

なかった。

D. 考察

今回の検討で、ラット前頭前野における糖代謝を見た限りでは、慢性変動ストレス、さらにダイオキシン類の慢性投与および慢性変動ストレスとの複合処置のいずれも明瞭な影響を与えなかった。つまり成熟後の脳に対してはほとんど影響を与えないものと考えられる。我々が報告したように、胎生期の母体への軽微な慢性ストレス負荷が成熟後の神経内分泌機能に明らかな影響を与えたりことから、胎生期においてはダイオキシン類の暴露が仔ラットの中樞神経系の発達にいかなる影響を与えるか検討する必要がある、今回の実験によって、胎生期に生理食塩水注射による軽微なストレスを受けたラットは成熟後に、高架式十字迷路によって測定された不安関連行動が有意に亢進していることが今回も観察された。興味深いことに、胎生期に TCDD 投与を受けたラットは、成熟後の不安関連行動は無処置群と変化がなかった。このことは生理食塩水投与によって亢進するはずの不安関連行動が消失していることになり、むしろ危険を感知し防御するという行動が障害されていることが示唆された。今後他の脳部位でも比較検討を行うとともに、胎生期でのダイオキシン類投与についてさらに検討する必要があると考えられた。

E. 今後の課題

胎性期のストレス刺激が神経系の発達に直接影響し、ダイオキシン類の暴露に対する脆弱因子を形成していることか否かを明らかにするため、以下の検討が予定され、進行中である。

1) マイクロアレイ法を用いた脳内遺伝子変異の網羅的検索:

・マイクロアレイの作成:我々の施設では既にラット海馬のcDNA ライブラリからランダムクローンを取得し、シーケンスによって配列決定を行った。PCRによる増幅、産物の精製を行った後、コーティングを施したスライドガラスにスポットニングする。

・ターゲットDNAの調整:ACTH 処置ラットあるいはTCDD処置ラットの海馬を取り出し、total RNA 抽出後、mRNA を精製し、アミノアル法によって波長の異なる蛍光色素 Cy3、Cy5で標識する。

・ハイブリダイゼーション及び解析:65°Cで12~18時間のハイブリダイゼーションを行い、ハイブリッド形成後、洗浄、除水を経て、スライドグラスをチップリーダーにかけ、各胎生期処置ラットと対照ラットの海馬における遺伝子発現パターンを調べる。この方法によって、胎生期ダイオキシン類曝露によって発現量の変化する遺伝子を、海馬で発現している全遺伝子を網羅的にスクリーニングできる。

F. 結論

躁うつ病などの感情障害の一群では、視床下部—下垂体—副腎皮質(hypothalamus-pituitary-adrenal、HPA)系のfeedback機構の異常が認められているが、このfeedback機構に係っている神経細胞質内グルココルチコイド受容体はheat-shock proteins(HSPs)との重合によってステロイドホルモンへの親和性を維持しており、ステロイドと結合後、核内へ移行し核内遺伝子転写制御に関与している。最近の報告²⁾では成熟ラットを慢性変動ストレスに曝した場合と、慢性単一(拘束)ストレスに曝した際には、前者では海馬における細胞質内グルココルチコイド受容体とHSP90と重合の低下と共にグルココルチコイド受容体の核内移行が阻害されていた。すなわち成熟後でも馴化の形成されにくいストレスに曝されることによって、グルココルチコイド受容体機能が障害され、躁うつ病などの精神疾患の病態の一つとして考えられる神経内分泌学的異常をきたしている可能性が有る。しかし、我々が報告したように、胎生期の母体への軽微な慢性ストレス負荷が成熟後の神経内分泌機能に明らかな影響を与えたことから、胎生期においてはダイオキシン類の暴露が仔ラットの中樞神経系の発達により大きな影響を与える可能性がある。

今回の検討で胎生期のダイオキシン類曝露は、不安関連行動の発達に障害を与え、危険に対し適切な行動をとる機構に影響を及ぼしている可能性が示唆された。今後さらに行動学的解析、さらに神経内分泌学的機能を評価していく予定である。

一方、ダイオキシン類と結合する aryl hydrocarbon (Ah)受容体も細胞質内にあって、HSP90 と重合していることが明らかにされている³⁾ ことから、ダイオキシン類が Ah 受容体/ を介してグルココルチコイド受容体機能に影響を与え、さらに中枢神経系機能に変化を与えている可能性が有る。これを検証するため、我々はヒトリンパ球においてデキサメサゾン刺激によるグルココルチコイド受容体の核内移行を免疫抗体法により観察し、さらにダイオキシン類の投与がこれに与える影響について検討中である。マイクロアレイ法は、胎生期にダイオキシン類曝露が成熟後の動物に及ぼす影響について遺伝子発現のレベルで解明することを目標としている。さらにグルココルチコイド受容体が発現調節している標的遺伝子の発現量を調べることにより、ダイオキシン類のグルココルチコイド受容体を介した生体への影響について知ることができるものと考えられる。

G. 参考文献

1. 三国雅彦:胎生期ストレスによる神経系の発達に伴う可塑的变化と感情障害病態モデル. 山脇成人編「感情機能と神経・免疫・内分泌—脳の世紀に向けて—」、1997 pp.55-67、新興医学出版社
2. Sasuga Y, Asakura M, Miyamoto S, Bodajji N.: Influence of chronic variable stress (CVS) on the association of glucocorticoid receptor with heat shock protein(HSP) 90 in rat hippocampus.Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi 1997 Oct;17(5):193-200

3. Heid SE, Pollenz RS, Swanson HI: Role of heat shock protein 90 dissociation in mediating agonist-induced activation of the aryl hydrocarbon receptor. Mol Pharmacol 2000 Jan;57(1):82- 92

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生科学研究費補助金（生活総合研究事業）
分担研究総合報告書

高度ケミカルハザード対応動物施設

分担研究者 今田中伸哉
財団法人 化学品検査協会
化学品安全センター日田研究所
研究協力者 吉武 尚

研究要旨

本研究が開始されると後半には大型暴露実験の必要性が生じ、実験施設の充実が必須である。高度ケミカルハザード対応動物施設建設にあたっては、作業者の暴露防止法や漏出防止法、廃棄物の処理・保管法について配慮する必要がある。高度ケミカルハザード対応動物施設の設計案とすでに高度ケミカルハザード対応施設としてダイオキシン研究に実績のあるカロリンスカ研究所(スウェーデン)の状況を報告した。

