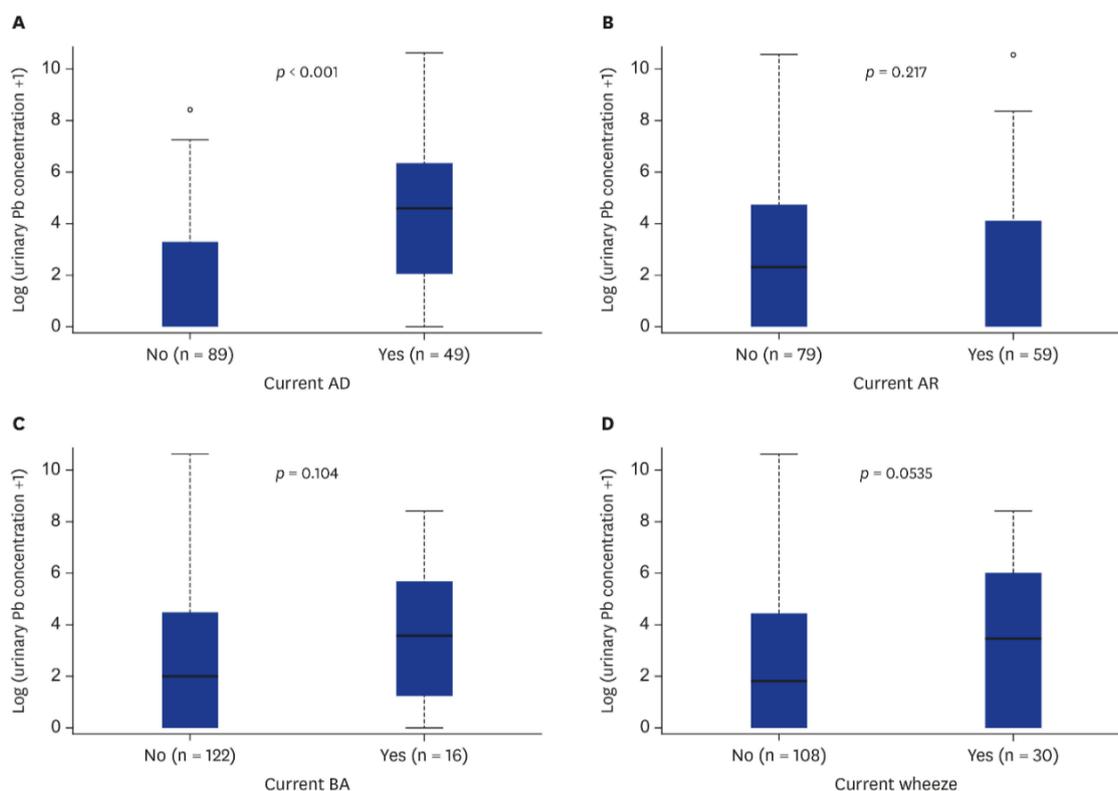


図 (2) - 6 アレルギー疾患の有無と尿中パラベン濃度と1年以内についての比較



図（2）－7 アレルギー疾患の有無と尿中パラベン濃度

A: アトピー性皮膚炎の有無による比較、B:気管支喘息の有無による比較、
C:喘息の有無による比較、D:喘鳴の有無による比較

<中学生とその母親におけるパラベン類・トリクロサン曝露とアレルギー疾患・アレルギー検査値との関連>

呼気NO濃度上昇（NO20以上）と感作ありでは関連がみられた（ $P < 0.001$ ）が、尿中パラベン類・トリクロサン濃度とは明らかな関連がみられなかった[図（2）－8]。また、IgE感作と尿中パラベン・トリクロサン濃度についても明らかな関連は認められなかった[図（2）－9]。

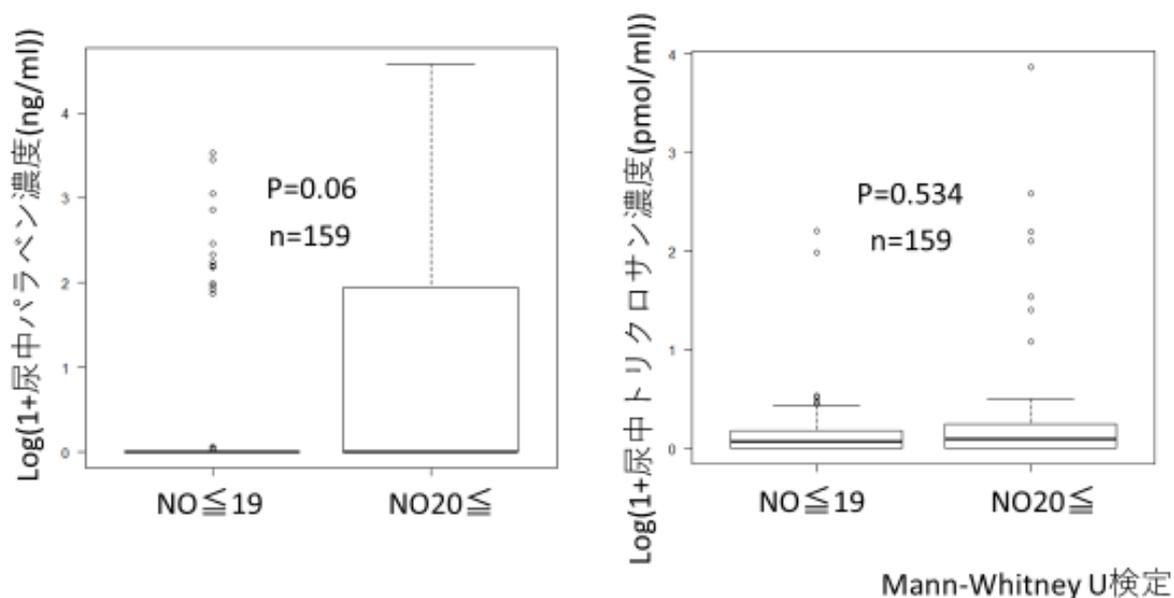
表（2）－3 成育コホート母親の属性

	All
N	217
female(%)	217 (100)
midian age(y)IQR	47(32-58)
current/past Atopic Dermatitis yes(%)	34(15.7)/12(5.5)
current/past Bronchial Asthma yes(%)	3(1.4)/22(10.1)
current/past Allergic Rhinitis yes(%)	72(33.2)/16(7.4)
current/past Allergic Conjunctivitis yes(%)	30(13.8)/14(6.5)
current/past Food Allergy yes(%)	5(2.3)/8(3.7)
Urinary Pb concentration(pmol/Cr)	
0th/25th/median/75th/100th	0/0/15.1/817.8
Urinary TCS concentration(ng/ml)	
0th/25th/median/75th/100th	0/0/0.10/0.19/2.0
current...1年以内の症状 past...既往のみ	

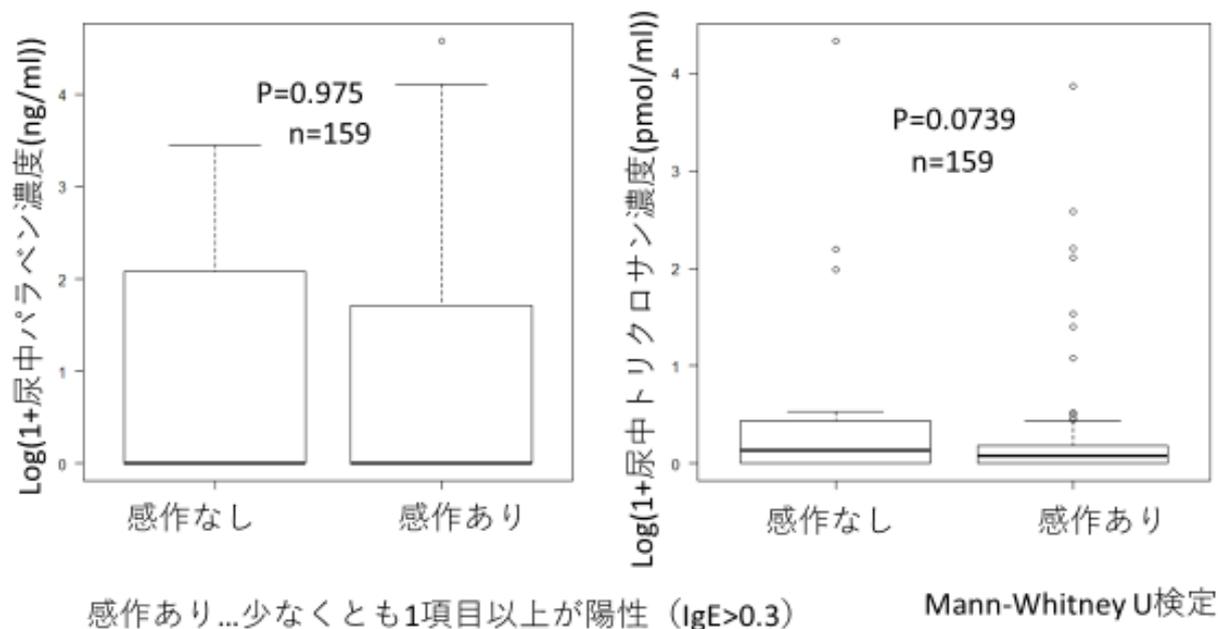
表(2) - 4 成育コホート中学生の属性

	All
N	254
male(%)	127(50)
midian age(y)IQR	13(12-13)
current/past Atopic Dermatitis yes(%)	38(15.0)/24(9.4)
current/past Bronchial Asthma yes(%)	12(4.7)/33(13.0)
current/past Allergic Rhinitis yes(%)	118(46.5)/18(7.1)
current/past Allergic Conjunctivitis yes(%)	36(14.2)/16(6.3)
current/past Food Allergy yes(%)	15(5.9)/11(4.3)
median NO IQR	5(5-128)
Sensitization (more than one antigen positive)	198(81.8)
median numbers of sensitization	6(0-41)
Urinary Pb concentration(pmol/Cr)	
0th/25th/median/75th/100th	0/0/0/4.8/96.7
Urinary TCS concentration(ng/ml)	
0th/25th/median/75th/100th	0/0/0.10/0.23/75.3

