

Original article

Actions of various sweeteners on rat sperm.

Yukiko Minamiyama^{†1)}, Keiko Kobayashi¹⁾, Yuta Noguchi²⁾,
Shigekazu Takemura³⁾, Hiroshi Ichikawa^{†2)}

1) Food Hygiene and Environmental Health Division of Applied Life Science,

Graduate School of Life and Environmental Sciences, Kyoto Prefectural University, Kyoto, Japan.

2) Department of Medical System Protective Health and Medicine Laboratory,

Graduate School of Life and Medical Sciences Doshisha University, Kyotanabe, Kyoto, Japan.

3) Department of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery, Graduate School of Medicine, Osaka City University, Osaka, Japan

† This author contributed equally to this work.

Glycative Stress Research 2020; 7 (2): 132-141

(c) Society for Glycative Stress Research

(原著論文：日本語翻訳版)

各種甘味料のラット精子におよぼす影響

南山幸子^{†1)}、小林慧子¹⁾、野口湧太²⁾、竹村茂一³⁾、市川 寛^{†2)}

1) 京都府立大学大学院生命環境科学研究科食環境安全性学

2) 同志社大学大学院生命医科学研究科予防健康医学

3) 大阪市立大学大学院医学研究科肝胆膵外科

† These authors contributed equally to this work.

抄録

【目的】カロリー低下を目的とした食品には砂糖以外の甘味料（化学物質）が多く用いられている。しかしながら、これらの甘味料の中には、活性酸素（ROS）が関与することにより生じる精子数減少や精子運動率低下といった生殖機能毒性を発現することが考えられる。本研究では、日常的に摂取頻度の高い食品添加物甘味料であるスクロース（Suc）、スクラロース（SCL）、アスパルテーム（APM）、またはネオテーム（NTM）の *in vitro* におけるラット精子への影響を評価した。さらには APM および NTM をラットに摂取させ、精子への影響を検討した。

【方法】動物は 12～15 週齢の Wistar 系雄性ラットを用いた。精子は精巣上体尾部より取り出し、実験に供した。*In vitro* の実験では精子を含む TYH 培地の原液を作製し、各種、各濃度の添加物を加え、5 分後に精子運動解析装置（SMAS）で精子運動率を測定した。また、精子を含む TYH 培地精子原液を 5 倍希釈し、L-012（100 μM）を ROS 用蛍光プローブとして添加し、ケミルミネッセンス法によって発光強度を測定した。*In vivo* では最大無毒性量以下の APM（250 mg/kg/day）または NTM（40 あるいは 100 mg/kg/day）を混餌飼料として投与し、

連絡先：教授 南山幸子

京都府立大学大学院生命環境科学研究科食環境安全性学

〒606-8522 京都市左京区下鴨半木町 1-5

TEL: 075-703-5409 e-mail: yukiko-m@kpu.ac.jp

共著者：小林慧子 k-kobayashi@kpu.ac.jp; 野口湧太 uta090226@gmail.com;

竹村茂一 takemura@med.osaka-cu.ac.jp; 市川 寛 hichikaw@mail.doshisha.ac.jp

Glycative Stress Research 2020; 7 (2): 132-141
本論文を引用する際はここらを引用してください。
(c) Society for Glycative Stress Research

2、4、8週間後に血液および精巣上部尾部などを採取した。*In vitro*と同様に精子運動能およびROS産生量を測定し、臓器については酸化ストレス関連蛋白質などについて解析した。

【結果】*In vitro*において、ROS産生量はSuc (500 μ M以下)、SCL (1 μ M以下) またはAPM (10 μ M以下) 添加ではほとんど影響しなかったが、NTM (0.1 μ M) 添加により対照群と比較して増加、NTM (1 μ M) 添加により減少する傾向がみられた。精子運動率はSuc (5 mM以下)、SCL (10 μ M以下)、APM (100 μ M以下) 添加ではほとんど影響を受けなかった。しかし、NTM (0.1 μ M以上) 添加により精子運動率は有意に減少した。また*In vivo*において、APM投与は精子数を変化させなかったが、2週間では対照群と比較してROS産生量が有意に上昇した。8週間では総精子運動数が減少傾向を示した。またNTMは4週間投与においてROS産生が有意に上昇し、8週間では精子の直線速度、曲線速度、頭部振幅、頭部振動数が低下した。精子数および総精子運動数に影響しなかった。また、ROS産生の増加と並行して精巣上部尾部の4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE) 陽性の脂質過酸化修飾蛋白質が増加した。

【結論】いくつかの甘味料は精子に影響し、APMおよびNTM投与では、精子の機能低下に先立ち、ROS産生が増加した。本機序にはミトコンドリアの電子伝達系異常、抗酸化能低下による酸化ストレスなどの原因が考えられた。

KEY WORDS: 甘味料、酸化ストレス、精子運動能、活性酸素 (ROS) 産生

はじめに

コンビニ、ファストフード、外食産業の拡大に伴い食品添加物の影響が懸念されている。この背景には高齢社会や共稼ぎ、単身家庭など日本の社会情勢を反映している。また、輸出入や産地からの食品運搬が可能となりフードマイレージの増加も問題となっている。このため、食中毒防止や食品の変敗を防ぐために多くの工夫がなされている。その代表的なものに食品添加物、殺虫剤、防腐剤、防カビ剤、農薬などがある。これらには多くの化学物質が使用されており、内分泌攪乱物質（環境ホルモン）となり得るものは生体への影響が問題視されて、生殖器異常や受胎率低下といった生殖機能毒性¹⁾や発達期の脳に作用し、学習能力や社会性認知を低下させるといった報告がある^{2,3)}。代表的なものに食品容器などのプラスチック可塑剤として用いられるbisphenol A (BPA) があり、抗酸化酵素活性の低下による活性酸素種 (ROS) 産生の増大を引き起こし、ラットの精子運動率の低下や精子数の減少といった生殖機能毒性を発現することが報告されている^{4,5)}。その他、かつて流産防止剤として用いられていたdiethylstilbestrol (DES) もヒトにおいて精子数の減少や精子運動率の低下させることが明らかになっている⁶⁾。また、日常摂取する食品添加物の一部が生殖機能毒性を有するとの報告がなされている⁷⁾。

現在、糖尿病人口の増加やカロリー制限の目的で人工甘味料を利用している人が多くなっている。天然甘味料のsucroseは砂糖の主成分であり、先進国における主要な甘味料の一つであるが、生活習慣病や齲歯の予防を目的に2002年からWHOは糖類の摂取量について、一日のエネルギー摂取量の10%未満を推奨してきた。さらに、2020年より5% (約25 g) 未満とする新しい指針を2014年3月