A. 研究目的

本研究が開始されると後半には大型暴露実験の必要性が生じ、実験施設の充実が必須である。高度ケミカルハザード対応動物施設建設にあたっては、作業者の暴露防止法や漏出防止法、廃棄物の処理・保管法について配慮する必要がある。それらをふまえて、高度ケミカルハザード対応動物施設の設計案を提案するとともに高度ケミカルハザード対応施設としてダイオキシン研究に実績のあるカロリンスカ研究所(スウェーデン)の状況を調査した。

B. 研究方法

スウェーデン、カロリンスカ研究所を訪問し、主に高度ケミカルハザード対応

動物施設における作業者の暴露防止法や漏出防止法、廃棄物の処理・保管法を調査した。調査報告を以下に記載する。

C. 現地調査報告

1) 高度ケミカルハザード対応動物施設案

飼育室

- ケミカルハザード対応飼育室は、他の室と空調を切り離しオールフレッシュ方式とし、排気系に活性炭フィルターと HEPA フィルターを使用する。
- アイソレーション(一方向気流方式飼育)ラックは専用空調制御を行い、中性能フィルター、HEPA フィルター、活性炭フィルター、スクラバー

を通して排気する。

- エアロックルームを入りに設置し、飼育室、廊下(前室)に対して陽圧とする。
- 廊下(前室)はクリーン廊下より陽圧とする。
- 入退室は更衣室、エアシャワー、クリーン廊下、飼育室、廊下、パスルーム、更衣室の順に移動する方式とする。
- 廃棄物低温貯蔵庫を洗浄室隣に設置する。冷蔵庫と冷凍庫を設置する。

付属施設(測定用施設)(図 2)

- 標準物質の取り扱い及び試験液調製のハイトキックルームを設置する。前室を設け、他の室に対して最高陰圧とする。
- 試料保管室、前処理室の順に陰圧とし、いずれの室も前室より陰圧とする。
- ドラフト、GC-MS 等からの排気は活性炭フィルター、HEPA フィルターを通して行う。

(2) ダイオキシン研究実施施設

施設

カロリンスカ研究所(スウェーデン)

面会者

Dr. Halen Hakansson(毒性部門 環境生物学 助教授)

1979 年よりダイオキシンの研究を行う。

職員、ゲスト研究者、学生等 15-20 名で研究を進めている。

施設構成

研究室 (vitro 実験に使用、5 階建て、各階約 20 室)

動物舎およびケミカルハザード施設 (6 階建て、研究室のある建物に連結)

管理方法(動物舎およびケミカルハザード施設)

施設への入退出(バリア施設)

- 入り口の前で専用の服装(厚手のナイロン製)に着衣を交換。
- エアシャワー
- ID カードによる身分証明後、部屋を開けてもらい、入室。
- 前室でコート(特殊な紙で出来ている)、マスクおよび手袋を着用後、入室。これらはすべて使い捨てである。
(長期間または高濃度のダイオキシンを使用する場合は、細菌実験によく使用される宇宙服のような服装に着替える。)

動物実験室

- コンピュータによる集中管理(ID カードによる身分証明)。
- 動物は、マウス及びラットを使用している。
- 1フロアに、15-20 ぐらいの動物実験室を所有している。1 実験室にラット 100 匹ぐらいのスペースである。
- ダイオキシンを扱うバイオハザード室は P2-3 レベルで管理している。
- 実験室は、前室を設けている。
- 排気は、HEPA フィルター等を使用

し、ダイオキシンの外部への漏れを完全に遮断している。

- 検体類は、パスボックスにより実験室に搬出入する。

動物器材及び洗浄

- 動物器材(ケージ等)は、自動機器で洗浄後、次の実験のために自動でセットされる。
- 自動洗浄機は、密閉した部屋に設置されており、洗浄後の水、空気についても外部に漏れないようにしている。

廃棄物処理

- ダイオキシンの汚染された汚物および動物は一時的に-20℃の部屋に保管する。
- 定期的に業者が回収する。
(回収後、約 850℃以上の焼却炉で処理する。業者はストックホルム市に3社あり、市が助成している。)

D. 結論

高度ケミカルハザード対応施設の設計提案とダイオキシン研究に実績のあるカロリンスカ研究所（スウェーデン）の状況報告は、ダイオキシン研究施設の改善や新設に有用なものとなると考えられる。また、これを基に高度ケミカルハザード対応動物施設における作業員の暴露防止法や漏出防止法、廃棄物の処理・保管法について既存の当該施設に対する対応を行う。

ダイオキシン研究実施施設

施設：カロリンスカ研究所(スウェーデン)

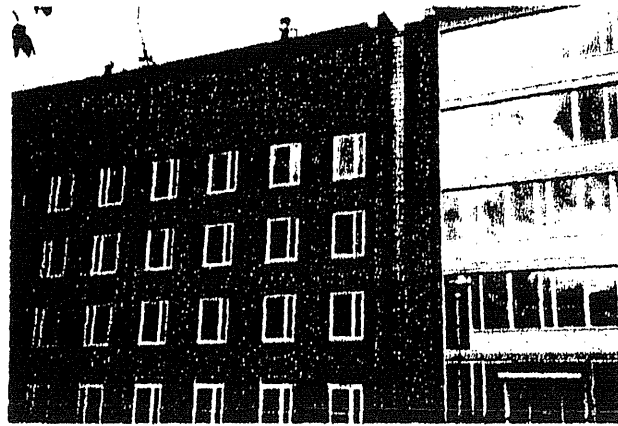
面会者：Dr. Halen Hakansson(毒性部門 環境生物学 助教授)

1979年よりダイオキシンの研究を行う。

職員、ゲスト研究者、学生等 15-20 名で研究を進めている。

施設構成：研究室 (vitro 実験に使用、5階建て、各階約 20 室)

動物舎およびケミカルハザード施設(6階建て、研究室のある建物に連結)



管理方法(動物舎およびケミカルハザード施設)

施設への入退出(バリア施設)