current...1年以内の症状 past...既往のみ



図(2) - 8 FeNOと尿中パラベン・トリクロサン濃度



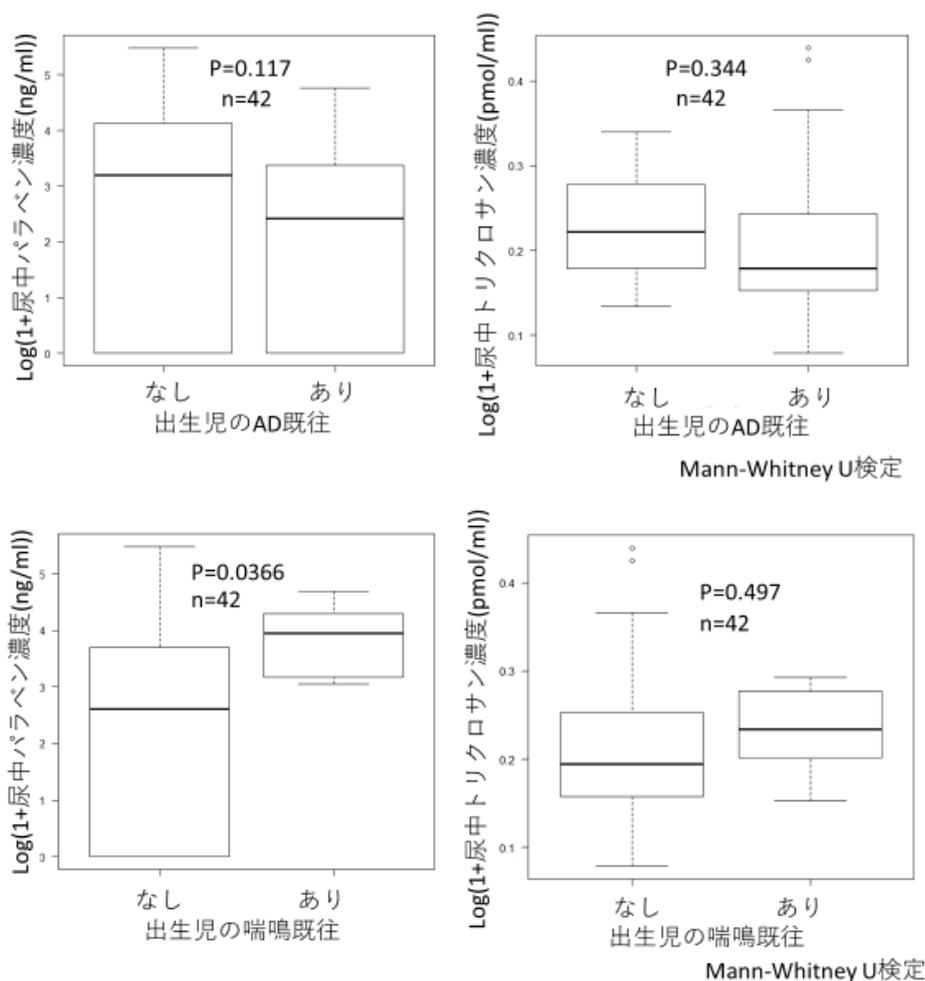
図(2)-9 IgE感作と尿中パラベン・トリクロサン濃度

<妊婦と出生児のパラベン類・トリクロサンを含有する日用品の使用実態と曝露評価>

図(2)-10より、6か月時までに喘鳴の既往がある乳児は既往のない乳児と比較して、妊娠中の母親の尿中パラベン濃度が有意に高かった ($P=0.0366$)。6か月までにアトピー性皮膚炎がある乳児は既往のない乳児と比較して、妊娠中の母親の尿中パラベン濃度に有意な差は認められなかった。今回は対象者が少なかったこともあり、対象者数が多ければ有意な差が認められたかもしれない。

表(2)-5 妊婦の参加者の属性

	All
N	116
male(%)	116(100)
midian age(y)IQR	37(26-46)
current/past Atopic Dermatitis yes(%)	22(19.0)/42(3.4)
current/past Bronchial Asthma yes(%)	8(6.9)/10(8.6)
current/past Allergic Rhinitis yes(%)	37(6.0)/22(19.0)
current/past Allergic Conjunctivitis yes(%)	9(7.8)/17(14.7)
current/past Food Allergy yes(%)	12(10.3)/16(13.8)
current Wheezing	20(17.2)
Urinary Pb concentration(pmol/Cr)	
0th/25th/median/75th/100th	0/0/12.5/46.5/1881
Urinary TCS concentration(ng/ml)	
0th/25th/median/75th/100th	0/0.19/0.30/0.51/1.7
current...1年以内の症状	past...既往のみ



図(2) - 10 妊婦のパラベン類・トリクロサン濃度と生後6か月時のアトピー性皮膚炎(AD)と喘息の関連

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

本サブテーマでは、パラベン類・トリクロサン含有日用品の使用実態とパラベン類・TCS曝露とアレルギー疾患・FeNO値・IgE抗体価との関連について検証した。対象と方法は、国立成育医療研究センターに通院中の患者、職員、その家族、成育コホートに参加している中学生やその母親、妊娠中の妊婦およびその生まれてくる生後6か月の乳児を対象とし、様々な集団を対象とした。調査結果は、パラベン類を含む日用品の使用率は小児で84.8%だった。パラベン類の使用率は、1年以内のアトピー性皮膚炎と正の関連があった。(調整オッズ比、4.61; 95%信頼区間、1.23-17.3)。尿中パラベン類濃度は、1年以内のアトピー性皮膚炎患者で有意に増加していた($p < 0.0001$)。15歳以下では、尿中トリクロサン濃度はすべての小児で検出限界以下だった。成育コホートの中学生においては、パラベン類・トリクロサン曝露と呼気NO濃度上昇(NO20以上)とIgE感作には明らかな関連は認められなかった。また、生後6か月時までには喘息の既往がある乳児は既往のない乳児と比較して、妊娠中の母親の尿中パラベン濃度が有意に高かった。尿中パラベン類濃度は小児喘息と関連を認め、妊娠中にパラベン濃度が高いと生まれてくる乳児の喘息に影響する可能性が示唆された。パラベン類曝露について注意を払う必要があると考えられた。一方、トリクロサンは小児においては尿中から検出されず、トリクロサン曝露がほとんどないと示唆された。

パラベン類やトリクロサン曝露がアレルギーに関するアウトカムとの関連について本邦初の報告となった。今回の研究から、国内でのパラベン類・トリクロサン使用実態や曝露状況を明らかとなり、小児においては尿中トリクロサンが検出限界以下であり、使用規制が進んでいることが示唆された。また、アトピー性皮膚炎とパラベン曝露が有意な関連が明らかとなった。さらに、生後6か月時までに喘鳴の既往がある乳児は既往のない乳児と比較して、妊娠中の母親の尿中パラベン濃度が有意に高く、妊娠中のパラベン曝露が小児の気道炎症に影響する可能性が示唆された。現在、環境省においてエコチル調査[12-16]が実施されており、環境化学物質曝露がどのように子どもの健康に影響を与えるかを調査するものである。本研究結果は、エコチル調査での曝露測定候補物質としてパラベンが挙げられることが提案できるのではないかと考える。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

<行政が活用することが見込まれる成果>

小児においてはすべての小児から尿中トリクロサン濃度が検出されず、トリクロサンについては国の使用規制が進んでいると示唆される。妊娠中のパラベン曝露と生まれてくる乳児の喘鳴と関連が示唆されたため、パラベン曝露についてはエコチル調査事業の曝露評価においても本研究の結果を活用し、大規模コホート調査で検討することが期待される。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文(査読あり)>

1) Mitsui-Iwama M, Yamamoto-Hanada K, Fukutomi Y, Hirota R, Muto G, Nakamura T, Yoshikawa T, Nakamura H, Mikami M, Morioka I, Ohya Y. Exposure to paraben and triclosan and allergic diseases in Tokyo: A pilot cross-sectional study. *Asia Pac Allergy*. 2019 Jan 21;9(1):e5.

<その他誌上発表(査読なし)>

特に記載すべき事項はない。

(2) 口頭発表(学会等)

1) Mitsui M, Yamamoto-Hanada K, Hirota R, Muto G, Nakamura T, Fukutomi Y, Nakamura H, Ohya Y: Daily Products Containing Paraben and Triclosan Use and Allergic Diseases In Tokyo, 2016-2017: a Cross-Sectional Study. AAAAI/WAO Joint Congress Joint Congress 2018. 3.3 Florida, USA.