に発表している。この指針では大人は1日ティースプーン約6杯の砂糖摂取制限ということになる。この制限はトマトケチャップのティースプーン1杯に約4 g、炭酸飲料には約40 gの砂糖が含まれていることを考えると、ごくわずかの摂取量に制限されることになる。よって、益々人工甘味料の利用率が高まることが懸念され、その安全性評価を慎重に行う必要がある。そこで本研究では、代表的な甘味料であるsucrose (Suc)、sucralose (SCL)、aspartame (APM) およびneotame (NTM) のラット精子への影響を検討した。なお、精子は細胞膜中に多価不飽和脂肪酸を多く含むため、酸化傷害を受けやすく、生体内で最も外的刺激に敏感な細胞と言われており⁸⁾、これを用いた安全性評価は優れた高感度の安全性試験にもなる可能性がある。

人工甘味料のSCL、APM、NTMは甘みがSucと比較してそれぞれ約600倍、約200倍、約10,000倍強い⁹⁻¹¹⁾、同じ甘みを出すために必要な量はSucより少なく、低カロリーであるために近年よく使用されている。しかし人工甘味料はその安全性が疑問視されているものも多い。例えば、APMは経口摂取において腸管腔から吸収され、フェニルアラニンやアスパラギン酸そしてメタノールへと代謝されるが、この代謝物のメタノールがROSを産生させ、肝臓に障害を引き起こすことやフェニルアラニンの増加により脳のドーパミンやノルエピネフリン濃度に影響し、脳機能を修飾する可能性があるとの報告がある¹²⁻¹⁴⁾。また、NTMはAPMの還元性N-アルキル化によって合成されるジペプチドメチルエステル誘導体で化学構造が類似するが (Fig. 1)、フェニルアラニンとアスパラギン酸に加水分解されないためにフェニルケトン尿症などにも使用できることで使用頻度が増加すると考えられる。

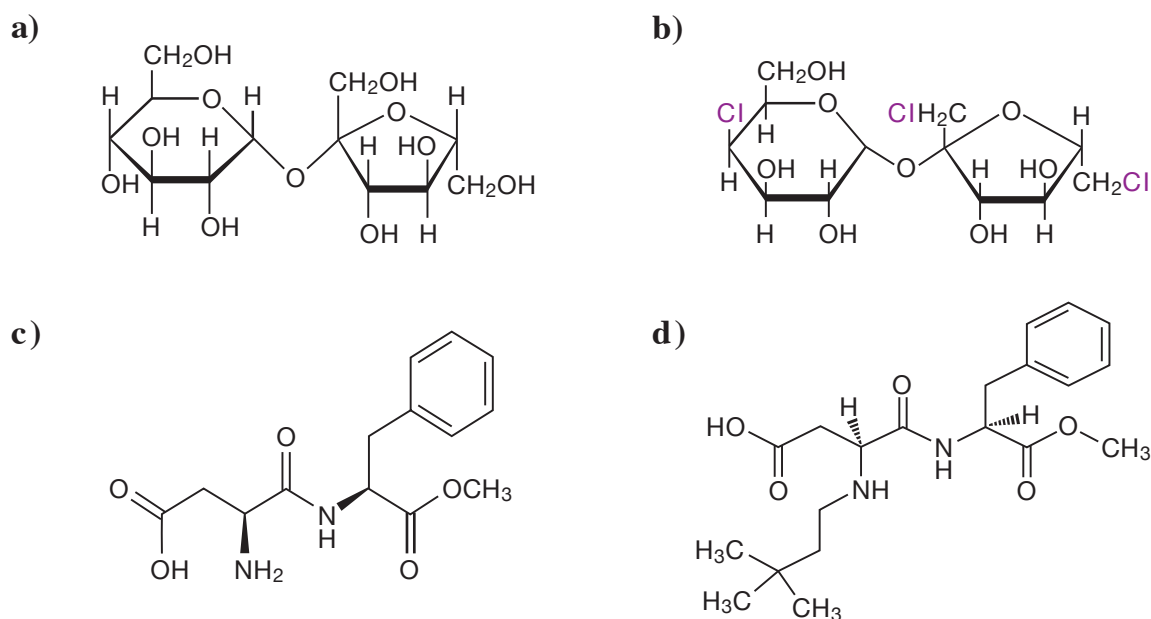


Fig.1. Structural formula of sweeteners.

a) Sucrose (Suc). **b)** Sucralose (SLC). **c)** Aspartame (APM). **d)** Neotame (NTM).

1992年、デンマークの Carlsen 博士らは世界 20 カ国の男性で 50 年間に精子数および精液量が約半分に減少したと報告しており¹⁵⁾、その原因として食品添加物や環境ホルモンなどの影響が示唆されている。すなわち、食品添加物の安全性評価として精子毒性の有無を調べることが重要である。

本研究は、Suc、SCL、APM および NTM は *in vitro* で、さらに APM および NTM はラットに投与し、精子毒性発現の有無およびその機序について検討した。

方法

材料

・試薬

APM および NTM はアスタリール株式会社(富山、日本)より供与された。その他の試薬は生化学基準のものをを用いた。

・動物

本実験において、12 週齢～15 週齢 Wistar 系雄性ラット(日本クレア、東京、日本)を用いた。*In vivo* 実験では対照(Control)群には標準飼料として CE-2(日本クレア)を用いた。APM および NTM は、それぞれ 250 mg/kg/day、40 あるいは 100 mg/kg/day になるように混餌して自由摂取させた。水はいずれの群も自由摂取とし、2、4、8 週間飼育後に 25 % に ethyl carbamate (ウレタン)(和光純薬、

大阪)を 5 g/kg 腹腔内注射して麻酔をかけ、腹部大動脈から採血後に常温の 0.9 % 生理用食塩水で灌流した。犠牲死後、解析のために血液および精巣上体尾部、睪丸などを採取した。なお、動物実験は、同志社大学の動物実験委員会の承認を受けて実施した。

血漿のラジカル消去能測定

各種ラジカルは X-band Microwave Unit ESR 装置(RE Series, 日本電子、東京)を用いて既報に従って測定した¹⁶⁾。各種ラジカルの解析には WIN-RAD (Version 1.30: ラジカルリサーチ、東京都日野市)を用いた。