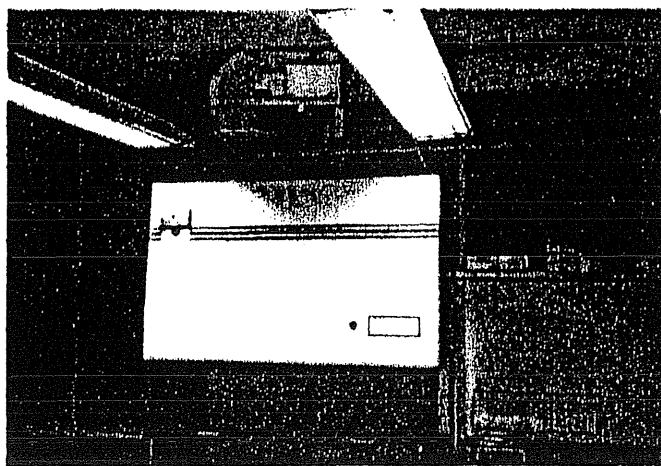
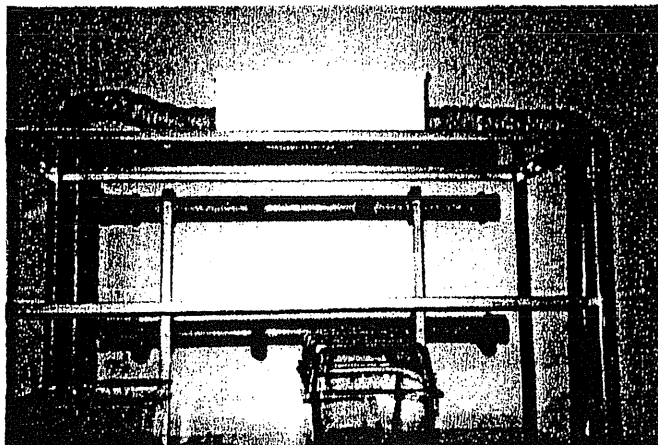
- ・ 入り口の前で専用の服装(厚手のナイロン製)に着衣を交換。
- ・ エアシャワー
- ・ IDカードによる身分証明後、部屋を開けてもらい、入室。
- ・ 前室でコート(特殊な紙で出来ている)、マスクおよび手袋を着用後、入室。これらはすべて使い捨てである。

(長期間または高濃度のダイオキシンを使用する場合は、細菌実験によく使用される宇宙服のような服装に着替える。)



動物実験室

- ・ コンピュータによる集中管理(IDカードによる身分証明)。
- ・ 動物は、マウス及びラットを使用している。
- ・ 1フロアに、15-20 ぐらいの動物実験室を所有している。1 実験室にラット 100 匹ぐらいのスペースである。
- ・ ダイオキシンを扱うバイオハザード室は P2-3 レベルで管理している。
- ・ 実験室は、前室を設けている。
- ・ 排気は、HEPA フィルター等を使用し、ダイオキシンの外部への漏れを完全に遮断している。
- ・ 検体類は、パスボックスにより実験室に搬出入する。



動物器材及び洗浄

- ・ 動物器材(ケージ等)は、自動機器で洗浄後、次の実験のために自動でセットされる。
- ・ 自動洗浄機は、密閉した部屋に設置されており、洗浄後の水、空気についても外部に漏れないようにしている。



廃棄物処理

- ・ ダイオキシンに汚染された汚物および動物は一時的に -20°C の部屋に保管する。
- ・ 定期的に業者が回収する。
(回収後、約 850°C 以上の焼却炉で処理する。業者はストックホルム市に 3 社あり、市が助成している。)

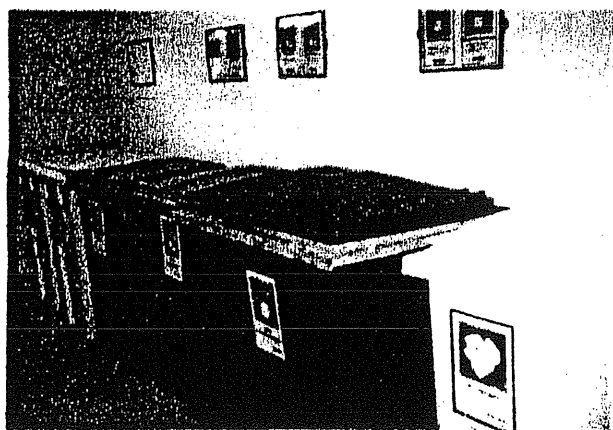
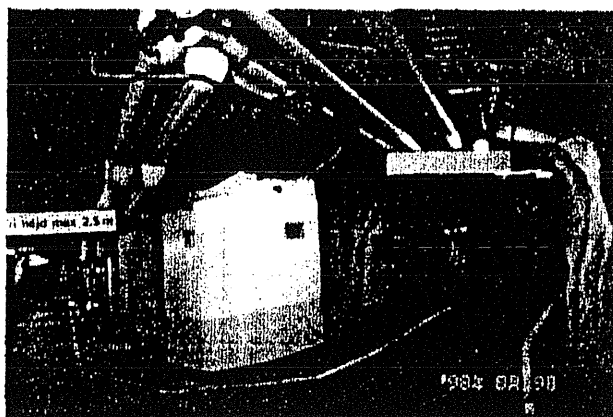
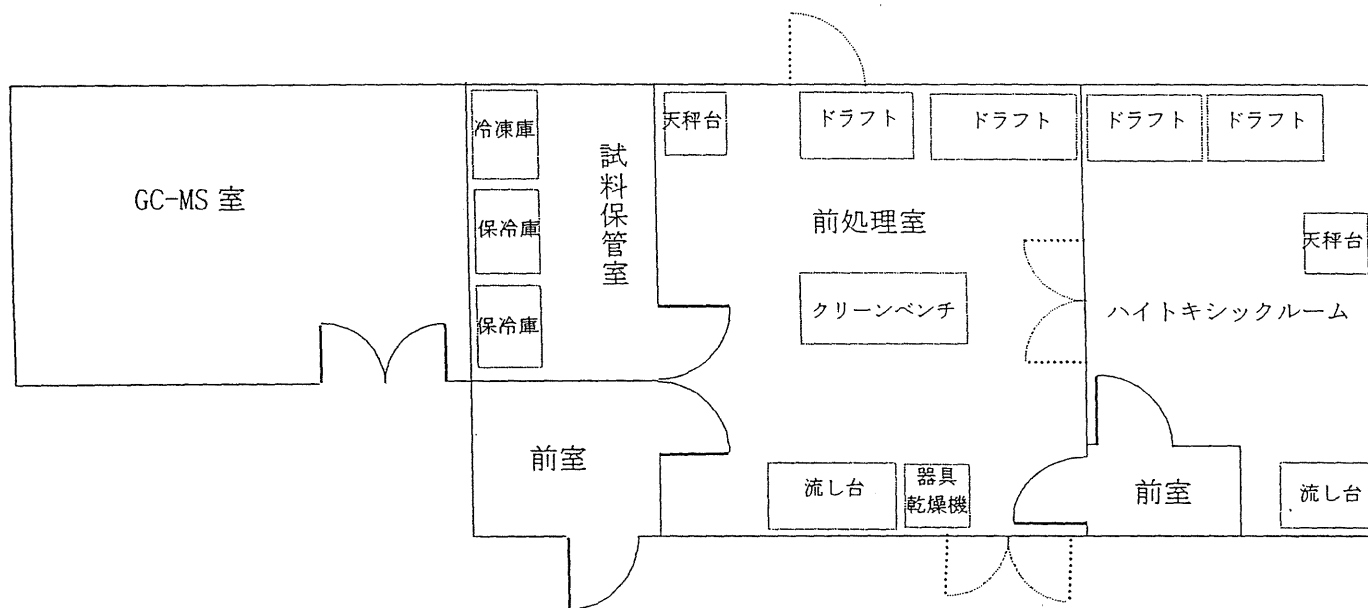