2) Yamamoto-Hanada K, Mitsui M, Hirota R, Muto G, Nakamura T, Fukutomi Y, Nakamura H, Ohya Y: Daily Products Containing Paraben and Triclosan Use and Allergic Diseases In Tokyo, 2016-2017: a Cross-Sectional Study. ISEE/ISES 2018. 8.28 Ottawa, Canada.

3) 三井元子, 山本貴和子, 石川史, 宮田真貴子, 佐藤未織, 齋藤麻耶子, 宮地裕美子, 稲垣真一郎, 須田友子, 福家辰樹, 野村伊知郎, 成田雅美, 大矢幸弘. パラベン類・トリクロサンを含有する外用薬や日用品の使用実態とパラベン類・トリクロサン曝露評価. 2017 第54回日本小児アレルギー学会学術大会 2017. 11. 19 宇都宮

(3) 知的財産権

特に記載すべき事項はない

(4) 「国民との科学・技術対話」の実施

山本貴和子、大矢幸弘：シンポジウム 生活用品中のパラベン類によるアレルギー性疾患発症に関する総合的研究 第88回日本衛生学会学術総会 2018. 3.22 東京)

(5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

(6) その他

特に記載すべき事項はない。

8. 引用文献

- 1) Hampton T. Research provides new insights on how hygiene affects asthma and allergies. *Jama*. 2011;305(14):1400-1. Epub 2011/04/14. doi: 10.1001/jama.2011.434. PubMed PMID: 21486968.
- 2) Bertelsen RJ, Longnecker MP, Lovik M, Calafat AM, Carlsen KH, London SJ, et al. Triclosan exposure and allergic sensitization in Norwegian children. *Allergy*. 2013;68(1):84-91. doi: 10.1111/all.12058. PubMed PMID: 23146048; PubMed Central PMCID: PMC3515701.
- 3) Savage JH, Matsui EC, Wood RA, Keet CA. Urinary levels of triclosan and parabens are associated with aeroallergen and food sensitization. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;130(2):453-60 e7. doi: 10.1016/j.jaci.2012.05.006. PubMed PMID: 22704536; PubMed Central PMCID: PMC3720124.
- 4) Hirota R, Ohya Y, Yamamoto-Hanada K, Fukutomi Y, Muto G, Ngatu NR, et al. Triclosan-induced alteration of gut microbiome and aggravation of asthmatic airway response in aeroallergen-sensitized mice. *Allergy*. 2018. Epub 2018/10/26. doi: 10.1111/all.13639. PubMed PMID: 30353933.
- 5) Quiros-Alcala L, Hansel NN, McCormack MC, Matsui EC. Paraben exposures and asthma-related outcomes among children from the US general population. *J Allergy Clin Immunol*. 2018. doi: 10.1016/j.jaci.2018.08.021. PubMed PMID: 30194988.
- 6) Asher M, Keil U, Anderson H, Beasley R, Crane J, Martinez F, et al. International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC): rationale and methods. *European respiratory journal*. 1995;8(3):483-91.
- 7) Yamamoto-Hanada K, Yang L, Saito-Abe M, Sato M, Inuzuka Y, Toyokuni K, et al. Four phenotypes of atopic dermatitis in Japanese children: A general population birth cohort study. *Allergol Int*. 2019. Epub 2019/04/03. doi: 10.1016/j.alit.2019.02.010. PubMed PMID: 30935805.
- 8) Yang L, Narita M, Yamamoto-Hanada K, Sakamoto N, Saito H, Ohya Y. Phenotypes of childhood wheeze in Japanese children: A group-based trajectory analysis. *Pediatr Allergy Immunol*. 2018;29(6):606-11. Epub 2018/04/27. doi: 10.1111/pai.12917. PubMed PMID: 29698561.
- 9) Yamamoto-Hanada K, Yang L, Narita M, Saito H, Ohya Y. Influence of antibiotic use in early childhood on asthma and allergic diseases at age 5. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2017;119(1):54-8. Epub 2017/07/03. doi: 10.1016/j.anai.2017.05.013. PubMed PMID: 28668240.
- 10) Yamamoto-Hanada K, Futamura M, Yang L, Shoda T, Narita M, Kobayashi F, et al.

Preconceptional exposure to oral contraceptive pills and the risk of wheeze, asthma and rhinitis in children. *Allergol Int.* 2016;65(3):327-31. doi: 10.1016/j.alit.2016.02.012. PubMed PMID: 27038776.

11) Ogawa K, Tanaka S, Limin Y, Arata N, Sago H, Yamamoto-Hanada K, et al. Beta-2 receptor agonist exposure in the uterus associated with subsequent risk of childhood asthma. *Pediatr Allergy Immunol.* 2017;28(8):746-53. Epub 2017/09/12. doi: 10.1111/pai.12805. PubMed PMID: 28892561.

12) Yamamoto-Hanada K, Yang L, Ishitsuka K, Ayabe T, Mezawa H, Konishi M, et al. Allergic profiles of mothers and fathers in the Japan Environment and Children's Study (JECS): a nationwide birth cohort study. *World Allergy Organ J.* 2017;10(1):24. doi: 10.1186/s40413-017-0157-0. PubMed PMID: 28811862; PubMed Central PMCID: PMC5545861.

13) Yamamoto-Hanada K, Ishitsuka K, Pak K, Saito M, Ayabe T, Mezawa H, et al. Allergy and mental health among pregnant women in the Japan Environment and Children's Study. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2018;6(4):1421-4 e2. doi: 10.1016/j.jaip.2017.12.006. PubMed PMID: 29366732.

14) Saito M, Yamamoto-Hanada K, Pak K, Ayabe T, Mezawa H, Ishitsuka K, et al. Having small-for-gestational-age infants was associated with maternal allergic features in the JECS birth cohort. *Allergy.* 2018;73(9):1908-11. Epub 2018/05/29. doi: 10.1111/all.13490. PubMed PMID: 29802633.

15) Kawamoto T, Nitta H, Murata K, Toda E, Tsukamoto N, Hasegawa M, et al. Rationale and study design of the Japan environment and children's study (JECS). *BMC Public Health.* 2014;14:25. doi: 10.1186/1471-2458-14-25. PubMed PMID: 24410977; PubMed Central PMCID: PMC3893509.

16) Kitazawa H, Yamamoto-Hanada K, Saito-Abe M, Ayabe T, Mezawa H, Ishitsuka K, et al. Egg antigen was more abundant than mite antigen in children's bedding: Findings of the pilot study of the Japan Environment and Children's Study (JECS). *Allergology International.* 2019. doi: 10.1016/j.alit.2019.02.005.

II-3. 尿中パラベン、トリクロサン濃度測定とその妥当性の検証に関する研究

〈研究分担者〉

株式会社新日本科学 薬物代謝分析センター 中村 剛

平成28～30年度累計予算額：5,794千円

(うち平成28年度：1,995千円、平成29年度：1,950千円、平成30年度：1,848千円)

累計予算額は、間接経費を含む。

【要旨】

トリクロサン及びパラベン類の化合物の曝露を評価するため尿中トリクロサン及びパラベン類の分析は最も簡便かつ再現性があるとされている。しかしながら、感度の問題や、パラベンに限ると類似物質が多いため、十分な精度でもって測定には成功されていない。また曝露後の変動や食事の影響も十分に評価されているとは言い難い。そこでトリクロサン及びパラベン類の化合物の曝露を評価するため尿中トリクロサン及びパラベン類の分析法を確立し、実際のヒト尿中トリクロサン及びパラベン類濃度を測定することを目的とした。

標準品を用いて尿中パラベン・トリクロサン濃度測定に関してLC-MS/MS法を確立した。また事務系職成人14人(平均年齢±標準偏差、40.6 ± 9.71, 男7名、女7名)に対し、7日間のランダムな6ポイントでの採尿を実施した。尿中クレアチニンgあたりの絶対値で評価し、個人差を考慮した2元配置分散分析による日内変動を解析した。

その結果、尿中パラベンでは被験者内の有意な日内変動が認められた。特に、昼食前には最大値を記録し、有意な上昇であった。しかし、午後になると低下することが認められた。女性の方が有意に尿中パラベン濃度が高いことが認められたが、特にピーク時である昼食前の女性の値64.7 ± 91.4 pmol/Crは男性の6.54 ± 7.21 pmol/Crに比べ、約10倍の値を呈した。就業前の化粧等の外用品あるいは石鹸、シャンプーの使用などからの曝露が疑われ、尿中排泄は数時間単位で起こっている可能性が高いことが窺い知れた。摂食の影響は少ないと考えられた。

以上より、アレルギー発症に対するハイリスク指標としては、パラベン使用歴、特に石鹸、シャンプー、化粧品、保湿剤(外用剤)の使用と尿中パラベン濃度を併せて評価することが提言される。

【キーワード】

トリクロサン、パラベン類、HPLC、質量分析、尿中濃度測定

1. はじめに

トリクロサン及びパラベン類の化合物の曝露を評価するため尿中トリクロサン及びパラベン類の分析は最も簡便かつ再現性があるとされている。しかしながら、感度の問題や、パラベンに限ると類似物質が多いため、十分な精度でもって測定には成功されていない。また曝露後の変動や食事の影響も十分に評価されているとは言い難い。