精子機能の測定

精巣上体尾部の表面にハサミで 2 mm 程の切り込みを入れ、つまんで精子を押し出した。出てきた精子をピンセットの先端ですくうようにして取り、あらかじめ 3 時間以上 37°C、CO₂ インキュベーター内で温めておいた TYH 培地(三菱化学メディエンス、東京、日本) 1.5 mL の中に入れ、5 分間インキュベート後にゆっくりとタッピングし、精子を含む TYH 培地の原液を作製した。*In vitro* 実験では、精子原液を 37°C の TYH で 5 倍希釈し、その 200 μ L にそれぞれ 100 倍濃度の食品添加物を 2 μ L 添加、5 分後に専用のチャンバープレート(SC20-01-04-B: Leja, Nieuw-Vennep, Netherlands)に 4 μ L 入れ、精子運動解析装置 SMAS(ディテクト、東京)を用いて精子運動率(sperm motility: %)、直線速度(straight velocity: μ m/sec)、

曲線速度 (curve velocity: $\mu\text{m}/\text{sec}$)、直進性 (straightness: 直線速度/曲線速度)、頭部振幅 (head amplitude: μm)、頭部振動数 (head frequency: Hz) を測定した。

精子からの活性酸素 (ROS) 産生

上記で作製した精子原液を3時間以上37°C、CO₂ インキュベーターで温めておいたTYH培地で5倍希釈し、精子5倍希釈溶液を作製した。精子5倍希釈溶液5 μL をDMEMメディウム (D6046, Sigma, 大阪) 945 μL に入れ、ケミルミネッセンス法 (AccuFLEX Lumi400、日立ヘルスケアシステムズ、東京) によって発光強度を測定した。開始30秒後に蛍光補足剤である2 mM L012 (和光純薬) 溶液50 μL (最終濃度100 μM)、開始100秒後に各添加物溶液10 μL 、開始240秒後に10,000 U/mLに調製したSOD (日本化薬、東京、日本) 溶液5 μL (最終濃度100 U/mL) を添加した。ピーク時の発光強度にてROS産生量を評価した。

In vivo 実験における精子数は左精巢上体尾部を細切した後、70 μm のセルストレイナー (REF352350, BD Falcon, NJ, USA) で不純物をろ過し50 mLファルコンに入れた。これをリン酸緩衝生理食塩水 (PBS (-)) で20倍希釈し、セルカウンターで精子数を数えた。ここから1.5 mLのTYH培地精子液中に含まれる精子の総数を計算して求めた。

ウェスタンブロット法

精巢上体尾部のサイトゾルは臓器の9倍量になるようにRIPAバッファーを添加し、回転数20 krpmで30秒間、氷上でホモジナイザー (NS-360D: マイクロテックニチオン、千葉、日本) によりホモジネートした。その後、これを遠心分離機 (CT15RE: 日立ヘルスケアシステムズ、東京) で4°C、回転数12,000 rpmで10分間遠心した。上清を1.5 mL用エッペンドルフ管に回収し、臓器サイトゾル原液とした。その適量の蛋白量をSDS-PAGEした。分子量マーカーとして、プレステインド蛋白質マーカー (和光純薬) を用いた。

Canget Signal Solution 1 (東洋紡、大阪) で1: 5,000に希釈した一次抗体、anti-HNEJ-2抗体 (日本老化制御研究所、静岡県袋井市) を加えて、気泡が入らないように密封し、4°Cで一晩反応させた。一晩反応後、TBSTに浸して室温にて7分間振盪器で振盪し、その後溶液を交換した。この操作を3回繰り返した。次に、メンブレンをハイブリダイゼーションバッグに入れ、Canget Signal Solution 2で1: 20,000に希釈した二次抗体 (ダコ・ジャパン、京都) を加えて、気泡が入らないように密封し室温で90分間反応させた。反応後、メンブレンをTBS-Tに浸し7分間振盪器で振とうした。これを3回繰り返した。洗浄後、メンブレンを発色液に2分間浸した。反応後、Image Quant Las 4000 mini (GE Healthcare Lifescience, Buckinghamshire, UK) でバンドを検出した。

精子ミトコンドリアの膜電位

JC-1 Mitochondrial Membrane Potential Detection kit (Biotum, Fremont, CA, USA) を使用してミトコンドリアの電位差を測定した。

原液を1 $\times 10^6$ 個/mLの濃度の細胞液になるようにTYH培地で調製し、neotame溶液を加え、37°C、CO₂ インキュベーターで30分間インキュベートした。

その後、400 $\times$ g、5分間、室温で遠心し、上清を除去した後、JC-1 reagentをAssay Bufferで1:10に希釈したものを500 μL 入れ、37°C、CO₂ インキュベーターで15分間インキュベートした。その後、400 $\times$ g、5分間、室温で遠心し、上清を除去した後、assay bufferを2 mL加えて400 $\times$ g、5分間、室温で遠心した。再度繰り返し assay bufferを300 μL を加え、96 well black plate (NUNC) の1 wellにつき100 μL ずつ加え、蛍光プレートリーダー (生細胞 (Red): Ex.560 nm、Em 595 nm、アポトーシス誘導細胞 (Green): Ex.485 nm、Em 535 nm) で測定した。

統計

各データの統計学的処理は、統計解析ソフトIBM SPSS ver.22 (日本IBM、東京) を用いた。一元配置分散分析のTurkey検定を用いて、 $p < 0.05$ を有意水準とした。

結果

In vitro における食品添加物の精子への影響

Suc、SCLまたはAPM添加によるROS産生量は影響しなかった (Fig. 2)。NTM添加は0.01 nM以下でROS産生が増加する傾向がみられたが、それ以上の濃度では逆に低下する傾向にあった。Suc、SCLまたはAPM添加で精子運動率に対してほとんど影響しなかったが、NTMは0.1 μM 以上で有意に減少した (Fig. 3)。精子の直線速度、曲線速度、直進性、頭部振幅、頭部振動数には影響しなかった。NTMによる精子運動率の低下はミトコンドリアの膜電位低下と関連した (Fig. 4)。

APMおよびNTM投与による生体への影響

APMおよびNTM投与による摂食量や体重に有意な差はなかった。また、血漿のフリーラジカル消去活性は、両添加物投与によりいくつかのラジカル種で低下し、特に2週間後ではOH $\cdot$ およびO₂ $\cdot^-$ 消去活性が低下した (Fig. 5)。