図 2. GC-MS 室及びハイトキシックルーム



ダイオキシン類の毒性学的研究における国際動向に関する研究

分担研究者 長谷川隆一 国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室

分担研究者 広瀬 明彦 国立医薬品食品衛生研究所・総合評価研究室

研究要旨

未だ評価の確定していない子宮内膜症等の健康影響のリスク評価を確実なものにするためには、国際的な動向の最新情報を収集する必要がある。本研究は、海外における最新のダイオキシン類の汚染・暴露状況や健康影響に関する研究の進展状況に関する情報を収集するため、11年度は、イタリアのベニスで開かれた Dioxin' 99 に参加すると共に、ダイオキシン対策としては先端的政策をしているドイツ（ベルリン）において、BGVV（連邦消費者健康保護・獣医学研究所）、UBA（連邦環境局）および、Freie University Berlin を訪問し、ダイオキシンの安全性評価や暴露に関する状況を調査した。12年度は、米国のカリフォルニア州モントレイ開かれた Dioxin' 2000 で得た最新の知見についてまとめた。

A. 研究目的

未だ評価の確定していない子宮内膜症等の健康影響のリスク評価を確実なものにするためには、国際的な動向の最新情報を収集する必要があり、本研究は、海外における最新のダイオキシン類の汚染・暴露状況や健康影響に関する研究の進展状況に関する情報を収集することを目的とする。特にダイオキシン類による子宮内膜症や胎児期・授乳期暴露による次世代への健康影響に対する研究や、Ahレセプターを介した毒性発現メカニズムに関する情報を収集する。

B. 研究方法

11年度は、イタリアのベニスで開かれた Dioxin' 99 に参加すると共に、ダイオキシン対策としては先端的政策をしているドイツ（ベルリン）において、BGVV（連邦消費者健康保護・獣医学研究所）、UBA（連邦環境局）および、Freie University Berlin を訪問し、ダイオキシンの安全性評価や暴露に関する状況を調査した。12年度は、米国のカリフォルニア州モントレイ開かれた Dioxin' 2000 で

得た最新の知見についてまとめた。特に、ダイオキシンの胎児期暴露による影響、子宮内膜症およびアрилルハイドロカーボンレセプター(AhR)を介した毒性発現メカニズム等に関する新知見についてまとめた。

C. 研究結果

1. Dioxin' 99 及び 2000 での情報収集

本シンポジウムでは、ダイオキシン類を含めた有機化学汚染物質に対して、分析法や生成分解過程、汚染状況、毒性、毒性発現機序、疫学調査、リスクアセスメント・マネジメントと幅広い研究分野における成果の発表やディスカッションが行われた。

特に、ダイオキシンの毒性発現メカニズムやTEQの妥当性等に関して、以下の内容に関する発表が行われた。

a) 発がんプロモーションメカニズム

- 雌ラットの肝臓発がんに対するエストロゲンの関与について
- *Tg.AC* マウス皮膚乳頭腫の発現における

経口または経皮 TCDD 投与の影響

- TCDD 慢性暴露によるラット肺病巣発生の解析
 - PCB による肝発がんプロモーションメカニズムの解析 (核内転写制御因子 NF- κ B と AP-1 の増加)
 - TCDD による発がんプロモーションのメカニズムについて (アポトーシスの抑制)
- b) 生殖発生毒性の発現メカニズム
- ダイオキシン類混合物を妊娠動物投与にした場合の発生毒性における TEQ の妥当性の検証
 - 妊娠ラットへの TCDD 投与による児の生殖器への影響の病理組織学的解析
 - TCDD による口蓋裂発生のメカニズム (口蓋緻密形成期の口蓋棚発達への影響)
 - 2,3,7,8-TCDD の LONG EVANS ラットへの胎児期暴露における生後の体内動態
 - 胎児期 TCDD 暴露による雄ラット前立腺複葉のアンドロゲン感受性の減少
 - TCDD 暴露により子宮内膜症を誘発したアカゲザルの末梢白血球における TNF α 産生の増加
- c) 免疫毒性の発現メカニズム
- 胎児胸腺の細胞周期に及ぼす TCDD の毒性メカニズム (Kip1 タンパクによる細胞周期の抑制)
 - ヒト培養 T リンパ系幼若細胞における TCDD 依存性アポトーシスのメカニズムの解析 (Ah レセプター非依存性)
 - TCDD による肝臓の炎症性障害の発生に関わるリンパ球系細胞の役割の解析
- d) Ah レセプター
- Ah レセプターのシグナル伝達メカニズム (bHLH/PAS ドメインの役割)
 - TCDD の抗アンドロゲン作用メカニズム (AhR と AR のクロストーク)
 - 肝臓中 xanthine dehydrogenase(XDH) と xanthine oxidase(XO)の Ah レセプター

依存性の誘導について

- SSCP 法を用いた Ah レセプター遺伝子の 5'側発現制御領域と Arnt 遺伝子の遺伝子多型のスクリーニング
 - ヒト Ah・レセプターの 5'側上流の解析
 - TGF- β による Ah・レセプターの発現制御の解析
 - TCDD による致死量に関して低感受性動物種であるハムスターの Ah・レセプター遺伝子のクローニング
 - AIP (XAP2 または Ara9) の転写制御等に対する役割の解析
- d) PCB における TEQ の妥当性の検証
- PCBs (PCB126 : non-ortho, PCB105: mono-ortho, PCB153: di-ortho) の相互作用について
 - PCB 混合物と TCDD の同時投与における毒性 (一般毒性) の相互作用の検討
- e) その他
- Halowax に含まれるポリ塩化ナフタレンの Ah レセプター依存性蛋白質誘導能
 - ダイオキシンの毒性のバイオマーカーとしての肝臓中ビタミン A 減少の妥当性の検証