2. 研究開発目的

トリクロサン及びパラベン類の化合物の曝露を評価するため尿中トリクロサン及びパラベン類の分析法を確立し、実際のヒト尿中トリクロサン及びパラベン類濃度を測定する事を目的とする。

3. 研究開発方法

標準品を用いて尿中パラベン・トリクロサン濃度測定に関してLC-MS/MS法を確立した。測定には島津製作所製HPLC Shimadzu20A及びAB Sciex社製質量分析装置API5000を用いた。検量線資料には超純水を用いて、ヒト尿に関しては超純水にて10倍希釈して測定を行った。HPLC分析カラムはShimpack XR-ODS II (2.0 mm I.D. × 75 mm, 2.2 μm, Shimadzu GLC Ltd.) を、ガードカラムにはSecurityGuard Ultra

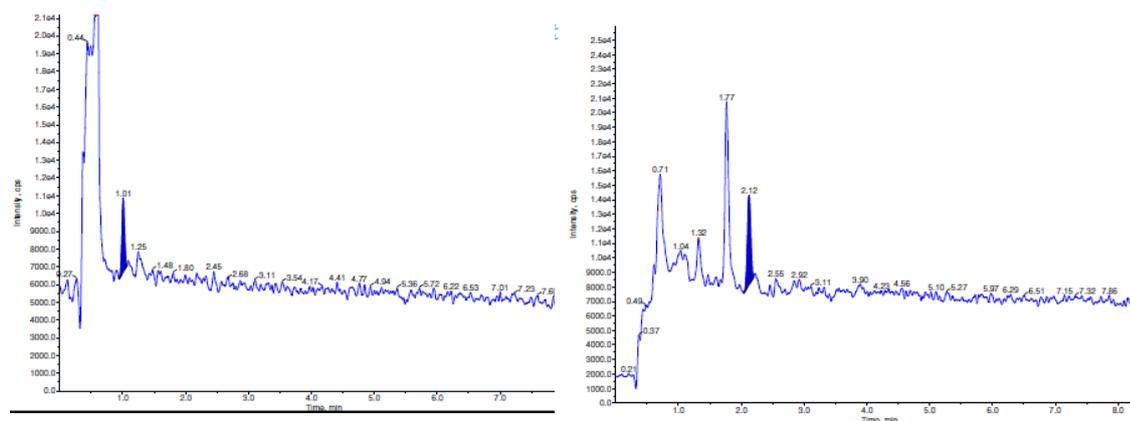
C18 (2.1 mm I.D., Shimadzu GLC Ltd.) を用いた。移動相A (0.1% 塩酸溶液) 及び移動相B (0.1% 塩酸含有アセトニトリル) のグラジエント法を用いた。MS条件としてはパラベン類はPositive modeで、トリクロサンはNegative modeで測定した。モニタイオンはメチルパラベン (Q1 : 153, Q3 : 121) 、エチルパラベン (Q1 : 167, Q3 : 139) 、イソプロピルパラベン、プロピルパラベン (Q1 : 181, Q3 : 139) イソブチルパラベン及びブチルパラベン (Q1 : 195, Q3 : 139) 、ベンジルパラベン (Q1 : 229, Q3 : 91) トリクロサン (Q1 : 287, Q3 : 35) とした。

また、上記条件にて、事務系職成人15人 (平均年齢±標準偏差、40.6 ± 9.71, 男7名、女7名) に対し、1週間7日間のランダムな6ポイントでの採尿を実施した。尿中クレアチニン g あたりの絶対値で評価し、個人差を考慮した2元配置分散分析による日内変動を解析した。

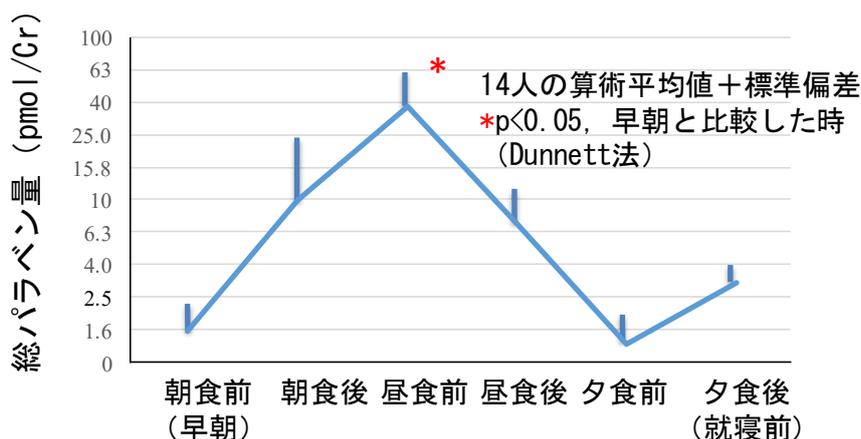
4. 結果及び考察

各化合物 (エチルパラベン、メチルパラベン、ベンジルパラベン、イソブチルパラベン、ブチルパラベン、イソプロピルパラベン、プロピルパラベン、トリクロサン) で5ng/mL~5000ng/mLの範囲において良好な直線性・再現性が得られた。検量線はピーク面積を用いた最小二乗法 (重み付け : $1/X^2$) にて算出した。またマウスに経口投与した際の尿中濃度を測定し、投与サンプルに於いて濃度が検出し、分析法に関してその妥当性が検証された。その結果、MS/MSシステムとHPLCシステムを用い、パラベン及びパラベン類の高感度測定のための測定条件が確立された (図(3)-1) 。すべての被検者の尿においてトリクロサンは検出されなかった。尿中パラベンでは被験者内の有意な日内変動が認められた。特に、昼食前には最大値を記録し、有意な上昇であった。しかし、午後になると低下することが認められた。女性の方が有意に尿中パラベン濃度が高いことが認められたが、特にピーク時である昼食前の女性の値 64.7 ± 91.4 pmol/Crは男性の 6.54 ± 7.21 pmol/Crに比べ、約10倍の値を呈した (図(3)-2) 。就業前の化粧等の外用品あるいは石鹸、シャンプーの使用などからの曝露が疑われ、尿中排泄は数時間単位で起こっている可能性が高いことが窺い知れた。摂食の影響は少ないと考えられた。パラベン類の内訳はメチルパラベン、プロピルパラベンであり、若干エチルが見られた。文献上細胞毒性が強いとされているブチルパラベンは全ての試料で定量下限以下であった。以上より、尿中パラベン類の評価には日内変動を考慮する必要があることがわかった。

以上より、アレルギー発症に対するハイリスク指標としては、パラベン使用歴、特に石鹸、シャンプー、化粧品、保湿剤 (外用剤) の使用と尿中パラベン濃度を併せて評価することが提言される。



図(3)-1 メチルパラベン (左) とエチルパラベン (右) のクロマトグラム



	男	女
朝食前	2.42 ± 6.39	0.69 ± 1.83
朝食後	7.48 ± 12.69	12.58 ± 15.37
昼食前	6.54 ± 7.21	64.7 ± 91.4***
昼食後	7.74 ± 7.86	6.78 ± 9.54
夕食前	1.25 ± 2.31	1.32 ± 2.95
夕食後	2.93 ± 5.24	3.43 ± 6.27

***p<0.01, 男と比較した時

図(3) - 2 尿中総パラベン量の日内変動

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

1) これまでパラベンに対する曝露指標に対する十分な検証が行われてこなかったが、尿を用いたMS/MSシステムとHPLCシステムによって、パラベン及びパラベン類の高感度測定のための測定条件を確立し、パラベン類としての曝露指標を開発した。

2) これまで尿中パラベン類の日内変動にはほとんど言及されてこなかったが、本研究により、尿中パラベンでは被験者内の有意な日内変動が認められ、特、昼食前には最大値を記録し、有意な上昇であることを認め、今後、尿中パラベン類の評価には日内変動を考慮する必要があることがわかった。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

<行政が活用することが見込まれる成果>

アレルギー発症に対するハイリスク指標としては、パラベン使用歴、特に石鹸、シャンプー、化粧品、保湿剤(外用剤)の使用と尿中パラベン濃度を併せて評価することが提言される。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文(査読あり)>

特に記載すべき事項はない。

<その他誌上発表(査読なし)>

特に記載すべき事項はない。

(2) 口頭発表(学会等)

1) 中村剛

アレルギー感作したモデルマウスにおいて、トリクロサンやパラベンを曝露するとアレルギー反応が増強されるだろうか？

シンポジウム「生活用品中のパラベン類によるアレルギー性疾患に関する総合的研究」

第88回日本衛生学会学術総会 2018. 3.22 東京

(3) 知的財産権

特に記載すべき事項はない。

(4) 「国民との科学・技術対話」の実施

1) 市民公開シンポジウム「生活用品中のパラベン類によるアレルギー性疾患発症に関する総合的研究」(主催: 第88回日本衛生学会学術総会、2018年3月22日、東京工科大学、観客約300名)にて講演

(5) マスコミ等への公表・報道等

特に記載すべき事項はない。

(6) その他

特に記載すべき事項はない。

8. 引用文献

特に記載すべき事項はない。

Ⅱ-4. 動物実験によるパラベン・トリクロサン等の抗菌性物質のアレルギー発症における病理免疫学的機序解明

研究分担者 学校法人松商学園 松本大学 人間健康学部健康栄養学科 弘田量二

平成28～30年度累計予算額：8,849千円

(うち平成28年度：2,999千円、平成29年度：2,999千円、平成30年度：2,849千円)