APMおよびNTM投与による精子からのROS産生と過酸化脂質修飾蛋白質の発現

APM投与2週間では対照群と比較してROS産生量に有意に上昇させたが (Fig. 6-a)、8週間では対照群と比較してROS産生量に有意な変化はなかった。

NTM (40 mg/kg/day) 投与2週間では対照群と比較してROS産生量を変化させなかったが、4および8週間

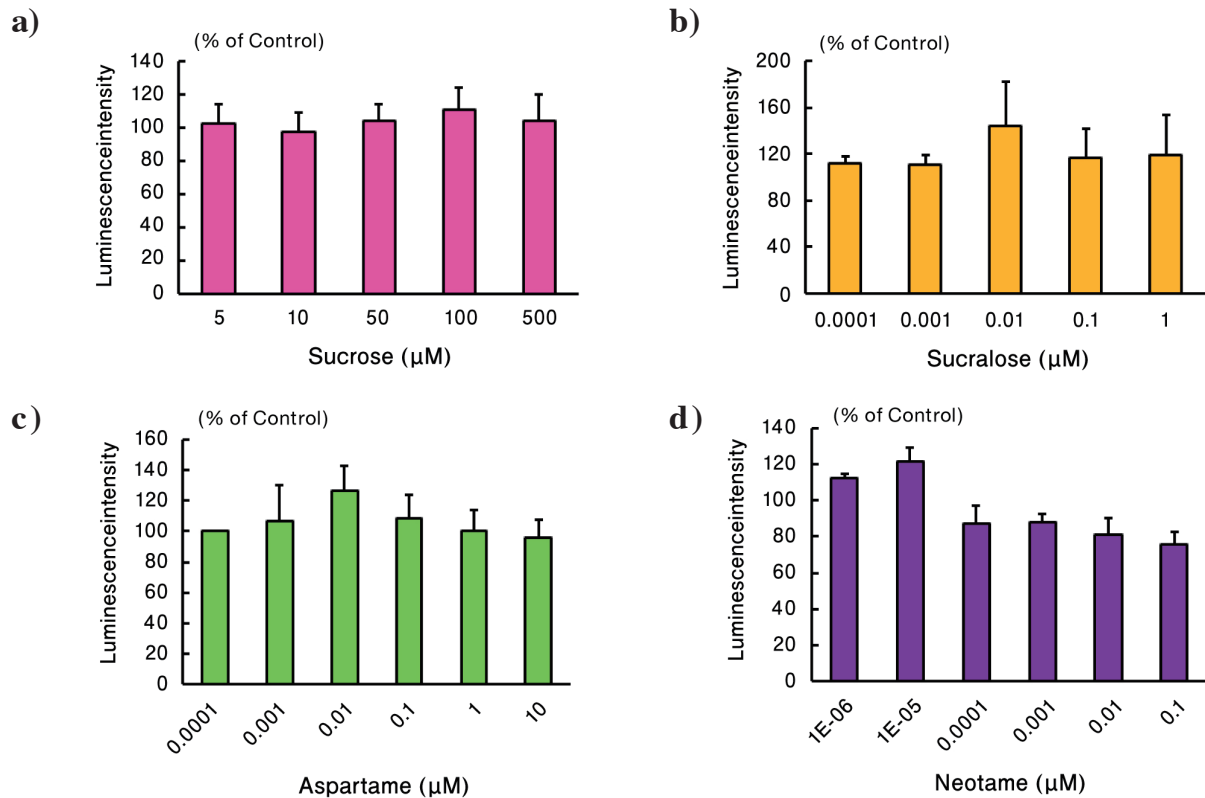


Fig.2. ROS production from sperm by addition of sweeteners.

a) Sucrose (Suc). **b)** Sucralose (SLC). **c)** Aspartame (APM). **d)** Neotame (NTM). Results are expressed as mean values $\pm$ SE, $n = 4 \sim 8$. ROS, reactive oxygen species; SE, standard error.

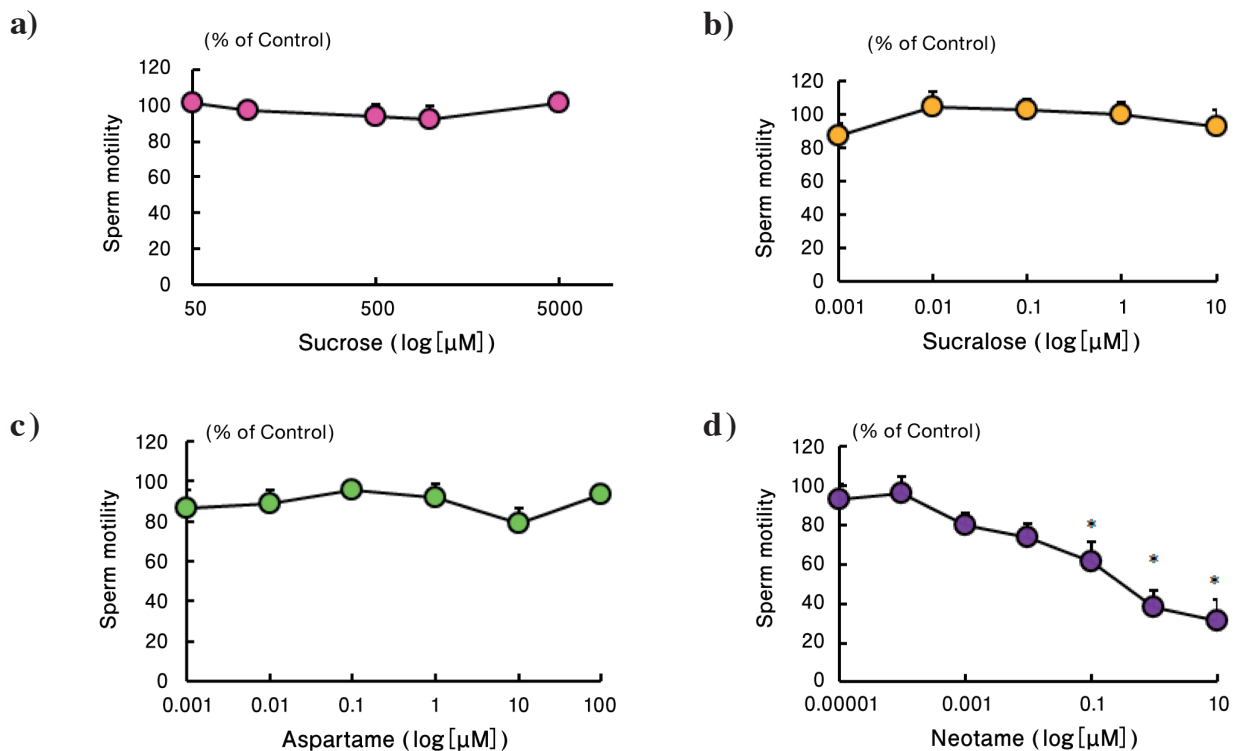


Fig.3. Actions of sweetener on sperm motility.

a) Sucrose (Suc). **b)** Sucralose (SLC). **c)** Aspartame (APM). **d)** Neotame (NTM). Results are expressed as mean values $\pm$ SE, $n = 4 \sim 8$, * $p < 0.05$ vs control without sweeteners by Turkey test.