2. BGVV および UBA 訪問

a) 食品中および母乳中のダイオキシン類濃度 (Dr. Barbara Heinrich-Hirsch and Dr. Barbel Vieth, Evaluation of Chemicals Division, BgVV) : 日本とドイツでの食品中および母乳中ダイオキシン類濃度の年次推移についてデータ及び意見交換を行った。

b) ダイオキシン類の分析について (Dr. Wolfgang Mathar, Chemistry and Technology of Foods and Other Commodities Division, BgVV) : 多数ある Co-PCB のうち指標となり得る PCB をいくつか選別し、これらの指標 PCB を測定することにより Co-PCB 全体の汚染を簡便に把握することを計画している。

c) ダイオキシン類の TDI や規制状況について (Dr. Günter Neumeier, Impacts on Ecosystem, UBA): ドイツにおける TDI は、1~10 pg/kg/day (1 pg/kg/day は目標値) であるが、現在、1998 年の WHO の値 (1~4 pg/kg/day) を受け入れることを検討している最中である。また、内部での限定利用であるが、BgVV と UBA の間では全国的な汚染状況 (環境中や食品、生体試料) を一元的に集約したダイオキシンデータベースが構築されており、汚染状況をオンラインで検索できるシステムが完成しつつある。

d) 胎児期及び授乳期暴露による児の生殖機能への影響について (Dr. Ibrahim Chahoud, Institute of Clinical Pharmacology and Toxicology, Freie University Berlin): Dr. Chahoud 氏は 1998 年に発表した論文 (Faqi A.S.ら *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 150, 383) の責任者である。この研究での児における body burden は、ヒトでの 10~70 倍に相当するものであるが、間違いなく影響が現れる用量であることと、でリスクアセスメントにおいて有用性が高いことを強調していた。

D. 考察

Ah・レセプター自体の解析では、TCDD に対する感受性が、C 末側の転写調節領域の構造に関係しているという状況証拠も揃いつつあるようである。このあたりの研究は、Ah・レセプターと各種の核内 Co-factor との相互作用により、どのように毒性が発現されているかを解析する上で、興味深いものである。さらに、毒性発現の分子学的アプローチとはべつに、毒性評価の上では体内動態に関する知見も必要である。この意味において、今回のシンポジウムで、授乳経路による胎児の各臓器における TCDD 体内動態の解析結果は、生殖器毒性を評価する上で重要な知見であると考えられる。

また、ダイオキシン類による子宮内膜症の発症に関しては、免疫系の関与が示唆されているが、今回のシンポジウムでは、さらに増殖因子である TNF α が分子メカニズム的に関係していることが突き止められようとしている。さらに、Ah・レセプターと増殖因子との関係でいえば、今回のシンポジウムでは、Ah・レセプターの発現制御に各種の増殖因子が関わっていること明らかにされ、特に、Ah・レセプター遺伝子の 5' 上流の転写調節部位の解析が進んだようである。また、胎児期暴露による前立腺への影響に関しては、前立腺腹葉におけるアンドロゲンレセプター mRNA の発現抑制の関与が示唆されるなど、Ah・レセプターの発現制御の解析と共に、細胞特異的な毒性発現メカニズムの解析が、これからの大きな課題であると考えられた。

E. 参考文献

Faqi, A. S., Dalsenter, P. R., Merker, H. J., Chahoud, I. (1998). Reproductive toxicity and tissue concentrations of low doses of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in male offspring rats exposed throughout pregnancy and lactation. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 150, 383-392.

Organohalogen Compounds (1999) 42

Organohalogen Compounds (2000) 49

F. 研究発表

なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

ダイオキシン規制の国際動向

分担研究者 黒川 雄二 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

1990年にWHOによりはじめてダイオキシンのTDI(一日耐容摂取量)が、10pgTCDD/kg bw/dayとされてから、世界各国・機関はそれぞれに毒性・暴露等の評価を行い、TDI等を設定してきたが、98年5月のWHOによる再評価で、TDIが1-4pgTEQ/kg bw/dayとなった。その後、環境庁及び厚生省が専門家会合においてTDIの見直しが行われ、99年6月にコプラナーPCBを含め、4pgTEQ/kg/dayを当面のTDIとすることが適当であるとした。

US-EPAが95年に引き続き、新たに2000年6月に提示した「ダイオキシン類に関する再評価ドラフト」について検討した。全体は、暴露、健康影響、リスク評価の3部に分かれている。発がん性に関して、今回の文書においては、2,3,7,8 TCDDを明らかな human carcinogen、ダイオキシン類の混合物及びその他のダイオキシン様化合物を likely human carcinogen に分類している。98年にWHO/IPCSが提示したTDI 1-4pg TEQ/kg/dayはリスクマネジメントには有用な値として結論づけている。厚生省ダイオキシン類健康影響評価特別部会では、「現時点において、我が国におけるTDIを早急に再検討する必要性を示唆する知見は、この再評価ドラフト等からは得られなかった」と結論した。

A. 研究目的

ダイオキシン類がヒトの健康に重大な影響を及ぼすことは、1980年代から世界的に大きな問題となってきた¹⁻⁴⁾。その環境中濃度を規制するための方策が、世界各国政府及び国際機関で考えられてきた^{5,6)}。本研究では、それらのこれまでの動きを展望し、今後の日本における規制方針策定に役立てようとするものである。これまで、その間に国内外で設定された規制値等について、その設定根拠などを概略し、さらに平成12年6月にUS-EPAから出された「ダイオキシン類再評価ドラフト」の内容を紹介・検討し、日本における対応を考慮することを目的とした。

なお本稿では、ダイオキシン類とはポリ塩化ダイベンゾダイオキシン(PCDD)及びポリ塩化ダイベンゾフラン(PCDF)を意味する。2,3,7,8-テトラクロロジベンゾダイオキシンは、ダイオキシン又はTCDDと記した。

B. 国内外のダイオキシン類に関するTDI等の規制値の展望

WHO/EURO(欧州地域事務局)は1990年に、TDI(Tolerable Daily Intake、耐容一日摂取量)として、10pg/kg bw/dayを公表し、世界的に多大なる影響を与え、各国での規制値設定を促した⁷⁾。