累計予算額は、間接経費を含む。

【要旨】

近年、トリクロサンは動物実験において甲状腺やエストロゲン、テストステロンなどに影響を与え、一般細菌の薬剤耐性を強化してしまう可能性が指摘されている。一方、パラベン類においてもエストロゲン作用や抗アンドロゲン活性の報告があり、内分泌かく乱作用が疑われている。本プロジェクトではトリクロサンにはダニ抗原感作したマウスにおいて、アレルギー反応を増強させることを見出した。また、パラベン類についてもアレルギー増強効果を確認できた。そのメカニズムの一端として、これら物質の曝露による腸内細菌バランスの崩れによる、アレルギー抑制免疫細胞の減少の可能性が考えられた。さらに、パラベン類（安息香酸エチル、メチル、ブチル）においても、トリクロサン同様にアレルギー増強効果が確認されている（論文準備中）。

このように、抗菌剤・防腐剤の日常的な曝露は、アレルギーにかかりやすい人にとっては、アレルギー増強させる可能性が考えられ、日常生活における抗菌剤利用のメリットを見直す必要があるかもしれないと、申請者は考える。

【キーワード】 ダニ抗原吸入マウス、腸内細菌叢、サイトカイン、気道過敏性、好酸球

1. はじめに

私たちは日常的に抗菌剤や防腐剤入りの薬用石鹸、うがい薬、食器用洗剤、マウスウォッシュ、歯磨き粉、手指の消毒剤、及び化粧品など、様々な衛生用品を利用している。これらの製品は、私たちが現代社会を衛生的な生活をしていく上でなくてはならないものとなっている。しかしながら、私たちが使っている抗菌剤や防腐剤は、皮膚や口腔を通じて体内に吸収されると腸マイクロバイオームのバランスを崩し、有用な菌を殺してしまうことでアレルギー疾患の増加につながるのだろうか。

抗菌剤のトリクロサン（英語：Triclosan）は、医薬部外品の薬用石鹸、うがい薬、食器用洗剤、マウスウォッシュ、歯磨き粉、手指の消毒剤、及び化粧品など、様々な衛生用品で使用されている一般的な家庭用抗菌剤である。しかしながら、甲状腺や女性ホルモンのエストロゲン、男性ホルモンのテストステロンなどに影響を与える内分泌かく乱物質である可能性であることが動物での研究で知られており(1-3)、また、抗生物質に対する薬剤耐性強化の可能性も指摘されている。さらに、薬用石けんは通常のせっけんと比べて優れた殺菌効果があるとは言えない理由も加わって、アメリカ食品医薬品局

(FDA)は、トリクロサンなど19種類の殺菌剤を含んでいる一般用抗菌石鹸の販売を2017年9月に禁止されている(4)。しかしながら、今回の販売禁止には、病院などの医療機関で使用されている手の消毒薬などは含まれていない。また、防腐剤であるパラベン類（安息香酸）は、化粧品、衛生製品、栄養補助ドリンクなどにも含まれており、トリクロサン同様にアレルギー誘導が懸念されている。

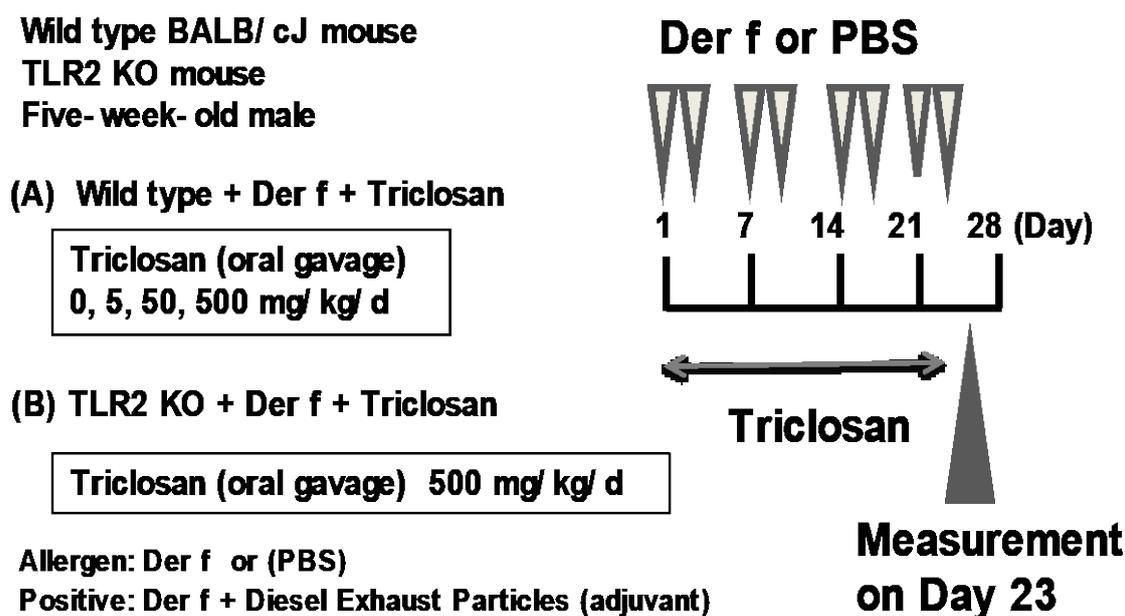
2. 研究開発目的

このように人体への有害性が指摘されておりながら未だに使い続けられているトリクロサンは、アレルギーに罹りやすい人が使った場合にどのような悪い影響が出るのだろうか。このことについては、未だ明らかになっていなかった。

したがって、本プロジェクトでは、トリクロサンがアレルギーを増悪するか検討した。また、パラベン類についても実験を行った。また、次にアレルギー誘導が懸念されている防腐剤であるパラベン類についてもアレルギーを増悪するか検討した。

3. 研究開発方法

本グループは、ダニ抗原感作マウスに、抗菌剤トリクロサンを飲ませて、トリクロサンを飲ませなかったマウスと比較してみた（図（4）－1）（5）。BALB/c 5週齢 オスに対してダニ抗原感作期間中（気管内投与8回、4週間）、一日あたり0.1～50ミリグラムのトリクロサン含有エサを給餌後（パラベンでは一日あたり4-Hydroxybenzoateを0.01-0.3ミリグラム）、気道抵抗性、ダニ抗原(Der f)特異的IgE(Derf-IgE)、肺包洗浄液中(BALF)の炎症細胞数やサイトカイン濃度測定(IL-4、IL-13)、肺病理標本観察をおこなった。また、盲腸内容物を採取し腸内細菌叢および腐敗物・有機酸濃度の解析をおこなった。データ解析は抗菌剤非投与群との比較をOne-way ANOVAで行った。



図（4）－1 研究のプロトコール

4. 結果及び考察

その結果、明らかに気管支喘息の特徴である、気道過敏性の悪化（図（4）－2）、肺への好酸球の集積、肺洗浄液のTh2型サイトカイン（IL-4、およびIL-13）濃度の上昇（図（4）－4）、血液中のアレルゲン特異的IgE抗体が上昇が現れた（図（4）－3）。さらに、肺組織にコラーゲンおよび好酸球が増加し、杯細胞の過形成の増加も認めた（図（4）－5）。一方、遺伝的にダニ抗原に反応しないToll Like Receptor 2欠損マウス（アレルギー体質でないことを想定）では、ダニ抗原とトリクロサンの両方を与えても全く喘息の特徴は現れなかった（図（4）－2）。

次に、それぞれの実験群マウスの糞便中の細菌遺伝子を解析したところ、ダニ抗原とトリクロサンの両方を与えたマウスではトリクロサン投与Derf感作マウスにおける*c_Deltaproteobacteria*、*c_Clostridia*および*c_Erysipelotrichi*の細菌16S rRNA遺伝子のコピー数は、トリクロサン用量依存的に増加した。対照的に、*c_Bacteroidia*の細菌16S rRNA遺伝子のコピー数は減少した（図（4）－6）。

Gaoらはトリクロサン投与マウスにおいて、*c_Clostridia;o_Clostridiales;Other*、*c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Clostridiaceae*、*c_Clostridia;o_Clostridiales;f_Christensenellaceae*の16S RNAの細菌遺伝子の量が増加していることを報告しており(6)、著者らの研究もほぼ同様の結果を示した。

アレルギー反応を抑制するための調節性T細胞（Treg）の役割が判明しつつある。近年の研究では、*Clostridium*属がマウス腸管に誘導されたTreg細胞の蓄積を誘導したことが報告されており、*Clostridium butyricum*感染はSmad経路を介してTGF- β を活性化し(7)、アレルギー疾患を抑制する*Clostridium*の可能性を示唆している。本研究では、サンプル中の*Clostridium*は分類せず、サンプル間で末梢血Treg細胞の割合に差はなかった。従って、トリクロサンの曝露がTreg細胞の数を減少させるかどうかを明らかにすることはできなかった（図（4）－7）。

本グループのデータは、*Deltaproteobacteria*、*Erysipelotrichi*および*Clostridia*の16S RNAの細菌遺伝子の豊富さが用量依存的にトリクロサン処理マウスにおいて増加したが、対照的に、*Bacteroidia*はそれらのマウスにおいて減少したことを示した。腸内微生物の組成は、トリクロサン処理後に変化し、これらのマウスにおける喘息疾患の悪化と相関していた。これらのデータは、トリクロサン投与アレルゲン感作マウスと腸内微生物との間に潜在的な関係があることを示している。