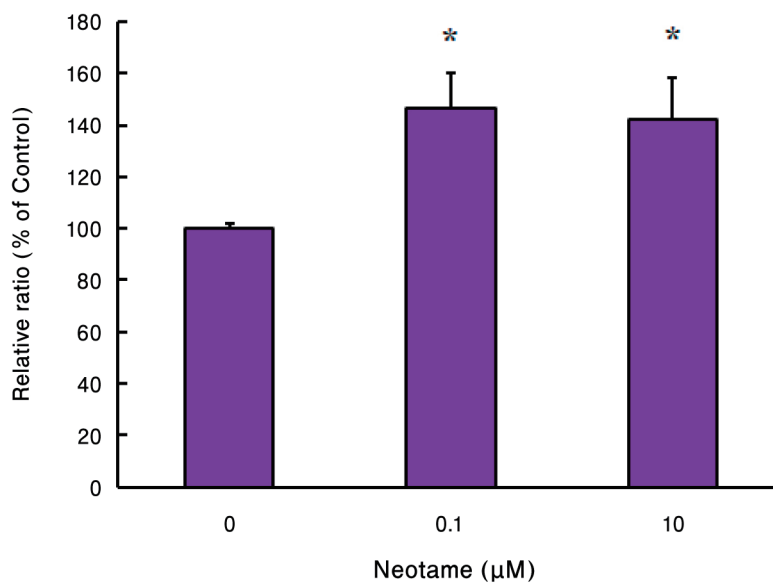


Fig.4. Decrease actions of NTM on the membrane potential of sperm mitochondria.

NTM was added to the sperm suspension and incubated for 30 min. Results are expressed as mean values $\pm$ SE, $n = 6$, * $p < 0.05$ vs control without sweeteners by Turkey test. NTM, neotame; SE, standard error.

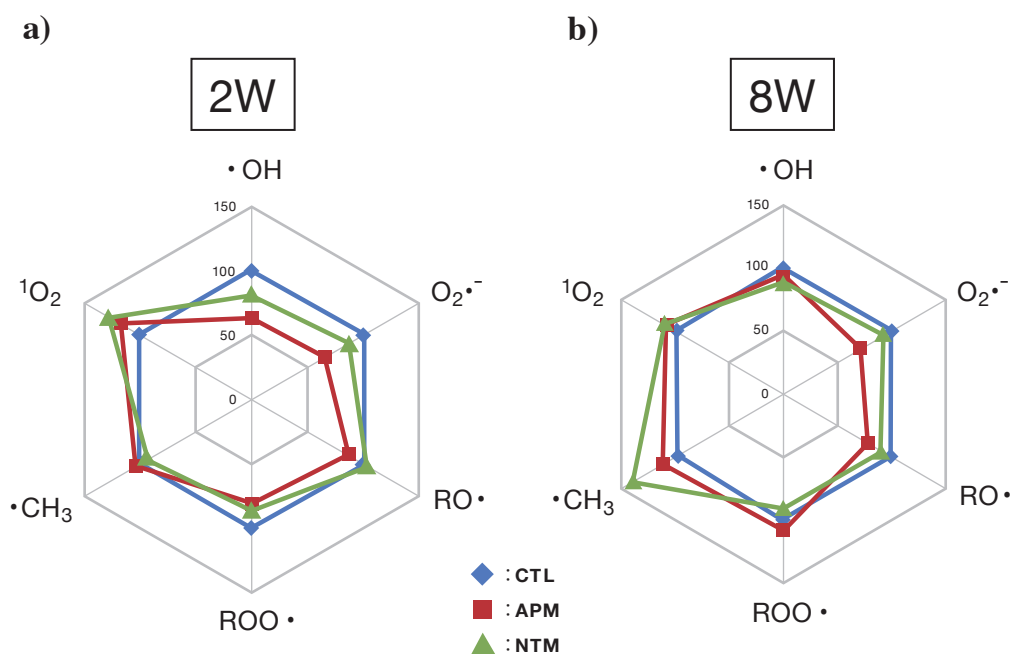


Fig.5. Radar chart of plasma free radical scavenging activity after administration of APM and NTM.

a) At 2 weeks. **b)** At 8 weeks. Results are expressed as values when ROS elimination rate in control plasma defined as 100%. APM, aspartame; NTM, neotame; ROS, reactive oxygen species.