厚生省でも、1990年に「ダイオキシン類発生防止等ガイドライン」を決め、さらに調査研究班を設けて、「ダイオキシンの毒性発現機構に関する調査研究」(1992-94年度)⁸⁾、「ダイオキシンのリスクアセスメントに関する研究」(1995-97年度)⁹⁾を行い、1996年6月に当面のTDIとして10pg/kg bw/dayを提案し食品衛生調査会に答申後、公表した。規制値設定の前提として、①ダイオキシン類は非意図的生産物であり、環境経路で摂取するものであるため、ADIよりもTDIをもちいること、②実験動物で発がん性はあるが、遺伝子毒性はなくプロモーター作用物質であることから、閾値が設定できること、③従って

一般毒性評価と同様にNOAELを基にTDI設定をすることができること等の3点を明確にした。根拠とするデータとして、Murray らの生殖発生毒性試験及びKociba らの慢性毒性試験等を用い、総合的に判断してNOAEL1ng/kg bw/dayとし、これに不確実係数100を適用して、TDIを設定した。ただし、これらは既存データを基としたもので、国内外の日進月歩の研究状況を考慮し、今回のTDIを当面のものとするのが適当と判断した。

環境庁では1996年5月にダイオキシンリスク評価検討会を設置し、調査・研究を開始して、同年11月には、TDI等とは異なる健康リスク評価指針値として5pg/kg bw/dayを公表した¹⁰⁾。この独自の指針値の定義は、①ダイオキシン類に係る環境保全対策を講ずるに当たっての目安となる値、②人の健康を維持するための許容限度としてではなく、より積極的に維持されることが望ましい水準として人の暴露量を評価するために用いる値である、としている。この指針値の設定根拠に用いたのは、Kociba らの発がん性試験であり、肝過形成結節を指標とした NOAEL1 ng/kg bw/dayに不確実係数100(種差10、個体差10)、または肝がんを指標とした NOAEL10 ng/kg bw/dayに不確実係数1000(種差10、個体差10、影響の重大性10)をそれぞれ適用して、10pg/kg bw/dayという数字をまず算出した。さらにRierらのアカゲザルの実験における子宮内膜症発生に用量相関関係があること、発症にホルモン・免疫作用の関与が想定されること等から、付加係数として2を加え健康リスク評価指針値として5pg/kg bw/dayを導き出したものである。最近オランダにおいてアカゲザルの実験におけるLOAELからTDIを設定した事実に影響されたと推察されるが、実際のLOAEL値を用いることはしていない。

WHO欧州地域事務局及び国際化学物質安全性計画(IPCS)は、1990年以降集積された新しい科学的知見に基づきTDIを見直すため、

1998年5月、専門家会合をジュネーブにて開催した。本会合では、ダイオキシン類に関する発がん性及び非発がん性の影響、小児への影響、体内動態、作用メカニズム、暴露状況など広範な分野について、新しい科学的知見をもとに議論が行われた。その結果、毒性試験の結果をヒトにあてはめるに当たって、投与量を直接用いるのではなく、体内負荷量(body burden)に換算してあてはめる考え方を導入した。その上で、最も低い体内負荷量で毒性がみられた毒性試験の結果に基づいて算定した数値をヒトの最小毒性量とみなし、この値に不確実係数10を適用し、TDIを1~4pgTEQ/kg/日とした^{11,12)}。

WHOの最終報告書概要によれば、現在の先進国における暴露状況が、2~6pgTEQ/kg/日のレベルであると述べた上で、この暴露レベルにおいても微細な影響は生じているかもしれないが、現時点では明確な毒性影響の発現は報告されておらず、また、観察されている影響についても他の化学物質の影響が否定できないことから、1~4 pgTEQ/kg/日が当面の耐容できる値であると考察している。その上で、結論として、4pg TEQ/kg/dayを当面の最大耐容摂取量(maximal tolerable intake on a provisional basis)とし、究極的には摂取量が1 pgTEQ/kg/日未満となるよう努めるべきとしている。

その後、上記のWHO/IPCSによるTDI再評価の結論を踏まえ、環境庁及び厚生省が組織した専門家会合(中央環境審議会環境保健部会ダイオキシンリスク評価小委員会及び生活環境審議会・食品衛生調査会ダイオキシン類健康影響評価特別部会)はTDIの見直しを行なった。そして1999年6月に、未解明の面が残されているが、既存の科学的知見を対象とした論議を踏まえ、2,3,7,8-TCDDとして86ng/kgの体内負荷量の値に対応するヒトの1日摂取量43.6 pg/kg/dayに不確実係数の10を適用した数値を根拠に、コプラナーPCBを含め、4 pgTEQ/kg/dayを当面のTDIとすることが適当

であるとした¹³⁾。

C.US-EPA のダイオキシン類再評価ドラフト

US-EPA では、ダイオキシン類に関する再評価を1994年に行っているが¹⁴⁾、2000年6月に新しい再評価ドラフトを提示した¹⁵⁻¹⁷⁾。全体は、暴露、健康影響、リスク評価の3部に分かれており、全35章にも及ぶ大部なものであるが、本研究に関わる部分の要約は以下のようである。

(1) ダイオキシン類

ダイオキシン類は多くの化学構造上類似の化学物質の総称である。即ち、polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins(PCDDs)、Polychlorinated dibenzo furans(PCDFs)、Polybrominated dibenzo-*p*-dioxins(PBDDs)、Polybrominated dibenzo furans (PBDFs)及びPolychlorinated biphenyls (PCBs)が含まれる。更に、Polybrominated biphenylsや一つの分子に塩素と臭素が含まれる場合も考えられ、おびただしい数の化合物の存在が考えられる。いずれも脂溶性が高く、動物体内での代謝や環境中での変化を受けにくく、ヒトや動物の体内に蓄積しやすいと言う共通の性質を有している。

ダイオキシン類の中では、2,3,7,8-Tetra chlorodibenzo-*p*-dioxin (ダイオキシン、2,3,7,8-TCDD)がその強い毒性から最も注目されている。ダイオキシン類のうち全ての化合物が2,3,7,8-TCDD様の毒性を有しているわけではない。2,3,7,8-TCDDなど代表的な化合物の毒性については多くの毒性研究があるが、全ての化合物について十分な毒性データがあるわけではない。特に臭素系ダイオキシン類についての毒性情報は少なく、詳細な毒性評価は行われていない。