上記のように、*Clostridium*のある種や乳酸菌などが腸内環境を整えてアレルギー抑制していると言われている。今回明らかになった点から、抗菌剤などのアレルギー増強のメカニズムについて考察すると（図（4）－8）、*B. fragilis*のようなバクテリアの細菌表面の糖鎖がTLR2にシグナルをインプットすることで、制御性T細胞が増加しアレルギーを抑制する。したがってTLR2はアレルギー反応に必要である。また、マウス盲腸内容物に含まれる、酢酸やプロピオン酸、n酪酸の現象とアレルギー増悪が明らかな正の相関を示していたので、これら物質が制御性T細胞の増加に関わるという先行文献の知見と照らし合わせると、これらを産生する菌の減少は、アレルギー増悪を加速すると考えられる。

しかしながら、今回の研究における腸内細菌類がアレルギー抑制に直接関与するののかについては、直接的な証明実験を行っていないので、今後の研究で明らかにする必要がある。

結論として、トリクロサンを飲用させたダニ抗原吸入マウスではアレルギー性気管支喘息状態を悪化させ、この状態は腸内細菌の特定の細菌の増減と関連があった。パラベンについても結果はトリクロサンとほぼ同様な結果であった（論文準備中）。

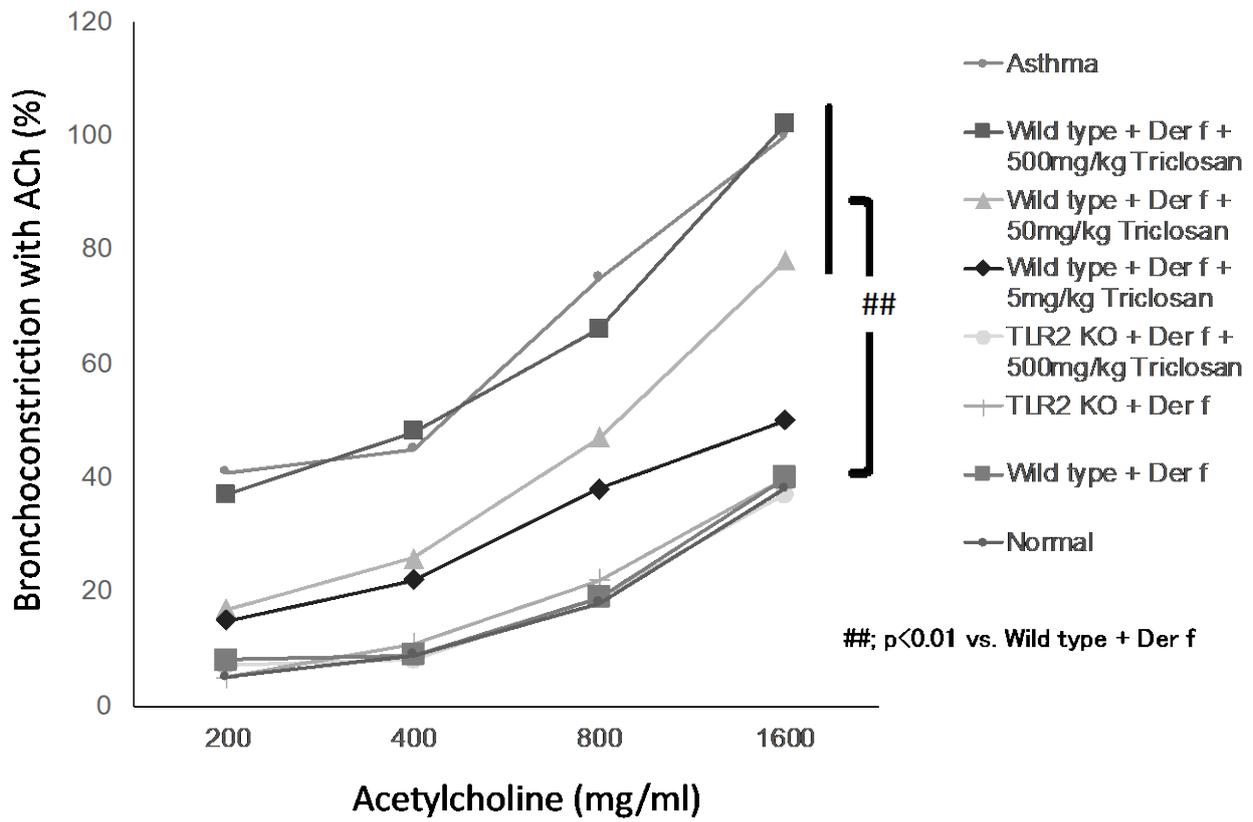


図 (4) - 2 アセチルコリンに対するマウス気道過敏性

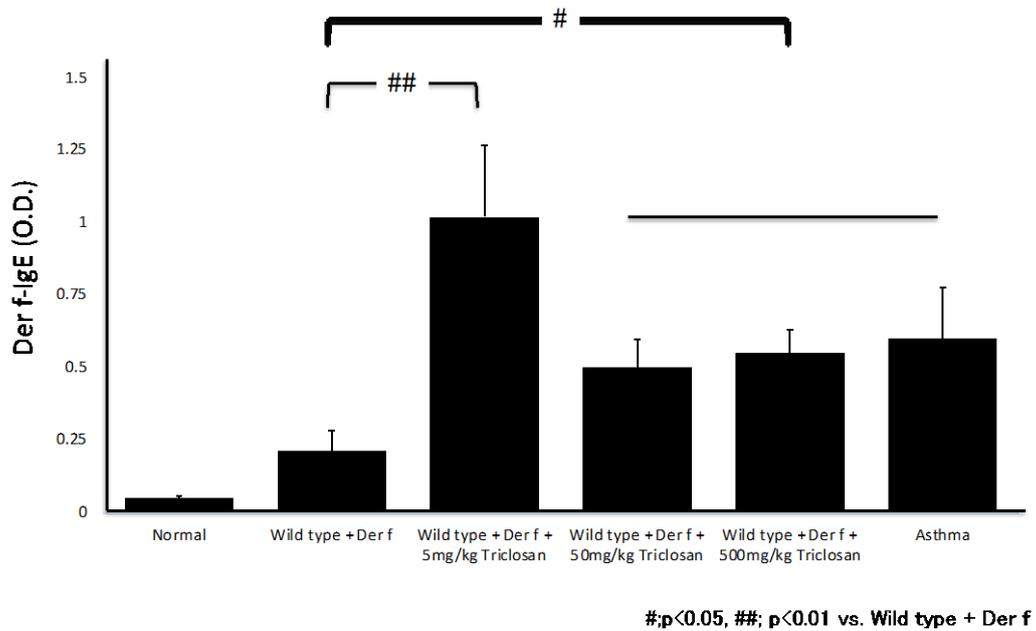
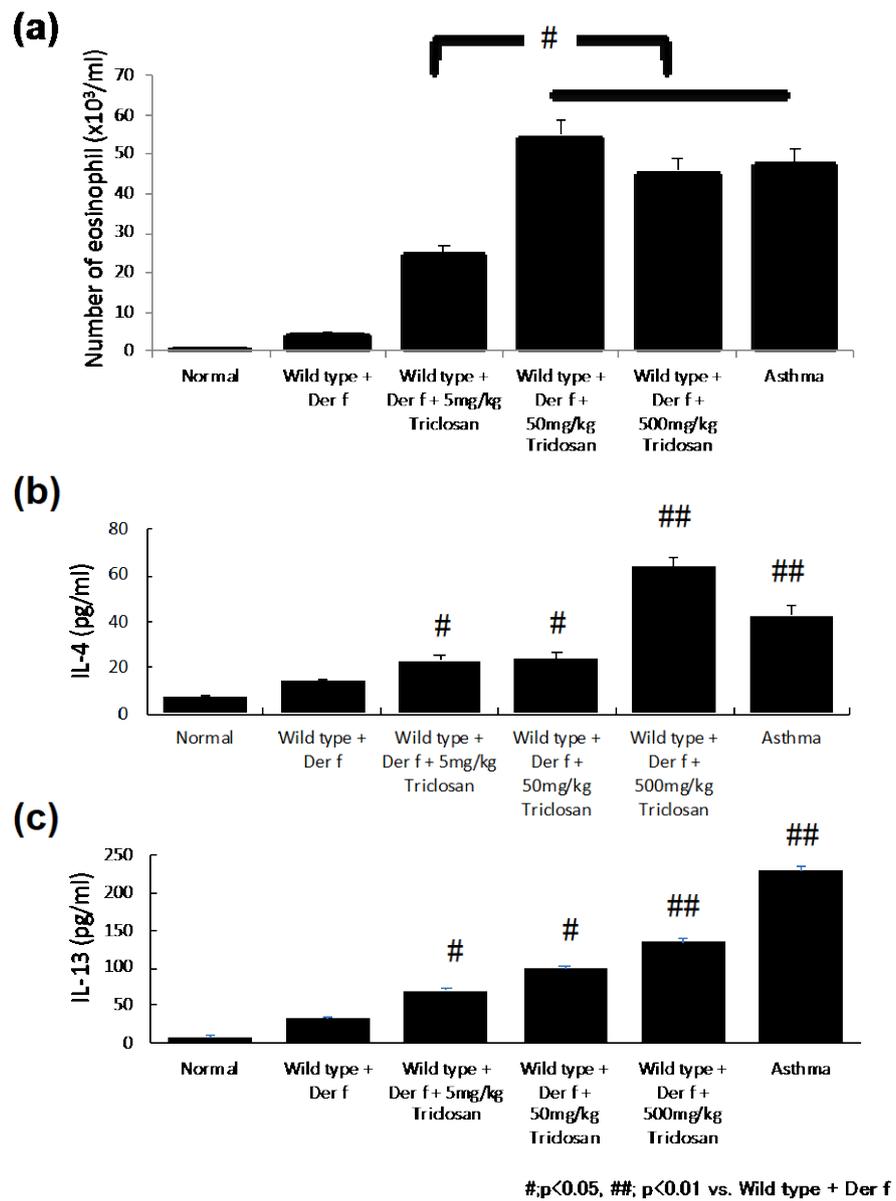