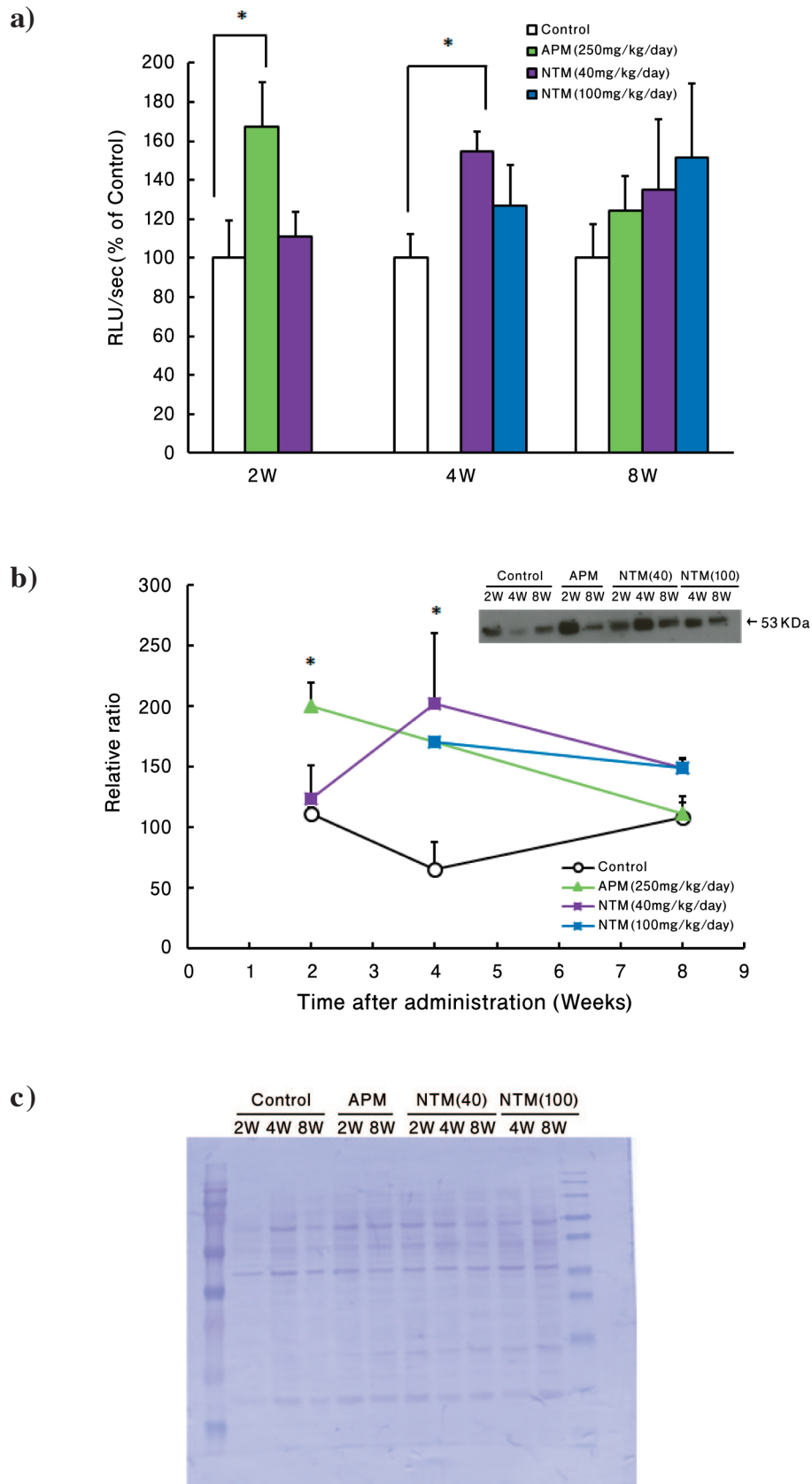
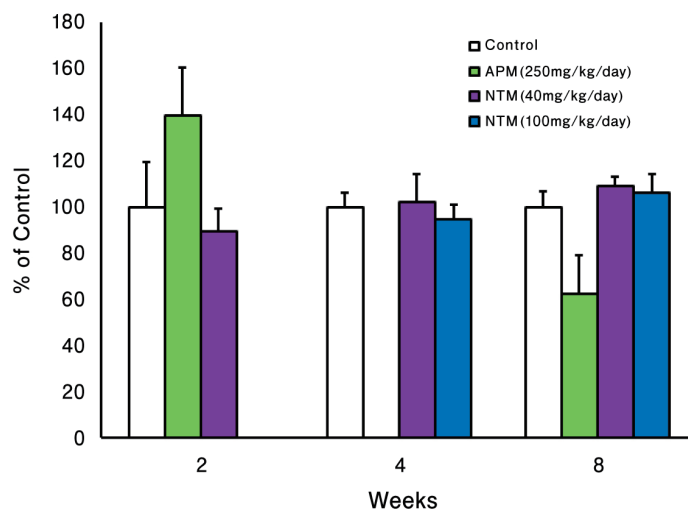


Fig. 6. ROS production from sperm and 4-HNE-modified protein in the cauda epididymis induced by administration of APM and NTM.

a) ROS production. **b)** 4-HNE-modified protein (53 kDa). **c)** Membrane image by Coomassie brilliant blue staining. Results are expressed as mean values $\pm$ SE, $n = 3 \sim 5$, * $p < 0.05$ vs control by Turkey test. APM, aspartame; NTM, neotame; ROS, reactive oxygen species; 4-HNE, 4-hydroxy-2-nonenal; SE, standard error.

では対照群と比較してROS産生が上昇した (Fig. 6-a)。睪丸・精巣上体尾部において、53kDa、28kDaの場所に4-hydroxy-2-nonenal (HNE) 修飾蛋白質のバンドが検出された。どの臓器のバンドも同じ濃淡の傾向がみられたので、Fig. 6-bでは精巣上体尾部における53kDaのバンドを示した。APM投与2週間でHNE修飾蛋白質の発現は有意に増加した。また、NTM (40 mg/kg/day) 投与4および8週間では対照群と比較してHNE修飾蛋白質の発現が増加し、4週間では有意であった。



精子機能への影響

APMもNTM投与では精子数および総精子運動数を変化させなかった (Fig. 7)。APM投与では直進性 (s/c)、頭部振幅 (μm)、曲線速度 ($\mu\text{m}/\text{sec}$) 直線速度 ($\mu\text{m}/\text{sec}$) を変化させなかった。Fig. 8に対照群を100%とした時のAPMまたはNTM投与群の直進性、頭部振幅、頭部振動数を示した。NTM投与8週間では直進性が増加傾向を示し、頭部振幅、頭部振動数が有意に減少し、受精能の低下の可能性を意味した。

Fig. 7. Actions of APM and NTM administration on total motile sperm count.

The sperm motility was measured 2, 4 or 8 weeks after administration of APM (250 mg/kg/day) or NTM (40 or 100 mg/kg/day). Results are expressed as mean values $\pm$ SE, $n = 3 \sim 5$. APM, aspartame; NTM, neotame; SE, standard error.