このようにおびただしい数のダイオキシン様化合物が存在するものの、ヒトや動物体内での蓄積データから、環境中のダイオキシン類については、20種類前後のものに絞って評価すれば十分であると考えられている。

(2) 毒性等価係数(Toxic Equivalency Factor, TEF)及び毒性等量(Toxic Equivalent Quantity, TEQ)

ヒトは環境その他から、いろいろな量と割合で同時に種々のダイオキシン類による暴露を受けており、このことがヒトにおけるダイオキシン類に係る健康評価を複雑なものとしている。

そこで、異なった種類のダイオキシン類に同時に暴露された場合の健康影響評価法として、2,3,7,8-TCDDの毒性(これを1とする。)を基準として、その他のダイオキシン類の毒性の強さ、すなわち毒性等量係数(TEF)を定め、暴露された全てのダイオキシン類の量を2,3,7,8-TCDD毒性等量(TEQ)に換算して評価を行うことが普通であり、極めて有用な評価手段となっている。

TEFはこれまでに3種類が示されているが、1998年にWHOが新たに示したWHO-TEF(1998)を用いることが推奨されており、現在、TEF算定に用いられているが、科学的知見の充実を踏まえて定期的に再検討することが必要である。

(3) 暴露評価指標

暴露評価の指標として、1)投与量、2)AUC、3)血漿(又は組織)中濃度、4)定常状態における体内負荷量(Steady-State Body Burden)及び5)作用機序に基づく用量指標(Mechanistic Dose Metrics)がこれまでに提案されている。それぞれに利点、欠点があり、利用には限界がある。

例えば、AUCはヒトの間で暴露量を比較し、毒性発現について考察するには適しているが、寿命の差や特定の毒性について感受性の高い時期もあり、種間比較に利用するには問題がある。一方、体内負荷量(又は血中濃度)は、組織中濃度に対応するものであり、現時点ではダイオキシン類による暴露の比較をヒトと動物などの種間で言い、リスクアセスメントを行うのに最も適切

な指標と考えられている。

これらの指標を用いる場合には、データと使用目的、および前提となる仮定をよく理解して選ぶ必要がある。

(4) ヒトや動物における発がん性

これまでUS-EPAで行ってきた職業的コホート研究など疫学的研究によれば、ある不確実性は残るものの、ダイオキシン類の暴露とがんによる死亡率の増加には相関があることが認められている。また、高レベルのPCDFsとPCBsに暴露された日本のカネミ油症でも肺がんと肝がんによる死亡の増加が認められている。セベソにおける高濃度ダイオキシン暴露事故でもがん死の増加が示唆されているが、確定的な証拠はまだ得られていない。これまでの調査により、限られた疫学データから2,3,7,8-TCDD及びその他のダイオキシン類は、ある不確実性は残るものの、高濃度で暴露されたヒト、特に男性にとって多臓器発がん物質であるとされている。職業的に暴露されたヒトの、多臓器における発がんリスクの増加は、ダイオキシン類の作用機構や、標的臓器における遺伝子発現と細胞制御への作用レベルを考えればあり得ることであろう。

しかし、限られた疫学データの中から、この結論を更に確実にするためには、将来にわたり、より長期的観察及び適切な暴露評価の研究が必要である。

実験的には、2,3,7,8-TCDDはラット及びマウスに対して非遺伝毒性発がん物質であることを示す多くのデータがあり、2,3,7,8-TCDDに対して毒性感受性の低いハムスターに対しても発がん性が示されている。さらに、2,3,7,8-TCDDは、発がんプロモーション作用を示し、他のダイオキシン様化合物にも同様なプロモーション作用がある。しかも、ある不確実性は残るものの、がんに対する疫学的結果と、ダイオキシン様化合物が多種の動物で多臓器発がん物質あるいは発がんプロモーターであるとの結果は、概して一

致している。

このような根拠から、2,3,7,8-TCDDは明らかに human carcinogen (ヒトに対する発がん性がある物質) に分類できる。これは国際がん研究機関(IARC)における結論と同様である。ダイオキシン類の混合物やその他のダイオキシン様化合物はこれまでのデータから likely human carcinogen (ヒトに対する発がん性の可能性がある物質) に分類できる。

暴露量と発がんリスクに用量相関傾向を示した研究はいくつかみられるが、疫学的データ、特に職業性暴露量以下の研究では、用量相関曲線について明確なことはいえない。

US-EPAは発がん性上限リスク値を、疫学及び発がん性試験データから計算した、 1×10^{-3} per pg-TEQ/kg/dayを用いることを勧めている。ダイオキシン類の場合のように作用発現用量 (effective level) とバックグラウンドのレベルが近い場合、US-EPAは非発がん性影響評価には Deviation of a Reference Dose (RfD)ではなく、Margin of Exposure (MOE)を用いることを推奨しており、通常、この値として100~1000が望ましいとしている。体内負荷量の取り方と毒性指標の選び方によってはMOEが10以下になることもある。

RfDはバックグラウンドにおける暴露量が低いとき、ある特定の発生源からの暴露量を評価するときに用いられるものである。

ATSDR (US Agency for Toxic Substances and Disease Registry)はダイオキシン類の最小リスクレベル (Minimum Risk Level, MRL)を1.0 pg-TEQ/kg/dayに設定しているが、がん以外の指標を用いたこの方法の妥当性には疑問がある。

WHOが設定している耐容一日摂取量(TDI, 1~4 pg-TEQ/kg/day)は、リスクマネージメントの目的には妥当な数字である。

(5) 毒性メカニズムについて

ダイオキシン類の毒性の大部分は、動物、ヒト共に細胞質に存在するアール炭化水素受容体Ahレセプターを介して生じるものと考えられる。Ahレセプターを介さない毒性影響も報告されているが、この種の毒性が生じるのは比較的多量のダイオキシンに暴露された場合であり、ヒトのリスク評価には影響しないものと考えられる。

ダイオキシンとAhレセプターの複合体は、細胞の核内でアール炭化水素受容体核移行因子(Arnt)とヘテロ二量体を作り、DNAの特定の領域に結合して転写活性因子として働く。このAhレセプターやArntには種差、系統差があることが動物で知られていたが、最近ヒトでもこれらの蛋白の多型が報告されている。この多型がヒトの感受性にどの程度の幅をもたらすかは今後の研究課題である。

(6) 暴露について

成人の一日あたりの PCDD/PCDFs とダイオキシン様 PCB の摂取量はそれぞれ 41 および 24 pg-TEQ/day であり、総摂取量は 65 pg-TEQ/day であることから、米国におけるバックグラウンド暴露レベルは、1 pg-TEQ/kg/day となる。この摂取量は食物、土壌、および大気からの摂取を合わせたものである。