図 (4) - 3 マウス血清中の抗原特異的IgE抗体



図(4) - 4 マウス肺胞洗浄液中のサイトカイン濃度

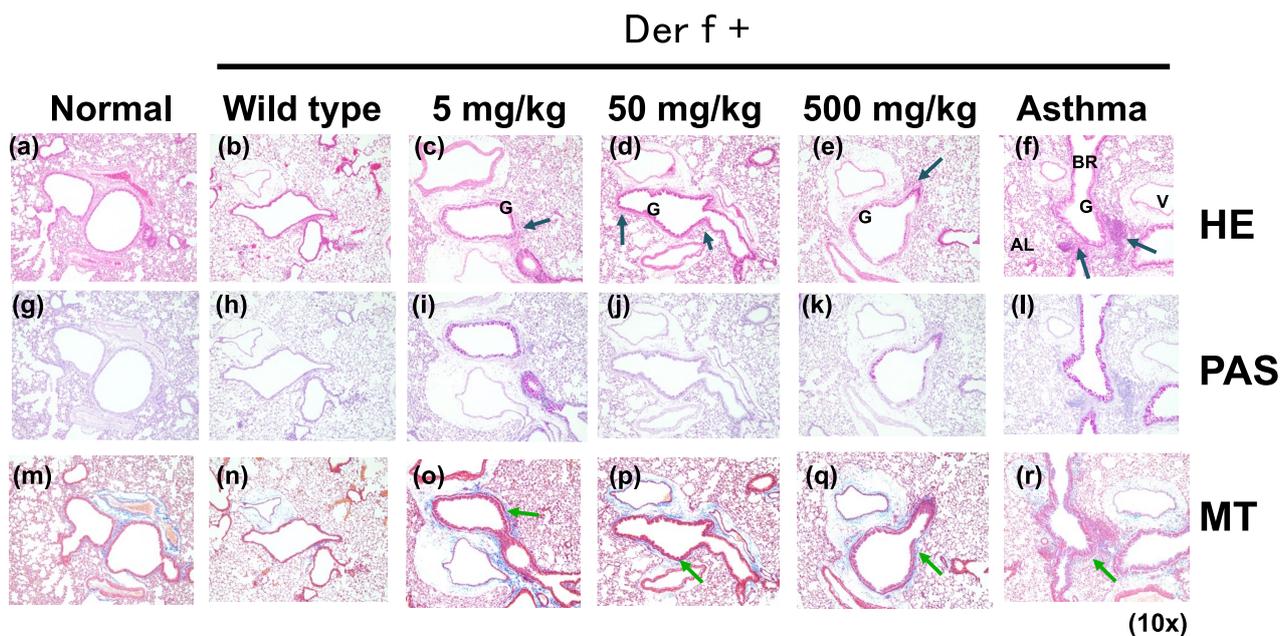
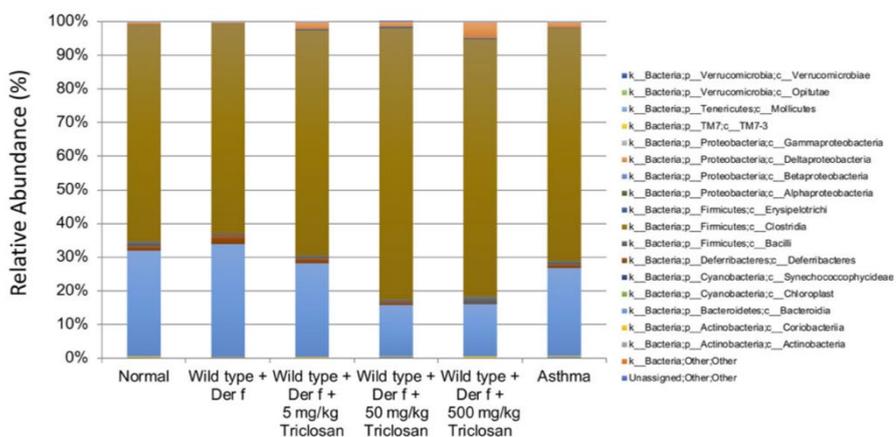


図 (4) - 5 マウス肺の顕微鏡写真

(A)



(B)

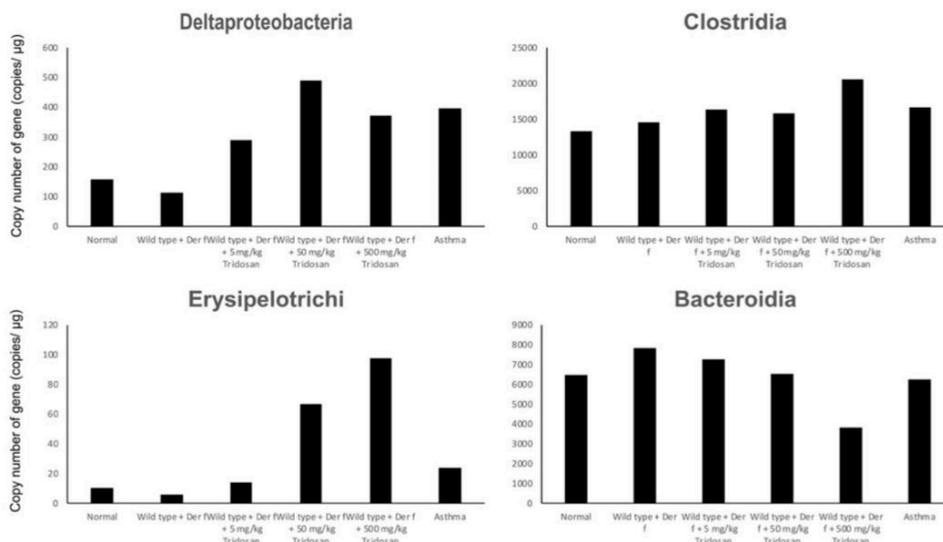
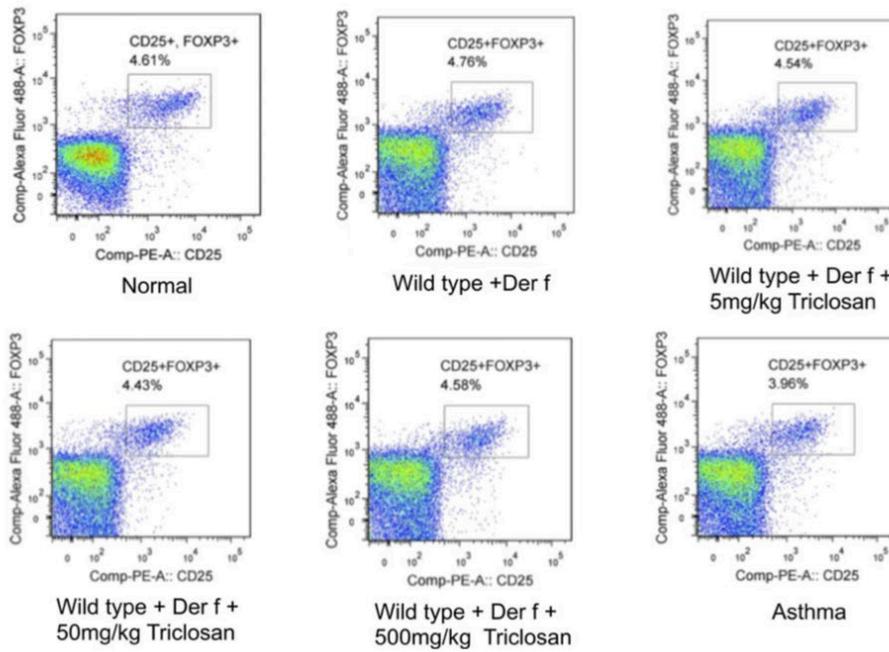
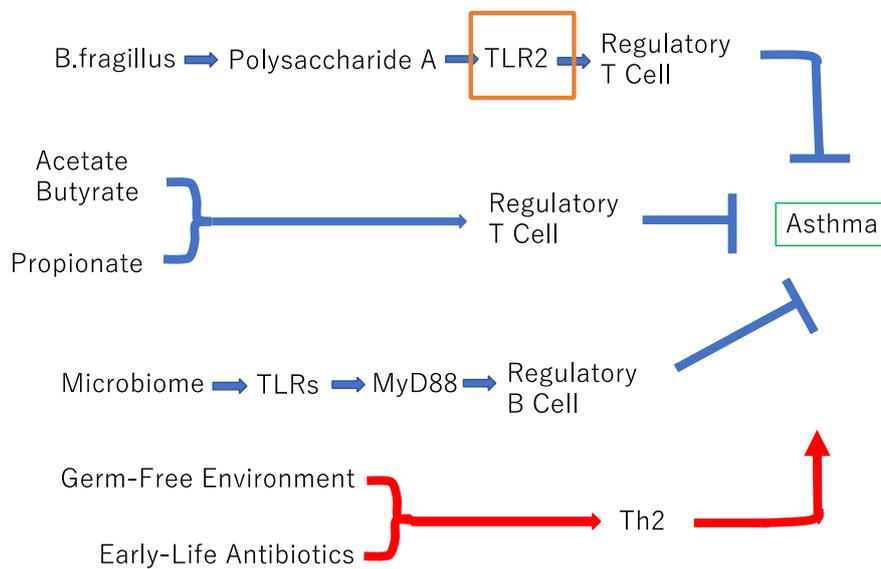