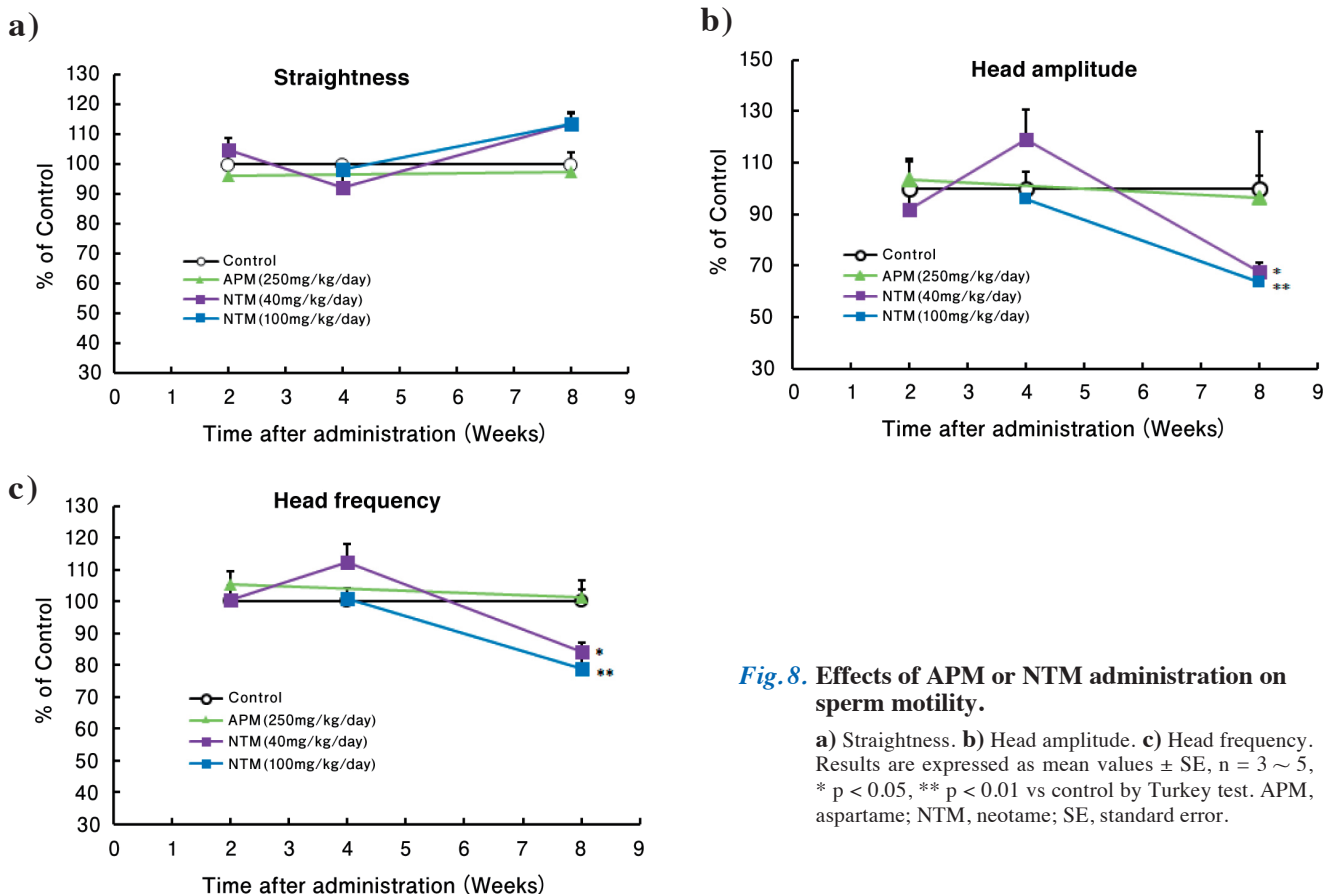


Fig. 8. Effects of APM or NTM administration on sperm motility.

a) Straightness. b) Head amplitude. c) Head frequency. Results are expressed as mean values $\pm$ SE, $n = 3 \sim 5$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs control by Turkey test. APM, aspartame; NTM, neotame; SE, standard error.

考察

本研究は、甘味料が精子へおよぼす影響についてWistar系ラットを用いて *in vitro* および *in vivo* で検討した。

In vitro においてSuc、人工甘味料のSCLまたはAPM添加によって精子運動機能に影響はなく、精子毒性はみられなかった。しかし、NTM添加により濃度によって精子運動率の有意な減少およびROS産生量の上昇が観察された。さらに、NTM (0.1 μ M以上) 添加では、精子ミトコンドリアの膜電位は有意に低下した。一方、*in vivo* において、APM投与により精子数には変化はみられなかったが、8週間で総精子運動数が減少傾向を示した。また、NTM投与では精子数および総精子運動数に変化はなかったが、受精機能に重要な直進性の増加、直線速度、曲線速度、頭部振幅、頭部振動数が低下した。また、精子からのROS産生は、このような精子の機能低下に先立ち、ROS産生を増加させることが示された。これらの所見は、bisphenol Aなどの内分泌かく乱物質の投与試験の結果¹⁷⁾と同様である。

精子の中片部には多くのミトコンドリアがあり、運動するためのエネルギー源としてATPを産生していると同時に電子伝達系からROSが産生されている。そのためROSが過剰産生された場合、ミトコンドリアから漏れ出すと同時に精子の機能障害や運動率低下を引き起こす原因となる。本研究では、APMおよびNTM投与によりROS産生と同時に ω 6系高度不飽和脂肪酸の酸化二次生成物であるHNE修飾蛋白質が増加することが判明した。以上のことから、酸化ストレスの増大により精子の膜が酸化されたことが精子機能低下の一因であると考えられた。

In vitro で精子毒性がみられなかったSCLは分子には塩素がついており、オルガノクロライドの一種ということで安全性を疑問視されている。遺伝子発現において無毒性であることや生殖に影響がないという報告もあるが^{18, 19)}、代謝物の影響を考慮する必要があるので*in vivo*での酸化ストレスの観点からの検討が必要であるかもしれない。

現在、我が国では食品添加物のADI(一日摂取容量)は安全係数を100としてNOAEL(動物試験においての最大無毒性量)×1/100で設定されており、APMおよびNTMのNOAELはラットにおいてそれぞれ4,000 mg/kg/day、96.5 mg/kg/dayである。これに対して本研究の介入実験ではAPMおよびNTMをそれぞれNOAELより低濃度の量であるラット体重(kg)当たり250 mg/kg/day、40 mg/kg/dayで検討したにもかかわらず精子毒性を有する可能性が示唆された。平成23年の厚生労働省の調査によると、APMの一日摂取量はヒトの体重(kg)当たり0.019 mg/kg/dayと報告されているため、APM単独での毒性は無視できるかもしれないが、長期的な複合摂取の影響を考慮する必要がある。よって、食品添加物の安全性を慎重に評価することが重要であると考えられる。

人工甘味料が腸内細菌叢の変化(dysbiosis)をもたらして、

耐糖能異常を惹起することが報告された²⁰⁾。近年、人工甘味料入りのソフトドリンクを飲むことと、脳卒中および認知症リスク上昇には関係があることが、4,000人以上を対象とした分析結果から判明した。観察研究では、少なくとも1日に1回人工甘味料入り飲料を飲む人は、飲まない人に比べて、10年間で虚血性脳卒中のリスクがほぼ3倍、アルツハイマー病のリスクは2.9倍であることが報告された²¹⁾。しかし、これらには相関関係があるものの、原因と結果がすべて対応している可能性は不明であるためさらなる追跡が必要であるとしている。さらに、砂糖以外の甘味料摂取についてのメタ解析による健康への影響が報告されたがまだ明確な結果は得られていない²²⁾。