なお、成人血中濃度の 253 pg-TEQ/g lipid から、定常状態の薬物動態モデルを用いて推定される一日あたりの摂取量は 1463 pg-TEQ/day であり、摂取経路からの推定値の 2.2 倍に相当する。この相違は過去の暴露値は現在より高かったと思われることを考慮せずに、単純なモデルを当てはめたことから予想されたことである。また、摂取経路からの推定値はすべての暴露経路をとらえていない場合には過小評価になる。また、暴露値の個人差は高いもので平均値の3倍程度であり、主として食生活の差によるものである。

(7) 小児への毒性影響

バックグラウンドレベルの暴露量において、精神行動、甲状腺機能、免疫機能、菌の発達への影響が疫学的に報告されているが、いずれも確定的でない。

母乳栄養児の甲状腺機能異常の報告が多くなされているが、成長とともにどのような影響を生ずるかについては、今後の長期観察によるデータが必要である。

動物実験では、2,3,7,8-TCDDの妊娠中あるいは授乳期の単回投与実験がおこなわれており、多くの場合、生殖器の発達、精神神経系の発達、免疫機能などに明らかな影響が認められている。

小児期における暴露と発がんの関係は、疫学的にも実験的にも明らかではない。ダイオキシン類が発がんプロモーター作用を持つことを考えると、一時的な高濃度暴露よりは、体内負荷量の方が問題であり、したがって小児期より成人後の暴露の方が問題である。

また、母親から胎児への影響は、母親のそれまでの食生活などによって蓄積された量(体内負荷量)の問題である。従って、一時的な高濃度暴露も体内負荷量を有意に増加させない程度であれば問題ないであろう。

(8) 母乳栄養児におけるダイオキシン量

母乳栄養児は人工栄養児に比べて、明らかにダイオキシン量が高い(20 vs. 5 ppt TEQ)。母乳栄養児の年間ダイオキシン平均摂取量は、成人の摂取量より明らかに高い(92 vs. 1 pg-TEQ/kg/day)。しかし、乳児の急速な体重増加及び脂肪の増加、母乳中のダイオキシンの経時的減少により、体内負荷量は決して大きな差を生じない。

母乳栄養児は人工栄養児に比べて、発育に必要な一時期、高いレベルのダイオキシン類を摂取するが、母乳栄養の利点はWHO、米国小児アカデミーなどで認められており、その利益(benefit)は危険(risk)を上回るものである。

D. 考察・結論

1990年にWHOによりはじめてダイオキシンのTDI(一日耐容摂取量)が、10pgTCDD/kg bw/dayとされてから、世界各国・機関はそれぞれに毒性・暴露等の評価を行い、TDI等を設定してきた。日本では、厚生省が1996年に当面のTDIとして、10pgTCDD/kg bw/dayを公表し、1997年に環境庁はダイオキシン類の健康リスク評価指針値を5pg/kg/dayとした。その後、98年5月のWHOによる再評価で、TDIがコプラナーPCBを含んで、1-4pg TEQ(毒性等量)/kg bw/dayとなった。その後、環境庁及び厚生省が専門家会合(中央環境審議会環境保健部会ダイオキシンリスク評価小委員会及び生活環境審議会・食品衛生調査会ダイオキシン類健康影響評価特別部会)を組織し、その合同会合においてTDIの見直しが行われ、1999年6月にコプラナーPCBを含め、4pgTEQ/kg/dayを当面のTDIとすることが適当であるとされた。

ダイオキシン類の毒性に関して、特に問題となるのはその発がん性である。今回の、US-EPA再評価文書においては、2,3,7,8 TCDDを明らかな human carcinogen、ダイオキシン類の混合物及びその他のダイオキシン様化合物を likely human carcinogen に分類している。そして、発がん性上限リスク値を、疫学及び発がん性試験データから計算した、 1×10^{-3} per pg-TEQ/kg/dayを用いることを勧めている。この値は、データが今より少なかった当時の評価(1985年及び1994年)より、3~30倍高く、一般の人々のリスクの最高推定値(95パーセンタイル値以上)は、 10^{-3} から 10^{-2} の間になる。しかし、US-EPAの考察によれば、「実際のリスクは、この値を超えることはまずありえないし、それよりも低いはずであり、リスクが0である人々の可能性もある」としている。すなわち、がんのリスクの程度は、暴露経路と暴露レベル、総体内負荷量、標的臓器への用量、個人の感受性、ホルモン状態に依存してきまるものである。WHO/IPCSが提示したTDI1-4pg

TEQ/kg/dayを、US-EPAはリスクマネージメントには有用な値として結論づけている。2000年12月に開催された厚生省ダイオキシン類健康影響評価特別部会では、「以上の点から、現時点において、我が国におけるTDIを早急に再検討する必要性を示唆する知見は、この再評価ドラフト等からは得られなかった」と結論した¹⁰⁾。

なお、今後、我が国におけるTDIの再評価の必要性に係る検討に際して、留意すべきと考えられる点は、ヒトの感受性の個体差である。すなわち、マウスではダイオキシン感受性に大きな系統差があることが知られており、ヒトでも同様の幅広い個体差があるならば、不確実係数が10でよいのかが問題となる。なお、現時点ではヒトの感受性に10倍以上の個体差があることは確認されていない。

文献

- 1)黒川雄二;ダイオキシン問題雑感. ファルマシア, 34;419(1998)
- 2)黒川雄二;ダイオキシン類の毒性について. ビルと環境, 80;47-55(1998)
- 3)廣瀬明彦, 長谷川隆一, 黒川雄二;ダイオキシン類の生体毒性. J. Toxicol. Sci., 23; App. 93-106(1998)
- 4)黒川雄二;ダイオキシンのTDI(耐容一日摂取量)について. 食品衛生研究, 50;73-77(2000)
- 5)国立医薬品食品衛生研究所「化学物質のリスクアセスメント」編集委員会編、厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室監修:化学物質のリスクアセスメント、現状と問題点、薬業時報社、東京、pp.101-114(1997)
- 6)黒川雄二, 井上達;ダイオキシン類のリスクアセスメント、特に国内外の規制状況及び内分泌障害性物質としての作用. 国立衛研報告, 116;1-12(1998)
- 7) WHO Summary Report of "Consultation on Tolerable Daily Intake from Food of PCDDs and PCDFs" (1991)