図 (4) - 6 マウス糞便中のマイクロバイオーム



図（４）－ 7 マウス脾臓細胞中の制御性T細胞

予想されるアレルギー増強メカニズム



Alexander J et al. YALE J of Biology and Medicine (2016)

図（４）－ 8 抗菌剤・防腐剤の予想されるアレルギー増強メカニズム

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

アレルギー素因のある人でしかも、日常的にアレルゲン感作されている者がこれら抗菌剤や防腐剤を使用すると、アレルギー反応を増強させるので、発症していないヒトではアレルギーが発症し、すでに発症しているヒトではさらに悪化する可能性があることが、動物実験から示唆された。そのメカニズムとして、腸内細菌叢の変化とそれら菌群が作り出す有用な物質の減少が、引き金になっていることが推察された。

先行研究(7)では、マイクロバイオーンを適正に維持・管理することは喘息の発症予防や治療につながる可能性も示唆されている。本研究チームが明らかにしたように、日常における抗菌剤・防腐剤の使いすぎの現状は、アレルギー患者をさらに増加させる危険性をはらんでいる。このような生活を再考する時期が来ていると本グループは考えている。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

特に記載すべき事項はない。

<行政が活用することが見込まれる成果>

本動物実験によって、トリクロサンおよびパラベン類の曝露がアレルギー疾患を悪化させることがわかった。トリクロサン同様に販売を中止する、もしくは、パラベン類の使用は必要最小限に留める、代替物質の開発に向かうための環境政策を実施する必要があることを、今後、NGO/NPO・企業環境政策としての提言や、化学物質評価専門委員会に対する提言としたい。

6. 国際共同研究等の状況

特に記載すべき事項はない。

7. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文(査読あり)>

- 1) Hirota, R., Ohya, Y., Yamamoto-Hanada, K., Fukutomi, I.Y., Muto, G., Ngatu-Nlandu, R., Nakamura, T. and Nakamura, H. 2018. Triclosan-induced Alteration of Gut Microbiome and Aggravation of Asthmatic Airway Response in Aeroallergen-sensitized mice. Allergy.

<その他誌上発表(査読なし)>

- 1) 弘田量二、中村裕之：呼吸器内科、2019;35(4).
「アレルギー性気管支喘息とマイクロバイオーン」
- 2) 弘田量二、中村裕之：アレルギーの臨床. 2019;2月号.
「呼吸器系アレルギーとマイクロバイオーン」

(2) 口頭発表(学会等)

- 1) Hirota, R., Ohya, Y., Yamamoto-Hanada, K., Fukutomi, I. Y., Muto, G., Ngatu-Nlandu, R., Nakamura, T., Nakamura, H. Triclosan-induced Alteration of Gut Microbiome and Aggravation of Asthmatic Airway Response in Aeroallergen-sensitized mice. 第89回日本衛生学会学術総会(名古屋)2月1～3日. 2019.
- 2) 弘田量二

アレルギー感作したモデルマウスにおいて、トリクロサンやパラベンを曝露するとアレルギー反応が増強されるだろうか？

シンポジウム「生活用品中のパラベン類によるアレルギー性疾患発症に関する総合的研究」
第88回日本衛生学会学術総会 2018. 3.22 東京

- 3) Hirota, R., Ohya, Y., Yamamoto-Hanada, K., Fukutomi, I. Y., Muto, G., Nakamura, T., Nakamura, H. Association between triclosan exposure levels and gut microbiota in asthmatic mice. European Respiratory Society International Congress (Milan) 2017 Sep 9-13. 2017.

(3) 知的財産権

特に記載すべき事項はない。

(4) 「国民との科学・技術対話」の実施

- 1) 市民公開シンポジウム「生活用品中のパラベン類によるアレルギー性疾患発症に関する総合的研究」（主催：第88回日本衛生学会学術総会、2018年3月22日、東京工科大学、観客約300名）にて講演

8. 引用文献

- 1) Harada N, Atarashi K, Murata Y, Yamaji R, Nakano Y, Inui H. Inhibitory mechanisms of the transcriptional activity of androgen receptor by resveratrol: Implication of DNA binding and acetylation of the receptor. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2011;123(1-2):65-70.
- 2) Clayton EM, Todd M, Dowd JB, Aiello AE. The impact of bisphenol A and triclosan on immune parameters in the U.S. population, NHANES 2003-2006. *Environ Health Perspect.* 2011;119(3):390-6.
- 3) Bergstrom KG. Update on antibacterial soaps: the FDA takes a second look at triclosans. *J Drugs Dermatol.* 2014;13(4):501-3.
- 4) 米食品医薬品局 (FDA) . 「効果の科学的証拠なし」、抗菌せっけんの販売禁止 米国. AFPBB News, http://www.afpbb.com/articles/-/3099720?cx_part=search. 2016.
- 5) Hirota R, Ohya Y, Yamamoto-Hanada K, Fukutomi IY, Muto G, Ngatu-Nlandu R, et al. Triclosan-induced Alteration of Gut Microbiome and Aggravation of Asthmatic Airway Response in Aeroallergen-sensitized mice. *Allergy.* 2018.
- 6) Guo J, Zhao Y, Jiang X, Li R, Xie H, Ge L, et al. Exposure to Formaldehyde Perturbs the Mouse Gut Microbiome. *Genes (Basel).* 2018;9(4).
- 7) Kashiwagi I, Morita R, Schichita T, Komai K, Saeki K, Matsumoto M, et al. Smad2 and Smad3 Inversely Regulate TGF-beta Autoinduction in Clostridium butyricum-Activated Dendritic Cells. *Immunity.* 2015;43(1):65-79.

III. 英文Abstract

Assessment of the Exposure and Effects of Antibacterial Substances such as Paraben and Triclosan on Allergy in Infants

Principal Investigator: Hiroyuki NAKAMURA

Institution: Kanazawa University

13-1 Takaramachi, Kanazawa 920-8640, JAPAN

TEL, +81-76265-2215

E-mail; hnakamu@staff.kanazawa-u.ac.jp

Cooperated by National Center for Child Health and Development, Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd., and Matsumoto University,

[Abstract]

Key Words: Allergy, Bronchial asthma; Atopic dermatitis; Nasal allergy; Antibacterial substance, Preservatives, Paraben, Triclosan, Epidemiology

It currently remains unclear whether parabens and triclosan, which are included in many daily consumer products such as cosmetics, shampoos, and personal care products that act as preservatives antimicrobial agents, induces or aggravate allergy such as asthma, nasal allergy and atopic dermatitis. The U.S. Food and Drug Administration (FDA) in September 2016 issued a rule banning the use of triclosan in hand and body washes. Therefore, the aim of the present study was to examine the relationship between the exposure to parabens and the prevalence of allergic diseases in Japanese children and adults and to develop the methods of prevention against allergic diseases. This population-based cross-sectional study performed in Shika town in Japan for 2005 participants aged 40 years and older indicated that the prevalence of nasal allergies, atopic conjunctivitis, and total allergies were significantly higher in women using parabens than in those without parabens. The epidemiology for 236 children aged 0-3 years, who received health examinations in Shika town showed that the prevalence of atopic dermatitis was significantly higher in children exposed to parabens, which was assessed using urine samples. The significant association between the incidence of atopic dermatitis and the exposure to parabens was confirmed by the cohort study using 61 baby aged 4 months with a term of 14 months. The clinical study, which was conducted in National Center for Child Health and Development in Tokyo, showed that the concentration of urine parabens in the pregnant mothers who subsequently gave birth to a baby with the symptom of stridor were significantly higher as compared to those without the symptom. The study on the examination of the validity of measuring the concentration of urine parabens demonstrated that urine parabens showed circadian changes, suggesting that the careful consideration for the circadian rhythm of urine parabens is important in evaluating the levels of the urine parabens. Mouse experiments showed that there was a possible relationship between parabens-induced aggravation of airway hyper-responsiveness and the perturbation of gut microbiome in aeroallergen-sensitized mice, suggesting that parabens might play an adjuvant role in the induction or aggravation of allergic response in susceptible individuals. These present results demonstrated that the causal relationship between allergy and exposure to parabens, suggesting that the avoidance of the use of parabens can lead to the prevention form the development of

allergic diseases.