しかしながら、本研究において最大無毒性量以下の投与により、生体の抗酸化能低下や精子からのROS産生亢進および精子運動機能への影響が生じることが判明したことから、これまでの毒性試験を再評価することも重要である。さらに、生涯にわたって暴露される遺伝要因以外の化学物質すべてをエクスポソームという概念が提唱されている^{23, 24)}。エクスポソームは放射線や食品添加物など外因性のものと酸化ストレスや炎症など内因性の要因もすべてエクスポソームであり、炎症性腸疾患²⁵⁾や様々な疾患との関連が散見されるようになった²⁶⁻²⁸⁾。反対に、トランスクリプトーム分析により、食事介入でエクスポソーム関連疾患を予防できることも報告されている²⁹⁾。このような概念に基づいて、疾患予防および健康維持のためのさらなる研究が必要不可欠である。

結論

いくつかの甘味料は酸化ストレスによる精子毒性を有することが判明した。

利益相反申告

該当なし。

参考文献

- 1) Issam C, Samir H, Zohra H, et al. Toxic responses to deltamethrin (DM) low doses on gonads, sex hormones and lipoperoxidation in male rats following subcutaneous treatments. *J Toxicol Sci.* 2009; 34: 663-670.
- 2) Kawaguchi M, Irie K, Morohoshi K, et al. Maternal isobutyl-paraben exposure alters anxiety and passive avoidance test performance in adult male rats. *Neurosci Res.* 2009; 65: 136-140.
- 3) Kawaguchi M, Morohoshi K, Imai H, et al. Maternal exposure to isobutyl-paraben impairs social recognition in adult female rats. *Exp Anim.* 2010; 59: 631-635.
- 4) Chitra KC, Latchoumycandane C, Mathur PP. Induction of oxidative stress by bisphenol A in the epididymal sperm of rats. *Toxicology.* 2003; 185: 119-127.
- 5) Qi S, Fu W, Wang C, et al. BPA-induced apoptosis of rat Sertoli cells through Fas/FasL and JNKs/p38 MAPK pathways. *Reprod Toxicol.* 2014; 50: 108-116.
- 6) Blythe JG, Michael H, Hodel KA. Colposcopic and pathologic features in two cases of DES-related vaginal clear-cell adenocarcinoma. *J Reprod Med.* 1983; 28: 137-146.
- 7) Melis MS. Effects of chronic administration of *Stevia rebaudiana* on fertility in rats. *J Ethnopharmacol.* 1999; 67: 157-161.
- 8) de Lamirande E, Gagnon C. Impact of reactive oxygen species on spermatozoa: A balancing act between beneficial and detrimental effects. *Hum Reprod.* 1995; 10 (Suppl 1): 15-21.
- 9) Meguro T, Kashiwagi T, Satow Y. Crystal structure of the low-humidity form of aspartame sweetener. *J Pept Res.* 2000; 56: 97-104.
- 10) Neset TS, Singer H, Longree P, et al. Understanding consumption-related sucralose emissions: A conceptual approach combining substance-flow analysis with sampling analysis. *Sci Total Environ.* 2010; 408: 3261-3269.
- 11) Garbow JR, Likos JJ, Schroeder SA. Structure, dynamics, and stability of beta-cyclodextrin inclusion complexes of aspartame and neotame. *J Agric Food Chem.* 2001; 49: 2053-2060.
- 12) Soffritti M, Belpoggi F, Manservigi M, et al. Aspartame administered in feed, beginning prenatally through life span, induces cancers of the liver and lung in male Swiss mice. *Am J Ind Med.* 2010; 53: 1197-1206.
- 13) Abhilash M, Paul MV, Varghese MV, et al. Effect of long term intake of aspartame on antioxidant defense status in liver. *Food Chem Toxicol.* 2011; 49: 1203-1207.
- 14) Prokic MD, Paunovic MG, Matic MM, et al. Prooxidative effects of aspartame on antioxidant defense status in erythrocytes of rats. *J Biosci.* 2014; 39: 859-866.
- 15) Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, et al. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *BMJ.* 1992; 305(6854): 609-613.
- 16) Kobayashi K, Liu Y, Ichikawa H, et al. Effects of bisphenol A on oxidative stress in the rat brain. *Antioxidants.* 2020; 9: 240.
- 17) Minamiyama Y, Ichikawa H, Takemura S, et al. Generation of reactive oxygen species in sperms of rats as an earlier marker for evaluating the toxicity of endocrine-disrupting chemicals. *Free Radic Res.* 2010; 44: 1398-1406.
- 18) Brusick D, Grotz VL, Slesinski R, et al. The absence of genotoxicity of sucralose. *Food Chem Toxicol.* 2010; 48: 3067-3072.
- 19) Kille JW, Ford WC, McAnulty P, et al. Sucralose: Lack of effects on sperm glycolysis and reproduction in the rat. *Food Chem Toxicol.* 2000; 38(Suppl 2): S19-29.
- 20) Suez J, Korem T, Zeevi D, et al. Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature.* 2014; 514(7521): 181-186.
- 21) Gardener H, Elkind MSV. Artificial sweeteners, real risks. *Stroke.* 2019; 50: 549-551.
- 22) Toews I, Lohner S, Küllenberg de Gaudry D, et al. Association between intake of non-sugar sweeteners and health outcomes: Systematic review and meta-analyses of randomised and non-randomised controlled trials and observational studies. *BMJ.* 2019; 364: k4718. (This article has been corrected. See *BMJ.* 2019; 364: 1156.)
- 23) Wild CP. The exposome: From concept to utility. *Int J Epidemiol.* 2012; 41: 24-32.
- 24) Wild CP. Complementing the genome with an "exposome":
The outstanding challenge of environmental exposure measurement in molecular epidemiology. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005; 14: 1847-1850.
- 25) Rogler G, Vavricka S. Exposome in IBD: Recent insights in environmental factors that influence the onset and course of IBD. *Inflamm Bowel Dis.* 2015; 21: 400-408.
- 26) Cheung AC, Walker DI, Juran BD, et al. Studying the exposome to understand the environmental determinants of complex liver diseases. *Hepatology.* 2020; 71: 352-362.
- 27) Niess JH, Kaymak T, Hruz P. The role of the exposome in the emergence of chronic inflammatory bowel diseases. *Ther Umsch.* 2019; 75: 261-270. (in German)
- 28) Cecchi L, D'Amato G, Annesi-Maesano I. External exposome and allergic respiratory and skin diseases. *J Allergy Clin Immunol.* 2018; 141: 846-857.
- 29) van Breda SG, Wilms LC, Gaj S, et al. The exposome concept in a human nutrigenomics study: Evaluating the impact of exposure to a complex mixture of phytochemicals using transcriptomics signatures. *Mutagenesis.* 2015; 30: 723-731.